



# 岐阜大学機関リポジトリ

## Gifu University Institutional Repository

Title	Autophagy impairment stimulates PS1 expression and secretase activity( 内容の要旨(Summary) )
Author(s)	太田, 和徳
Report No.(Doctoral Degree)	博士(再生医科学) 乙第1445号
Issue Date	2010-04-21
Type	博士論文
Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/36566">http://hdl.handle.net/20.500.12099/36566</a>

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

氏名 (本籍)	太田 和 徳 (岐阜県)
学位の種類	博士 (再生医科学)
学位授与番号	乙第 1445 号
学位授与日付	平成 22 年 4 月 21 日
学位授与要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	Autophagy impairment stimulates PS1 expression and $\gamma$ -secretase activity
審査委員	(主査) 教授 犬塚 貴 (副査) 教授 鈴木 康之 教授 原 明

### 論文内容の要旨

#### 【背景と目的】

アルツハイマー病は老人斑, 神経原線維変化, 神経細胞の脱落を特徴とした進行性の神経変性疾患である。家族性アルツハイマー病の原因となる遺伝子変異は, 老人斑の主成分であるアミロイド  $\beta$  タンパク質 ( $A\beta$ ) の異常産生を招くことから,  $A\beta$  産生機構の解明がアルツハイマー病治療法開発の鍵である。また, アルツハイマー病の罹患率は 80 歳を超えると急激に上昇し, 発症において加齢が重要なリスクファクターであることを示している。

一方, 細胞内で恒常性維持を担う分解機構であるオートファジーの活性は, 加齢により低下する。アルツハイマー病を含む多くの神経変性疾患が比較的高齢期で発症する理由は, この分解活性の低下と関連があると示唆される。

本論文では,  $A\beta$  産生の最終段階を制御する酵素  $\gamma$ -セクレターゼの活性化におけるオートファジーの役割に着目し, アルツハイマー病発症メカニズムの解明に繋がる知見を得ることを目的とした。

#### 【対象と方法】

##### ① マウスを用いたオートファジーの活性評価

生後 0 日から 2 年までの C57BL/6J マウス海馬を用いて, オートファジーのマーカーである LC3 の発現をウェスタンブロット法にて検出した。

##### ② オートファジー機能低下細胞株の樹立

加齢のモデルとして, 細胞内分解機構であるオートファジーの機能を低下させた細胞株 (*Atg5<sup>0</sup>*) を樹立し, 蛍光顕微鏡観察および生化学的実験により正常細胞と比較した。

##### ③ アミノ酸不均衡で誘導されるストレスシグナルにおけるオートファジーの関与

以前, 我々のグループでは, アミノ酸不均衡が原因で引き起こされる新規  $\gamma$ -セクレターゼ活性化機構を明らかにした (Mitsuda et al, BBRC 2007)。また, オートファジーはその分解過程で細胞にアミノ酸を供給し恒常性維持に寄与している。この両者間にはアミノ酸を介した相互関係の存在が考えられるため, アミノ酸ストレスシグナル関連タンパク質 GCN2 および ATF4 のノックダウン細胞と, ②で樹立した *Atg5<sup>0</sup>* 細胞を用い, ウェスタンブロット法で相互関係を検証した。

##### ④ オートファジーの誘導作用を持つポリフェノールによる $A\beta$ 産生に及ぼす効果の検証

オートファジー誘導作用を持つポリフェノール「レスベラトロール」をオートファジー機能低下細胞に添加し, アミノ酸供給による  $A\beta$  産生への影響をウェスタンブロット法および ELISA 法にて検証した。

## 【結果】

- ① マウス海馬において加齢に伴ったオートファジーの活性低下が見られた。  
LC3 は生後 7 日をピークに 2 年に向けて減少傾向にあった。また、オートファジーに必須である Atg5-Atg12 タンパク質結合体も同様に減少傾向にあった。
- ② オートファジー機能低下細胞株 (*Atg5<sup>kd</sup>*) ではプレセニリン 1 (PS1) の発現上昇を認めた。  
*Atg5<sup>kd</sup>* 細胞は、通常の富栄養状態の培養下においてもコントロール細胞とは異なる顕著な PS1 の発現上昇 (約 1.7 倍) を示した。またこの上昇は、培養液への非必須アミノ酸添加により顕著に低下することを確認した。
- ③ オートファジーの機能低下は、GCN2-eIF2 $\alpha$ -ATF4-PS1 経路を介し、 $\gamma$ -セクレターゼの活性を上昇する。  
②の PS1 の発現上昇は GCN2 および ATF4 の非存在下では検出されなかった。
- ④ レスベラトロールは A $\beta$ 産生を抑制する。  
富栄養状態の培養下にある *Atg5<sup>kd</sup>* 細胞に対し、ポリフェノールの一種であるレスベラトロールを添加したところ、 $\gamma$ -セクレターゼ活性 (Notch の切断) および A $\beta$ 産生を有意に低下させた。

## 【考察】

結果から、オートファジーは単なるバルクな分解機構にとどまらず、GCN2 や ATF4 といった細胞内アミノ酸バランス異常に関連するタンパク質を介して  $\gamma$ -セクレターゼの活性と A $\beta$ 産生を制御していると考えられる。

また、プレセニリンや Notch は成熟した脳においてシナプス可塑性および記憶の構築にも重要な役割を持つと示唆されており、本研究における知見が、学習記憶能力の改善を目的とした創薬開発のターゲットとなり得る。

## 【結論】

オートファジーの機能低下は、 $\gamma$ -セクレターゼ活性上昇および A $\beta$ 産生を亢進する。

オートファジーの活性化は、細胞内アミノ酸不均衡を是正し、 $\gamma$ -セクレターゼ活性を正常化する。

## 論文審査の結果の要旨

申請者 太田和徳は、細胞内分解機構であるオートファジーの機能低下が、細胞内アミノ酸不均衡をもたらし、GCN2 を介したプレセニリン 1 の発現上昇によるアミロイド  $\beta$  タンパク質の産生機構を明らかにした。さらに、レスベラトロールによるオートファジーの活性化が、効果的にアミロイド  $\beta$  タンパク質の産生を抑制することを示した。本研究の成果は、アルツハイマー病発症機構の解明と治療法開発に少なからず寄与するものと認める。

---

### [主論文公表誌]

Kazunori Ohta, Akihito Mizuno, Masashi Ueda, Shimo Li, Yoshihiro Suzuki, Yoko Hida, Yoshika Hayakawa-Yano, Masanori Itoh, Eri Ohta, Masuko Kobori, Toshiyuki Nakagawa. : Autophagy impairment stimulates PS1 expression and  $\gamma$ -secretase activity  
*Autophagy* 6, 345-352 (2010)