

---

アルツハイマー病  $\beta$  アミロイド・ペプチド生成調節機構の  
分子生物学的解析

---

課題番号13470035

平成13年度～平成15年度科学研究費補助金  
基盤研究(B)(2)研究成果報告書

平成16年 3 月

研究代表者 西村 正樹  
滋賀医科大学 分子神経科学研究センター

## はしがき

アルツハイマー病研究は神経科学のなかで大きな領域を形成するばかりではなく、高齢化社会を迎えつつある現代においては、その病態解明に基づく予防・治療法の開発が社会的な課題と捉えられている。近年、この研究領域の進歩には目を見張るものがあり、分子病態に関する有力な仮説が提唱されるに到った。今や、それに基づいた画期的かつ根治的な治療法の開発と臨床応用の実現が切に望まれている。このような背景のなか、治療法開発に向けた基礎研究とすべく、アルツハイマー病の根幹病態として注目される A $\beta$  ペプチドの代謝異常から病態発症に到る過程を多角的に解析・検証すること、A $\beta$  ペプチドの生成を人為的に制御する方策を見出すことを見出した研究を提案した。

## 研究組織

研究代表者：西村正樹

(滋賀医科大学分子神経科学研究センター)

海外共同研究者：Peter H. St George-Hyslop

(トロント大学・神経変性疾患研究センター)

## 交付決定額 (配分額)

(金額単位：千円)

	直接経費	間接経費	合計
平成13年度	5,200	0	5,200
平成14年度	3,800	0	3,800
平成15年度	3,800	0	3,800
平成16年度	0	0	0
平成17年度	0	0	0
総計	12,800	0	12,800

滋賀医科大学附属図書館



2003008997

## 研究発表

### (1)学会誌等

1. Chen F, Yu G, Arawaka S, Nishimura M, Kawarai T, Yu H, Tandon A, Supala A, Song YQ, Rogaeva E, Milman P, Sato C, Yu C, Janus C, Lee J, Song L, Zhang L, Fraser PE, St George-Hyslop PH. Nicastrin binds to membrane-tethered Notch. *Nature Cell Biol* 3(8): 751-754, 2001
2. Rozmahel R, Huang J, Chen F, Liang Y, Nguyen V, Ikeda M, Levesque G, Yu G, Nishimura M, Mathews P, Schmidt SD, Mercken M, Bergeron C, Westaway D, St George-Hyslop P. Normal brain development in PS1 hypomorphic mice with markedly reduced  $\gamma$ -secretase cleavage of  $\beta$ APP. *Neurobiol Aging* 23(2): 187-194, 2002
3. Wang HQ, Takebayashi K, Tsuchida K, Nishimura M, Noda Y. Follistatin-related gene (FLRG) expression in human endometrium: sex steroid hormones regulate the expression of FLRG in cultured human endometrial stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 88(9): 4432-4439, 2003
4. Araki Y, Miyagi N, Kato N, Yoshida T, Wada S, Nishimura M, Komano H, Yamamoto T, De Strooper B, Yamamoto K, Suzuki T. Coordinated metabolism of Alcadein and amyloid  $\beta$ -protein precursor regulates FE65-dependent gene transactivation. *J Biol Chem*. in press.
5. Shiraishi H, Sai X, Wang HQ, Maeda Y, Kurono Y, Nishimura M, Yanagisawa K, Komano H. PEN-2 enhances  $\gamma$ -cleavage after presenilin heterodimer formation. *J Neurochem*. in press.
6. Fraser PE, Yu G, Levesque L, Nishimura M, Yang DS, Mount HT, Westaway D, St George-Hyslop PH. Presenilin function: connections to Alzheimer's disease and signal transduction. *Biochem Soc Symp* (67): 89-100, 2001

7. 西村正樹. Nicastrin as a component of presenilin complexes. *Dementia Japan* 15(1): 64-67, 2001
8. 西村正樹. Alzheimer 病プレセニリン-ニカストリン複合体と $\gamma$ セクレターゼ. *医学のあゆみ* 198(5): 369-372, 2001
9. 西村正樹.  $\beta$  および $\gamma$ セクレターゼを標的とした Alzheimer 病の分子治療. *医学のあゆみ* 208(5): 443-448, 2004
10. 西村正樹. A $\beta$  の産生とその調節メカニズム. *Molecular Medicine* 41(4): 409-415, 2004
11. 西村正樹. Alzheimer 病: A $\beta$  の生成抑制による治療戦略. *最新医学* in press.

