

-
- 2) Bu B, Li J, Davies P, Vincent I : Deregulation of cdk5, hyperphosphorylation, and cytoskeletal pathology in the Niemann-Pick type C murine model. *J Neurosci*, **22** : 6515-6525 (2002).
 - 3) Craig AM, Banker G : Neuronal polarity. *Annu Rev Neurosci*, **17** : 267-310 (1994).
 - 4) Evans RM, Emsley CL, Gao S, Sahota A, et al.: Serum cholesterol, APOE genotype, and the risk of Alzheimer's disease ; A population-based study of African Americans. *Neurology*, **54** : 240-242 (2000).
 - 5) Fagan AM, Younkin LH, Morris JC, Fryer JD, et al.: Differences in the Abeta40/Abeta42 ratio associated with cerebrospinal fluid lipoproteins as a function of apolipoprotein E genotype. *Ann Neurol*, **48** : 201-210 (2000).
 - 6) Fan QW, Yu W, Senda T, Yanagisawa K, et al.: Cholesterol-dependent modulation of tau phosphorylation in cultured neurons. *J Neurochem*, **76** : 391-400 (2001).
 - 7) Fan QW, Yu W, Gong JS, Zou K, et al.: Cholesterol-dependent modulation of dendrite outgrowth and microtubule stability in cultured neurons. *J Neurochem*, **80** : 178-190 (2002).
 - 8) Fassbender K, Simons M, Bergmann C, Stroick M, et al.: Simvastatin strongly reduces levels of Alzheimer's disease beta-amyloid peptides Abeta 42 and Abeta 40 in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98** : 5856-5861 (2001).
 - 9) Fassbender K, Stroick M, Bertsch T, Ragoschke A, et al.: Effects of statins on human cerebral cholesterol metabolism and secretion of Alzheimer amyloid peptide. *Neurology*, **59** : 1257-1258 (2002).
 - 10) Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Agerholm-Larsen B, Schnohr P, et al.: Context-dependent and invariant associations between lipids, lipoproteins, and apolipoproteins and apolipoprotein E genotype. *J Lipid Res*, **41** : 1812-1822 (2000).
 - 11) Gong JS, Kobayashi M, Hayashi H, Zou K, et al.: 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).
 - 12) Gong JS, Sawamura N, Zou K, Sakai J, et al.: Amyloid beta-protein affects cholesterol metabolism in cultured neurons ; Implications for pivotal role of cholesterol in the amyloid cascade. *J Neurosci Res*, **70** : 438-446 (2002).
 - 13) Hartley DM, Walsh DM, Ye CP, Diehl T, et al.: Protofibrillar intermediates of amyloid beta-protein induce acute electrophysiological changes and progressive neurotoxicity in cortical neurons. *J Neurosci*, **19** : 8876-8884 (1999).
 - 14) Hess DC, Demchuk AM, Brass LM, Yatsu FM : HMG-CoA reductase inhibitors (statins) ; A promising approach to stroke prevention. *Neurology*, **54** : 790-796 (2000).
 - 15) Hofman A, Ott A, Breteler MM, Bots ML, et al.: Atherosclerosis, apolipoprotein E, and prevalence of dementia and Alzheimer's disease in the Rotterdam Study. *Lancet*, **349** : 151-154 (1997).
 - 16) Holtzman DM, Bales KR, Wu S, Bhat P, et al.: Expression of human apolipoprotein E reduces amyloid-beta deposition in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Clin Invest*, **103** : R15-R21 (1999).
 - 17) Hoshino T, Kamino K, Matsumoto M : Gene dose effect of the APOE-epsilon4 allele on plasma HDL cholesterol level in patients with Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, **23** : 41-45 (2002).
 - 18) Howland DS, Trusko SP, Savage MJ, Reaume AG, et al.: Modulation of secreted beta-amyloid precursor protein and amyloid beta-peptide in brain by cholesterol. *J Biol Chem*, **273** : 16576-16582 (1998).
 - 19) Jarvik GP, Wijsman EM, Kukull WA, Schellenberg GD, et al.: Interactions of apolipoprotein E genotype, total cholesterol level, age, and sex in prediction of Alzheimer's disease ; A case-control study. *Neurology*, **45** : 1092-1096 (1995).
 - 20) Jick H, Zornberg GL, Jick SS, Seshadri S, et al.: Statins and the risk of dementia. *Lancet*, **356** : 1627-1631 (2000).
 - 21) Jurevics H, Hostettler J, Barrett C, Morell P, et al. : Diurnal and dietary-induced changes in cholesterol synthesis correlate with levels of mRNA for HMG-CoA reductase. *J Lipid Res*, **41** : 1048-1054 (2000).
 - 22) Kallio MJ, Salmenpera L, Siimes MA, Perheentupa J, et al.: Apoprotein E phenotype determines serum cholesterol in infants during both high-cholesterol breast feeding and low-cholesterol formula feeding. *J Lipid Res*, **38** : 759-764 (1997).
 - 23) Kirkitadze M, Bitan G, Teplow D : Paradigm shifts in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders ; The emerging role of oligomeric as-

□特集

- semblies. *J Neurosci Res*, **69** : 567-577 (2002).
- 24) Kivipelto M, Helkala EL, Hanninen T, Laakso MP, et al.: Midlife vascular risk factors and late-life mild cognitive impairment ; A population-based study. *Neurology*, **56** : 1683-1989 (2001).
- 25) Klein WL, Krafft GA, Finch CE : Targeting small Abeta oligomers ; The solution to an Alzheimer's disease conundrum? *Trends Neurosci*, **24** : 219-224 (2001).
- 26) Kojro E, Gimpl G, Lamulich S, Marz W, et al.: Low cholesterol stimulates the nonamyloidogenic pathway by its effect on the alpha-secretase ADAM 10. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98** : 5815-5820 (2001).
- 27) Koudinov AR, Koudinova NV : Essential role for cholesterol in synaptic plasticity and neuronal degeneration. *FASEB J*, **15** : 1858-1860 (2001).
- 28) Locatelli S, Lutjohann D, Schmidt HH, Otto C, et al.: Reduction of plasma 24S-hydroxycholesterol (cerebrosterol) levels using high-dosage simvastatin in patients with hypercholesterolemia ; Evidence that simvastatin affects cholesterol metabolism in the human brain. *Arch Neurol*, **59** : 213-216 (2002).
- 29) Mauch DH, Nagler K, Schumacher S, Goritz C, et al.: CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science*, **294** : 1354-1357 (2001).
- 30) Merched A, Xia Y, Visvikis S, Serot JM, et al. : Decreased high-density lipoprotein cholesterol and serum apolipoprotein AI concentrations are highly correlated with the severity of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, **21** : 27-30 (2000).
- 31) Michikawa M, Yanagisawa K : Inhibition of cholesterol production but not of nonsterol isoprenoid products induces neuronal cell death. *J Neurochem*, **72** : 2278-2285 (1999).
- 32) Michikawa M, Fan QW, Isobe I, Yanagisawa K : Apolipoprotein E exhibits isoform-specific promotion of lipid efflux from astrocytes and neurons in culture. *J Neurochem*, **74** : 1008-1016 (2000).
- 33) Michikawa M, Gong JS, Fan QW, Sawamura N, et al.: A novel action of alzheimer's amyloid beta-protein (Abeta) ; Oligomeric Abeta promotes lipid release. *J Neurosci*, **21** : 7226-7235 (2001).
- 34) Mulder M, Ravid R, Swaab DF, de Kloet ER, et al.: Reduced levels of cholesterol, phospholipids, and fatty acids in cerebrospinal fluid of Alzheimer disease patients are not related to apolipoprotein E4. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, **12** : 198-203 (1998).
- 35) Notkola IL, Sulkava R, Pekkanen J, Erkinjuntti T, et al.: Serum total cholesterol, apolipoprotein E epsilon 4 allele, and Alzheimer's disease. *Neuroepidemiology*, **17** : 14-20 (1998).
- 36) Okabe S, Kim HD, Miwa A, Kuriu T, et al. : Continual remodeling of postsynaptic density and its regulation by synaptic activity. *Nat Neurosci*, **2** : 804-811 (1999).
- 37) Refolo LM, Malester B, LaFrancois J, Bryant-Thomas T, et al.: Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer's amyloid pathology in a transgenic mouse model. *Neurobiol Dis*, **7** : 321-331 (2000).
- 38) Ross R : Atherosclerosis ; An inflammatory disease. *N Engl J Med*, **340** : 115-126 (1999).
- 39) Sawamura N, Gong JS, Garver WS, Heidenreich RA, et al.: Site-specific phosphorylation of tau accompanied by activation of mitogen-activated protein kinase (MAPK) in brains of Niemann-Pick type C mice. *J Biol Chem*, **276** : 10314-10319 (2001).
- 40) Sawamura N, Gong JS, Chang TY, Yanagisawa K, et al.: Promotion of tau phosphorylation by MAP kinase Erk1/2 is accompanied by reduced cholesterol level in detergent-insoluble membrane fraction in Niemann-Pick C1-deficient cells. *J Neurochem*, **84** : 1086-1096 (2003).
- 41) Simons M, Keller P, De Strooper B, Beyreuther K, et al.: Cholesterol depletion inhibits the generation of beta-amyloid in hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **95** : 6460-6464 (1998).
- 42) Sparks DL : Intraneuronal beta-amyloid immunoreactivity in the CNS. *Neurobiol Aging*, **17** : 291-299 (1996).
- 43) Sparrow CP, Burton CA, Hernandez M, Mundt S, et al.: Simvastatin has anti-inflammatory and anti-atherosclerotic activities independent of plasma cholesterol lowering. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **21** : 115-121 (2001).
- 44) Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, et al.: Apolipoprotein E ; High-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **90** : 1977-1981 (1993).
- 45) Walsh DM, Lomakin A, Benedek GB, Condron MM, et al.: Amyloid beta-protein fibrillogenesis ; Detection of a protofibrillar intermediate. *J Biol Chem*, **272** : 22364-22372 (1997).

