

## II. 近未来に向けて解決すべき治療・予防戦略

# 酸化ストレス抑制を介したアルツハイマー病治療アプローチの現状と可能性

布村明彦

### 抄 録

近年, アルツハイマー病の早期あるいは発症前段階から酸化ストレスが関与することが, 早期アルツハイマー病症例, 軽度認知障害症例, ダウン症候群症例, およびトランスジェニック動物モデルの検討から示唆されている. したがって, アルツハイマー病の予防や治療において, 酸化ストレス抑制は有望な戦略のひとつである. 抗酸化栄養素摂取だけではなく, 内在性抗酸化システムの活性化に関連する生活習慣の改善によって, 予防や早期治療上の効果が得られるかもしれない.

Key words : アルツハイマー病, 予防・治療, 酸化ストレス, ビタミンE, 抗酸化物質, 生活習慣

### はじめに

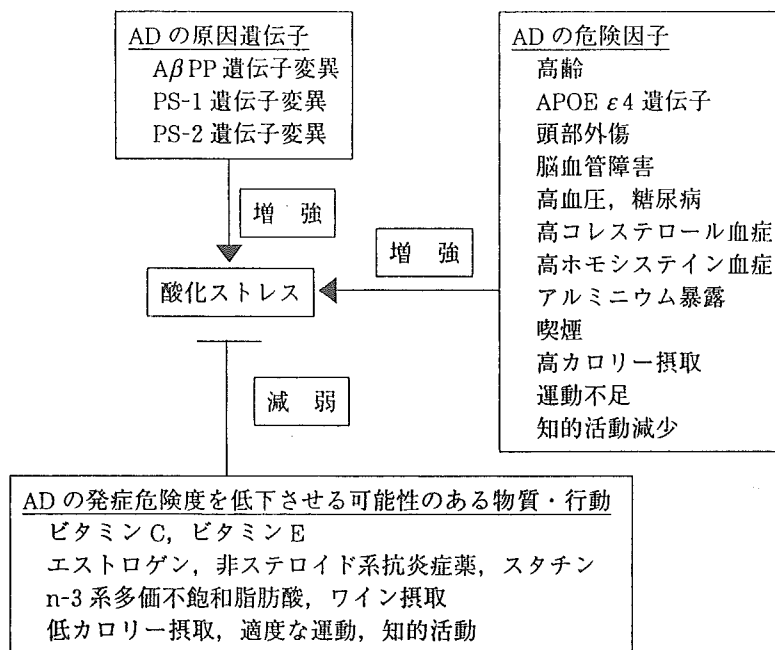
アルツハイマー病 (Alzheimer's disease ; AD) の最も際立った疫学的特徴は, その有病率が加齢にしたがって幾何級数的に増大することである<sup>10)</sup>. 加齢に伴う退行性変化に酸化ストレス (oxidative stress ; OS) が密接に関連することはすでに広く知られている. とくに脳は, 体重の2%前後の重量で全身の酸素消費量の20%を占める酸素代謝が最も活発な臓器であること, 過酸化反応を生じやすい不飽和脂肪酸に富むこと, およびOSに対する防御系が他の臓器に比べて強力ではない (たとえば, 活性酸素の消去反応に関与するカタラーゼの含量は肝臓や心臓の10~20%にすぎない) ことなどから, 酸化傷害が蓄積されやすいことが指摘されている<sup>32~35)</sup>. 実際に近年, 多数の研究によりADとOSとの関連性が報告されている<sup>31~35)</sup>. 本稿では, ADの早期段階におけるOSの関与について論じたうえで, OS抑制を介したAD

予防・治療の現状と可能性について述べる.

### I. ADの原因遺伝子および危険因子とOSとの関連性 (図1)

家族性ADを引き起こすアミロイド $\beta$ 前駆体タンパク質 (amyloid  $\beta$ -precursor protein ; A $\beta$ PP) 遺伝子変異, プレセニリン-1 (presenilin-1 ; PS-1) 遺伝子変異, あるいはプレセニリン-2 (PS-2) 遺伝子変異とOSとの関連性が*in vitro*ならびに*in vivo*の研究から明らかにされている. すなわち, これらの遺伝子変異を導入した培養細胞, トランスジェニックマウスあるいはノックインマウスにおいて, OSの増加あるいはOSに対する脆弱性が報告されている. また, 家族性AD患者剖検脳においてもOSの増加が報告されている<sup>30,31)</sup>.

