

令和元年5月10日現在

機関番号：34310

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18386

研究課題名(和文) TSPANが及ぼす γ -secretase活性変化の機序解明研究課題名(英文) Efficacy of TSPAN for γ -secretase activity

研究代表者

角田 伸人 (Kakuda, Nobuto)

同志社大学・生命医科学部・助教

研究者番号：50544615

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：アミロイドタンパク質(A β)は、 γ -secretaseによって産生される。細胞膜に局在するtetraspanin(TSPAN)による γ -secretaseへの影響を解析した。TSPANとアミロイド前駆体タンパク質(APP)を一過性に発現したHEK細胞の培地に含まれるA β について解析した。各TSPANによって、A β の産生量に変化が認められた。TSPANを発現させない場合と比較して、A β の総量に変化が認められるTSPANとA β 量が低下するTSPANに分類できた。しかし、A β 40とA β 42の比率に変化は認められなかった。本研究で、TSPANはA β 産生を亢進させないことがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

わが国の高齢化社会問題のひとつに認知症があり、その多くの患者はアルツハイマー病である。この問題は患者に対する治療薬がないことのほか、要介護であり、少子高齢化の中で労働力の減少にも影響が及ぶ。アルツハイマー病の発症機序は明らかとなっていないが、これまでの研究から発症を引き起こすのはアミロイドタンパク質(A β)と考えられている。本研究は、このA β を産生する酵素活性に着目し、この活性変化なぜ起こるのか明らかにする。将来的には発症を遅延できるように展開していく。

研究成果の概要(英文)：The γ -secretase generates amyloid proteins in the cells. This study focuses on Tetraspanins (TSPAN), which is membrane protein family, effect for γ -secretase activity. To analyze A β 's generation, conditioned media corrected from HEK cells, which expressing APP and each TSPAN transiently. A β 's analyzed with ELISA, some of TSPANs affect amount of A β changed drastically. On the other hand, some of TSPANs does not changed A β generation level. Thus, there are at least two TSPAN groups. One is γ -secretase activity decreasing TSPAN group, another is γ -secretase activity does not effect group. However, in this study, there are not γ -secretase activities progressing TSPANs. More experiments need to understand TSPAN and γ -secretase activity relationship in the membrane environments.

研究分野：神経病理学

キーワード：アルツハイマー病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD) の発症は、アミロイドβタンパク質 (Aβ) の異常な脳内蓄積から始まる。この Aβ を産生する酵素はγ-secretase であり、研究代表者のこれまでの研究において、AD 脳ではγ-secretase 活性が変化していることを見出した。この原因が何に起因するのかという疑問から本研究を開始した。

2. 研究の目的

Aβ を産生するγ-secretase は、常に細胞膜に存在する。これまでの先行研究より、γ-secretase と同様に細胞膜に局在するタンパク質の存在が、γ-secretase 活性に影響を及ぼすことが示された。そこで本研究において、γ-secretase 活性に影響を及ぼす tetraspanin (TSPAN) ファミリータンパク質に着目し、どの TSPAN がγ-secretase 活性にどのように影響を及ぼすのか解析することを目的とした。

3. 研究の方法

TSPAN によるγ-secretase 活性変化への影響を検討するため、まず培養細胞を用いた発現実験系で検討した。当初、CHO 細胞を用いて解析を試みたが、各 TSPAN の発現量が一定でないことから、HEK293 細胞に変更して解析を行った。培養後、培地中へ分泌された Aβ について、生化学的手法で Aβ の産生量を測定した。産生された Aβ 量に変化が見られたことから、産生された Aβ の詳細な分子種についても解析した。

4. 研究成果

Aβ は、γ-secretase の連続的な切断によって産生され、細胞膜外へ放出される。細胞膜に局在する TSPAN によるγ-secretase への影響を解析した。TSPAN とアミロイド前駆体タンパク質 (APP) を一過性に発現した HEK 細胞の培地に含まれる Aβ について解析した。まずも産生量の多い Aβ₄₀ 量について解析したところ、各 TSPAN によって産生量に変化が認められた (図 1)。TSPAN を発現させない場合と比較して、Aβ 量に変化が少ない TSPAN と Aβ 量が低下する TSPAN に分類できた。さらに分子種について詳細に検討した。Aβ₄₀ のほか、Aβ₃₈ と Aβ₄₂ を解析した (図 1)。

