

氏 名	さと い ひとし 里 井 斉
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1886 号
学位授与の日付	平 成 17 年 7 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Astroglial expression of ceramide in Alzheimer's disease brains; a role during neuronal apoptosis に関する研究 (アルツハイマー病脳における星状膠細胞のセラミド発現; ニューロンアポトーシス過程での役割)
論文調査委員	(主 査) 教 授 橋 本 信 夫 教 授 大 森 治 紀 教 授 米 原 伸

### 論 文 内 容 の 要 旨

神経細胞のアポトーシスは脳の発達過程にとどまらず、老化や神経変性疾患にも関与している。近年の研究からアポトーシスの誘導にセラミドが密接に関わっていることの証拠が集積してきている。ニューロンのアポトーシスにおいては、Akt が不活化されることにより BAD 脱リン酸化や Caspase-9 の活性化が誘導され Caspase-3 の活性化が生じることが、in vitro の実験から証明されている。セラミドは Akt を不活化することでアポトーシスの一連のカスケードを誘導すると考えられている。また、IAP (inhibitor of apoptosis protein) は caspase-9 の活性阻害によりアポトーシスを抑制するが、B cell receptor induced apoptosis の実験系においてはセラミドが proteasome における IAP の分解を促進しアポトーシスを誘導することが報告されている。

神経変性疾患におけるセラミドの役割を明らかにする目的で、神経変性疾患患者の脳脊髄液と脳組織のセラミド発現量を調べ、ニューロンのアポトーシス過程における細胞内外でのセラミド・レベルの制御機構を検討した。最初に、神経変性疾患患者における脳脊髄液を超速心で細胞成分を除去しセラミド量を測定したところ、アルツハイマー病においては同年齢の筋萎縮性側索硬化症 (ALS) や他の神経疾患対照と比較し脳脊髄液のセラミド量が増加していた。また、免疫組織学的手法によりアルツハイマー病患者の前頭葉組織では、セラミドを発現する星状膠細胞を認めた。しかし ALS や他の神経疾患対照ではセラミド陽性星状膠細胞を認めなかった。

ついで脳内のセラミド制御機構を調べるため培養神経細胞のアポトーシス過程におけるセラミド代謝を調べた。In vitro でニューロblastoma細胞にレチノイン酸を用いてアポトーシスを誘導するとセラミド産生の上昇が認められた。この際のデ・ノボ合成経路におけるセラミド産生はごくわずかであり、セラミドからグルコシルセラミドへの転換に関与するグルコシルセラミド合成酵素の阻害が主体であることが判明した。さらにデ・ノボ経路がアポトーシスの際に機能するか否か調べる目的で、レチノイン酸とともに標識されたセリンを投与し、細胞外セリンを細胞に取り込ませ細胞外に放出された標識セラミド濃度を定量した (Chasing 実験)。さらに、標識されたセリンを投与し細胞内セラミド・プールの一部をあらかじめ標識しておき、レチノイン酸投与後の細胞外セラミド濃度を調べた (Turnover 実験)。Chasing, Turnover いずれの実験系においても、細胞外のスフィンゴミエリン濃度に変化は認めなかったが、培養液中の標識セラミド濃度は著明な上昇を認めた。

以上の結果から、アルツハイマー病では星状膠細胞を中心として細胞内外でセラミド含量が増加していること、グルコシルセラミド合成酵素の阻害による細胞内セラミド・レベルの制御機構が示された。アルツハイマー病におけるニューロンのアポトーシスは細胞外で作用するセラミド・シグナルを介して生じる可能性がある。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、神経変性疾患患者の脳脊髄液と脳組織のセラミド発現量を調べ、ニューロンのアポトーシス過程における細胞内外でのセラミド・レベルの制御機構を明らかにした。

神経変性疾患患者における脳脊髄液のセラミド含量は、アルツハイマー病では同年齢の筋萎縮性側索硬化症（ALS）や他の神経疾患対照群と比較し有意な増加を認めた。免疫組織化学法によりアルツハイマー病患者の前頭葉組織ではセラミドを発現する星状膠細胞を認めたが、ALS や他の神経疾患対照では陰性であった。

脳内のセラミド制御機構を調べるため培養神経細胞のアポトーシス過程におけるセラミド代謝を調べた。In vitro でニューロblastoma細胞培地にレチノイン酸を加えてアポトーシスを誘導すると、セラミド・レベルの上昇が認められた。この機序としてデ・ノボ合成経路を介したセラミド産生増加はわずかであったが、セラミドからグルコシルセラミドへの変換に関与するグルコシルセラミド合成酵素の活性低下を認め、グルコシルセラミドへの変換の低下が主な原因であることが判明した。

以上の結果から、アルツハイマー病では星状膠細胞を中心として細胞内外でセラミド含量が増加していること、グルコシルセラミド合成酵素の活性低下による細胞内セラミド・レベルの制御機構を示した。アルツハイマー病におけるニューロンのアポトーシスは、細胞外で作用するセラミド・シグナルを介して生じる可能性がある。

以上の研究は神経変性メカニズムの解明に貢献し、臨床神経学の進歩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17年5月23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。