

アルツハイマー病 (AD) は老年期認知症の大半を占める神経変性疾患であり、患者脳において老人斑として蓄積するアミロイド  $\beta$  ペプチド ( $A\beta$ ) がその発症と密接に関連している。 $A\beta$  は前駆体タンパク質 (APP) より  $\beta$ -、 $\gamma$ -secretase による連続した2段階の切断を受けて産生される。 $A\beta$  のC末端長には多様性が認められ、そのうち主要なものは40もしくは42アミノ酸からなる  $A\beta 40$  および  $A\beta 42$  である。特に  $A\beta 42$  は毒性および凝集性が高く、また優性遺伝形式を示す家族性ADに連鎖する遺伝子変異は  $A\beta 42$  産生比率を上昇させることから、 $\gamma$ -secretase 活性の制御により  $A\beta 42$  産生比率を抑制させることがADの治療・予防において重要であると考えられている。

近年、Genome-wide association study (GWAS) により、遺伝学的AD予防因子として *Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein (PICALM)* 遺伝子が同定された。*PICALM* 遺伝子にコードされている CALM タンパク質はクラスリン依存的エンドサイトーシス (CME) に関わる分子であることが知られているが、AD発症メカニズムに及ぼす影響については未だ明らかになっていない。そこで申請者 金津邦彦 は、CALM がAD病態形成に寄与する分子機構の解明を目的として研究を進め、CALM が  $\gamma$ -secretase の CME を特異的に制御することを見出した。そして CALM ノックダウンにより  $\gamma$ -secretase の細胞内局在が後期エンドソームから細胞表面膜へとシフトし、 $A\beta 42$  産生比率が低下することを明らかにした。そこで本研究では引き続き、CALM の分子機能と  $A\beta$  産生機構の連関、および *in vivo* における CALM の  $A\beta$  蓄積病態への影響を解析した。

その結果、1) 各種欠損変異体および点変異体を用い、CALM の ANTH ドメインの機能、特に PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> 結合能が  $\gamma$ -secretase 内在化を介した  $A\beta 42$  産生活性を制御すること、2) *PICALM* 遺伝子におけるアミノ酸置換を伴う rare variant I34M 変異が、CALM の PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> および  $\gamma$ -secretase との結合能を低下させる変異であり、その結果  $\gamma$ -secretase の内在化誘導能が低下し  $A\beta 42$  産生比率を低下させる「CALM 機能低下効果」があること、を培養細胞を用いた解析によって明らかにした。また CALM の  $A\beta$  病態形成への影響を *in vivo* で検討するために、*Picalm*<sup>+/−</sup>マウスとADモデルマウスA7を掛け合わせ、 $A\beta$  斑蓄積を抑制することを見出し、CALM が *in vivo* における  $A\beta$  病態形成に寄与することを明らかにした。

以上の結果より、「CALM がカーゴアダプターとして  $\gamma$ -secretase の CME を制御し、 $A\beta 42$  産生活性の高い後期エンドソームからリソソームにおける  $\gamma$ -secretase による切断を亢進させる結果、ADの病態形成に寄与する」という作用機序を明らかにした。本論文はアルツハイマー病の発症に関わる CALM の機能を世界で初めて示したものである。また細胞内小胞輸送関連分子である CALM の部分的機能欠損により副作用なく  $A\beta$  蓄積病態を特異的に抑制できたことから、その成果はこれまで特異性の観点から困難であると考えられてきた細胞内小胞輸送の制御による新たな創薬の可能性を提示したものであると言える。

よって本論文は博士(薬科学)の学位請求論文として合格と認められる。