加齢以外に, 孤発性および家族性のADに共通の危険因子としてアポリポタンパク質E (apolipoprotein E ; APOE)  $\epsilon$ 4 遺伝子が重要であるが, APOEとOSとの関連性も*in vitro*および*in vivo*の検討で明らかにされている. すなわち, *in vitro*においてAPOEそのものが抗酸化作用を有



ADの原因遺伝子を導入した培養細胞や実験動物ではOSの増加やOSに対する脆弱性が観察されている。また、ADの種々の危険因子、すなわち、遺伝的、医学的、環境的、および生活習慣関連要因の多くはOS増加と関連している。逆に、ADの発症危険度を低下させることが報告されている種々の栄養素や薬物はOS抑制と関連している。さらに、AD発症危険度の低下と関連する低カロリー摂取、適度な運動、および知的活動は脳内の抗酸化酵素の産生を増加させる可能性が示唆されている。

図1 ADの原因遺伝子および危険因子と酸化ストレス(OS)

し、しかもその作用にはアイソフォーム依存性が認められ (E2 > E3 > E4), ADの危険因子であるAPOE4で最も抗酸化作用が弱いことが報告されている<sup>23)</sup>。さらに、AD剖検脳において、脂質過酸化物の蓄積がAPOE ε4遺伝子と関連して増加することが明らかにされている<sup>44)</sup>。その他のAD危険因子として、頭部外傷、脳血管障害、高血圧、糖尿病、高コレステロール血症、および高ホモシステイン血症などの医学的要因、アルミニウム暴露、喫煙、高カロリー摂取、運動不足、知的活動減少などの環境・生活習慣関連要因があげられる。興味深いことに、これらはいずれもOSの増加と関連している<sup>33~35)</sup>。

実際に、ビタミンCおよびE、エストロゲン、非ステロイド系抗炎症薬、スタチン、n-3系多価不飽和脂肪酸、およびワインはADの発症危険度を低下させることが報告されているが、それぞれ

が抗酸化作用を有することも報告されていることは注目に値する<sup>33~35)</sup>。また、実験動物において、カロリー制限、適度な運動、および知的活動がOS抑制を介して神経細胞の生存に寄与する可能性も示唆されている<sup>20)</sup>。

以上のことから、OSは特定の遺伝的背景にかかわらず普遍的にADに関連しており、しかもその関連性はADの病理学的カスケードの上流に遡ることが推定される。

## II. OSはADの早期段階の変化である (表1)

筆者らは、AD剖検脳において、核酸、とくにRNAの酸化傷害の指標である8-ヒドロキシグアノシンが神経細胞内で増加しており、この指標とミトコンドリアDNAの欠失変異やニトロチロシン(タンパク質の酸化傷害の指標)の増加が同一

表1 酸化ストレスがADの病理学的カスケードの上流に位置することを示唆する報告

材料/対象	所見
培養細胞モデル	・酸化ストレスは神経細胞内Aβ蓄積およびタウのリン酸化を誘導する <sup>6, 22)</sup>
トランスジェニック動物モデル	<ul style="list-style-type: none"> <li>・AβPP変異マウスモデルにおいて、過酸化脂質の増加が、Aβ沈着に先行する<sup>38)</sup></li> <li>・AβPP変異マウスにマンガン含有SODノックアウトマウスを交配させることによってAβ沈着が増加する<sup>14)</sup></li> <li>・AβPP変異マウスにビタミンEを投与することによって、AβレベルおよびAβ沈着が減少する<sup>43)</sup></li> <li>・ヒトタウ過剰発現マウスにビタミンEを投与することによって、タウ不溶性およびタウ陽性封入体形成が抑制される<sup>26)</sup></li> <li>・AβPP変異マウスに銅を投与することによって、脳内の銅・亜鉛含有SOD活性が安定化してAβ産生が減少する<sup>2)</sup></li> </ul>
剖検脳 (ダウン症候群)	・AD脳の病理学的モデルであるダウン症候群脳において、核酸やタンパク質の酸化傷害がAβ沈着に先行する <sup>29)</sup>
剖検脳 (AD)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・核酸やタンパク質の酸化傷害は、Aβ沈着が軽度の症例あるいは罹病期間が短い症例でより高度である<sup>29)</sup></li> <li>・核酸の酸化傷害は、神経原線維変化を伴う神経細胞よりも神経原線維変化を伴わない神経細胞でより高度である<sup>29)</sup></li> <li>・PS-1変異を有しながらAD発症前に死亡した症例で核酸の酸化傷害が認められる<sup>30)</sup></li> </ul>
剖検脳 (MCI)	・タンパク質および脂質の酸化傷害が増加している <sup>11)</sup>
脳脊髄液 (AD)	・核酸の酸化傷害は、罹病期間が短い症例あるいはMini-Mental State Examinationの得点が高い症例でより高度である <sup>1)</sup>
脳脊髄液, 血清, 尿, および末梢白血球 (MCI)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・脳脊髄液, 血清, および尿中の過酸化脂質が増加している<sup>39)</sup></li> <li>・血清中の抗酸化物質 (ビタミンA, C, E, カロテン, SODなど) が減少している<sup>40)</sup></li> <li>・末梢白血球において核酸の酸化傷害が増加している<sup>21)</sup></li> </ul>

