

1998年度 厚生科学研究費  
(厚生科学特別研究事業)

アルツハイマー病の細胞内 $A\beta$ 42によるストレス誘導性ニューロン死  
(H10-特別-004)

大八木保政 (九州大学医学部)

## 研究組織

大八木保政 (九州大学医学部・助手)

分担研究課題：

標的DNA解析、遺伝子発現アッセイ、オキシ化A $\beta$ 動態解析

中別府雄作 (九州大学生体防御研究所・教授)

分担研究課題：

HPLC-MS等生化学的解析

## 厚生科学研究費補助金 (厚生科学特別研究事業)

### 総括研究報告書

#### アルツハイマー病の細胞内A $\beta$ 42によるストレス誘導性ニューロン死

主任研究者 大八木 保政 九州大学医学部・助手

研究要旨：アルツハイマー病 (AD) の脳に特徴的に沈着しているアミロイド蛋白 (A $\beta$ ) の沈着メカニズムを知るために、培養ニューロン内のA $\beta$ の生化学的検出、その生理的機能、および病的沈着のメカニズムを検討した。我々はまず細胞内にA $\beta$ 42の複合体と考えられる24 kD蛋白を見出した。この蛋白は細胞の分化誘導やアポトーシス刺激により核へのシフトを示した。一方、培養ニューロンにアポトーシスを誘導すると核内でのA $\beta$ 42の沈着を認めたが、ネクローシスでは認めなかった。in vitro では、重合したA $\beta$ 42は p53のプロモーターDNAに特異的に結合した。従って、ニューロンのアポトーシス変化でニューロン内にA $\beta$ 42が沈着し、その機能異常が細胞周期の異常を引き起こし、ニューロン死に至る可能性が示唆された。この現象はADの病理メカニズムの中心的役割を担っている可能性がある。

分担研究者：中別府雄作・九州大学生体防御  
医学研究所・教授

#### A. 研究目的

老人斑はAD脳の大脳皮質や海馬等に斑状に沈着し、その中心部はコンゴレッド陽性のアミロイド蛋白よりなっている。この約80%がA $\beta$ と呼ばれる4 kDのアミロイド蛋白である。この老人斑はニューロン間の細胞外空間に沈着しており、一方のADに特徴的な所見である神経原線維変化がニューロン内であることと好対照を見せている。老人斑沈着は高齢者の脳ではしばしば見られ、必ずしも臨床的に痴呆を伴わないが、AD脳では非常に多数の老人斑が見られ、その沈着機序がADの病態メカニズムの中心にあることは事実である。アミロイド前駆体蛋白 (APP) からA $\beta$ が生成されるプロセスは最近明らかにされてきたが、A $\beta$ の生成に関連するセクレターゼ酵素は現在なお決定されていない。APPの発現量やA $\beta$ の生成量については、健常人と孤発性AD患者の脳組織や細胞で基本的に差がないことが確認されており、A $\beta$ の沈着には産生量以外の因子、即ちA $\beta$ の生化学的な変化や関連結合蛋白の変化が考えられている。脳内における主要なA $\beta$ 産生細胞は明らかにニューロンである。つまりニューロンの何らかの病的変化がA $\beta$ の病的変化を引き起こし、A $\beta$ の沈着を誘導すると考えら

れる。A $\beta$ は大別して、C末が40番目のバリンで終わるA $\beta$ 40と42番目のアラニンで終わるA $\beta$ 42がある。老人斑に沈着しているのはほとんどA $\beta$ 42であることが判明している。従ってAD脳のA $\beta$ 沈着機序 (老人斑形成機序) として最も重要な問題は、ニューロン由来のA $\beta$ 42がどこでどのような病的メカニズムで沈着するかである。本研究の目的は、培養ニューロンを用いて、ニューロンのA $\beta$ 42沈着の分子メカニズムを明らかにするとともに、その病的意義を検討することにある。我々は最近、培養ニューロンに酸化的ストレスを加えると、その細胞内に顕著にA $\beta$ 42が沈着することを見出したので、本研究では、細胞内A $\beta$ 42の詳細な解析、その生理的機能、病的な沈着の意義についてさらなる検討を加えた。

