

## 論文内容の要旨

Interaction between angiotensin receptor and  $\beta$ -adrenergic receptor regulates the production of amyloid  $\beta$ -protein

(アンギオテンシン受容体およびアドレナリン $\beta$ 受容体間の相互作用によるアミロイド $\beta$ タンパク質産生制御機構の解析)

## I. 研究目的

アルツハイマー病(Alzheimer's Disease; AD)は、脳実質内にアミロイド $\beta$ タンパク質(amyloid  $\beta$ -protein; A $\beta$ )を主成分とする老人斑の形成を特徴としている。そのため、A $\beta$ はADの重要な原因分子の一つであると考えられている。最近、血圧を調節するアンギオテンシン1受容体(Angiotensin1 receptor; AT<sub>1</sub>R)がA $\beta$ 産生に関与し、アンギオテンシン受容体拮抗薬(Angiotensin receptor antagonist; ARB)の一つであるテルミサルタン(Telmisartan; Telm)がAT<sub>1</sub>Rを介してA $\beta$ 産生を増加させることが示された。しかしながら、AT<sub>1</sub>RがA $\beta$ 産生にどのように関与しているのかを示す明確なメカニズムは明らかとなっていない。一方、興味深いことに、Gタンパク質共役受容体(G protein-coupled receptor; GPCR)であるAT<sub>1</sub>Rは、やはりA $\beta$ 産生に関与することが示されているアドレナリン $\beta_2$ 受容体( $\beta_2$ -adrenergic receptor;  $\beta_2$ -AR)とのヘテロ二量体化によるシグナル伝達の調節があることが強く示唆されている。したがって、本研究では、AT<sub>1</sub>Rと $\beta_2$ -ARの相互作用がA $\beta$ 産生制御に関与しているかどうかを明らかにすることを目的とし、著者らは、Telm処理によるA $\beta$ 産生増加が、 $\beta$ -AR拮抗薬処理による影響を受けるかどうかを解析した。

## II. 研究対象ならびに方法

研究に用いる試薬として、ARBの一種であるテルミサルタン(Telmisartan; Telm)、 $\beta_{1,2}$ -AR非選択的拮抗薬であるプロプラノロール(Propranolol; Prop)、 $\beta_1$ -AR選択的拮抗薬のアテノロール(Atenolol; Ate)とビソプロロール(Bisoprolol; Bis)、および $\beta_2$ -AR選択的拮抗薬のICI-118,551(ICI)は、DMSOに溶解して使用した。細胞は、ヒトアミロイド前駆体タンパク質(hAPP695)を発現したC57BL/6マウス胚線維芽細胞(mouse embryonic fibroblasts; MEFs)および、C57BL/6が元となったhAPP695発現AT<sub>1</sub>R欠失MEFsを用いた。これらの細胞は、10%ウシ胎児血清入りDMEM培地中にコンフルエントの約80%となるように播種し、試薬処理72時間後の培養液中のA $\beta$ 40およびA $\beta$ 42量を、ELISAキットで測定した。プロテアーゼ阻害剤混合物を含むRIPAバッファーを用いて細胞溶解物を調製し、BCAタンパク質アッセイキットを使用してタンパク質濃度を決定した。また、細胞溶解物のタンパク質濃度を用いて、ELISA測定結果を補正した。

### III. 研究結果

まず、著者らは Telm 処理によって引き起こされる A $\beta$  産生増加が、 $\beta_{1,2}$ -AR 非選択的拮抗薬である Prop の影響を受けるかどうか解析した。その結果、Telm 処理による A $\beta$  産生増加は、Prop を添加することにより用量依存的に減少することが明らかとなった。この結果を受けて、 $\beta_1$ -AR または  $\beta_2$ -AR のどちらが Telm 処理による A $\beta$  産生増加の減少に関与するか明らかとするために、 $\beta_1$ -AR 選択的拮抗薬である Ate と Bis、および  $\beta_2$ -AR 選択的拮抗薬の ICI を用いて、Telm 処理による A $\beta$  産生増加に対する影響を調べた。その結果、ICI は Telm による A $\beta$  産生増加を用量依存的に明らかに抑制したが、Ate 処理および Bis 処理は Telm による A $\beta$  産生増加を ICI ほど抑制できなかつた。この結果は、AT $_1$ R と  $\beta_2$ -AR 間の相互作用が A $\beta$  産生制御に関与していることを示唆している。

次に、AT $_1$ R と  $\beta_2$ -AR の相互作用と A $\beta$  産生との関係をさらに確認するために、AT $_1$ R 欠失細胞を用いて  $\beta_2$ -AR 選択的拮抗薬の A $\beta$  産生に影響を及ぼすか検討した。その結果、AT $_1$ R 欠失細胞の A $\beta$  産生に対する Telm の効果は、ICI および Prop 処理によって有意な阻害効果が見られなかつた。一方で、野生型細胞では ICI または Prop 処理により有意に阻害された。この結果は、 $\beta_2$ -AR 選択的拮抗薬および  $\beta_{1,2}$ -AR 非選択的拮抗薬の、Telm 処理による A $\beta$  産生増加の抑制には AT $_1$ R の存在が必要であることを示している。

