

京都大学	博士 (医学)	氏 名	近藤 孝之
論文題目	Modeling Alzheimer's Disease with iPSCs Reveals Stress Phenotypes Associated with Intracellular A $\beta$ and Differential Drug Responsiveness アルツハイマー病患者由来 iPSC 細胞を用いた細胞内 A $\beta$ 関連ストレスと薬剤応答性の解明		
(論文内容の要旨)			
<p>アルツハイマー病 (AD) の脳内には、アミロイドベータ蛋白 (amyloid beta: A<math>\beta</math>) を主成分とする老人斑が病理学的特徴として見られる。A<math>\beta</math> は、アミロイド前駆蛋白 (amyloid precursor protein: APP) から二段階の酵素切断で切り出され、細胞外に分泌される。老人斑に蓄積する A<math>\beta</math> は、不溶性の線維状重合構造をとり細胞毒性を有することから、A<math>\beta</math> を起点として神経細胞死が導かれるとする A<math>\beta</math> 仮説が受け入れられてきた。さらに、A<math>\beta</math> 単体が 2~12 分子集まって重合した可溶性のオリゴマー体 (A<math>\beta</math> オリゴマー) は、非常に強いシナプス・神経細胞に対する毒性を持ち、AD 患者脳内の A<math>\beta</math> オリゴマー蓄積量は認知機能低下と相関する事実から、AD 病態における A<math>\beta</math> オリゴマーの重要性が指摘されている。</p> <p>近年 APP E693del 変異を有する家族性 AD 家系が報告され、典型的な AD 様の臨床症状が見られる一方で、老人斑の画像診断法である PIB-PET 検査では脳内線維状重合 A<math>\beta</math> が検出されなかった。さらに培養細胞株に E693del 変異 APP を過剰発現させると、線維状重合 A<math>\beta</math> ではなく、細胞内に A<math>\beta</math> オリゴマーが蓄積する。そこで我々は、この家系の神経細胞を作出し、A<math>\beta</math> オリゴマーのもたらす AD 病態を検討した。</p> <p>健常人・家族性 AD の患者 (APP E693del 変異、APP V717L 変異) ・孤発性 AD 患者から iPSC 細胞を樹立し、大脳皮質神経細胞へと分化誘導した。それぞれの神経細胞培養上清中の A<math>\beta</math> 量は、健常人由来と比較して、APP E693del 変異をもつ神経細胞からの A<math>\beta</math> 分泌量は極めて低いことがわかった。APP V717L 変異では、より高い毒性・重合能をもつ細胞外 A<math>\beta</math> 42 画分が増加しており病態との関連が示唆された。次に、A<math>\beta</math> オリゴマーを特異的に認識する抗体を用いて「細胞内 A<math>\beta</math>」を検討すると、APP E693del 変異を有する神経細胞の細胞質および神経突起内に、A<math>\beta</math> オリゴマーの蓄積がみられた。</p> <p>細胞内 A<math>\beta</math> オリゴマーが蓄積する神経細胞では、小胞体ストレスのマーカー蛋白である BiP の上昇が見られた。網羅的遺伝子発現解析では抗酸化ストレス関連タンパク質の遺伝子発現が上昇していた。蛋白レベルの解析でも、酸化ストレスマーカーの一つであるペルオキシレドキシニン-4 量と細胞内活性酸素種が、APP E693 del 変異を有する神経系細胞で増加しており、A<math>\beta</math> オリゴマーによる小胞体・酸化ストレスの惹起が示唆された。さらに、神経栄養因子を培養液中から除去すると、APP E693 del 変異を有する神経細胞の細胞死が観察された。</p> <p>次に、小胞体ストレスを指標として複数種の化合物の効果を評価したところ、ドコサヘキサエン酸 (DHA) を添加すると小胞体ストレスが緩和され、酸化ストレス、細胞死シグナルの抑制も確認された。DHA は、APP E693 del 変異を有する神経細胞の細胞死も改善し、病態改善薬としての可能性を示された。</p> <p>さらに、二名の孤発性 AD 患者由来 iPSC 細胞を用いて同様の検討を行った。内 1 名の孤発性 AD 患者由来神経細胞においては APP E693del 変異が無いにもかかわらず、細胞内 A<math>\beta</math> オリゴマーの蓄積と同様の細胞ストレスが生じていた。残り 1 名の孤発性 AD 患者由来神経細胞では、細胞内 A<math>\beta</math> オリゴマーを認めなかった。</p> <p>今回の結果は、A<math>\beta</math> オリゴマーの病態モデリングにとどまらず、孤発性 AD の背景にひそむ 分子病態は単一ではなく個々の患者の病態特性が潜在する可能性を示唆していると考えた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

アルツハイマー病 (AD) の脳内には、アミロイドベータ蛋白 (amyloid beta: A $\beta$ ) が蓄積することがよく知られている。中でも毒性の強い A $\beta$  オリゴマー体は AD 病態に重要であると考えられているがその機序は不明であった。

申請者らは、家族性アルツハイマー病患者と孤発性アルツハイマー病患者から iPSC 細胞を製した。これらを神経細胞へ分化誘導すると、A $\beta$  の前駆体蛋白である APP に E693  $\Delta$  変異をもつ家族性 AD 患者と、一部の孤発性 AD 患者に由来する大脳皮質神経細胞内に、A $\beta$  オリゴマー体が蓄積することを見出した。さらにこの細胞内 A $\beta$  オリゴマー体が、小胞体ストレスと酸化ストレスを惹起することも見出した。

また、ドコサヘキサエン酸 (DHA) が、細胞内 A $\beta$  オリゴマー体に起因する、小胞体ストレスと酸化ストレスを軽減し神経細胞死も抑制することを見出した。そして DHA がもたらす細胞ストレスの低減効果には個体差があることを示した。DHA の有用性については現在のところ結論が出ていないが、このような個体差に応じて患者を選択することで有用性を証明することができるかもしれない。

このように iPSC 細胞技術は、個別の AD の病態を解明し、個別の病態に応じた治療薬開発に有用であることを示した。

以上の研究はアルツハイマー病脳内に蓄積する細胞内 A $\beta$  オリゴマーが惹起する細胞ストレスの解明に貢献し、将来的なアルツハイマー病の薬剤開発と個別化医療の実現に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 2 月 29 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降