

20000436

厚生科学研究費補助金

脳科学研究事業

蛋白質異常蓄積を標的とするアルツハイマー病新規治療法の開発

平成12年度 総括・分担研究報告

主任研究者 岩坪 威

平成13（2001）年4月

目次

I.総括研究報告	
蛋白質異常蓄積を標的とするアルツハイマー病新規治療法の開発-----	1
岩坪 威	
II.分担研究報告	
1. タウ蛋白蓄積症に関する研究-----	7
長谷川成人	
2. プレセニリン、A β に関する研究-----	10
富田泰輔	
III.研究成果の刊行に関する一覧表-----	13
IV.研究成果の刊行物・別冊-----	16

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
総括研究報告書

蛋白質異常蓄積を標的とするアルツハイマー病新規治療法の開発

主任研究者 岩坪 威 東京大学大学院薬学系研究科臨床薬学教室教授

研究要旨

本研究は、アルツハイマー病(AD)ならびにこれに関連する変性型痴呆症脳における異常蓄積蛋白質を治療ターゲットと見据え、その構成成分、形成過程、神経細胞死における意義を解明することにより、これらの疾患の新規治療法の開発に資することを目的とするものである。具体的な分子標的は(1)プレセニリン(2) β アミロイド前駆体及び $A\beta$ (3)新規非 β アミロイド構成成分 CLAC(4)タウの4項目にわたる。本総括研究報告書では APP, CLAC に関する結果を詳述することとし、プレセニリン研究については富田が、タウ研究については長谷川が分担研究報告書で後述する。 $A\beta$ 42 は AD 脳に最初期から優位に蓄積し、家族性 AD でも産生が増加する鍵分子である。 β APP からの $A\beta$ 42 産生の際は *trans*-Golgi network 以降の late compartment にあること、変異 PS が $A\beta$ 42 上昇効果を及ぼすためには APP の細胞内ドメインは不要であることを明らかにした。さらに新たな老人斑アミロイド成分として新規のコラーゲン様蛋白である CLAC を同定し、その前駆体として新規膜結合型コラーゲン様分子 CLAC-P を同定するとともに CLAC-P と $A\beta$ の関係ならびに CLAC の生成機構を検討した。本研究全体を総括すると、 β アミロイドの産生機構とプレセニリンの作動機序、アミロイド新規成分、タウリン酸化過程など、AD 脳における蛋白蓄積のさまざまな局面に関して新知見を得ることができ、今後の創薬ターゲット同定につながる成果を挙げることができたと考える。

分担研究者：長谷川成人（東京大学大学院薬学系研究科講師）、富田泰輔（東京大学大学院薬学系研究科助手）

及びタウ蛋白が老人斑アミロイド、神経原線維変化という2大病変を形成して大量に蓄積することにある。近年これらの蓄積物は病的過程の単なる結果的産物ではなく、細胞死を招来する原因として働くことを示唆する遺伝学的、細胞生物学的データが集積さ

A. 研究目的

アルツハイマー病(AD)の病理変化の特徴はアミロイド β ペプチド($A\beta$)

れつつある。このためこれらの異常蛋白蓄積物の形成過程を解明し、蓄積を抑制することは、ADの根本的治療法として、最も有望な方法の一つと考えられる。本研究においてはA β 及び β アミロイド前駆体APP、A β 切り出しに関与するプロテアーゼ(γ セクレターゼ)として作動するプレセニリン、 β アミロイドとともに老人斑アミロイドに蓄積する新規分子CLAC、神経原線維変化を形成するタウに関して病理学的、生化学的、分子細胞生物学的に検討を加え、ADの治療法開発に指針を与えることを目的とする。本報告書ではAPPとCLACに関する研究成果について詳述する。

B. 研究方法

(1)細胞内A β 42産生コンパートメントならびに変異PS効果感受性コンパートメントの同定:細胞内各コンパートメントへの局在シグナルを付加したAPPC末端断片(C100)もしくは全長APP分子をN2a細胞に発現し、細胞内A β 40,42産生部位及び両分子種の分泌について検討した。(2)A β 42産生及び変異PS効果に必要とされるAPP分子内サブドメインの検討:APPC100のC末端細胞質ドメインを種々の長さで欠損させた分子をN2a細胞に発現させ、A β 産生について検討した。(3)ヒトCLAC蛋白の産生機構ならびにAD

発症における役割の解明:ヒトCLAC-P遺伝子ならびにそのfurin切断予想配列の変異体遺伝子をK293もしくはCHO細胞に導入し、可溶性CLACの分泌を調べた。また内因性furinの欠損したRPE.40細胞も併用した。

