

平成 21 年 5 月 18 日現在

研究種目：若手研究(スタートアップ)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19800040  
 研究課題名(和文) アンギオテンシン変換酵素のもつ新規アミロイドベータ蛋白分解・変換作用に関する研究  
 研究課題名(英文) Angiotensin-converting enzyme as an A $\beta$ -degrading and A $\beta$ 42-to-A $\beta$ 40-converting enzyme  
 研究代表者  
 鄒 鶴 (ZOU KUN)  
 岩手医科大学・薬学部・助手  
 研究者番号：40450837

## 研究成果の概要：

アルツハイマー病(AD)では、アミロイド $\beta$ 蛋白(A $\beta$ )の脳内蓄積機構の解明が重要な課題となっている。我々は、Angiotensin-converting enzyme(ACE)が、重合能の強いA $\beta$ 42を神経保護作用をもつA $\beta$ 40に変換する活性(A $\beta$ 変換活性)を有することを見いだした。更に、A $\beta$ 変換活性とアンギオテンシン変換活性がACEの異なるドメインに存在することを明らかにした。

プレセニリン(PS)は家族性ADの主な原因遺伝子であり、 $\gamma$ セクレターゼ複合体の中で中心的な役割を担っている。我々はPS1,2欠損細胞を用いて、プレセニリンが蛋白特異的にtraffickingやmaturationを制御することを明らかにした。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,320,000	0	1,320,000
2008年度	1,350,000	405,000	1,755,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,670,000	405,000	3,075,000

研究分野：神経解剖学・神経病理学

科研費の分科・細目：神経科学・神経解剖学・神経病理学

キーワード：アルツハイマー病、アミロイドベータ蛋白、アンギオテンシン変換酵素、A $\beta$ 変換、プレセニリン、インテグリン

## 1. 研究開始当初の背景

ADの発症には、アミロイド $\beta$ 蛋白(A $\beta$ )の脳内蓄積が深くかかわっていると考えられている。

生理的条件下で産生・分泌されるA $\beta$ は、重合能があり、神経毒性を持つと考えられている。また、A $\beta$ は、主にA $\beta$ 40とA $\beta$ 42の2種存在し、近年の研究から、A $\beta$ 42は重合能および神経毒性がより強い分子であることが示されている。

現在までに明らかになった家族性ADの家系は、A $\beta$ の前駆体蛋白質であるAPPの遺伝子変異、あるいはAPPからA $\beta$ を切り出す酵素の一つであるプレセニリンの遺伝子変異を持つことが明らかになり、これらの遺伝子変異がA $\beta$ の産生を増加させること、特にA $\beta$ 42の産生増加を誘導することが示されている。

従って、ADの予防・治療法につながる介入点として、A $\beta$ 産生抑制、A $\beta$ 重合抑制、A $\beta$

除去(ワクチン療法)や分解促進が考えられ、これらに関する研究が国内外で進められている。しかしながら、まだ、有効な治療法は確立されていない。

## 2. 研究の目的

我々は、 $A\beta$  の神経毒性発揮のメカニズムに関する研究過程で、 $A\beta 42$  は強い毒性を発揮するが、 $A\beta 40$  は神経保護作用を持つことを見出した。さらに、我々は、Angiotensin-converting enzyme(ACE)が、重合能の強い $A\beta 42$  を重合能の弱い $A\beta 40$  に変換する活性( $A\beta$  変換活性)を有することを見いだしている。

本研究は、ACEの $A\beta$ 蓄積の関与を *in vivo* で明らかにする上、 $A\beta$ 変換活性の分子機構を解明するため、 $A\beta$ 変換に必要な活性ドメインを明らかにする。また、ACEのもつ $A\beta$ 変換活性はACEの糖鎖修飾に依存するか否か、プレセニリンがACEなど膜蛋白質の maturation に影響を与えるか否かを明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

- (1) ACE 阻害剤であるカプトプリルを APP トランスジェニック(Tg2576)マウスに長期投与し、Thioflavin-S 染色並びに $A\beta$ 免疫染色を行い、Tg2576 マウス脳において、 $A\beta$  の沈着が増強されるか否かを検討する。
- (2) ACE ノックアウト(ACEko)および APP トランスジェニックマウス(Tg2576)を用いて、ダブルトランスジェニックマウスを作成し、脳内 $A\beta$ の沈着を調べる。
- (3) ACE の全長、N 端側ドメインのみ、あるいはC 端側ドメインのみをもつ変異 ACE cDNA 発現ベクターを CHO 細胞に導入し、安定発現細胞株を確立する。これらの細胞株から各種 ACE を精製し、これらの ACE の作用を、 $A\beta 42$  を  $A\beta 40$  に変換する作用、 $A\beta$  の分解作用、angiotensin I 変換作用の 3 つの観点から検討する。

