TITLE:

Synaptic vesicle protein 2B negatively regulates the amyloidogenic processing of A β PP as a novel interaction partner of BACE1(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Miyamoto, Masakazu

CITATION:

Miyamoto, Masakazu. Synaptic vesicle protein 2B negatively regulates the amyloidogenic processing of A β PP as a novel interaction partner of BACE1. 京都大学, 2020, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2020-07-27

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22689>

RIGHT:

許諾条件により本文は2020-08-24に公開

京都大学	博士（ 医学 ）	氏名	宮 本 将 和
論文題目	Synaptic vesicle protein 2B negatively regulates the amyloidogenic processing of AβPP as a novel interaction partner of BACE1 (新規 BACE1 結合蛋白であるシナプス小胞蛋白 2B は BACE1 によるアミロイド前駆体蛋白の切断を抑制的に制御する)		
(論文内容の要旨)			
[背景と目的]			
<p>アルツハイマー病 (Alzheimer’ s disease; AD) は、老人斑、シナプス脱落、神経原線維変化、および神経細胞死を病理学的特徴とし、我が国の認知症の原因疾患のうち最多を占める神経変性疾患である。老人斑および神経原線維変化の主成分はそれぞれアミロイド β タンパク質 (Aβ) および過剰リン酸化タウであるが、AD の病態の中では Aβ の産生や蓄積が最上流にあるとする、いわゆるアミロイドカスケード仮説が広く受け入れられている。シナプス脱落が病初期 AD の主要症候である記憶障害と密接に相関することや、シナプスにおける可溶性 Aβ オリゴマーの局在が神経原線維変化の形成よりも認知機能障害の発症と密接に関わることが報告されており、AD 病態の上流の標的としてシナプスが注目されている。</p> <p>Aβ はアミロイド前駆体蛋白質 (AβPP) が β、γセクレターゼによる連続切断を受け産生され細胞外へ分泌される。中枢神経系 β セクレターゼ活性を担う β-site APP cleaving enzyme 1 (BACE1) は、脳内の全 Aβ 産生に必須かつ律速の酵素であるため AD 病態において重要な役割を担うと考えられる。近年、BACE1 による AβPP 切断を抑制する AβPP 変異 (A637T) は認知症の発症に防御的であることが報告され、BACE1 による AβPP 切断活性が AD 発症リスクに直結することが示された。一方、Aβ の生理的な役割は依然不明だが、Aβ が神経活動依存的にシナプスで産生、分泌されることが明らかになり、AβPP や BACE1 などの Aβ 産生の鍵分子がシナプスに局在する報告も相次いでいる。しかしシナプスにおける BACE1 の AβPP 切断活性の分子制御機構についてほとんど明らかにされていない。本研究では、シナプスでの Aβ 産生を制御する新規 BACE1 結合シナプス蛋白を同定することを目的とした。</p>			
[方法]			
<p>野生型ラット脳由来のシナプトニューロソームを用いて抗 BACE1 抗体によるプルダウン後、質量分析ベースのプロテオミクス解析により候補蛋白を同定した。 続いて共免疫沈降物のウェスタンブロット法で内因性結合が確認された新規 BACE1 結合蛋白について、過剰発現細胞を用いた実験とノックアウト (KO) マウス脳の解析を行い、BACE1 の AβPP 切断活性におよぼす影響について検証した。</p>			
[結果]			
<p>プロテオミクス解析により同定された候補蛋白のうち、AD 患者脳において遺伝子発現の有意な減少が報告されているシナプス小胞蛋白 2B(Synaptic vesicle protein 2B; SV2B) に着目した。HEK 293 細胞を用いた細胞実験において、SV2B と BACE1 の過剰共発現により、培地中に放出される sAβPP β および Aβ レベルが有意に減少し、SV2B の過剰発現により BACE1 による AβPP 切断が抑制されることが示唆された。一方、SV2B ノックアウトマウスの海馬ライセート中の Aβ レベルは野生型マウスと比較して有意</p>			

に増加していたが、 <i>in vitro</i> アッセイで測定した β セクレターゼ活性および A β PP、BACE1 の蛋白発現レベルには差がなかった。SV2B が BACE1 の局在に及ぼす影響を調べるため、野生型と SV2B KO マウス的大脑皮質ライセートを用いた分画アッセイを行ったところ、野生型と SV2B KO マウスで BACE1 が存在する分画に有意な差が認められた。 [結論] BACE1 の新規シナプス結合蛋白として SV2B を同定した。BACE1 との結合を介して、SV2B が BACE1 による A β PP の切断を抑制的に制御する機能があるという新たな知見が得られた。
(論文審査の結果の要旨) 本研究は、アルツハイマー型認知症 (AD) の新規の治療法開発に関して、AD の病態において重要な酵素である β -site APP cleaving enzyme 1 (BACE1) の新規の結合タンパクを探索し、シナプスにおける BACE1 の制御機序につき検討したものである。野生型ラットのシナプトニューロソームを用いて、免疫沈降法、質量分析ベースのプロテオミクス解析によって BACE1 の新規結合タンパクとして synaptic vesicle protein 2B (SV2B) を同定した。一過性過剰発現系の細胞実験では、SV2B の過剰発現により sAPP β 、A β 40、A β 42 は減少した。また野生型マウスと SV2B ノックアウトマウスの比較では、SV2B ノックアウトマウスにおいて A β 40、A β 42 が増加していた。以上のことから、SV2B は BACE1 による APP 切断を抑制することが示された。細胞実験における SV2B の過剰発現は BACE1 のタンパクレベルの発現に影響を与えず、また SV2B ノックアウトマウスにおいては野生型マウスと比べ BACE1 のタンパクレベル、BACE1 の活性レベル共に差がなかった。以上から SV2B は BACE1 の局在に影響している可能性が考えられた。密度勾配超遠心分離法を用いて BACE1 の局在を調べたところ、野生型マウスと SV2B ノックアウトマウス的大脑の間に BACE1 の局在の変化が認められた。
以上の研究は SV2B がシナプスにおいて BACE1 を抑制的に制御していることを示し、今後のアルツハイマー型認知症の治療法開発に寄与するところが多い。 したがって、本論文は（ 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、令和 2 年 5 月 8 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