C. 研究結果

(1)細胞内A β 42産生コンパートメントならびに変異PS効果感受性コンパートメントの同定:トランスゴルジ網ターゲットシグナルを付加したC100(C100/TGN)を発現した場合には、野生型C100発現時と同等のA β 40,42分泌が観察された。これに対し小胞体貯留シグナルを付加したC100(C100/ER)からは細胞内・分泌型A β 40,42は殆ど産生されなかった。また変異型PS2を共発現した場合にも、C100/ERのみがA β 42産生増大を起こさなかった(Iwata H et al. J Biol Chem 2001)。(2)A β 42産生及び変異PS効果に必要とされるAPP分子内サブドメインの検討:APPC100の細胞内ドメインを完全に欠損した場合(すなわち膜内配列最終残基のLeu52までをコードするAPPC100/stop52)にもA β 40,42の産生、分泌が正常に観察された。また変異型PS2を共発現した場合、C100/stop52についてもA β 42分泌上昇が観察された。(3)ヒトCLAC蛋白の産生機構ならびにAD発症における

役割の解明：ヒト CLAC-P を発現した培養細胞の上清中には全長型 CLAC-P (約 80 kDa) よりも僅かに分子量の小さい(約 70kDa)分泌型 CLAC (secreted form of CLAC: sCLAC)が検出された。sCLAC は CLAC-P の細胞外非コラーゲン部分 NC2-4 のすべてに対する抗体に反応したが、細胞内部分 (NC1) に対する抗体とは反応せず、細胞外部分が切断・分泌されている可能性が示唆された。細胞外部分に KIRIAREA という furin 切断候補配列があることに着目して、切断に要求される可能性のある -1,4,6 位の塩基性アミノ酸をアラニンに置換したところ、sCLAC の分泌が消失した。また furin 活性を欠損した RPE.40 細胞でも sCLAC 分泌が見られなかった。した。

D. 考察

まず APP から A β が形成される主要な細胞内コンパートメントは、小胞体ではなく、トランスゴルジ網以降のいわゆる late compartment であることが判明した。さらに家族性 AD 発症を規定する変異型 PS の A β 42 上昇効果も、同じ late compartment において発揮されていることがわかった。この結果は A β 42 が小胞体で産生されている可能性があるとの旧説をより詳細な分子細胞生物学的検討によって否定したものであり、A β 産生機構を考える上で重要な発見

と言える。また A β 産生ならびに変異 PS の A β 42 効果発揮には、APP の細胞内部分は必要なく、 γ セクレターゼの本体と考えられる PS とその基質である APP の相互作用は膜内で営まれていることが明らかになった。しかし細胞内で不活性型の PS が最も大量に存在するのは小胞体膜であり、今後 γ セクレターゼ活性の発揮に必要な補因子の同定と、活性型 PS 複合体の全容解明が急がれる。

また A β に結合してアミロイドとして沈着する新規分子 CLAC は、膜結合型の前駆体 CLAC-P から furin の作用により切断・分泌を受けることが証明された。今後 AD において sCLAC の分泌が亢進している可能性について検討するとともに、CLAC が A β の凝集・蓄積に及ぼす影響を *in vitro* と個体レベル (トランスジェニックマウスを含む) で解明し、CLAC を標的とする AD 治療の可能性について追求する必要がある。

E. 結論

PS の変異が A β 42 の産生を亢進させる細胞内コンパートメントはトランスゴルジ網以降であること、その際に要求される APP 分子内サブドメインとして膜貫通部位が重要であることを明らかにした。また脳アミロイド非 β 成分として同定した CLAC がその前

駆体 CLAC-P から切り出され、分泌される過程を furin convertase が担うことを実証した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Okochi M, Walter J, Koyama A, Nakajo S, Baba M, Iwatsubo T, Meijer L, Kahle P, Haass C: Constitutive phosphorylation of the Parkinson's disease associated α -synuclein. *J Biol Chem* 275:390-397, 2000

2) Maruyama K, Usami M, Kametani F, Tomita T, Iwatsubo T, Saido TC, Mori H, Ishiura S: Molecular interactions between presenilin and calpain: Inhibition of μ -calpain protease activity by presenilin-1, 2 and cleavage of presenilin-1 by m-calpain. *Int J Mol Med* 5:269-273, 2000

3) Nishizawa T, Nagao T, Iwatsubo T, Forte JG, Urushidani T: Molecular cloning and characterization of a novel CLIC-related protein, parchorin, expressed in water-secreting cells. *J Biol Chem* 275:11164-11173, 2000

