

200400312 B

厚生労働科学研究費補助金
長寿科学総合研究事業

α トコフェロール転送蛋白遺伝子変異による
酸化ストレス病態の解明

平成14～16年度 総合・分担研究報告書

主任研究者 水澤 英洋

平成17(2004)年4月

厚生労働科学研究費補助金(長寿科学総合研究事業)

総合研究報告書

α トコフェロール転送蛋白遺伝子変異による酸化ストレス病態の解明に関する研究

主任研究者 水澤 英洋 東京医科歯科大学大学院教授

研究要旨：慢性酸化ストレス状態にある α -トコフェロール輸送蛋白質(α -tocopherol transfer protein: α TTP)ノックアウトマウスをアルツハイマー病のモデルである変異 APP トランスジェニックマウス (Tg2576) と掛け合わせるにより、アルツハイマー病症状の増悪、老人斑の増加がみられ、これらは $A\beta$ の産生や分解の異常ではなく血液脳関門を介する排出機構の障害であることを世界で初めて明らかにした。酸化ストレスの老化への影響については500匹を超える大型コホートにて観察を続け、神経症状の発現促進への関与とともに、死亡については他の要因も存在する可能性があることを明らかにした。基礎研究では α TTPの肝細胞内でのビタミンEの輸送機構の詳細を明らかにするとともに、妊娠における α TTPの役割やビタミンEにより変動する遺伝子についても解明を進めた。本研究では当初の目的を達成するとともに、さらに大きな発展の可能性を示すことができた。

分担研究者

横田 隆徳 東京医科歯科大学大学院医
歯学総合研究科助教授

新井 洋由 東京大学大学院薬学系研究
科教授

内原 俊記 東京都神経総合研究所神経
病理副参事研究員

A. 研究目的

本研究の目的は、まず α TTP 遺伝子変異が直接あるいは生体内で最強の抗酸化物質の α トコフェロールすなわちビタミンE (VE)の欠乏を介して著明な酸化ストレスをきたす動物モデルである α TTPノックアウトマウスを用いて、老化およびアルツハイマー病などの神経変性疾患における酸化ストレスの関与を解明することである。具体的には α TTPノックアウトマウスとアルツハイマー病のモデルである変異APPトランスジェニックマウス (Tg2576) とを掛け合わせるにより、老人斑の出現、 $A\beta$ 蛋白蓄積などのTg2576の表現型に及ぼす影響を検索する。また、 α TTPノックアウトマウスを、さらに食餌中のVEを厳密に管理した条

件で長期飼育し、多数の個体で細胞、組織、さらには個体レベルでの変化を検索し、老化、発癌、寿命などへの酸化ストレスの関与を明らかにする。さらに、酸化ストレスの関与する病態である脳梗塞などにおける発症機序についても検討する。

基礎的研究として、 α TTPを介するビタミンE輸送機構の詳細を解明するとともに、トコフェロールの名称の由来となった妊娠における役割、 α TTPおよびVEによって変動する遺伝子の網羅的解析などを行う。

B. 研究方法

α TTPノックアウトマウスとTg2576を自然交配させ、(APP hetero) \times (α TTP -/-)、(APP hetero) \times (α TTP +/+)、(APP

WT) × (α TTP -/-)、(APP WT) × (α TTP +/+) の 4 種の遺伝子型の産仔を得た。(APP hetero) × (α TTP -/-) ビタミン E 欠乏食群、(APP hetero) × (α TTP +/+) 正常食群、(APP WT) × (α TTP +/+) 正常食群の表現型の解析として、4 ヶ月齢雄マウスでモリス型水迷路試験を用いた学習記憶能力を解析した。脳内に沈着した A β は ELISA と Western blot にて定量した。また、脳内にラジオアイソトープでラベルした A β を注入してその消失速度や分解酵素であるネプリライシン活性を測定した。

長期酸化ストレスの老化や寿命に及ぼす影響の研究には、既に C57/JB6line に 8 世代以上 back cross された α TTP ノックアウトマウス雄 (α TTP -/-) 個体 3 匹より採取した精子を用いて C57/JB6 の野生型の雌 (α TTP +/+) より採取した卵に体外受精を行った。卵割が確認できた受精卵を擬似妊娠状態にした別の雌の子宮内に着床させ妊娠を継続し、 α TTP +/- の雌個体を得て再び採卵し、 α TTP -/- 雄より採取した精子を用いて体外受精を行い長期飼育に用いる雌個体 (α TTP +/-, α TTP -/-) を得た。これらの個体を対照群 α TTP +/+ と共に精製飼料 (AIN-76) に基づく VE 欠乏食群と VE 添加食 (50IU/kg, α -tocopherol acetate) 群に分けて SPF 環境下で飼育し観察した。

肝細胞における α TTP を介する VE の輸送機構の基礎的研究では、 $[^3\text{H}]$ VE 含有リポソームを作製し、pcDNA3/myc キメラ蛋白質 (α -TTP、CRALBP) を McARH7777 細胞に発現させ、キメラ蛋白質の VE 結合能を測定した。クロロキンの経口投与マウスによる α TTP の局在の変化、1 アミノ酸変異リコンビナント α -TTP の VE 結合能の測定、ヘパトマ細胞における VE 放出活性の測定、VE とフォスファチジルイノシトールリン酸 (PIP) などとの結合能なども分析した。 α TTP ノックアウトマウスの雌は不妊に

なるが、妊娠における VE の役割を明らかにするため、生殖系器官における α TTP の局在を α TTP 特異的モノクローナル抗体を作製して免疫組織染色にて詳細に検討した。VE および α TTP によって発現の変動する遺伝子の探索を α TTP 遺伝子の有無と VE の有無の組み合わせのマウスにて DNA マイクロアレイを用いて検討した。

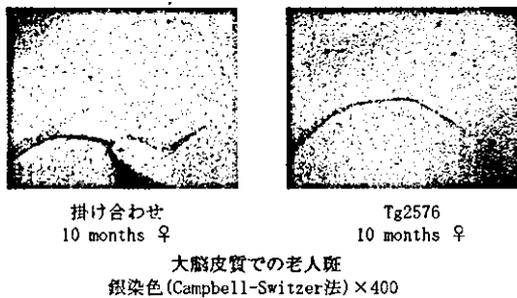
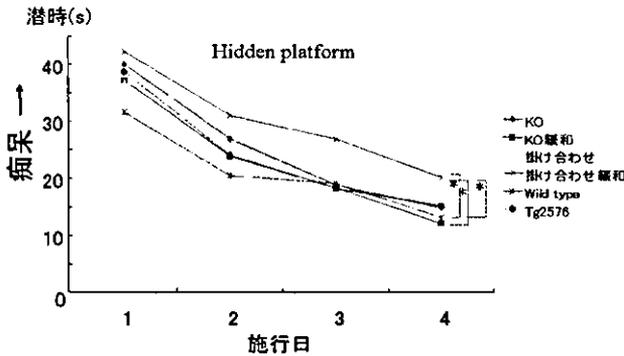
(倫理面への配慮)

本研究は、三省の遺伝子研究の指針に基づいて発足した新しい倫理委員会において承認されており、遺伝子試料の管理など倫理面への配慮は十分になされている。また、動物実験は本学の規定にもとづき動物実験委員会の承認を得ており、動物愛護の観点から十分に配慮した研究を行っている。

C. 研究結果

Hidden platform test では (APP hetero) × (TTP +/+) 正常食群に比し (APP hetero) × (TTP -/-) VE 欠乏食群は platform 到達潜時が長く、transfer test での annulus crossing index [= (ターゲットクアドラントの platform 位置の通過回数) - (他の 3 つのクアドラントの platform 位置の通過回数の平均)] も低値であった。一方 visible platform test では各群で運動能力、視力や動機づけに差がないことが確認された。これは、(APP hetero) × (α TTP -/-) VE 欠乏食群、(APP hetero) × (α TTP +/+) 正常食群、(APP WT) × (α TTP +/+) 正常食群の順で学習記憶能力が劣っていることを示唆する。脳の SDS 可溶性分画での A β 1-40, 1-42 はそれぞれ掛け合わせ群で増加が示唆され、病理学的に老人班の数も増加していた。この A β 蓄積の原因として、 α TTP ノックアウトマウス的大脑に $[^{125}\text{I}]$ A β 1-40 を注入してその消失速度定数を測定したところ、野生型と比し 27.6% 減少していた。この消失速度の低下は加齢によって

も生じるが、8週齢から14週齢までの低下の約3~4倍の低下が認められた。この変化がAβ分解亢進によるかどうかを検索するために、脳のネプリライシン活性を測定したが遺伝子型による差は認めなかった。



