

審査の結果の要旨

氏名 角田 伸人

本研究は、アルツハイマー病 (AD) 患者脳内における脳脊髄液 (CSF) 中のアミロイドβタンパク質 (Aβ) 42 が低下する原因を明らかにするため、stepwise processing model を基に、その他の Aβとの関連についての解析とヒト脳内の γ-secretase 活性を in vitro assay 系を用いて測定したものであり、下記の結果を得た。

1. Chinese hamster ovary (CHO)細胞の細胞膜画分を CHAPSO で可溶化し、in vitro の可溶化γ-secretase assay 系を構築した。この実験系を用いてγ-secretase 活性を解析した結果、細胞の場合と同様に Aβ40 の産生が最も多かった。またε-cleavage の部位も保存されており、AICD50-99 および AICD49-99 の産生を TOF-mass を用いて検出した。γ-Secretase を可溶化 in vitro assay 系としても、これまでに知られている酵素学的性質は保存していることを示した。
2. CSF に存在する Aβを免疫沈降して検出した結果、Aβ37、Aβ38、Aβ39、Aβ40、Aβ42、Aβ43 の 6 種類が存在していた。しかし in vitro assay 系において、Aβ37 と Aβ39 の産生が少なかったことから、Aβ37 と Aβ39 はγ-secretase 以外の酵素による産物の可能性が考えられた。
3. Aβ38 および Aβ43 に対する ELISA assay 系を構築した。さらに既存の Aβ40 および Aβ42 の ELISA を用いて、健常人 (control)、軽度認知障害 (MCI) および AD の CSF 中の 4 種類の Aβを測定した結果、Aβ40 が最も高濃度であり、続いて Aβ38、Aβ42 そして Aβ43の順序であった。これらの関係は、いずれの病態においても違いは見られなかった。
4. CSF 中の Aβについて解析した結果、control と比較して MCI/AD では Aβ42 のみならず Aβ43 も低下していた。一方、Aβ38 は増加傾向にあり、Aβ40 は増加していた。すべての病態における Aβ38+ Aβ42 の総和に違いは見られなかった。これらの結果から、MCI/AD 脳内では Aβ42 から Aβ38 へと Aβ43 から Aβ40 へのγ-secretase の切断効率の亢進が示唆された。
5. 病態に関わらず CSF 中の Aβ38 と Aβ40 に相関関係があることはこれまでに

わかっていたが、A β 42 と A β 43 にも相関関係があることがわかった。

6. A β 40/43 と A β 38/42 の存在比をプロットした結果、相関関係が得られ、control は原点付近に分布し、MCI/AD は原点から離れて分布した。Control と MCI/AD の分布には有意な差が認められた。しかし、MCI と AD の分布に有意な差は認められなかった。
7. 脳内 γ -secretase 活性を測定するため、control、MCI および AD のヒト剖検脳 (Brodmann area 9-11) より、 γ -secretase を含む lipid raft 画分を調製し、in vitro assay 系による活性測定および解析した結果、CSF の場合と同様な分布を示した。このことから control と比較して、MCI/AD 脳内では、A β 42 から A β 38 へと A β 43 から A β 40 への γ -secretase の切断効率が亢進していることが示された。
8. CSF および脳内 γ -secretase 活性測定における control および MCI/AD に分布について、apoE 3 および apoE 4 による遺伝学的影響に違いは認められなかったことから、apoE は γ -secretase 活性に影響を及ぼさないと考えられた。

以上、本論文は、control の CSF と比較して MCI/AD の A β 42 のみならず A β 43 の低下と、A β 38 と A β 40 が増加していることを示した。また、MCI/AD 脳内では、A β 42 から A β 38 と A β 43 から A β 40 への γ -secretase の切断効率の亢進が起こっていることを示した。本研究は、MCI/AD における CSF 中の A β 42 低下は、 γ -secretase の切断効率が亢進した結果、control よりも A β 42 が A β 38 へ切断された可能性をはじめて示し、学位の授与に値するものと考えられる。