

Fig. 3. Changes in the numbers of SP immunoreactive (ir) cells in the cerebral cortex of 11-week-old NPC^(-/-) (C, F, I), NPC^(+/-) (B, E, H), and NPC^(+/+) (A, D, G) mouse. Both in NPC^(+/+) and in NPC^(+/-) mouse, SP-ir cells were present in II–VI layers of parietal cortex 1 (A, B), and the temporal cortex area 1 (D, E) and occipital cortex area 1 (G, H). SP immunoreactivity was largely localized in cell bodies and proximal dendritic processes. In NPC^(-/-) mouse, the number of SP-ir neurons was markedly reduced and their dendritic branches were hardly observed, especially in occipital area 1 (I). Magnified images of SP-ir neurons in frontal cortex 1 of NPC^(+/+) (J), and NPC^(-/-) mouse (K) showing that SP-ir neurons in NPC^(+/+) (J) have long and prominent processes compared to those of NPC^(-/-) mouse (K). The arrows (J, K) indicate the overall sizes of SP-ir somata. SP-ir somata of NPC^(-/-) mouse were larger than those of NPC^(+/+) mouse. The arrowheads (J, K) denote dendrite lengths of large neurons. Scale bar = 100 μ m in A–I, 100 μ m in J, K.

(Fig. 3J). Interestingly, some SP-ir cells in the 11-week-old NPC^(-/-) mouse cortex were larger than those in NPC^(+/+) mouse though the number of SP-ir cells were reduced (Fig. 3K). Distinct localization of SP-ir cells was also observed throughout the cortices of three mice types [NPC^(+/+), NPC^(+/-), NPC^(-/-)] at 4 weeks of age (Fig. 4). In layer V/VI, the majority of cells in 4-week-old NPC^(+/+) mouse cortex (i.e., frontal, occipital cortex) were bipolar or multipolar in shape (Fig. 4). When we compared all three mouse types, there were no statistically significant differences in the number of SP-ir cells across mouse cortical areas (Figs. 1D–F). The IR of cell bodies was dense in all population of stained cells. The dendritic staining using SP antibody was relatively confined to proximal portions of the dendritic tree (Fig. 4). Further, in the layer V of occipital cortex area 1, many arrays of SP-containing fibers were observed (Fig. 4D).

The present study provides first morphological evidences of VIP, NPY, and SP-ir cell number in the NPC^(-/-) mouse cortex as well as NPC^(+/+) and NPC^(+/-), and provides information on the altered distribution patterns of those neuropeptides. In the NPC^(-/-) versus NPC^(+/+) or NPC^(+/-) mouse cortex, VIP and NPY-ir cells were not decreased, but SP-ir cells in frontal cortex areas 1, 2, and 3, occipital cortex areas 1 and 2, and retrosplenial granular/agranular and piriform cortices showed >90% reductions. Spatial selective changes in neuropeptide systems have also been reported in neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease (AD). With regard to VIP, 20–30% decreases in VIP-ir were reported in the temporal lobes of AD patients [17], and another study also found reduced levels of this peptide in the insular and angulate cortices of AD patients [2]. However, other investigators found no change in VIP [20] and NPY [7]