長期酸化ストレスに関する研究では、多数の個体を確保するため2回の作出作業を行い、総計で雌の α TTP $^{-/-}$ 個体(以下 α TTP遺伝子のallele数に従い"0"とする)167匹、 α TTP $^{+/-}$ 個体(同様に"1"とする)220匹が得られ、 α TTP $^{+/+}$ 個体(同様に"2"とする)180匹と共にVE欠乏食群("−"とする)、VE添加食群("+"とする)に分けて飼育した。VE $^{+}$ 、VE $^{-}$ 飼料への変換は離乳直後より行った。長期飼育は先行群と後発群に分けて開始した。これまで遺伝子改変群(0, 1)ではVE $^{-}$ 欠乏食群に後肢の脱力、引きずり、体幹の回旋、運動量の低下などの有症状例と死亡例が見られた(別添)。これらの症状は0-, 1-群で生後4ヶ月頃から出現しはじめる。その増加は0-群で最も早く、生後15-6ヶ月頃には全ての例で同様の

症状を呈する。1-群では有症状個体の増加率が0-群に比して緩徐で全個体が症状を呈するのは20ヶ月前後である。VE添加食群では症状の発現開始時期は生後8-10ヶ月頃と遅れるが、一旦症状が出現し始めると有症状個体が急速に増加し17-8ヶ月頃には全ての個体が症状を呈するようになる。1+群では発症時期は10週以降となり、その後の有症状個体の割合の増加も緩徐である。遺伝子改変を行っていない野生型ではVE摂取量に拘らず症状の発現は見られない。

死亡についてはその期日を比較的正確に同定できるため、死亡を点事象としてとらえKaplan-Meier法による生存率を計算した。標本採取のために用いた例を打ち切り例とした。遺伝子改変をした欠乏食群(0-, 1-)ではalleleの数とは無関係に生後5ヶ月以内に約2割の個体が症状を呈した後に死亡する。これに対してVE添加食(0+, 1+)群ではこの時期に症状を呈する例もなく、死亡例も少ない。生後10週を過ぎる頃から添加食(0+, 1+)群でも死亡個体が増え始めるが、これらの群でこの時期の死亡個体は神経症状を呈さないまま死に至る例が大部分という点で、VE欠乏食群とは異なる。生後15~20週の時点で0-, 0+, 1-, 1+群の累積死亡率は2割を超え、以後増加していく傾向にあるが各群間の差異については今後さらに長期に検討を続ける必要がある。

肝細胞内での α TTPの研究では、クロロキン処理により顆粒状に α TTPの局在が変化し後期エンドソームに存在することが示唆されたが、脂質結合蛋白質ファミリーの中で α TTPと最も高いホモロジーを有するCRALBPと α TTPのキメラ蛋白を合成し、局在化に必要なドメインの解析をした結果 α TTPのN末端から21~50番目の極性アミノ酸の多いドメインが必要であった。1アミノ酸変異リコンビナント α TTPとVEとの結合については、H101Q α TTPで著しく低下するの

に対して、R59W α TTP は野生型とほぼ同様であった。へパトーマ細胞における VE 放出活性は野生型 α TTP では非常に高かったが、H101Q および R59W α TTP ではほとんど見られなかった。PI(3,4)P₂ およびリコンビナント α TTP の結合については、donor 側に PI(3,4)P₂ を加えた場合、野生型 α TTP でも R59W α TTP でも変化は見られなかったが、acceptor 側に PI(3,4)P₂ を加えた場合は、野生型 α TTP では VE の輸送が促進されたのに対して、R59W α TTP においては VE の輸送が逆に阻害されることが分かった。七種類ある PIPs、PI および PS の中では PI(4,5)P₂ が最も VE の輸送促進効果が高かった。生殖系器官における α TTP の蛋白質レベルでの発現解析では、マウスでは胎盤に発現は見られなかったが、ヒトでは母親側の血液と胎児側の毛細血管の境界にある海綿状栄養膜細胞に特異的に発現していることが明らかになった。 α TTP 欠損マウス脳において、VE 過剰摂取により mRNA 量の変動したのものの中には低酸素状態で誘導される erythropoietin があった一方で、ラジカル捕捉能をもつ metallothionein (MT) もあった。

D. 考察

本研究により大脳の慢性的酸化ストレス負荷では Tg2576 の学習記憶能力がより低下すること明らかになった。酸化ストレスによる A β 蓄積の増加が示され、A β 分解低下よりも血液脳関門 (BBB) を介した排泄低下が関与していた。加齢でも類似の A β 排泄低下があることを示したが、 α TTP^{-/-}の脳ではその影響がはるかに大きかった。これは、慢性的酸化ストレスにより、加齢にて生じる脳から血中への A β 排泄の低下が著明に増強されることを世界で初めて示したものである。この α TTP^{-/-} と Tg2576 の掛け合わせマウスは孤発性アルツハイマー病の新しいモデルマウスとして有用と思われる。

α TTP 遺伝子を改変した雌個体を多数作製し、食餌中の VE を欠乏させて両者の影響を観察する総個体数 532 匹という大きな実験コホートを構築し解析した。遺伝子改変動物は、VE の摂取量に拘わらずいずれの群も後肢のひきずり、小刻み歩行、運動量の低下などを呈し、症状をもつ個体の割合が次第に増加する。 α TTP 遺伝子 allele の欠失のみでも症状の発現時期は早まるが、VE 摂取量の減少により更に早まるので、 α TTP 遺伝子の欠失と、VE 摂取量の減少は、相加的に作用して神経症状の発現を早めていると解釈できる。 α TTP 遺伝子の欠失も、VE 摂取量の減少も体内の VE 含量を減少させる方向に作用するので、生下時に体内に残された VE の補給が充分でないまま成長すると、ある段階でその不足が神経症状の発現という形で顕在化するものと予想される。

α TTP は、細胞内の酸性コンパートメントを中性化するクロロキンの処理によって、細胞質から後期エンドソーム膜に局在化し、それには α TTP の N 末端から 21~50 番目までの極性アミノ酸に富んだ領域が必要であることが明らかになった。H101Q 変異体については *in vitro* でのビタミン E との結合能が著しく低下しており、細胞からの放出活性を持たないのはこのためであるが、R59W 変異型 α TTP の場合は PIPs への結合能が無いことを示した。すなわち、肝細胞からの VE の放出には α TTP と PIPs との相互作用が重要であることが初めて示された。*in vitro* での VE 輸送促進活性は PI(4,5)P₂ が最も高く、形質膜上に多く存在する PI(4,5)P₂ に R59 を介して α TTP が結合し、そこで VE を形質膜に受け渡し、続いて細胞膜上に存在する何らかの ABC transporter によって VE を細胞外へと放出すると考えられる。脂質は水に非常に溶けにくい物質であり、細胞内のオルガネラ間という微小環境の中でも、

その輸送には何らかのマシナリーが必要であり本研究の成果はこの一つを示すものと思われる。 α TTP が、マウスの子宮内皮細胞およびヒト胎盤の栄養膜細胞や羊膜細胞にほぼ肝臓と同じ高いレベルで発現しているという免疫組織染色結果は、母親側から胎児側に積極的に VE を輸送している機構が予想される。また、遺伝子発現に与える影響として、一般的に抗酸化物質が大量に存在し、金属などラジカル誘導物質が外的要因としてある場合にはその抗酸化物質は酸化を亢進することが知られている。本研究では大量に蓄積したビタミン E が金属と反応して prooxidant になり酸化障害を誘引し、それを抑制するために MT の発現が誘導された可能性がある。

E. 結論

α TTP ノックアウトマウスとの掛け合わせという自然に近い状態で慢性酸化ストレスをかけることにより、アルツハイマー病モデルマウス Tg2576 の学習記憶能力が増悪することを初めて明らかにした。さらにその機序として A β 分解の低下よりも、BBB を介した脳から血中への A β 排泄の低下が原因と考えられることも世界で初めて明らかにした（論文投稿準備中）。このことは、アルツハイマー病の発症機序やその治療研究に新しい視点を与えるとともに、我々が作製した α TTP ノックアウトマウスと Tg2576 の掛け合わせマウスは孤発性アルツハイマー病の新しいモデルマウスとなると期待される。

α TTP 遺伝子数と VE 量を様々に組み合わせさせた 532 匹の多数のマウスの行動観察から、生後の早い時期に遺伝子改変個体の VE 欠乏食群で亜急性に進行する運動障害を呈し、死亡する個体がみられた。その後、より軽い症状を呈する個体の割合が次第に増加しており、これらの症状は遺伝子欠失と食餌中の VE 欠乏状態の

両者に相加的に依存して発現している。他方、死亡個体は欠乏食群 (0-, 1-) で 4~5 ヶ月齢の早期に神経症状を有する個体が多くみられ、逆に添加食群 (0+, 1+) では神経症状を呈さないまま 10 週齢以降に死亡する齢が多かった。この結果は、現時点では酸化ストレスは神経症候の発現には直接的に関係している可能性があるものの、死因としては別の要因も考慮すべきであることを多数例を用いて世界で初めて示したものである（論文投稿準備中）。今後、より長期の観察を続け病理学的・生化学的検索により酸化ストレスの存在と別の要因の究明が進むことが期待される。