-
- 46) Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, Cullen WK, et al.: Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature*, **416** : 535-539 (2002).
- 47) Wolozin B, Kellman W, Russeau P, Celesia GG, et al.: Decreased prevalence of Alzheimer disease associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arch Neurol*, **57** : 1439-1443 (2000).
- 48) Zou K, Gong JS, Yanagisawa K, Michikawa M : A novel function of monomeric amyloid beta-protein serving as an antioxidant molecule against metal-induced oxidative damage. *J Neurosci*, **22** : 4833-4841 (2002).

Annual Review 神經 2003

2003 年 1 月 25 日 発行

中外医学社

1. Alzheimer 病とコレステロール

国立長寿医療研究センター痴呆疾患研究部臨床研究室室長 道川 誠

key words apolipoprotein E, Alzheimer's disease, cholesterol, HDL, statin

動 向

コレステロールを含む脂質代謝研究の歴史は長く、血管内皮細胞、線維芽細胞、肝細胞、各種細胞株など体循環系（非神経細胞）における脂質代謝の知見は豊富である。しかし、人体の中で最もコレステロールに富む臓器である脳（中枢神経系）におけるコレステロール代謝についての知見は限られている。中枢神経系と体循環系は血液脳関門によって隔絶されているため、中枢神経系のコレステロール代謝は体循環系から独立していると考えられている。実際、中枢神経系には LDL, VLDL などのリポ蛋白およびそれらに関連する多くのアポリポ蛋白が存在せず、HDL がコレステロールの搬出と搬入の双方の役割を担っていると考えられる。中枢神経系での HDL 形成に重要な役割を担っていると考えられる主要なアポリポ蛋白の1つが、アポリポ蛋白 E (apoE) である。したがって、apoE の対立遺伝子 epsilon 4 が Alzheimer 病発症の危険因子であるとする Strittmatter らの発見¹⁾ は、Alzheimer 病発症機構における脂質の関与を強く示唆するものであり、Alzheimer 病発症機構における脂質研究にその論理的根拠を与えたはずであった。しかし、この発見以降、研究者の多くは Alzheimer 病と脂質との関連に研究の関心を向けずに、むしろ apoE と Alzheimer

病病理の直接関係を論じる方向に研究を進めた。たとえば、apoE とアミロイド β 蛋白 amyloid β -protein ($A\beta$) との結合効率およびそれによる $A\beta$ 除去作用、apoE と τ 蛋白との結合および結合を介しての τ のリン酸化に対する作用、apoE の $A\beta$ fibril formation に対する作用、apoE のもつ神経細胞毒性作用、apoE の抗活性酸素作用等々をアイソフォーム依存的な作用の違いの観点から検討したのである。こうした apoE の新しい作用に焦点をおく研究は Alzheimer 病にみられる病理現象それぞれと apoE との直接かつ単純な関係を記述する点に利点があるものの、このような単純な二者関係だけで Alzheimer 病の全体像を説明し切れない可能性が残るのではないと思われる。

こうした研究の流れとは別に、apoE がその代謝を調節する脂質そのものの変動によって Alzheimer 病の病態を説明しようとする研究も行われてきた。Alzheimer 病と脂質（特にコレステロール）との関連に焦点を定めた研究はその数が少なかったが、ここ数年、にわかに論文数が増大し、多くの研究者の関心を集めるようになった。apoE の脂質代謝調節作用に焦点をおく研究は、apoE のアイソフォーム依存的 Alzheimer 病発症メカニズムを、apoE が調節する脂質代謝の変動から説

明しようとする試みである。故に、この考え方が論理的整合性をもつためには、(1) Alzheimer病脳内で疾患特異的な脂質代謝変動が証明され、(2) それらが apoE のアイソフォーム依存性の文脈の中で示され、(3) しかも、その脂質代謝変動が Alzheimer 病病理変化を引き起こすことが示される必要がある。しかし、上述したように中枢神経系における脂質代謝および脂質代謝に対する apoE の関与(特にアイソフォーム特異的関与)等については、知見に乏しく新たな検討が必要であった。おそらくはこうした理由から、脂質代謝と Alzheimer 病関連の研究は性急な結果を求める研究者にはなじまなかったのかもしれない。しかし、疫学研究などの結果が明らかになるにつれ、脂質(特にコレステロール)代謝と Alzheimer 病の関連に焦点を当てる研究に関心が集まり、両者の関係が分子レベルで議論されるまでに至った。本稿では、最近の研究結果の中から、Alzheimer 病とコレステロールとの関連について問題点を含めて多角的かつ有機的な概説を試み、今後の研究の方向性を考察したい。

A. コレステロール代謝変動と Alzheimer 病を関連づける疫学研究の動向

1. 血清コレステロール値と Alzheimer 病発症率との関連

コレステロールを含む脂質代謝を担う apoE の epsilon 4 型が、孤発型 Alzheimer 病の危険因子であるという発見を別にすれば、近年コレステロールと Alzheimer 病との関連に多くの研究者の関心を再び喚起した大きな理由の1つは、血清コレステロール値と Alzheimer 病発症率の関連を示唆する疫学研究の成果であるといえるだろう。すなわち、Notkolaらは1959～1974年間の血清コレステロール値と1989年における Alzheimer 病発症の関連について検討し、(i) Alzheimer 病

発症と発症前の長期間にわたる高コレステロール血症との間に有意な相関が存在すること、(ii) Alzheimer 病発症前に血清コレステロール値が低下することを報告した²⁾。これは以前の報告内容³⁾を支持するものであり、その後、Evansらも横断的な研究ながら高コレステロール血症と Alzheimer 病発症の関連を確認した⁴⁾。これらの結果から、比較的長期にわたり先行する高コレステロール血症の病歴が Alzheimer 病発症の危険因子であると結論されている。その後、Kivipeltoらは先行する高コレステロール血症の存在は Alzheimer 病のみならず mild cognitive impairment (MCI) 発症との間にも有意な相関があることを報告した⁵⁾。ところで、血清コレステロール値と apoE の遺伝子多型との関係については、どうなっているのだろうか。この両者の関係については、すでに多くの論文があり、最近の大規模な疫学調査によれば apoE2 < apoE3 < apoE4 の順で血清コレステロール値が高いことが示されている⁶⁾。これはすなわち、血清コレステロール値の高値という点から Alzheimer 病発症と apoE4 の相関がみごとに一致することを示している。以上の事実をまとめると、apoE4 は apoE2 や apoE3 に比べて血清コレステロール値を上昇させることで Alzheimer 病発症促進に関わっていると考えることができる。何故、血清コレステロール値に apoE のアイソフォーム依存性があるのか、何故、血清コレステロール値が高いと Alzheimer 病を発症しやすくなるのかについては後で論じたい。

さて、これまで述べてきた疫学研究結果の解釈における問題点の1つは、血液循環系と中枢神経系における脂質代謝の独立性の問題を矛盾なく解釈の中に取り込んだか否かに関わっていると思われる。確かに、apoE のアイソフォーム依存的に血清中の総コレステロール値(あるいは LDL コレステロール値)は、apoE4 > apoE3 > apoE2 の順に高い⁶⁻⁸⁾。この傾向は、Alzheimer 病の危

