

論文審査の結果の要旨

氏名 金子 順

本論文における一連の研究は、モデルマウスを用いてアルツハイマー病の発症機構における蛋白質分子 Diazepam binding inhibitor(DBI)の役割を明らかにすることを究極的な目的として実施された。第1章において、まずは、野生型マウスを用いて、その海馬内における DBI の発現を調べると共に、その機能を RNAi 法により明らかにする研究を行った。第2章において、アルツハイマー病 (AD) モデルマウスを用いて、その海馬内における DBI の発現を調べると共に、特に海馬ニューロン新生への作用に焦点を当てて、RNAi 法を用いてその機能を明らかにする研究を行った。

アルツハイマー病などの神経疾患において、主にモデルマウスを用いた解析から、海馬新生ニューロンの機能が低下していることが報告されており、その神経疾患との関係が示唆されている。特に、アルツハイマー病モデルマウスにおいてはニューロン新生を促進する作用を持つ GABA シグナルに不均衡が生じ、その結果としてニューロン新生が低下しているとする報告がある。そこで本研究では、アルツハイマー病モデルマウスの海馬においてその発現が上昇していることが知られており、加えて GABA シグナルに不均衡をもたらすことがこれまでの論文報告より十分に推定できる DBI に着目し、その海馬ニューロン新生に対する作用を調べることにより、アルツハイマー病の発症における当該分子の役割を解き明かすことを目的とした。

第1章における研究を概説する。DBI 分子の発現を抑制し、その機能を確かめる実験を行うために RNAi 配列を設計し、この配列をレンチウイルスベクターに組み込んだ。またコントロールベクターには、既に報告のある何の作用もない Scramble 配列を組み込んだ。293T 細胞を用いてレンチウイルスを作製し、その DBI 抑制効果を神経幹細胞様細胞株である MSP-1 細胞を用いて確かめた。次に、高力価ウイルスを作成し、マウスの海馬に直接摂取することにより、成体海馬の神経幹細胞で DBI 発現を抑制する実験を行った。なお、この際、mCherry を組み込んだレトロウイルスベクターを用いることにより、神経幹細胞の標識を行った。その後、マウスより脳を取り出し評価用のサンプルとした。なお、新生ニューロンへの分化の進行度を未成熟ニューロンマーカーである DCX により評価した。その結果 DBI を抑制した実験群では DCX 陽性の細胞が有意に増加し、分化の亢進が見られた。コントロール群では分化の亢進は認められなかった。これにより成体の海馬で、DBI は神経幹細胞の分化を抑制するために機能していることが示唆された。

第2章における研究を概説する。ADモデルマウスとして APP^{swe}/PS1^{ΔE9}を組み込んだトランスジェニック (Tg) マウスを使用した。この Tg マウスでは 12 か月齢を超えると A β 蓄積や記憶機能障害が起こることがわかっている。また、これに加えて先行研究において High Fat Diet (HFD) を生後 4 か月齢からこの Tg マウスに 2 か月間与えると、早期に記憶機能障害を誘導できることも示されている。さらに、この症状は高機能食品成分である Carnosine (Car) を HFD 投与開始 2 週間後より 6 週間与えることにより回避できることもわかっていた。そこで、野生型(WT)および Tg マウスで 17-19 月齢もの、WT マウスの 6 か月齢、Tg マウスの 6 か月齢、Tg マウスの 6 か月齢に HFD を給餌したマウス、Tg マウスの 6 か月齢に HFD と Car を給餌したマウス、の合計 6 群のマウスを用いて、海馬歯状回領域における DBI の発現を比較した。その結果、認知記憶障害を示す、Tg マウスの 17-19 月齢、あるいは Tg マウスの 6 か月齢に HFD を与えた群、において DBI の発現が有意に上昇していることを認めた。逆に、認知記憶障害を回避した Car 投与群では DBI 発現が抑制されており、DBI の増加と認知記憶の低下が一致していた。

DBI が、認知機能が低下した AD モデルマウスにおいて増加していることがわかったため、それらのマウスにおいて新生ニューロンマーカーである DCX の抗体染色を用いてニューロン新生の動態を調べることにした。その結果、認知記憶障害を示す 6 か月齢の HFD 給餌 Tg マウスではニューロン新生が障害されていたのに対し、Car 投与群ではニューロン新生の程度も回復しており、DBI の発現パターンと一致していた。

そこで、RNAi を用いて HFD 給餌 AD モデルマウスの海馬で、DBI の発現を抑制する実験を行った。その結果、この AD モデルマウスにおいて低下する新生ニューロンの分化程度が、DBI の発現抑制により回復していることが見出された。AD モデルマウスにおける DBI の高発現はニューロン新生の阻害を通じて、結果的に記憶機能の低下を引き起こすことへとつながる可能性が考えられた。

以上のように本論文では、アルツハイマー病の脳内においてその発現が上昇することが予測される蛋白質分子 DBI の機能を解析することにより、その記憶機能への作用さらにはアルツハイマー病の発症へのかかわりについて新しい知見を得ることができた。このため、本論文は、博士(生命科学)を与えるにふさわしいと判断された。

以上 1 9 8 6 字