

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	竹林 佳子
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目 Apolipoprotein E genotype-dependent accumulation of amyloid $\beta$ in <i>APP</i> -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 <i>APP</i> 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 $\beta$ の蓄積)			
論文審査担当者			
主 査	教授	相澤 秀紀	印
審査委員	教授	堀江 信貴	
審査委員	准教授	田中 茂	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>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 <math>\beta</math> 前駆体蛋白 (amyloid <math>\beta</math> precursor protein; APP) から産生される細胞外アミロイド <math>\beta</math> (amyloid <math>\beta</math>; A<math>\beta</math>) 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 <i>APP</i> トラン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<math>\beta</math> 蓄積を促進することが明らかにされている。しかしトラン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<math>\beta</math> 配列をヒト化し、<i>APP</i> 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 <i>APP</i><sup>NL-G-F/NL-G-F</sup> 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 <i>APOE4</i> を介した A<math>\beta</math> 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。今回申請者らは、ヒトおよび <i>APP</i> トランスジェニックマウスで観察される <i>APOE4</i> を介した A<math>\beta</math> 病態の増悪が、<i>APP</i><sup>NL-G-F/NL-G-F</sup> マウスにおいて再現されるかを明らかにするべく本研究を行った。</p> <p><i>APP</i><sup>NL-G-F/NL-G-F</sup> マウスとヒト <i>APOE4(3)</i>-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 (<i>APP-APOE4(3)</i>) を樹立した。これらのマウスの脳を 6 か月齢と 8 か月齢で大腦皮質と海馬に分けて以下の解析を行った。まず、APOE 蛋白質量を Western Blot 法により定量した。次に、A<math>\beta</math> の主要な分子種である A<math>\beta</math>42 と A<math>\beta</math>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離し、ELISA 法を用いて A<math>\beta</math>42 および A<math>\beta</math>40 量を測定した。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。</p> <p>結果は以下のごとくまとめられる。脳内 APOE 蛋白質量は、<i>APP-APOE3</i> と比べ <i>APP-APOE4</i> において両月齢の大腦皮質と海馬の両方で低いことが確認された。A<math>\beta</math>42 および A<math>\beta</math>40 の病理学的な蓄積は、6 か月齢で既に始まっており、8 か月齢の大腦皮質と海馬の両方で <i>APP-APOE3</i> に比べ <i>APP-APOE4</i> で亢進し、特に <i>APP-</i></p>			

*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 量は、大脳皮質と海馬の両方で *APP-APOE3* よりも高値であり、病理学的な 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、*APP-APOE4* における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 病態の差が明らかでない 6 か月齢の時点で、*APP-APOE3* よりも *APP-APOE4* において既に高値であった。

以上の結果から、申請者らは *APP<sup>NL-G-F/NL-G-F</sup>* マウスが *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 か月齢で示すことを確認した。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 蓄積差に先行する可能性を示した。*APP-APOE4* でより低い *APOE* 蛋白質量を呈した点はヒト AD 患者での報告と同様であり、*APP<sup>NL-G-F/NL-G-F</sup>* 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。すなわち、本論文は *APP<sup>NL-G-F/NL-G-F</sup>* マウスが *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を示すものであり、今後の AD に関する前臨床研究に大きく貢献する報告と考えられた。

よって審査委員会委員全員は、本論文が竹林佳子氏に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値があるものと認めた。