

論文内容要旨

論文題目

Both estrogen and raloxifene protect against β -amyloid-induced neurotoxicity in estrogen receptor α -transfected PC12 cells by activation of telomerase activity via Akt cascade

(エストロゲンとラロキシフェンは Akt カスケードを介してテロメラーゼを活性化することにより、 β アミロイドの神経毒性から神経細胞を保護する)

責任講座： 発達生体防御学 講座

(女性医学分野)

氏 名： 杜 伯 涛

【内容要旨】

目的：アルツハイマー病は閉経後女性に好発し、その QOL を著しく損なうため、発症予防は重要な課題である。テロメラーゼ (telomerase) は神経細胞のアポトーシス制御に関与する。その活性は catalytic subunit である human telomerase reverse transcriptase (hTERT) に依存する。我々は、エストロゲン(E_2)や、骨粗鬆症治療薬として使用されている選択的エストロゲン受容体調節薬のひとつであるラロキシフェン(Ral)が、TERT を活性化し、アルツハイマー病の原因物質である β アミロイドペプタ($A\beta$)によって引き起こされる神経細胞のアポトーシスを抑制するか否か、また、抑制された場合、どのような細胞内のシグナル経路を介して作用するかについて検討した。

方法：神経細胞由来の PC12 (ラット由来の副腎褐色細胞腫) 細胞において、ベクター遺伝子を導入した(PCCON) 細胞とヒトエストロゲン受容体 α 遺伝子(ER α)を安定導入した(PCER) 細胞を用いた。1) $A\beta$ 添加によって誘導されるアポトーシスに対する Ral, E_2 の作用を TUNEL 法で検討し、2) TERT mRNA の発現は RT-PCR、3) テロメラーゼの活性は quantitative stretch PCR 法で検討した。PCER 細胞において、4) Akt のリン酸化は抗 Akt リン酸化抗体を用い、5) TERT のリン酸化は抗 TERT 抗体で免疫沈降した後、抗 Akt substrate リン酸化抗体を用いてそれぞれウェスタンブロット法を行ない、検討した。

結果：1) $A\beta$ により誘導されるアポトーシスは、PCER 細胞においては、Ral または E_2 の投与により有意に($p < 0.01$)抑制されたが、PCCON 細胞では、Ral, E_2 による抑制は観察されなかった。2) PCER, PCCON 両細胞において、 $A\beta$ の単独投与あるいは、 $A\beta$ と Ral または E_2 の併用の場合も、TERT mRNA の発現量に変動はみられなかった。3) PCER 細胞において $A\beta$ の投与下で、Ral または E_2 によりテロメラーゼ活性が増加したが、PCCON 細胞では Ral, E_2 による活性促進作用はみられなかった。4) ① PCER 細胞において、Ral あるいは E_2 の投与後 30 分で Akt のリン酸化が有意に($p < 0.01$)促進された。② PI3-kinase の阻害剤である LY294002 の投与により、 $A\beta$ 存在下でみられる Ral, E_2 によるテロメラーゼの活性化が抑制された。5) Ral あるいは E_2 の投与後 30 分で、TERT のリン酸化が有意に($p < 0.01$)増加した。

結論：Ral および E_2 は、ER α /PI3-kinase/Akt 経路を介して、テロメラーゼの転写後にその活性化を促進することにより、 $A\beta$ の投与により誘導されるアポトーシスから神経細胞を保護することが示唆された。


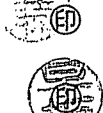

平成 17 年 / 月 28 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 杜 伯涛

論文題目： エストロゲンとラロキシフェンは Akt カスケードを介して
テロメラーゼを活性化することにより、 β アミロイドの

審査委員：主審査委員 加藤 丈夫  神経毒性から
副審査委員 加藤 宏司  神経細胞を
副審査委員 早 元 正  保護する。

審査終了日：平成 17 年 / 月 25 日

【 論文審査結果要旨 】

アルツハイマー病は先進国の痴呆性疾患の中で最も有病率の高い疾患であり、その発症予防は医学のみならず、社会全体の最も重要な課題の一つである。アルツハイマー病の病態はまだ解明されていないが、現在、最も有力な仮説はアミロイドベータ仮説である。神経病理学的に、アルツハイマー病では海馬や大脳皮質に異常たんぱく質であるアミロイドベータ蛋白質(A β)が沈着することが分かっているが、本仮説では A β の沈着が神経細胞死の原因と考えるものである。その根拠の一つとして、培養神経細胞に A β を添加すると、神経細胞のアポトーシスが惹起されることが報告されている。

杜 伯涛氏は、エストロゲン(E₂)やラロキシフェン(Ral：選択的エストロゲン受容体調節薬)が A β によって惹起される神経細胞のアポトーシスを抑制するか否か、また、抑制された場合、どのような細胞内のシグナル経路を介して作用するかについて実験を行なった。その結果、杜氏は 1) A β によって PCER 細胞 (PC12 にヒトエストロゲン受容体 α 遺伝子を導入した細胞) にアポトーシスが惹起されることを示し、E₂ および Ral はこのアポトーシスを抑制すること、および 2) E₂ および Ral は、ヒトエストロゲン受容体 α \rightarrow PI3-kinase \rightarrow Akt 経路を介して、TERT (telomerase reverse transcriptase) のリン酸化 \rightarrow テロメラーゼ活性化を促進することを明らかにした。以上の結果より、E₂ および Ral は上記の細胞内のシグナル経路を介して、A β による神経細胞のアポトーシスを抑制する可能性が示唆された。

杜 伯涛氏の研究は医学的にきわめて重要な新知見を含んでおり、研究デザイン、実験方法、結果の解釈、考察等も適切である。したがって、審査委員会(主査、副査)は本論文が学位(医学博士)授与に充分値するものと判断した。

(1, 200字以内)