

論文内容の要旨

Iron treatment inhibits A β 42 deposition *in vivo* by modulating γ -secretase and reducing A β 42/A β 40 ratio.

(鉄摂取は、 γ -セクレターゼ活性を変化させ A β 42/A β 40 の比率を低下させることによって、A β 42 沈着を抑制する。)

I. 研究目的

アルツハイマー病 (AD) は、アミロイド β 蛋白 (A β) が脳内に沈着することが原因と考えられている。また、AD 患者の脳内では、A β 沈着部位に鉄が沈着されていることも観察されているが、脳内鉄濃度と AD 病態との関連は明らかとなっていない。そこで、本研究では、AD モデルマウスを用いて、鉄摂取による A β 沈着、タウ蛋白のリン酸化、神経細胞死に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

II. 研究対象ならびに方法

AD 病理における鉄摂取の影響を解析するため、Swedish 変異 (K670N/M671L) と Indiana 変異 (V717F) を持つヒト APP (アミロイド前駆体蛋白遺伝子) 過剰発現マウス (6 か月齢) を AD モデルマウスとして、鉄 (Fe₂SO₄) を含んだ水を 6 か月間摂取させ、その後、脳を摘出し、脳内の A β 沈着、タウ蛋白のリン酸化、神経細胞死に関して解析を行った。

A β には、アミノ酸 40 個の A β 40 と 42 個の A β 42 の二つの分子種があるが、それぞれに対する特異的な抗体を用いて、脳内に蓄積している A β 40 と A β 42 それぞれを免疫染色法および ELISA によって検出・定量した。

また、AD 脳では、タウ蛋白が異常にリン酸化されているが、タウ蛋白のリン酸化における鉄摂取の影響を、リン酸化タウ蛋白に対する抗体の免疫染色法で解析した。

神経細胞死に関しては、アポトーシスを引き起こす活性化カスパーゼ 3 に対する抗体による免疫染色で評価した。

III. 研究結果

鉄摂取させたマウスでは、脳内の A β 42 沈着量が減り、A β 沈着が減少していることが明らかとなった。また、鉄摂取により、脳内のタウリン酸化の程度及び神経細胞死の割合も減少していることが明らかとなった。さらに、培養細胞を用いて、培地中への鉄

添加による A β 産生に及ぼす影響を解析した結果、培地中への鉄添加によって、A β 42/A β 40 の比が低下することがわかった。また、細胞内鉄貯蔵に関与するフェリチンが家族性 AD 原因遺伝子産物プレセニリンと良く結合するということが明らかとなった。

IV. 考 察

特徴的な AD 病理である A β 42 沈着、タウのリン酸化、細胞死が、鉄摂取により抑制されることが明らかとなった。

A β 42 は、タウのリン酸化、細胞死を引き起こす要因と考えられているが、おそらく、鉄摂取により、A β 42 の沈着量が減少し、それによってタウのリン酸化、細胞死が抑制されたものと考えられる。

また、培養細胞を鉄処理すると A β 42/A β 40 の比が減少することが明らかとなった。A β 40 は、A β 42 の細胞毒性や A β 42 沈着を抑制する作用が報告されているが、*in vivo* での鉄摂取による脳内 A β 42 沈着抑制や神経細胞死抑制効果は、おそらく鉄摂取により A β 42/A β 40 の量比が減少したことが原因と考えられる。

さらに、細胞内鉄貯蔵に関与するフェリチンが家族性 AD 原因遺伝子産物プレセニリンと良く結合するということが明らかとなった。A β 産生酵素である γ セクレターゼは、プレセニリンを含む複合体が担っていることが明らかにされており、 γ セクレターゼによる切断部位の変化が、A β 42/A β 40 の比を決定される。鉄処理により、フェリチン量が著しく上昇することが確認されているが、このフェリチンがプレセニリンと結合することにより、 γ セクレターゼ活性が変化し、A β 42/A β 40 の比が減少した可能性が考えられた。

以上より、鉄摂取は、AD 発症の予防効果がある可能性が示唆された。

V. 結 語

鉄摂取は、AD 病理の特徴である A β 42 沈着、タウのリン酸化、細胞死に対して抑制作用があることが明らかとなった。

おそらく、鉄摂取によって増加するフェリチンが、 γ セクレターゼを担うプレセニリンと結合することによって、A β 42/A β 40 比が減少し、そのために A β 42 沈着が抑制されたと考えられる。

これらの結果より、鉄摂取による AD 発症予防効果が期待される。

論文審査担当者

主査 小澤正吾 教授 (薬物代謝動態学分野)
副査 中西真弓 教授 (機能生化学分野)
副査 白石博久 准教授 (生体防御学分野)

論文審査の結果の要旨

沈雪峰氏は、アルツハイマー病 (AD) の病態に対する鉄イオンの摂取による影響を調べるため、AD のモデルマウスを用い、鉄を含む飲水を与えた。すなわち、飲水として投与された鉄がアミロイドタンパク A β を含む変性型アミロイドプラークの沈着に及ぼす影響調べた。その結果、沈氏は A β 42 の脳内沈着が抑制され、同時に鉄の沈着量も低下していることを見出した。ただし、鉄の投与による血清鉄濃度、脳内全体の鉄の量についての変動はなかった。アミロイド前駆タンパク質を過剰発現させたマウス由来の線維芽細胞を鉄で処理した場合、細胞内の A β 42 の生産量は変動せず、A β 40 の産生量は上昇したので、AD の病態と密接に関連し、病態進行の指標となる A β 42/A β 40 比は減少した。病態進行の抑制を示唆している。

また、鉄処理により、フェリチンのプレセニリン 1 結合量は上昇した。in vitro の結果で、A β 40 は A β 42 の脳内での凝集を抑制、すなわち、A β 40 は、脳内におけるアミロイドの形成を抑制した。鉄投与は、A β 42 を A β 40 に変換する γ -セクレターゼ活性の修飾を通じて脳内におけるアミロイドの沈着、A β 42/A β 40 比の減少を起こすものと考察された。

試験・試問の結果の要旨

沈雪峰氏は、アルツハイマー病 (AD) のモデルマウスを用い、病態に対する鉄イオンの摂取による影響を調べた。鉄はフェントン反応などを通じた水酸ラジカルの発生などが知られ、当初は鉄の投与による悪影響を想定したが、結果は、 γ -セクレターゼの活性修飾によって A β 42/A β 40 比が低下し結果的に脳内アミロイドの沈着が抑制されたと考察される興味深い知見を得た。ただし、鉄投与による脳内鉄代謝の変動の機序や、 γ -セクレターゼの活性修飾に至る機序は十分に解明されたとはいえず、今後の課題として残った。

一連の結果を短時間に要領よく発表することはかなり難しいとも考えられたが、沈氏は最終試験において以上の点をわかりやすく説明し、質問にも的確に回答した。沈氏の結果は、主論文として Biochemical Biophysical Research Communications に発表され、AD の病態や治療に向けて貴重な知見を得たものであり、最終試験合格、博士 (薬学) の学位にふさわしいものとする。