HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Mechanism of altered cleavage of substrates by γ-secretase including presenilin without pathogenic gene mutations [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	胡, 安琪
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第13770号
Issue Date	2019-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/75919
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	HU_ANQI_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（薬科学）　　氏　名　　胡　安　琪

審査担当者	主　査	特任教授	鈴　木　利　治
	副　査	教　授	木　原　章　雄
	副　査	准教授	多　留　偉　功
	副　査	准教授	佐　々　貴　之
	副　査	助教	羽　田　沙　緒　里

学 位 論 文 題 名

Mechanism of altered cleavage of substrates by γ-secretase including presenilin without pathogenic gene mutations
(遺伝子変異に依存しないγセクレターゼによる基質の切断変化機構の解明)

博士学位論文審査等の結果について（報告）

アルツハイマー病(AD)は、アミロイドβ（Aβ)がシナプス毒性を発現し発症する。Aβは、I 型膜タンパク質であるアミロイドβ前駆体タンパク質(APP)が細胞外（ルーメン内）領域でβセクレターゼ(BACE1)による切断を受け、さらに膜内でγセクレターゼ複合体による切断を受け産生する。原因遺伝子(*APP* と *PSEN*)に変異をもつ家族性 AD(FAD)では、神経毒性が強いアミノ酸数 42 の Aβ42 や Aβの産生総量が増加する。しかしながら、患者数の 95%以上を占める孤発性 AD(SAD)で、Aβの生成の変化が生じているのかは明らかになっていない。

胡　安琪は、Aβ生成酵素γセクレターゼに着目し、この仕組みの解明に取り組んだ。γセクレターゼの触媒ユニットは *PSEN*1 がコードする PS1 でありγセクレターゼ複合体は膜の脂質ラフト（生化学的に detergent resistant membrane region/DRM と呼ぶ）で強い活性を示す。基質である APP CTFβ（APP が BASE1 で切断された膜貫通領域を含む C 末側）は、DRM でγセクレターゼによる切断を受け Aβを生成する。胡安琪は、まず、（１）SAD 由来脳組織の DRM では、非認知症 DRM（対照）と比較して、コレステロール含量が有意に低く、PS1 が DRM から非 DRM へ移行している（膜局在変化）ことを見いだした。（２）次に in vitro で調製した C99/CTFβ-FLAG を基質に用いて、SAD の DRM における Aβ産生が対照と比較して大きく上昇している事を見いだした。これは、ヒトサンプルで PS1 に遺伝子変異が無くても Aβの産生が増加する事を示した初めての例である。この分子機構を解明する目的で、胡　安琪は、細胞を用いて SAD 状態のγセクレターゼ活性を再現した。コレステロールを過剰もしくは欠乏の状態で細胞を培養細胞し、γセクレターゼ複合体構成因子の膜内微局在とAβの生成変化を解析した。コレステロールを欠乏させた DRM では、SAD と同様にγセクレターゼの構成因子が減少し、同時に Aβの産生が有意に増加した。このことから、神経細胞へのコレステロール供給の減少が、γセクレターゼ構成因子の膜内局在に変化を与え、DRM での基質切断を変化させたと考えられた。（３）この現象を in vivo で再構成する目的で、マウスを高コレステロール餌で飼育したが脳内のコレステロールレベルは変化しなかった。そこで、マウス脳から膜分画を調製し、膜に直接コレステロールを供給もしくは欠乏させた。γセクレターゼ構成因子の顕著な膜局在変化は再構成されなかったが、DRM における Aβ産生は

増加傾向をしめした。SAD の最大の危険因子は ApoE のε4 アイソフォームである。中枢では、ApoE がグリア細胞が産生するコレステロールを神経細胞に供給する役目を果たしており、ε4 はこの能力が低いとされている。胡安琪は、SAD では神経のコレステロールレベルの低下がγセクレターゼの基質切断に変化を与えることを見いだし、この現象を細胞を用いて再構成し、DRM のコレステロールレベルの低下がγセクレターゼ構成因子の膜局在を変化させ、DRM における Aβの生成を亢進することを実証した。

これは要するに、SAD 発症原因を解明した研究であり、*PSEN* 遺伝子に変異が無くても脳神経系の Aβ産生を増加させる仕組みを解明した研究であり、患者の多数（95%）を占める SAD の発症機構の解明と新たな治療薬標的の開発に大きく貢献する研究成果である。

よって、著者は、北海道大学博士（薬科学）の学位を授与される資格があるものと認める。