

氏名	儘田 直美		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 8273 号		
学位授与年月	平成 29年 3月 24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	アミロイドβオリゴマーによるβセクレターゼ (BACE1)の発現増強とそのメカニズムに関する研究		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	新井 哲明
副査	筑波大学教授	博士（医学）	島野 仁
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	加治 優一
副査	筑波大学講師	博士（理学）	梶 和子

## 論文の内容の要旨

儘田直美氏の学位論文は、アミロイドβ蛋白のオリゴマーによるβセクレターゼ（BACE1）蛋白の発現増強とそのメカニズムを検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

アルツハイマー病（Alzheimer's disease: AD）は、認知症の最大の原因疾患であり、その病理学的特徴はアミロイドβ蛋白（Aβ）から構成される老人斑とタウから成る神経原線維変化である。ADにおいて神経変性が生じる過程は、まずAβが細胞外に蓄積し、それが引き金となってタウが細胞内に蓄積し、細胞機能が障害されて細胞死に至ると推測されており（アミロイド仮説）、このような病理過程を惹起する要因の一つとして近年Aβオリゴマー（Aβ-O）の関与が注目されている。すなわち、培養細胞やモデルマウスを用いた検討から、Aβ-Oは、タウの異常、ミトコンドリア機能不全、プロテアソーム機能障害、小胞体ストレス、シナプス機能障害などを引き起こすことが報告されている。さらに、最近Aβ-Oは、Aβの前駆体蛋白であるamyloid precursor protein（APP）の切断酵素であるβ-site APP cleaving enzyme 1（BACE1）の発現を増加させる可能性が示唆されている。しかしながら、これらの病態機序については未だ不明な点が多い。

著者は、BACE1の発現がAD患者脳およびADモデルマウス脳において増強しているとの報告があることから、Aβ-OとBACE1との関連性を明らかにすることを目的に、ラット初代培養大脳皮質神経細胞を用い、Aβ-O刺激によるBACE1の変化を中心に解析している。細胞を2.5 μMのAβ-OまたはAβフィブリル（Aβ-F）で1-3日間刺激し、Western blotにより解析したところ、Aβ-O刺激ではAβ-F刺激に比して有意にBACE1蛋白レベルが増加した。APPおよびADAM10のレベルは変化しなかった。また、cleaved caspase 3、リン酸化eIF2αのレベルが増加したが、GRP78のレベルは不変であったことから、これらの変化は典型的な小胞体ストレス反応によるものではないと考えられた。

著者は、次いで、Aβ-O刺激によるBACE1蛋白発現増加の機序を明らかにするため、半定量的RT-PCRによりBACE1のmRNAレベルを調べたところ、2群間で有意差は認められなかった。また、アデノ

ウイルスを用いて過剰発現させた外因性 BACE1 蛋白のレベルは、A $\beta$ -O 刺激により有意に増加した。BACE1 蛋白の分布を免疫組織化学染色により検討した結果、A $\beta$ -O 刺激群では対照群に比して BACE1 の免疫反応性が神経突起部（軸索および樹状突起）において有意に増強していた。さらに、A $\beta$ -O 処理をした細胞では、APP の BACE1 切断により産生される  $\beta$ '-CTF のレベルが有意に増加していた。

本研究は、初代培養神経細胞を比較的低濃度の A $\beta$ -O で刺激することにより、著明な神経細胞死を引き起こすことなく長時間の観察を可能にしたことが既報告にない利点であると思われる。培養細胞において A $\beta$ -O 刺激により BACE1 レベルが増加することは既に報告があるが、著者は、BACE1 mRNA のレベルに変化がないことからそれが転写・翻訳レベルでの変化ではないこと、BACE1 の細胞局在の変化が生じていることから BACE1 の細胞内輸送に異常がある可能性について新たに明らかにしている。さらに、著者は、A $\beta$ -O 刺激により APP の  $\beta$  切断が亢進していることも見出していることから、A $\beta$ -O は細胞内局在変化を伴う翻訳後の何らかのメカニズムを介して BACE1 蛋白の発現を増強し、その結果 A $\beta$  産生が促進されるという悪循環が生じさせることが AD の病理過程に関与している可能性を新たに提示している。

## 審査の結果の要旨

### (批評)

著者は、アルツハイマー病の病態に関する主要な仮説であるアミロイド仮説に則り、細胞生物学、生化学、免疫組織化学、分子生物学などの手法を用いた検討を行い、次のことを明らかにした。すなわち、アミロイド  $\beta$  (A $\beta$ ) 蛋白のオリゴマーが、A $\beta$  の前駆体蛋白の切断酵素である  $\beta$ -site APP cleaving enzyme 1 (BACE1) 蛋白の発現増強、細胞内局在の変化、 $\beta$  切断の亢進などを惹起し、最終的に A $\beta$  産生を増加させることが AD の病態に関与する可能性があるということである。以上の知見は、アルツハイマー病の病態解明および今後の治療法開発に対して重要な示唆を与えるものである。

平成 29 年 1 月 12 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。