SOD; スーパーオキシド・ジスムターゼ  
肩付き番号は文末の文献番号を示す。

細胞内に認められることを観察した<sup>9, 27)</sup>。さらに、AD脳における核酸やタンパク質の酸化傷害は、アミロイドβ (amyloid β; Aβ) 沈着が軽度の症例あるいは罹病期間が短い症例でより高度であることを観察した<sup>29)</sup>。また、加齢に伴ってAD脳と同一の病理学的変化を呈するダウン症候群脳では、核酸やタンパク質の酸化傷害はAβ沈着開始に先行していた<sup>28)</sup>。以上のことから、AD脳では神経細胞変性過程の早期段階からOSが生じていることが推定される。この推定は、ADやその他の認知症の前段階と位置づけられている軽度認知障害 (Mild Cognitive Impairment; MCI) 例の剖検脳、髄液、血液、および尿を用いたOSの検討<sup>11, 21, 39, 40)</sup>やAβ沈着を呈するトランスジェニック動物にお

けるOSの検討<sup>38)</sup>からも支持される。また、培養細胞モデルでは、OSが神経細胞内Aβ蓄積やタウのリン酸化を誘導することも明らかにされている<sup>6, 22)</sup>。

興味深いことに、ADのトランスジェニック動物モデルにおいて脳内AβレベルあるいはAβ沈着の減少効果が明らかにされている物質 (ビタミンE, 非ステロイド系抗炎症薬, 金属キレート剤, n-3系多価不飽和脂肪酸, メラトニン, クルクミン) や行動的介入 (カロリー制限, 豊かな環境下での運動) の多くはOS抑制と関連している<sup>3, 13, 15, 19, 47, 48)</sup>。このことは、OS抑制を介したADの予防・治療の可能性を強く示唆している。

### Ⅲ. OS抑制を介したADの予防・治療 —— ビタミンE臨床試験を中心に ——

以上のように、OSはADの臨床的亜型を問わず、早期段階から病態に関与していることが推定され、OS抑制はADの予防や早期治療の戦略として注目される。生体のOS防御にかかわる物質は、スーパーオキシド・ジスムターゼ (superoxide dismutase; SOD)、グルタチオン・ペルオキシダーゼ、金属キレート性タンパク質などのフリーラジカル発生防止型抗酸化物質、ビタミンC、ビタミンE、カロテノイド、フラボノイドなどのフリーラジカル捕捉型抗酸化物質、およびリパーゼ、プロテアーゼ、DNA修復酵素などの酸化傷害修復酵素に分けられる<sup>35)</sup>。実際、金属キレート剤であるクリオキノールやビタミンCおよびビタミンEなどがADの発症危険度低下あるいは進行抑制に寄与することが報告されている<sup>4,25,41,42,49)</sup>。種々の抗酸化物質のなかで、ADの予防・治療効果について最も精力的に検討されてきた抗酸化物質はビタミンEである<sup>32)</sup>。ビタミンEは血液脳関門を通過し、脳内で脂質過酸化を抑制することが明らかにされている<sup>45)</sup>。

認知症のない高齢者の認知機能と血清中の抗酸化栄養素濃度との関連性の検討では、4,809人の高齢者を対象にした研究で、ビタミンA、Cおよびβ-カロテンの濃度は認知機能検査の成績に関連せず、血清ビタミンE濃度のみが関連していたという<sup>36)</sup>。高齢者の認知機能と抗酸化栄養素摂取との関連について、Chicago Health and Aging Project<sup>24)</sup>では、平均74歳の高齢者2,889人を対象に平均3.2年間追跡し、食物およびサプリメントからのビタミンE、ビタミンC、およびカロテン摂取の影響を食品摂取頻度調査票から検討した。その結果、ビタミンEのみが、Mini-Mental State Examination (MMSE)などで評価される認知機能の加齢による衰退を遅延させることが報告された。また、Honolulu-Asia Aging Study<sup>18)</sup>やNurses' Health Study<sup>7)</sup>では、ビタミンEあるいはビタミン

