

Figure 3. A–C, Autoradiography of AD hippocampal brain section using [^{11}C]BF-158 (B) and immunostaining by anti-tau (A) and anti-A β (C) antibodies in adjacent sections. D–F, Close-up images of A, B, and C, respectively. D, E, Accumulation of [^{11}C]BF-158 (E, arrows) correlates well with tau immunostaining (D).

of these compounds has the advantage in this factor. *In vivo* imaging using a tangle-laden mouse model that accurately reflects AD pathology will elucidate this issue. Furthermore, three tested compounds demonstrated fast clearance from normal brain tissue. This property will contribute to improving the sensitivity of detecting NFT accumulation by minimizing residual background levels of tracer.

The most intriguing point of this study was that BF-126, BF-158, and BF-170 have a preference for tau pathology in AD brain. Results from fluorescence binding assay suggest relatively higher binding affinity to tau fibrils of these three compounds. These compounds also show excellent stainability for tau pathology and little background fluorescence in AD brain. An autoradiographic study using [^{11}C]BF-158 confirmed the accumulation of this tracer in tangle-rich brain regions, emphasizing the binding preference of these compounds to tau pathology in AD brains. However, fluorescence assay data show the binding ability of these agents to A β fibrils. In neuropathological staining, these agents faintly stained amyloid plaques. Thus, these compounds are not completely specific to tau pathology. Nevertheless, our data suggest that these three agents have relatively higher binding affinity to tau pathology rather than to A β pathology in AD brain.

Previous neuropathological research suggests that the deposition of NFTs occurs before the presentation of clinical symptom in AD. Even in the very early stages of AD, patients display considerable numbers of NFTs in the entorhinal cortex and hippocampus, sufficient for the neuropathological diagnosis of AD. Thus, *in vivo* imaging of NFTs in conjunction with imaging SPs

could prove useful for the early and accurate diagnosis of AD. Quantitative evaluation of tau pathology could also be helpful for tracking severity of dementia, because the formation of neuritic pathology correlates well with clinical severity of dementia (Dickson, 1997). NFT deposition in the entorhinal cortex is closely associated with neuronal loss in very early AD patients (Gomez-Isla et al., 1996). Prevention of NFT formation is thus an important target of anti-dementia drugs. If novel treatments that prevent the pathological formation of neurofibrillary pathology could be turned into clinical applications, this imaging technique would be applicable for the evaluation of treatment efficacy.

The general mechanism of abnormal protein aggregation leading to disease is β -sheet formation. AD is accompanied by the formation of two distinct β -sheet aggregates, A β fibrils and PHFs. As is the case with previously reported imaging agents, BF-126, BF-158, and BF-170 recognize β -pleated sheet structure, because staining in AD brain sections was disturbed by pretreatment with formic acid (Kitamoto et al., 1987). Our results suggest that tested compounds display relatively higher binding affinities to PHFs than to A β fibrils. Previous reports describe 2-(1-(2-(2-fluoroethyl)(methyl)amino)-2-naphthyl)ethylidene)malononitrile (FDDNP) as a candidate of tau imaging agent (Agdeppa et al., 2001). This compound is a highly lipophilic agent and specifically labels NFTs as well as SPs in AD brain sections. [^{18}F]FDDNP, the first PET probe to see clinical use for AD patients, reportedly detects the combined signals of SPs and NFTs (Shoghi-Jadid et al., 2002). FDDNP shows high binding affinity to A β fibrils; however, binding affinity to tau fibrils is unknown. Pittsburgh compound B, another promising PET probe, preferentially detects the accumulation of SPs rather than NFTs (Klunk et al., 2003). BF-145 and TZDM (2-[4'-(dimethylamino)phenyl]-6-iodobenzothiazole) also reportedly preferentially recognize SPs (Kung et al., 2003; Okamura et al., 2004b). Why these β -sheet binding agents show such a variety of binding characteristics with SPs and NFTs is not well understood. The diameter of a PHF is 18–20 nm at the widest portion and 8–10 nm at the narrowest portion (Wisniewski et al., 1984), whereas A β fibrils are 7–12 nm in diameter (Sunde et al., 1997). Although the nature of PHF structure remains contentious, both structures share a common pattern, with 4.76 Å meridional spacing and 10.6 Å equatorial spacing, characteristic of a cross- β structure (Berriman et al., 2003; Barghorn et al., 2004). A recent study indicated the presence of multiple ligand-binding sites on A β fibrils (Lockhart et al., 2005). If

Figure 2. A–J, Neuropathological staining of brain sections from cases of AD (A–I), Pick's disease (J), and progressive supranuclear palsy (K). BF-126 (A), BF-158 (B), and BF-170 (C) clearly stained neurofibrillary tangles and neurofibrillary threads. These stainings were consistent with tau immunostaining. In contrast, these compounds faintly stained amyloid plaques, which were clearly stained with thioflavin-S (TFS) in adjacent sections. D–G, Double staining with BF compounds and anti-tau antibody was performed in hippocampal brain sections. D, Cored plaque is clearly visualized by BF-168 using violet and blue filters. A merged image of BF-168 fluorescence using a blue filter and tau immunostaining (green) indicates that BF-168 does not recognize PHF-type neurites. The image of A β immunostaining in an adjacent section closely resembles BF-168 staining. BF-126 (E), BF-158 (F), and BF-170 (G) faintly stain the core and halo of amyloid plaque using a violet filter. However, images using a blue filter closely resemble tau immunostaining. E–I, A merged image indicates that these three compounds preferentially bind to PHF-type neurites (E–G). BF-170 (H), BF-158, and BF-126 (data not shown) did not stain any pathological structures in the section pretreated with formic acid, in contrast to the clear visualization of NFTs in non-pretreated brain sections (I). J, K, Staining of Pick bodies and globose tangles were compared with tau immunostaining in brain sections from cases of Pick's disease (J) and progressive supranuclear palsy (K). Neither Pick bodies (G; green) nor globose tangles (H; green) are detected in brain sections treated with BF-126 and BF-170. Scale bars: A–C, 25 μm ; D–G, 50 μm ; H–I, 400 μm ; J–K, 100 μm .

PHF also includes multiple binding sites for β -sheet binding agents, this factor will contribute to the difference in ligand-binding affinity to SPs and NFTs. The manner of binding between β -sheet binding agents and both NFTs and SPs is not well clarified. However, differences in conformation between SPs and NFTs and differences in ligand-binding sites may result in the diversity of binding properties in these compounds to SPs and NFTs.

Tau lesions are not only the hallmark of AD but are also characteristic of non-AD tauopathy such as PiD and PSP (Goedert, 2004). However, tested compounds did not show any significant binding to pathological lesions in these diseases, implying that both compounds are highly specific to PHFs in AD. Accordingly, these probes are potentially useful for differentiating between AD and other neurodegenerative disorders. For future clinical applications, optimization of the compounds is necessary to assure compound safety, facilitate radiolabeling, and reduce non-specific binding. We are currently investigating the *in vivo* binding characteristics of these optimized probes.

References

- Agdeppa ED, Kepe V, Liu J, Flores-Torres S, Satyamurthy N, Petric A, Cole GM, Small GW, Huang SC, Barrio JR (2001) Binding characteristics of radiofluorinated 6-dialkylamino-2-naphthylethylidene derivatives as positron emission tomography imaging probes for β -amyloid plaques in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 21:RC189(1–5).
- Barghorn S, Davies P, Mandelkow E (2004) Tau paired helical filaments from Alzheimer's disease brain and assembled *in vitro* are based on beta-structure in the core domain. *Biochemistry* 43:1694–1703.
- Berriman J, Serpell LC, Oberg KA, Fink AL, Goedert M, Crowther RA (2003) Tau filaments from human brain and from *in vitro* assembly of recombinant protein show cross-beta structure. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:9034–9038.
- Braak H, Braak E (1991) Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)* 82:239–259.
- Dickson DW (1997) Neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease: a perspective from longitudinal clinicopathological studies. *Neurobiol Aging* 18 [4 Suppl]:S21–S26.
- Goedert M (2004) Tau protein and neurodegeneration. *Semin Cell Dev Biol* 15:45–49.
- Gomez-Isla T, Price JL, McKeel Jr DW, Morris JC, Growdon JH, Hyman BT (1996) Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J Neurosci* 16:4491–4500.
- Hasegawa M, Smith MJ, Goedert M (1998) Tau proteins with FTDP-17 mutations have a reduced ability to promote microtubule assembly. *FEBS Lett* 437:207–210.
- Kitamoto T, Ogomori K, Tateishi J, Prusiner SB (1987) Formic acid pretreatment enhances immunostaining of cerebral and systemic amyloids. *Lab Invest* 57:230–236.
- Klunk WE, Wang Y, Huang GF, Debnath ML, Holt DP, Shao L, Hamilton RL, Ikonomic MD, DeKosky ST, Mathis CA (2003) The binding of 2-(4'-methylaminophenyl)benzothiazole to postmortem brain homogenates is dominated by the amyloid component. *J Neurosci* 23:2086–2092.
- Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt DP, Bergstrom M, Savitcheva I, Huang GF, Estrada S, Ausen B, Debnath ML, Barletta J, Price JC, Sandell J, Lopresti BJ, Wall A, Koivisto P, Antoni G, Mathis CA, et al. (2004) Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol* 55:306–319.
- Kung MP, Skovronsky DM, Hou C, Zhuang ZP, Gur TL, Zhang B, Trojanowski JQ, Lee VM, Kung HF (2003) Detection of amyloid plaques by radioligands for A β 40 and A β 42: potential imaging agents in Alzheimer's patients. *J Mol Neurosci* 20:15–24.
- Kung MP, Hou C, Zhuang ZP, Skovronsky D, Kung HF (2004) Binding of two potential imaging agents targeting amyloid plaques in postmortem brain tissues of patients with Alzheimer's disease. *Brain Res* 1025:98–105.
- Lee VM, Balin BJ, Otvos Jr L, Trojanowski JQ (1991) A68: a major subunit of paired helical filaments and derivatized forms of normal tau. *Science* 251:675–678.
- Lockhart A, Ye L, Judd DB, Merritt AT, Lowe PN, Morgenstern JL, Hong G, Gee AD, Brown J (2005) Evidence for the presence of three distinct binding sites for the thioflavin T class of Alzheimer's disease PET imaging agents on beta-amyloid peptide fibrils. *J Biol Chem* 280:7677–7684.
- Mathis CA, Wang Y, Klunk WE (2004) Imaging beta-amyloid plaques and neurofibrillary tangles in the aging human brain. *Curr Pharm Des* 10:1469–1492.
- Nordberg A (2004) PET imaging of amyloid in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 3:519–527.
- Okamura N, Suemoto T, Shimadzu H, Suzuki M, Shiomitsu T, Akatsu H, Yamamoto T, Staufenbiel M, Yanai K, Arai H, Sasaki H, Kudo Y, Sawada T (2004a) Styrylbenzoxazole derivatives for *in vivo* imaging of amyloid plaques in the brain. *J Neurosci* 24:2535–2541.
- Okamura N, Suemoto T, Shiomitsu T, Suzuki M, Shimadzu H, Akatsu H, Yamamoto T, Arai H, Sasaki H, Yanai K, Staufenbiel M, Kudo Y, Sawada T (2004b) A novel imaging probe for *in vivo* detection of neuritic and diffuse amyloid plaques in the brain. *J Mol Neurosci* 24:247–255.
- Price JL, Morris JC (1999) Tangles and plaques in nondemented aging and "preclinical" Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 45:358–368.
- Shoghi-Jadid K, Small GW, Agdeppa ED, Kepe V, Ercoli LM, Siddarth P, Read S, Satyamurthy N, Petric A, Huang SC, Barrio JR (2002) Localization of neurofibrillary tangles and beta-amyloid plaques in the brains of living patients with Alzheimer disease. *Am J Geriatr Psychiatry* 10:24–35.
- Small GW, Agdeppa ED, Kepe V, Satyamurthy N, Huang SC, Barrio JR (2002) *In vivo* brain imaging of tangle burden in humans. *J Mol Neurosci* 19:323–327.
- Sunde M, Serpell LC, Bartlam M, Fraser PE, Pepys MB, Blake CC (1997) Common core structure of amyloid fibrils by synchrotron X-ray diffraction. *J Mol Biol* 273:729–739.
- Wisniewski HM, Merz PA, Iqbal K (1984) Ultrastructure of paired helical filaments of Alzheimer's neurofibrillary tangle. *J Neuropathol Exp Neurol* 43:643–656.