α TTP が肝臓細胞内で ATP 依存性に後期エンドソームに局在化し、それには α TTP の N 末端から 21~50 番目までの極性アミノ酸領域が必要であることを明らかにし、肝細胞からの VE の放出については、 α TTP と VE との結合の他に、PIPs との結合性も重要であることを初めて示した。また、胎盤形成や胎児への VE の供給に α TTP が重要な役割を担っていることを明らかにするとともに、 α TTP 欠損マウスの脳においては、低酸素状態で誘導される erythropoietin と共にラジカル補足能を持つ metallothionein も誘導されることを示した。

以上、本研究においては α TTP ノックアウトマウスを用いることにより、慢性酸化ストレスがアルツハイマー病の発症を促進している可能性を世界で初めて明らかにするとともに、アルツハイマー病の新しい発症機序を示唆し、その動物モデルを作製した。また、500 匹を超える大きなコホートを構築し、慢性酸化ストレスが恐らく運動失調症状の増悪に関与し、寿命にはそれ以外の要素も関与している可能性を初めて示した。さらに、その背景となる基礎的な作用機構についても多くの新知見を明らかにした。このように、当初の目的を達成するとともに、

今後の大きな発展性を示している。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 横田隆徳、水澤英洋. α tocopherol 転移タンパク遺伝子欠損マウスにおける遅発性運動失調症. *Clin Neurosci* 2003;21:177-179.
- 2) 横田隆徳. 内科疾患に伴う神経症状. ビタミン欠乏症. *内科* 2003;91:687-690.
- 3) 横田隆徳. 家族性特発性ビタミンE欠乏症の発見と発症機序解明及び治療法の確立. *ビタミン* 2004;7:87-92.
- 4) Uchihara T, Duyckaerts C, Iwabuchi K, Iwata M, Yagishita S, Hauw J-J, Was Pierre Marie's ataxia Machado-Joseph disease? A reappraisal based on the last autopsy case from la Salpêtrière hospital. *Arch Neurol* 2004;61:784-790.
- 5) Nakamura A, Uchihara T, Dual enhancement of triple immunofluorescence using two antibodies from the same species. *J Neurosci Methods* 2004;135:67-70.
- 6) Umahara T, Uchihara T, Tsuchiya K et al. 14-3-3 proteins and zeta isoform containing neurofibrillary tangles in patients with Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* 2004;108:279-286.
- 7) Umahara T, Uchihara T, Tsuchiya K et al. Immunolocalization of 14-3-3 isoforms in brains with Pick body disease. *Neurosci. Lett.* 2004;371:215-219.
- 8) Amino T, Orimo S, Itoh Y et al. Profound cardiac sympathetic denervation occurs in Parkinson's disease. *Brain Pathol.* 2004;15:29-34.
- 9) Uchihara T, Duyckaerts C, Seilhean D et al. Exclusive induction of tau2 epitope in microglia/macrophages in inflammatory lesions -tauopathy

distinct from degenerative tauopathies-. *Acta*

Neuropathol. 2005;109:159-164.

- 10) Uchihara T, Shibuya K, Nakamura A, Yagishita S. Silver stains distinguish tau-positive structures in corticobasal degeneration / progressive supranuclear palsy and in Alzheimer's disease--Comparison between Gallyas and Campbell-Switzer methods--. *Acta Neuropathol.* in press (10.1007/s00401-004-0947-7)
- 11) Uchihara T, Tsuchiya K, Nakamura A, Akiyama H. Silver staining profiles distinguish Pick bodies from neurofibrillary tangles of Alzheimer type --Comparison between Gallyas and Campbell-Switzer methods--. *Acta Neuropathol.* in press (10.1007/s00401-005-09488-6)
- 12) Uchihara T, Sanjo N, Nakamura A et al. Transient abundance of presenilin 1 fragments / nicastrin complex associated with synaptogenesis during development in rat cerebellum. *Neurobiol. Aging.* in press
- 13) Orimo S, Kanazawa T, Amino T, Uchihara T. et al. Preserved Cardiac Sympathetic Nerve Accounts for Normal Cardiac Uptake of MIBG in PARK2. *Mov. Disord.* in press
- 14) Orimo S, Amino T, Ito Y, Uchihara T. et al. Cardiac sympathetic denervation precedes neuronal loss in the sympathetic ganglia in Lewy body disease. *Acta Neuropathol* (in press)
- 15) 内原俊記. 原発性進行性失語. *Clin Neurosci* 2005;23(3):294-6.
- 16) 内原俊記. 封入体の神経病理-蛋白沈着の疾患特徴的様式と萎縮・変性との関係. *神経進歩* 2004;48:334-345.
- 17) Kaempf-Rotzoll DE, Igarashi K, Aoki J, Jishage K, Suzuki H, Tamai H,

Linderkamp O, Arai H. α -Tocopherol transfer protein is expressed specifically at the implantation site of pregnant mouse uterus. *Biol. Reprod.* 2002;67:599-604.

18) Horiguchi M, Arita M, Kaempf-Rotzoll DE, Tsujimoto M, Inoue K, Arai H. pH-Dependent fluctuation of α -tocopherol transfer protein (α -TTP) between hepatic cytosol and late endosomes. *Genes to Cells* 2003;8:789-800.

19) Kaempf-Rotzoll DE, Traber MG, Arai H. Vitamin E and transfer proteins. *Current Opinion in Lipidology* (review) 2003;14:249-254.

20) Kaempf-Rotzoll DE, Horiguchi M, Hashiguchi K, Aoki J, Tamai H, Linderkamp O, Arai H. Human placental trophoblast cells express α -tocopherol transfer protein. *Placenta* 2003;24:439-444.

21) Inoue T, Arai H. Lipid transfer proteins. *Seikagaku* 2004;76:553-561.

2. 学会発表

1) 横田隆徳. 家族性特発性ビタミンE欠乏症の発見と発症機序解明および治療法の確立. 第55回ビタミン学会学会賞受賞講演, 2003. 5. 29.

2) 横田隆徳. 家族性特発性ビタミンE欠乏症のモデルマウスの作製・治療法の確立. 第15回ビタミン学会シンポジウム 2004. 1. 23.

3) 渋谷克彦、内原俊記、中村綾子、山岡恵子、高橋竜哉、柳下三郎. 皮質基底核変性症(CBD)と進行性核上性麻痺(PSP)のtau2陽性構造物に対する界面活性剤の影響. 第45回日本神経病理学会総会学術研究会, 前橋市 2004. 5. 26. [Neuropathology, 24(2004)62]

4) 中村綾子、内原俊記、渋谷克彦、柳下三郎. タウ陽性構造物の嗜銀性につい

て免疫染色/銀染色の多重染色による検討. 第45回日本神経病理学会総会学術研究会, 前橋市 2004. 5. 26. [NEUROPATHOLOGY, 24(2004)63]

5) 内原俊記、渋谷克彦、中村綾子、柳下三郎. タウ陽性構造物の嗜銀性の違い—Gallyas法とCampbell-Switzer法の比較. 第45回日本神経病理学会総会学術研究会, 前橋市 2004. 5. 26. [NEUROPATHOLOGY, 24(2004)64]

6) 馬原孝彦、内原俊記、土谷邦秋、中村綾子、小山俊一、岩本俊彦、高橋 優、池田研二. Pick 嗜銀球における14-3-3蛋白およびisoformの局在. 第45回日本神経病理学会学術研究会, 前橋市 2004. 5. 26. [NEUROPATHOLOGY, 24(2004)66]

7) 内原俊記、中村綾子、三條伸夫、セントジョージヒスロップピーター. 生後ラット小脳におけるニカストリンとプレセニン1の発現. 第45回日本神経病理学会学術研究会, 前橋市 2004. 5. 26. [NEUROPATHOLOGY, 24(2004)68]

8) 児矢野繁、黒岩義之、柳下三郎、岩淵 繁、内原俊記. SCA2における病変の分布及び病理学的特徴(ataxin-2, polyglutamine および ubiquitin 蛋白の分布. 第45回日本神経病理学会学術研究会, 前橋市 2004. 5. 28. [NEUROPATHOLOGY, 24(2004)150]

9) 内原俊記、武田嘉恵、小林高義、春日 孟、石川欽也、姜 喜玲、水澤英洋、遠藤太嘉志、広川勝イク、黒岩俊彦. SCA1遺伝子に軽度の延長を認めた脊髄小脳変性症の一剖検例. 第45回日本神経病理学会学術研究会, 前橋市 2004. 5. 28. [NEUROPATHOLOGY, 24(2004)151]

10) 児矢野繁、黒岩義之、柳下三郎、岩淵 潔、内原俊記. SCA2における病変の分布および病理学的特徴(ataxin-2, polyglutamine および ubiquitin 蛋白

の分布), 第 45 回日本神経病理学会総会
学術研究会, 前橋市
2004. 5. 28. [NEUROPATHOLOGY,
24(2004)150]

11) 内原俊記、武田嘉恵、小林高義、春
日 孟、石川欽也、姜 喜玲、水澤英洋、
遠藤太嘉志、広川勝いく、黒岩俊彦. SCA1
遺伝子に軽度の延長を認めた脊髄小脳変
性症の一剖検例. 第 45 回日本神経病理
学会総会学術研究会, 前橋市 2004.
5. 28. [NEUROPATHOLOGY, 24(2004)151]

12) 古城徹、内原俊記、高橋敦、網野猛
志、織茂智之. パーキンソン病の交感神
経障害は心臓に特異的か? 第 4 回
Parkinson's disease Forum, 2004, 千葉
県浦安市 (東京ベイホテル東急) 2004.
8. 28.