## 4. 研究成果

- (1) ACE 阻害剤であるカプトプリルを APP トランスジェニック(Tg2576)マウスに長期投与し、Tg2576 マウス脳において、 $A\beta 42$  の沈着が著明に増強されることを判明した(Zou *et al.*, *J Neurosci*, 27:8628--35, 2007; Zou *et al.*, *Rev Neurosci*, 19:203-212, 2008)。
- (2) ACE ノックアウト(ACEko)および APP トランスジェニックマウス(Tg2576)を用いて、ダブルトランスジェニックマウスを作成した。Tg2576・ACE(+/-)マウスの脳において、 $A\beta$ 沈着増加の傾向が確認された。しかし、Tg2576・ACE(-/-)マウスは、死亡率が高く、十分な数を得られなかった。マウスの生存率を改善するために、PDGFhAPP マウスと ACEko マウスの交配を開始した。
- (3) PS 1,2 欠損細胞を用いて、膜蛋白質の trafficking や maturation に対する PS 1,2 欠損の影響を調べた。その結果、nicastrin の trafficking や maturation は PS 1,2 欠損細胞では阻害されていたが、integrin  $\beta 1$  や  $\alpha 3$ 、 $\alpha 5$  の mature 蛋白質は増加しており、trafficking の促進が示唆された(Zou *et al.*, *Biochemistry*, 47:3370-3378, 2008)。
- (4) ACE の全長、N 端側ドメインのみ、あるいは C 端側ドメインのみをもつ ACE 蛋白質を精製し、 $A\beta$ 変換活性とアンギオテンシン変換活性が ACE の異なるドメインに存在することを明らかにした(Zou *et al.*, *J Biol Chem*, revised)。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

1. Kun Zou\*. Aging society and Alzheimer's disease. *Alzheimer Dis Res J*, in press. 査読有
2. Kun Zou\* and Makoto Michikawa.

Angiotensin-Converting Enzyme as a Potential Target for Treatment of Alzheimer's Disease: Inhibition or Activation. *Rev Neurosci*, 19:203-212, 2008. 査読有

3. Kun Zou\*, Takashi Hosono, Toshiyuki Nakamura, Hirohisa Shiraishi, Tomoji Maeda, Hiroto Komano, Katsuhiko Yanagisawa and Makoto Michikawa. Novel role of presenilins in maturation and transport of integrin beta1. *Biochemistry*, 47:3370-3378, 2008. 査読有
4. Kun Zou\*, Tomoji Maeda, Makoto Michikawa and Hiroto Komano. New amyloid plaques or a game of hide-and-seek. *Int J Biol Sci*, 4:200-201, 2008. 査読有
5. Kun Zou, Haruyasu Yamaguchi, Hiroyasu Akatsu, Takaaki Sakamoto, Mihee Ko, Kazushige Mizoguchi, Jian-Sheng Gong, Wenxin Yu, Takayuki Yamamoto, Kenji Kosaka, Katsuhiko Yanagisawa and Makoto Michikawa. Angiotensin-converting enzyme converts A $\beta$ 1-42 to A $\beta$ 1-40 and its inhibition enhances brain A $\beta$  deposition. *J Neurosci*, 27:8628-8635, 2007. 査読有

\* Corresponding author

[学会発表] (計 8 件)

1. Kun Zou et al., Identification of ACE domain converting Abeta42 to Abeta40. 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会大会合同大会, 神戸ポートアイランド, 2008 年 12 月 10 日.
2. Kun Zou et al., アンギオテンシン変換酵素のもつAbetaの変換作用. 第 47 回日本薬学会東北支部大会, 岩手医科大学薬学部, 2008 年 10 月 26 日.

3. Kun Zou et al., Presenilin regulates the maturation of membrane protein in opposite directions. 第 27 回日本認知症学会, 前橋テルサ, 2008 年 10 月 10 日.
4. Kun Zou et al., プレセニリン欠損によるインテグリン $\beta$ 1の成熟促進作用. 第 31 回日本神経科学大会, 東京国際フォーラム, 2008 年 7 月 10 日.
5. Kun Zou, アルツハイマー病におけるアミロイドベータ蛋白の作用. 第 2 回ミッドカイン研究会, 名古屋大学医学部, 2008 年 3 月 13 日.
6. Kun Zou et al., Angiotensin-converting enzyme converts A $\beta$ 1-42 to A $\beta$ 1-40 and its inhibition enhances brain A $\beta$  deposition. 第 30 回分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会, パシフィコ横浜, 2007 年 12 月 14 日.
7. Kun Zou et al., Angiotensin-converting enzyme converts A $\beta$ 1-42 to A $\beta$ 1-40 and its inhibition enhances brain A $\beta$  deposition. Society for Neuroscience, the 37<sup>th</sup> annual meeting, San Diego Convention Center, USA, Nov. 6, 2007.
8. Kun Zou et al., Angiotensin-converting enzyme converts A $\beta$ 1-42 to A $\beta$ 1-40 and its inhibition enhances brain A $\beta$  deposition. 第 13 回国際老年精神医学会・第 22 回日本老年精神医学会・第 26 回日本認知症学会合同大会, 大阪国際会議場, 2007 年 10 月 17 日.

[図書] (計 1 件)

Kun Zou, Be Young in Mind—Against Aging and Alzheimer's Disease. Handbook on Longevity: Genetics, Diet&disease, Nova Science Publishers, Inc., Chapter 11, 2009.  
総ページ数 : 187.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鄒 鶴 (ZOU KUN)

岩手医科大学・薬学部・助手

研究者番号：40450837

### (2) 研究分担者

### (3) 連携研究者

### (4) 研究協力者

駒野 宏人 (KOMANO HIROTO)

岩手医科大学・薬学部・教授

研究者番号：40170378

前田 智司 (MAEDA TOMOJI)

岩手医科大学・薬学部・准教授

研究者番号：60303294

道川 誠 (MICHIKAWA MAKOTO)

国立長寿医療センター研究所

アルツハイマー病研究部・部長

研究者番号：40270912