危険因子との関係で論じられるより前にすでに冠動脈疾患との関連で指摘されてきた通りである。しかし、血清 HDL 値は逆に apoE2 > apoE3 > apoE4 の順に高いことも同時に指摘されている^{6,7)}。これは、おそらく筆者らが報告したように apoE の逆行性コレステロール運搬作用、すなわちコレステロール搬出作用における apoE のアイソフォーム依存性で説明できると考えられる^{9,10)}。このようにリポ蛋白に含まれるコレステロール量の apoE のアイソフォーム依存性がリポ蛋白の種類 (LDL か HDL か) によって異なるのは、血液中に存在する複数のアポリポ蛋白およびリポ蛋白と apoE との関連がそれぞれ異なることから生じているためと考えられる。しかし、ここで留意すべきは中枢神経系には HDL しか存在しないこと¹¹⁾、つまり中枢神経系の細胞外液中に存在するコレステロールは HDL コレステロールしかないということである。中枢神経系内の HDL 形成には apoE による脂質搬出機構 (逆行性脂質輸送) が apoAI のそれとともに大きな比重を占めると考えられる。したがって、血清 HDL コレステロール値を前提とすれば、中枢神経系の細胞外液中のコレステロール量は、apoE2 > apoE3 > apoE4 である可能性が高い (ちなみに、中枢神経細胞の培養系における HDL 形成能は apoE2 > apoE3 > apoE4 である^{10,12)})。さらに、Alzheimer 病患者の血清 HDL コレステロール値が低いとする報告¹³⁾ や Alzheimer 病脳のコレステロール量が低下しているという報告も複数あることから、Alzheimer 病脳内における HDL コレステロール量は対照群に比し低下していることが示唆される。したがって、血清 HDL コレステロール値の低下 (そしておそらく HDL 形成機序から考えて脳内 HDL コレステロール量も低下) が Alzheimer 病発症の危険因子である可能性を指摘することも理論的には可能である。実際、Alzheimer 病の患者髄液中のコレステロールを含む

脂質濃度は対照群に比し低いことが報告されている¹⁴⁾。以上から、神経細胞内コレステロール値が高いのがリスクだとする単純な図式は慎重に検証されるべきであろう。しかし、現在までの血清コレステロール値と Alzheimer 病発症に関する多くの研究結果の解釈に、この点を考慮する議論は欠落している。今後、髄液中の脂質解析が apoE アイソフォームとの関連でなされる必要があると思われる。さらに、脳内のコレステロール値が直接 Alzheimer 病発症機構に働きかける可能性以外にも、動脈硬化が Alzheimer 病および血管性痴呆両者の危険因子であるとの報告があることから、血液中の脂質環境が血管性病変などの他の要素を解して Alzheimer 病発症に関与している可能性もあり、より広い視点での検討を期待したい。

2. Statin treatment and Alzheimer

先に述べたように、長期にわたって先行する高コレステロール血症と Alzheimer 病および MCI の発症率とに正の相関があるとすれば、当然ながらコレステロール降下剤 (スタチン) は Alzheimer 病および MCI 発症率を下げるかどうかが問われるべきである。Wolozin らは、コレステロール降下剤として知られている HMG-CoA reductase 阻害剤 (スタチン) の服用者では、非服用者あるいは他の薬剤の服用者に比べて Alzheimer 病発症率の有意な低下がみられるという研究結果を発表した¹⁵⁾。また、Jick らは、調査時にスタチンを服用していた人では、服用していない群に比べて痴呆疾患に罹患する頻度が低いと報告した¹⁶⁾。しかし、スタチンによる Alzheimer 病発症抑制の機序については、提示された仮説 (B. 1. a. で後述) はあるものの、今のところ不明である。Wolozin らによって検討されたスタチンは lovastatin, simvastatin, pravastatin の 3 種類であった。pravastatin が最も hydrophilic であるにもかかわらず、

Alzheimer病の発症率を下げたのは pravastatin と lovastatin であった。こうしたスタチンは血液脳関門を通過しにくいと考えられている。したがって、脳神経系に直接働いてコレステロール合成を抑制するには濃度が低すぎると考えられる。したがって、残る可能性の1つとしてスタチンが血清コレステロールを低下させ、それが脳内または髄液中のコレステロール代謝に影響し、その結果 Alzheimer病発症を抑制する機序が考えられる。確かに、simvastatin を服用したヒトでは、血清コレステロール値の低下に伴って脳内のコレステロール量の低下をきたすことが示されている¹⁷⁾。しかし一方、lovastatin をマウスに投与したところ血清コレステロール値には影響を与えずに脳内コレステロール濃度を下げること、したがって、スタチンが直接脳内コレステロール濃度に影響する可能性を指摘した研究もある¹⁸⁾。一般に、中枢神経系と体循環系の間には血液脳関門が存在するため、それぞれ独立したコレステロール代謝系を営んでいると考えられる。両者間にはリポ蛋白およびアポリポ蛋白の種類が大きく異なること¹¹⁾などがこれを支持している。しかし、上記の研究結果は、血液中のコレステロール（あるいはスタチン）濃度が、はたして脳内のコレステロール代謝にどの程度影響しうるのかを、そのメカニズムを含めて詳細に検討する必要があることを示している。さらに、スタチンの抑制効果の機序を考えるうえで今後の課題となるのは、すべてのスタチンが疾患発症の抑制効果をもたなかったこと¹⁵⁾の意味を検討することである。Wolozinらは simvastatin の服用期間が短いため効果がなかったとしているが、スタチンのもつコレステロール合成抑制作用以外の作用による可能性も当然考えなければならない。実際、スタチンはコレステロール合成阻害以外にも、細胞内シグナル伝達や細胞増殖に関与するG蛋白の修飾に必要な中間産物である farnesyl pyrophosphate や geranylgeranyl

pyrophosphate などの産生も阻害するほか、endothelial nitric oxide synthase (eNOS), inducible NOS (iNOS) やサイトカインなどの産生を抑制し、脳内炎症を抑制することが知られている¹⁹⁾。また、スタチンには動脈硬化の予防効果が期待される。Alzheimer病では動脈硬化指数が有意に高いことが知られていることから、あるいはスタチンは動脈硬化を予防し、その結果2次的に高まる Alzheimer病の発症を抑制している可能性があるかもしれない。スタチンの Alzheimer病抑制作用の解明には、こうしたスタチンの多様な作用を含めた検討が必要であると考えられる。

B. コレステロール代謝変動と Alzheimer病発症機構を結びつける分子メカニズムの解明に関する動向

1. コレステロール代謝変動の A β に対する影響

a. コレステロールと A β 産生

このセクションは A. 1. で述べた疫学研究の結果を分子レベルで説明しようとする試みについて解説する。上述したような疫学的研究と同時期に、細胞内のコレステロール量を減少させると、A β の前駆体である APP 量には影響を与えずに A β 産生を低下させるとする報告²⁰⁾がなされ、疫学研究によって示された現象を分子レベルで説明する考え方として注目された。これらの結果は後に、別のグループによって異なる側面から確認された²¹⁾。すなわち、細胞膜のコレステロール濃度を下げると α -セクリターゼ活性が増強し、 α APP 量を増加させ、A β 産生量を減少させたということである。さらに、Fassbenderらは、スタチンを服用させたモルモットの解析を通して、スタチン服用により血清コレステロール値が著減し、髄液中の A β 量が減少することを報告した²²⁾。ただし、髄液中のコレステロールの定量は行って