13) 織茂智之、金澤俊郎、篠栗弘貴、網
野猛志、高橋敦、古城徹、内原俊記、若
林孝一、高橋均. パーキンソン病の心臓
交感神経変性は病早期から逆行性に進行
する. 第 4 回 Parkinson's disease Forum,
2004, 千葉県浦安市 (東京ベイホテル東
急) 2004. 8. 28.

14) 金澤俊郎、網野猛志、水澤英洋、織
茂智之、横地正之、古城徹、内原俊記、
若林孝一、高橋均、服部信隆. PARK2 で
は心臓交感神経は障害されず心臓の
MIBG 集積は保たれる. 第 4 回
Parkinson's disease forum, 2004, 千
葉県浦安市 (東京ベイホテル東急) 2004.
8. 28.

15) 内原俊記、池田研二、中村綾子、土
谷邦秋. Pick 小体の嗜銀性の特徴-
Alzheimer 病との違い-. 第 23 回日本痴
呆学会, 江戸川総合区民ホール 2004.
9. 30. [Dementia Japan, 18(2004)156]

16) 町田 明、小林 禅、三明裕知、綿
引定清、内原俊記. 随意呼吸障害、運動
性失語、軟口蓋挙上障害を伴い進行性の
発語失行を呈した一例. 第 171 回日本神
経学会関東地方会, 東京都千代田区平河
町 (全教連ビル) 2004. 11. 27.

17) 内原俊記、中村綾子、三條伸夫、
St. George-Hyslop, P., Fraser, P. 生後ラ
ット小脳におけるニカストリンの発現,
第 45 回日本神経学会総会, 東京都品川
区 (高輪プリンスホテル) 2004. 5. 11. [臨
床神経, 44(2004)1043]

18) 小林高義、秋本秀昭、小松清秀、遠
藤太嘉志、内原俊記. ペニシリン耐性肺
炎連鎖球菌による重症髄膜農園 (PRME) の
臨床的病理学的研究. 第 45 回日本神経
学会総会, 東京都品川区 (新高輪プリ
ンスホテル) 2004. 5. 11. [臨床神経,
44(2004)1061]

19) 児矢野繁、黒岩義之、岩淵潔、柳下
三郎、内原俊記. 遺伝性脊髄小脳変成症
における橋神経細胞の病理学的特徴. 第
45 回日本神経学会総会, 東京都品川区
(新高輪プリンスホテル) 2004. 5. 11.
[臨床神経, 44(2004)1067]

20) 織茂智之、網野猛志、古城徹、内原
俊記、高橋敦、若林孝一、高橋均. パー
キンソン病 (PD) の心臓交感神経病変は
ごく早期に始まる可能性がある. 第 45
回日本神経学会総会, 東京都品川区 (新
高輪プリンスホテル) 2004. 5. 14. [臨床
神経, 44(2004)1150]

21) 古城徹、内原俊記、高橋敦、網野猛
志、織茂智之. パーキンソン病 (PD) に
伴う交感神経障害の各種臓器における免
疫組織化学的検討. 第 45 回日本神経学
会総会, 東京都品川区 (新高輪プリ
ンスホテル) 2004. 5. 14. [臨床神経,
44(2004)1150]

22) 馬原孝彦、内原俊記、土谷邦秋、中
村綾子、小山俊一、岩本俊彦、高崎優.
Pick 嗜銀球における 14-3-3 蛋白の免疫
染色性. 第 45 回日本神経学会総会, 東
京都品川区 (新高輪プリンスホテル)
2004. 5. 14. [臨床神経, 44(2004)1174]

23) 金澤俊郎、網野猛志、織茂智之、横
地正之、内原俊記、若林孝一、高橋均、
服部信隆、水澤英洋. PARK2 では心臓交
感神経は障害されず心臓の MIBG 集積は

保たれる。第 45 回日本神経学会総会，東京都品川区（新高輪プリンスホテル）2004. 5. 14. [臨床神経，44(2004)1185]

24) 網野猛志、金澤俊郎、島津誠一郎、内原俊記、織茂智之、水澤英洋。正常 mouse における心臓交感神経の分布—パーキンソン病の自律神経障害の解明に向けて—。第 45 回日本神経学会総会，東京都品川区（新高輪プリンスホテル）2004. 5. 14. [臨床神経，44(2004)1185]

25) 斉藤尚子、五十嵐啓二、横田隆徳、近藤和雄、新井洋由。血中 γ トコフェロールも α -TTP により制御される。75 回日本生化学会，京都 2002. 10. 17.

26) Daisy E. Kaempf-Rotzoll、五十嵐啓二、堀口昌邦、新井洋由。ビタミン E 特異的輸送タンパク質 (α -TTP) はビタミン E 欠乏状態で傷害の起こりやすい臓器に発現している。75 回日本生化学会，京都 2002. 10. 17.

27) Atsufumi Hiramatsu, Daisy E. Kaempf-Rotzoll, Takao Inoue, Hiroyuki Arai. Purification of recombinant human α -tocopherol transfer protein (α -TTP) for crystallization 第 76 回日本生化学会大会，横浜 2003. 10. 18.

28) 平松達史、井上貴雄、高根沢康一、新井洋由。 α -tocopherol 非存在下での α -TTP の機能解析。第 15 回ビタミン E 研究会，東京 2004. 1. 23.

29) 斉藤尚子、野口範子、清瀬千佳子、植田忠彦、近藤一雄、五十嵐脩、新井洋由。ビタミン E 過剰摂取時においても CYP3A は誘導されない。第 15 回ビタミン E 研究会，東京 2004. 1. 23.

30) 寺社下浩一、立部貴典、柴田識人、伊藤恒夫、新井洋由、鈴木宏志：胎盤形成における α -tocopherol transfer protein と α -tocopherol の役割。第 15 回ビタミン E 研究会，東京 2004. 1. 23.

31) Hiroyuki Arai. α -TTP, a cytosolic protein that facilitates the excretion of vitamin E from hepatocytes. The 5th International Conference on Lipid Binding Proteins, Zao, 2004. 9.

32) Tatsufumi Hiramatsu, Takao Inoue, Hiroyuki Arai. Mechanisms of α -tocopherol transfer protein-dependent α -tocopherol secretion from hepatocytes. The 5th International Conference on Lipid Binding Proteins, Zao, 2004. 9.

33) Hiroyuki Arai. α -TTP, a cytosolic protein that facilitates the excretion of vitamin E from hepatocytes. The 77th Annual Meeting of the Japanese Biochemical Society, Yokohama, 2004. 10.

34) 平松達史、井上貴雄、新井洋由。AVED の原因となる変異 R59W を用いた α -TTP の機能解析
第 16 回ビタミン E 研究会，山口 2005. 1.

35) 竹中麻子、坂本真理子、野田香織、新井洋由、木村久美。インスリンによる α -TTP の合成制御。第 16 回ビタミン E 研究会，山口 2005. 1.

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

・アルツハイマー病の発症機序の動物モデルとしての α TTP ノックアウトマウス (特許申請手続き中)

