

Z00400316 B

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

アルツハイマー病発症の分子機構におけるコレステロール
の役割の検討

平成14年度～16年度 総合研究報告書

主任研究者 道川 誠

平成17 (2005) 年 3 月

目 次

I. 総合研究報告	
アルツハイマー病発症の分子機構におけるコレステロールの役割の検討	1
道川 誠	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	15
IV. 研究成果の刊行物・別刷	19

厚生科学研究補助金（長寿科学総合研究事業）
総合研究報告書

アルツハイマー病発症の分子機構におけるコレステロールの役割の検討

主任研究者 道川 誠 国立長寿医療研究センター 研究所
アルツハイマー病研究部 室長

研究要旨

- (1) ヒト apoE3 および apoE4 の遺伝子導入マウスから培養したアストロサイトをを用いて apoE による HDL 新生を解析した。アストロサイトから分泌される apoE 量には差がなかったが、HDL 新生量 (粒子数)は apoE3 型では apoE4 型のそれに比べ約 2 倍であった。そのメカニズムとして、apoE4 は N 端側ドメインと C 端側ドメイン間の相互作用によって apoE 構造がコンパクトになっているためとわかった。脳内 HDL はコレステロール供給能を持つことから、apoE3 は apoE4 に比べ神経細胞のコレステロール代謝恒常性維持能力に優れているためにコレステロール代謝変動によるアルツハイマー病発症を遅くしていると考えられた。また、コレステロール代謝障害を持ちアルツハイマー病と類似した神経原線維変化を伴う神経変性疾患である Niemann-Pick C1(NPC1) 病マウス脳を解析し、ミトコンドリア膜におけるコレステロール代謝変動がミトコンドリア機能障害 (ATP 産生量の低下) を誘導し、その結果神経細胞変性を起こしていることがわかった。アルツハイマー病においてもコレステロール代謝変動とミトコンドリア機能障害が指摘されていることから、これら両疾患では、コレステロール代謝変動に起因する神経変性過程にミトコンドリア機能障害が関与している可能性があり、今後の研究・治療法開発のための新たな道筋が示された。(道川)
- (2) 外来性 apolipoprotein によるアストロサイトの cholesterol efflux および HDL 新生機構の研究を行なった。apoA-I で刺激されたアストロサイトでは、caveolin-1 が細胞膜から、コレステロールやリン脂質が ER/Golgi から細胞質へ移行し、これらが cytosolic lipid-protein particle (CLPP) を形成し、細胞内コレステロール輸送担体として機能した。CLPP による細胞内コレステロール輸送は phospholipase C (PL-C)の活性化に依存した。また、apoA-I 刺激は、ラフト蛋白カベオリン、CLPP、および CLPP-related lipid と微小管との複合体形成を促進した。PL-C や PK-C 阻害剤はいずれもこれらの結合を阻害した。微小管と結合した CLPP-associated PK-C は tubulin を特異的にリン酸化し、CLPP と微小管の解離会合に重要な役割を持つと考えられた。以上からコレステロール代謝変動に起因するラフトの構造・機能変化が細胞骨格蛋白の代謝や細胞内脂質粒子輸送に影響し、神経系細胞の機能を調節していると考えられた。また、apoAI の結果は、apoE によって形成される HDL 新生メカニズムにも応用が可能であると考えられ、apoE のアイソフォーム依存的なコレステロール供給に介入するポイントが示された点で意義がある。(伊藤)
- (3) 本研究は、神経細胞に対する apoE 受容体の意義を明らかにするために、複数のリポタンパク受容体遺伝子をジーンターゲット法により破壊し、それぞれのノックアウト (KO) マウスを作製し、これらの KO マウスを組織学及び生化学レベルで比較解析した。海馬ニューロンは、主に LDL 受容体を介してリポ蛋白を取り込むことが明らかになった。本研究によって達成できた各種リポ蛋白受容体が欠損した遺伝子改変マウス系の確立は、この分野では世界をリードした成果であり、この利点を生かしてアポリポ蛋白受容体機能調節・apoE 分子種別の機能調節による中枢神経系のコレステロール代謝調節法の開発など、今後の研究にとって強力な武器となることが期待される。(藤野)

道川 誠：国立長寿医療センター研究所
アルツハイマー病研究部 室長
伊藤仁一：名古屋市立大学大学院医学研究科
助教授
藤野貴広：愛媛大学総合科学研究支援センター
助教授

研究目的

わが国の人口の高齢化は他国に類をみない急速なスピードで進んでおり、高齢者の増加に伴う様々な課題に直面しつつある。加齢に伴う変化の一つとして中枢神経を含む幾つかの組織におけるコレステロール産生能の低下が報告されている。また脂質代謝に深く関与する apolipoprotein E (apoE)4 がアルツハイマー病をはじめとする age-related disease の危険因子であることが明らかにされている。従って、こうした神経変性疾患の発症機構の解明及びその治療法の開発には神経系におけるコレステロールを含む脂質代謝の全体像を明らかにしておくことが必要である。本研究班は、主に apoE によって制御される脳内コレステロール輸送機構を神経系細胞において明らかにすること、アポリポ蛋白によるコレステロール搬出作用の細胞内機構を明らかにすること、および apoE 受容体依存的なコレステロール代謝変動とアルツハイマー病病理との関連を明らかにすることを目的に、3 年間に及ぶ研究をおこなった。

B. 研究方法

(道川 誠)

(1) アストロサイト培養は、生後 1 日目の apoE3-, E4 ノックインマウス脳から準備し、DMEM/F12 に 10% FBS を含む培地で培養した。これらの細胞を 2 週間後にまき換え、さらに 1-2 週間後に 12well dish にまき直したものをを用いた。培地中へ放出された脂質（コレステロールおよびリン脂質）はキットにより定量した。アイソトープラベル：アストロサイト細胞は

[14C]acetate で 48 時間ラベルし、培地中へ放出される脂質は、クロロフォルム：メタノール法によりを抽出し、TLC 展開によりコレステロールおよびリン脂質を定量した。また密度勾配法により 12 のフラクションを得、それぞれに含まれるコレステロールおよびリン脂質を定量し、apoE 量をウエスタンブロットにより検出定量した。

(2) ヒト apoE3, apoE4, 変異 apoE4, 22 kDa apoE3 断片, 22 kDa apoE4 断片のリコンビナント蛋白は、米国ペンシルバニア大学のフィリップ教授より供与を受けた。ラット神経細胞を準備し、DMEM/F12 に N2 サプリメントを含む無血清培地で培養した。神経細胞は、アイソトープラベルし、上記 apoE 蛋白を神経細胞に添加した。神経細胞培養の培地に放出された脂質（コレステロールおよびリン脂質）は、クロロフォルム：メタノール法によりを抽出し、TLC 展開によりコレステロールおよびリン脂質を定量した。

(3) コレステロール代謝障害を持ちアルツハイマー病と類似した神経原線維変化を伴う神経変性疾患である Niemann-Pick C1(NPC1) 病マウス脳と野生型マウス脳およびそれらから培養した神経細胞およびアストロサイトを生化学的に解析した。これら検体について電子顕微鏡解析、ミトコンドリア機能評価では膜電位依存的な発色をする dye を用いた。また ATP の定量、ATP 合成酵素活性を定量した。さらにミトコンドリア膜における脂質解析およびミトコンドリアにおける脂質代謝のバルスチエイヌ解析を行った。

(伊藤仁一)

(1) ラットおよびマウスアストロサイトの培養：胎生期 17 日目のラット・マウス胎児の脳を摘出し、血管、髄膜除去、脳細片後、1% trypsin 溶液で処理して、10% FCS 含有 F-10 培