#### B. 研究方法

モデル培養細胞として、モルモットの初代培養ニューロン、ヒト神経芽細胞腫 (SKN-SH、LAN-5) 及びPC-12細胞を利用した。モルモットのA $\beta$ 配列はヒトのそれと同一であるので、ヒトA $\beta$ に対する特異抗体を用いて、sandwich ELISA、免疫染色、ウェスタンブロットにて解析した。特異抗体は、BAN50 (A $\beta$ 1-16)、BNT77 (A $\beta$ 17-28)、BA27 (A $\beta$ 40end)、及びBC-05 (A $\beta$ 42end)を用いた。ELISAは細胞内A $\beta$ 40及びA $\beta$ 42を特異的に定量し、ウェスタン

ブロットは改良を加え感度の改善を図り、微量の細胞内A $\beta$ の検出を可能とした。さらに種々の薬剤で、ニューロンのアポトーシス及びネクローシスを誘導した。アポトーシス誘導として、過酸化水素 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)、etoposide (EP)、melphalan (MP)を、ネクローシス誘導に、sodium azide (SA)、potassium cyanide、Triton X-100を用いた。合成A $\beta$ と合成DNAを用いて、A $\beta$ の結合配列を検討した。

### C. 研究結果

全てのAD患者に共通する事実は、ADの発症には脳の加齢が必要であるということである。また家族性AD遺伝子変異導入マウスでも脳の発達は正常であり、A $\beta$ の沈着が始まるにはある程度の加齢が必要である。現在、脳の加齢に最も深く関わるのは酸化ストレスと考えられており、特に過酸化水素によるニューロン内の過酸化脂質の増加や樹状突起の変化はよく知られている。我々はまず、モルモット初代培養ニューロンを *in vitro* で加齢化させるために過酸化水素で処理し免疫染色を行ったところ、ニューロン内に著明にA $\beta$ 42が沈着することを見出した。対照的にA $\beta$ 40は沈着しなかった。また過酸化水素だけでなくラジカル産生を伴わない他の核傷害性アポトーシス誘導薬剤 (EP, MP) でも同様のA $\beta$ 42沈着を認めた。一方、ミトコンドリア傷害性ネクローシス誘導薬剤 (SA等) ではA $\beta$ 42は沈着しなかった。この事実は、核DNAに対する傷害及びそれに伴うアポトーシスプロセスが細胞内のA $\beta$ 42の沈着を誘導することを示唆している。ELISAで細胞内A $\beta$ を定量すると、免疫染色の結果と同様に、アポトーシス薬剤処理にて細胞内A $\beta$ 42の選択的増加を認めた (現在投稿中)。

次に細胞内のA $\beta$ をウェスタンブロットで検出する試みを行った。A $\beta$ は微量であるので通常ウェスタンブロットは免疫沈降で回収後検出を行うが、我々のELISAの結果から細胞内A $\beta$ のエピトープが隠されている可能性が考えられたので、直接抽出蛋白をSDS-PAGEに流しブロットした。さらに検出の感度を改善する工夫を行い、これまでの検出限界より100倍程

度の感度の改善があった。それに伴い一次・二次抗体の細胞内蛋白群に対するバックグラウンドを減弱せしめ、細胞内A $\beta$ の特異的検出を可能とした。面白いことに、BC-05は4 kDではなく24 kDの単一のバンドを認識した。従って、この24 kDの蛋白は6個のA $\beta$ 42が重合した分子あるいは他の分子と結合した複合体である可能性がある。このバンドは細胞質分画にも核分画にも認められたが、細胞質分画に豊富であった。10% trifluoroacetic acid (TFA) で加熱処理すると、A $\beta$ 42特異抗体に反応する24 kD、20 kDと4 kDのバンドが出現した。24 kDから1個の4 kD (A $\beta$ 42) がはずれて20 kDが出現したと考えられ、この蛋白は少なくとも複数のA $\beta$ 42分子を含む高次構造をとっていることを示している。4 kDのバンドは3種類の全ての抗体 (BAN50、BNT77、BC-05) で認識されたが、BA27には反応しなかった。この結果から、これまで考えられていたようにA $\beta$ は正常細胞内で分解消失しているのではなく、通常の検出法で検出できなかった高次構造の生理的蛋白として存在している可能性が考えられた。従って、細胞内A $\beta$ の大部分はA $\beta$ 42であると推察される。

