

論文内容要旨

Apolipoprotein E genotype-dependent
accumulation of amyloid β in *APP* knock-in mouse
model of Alzheimer's disease

(アルツハイマー病モデルマウスである *APP* ノック
インマウスにおけるアポリポ蛋白 E 遺伝子型に依存
したアミロイド β の蓄積)

Biochemical and Biophysical Research
Communications. 683:149106,2023.

主指導教員：丸山 博文教授
(医系科学研究科 脳神経内科学)
副指導教員：川上 秀史教授
(原爆放射線医科学研究所 分子疫学)
副指導教員：山崎 雄特定准教授
(医系科学研究科 脳神経内科学)

竹林 佳子

(医系科学研究科 医歯薬学専攻)

はじめに

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease; AD) は、認知症の主要な原因となる神経変性疾患である。しかし発症機序は未解明な点が多く、病態生理の深い理解と根本的な治療法の開発が急務であり、このためには病態を忠実に再現する AD モデル動物が不可欠である。

蛋白分解酵素による切断によってアミロイド β 前駆体蛋白 (amyloid β precursor protein; APP) から産生される細胞外アミロイド β (amyloid β ; A β) の脳内蓄積は AD の主な病理学的特徴の一つである。ヒトのみならず、これまでの研究に主に使用されてきた APP 転スジェニックマウスにおいても、晩期発症 AD の強力な遺伝的危険因子であるアポリポ蛋白 E4 (Apolipoprotein E4; APOE4) が脳内 A β 蓄積を促進することがあきらかにされている。しかし転スジェニックマウスから得られた結果は、過剰発現に関連した問題点が影響した可能性が懸念される。

マウスの内因性 A β 配列をヒト化し、APP の 3 つの家族性 AD 変異 (Swedish (NL)、Iberian (F)、Arctic (G)) をノックイン (knock-in; KI) 手法により導入した APP^{NL-G-F/NL-G-F} マウスは、過剰発現法による問題を低減した AD モデルマウスである。しかしこのモデルマウスが APOE4 を介した A β 病態の増悪を来すかはあきらかとなっておらず、このモデルの意義と有用性を十分に理解するためには包括的な表現型のエビデンスが必要である。

目的

ヒトおよび APP 転スジェニックマウスで観察される APOE4 を介した A β 病態の増悪が APP^{NL-G-F/NL-G-F} マウスにおいて再現されるかを検証することである。

方法

APP^{NL-G-F/NL-G-F} マウスとヒト APOE4(3)KI マウスを交配し、両遺伝子のホモ接合のダブル KI マウス (APP-APOE4(3)) を樹立した。これらのマウスの脳を 6 か月齢と 8 か月齢で大脳皮質と海馬に分けて以下の解析を行った。

まず、APOE 蛋白レベルを Western Blot 法により検討した。次に、A β の主要な分子種である A β 42 と A β 40 について免疫組織化学染色を行った。さらに、脳抽出液を可溶性と不溶性画分に分画し、ELISA 法を用いて A β 42 および A β 40 を定量した。また、AD との強い関連が示唆されている神経炎症を反映したグリア細胞の活性化を評価するために、ionized calcium-binding adapter protein 1 (IBA1) と glial fibrillary acidic protein (GFAP) について免疫組織化学染色を行った。免疫組織化学染色結果は、大脳皮質または海馬に対する各抗体の陽性面積割合を算出し、4 切片/匹の平均値を算出し評価した。

結果

脳内 APOE 蛋白レベルは、APP-APOE3 と比べ APP-APOE4 において両月齢の大脳皮質と海馬の両方で低いことが確認された。

Aβ42 および Aβ40 の病理学的な蓄積は、6 か月齢で既にはじまっており、8 か月齢の大脳皮質と海馬の両方で *APP-APOE3* に比べ *APP-APOE4* で亢進し、特に *APP-APOE4* において年齢とともに増加した。*APP-APOE4* の不溶性画分中の Aβ42 と Aβ40 は、大脳皮質と海馬の両方で *APP-APOE3* よりも高値であり、病理学的に同定された Aβ 蓄積パターンと一致していた。

大脳皮質の IBA1 と GFAP、および海馬の IBA1 陽性面積割合は、8 か月齢の *APP-APOE4* において同月齢の *APP-APOE3* よりも高く、グリア細胞の活性化が示唆された。大脳皮質の IBA1 陽性面積割合は、*APOE* 遺伝子型に依存した Aβ 病態の差があきらかでない 6 か月齢の時点で既に、*APP-APOE3* よりも *APP-APOE4* で高値であった。

考察

APP^{NL-G-F/NL-G-F} マウスは、*APOE* 遺伝子型に依存した Aβ の蓄積とグリア細胞の活性化を 8 か月齢で示した。また、*APOE* 遺伝子型の違いによるグリア細胞の活性化の差は、*APOE* 遺伝子型に依存した Aβ 蓄積差に先行していた。*APP-APOE4* でより低い *APOE* 蛋白レベルを呈した点はヒト AD 患者での報告と同様であり、*APP^{NL-G-F/NL-G-F}* マウスが *APOE* の主要な生物学を忠実に再現している可能性を支持した。これらの結果から、*APP^{NL-G-F/NL-G-F}* マウスは *APOE4* を介した Aβ 病態の増悪を *in vivo* で再現し、*APOE* と Aβ 病態の相互作用を研究するための有用なモデルである可能性が示された。