特集 アルツハイマー病研究の最前線—基礎と臨床

アルツハイマー病とアポリポ蛋白E

道川 誠

神経研究の進歩

第49巻 第3号 別刷

2005年6月10日 発行

医学書院

特集 アルツハイマー病研究の最前線—基礎と臨床

アルツハイマー病とアポリポ蛋白 E*

道川 誠**

アポリポ蛋白 E4 は、アルツハイマー病 (AD) の最も強力な危険因子である。AD 発症におけるアポリポ蛋白 E の、アイソフォーム依存的分子機構に関して多くの研究がなされ、いくつかの仮説が提唱されるに至った。例えば、Amyloid β -蛋白 (A β) の沈着・除去や、老人斑形成に対する作用、抗酸化作用、細胞骨格蛋白に対する作用、神経原線維変化形成に対する作用、脳内コレステロール代謝に対する作用などにおける、アポリポ蛋白 E のアイソフォーム依存性である。こうした多くの作用の中で、何が疾患発症に本質的かについては、未だ結論に至っていないが、治療や予防の戦略として、多岐にわたる試みがなされる可能性を示唆している。

キーワード：アポリポ蛋白 E, コレステロール, 老人斑, タウ蛋白リン酸化

はじめに

＜Apolipoprotein E：その様々な作用仮説の提示＞

アポリポ蛋白 E4 (ApoE4) がアルツハイマー病の危険因子であることが、1993年に明らかになった (Corder et al, 1993)。その後 apoE4 がいかんしてアルツハイマー病発症に関わるかについて、生化学的、細胞生物学的、および遺伝子改変動物を用いた研究が行われた結果、アイソフォーム特異的な作用が複数明らかにされ、疾患発症を説明する仮説として提唱されるに至った。例えば、apoE アイソフォーム特異性の観点から、Amyloid β -蛋白 (A β) の沈着や除去、そして老人斑形成に対する作用 (LaDu et al, 1994; Ma et al, 1994; Sanan et al, 1994; Martel et al, 1997; Bales et al, 1999; Holtzman et al, 2000)、抗酸化作用を介した神経細胞防御システムとしての作用 (Miyata & Smith 1996; Tamaoka et al, 2000; Lauderback et al, 2002)、細胞骨格蛋白の構造と機能に対する作用 (Nathan et al,

1994; Nathan et al, 1995)、タウ蛋白リン酸化状態および神経原線維変化形成に対する作用 (Strittmatter et al, 1993; Tesseur et al, 2000a)、細胞内シグナル伝達に対する作用 (Herz & Beffert 2000)、脳内コレステロール代謝に対する作用 (Michikawa et al, 2000; Gong et al, 2002)、そして脳細胞内アンドロゲン受容体の発現量に対する作用 (Raber et al, 1998; Raber et al, 2002) などである。しかし、これら多くの apoE の作用の中で、実際の脳内で最も重要な役割を果たし、apoE4 によるアルツハイマー病発症に最も影響しているものは何かについては、未だ結論に至っていない。したがって、apoE アイソフォーム特異的作用の調節・制御による予防や、治療法開発に向けたメカニズムの検討は今後に残された課題となっている。本稿では、主に 1993 年以降に行われた apoE 研究の中から、アイソフォーム特異性に着目した研究を、apoE の構造や機能といった基本的な事項とともに紹介し、アルツハイマー病発症メカニズム解明を目指す apoE 研究の現状をお伝え

2005年2月2日受稿

* Apolipoprotein E and Alzheimer's disease.

** 国立長寿医療センター研究所アルツハイマー病研究部発症機序解析研究室長 (〒474-8522 愛知県大府市森岡町源吾 36-3) Makoto MICHIKAWA : Department of Alzheimer's Disease Research, National Institute for Longevity Sciences, 36-3 Gengo, Morioka, Obu, Aichi 474-8522, Japan.

0001-8724/05/ ¥500/論文/JCLS

表 1 各 apoE アイソフォーム間で異なるアミノ酸

	112	158
ApoE2	システイン	システイン
ApoE3	システイン	アルギニン
ApoE4	アルギニン	アルギニン

各 apoE のアイソフォームは、112 番目および 158 番目のアミノ酸残基の違いによって区別される。

できれば幸甚である。また、筆者らが行っているコレステロール代謝からの apoE 研究についても、少し誌面を割いて述べたい。

I. ApoE 遺伝子多型とアルツハイマー病

ApoE は 299 のアミノ酸から成る 34 kDa の蛋白質であり、apoE2, apoE3, apoE4 の主要な 3 つのアイソフォームが存在する (Mahley, 1988)。ApoE2, apoE3, apoE4 のアイソフォームの違いは、112 番目と 158 番目のアミノ酸が 1 つずつ異なることによってもたらされており、apoE3 は 112 番目がシステインで 158 番目がアルギニンであるが、apoE2 は両方ともシステインであり、apoE4 は両方ともアルギニンである (表 1 参照)。これら apoE 蛋白質は、それぞれ 3 つの対立遺伝子 $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ の遺伝子産物である。人種による差異はあるものの、これらの遺伝子多型の中で apoE $\epsilon 3/\epsilon 3$ 型が最も多く、およそ全体の 50~70% を占めるとされ、 $\epsilon 3$ 遺伝子をもつ割合は全体の 70~80% に達することが示されている (Dai et al, 1994; Yoshizawa et al, 1994)。これに対して、 $\epsilon 2$ および $\epsilon 4$ の遺伝子頻度は、10~15% および 5~10% を占めるに過ぎない。

既述したように、この $\epsilon 4$ 遺伝子を持つ頻度がアルツハイマー病で有意に高まるという 1993 年の発見が、その後のアルツハイマー病研究に大きな影響を与えた。実はそれ以前に、すでに apoE が細胞外に沈着する老人斑あるいは細胞内に形成される神経原線維変化と共局在していることが報告され (Namba et al, 1991; Wisniewski & Frangione, 1992)、apoE とアルツハイマー病病理との関連が示されていた。しかし apoE とアルツハイマー病発症そのものとの関連を明確に明らかにしたのは、1993 年に続けて発表された歴史的な論文である。すなわち $\epsilon 4$ 遺伝子を持つ頻度が、late-onset の家族性アルツハイマー病で著しく高いことを示した報告であり (Strittmatter et al, 1993)、この傾向を孤発型アルツハイマー病でも確認した報告であり (Saunders et al, 1993)、さらに $\epsilon 4$ 遺伝子を多く持つほど発症の危険が増大し、発症が早まること ($\epsilon 4$ アリ

