

## 審査の結果の要旨

氏名 間野 達雄

本研究はアルツハイマー病における神経変性過程において重要な役割を果たしていると考えられる分子を神経細胞特異的 DNA メチル化解析により探索し、そこから見出した遺伝子のアルツハイマー病における生物学的な意義を検証したものであり、下記の結果を得ている。

1. アルツハイマー病における神経細胞特異的な DNA メチル化解析を Illumina 社製 Infinium HumanMethylation450 Beadchip を用いて実施し、278 箇所メチル化変化プロンプト、8 遺伝子に関連したメチル化変化領域を見出した。8 遺伝子のうち、3 遺伝子に関連したメチル化変化領域はプロモーター内の CpG アイランドに対応しており、発現制御において特に重要な領域と考えられた。これらのメチル化変化は基本的にアルツハイマー病に特異的であり、一部の遺伝子に関しては中枢神経系特異的であることが示された。また、これらのメチル化変化は、アルツハイマー病の遺伝的リスク因子である *APOE*  $\epsilon$ 4 アレル保有数と関連していることが示され、アミロイド  $\beta$  負荷との関連が示唆された。
2. アルツハイマー病およびコントロールの脳から得た mRNA の発現解析の結果から、メチル化解析の結果から発現が増加された遺伝子について、mRNA レベルの発現が有意に増加していることが示された。
3. 免疫染色の結果からは、メチル化解析で見出した遺伝子産物がアルツハイマー病において発現が増加していることが示された。このうち 1 つの遺伝子産物については、神経細胞細胞質での発現が著明であり、このような発現パターンは海馬 CA1、嗅内皮質で特に強く、一般的なアルツハイマー病理の分布に沿ったものであり本遺伝子産物がアルツハイマー病の進行に密接に関与していることを示唆するものであった。さらに初期のアルツハイマー病の検討と合わせて、この遺伝子産物の細胞質における発現がリン酸化タウ沈着の後に起きてくる現象であることが示された。以下の細胞および動物モデルにおいては、本遺伝子産物の機能についての議論がされた。
4. N2a 細胞および APP/PS1 マウスの検討から、アミロイド  $\beta$  によって DNA 2 重鎖切断が誘導されるが、可溶性かつ機能性の本遺伝子産物によってこれらの傷害が修復され、DNA の断片化には至らないことが示された。
5. 3xTg-AD マウスの検討からは、リン酸化タウの不溶化に伴って本遺伝子産物の可溶性が低下することが示された。本遺伝子産物の可溶性低下に伴って、DNA 修復機構に障害を

きたすため、アミロイド  $\beta$  によって誘導された DNA 2 重鎖切斷の修復が破綻し、DNA の断片化に至ることが示された。

6. マウスにおいてもアルツハイマー病と同様に、プロモーター領域の脱メチル化が発現制御において重要であることが示された。

以上、本論文はアルツハイマー病における神経細胞特異的 DNA メチル化解析を通じて、神経変性に関わる新規分子を見出し、その生物学的意義を明らかにした。特に、アミロイド  $\beta$  およびリン酸化タウというこれまで知られてきた病理学的変化と、神経変性とをつなぐ分子メカニズムにおいて、DNA の傷害および修復が重要な役割を担っていることを示している。アルツハイマー病の神経変性過程の解明に重要な貢献をなすと考えられると同時に、さらには治療法開発についても重要な示唆に富んだ知見であり、学位の授与に値するものと考えられる。