

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
（分担）研究報告書

脂質代謝に関連した蛋白のアルツハイマー病生物学的マーカーの可能性に関する研究

主任研究者 難波吉雄 東京大学 講師

研究要旨 アルツハイマー病の危険因子としてアポEが知られて以来、脂質代謝とアルツハイマー病の関連について明らかとするべく多くの研究がなされてきた。一方最近の研究により、多価不飽和脂肪酸 n6/n3 の摂取比率と痴呆が関係するとの報告がなされ注目されている。本研究では、その両者ともに関係する脂肪酸結合蛋白についてアルツハイマー病脳で検討を行う、異常蓄積物に皮膚型脂肪酸結合蛋白が存在していることを示した。脂肪酸結合蛋白はアルツハイマー病の病態形成を明らかにする上で、また痴呆のマーカーそして検討する上で有用であると思われた。

主任研究者 難波吉雄
東京大学 講師

から、脂肪酸結合蛋白に対する抗体を用いて免疫細胞学的検討を行った。

A. 研究目的

ある種の多価不飽和脂肪酸は、神経系では神経細胞膜などに存在し、多くの機能を有していることが知られている。一方、脂肪酸結合蛋白は生体膜から遊離した氏の胡散の転送・貯蔵のみならず核内受容体を介する脂質代謝におけるモレキュラーセンサー的機能を有することも明らかとなり、その機能と多価不飽和脂肪酸の関係が注目されている。アルツハイマー病患者における摂取栄養の詳細な調査により、摂取不飽和脂肪酸 n6/n3 の比が有意に高いことが報告され、アルツハイマー病における脂肪酸動態も同じく注目が集まっている。そこで本研究では、多価不飽和脂肪酸の神経系における作用メカニズムおよびアルツハイマー病脳との関連を明らかとすることを目的

B. 研究方法

抗体は抗ヒト皮膚型脂肪酸結合蛋白抗体及び抗心型脂肪酸結合蛋白抗体を用いた。（抗体は新潟大学医学部藤井先生より分与）。アルツハイマー病脳及び正常高齢者脳のホルマリン固定・パラフィン埋包切片を用いた。免疫細胞学的検討は通常のABC法によった。このほか抗体として脂質代謝と深い関連を有するPPAR(α 、 β 、 γ)、新規アポE受容体等に関するものも同時に用いて検討を行った。

C. 研究結果

抗皮膚型脂肪酸結合蛋白抗体を用いた検索では、アルツハイマー病脳において、一部の神経細胞の胞体、アストロサイトの胞体及び突起が陽性に染色された。また、一

部のアルツハイマー神経原線維変化、老人斑の変性突起も陽性に染色された。神経細胞、グリア細胞およびアルツハイマー神経原線維変化などすべての陽性所見は海馬において著明に認められた。これらの陽性所見は、正常高齢者脳では目立たなかった。抗心型脂肪酸結合蛋白抗体ではこれらの陽性所見は明らかではなかった。また抗PPAR抗体、抗アポE受容体抗体による検索においても、アルツハイマー病脳異常構造物の陽性染色所見は認められなかった。

D. 考察

本研究により、皮膚型脂肪酸結合蛋白がアルツハイマー病脳において発現していることがあきらかとなった。脂肪酸結合蛋白は一般にサイトソルに存在し、脂肪酸の細胞内転送や代謝に関わる蛋白質として研究されてきた。脂肪酸結合蛋白には、互いに一次構造を異にし、特異的な臓器分布を示す脳型、肝型、腸型、心筋型、脂肪細胞型、皮膚型、末梢神経型などがあるが、共通する特徴として、サイトソルに存在、長鎖脂肪酸との結合能を有する、臓器特異的なタイプが存在する、分子量は約15,000といった特徴を有している。

一方、植木らによりアルツハイマー病患者における摂取栄養素の詳細な分析が行われ、摂取する多価不飽和脂肪酸のn6/n3の比が患者群で有意に高いことが、さらにn3投与により痴呆患者の認知機能が改善する場合があることが報告された。このことは、アルツハイマー病脳において、多価不飽和脂肪酸の動態がその病態形成に関わっている可能性を示唆するものである。これらの事実をもとに今回の研究結果を考えると、非