地で1週間培養し、primary cultureとした。この細胞を再度 1% trypsin 溶液で処理し、ピペッティング後 6-well multitray あるいは petri dish (直径 10 cm)にはん種し、1週間 secondary culture し、実験に供した。

(2) 細胞質の調製: 培養アストロサイトを 0.02M Tris-HCl buffer, pH 7.5, containing protease inhibitor (0.02M Tris) により回収し、5分間毎に 20回強く攪拌し、これを3回くり返した。90,000 rpm で 30分間遠心し、得られた上清を細胞質画分とした。

(3) 細胞内リポタンパクの分析ラットアストロサイトに 40 uCi/ml の ³H-acetate を2時間取り込ませてコレステロールを代謝的にラジオアイソトープ標識した。細胞を洗浄して、5 ug/ml の apoAI を一定時間作用させ、低張液 (0.02M Tris) で細胞を処理し、細胞質を得た。細胞質を 1.175 g/ml の sucrose 溶液に重層して、49,000 rpm, 48 h 遠心した。これを 12 フラクションに分け、それぞれの画分より脂質を抽出し、TLC により分析した。微小管様フィラメントの再構成細胞質画分に 100 uM GTP と 2 mM MgCl₂ を加えて、室温で 20分間インキュベートした。これを、15,000 rpm, 30分間 遠心沈澱を larger reconstituted microtubule-like filament とし、遠心上清をさらに 80,000 rpm 30分間の遠心し、その沈澱画分を shorter reconstituted filament とした。

(藤野貴広)

マウス ApoE 受容体 2 (ApoER2) 及び LDL 受容体関連タンパク 5 (LRP5) 遺伝子をジーンターゲット法により破壊し、ApoER2 及び LRP5 欠損マウスを作製した。また、ApoE/LRP5 遺伝子、VLDLR/ApoER2 遺伝子を欠損したダブルノックアウト (DKO) マウス、更に ApoE/VLDLR/ApoER2 遺伝子を欠損するトリプルノックアウト (TKO) マウスを作製し

た。これらの KO マウスを組織学及び生化学レベルで比較解析することにより、脳神経系におけるリポタンパク受容体と ApoE の役割を解析した。また、各受容体 KO マウスより初代培養・海馬ニューロンを調製し、ウサギ抹消血より調製した β -VLDL の取り込みを蛍光法により観察した。

ヒト ApoE2、E3、E4 cDNA をアデノウィルスベクターに組み込み、マウス・初代培養アストロサイト及びヒト・グリオーマ細胞に感染させる事により、ヒト ApoE の大量発現系を確立した。この培養上清から一連のクロマトグラフィー操作により、各 ApoE を均一にまで精製した。これら精製標品を用い、初代培養・海馬ニューロンに対する毒性及び取り込みなどを解析した。

一方、HDL 結合能を指標にした発現スクリーニング法により新規 HDL 結合タンパク質をコードする cDNA を単離した。

(倫理面への配慮)

当研究班におけるすべての研究は、それぞれが所属する大学・研究所の動物実験倫理委員会の承認のもとに、それぞれの動物実験委員会の規則に則って行われた。

C. 研究結果

(道川 誠)

(1) アストロサイトから培地中へ出てくる脂質量は apoE3 型が apoE4 型のアストロサイトにくらべ約 2 倍量であった。しかし、apoE そのものの量は変化がなかった。このときの脂質はすべて HDL として存在した。apoE あたりのコレステロールのモル比は apoE3 型が 250、apoE4 型が 119 であった。HDL のサイズには apoE アイソフォーム別での違いは無かった。apoE3 はシステインを含むため、これによる 2 量体形成がみられた。

(2) apoE2, apoE3 および apoE4 びよる神経細胞からのコレステロール搬出(引き抜き)作用を解析したところ、その作用の強さは、apoE2>apoE3>apoE4 であり、我々がすでに報告したとおりであった(Michikawa M et al, J Neurochem, 2000)。この実験系で変異 apoE4 の作用を検討した。その結果、変異 apoE4 による神経細胞からのコレステロール搬出量は、apoE3 からのコレステロール搬出量と同レベルに回復していた。このことから、apoE3 と apoE4 との作用の違いは、2 量体形成ではなく domain interaction の有無により説明可能と考えられた。

(3) さらに intact apoE のように C 端側ドメインを持たない apoE の 22kDa 断片の作用についても検討した。その結果 22kDa 断片による神経細胞からのコレステロール搬出作用は apoE3>apoE4 であった。また、apoE によるコレステロール搬出作用においては intact apoE3 と 22kDa apoE3 間で有意差は無かった。22kDa 断片は C 端側ドメインを持たないから、domain interaction は起こらない。従って、apoE の 22kDa 断片の作用については、何がこのアイソフォーム特異性を生じているかは不明である。分子内構造変化でないとすればシステインによる分子間結合による構造変化の可能性があり、今後の検討課題となった。

(3) NPC1 マウス脳の解析からは、NPC1 病の神経細胞・アストロサイトにおいては、ミトコンドリア膜電位の低下、ATP 量の減少、ATP 産生能の低下が明らかになった。また、NPC1 病脳のミトコンドリアにおけるコレステロール濃度の上昇が認められたが、リン脂質濃度は野生型と変わりは無かった。ミトコンドリアを抽出し、ミトコンドリア膜のコレステロールを薬剤で減少させると、ATP 合成能は回復したが、野生型にコレステロールを添加すると ATP 合成能は低下した。

(伊藤仁一)

アストロサイトを apoA-I で刺激すると 5 分後に diacylglyceride (DG) の合成が CLPP 画分で特異的に上昇した。U73122 によって DG 産生は抑制され、さらに細胞内コレステロール輸送、apoA-I によるコレステロール搬出も抑制された。また、U73433 はこれらの諸反応を抑制しなかった。これらの知見から、apoA-I 作用後の細胞内 DG 産生は apoA-I で誘導される細胞内コレステロール輸送およびコレステロール搬出に重要な役割をもつものと考えられる。apoA-I 刺激後の細胞内 PK-C α および PL-C γ の分布を調べてみると、刺激後 5 分以内に、ともに CLPP 画分に移行していることがわかった。

(2) アストロサイトの apoA-I による 5 分間刺激は、脱重合条件下で調製された細胞質における caveolin-1 と PK-C α , β -tubulin, β -actin との結合を増加した。これらの結合は caveolin-1 の scaffolding domain peptide により抑制された。また、apoA-I で 5 分間刺激されたアストロサイトの細胞質より微小管様フィラメントを再構成すると、caveolin-1 や PK-C α は再構成フィラメントからも回収された。これらの結果から、CLPP 画分における caveolin-1 と protein kinase C α は caveolin-1 の scaffolding domain を介して、細胞骨格、特に微小管と密接に相互作用することが示唆された。

(3) アストロサイトの再構成微小管様フィラメントにおけるリン酸化反応を検討した結果、apoA-I での 5 分間刺激により再構成フィラメントと結合した種々のタンパク質のリン酸化反応が増加した。特に、52 kDa タンパク質のリン酸化が著しく促進された。これらのリン酸化反応は、PK-C 阻害剤である bisindolylmaleimide 1 (BIM) により著しく抑制された。anti- β -tubulin antibody を用いた western blotting により 52 kDa タンパク質が β -tubulin と同移動度を示

した。さらに human tubulin-immobilized BioGel-10 を作成し、これと apoA-I で5分間刺激されたラットアストロサイトの細胞質とを反応させて再構成された BioGel-10 結合型再構成フィラメントにも 52 kDa タンパク質のリン酸化が認められた。また、外来性 human tubulin もリン酸化された。このことから 52 kDa タンパク質が tubulin であることがわかった。CLPP-related lipid と再構成フィラメントとの結合は、apoA-I で刺激されたアストロサイトでは促進され、また BIM 処理により抑制された。一方、予めリン酸化された細胞質タンパク質は、もはや anti-caveolin-1 antibody-bound Protein G-Sepharose には結合しなかった。