実用新案登録

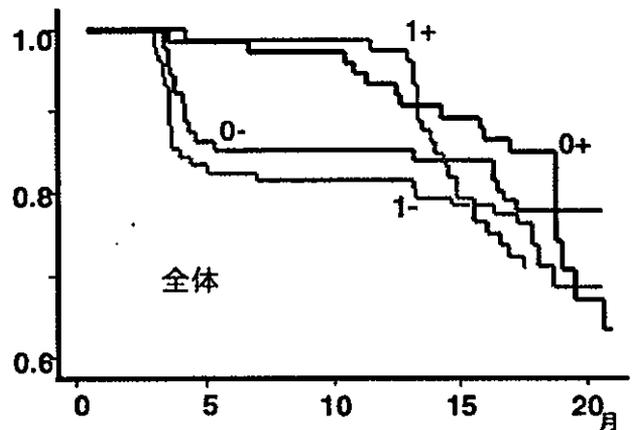
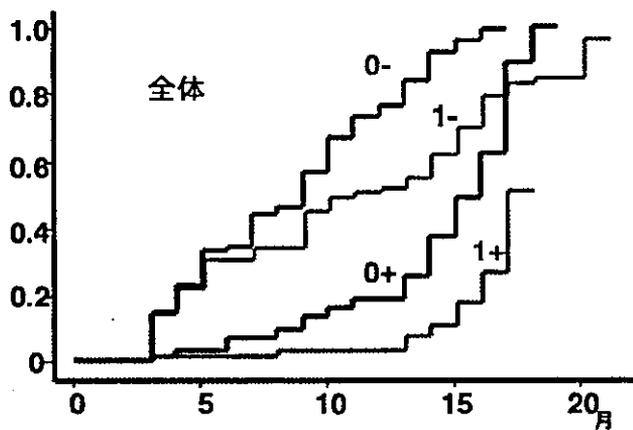
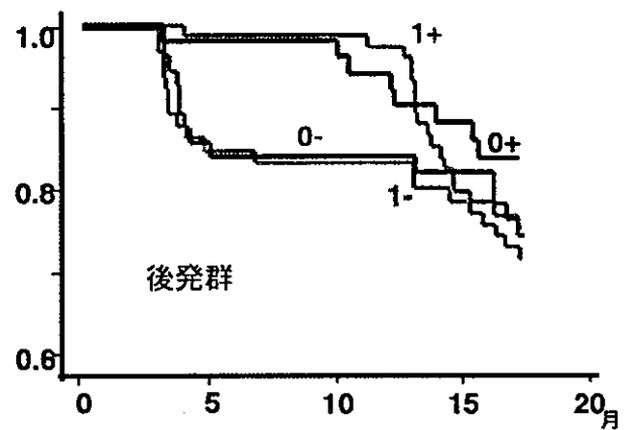
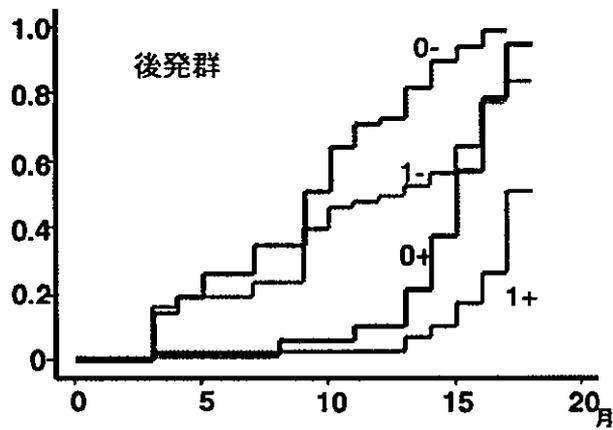
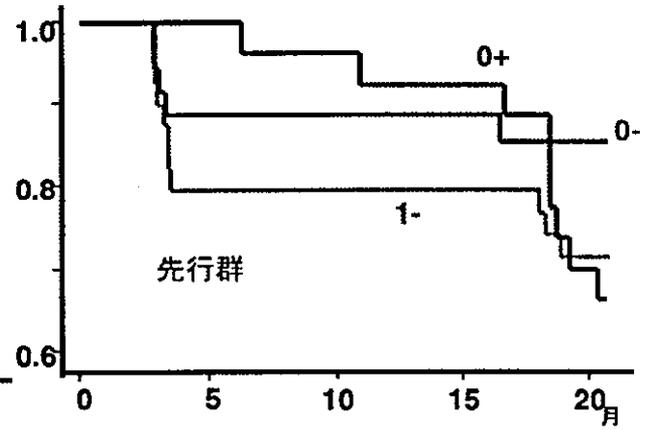
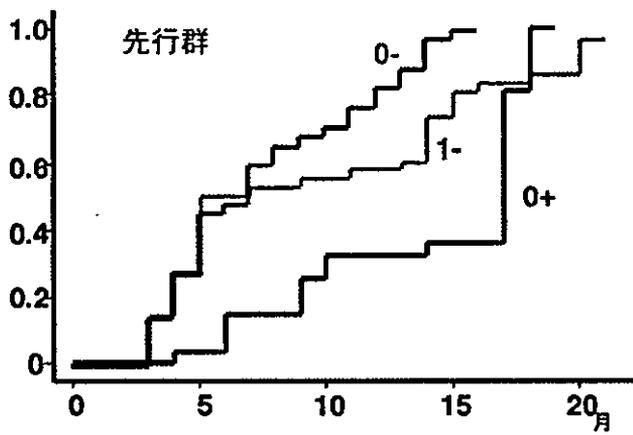
なし

3. その他

2003 年 6 月 横田隆徳. 日本ビタミン学会 学会賞受賞

症状発現率曲線(生命保険数理法)

生存率曲線(Kaplan-Meier法)



研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
横田隆徳	α tocopherol転移タンパク遺伝子異常によるFriedreich型運動失調症 (AVED) の発症機序。	神経内科	57	130-137	2002
横田隆徳、水澤英洋	α tocopherol転移タンパク遺伝子欠損マウスにおける遅発性運動失調症。	Clin Neurosci	21	177-179	2002
横田隆徳	内科疾患に伴う神経症状。ビタミン欠乏症。	内科	91	687-690	2003
横田隆徳	家族性ビタミンE欠乏症の発見と発症機序の解明および治療法の確立	ビタミン	78	87-92	2004
横田隆徳	ビタミン欠乏による神経症状	薬の知識	57	In press	2005

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト (平成16年度)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
D.E.Kaempf-Rotzoll, K.Igarashi, J.Aoki, K.Jishage, H.Suzuki, H.Tamai, O.Linderkamp and H.Arai	a-Tocopherol transfer protein is expressed specifically at the implantation site of pregnant mouse uterus.	Biol. Reprod.	67,	599-604	(2002)
D.E.Kaempf-Rotzoll, M.Horiguchi, K.Hashiguchi, J.Aoki, H.Tamai, O.Linderkamp and H.Arai	Human placental trophoblast cells express a-tocopherol transfer protein.	Placenta	24	439-444	2003
D.E.Kaempf-Rotzoll, M.G.Traber and H.Arai	Vitamin E and transfer proteins.	Current Opinion in Lipidology	14	249-254	2003
M. Horiguchi, M. Arita, D. E Kaempf-Rotzoll, M. Tsujimoto, K. Inoue and H. Arai	pH-Dependent fluctuation of a-tocopherol transfer protein (a-TTP) between hepatic cytosol and late endosomes	Genes to Cells	8,	789-800	2003
F. Bonin, S. D. Ryan, L. Migahed, F. Mo, J. Lallier, D. J. Franks, H. Arai, and S. A. L. Bennett	Anti-apoptotic actions of the platelet activating factor acetylhydrolase Ib catalytic subunit	J. Biol. Chem.,	279	52425-52436	2004
Tamura Y, Osuga J, Adachi H, Tozawa R, Takanezawa Y, Ohashi K, Yahagi N, Sekiya M, Okazaki H, Tomita S, Iizuka Y, Koizumi H, Inaba T, Yagyu H, Kamada N, Suzuki H, Shimano H, Kadowaki T, Tsujimoto M, Arai H, Yamada N, Ishibashi S	Scavenger receptor expressed by endothelial cells I (SREC-I) mediates the uptake of acetylated low density lipoproteins by macrophages stimulated with lipopolysaccharide.	J. Biol. Chem.	279	30938-30944	2004
M. Shibata, J. Ishii, H. Koizumi, N. Shibata, N. Dohmae, K. Takio, H. Adachi, M. Tsujimoto, and H. Arai	SREC-I interacts with advillin, a member of the gelsolin/villin family, and induces neurite-like outgrowth in mouse fibroblastic L cells	J. Biol. Chem.	279	40084-40090	2004

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト (参考)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
内原俊記	Anigiotensin-convertign enzyme (ACE)	平井俊策	痴呆症学(1) 日本臨床増刊	日本臨床社	東京	2003	49-53

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Koyano,S.,Iwabuchi,K.,Yagishita,S.,Kuroiwa,Y., Uchihara,T	Paradoxical absence of nuclear inclusion in cerebellar Purkinje cells of hereditary ataxias linked to CAG expansion	J Neurol Neurosurg Psychiatry	73	450-452	2002
Tsuchiya,K.,Ikeda,K.,Mimura,M.,Takahashi,M., Miyazaki,H., Anno,M.,Shiotsu,H., Akabane,H.,Niizato,K.,Uchihara,T.,Tomimaga,I.,Nakano,I.	Constant involvement of the Betz cells and pyramidal tract in amyotrophic lateral sclerosis with dementia: a clinicopathological study of eight autopsy cases	Acta Neuropathol	104	249-259	2002
Sakamoto,M.,Uchihara,T.,Hayashi,M.Nakamura,A.,Kikuchi,E., Mizutani,T.,Mizusawa,H., Hirai,S	Heterogeneity of nigral and cortical Lewy bodies differentiated by amplified triple-labelingfor alpha-synuclein, ubiquitin, and thiazin red	Exp Neurol	177	88-94	2002
Kumada,S.,Uchihara,T.,Hayashi,M.,Nakamura,A.,Kikuchi,E., Mizuatani,T., Oda,M	Promyelocytic leukemia protein is redistributed during the formation of intranuclear inclusions independentof polyglutamine expansion	J Neuropathol Exp Neurol	61	984-991	2002
Uchihara,T.,Iwabuchi,K., Funata,N., Yagishita,S.	Attenuated nuclear shrinkage in neurons with nuclear aggregates-A morphometric study on pontine neurons of Machado-Joseph disease brains.	Exp Neurol	178	124-128	2002
Uchihara T, Tanaka J, Funata N, Arai K, Hattori T	Influences of intranuclear inclusion on nulear size-a morphometric study on pontine neurons of neuronal intranuclear inclusion disease cases	Acta Neuropathol	105	103-108	2003
Owada,K.,Uchihara,T.,Ishida,K.,Mizusawa,H.,Watabiki,S.,Tsuchiya,K	Motor weakness and cerebellar ataxia in Sjogren syndrome-identification of antineuronal antibody: a case report	J Neurol Sci	197	79-84	2002

