OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	APLP2 is predominantly cleaved by β-secretase and γ-secretase in the human brain
Author(s)	丸山, 理気
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/92873
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	丸山　理気
論文題名 Title	APLP2 is predominantly cleaved by β-secretase and γ-secretase in the human brain (APLP2 はヒトの脳内では主にβセクレターゼとγセクレターゼによって切断される)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

アミロイドβペプチドはアルツハイマー病の病原体としてよく知られているが、その前駆体であるアミロイドβ前駆体蛋白質(APP)は、発見後30年経過した現在も機能が十分に解明されていない。APPにはアミロイド前駆体様蛋白質1(APLP1)とアミロイド前駆体様蛋白質2(APLP2)と呼ばれる2つのホモログがあり、共通構造を持ち、機能も部分的に重複している。過去に実施されたAPLP1やAPLP2などのAPPファミリー蛋白質のノックアウトマウス交雑研究では、APPファミリー蛋白質が生存に不可欠であることが示されている。特にAPLP2はその中で最も重要な役割を果たしていることが知られているが、APLP2の分子代謝メカニズムは部分的にしか解明されていない。そのため我々はAPLP2機能に着目し、分子生物学的および生化学的手法を用いて、ヒト由来細胞系およびヒト脳脊髄液におけるヒトAPLP2のα/β/γセクレターゼによるα/β/γ/ε-like切断部位を分析した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

方法：ヒトAPLP2を過剰発現するヒト由来細胞系(HEK293細胞)を作成し、細胞から分泌されるAPLP2フラグメントをMALDI-TOF質量分析にかけ、α/β/γ-like切断部位を同定した。また、ヒトAPLP2βカルボキシル末端フラグメント(CTF)を過剰発現するHEK293細胞を作成し、細胞から分泌されるAPLP2細胞内領域 (ICD)フラグメントを質量分析にかけ、ε-like切断部位を同定した。また、ヒト脳脊髄液のAPLP2断片も質量分析にかけ酵素切断部位を同定した。APLP2断片解析のため、APLP2の膜近傍領域に反応するOA603抗体を作成した。

成績：HEK293細胞においてヒトAPLP2は細胞外領域の2カ所のα-like切断部位および1カ所のβ-like切断部位でシェディングを受け、その後3つのγ-like切断部位で膜内切断されることが分かった。この結果は過去にHoglらがヒトAPLP2で同定した切断部位とほぼ同様であった。また、HEK293細胞におけるヒトAPLP2切断はαセクレターゼ/γセクレターゼ活性が中心であった。ヒトAPLP2のε-like切断部位に関しては、Guらがラット APLP2で報告した1カ所のε-like切断部位に加えて、新たに2カ所のε切断部位を発見した。また、ヒト脳脊髄液におけるヒトAPLP2切断ではαセクレターゼ活性と比較して、βセクレターゼ/γセクレターゼ活性が中心であることが分かった。APPが主にニューロン内のBACE1 (ベータ部位アミロイド前駆体蛋白質切断酵素1)によって切断されるという過去の報告や、APLP1がニューロン内でのみ発現するといった研究報告と今回の結果を併せて考えると、APPファミリー蛋白質は中枢神経系ではβセクレターゼによる切断を介して共通の役割を果たしている可能性があることが示唆された。

〔総　括(Conclusion)〕

これらの調査結果は、アルツハイマー病におけるAPPファミリー蛋白質の役割解明に貢献し得る。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　丸山　理気

論文審査担当者	（職）	氏名
主　査	大阪大学教授	工藤 喬
副　査	大阪大学教授	望月秀樹
副　査	大阪大学教授	片山泰一

論文審査の結果の要旨

本研究は、アルツハイマー病の原因物質とされるアミロイドβの前駆体物質APPのホモログに当たるAPLP2に着目し、MALDI-TOF質量分析を用いて、ヒト由来培養細胞条件およびヒト脳脊髄液条件でAPLP2の酵素切断解析を行ったものである。今回、APLP2がヒト由来培養細胞系においてはα/γセレクターゼ中心に切断され、ヒト脳脊髄液中ではβセクレターゼ/γセレクターゼ活性優位に切断されるという結果が明らかになったが、APP/APLP1が神経細胞系においてβセクレターゼの切断を受けるという研究報告と併せると、APPファミリー蛋白が中枢神経系においてβセクレターゼ活性を介して共通の役割を持つことが示唆され、βセクレターゼ阻害剤が神経系で引き起こす様々な作用のメカニズムを解明しうると考えられた。また、過去のAPLP2研究では報告されていなかった複数の酵素切断部位を新たに発見し、APLP2の切断モデルを従来のモデルと比較して、さらに正確に類推することが可能となった。

これらの知見はアルツハイマー病の分子生物学的基盤についての理解に寄与するものであり、学位に値するものと考える。