

氏名	野村 泉美
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第3214号
学位授与の日付	平成20年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Mechanism of impairment of long-term potentiation by amyloid $\beta$ is independent of NMDA receptors or voltage-dependent calcium channels in hippocampal CA1 pyramidal neurons (海馬 CA1 錐体細胞において、 $\beta$ -アミロイドによる長期増強の阻害機構は、NMDA 受容体と電位依存性カルシウムチャンネルに依存しない)
論文調査委員	(主査) 教授 河野 憲二 教授 大森 治紀 教授 永田 和宏

### 論 文 内 容 の 要 旨

アルツハイマー病は、加齢に伴い発症する進行性の神経疾患である。患者の脳に特徴的に見られる老人斑の主成分であり内因性のタンパク質  $\beta$  アミロイド ( $A\beta$ ) は、膜タンパク質であるアミロイド前駆体タンパク質から酵素の働きで切り出され、産生される。切り出された  $A\beta$  は、オリゴマーを形成する性質がある。また、単独やオリゴマーの状態では可溶性であるが、高濃度になると凝集して不溶性のフィブリルを形成する。これが脳内に蓄積し、老人斑の核となる。

従来、老人斑の毒性が細胞死を誘導し、記憶障害などを発症させると考えられてきたが、今日、多くの研究が、蓄積する前の可溶性のオリゴマーの段階で既に神経細胞に何らかの悪影響を与え、症状を引き起こしている可能性を示唆している。また、可溶性  $A\beta$  を低濃度で短時間還流すると、細胞レベルでの記憶のモデルで知られる長期増強 (Long-term potentiation: LTP) が阻害されるという報告もある。もし細胞毒性を示さない低濃度の  $A\beta$  がシナプス可塑性を阻害することが病態に関わるのであれば、その機序を解明することは、初期の可逆的な段階での、より効果的な治療法の開発につながることを期待される。

以上の背景から、本研究では、膜電位や細胞内環境を操作できる Whole-cell パッチクランプ法を用いて、 $A\beta$  が神経細胞に及ぼす効果についてより詳細に調べ、可溶性  $A\beta$  が LTP を阻害するメカニズムの一部を明らかにしようとした。

実験には、17-21 日齢の Wister ラットを用い、マイクロスライサーを使って海馬スライスを作成した。海馬 CA1 領域の錐体細胞に微小電極をパッチし、Schaffer-collateral 部位を電気刺激することで興奮性シナプス後電位 (EPSC) を得た。LTP は、短時間の脱分極と theta-burst 刺激を組み合わせた方法で誘導した。また、イオン型グルタミン酸受容体の一種で、LTP の誘導に不可欠である NMDA 受容体の電流は、主要なイオン型グルタミン酸受容体である AMPA 受容体のアンタゴニスト存在下にシナプス刺激を行い測定した。電位依存性カルシウムチャンネル (VDCC) の電流は、 $\text{Na}^+$  チャンネルと  $\text{K}^+$  チャンネルのアンタゴニスト存在下で膜電位を 100ms 脱分極させることで得た。スライスの周囲には酸素を通気した人工脳脊髄液を還流するが、この中に  $A\beta$  (1 $\mu\text{M}$ 、500nM、200nM) を加え、各実験ごとに 15 分間投与した。

以上の条件で実験を行った結果、 $A\beta$  は電気刺激による通常のシナプス伝達や、Paired-pulse facilitation に関しては影響を与えなかったが、濃度依存的に LTP 誘導を阻害した。次に、LTP 誘導において重要な役割を担っている、NMDA 受容体と VDCC の電流について、 $A\beta$  を還流したときの影響を調べたが、 $A\beta$  はこれらの電流に影響を与えなかった。

本研究で、 $A\beta$  は whole-cell パッチクランプ法の系でも LTP 誘導を阻害することが初めて示された。また、これまでの研究で  $A\beta$  が NMDA 受容体の電流を阻害したという報告や VDCC の電流を増強するという報告があったが、これらは LTP 誘導を阻害する条件とは別の条件下での検討であった。しかしながら、本研究によって、LTP 誘導を阻害する系と同じ条件では、 $A\beta$  がこれらの電流に影響を与えていないことが示された。このことは、 $A\beta$  が LTP を阻害するメカニズムについての理解の助けとなり、初期のアルツハイマー病の病態理解と治療応用に役立つと考えられる。

## 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  $\beta$  アミロイド ( $A\beta$ ) の、記憶の細胞レベルのモデルである長期増強 (Long-term potentiation:LTP) に対する影響を電気生理の手法を用いて明らかにしたものである。

実験には 17-21 日齢の Wister ラットから作成した海馬スライスを用い、海馬 CA1 領域の錐体細胞に微小電極をパッチし、Schaffer-collateral 部位を電気刺激することで興奮性シナプス後電位 (EPSC) を得た。LTP は、短時間の脱分極と theta-burst 刺激を組み合わせた方法で誘導した。スライスの周囲には酸素を通した人工脳脊髄液を還流するが、この中に  $A\beta$  (1 $\mu$ M、500nM、200nM) を加え、各実験ごとに 15 分間投与した。

研究の結果、 $A\beta$  は whole-cell パッチクランプ法の系でも LTP 誘導を阻害することが初めて示された。また、 $A\beta$  は LTP 誘導を阻害する系と同じ条件では細胞内に流入するカルシウム電流に影響を与えていないことが示された。

以上の研究は、 $A\beta$  が LTP を阻害するメカニズムの解明に貢献し、初期のアルツハイマー病の病態理解と治療応用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 20 年 2 月 4 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。