

## 審査の結果の要旨

氏名 宮川 統爾

本研究はアルツハイマー病の重要な遺伝学的危険因子として GWAS で同定された *BIN1* の、アルツハイマー病の病態機序を担う各因子への影響を明らかにするため、神経系、非神経系培養細胞を用いた実験系にて下記の結果を得ている。

1. 出生直後マウス産仔由来 **primary cortical neuron culture** において **Bin1** をノックアウトすると、**BACE1** タンパク増加および **BACE1** による **APP** 切断産物である分泌 **sAPP $\beta$**  の増加が見られ、その結果と考えられる分泌 **A $\beta$ 40**、**A $\beta$ 42** 量も増加する。
2. 神経系培養細胞 (**N2a** 細胞)、非神経系培養細胞 (**HeLa** 細胞) いずれも **Bin1/BIN1** をノックダウンすることで、**primary cortical neuron culture** での **Bin1** ノックアウトと同様に、**BACE1** タンパクの増加と分泌 **A $\beta$ 40**、**A $\beta$ 42** 量増加が見られる。
3. これらの **BACE1** タンパクの増加は、**BACE1** 活性の亢進を伴うものであり、**APP** からの  $\beta$  切断亢進による **A $\beta$**  産生増加を示唆する。
4. **BIN1** の発現低下に伴う **BACE1** タンパクの増加は、**mRNA** レベルでの増加によるものではない。
5. **BACE1** と同様に **A $\beta$**  産生に関わる **APP** や  $\gamma$ -secretase に対しては、**BIN1** 発現の変化による明らかな影響は見られない。
6. **BIN1** は、**BACE1** の細胞表面から初期エンドソームへの内在化には明らかな影響を有さない。
7. **BIN1** の発現低下により、**BACE1** の初期エンドソームからの細胞内輸送が遅滞し、核近傍で初期エンドソームと蓄積、共局在する。
8. **BIN1** ノックダウンにより後期エンドソーム～ライソソームでの **BACE1** の減少が示唆され、初期エンドソームから後期エンドソーム～ライソソーム分解経路への **BACE1** の細胞内輸送の低下が想定される。
9. **BIN1** による **BACE1** の初期エンドソームから後期エンドソーム～ライソソーム分解経路への輸送制御は **GGA3** 非依存的に行われる。
10. **BACE1** の C 末端細胞質ドメインと **BIN1** との結合には、**BIN1** の **BAR** ドメインの働きが必要。
11. **BAR** ドメインもしくは **SH3** ドメインを欠失させた **BIN1** 欠失変異体を **N2a** 細胞に発現させると **dominant negative effect** を示し、**BACE1** タンパク発現の増加と分泌 **A $\beta$ 40**、**A $\beta$ 42** 量増加を惹起する。

以上、本論文は神経細胞での **Bin1** ノックアウトを含む各種培養細胞における **BIN1** の機能解析から、**BIN1** が **BAR** ドメインを介して **BACE1** 細胞質ドメインと結合し、**SH3** ド

メインと相互作用する分子と協調して、BACE1 の初期エンドソームから後期エンドソーム～ライソソームの分解系への細胞内輸送を制御することでA $\beta$ 産生を制御していることを初めて明らかにした。BACE1 阻害薬はアルツハイマー病根本治療薬として現在最も期待される薬剤の一つであり、BACE1 の細胞内輸送制御機構を理解するうえで、本論文で得られた結果は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。