これまでA $\beta$ は細胞外蛋白と考えられていたため、その生理的機能は (もしあるとすれば) もっぱら細胞外からの作用と考えられていた。しかし細胞内にA $\beta$ 42が相当量存在することより、我々は特に24 kDの複合体A $\beta$ 42 complex (A $\beta$ 42C) が細胞内における生理的蛋白である可能性を考えている。ある種のDNAに結合する転写因子蛋白は $\beta$ シート構造を有し、また4量体等の高次構造をとることで生理的機能を発現する。我々は既に、A $\beta$ 42の高次構造物がp53プロモーター配列の熱ショック配列に特異的に結合することを見出しており、従ってA $\beta$ 42Cの生理的機能はp53等のmRNA発現調節である可能性がある。p53は細胞分裂後の分化状態を維持するのに必要であり、ニューロンでは発現レベルが高い。ニューロンのA $\beta$ 42Cは結果的に、細胞分化を調節している可能性がある。さらに初歩的データだが細胞の核DNAに傷害を加えると、あるいはPC12細胞のニュー

ーロンへの分化誘導を行うと、このA $\beta$ 42Cの核への量的なシフトが見られた。従って、その核内での生理的機能は、核DNA傷害あるいは分化誘導した場合に増強される可能性がある。核DNA傷害に反応してA $\beta$ 42Cが核へシフトし、それがp53のmRNA発現を増やすとすると、この細胞内A $\beta$ 42沈着は何らかのニューロンの自己防御反応であるかもしれない。そうであるならば、A $\beta$ 42は細胞防御分子であり、老人斑形成は単に酸化ストレスなどのアポトーシス刺激に対してニューロンが自己防御を行った結果と見ることもできる。しかし一方、p53は細胞周期を停止し細胞の無制限な増殖を防いでいるが、その機能が過剰に働き、細胞周期に異常が生じるとアポトーシスを誘導することはよく知られている。特にニューロンのような高度に分化した細胞ではp53の過剰発現はアポトーシスを促進するかもしれない。

#### D. 考察

老人斑に沈着するA $\beta$ の主成分が細胞外A $\beta$ の90%を占めるA $\beta$ 40ではなくA $\beta$ 42であることが判明して以来、一般的に考えられている細胞外沈着アミロイドによる神経毒性をADの神経細胞死の原因とする仮説に疑問が生じてきた。細胞外アミロイド説の支持者はこの矛盾を説明するのに、A $\beta$ 42の凝集能がA $\beta$ 40のそれをはるかに上回ることを根拠にしてきた。しかしながら我々が見出したように、ある特殊な複合体となったA $\beta$ 42 (A $\beta$ 42C) が大量にニューロン内に蓄えられていることが事実だとすると、この仮説は一層疑問となる。細胞内A $\beta$ 42の生理的機能が我々が考えているように何らかの分化誘導や細胞防護性にあるとすれば、その機能異常が即座にニューロンの分化異常やアポトーシス死につながる危険性がある。そのことを踏まえて、細胞内A $\beta$ 42の機能異常によるADの病態仮説が考えられる。まずADでは基本的に老化に伴う酸化ストレスが必要条件であるが、これに何らかの+ $\alpha$ がトリIGGERとなると大脳ニューロンの核DNA傷害が起こる。これが細胞内A $\beta$ 42Cの機能発現を誘導し、直接的あるいは間接的に細胞周期

やストレス関連蛋白の変化をきたす。最近アポトーシス関連蛋白がADの神経細胞で過剰発現していることが報告されており、またAD脳で老人斑がまだあまり形成されていない部位でもアポトーシス核のマーカーであるTUNEL染色で陽性となるニューロンの多いことが報告されている。APPを過剰発現したマウスでは、その学習能力の異常は老人斑の沈着よりも前に見られる。従って、ニューロン内でのA $\beta$ 42Cの機能過剰がアポトーシスに対する感受性を増加させる可能性もある。実際、家族性ADの原因であるプレセニリン-1、-2やAPP等の遺伝子変異はアポトーシス感受性を高めると同時に、A $\beta$ 42の産生を高めることが分かっている。我々は変異型プレセニリンを導入した細胞での細胞内外でのA $\beta$ 42量の増加を確認している。このような遺伝子変異のアポトーシス感受性増強効果が細胞内A $\beta$ 42Cの量的増加あるいは機能亢進を介したものであるかどうか今後の検討が必要である。そのA $\beta$ 42Cの機能異常のプロセスを経たニューロンの死が最終的に細胞融解後の老人斑形成のベースとなりうる。AD脳のA $\beta$ 沈着が血管アミロイドのように一様なものでなく、斑状に沈着するのはそのベースがニューロンであるからかもしれない。一方で傷害が軽いニューロンのA $\beta$ 分泌が増加することも我々は確認しており、脳の局所においてその両方の因子が老人斑アミロイドの成熟に関係すると思われる。細胞外に沈着したA $\beta$ はさらなる酸化ストレスやアポトーシスを誘導するかもしれない。最近プレセニリン遺伝子変異はDNA結合蛋白である $\beta$ カテニンの核への移行を低下させることが報告されている。この辺りの細胞内メカニズムがADの分子病態において重要である可能性があり、今後注目されるべき分野である。我々もこのようなメカニズムをさらに詳しく調べていく予定である。