C、あるいはその両方のサプリメント摂取が高齢者における認知機能検査の好成績と関連することが報告されている。以上のように、高齢者の認知機能の衰退防止にビタミンEが役立つことが示唆されている。

血清中ビタミンA、ビタミンE、およびマロンジアルデヒド (脂質過酸化の指標) の濃度とAD発症危険度との関係を検討した前向きコホート研究 (626人の高齢者を追跡して46人に認知症発症) では、ビタミンEの低濃度のみが認知症全体あるいはADの発症危険度の増加 (オッズ比は順に3.12と3.06) と関連していたという<sup>8)</sup>。したがって、抗酸化栄養素のうちでもとくにビタミンEのAD発症予防効果が期待される。近年、認知症のない高齢者を対象にした前向きコホート研究により抗酸化栄養素であるビタミンE、ビタミンC、β-カロテン、あるいはフラボノイドの摂取がADの発症を予防するかどうかを検討した結果が相次いで報告された (表2)。このうち、最も規模が大きく長期にわたり、かつ対象高齢者の平均年齢が最低であるEngelhartら<sup>4)</sup>のRotterdam studyでは、食物から摂取されたビタミンEあるいはビタミンCにAD発症予防効果が認められた。食物由来のビタミンE摂取がAD発症危険度を低下させることはMorrisら<sup>25)</sup>の研究からも示唆されたが、その効果が喫煙習慣やAPOE遺伝子型に左右されることには注意を要する。Luchsingerら<sup>17)</sup>の報告は食物由来のビタミンEのAD発症予防効果を否定しているが、彼らの報告では、対象中にビタミンE摂取量が十分な例が少なかった可能性が指摘されている。MorrisらとLuchsingerらの研究に共通する結果として、サプリメント由来の場合、いずれの抗酸化栄養素にもAD発症予防効果が認められなかったことは注目すべきである。食物由来の抗酸化栄養素にAD発症予防効果が認められてサプリメント由来の場合にはそれが検出されない理由として、サプリメント使用者が元来健康上の問題をより多く有しているというバイアスの存在、サプリメント使用は限られた期間であるが食事習

表2 抗酸化栄養素摂取とAD発症予防効果（前向きコホート研究）

報告者 (報告年)	研究計画名称	追跡対象者数 (年齢) 追跡期間	ビタミンE	ビタミンC	$\beta$ -カロテン あるいは カロテノイド	フラボノイド
Engelhart ら (2002) <sup>41)</sup>	Rotterdam Study	5,395 人 (55 歳以上 平均 67.7 歳) 平均 6.0 年	食物からの摂取 で効果あり*	食物からの摂取 で効果あり*	食物からの摂取 で喫煙者にのみ 効果あり	食物からの摂取 で喫煙者にのみ 効果あり
Morris ら (2002) <sup>25)</sup>	Chicago Health and Aging Project	815 人 (65 歳以上 平均 73.3 歳) 平均 3.9 年	食物からの摂取 でAPOE $\epsilon$ 4非 保有者にのみ効 果あり サプリメントの 効果なし	食物, サプリメ ントともに効果 なし	食物, サプリメ ントともに効果 なし	N/E
Luchsinger ら (2003) <sup>17)</sup>	Washington Heights-Inwood Columbia Aging Project	980 人 (65 歳以上 平均 75.3 歳) 平均 4.0 年	食物, サプリメ ントともに効果 なし	食物, サプリメ ントともに効果 なし	食物, サプリメ ントともに効果 なし	N/E
Zandi ら (2004) <sup>49)</sup>	Cache Country Study	4,740 人 (65 歳以上 平均 74.0 歳) 平均 3.0 年	サプリメント ビタミンEとCの併用で効果あり ビタミンE, Cそれぞれ単独では 効果なし		N/E	N/E

