The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Apolipoprotein E and Reelin ligands modulate tau phosphorylation through an Apolipoprotein E receptor/disabled-1/glycogen synthase kinase-3β cascade
Author(s)	大久保, 信孝
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43815
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【5】

氏　　名	大久保　信　孝（おおくぼ　のぶ　たか）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　17575　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 mondulate tau phosphorylation through an Apolipoprotein E receptor/disabled-1/glycogen synthase kinase-3β cascade. （アポリポ蛋白Eとリーリンはアポ E 受容体/Dab-1/GSK3-β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*$^{-/-}$ *ApoE*$^{+/+}$）、Reln欠損かつApoE量が半分のマウス（*Reln*$^{-/-}$ *ApoE*$^{+/-}$）、RelnとApoEの両方を欠損したマウス（*Reln*$^{-/-}$ *ApoE*$^{-/-}$）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*$^{-/-}$ *ApoE*$^{+/+}$ マウスで増加し、*Reln*$^{-/-}$ *ApoE*$^{+/-}$ マウス、*Reln*$^{-/-}$ *ApoE*$^{-/-}$ 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*$^{-/-}$ *ApoE*$^{+/+}$）、Dab1とApoEを両方欠損したマウス（*Dab1*$^{-/-}$ *ApoE*$^{-/-}$）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*$^{-/-}$ *ApoE*$^{+/+}$ マウスと *Dab1*$^{-/-}$

ApoE$^{-/-}$ 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-3β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-3β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-3β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のタンパク量をウエ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*$^{-/-}$ *ApoE*$^{+/+}$ マウスにおいて増加し、さらに*Dab1*$^{-/-}$ *ApoE*$^{-/-}$ 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-3β活性を制御することでタウのリン酸化を抑制し、ApoEはGSK-3β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-3β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GSK3β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。