(4) BIM は apoA-I で誘導されるコレステロールの合成、細胞質へのコレステロール輸送および細胞外への搬出のすべての反応を抑制した。apoA-I 誘導性コレステロール搬出に関わる細胞内コレステロール輸送反応が PK-C の機能に依存したものであることが示唆された。

(藤野貴広)

LRP5KO マウスは外見、行動、繁殖は正常で、組織学的にもほとんどの組織に異常は観察されなかった。唯一、頭頂骨と脛骨の骨密度の低下が観察され、また、グルコース刺激時においてラ氏島 β 細胞からのインスリン分泌不全を示した。これに伴ってラ氏島ではグルコース刺激による細胞内カルシウム及び ATP 産生の低下、グルコキナーゼ、IGF 受容体及び IRS-2 の発現低下が観察された。さらに、血中カイロミクロン (CM) のクリアランスの低下を示し、血中コレステロール濃度の上昇が観察された。ApoE/LRP5 遺伝子を欠損したダブルノックアウトマウスではさらに顕著で、著しい血中コレステロール濃度の上昇と動脈硬化巣形成の促進が観察された。

新規 HDL 結合タンパク質は GPI アンカー型の

膜タンパク質で、心臓に最も高く、次いで肝臓、肺に発現が認められた。また、本タンパク質は HDL に依存した細胞内への選択的コレステロール取り込みに関与する事が明らかとなった。

TKO (ApoE/VLDLR/ApoER2) マウスでは DKO マウス (VLDLR/ApoER2) に比べ、明らかに海馬の層構造形成異常が更に亢進しており、ほぼ生後 4 週間以内に死亡する。一方、DKO マウスでは約 20% が 3 ヶ月以上生存するを見ていただいた。これらマウスの直腸温の解析から、TKO マウスに見られる低生存率は著しい体温の低下によるものであることが明らかとなった。VLDLR(+/-)/ApoER2(-/-) では海馬 CA1 領域及び CA3 領域のリボン部分の錐体細胞層が 2 層に分離しているが、ApoE がさらに欠損することで錐体細胞層が 1 層に回復した。これら結果は、ApoE が CA1 領域及び CA3 領域において VLDLR と reelin に結合を ApoE が競合的に阻害していることを示した。そこで、海馬ニューロンの初代培養系を用い、リボタンパク受容体を欠損したニューロンにおける血清 β -VLDL の取り込みを解析した。VLDLR 欠損ニューロンにおける β -VLDL の取り込みは、コントロールと比較して変化はなく、むしろ LDLR 欠損ニューロンで著しく減弱していた。

DKO マウス脳内ではタウ蛋白が高度にリン酸化を受けているが、TKO マウスでも同様な高度なリン酸化が検出された。これに伴って Ser9 部位のリン酸化による GSK-3 β inactivation の増加が観察された。これ以外のタウ蛋白・キナーゼである MAPK、p35 CDK5 regulatory subunit、SAPK/JNK、またタウ蛋白・フォスファターゼの PP2A には変化は認められなかった。

各 KO マウスを 48 時間絶食させ、脳内タウ蛋白のリン酸化を解析した。ApoER2 及び LDLR KO マウスでは野生型マウスと比較して、絶食に対するタウ蛋白のリン酸化に著しい抵抗性を示した。

ヒト・ApoE2、E3 又は E4 の cDNA を組み込んだアデノウイルスを作製し、アストロサイト初代培養系及びグリオーマ細胞系において ApoE の大量発現系を確立した。本培養上清中の ApoE は脳内のものと同様に一部がシアル酸による修飾を受けていた。また、興味深いことに、肝臓で合成される ApoE とは異なり2つの分子種として分泌されることが明らかとなった。この培養上清から各 ApoE をヘパリン、イオン交換カラム、ゲル濾過カラムにより精製した。

D. 考察

(道川 誠)

(I) ApoE3 と apoE4 の生物活性の違いは、両者の構上の違いで説明可能であるとする仮説がある（ドメイン相互作用仮説）。本年度は、この仮説によって、脂質搬出作用における apoE アイソフォーム特異性も説明可能かどうかを検証した。用いた変異 apoE4 はドメイン相互作用を持たない点では apoE3 と類似しているが、112 番目のアミノ酸はアルギニンであり apoE4 型である。通常の apoE4 では、N 端側ドメインにある 112 番目のアルギニンは 61 番目のアルギニンの位置に影響し、それが C 端側ドメイン上にあるグルタミン酸(255)と salt-bridge を形成することで apoE 分子をコンパクトにしている。ところが今回用いた変異 apoE4 では、グルタミン酸 255 がアラニンに置換されているために、この相互作用は起こらずに、N 端側ドメインと C 端側ドメイン間の角度が保たれていると考えられる。この結果から、apoE3 と apoE4 間におけるアイソフォームの違いは、ドメイン相互作用の有無によると考えられた。ただし、まだよくわからない点もある。それは 22kDa apoE 断片を用いても apoE3, apoE4 の違いが見られたことである。この 22kDa apoE3 断片による脂質搬出効果は、intact apoE3 とほぼ同様の強さを持つのであるが、当然 C 端側ドメインを持たない。こ

の場合の 22kDa apoE4 断片は、intact apoE4 と同様に脂質搬出作用が弱い。このアイソフォームの違いはドメイン相互作用仮説では説明ができない。ApoE3 と apoE4 の 22kDa 断片は、分子内構造は大きな違いがないと考えられることから、apoE3 の持つシステインによる分子間相互作用の有無による可能性が考えられ、今後の検討が必要である。22kDa apoE でも intact apoE とほぼ同様の脂質搬出作用（HDL 新生作用）があるとすれば、遺伝子導入や分子修飾などに示唆を与えるものである。

(II) 野生型マウス脳のミトコンドリア膜を抽出し、それにおけるコレステロール濃度を増加、あるいは減少させると、いずれもミトコンドリア機能が低下することから、コレステロール濃度には至適濃度が存在すると考えられ、ミトコンドリア機能はコレステロールによって調節されていると考えられた。NPC1 病の場合は、ミトコンドリア膜コレステロール濃度が野生型に比べて高いために機能低下が起こっていると考えられた。ミトコンドリアへの輸送およびミトコンドリアからの搬出を司る分子機構については未だに良くわかっていないため、その責任分子の同定とその制御法の開発は今後に残された課題である。アルツハイマー病でもコレステロール代謝変動とミトコンドリア機能障害が指摘されており、NPC1 病とは共通のカスケードを介して神経細胞変性（タウオパチー）を惹起している可能性があり、この発見によって提示された考え方は、今後のアルツハイマー病の神経変性過程の解析とその抑制法の開発に重要な視点を提供すると考えられる。

(伊藤仁一)

本実験で、apoA-I 作用後 5 分で CLPP 画分に PL-C α が移行し、この画分において diacylglyceride (DG) が産生されることが見出された。現在のところ、PL-C α の CLPP への