N/E ; not examined

\* 喫煙者でより顕著な効果あり。サプリメント使用者を除いても影響なく、APOE 遺伝子型の影響もない。  
肩付き番号は文末の文献番号を示す。

慣は調査期間を超えて長期にわたるため長期効果が反映される可能性、食物に含まれるその他の栄養素がビタミンの吸収や効果発現を助長する可能性、などが考えられる。Zandi ら<sup>49)</sup>は、サプリメント由来であってもビタミンEとビタミンCを併用することによってAD発症予防効果が得られると報告しているが、Masaki ら<sup>18)</sup>は、両ビタミンの併用は血管性痴呆の予防には有効であるがADの予防には有意な効果が認められなかったと報告している。

最近、ビタミンE投与によりMCIからADへの移行を予防できるかどうかに関して、アメリカの多施設共同研究の結果が報告された<sup>37)</sup>。高用量のビタミンE投与(2,000 IU/日)の効果を3年間追跡した二重盲検比較で、ビタミンEにMCIからADへの移行を予防する効果は認められなかった。これは、サプリメント由来の単独のビタミンにはAD発症予防効果は認められないという従来のコホート研究結果<sup>17,25,49)</sup>と合致している。

一方、1997年にアメリカの多施設共同研究によって2,000 IU/日のビタミンEが中等度の重症度のAD患者に対して進行抑制作用を示すという臨床試験結果が報告された<sup>42)</sup>。この研究では、Clinical Dementia Rating (CDR)で「2」段階の重症度と判定されたAD患者を対象に、患者があるend pointに至るまでの日数を二重盲検比較した。ここでいうend pointとは、死亡、入院あるいは施設入所、基本的日常生活能力の喪失、あるいはCDRで「3」段階への進行のいずれかを指している。2年間の調査の結果、ビタミンE投与(中央値:670日)は、対照(440日)よりも有意にend pointに至るまでの期間を延長させ、ADの進行抑制作用を有すると報告された。また、この研究では、選択的モノアミンオキシダーゼB阻害薬であるセレギリン投与やセレギリンとビタミンEの併用投与でもビタミンE単独投与と同様のAD進行予防効果が得られている。副作用としては、各治療群で転倒と失神の出現率および歯科受

療率が若干増加したのみであった。しかし、治療群においてMMSEやAlzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale (ADAS-cog.)上の改善は認められず、最終結果は抗酸化物質一般に認められる非特異的な健康増進作用(たとえば、心血管系機能や免疫機能の増強作用)を介している可能性があることも指摘されている。近年作成された認知症疾患の治療ガイドライン、すなわち、アメリカ精神医学会のPractice Guideline for the Treatment of Patients with Alzheimer's Disease and other Dementias of Late Life (1997)、アメリカ神経学会のPractice Parameter: Management of Dementia (2001)、およびわが国で日本神経学会を中心に作成された「痴呆疾患の治療ガイドライン」(2003)では、いずれも以上の臨床試験を根拠の中心として、軽度あるいは中等度のADに対するビタミンEの投与を推奨している。毒性が低く、薬物間相互作用の少ないビタミンEがセレギリンよりも好ましいとされる。ところで、上記の臨床試験で検討されたビタミンEの用量は2,000 IU/日で、わが国の臨床で使用される酢酸トコフェロールあるいはニコチン酸トコフェロールの常用量(ビタミンE換算でそれぞれ100~300 IU/日, 255~510 IU/日)と比べるとかなり高用量である。高用量のビタミンEを用いた場合にビタミンK欠乏患者で血液凝固障害を悪化させることに注意を要する。また、近年、高用量(400 IU/日以上)のビタミンE投与の安全性に疑問を投げかける報告があることにも注意しなければならない<sup>35)</sup>。同様に高用量のビタミンCや $\beta$ -カロテンについても有害作用の報告がある<sup>35)</sup>。

#### IV. OS抑制を介したADの予防・治療の将来

以上のように、抗酸化ビタミンの摂取1つをとっていても、ADの予防・治療上、安全性と有効性を満足する摂取方法の確立は容易ではない。単に高用量のサプリメントを長期間継続すればよいというものではなさそうである。とくにADの予

防上、食物からの抗酸化ビタミン摂取がサプリメントからの摂取よりも有効であるという指摘は示唆に富むものであろう。複数の抗酸化ビタミンを他の栄養素とバランスよく摂取することにより、それらの吸収や活性に有利に働く可能性がある。*In vitro*の実験系では個々に顕著な抗酸化作用を示す物質であっても、生体内においてその効力がどの程度発揮されるかは予測困難である。また、*in vitro*でもある条件下では、ビタミンC、ビタミンE、カロテノイド、およびフラボノイドは、それらの抗酸化活性を失うのみならず、プロオキシダントとしてOS促進的に働くことも起こりうる<sup>35)</sup>。生体における複雑かつ精妙なレドックス制御機構を考慮すれば、抗酸化栄養素が豊富に含まれる食物の適量を摂取することに加えて、本来生体に備わっている抗酸化システムを活性化する方法を探ることが重要であろう。すなわち、外来性および内在性、両方のOS防御機構を同時に高める試みが必要と考えられる。

