

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 野嶋 純

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease, AD) の主症状は認知機能の低下である。アルツハイマー病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 β タンパク質 (amyloid β -protein, A β) 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、この老人斑の主成分である A β 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 β 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 β 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 β 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 β に対する抗体価が上昇し、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 β 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。そこで論文提出者は、学位請求論文において、室温で長期保存が可能で、かつ食するのに適した米にA β を発現させ、新規の食物ワクチンの開発を試みた。

【本論文の骨子】

1. 野生型 B6 マウスへの GFP-A β 米の経口投与

論文提出者は、GFP-A β が発現した米を使用し、野生型 B6 マウスへ経口用アジュバントとしてコレラトキシン B サブユニット (CTB) とともに経口免疫を試みた。その結果、抗 A β 抗体の産生を確認した。しかし、この条件下では CTB を使用しているため、米に含まれているタンパク質に対する抗体が産生され、食物アレルギーになる可能性が考えられた。そこで論文提出者は、マウスに米タンパク質に対する抗体を産生させないために、免疫寛容を授乳を通して誘導することをした。実際に子マウスへ授乳をしている母親のマウスに普通の米を経口投与することで子マウスの米タンパク質抗体産生を抑制しつつ、抗 A β 抗体価を上昇させることに成功した。ヒトは日常的に米を食べており、そのことで米タンパク質に対する免疫寛容が誘導されていると考えられるため、ヒトへ CTB と共に GFP-A β 米を経口投与した場合、目的とする抗 A β 抗体のみを産生することができる可能性を示唆したものと考えられる。

2. アルツハイマー病モデルマウス Tg2576 マウスへの GFP-A β 米の経口投与

実際に GFP-A β 米が食物ワクチンとしてアルツハイマー病に効果があるのかを、論文提出者はアルツハイマー病モデルマウス Tg2576 マウスへの経口免疫を試み検討した。

この Tg2576 マウスは年齢とともに、脳内に A β の蓄積が生じるため、治療の研究などで広く用いられているモデルマウスである。このマウスに GFP-A β 米と CTB を 6 ヶ月齢から約 1 年間経口免疫をし、解析を行った結果、抗 A β 抗体価の上昇を確認した。さらに脳内に含まれる可溶性 A β と不溶性 A β がともに経口免疫によって減少することが示された。これは先行研究同様に食物ワクチンにおける治療の可能性を示唆し、より応用しやすい食物ワクチンへの開発につながると考えられる。

さらにこのマウスの学習機能低下に、その改善が見られるかを Y-maze により確かめた。学習機能の改善について有意な差は見られなかったものの、経口免疫群では対照群（普通の米を経口投与した群）と比較して、上昇傾向が見られた。またこのテスト時に Tg2576 マウスは自発行動量が減少することが報告されているため、自発行動量も比較した結果、経口免疫で減少していることが確認された。現在、海馬に存在する嗅内皮質という部位に A β が蓄積すると自発行動量が増加するという報告がなされており、食物ワクチンによって嗅内皮質での A β 蓄積を妨げることができたため、自発行動量の上昇を抑制できたのではないかと考察した。

3. 抗 A β 抗体価を上げるための新規方法の開発

ここまでは GFP-A β 米を使用してきたが、より効率の良い食物ワクチンを開発すべく、GFP ではなく、実験で使用してきた CTB を付加した CTB-A β 米を用いて、野生型 B6 マウスへの経口免疫を行った。

発現時に使用するプロモーターは GluB1 promoter というものであり、これは米に存在するタンパク質構造体 (PB) に特異的に発現させることができるものである。この PB に存在するタンパク質は酵素の分解を受けにくいという報告があるため、論文提出者は CTB-A β 米の粉を強酸の緩衝液の中で分解酵素ペプシンと反応させ、分解を受けるかを確認した。その結果、ペプシンが緩衝液の中に存在していても、分解されにくいことが示唆され、これは抗原を腸管まで効率よく届けることができるのではないかと考えられた。

さらに CTB を付加した状態では GFP-A β 米と CTB を混ぜて経口免疫した場合とは異なり、米タンパク質に対する抗体の産生は見られず、さらに抗 A β 抗体価の上昇を確認することができた。これは免疫寛容の有無を抜きにして、食物アレルギーになることを防ぎ、また CTB 添加を必要としないため、さらなるコストダウンにつながる可能性が考えられた。

以上の結果は、アルツハイマー病治療に新しい知見を加えたものである。したがって、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するのにふさわしいものと認定する。