おらず、 $A\beta$ 量の減少が中枢神経細胞のコレステロール量の減少によるかどうかは実は不明である。しかし、これらの研究結果は細胞膜のコレステロール濃度の上昇が、直接 Alzheimer 病発症機構を促進し ($A\beta$ 産生量を増加させ)、スタチン処理 (または服用) による細胞膜のコレステロール濃度の低下は $A\beta$ 産生量を抑制することで Alzheimer 病発症を抑制する可能性を示している。ただし、既述したように、両者の関係の確定には慎重でなければならない。すなわち、(i) コレステロール降下剤の種類によって、Alzheimer 病の発症抑制に対する作用が異なるものがあり、スタチンのコレステロール代謝以外の作用の可能性を示唆していること、(ii) 動脈硬化が Alzheimer 病および血管性痴呆両者の危険因子であるとの報告があり、高コレステロール血症は直接的には動脈硬化を介して Alzheimer 病の危険因子となっている可能性があること、(iii) Alzheimer 病患者の血清、髄液、および脳の細胞膜においてコレステロール量が逆に減少するという報告が複数あること、(iv) スタチン投与によって $A\beta$ 産生が低下するという Fassbender らの報告²²⁾ では、スタチンの投与量があまりにも多いが、筆者らの実験系では 50% 程度の合成抑制では $A\beta$ 産生に影響を与えないこと、したがって、実際に臨床で用いるスタチン量で有意に $A\beta$ 産生を抑制しているのか疑問が残ることなどいくつかの点で今後の検討が必要であると思われる。しかし、いずれにしても、スタチンの服用によって Alzheimer 病の発症を抑制できるとすれば、これは非常に重要な情報であり、また得られる利益も大きいことは確かであり、大規模な縦断的疫学調査による検証が不可欠である。

b. コレステロールと $A\beta$ 凝集/蓄積

細胞膜上にコレステロール豊富なマイクロドメインの存在が生化学的および形態学的に定義されている。これらのマイクロドメインはその定義の

仕方から caveolae, detergent-insoluble, glycolipid-enriched membrane domain (DIG), lipid raft,あるいはこれらマイクロドメインを含む膜分画として detergent-resistant membrane domain などとよばれる。これらのマイクロドメインは各種リガンドの受容体が存在し、細胞内シグナルの受け渡し場所として重要であることが明らかになっている²³⁾。また、こうしたマイクロドメインはコレステロールやスフィンゴ脂質の他に GM1 ガングリオシドなどが豊富であることから、 $A\beta$ 蓄積または $A\beta$ 線維化の場の可能性がある他、 $A\beta$ 産生または分解の場の可能性も想定されている。したがって、細胞内コレステロール代謝変動が、こうしたマイクロドメインのコレステロール量の変動を誘導し、APP 代謝や $A\beta$ の産生、分解、蓄積に影響を及ぼす可能性があり、Alzheimer 病発症機構に密接に関連すると考えられる。最近、上述したマイクロドメインに類似した脂質構成をもつコレステロール、スフィンゴミエリン、GM1 ガングリオシド複合体と $A\beta$ が直接関係をもつことにより $A\beta$ の線維化が促進されることが示され²⁴⁾、マイクロドメインが細胞における $A\beta$ 線維化の場である可能性が提示されている。マイクロドメインは、その構造および機能が、細胞内脂質代謝に依存していると考えられることから、コレステロール代謝との関連から Alzheimer 病発症機構を考える際の重要な視点の 1 つとなるかもしれない。

c. 細胞内コレステロール量と $A\beta$ 毒性

細胞膜におけるコレステロール量が $A\beta$ の毒性を左右するとする報告が複数ある。最近の報告では、細胞膜のコレステロール量が少ないと $A\beta$ は細胞膜表面にとどまり、やがて β 構造転換を起こし、オリゴマー形成、線維形成に至り、細胞毒性を発揮するが、膜におけるコレステロール量が高いと $A\beta$ は細胞膜表面にとどまらず膜内に insertion するためオリゴマー形成、線維形成を起こさない

ために毒性発揮しないと結論されている^{25,26)}。これらのデータは神経細胞のA β 毒性に対する抵抗性あるいは脆弱性が、細胞膜のコレステロール量にある程度依存していること、すなわち細胞膜におけるコレステロール量が高いほうがA β 毒性に対して抵抗性が増すことを示している。

2. A β のコレステロール代謝に対する影響

A β は、その凝集状態に依存して生物活性を発揮するとされ、アミロイドまたは線維化A β が神経細胞における τ のリン酸化の促進および神経細胞死を誘導するとされてきた。こうした研究ではその多くが、高濃度、37℃でインキュベーションしたA β を凝集A β として使用している。したがって、その中には、単体、2量体をはじめとする重合体(オリゴマー)およびアミロイド検出反応陽性の線維化A β などが混在する。A β をその集合体数別に分離精製し、それぞれの作用を決めることは技術的に容易ではなく、インキュベーションしたA β を凝集A β を含むA β として使わざるを得ないために、得られる結論には不確かさを含む。すなわち、インキュベーションしたA β 溶液のみがAlzheimer病病理に関連した現象を誘導することは示されるものの、その主役と考えられるA β の重合状態/性質については確定されていないのである。さらに、凝集(線維化)したA β がアミロイドカスケード過程を促進するものであるとした場合、アミロイドが主成分をなす老人斑の沈着部位と、リン酸化 τ が主成分をなす神経原線維変化および神経細胞死のみられる部位が一致しないという事実を十分に説明できない欠点があった。その後、生理的に存在するアミロイドになる前のオリゴマーA β が神経の機能障害²⁷⁾や細胞死等^{28,29)}を引き起こすことが示されるに及んで、アミロイド形成前のオリゴマーA β こそがAlzheimer病発症メカニズムの主体を担うのではないかとの考え方が提起されるようになった^{30,31)}。

以下に紹介する筆者らの研究もこの考え方を支持し、発展させるものである。従来から、髄液中に存在するHDLにA β が結合していることが報告されてきた。HDLにはapoEも含まれることからapoE受容体を介してHDL複合体を取り込むことによってA β が除去されるのではないかとする仮説とそれを検証する一連の研究がある³²⁾。しかしHDL複合体の形成過程および生(病)理学的意味については十分に理解されているわけではなかった。筆者らは、A β の神経細胞内コレステロール代謝に対する影響の解析を通して、HDL複合体形成過程を明らかにした。すなわち、(i)オリゴマーA β (高濃度でインキュベーションしたA β を径0.22/0.45 μ mのフィルターを通して線維成分を除いたもの)が神経細胞膜よりコレステロール、リン脂質およびGM1ガングリオシド等を引き抜き(搬出し)HDL様粒子を形成するが、この脂質-A β 複合体はapoEによって産生させるHDL様粒子と異なり、細胞に取り込まれないこと³³⁾、(ii)オリゴマーA β は神経細胞内コレステロール合成を抑制し、最終的にその量を減少させる働きがあること³⁴⁾である。こうした作用は単体A β にはみられなかった。Alzheimer病脳ではオリゴマーA β 量が増加すると考えられることから、Alzheimer病では、増加したオリゴマーA β が神経細胞内コレステロール代謝を変動させている可能性が示唆される。筆者らをはじめとするいくつかのグループの研究結果を総合すると、以下のような考え方が可能になる。すなわち、オリゴマーA β が細胞内コレステロールを減少させ^{33,34)}、コレステロール量の減少が τ のリン酸化亢進^{35,36)}、シナプス可塑性および機能の低下³⁶⁻³⁸⁾、そして神経細胞に特異的な細胞死の誘導³⁹⁾等のAlzheimer病病理に類似した諸現象を招くということである。こうしたオリゴマーA β によって影響される細胞内コレステロール代謝の恒常性をapoEはHDLの取り込みおよび搬出作用によって維持し

ていると考えられる。しかし、筆者らの示したように apoE の HDL 形成作用がアイソフォーム依存的である^{10,12)} ことから、apoE はコレステロール代謝の恒常性維持能力の違いを通して Alzheimer 病発症機構に関与しているのではないだろうか。コレステロール欠乏と τ のリン酸化亢進との関連については、別の実験系でも確認された。すなわち、コレステロール代謝異常を中核病態とする Niemann-Pick disease type C (NPC) のモデルマウス脳では、MAPK 活性の上昇および τ のリン酸化亢進を誘導し⁴⁰⁾、cdk5 の活性化亢進や他の細胞骨格蛋白のリン酸化亢進が確かめられていることから、コレステロール代謝障害と神経変性の機序解明には有用なモデルであることが示されている⁴¹⁾。これらの機序として、NPC1 欠損細胞では、マイクロドメインを含む detergent-insoluble membrane fraction 中のコレステロールの低下が、マイクロドメインの構造および機能の障害を招き、それが細胞内シグナルの異常を誘導している可能性を考えている。

最後に、筆者はコレステロール値の高低の問題はどこコレステロール値の議論なのかが重要と考える。すなわち、血清値なのか、髄液中の値なのか、臓器の値なのか、あるいは細胞の全体量なのか、小器官や細胞膜レベルあるいはより特異的なマイクロドメインレベルでの議論なのかということである。たとえば、NPC 細胞あるいは NPC モデルマウスでは、細胞内総コレステロール量は蓄積により著明に上昇しているにもかかわらず、必要なマイクロドメインでは輸送障害により逆に低下していると考えられる。Alzheimer 病においても、発症前に血清コレステロールは高値を示すことが明らかにされつつあるが、同時に血清（そして髄液）HDL 値は低いことが一部示されているし、また予想できる。脳内には HDL しか存在しないことから、むしろ後者のほうが疾患発症に関係している可能性も否定はできないと筆者は考