ル数依存性) を明らかにした報告である (Corder et al, 1993)。例えば、 $\epsilon 4$ 遺伝子が 1 つ増加することによってアルツハイマー病になる危険度は 20% から 90% に増大し、また発症年齢は 84 歳から 69 歳に早まるのである (Corder et al, 1993)。これらの結果は、わが国においても早速検討され、翌年にはアルツハイマー病患者における $\epsilon 4$ 遺伝子の頻度は 30% 以上に上昇していることが、複数のグループによって示された (Dai et al, 1994; Okuizumi et al, 1994; Yoshizawa et al, 1994)。また、別の側面からの研究として、頭部外傷はアルツハイマー病の危険因子のひとつと考えられているが、そのメカニズムに apoE が関与していることを示唆する解析結果も報告された。すなわち、頭部外傷後に amyloid β 蛋白質の沈着した人の apoE 遺伝子型を調べたところ、apoE $\epsilon 4$ 遺伝子の割合が 52% であったという結果である (Nicoll et al, 1996)。これは外傷後に起こる事から、例えば、神経修復 (コレステロール供給などが重要な要素となる) などに apoE が重要な役割を果たしていることを示唆していると筆者は考えている。さらに家族性アルツハイマー病との関連では、最近 PS1 に遺伝子変異を持つ家族性アルツハイマー病の家系においても、apoE $\epsilon 4$ 遺伝子を持つ人では発症が早まることが報告されており (Pastor et al, 2003)、apoE4 は原因遺伝子 PS1 の作用に相加的に働き、発症を早めている可能性が示されている。

II. 脳内における apoE 産生とその制御

従来から、apoE はアストロサイトやオリゴデンドロサイト、あるいは上皮細胞によって産生され、神経細胞では産生されないと考えられてきた (Basu et al, 1981; Boyles et al, 1985; Poirier et al, 1991)。しかし近年の研究から、アストロサイトに比べれば濃度が低いものの、脳内の神経細胞において apoE が発現されることが蛋白レベルおよび mRNA レベルで確認され、しかも低濃度で作用を持つことが報告された (Xu et al, 1999; Aoki et al, 2003a; Harris et al, 2004)。筆者らの検討では、少なくとも神経細胞の純粋培養系においては、apoE の分泌はウエスタンブロット解析の検出限度以下であることから、例えばコレステロール搬出作用などは引き起こさないと考えられる。したがって、神経細胞での apoE 産生の意義は、低濃度でも効率的に働く機序に関わっている可能性がある。あるいは、apoE の発現が上昇するとされる脳外傷や脳血管障害による組織障害後などに (Poirier et al, 1991; Aoki et al, 2003b)、神経細胞由来の apoE が作用を発揮するのかもしれない。

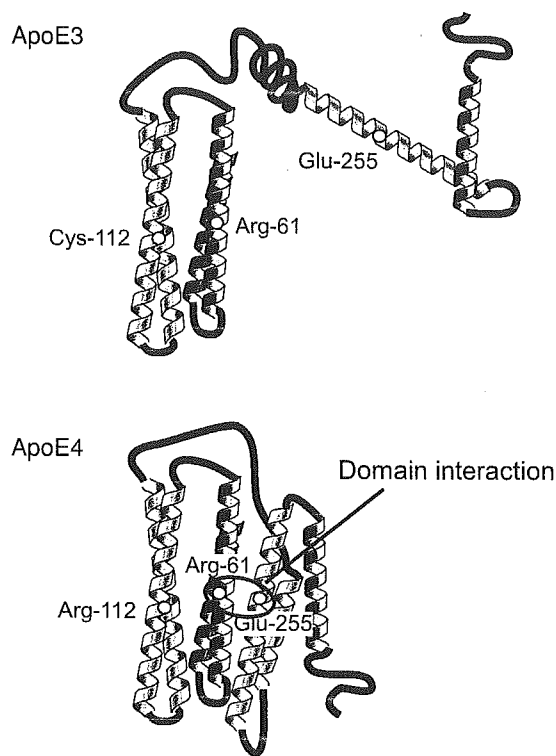


図 1 Domain interaction induced by salt bridge between Arg-61 and Glu-255 in apoE4

ApoE の構造 (論文 Xu et al, J Biol Chem, 279 : 25511-25516, 2004 の Fig. 5 より許可を得て改変)

III. ApoE の構造と機能

それでは、以上述べた apoE のアイソフォーム特異性を支える分子メカニズムは何であろうか。すでに表 1 で示したように、各 apoE アイソフォームの違いはアミノ酸 1 分子の違いによることから、理論的にはこれらアミノ酸の違いから引き起こされる apoE の構造の違い (apoE 分子内あるいは apoE 分子間の相互作用による) に起因するか、異なるアミノ酸そのものの持つ生物作用の違いに起因するかである。

1. ApoE4 ドメイン相互作用 (分子内相互作用) 仮説

ApoE4 は 2 つの構造的ドメインを持つことがわかっている。すなわち 22-kDa の N 端側ドメイン (アミノ酸残基 1-191) と 10-kDa の C 端側ドメインである。前者は LDL 受容体結合領域を含み、後者は脂質あるいはリポ蛋白結合領域を含む。ApoE4 のみが、この 2 つのドメイン間に特異的な相互作用がみられ、その構造をコンパクトなものとしてい

る (Dong et al, 1994) (図 1 参照)。X 線構造解析による結果から、apoE4 の N 端側ドメインにある 112 番目のアルギニンと、電気的に反発した 61 番目のアルギニンが C 端側ドメイン 255 番目にあるグルタミン酸と salt bridge を形成して、コンパクトな三次構造を作るが、apoE2 や apoE3 ではアルギニン 61 は異なるコンフォメーションをとるので、N 端側ドメインと C 端側ドメインは開いた分子構造になると考えられている (Dong et al, 1994 ; Dong & Weisgraber, 1996)。この構造上の違いが、例えば apoE4 は粒子サイズの大きな VLDL と結合しやすいのに比べ (Dong & Weisgraber, 1996)、apoE2 と apoE3 は粒子サイズの小さな HDL に結合しやすいという、アイソフォーム特異的作用の違いを生んでいると考えられている (Weisgraber, 1990)。筆者らも、コレステロール搬出と HDL 新生作用に apoE アイソフォーム特異性があること (apoE3 > apoE4) を発見したが (Michikawa et al, 2000 ; Gong et al, 2002)、その違いがドメイン間相互作用のない

apoE3型構造をとる変異 apoE4 (グルタミン酸 255 をアラニンに変換したもの) では消失することを見出している (未発表データ)。

2. ApoE 分子間相互作用

すでに述べたように, apoE2, apoE3, および apoE4 はそれぞれ 2, 1, および 0 個のシステインを持っている。したがって apoE2 および apoE3 は, disulfide 結合によってホモあるいはヘテロ 2 量体を形成する可能性がある。ApoE 間による disulfide 結合は, すでに血液中で確認され, 血漿中の apoE3 の約 55% は 2 量体として存在すること, しかもこれがアーティファクトではないことが確認されている (Weisgraber & Shinto, 1991)。当然ながら, このような apoE 分子間の相互作用は, apoE 機能を左右する。システイン 112 は N 端側ドメインに存在するが, 2 量体を形成した apoE は, N 端のみならず C 端側ドメイン機能, 例えば受容体結合効率や脂質との結合効率などに影響を及ぼすと考えられる。実際に 2 量体を形成した apoE3 は, 単体に比べて HDL への結合親和性が有意に増加することがわかっている (Weisgraber & Shinto, 1991)。

3. ApoE の安定性

ApoE は, 3 つの主要なアイソフォームとも同程度の α -helix 構造を持つこと (56~60%) がわかっている。塩酸グアニジン濃度変化および温度変化による変性実験によると, apoE4 が最も不安定である (apoE4 < apoE3 < apoE2 の順) ことが示され, apoE アイソフォーム依存的な分子の不安定さが, アイソフォーム特異的な生物活性を一部説明できる可能性がある。

IV. アルツハイマー病病理と apoE

1. A β 除去, 老人斑形成への影響

脳内 A β 濃度の上昇や A β 沈着が, アルツハイマー病病態の中心的な役割を果たすと考えられている。初期に行われた *in vitro* の研究では, アルツハイマー病病理の鍵分子である A β と apoE との関連が検討され, A β と apoE が SDS や塩酸グアニジンに抵抗性である複合体を形成するが, apoE4 のほうが apoE3 よりも結合速度が速く (Strittmatter et al, 1993), さらに長いインキュベーションによって, apoE4 のほうが線維化 A β を形成しやすいと報告された (Ma et al, 1994; Sanan et al, 1994; Wisniewski et al, 1994)。これらの結果は, apoE がアイソフォーム特異的に A β と結合すること, すなわち apoE4 のほうが結合しやすく, それによって毒性の強い A β の重合体や線維化 A β を形成, ひいては老人斑の沈着を誘導すると理解された。しかし, この結果と異なる結果, すなわち A β との結合や

線維化促進・抑制に, apoE アイソフォーム特異性はないとの結果も報告されている (Naiki et al, 1997)。一方, 脂質と結合した apoE では, A β との結合結果が異なることが明らかにされた。すなわち生理的な条件下では, apoE は主に HDL 粒子と結合して存在する (あるいは HDL 粒子を新生する能力を持つ) が, これらの apoE-HDL 複合体を用いると, A β に対して apoE3 は apoE4 の 20 倍以上の結合親和性を示すことが明らかになった (LaDu et al, 1994; LaDu et al, 1995)。これらの結果から, apoE3 のほうが A β により強く結合し複合体を作りやすいために A β の除去能力に優れ, そのためにより毒性の強い A β への転換を防いでいると考えることができる。脳内には HDL しか存在せず, その新生と輸送, さらに細胞への取り込みを制御しているのが apoE である。しかもアストロサイトから分泌された apoE は, アストロサイトの細胞膜脂質を搬出して HDL を新生するが, apoE 1 分子あたりの能力は apoE3 > apoE4 である (Michikawa et al, 2000; Gong et al, 2002)。つまり, apoE3 はより多くの HDL 粒子を新生すること, さらに A β への結合親和性が高いという二重の意味で, A β をより効率的に除去できると考えることができるかもしれない。