#### E. 結論

本研究にて、正常細胞内に豊富にA $\beta$ 42が存在し、それが24 kDの複合体蛋白を形成していることを見出した。またニューロンのアポト

ーシス経路が刺激されると何らかのメカニズムによりニューロン内にA $\beta$ 42の沈着が生じることも明らかにした。このA $\beta$ 42複合体の生理的機能及び病的な沈着はADの神経細胞死において極めて重要と考えられ、そのメカニズムについてさらに検討を重ねる必要がある。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

#### 原著

1. Sambamurti K, Sevlever D, Koothan T, Ohyagi Y et al.: Glycosylphosphatidylinositol anchored proteins play an important role in the biogenesis of the Alzheimer's amyloid b protein. J. Biol. Chem. in press, 1999.
2. Yamada T, Taniwaki T, Shinnoh N, Uchiyama A, Shimozawa N, Ohyagi Y, Asahara H, Kira J: Adrenoleukodystrophy protein enhances association of very long-chain acyl-coenzyme A synthase with the peroxisome. Neurology 52: 614-616, 1999.
3. Taniwaki T, Yamada T, Asahara H, Ohyagi Y, Kira J: Ceramide induces apoptosis in immature cerebellar granule cells in culture. Neurochem. Res. in press, 1999.
4. Clarke N, Tomlinson A, Ohyagi Y, Younkin S, Naylor S: Detection and quantitation of cellular levels of amyloid b peptides by immunoprecipitation-HPLC-MS. FEBS Letters 430: 419-423, 1998.

#### 解説

1. 大八木保政：アルツハイマー病の老人斑形成機序、福岡医学雑誌（印刷中），1999.

### 2. 学会発表

1. Asahara H, Ohyagi Y, Yamada T, Nakabeppu Y, Kira J: The nuclear amyloid b: a heat-shock promoter-binding protein. The 28th Annual Meeting of Society for Neuroscience. November 7-12, 1998, Los Angeles, USA
2. Taniwaki T, Yamada T, Asahara H, Ohyagi Y, Kira J: Ceramide induces apoptosis in immature cerebellar granule cells in culture. The 28th Annual Meeting of Society for Neuroscience. November 7-

12, 1998, Los Angeles, USA

3. 大八木保政他：アルツハイマー病のA $\beta$ 42の神経細胞内沈着機序

第39回日本神経学会総会、1998年5月京都国際会館

## G. 知的所有権の取得状況

特になし

厚生科学研究費補助金（厚生科学特別研究事業）  
分担研究報告書

アルツハイマー病の細胞内A $\beta$ 42によるストレス誘導性ニューロン死

分担研究者 中別府 雄作 九州大学生体防御医学研究所・教授

研究要旨：アルツハイマー病（AD）の脳に特徴的に沈着しているアミロイド蛋白（A $\beta$ ）の沈着メカニズムを知るために、培養ニューロン内のA $\beta$ の生化学的検出及び免疫染色を試みた。生化学的に mass spectrometryによるA $\beta$ の検出定量を試み、またコンピューター画像解析装置（CELLScan）による免疫染色の解析を行った。今年度は免疫沈降後、直接毛細管カラムを通したHPLC-mass spectrometryの検出法にて合成A $\beta$ を解析するシステムを確立した。また、CELLScanを使った解析では、ニューロン内のA $\beta$ 42の沈着はアポトーシス死に至る早期の段階で核内に生ずることを明らかにした。今後、細胞内A $\beta$ 42複合体より分離回収したA $\beta$ 42断片を mass spectrometry で解析し、その authenticity を検討する。

