



|              |                                                                                                                                                                                                                    |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Apolipoprotein E and Reelin ligands modulate tau phosphorylation through an Apolipoprotein E receptor/disabled-1/glycogen synthase kinase-3 $\beta$ cascade                                                        |
| Author(s)    | 大久保, 信孝                                                                                                                                                                                                            |
| Citation     | 大阪大学, 2003, 博士論文                                                                                                                                                                                                   |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                    |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/43815">https://hdl.handle.net/11094/43815</a>                                                                                                                                |
| 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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照ください</a> 。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名 おお 久 保 のが 信 孝

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 7 5 7 5 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 15 年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科情報伝達医学専攻

学 位 論 文 名 Apolipoprotein E and Reelin ligands modulate tau phosphorylation through an Apolipoprotein E receptor/disabled-1/glycogen synthase kinase-3 $\beta$  cascade.  
(アポリポ蛋白 E とリーリンはアポ E 受容体/Dab-1/GSK3- $\beta$  を介して Tau のリン酸化を調節する。)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 遠 山 正 彌

(副査)

教 授 辻 本 賀 英 教 授 荻 原 俊 男

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目的】

高度にリン酸化されたタウタンパク質は、アルツハイマー病の特徴のひとつである神経原繊維変化の主な構成要素である。また、アポリポ蛋白 E (ApoE) のサブタイプ ApoE4 は、アルツハイマー病の危険因子として広く知られている。しかし ApoE がどのようにしてアルツハイマー病の危険因子となるのか、そのメカニズムについては未だ解明されていない。近年、ApoE 受容体のリガンドである Reelin (Reln)、または ApoE 受容体のアダプター蛋白である Disabled-1 (Dab1) の欠損マウス脳でタウのリン酸化がみられると報告された。

そこで本研究では、Reln または Dab1 の欠損マウスを ApoE 欠損マウスと交配し、タウのリン酸化における ApoE の役割を実験動物レベルで示し、そのメカニズムを解明することを目的とした。

### 【方法ならびに成績】

#### 1. Tau のリン酸化度の測定

ApoE および Reln の量とタウのリン酸化度との関係をしらべるために、Reln 欠損かつ ApoE 正常なマウス (*Reln*<sup>-/-</sup> *ApoE*<sup>+/+</sup>)、Reln 欠損かつ ApoE 量が半分のマウス (*Reln*<sup>-/-</sup> *ApoE*<sup>+/-</sup>)、Reln と ApoE の両方を欠損したマウス (*Reln*<sup>-/-</sup> *ApoE*<sup>-/-</sup>) を作製した。これらの脳抽出液を用いてウエスタンブロットを行い、リン酸化タウの量を測定した。

その結果、リン酸化タウの量は *Reln*<sup>-/-</sup> *ApoE*<sup>+/+</sup> マウスで増加し、*Reln*<sup>-/-</sup> *ApoE*<sup>+/-</sup> マウス、*Reln*<sup>-/-</sup> *ApoE*<sup>-/-</sup> マウスの順にさらに増加した。このことから、Reln および ApoE はともにタウのリン酸化を抑制することが示唆された。

次に ApoE 受容体のアダプター蛋白である Dab1 の関与を調べるため、Dab1 欠損かつ ApoE 正常なマウス (*Dab1*<sup>-/-</sup> *ApoE*<sup>+/+</sup>)、Dab1 と ApoE を両方欠損したマウス (*Dab1*<sup>-/-</sup> *ApoE*<sup>-/-</sup>) を作製し、リン酸化タウの量を測定した。

その結果、両マウスにおいてリン酸化タウの量は著しく増加した。しかし *Dab1*<sup>-/-</sup> *ApoE*<sup>+/+</sup> マウスと *Dab1*<sup>-/-</sup>

*ApoE*<sup>-/-</sup> マウスでリン酸化タウの量に変化はなかった。このことから、*Dab1* はタウのリン酸化を抑制するが、*ApoE* の量には非依存的であることが示唆された。

## 2. タウリン酸化酵素の活性の計測

1 で作製したマウスの脳抽出液を用いて、タウのリン酸化酵素として知られる GSK-3 $\beta$  と CDK-5 の活性を調べた。

その結果 *Reln* または *Dab1* 欠損マウスでは、野生型マウスより GSK-3 $\beta$  および CDK-5 活性が高いことがわかった。さらに *Reln* 欠損マウスでは *ApoE* 量が減少するにつれ GSK-3 $\beta$  活性が上昇した。しかし *Dab1* 欠損マウスでは *ApoE* 量に非依存的であった。また *Reln* または *Dab1* 欠損マウスでは、CDK-5 のコアクチベーター p25 量の上昇がみられた。

## 3. タウ脱リン酸化酵素の活性の計測

1 で作製したマウスの脳抽出液を用いて、タウの脱リン酸化酵素として知られる PP2A、PP2B、MKP-1 のタンパク量をウェスタンブロットで調べた。

その結果、*Reln* 欠損マウスでは野生型マウスとほとんど変化がなかった。また *Dab1* 欠損マウスでは PP2A および PP2B に関してはほとんど変化はなかったが、MKP-1 量は *Dab1*<sup>-/-</sup> *ApoE*<sup>+/+</sup> マウスにおいて増加し、さらに *Dab1*<sup>-/-</sup> *ApoE*<sup>-/-</sup> マウスで増加した。

## 【総括】

1. *Reln* および *ApoE* はともにタウのリン酸化を抑制することが示唆された。さらにこの経路に *Dab1* が関与することが示唆された。
2. *Reln* は CDK-5、GSK-3 $\beta$  活性を制御することでタウのリン酸化を抑制し、*ApoE* は GSK-3 $\beta$  活性を制御することでタウのリン酸化を抑制することが示唆された。
3. *Reln* および *ApoE* によるタウのリン酸化の抑制経路に、PP2A、PP2B は関与しないことが示唆された。
4. 以上より、*ApoE* 受容体のリガンドは、*Dab1* を介し GSK-3 $\beta$  および CDK-5 活性を制御することで、タウのリン酸化を抑制することが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

アポリポ蛋白 E (*ApoE*) のサブタイプ E4 は、アルツハイマー病の最大の危険因子として広く認知されているが、*ApoE* とアルツハイマー病発症機序との関係は未だほとんど解明されていない。

本研究では、リーリンまたは *Dab1* ノックアウトマウスと、*ApoE* ノックアウトマウスを交配してダブルノックアウトマウス作製し、*ApoE* が *Reelin* と同様にタウ蛋白の高度リン酸化を抑制していることを証明した。さらにこの経路に GSK3 $\beta$  が関与することを実験動物レベルで証明した。本研究の結果から、*Reelin* または *ApoE* が *ApoE* 受容体および *Dab1* を介し tau のリン酸化を調節する、新しいシグナル伝達経路の存在が示唆された。

この研究に用いられたマウスは新しいアルツハイマー病のモデルマウスとなりうる可能性を秘め、本研究で得られた新しいシグナル伝達経路は、アルツハイマー病発症機序と *ApoE* との関係の解明のみならず、新しい診断法や治療法の確立に非常に重要な役割を果たす可能性を秘めている。

よって本研究は学位論文に値し、発表者は博士（医学）の学位授与に値すると考えられる。