さらに, apoE の A β 沈着に対する役割に関する研究がある。V717F 変異を持つヒトアミロイド前駆体蛋白質 (APP) のトランスジェニックマウスを作り, これと apoE 欠損マウスとを交配させたマウスを解析すると, 脳内における A β 沈着が劇的に減少したのである (Bales et al, 1999)。しかし, その後, apoE 欠損マウスにヒトの apoE3, apoE4 を導入したマウスを作って同様の実験をしたところ, ヒトの apoE は, さらに A β 沈着を減少させたのである (Holtzman et al, 1999; Holtzman et al, 2000)。しかも, この減少は apoE3 > apoE4 であった。以上の結果をまとめると, 当初 Bales らの結果から rodent の apoE は A β の沈着に必須であると思われたが, 実はヒト apoE は, apoE ノックアウトマウス脳内に沈着する A β の除去に効率よく働くこと, そこに apoE アイソフォーム特異性があることがわかったのである。しかしその後, apoE4 を過剰発現させてもトランスジェニックマウス脳内における A β 沈着には変化が無いとする報告もあり (Lesuisse et al, 2001), この議論はもう一度整理する必要がある。以上の論点の他に筆者の注目する点を挙げれば, apoE^{+/+} と apoE^{-/-} マウスの双方の脳内で A β 沈着が起こるのだが, その沈着部位に明瞭な違いがある点である (Holtzman et al, 1999)。すなわち, apoE^{+/+} マウスでは海馬 CA1~CA2 に老人斑形成が限局されてい

るのに対し、apoE^{-/-}マウスでは海馬歯状回に局限した沈着がみられる。これは論文の著者たちも指摘していないが、重要で興味ある問題であると筆者は考える。ApoEの発現・非発現でAβの沈着する部位が異なるとすれば、apoEは脳の部位別に異なる作用を持つことを意味し、同時にAβ沈着メカニズムも脳の部位によって異なることを示すことになるからである。

2. ApoEとタウ蛋白

ApoEとタウ蛋白との関連は、apoEε4がアルツハイマー病の危険因子であると報告したグループによって翌1994年に指摘された。すなわち、apoE3は、そのN端側ドメインを介してタウ蛋白と結合しSDS抵抗性の複合体を形成するが、apoE4は形成しないというものである(Strittmatter et al, 1993)。しかし、細胞質に存在するタウ蛋白がなぜ分泌蛋白であるapoEと関係するのかが不明であり、ホモジナイズ時のアーチファクトの可能性もある。その後、ヒト型タウ蛋白を神経細胞で発現させたマウスではタウ蛋白のリン酸化亢進が起こるが、アストロサイトに発現させたマウスではリン酸化亢進が起こらなかったことから、タウ蛋白に対するapoEの影響は神経細胞特異的であるとする報告(Tesseur et al, 2000b; Tesseur et al, 2000a)、さらに神経原線維変化にapoEのC端断片が蓄積するとの報告(Huang et al, 2001)があることから、何らかの直接相互作用の可能性も残されており、今後の検討が必要である。

V. ApoEと認知能力

内因性のapoEを発現していないマウスに、ヒトapoE3, apoE4を発現したトランスジェニックマウス(tg)を用いた研究により、apoE4-tgマウスは水迷路試験などによって学習能力が低下していることが示された(Raber et al, 2000)。こうした学習障害は加齢とともに増悪し、またメスにのみみられた(Raber et al, 1998; Raber et al, 2002)。これらマウス脳の病理学的解析では、apoE-nullマウス脳でみられた加齢依存的な神経細胞変性をapoE3は抑制していたが、apoE4は抑制しなかった(Buttini et al, 1999)とされる。また、他のtgマウス系統を用いた研究からも、apoE4 tgマウスでは、著しいワーキング記憶の低下がみられたとする報告がある(Hartman et al, 2001)。今までは、apoE4型のヒトであっても発育・成長には影響がないと考えられてきたことから、これらがマウスのみに見られることなのか、ヒトにも当てはまることか、さらに加齢依存的・性差があるのか等について、慎重に検討する必要がある。

VI. 脳内コレステロール代謝と apoE

1. 脳内コレステロール代謝の特異性

以上のように、apoEの持つ作用には実に様々な作用が提唱されているが、さらにここで脂質代謝—特にコレステロール代謝とapoEとの関連を議論する必要がある。1つには、従来からapoEは抹梢細胞からのHDL新生作用を持つことが知られていること、さら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であり、スタチン服用によりアルツハイマー病発症を抑制することが報告されているためである。すなわち、脳内コレステロール代謝とapoEのアイソフォーム依存性を関連づけた議論が展開できる可能性が出てきたためである。しかし、以下の状況から、脳内コレステロール代謝からのアプローチには困難が伴った。従来のコレステロールを含む脂質代謝研究は、主に血液—血管系で行われてきたために対象臓器は肝臓や血管であり、対象細胞は血管内皮細胞、線維芽細胞、肝細胞、各種細胞株など非神経系細胞であった。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かったのである。中枢神経系は、血液脳関門によって体循環系から隔てられているために独立したコレステロール代謝系を営み、体循環系の知識をそのまま援用することができない。ここに脳内コレステロール代謝の側面から、apoEの問題やアルツハイマー病発症機構へのアプローチが困難になる理由の1つがある。

2. 神経系細胞におけるコレステロール代謝の特異性

エステル化されていないコレステロールは、すべての細胞膜を構成する重要な脂質である。しかし、中枢神経系でのコレステロールの持つ意義について特筆すべきは、脳を構成する脂質量の多さと神経系細胞構造の特異性がある。中枢神経系の重量は体重の2.1%に過ぎないが、体全体の23%の非エステル化コレステロールを含むことが知られている。多くの動物における中枢神経の発達は、生後数週間から数年の間に起こるが、ミエリネーションや神経ネットワークの構築などの分化・発達に必要とされるコレステロールは、すべて脳内での産生に依存し、食事からの供給にはよらないことがわかっている。さらに構造の特徴として、神経細胞の形態および機能が他の細胞と大きく異なる点と、よく発達したミエリン構造としての膨大な膜成分の存在があげられる。神経細胞は、莫大な膜面積を

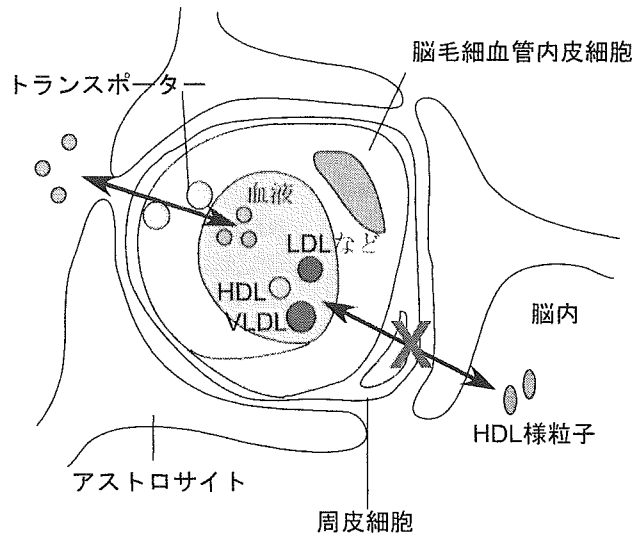


図2 血液脳関門を挟んで存在するリポ蛋白質の種類は全く異なる
血液脳関門間の物質輸送は、各種トランスポーターによって行われているが、リポ
蛋白自体は輸送されないと考えられる。

有する神経突起を有することが知られており、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とされる (Craig & Banker, 1994)。したがって、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、例えばシナプス可塑性の維持や外傷後の修復などに十分に対応できない。実際、シナプス可塑性が起こっている突起末端では、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 (Okabe et al, 1999)。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 (Hayashi et al, 2004)。そもそも非神経細胞に“末端”はありえないから、こうした意味でも神経細胞におけるコレステロールの意義は特異的である。神経突起末端での膜の変化の維持に、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ことを示す研究として、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 (Mauch et al, 2001)。

3. 血液脳関門とコレステロール代謝

体循環系と脳内との間には、血液脳関門 (図2) が存在するために、脳内には体循環系とはその制御が異なった独自のコレステロール代謝系が存在する。例えば、血液中にはLDL, VLDL, IDL, HDL, カイロミクロンなどのリポ蛋白 (脂質とタンパク質から成る粒子) が存在し、血液中でそれぞれが運搬・代謝されてい

るが、中枢神経系 (脳脊髄液中) にはHDLのみが存在する。これは、血液脳関門 (図3) によって血液中のLDL, VLDL, IDL, カイロミクロンなどのリポ蛋白が、脳内に入れられないことを示している。

VII. アルツハイマー病とコレステロール代謝

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が報告されている (Notkola et al, 1998)。こうした先行する高コレステロール血症の存在は、アルツハイマー病のみならず mild cognitive impairment (MCI) 発症率をも高めるということも報告された (Kivipelto et al, 2001)。

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、すでに多くの論文がある。それらによれば、血清コレステロール値は apoE2 < apoE3 < apoE4 の順であることが示されている (Braeckman et al, 1996; Kallio et al, 1997; Frikke-Schmidt et al, 2000)。これは、なぜ apoE4 がアルツハイマー病の危険因子であるかについて、血清コレステロール値の高値から説明でき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が高くなり、そのためにアルツハイマー病発症が促進されるというわけである。では、本当に血清コレステロール高値は、中枢神経系のコレステロール値と相関するのであろうか? しかし、血清のコレステロール値と髄液中のそ