実験動物においてカロリー制限が種々の加齢性変化の進行を遅延させることはよく知られており、そのメカニズムとしてOS抑制が推定されている<sup>32~35)</sup>。近年、APOE  $\epsilon$ 4遺伝子を有する高齢者では、高カロリー摂取によってAD発症危険度が高まることが報告された<sup>16)</sup>。食事以外の生活習慣関連要因では、AD症例では健常対照例に比べて20~60歳の間の身体運動や知的活動が少ないという報告があり<sup>5)</sup>、身体運動やレジャー活動がAD発症危険度の低下と関連するという報告もある<sup>12,46)</sup>。Mattsonら<sup>20)</sup>は、カロリー制限、適度な身体運動および知的活動はいずれも軽度の代謝的および心理的ストレス反応を惹起し、神経細胞の応答として生じる神経栄養因子やストレス・タンパク質の産生がOS抑制にかかわるSOD、グルタチオン・ペルオキシダーゼ、カタラーゼなどの発現増加をもたらす可能性を指摘している。したがって、内在性の抗酸化システムの活性化を介したAD予防戦略として、低カロリー摂取、適度な身体運動、および知的活動の推奨など生活習慣への

介入が有望である。

## 結 語

ADでは、病理学的カスケードの上流においてOSが関与しており、OS抑制はADの予防・治療上、有望な戦略のひとつと考えられる。現在、複数のAD治療ガイドラインにおいてビタミンEの使用が推奨されているが、予防効果の面からは、食物からの抗酸化栄養素の摂取が重視されている。今後、ADの予防・早期治療において、外来性の抗酸化物質摂取のみならず、内在性OS防御機構の活性化を介した戦略が重要と考えられる。低カロリー摂取、適度な身体運動、および知的活動の推奨など生活習慣への介入が有効な手段であるかもしれない。

## 文 献

- 1) Abe T, Tohgi H, Isobe C, Murata T, et al.: Remarkable increase in the concentration of 8-hydroxyguanosine in cerebrospinal fluid from patients with Alzheimer's disease. *J Neurosci Res*, **70** : 447-450 (2002).
- 2) Bayer TA, Schafer S, Simons A, Kemmling A, et al.: Dietary Cu stabilizes brain superoxide dismutase 1 activity and reduces amyloid A $\beta$  production in APP23 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **100** : 14187-14192 (2003).
- 3) Cherny RA, Atwood CS, Xilinas ME, Gray DN, et al.: Treatment with a copper-zinc chelator markedly and rapidly inhibits  $\beta$ -amyloid accumulation in Alzheimer's disease transgenic mice. *Neuron*, **30** : 665-676 (2001).
- 4) Engelhart MJ, Geerlings MI, Ruitenbergh A, van Swieten JC, et al.: Dietary intake of antioxidants and risk of Alzheimer disease. *JAMA*, **287** : 3223-3229 (2002).
- 5) Friedland RP, Fritsch T, Smyth KA, Koss E, et al.: Patients with Alzheimer's disease have reduced activities in midlife compared with healthy control-group members. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98** : 3440-3445 (2001).
- 6) Gomez-Ramos A, Diaz-Nido J, Smith MA, Perry G, et al.: Effect of the lipid peroxidation product acrolein on tau phosphorylation in neural cells. *J Neurosci Res*, **71** : 863-870 (2003).
- 7) Grodstein F, Chen J, Willett WC : High dose antioxidant supplements and cognitive function in community-dwelling elderly women. *Am J Clin Nutr*, **77** : 975-984 (2003).
- 8) Helmer C, Peuchant E, Letenneur L, Bourdel-Marchasson I, et al.: Association between antioxidant nutritional indicators and the incidence of dementia ; Results from the PAQUID prospective cohort study. *Eur J Clin Nutr*, **57** : 1555-1561 (2003).
- 9) Hirai K, Aliev G, Nunomura A, Fujioka H, et al.: Mitochondrial abnormalities in Alzheimer's disease. *J Neurosci*, **21** : 3017-3023 (2001).
- 10) Hy LX, Keller DM : Prevalence of AD among whites ; A summary by levels of severity. *Neurology*, **55** : 198-204 (2000).
- 11) Keller JN, Schmitt FA, Scheff SW, Ding Q, et al.: Evidence of increased oxidative damage in subjects with mild cognitive impairment. *Neurology*, **64** : 1152-1156 (2005).
- 12) Laurin D, Verreault R, Lindsay J, MacPherson K, et al.: Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons. *Arch Neurol*, **58** : 498-504 (2001).
- 13) Lazarov O, Robinson J, Tang YP, Hairston IS, et al.: Environmental enrichment reduces A $\beta$  levels and amyloid deposition in transgenic mice. *Cell*, **120** : 701-713 (2005).
- 14) Li F, Calingasan NY, Yu F, Mauck WM, et al.: Increased plaque burden in brains of APP mutant MnSOD heterozygous knockout mice. *J Neurochem*, **89** : 1308-1312 (2004).
- 15) Lim GP, Calon F, Morihara T, Yang F, et al.: A diet enriched with the omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid reduces amyloid burden in an aged Alzheimer mouse model. *J Neurosci*, **25** : 3032-3040 (2005).
- 16) Luchsinger JA, Tang M-X, Shea S, Mayeux R : Caloric intake and the risk of Alzheimer disease. *Arch Neurol*, **59** : 1258-1263 (2002).
- 17) Luchsinger JA, Tang MX, Shea S, Mayeux R : Antioxidant vitamin intake and risk of Alzheimer disease. *Arch Neurol*, **60** : 203-208 (2003).
- 18) Masaki KH, Losonczy KG, Izmirlian G, Foley DJ, et al.: Association of vitamin E and C supplement use with cognitive function and dementia in elderly men. *Neurology*, **54** : 1265-1272 (2000).
- 19) Matsubara E, Bryant-Thomas T, Pacheco Quinto

