



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">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	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 21 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、D y n a m i n 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 A m y l o i d c a s c a d e 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 t e m p o r a l c o r t e x 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 S w e d i s h m u t a n t 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 p c D N A / D N M 2 K 4 4 A と、DNM1 のドミナントネガティブである p c D N A / D N M 1 K 4 4 A 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 E L I S A 法を用いて調べたところ、DNM2 単独の阻害で分泌 A  $\beta$  4 2 の上昇、DNM1 と DNM2 双方の阻害で分泌 A  $\beta$  4 0 および 4 2 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 について免疫ブロット法で調べた。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 f l o t i l l i n - 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 P S 1 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ブロットで確認した。結果、P S 1 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 〕

A D 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 D y n a m i n 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 D y n a m i n 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。