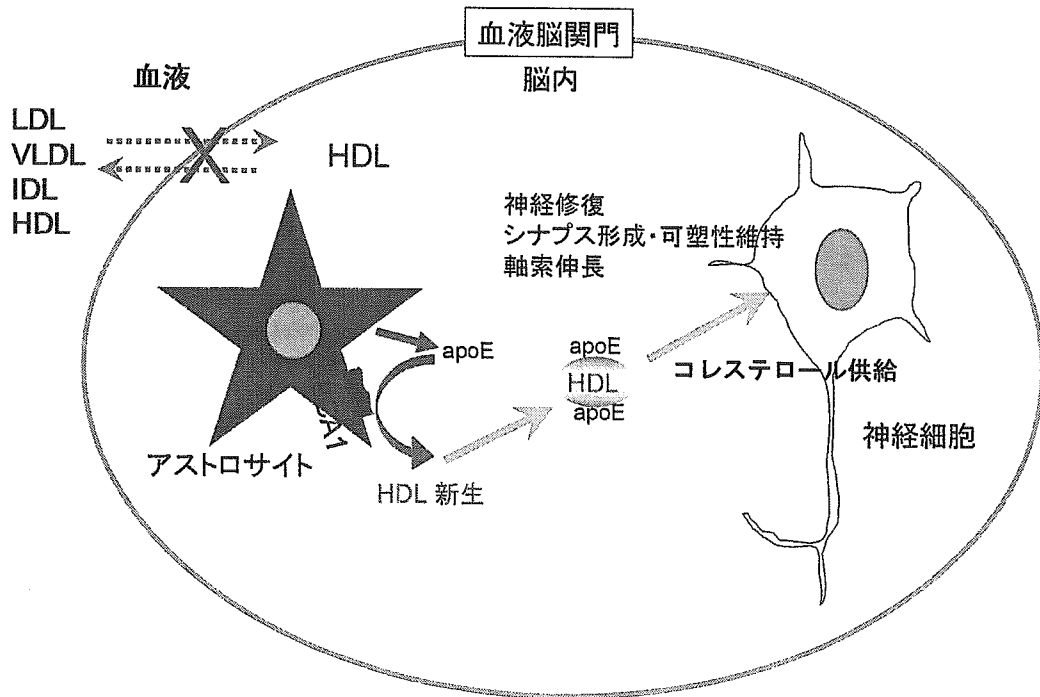


図3 Apolipoprotein Eによって制御される脳内コレステロール輸送

れとは相関がないとされている (Fagan et al, 2000)。その原因はすでに述べたように、血液脳関門の存在によると考えられる。これらの結果が事実ならば、「先行する高コレステロール血症」は、髄液(または脳内)コレステロール代謝には関係ないメカニズム(例えば血管性の要素などを介して)で、アルツハイマー病を引き起こしていることになる。これに対して筆者は、別の解釈があるのではないかと考えている。すなわち、血清HDL-コレステロール値に着目すると、その値は高い順に apoE2>apoE3>apoE4 になるのである (Braeckman et al, 1996 ; Frikke-Schmidt et al, 2000)。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、筆者らが報告したように、apoE によるコレステロール搬出作用(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 (Michikawa et al, 2000 ; Gong et al, 2002)。この考え方は、アルツハイマー病患者血清では LDL コレステロールは高値だが、HDL コレステロールは低値である、あるいは髄液 HDL コレステロール値がアルツハイマー病患者で低値であるという結果に矛盾しない (Demeester et al, 2000)。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、着目すべきリポ蛋白の種類(LDL か HDL か)によって異なる可能

性がある。

さて、血清コレステロール高値がアルツハイマー病の危険因子であることそのものを否定するデータが、いくつか発表されていることも付け加えておきたい。例えば、Reitz らは、高コレステロール血症はむしろアルツハイマー病発症を抑制し、スタチン服用でアルツハイマー病発症頻度を下げることができないとしている (Reitz et al, 2004)。このような乖離がなぜ起こるのかは、今後の検討に待つほかないが、筆者は中枢神経系の疾患であるアルツハイマー病を、血清コレステロール値で議論すること自体にそもそも限界があるためではないかと考えている。

なぜ HDL-コレステロールに着目するのか。それは、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からである。ゆえに、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。血液中ではアポリポ蛋白 AI (apoAI) が HDL 形成に主要な役割を果たすため、末梢細胞が apoAI-HDL を取り込み、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転送される(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、中枢神経系に存在する

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 は取り込まれ再利用されるため、apoE-HDL 複合体は体循環系の LDL のように、脂質供給作用を持つからである (図 3)。

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。筆者らはアストロサイトにおける apoE による HDL 新生能は、 $\text{apoE2} > \text{apoE3} > \text{apoE4}$ であることを見出し (Gong et al, 2002), apoE3 は apoE4 に比し HDL 新生能、すなわちコレステロール供給能に優れることを明らかにした。中枢神経系内で産生される HDL-コレステロールの神経細胞への供給が、脳外傷後の神経修復・シナプス修復 (Mauch et al, 2001; Hayashi et al, 2004), あるいは脳組織修復 (Tada et al, 2004) に重要な役割を果たすことが示されている。したがって、定常状態では差がないものの、外傷や神経障害などからの回復期に apoE 依存的 HDL 新生と、その供給が大きな役割を果たすと考えられ、その能力の差が疾患発症を左右する可能性があると考えられる。

ApoE とコレステロール代謝を考える際に重要なのは、どこのコレステロール代謝であるかを述べた。つまり血液中か髄液中か、脳内か神経細胞内か、LDL か HDL か、などである。しかし、さらに注目すべきことに、細胞内の各小器官間、あるいは細胞膜 (脂質二重膜) の外側と内側を区別して解析してみると、意義のある結果が現れることがある。細胞膜のコレステロール分布は脂質二重膜の外側と内側で異なること、外側膜においても均一でないこと (lipid rafts) が知られている。特にシナプス膜におけるコレステロール分布は、加齢によって外側に分布するコレステロール量が増加するとされる (Igbavboa et al, 1996)。そこで加齢させた apoE3 と apoE4 ノックインマウス脳のシナプス膜におけるコレステロール分布を定量したところ、膜全体のコレステロール量は変化がないにも関わらず、外側に分布するコレステロール量が apoE4 型では apoE3 に比し 2 倍以上増加していたという (Hayashi et al, 2002)。膜におけるコレステロール濃度は、酵素活性、イオンチャンネル、シグナル伝達をはじめ様々な細胞機能に関わる重要な因子であることから、この変化は重要である。なぜこうした分布の違いができるのかは不明であるが、あるいは apoE による膜コレステロールの搬出能力の差 ($\text{apoE3} > \text{apoE4}$) に原因が求められる可能性がある。

VIII. 今後の展望

ApoE4 が最も強い危険因子であることが指摘されて 11 年が経過し、さらにコレステロール代謝変動とアルツハイマー病との強い相関が指摘されているにも関わらず、これらに関する知見からの有力な予防法や治療法は未だ確立していない。現在、臨床的に認められている治療薬は抗アセチルコリンエステラーゼ阻害剤のみであるが、興味深いことに apoE4 型の患者は、そのうちの 1 つであるタクリンに対する反応が悪いことが報告されている (Poirier et al, 1995)。これが本当だとすれば、apoE4 型のアルツハイマー病患者に焦点を当てた有効な治療法を開発する必要がある。今までの研究から apoE は実に多様な機能を持つがゆえに、アルツハイマー病発症にも複数のメカニズムを介して関わっている可能性がある。したがって、治療標的も複数存在することになる。理論的あるいは予備的研究から、apoE4 のドメイン間相互作用の抑制、apoE3 の脳内遺伝子導入による A β 沈着の抑制 (Dodart et al, 2005), apoE 発現調節 (スタチンや FGF-1 などが apoE 発現を強めることが知られている), 他の lipid acceptor による HDL 形成の調節, apoE4 依存的な A β 凝集の抑制 (Sadowski et al, 2004), apoE4 型に対する酸化剤や神経保護薬の投与などが挙げられ (Raber et al, 2002), 今後それぞれのメカニズムに応じた研究を通じて予防法や治療法の開発が求められている。

文 献

- 1) 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 (Berl)* 106: 436-440, 2003a
- 2) 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, 2003b
- 3) Bales KR, Verina T, Cummins DJ, Du Y, Dodel RC, Saura J, Fishman CE, DeLong CA, Piccardo P, Petegnief V, Ghetti B, Paul SM: Apolipoprotein E is essential for amyloid deposition in the APP (V717F) transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 15233-15238, 1999
- 4) Basu SK, Brown MS, Ho YK, Havel RJ, Goldstein JL: Mouse macrophages synthesize and secrete a protein resembling apolipoprotein E. *Proc Natl Acad Sci U S A* 78: 7545-7549, 1981
- 5) Boyles JK, Pitas RE, Wilson E, Mahley RW, Taylor JM: Apolipoprotein E associated with astrocytic glia of the central nervous system and with nonmyelinating glia of