- J, Henry TL, et al.: Melatonin increases survival and inhibits oxidative and amyloid pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J Neurochem*, **85** : 1101-1108 (2003).
- 20) Mattson MP, Chan SL, Duan W : Modification of brain aging and neurodegenerative disorders by genes, diet, and behavior. *Physiol Rev*, **82** : 637-672 (2002).
- 21) Migliore L, Fontana I, Trippi F, Colognato R, et al.: Oxidative DNA damage in peripheral leukocytes of mild cognitive impairment and AD patients. *Neurobiol Aging*, **26** : 567-573 (2005).
- 22) Misonou H, Morishima-Kawashima M, Ihara Y : Oxidative stress induces intracellular accumulation of amyloid  $\beta$ -protein ( $A\beta$ ) in human neuroblastoma cells. *Biochemistry*, **39** : 6951-6959 (2000).
- 23) 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).
- 24) Morris MC, Evans DA, Bienias JL, Tangney CC, et al.: Vitamin E and cognitive decline in older persons. *Arch Neurol*, **59** : 1125-1132 (2002).
- 25) Morris MC, Evans DA, Bienias JL, Tangney CC, et al.: Dietary intake of antioxidant nutrients and the risk of incident Alzheimer disease in a biracial community. *JAMA*, **287** : 3230-3237 (2002).
- 26) Nakashima H, Ishihara T, Yokota O, Terada S, et al.: Effects of  $\alpha$ -tocopherol on an animal model of tauopathies. *Free Radic Biol Med*, **37** : 176-186 (2004).
- 27) Nunomura A, Perry G, Pappolla MA, Wade R, et al.: RNA oxidation is a prominent feature of vulnerable neurons in Alzheimer's disease. *J Neurosci*, **19** : 1959-1964 (1999).
- 28) Nunomura A, Perry G, Pappolla MA, Friedland RP, et al.: Neuronal oxidative stress precedes amyloid- $\beta$  deposition in Down syndrome. *J Neuropathol Exp Neurol*, **59** : 1011-1017 (2000).
- 29) Nunomura A, Perry G, Aliev G, Hirai K, et al.: Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*, **60** : 759-767 (2001).
- 30) Nunomura A, Chiba S, Lippa CF, Cras P, et al.: Neuronal RNA oxidation is a prominent feature of familial Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*, **17** : 108-113 (2004).
- 31) 布村明彦：アルツハイマー病における酸化ストレスと神経細胞死. *Dementia Japan*, **18** : 12-18 (2004).
- 32) 布村明彦：ビタミンEとその他の抗酸化物質による痴呆の予防と治療の可能性. *Cognition and Dementia*, **3** : 144-151 (2004).
- 33) Nunomura A, Tabata K, Chiba S, Moreira PI, et al.: Temporal primacy of oxidative stress in the pathological cascade of Alzheimer disease. In *Oxidative stress and age-related neurodegeneration*, ed. by Luo Y, Packer L, 365-372, CRC Press, Boca Raton (2005).
- 34) Nunomura A, Moreira PI, Zhu X, Cash AD, et al.: The role of oxidative insult and neuronal survival in Alzheimer and Parkinson diseases. In *Alzheimer's and Parkinson's diseases ; Insights, progress and perspectives*, ed. by Fisher A, Hanin I, Memo M, Stocchi F, Springer, New York (in press).
- 35) Nunomura A, Zhu X, Moreira PI, Smith MA, et al.: Involvement of oxidative stress in the early-stage of Alzheimer's disease ; Implications for therapeutics. In *Progress in Alzheimer's disease research*, ed. by Columbus F, Nova Science Publishers, Hauppauge (in press).
- 36) Perkins AJ, Hendrie HC, Callahan CM, Gao S, et al.: Association of antioxidants with memory in a multiethnic elderly sample using the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol*, **150** : 37-44 (1999).
- 37) Petersen RC, Thomas RG, Grundman M, Bennett D, et al.: Vitamin E and donepezil for the treatment of mild cognitive impairment. *N Engl J Med*, **352** : 2379-2388 (2005).
- 38) Pratico D, Uryu K, Leight S, Trojanowski JQ, et al.: Increased lipid peroxidation precedes amyloid plaque formation in an animal model of Alzheimer amyloidosis. *J Neurosci*, **21** : 4183-4187 (2001).
- 39) Pratico D, Clark CM, Liun F, Rokach J, et al.: Increase of brain oxidative stress in mild cognitive impairment ; A possible predictor of Alzheimer disease. *Arch Neurol*, **59** : 972-976 (2002).
- 40) Rinaldi P, Polidori MC, Metastasio A, Mariani E, et al.: Plasma antioxidants are similarly depleted in mild cognitive impairment and in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, **24** : 915-919 (2003).
- 41) Ritchie CW, Bush AI, Mackinnon A, Macfarlane S, et al.: Metal-protein attenuation with iodocholesterol



