



## Study on the biological actions of $\beta$ -amyloid peptides

著者	Takenouchi Takato
内容記述	Thesis (Ph.D. in Agriculture)--University of Tsukuba, (A), no. 1478, 1996.3.25
発行年	1996
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/4080">http://hdl.handle.net/2241/4080</a>

氏名(本籍)	たけのうち たかと 竹之内 敬人 (鹿児島県)		
学位の種類	博 士 (農 学)		
学位記番号	博 甲 第 1,478 号		
学位授与年月日	平成 8 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	農 学 研 究 科		
学位論文題目	Study on the biological actions of $\beta$ -amyloid peptides (アミロイド $\beta$ ペプチドの生物作用に関する研究)		
主査	筑波大学教授	理学博士	宗 像 英 輔
副査	筑波大学教授	農学博士	村 上 和 雄
副査	筑波大学教授	Ph. D.	多比良 和 誠
副査	筑波大学教授	医学博士	庄 司 進 一
副査	筑波大学助教授	農学博士	馬 場 忠

## 論 文 の 要 旨

アミロイド $\beta$ 蛋白( $\beta$ AP)は、39-43残基アミノ酸からなるペプチドであり、アルツハイマー病(AD)患者の脳内に多く存在する老人斑の主要構成成分の一つである。それ自体で神経細胞毒性を示すことが報告され、また、最近の家族性ADに関する研究においてもAD発症に関与する可能性が示されており、その生物作用を明らかにすることは生理学的あるいは病態生理学的特性を理解する上でも重要である。1990年Yanknerらは、 $\beta$ APに含まれる11残基のペプチドフラグメント( $\beta$ A25-35)が $\beta$ AP同様の生物活性を有することを報告した。さらに、構造の類似性からタヒキニン群ペプチドとの関連性が検討され、特にサブスタンスP(SP)による $\beta$ APの細胞毒性が抑制されることから、SPとの作用の関連性が注目された。SPの特異的な受容体としてはNK-1受容体が知られているが、アミロイド $\beta$ ペプチドの作用機構におけるNK-1並びにNK-2、NK-3受容体の関与については否定的な報告が多い。そこで本研究は、SPのこれらタヒキニン受容体を介さないと考えられている生物作用に注目して、アミロイド $\beta$ ペプチドについての検討を行った。

SPは副腎髄質細胞並びにPC12細胞においてニコチン性アセチルコリン受容体を調節する作用を持つが、薬理実験の報告からNK-1受容体を介していないことが示されている。副腎髄質細胞のモデルとしてPC12h細胞を用い、ニコチン性アセチルコリン受容体の機能に対するアミロイド $\beta$ ペプチド $\beta$ A1-40及び $\beta$ A25-35の作用についてSPと比較検討した。その結果、 $\beta$ A1-40及び $\beta$ A25-35-NH<sub>2</sub>はSP同様ニコチン刺激による細胞内Ca<sup>2+</sup> ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>)上昇を抑制する作用を持ち、さらに $\beta$ A1-40に関しては高カリウム刺激による[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>上昇をも抑制することから、電位依存性カルシウムチャネルを阻害する可能性も示唆された。

一方、AD患者脳内の老人斑では炎症が見られることから、 $\beta$ APがそこに直接関与する可能性が示されており、また、SPも神経原性炎症のメディエーターとして、好中球などの炎症に関わる細胞を直接活性化することが知られている。そこで、好中球様に分化させたヒト骨髄性白血病細胞腫(human leukemia, HL-60)細胞に対するアミロイド $\beta$ ペプチドの活性化機構について、SPとの比較検討を行った。その結果、アミロイド $\beta$ ペプチドでもSPと同様に[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>の活性化が観察された。さらに、WST-1(water soluble tetrazolium)テトラゾリウムアッセイ法を用いて好中球様HL-60細胞の生存に与える影響を検討した結果、SPではその細胞死を抑制する効果が見られた。アミロイド $\beta$ ペプチドは神経細胞に対して毒性を示すことが知られているが、好中球様HL-60

細胞においてはSP同様むしろ細胞死を抑制する効果が見られた。また、本研究ではこれらの作用を $\beta$ APの評価系として利用できる可能性にも言及している。

## 審 査 の 要 旨

アルツハイマー病は初老期老年期に発症する痴呆であり、最近の研究からその発症機序にアミロイド $\beta$ 蛋白が関与する可能性が高まっている。著者の研究では、アミロイド $\beta$ ペプチドについて培養細胞に対する作用を細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ の変化を指標に検討している。神経様細胞であるPC12細胞はアミロイド $\beta$ ペプチドの毒性研究でも用いられる細胞であるが、本研究ではニコチン性アセチルコリン受容体の作用を抑制することを示しており、アルツハイマー病においてコリン作動系の異常が生じることからも興味深い結果が得られている。また、好中球様HL-60細胞においてアミロイド $\beta$ ペプチドが百日咳毒素感受性G蛋白を介した作用を持つことを示しており、その病態生理的機構への関与を示唆する結果となっている。アミロイド $\beta$ ペプチドは様々な生物作用を持つことが予測されていたが、本論文ではSPとの比較によりその作用を明らかにし、アミロイド $\beta$ ペプチドの性質を知る上で重要な知見が得られている。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。