- the peripheral nervous system. *J Clin Invest* 76 : 1501-1513, 1985
- 6) 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* 120 : 67-73, 1996
 - 7) Buttini M, Orth M, Bellosta S, Akeefe H, Pitas RE, Wyss-Coray T, Mucke L, Mahley RW : Expression of human apolipoprotein E3 or E4 in the brains of ApoE^{-/-} mice : isoform-specific effects on neurodegeneration. *J Neurosci* 19 : 4867-4880, 1999
 - 8) Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA : Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261 : 921-923, 1993
 - 9) Craig AM, Banker G : Neuronal polarity. *Annu Rev Neurosci* 17 : 267-310, 1994
 - 10) Dai XY, Nanko S, Hattori M, Fukuda R, Nagata K, Isse K, Ueki A, Kazamatsuri H : Association of apolipoprotein E4 with sporadic Alzheimer's disease is more pronounced in early onset type. *Neurosci Lett* 175 : 74-76, 1994
 - 11) Demeester N, Castro G, Desrumaux C, De Geitere C, Fruchart JC, Santens P, Mulleners E, Engelborghs S, De Deyn PP, Vandekerckhove J, Rosseneu M, Labeur C : Characterization and functional studies of lipoproteins, lipid transfer proteins, and lecithin : cholesterol acyltransferase in CSF of normal individuals and patients with Alzheimer's disease. *J Lipid Res* 41 : 963-974, 2000
 - 12) Dodart JC, Marr RA, Koistinaho M, Gregersen BM, Malkani S, Verma IM, Paul SM : Gene delivery of human apolipoprotein E alters brain A β burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102 : 1211-1216, 2005
 - 13) Dong LM, Weisgraber KH : Human apolipoprotein E4 domain interaction. Arginine 61 and glutamic acid 255 interact to direct the preference for very low density lipoproteins. *J Biol Chem* 271 : 19053-19057, 1996
 - 14) Dong LM, Wilson C, Wardell MR, Simmons T, Mahley RW, Weisgraber KH, Agard DA : Human apolipoprotein E. Role of arginine 61 in mediating the lipoprotein preferences of the E3 and E4 isoforms. *J Biol Chem* 269 : 22358-22365, 1994
 - 15) Fagan AM, Younkin LH, Morris JC, Fryer JD, Cole TG, Younkin SG, Holtzman DM : Differences in the A β 40/A β 42 ratio associated with cerebrospinal fluid lipoproteins as a function of apolipoprotein E genotype. *Ann Neurol* 48 : 201-210, 2000
 - 16) 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* 41 : 1812-1822, 2000
 - 17) 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
 - 18) Harris FM, Tesseur I, Brecht WJ, Xu Q, Mullendorff K, Chang S, Wyss-Coray T, Mahley RW, Huang Y : Astroglial regulation of apolipoprotein E expression in neuronal cells. Implications for Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 279 : 3862-3868, 2004
 - 19) Hartman RE, Wozniak DE, Nardi A, Olney JW, Sartorius L, Holtzman DM : Behavioral phenotyping of GFAP-apoE3 and-apoE4 transgenic mice : apoE4 mice show profound working memory impairments in the absence of Alzheimer's-like neuropathology. *Exp Neurol* 170 : 326-344, 2001
 - 20) Hayashi H, Campenot RB, Vance DE, Vance JE : Glial lipoproteins stimulate axon growth of central nervous system neurons in compartmented cultures. *J Biol Chem* 279 : 14009-14015, 2004
 - 21) Hayashi H, Igbavboa U, Hamanaka H, Kobayashi M, Fujita SC, Wood WG, Yanagisawa K : Cholesterol is increased in the exofacial leaflet of synaptic plasma membranes of human apolipoprotein E4 knock-in mice. *Neuroreport* 13 : 383-386, 2002
 - 22) Herz J, Beffert U : Apolipoprotein E receptors : linking brain development and Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 1 : 51-58, 2000
 - 23) Holtzman DM, Bales KR, Wu S, Bhat P, Parsadanian M, Fagan AM, Chang LK, Sun Y, Paul SM : Expression of human apolipoprotein E reduces amyloid- β deposition in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Clin Invest* 103 : R15-R21, 1999
 - 24) Holtzman DM, Bales KR, Tenkova T, Fagan AM, Parsadanian M, Sartorius LJ, Mackey B, Olney J, McKeel D, Wozniak D, Paul SM : Apolipoprotein E isoform-dependent amyloid deposition and neuritic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97 : 2892-2897, 2000
 - 25) Huang Y, Liu XQ, Wyss-Coray T, Brecht WJ, Sanan DA, Mahley RW : Apolipoprotein E fragments present in Alzheimer's disease brains induce neurofibrillary tangle-like intracellular inclusions in neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98 : 8838-8843, 2001
 - 26) Igbavboa U, Avdulov NA, Schroeder F, Wood WG : Increasing age alters transbilayer fluidity and cholesterol asymmetry in synaptic plasma membranes of mice. *J Neurochem* 66 : 1717-1725, 1996
 - 27) Kallio MJ, Salmenpera L, Siimes MA, Perheentupa J, Gylling H, Miettinen TA : 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
 - 28) Kivipelto M, Helkala EL, Hanninen T, Laakso MP, Hallikainen M, Alhainen K, Soininen H, Tuomilehto J, Nissinen A : Midlife vascular risk factors and late-life mild cognitive impairment : A population-based study.

- Neurology 56 : 1683-1989, 2001
- 29) LaDu MJ, Falduto MT, Manelli AM, Reardon CA, Getz GS, Frail DE : Isoform-specific binding of apolipoprotein E to beta-amyloid. *J Biol Chem* 269 : 23403-23406, 1994
 - 30) LaDu MJ, Pederson TM, Frail DE, Reardon CA, Getz GS, Falduto MT : Purification of apolipoprotein E attenuates isoform-specific binding to beta-amyloid. *J Biol Chem* 270 : 9039-9042, 1995
 - 31) Lauderback CM, Kanski J, Hackett JM, Maeda N, Kindy MS, Butterfield DA : Apolipoprotein E modulates Alzheimer's Abeta (1-42)-induced oxidative damage to synaptosomes in an allele-specific manner. *Brain Res* 924 : 90-97, 2002
 - 32) Lesuisse C, Xu G, Anderson J, Wong M, Jankowsky J, Holtz G, Gonzalez V, Wong PC, Price DL, Tang F, Wagner S, Borchelt DR : Hyper-expression of human apolipoprotein E4 in astroglia and neurons does not enhance amyloid deposition in transgenic mice. *Hum Mol Genet* 10 : 2525-2537, 2001
 - 33) Ma J, Yee A, Brewer HB Jr, Das S, Potter H : Amyloid-associated proteins alpha 1-antichymotrypsin and apolipoprotein E promote assembly of Alzheimer beta-protein into filaments. *Nature* 372 : 92-94, 1994
 - 34) Mahley RW : Apolipoprotein E : cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 240 : 622-630, 1988
 - 35) Martel CL, Mackic JB, Matsubara E, Governale S, Miguel C, Miao W, McComb JG, Frangione B, Ghiso J, Zlokovic BV : Isoform-specific effects of apolipoproteins E2, E3, and E4 on cerebral capillary sequestration and blood-brain barrier transport of circulating Alzheimer's amyloid beta. *J Neurochem* 69 : 1995-2004, 1997
 - 36) Mauch DH, Nagler K, Schumiacher S, Goritz C, Muller EC, Otto A, Pfrieger FW : CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science* 294 : 1354-1357, 2001
 - 37) 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
 - 38) Miyata M, Smith JD : Apolipoprotein E allele-specific antioxidant activity and effects on cytotoxicity by oxidative insults and beta-amyloid peptides. *Nat Genet* 14 : 55-61, 1996
 - 39) Naiki H, Gejyo F, Nakakuki K : Concentration-dependent inhibitory effects of apolipoprotein E on Alzheimer's beta-amyloid fibril formation *in vitro*. *Biochemistry* 36 : 6243-6250, 1997
 - 40) Namba Y, Tomonaga M, Kawasaki H, Otomo E, Ikeda K : Apolipoprotein E immunoreactivity in cerebral amyloid deposits and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease and kuru plaque amyloid in Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain Res* 541 : 163-166, 1991
 - 41) Nathan BP, Bellosta S, Sanan DA, Weisgraber KH, Mahley RW, Pitas RE : Differential effects of apolipoproteins E3 and E4 on neuronal growth *in vitro*. *Science* 264 : 850-852, 1994
 - 42) Nathan BP, Chang KC, Bellosta S, Brisch E, Ge N, Mahley RW, Pitas RE : The inhibitory effect of apolipoprotein E4 on neurite outgrowth is associated with microtubule depolymerization. *J Biol Chem* 270 : 19791-19799, 1995
 - 43) Nicoll JA, Roberts GW, Graham DI : Amyloid beta-protein, APOE genotype and head injury. *Ann N Y Acad Sci* 777 : 271-275, 1996
 - 44) Notkola IL, Sulkava R, Pekkanen J, Erkinjuntti T, Ehnholm C, Kivinen P, Tuomilehto J, Nissinen A : Serum total cholesterol, apolipoprotein E epsilon 4 allele, and Alzheimer's disease. *Neuroepidemiology* 17 : 14-20, 1998
 - 45) Okabe S, Kim HD, Miwa A, Kuriu T, Okado H : Continual remodeling of postsynaptic density and its regulation by synaptic activity. *Nat Neurosci* 2 : 804-811, 1999
 - 46) Okuizumi K, Onodera O, Tanaka H, Kobayashi H, Tsuji S, Takahashi H, Oyanagi K, Seki K, Tanaka M, Naruse S et al : ApoE-epsilon 4 and early-onset Alzheimer's disease. *Nat Genet* 7 : 10-11, 1994
 - 47) Pastor P, Roe CM, Villegas A, Bedoya G, Chakraverty S, Garcia G, Tirado V, Norton J, Rios S, Martinez M, Kosik KS, Lopera F, Goate AM : Apolipoprotein E epsilon4 modifies Alzheimer's disease onset in an E280A PS1 kindred. *Ann Neurol* 54 : 163-169, 2003
 - 48) Poirier J, Hess M, May PC, Finch CE : Astrocytic apolipoprotein E mRNA and GFAP mRNA in hippocampus after entorhinal cortex lesioning. *Brain Res Mol Brain Res* 11 : 97-106, 1991
 - 49) Poirier J, Delisle MC, Quirion R, Aubert I, Farlow M, Lahiri D, Hui S, Bertrand P, Nalbantoglu J, Gilfix BM, et al : Apolipoprotein E4 allele as a predictor of cholinergic deficits and treatment outcome in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92 : 12260-12264, 1995
 - 50) Raber J, Bongers G, LeFevour A, Buttini M, Mucke L : Androgens protect against apolipoprotein E4-induced cognitive deficits. *J Neurosci* 22 : 5204-5209, 2002
 - 51) Raber J, Wong D, Yu GQ, Buttini M, Mahley RW, Pitas RE, Mucke L : Apolipoprotein E and cognitive performance. *Nature* 404 : 352-354, 2000
 - 52) Raber J, Wong D, Buttini M, Orth M, Bellosta S, Pitas RE, Mahley RW, Mucke L : Isoform-specific effects of human apolipoprotein E on brain function revealed in ApoE knockout mice : increased susceptibility of females. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95 : 10914-10919, 1998
 - 53) Reitz C, Tang MX, Luchsinger J, Mayeux R : Relation of plasma lipids to Alzheimer disease and vascular dementia. *Arch Neurol* 61 : 705-714, 2004
 - 54) Sadowski M, Pankiewicz J, Scholtzova H, Ripellino JA, Li Y, Schmidt SD, Mathews PM, Fryer JD, Holtzman DM, Sigurdsson EM, Wisniewski T : A synthetic peptide blocking the apolipoprotein E/beta-amyloid binding miti-