A. 研究目的

老人斑はAD脳の大脳皮質や海馬等に斑状に沈着し、その中心はA $\beta$ と呼ばれる4 kDのアミロイド蛋白である。この老人斑はニューロン間の細胞外空間に多数沈着しており、その沈着機序がADの病態メカニズムの中心にあることは事実である。脳内における主要なA $\beta$ 産生細胞は明らかにニューロンである。つまりニューロンの何らかの病的変化がA $\beta$ の病的変化を引き起こし、A $\beta$ の沈着を誘導すると考えられる。A $\beta$ は大別して、C末が40番目のバリンで終わるA $\beta$ 40と42番目のアラニンで終わるA $\beta$ 42がある。老人斑に沈着しているのはほとんどA $\beta$ 42であることが判明している。従ってAD脳のア $\beta$ 沈着機序（老人斑形成機序）として最も重要な問題は、ニューロン由来のア $\beta$ 42がどこでどのような病的メカニズムで沈着するかである。これまでA $\beta$ は細胞内には微量にしか存在しないと考えられていたため、細胞内A $\beta$ の解析はほとんどなされていない。本研究では、大八木らが明らかにした傷害ニューロン内に沈着するA $\beta$ 42の生化学的解析やCELLScanによる細胞内A $\beta$ 42沈着の詳細な解析を行い、その信憑性を検討した。

B. 研究方法

大八木らが作製したA $\beta$ 42沈着ニューロンを経時的にコンピューターによる画像解析を行

った。アポトーシス核のマーカーであるTUNEL染色とA $\beta$ 42特異抗体の二重染色を行った。また mass spectrometry 解析を行うために、Clarke 及び Ohyagi らの方法を一部改良して、免疫沈降 (IP) -高速液体イオンクロマトグラフィー (HPLC) -mass spectrometry システムをC4ビーズカラムを用いて確立した。

C. 研究結果

A $\beta$ 42特異抗体で染色された酸化的傷害を受けたニューロンの画像解析を行った。形状が著しく変形した細胞では細胞質全体に染色を認め、特に中心部は強く染色された。染色された細胞の20-30%は、形態上正常細胞と変わりがなかったが、核内の、特に染色体に一致して、強いA $\beta$ 42の信号を認めた。さらにTUNELとの二重染色では、A $\beta$ 42の沈着した細胞にはTUNEL (+)の核は認めず、少なくともA $\beta$ 42沈着細胞はアポトーシスの最終過程には陥っていないことが明らかとなった。

一方、生化学的に細胞内のA $\beta$ 42の存在及び沈着を証明するためには、ウェスタンブロットにて蛋白を証明し、さらにその蛋白のアミノ酸配列あるいは精密な分子量決定 (mass spectrometry) を行うことが必要である。Mass spectrometry は分子量が1分子でも違えば、異なるポリペプチドとして区別出来るので、ほとんどアミノ酸配列の同定に匹敵する精度を

有する。さらにアミノ酸配列決定にはかなりの量の精製蛋白を必要とするが、mass spectrometryでは pmoles あるいは fmoles のごく微量の蛋白量で解析が可能である。我々は、最近確立されたClarke及びOhyagiらの細胞内A $\beta$ 検出システムを改良し、同様に微量のA $\beta$ を検出するシステムを開発した。このシステムにおいて、100 fmoleの合成A $\beta$ 40及びA $\beta$ 42の検出同定が可能であった。しかしながら、大八木らが報告しているように、細胞内A $\beta$ 42は24 kDの複合体として存在しているの、この複合体を何らかの方法で分解し、出てきたA $\beta$ 42断片をIPで回収・精製する必要がある。大八木らの方法では、10% trifluoroacetic acid (TFA)で加熱すると、4 kDのA $\beta$ 42が出てくるので、これをトレシルビーズにcouplingしたBNT77でIP回収した。現在IPによる合成A $\beta$ 42の回収率そのものは10%以下であり、未だ満足のいくものではないが、mass spectrometryによる解析を試行錯誤中である。さらに、A $\beta$ 42複合体そのものは比較的少量に回収可能であったので、米国メイヨークリニックと共同で24 kD蛋白のアミノ酸配列の決定も同時に試みている。

#### D. 考察

我々の画像解析の結果から以下の2点が明らかになった。1) 少なくとも細胞の形態的なアポトーシス変化が起こるよりも以前に、核内に、しかも染色体上にA $\beta$ 42の沈着が起こる。2) TUNEL (+) となったアポトーシスの最終過程の細胞内にはA $\beta$ 42の沈着は認めない。これらの結果から、二つの可能性が考えられる。一つは、A $\beta$ 42の沈着はアポトーシス過程の早期で起こるが、最終的に細胞死に到るときにはA $\beta$ 42が分解消失してしまっている可能性、もう一つは、A $\beta$ 42が沈着した細胞はアポトーシス抵抗性になり、最終段階に至るのが遅れている可能性である。いずれの場合でも、A $\beta$ 42が何らかの生理的機能として核DNA傷害に反応して、核内に沈着することは共通している。この核内の沈着がアポトーシス過程を早めるものか、逆にアポトーシス抵抗性になる