移行を誘導するシグナルについては不明である。一般に、EGF、PDGF などの因子による刺激は細胞膜の受容体のチロシンリン酸化と SH2 domain を有する PL-C γ との相互作用を誘導し、その結果、本酵素は細胞膜に移行し、DG も細胞膜で産生される。さらに PK-C も細胞膜へ移行するのが一般的である。したがって、apoA-I で刺激されたアストロサイトの CLPP において何らかのタンパク質のチロシンリン酸化が生じているのかも知れない。今回見いだされた CLPP 画分での DG 産生は apoA-I に特異的な反応であり、アストロサイトの apoA-I 刺激によるセカンドメッセンジャー産生が一般の成長因子によって産生されるそれとは大きく異なる極めてユニークなものであると言える。CLPP 画分における DG 産生の上昇は、予想通り protein kinase C α のこの画分への移行を誘導し、セリン残基のリン酸化を促進した。apoA-I 刺激後、アストロサイトの CLPP 画分における DG 産生を U73122 で阻害すると、コレステロール低下や ApoE/LRP5 欠損マウスにおける著しい血中コレステロールの合成、細胞内輸送、細胞外への搬出のいずれの反応も阻害された。また、PK-C inhibitor によっても、同様にこれらの反応が抑制された。これらの知見は apoA-I 刺激後の細胞質リボタンパク画分での DG 産生とこれに続く PK-C α の活性化が apoA-I によるコレステロール搬出反応にとって、重要な細胞内反応であることを意味する。今回の実験により apoA-I で刺激されたアストロサイト細胞質より再構成されたフィラメントでは、52 kDa tubulin のリン酸化が亢進され、BIM により抑制された。このことから、apoA-I 刺激により CLPP 上での caveolin-1 と PKC α との結合が促進され、活性化された PKC が微小管の主要構成タンパク質である tubulin を特異的にリン酸化することが示唆された。今回の実験結果は tubulin リン酸化により微小管の脱重合を見

かけ上、誘導しないことを示した。PKC による微小管 tubulin のリン酸化の意義は今のところ不明であるが、CLPP と微小管との解離会合に寄与することが考えられる。

(藤野貴広)

LRP5 はリボタンパク受容体としてだけでなく Wnt の受容体としても機能している。LRP5 欠損マウスが耐糖能異常を示し、それと共にラ氏島におけるグルコキナーゼ、IGF 受容体及び IRS-2 の発現低下が観察されたことは、これらグルコースセンシングに関わる分子の発現調節の上流に Wnt 受容体として位置する事を示唆した。また、血中カイロミクロンのクリアランスの中コレステロール濃度の上昇と動脈硬化巣形成の促進は、本受容体がカイロミクロンレムナント受容体としても機能している可能性を示唆した。脳内におけるコレステロールはアストロサイトから ApoE・コレステロールとして分泌され、神経細胞に発現するリボタンパク受容体によって取り込まれると考えられている。一方、VLDLR 及び ApoER2 は神経細胞の移動及び配置決定を制御する分子、リーリンの受容体としても機能している。また、これらの受容体へのリーリンの結合は ApoE によって競合的に阻害されることが示されている。しかし、我々の KO マウスを用いた解析からは、この ApoE によるリーリン結合の競合阻害は海馬領域の VLDLR のみに観察された。しかし、海馬ニューロンを用いた血清 β -VLDL の取り込み実験では、VLDLR 欠損ニューロンではコントロールと比較して変化はなく、むしろ LDLR 欠損ニューロンで著しく減弱していた。すなわち、ニューロンにおける VLDLR 及び ApoER2 は ApoE 受容体としてほとんど機能していない事が示唆されてきた。一方、LDLR を欠損したニューロンでは ApoE を含むリボタンパク質の取り込み活性がほとんど見られなくなる事から、LDLR がニ

ニューロンに於ける主要な ApoE 受容体であると
考えられた。

脳のタウ蛋白はグルコース飢餓やヒートショックなどのストレスによって一過性にリン酸化を受けることが知られている。今回発見した絶食によるタウ蛋白の高度リン酸化が大脳皮質や海馬において ApoER2 及び LDLR 依存的に起こる現象は、アルツハイマー病におけるタウ蛋白リン酸化メカニズムを解明する上で重要な発見で有ると思われる。一方、DKO (VLDLR/ApoER2) マウス脳内で見られるタウ蛋白の高度にリン酸化が、TKO マウスでも同様に受けていることから、このタウ蛋白の高度リン酸化には ApoE は関与していないことを示唆した。近年、マクロファージで合成・分泌された ApoE を含むリポ蛋白質は肝臓には取り込まれないことが示され、マクロファージの産生する ApoE が肝臓のリポタンパク受容体に結合できない事が示された。すなわち、肝臓以外の細胞から産生される ApoE は異なった修飾を受けている可能性が考えられる。事実、アデノウイルスを用いたアストロサイト初代培養系による ApoE 発現系では、産生された ApoE は脳内のものと同様に一部がシアル酸による修飾を受けていると共に、肝臓で合成される ApoE とは異なり 2 つの分子種として分泌されることが明らかとなった。これらの結果は、アストロサイトで産生された ApoE・コレステロール複合体のリポタンパク受容体に対する結合特異性が血清リポ蛋白のものとは異なる可能性を示唆した。

E. 結論

(道川 誠)

(1) ApoE3 は apoE4 に比べて、より多くの脂質搬出作用を持ち、HDL 様粒子を新生する能力が高いが、その理由として apoE4 は N 端側および C 端側ドメイン間の相互作用によって分子が小さくコンパクトな構造に変化しているためと考え

られた。(2) ApoE の 22 kDa 断片 (N 端側ドメインのみ) によっても intact apoE と同様な脂質搬出作用を持ち、そこにアイソフォーム特異性を認めたが、そのメカニズムは不明で今後の検討が必要である。

(3) ミトコンドリア膜におけるコレステロール代謝変動がミトコンドリア機能障害を引き起こし、それが神経細胞変性を引き起こしていることが明らかになった。このカスケードは、NPC1 病とアルツハイマー病で共通している可能性があり、治療や予防法の開発に新たな視点を提供すると考えられる。

(伊藤仁一)

apoA-I 作用後のアストロサイトにおいて、cytosolic lipid-protein particle (CLPP) が apoA-I 依存性コレステロールの搬出とコレステロール細胞内輸送に大きく関わることを示した。apoAI は特異的に CLPP 画分への PL-C γ 移行と diacylglyceride 産生を促進した。また、PK-C α もこの画分に移行し、セリンリン酸化された。また、apoAI は細胞骨格と caveolin-1、protein kinase C および CLPP の結合を高め、微小管 tubulin のリン酸化を特異的に促進した。コレステロール細胞内輸送が細胞骨格、特に微小管によって制御されていることが考えられる。以上の結果は、同じアポリポ蛋白である apoE でも起こることが予想され、apoE がアイソフォーム特異的に細胞骨格蛋白の動きに影響を与えている可能性があり、神経細胞変性との関連で重要である。

(藤野貴広)

LRP5 はグルコース刺激時におけるインスリン分泌と正常な血中コレステロール代謝に重要な役割を果たしている。海馬ニューロンを用いた血清 β -VLDL の取り込み実験から、LDL 受容体がニューロンに於ける主要な ApoE 受容体であ