常に興味深い。すなわち、アルツハイマー病脳においては、脳型のみならず皮膚型脂肪酸結合蛋白も発現していることより、何らかの機序により脂肪酸代謝に異常が生じている可能性が考えられるからである。今後の研究ではアルツハイマー病脳における脂肪酸等脂質関連蛋白のその病態形成への関わりについて検討する必要があると思われる。

E. 結論

脂質関連蛋白の中で、皮膚型脂肪酸結合蛋白はアルツハイマー病診断における生物学的マーカーとして検討する必要があると思われる。

F. 研究成果

1. 論文発表

Lee TH, Lee JW, Osaka T, Kobayashi A, Namba Y, Inoue S, Kimura S. Lack of integrative control of body temperature after capsaicin administration. *Korea J Intern Med* 15:103-108, 2000.

Osaka T, Kobayashi A, Lee TH, Namba Y, Inoue S, Kimura S. Lack of integrative control of heat production and heat loss after capsaicin administration. *Pflugers Arch* 440:440-445, 2000.

Kageyama H, Suzuki E, Kashiwa T, Kanazawa H, Osaka T, Kimura S, Namba Y, Inoue S.

Sucrose-diet feeding induces gene expression of heat shock protein in rat brain under stress. *Biochem Biophys Res Commun* 274:355-358, 2000.

Suga A, Hirano T, Kageyama H, Osaka T,

Namba Y, Tsuji M, Miura M, Adachi M, Inoue S. Effect of fructose and glucose on plasma leptin, insulin and insulin resistance in lean and VMH-lesioned rats. *Am J Endocrinol Metab* 278:E677-683, 2000.

Ueki A, Otsuka M, Sasaki S, Namba Y, Ouchi Y, Ikeda K. Dietary factors and the risk of Alzheimer's disease: low fish consumption and a relative deficiency of w-3 polyunsaturated fatty acids. In : Tanaka C, McGeer PL, Ihara Y(eds); *Neuroscientific Basis of Dementia*, Birkhauser Verlag, Basel, 2000, pp275-278.

森啓

原著論文

- 1) Wolf, D., Gearing M, Snowdon DA, Mori H, Markesbery WR & Mirra SS. Progression of regional neuropathology in Alzheimer disease and normal elderly: findings from the nun study. *Alzheimer Disease and Associated Disorders* 13: 226-231, 1999.
- 2) Maruyama K, Usami M, Kametani F, Tomita T, Iwatsubo T, Saido TC, Mori H, and Ishiura S. Molecular interactions between presenilin and calpain: Inhibition of m-calpain protease activity by presenilin-1, 2 and cleavage of presenilin-1 by m-, m-calpain. *Int. J. Molecular Medicine* 5: 269-273, 2000.
- 3) Lippa CF, Schmidt ML, Nee LE, Bird T, Nochlin D, Hulette C, Mori H, Lee VMY, and Trojanowski JQ. AMY plaques in familial AD; Comparison with sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 54: 100-104, 2000.
- 4) Sahara N, Tomiyama T, and Mori H. Missense point mutations of tau to segregate with FTDP-17 exhibit site-specific effects on microtubule structure in COS cells: A novel action of R406W mutation. *J. Neurosci. Res.* 60: 380-387, 2000.
- 5) Tamaoka A, Miyatake F, Matsuno S, Ishii K, Nagase S, Sahara N, Ono S, Mori H, Wakabayashi K, Tsuji S, Takahashi H & Shoji S. Apolipoprotein E allele-dependent antioxidant activity in brains with Alzheimer's disease. *Neurology* 54: 2319-2321, 2000.
- 6) Shimizu T, Watanabe A, Ogawara M, Mori H & Shirasawa T. Isoaspartate formation and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 381: 225-234, 2000.
- 7) Cavani S, Tamaoka A, Moretti A, Marinelli L, Angelini G, Di Stefano S, Piombo G, Cazzulo V, Matsuno S, Shoji S, Furiya Y, Zaccheo D, Dagna-Bricarelli F, Tabaton M & Mori H. Plasma levels of amyloid b40 and 42 are independent from apoE genotype and mental retardation in Down syndrome. *The American Journal of Medical Genetics* 95 : 224-228, 2000.
- 8) Pigino G, Pelsman A, Mori H & Busciglio J. Presenilin 1 mutations reduce cytoskeletal association, deregulate neurite growth and potentiate neuronal dystrophy and tau phosphorylation. *J. Neurosci.* 21: 834-842, 2001.
- 9) Ishii K, Lippa C, Tomiyama T, Miyatake F, Ozawa K, Tamaoka A, Hasegawa T, Fraser PE, Shoji S, Nee LE, Pollen DA, St. George-Hyslop PH, Ii K, Ohtake T, Kalaria RN, Rossor MN, Plantos PL, Cairns NJ, Farrer LA, and Mori H. Distinguishable effects of *Presenilin-1* and *APP717* mutations on amyloid plaque

