

氏 名	う え 植 村 健 吾
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2693 号
学位授与の日付	平成 16 年 3 月 23 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 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻
学位論文題目	Presenilin 1 is involved in maturation and trafficking of N-cadherin to the plasma membrane. (プレセニリン1は、N-カドヘリンの成熟化と形質膜への移送に関わる。)
論文調査委員	(主 査) 教 授 月 田 承 一 郎 教 授 福 山 秀 直 教 授 橋 本 信 夫

論 文 内 容 の 要 旨

アルツハイマー病の初期から認められる病理学的な特徴の一つに、著明なシナプス脱落が挙げられる。早期発症型家族性アルツハイマー病の原因遺伝子として報告されているプレセニリン1は、脳内で神経細胞のシナプス膜部に存在し、シナプス結合に必要な不可欠な細胞接着分子であるN-カドヘリンと結合している。シナプス結合におけるプレセニリン1とN-カドヘリンの結合の意義を明らかにすることを目的として研究を行った。

神経細胞芽腫由来の培養細胞株であるSH-SY5Y細胞に正常型プレセニリン1と機能喪失型変異(D385A)プレセニリン1を遺伝子導入し、これらをそれぞれ安定に過剰発現する細胞株を確立した。N-カドヘリンによる細胞間結合は、正常型プレセニリン1過剰発現した細胞株では亢進し、コロニーを形成しながら発育していたのに対して、機能喪失型プレセニリン1を発現した細胞では細胞間結合が減弱していた。細胞免疫染色による検討を行ったところ、遺伝子導入を行っていない野生株、及び正常型プレセニリン1を遺伝子導入した株では、プレセニリン1とN-カドヘリンの免疫反応性が細胞接着部位を含む細胞表面で共局在していたのに対して、機能喪失型プレセニリン1を発現する細胞では、プレセニリン1、N-カドヘリン共に主に核周囲に免疫反応性が認められた。この細胞株におけるN-カドヘリン免疫反応性は細胞の小胞体に局在するプロテインジスルフィドイソメラーゼの免疫反応性と共局在したため、この細胞株においてN-カドヘリンは主に小胞体に存在していることが示された。対照的に細胞表面におけるN-カドヘリン免疫反応性は機能喪失型プレセニリン1発現細胞株で減弱していた。細胞表面蛋白をビオチン化し、抗N-カドヘリン抗体で免疫沈降する手法を用いて、膜表面に存在するN-カドヘリンのみをウエスタンブロット法で検討したところ、免疫染色で得られた知見と同様に、膜表面のN-カドヘリンは機能喪失型プレセニリン1導入細胞株で減少していることが確認された。さらに細胞分画法による検討を行ったところ、野生型細胞株ではN-カドヘリンは小胞体から膜表面に移送される間に蛋白修飾をうけて成熟化するため、膜分画のN-カドヘリンは小胞体を含む核周囲分画のN-カドヘリンより分子量が小さくなるが、機能喪失型プレセニリン1導入細胞株では膜分画と核周囲分画のN-カドヘリンの分量に違いはなく、成熟化の過程が障害されていることが示唆された。最後に、膜表面でN-カドヘリンは β -カテニンを介して細胞骨格と結合し、安定した接着結合を形成するが、機能喪失型プレセニリン1発現細胞では、この接着結合の形成も減少していることが免疫沈降法を用いて示された。

これらの結果から、プレセニリン1はN-カドヘリンを小胞体から膜に移送するのに必須の役割を果たしており、この機能を介して細胞間接着を調整する働きがあると結論した。N-カドヘリンはアルツハイマー病で特に侵されやすい海馬でのシナプス結合にも重要な働きを果たしており、プレセニリン1変異は家族性アルツハイマー病の原因遺伝子であることから、プレセニリン1によるN-カドヘリンの機能調節の障害が、アルツハイマー病早期に認められるシナプス脱落の分子基盤となっていることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

神経細胞芽腫由来の培養細胞株、SH-SY5Y細胞に正常型プレセニリン1と機能喪失型変異(D385A)プレセニリン1を遺伝子導入し、安定に過剰発現する株を確立した。野生株、及び正常型プレセニリン1を遺伝子導入した株では、プレセニリン1とN-カドヘリンの免疫反応性が細胞接着部位を含む細胞表面で共局在していたのに対して、機能喪失型プレセニリン1を発現する株では、主に核周囲、特に小胞体に免疫反応性が認められ、細胞表面におけるN-カドヘリン免疫反応性は減弱していた。膜表面に存在するN-カドヘリンのみをウエスタンブロット法で検討したところ、免疫染色の知見と同様に、膜表面のN-カドヘリンは機能喪失型プレセニリン1導入細胞株で減少していた。さらに細胞分画法による検討では、機能喪失型プレセニリン1導入細胞株ではN-カドヘリンの成熟化が障害されていた。また、機能喪失型プレセニリン1発現細胞では、N-カドヘリンと β -カテニンの結合を介する安定した接着結合の形成が減少していることが示された。これらの結果から、プレセニリン1はN-カドヘリンを小胞体から膜に移送し、細胞間接着を調整する働きがあると結論した。

以上の研究は、アルツハイマーにおけるシナプス脱落の分子機構の解明に貢献し、アルツハイマー病の病態解明及び新たな、治療法の開発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15年12月15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。