

審査の結果の要旨

粉川 明日香

本研究は、アルツハイマー病 (Alzheimer's disease; AD) の感受性遺伝子である *APOE* が AD 発症の鍵分子であるアミロイド  $\beta$  タンパク質 ( $A\beta$ ) の脳内ダイナミクス、即ち、産生、クリアランス、凝集・蓄積、に与える影響を明らかにすることを目的とした。AD モデルマウスであるアミロイド前駆体タンパク質トランスジェニック (*APP tg*) マウスをヒト *APOE* ノックインマウスまたは *APOE* ノックアウトマウスと交配して作出したマウスや、新たに樹立した apoE/ $A\beta$  相互作用のモニタリング系を用いて、下記の結果を得ている。

- 1) *in vivo* において、ヒト *APOE3* をノックインした高齢の APP/PS1 マウスでは、内因性マウス apoE のみを発現する高齢の APP/PS1 マウスに比して、ヒト *APOE* アレル数依存的に脳  $A\beta$  斑の蓄積が減少することを見出した。*APOE* ノックアウトマウスと APP/PS1 マウスを交配すると  $A\beta$  斑がびまん性の形態に変化したことから、apoE は  $A\beta$  斑の蓄積形態を規定すること、特にコンパクトな斑状の形態の維持に関与することを見出した。
- 2) 若齢 APP/PS1 マウスを用いて、1,000 kDa カットオフのポアを持つ透析膜プローブで *in vivo* microdialysis 法を実施したところ、海馬間質液中の  $A\beta$  濃度及び  $A\beta$  半減期はマウス apoE、apoE2、apoE3、apoE4 を発現するマウス間で有意な差は認められなかった。異なる遺伝子型の apoE が  $A\beta$  の脳内産生及びクリアランスに与える影響に差があることを示すことはできなかった。
- 3) *in vitro*  $A\beta$  凝集実験において  $A\beta$  を単独にインキュベートした時と比べて、ヒト及びマウス apoE を添加すると、凝集開始が遅延した。特に apoE3、apoE4 は  $A\beta$  の凝集核形成過程及び線維伸長過程を抑制すること、一方でマウス apoE は  $A\beta$  凝集核形成過程を抑制することを示した。
- 4) 若齢 APP/PS1 マウスを用いた *in vivo*  $A\beta$  seeding 実験において、apoE3 を発現するのはマウス apoE を発現するものに比べて、凝集核によって誘導される  $A\beta$  蓄積が減

少することを認めた。*in vivo*においても apoE3 はマウス apoE に比して A $\beta$  線維伸長を抑制すると考えられた。

- 5) split-luciferase complementation assay を利用して、培養細胞上清中で A $\beta$  と apoE の相互作用を評価する実験系を新規に樹立した。apoE4 と A $\beta$  の相互作用は、apoE3 及びマウス apoE と A $\beta$  の相互作用に比して弱いことを見出した。さらに、apoE4 の立体構造を apoE3 様に変換する apoE4 R61T 変異体では、A $\beta$  との相互作用強度が回復することを明らかにした。
- 6) apoE を発現する培養細胞の上清及び apoE ノックインマウスの脳間質液では、apoE4 タンパク質量は apoE3 に比べて低いことを見出した。

以上本論文は、A $\beta$  の脳内代謝において、apoE3 とマウス apoE が A $\beta$  のクリアランスに異なる影響を与えることは認められず、apoE3 またはマウス apoE を発現する AD モデルマウスで A $\beta$  蓄積が著しく異なった原因は、apoE3 がマウス apoE と比べて A $\beta$  凝集核形成及び線維伸長過程を抑制することに起因する可能性を示した。これまでの数多くの AD 研究では内因性マウス apoE とヒト APP の組み合わせを用いてきたが、本研究ではヒト apoE を発現する AD モデルマウスを解析することで、ヒト apoE が A $\beta$  脳内代謝に与える影響を解明することに貢献した。

よって本論文は博士（医学）の学位請求論文として合格と認められる。