4) Saura CA, Tomita T, Soriano S, Takahashi M, Leem J-Y, Honda T, Koo EH, Iwatsubo T, Thinakaran G: The non-conserved hydrophilic loop domain of presenilin is neither

required for presenilin endoproteolysis nor enhanced A β 42 production mediated by FAD-linked PS variants. *J Biol Chem* 275:17136-17142, 2000

5) Yamagata K, Urakami K, Wakutani Y, Adachi Y, Iwatsubo T, Mann DMA, Sato K, Nakashima K: Increased levels of apolipoprotein E mRNA in the brains of patients with Down's syndrome. *Alzheimer Report* 3:77-82, 2000

6) Takeuchi A, Irizarry MC, Duff K, Saido TC, Hsiao Ashe K, Hasegawa M, Mann DMA, Hyman BT, Iwatsubo T: Age-related amyloid β deposition in transgenic mice overexpressing both presenilin 1 and amyloid β precursor protein Swedish mutant is not associated with global neuronal loss. *Am J Pathol* 157: 331-339, 2000

7) Yamazaki M, Arai Y, Baba M, Iwatsubo T, Mori O, Katayama Y, Oyanagi K: α -synuclein inclusions in amygdala in the brains of patients with Parkinsonism-Dementia Complex of Guam. *J Neuropathol Exp Neurol* 59: 585-591, 2000

8) Lambert JC, Mann D, Goumidi L,

- Harris J, Pasquier F, Frigard B, Cotel D, Lendon C, Iwatsubo T, Amouyel P, Chartier-Harlin: A FE65 polymorphism associated with risk of developing sporadic late-onset Alzheimer's disease but not with A β loading in brains. *Neurosci Lett* 293:29-32, 2000
- 9)Takahashi M, Dore S, Ferris CD, Tomita T, Sawa A, Wolosker H, Borchelt DR, Iwatsubo T, Kim S-H, Thinakaran G, Sisodia SS, Snyder SH: Amyloid precursor proteins inhibit heme oxygenase activity and augment neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Neuron* 28: 461-473, 2000
- 10)Lee J-A, Long, Z, Nimura N, Iwatsubo T, Imai K, Homma H: Localization, transport, and uptake of D-aspartate in the rat adrenal and pituitary glands. *Arch Biochem Biophys* 385:242-249, 2001
- 11)Lambert J-C, Mann D, Goumidi L, Harris J, Amouyel P, Iwatsubo T, Lendon CL, Chartier-Harlin M-C: Effect of the APOE promoter polymorphisms on cerebral amyloid peptide deposition in Alzheimer's disease. *Lancet* 357:608-609, 2001
- 12)Ohya S, Morohashi Y, Muraki K, Tomita T, Watanabe M, Iwatsubo T, Imaizumi Y: Molecular cloning and expression of the novel splice variants of K⁺ channel-interacting protein 2 (KChIP2). *Biochem Biophys Res Comm* 282:96-102, 2001
- 13)Mann DMA, Pickering-Brown SM, Takeuchi A, Iwatsubo T, Arango J, Bird T, Van Broeckhoven C, Brooks W, Brown R, Cairns N, Cras P, Ellison D, Haltia M, Li K, Jorgensen A, Krill J, Lantos P, Lippa C, Martins R, Nochlin D, Pollen D, Rosenberg C, Rossor M, Tabira T: Amyloid angiopathy and variability in Amyloid β deposition is determined by mutation position in presenilin-1 linked Alzheimer's disease. *Am J Pathol* in press
- 14)Shirovani K, Tsubuki S, Iwata N, Takaki Y, Harigaya W, Maruyama K, Kiryu-Seo S, Kiyama H, Iwata H, Tomita T, Iwatsubo T, Saido TC: Neprilysin degrades both amyloid β peptide 1-40 and 1-42 most effectively among thiorphan- and phosphoramidon-sensitive endopeptidases. *J Biol Chem* in press
- 15)Mann DMA, Takeuchi A, Sato S, Cairns NJ, Lantos PL, Rossor MN,

Haltia M, Kalimo H, Iwatsubo T: Cases of Alzheimer's disease due to deletion of exon 9 of the presenilin-1 gene show an unusual but characteristic β amyloid pathology known as "cotton wool" plaques. ***Neuropathol Applied Neurobiol*** in press

16)Iwata H, Tomita T, Maruyama K, Iwatsubo T: Subcellular compartment and molecular subdomain of β -amyloid precursor protein relevant to the $A\beta_{42}$ -promoting effects of Alzheimer mutant presenilin 2. ***J Biol Chem*** in press