ると考えられた。一方、アストロサイト初代培養系による ApoE 発現では、産生された ApoE はシアル酸による修飾を受けていると共に、2つの分子種として分泌されることが明らかとなった。これらの結果は、アストロサイトから分泌される apoE・コレステロール複合体はリポタンパク受容体に対する結合特異性が血清リポ蛋白とは異なる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Yu W, Gong J-S, Ko M, Garver W. S., Yanagisawa K, and Michikawa M. Altered cholesterol metabolism in Niemann-Pick Type C1 mouse brain affects mitochondria function. *J Biol Chem*, 2005.
- (2) Yu W, Zou K, Gong JS, Ko M, Yanagisawa K, and Michikawa M. Oligomerization of amyloid β -protein occurs during the isolation of lipid rafts. *J. Neurosci. Res.*, 2005.
- (3) Hayashi H, Kimura N, Yamaguchi H, Hasegawa K, Yokoseki T, Shibata M, Yamamoto N, Michikawa M, Yoshikawa Y, Terao K, Matsuzaki K, Lermere CA, Selkoe DJ, Naiki H, Yanagisawa K. A seed for Alzheimer amyloid in the brain. *J. Neurosci.*, 24:4894-4902, 2004.
- (4) Kamata T, Katsube K, Michikawa M, Yamada M, Takada S, Mizusawa H. R-spondin, a novel gene with thrombospondin type 1 domain, was expressed in the dorsal neural tube and affected in Wnts mutants. *Biochim Biophys Acta*. 1676(1): 51-62, 2004.
- (5) Sawamura N, Ko M, Yu W, Zou K, Hanada K, Suzuki T, Gong JS, Yanagisawa K, and Michikawa M. Modulation of amyloid precursor protein cleavage by cellular sphingolipids. *J. Biol. Chem.*, 279(12):11984-11991, 2004.
- (6) Zou K, Kim D, Kakio A, Byun K, Gong JS, Kim M, Sawamura N, Nishimoto S, Matsuzaki K, Lee B, Yanagisawa K, and Michikawa M. Amyloid β -Protein (A β)1-40 Protects Neurons from Damage Induced by A β 1-42 in Culture and in Rat Brain. *J. Neurochem.*, 87: 609-619, 2003.
- (4) Sawamura N, Gong JS, Chang TY, Yanagisawa K, Michikawa M. Promotion of tau phosphorylation by MAP Kinase Erk1/2 Is accompanied by reduced cholesterol level in detergent-Insoluble membrane domains in Niemann-Pick C1-deficient cells. *J. Neurochem.*, 84:1086-1096, 2003.
- (5) Watabe K, Sakamoto T, Kawazoe Y, Michikawa M, Miyamoto K, Yamamura T, Saya H, Araki N. Tissue culture methods to study neurological disorders: establishment of immortalized Schwann cells from murine disease models. *Neuropathology*. 23(1): 68-78, 2003.
- (6) Sakaguchi N, Muramatsu H, Ichihara-Tanaka K, Maeda N, Noda M, Yamamoto T, Michikawa M, Ikematsu S, Sakuma S, Muramatsu T. Receptor-type protein tyrosine phosphatase zeta as a component of the signaling receptor complex for midkine-dependent survival of embryonic neurons. *Neurosci. Res.*, 45(2): 219-24, 2003.
- (7) Gong JS, Kobayashi M, Hayashi H, Zou K, Sawamura N, Fujita SC, Yanagisawa K,

- Michikawa M. Apolipoprotein E (apoE) isoform- dependent lipid release from astrocytes prepared from human-apoE3- and apoE4-knock-in mice. *J. Biol. Chem.*, 277: 29919-29926, 2002.
- (8) Zou K, Gong JS, Yanagisawa K, Michikawa M. A novel function of monomeric amyloid β -protein serving as an antioxidant molecule against metal-induced oxidative damage. *J. Neurosci.*, 22(12): 4833-4841, 2002.
- (9) Fan QW, Yu W, Gong JS, Zou K, Sawamura N, Senda T, Yanagisawa K, Michikawa M. Cholesterol-dependent dendrite outgrowth and microtubule stability in cultured neurons. *J. Neurochem.*, 80: 178-190, 2002.
- (10) Gong JS, Sawamura N, Zou K, Sakai j, Yanagisawa K, Michikawa M. Amyloid β -protein affects cholesterol metabolism in cultured neurons: Implications for pivotal role of cholesterol in the amyloid cascade. *J. Neurosci. Res.*, 70: 438-446, 2002.
- (11) Garver WS, Krishnan K, Gallagos JR, Michikawa M, Francis GA, Heidenreich RA. Niemann-Pick C1 protein regulates cholesterol transport to the trans-Golgi network and plasma membrane caveolae. *J. Lipid Res.*, 43(4):579-89, 2002.
- (12) Ito J, Nagayasu Y, Kato K, Sato R and Yokoyama S. Apolipoprotein A-I induces translocation of cholesterol, phospholipid, and caveolin-1 to cytosol in rat astrocytes. *J. Biol. Chem.*, 277, 7929-7935, 2002.
- (13) Ueno S, Ito J, Nagayasu Y, Furukawa T and Yokoyama S. An acidic fibroblast growth factor-like factor secreted into the brain cell culture medium upregulates apoE synthesis, HDL secretion and cholesterol metabolism in rat astrocytes. *Biochim. Biophys. Acta.* 1589, 261-272, 2002
- (14) Ito J, Nagayasu Y, Ueno S, Yokoyama S. Apolipoprotein-mediated cellular lipid release requires replenishment of sphingomyelin in a phosphatidylcholine-specific phospholipase C-dependent manner. *J. Biol. Chem.*, 277, 44709-44714, 2002
- (15) Tada T, Ito J, Asai M and Yokoyama S. Fibroblast growth factor 1 is produced prior to apolipoprotein E in the astrocytes after cryo-injury of mouse brain. *Neurochem. Int.*, 45, 23-30, 2004
- (16) Yamagata H, Chen Y, Akatsu H, Kamino K, Ito J, Yokoyama S, Yamagata T, Kosaka K, Miki T, Kondo I. Promoter polymorphism in fibroblast growth factor 1 gene increases risk of definite Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 321, 320-323, 2004
- (17) Ito J, Nagayasu Y, Kheirollah A, Yokoyama S. Apolipoprotein A-I induces translocation of protein kinase C α to a cytosolic lipid-protein particle in astrocytes. *J. Lipid Res* 45: 2269-2276. 2004
- (18) Ito J, Nagayasu Y, Lu R, Kheirollah A, Hayashi M, Yokoyama S. Astrocytes produce and secrete FGF-1, which promotes the production of apoE-HDL in a manner of autocrine action. *J. Lipid Res.*, in press.
- (20) Takahashi S, Sakai J, Fujino T, Hattori H, Zenimaru Y, Suzuki J, Miyamori I and Yamamoto T.T.. The very low-density lipoprotein (VLDL) receptor: characterization and functions as a peripheral lipoprotein receptor. *J. Atheroscler. Thromb.* 11: 200-208, 2004.
- (21) Yamamoto J, Ikeda Y, Iguchi H, Fujino T,

- Tanaka T, Asaba H, Ioka RX, Iwasaki S, Kaneko I, Takahashi S, Sakaue H, Kodama T, Yanagisawa M, Yamamoto TT, Ito S and Sakai J. A krüppel-like factor KLF 15 mediates fasting-Induced transcriptional activation of mitochondrial acetyl-CoA synthetase gene, AceCS2.
J. Biol. Chem. 279: 16954-16962, 2004.
- (22) Iwasaki T, Takahashi S, Ishihara M, Takahashi M, Ikeda U., Shimada K, Fujino T, Yamamoto TT, Hattori H and Emi M.. The important role for beta-VLDLs binding at the fourth cysteine of first ligand-binding domain in the low-density lipoprotein receptor.
J. Hum. Genet. 49: 622-628, 2004
- (23) Fujino T, Asaba H, Kang M-J, Ikeda Y, Sone H, Takada S, Kim D-H, Ioka RX, Ono M, Tomoyori H, Okubo M, Murase T, Kamataki A, Yamamoto J, Magoori K, Takahashi S, Miyamoto Y, Oishi H, Nose M, Okazaki M, Usui S, Imaizumi K, Yanagisawa M, Sakai J and Yamamoto TT.
Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) is essential for normal cholesterol metabolism and glucose-induced insulin secretion.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100: 229-234, 2003.
- (24) Ioka RX, Kang M-J, Kamiyama S, Kim D-H, Magoori K, Kamataki A, Ito Y, Takei YA, Sasaki M, Suzuki T, Sasano H, Takahashi S, Sakai J, Fujino T and Yamamoto TT. Expression cloning and characterization of a novel glycosylphosphatidylinositol-anchored high density lipoprotein-binding protein, GPI-HBP1.
J. Biol. Chem. 278: 7344-7349, 2003.
- (25) Magoori K, Kang M-J, Iwazaki MI, Kakuuchi H, Ioka RX, Kamataki A, Kim D-H, Asaba H, Iwasaki S, Takei YA, Sasaki M, Usui U, Okazaki M, Takahashi S, Ono M, Nose M, Sakai J, Fujino T and Yamamoto TT.. Severe hypercholesterolemia, impaired fat tolerance and advanced atherosclerosis in mice lacking both Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) and apolipoprotein E.
J. Biol. Chem. 278: 11331-11338, 2003.
- (26) Fujino T., Ikeda Y., Osborne T. F., Takahashi S., Yamamoto T. T. and Sakai J. Sources of acetyl-CoA: acetyl-CoA synthetase1 and 2.
Curr. Med. Chem. – Immun., Endoc. & Metab. Agents 3: 207-210, 2003.
- (27) Takahashi S, Sakai J, Fujino T, Miyamori I, Yamamoto TT.. The very low density lipoprotein (VLDL) receptor – a peripheral lipoprotein receptor for remnant lipoproteins into fatty acid active tissues.
Mol. Cell. Biochem. 248, 121-127, 2003.

