

Title	Lipocalin-type prostaglandin D synthase/ β -trace is a major amyloid β -chaperone in human cerebrospinal fluid
Author(s)	兼清, 貴久
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49036
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	かね 兼 清 貴 久
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 21476 号
学位授与年月日	平成 19 年 5 月 21 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学位論文名	Lipocalin-type prostaglandin D synthase/ β -trace is a major amyloid β -chaperone in human cerebrospinal fluid (髄液におけるリポカリン型プロスタグランディン D 合成酵素/ベータ・トレースはアミロイド・ベータ凝集に対するシャペロン活性をもつ)
論文審査委員	(主査) 教授 大菌 恵一 (副査) 教授 内山 安男 教授 武田 雅俊

論文内容の要旨

〔目的〕

アルツハイマー病において脳におけるアミロイド・ベータ ($A\beta$) の凝集および沈着が主要な病因である。しかしながら、なぜアルツハイマー病患者においてその凝集・沈着がひきおこされているかは不明であり、正常では何らかの分子が $A\beta$ の代謝を適切にコントロールしていると考えられている。一方、リポカリン型プロスタグランディン D 合成酵素 (L-PGDS)/ β -trace はヒト髄液の主要蛋白であり、レチノイン酸やビリルビンなどの疎水性小分子と結合することが知られている。従って、我々は L-PGDS/ β -trace の $A\beta$ に対する相互作用について解析を行った。

〔方法ならびに成績〕

アルツハイマー病モデルマウスである Tg2576 およびアルツハイマー病患者脳において L-PGDS/ β -trace の免疫組織化学染色を行ったところ、老人斑の部位に L-PGDS/ β -trace が存在することが分かった。このことは L-PGDS/ β -trace が $A\beta$ と結合することを示唆しており、表面プラズモン共鳴を用いた結合解析においても L-PGDS/ β -trace は $A\beta$ に対し強い結合を示した。

$A\beta$ はリン酸緩衝生理食塩水 (pH 7.4) 中において 37°C でインキュベーションすることで凝集がおこる。 $A\beta$ の自然凝集に対する L-PGDS/ β -trace の影響をチオフラビン T 蛍光アッセイにて解析を行った結果、ヒト髄液中の生理的濃度内である 1.5 μ M で 50 μ M $A\beta$ (1-40) および (1-42) の凝集を濃度依存的に抑制することが確認された。 $A\beta$ はアミロイド核存在下では急速に凝集することが知られているが、この核依存性の 50 μ M $A\beta$ (1-40) の凝集も L-PGDS/ β -trace は $K_i=0.75 \mu$ M で抑制した。この L-PGDS/ β -trace の作用は原子間力顕微鏡・円偏光二色性スペクトラムによっても確認された。

ヒト髄液は 50% の濃度で 50 μ M $A\beta$ (1-40) の自然凝集をインキュベーション開始後 96 時間の時点で 90% 抑制したが、抗体カラムを用いることによってヒト髄液から L-PGDS/ β -trace を除去するとその髄液の効果は 36% に減少した。さらに、ビオチン標識 $A\beta$ (1-42) をマウス脳室内に投与し脳切片あたりの沈着量を [125 I] 標識ストレプトアビジンの結合を測定することによって解析したところ、その沈着は野生型マウスに比べると L-PGDS ノックアウトマ

ウスにおいて3倍に増加し、一方 L-PGDS 過剰発現させたトランスジェニックマウスにおいては23%に減少した。

[総括]

L-PGDS/ β -trace は A β の凝集を *in vitro* および *in vivo* の両方で抑制した。これらの結果は、L-PGDS/ β -trace が生体内で A β の凝集をコントロールしている内因性のシャペロンであることを強く示唆している。我々の発見はアルツハイマー病に対する新規のバイオマーカーや治療法の開発を可能にするものである。

論文審査の結果の要旨

アルツハイマー病では脳内におけるアミロイド・ベータの凝集および沈着が主要な病因であるが、正常では何らかの分子がアミロイド・ベータの代謝を適切にコントロールしていると考えられている。ヒト髄液の主要蛋白質であるリポカリン型プロスタグランジン D 合成酵素 (L-PGDS)/ β -trace は、疎水性小分子と結合することが知られているため、筆者らは L-PGDS/ β -trace のアミロイド・ベータに対する相互作用について解析を行い、L-PGDS/ β -trace はアミロイド・ベータに強固に結合し、その凝集を抑制することを証明した。これらの結果は、L-PGDS/ β -trace が生体内で A β の凝集をコントロールしている内因性のシャペロンであることを強く示唆している。筆者らの研究はアルツハイマー病に対する新規のバイオマーカーや治療法の開発を可能にするものであり、学位の授与に値すると考えられる。