- gates beta-amyloid toxicity and fibril formation *in vitro* and reduces beta-amyloid plaques in transgenic mice. *Am J Pathol* 165 : 937-948, 2004
- 55) Sanan DA, Weisgraber KH, Russell SJ, Mahley RW, Huang D, Saunders A, Schmechel D, Wisniewski T, Frangione B, Roses AD, et al : Apolipoprotein E associates with beta amyloid peptide of Alzheimer's disease to form novel monofibrils. Isoform apoE4 associates more efficiently than apoE3. *J Clin Invest* 94 : 860-869, 1994
- 56) Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, George-Hyslop PH, Pericak-Vance MA, Joo SH, Rosi BL, Gusella JF, Crapper-MacLachlan DR, Alberts MJ, et al : Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 43 : 1467-1472, 1993
- 57) Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, Roses AD : 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 U S A* 90 : 1977-1981, 1993
- 58) Strittmatter WJ, Saunders AM, Goedert M, Weisgraber KH, Dong LM, Jakes R, Huang DY, Pericak-Vance M, Schmechel D, Roses AD : Isoform-specific interactions of apolipoprotein E with microtubule-associated protein tau : implications for Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91 : 11183-11186, 1994
- 59) 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
- 60) Tamaoka A, Miyatake F, Matsuno S, Ishii K, Nagase S, Sahara N, Ono S, Mori H, Wakabayashi K, Tsuji S, Takahashi H, Shoji S : Apolipoprotein E allele-dependent antioxidant activity in brains with Alzheimer's disease. *Neurology* 54 : 2319-2321, 2000
- 61) Tesseur I, Van Dorpe J, Spittaels K, Van den Haute C, Moechars D, Van Leuven F : Expression of human apolipoprotein E4 in neurons causes hyperphosphorylation of protein tau in the brains of transgenic mice. *Am J Pathol* 156 : 951-964, 2000a
- 62) Tesseur I, Van Dorpe J, Bruynseels K, Bronfman F, Sciot R, Van Lommel A, Van Leuven F : Prominent axonopathy and disruption of axonal transport in transgenic mice expressing human apolipoprotein E4 in neurons of brain and spinal cord. *Am J Pathol* 157 : 1495-1510, 2000b
- 63) Weisgraber KH : Apolipoprotein E distribution among human plasma lipoproteins : role of the cysteine-arginine interchange at residue 112. *J Lipid Res* 31 : 1503-1511, 1990
- 64) Weisgraber KH, Shinto LH : Identification of the disulfide-linked homodimer of apolipoprotein E3 in plasma. Impact on receptor binding activity. *J Biol Chem* 266 : 12029-12034, 1991
- 65) Wisniewski T, Frangione B : Apolipoprotein E : a pathological chaperone protein in patients with cerebral and systemic amyloid. *Neurosci Lett* 135 : 235-238, 1992
- 66) Wisniewski T, Castano EM, Golabek A, Vogel T, Frangione B : Acceleration of Alzheimer's fibril formation by apolipoprotein E *in vitro*. *Am J Pathol* 145 : 1030-1035, 1994
- 67) Xu PT, Gilbert JR, Qiu HL, Ervin J, Rothrock-Christian TR, Hulette C, Schmechel DE : Specific regional transcription of apolipoprotein E in human brain neurons. *Am J Pathol* 154 : 601-611, 1999
- 68) Yoshizawa T, Yamakawa-Kobayashi K, Komatsuzaki Y, Arinami T, Oguni E, Mizusawa H, Shoji S, Hamaguchi H : Dose-dependent association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset, sporadic Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 36 : 656-659, 1994

Abstract

Apolipoprotein E and Alzheimer's disease

Makoto Michikawa

from

*Department of Alzheimer's Disease Research, National Institute for Longevity Sciences,
36-3 Gengo, Morioka, Obu, Aichi 474-8522, Japan.*

The possession of apolipoprotein E (apoE) ϵ 4 allele is a major risk factor for Alzheimer's disease (AD). There have been numerous studies to show apoE isoform-specific actions and several hypotheses underlying the association of the apoE ϵ 4 allele with AD have been proposed. However, the development of therapeutical approaches or prevention of AD based on these findings has not been developed, yet. This review article described the differences in structural and biophysical properties of apoE isoform, and their functions under normal and abnormal conditions, which have been proposed to lead AD development. Some of the mechanisms might be targets for the development of AD.

(Received : February 2, 2005)

Shinkei Kenkyu no Shinpo (Advances in Neurological Sciences), Vol. 49, No. 3, pp367-378, 2005.
IGAKU-SHOIN Ltd., Tokyo, Japan.

痴呆診療：診断と治療の進歩

I. 概説

2. Alzheimer病の病因，病態

道川 誠 柳澤 勝彦

トピックス

I. 概説

2. Alzheimer病の病因，病態

道川 誠 柳澤 勝彦

要 旨

Alzheimer病は、記銘・記憶、思考、判断力の低下などの認知機能障害を中核病態とする神経変性疾患であり、高齢社会の到来とともにその発症率は急激に増大し予防・治療法の開発が急がれている。近年、原因遺伝子の同定とその機能解析が進み、Alzheimer病は、加齢や遺伝子変異に伴って脳内に沈着するアミロイドβ-蛋白が引き金となって神経原線維変化(タウ病変)、神経細胞脱落を引き起こし、やがて痴呆を引きこすのではないかと考えられるに至っており、こうした背景に基づいた治療法の開発が複数試みられている。

〔日内会誌 94：1473～1481, 2005〕

Key words：Alzheimer病，老人斑，神経原線維変化，アミロイドベータ蛋白質，タウ蛋白質

はじめに

Alzheimer病は、ドイツの精神医学者Alois Alzheimerによって1906年に学会で報告(翌1907年に抄録が発刊)された記銘・記憶、思考、判断力の低下などの認知機能障害を中核病態とする神経変性疾患である。加齢依存的に発症し進行性の経過をとり、平均約7年で死亡するとされる。病理学的特徴として老人斑および神経原線維変化が出現する。Alzheimer病の第1例は、フランクフルト精神病院に入院してきた女性例(図1)で、51歳の時に夫に対する嫉妬妄想で発症したとされ、記憶障害、見当識障害を呈し、次第に幻聴、被害妄想などが出現し56歳(全経過4年半)で死亡している。Alzheimerは、この症例の臨床病理学的検討から、当時知られていた梅毒性の痴呆とは異なる病型として着目し、



図1. ドイツ、ブルツブルグ近郊にAlzheimerが住んでいた家が保存されているが、その一室に掲げられていたAlzheimer病第1症例の写真(筆者撮影)。

みちかわ まこと：国立長寿医療センター研究所アルツハイマー病研究部
やなぎさわ かつひこ：同 副所長

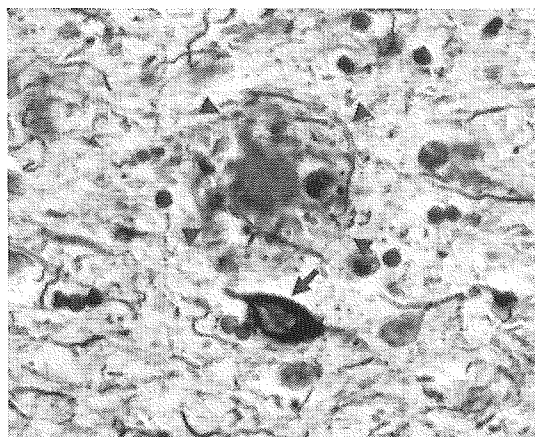


図2. 老人斑(◄)と神経原線維変化(◄). Bodian染色。(写真は、国立長寿医療センター研究所 矢澤 生博士のご厚意による)

老人斑と神経原線維変化の2つの特徴的な病理変化を記載した(図2)。その後、イタリアの内科医あるいは彼自身によって同様な症例が複数確認され、独立した疾患概念となった。Alzheimerの残した仕事の優れた点は、疾患の本質に迫る手がかりを見出した点にある。最初の報告からすでに100年が経とうとしているが、彼が最初に指摘した老人斑と神経原線維変化が現在でもなおAlzheimer病研究の主要なテーマであり続けている。その後、主に臨床病理学的な研究が長く行われてきたが、研究における大きな転機は、生化学的解析によってAlzheimer病病理を特徴づける老人斑と神経原線維変化を構成する蛋白質が同定されたことにはじまる。この2つの病理発現の分子機構の理解は、そのまま本稿のテーマである「Alzheimer病の病因、病態」に直結するので、以下に細目を設けて解説したい。

1. Alzheimer病：その臨床と病理

Alzheimer病は加齢に伴って発症率が増加する。特に65歳以降、その発症率は急増するため高齢社会においては、患者数の増加や介護負担などが大きな社会的な課題となっている。現在、

痴呆患者数は160万人とも言われ、そのおおよそ半数がAlzheimer病、残りの大多数が血管性痴呆と考えられている。Alzheimer病は、記憶力障害、近時記憶障害を主要症状として発症し、次第に思考・判断力の低下など認知機構障害が緩徐に進行する。症状の進行とともに失見当識、失語、失行、失認などの高次機能障害を呈するようになる。周辺症状として意欲低下、うつ症状、攻撃的行動、徘徊、幻覚、妄想などの精神症状・行動異常がしばしば出現し、自立した社会生活が破綻するのに加えて、介護などを著しく困難にする。末期には痙攣発作、歩行障害、協調運動の障害など神経症状が目立つようになり、やがて言語機能の崩壊、無欲無動、失禁、失外套状態・寝たきりとなり平均7年で亡くなるとされる。