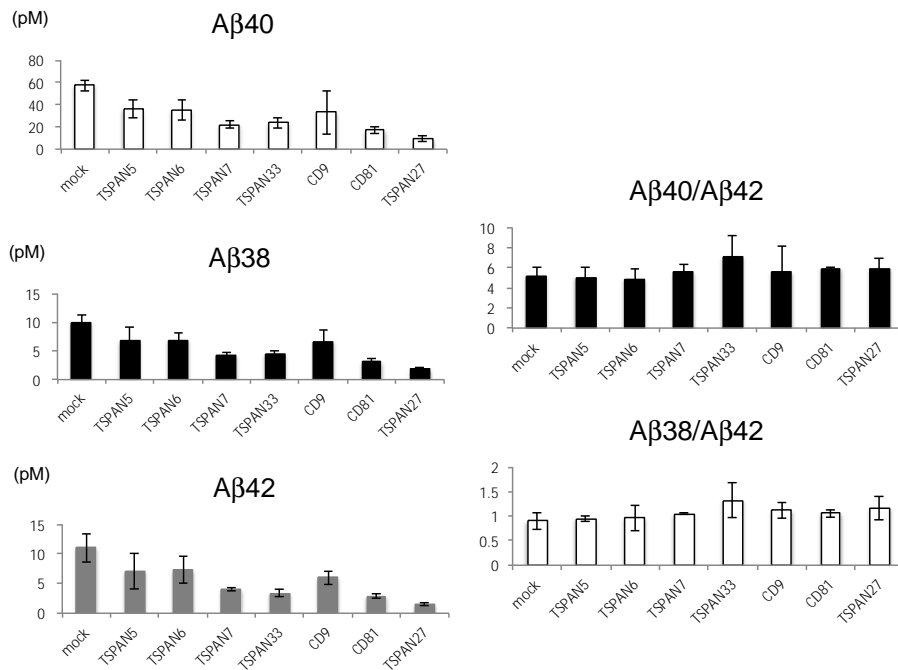


図1 各TSPAN発現下におけるAβ量

図2 各TSPAN発現下におけるAβ存在比

Aβ₄₀ のほか、Aβ₃₈ および Aβ₄₂ を測定した結果、Aβ₄₀ と同様に TSPAN の発現により Aβ₃₈ と Aβ₄₂ は減少した。さらに産生された各 Aβ の存在比率について解析した。興味深いことに、Aβ₄₀ と Aβ₄₂ の比率 (Aβ₄₀/Aβ₄₂) および Aβ₃₈ と Aβ₄₂ の比率 (Aβ₃₈/Aβ₄₂) に変化は認められなかった (図 2)。

一方、γ-secretase は APP 以外の細胞膜貫通タンパク質を切断することが明らかにされている。そのなかでも notch は、発生に寄与する分子として知られている。APP の場合と同様に、HEK293 細胞に notch と TSPAN を一過性に発現させ、γ-secretase への影響を検討した (図 3)。その結果、APP の場合とは異なり、TSPAN はγ-secretase による notch の切断を亢進させた。これは、基質が APP と notch の場合では、TSPAN がγ-secretase 活性に与える影響が異なることを示す。

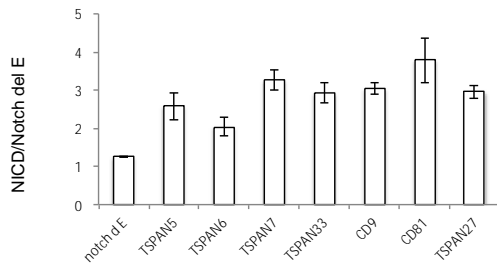


図3 各TSPAN発現下におけるnotch切断

本研究で明らかになったことは、1) TSPAN の発現が γ -secretase 活性に及ぼす影響は、 $A\beta$ 産生を亢進させないが、 $A\beta$ 産生を低下させる TSPAN が多いことである。2) TSPAN の発現による γ -secretase 活性は、産生される $A\beta$ の存在比率には影響を及ぼさない。一方、同じ γ -secretase の基質である notch の場合は異なる影響を示した。3) TSPAN は notch の切断を亢進することから、TSPAN が γ -secretase に及ぼす活性変化について、 γ -secretase と各基質の認識に影響すると考えられる。AD 脳では、TSPAN6 の発現が亢進しているという報告がある。これは産生される $A\beta$ 量が低下すると予想される。この産生低下に伴って、本来 $A\beta$ と共に排出される分子が排出されず、結果として $A\beta$ の脳内蓄積につながる可能性も考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。