(2)口頭発表

1. Matsuo A, Nakaya Y, Kawamata T, Fraser P, St George-Hyslop P, Nishimura M. Nicastrin immunoreactivity in brains with Alzheimer's disease. The 8th International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disorders, July 20-25, 2002
2. Nishimura M, Nakaya Y, Yamane T. Mutational effects of Presenilin 1 on its endoproteolytic processing and stabilization. Molecular Neurobiology of Alzheimer Disease and Related Disorders, Oct 5-6, 2002
3. Nishimura M, Nakaya Y, Yamane T, Wang HQ, Matsubara E, Shoji M. Mutagenesis study for Presenilin endoproteolysis and  $\gamma$ -secretase activity. Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting 2003, November 8-12, 2003
4. Nakaya Y, Yamane T, Shiraishi H, Matsubara E, Wang HQ, De Strooper B, Shoji M, Komano H, Fraser PE, St George-Hyslop P, Nishimura M. Identification and characterization of novel cleavage-defective Presenilin-1 mutants. The 9th

International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disorders, July 17-22, 2004

5. 西村正樹, Yu G, St. George-Hyslop P. プレセニリン複合体の構成蛋白ニカストリンの同定と機能解析. 第 42 回日本神経学会総会, May 11-13, 2001
6. 中谷嘉文、西村正樹. 培養細胞膜分画を用いた *in vitro* アッセイ法による  $\gamma$ セクレターゼ活性の検討. 第 20 回日本痴呆学会, Oct 4-5, 2001
7. 中谷嘉文、西村正樹. プレセニリン-1 のプロセッシング変異体の検討. 第 43 回日本神経学会総会, May 29-31, 2002
8. 中谷嘉文、山根拓也、西村正樹. Presenilin-1 の分解プロセッシングを障害する変異の検索—ランダム変異導入スクリーニングによる検討—. 第 21 回日本痴呆学会, Oct 3-4, 2002
9. Nishimura M. Maturation of Presenilin complex and  $\gamma$ -secretase activity. 第 25 回日本分子生物学会, Dec 11-14, 2002
10. プレセニリン 1 切断プロセッシングの変異導入による検討. 中谷嘉文、山根拓也、西村正樹. 第 44 回日本神経学会総会, May 15-17, 2003
11. 中谷嘉文、山根拓也、王華芹、西村正樹、白石博久、駒野宏人、松原悦朗、東海林幹夫. Presenilin-1 の切断プロセッシングを抑制する変異—ランダム変異導入スクリーニングによる検討—(続報). 第 22 回日本痴呆学会, Oct 3-4, 2003
12. 西村正樹、王 華芹、中谷嘉文、山根拓也、白根道子、中山敬一. Presenilin のアポトーシスへの関与とその分子メカニズムの検討. 第 45 回日本神経学会総会, May 12-14, 2004

### (3)出版物

1. Fraser PE, Yu G, Levesque L, Nishimura M, Yang D-S, Mount HTJ, Westaway D, St George-Hyslop P. Presenilin function: Connections to Alzheimer's disease and signal transduction. In *Neuronal Signal Transduction and Alzheimer's Disease* eds. C. O'Neill and B. Anderton, Portland Press, London, pg. 89-100, 2001
2. Chen F, Yu G, Arawaka S, Nishimura M, Kawarai T, Yu H, Tandon A, Supala A, Song YQ, Rogaeva E, Milman P, Sato C, Yu C, Janus C, Lee J, Song L, Zhang L, Fraser PE, St George-Hyslop PH. Further analysis of the nicastrin:presenilin complex. In "*Notch from neurodevelopment to neurodegeneration: Keeping the fate*" eds. Israel A, De Strooper B, Checler F, Christen Y. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, p109-117, 2002

