

# 論文の内容の要旨

## 論文題名

アミロイド $\beta$ を発現させた米の経口投与によるアルツハイマー病の

## 治療

## 氏名

野嶋 純

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease, AD) は、主な症状としては認知症である。アルツハイマー病には神経病理学的には、脳組織内に認められる老人斑、神経原線維変化、神経細胞の脱落を特徴とする。老人斑は神経細胞外にアミロイド $\beta$ タンパク質 (amyloid  $\beta$ -protein, A $\beta$ ) と呼ばれるタンパク質が凝集したものである。神経原線維変化は神経細胞内にリン酸化されたタウ (tau) がフィラメント状に蓄積したものである。最近のアルツハイマー病の研究では、先に老人斑ができ、その後神経原線維変化が起きるとされている。さらにこの老人斑の主成分である A $\beta$ の蓄積がタウのリン酸化及び蓄積を促し、この一連の流れが神経細胞の脱落を引き起こすと考えられている。この考え方はアミロイド仮説と呼ばれていて、A $\beta$ が蓄積することがアルツハイマー病の引き金となり、発症するというもので、この仮説をもとにA $\beta$ をターゲットとした治療研究が行われている。

以前、私たちは腸管免疫の特性を生かし、ピーマンの葉にA $\beta$ を発現させ、それを CTB とともにアルツハイマー病モデルマウス Tg2576 に経口投与した結果、A $\beta$ に対する抗体価は上昇し、かつ産生された IgG のサブタイプ解析結果から非炎症性の免疫応答が誘導されたことを報告した。さらに脳内に存在する可溶性と不溶性A $\beta$ の量を減少させることに成功した。ただし、発現させたピーマンの葉はヒトへの経口投与は難しく、保存方法も室温で適していないと考えられる。そこで本研究では、室温で長期保存が可能で、かつ食するのに適した米にA $\beta$ を発現させ、新規の食物ワクチンの開発を試みた。

米に発現している GFP-A $\beta$ 量を定量したところ、1 g につき 120  $\mu$ g の発現量を確認することができた。野生型 B6 マウスへこの GFP-A $\beta$ 米を経口投与した結果、何も発現していない米 (WT) を食べさせたグループと比較して、A $\beta$ を発現させた米を経口免疫したマウスグループで 1.5 倍近くまで有意に抗体量が増加していた。しかし、経口投与は免疫力を上げるためにコレラトキシンBサブユニット (CTB) を共に経口投与しているため、A $\beta$ に対する抗体だけでなく、米に含まれるタンパク質に対する抗体 (以下、抗米タンパク質抗体と称

す) も産生されている可能性があり、実際に抗米タンパク質抗体の量が免疫前と免疫後を比較して、3 倍近くまで増加していることが分かった。

そこでマウスに米タンパク質に対する免疫寛容を起こさせることを考えた。免疫寛容は母親マウスからの授乳を通して子マウスへ誘導することができるという報告をもとに、授乳中の母親マウスに何も発現していない米を経口投与し、子マウスに免疫寛容を誘導させたい。A $\beta$ を発現させた米を用いた免疫を開始した。その後の解析結果から、CTB を一緒に経口投与した場合でも、米タンパク質に対する免疫寛容を誘導したマウスにおいて、米に含まれるタンパク質に対する抗体産生を 2 倍以上抑制しつつ、抗 A $\beta$ 抗体を産生することができることが明らかになった。これは日常的に米を食べているヒトでは、米タンパク質に対する免疫寛容は誘導されていると考えられ、ヒトに CTB と混ぜて経口投与した場合、マウスの結果と同様に、抗 A $\beta$ 抗体のみを産生することができる可能性がある。

また米に CTB を発現させた場合、マウスやサルにおいて抗 CTB 抗体は産生されるけれども米に含まれるタンパク質に対する抗体は産生されないという報告があり、私は次に米の中に CTB を A $\beta$ に融合して発現させた食物ワクチンの経口投与を行った。まずこの CTB-A $\beta$ 米の CTB-A $\beta$ の発現量を定量したところ、1 g につき、3 mg 近くの発現量を確認することができた。この米を使用し免疫を開始したところ、何も発現していない米 (WT) を食べさせたグループと比較して、ここでも CTB を外から混ぜて免疫した場合、やはり抗米タンパク質抗体は産生されていたが CTB-A $\beta$ 米を経口投与したグループで抗 A $\beta$ 抗体が 2 倍以上産生された。さらに、ここでも CTB を外から混ぜて免疫した場合、やはり抗米タンパク質抗体は産生されていたが、CTB-A $\beta$ 米の免疫では、米に含まれるタンパク質に対する抗体産生を約 3 倍抑制することができ、A $\beta$ のみにアジュバント効果が発揮された。

さらに抗原をどの部位に発現させるかも食物ワクチンには非常に重要であり、*GluB1 promoter* を使用することでタンパク質小体に特異的に発現させた場合、ペプシンなどの分解酵素に抵抗性をもつことが示唆された。これは抗原を腸管に届かせるためには、胃を通らなければならないが、*GluB1 promoter* を使用することで胃でのタンパク質消化から免れ、効率よく腸管にまで抗原を送ることができると考えられる。

これらの結果は、食物ワクチンをどのように効率良く、腸管免疫を利用できるか、またヒトへの応用を考えた場合など、非常に重要な結果となるであろう。今後は米を使用した食物ワクチンがアルツハイマー病を治療できるかどうかをモデルマウス **Tg2576** の解析により明らかにし、さらに遺伝性だけでなく、孤発性のアルツハイマー病にも効果があるかどうかを調べていく必要がある。