deposition. *Neurobiology of Aging* (in press)

総説

1) 石黒幸一、森 啓(2000) 臨床精神医学講座 S9, 319-332

タウとそのリン酸化、タウ遺伝子の突然変異

2) 小坂 理、森 啓(2000) 現代医療 32 (9), 2263-2268

タウ蛋白の変異と痴呆性疾患

3) 森 啓 (2000) KEY WORD 精神[第2版], 138-139. (樋口輝彦、神庭重信、染矢俊幸、宮岡 等、編集), (株)先端医学社

アポE4

4) Mori, H. (2000) *Neuropathology* 20: S55-S60

Untagling Alzheimer's disease from fibrous lesions of neurofibrillary tangles and senile plaques

5) Kosaka, S., Takuma, H. & Mori, H. (2000) *Research Trends* (in press)

Clonopathology and gene expression in tauopathies

6) 詫間 浩、森 啓(2000) 神経難病の分子機構 タンパク質のコンホメーション異常による疾患 , 156-163. (石浦章一編), シュプリンガー・フェアラーク東京株式会社

タウとコンホメーション

7) Sahara, N., Tomiyama, T. & Mori, H. (2001) *Neuroscientific Basis of Dementia* (ed. Tanaka, C., McGeer, P.L., & Ihara, Y.) Birkhauser Verlag Basel, Switzerland, 113-120

遠藤英俊

Toshio Hayashi, Izumi Ito, Hatsuyo Kano, Hidetoshi Endo, and Akihisa Iguchi, Estriol (E3) Replacement Improves Endothelial Function and Bone Mineral Density in Very Elderly Women, *Journal of Gerontology, BIOLOGICAL SCIENCES*, 55, 4, 183-190, 2000.

Hiroyuki Umegaki, Hiroyuki Ikari, Hideki Nakahata, Hidetoshi Endo, Yusuke Suzuki, Osamu Ogawa, Akira Nakamura, Takayuki Yamamoto, Akihisa Iguchi, Plasma cortisol levels in elderly female subjects with Alzheimer's disease: a cross-sectional and longitudinal study, (in press). *Brain Research* 881, 241-243, 2000

Osamu Ogawa, Hirrrroyuki Umegaki, Daigo Sumi, Toshio Hayashi, Akira Nakamura, Navin Kumar Thakur, Juri Yoshimura, Hidetoshi Endo, Akihisa Iguchi, Inhibitory effects of indomethacin and ibuprofen on β -amyloid-stimulated inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide production in the murine macrophage, (in press).
Osamu Ogawa, Hirrrroyuki Umegaki, Daigo Sumi, Toshio Hayashi, Akira Nakamura, Navin Kumar Thakur, Juri Yoshimura, Hidetoshi Endo, Akihisa Iguchi, Inhibition of inducible

nitric oxide synthase gene expression by indomethacin or ibuprofen in β -amyloid protein-stimulated J774 cells. *European Journal of Pharmacology* 408, 137-141, 2000

Hiroyuki Umegaki, Hiroyuki Ikari, Hideki Nakahata, Juri Yoshimura, Hidetoshi Endo, Takayuki Yamamoto, Akihisa Iguchi, Low plasma epinephrine in elderly female subjects of dementia of Alzheimer type, *Brain Research* 858, 67-70, 2000

宇野正威

Asada T, Motonaga T, Yamagata Z, Uno M, Takahashi K. Association between retrospectively recalled napping behavior and later development of Alzheimer's disease. *Sleep* 23:629-634, 2000.