Uchihara T, Nakamura A, Arai T, Ikeda K, Tsuchiya K	Microglial tau undergoes phosphorylation-independent modification after ischemia	Glia	45	180-7	2004
Uchihara T, Nakamura A, Nakayama H, Arima K, Ishizuka N, Mori H, Mizushima S	Triple immunofluorolabeling with two rabbit polyclonal antibodies and a mouse monoclonal antibody allowing three-dimensional analysis of cotton wool plaques in Alzheimer disease.	J. Histochem. Cytochem	51	1201-6	2003
Aoki K, Uchihara T, Sanjo N, Nakamura A, Ikeda K, Tsuchiya K, Wakayama Y	Increased expression of neuronal apolipoprotein E in human brain with cerebral infarction.	Stroke	34	875-880	2003
Uchihara T, Ikeda K, Tsuchiya K	Pick body disease and Pick syndrome.	Neuropathology	23	318-326	2003
Takahashi J, Fujigasaki H, Iwabuchi K, Bruni AC, Uchihara T, El Hachimi KH, Stevanin G, Dürr A, Lebre A-S, Trotter Y, de The H, Tanaka J, Hauw J-J, Duyckaerts C, Brice A.	PML nuclear bodies and neuronal intranuclear inclusion in polyglutamine diseases.	Neurobiol Dis	13	230-237	2003
Aoki K, Uchihara T, Nakamura A, Komori T, Arai N, Mizutani T	Expression of apolipoprotein E in ballooned neurons - comparative immunohistochemical study on neurodegenerative disorders and infarction-.	Acta Neuropathol	106	436-40	2003
Aoki K, Uchihara T, Tsuchiya K, Nakamura A, Ikeda K, Wakayama Y	Enhanced expression of aquaporin 4 in human brain with infarction	Acta Neuropathol	106	121-4	2003
Nagaoka U, Uchihara T, Iwabuchi K, Konno H, Tobita M, Funata N, Yagishita S, Kato T	Attenuated nuclear shrinkage in neurones with nuclear inclusions of SCA1 brains.	J Neurol Neurosurg Psychiatry	74	597-601	2003
Shibuya K, Uchihara T, Nakamura A, Ishiyama M, Yamaoka K, Yagishita S, Iwabuchi K, Kosaka K	Reversible conformational change of tau-2 epitope exposed to detergent in glial cytoplasmic inclusions in multiple system atrophy.	Acta Neuropathol	105	508-514	2003

内原俊記、岩淵潔	CAGリピート病（ポリグルタミン病）の最近の話題。共通の病態と手がかり	最新精神医学	8	39-47	2003
Uchihara T, Duyckaerts C, Iwabuchi K, Iwata M, et al.	Was Pierre Marie s ataxia Machado-Joseph disease?	Arch Neurol	61	784-790	2004
Nakamura A, Uchihara T	Dual enhancement of tripleimmunofluorescence using two antibodies from the same species	J Neurosci Methods	135	67-70	2004
Umahara T, Uchihara T, Tsuchiya K, et al	14-3-3 proteins and zeta isoform containing NFTs in patients with Alzheimer s disease	Acta Neuropathol	108	279-286	2004
Umahara T, Uchihara T, Tsuchiya K et al.	Immunolocalization of 14-3-3 isoforms in brains with Pick body disease	Neurosci Lett	371	215-219	2004
Amino T, Orimo S, Itoh Y, Takahashi A, Uchihara T, Mizusawa H.	Profound cardiac sympathetic denervation occurs in Parkinson s disease	Brain Pathol	15	29-34	2005
Uchihara T, Duyckaerts C, Seilehean D et al.	Exclusive induction of tau2 epitope in microglia/macrophages in inflammatory lesions	Acta Neuropathol	109	159-164	2005
Uchihara T, Shibuya K, Nakamura A, Yagishita S.	Silver stains distinguish tau-positive structures in CBD/PSP and in AD.	Acta Neuropathol	10.1007/s00401-004-0947-7		
Uchihara T, Tsuchiya K, Nakamura A, Akiyama H.	Silver staining profiles distinguish Pick bodies from NFTs of Alzheimer type	Acta Neuropathol	10.1007/s00401-005-09488-6		
内原俊記	原発性進行性失語	Clin Neurosci	23	294-6	2005
内原俊記	封入体の神経病理	神経進歩	48	334-345	2004



常染色体劣性遺伝性脊髄小脳変性症

α-Tocopherol転移タンパク遺伝子 変異によるFriedreich型運動 失調症 (AVED) の発症機序*

● 横田隆徳**

Key Words : vitamin E, ataxia, Friedreich ataxia, α-tocopherol transfer protein (αTTP)

はじめに

慢性の脂肪吸収障害が運動失調や視覚障害などの進行性の症状をきたすことは知られていたが、1980年代に常染色体劣性遺伝形式で脂肪吸収障害を伴わない特発性のビタミンE単独欠乏性のFriedreich失調症型の脊髄小脳変性症の報告がされた¹⁾²⁾。1995年にα-tocopherol転移タンパク(αTTP)遺伝子がクローニングされ³⁾、ビタミンE欠乏性脊髄小脳変性症の原因遺伝子として同定された⁴⁾⁵⁾。現在ではfamilial isolated vitamin E deficiency (FIVE), またはataxia with isolated vitamin E deficiency (AVED)の名称で疾病概念として確立した。また、αTTPが網膜色素変性症の原因遺伝子でもあることが後に明らかとなった⁶⁾。疾患概念や遺伝子異常の詳細については別の総説を参照されたい⁷⁾⁸⁾。

この疾患は変性疾患のなかで数少ない根本治療の可能性がある点で注目されていたが、その後αTTP遺伝子が中枢神経や網膜でも発現していることが明らかとなったため⁹⁾¹⁰⁾、この疾患が本当にビタミンE投与により治療可能であるかは議論があった。近年、われわれはαTTPノックアウトマウスを作製して、神経変性の発症機序とビタミンE欠乏との因果関係が明らかとし、こ

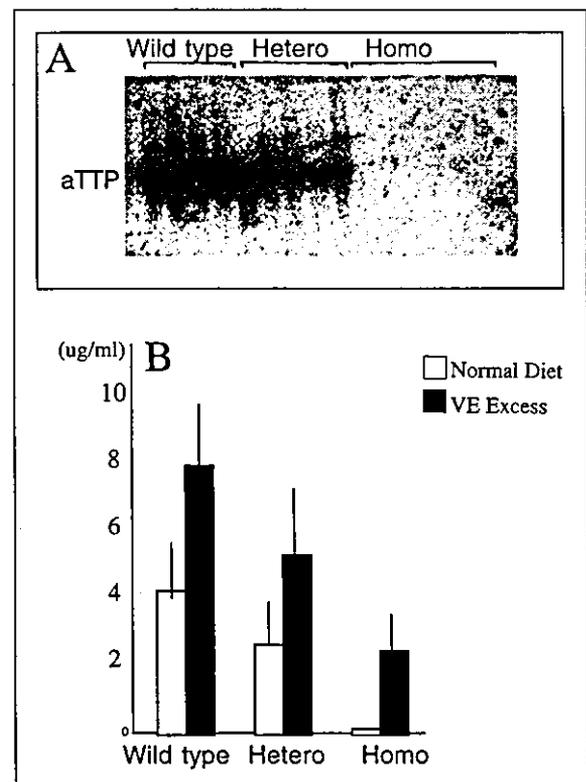


図1 α-TTPノックアウトマウス作製

- A : 肝臓のNorthern blotting. ホモ接合体ではαTTP mRNAは欠損し、ヘテロ接合体では発現量が野生型に比較して半減している。
- B : 血清のα-tocopherol濃度。ホモ接合体では検出感度以下となり、ヘテロ接合体では発現量が野生型に比較して半減している。経口のα-tocopherolの大量投与によって、ホモ接合体でもα-tocopherol濃度はほぼ正常レベルまで上昇する。

* Pathophysiology of ataxia due to mutation of α-tocopherol transfer protein gene.