出版

- (1) 道川 誠
脳病変におけるコレステロールの意義、柳澤信夫編、「老年期痴呆の克服をめざして」、財団法人長寿科学振興財団、pp65-75, 2002年発行。
- (2) 道川 誠
Alzheimer 病とコレステロール、柳澤信夫、篠原幸人 et al.編、「Annual Review 神経2000」、中外医学社、pp174-182, 2003年発行。
- (3) 道川 誠、柳澤勝彦
主に大脳皮質を侵す変性疾患、黒川 清、松澤佑次編、「内科学教科書2版」文光堂、pp1746-1750、2003年発行。
- (4) 道川 誠
神経細胞に対するアポリポ蛋白 E の作用(第2章、脳神経系の病因と治療)、伊藤正男・川合述史編、「ブレインサイエンスレビュー2004」ク

パブロ (株)、pp265-272, 2004 年。

5) 道川 誠

脳病変におけるコレステロールの意義、柳澤信夫編、「老年期痴呆の克服をめざして」、医学書院、東京、pp65-75, 2004 年。

6) 道川 誠

脳と栄養、小田裕昭・加藤久典・関泰一郎編集、「健康栄養学—健康科学としての栄養生理化学—」共立出版社、印刷中。

7) 道川 誠

アルツハイマー病と栄養、小田裕昭・加藤久典・関泰一郎編集、「健康栄養学—健康科学としての栄養生理化学—」共立出版社、印刷中

8) Ito J and Yokoyama S. "Roles of glia cells in cholesterol homeostasis in the brain."

Advances in Molecular and Cell Biology, 31, pp 519-534, 2004

Leif Hertz (Volume Editor)

総説

(1) 道川 誠

神経細胞に対するアポリポ蛋白 E の作用
医学のあゆみ, 1999 年 ; 189 巻、64-68

(2) 道川 誠

アポリポ蛋白 E の役割
脳の科学、2000 年 ; 増刊号、133-138

(3) 道川 誠

アルツハイマー病発症の分子機構におけるコレステロールの役割
老年医学会雑誌、2001 年 ; 38, 751-753.

(4) 道川 誠、柳澤勝彦

アミロイド蛋白と脂質代謝
BIO Clinica 2002 年 ; 17(9), 37-41.

(5) 道川 誠

脳疾患の予防を目指した「食」と「栄養」のバイオサイエンス
—アルツハイマー病発症機構においてコレス

テロールの果たす役割—

日本農芸化学誌、2003 年 ; 77 巻 11 号、1124-1126

(6) 道川 誠

コレステロール代謝変動とタウパチー
Cognition and Dementia 2003 年; 2(3): 43-50.

(7) 道川 誠、柳澤勝彦

A β とコレステロール代謝からみたスタチン系薬物による治療
老年精神医学雑誌 2003 年 ; 14(5):531-538.

(8) 道川 誠

コレステロール合成とアルツハイマー病
分子細胞治療 2003 年; 2(6): 82-88.

(9) 道川 誠

コレステロールとスタチンの作用
Medical Science Digest 2004 年 ; 30(6): 206-211.

(10) 道川 誠

アルツハイマー病、タウ蛋白とコレステロール。
The Lipid 2004 年; 15(5): 62-67

(11) 道川 誠

高脂血症と痴呆—スタチン療法
臨床と研究 2005 年、印刷中

(12) 道川 誠

アルツハイマー病とアポリポ蛋白 E 神経研究の進歩 2005 年、印刷中。

2. 学会発表

(1) Makoto Michikawa,

The Mechanisms Underlying ApoE-Isoform-Specific Contribution to the Development of Alzheimer's Disease, 国際長寿研究シンポジウム、2004 年 9 月 20 日、チェジュ、韓国

(2) Michikawa M.

ApoE-isoform-specific actions in cholesterol transport in the central nervous system. Dept of Molecular and Cell Biology of Lipids,

- Heritage Medical Research Centre, University of Alberta 2004 年 6 月 9 日、
エドモントン、カナダ
- (3) Michikawa M
Alzheimer's disease and cholesterol.
Department of Anatomy and Neuroscience,
School of Medicine, Cheju National
University, 2003 年 12 月 22-24 日、
チェジュ、韓国
- (4) Michikawa M
The role of cholesterol in the amyloid cascade:
A putative role in tau phosphorylation.
Division of Psychiatry Research, University of
Zurich, 2003 年 10 月 28 日、
チューリッヒ、スイス
- (5) Gong J.S, Kobayashi M., Hayashi H., Zou K.,
Sawamura N., Fujita S., Yanagisawa K., and
Michikawa M. Apolipoprotein E
(apoE)-isoform- dependent cholesterol release
from astrocytes prepared from human apoE3-
and apoE4- knock-in mice. Society for
Neuroscience Annual Meeting, Nov. 7, 2002,
Orland, FL, USA
- (6) Sawamura N., Gong J. S., Chang T.Y.,
Yanagisawa K., Michikawa M.
Niemann-Pick C1 deficiency reduces the
levels of cholesterol in detergent insoluble,
low-density membrane fractions leading to
activation of MAP kinase pathway and
increased phosphorylation. Society for
Neuroscience Annual Meeting, Nov. 6, 2002,
Orland, FL, USA
- (7) Zou K., Gong J. S., Yanagisawa K., and
Michikawa M. A novel function of
monomeric amyloid β -protein serving as an
antioxidant molecule against metal -induced
oxidative damage. Society for Neuroscience
Annual Meeting, Nov. 8, 2002,
Orland, FL, USA
- (8) キョウ建生、小林まり子、林秀樹、ゾウク
ン、澤村直哉、藤田忍、柳澤勝彦、道川誠。
ヒロアポリポ蛋白 E3-E4-ノックインマウスか
ら調製したアストロサイトにおけるアイソフ
ォーム依存的コレステロール搬出機構の検討
日本痴呆学会、2002 年 10 月、大阪
- (9) 澤村直哉、キョウ建生、チャン・タユアン、
柳澤勝彦、道川 誠、ニーマンピック C 型
モデル細胞におけるタウ蛋白のリン酸化の検
討、日本痴呆学 2002 年 10 月、大阪
- (10) Gong J.S, Kobayashi M., Hayashi H., Zou K.,
Sawamura N., Fujita S., Yanagisawa K., and
Michikawa M. Isoform-dependent lipid
release from astrocytes prepared from human
apolipoprotein E3- and E4-knock-in mice.
第 45 回日本神経化学学会大会、2002 年 7 月、札幌
- (11) 澤村直哉、キョウ建生、チャン タユアン、
柳澤勝彦、道川 誠 Niemann-Pick C1
deficiency reduces the levels of cholesterol in
detergent insoluble, low-density membrane
fractions leading to activation of MAP kinase
pathway and increased phosphorylation.
第 45 回日本神経化学学会大会、2002 年 7 月、札幌
- (12) ゾウクン、キョウ建生、柳澤勝彦、道川誠
A novel function of monomeric amyloid
 β -protein serving as an antioxidant molecule
against metal -induced oxidative damage.
第 45 回日本神経化学学会大会、2002 年 7 月、札幌
- (13) Ito J, Nagayasu Y and Yokoyama S.
The 14th Biennial Meeting of the International
Society for Developmental Neuroscience
Stimulation by acidicFGF of cholesterol
metabolism of rat astrocytes. January 2, 2002
- (14) 伊藤仁一、長安祐子、横山信治
アストロサイト産生 acidicFGF によるアスト
ロサイトのコレステロール代謝のオートクリ
ン調節 日本生化学会第 75 回大会、2002、京都

