

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 仲 泰史

本研究は、アルツハイマー病の病理学的特徴の1つである老人斑が、脳内可溶性 A β に与える影響を検討することを目的とし、アルツハイマー病の病理モデルマウスである APP tg マウス脳を用いた実験系において検討を試みたものである。方法として、APP tg マウス脳をトリス緩衝化生理食塩水中 (TBS) でホモジェナイズした後、超遠心を行い、その上清 (TBS 可溶画分) 中の A β 42 濃度を測定し、脳内可溶性 A β 42 総量を求めた。また *in vivo* マイクロダイアリシス法を用いて採取した海馬脳間質液中の A β 42 濃度を測定した。そして、これらの結果から、TBS 可溶画分 A β 42 濃度及び脳間質液中 A β 42 濃度と海馬 A β 斑蓄積面積との相関関係の検討を行った。また、アミロイド斑を有する高齢 APP tg マウス脳の TBS 可溶画分中の A β オリゴマーをゲルろ過クロマトグラフィー法を用いて分子サイズごとに分離し、脳内の A β 凝集及び蓄積に関わる A β オリゴマー分子種の同定を試みた。さらに、老人斑形態の違いにより、脳内可溶性 A β に与える影響がどのように変化するかについても検討を試みた。これらの検討より、下記の結果を得ている。

1. A β 斑蓄積面積と脳内可溶性 A β 42 総量は正に相関する傾向があるが、A β 斑蓄積面積と脳間質液中 A β 42 濃度は負に相関する傾向を見出した。この結果は、アミロイド斑が脳内可溶性 A β の挙動に影響を与える可能性を示唆している。
2. アミロイド斑を有する APP tg マウス脳の TBS 可溶性画分中には少なくとも分子量の異なる3つの分子種、ピーク 1A β (200-300 kDa)、ピーク 2A β (50-80 kDa)、ピーク 3A β (10-20kDa) が存在しており、このうちピーク 1A β 量は A β 斑蓄積面積と正に相関する傾向があることを見出した。
3. ピーク 1A β は APP tg マウス脳において A β 斑蓄積促進能を有することを明らかにした。
4. 老人斑構成因子の1つである CLAC (collagenous Alzheimer amyloid plaque component)の前駆体タンパク質 CLAC-P を神経細胞特異的に過剰発現する CLAC-P tg マウスと APP tg マウスを交配し作出した APP/CLAC-P 二重 tg マウスでは APP tg マウスと比較して、A β 斑蓄積面積が減少し、 β -sheet 構造と特異的に結合する thioflavin S の陽性シグナル数が増加した。このことより、CLAC が A β 蓄積をよりコンパクト化させる因子である可能性を示した。

5. アミロイド斑を有する APP/CLAC-P 二重 tg マウスではアミロイド斑を有する APP tg マウスと比較して脳間質液中 A β 42 濃度は低下したが、脳内可溶性 A β 42 総量は同程度であった。一方、アミロイド斑を有しない APP/CLAC-P 二重 tg マウスと APP tg マウスを比較したところ、脳間質液中 A β 42 濃度及び脳内可溶性 A β 42 総量は共に同程度であった。さらに、高齢の CLAC-P tg マウスと野生型マウス間で比較したところ、脳間質液中 A β 42 濃度は同程度であった。これらの結果は、コンパクト化した A β 斑はびまん性斑よりも脳内可溶性 A β の挙動に強い影響を与えた可能性を示唆している。

以上、本論文は、老人斑が、アルツハイマー病における病理や病態の進行に影響を与える可能性があることを実験的に示し、この知見は今後アルツハイマー病の根本治療法や予防法開発の発展に、重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。