### IV. 結 語

AD は、進行性の神経変異性疾患で、罹患者数は増加の一途をたどっており、経済的、人道的な面から早急な診断、予防、治療法の開発が望まれる。AD 脳に特徴的に観察される老人斑の主要構成成分は A $\beta$  であり、A $\beta$  蓄積は AD の発症原因に深く関連する病理であると考えられている。これらの観点から、A $\beta$  蓄積抑制を目指し、A $\beta$  の産生制御機構を明らかにすることは重要と考えられる。本研究では、AT $_1$ R と  $\beta_2$ -AR との相互作用による A $\beta$  産生制御という新しい A $\beta$  産生経路の存在を明らかにした。

本研究では、ARB の一つである Telm 処理による A $\beta$  産生増加は、 $\beta_1$ -AR 選択的拮抗薬処理よりも  $\beta_2$ -AR 選択的拮抗薬である ICI 処理により強く減少することを明らかとした。また、AT $_1$ R 欠失細胞においては、Telm 処理による顕著な A $\beta$  産生増加が認められないだけでなく、 $\beta_2$ -AR 選択的拮抗薬による A $\beta$  産生抑制効果が消失することが明らかとなった。これらのことから、AT $_1$ R と  $\beta_2$ -AR の相互作用は A $\beta$  産生に関与している可能性が示された。

臨床現場での薬物療法において、AT $_1$ R や  $\beta_2$ -AR などの GPCR は治療上の標的とされており、これらに作用する薬剤は多用されている。今後、これらの薬物に関して、GPCR のヘテロ二量体化による A $\beta$  産生系への影響を詳細に研究する必要がある。これらのことが明らかになれば、薬物療法による AD 発症のリスクファクターを考慮した治療選択に新たな知見をもたらしていくのみならず、新しい AD 治療法や予防法が見出せるのではないかと考えている。

#### 論文審査担当者

主査 教授 中西 真弓 (生物薬学講座機能生化学分野)  
副査 教授 小澤 正吾 (医療薬科学講座薬物代謝動態学分野)  
副査 教授 白石 博久 (生物薬学講座生体防御学分野)

#### 論文審査の結果の要旨

血圧調節に関与するアンギオテンシン受容体と、アドレナリン $\beta$ 受容体は、それぞれ、アルツハイマー病に特徴的な老人斑の主成分であるアミロイド $\beta$ タンパク質 ( $A\beta$ ) の産生に関与すること、さらにこの2つの受容体が二量体を形成することが示唆されていた。そこで、菊池光太氏は、 $A\beta$ の産生におけるアンギオテンシン受容体とアドレナリン $\beta$ 受容体の相互作用について検討した。アミロイド前駆体タンパク質を発現している繊維芽細胞を、アンギオテンシン受容体の阻害剤であるテルミサルタンで処理すると $A\beta$ の産生は増加するが、このときアドレナリン $\beta$ 拮抗薬であるプロプラノロールを添加すると増加しなくなった。この抑制効果は、 $\beta_1$ 拮抗薬より $\beta_2$ 拮抗薬の方が顕著であった。また、アンギオテンシン受容体を欠失した細胞では、抑制効果は見られなかった。以上の結果から、 $A\beta$ 産生において、アンギオテンシン受容体とアドレナリン $\beta_2$ 受容体は相互作用していることが示唆された。

論文は、論理的に明瞭に書かれている。データは、量的に少ないながらも、実験回数を積み重ね、統計的に適切に扱われており信頼性が高い。また、模式図などを用いているため、学術的背景や論旨を理解しやすい。

#### 試験・試問の結果の要旨

菊池光太氏は、上記の論文に沿った内容を、今後の課題を含めて要領よく発表した。研究の学術的背景や結果・考察を丁寧に説明し、また、図の重要な点を見やすく工夫していた。そのため、研究の重要性や課題、実験の方法、結果とその解釈が理解しやすく、質疑応答での活発な議論につながった。

質疑応答での質問は、研究の背景、実験方法やデータ解釈の妥当性、作業仮説に関するものなど多岐に及んだ。菊池氏は、ほとんどの質問において、その意図を正しく理解し、これまでの報告などを踏まえ論理的かつ的確に回答していた。

この研究で得られた成果は、ポリファーマシーという臨床の観点、また受容体のクロストークという基礎研究の観点からも重要な知見であり、Biological and Pharmaceutical Bulletinでの発表が決定している。

以上のことから、最終試験合格、博士(薬学)の学位にふさわしいものとする。