

氏 名	加藤 智子
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士乙第420号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成27年 9月 9日
学位論文題目	Alpha1-chimaerin, a Rac1 GTPase-activating protein, is expressed at reduced mRNA levels in the brain of Alzheimer's disease patients. (アルツハイマー病患者脳において、Rac1 GTP加水分解タンパク質である α1-chimaerin の mRNA の発現は減少している)
審査委員	主査 教授 山田 尚登 副査 教授 久津見 弘 副査 教授 西村 正樹

論文内容要旨

※整理番号	424	(ふりがな) 氏名	かとう ともこ 加藤 智子
学位論文題目	Alpha1-chimaerin, a Rac1 GTPase-activating protein, is expressed at reduced mRNA levels in the brain of Alzheimer's disease patients (アルツハイマー病患者脳において、Rac1 GTP 加水分解促進タンパク質である α 1-chimaerin の mRNA の発現は減少している)		
<p>【背景と目的】α1-chimaerin は、Rac1 自身の持つ GTP 加水分解反応を促進して、Rac1 を GDP 化することで非活性型にする Rac1 不活性化タンパク質のひとつである。筆者らは以前、ヒト脳 cDNA ライブラリーからベータアミロイド ($A\beta$) に親和性を持つタンパク質として α1-chimaerin を見出した。α1-chimaerin は、低分子量 G 蛋白質 Rho ファミリーの一員である Rac1 を不活性化する作用を持ち、樹状突起のスパイン制御に関わることが知られている。Rac1 活性はアルツハイマー病では亢進していることが報告されているが、Rac1 不活性化タンパク質である α1-chimaerin のことはよくわかっていない。本研究では、α1-chimaerin とアルツハイマー病の関係を明らかにする目的で、アルツハイマー病例と対照例の脳組織における α1-chimaerin の mRNA の局在と発現量を in situ hybridization 法と定量的 RT-PCR 法で比較検討した。</p> <p>【方法】本研究は滋賀医科大学倫理委員会の承認を受けた(承認番号 14-36)。アルツハイマー病 10 例 (平均年齢 81.9 歳\pm9.4 歳、男性 3 名、女性 7 名)、対照 9 例 (平均年齢 81.8 歳\pm4.8 歳、男性 4 名、女性 5 名) の海馬および側頭葉皮質は、Banner Sun Health Research Institute から供与を受けて使用した。はじめに RNA プローブを使用した in situ hybridization 法で側頭葉皮質および海馬組織切片各 3 症例の脳におけるこのタンパク質の mRNA の局在を調べた。次に、LightCycler (ロシュ・ライフサイエンス) を用いて定量的 RT-PCR 法を行った。アルツハイマー病 7 例と対照 8 例の症例の側頭葉皮質における α1-chimaerin とスプライスバリエント体である α2-chimaerin の mRNA 発現量を、それぞれ特異的配列を持った PCR primer を用いて比較検討した。β-actin および MAP2 でノーマライズし、student t-test で統計処理を行った。</p> <p>【結果】ヒト側頭葉皮質および海馬組織切片を用いた in situ hybridization 法の結果では、α1-chimaerin の mRNA はアルツハイマー病例、対照例ともに脳の神経細胞で検出され、</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

$\alpha 1$ -chimaerin は神経細胞に発現していることが明らかになった。海馬錐体細胞層では対照例に比べてアルツハイマー病例で陽性シグナルの減弱が認められた。定量的 RT-PCR 法で $\alpha 1$ -chimaerin mRNA の発現を、ヒト脳側頭葉皮質を用いて比較検討したところ、アルツハイマー病患者の脳では対照例に比べて $\alpha 2$ -chimaerin の mRNA 発現量は有意差が見られなかったが、 $\alpha 1$ -chimaerin の mRNA の脳内発現量は有意な減少を認めた ($p < 0.01$, t-test)。また、対照例の成人脳においては、 $\alpha 1$ -chimaerin の mRNA の発現量は、 $\alpha 2$ -chimaerin mRNA の発現量の約 100 倍 (β -actin 補正) であり、成人脳では $\alpha 1$ -chimaerin が優位に発現していた。

【考察】本研究は、 $\alpha 1$ -chimaerin mRNA が、アルツハイマー病脳で減少していることを初めて報告した論文である。 $\alpha 1$ -chimaerin はシナプスにおけるスパインの制御に深く関わっていることが知られている。アルツハイマー病ではシナプスでのスパイン異常が報告されている。したがって、シナプスのスパインを制御する $\alpha 1$ -chimaerin の減少が、アルツハイマー病の病理に大きく関わっている可能性がある。また、 $\alpha 1$ -chimaerin の作用で不活性化される Rac1 は、アルツハイマー病患者の脳でその活性が増加しているとの報告がある。その原因のひとつとして Rac1 の不活性化因子である $\alpha 1$ -chimaerin の減少が関与している可能性がある。

また、 $\alpha 2$ -chimaerin は、分子内に SH2 領域を持ち、発達過程の脳や精巣の多いとされているが、その発現はアルツハイマー病例と対照例では有意差がなかった。 $\alpha 2$ -chimaerin の発現は $\alpha 1$ -chimaerin に比べて極めて少なく、成人脳では $\alpha 1$ -chimaerin が主な Rac1 不活性化因子であると思われる。

さらに、 α -chimaerin は、神経細胞内で、タウ蛋白のリン酸化酵素である Cdk5 や p35 などと共存して機能的複合体を作っているという報告がある。したがって、 $A\beta$ に結合する性質を持つ $\alpha 1$ -chimaerin が $A\beta$ の蓄積とタウリン酸化を結びつける役割を担っている可能性がある。

【結論】本研究では、アルツハイマー病例と対照例の海馬や側頭葉皮質で $\alpha 1$ -chimaerin の発現を in situ hybridization 法と定量的 PCR 法で検討したところ、 $\alpha 1$ -chimaerin の発現がアルツハイマー病患者の脳で有意に減少していることを見出した。このことは、 $\alpha 1$ -chimaerin がアルツハイマー病の病態と関わりのある可能性を示唆している。今後、 $\alpha 1$ -chimaerin がアルツハイマー病の病態にどのように関わっているか、タウとの関係を含めアルツハイマー病との関わりについて検討する予定である。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	424	氏名	加藤 智子
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体 11ポイント、600字以内で作成のこと。)</p> <p>α1-chimaerin はβアミロイド親和性タンパク質として同定されているが、α1-chimaerin とアルツハイマー病の関連性は明らかにされていない。</p> <p>今回申請者は、脳組織におけるα1-chimaerin の mRNA の局在と発現量を in situ hybridization 法と定量的 RT-PCR 法で検討し、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) α1-chimaerin は神経細胞で発現しており、 2) 対象例に比べてアルツハイマー病例で、海馬錐体細胞層の陽性シグナル減弱を認めた。 3) 対象例に比べてアルツハイマー病例で、側頭葉皮質のα1-chimaerin の mRNA 量の有意な低下を認めた。 4) 一方、α2-chimaerin の mRNA 量の有意な低下は認められなかった。 5) α1-chimaerin は、シナプスでのスパイン異常との関連性が報告されており、 6) 本研究で明らかにされた、α1-chimaerin の mRNA 量の低下が、アルツハイマー病の病理に関わっている可能性が示された。 <p>本論文は、アルツハイマー病の病態について新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した諮問を受け合格したので、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 518 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 27 年 9 月 4 日)</p>			