- 
- droxyquin (cloquinol) targeting  $A\beta$  amyloid deposition and toxicity in Alzheimer disease ; A pilot phase 2 clinical trial. *Arch Neurol*, **60** : 1685-1691 (2003).
- 42) Sano M, Ernesto C, Thomas RG, Klauber MR, et al.: A controlled trial of selegiline,  $\alpha$ -tocopherol, or both as treatment for Alzheimer's disease. The Alzheimer's Disease Cooperative Study. *N Engl J Med*, **336** : 1216-1222 (1997).
- 43) Sung S, Yao Y, Uryu K, Yang H, et al.: Early vitamin E supplementation in young but not aged mice reduces  $A\beta$  levels and amyloid deposition in a transgenic model of Alzheimer's disease. *FASEB J*, **18** : 323-325 (2004).
- 44) Tamaoka A, Miyatake F, Matsuno S, Ishii K, et al.: Apolipoprotein E allele-dependent antioxidant activity in brains with Alzheimer's disease. *Neurology*, **54** : 2319-2321 (2000).
- 45) Veinbergs I, Mallory M, Sagara Y, Masliah E : Vitamin E supplementation prevents spatial learning deficits and dendritic alterations in aged apolipoprotein E-deficient mice. *Eur J Neurosci*, **12** : 4541-4546 (2000).
- 46) Verghese J, Lipton RB, Katz MJ, Hall CB, et al.: Leisure activities and the risk of dementia in the elderly. *N Engl J Med*, **348** : 2508-2516 (2003).
- 47) Wang J, Ho L, Qin W, Rocher AB, et al.: Caloric restriction attenuates  $\beta$ -amyloid neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB J*, **19** : 659-661 (2005).
- 48) Yang F, Lim GP, Begum AN, Ubeda OJ, et al.: Curcumin inhibits formation of amyloid  $\beta$  oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in vivo. *J Biol Chem*, **280** : 5892-5901 (2005).
- 49) Zandi PP, Anthony JC, Khachaturian AS, Stone SV, et al.: Reduced risk of Alzheimer disease in users of antioxidant vitamin supplements ; The Cache County Study. *Arch Neurol*, **61** : 82-88 (2004).