える。今後は血清だけのデータだけではなく、髄液のデータ、さらに細胞膜や小器官、そしてマイクロドメインでの変動等、より焦点を定めた検討が必要ではないだろうか。

文献

- 1) Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, et al. Apolipoprotein E: high-avidity binding to β -amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 1977-81.
- 2) Notkola IL, Sulkava R, Pekkanen J, et al. Serum total cholesterol, apolipoprotein E epsilon 4 allele, and Alzheimer's disease. *Neuroepidemiology* 1998; 17: 14-20.
- 3) Jarvik GP, Wijsman EM, Kukull WA, et al. Interactions of apolipoprotein E genotype, total cholesterol level, age, and sex in prediction of Alzheimer's disease: a case-control study. *Neurology* 1995; 45: 1092-6.
- 4) Evans RM, Emsley CL, Gao S, et al. Serum cholesterol, APOE genotype, and the risk of Alzheimer's disease: a population-based study of African Americans. *Neurology* 2000; 54: 240-2.
- 5) Kivipelto M, Helkala EL, Hanninen T, et al. Midlife vascular risk factors and late-life mild cognitive impairment: A population-based study. *Neurology* 2001; 56: 1683-9.
- 6) Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Agerholm-Larsen B, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. Context-dependent and invariant associations between lipids, lipoproteins, and apolipoproteins and apolipoprotein E genotype. *J Lipid Res* 2000; 41: 1812-22.
- 7) Braeckman L, De Bacquer D, Rosseneu M, De Backer G. Apolipoprotein E polymorphism in middle-aged Belgian men: phenotype distribution and relation to serum lipids and lipoproteins. *Atherosclerosis* 1996; 120: 67-73.
- 8) Kallio MJ, Salmenpera L, Siimes MA, et al. Apoprotein E phenotype determines serum cholesterol in infants during both high-cholesterol breast feeding and low-cholesterol formula feeding. *J Lipid Res* 1997; 38: 759-64.
- 9) Michikawa M, Yanagisawa K. Apolipoprotein E4

- isoform-specific actions on neuronal cells in culture. *Mech Ageing Dev* 1999; 107: 233-43.
- 10) Gong JS, Kobayashi M, Hayashi H, et al. Apolipoprotein E (apoE) isoform-dependent lipid release from astrocytes prepared from human-apoE3- and apoE4-knock-in mice. *J Biol Chem* 2002; 277: 29919-26.
 - 11) Fagan AM, Younkin LH, Morris JC, et al. Differences in the A β 40/A β 42 ratio associated with cerebrospinal fluid lipoproteins as a function of apolipoprotein E genotype. *Ann Neurol* 2000; 48: 201-10.
 - 12) Michikawa M, Fan QW, Isobe I, Yanagisawa K. Apolipoprotein E exhibits isoform-specific promotion of lipid efflux from astrocytes and neurons in culture. *J Neurochem* 2000; 74: 1008-16.
 - 13) Merched A, Xia Y, Visvikis S, Serot JM, Siest G. Decreased high-density lipoprotein cholesterol and serum apolipoprotein AI concentrations are highly correlated with the severity of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2000; 21: 27-30.
 - 14) Mulder M, Ravid R, Swaab DF, et al. Reduced levels of cholesterol, phospholipids, and fatty acids in cerebrospinal fluid of Alzheimer disease patients are not related to apolipoprotein E4. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1998; 12: 198-203.
 - 15) Wolozin B, Kellman W, Ruosseau P, Celesia GG, Siegel G. Decreased prevalence of Alzheimer disease associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arch Neurol* 2000; 57: 1439-43.
 - 16) Jick H, Zornberg GL, Jick SS, Seshadri S, Drachman DA. Statins and the risk of dementia. *Lancet* 2000; 356: 1627-31.
 - 17) Locatelli S, Lutjohann D, Schmidt HH, et al. Reduction of plasma 24S-hydroxycholesterol (cerebrosterol) levels using high-dosage simvastatin in patients with hypercholesterolemia: evidence that simvastatin affects cholesterol metabolism in the human brain. *Arch Neurol* 2002; 59: 213-6.
 - 18) Eckert GP, Kirsch C, Muller WE. Differential effects of lovastatin treatment on brain cholesterol levels in normal and ApoE-deficient mice. *Neuroreport* 2001; 12: 883-7.
 - 19) Hess DC, Demchuk AM, Brass LM, Yatsu FM. HMG-CoA reductase inhibitors (statins): a promising approach to stroke prevention. *Neurology* 2000; 54: 790-6.
 - 20) Simons M, Keller P, De Strooper B, et al. Cholesterol depletion inhibits the generation of β -amyloid in hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 6460-4.
 - 21) Kojro E, Gimpl G, Lammich S, Marz W, Fahrenholz F. Low cholesterol stimulates the nonamyloidogenic pathway by its effect on the alpha-secretase ADAM 10. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 5815-20.
 - 22) Fassbender K, Simons M, Bergmann C, et al. Simvastatin strongly reduces levels of Alzheimer's disease beta-amyloid peptides A β 42 and A β 40 in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 5856-61.
 - 23) Simons K, Ikonen E. Functional rafts in cell membranes. *Nature* 1997; 387: 569-72.
 - 24) Kakio A, Nishimoto S, Yanagisawa K, Kozutsumi Y, Matsuzaki K. Interactions of amyloid beta-protein with various gangliosides in raft-like membranes: importance of GM1 ganglioside-bound form as an endogenous seed for Alzheimer amyloid. *Biochemistry* 2002; 41: 7385-90.
 - 25) Yip CM, Elton EA, Darabie AA, Morrison MR, McLaurin J. Cholesterol, a modulator of membrane-associated A β -fibrillogenesis and neurotoxicity. *J Mol Biol* 2001; 311: 723-34.
 - 26) Ji SR, Wu Y, Sui SF. Cholesterol is an important factor affecting the membrane insertion of β -amyloid peptide (A β 1-40), which may potentially inhibit the fibril formation. *J Biol Chem* 2002; 277: 6273-9.
 - 27) Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, et al. Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature* 2002; 416: 535-9.
 - 28) Walsh DM, Lomakin A, Benedek GB, Condron MM, Teplow DB. Amyloid β -protein fibrillogenesis. Detection of a protofibrillar intermediate. *J Biol Chem* 1997; 272: 22364-72.
 - 29) Hartley DM, Walsh DM, Ye CP, et al. Protofibrillar intermediates of amyloid beta-protein induce acute electrophysiological changes and progressive neurotoxicity in cortical neurons. *J Neurosci* 1999; 19: 8876-84.
 - 30) Klein WL, Krafft GA, Finch CE. Targeting small Abeta oligomers: the solution to an Alzheimer's

- disease conundrum? Trends Neurosci 2001; 24: 219-24.
- 31) Kirkitadze M, Bitan G, Teplow D. Paradigm shift in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders: The emerging role of oligomeric assemblies. J Neurosci Res 2002; 69: 567-77.
- 32) Holtzman DM, Bales KR, Wu S, et al. Expression of human apolipoprotein E reduces amyloid- β deposition in a mouse model of Alzheimer's disease. J Clin Invest 1999; 103: R15-21.
- 33) Michikawa M, Gong JS, Fan QW, Sawamura N, Yanagisawa K. A novel action of Alzheimer's amyloid β -protein ($A\beta$): oligomeric $A\beta$ promotes lipid release. J Neurosci 2001; 21: 7226-35.
- 34) Gong JS, Sawamura N, Zou K, et al. Amyloid β -protein affects cholesterol metabolism in cultured neurons: Implications for pivotal role of cholesterol in the amyloid cascade. J Neurosci Res 2002; 70: 438-46.
- 35) Fan QW, Yu W, Senda T, Yanagisawa K, Michikawa M. Cholesterol-dependent modulation of tau phosphorylation in cultured neurons. J Neurochem 2001; 76: 391-400.
- 36) Koudinov AR, Koudinova NV. Essential role for cholesterol in synaptic plasticity and neuronal degeneration. FASEB J 2001; 15: 1858-60.
- 37) Fan QW, Yu W, Gong JS, et al. Cholesterol-dependent modulation of dendrite outgrowth and microtubule stability in cultured neurons. J Neurochem 2002; 80: 178-90.
- 38) Mauch DH, Nagler K, Schumacher S, et al. CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. Science 2001; 294: 1354-7.
- 39) Michikawa M, Yanagisawa K. Inhibition of cholesterol production but not of nonsterol isoprenoid products induces neuronal cell death. J Neurochem 1999; 72: 2278-85.
- 40) Sawamura N, Gong JS, Garver WS, et al. Site-specific phosphorylation of tau accompanied by activation of mitogen-activated protein kinase (MAPK) in brains of Niemann-Pick type C mice. J Biol Chem 2001; 276: 10314-9.
- 41) Bu B, Li J, Davies P, Vincent I. Deregulation of cdk5, hyperphosphorylation, and cytoskeletal pathology in the Niemann-Pick type C murine model. J Neurosci 2002; 22: 6515-25.

