

Title	Decrease of dynamin 2 levels in late-onset Alzheimer's disease alters A $\beta$ metabolism
Author(s)	鎌形, 英一郎
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49930">https://hdl.handle.net/11094/49930</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">〈a href="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="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	鎌 形 英 一 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 2 7 6 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 1 年 3 月 2 4 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臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Decrease of dynamin 2 levels in late-onset Alzheimer's disease alters A $\beta$ metabolism (晩年発症型アルツハイマー病における Dynamin2 の低下が A $\beta$ の代謝を変化させる)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 武 田 雅 俊 (副査) 教 授 佐 古 田 三 郎 教 授 遠 山 正 彌

論 文 内 容 の 要 旨

[ 目 的 ]

アルツハイマー病 (AD) はもっとも一般的な老年期の認知症である。ADは病理学的に脳における神経原繊維変化とアミロイド斑を特徴とする。アミロイド斑を構成する $\beta$ アミロイド (A $\beta$ ) はADにおけるシナプス障害や細胞死の原因分子として考えられている。晩年発症型AD (LOAD) と若年発症型AD (EOAD) は同様の神経病理学的所見を示す。しかしLOADはEOADと比較し、より多遺伝子性の疾患と考えられている。以前の研究は、Dynamin 2 (DNM2) のSNPがLOADと関連することを報告している。今回、我々はDNM2のAmyloid cascadeに対する影響について検討した。

[ 方 法 なら び に 成 績 ]

RT-PCRを用い、AD 7例、対照 7例の脳のtemporal cortexにおけるmRNA量を測定した。その結果、DNM2 mRNAはAD群において対照群より有意に低下していた。対して、DNM1、DNM3では群間に有意な差は認められなかった。また、認知症 8 2例、対照 1 1例から得た末梢白血球におけるDNM2 mRNAを同様の方法で測定したところ、DNM2 mRNAは認知症群において対照群より有意に低下していた。

次にSwedish mutant APPの導入されたヒト神経由来培養細胞SH-SY5Yを用いた検討を行った。はじめにDNM2のドミナントネガティブであるpcDNA/DNM2K44Aと、DNM1のドミナントネガティブであるpcDNA/DNM1K44Aを用いてDNM機能阻害を行った。培

養液中に分泌されたA $\beta$ をELISA法を用いて調べたところ、DNM2単独の阻害で分泌A $\beta$ 42の上昇、DNM1とDNM2双方の阻害で分泌A $\beta$ 40および42の増加が見られた。その条件下で細胞表面のビオチン化をもちいて回収した細胞膜、細胞分画キットをもちいて回収した膜分画の双方でA $\beta$ の前駆体であるAPPについて免疫プロット法で調べた。その結果、双方の方法でDNM機能阻害による細胞膜上のAPPの増加が確認された。加えて、A $\beta$ 産生に影響すると考えられている脂質ラフトのマーカーであるflotillin-1も同様に細胞膜上での増加が確認された。また、APPを切断する $\gamma$ セクレターゼ作用に重要な物質であるPS1を細胞表面ビオチン化を用い回収した細胞膜において免疫プロットで確認した。結果、PS1がこれらの条件下で細胞膜に存在することも確認された。

[ 総 括 ]

ADにおいてDNM2 mRNAは減少していた。DNMの機能の阻害が培養細胞系において分泌A $\beta$ を上昇させた。また、DNM機能低下によってAPPは細胞膜に蓄積していた。これらの結果はADにおけるDNM2の低下が、APP・A $\beta$ 代謝の変化を介してAD病理に関与することを示唆する。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

以前に示されたDynamin 2 (DNM2) のSNPと晩年発症型アルツハイマー病 (LOAD) の関連に関する検討を行っている。RT-PCRを用い、mRNAを測定したところアルツハイマー病 (AD) 患者の脳ではDNM2 mRNAの発現が有意に低下していた。対して、DNM1、DNM3では有意な差は認められなかった。ヒト神経芽細胞を用いた検討では、ドミナントネガティブを用いたDNM機能阻害による分泌A $\beta$ の増加が見られた。また、DNM機能阻害による形質膜上のAPPの増加が確認された。またA $\beta$ 産生に関与する脂質ラフトについても検討している。その結果Dynamin機能阻害によって形質膜における脂質ラフトが変化することも示唆された。今回の結果はDNM2の機能低下はAPPの局在の変化とそれに伴うA $\beta$ の上昇を起こしLOADの病態に関与することを示唆する。以上の結果は学位に値すると考える。