17)Lambert J-C, Mann D, Harris J M, Chartier-Harlin M-C, Cummings A, Coates J, Lemmon H, St-Clair D, Iwatsubo T, Lendon C: The -48 CT polymorphism in the presenilin 1 promoter is associated with an increased risk of developing Alzheimer's disease and an increased Ab load in brain. ***J Medical Genetics*** in press

18)Mann DMA, McDonagh AM, Pickering-Brown SM, Kowa H, Iwatsubo T: Amyloid β protein deposition in patients with frontotemporal lobar degeneration:

relationship to age and apolipoprotein E genotype. ***Neurosci Lett*** in press

19)Tomita T, Watabiki T, Takikawa R, Morohashi Y, Takasugi N, Kopan R, De Strooper B, Iwatsubo T: The first proline of PALP motif at the C terminus of presenilins is obligatory for stabilization, complex formation and γ -secretase activities of presenilins. ***J Biol Chem*** in press

G. 知的所有権の取得状況

「コラーゲン様新規蛋白 CLAC およびその前駆体、ならびにそれらをコードする遺伝子」(A novel collagen-like protein CLAC, precursor thereof and genes encoding the same) PCT 出願、国際公開番号 WO 01/58943 A1 (出願者：岩坪威、ビーエフ研究所)

分担研究報告書

蛋白質異常蓄積を標的とするアルツハイマー病新規治療法の開発
--タウ蛋白蓄積症に関する研究--

分担研究者

長谷川成人 東京大学大学院薬学系研究科・講師

(2001年4月より東京都精神医学総研・分子神経生物学・室長)

研究要旨

アルツハイマー神経原線維変化の構成要素である PHF を形成するタウ蛋白は高度にリン酸化されており、このリン酸化過程を担うキナーゼの一つとして cdk5 が同定されている。従来 cdk5 の活性化因子 p25 の増加が AD 脳で示唆されていたが、p25 の増加は死後変化として容易に生じること、必ずしも AD と正常脳で差はないことを明らかにした。さらにタウ遺伝子変異を伴う遺伝性疾患 FTDP-17 の新規変異の同定とその性状解析についても進展があった。

A. 研究目的

タウ蛋白は AD のみならず、遺伝性・孤発性のタウ蛋白蓄積症（タウオパチー）の変性ニューロン・グリアに蓄積するが、その共通の特徴は過剰リン酸化である。その責任キナーゼの一つとして知られるのが cdk5 であるが、cdk5 の活性化には補因子である p25（前駆型である p35 からカルパインの作用 AD 脳存在が必須であることが明らかにされている。一昨年 AD 脳で p25 が特異的に増加しているとの報告がなされ注目を集めたが (Tsai ら, Nature 1999)、本研究者は死後時間の短い AD 及びコントロール剖検脳を生化学的に再検討し、p25 の増加が AD に特異的か否かを検証した。またタウ遺伝子変異を伴う家族性痴呆症 FTDP-17 の新規家系の解析、特に剖検脳に蓄積

したタウ蛋白アイソフォームの同定や微小管機能の解析を行った。

B. 研究方法

(1)AD 脳における cdk5 補因子 p25/p35 の量に関する検討：死後時間の短い正常コントロール脳 (PMI 3.8 時間以内) 9 例、同様の AD 脳 8 例 (PMI 6.5 hr 以内) から可溶性画分を抽出し、p25, p35, 活性 μ カルパインの量を比較した。またラット脳を様々な死後時間で調製し、p25, p35 の量とカルパイン活性の関係について検討した。(2) 本邦で同定された新規 FTDP-17 変異をもつ剖検脳における蓄積アイソフォームについて生化学的に検討し、微小管重合促進能を *in vitro* のチューブリン重合実験で調べた。タウ蓄積を特徴とする紀伊半島のパーキンソン・痴呆複合症例でも蓄積タウを検討した。

C. 研究結果

(1)AD 脳における cdk5 補因子 p25/p35 の量に関する検討： cdk5 活性化能力をもつとされる p25 はAD 脳のみならずコントロール脳にも多量に検出され、その比率には死後時間の短いAD,コントロール脳間で相違はみられなかった。また屠殺直後の正常ラット脳には p35 のみが検出され、p25 は見られなかったのに対し、死後時間の経過とともに p25 が急速に増加した。カルパイン阻害剤の灌流により p25 の増加は部分的に抑制された。