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—

The role of cholesterol in the pathogenesis of Alzheimer's disease

国立長寿医療研究センター痴呆疾患研究部

道川 誠 Makoto MICHIKAWA

日本農芸化学会誌

第77巻第11号 2003年11月

社団法人 日本農芸化学会

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—

The role of cholesterol in the pathogenesis of Alzheimer's disease

国立長寿医療研究センター痴呆疾患研究部
道川 誠 Makoto MICHIKAWA

Key words: cholesterol; Alzheimer's disease; Tau; Apo-lipoprotein E; microdomain; Niemann-Pick disease

1. はじめに

コレステロールを含む脂質代謝研究は主に、血管内皮細胞、線維芽細胞、肝細胞、各種細胞株など非神経系細胞を用いて行われてきた。こうした研究の歴史は長く、その知見の集積は膨大である。しかし、最もコレステロールに富む臓器である脳（中枢神経系）におけるコレステロール代謝についての知見は極めて少ない（あるいは少なかった）。そもそも、神経細胞は、その形態が他の細胞と異なる。神経突起の膜の表面積は細胞体のその数十倍から数百倍に及ぶこと¹⁾から、すべてのコレステロールを細胞体から末端まで運んでいたのでは速い変化（例えばシナプス可塑性の維持や外傷後の修復など）に対応できないと考えられる。突起末端こそ、まさにシナプス可塑性を維持する場所であり、最近の研究によれば24時間以内に全シナプスの20%以上がturn overするほど激しく変化するとされるからである²⁾。したがって、神経突起末端での膜の変化の維持には、細胞体からのコレステロール供給以外に、末端局所でのコレステロール代謝機構の果たす役割が大きいと考えられる。実際、細胞外液中のHDL-コレステロールがシナプス可塑性維持に重要な役割を果たすことが示されている³⁾。おそらく、神経突起末端での膜の変化の維持には、細胞体からのコレステロール供給（輸送）以外に、末端局所でのコレステロール代謝機構の果たす役割が大きいと考えられる。これを支持する研究として最近、細胞外液中のHDL-コレステロールがシナプス可塑性維持に重要な役割を果たすことが示された³⁾。本稿では、このような神経系の特殊性をふまえたうえで、現在なされている議論を整理し、アルツハイマー病発症機構とコレステロールの関係について新しい考え方を提示したい。

2. コレステロール代謝とアルツハイマー病

(1) 血清コレステロール値とアルツハイマー病および apoE 遺伝子多型

アルツハイマー病発症あるいは mild cognitive impairment (MCI) 発症と発症前の高コレステロール血症との間に有意な相関が存在すること^{4)~7)}が報告されている。一方、血清コレステロール値と apoE の遺伝子多形との関係については、すでに動脈硬化との関連からなされた多くの研究があり、血清コレステロール値は apoE2 < apoE3 < apoE4 の順に高くなることが示されている^{8)~10)}。こうした結果は、アルツハイマー病発症と apoE4 型であることが血清コレステロール値の高値という点で結びつけられることを示している。すなわち、apoE4 は apoE2 や apoE3 に比べて血清コレステロール値を上昇させることでアルツハイマー病発症促進にかかわっていると考えることができる。

では、この考え方ですべてが矛盾なく説明できるのだろうか？ 実は、そう単純ではないかもしれないと筆者は考える。なぜなら、高コレステロール血症は、髄液中のコレステロール濃度に影響しない^{11)~13)}とされるからである。この結果が本当ならば、「先行する高コレステロール血症がアルツハイマー病発症の危険因子である」という命題を支える分子メカニズムを髄液（または脳内）コレステロール濃度変化からは説明できないことになる。筆者は、同じデータに対して別の解釈が可能であることを考えている。確かに、血清中の総コレステロール値（あるいは LDL-コレステロール値）は、apoE のアイソフォームに依存して高い順に apoE4 > apoE3 > apoE2 となっている^{8)~10)}。しかし、血清 HDL-コレステロール値を見ると、全く逆になる（高い順に apoE2 > apoE3 > apoE4）^{9), 10)}。この HDL-コレステロール値における apoE のアイソフォーム依存性は、おそらく筆者らが報告したように apoE の逆行性コレステロール運搬作用（コレステロール搬出による HDL 新生作用）における apoE のアイソフォーム依存性で説明できるだろう^{14), 15)}。いずれにしても、コレステロール値と

apoE のアイソフォーム依存性を論じる場合には、着目すべきリポタンパク質の種類 (LDL か HDL か) によって全く逆の順番になるのである。したがって、「先行する高コレステロール血症がアルツハイマー病の危険因子である」とする仮説は、「低 HDL-コレステロール値がアルツハイマー病の危険因子である」とする仮説に理論上置き換え可能であると考えられる。

(2) 中枢神経系でのコレステロール代謝

筆者が HDL-コレステロールに着目する理由は、中枢神経系 (髄液中) には HDL-コレステロールしか存在しない¹¹⁾からである。中枢神経系と体循環系は血液脳関門によって隔離されており、髄液中には HDL のみが存在し、LDL, VLDL などのリポタンパク質は存在しない。したがって、中枢神経系のコレステロール代謝の議論は、HDL 代謝の議論となる。ここで注意すべきは、HDL といっても、それを形成するアポリポタンパク質が中枢神経系と体循環系では異なる点である。血液中ではアポリポタンパク質 AI (apoAI) が HDL 形成に重要な役割を果たすが、中枢神経系ではアポリポタンパク質 E (apoE) の役割が重要であると考えられる。apoAI はその受容体を介して取り込まれ、LDL のようにコレステロール供給源として利用することはなく、いくつかのステップを介して肝細胞へと逆行輸送されると考えられる (もし途中で取り込まれれば、いわゆる動脈硬化に対する“善玉コレステロール”としての HDL の役割は意味を失う)。しかし、apoE-HDL の場合は話が違う。筆者らも確認したように、神経細胞、アストロサイト、ミクログリア、およびオリゴデンドログリアにはいずれも複数の apoE 受容体が存在し、それら受容体を通して apoE-HDL は取り込まれ、apoE-HDL 複合体は体循環系の LDL のように、脂質供給作用をもつと考えられるからである。筆者らは中枢神経系内では HDL がコレステロールの搬出と供給の双方の役割を担っていることを裏づける研究結果を得ている。

中枢神経系内の HDL 新生は apoE による脂質搬出機構に大きく依存する。したがって、血清 HDL コレステロール値を踏まえれば、中枢神経系の細胞外液中 (あるいは髄液中) のコレステロール量は、 $\text{apoE2} > \text{apoE3} > \text{apoE4}$ であることが予想される。これを支持するデータとして、筆者らはアストロサイトにおける apoE による HDL 新生能は $\text{apoE2} > \text{apoE3} > \text{apoE4}$ であることを見いだした^{14), 15)}。さらに、HDL に着目すべき理由に、血清の総コレステロール値は、髄液コレステロール値に影響しない^{11)~13)}が、血清 HDL-コレステロール値は髄液コレステロール値 (HDL) とよく相関する¹¹⁾という事実がある。これらは、血清および脳内 HDL-コレステロール値の低下が、

アルツハイマー病発症の危険因子である、とする疫学データの新鮮解釈に矛盾しない。実際、アルツハイマー病患者の血清 HDL-コレステロール値が低いとする報告^{16), 17)}がある。また、髄液のコレステロール値も、アルツハイマー病患者では対象群に比し低いとする報告^{18), 19)}がある。以上から、高コレステロール血症がアルツハイマー病発症を引き起こすと強調することには慎重でなければならないと考える。しかし、現在のところ、この点を考慮する議論は欠落している。今後、髄液中の脂質解析が apoE アイソフォームとの関連でなされる必要があるだろう。

