

Title	Elevated Amyloid β Protein (1-40) level induces CREB Phosphorylation at Serine - 133 via p44/42 MAP Kinase (Erk1/2) - Dependent Pathway in Rat Pheochromocytoma PC12 Cells
Author(s)	里, 直行
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41673
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照ください 。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	重直行
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 14496 号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系専攻
学位論文名	アミロイドβ蛋白(1-40)はP44/42 MAP kinase を介して転写因子 CREB の serine-133 のリン酸化を誘導する。 Elevated Amyloid β Protein (1-40) level induces CREB Phosphorylation at Serine-133 via P44/42 MAP Kinase (Erk1/2)-Dependent Pathway in Rat Pheochromocytoma PC12 Cells
論文審査委員	(主査) 教授 荻原 俊男 (副査) 教授 松澤 佑次 教授 三木 直正

論文内容の要旨

【目的】

アルツハイマー病は病理学的には老人斑や微小血管にアミロイドβ蛋白の蓄積を認める重篤な疾患である。アミロイドβ蛋白はβアミロイド前駆体蛋白(APP)から蛋白分解により生成されるが、家族性アルツハイマー病の中にはAPPに遺伝子変異を持つ家系があることから、アルツハイマー病の成因においてアミロイドβ蛋白が重要である事が示唆されている。

一方、進行する記憶の低下がアルツハイマー病の臨床的特徴であるが、最近のトランスジェニック技術により記憶の分子機序が明らかにされつつある。特に転写因子のcyclic AMP-responsive element binding protein (CREB) が長期記憶に必須である事がノックアウトマウス、トランスジェニックフライを用いて研究、報告された。CREBの活性化に関しては133番目のアミノ酸のセリン残基がリン酸化される事が必要であることが知られている。

家族性アルツハイマー病の変異(V642I/F/G)をもつアミロイド前駆体蛋白を培養細胞にトランスフェクションするとcyclic AMP-responsive element (cre)の活性化が抑制される事が報告されている。アミロイドβ蛋白の蓄積は家族性のみならず孤発性を含めたすべてのアルツハイマー病に認められる事からアミロイドβ蛋白が記憶に関与する分子に作用するか否かは重要と思われる。そこでアルツハイマー病の記憶低下のメカニズムを探る為、我々は長期記憶に必要と考えられている転写因子CREBに注目し、アミロイドβ蛋白がCREBのリン酸化を惹き起こすか検討した。

【方法ならびに成績】

ラット褐色細胞腫PC12細胞を1μMのアミロイドβ蛋白(1-40)を含むmediumで培養した。serine-133がリン酸化されたCREBに特異的な抗体を用いて、western-blottingによりリン酸化CREBを検出した。CREBのリン酸化は15-30分においてmaxとなり120分後には最大時の約20%へと減少した。アミロイドβ蛋白(1-40)とはアミノ酸配列が逆になるよう作製されたアミロイドβ蛋白(40-1)を含むmediumで培養すると全くCREBのリン酸化を起こさなかったことから、アミロイドβ蛋白(1-40)特異的にCREBのserine-133におけるリン酸化を惹き起こすことが確認された。

次にCREBリン酸化に必要なアミロイドβ蛋白(1-40)の濃度を求めたところ、1μM以上であった。

また、アミロイドβ蛋白(1-40)によるCREBのリン酸化の経路を探る為、MEK 1 inhibitorであるPD98059を用いたところ、アミロイドβ蛋白(1-40)によるCREBのリン酸化が阻害された。アミロイドβ蛋白(1-40)によるCREBのリン酸化の50%が阻害されるPD98059の濃度(IC50)は10μM以下であった。MEK 1はP44/42 MAP kinaseをリン酸化し、活性化する。tyrosine-204がリン酸化されたP44/42 MAP kinaseに特異的な抗体を用いて、western-blottingによりリン酸化P44/42 MAP kinaseを検出したところ、確かにP44/42 MAP kinaseはリン酸化されていた。βアミロイド前駆体蛋白のN端断片がMAP kinaseを活性化する事は報告されているが、それに加えて、アミロイドβ蛋白(1-40)そのものもP44/42 MAP kinaseをリン酸化する事を我々は見出した。

【総括】

これらの事から、アミロイドβ蛋白(1-40)はP44/42 MAP kinaseを介してCREBのserine-133をリン酸化する事が示された。アミロイドβ蛋白(1-40)の蓄積した老人斑や微小血管の周囲の神経細胞においてはアミロイドβ蛋白(1-40)によりCREBのserine-133のリン酸化が惹き起こされ、長期記憶に關与する生理的なCREBのserine-133のリン酸化が障害される可能性が示唆される。これらの知見が、家族性および孤発性のアルツハイマー病における記憶低下のメカニズム解明の糸口になりうる。

論文審査の結果の要旨

アルツハイマー病は臨床的には進行する記憶の低下を、病理学的には老人斑にアミロイドβ蛋白の蓄積、神経原線維変化を認める重篤な疾患である。アミロイド前駆体蛋白、プレセニリン-1, 2, Apo E 4などの原因遺伝子が既に報告されているが、発症までの機構はいまだ解明できていない。

そこで申請者は、転写因子のcyclic AMP-responsive element binding protein (CREB) が長期記憶に必須である事が報告されたことに注目し、アミロイドβ蛋白がCREBのリン酸化に作用するか検討している。

この論文はアミロイドβ蛋白が記憶関連蛋白である転写因子CREBの活性化に必要なserine-133のリン酸化を誘導すること、およびそれはP44/42 MAP kinase (Erk 1/2) を介することを示した最初の論文であり、得られた事実よりアルツハイマー病の記憶低下のメカニズムを提唱している。

すなわち、「アミロイドβ蛋白により過剰なCREBのserine-133のリン酸化が惹き起こされ、長期記憶に關与する生理的なCREBのserine-133のリン酸化が障害されることが、アルツハイマー病における記憶の低下のメカニズムである。」という新しい仮説を提唱し、アルツハイマー病治療にむけての突破口を開こうとしている。このような研究は世界で初めてといえる。

以上のことにより学位の授与に値する。