### 研究成果による工業所有権の出願・取得状況

該当なし

## 研究概要

### 目的

アルツハイマー病の分子病態に関する有力な仮説として $\beta$ アミロイド( $A\beta$ )カスケード仮説が提唱されている。すなわち、本症の罹患脳に特徴的に出現する老人斑アミロイドの構成要素であるとともに神経細胞への毒性活性を示す $A\beta$ ペプチドの過剰な脳内蓄積が本症の病理機構の根幹であるとする仮説である。本研究は、アルツハイマー病の根幹病態と目される $A\beta$ 仮説を多角的に解析・検証するとともに $A\beta$ ペプチドの生成過程に焦点を当て治療法開発への基礎研究を推し進めることを目的としたものである。

### 経過と展望

(a)  $A\beta$ ペプチド生成の調節機構の解析； $A\beta$ ペプチドはI型膜蛋白である $\beta$ アミロイド前駆体蛋白(APP)から複数回の蛋白限定分解を経て神経細胞より生成分泌されるが、それに関わるプロテアーゼは $\beta$ および $\gamma$ セクレターゼとよばれる。とくに $\gamma$ セクレターゼ切断は $A\beta$ の病原性を決定付けることから病態に深く関連している。我々はこれまで $\gamma$ セクレターゼに焦点を当て、その分子実体がプレセニリンを含むタンパク複合体であること、その構成タンパクの一つにニカストリンがあることなどを解明してきた。さらに本研究課題において、 $\gamma$ セクレターゼによるAPP切断とNotch切断にはニカストリンを含む同じ複合体が関わっていること (*Nat Cell Biol* 3(8): 751-754, 2001)、複合体構成タンパクとして同定されたPEN-2は複合体の活性化に重要な働きをすること (*J Neurochem*, in press)、Alcadeinが新たな基質でありAPP

とともに $\gamma$ セクレターゼにより Fe65 を介する遺伝子発現調節に関わること(*J Biol Chem, in press*)などを明らかにして報告した。

またプレセニリンは家族性アルツハイマー病の原因遺伝子として知られ、その変異は病原性の高い A $\beta$  (A $\beta$  42/43)の生成を増加させる。そのメカニズムを明らかにする目的から、PS1 分子へのランダム変異導入による変異体 cDNA ライブラリーの作製と $\gamma$ セクレターゼ活性に変化を与える変異体のスクリーニングを行った。その結果、A $\beta$  42/43 生成活性のみを示すきわめて特異な PS1 変異体を同定することに成功している (投稿準備中)。この変異体 PS1 の検討から、病原性 A $\beta$  の生成活性は既存の阻害剤に対する感受性に乏しいことが判明し、また切断特異性と PS 複合体の立体構造変化との相関が推測された。この成果は今後、A $\beta$  42/43 生成活性を選択的に抑制する方策を探り、新たな治療法を開発するための基礎研究として重要なものと位置付けている。

(b) A $\beta$  仮説の検証 ; 遺伝子改変技術により  $\beta$  アミロイドの脳内蓄積を認めるマウスは作製されたが、神経細胞脱落や記憶・認知障害などは認められず、アルツハイマー病モデルとしては不完全であることが知られる。霊長類のうち実験動物化の進められたカニクイサルを用いて遺伝子改変個体を作製し、より完全なモデル動物の確立を試みつつある。これにより、A $\beta$  仮説を検証するとともに病態の詳細な解明と新たな治療法の開発評価を進める上で有用なモデル動物を樹立する予定である。