3. コレステロールとアミロイドカスケード

これまでのアルツハイマー病とコレステロールの関連をその発症機構との関連から考えてみたい。アミロイドまたは線維化 A β が神経細胞における τ のリン酸化の促進および神経細胞死を誘導するとされてきた。しかし最近、生理的に存在するアミロイドになる前のオリゴマー A β が神経の機能障害²⁰⁾や細胞死など^{21), 22)}を引き起こすことが示され、アミロイド形成前のオリゴマー A β こそがアルツハイマー病発症メカニズムの主体を担うのではないかとの考え方が提起されるようになった^{23), 24)}。筆者らも、この考え方を支持する研究結果を得ている。従来から、髄液中に存在する HDL に A β が結合していることが報告され、HDL には apoE も含まれることから apoE 受容体を介して HDL 複合体を取り込み、A β が除去されるとする研究がある²⁵⁾。しかし HDL 複合体の形成過程および生(病)理学的意味については十分に理解されていなかった。筆者らは、A β の神経細胞内コレステロール代謝に対する影響の解析し、HDL 複合体形成過程を明らかにした。すなわち、(i) オリゴマー A β が神経細胞膜よりコレステロール、リン脂質、および GM1 ガングリオシドなどを引き抜き (搬出し) HDL 様粒子を形成するが、この脂質-A β 複合体は apoE によって産生させる HDL 様粒子と異なり、細胞に取り込まれないこと²⁶⁾、(ii) オリゴマー A β は神経細胞内コレステロール合成を抑制し、最終的にその量を減少させること²⁷⁾である。こうした作用は単体 A β には見られず、むしろ細胞保護的に働いた²⁸⁾。アルツハイマー病脳ではオリゴマー A β 量が増加すると考えられることから、増加したオリゴマー A β が神経細胞内コレステロール代謝を変動させている可能性が示唆される。筆者らをはじめとするいくつかのグループの研究結果を総合すると、以下のような考え方が可能になる。すなわち、オリゴマー A β が細胞内コレステロールを減少させ^{26), 27)}、コレステロール量の減少が τ のリン酸化亢進^{29), 30)}、シナプス可塑性および機能の低下^{3), 30), 31)}、そして神経細胞に特異的な細胞死の誘導³²⁾など

のアルツハイマー病病理に類似した諸現象を招くということである。こうしたオリゴマー A β によって影響される細胞内コレステロール代謝の恒常性を apoE は HDL の取り込みおよび搬出作用によって維持していると考えられる。しかし、筆者らの示したように apoE の HDL 形成作用がアイソフォーム依存的である^{14), 15)}ことから、apoE は神経細胞へのコレステロール供給能力の違いを通してアルツハイマー病発症機構に関与しているのではないだろうか。コレステロール欠乏と τ のリン酸化亢進との関連については、更にコレステロール代謝異常を中核病態とする Niemann-Pick disease, type C (NPC) のモデルマウス脳で解析され、MAPK 活性の上昇および τ のリン酸化亢進³³⁾, cdk5 の活性化亢進や他の細胞骨格タンパク質のリン酸化亢進が確かめられている³⁴⁾。これらの機序として、NPC1 欠損細胞では、マイクロドメインを含む detergent-insoluble membrane fraction 中のコレステロールの低下が、マイクロドメインの構造および機能の障害を招き、それが細胞内シグナルの異常を誘導している可能性³⁵⁾を考えている。以上をまとめると、アミロイドカスケードの進行を抑えるためには、コレステロール量はむしろ低く過ぎないことが大事である²⁷⁾と考えられる。少なくともアルツハイマー病発症後のスタチン服用には注意が必要かもしれない。

- 1) A. M. Craig and G. Banker: *Annu. Rev. Neurosci.*, **17**, 267-310 (1994).
- 2) S. Okabe, H. D. Kim, A. Miwa, T. Kuriu, and H. Okado: *Nat Neurosci.*, **2**, 804-811 (1999).
- 3) D. H. Mauch, K. Nagler, S. Schumacher, C. Goritz, E. C. Muller, A. Otto, and F. W. Pfrieger: *Science*, **294**, 1354-1357 (2001).
- 4) G. P. Jarvik, E. M. Wijsman, W. A. Kukull, G. D. Schellenberg, C. Yu, and E. B. Larson: *Neurology*, **45**, 1092-1096 (1995).
- 5) I. L. Notkola, R. Sulkava, J. Pekkanen, T. Erkinjuntti, C. Ehnholm, P. Kivinen, J. Tuomilehto, and A. Nissinen: *Neuroepidemiology*, **17**, 14-20 (1998).
- 6) R. M. Evans, C. L. Emsley, S. Gao, A. Sahota, K. S. Hall, M. R. Farlow, and H. Hendrie: *Neurology*, **54**, 240-242 (2000).
- 7) M. Kivipelto, E. L. Helkala, T. Hanninen, M. P. Laakso, M. Hallikainen, K. Alhainen, H. Soininen, J. Tuomilehto, and A. Nissinen: *Neurology*, **56**, 1683-1689 (2001).
- 8) M. J. Kallio, L. Salmenpera, M. A. Siimes, J. Perheentupa, H. Gylling, and T. A. Miettinen: *J. Lipid Res.*, **38**, 759-764 (1997).
- 9) L. Braeckman, D. De Bacquer, M. Rosseneu, and G. De Backer: *Atherosclerosis*, **120**, 67-73 (1996).
- 10) R. Frikke-Schmidt, B. G. Nordestgaard, B. Agerholm-Larsen, P. Schnohr, and A. Tybjaerg-Hansen: *J. Lipid Res.*, **41**, 1812-1822 (2000).
- 11) A. M. Fagan, L. H. Younkin, J. C. Morris, J. D. Fryer, T. G. Cole, S. G. Younkin, and D. M. Holtzman: *Ann Neurol.*, **48**, 201-210 (2000).
- 12) H. Jurevics, J. Hostettler, C. Barrett, P. Morell, and A. D. Toews: *J. Lipid Res.*, **41**, 1048-1054 (2000).
- 13) K. Fassbender, M. Stroick, T. Bertsch, A. Ragoschke, S. Kuehl, S. Walter, J. Walter, K. Brechtel, F. Muehlhauser, K. Von Bergmann, and D. Lutjohann: *Neurology*, **59**, 1257-1258 (2002).
- 14) M. Michikawa, Q. W. Fan, I. Isobe, and K. Yanagisawa: *J. Neurochem.*, **74**, 1008-1016 (2000).
- 15) J. S. Gong, M. Kobayashi, H. Hayashi, K. Zou, N. Sawamura, S. C. Fujita, K. Yanagisawa, and M. Michikawa: *J. Biol Chem.*, **277**, 29919-29926 (2002).
- 16) A. Merched, Y. Xia, S. Visvikis, J. M. Serot, and G. Siest: *Neurobiol. Aging*, **21**, 27-30 (2000).
- 17) T. Hoshino, K. Kamino, and M. Matsumoto: *Neurobiol. Aging*, **23**, 41-45 (2002).
- 18) M. Mulder, R. Ravid, D. F. Swaab, E. R. de Kloet, E. D. Haasdijk, J. Julk, J. J. van der Boom, and L. M. Havekes: *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.*, **12**, 198-203 (1998).
- 19) N. Demeester, G. Castro, C. Desrumaux, C. De Geitere, J. C. Fruchart, P. Santens, E. Mulleners, S. Engelborghs, P. P. De Deyn, J. Vandekerckhove, M. Rosseneu, and C. Labeur: *J. Lipid Res.*, **41**, 963-974 (2000).
- 20) D. M. Walsh, I. Klyubin, J. V. Fadeeva, W. K. Cullen, R. Anwyl, M. S. Wolfe, M. J. Rowan, and D. J. Selkoe: *Nature*, **416**, 535-539 (2002).
- 21) D. M. Walsh, A. Lomakin, G. B. Benedek, M. M. Condron, and D. B. Teplow: *J. Biol. Chem.*, **272**, 22364-22372 (1997).
- 22) D. M. Hartley, D. M. Walsh, C. P. Ye, T. Diehl, S. Vasquez, P. M. Vassilev, D. B. Teplow, and D. J. Selkoe: *J. Neurosci.*, **19**, 8876-8884 (1999).
- 23) W. L. Klein, G. A. Krafft, and C. E. Finch: *Trends Neurosci.*, **24**, 219-224 (2001).
- 24) M. Kirkitadze, G. Bitan, and D. Teplow: *J. Neurosci Res.* (2002), in press.
- 25) D. M. Holtzman, K. R. Bales, S. Wu, P. Bhat, M. Parsadianian, A. M. Fagan, L. K. Chang, Y. Sun, and S. M. Paul: *J. Clin. Invest.*, **103**, R15-R21 (1999).
- 26) M. Michikawa, J. S. Gong, Q. W. Fan, N. Sawamura, and K. Yanagisawa: *J. Neurosci.*, **21**, 7226-7235 (2001).
- 27) J. S. Gong, N. Sawamura, K. Zou, J. Sakai, K. Yanagisawa, and M. Michikawa: *J. Neurosci. Res.*, **69**, 00-00 (2002).
- 28) K. Zou, J. S. Gong, K. Yanagisawa, and M. Michikawa: *J. Neurosci.*, **22**, 4833-4841 (2002).
- 29) Q. W. Fan, W. Yu, T. Senda, K. Yanagisawa, and M. Michikawa: *J. Neurochem.*, **76**, 391-400 (2001).
- 30) A. R. Koudinov and N. V. Koudinova: *FASEB J.*, **15**, 1858-1860 (2001).
- 31) Q. W. Fan, W. Yu, J. S. Gong, K. Zou, N. Sawamura, T. Senda, K. Yanagisawa, and M. Michikawa: *J. Neurochem.*, **80**, 178-190 (2002).
- 32) M. Michikawa and K. Yanagisawa: *J. Neurochem.*, **72**, 2278-2285 (1999).
- 33) N. Sawamura, J. S. Gong, W. S. Garver, R. A. Heidenreich, H. Ninomiya, K. Ohno, K. Yanagisawa, and M. Michikawa: *J. Biol. Chem.*, **276**, 10314-10319 (2001).
- 34) B. Bu, J. Li, P. Davies, and I. Vincent: *J. Neurosci.*, **22**, 6515-6525 (2002).
- 35) N. Sawamura, J.-S. Gong, T.-Y. Chang, K. Yanagisawa, and M. Michikawa: *J. Neurochem.*, in press.