- (15) 伊藤仁一、長安祐子、横山信治
Autocrine action of acidic FGF to stimulate cholesterol metabolism and apoE secretion of rat cholesterol 日本神経化学会第45回大会, 2002, 札幌
- (16) J. Ito, Y. Nagayasu and S. Yokoyama, The XIII th International Symposium on Atherosclerosis Satellite Symposium. ApoA-I stimulates diacylglyceride production in intracellular lipoprotein fraction of astrocytes. 2003, (10/3 – 10/4) 沖縄
- (17) 伊藤仁一、横山信治, 脳における HDL 機能とその病態生理 日本神経科学会大26回大会シンポジウム, 2003, (7/23 – 7/25), 名古屋
- (18) 伊藤仁一、長安祐子、横山信治
Translocation of protein kinase C to cytosol in astrocytes by apolipoprotein A-I 日本神経化学会第46回大会, 2003, (9/24 – 9/26), 新潟
- (19) 伊藤仁一、長安祐子、横山信治
Apolipoprotein A-I induces protein kinase C translocation to cytosol in astrocytes. 日本生化学会第76回大会, 2003, (10/15 – 10/18) 横浜
- (20) J. Ito, Nagayasu Y and S. Yokoyama. FGF-1 production by astrocytes under long-term primary culture. The 15th Biennial Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience. 2004, (8/4 – 8/7) Edinburgh, Scotland
- (21) 伊藤仁一、長安祐子、奥村-野路久仁子、呂鋭、ケイロラ アリレザ、横山信治. アストロサイトの apoE とコレステロール分泌に及ぼす fibroblast growth factor-1 の作用. 日本生化学会77回大会, 2004, (10/13 – 16), 横浜
- (22) Fujino T.
Roles of LDL-receptor related protein 5, LRP5, in lipoprotein and glucose metabolism.
Gordon Research Conferences, Atherosclerosis
ニューハンプシャー, 米国
2003年6月15-20日
- (23) Fujino T.
Roles of LDL-receptor related protein 5 (LRP5) in glucose and lipoprotein metabolism.
Korean Society of Endocrinology Symposium
2004年4月29-30日, ソウル, 韓国
- (24) Fujino T.
Roles of apoE and its receptors in the central nervous system.
“Neuro 2004” Joint meeting of the 27th annual meeting of the Japan Neuroscience Society and the 47th annual meeting of the Japanese Society for Neurochemistry.
2004年9月21-23日, 大阪
- (25) 藤野貴広
生体エネルギー恒常性の維持におけるアシル CoA シンテターゼの機能
日本農芸化学会 2005 年度大会シンポジウム
2005年3月28-30日, 札幌
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
なし。
 2. 実用新案登録
なし。

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
道川 誠	脳と栄養	小田裕昭・ 加藤久典・ 関泰一郎	健康栄養学_健 康科学としての 栄養生理化学_	共立出版社	東京	2005	印刷中
道川 誠	アルツハイマー病と栄 養	小田裕昭・ 加藤久典・ 関泰一郎	健康栄養学_健 康科学としての 栄養生理化学_	共立出版社	東京	2005	印刷中
道川 誠	脳病変おけるコレステ ロールの意義	柳澤信夫	老年期痴呆の克 服をめざして	医学書院	東京	2004	65-75
道川 誠	神経細胞に対すアポリ ポ蛋白 E の作用	伊藤正男・ 川合述史	ブレインサイエ ンスレビュー 2004	クバプロ株 式会社	東京	2004	pp265-272

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
(道川) Yu W, Gong J-S, Ko M, Garver W. S., Yanagisawa K, <u>Michikawa M.</u>	Altered cholesterol metabolism in Niemann-Pick Type C1 mouse brain affects mitochondriafunction.	J Biol Chem	印刷中	印刷中	2005
Yu W, Zou K, Gong JS, Ko M, Yanagisawa K, <u>Michikawa M.</u>	Oligomerization of amyloid β -protein occurs during the isolation of lipid rafts.	J Neurosci Res	印刷中	印刷中	2005
Hayashi H, Kimura N, Yamaguchi H, Hasegawa K, Yokoseki T, Shibata M, Yamamoto N, <u>Michikawa M.</u> Yoshikawa Y, Terao K, Matsuzaki K, Lermere CA, Selkoe DJ, Naiki H, Yanagisawa K.	A seed for Alzheimer amyloid in the brain.	J Neurosci	24	4894-4902	2004
Sawamura N, Ko M, Yu W, Zou K, Hanada K, Suzuki T, Gong JS, Yanagisawa K, <u>Michikaw M.</u>	Modulation of amyloid precursor protein cleavageby cellular sphingolipids.	J Biol Chem	279	11984-11991	2004
Michikawa M.	Neurodegenerative Disorders and Cholesterol.Review.	Curr Alzheimer Res		271-276	2004

Kamata T, Katsube K, <u>Michikawa M</u> , Yamada M, Takada S, Mizusawa H.	R-spondin, a novel gene with thrombospondin type 1 domain, was expressed in the dorsal neural tube and affected in Wnts mutants.	Biochim Biophys Acta	1676	51-62	2004
道川 誠	コレステロールとスタチンの作用	Medical Science Digest	30	8-13	2004
道川 誠	アルツハイマー病、タウ蛋白とコレステロール	The Lipid	15	62-68	2004
Zou K, Kim D, Kakio A, Byun K, Gong JS, Kim M, Sawamura N, Nishimoto S, Matsuzaki K, Lee B, Yanagisawa K, and <u>Michikawa M</u> .	Amyloid β -Protein (A β)1-40 Protects Neurons from Damage Induced by A β 1-42 in Culture and in Rat Brain.	J Neurochem	87	609-619	2003
Sawamura N, Gong JS, Chang TY, Yanagisawa K, <u>Michikawa M</u> .	Promotion of tau phosphorylation by MAP Kinase Erk1/2 Is accompanied by reduced cholesterol level in detergent-Insoluble membrane domains in Niemann-Pick C1-deficient cells.	J Neurochem	84	1086-1096	2003
Watabe K, Sakamoto T, Kawazoe Y, <u>Michikawa M</u> , Miyamoto K, Yamamura T, Saya H, Araki N.	Tissue culture methods to study neurological disorders: establishment of immortalized Schwann cells from murine disease models.	Neuropathology	23	68-78	2003
Sakaguchi N, Muramatsu H, Ichihara-Tanaka K, Maeda N, Noda M, Yamamoto T, <u>Michikawa M</u> , Ikematsu S, Sakuma S, Muramatsu T.	Receptor-type protein tyrosine phosphatase zeta as a component of the signaling receptor complex for midkine-dependent survival of embryonic neurons.	Neurosci Res	45	219-224	2003
<u>Michikawa M</u> .	Cholesterol paradox: is high total or low HDL Cholesterol level a risk for Alzheimer's disease.	J Neuro Res	72	141-146	2003
<u>Michikawa M</u> .	The Role of cholesterol in pathogenesis of Alzheimer's disease.	Mol Neurobiol	27	1-11	2003
道川 誠・柳澤勝彦	A β とコレステロール代謝からみたスタチン系薬物による治療	老年精神医学雑誌	14	531-538	2003
道川 誠	XI. 変性疾患 Alzheimer 病とコレステロール	Annual Review		P.174-182	2003
道川 誠	脳疾患の予防を目指した「食」と「栄養」のバイオサイエンス-アルツハイマー病発症機構におけるコレステロールの果たす役割-	日本農芸化学会誌	77	42-44	2003
道川 誠	コレステロール合成とアルツハイマー病	分子細胞治療	2	82-88	2003
道川 誠	コレステロール代謝変動とタウオパチー	Cognition and Dementia	2	43-50	2003
Gong JS, Sawamura N, Zou K, Sakai J, Yanagisawa K, <u>Michikawa M</u> .	Amyloid β -protein affects cholesterol metabolism in cultured neurons: Implications for pivotal role of cholesterol in the amyloid cascade.	J Neurosci Res	70	438-446	2002