(2)熊本県で同定された FTDP17 家系 (イントロン+12 位変異)において、脳に蓄積したタウの isoform が4リピート型のみであることを示した。英国で発見された Pick 病様の病理変化を示す FTDP17 症例において、K257T, G389R などの変異がタウの微小管重合能を顕著に低下させることを示した。また紀伊のパーキンソン・痴呆複合では蓄積タウの isoform はAD に類似した3/4リピート混合型であることも示した。

D. 考察

AD 脳において仮想されてきた p25 の増加は死後変化による見かけの現象である可能性が高く、AD におけるタウの過剰リン酸化現象を説明できるものではないと考えられる。またこの p35 から p25 への転換にはカルパインが関与していることを示した。FTDP-17 家系においてエクソン10のイントロン変異が4リピート型タウの選択的蓄積を招く新たな変異型を確定した。また Pick 病様の病理変化を示す特異な家系において、その変異の表現型が微小管重合能低下にあることを示した。最後に、紀伊のパーキン

ソン・痴呆複合のタウ蓄積とADの類似性をはじめて実証した。

E. 結論

タウオパチーにおけるタウ蓄積の原因としてタウの過剰リン酸化、家族例においては変異による機能低下やアイソフォーム比率の変化が考えられている。今後トランスジェニック動物モデルなども利用して、細胞死とタウ蓄積の関係についてさらに追求する必要がある。

F. 研究業績

1)Wakabayashi K, Fukushima T, Koide R, Horikawa Y, Hasegawa M, Watanabe Y, Noda T, Eguchi I, Morita T, Yoshimoto M, Iwatsubo T, Takahashi H: Juvenile-onset generalized neuroaxonal dystrophy (Hallervorden-Spatz disease) with diffuse neurofibrillary and Lewy body pathology. *Acta Neuropathol* 99:331-336, 2000

2)Yasuda M, Takamatsu J, D'Souza I, Crowther RA, Kawamata T, Hasegawa M, Hasegawa H, Spillantini MG, Tanimukai S, Poorkaj P, Varani L, Iwatsubo T, Goedert M, Schellenberg G, Tanaka C: A novel mutation at position +12 in the intron following exon 10 of the tau gene in familial frontotemporal dementia (FTD-Kumamoto). *Ann Neurol* 47:422-429, 2000

3)Arima K, Kowalska A, Hasegawa M, Mukoyama M, Watanabe R, Kawai M, Takahashi K, Iwatsubo T, Tabira T,

- Sunohara N: Two brothers of frontotemporal dementia and parkinsonism with an N279K mutation of tau gene. *Neurology* 54:1787-1795, 2000
- 4)Wakabayashi K, Shibasaki Y, Hasegawa M, Horikawa Y, Soma Y, Hayashi S, Morita T, Iwatsubo T, Takahashi H: Primary progressive aphasia with focal glial tauopathy. *Neuropathol Appl Neurobiol* 26:477-481, 2000
- 5)Pickering-Brown S, Baker M, Yen S-H, Liu W-K, Hasegawa M, Cairns N, Lantos PL, Rossor M, Iwatsubo T, Davies Y, Allsop D, Furlong R, Owen F, Hardy J, Mann D, Hutton M: Pick's disease is associated with mutations in the *tau* gene. *Ann Neurol* 48:859-867, 2000
- 6)Taniguchi S, Fujita Y, Hayashi S, Kakita A, Takahashi H, Murayama S, Saïdo TC, Hisanaga S, Iwatsubo T, Hasegawa M: Calpain-mediated degradation of p35 to p25 in postmortem human and rat brains. *FEBS letters* 489: 46-50, 2001
- 7)Piao Y-S, Hayashi S, Hasegawa M, Wakabayashi K, Yamada M, Yoshimoto M, Ishikawa A, Iwatsubo T, Takahashi T: Co-localization of a-synuclein and phosphorylated tau in neuronal and glial cytoplasmic inclusions in a patient with multiple system atrophy of long duration. *Acta Neuropathol* 101:285-293, 2001
- 8)Kuzuhara S, Kokubo Y, Sasaki R, Narita Y, Yabana T, Hasegawa M, Iwatsubo T: Familial amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex of the Kii peninsula of Japan: clinical and neuropathological study and tau analysis. *Ann Neurol* 49:501-511, 2001
- 9)Sasaki R, Hasegawa M, Ito N, Mimuro M, Kokubo Y, Narita Y, Iwatsubo T, Kuzuhara S: Amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex of the Kii peninsula of Japan: analyses of candidate genes and tau protein. *J Neurol Sci* in press