分子細胞治療

別刷

発行：株式会社 先端医学社

〒103-0004 東京都中央区東日本橋1-9-7 G1 東日本橋ビル

コレステロール合成とアルツハイマー病

道川 誠*

Point

- ①アルツハイマー病発症機構とコレステロール代謝の関係に関心が寄せられている理由は、a)アポリポ蛋白 E(apoE)の対立遺伝子 *epsilon 4* がアルツハイマー病発症の危険因子であること、b)疫学研究から、高コレステロール血症が発症の危険因子であること、c)コレステロール降下剤(スタチン)服用が疾患発症の予防効果をもつこと、が示されたためである。
- ②a)は多くの研究によって確認されているが、b)およびc)については今後確認する必要がある。
- ③b)とc)を疾患発症機構と結びつけるには、中枢神経系と体循環系におけるコレステロール代謝の相互作用と、中枢神経系のコレステロール代謝の全貌を明らかにすることが必要である。
- ④a)については、脳内の apoE アイソフォーム特異的コレステロール代謝を証明することが必要である。
- ⑤以上の知見を得てはじめて、アルツハイマー病発症機構を脳内コレステロール代謝変動と関連づけて議論できる。
- ⑥中枢神経系におけるコレステロール代謝研究は未開拓の研究分野であるが、アルツハイマー病発症機構を理解するうえで重要である。

Key Word /アルツハイマー病, 高コレステロール血症, HDL-コレステロール, スタチン, アミロイドカスケード

● はじめに

コレステロールを含む脂質代謝研究の歴史は長く、知見の集積は膨大であるが、そうした研究はおもに血管内皮細胞・線維芽細胞・肝細胞・各種細胞株など非神経系細胞を用いておこなわれてきた。したがって、最もコレステロールに富む臓器である脳(中枢神経系)におけるコレステロール代謝についての知見は少ない。近年、アルツハイマー病発症機構とコレステロールの関係に関心が寄せられ、脳内のコレステロール代謝に注目が集まっている。しかしながらこの両者の関連はいまだにはっきりしない。その理由の一つは脳内のコレステロール代謝、あるいは中枢神経と循環系とのコレステロール代謝の関連そのものがわかっていないためであるといつてよい。

中枢神経系と体循環系は血液脳関門によって隔絶され、中枢神経系には独立したコレステロール代謝系が存在する。実際、中枢神経系(髄液中)には LDL(低比重リポ蛋白)、VLDL(超低比重リポ蛋白)、IDL(中間比重リポ蛋白)、カイロミクロンなどのリポ蛋白が存在せず、HDL(高比重リポ蛋白)のみが存在する。中枢神経系に HDL しか存在しないとすると、脂質供給はどのようなかたちでおこなわれるのであろうか?アルツハイマー病発症機構とコレステロール代謝を議論する前に、こうした基本的な脳内脂質代謝の全体を明らかにする必要がある。

さらに、ほかの細胞とはまったく異なる神経細胞の形態学的特徴が、神経細胞を取り巻く脂質代謝の特異性を特徴づけている。たとえば神経突起の膜の表面積は細胞体のその数十倍から数百倍に及ぶこと¹⁾から、すべて

*MICHIKAWA Makoto/国立長寿医療研究センター痴呆疾患研究部

のコレステロールを細胞体から末端まで運んでいたのは素早い変化(たとえばシナプス可塑性の維持や外傷後の修復など)に対応できないと考えられる。しかし、その突起末端こそ、まさにシナプス可塑性を維持する場所であり、最近の研究によれば24時間以内に全シナプスの20%以上がturn overするほど激しく変化するとされている⁹⁾。したがって神経突起末端での膜の変化の維持には、細胞体からのコレステロール供給以外に、末端局所でのHDL新生とその取り込みによるコレステロール代謝機構の果たす役割が大きいと考えられる。実際、細胞外液中のHDL-コレステロールがシナプス可塑性維持に重要な役割をもつことが示されている⁹⁾。

いずれにしても、apoE(アポリポ蛋白E)の対立遺伝子 *epsilon 4* がアルツハイマー病発症の危険因子であるとする Strittmatter らの発見⁴⁾ は、アルツハイマー病発症機構における脂質の関与を強く示唆し、その発症機構における脂質研究に論理的根拠を与えた。また、最近の疫学研究によってコレステロールとアルツハイマー病との関連が示されるに及んで、両者の関連に焦点を当てる研究に関心が集まり、その関係が分子レベルで議論されるまでに至った。

① 血清コレステロール高値はアルツハイマー病の危険因子である

複数の疫学研究によって、長期間にわたる高コレステロール血症とアルツハイマー病の発症頻度が相関することが報告され⁵⁾⁻⁷⁾、比較的長期にわたり先行する高コレステロール血症の病歴がアルツハイマー病発症の危険因子であると結論されている。また、先行する高コレステロール血症はアルツハイマー病のみならず mild cognitive impairment (MCI: 軽度認知障害) 発症との間にも有意な相関があることが報告された⁸⁾。

血清コレステロール値と apoE の遺伝子多型との関連については、すでに冠動脈疾患との関連から検討された多くの論文がある。それらによると、血清コレステロール値は apoE2 < apoE3 < apoE4 であり、apoE の遺伝子多型依存的であることが示されている⁹⁾。ほかの報告も同様の結果を示しており、血清コレステロール値の高値という点からアルツハイマー病発症と apoE4 との相

関が見事に一致している。以上の事実は、そのメカニズムは不明ながら、apoE4 は apoE2 や apoE3 に比べて血清コレステロール値を上昇させる点においてアルツハイマー病発症促進にかかわっているといえるかもしれない。

しかしその後、高コレステロール血症についてアルツハイマー病発症との関連を否定する大規模な縦断疫学調査 (Framingham study) の結果が明らかになった。Framingham study は 1950 年にはじまった 5,000 人規模の調査であるが、1988 ~ 1989 年に痴呆症状のない 1,026 人のコホートを解析した今回の研究では、1992 ~ 2000 年に 77 人がアルツハイマー病と診断されたものの、発症前のコレステロール値とアルツハイマー病発症には相関関係がないことが示された¹⁰⁾。したがって両者の関連についてはいまだに確定しているとはいいがたく、さらに今後の検証が必要である。

② コレステロールパラドックス: 高 LDL-コレステロール, それとも低 HDL-コレステロール——どちらが危険因子?

筆者は、高コレステロール血症とアルツハイマー病発症の関連を結論するには慎重でなければならないと考えている。なぜなら、血清中の高コレステロール値あるいは高コレステロール食は、髄液中のコレステロール濃度に影響しないとされる¹¹⁾⁻¹³⁾ からである。仮に、高コレステロール血症がアルツハイマー病の危険因子とするならば、なぜ脳内コレステロール代謝に影響しない高コレステロール血症においてアルツハイマー病が発症しやすくなるのであろうか? 血管性の要素を考慮しないならば、髄液のコレステロール濃度変化(あるいは脳内のコレステロール代謝変動)からは説明できないことになる。われわれは同じデータに対する別の解釈を考えている。確かに apoE のアイソフォームの違いは、血清中の総コレステロール値(あるいは LDL-コレステロール値)と相関をもつ (apoE2 < apoE3 < apoE4)⁹⁾¹⁴⁾¹⁵⁾。しかし、同時に血清 HDL 値は逆相関する (apoE2 > apoE3 > apoE4) ことに注意すべきである⁹⁾¹⁴⁾。この HDL-コレステロール値における apoE のアイソフォーム依存性は、おそらくわれわれが報告したように HDL 新生作用における