Alzheimer病患者では脳萎縮が見られ、脳内神経細胞消失の結果であると考えられている。脳萎縮は海馬・側頭葉内側から始まり、次第に頭頂葉、前頭葉へと広がる。神経病理学的には、老人斑および神経原線維変化などの異常構造物が、それぞれ神経細胞外および神経細胞内に沈着し、神経細胞の消失が見られる。老人斑は正常な高齢者の脳内にも高度に沈着する例があるものの、疾患特異性が高いとされ、Alzheimer病以外にはDown症候群患者脳にみられる。これに対して、神経原線維変化は、疾患特異性が低く、Pick病、進行性核上性麻痺、皮質基底核変性症、Niemann-Pick病などの多くの神経変性疾患で見られるが、Alzheimer病では痴呆症状の出現・程度との相関が高いとされ神経細胞死と関連があると言われている。

Alzheimer病の病態を説明する考え方として、アミロイドカスケード仮説が広く受け入れられている(図3)。これは、A β の沈着が、神経原線維変化、神経細胞脱落へと続く一連の病的カスケードの引き金となり、痴呆を引き起こすという考え方である。その根拠としては、(1)脳におけるA β (amyloid β) の蓄積は、最も早い病理

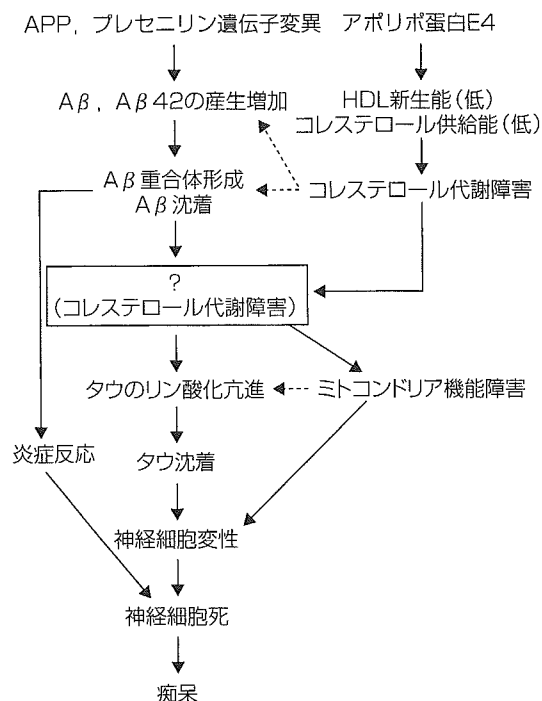


図3. アミロイドカスケード仮説とこのカスケードに関する様々な因子の関わりの可能性を示した(いずれも仮説). Aβがどのようなメカニズムでタウリン酸化亢進・神経原線維変化形成を導くかは不明である(図中?で表示)が、筆者はここにコレステロール代謝障害が関わっている可能性、および神経変性過程にミトコンドリア機能障害を介するカスケードの存在の可能性を考えている。

学的変化であり、神経原線維変化や神経細胞脱落に先行する、(2)最初に蓄積するAβ分子種は凝集性の高いAβ42である、(3)家族性Alzheimer病の原因遺伝子であるAPP、プレセニリン1, 2における多くの突然変異は、ほとんどすべてがAβ、特にAβ42の産生を亢進させる、(4)危険因子であるapoE4遺伝子型の脳内ではAβ蓄積が促進している、(5)培養系や動物実験でAβによる神経細胞毒性やタウ蛋白のリン酸化亢進が引き起こされる、などの理由が挙げられる。Aβの中でもAβ42濃度(量)の増加が重要であるとされる。なお、上記(3)(4)についての詳細は、後述する。

2. アミロイドβ蛋白質

1) アミロイドβ蛋白質の発見

Glennnerらは、脳血管アミロイドの主要成分として約40個のアミノ酸から成るamyloid β-蛋白(Aβ)を同定した¹⁾。その後、この新規蛋白質Aβは、老人斑の主成分であること、さらにDown症の脳内に沈着するアミロイドの主成分であることが判明した。その後、Aβは695~770個のアミノ酸から成る1回膜貫通型の前駆体蛋白(APP)から切り出されることが明らかになり、Down症でトリソミーを来たしている21染色体上にAPP遺伝子が同定された(1987年)。また、Aβは生理的条件下でも産生されることが明らかになった。

2) 原因遺伝子の発見

1990年代に入り、家族性Alzheimer病の研究から原因遺伝子が次々に同定されていった。Alzheimer病のほとんどは明らかな遺伝歴を持たない孤発例として発症するが、稀に常染色体優性遺伝を示す家族性Alzheimer病が存在する。AβはAPPから切り出されるが、そのAPP遺伝子のミスセンス変異がはじめて報告されたのは1991年のことである。これはAβのC端切り出し部位より更に4~6個C端側にあり、最長アイソフォームの717位のValをIleに置換する変異でLondon mutationと呼ばれる。この変異は我が国でも発見され、その後同じコドンの異なる2つのミスセンス変異が見つかった。次いで発見されたのが、AβのN端に接する2つのコドン670, 671でLysがAsnに、MetがLeuに置換した2重変異でSwedish mutationと呼ばれる(1992年)。London mutationやSwedish mutationでは、典型的なAlzheimer病病理所見を示すことが確認された。これらの変異はAβの切り出しに関連するセクレターゼの切断部位近傍にあることがわかる(図4)。

Aβの切り出し部位周辺以外にも、Aβ分子内に

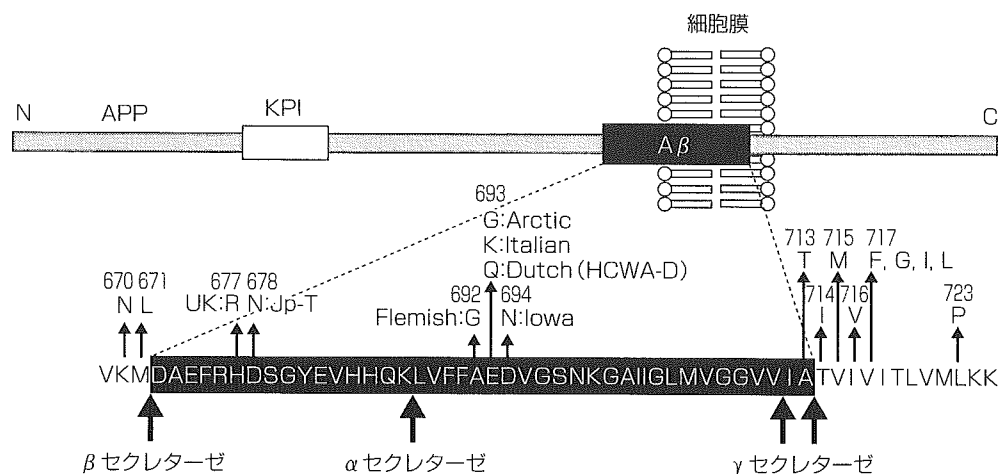


図4. 家族性Alzheimer病で確認されたAPP遺伝子変異

遺伝子変異の場所の多くは、2カ所のAβの切り出し部位付近と、Aβ凝集性の変化に関与すると考えられるAβの中間部に存在する。これらの事実はAlzheimer病発症にとってAβ産生と凝集性の変化が重要であることを示している。

変異を持つ家系が複数報告されている。コドン692に変異を持つFlemish, 693に変異を持つItalian, Dutch, Arctic, そして694に変異を持つIowa変異, さらに677および678に変異を持つUK, Jp-T変異が知られている(図4)。これらの臨床病理像の詳細については省略するが、すべてが典型的なAlzheimer病の表現型をとるわけではなく、Flemish, DutchあるいはItalian変異では、むしろアミロイドアンギオパチーや脳出血を来すとされる(総説²⁾を参照)。その病因としては、ネプリライシンなどのプロテアーゼに対する抵抗性が増加する、あるいはAβ凝集性を強めるためと説明されているが、何故これらのAβ内変異により主に脳血管性病変を来すのかは分かっていなかった。これに関して当研究部の山本らの最近の研究から興味ある結果が示された。すなわち、Aβ内変異の違いによって凝集を促進するガングリオシドの種類が異なるのである。山本らによれば、(1) Arctic変異を持つAβは野生型Aβと同様にGM1特異的に凝集が促進され、(2) DutchおよびItalian変異を持つAβはGM1に反応せずGM3特異的に凝集が促進され、(3)

Flemish変異を持つAβはGD3によって選択的に凝集が促進されることが明らかになった³⁾。これらのガングリオシドの局在は、GM1が神経細胞に比較的豊富に、GM3は血管の平滑筋に、GD3は血管周囲に選択的に発現していることから、Aβ沈着部位とその病型との関連を説明できると考えられる(表)。

一方、家族性Alzheimer病における他の遺伝子変異として、14番染色体にあるプレセニリン1および1番染色体にあるプレセニリン2のミスセンス変異が同定された。これらの変異プレセニリンを細胞に導入するとAβ42/40比が上昇することが確認された。その後、プレセニリン1, 2がAPPからAβを切り出すガンマ位切断を担う酵素であることが判明した。現在までに、プレセニリン1およびプレセニリン2に数多くの変異が見出され、プレセニリン1では100を超える変異が、またプレセニリン2でも10種類の変異が報告されている(表)。以上の結果は、Aβそのもの、Aβを切り出す基質であるAPPおよび切り出す酵素であるプレセニリンの遺伝子変異がAlzheimer病発症の原因であることを示してお