

課題番号 14

アルツハイマー病脳における ABCA7 蛋白発現の解析

[1] 組織

代表者：戸田 好信

(天理医療大学医療学部)

対応者：福本 学

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

植田 和光 (京都大学農学研究科)

岡田 光喜 (天理医療大学医療学部)

研究費：物件費 19 万 1 千円，旅費 5 万 9 千円

[2] 研究経過

(2-1) 本研究の目的・概要

アルツハイマー病の研究・開発は、近年ますますその重要性を増している。申請者らは病理検査に有効な抗ヒト ABCA7 抗体を開発した(Toda Y et al. *Pathology Int* 2005)。ABCA7 蛋白は ATP 輸送体ファミリーの一つで、ABCA7 の一塩基多型とアルツハイマー病との関連が報告され (Paul Hollingworth et al. *Nature Gen* 2011)，また、ABCA7 ノックアウトマウスでは脳内での不溶性 β アミロイド沈着が高まることが報告されている (Kim WS, Li H et al. *J Neurosci* 2013)。このことより、ABCA7 蛋白の脳における重要な役割が予想されているが、発現部位や生理的基質はいまだ不明である。本共同研究では、ヒトアルツハイマー病脳組織を用いて、アルツハイマー病の神経細胞、グリア細胞における ABCA7 蛋白発現に関して解析を加え、アルツハイマー病発症との関連を明らかにすることを目的として研究を行った。

以下、研究活動状況の概要を記す。

本研究では ABCA7 の cDNA の単離と培養細胞発現系によって細胞内局在を検討するとともに、免疫組織染色によって発現場所の特定を行った。ヒト ABCA7 (アミノ酸 45-549) の C 末端に GFP を融合

し、HEK293 細胞に発現させると ABCA7 は細胞膜に局在した。次に、C 末端部分を認識するモノクローナル抗体を作成し、ヒト脳の免疫組織染色を行った。ABCA7 タンパク質の脳内における発現部位を特定するとともに、アルツハイマー病患者とアルツハイマー病以外の患者の脳組織における発現部位と発現量を比較した。福祉村長寿医学研究所ブレインバンクの病理解剖より得られたアルツハイマー病、非アルツハイマー病ヒト脳病理組織標本にて rat anti-ABCA7 (KM3095.KM3095) (1:50)，rabbit anti-GFAP (1:500 Dako)，rabbit anti-Iba1 (1:1000 Wako)，mouse anti- β Amyloid (1:100 NOVOCASTRA)，rabbit anti-ssDNA (1:500 Dako) 抗体を用いて免疫組織化学染色を行い検討した。

(2-2) 研究打ち合わせ等の開催状況

本研究打ち合わせ会議は福本学教授と加齢医学研究所および京都大学において行い、また、メールおよび電話にて研究進捗状況ならびに今後の検討について打ち合わせを行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

1. ABCA7 蛋白の発現細胞

アルツハイマー病脳では ABCA7 が海馬および大脳皮質の神経細胞の細胞体、グリア細胞に発現していることが明らかとなった。また、アルツハイマー病の脳では他の神経疾患脳と比べて陽性細胞数が少ないことを明らかにした。このことは ABCA7 蛋白発現量の低下と β アミロイドの沈着に伴うアルツハイマー病の進行に関係があることが示唆された。

(図 1)

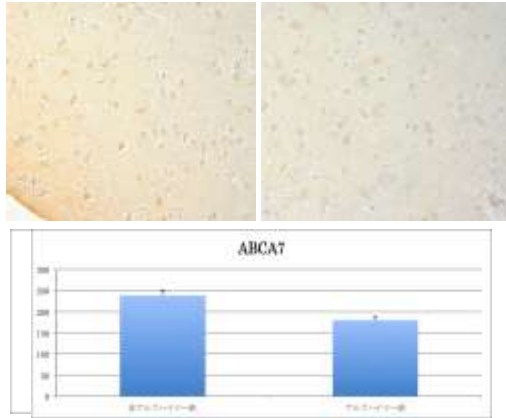


図1 左：非アルツハイマー病 右：アルツハイマー病
ABCA7陽性神経細胞

2. ABCA7蛋白発現の解析

免疫染色でABCA7は神経細胞で陽性所見が見られ、アルツハイマー病、非アルツハイマー病ヒト脳組織での神経細胞数は有意にアルツハイマー病で少なくなっていた。アルツハイマー病、非アルツハイマー病ヒト脳組織でのABCA7のWBでは同程度の発現量であることが明らかとなった。以上のことより、ABCA7が陽性細胞数の変化がアルツハイマー病の脳内脂質代謝における重要な役割を果たしていることが予想された。

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究は、多くの分野の研究者との連携により成り立っており、交流が飛躍的に活性化した。また、本共同研究で明らかになったアルツハイマー病におけるABCA7蛋白発現の解析の成果は、アルツハイマー病患者由来iPS細胞を用いたABCA7 shRNA解析に結びつき、今後の発展が期待されている。

[4] 成果資料

1. Toda Y, Tomioka M, Akatsu H, Fukumoto M and Ueda K
Expression of ABCA7 in nerve and glia cells in the human brain with Alzheimer's disease. (to be submitted)

学会発表

1. 戸田好信、岡田光貴、赤津裕康、池本正生、植田和光 アルツハイマー病モデルマウスの神経細胞、グリア細胞におけるニコチンの効果に関する研究 第104回日本病理学会総会、2015.4.30
2. 赤津裕康、富岡麻衣子、山縣英久、兼松孝好、戸田好信、山本左近、橋詰良夫、池内健、桑野良三、大原弘隆、植田和光 アルツハイマー病リスク因子としての ATP-binding cassette sub-family A member 7 (ABCA7)遺伝子多型(連続剖検488症例を用いて) 第5回日本認知症予防学会学術集会 2015.9.25
3. H. Akatsu, M. Tomioka, T. Kanematsu, Y. Toda, H. Yamagata, S. Yamamoto, H. Ohara, T. Ikeuchi, R. Kuwano, Y. Hashizume, K. Ueda Autopsy confirmed ALZHEIMER'S Disease, Especially earlier onset and apolipoprotein E4 negative male has the variant in the ATP-binding cassette transporter (ABCA7) アジアオセアニア国際老年学会(IAAG 2015) 2015.10.19
4. 戸田好信、岡田光喜、赤津裕康、池本正生、植田和光 アルツハイマー病脳の神経細胞、グリア細胞におけるABCA7蛋白発現に関する研究第62回日本臨床検査医学会学術集会 2015.11.19