

# 論文内容の要旨

申請者氏名 Lee Shin Yong

アルツハイマー病(AD)は、認知機能低下や神経細胞喪失により特徴付けられ、APP タンパク質が切断されて生じるアミロイド B (A $\beta$ )が蓄積することがその原因と考えられている。A $\beta$  については多くの研究が行われているものの、A $\beta$  の蓄積に至る伝播機構は不明のままになっている。一方で、Insulin-receptor substrate protein p53 (IRSp53) は、シナプス後部の足場およびシナプス後密度の他の主要成分と相互作用するアダプタータンパク質としても機能する。IRSp53 は、シナプス後密度における役割に加えて、細胞膜の湾曲を誘導し、細胞原形質膜から細胞外小胞(EV)を放出することができる I-BAR タンパク質としても知られている。IRSp53 ノックアウトマウスの研究は、IRSp53 が、統合失調症、自閉症スペクトラム障害、注意欠陥多動性障害などの様々な神経疾患に関与していることを示している。最近の研究では、A $\beta$  の伝播を助ける A $\beta$  の担い手としての EV の役割に注目が集まっている。EV タンパク質は、アルツハイマー病に罹患したヒトの脳に見られる A $\beta$  プラークに豊富に存在するとの報告もある。

本研究では、IRSp53 に着目し、そのアルツハイマー病態への関与を調べた。AD における IRSp53 の役割を探るために、ヒト変異 APP(APP<sup>NL-G-F</sup>)をノックインしたマウスと IRSp53 ノックアウトマウスを交配させた。本研究ではまず、APP<sup>NL-G-F</sup> マウスモデルの認知機能における IRSp53 の役割を、Y 迷路や新規物体認識(NOR)などの行動テストを用いて調べた。興味深いことに、IRSp53 ノックアウトかつ APP<sup>NL-G-F</sup> マウスは、APP<sup>NL-G-F</sup> マウスと比較して、Y 迷路の認知機能に有意な改善を示した。さらに、NOR による認知機能の改善を確認した。

次に、マウスの脳の病理学的特徴に対する IRSp53 の影響を理解するために、AD の重要な病因である A $\beta$  を定量化した。マウスの脳における A $\beta$  免疫染色の結果は、APP<sup>NL-G-F</sup> マウスと比較して、IRSp53 ノックアウトかつ APP<sup>NL-G-F</sup> マウスでは、A $\beta$  の減少を示した。次に、アルツハイマー病では神経細胞の欠損が高頻度で見られることから、マウスの脳内の神経細胞を解析した。ウェスタンブロットでは、ニューロンマーカータンパク質である NeuN のレベルが改善していることが観察され、神経細胞の数が、IRSp53 のノックアウトで回復していることを示した。これらの結果は、IRSp53 の欠失が A $\beta$  の蓄積を減少させることにより、APP<sup>NL-G-F</sup> マウスの認知機能を改善し、NeuN 陽性ニューロンの増加につながることを示唆した。

AD に関連する EV 分泌における IRSp53 の役割を解明するために、APP<sup>NL-G-F</sup> とともに IRSp53 を HEK293 細胞に発現させ、その培養液から EV を分離し、EV の数とそのタンパク質含有量を解析したところ、IRSp53 に依存した APP<sup>NL-G-F</sup> を含有する EV の存在が示唆された。

これらの結果を総合し、NeuN 陽性ニューロンの増加に伴う IRSp53 の喪失による認知機能の改善は、IRSp53 を介した突起から生成された EV を介した A $\beta$  の伝播の減少によるものであると提案した。すなわち、認知機能、A $\beta$  蓄積、およびニューロン損失の改善を通じて、AD における IRSp53 の阻害の有用性を示唆した。

やむを得ない事由[ 図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ( ) ]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 Lee Shin Yong

アルツハイマー病の病態を理解することは、高齢化社会において重要である。アルツハイマー病の多くは、アミロイド B (A $\beta$ )の蓄積によって生じると考えられるが、その蓄積機構は明らかではない。一方で、A $\beta$ の蓄積に先立つ A $\beta$ の伝播には、細胞外小胞 (EV)が関与しているとの報告があるが、どのような EV が関与しているかは不明である。

本研究の第一の発見は、細胞突起由来の EV を産生すると考えられている IRSp53 のノックアウトマウスをアルツハイマー病のモデルマウスと交配し、アルツハイマー病態における IRSp53 の役割を調べたことにより得られた。IRSp53 のノックアウトマウスやヘテロノックアウトマウスは、認知能の低下や神経細胞の減少などのアルツハイマー病態の改善を示した。このことは IRSp53 のタンパク質量がアルツハイマー病の進行に重要であることを示し、重要な治療ターゲットであることを示した。

本研究の第二の発見は、IRSp53 に依存した細胞外小胞が、A $\beta$ を含有できることを試験管内の実験により示したことである。IRSp53 は HEK293 細胞において A $\beta$ を含有する EV の産生に関与した。さらに IRSp53 のノックアウトマウスの脳においては、A $\beta$ の蓄積が減少しており、IRSp53 がマウスの脳における A $\beta$ 蓄積に関与していることもわかった。

以上のように、本論文の研究では、IRSp53 のアルツハイマー病態への関与とその機構を強く示唆した。IRSp53 の阻害は、アルツハイマー病の改善につながると強く示唆されたことから、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。

- やむを得ない事由[ 図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ( ) ]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】