** Takanori YOKOTA, M.D.: 東京医科歯科大学大学院脳神経機能病態(神経内科) [〒113-8519 東京都文京区湯島1-5-45]; Department of Neurology, Faculty of Medicine, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, JAPAN.

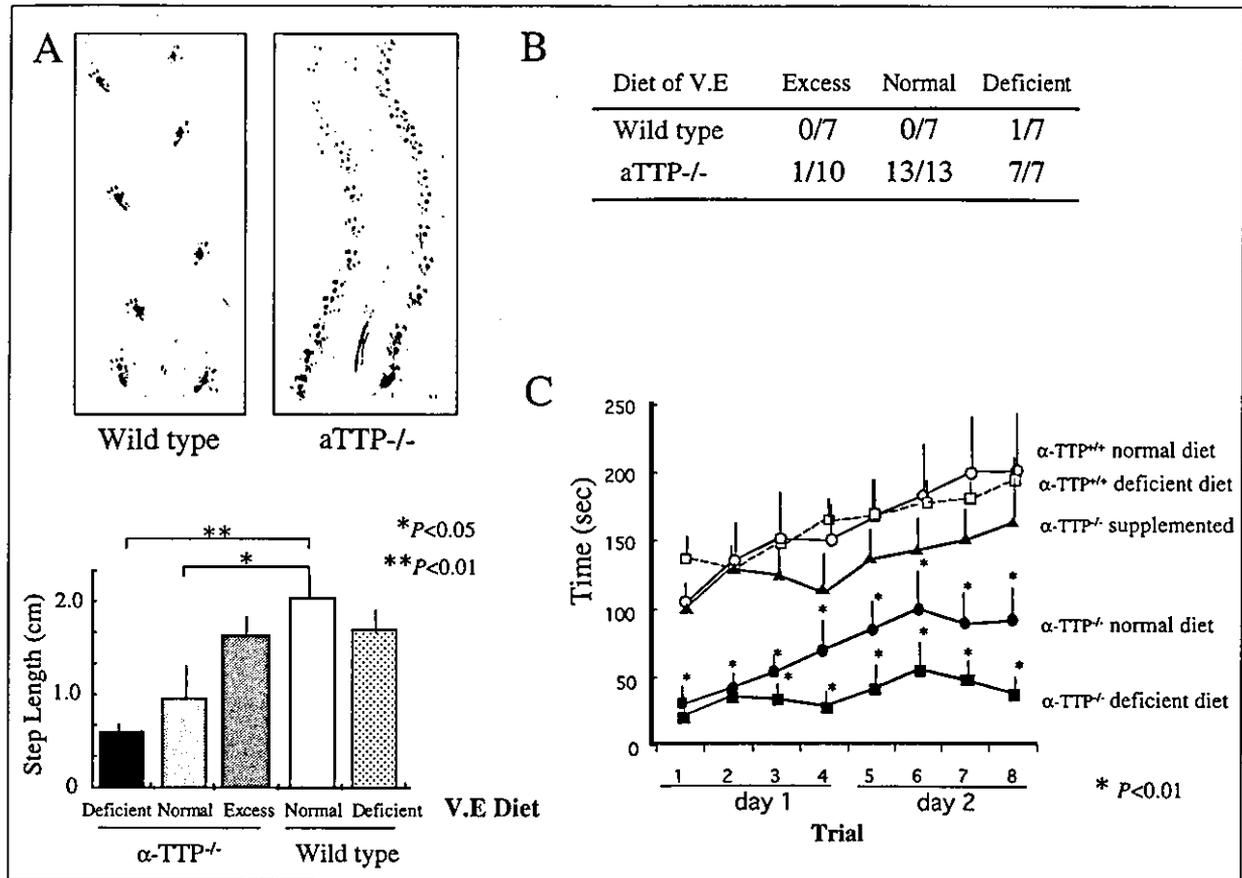


図2 α -TTPノックアウトマウス神経症状

A: フットプリント, 歩幅. B: 振戦を示したマウスの頻度. C: ロタロッド加速度式回転車テスト: 徐々に速く回転する車に乗ってられる時間の測定. 2日間連続8回施行した.

の疾患がビタミンE投与で治療可能であることを証明した¹¹⁾ので紹介する.

α TTPノックアウトマウスの神経症状

ノックアウトマウスの作製はマウス α TTPゲノムDNAにexon 1をネオマイシン耐性遺伝子に置換することにより α TTP遺伝子をノックアウトした. ノックアウトマウスでは肝臓の α TTP mRNAやタンパクは欠損し(図1-A), 血清の α -tocopherol濃度は著明に低下した(図1-B). ヘテロ接合体マウスでは肝臓の α TTP mRNA, 血清の α -tocopherol濃度ともに半減した. 作製されたノックアウトは α -tocopherolの欠乏した餌を与えた群, 正常の餌(36mg/kg)を与えた群, 過剰の餌(600mg/kg)を与えた群の3群を飼育した. 対照として野生型正常食群に加え, 野生型 α -tocopherolの欠乏食群も加えて検討した. 過剰の餌によって α -TTPノックアウトマウスの血清の α -tocopherol濃度は正常レベル程度まで回復した(図1-B). α TTPノッ

クアウトマウスは生後1年までは明らかな神経症状は示さなかったが, 1年3カ月頃から運動失調, 筋力低下, 振戦を示すようになった. 進行すると歩行時に両下肢をひきずるようになった. 振戦は安静時には明らかではないが, 歩行時やストレスが加わるとより明らかとなった. 歩行障害は小股歩行になることがfootprint解析で明らかになり(図2-A), 加速度式回転車テストにより野生型に比較してノックアウトマウスの運動障害は明らかであった(図2-C). これらの振戦や運動障害は α -tocopherol欠乏食群ではより障害が顕著で, α -tocopherolの過剰投与により著明に改善し, 過剰食の群では野生型と有意差はほとんどなかった(図2-A~C).

さらに電気生理学的に検討したところ, 体性感覚誘発電位で前肢, 後肢いずれの電気刺激でも末梢神経伝導は正常であるが, 大脳誘発電位でその振幅がノックアウトマウスで著明に低下し, α -tocopherolの過剰投与により著明に改善し

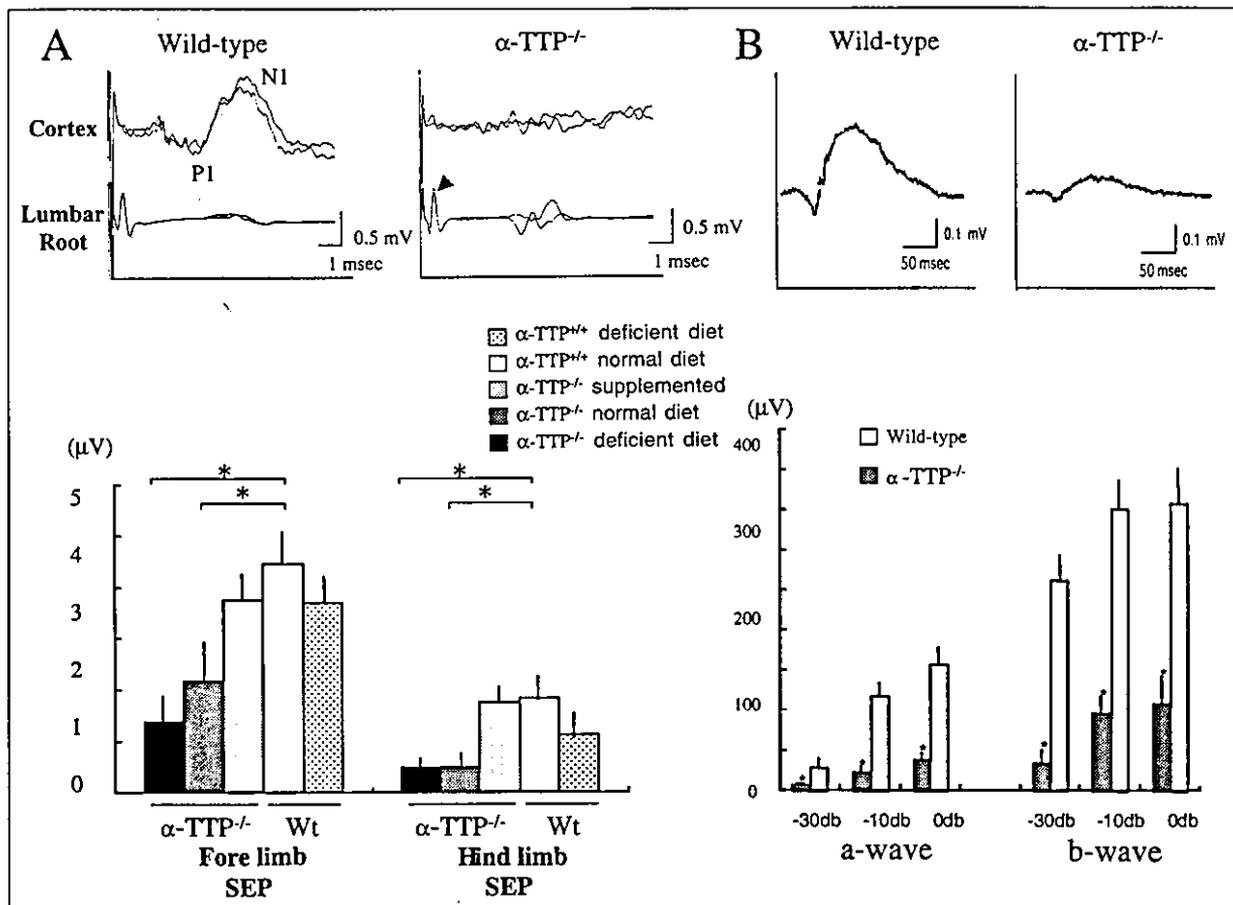


図3 α-TTPノックアウトマウス電気生理学的解析

A: 体性感覚誘発電位: 後肢刺激の代表的な波形(上段), 末梢神経活動電位(Lumber root)は正常であるが, 大脳誘発電位はその振幅がノックアウトマウスで消失している. 大脳誘発電位の振幅の定量(下段).
 B: 網膜電図: 代表的な波形(上段), a波, b波の振幅の定量(下段). ノックアウトマウスではa波, b波ともにその振幅が低下している.

