慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

| | |
|---|---|
| Title | Targeted introduction of V6421 mutation in amyloid precursor protein gene causes functional abnormality resembling early stage of Alzheimer's disease in aged mice . |
| Sub Title | アミロイド前駆体蛋白質にV6421変異を導入したノックインマウスはアルツハイマー病の初期段階を反映した機能的異常を示す |
| Author | 川澄, 正興 |
| Publisher | 慶應医学会 |
| Publication year | 2004 |
| Jtitle | 慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.4 (2004. 12) ,p.8- |
| JaLC DOI | |
| Abstract | |
| Notes | 号外 |
| Genre | Journal Article |
| URL | https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0008 |

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# Targeted introduction of V642I mutation in amyloid precursor protein gene causes functional abnormality resembling early stage of Alzheimer's disease in aged mice.

（アミロイド前駆体蛋白質にV642I変異を導入したノックインマウスは
アルツハイマー病の初期段階を反映した機能的異常を示す）

川　澄　　正　興

## 内容の要旨

アルツハイマー病（ア病）は、高齢者に見られる進行性痴呆の最も一般的な原因である。大多数のア病は孤発性であるが、その発症原因については解明が進んでいない。一方、常染色体優性遺伝のア病症例も報告され、アミロイド前駆体タンパク質（APP）が家族性ア病の原因遺伝子の一つとして同定された。APPは、ア病患者の脳に見られる老人斑の主要成分であるAβの前駆体である。家族性ア病の遺伝子変異の影響を生体内で検討するため、これまで多くのトランスジェニックマウスが作製されてきた。これらの先行するマウスモデルでは老人斑の形成や行動異常が見られたが、神経細胞死や神経原線維変化はAPPに関連したモデルでは再現されなかった。また、これらはAPPを過剰に発現しており、ヒトでの家族性ア病の遺伝子変異を正確には再現していない。

そこで本研究では、ヒトの家族性ア病患者で見られる遺伝子変異を初めて忠実に再現したモデルとして、家族性ア病の遺伝子変異であるV642I変異APPを内因性プロモーターのもとで生理的に発現させたノックインマウスを作製した。ヒトの家族性ア病患者と同様に、変異した対立遺伝子を一つだけ有するヘテロ型のこのマウスを29ヶ月齢まで用い、行動学的、病理学的、生化学的解析を行った。

行動学的解析として、open-field test、高架式十字迷路、水探索試験を行った。水探索試験は、実験装置内に据え付けられた給水瓶の在り処を覚えさせ、翌日にそれを覚えているかを調べる行動試験である。このうち、open-field testと高架式十字迷路では異常は認められず、運動パターンや活動性、感情の変化についての異常はなかった。水探索試験においては、高齢のヘテロ型のV642I変異APPノックインマウスに異常が認められ、給水瓶にたどり着くまでに野生型のマウスに比べて時間がかかった。このような学習障害が認められるものの、短期記憶には異常はなかった。

また、ア病での特徴的な病理所見である老人斑の形成、神経原線維変化、神経細胞の脱落の有無を検索したが、高齢ノックインマウスにおいてもこれらの病理像は見られなかった。

さらに我々は、生化学的解析により脳内のAβ42（43）とAβ40の量をELISA法により測定した。Aβはア病での特徴的病理所見である老人斑の主要成分であり、Aβ42（43）は毒性が高いAβと言われている。高齢のヘテロ型ノックインマウスではAβ42（43）とAβ40の比が有意に上昇し、Aβ42（43）が相対的に多くなることが明らかとなった。

以上のように、ヒトの家族性ア病を遺伝子レベルで忠実に再現したV642I変異APPノックインマウスを作製し、器質的異常ではなく、機能的異常を示すことを報告した。これはア病の発症初期段階を反映している可能性があり、ア病の発症機序を解明するための動物モデルとして有用であると考えられた。

## 論文審査の要旨

既存のアルツハイマー病（ア病）動物モデルには、ヒトでの発症原因を正確に反映したモデルはなかった。そこで本研究では、家族性ア病の遺伝子変異を忠実に再現したV642I-APPノックインマウスを作製した。ヘテロ型の雌では生後125週までに生存率が低下した。潜在的学習行動を調べる水探索試験において、27か月齢のヘテロ型は学習能力の低下を示した。短期記憶を示すY字型迷路ではヘテロ型と野生型の差異は認められなかった。長期記憶を調べる放射状８方向迷路ではヘテロ型で学習の遅延が認められた。29か月齢の脳にはア病に関連した病理学的変化は認められなかったが、ヘテロ型で脳内のAβ42(43)/Aβ40比が上昇した。高齢のノックインマウスは器質的異常ではなく機能的異常を示すことから、ア病の発症初期段階を反映していることが示唆された。

審査ではまず、イントロン17に残存するloxP配列の影響について質問がなされた。それに対して、loxPを含み、変異のないマウスも作製したが、本研究で対照として用いたloxPも変異も含まないマウスと差は認められなかったと回答された。野生型とヘテロ型の脳でのAPP総転写量には変化がないものの、残存するloxP配列がスプライシングパターンに影響を与える可能性があり、全長に渡ってAPP転写量を解析すべきであると助言された。マウスのgenetic backgroundについて質問され、本研究ではTT2系統由来の同腹のF1マウスを用いているが、その後C57BL/6系統への戻し交配を進めており、行動実験で同様の結果が得られていると報告された。また、ホモ型はやや出生率の低下が見られるものの生存可能であり、予備的検討ではヘテロ型と同様の経過をたどっていると報告された。

次に、このマウスが形態的変化を生じることなく機能異常のみを示す原因について質問され、可溶性Aβの影響が考えられると回答された。また、以前のin vitroでの検討で、V642I変異が誘導する神経細胞死を抑制する神経防御因子の存在が明らかになっており、今後その因子の挙動をin vivoで検討する必要があると回答された。

ヘテロ型マウスにおいて、野生型と変異型の対立遺伝子から生じるAPPの転写量や発現量に差はないのかとの質問がなされた。ヘテロ型のゲノムDNAの塩基配列データから野生型と変異型の対立遺伝子は１：１に存在すること、APPの総転写量と総発現量には野生型とヘテロ型で差がないことから、間接的証拠ながら野生型と変異型のAPPは同程度に発現していることが示唆されると回答された。

雌で生存率が低下した原因について質問され、エストロゲンの欠乏が影響している可能性があると回答されたが、生存率が低下する時期におけるエストロゲンやAβ42(43)の濃度を測定し、両者の関係について知見を深めるべきであると助言された。

V642I-APPの生体内での役割について質問され、この変異がAβの切断部位に影響し、Aβ42(43)/Aβ40比を変えることで行動異常を引き起こしている可能性があると回答された。最後に知能の発育遅滞と痴呆は明確に区別されるべきであり、本研究におけるマウスは若齢期の知能発育が正常であったかとの質問がなされ、若齢では記憶学習障害は認められなかったと回答された。

以上のように、本研究はさらに検討すべき課題はあるものの、V642I-APPを内因性プロモーターのもとで発現するモデルマウスを作製し、行動異常を示すことを明らかにした点で、ア病の病態解明に貢献するものと評価された。

論文審査担当者　主査　解剖学　相磯　貞和
内科学　鈴木　則宏　　解剖学　仲嶋　一範
生理学　岡野　栄之
学力確認担当者：
審査委員長：鈴木　則宏

試問日：平成16年 9月 8日