分担研究報告書

蛋白質異常蓄積を標的とするアルツハイマー病新規治療法の開発
--プレセニリン、A β に関する研究--

分担研究者

富田泰輔 東京大学大学院薬学系研究科・助手

研究要旨

プレセニリン(PS)は、その変異により家族性 AD が発症するとともに、正常にも γ セクレターゼの活性サブユニットとして作動していることが示されている。本年度はさらにその近傍に存在する系統発生的に高度に保存された「PALP 配列」を見出し、その第一番目のプロリン残基がロイシンに置換した PALP 変異では PS 複合体の形成が障害されることにより、 γ セクレターゼ活性が失われることを明らかにした。この結果は γ セクレターゼ活性を発揮する PS の分子形態は高分子量複合体型であることを確認するとともに、PS カルボキシ末端に新たな機能ドメインをの存在を示唆するものである。

A. 研究目的

前年度までに、PS のカルボキシ末端を変異させるとその複合体形成と活性維持がきわめて高頻度に障害されることから、PSC 末端にはその機能に必須の構造が存在することを示してきた。本年度は PSC 末端基部に、系統発生的にきわめて保存され、その変異によりショウジョウバエ、線虫において Notch 機能不全による発生異常が生じる PALP 配列を同定し、この第1プロリンのロイシン変異が PS2 の代謝と γ セクレターゼ、site-3 protease 作用に及ぼす影響を検討した。

B. 研究方法

ヒト PS2 の第 414 アミノ酸（正常ではプロリン）をロイシンに置換した P414L 変異 PS2 を作製し、マウス N2a 神経芽腫細胞、PS1/2 ノックアウト細胞に発現し、APP の γ 切断、Notch-1 の site-3 cleavage に対する効果などを検討した。

C. 研究結果

P414L 変異型 PS2 は細胞内で安定化を受けずに ER にとどまり、Golgi 装置以降にはソーティングされず、高分子量複合体の形成もみられなかった。また γ 切断及び site-3切断を活性化する能力を有していなかった。一方 FAD

変異型 PS2 は Ab42 分泌を亢進させると同時に、Notch 切断能力も低下していることが判明した。

D. 考察

PALP 変異は、PS の C 末端領域というコンフォメーション変化に敏感な部位においてポリペプチド軸を folded form から extended form に大きく変換することにより、PS の複合体形成と安定化を阻害し、 γ セクレターゼ機能の喪失を招くものと考えられる。一方 FAD 変異型 PS において、APP の γ 切断部位にシフトが生じると同時に、Notch 切断にも障害が生じることから、これらの変異は酵素の活性ポケットの形状を変化させ、APP あるいは Notch の至適切断配列とのミスマッチを生じることによりプロセシング異常を招来することが示唆される。

E. 結論

PS は AD における A β 産生の key regulator の一つであり、治療ターゲットとして有力な対象である。今後 PS の γ セクレターゼ活性発揮に必須な結合分子の同定、機能型複合体の代謝過程と制御因子の解明が急務である。

F. 研究発表

1) Maruyama K, Usami M, Kametani F, Tomita T, Iwatsubo T, Saido TC, Mori H, Ishiura S: Molecular interactions between presenilin and calpain: Inhibition of μ -calpain protease activity by presenilin-1, 2 and

cleavage of presenilin-1 by μ -calpain. *Int J Mol Med* 5:269-273, 2000

2) Saura CA, Tomita T, Soriano S, Takahashi M, Leem J-Y, Honda T, Koo EH, Iwatsubo T, Thinakaran G: The non-conserved hydrophilic loop domain of presenilin is neither required for presenilin endoproteolysis nor enhanced A β 42 production mediated by FAD-linked PS variants. *J Biol Chem* 275:17136-17142, 2000

3) Takahashi M, Dore S, Ferris CD, Tomita T, Sawa A, Wolosker H, Borchelt DR, Iwatsubo T, Kim S-H, Thinakaran G, Sisodia SS, Snyder SH: Amyloid precursor proteins inhibit heme oxygenase activity and augment neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Neuron* 28:461-473, 2000

4) Ohya S, Morohashi Y, Muraki K, Tomita T, Watanabe M, Iwatsubo T, Imaizumi Y: Molecular cloning and expression of the novel splice variants of K⁺ channel-interacting protein 2 (KCHIP2). *Biochem Biophys Res Comm* 282:96-102, 2001