Fan QW, Yu W, Gong JS, Zou K, Sawamura N, Senda T, Yanagisawa K, Michikawa M.	Cholesterol-dependent modulation of dendrite outgrowth and microtubule stability in cultured neurons.	J Neurochem	80	178-190	2002
Gong JS, Kobayashi M, Hayashi H, Zou K, Sawamura N, Fujita SC, Yanagisawa K, Michikawa M.	Apolipoprotein E (apoE) isoform-dependent lipid release from astrocytes prepared from human-apoE3- and apoE4-knock-in mice.	J Biol Chem	277	29919-29926	2002
Zou K, Gong JS, Yanagisawa K, Michikawa M.	A Novel function of monomeric amyloid β -protein serving as an antioxidant molecule against metal-induced oxidative damage.	J Neurosci	22	4833-4841	2002
Watarai M, Makino S, Michikawa M, Yanagisawa K, Murakami S, Shirahata T.	Macrophage plasma membrane cholesterol contributes <i>Brucella abortus</i> infection of mice.	Infection and Immunity	70	4818-4825	2002
Garver WS, Krishnan K, Michikawa M, Francis GA, Heidenreich RA.	Niemann-Pick C1 protein facilitates cholesterol transport to the <i>trans</i> -Golgi network and plasma membrane caveolae.	J Lipid Res	43	579-589	2002
(伊藤) Tada T, Ito J, Asai M, Yokoyama S.	Fibroblast growth factor 1 is produced prior to apolipoprotein E in the astrocytes after cryo-injury of mouse brain.	Neurochem Int	45	23-30	2004
Ito J, Li H, Nagayasu Y, Kheirollah A, Yokoyama S.	Apolipoprotein A-I induces translocation of protein kinase C[α] to a cytosolic lipid-protein particle in astrocytes.	J Lipid Res	45	2269-2276	2004
Yamagata H, Chen Y, Akatsu H, Kamino K, Ito J, Yokoyama S, Yamamoto T, Kosaka K, Miki T, Kondo I.	Promoter polymorphism in fibroblast growth factor 1 gene increases risk of definite Alzheimer's disease.	Biochem Biophys Res Commun	321	320-323	2004
Ito J, Nagayasu Y, Kato K., Sato R., Yokoyama S.	Apolipoprotein A-I induces translocation of cholesterol, phospholipid, and caveolin-1 to cytosol in rat astrocytes.	J Biol Chem	277	7929-7935	2002
Ueno S, Ito J, Nagayasu Y, Furukawa T, Yokoyama S.	An acidic fibroblast growth factor-like factor secreted into the brain cell culture medium upregulates apoE synthesis, HDL secretion and cholesterol metabolism in rat astrocytes	Biochim Biophys Acta	1589	261-272	2002
Ito J, Nagayasu Y, Ueno S, Yokoyama S.	Apolipoprotein-mediated cellular lipid release requires replenishment of sphingomyelin in a phosphatidylcholine-specific phospholipase C-dependent manner.	J Biol Chem	277	44709-44714	2002
(藤野) Takahashi S, Sakai J, Fujino T, Hattori H, Zenimaru Y, Suzuki J, Miyamori I, Yamamoto TT,	The very low-density lipoprotein (VLDL) receptor: characterization and functions as a peripheral lipoprotein receptor.	Jatheroscler Thromb	11	200-208	2004

Yamamoto J, Ikeda Y, Iguchi H, <u>Fujino T</u> , Tanaka T, Asaba H, Iwasaki S, Ioka RX, Kaneko IW, Magoori K, Takahashi S, Mori T, Sakaue H, Kodama T, Yanagisawa M, Yamamoto TT, Ito S, Sakai J.	A krüppel-like factor KLF 15 mediates fasting-Induced transcriptional activation of mitochondrial acetyl-CoA synthetase gene, AceCS2.	J Biol Chem	279	16954-16962	2004
Iwasaki T, Takahashi S, Ishihara M, Takahashi M, Ikeda U, Shimada K, Fujino T, Yamamoto TT, Hattori H, Emi M.	The important role for betaVLDLs binding at the fourth cysteine of first ligand-binding domain in the low-density lipoprotein receptor	J Hum Genet	49	622-628	2004
<u>Fujino T</u> , Ikeda Y, Osborne TF, Takahashi S, Yamamoto TT, Sakai J.	Sources of acetyl-CoA : acetyl-CoA synthetase1 and 2.	Curr Med Chem – Immun, Endoc & Metab Agents	3	207-210	2003
Takahashi S, Sakai J, <u>Fujino T</u> , Miyamori I, Yamamoto TT.	The very low density lipoprotein (VLDL) receptor - a peripheral lipoprotein receptor for remnant lipoproteins into fatty acid active tissues.	Mol Cell Biochem	248	121-127	2003
Magoori K, Kang M-J, Iwazaki MI, Kakuuchi H, Ioka RX, Kamataki A, Kim D-H, Asaba H, Iwasaki S, Takei YA, Sasaki M, Usui U, Okazaki M, Takahashi S, Ono M, Nose M, Sakai J, <u>Fujino T</u> , Yamamoto TT.	Severe hypercholesterolemia, impaired fat tolerance and advanced atherosclerosis in mice lacking both Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) and apolipoprotein E.	J Biol Chem	278	11331-11338	2003
Ioka RX, Kang M J, Kamiyama S, Kim DH, Magoori K, Kamataki A, Ito Y, Takei YA, Sasaki M, Suzuki T, Sasano H, Takahashi S, Sakai J, <u>Fujino T</u> , Yamamoto TT.	Expression cloning and characterization of a novel GPI-anchored HDL binding protein, GPI-HBP1.	J Biol Chem	278	7344-7349	2003
<u>Fujino T</u> , Asaba H, Kang M J, Ikeda Y, Sone H, Takada S, Kim D H, Ioka R X, Ono M, Tomoyori H, Okubo M, Murase T, Kamataki A, Yamamoto J, Magoori K, Takahashi S, Miyamoto Y, Oishi H, Nose M, Okazaki M, Usui S, Imaizumi K, Yanagisawa M, Sakai J, Yamamoto T T.	Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) is essential for normal cholesterol metabolism and glucose-induced insulin secretion	Proc Natl Acad Sci USA	100	229-234	2003