ものかは現在不明であるが、大八木が総括研究報告書に記載してあるように、A $\beta$ 42CがDNA結合蛋白として、種々の蛋白発現に影響を及ぼすという仮説を支持する結果であると考えられる。アポトーシス過程では様々なプロテアーゼが活性化されており、A $\beta$ 42の沈着がどのような蛋白代謝プロセスで生ずるのかさらに検討していく必要がある。

細胞内のA $\beta$ 42の authenticity は現在、ウェスタンブロットで免疫学的に確認されているのみであるが、mass spectrometry あるいはアミノ酸配列の同定などにより、生化学的に証明する必要がある。このようなA $\beta$ 42複合体の存在が明らかになったのは初めてのことであり、その事実を十分に吟味するには慎重な検討が極めて重要である。

#### E. 結論

本研究にて、正常細胞内に豊富に存在すると考えられるA $\beta$ 42複合体の生化学的解析を行い、また詳細な画像解析を行うことでその生理的機能の理解の一助となった。細胞内A $\beta$ 42の生理的機能及び病的な沈着はADの神経細胞死において極めて重要と考えられ、今後そのメカニズムについてさらに検討を重ねる必要がある。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

特になし

##### 2. 学会発表

1. Asahara H, Ohyagi Y, Yamada T, Nakabeppu Y, Kira J: The nuclear amyloid b: a heat-shock promoter-binding protein. The 28th Annual Meeting of Society for Neuroscience, November 7-12, 1998, Los Angeles, USA

#### G. 知的所有権の取得状況

特になし



## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 原著

1. Sambamurti K, Sevlever D, Koothan T, Ohyagi Y et al.: Glycosylphosphatidylinositol anchored proteins play an important role in the biogenesis of the Alzheimer's amyloid  $\beta$  protein. J. Biol. Chem. in press, 1999.
2. Yamada T, Taniwaki T, Shinnoh N, Uchiyama A, Shimosawa N, Ohyagi Y, Asahara H, Kira J: Adrenoleukodystrophy protein enhances association of very long-chain acyl-coenzyme A synthase with the peroxisome. Neurology 52: 614-616, 1999.
3. Taniwaki T, Yamada T, Asahara H, Ohyagi Y, Kira J: Ceramide induces apoptosis in immature cerebellar granule cells in culture. Neurochem. Res. in press, 1999.
4. Clarke N, Tomlinson A, Ohyagi Y, Younkin S, Naylor S: Detection and quantitation of cellular levels of amyloid  $\beta$  peptides by immunoprecipitation-HPLC-MS. FEBS Letters 430: 419-423, 1998.

### 総説

1. 大八木保政：アルツハイマー病の老人斑形成機序、福岡医学雑誌（印刷中），1999.

### 学会発表

1. Asahara H, Ohyagi Y, Yamada T, Nakabeppu Y, Kira J: The nuclear amyloid  $\beta$ : a heat-shock promoter-binding protein. The 28th Annual Meeting of Society for Neuroscience. November 7-12, 1998, Los Angeles, USA
2. Taniwaki T, Yamada T, Asahara H, Ohyagi Y, Kira J: Ceramide induces apoptosis in immature cerebellar granule cells in culture. The 28th Annual Meeting of Society for Neuroscience. November 7-12, 1998, Los Angeles, USA
3. 大八木保政他：アルツハイマー病の老人斑形成は細胞内に始まる？  
第39回日本神経学会総会、1998年5月京都国際会館

19980036

これ以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。

「研究成果の刊行に関する一覧表」

Sambamurti K, Sevlever D, Koothan T, Refolo LM, Pinnix I, Gandhi S, Onstead L, Younkin L, Prada CM, Yager D, Ohyagi Y, Eckman CB, Rosenberry TL, Younkin SG. Glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins play an important role in the biogenesis of the Alzheimer's amyloid beta-protein. J Biol Chem. 1999 Sep 17;274(38):26810-4.

Clarke NJ, Tomlinson AJ, Ohyagi Y, Younkin S, Naylor S. Detection and quantitation of cellularly derived amyloid beta peptides by immunoprecipitation-HPLC-MS. FEBS Lett. 1998 Jul 3;430(3):419-23.

大八木保政. アルツハイマー病の老人斑形成機序(解説). 福岡医学雑誌 (0016-254X)90 巻 4 号 Page113-117(1999.04)