た(図3-A). 網膜電図でもノックアウトマウスではMuller細胞や内神経層の機能を反映すると考えられるa波, 光受容体細胞の機能を反映すると考えられるb波ともに低下していた(図3-B).

αTTPノックアウトマウスの神経病理所見

中枢神経系の病変の主座は脊髄後索で, 顕著な神経線維の脱落とスフェロイドを, 後索核で線維性グリオーシス認めた(図4-A). この変化はBurdach束よりGoll束に高度で, 腰髄より頸髄, 頸髄より延髄後索核でより顕著である一方, 後根神経節では変化はわずかで, dying backタイプの後索変性であった. 脊髄前角細胞は軽度の脱落と線維性グリオーシスを認めた(図4-B). 骨格筋は小角化線維が散在し, 一部に空泡を認め

た(図4-B). 網膜は外顆粒層, 視細胞内節, 外節の厚さの減少を認めた(図4-C). また, 自己蛍光を発する大量のリポフスチンを後根神経節, 脊髄前角細胞, 網膜色素上皮に認めた. これらの病理所見例は744delA¹²⁾とH101Q¹³⁾の剖検所見にはほぼ合致していたが, 剖検例で認められた軽度の小脳Purkinje細胞の脱落がαTTPノックアウトマウスでは明らかではなかった.

神経変性の所見はα-tocopherol欠乏食群ではより障害が顕著で, α-tocopherolの過剰投与により著明に改善した.

ビタミンE欠乏の機序とα-tocopherol転移タンパク(αTTP)

ビタミンEは脂質の抗酸化作用をもつ代表的なradical scavengerの一つとして知られている. 自然界のビタミンEは主にα, β, γ, δ-tocopherol

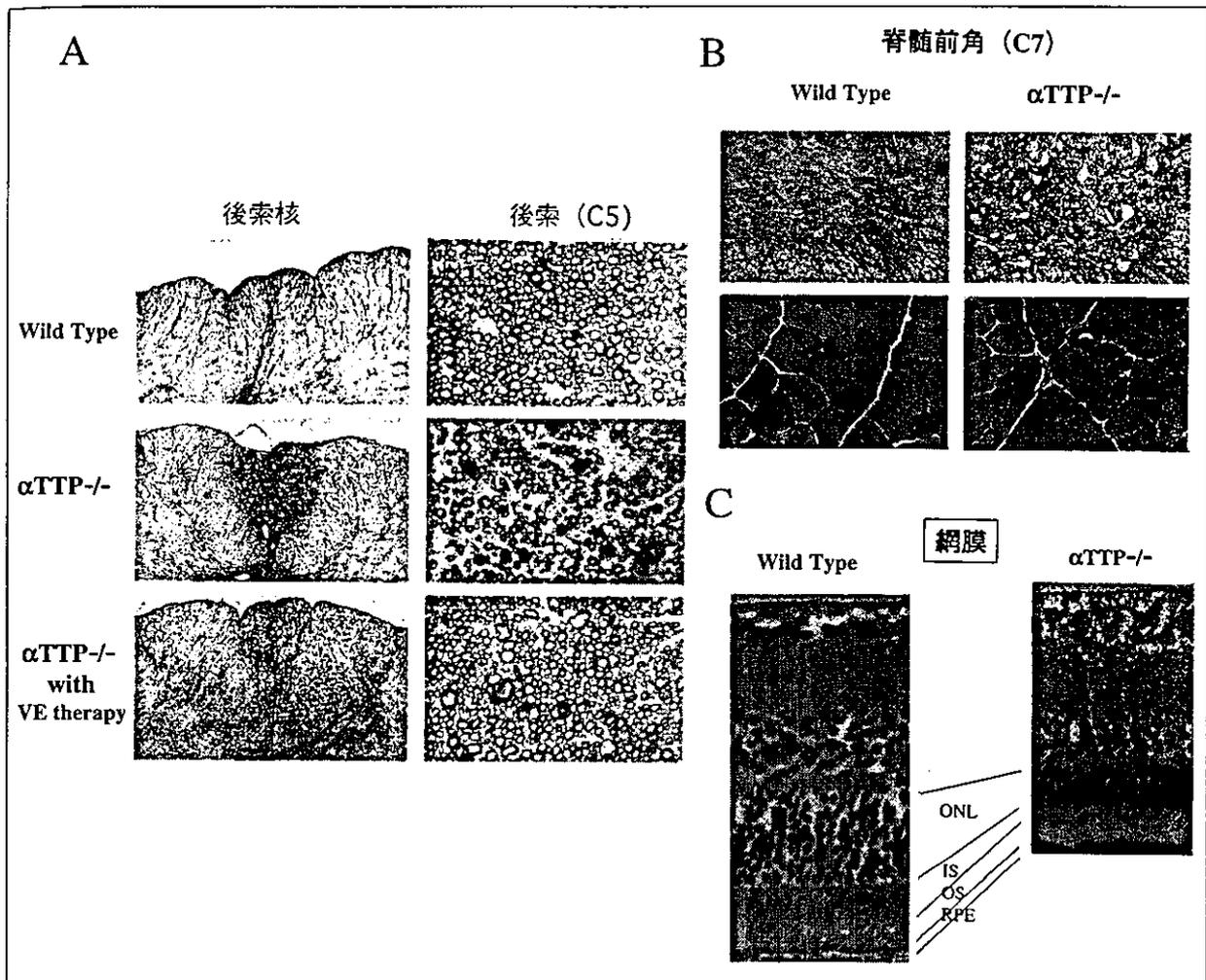


図4 α TTPノックアウトマウスの神経病理所見

- A: 延髄後索核(左, GFAP免疫組織化学)と頸髄(C7)(右, エボン包埋トルイジンブルー染色). ノックアウトマウスの後索で顕著な神経線維の脱落とスフェロイドを, 後索核で線維性グリオシス認めるが, ビタミンE投与で回復している.
- B: 頸髄(C7)前角GFAP免疫組織化学(上段), 腓腹筋HE染色(下段). 脊髄前角細胞に線維性グリオシスを, 骨格筋に小角化線維と空泡(矢印)を認める.
- C: 網膜, HE染色. 外顆粒層(ONL), 視細胞内節(IS), 外節(OS)の厚さの減少を認める.

(Toc)の同族体からなり, 食物には α -tocopherolよりも γ -tocopherolのほうが多く含まれているが, 生理的に活性をもつのは α -Tocで, 実際, ほ乳類の血漿中には α -Toc濃度は γ -tocopherolの5~20倍も高い. 一方, α TTPは肝細胞に豊富に存在する細胞質タンパクとして同定され, α TTPとの親和性は α -Tocが γ Tocよりはるかに高い. したがって, α TTPは空腸で吸収されカイロミクロンに取り込まれた α -Tocを肝臓で選択的に摂取し, 肝臓で合成されたVLDLに転送することでリサイクルして血中濃度を維持する働きを果たしていると考えられている.

AVED患者の血中ビタミンE欠乏の機序は肝

臓の α TTPの機能異常でよく説明できる. 正常人に α -tocopherol経口摂取させると小腸で吸収され血中の α -tocopherol濃度は上昇し6~8時間後にピークとなるが, AVED患者ではこの α -Tocの吸収は正常かむしろ亢進している. しかし, α -tocopherol濃度はAVED患者では正常に比して急速に低下する. すなわち, AVED患者では肝臓で α TTPが十分に働かないため, 血中に α -tocopherolを保持しておくことができず, α -tocopherol濃度が低下するという機序が考えられる. また最近, α TTP過剰発現マウスが作製され, その発現タンパクの上昇と同程度に血中 α -Tocも上昇しており, 肝臓の α -TTPが血中の α -tocopherolのレベルを決