5) Shirotani K, Tsubuki S, Iwata N, Takaki Y, Harigaya W, Maruyama K, Kiryu-Seo S, Kiyama H, Iwata H, Tomita T, Iwatsubo T, Saido TC: Nephilysin degrades both amyloid β peptide 1-40 and 1-42 most effectively among thiorphan- and

phosphoramidon-sensitive
endopeptidases. *J Biol Chem* in
press

6)Iwata H, Tomita T, Maruyama K,
Iwatsubo T: Subcellular compartment
and molecular subdomain of β -
amyloid precursor protein relevant to
the A β 42-promoting effects of
Alzheimer mutant presenilin 2. *J Biol
Chem* in press

7)Tomita T, Watabiki T, Takikawa R,
Morohashi Y, Takasugi N, Kopan R,
De Strooper B, Iwatsubo T: The first
proline of PALP motif at the C
terminus of presenilins is obligatory
for stabilization, complex formation
and γ -secretase activities of
presenilins. *J Biol Chem* in press

2000 年度研究成果一覧 (著者、題名、誌名、巻号・頁、年号の順で記載します)

英文原著論文

- 1) Okochi M, Walter J, Koyama A, Nakajo S, Baba M, Iwatsubo T, Meijer L, Kahle P, Haass C: Constitutive phosphorylation of the Parkinson's disease associated α -synuclein. *J Biol Chem* 275:390-397, 2000
- 2) Maruyama K, Usami M, Kametani F, Tomita T, Iwatsubo T, Saido TC, Mori H, Ishiura S: Molecular interactions between presenilin and calpain: Inhibition of μ -calpain protease activity by presenilin-1, 2 and cleavage of presenilin-1 by m-calpain. *Int J Mol Med* 5:269-273, 2000
- 3) Nishizawa T, Nagao T, Iwatsubo T, Forte JG, Urushidani T: Molecular cloning and characterization of a novel CLIC-related protein, parchorin, expressed in water-secreting cells. *J Biol Chem* 275:11164-11173, 2000
- 4) Saura CA, Tomita T, Soriano S, Takahashi M, Leem J-Y, Honda T, Koo EH, Iwatsubo T, Thinakaran G: The non-conserved hydrophilic loop domain of presenilin is neither required for presenilin endoproteolysis nor enhanced A β 42 production mediated by FAD-linked PS variants. *J Biol Chem* 275:17136-17142, 2000
- 5) Yamagata K, Urakami K, Wakutani Y, Adachi Y, Iwatsubo T, Mann DMA, Sato K, Nakashima K: Increased levels of apolipoprotein E mRNA in the brains of patients with Down's syndrome. *Alzheimer Report* 3:77-82, 2000
- 6) Takeuchi A, Irizarry MC, Duff K, Saido TC, Hsiao Ashe K, Hasegawa M, Mann DMA, Hyman BT, Iwatsubo T: Age-related amyloid β deposition in transgenic mice overexpressing both presenilin 1 and amyloid β precursor protein Swedish mutant is not associated with global neuronal loss. *Am J Pathol* 157: 331-339, 2000
- 7) Yamazaki M, Arai Y, Baba M, Iwatsubo T, Mori O, Katayama Y, Oyanagi K: α -synuclein inclusions in amygdala in the brains of patients with Parkinsonism-Dementia Complex of Guam. *J Neuropathol Exp Neurol* 59: 585-591, 2000
- 8) Lambert JC, Mann D, Goumidi L, Harris J, Pasquier F, Frigard B, Cottel D, Lendon C, Iwatsubo T, Amouyel P, Chartier-Harlin : A FE65 polymorphism associated with risk of developing sporadic late-onset Alzheimer's disease but not with Ab loading in brains. *Neurosci Lett* 293:29-32, 2000
- 9) Takahashi M, Dore S, Ferris CD, Tomita T, Sawa A, Wolosker H, Borchelt DR, Iwatsubo T, Kim S-H, Thinakaran G, Sisodia SS, Snyder SH: Amyloid precursor proteins inhibit heme oxygenase activity and augment neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Neuron* 28: 461-473, 2000
- 10) Lee J-A, Long Z, Nimura N, Iwatsubo T, Imai K, Homma H: Localization, transport,

and uptake of D-aspartate in the rat adrenal and pituitary glands. *Arch Biochem Biophys* 385:242-249, 2001

11) Lambert J-C, Mann D, Goumidi L, Harris J, Amouyel P, Iwatsubo T, Lendon CL, Chartier-Harlin M-C: Effect of the APOE promoter polymorphisms on cerebral amyloid peptide deposition in Alzheimer's disease. *Lancet* 357:608-609, 2001

