



Title	INHIBITION OF ENDOCYTOSIS ACTIVATES ALTERNATIVE DEGRADATION PATHWAY OF β APP IN CULTURED CELLS.
Author(s)	福盛, 亮雄
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46191
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 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

氏 名	福 森 亮 雄
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 20159 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科未来医療開発専攻
学 位 論 文 名	INHIBITION OF ENDOCYTOSIS ACTIVATES ALTERNATIVE DEGRADATION PATHWAY OF β APP IN CULTURED CELLS. (培養細胞においてエンドサイトーシスの抑制は β APP の別の分解経路を活性化する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 武 田 雅 俊 (副査) 教 授 祖 父 江 憲 治 教 授 遠 山 正 彌

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

アルツハイマー病に関係する β APP は、細胞外部分の切断 (shedding) と膜貫通部分の切断 (γ -cleavage) からなる段階的蛋白分解をうけ、A β を放出する。この β APP の shedding には主に β -セクレターゼ (BACE1/2) と α -セクレターゼ (ADAM9/10/17) によるものの 2 種類が知られており、それぞれ、主に D¹ 部位 (A β 番号) と L¹⁷ 部位を切断する。これら以外にも、 β APP の細胞外部分は I⁶、V³、R⁵、E¹¹、F²⁰、A²¹ 部位で切断されることが報告されている。これらの切断部位の中で R⁵ 位は α -セクレターゼ様の酵素、E¹¹ 位/F²⁰、A²¹ 位は β -セクレターゼ (BACE1/2) により切断される。しかし、V³ と I⁶ 位の切断に関しては α/β -セクレターゼが関与しているのか未だ明らかにされていない。本研究はこの V³ と I⁶ 位の切断の性質を調べることを目的として行った。

[方法ならびに成績]

我々は β APP 発現培養細胞を様々な薬剤で処理し、その培養上清中に放出される A β 分子種を免疫沈降・マススペクトロメトリー法で解析することにより、V³ と I⁶ 位の切断の変化を調べた。まず我々はこれらの切断が細胞表面膜上か細胞内かのいずれでおこるかを調べるために、2つの異なる方法 (Bafilomycin A1 処理と Dynamin dominant negative mutant 発現) でエンドサイトーシスを阻害した。細胞は野生型 β APP (β APP wt) 発現細胞と病原性スウェーデン変異型 β APP (β APPsw) 発現細胞の 2 種類を用いて検討した。その結果、 β APPwt と β APPsw の双方で、いずれのエンドサイトーシス阻害法においても、V³ と I⁶ 切断はともに増加していた。このことから、これらの切断は細胞表面膜上で起こることが示唆された。

α -セクレターゼ切断は細胞表面膜上で起こり、一方 β -セクレターゼ切断は細胞内で起こる事が知られているので、これらの切断はともに α -セクレターゼ様の作用でおこっている可能性を考えた。しかし、これらの切断は α -セクレターゼ促進剤の処理により増加せず、 α -セクレターゼによるものではないことが示唆された。一方、 β -セクレターゼ阻害剤の処理ではこれらの切断に異なる影響が見られた。I⁶ 切断は β -セクレターゼ阻害剤でほとんど抑制されなかったが、V³ 切断は若干抑制された。つまり、I⁶ 切断は β -セクレターゼによるものではなかった。

Presenilin (PS) の変異は主要な D¹ 部位での shedding に引き続いて起こる γ -cleavage の正確さに影響を及ぼす事が知られているので、PS L166P 発現細胞を用いて V⁻³ と I⁻⁶ 位での細胞外切断に引き続いて起こる γ -cleavage の正確さが変化するかどうか検討した。その結果、これら部位での切断の後でも、 γ -cleavage の正確さが変化していた。また V⁻³ と I⁻⁶ 位での細胞外切断の増加は見られなかった。

[総 括]

我々は β APP の I⁻⁶ 位の切断は細胞表面膜上で起こり、その切断には α -セクレターゼも β -セクレターゼも関与していないことを示した。この結果は β APP の分解過程にはこれまでに知られている典型的な細胞外部位の切断以外の様式があることを示唆している。また、V⁻³ と I⁻⁶ 位での切断と家族性アルツハイマー病の病原性変異との関係に注目すると、PS と β APP の両方において、野生型に比べて病原性変異体でこれらの細胞外部分の切断が増加するようなことはなかった。このことから、これらの細胞外部分の切断は PS と β APP いずれの病原性変異による表現型とも結びついていないことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究はアルツハイマー病に関連する β APP の細胞外部分の V⁻³ と I⁻⁶ 切断の性質を MALDI-TOF マススペクトロメトリーを用いて詳細に研究したものである。その結果、エンドサイトーシスの阻害によりこれらの切断の増加がおこること、また I⁻⁶ 切断は α/β -セクレターゼ共に関与していない事が示された。これらのことから β APP の蛋白分解にはエンドサイトーシスのレベルにより変化する分解経路があることが示唆される。

本研究はアルツハイマー病に関連する β APP の分解経路の解明に貢献したものであり、学位の授与に値すると考えられる。