Asada T, Kinoshita T, Kakuma T. Analysis of behavior distribution among community dwelling elderly individuals with Alzheimer's disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 14:160-167, 2000.

Asada T, Motonaga T, Kinoshita T. Predictors of severity of behavioral disturbances among community dwelling elderly individuals with Alzheimer's disease: 6 year follow up study. *Psychiatry Clin Neurosci* 54:673-677, 2000. Asada T, Matsuda H, Morooka T, Nakano S, Kimura M, Uno M. Quantitative SPECT analysis for the diagnosis of transient global amnesia. *Psychiatry Clin Neurosci* 54:691-694, 2000.

Ohnishi T, Matsuda H, Asada T, Hirakata M, Aruga M, Sakamoto S, Imabayashi E, Nishikawa M, Kato A. Activation in the auditory cortex during mental music rehearsal in highly trained musicians. *Cereb Cortex* 8:754-760, 2001.

難波吉雄

【原著論文】

1. Lee TH, Lee JW, Osaka T, Kobayashi A, Namba Y, Inoue S, Kimura S. Lack of integrative control of body temperature after capsaicin administration. *Korean J Intern Med.* 2000 ;15:103-8.
2. Osaka T, Kobayashi A, Lee TH, Namba Y, Inoue S, Kimura S. Lack of integrative control of heat production and heat loss after capsaicin administration *Pflugers Arch.* 2000;440:440-5.
3. Kageyama H, Suzuki E, Kashiwa T, Kanazawa M, Osaka T, Kimura S, Namba Y, Inoue S. Sucrose-diet feeding induces gene expression of heat shock protein in rat brain under stress. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000 ,274:355-8.
4. Suga A, Hirano T, Kageyama H, Osaka T, Namba Y, Tsuji M, Miura M, Adachi M,

Inoue S. Effects of fructose and glucose on plasma leptin, insulin, and insulin resistance in lean and VMH-lesioned obese rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000 ;278:E677-83.

5. Ueki A, Otsuka M, Sasaki S, Nanba Y, Ouchi Y, and Ikeda K. Dietary factors and the risk of Alzheimer's disease: a low fish consumption and a relative deficiency of w-3 polyunsaturated fatty acids. In: Tanaka C, McGeer PL, Ihara Y (eds); *Neuroscientific Basis of Dementia*, Birkhauser Verlag, Basel, 2000, pp 275-278.

2000467

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、下記「資料」をご参照ください。

「資料」

Dietary factors and the risk of Alzheimer's disease: a low fish consumption and a relative deficiency of ω -3 polyunsaturated fatty acids.

Ueki A, Otsuka M, Sasaki S, Nanba Y, Ouchi Y, Ikeda K,
Neuroscientific Basis of Dementia. 2000, pp275-278

AMY plaques in familial AD: comparison with sporadic Alzheimer's disease.

Lippa CF, Schmidt ML, Nee LE, Bird T, Nochlin D, Hulette C, Mori H, Lee VM, Trojanowski JQ.
Neurology. 2000 Jan 11;54(1):100-4.

Associations between retrospectively recalled napping behavior and later development of Alzheimer's disease: association with APOE genotypes.

Asada T, Motonaga T, Yamagata Z, Uno M, Takahashi K.
Sleep. 2000 Aug 1;23(5):629-34.

Low plasma epinephrine in elderly female subjects of dementia of Alzheimer type.

Umegaki H, Ikari H, Nakahata H, Yoshimura J, Endo H, Yamamoto T, Iguchi A.
Brain Res. 2000 Mar 6;858(1):67-70.