12) Ohya S, Morohashi Y, Muraki K, Tomita T, Watanabe M, Iwatsubo T, Imaizumi Y: Molecular cloning and expression of the novel splice variants of K⁺ channel-interacting protein 2 (KChIP2). *Biochem Biophys Res Comm* 282:96-102, 2001

13) Mann DMA, Pickering-Brown SM, Takeuchi A, Iwatsubo T, Arango J, Bird T, Van Broeckhoven C, Brooks W, Brown R, Cairns N, Cras P, Ellison D, Haltia M, Ii K, Jorgensen A, Krill J, Lantos P, Lippa C, Martins R, Nochlin D, Pollen D, Rosenberg C, Rossor M, Tabira T: Amyloid angiopathy and variability in Amyloid β deposition is determined by mutation position in presenilin-1 linked Alzheimer's disease. *Am J Pathol* in press

14) Shirota K, Tsubuki S, Iwata N, Takaki Y, Harigaya W, Maruyama K, Kiryu-Seo S, Kiyama H, Iwata H, Tomita T, Iwatsubo T, Saido TC: Neprilysin degrades both amyloid β peptide 1-40 and 1-42 most effectively among thiorphan- and phosphoramidon-sensitive endopeptidases. *J Biol Chem* in press

15) Mann DMA, Takeuchi A, Sato S, Cairns NJ, Lantos PL, Rossor MN, Haltia M, Kalimo H, Iwatsubo T: Cases of Alzheimer's disease due to deletion of exon 9 of the presenilin-1 gene show an unusual but characteristic β amyloid pathology known as "cotton wool" plaques. *Neuropathol Applied Neurobiol* in press

16) Iwata H, Tomita T, Maruyama K, Iwatsubo T: Subcellular compartment and molecular subdomain of β -amyloid precursor protein relevant to the A β 42-promoting effects of Alzheimer mutant presenilin 2. *J Biol Chem* in press

17) Lambert J-C, Mann D, Harris J M, Chartier-Harlin M-C, Cummings A, Coates J, Lemmon H, St-Clair D, Iwatsubo T, Lendon C: The -48 CT polymorphism in the presenilin 1 promoter is associated with an increased risk of developing Alzheimer's disease and an increased A β load in brain. *J Medical Genetics* in press

18) Mann DMA, McDonagh AM, Pickering-Brown SM, Kowa H, Iwatsubo T: Amyloid β protein deposition in patients with frontotemporal lobar degeneration: relationship to age and apolipoprotein E genotype. *Neurosci Lett* in press

19) Tomita T, Watabiki T, Takikawa R, Morohashi Y, Takasugi N, Kopan R, De Strooper B, Iwatsubo T: The first proline of PALP motif at the C terminus of presenilins is obligatory for stabilization, complex formation and γ -secretase activities of presenilins. *J Biol Chem* in press

和文総説

- 1) 小山彰比古、岩坪威： α -synuclein の病理 ファーマメディカ 18:49-53, 2000
- 2) 岩坪威：Synuclein 生体の科学 51:83-84, 2000
- 3) 富田泰輔、岩坪威：アルツハイマー病原因遺伝子の分子生物学 細胞 32:139-142, 2000
- 4) 岩坪威：アルツハイマー病：基礎 日本老年医学会雑誌 37:20-24, 2000
- 5) 岩坪威：プレセニリン 1,2 の変異によるアルツハイマー病 脳の科学 22:34-40, 2000
- 6) 富田泰輔、岩坪威：Alzheimer 病と神経細胞死 Clinical Neuroscience 94:456-459, 2000
- 7) 富田泰輔、岩坪威：PS2 のプロセッシング Dementia Japan 14:54-60, 2000
- 8) 瀧川里絵、富田泰輔、岩坪威：プレセニリンによる A β 産生の分子メカニズム 最新医学 55:1621-1626, 2000
- 9) 岩坪威： α -synuclein とパーキンソン病 神経進歩 44: 569-576, 2000
- 10) 岩坪威、橋本唯史：分子病理学的にみた痴呆 臨床医 26:1900-1902, 2000
- 11) 富田泰輔、岩坪威：家族性アルツハイマー病原因遺伝子研究の最前線 Molecular Medicine 37: 1006-1015, 2000
- 12) 岩田博司、岩坪威：アミロイドタンパクとアルツハイマー病 老年精神医学 11:767-774, 2000
- 13) 岩坪威：アミロイドカスケード研究の成果と今後の課題 臨床神経 40:1228-1230, 2000

20000436

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、P.13-15の「研究成果の刊行に関する一覧」をご参照ください。