

第 39 回日本神経学会総会 5月 20-22 日 京都

道川 誠、柳澤勝彦

培養神経細胞におけるコレステロール合成抑制  
と細胞死

第 41 回神経化学会 9月 21-23 日 東京

磯部一郎、道川 誠、柳澤勝彦

グリア細胞の MTT 還元能に与える amyloid  $\beta$  蛋  
白の影響

第 41 回神経化学会 9月 21-23 日 東京

道川 誠

コレステロール合成と神経細胞死

第 17 回日本痴呆学会 10月 1-2 日 東京

Michikawa M.

Pathogenesis of Alzheimer's disease

Japanese and Germany Workshop on Age-Related  
Diseases.

April 27, 1998. Heiderberg, Germany

Michikawa M and Yanagisawa K.

Isoform-specific effects of apolipoprotein E on  
neuronal cells in culture.

International Conference on Alzheimer's disease. July  
18-23, 1998. Amsterdam, Netherland

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

分担研究報告書

アポリポ蛋白質 E の構造・機能と中枢神経系に於けるコレステロール代謝の研究

分担研究者 横山信治 名古屋市立大学医学部生化学第一講座教授

研究要旨

ラット胎児脳アストロサイトに於ける脂質・リポ蛋白質の代謝を検討した。アストロサイトはアポ E を合成しコレステロールに富んだ HDL 様の粒子として分泌するが、外因性のアポ E やアポ AI と反応して生ずる HDL にはコレステロールが殆ど含まれない。このようにアストロサイトは 2 種類の HDL を産生することが示され、これらは中枢神経系に於ける細胞間のコレステロール輸送にそれぞれ異なった役割を演ずると考えられる。さらに、アストロサイトは神経細胞の存在下でアポ E 合成が数倍に増加し、HDL 分泌量も昂進して、脂質代謝に関する細胞間応答系の存在が見いだされた。これらは中枢神経系の形成に於けるアストロサイトの重要な役割を示すと考えられ、障害修復機転に於いても同様であることが推察される。

A. 研究目的

血漿リポ蛋白質によるコレステロールの細胞外輸送系から血液脳関門によって隔てられた中枢神経系に於ける細胞外コレステロール輸送には、多くの特殊な側面があると考えられる。近年、脳実質細胞によるアポリポ蛋白質 E の生合成やアポ E に親和性を持つリポ蛋白質受容体様膜蛋白質の存在などが明らかにされ、またアルツハイマー病や脳外傷後遺症などの痴呆性疾患に於けるアポ E の自然変異体 E4 の発症の危険因子としての役割が臨床疫学的に注目されるに至って、脳に於けるこの蛋白質の機能が注目を集めるようになった。この研究プロジェクトでは、中枢神経系に於ける細胞外脂質・コレステロール輸送に於けるアポ E の役割の解明とそれに基づくアポ E の痴呆性疾患発現機序に於ける関わりについて

明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

LDL・HDL に放射標識をしたコレステリル・エステルを組み込み、ラット胎児脳より分離培養したアストロサイトに取り込ませた。リポ蛋白質濃度依存性から、取り込み効率を求めた。これと同時に放射標識コリンを添加することによって細胞のコレステロールとコリン燐脂質を同時に標識し、細胞から培地中への脂質の分泌をアポリポ蛋白質や脂質エマルジョンの存在下で検討した。また細胞内・培養液のアポ E をイムノブロット法により分析した。

C. 研究結果

アストロサイトはアポ E を分泌し、密度勾配超

遠心により培地中では細胞燐脂質と結合してコレステロールを含む HDL の形となっていることが示された。アポ AI やアポ E を外部から加えると、燐脂質による HDL が更に新生してくるものこれにはコレステロールは含まれず、内因性のアポ E により生成した HDL とは異なるものであることが示された。この現象はラット繊維芽細胞では見られず、他の細胞と同様に外因性アポリポ蛋白質でもコレステロールに富んだ HDL が産生した。これに呼応して、アストロサイトでは細胞内コレステロールの HDL 新生への動員が多くなかった。

単独で一ヶ月培養したアストロサイトと神経細胞存在下で同じ期間培養したものを比べると、後者ではアポ E の合成・分泌が 10 倍近くに増加しており、HDL 分泌量も増加していた。この条件で他のコレステロール代謝のパラメータにも変化が見られた。

#### D. 考察

アストロサイトによる HDL 分泌については、脳組織内部での細胞内外のコレステロール輸送と代謝回転に重要な意味を持つものとして、さらに詳細を明らかにして行きたい。また、神経細胞がアストロサイトのコレステロール代謝に大きく影響を与えることは神経細胞がその生存・成長をアストロサイトに依存していることを示しており、これが中枢神経系形成あるいは障害修復機能における細胞間応答のシステムとして重要な役割を果たしていると考えられる。これらの点から、中枢神経系に於ける細胞間ステロール輸送システムの生理的・病態生理的機能についてさらに研究を深める方針である。

#### E. 結論

ラット胎児アストロサイトは内因性アポ E/コレステロール含有 HDL を分泌し、外因性アポ AI/E によってコレステロールが含まない HDL を新生する。これは脳組織に於けるコレステロール輸送に特別の役割を持つものと推定される。アストロサイトは神経細胞に応答してアポ E 合成を始めとするコレステロール代謝関連遺伝子を発現、神経細胞の要求に応じてコレステロールを供給するシステムを立ち上げている可能性がある。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Yokoyama S.

Apolipoprotein-mediated cellular cholesterol efflux.  
Biochim. Biophys Acta. 1392:1-15,1998

Ito J, Zhang L-Y, Asai M and Yokoyama S.  
Differential generation of high density lipoprotein by endogenous and exogenous apolipoproteins in cultured fetal rat astrocytes. J.Neurochem.  
(in press)

Sasai K, Okuyama-Noji K, Hibino T, Ikeuchi R, Sakuma N, Fujinami T and Yokoyama S.

Human cholesteryl ester transfer protein (CETP) measured by enzyme-linked immunosorbent assay with two monoclonal antibodies against rabbit CETP: Plasma CETP and lipoproteins among Japanese hypercholesterolemia patients.  
Clinical Chemistry 44:1466-1473,1998

Main L.A, Okumura-Noji K, Ohnishi T and  
Yokoyama S.

Cholesteryl ester transfer protein reaction between  
plasma lipoproteins.

J.Biochemistry 124: 237-243,1998

## 2. 学会発表

伊藤仁一、張力勇、浅井美千代、横山信治  
ラット胎児アストロサイトのコレステロール代  
謝

第 40 回日本脂質生化学研究会 7 月 大阪

伊藤仁一、張力勇、浅井美千代、横山信治  
ラット胎児アストロサイトのコレステロール代  
謝

第 71 回日本生化学会大会 10 月 名古屋