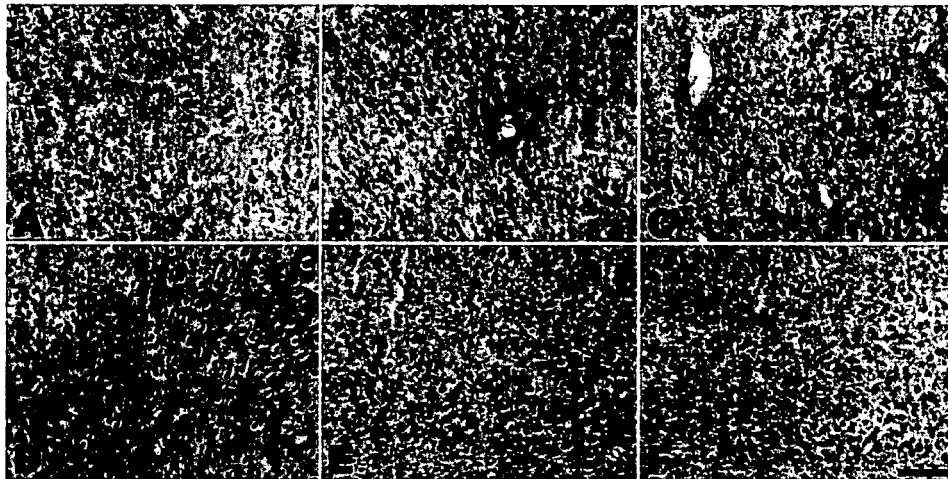


Fig. 4. Distinct localizations of SP immunoreactive (ir) cells in the frontal cortex area 1 (A, B, C) and occipital cortex area 1 of 4-week-old NPC^(-/-) (C, F), NPC^(+/-) (B, E), and NPC^(+/+) (A, D) mouse. In all three types of mice, SP-ir cells were present prominently in the IV–VI layers. Interestingly, SP-ir cells in the 4-week-old NPC^(+/+) occipital cortex 1 (D) had long and prominent processes. Scale bar = 100 μ m.

levels in the cerebral cortex of the AD brain. Although no report is available concerning the distribution of NPY-ir cells in the cerebral cortex of NPC mouse. Several have described age-related changes of NPY-ir cells in the rat cerebral cortex. Cha et al. [4] reported 10–50% reductions in NPY-ir neurons in the cerebral cortices of aged rats, and Zoli et al. [29] reported a 50% reduction in NPY-ir neuron count in the aged rat neostriatum. These discrepancies concerning VIP and NPY may be due to different pathogenesises, species, or the experimental methods used, as has been found in many other neurotransmitter systems.

SP, a representative of the tachykinin peptide family, is the first bioactive peptide derived from neural tissue [13] and has many known functions (e.g., pain transmission, and the control of the respiratory and cardiovascular systems). SP-ir cells have been shown to be widely distributed in the CNS [16]. In the monkey, many SP-ir cell bodies and fibers were observed in layers II–VI throughout the cerebral cortex, and the majority of these cells had bipolar or multipolar morphologies [10]. In line with our data, a previous study in the rat also found that SP-ir cells [as revealed by another SP antibody (Biogenesis, Cat. No. AR1768)] were scattered throughout the cerebral cortex, and the number of SP-ir cells were 386–545 in the rat cerebral cortex [25]. SP may also be associated with neurodegenerative disease: AD and Huntington's disease [13]. An examination of SP distribution in the AD isocortex and allocortex, using a monoclonal anti-SP antibody, showed SP depletion in AD [13]. SP-IR was also found to be significantly attenuated in the cerebral cortex of Rett syndrome, a motor disability disease that occurs in women [5]. In the present study, we did not find any statistically significant ($P < 0.05$) differences between the SP-ir cell number staining with 20064 and MAB 356 SP antibody. Major differences were found between NPC^(+/-) and NPC^(+/+), and between NPC^(-/-) and NPC^(+/+) in all three regions of the frontal and parietal I

cortex. The reasons for these regional variations between the NPC^(+/-) versus NPC^(+/+) are not determinable by this morphological study alone.

German et al. suggested that all neurons are not equally vulnerable to degeneration in NPC^(-/-) mouse. At 11 weeks of age, low levels of neuron loss were evident in the thalamus and prefrontal cortex of NPC^(-/-) mouse, though they show a 96% loss of Purkinje cells in the cerebellum [8]. Thus, in NPC^(-/-) mouse, specific neurons are targeted by disease whereas other neurons are less vulnerable to degeneration. In the 3-week-old NPC^(-/-) mouse, there was an age-related reduction in the number of neurons in the prefrontal cortex (28% reductions) and thalamus (20% reductions) [8]. However, in this study, no substantial cell losses were found in any cortex area of the 4-week-, 11-week-old NPC^(-/-) mouse versus age-matched NPC^(+/+) or NPC^(+/-) mouse by cresyl-violet staining (Figs. 1D–F). This may indicate that no massive degeneration or apoptosis occurred to the NPC^(-/-) mouse cortex by 11 weeks of age. Therefore, given the fundamental role of NPC1 in intracellular lipid transport, we suggest that abnormal lipid accumulation may be the primary defect in NPC and that this leads to secondary neurological impairment [23]. Previous studies demonstrated that the increased cellular accumulation of lysosomes causes an increase in lysosomal hydrolases (e.g., cathepsin-D), which can have a toxic effect on cells [19,26]. The levels of cathepsins D and E were significantly increased during normal aging process [18]. In the NPC model mouse, age-related elevations in cathepsin-D have been observed in both neurons and microglial cells [9]. Microglial activation is also needed by the neurodegenerative process of another lysosomal storage disease, Sandhoff disease [26]. Cathepsin-E hydrolyzed tachykinins, such as substance P and neurokinin A, with specific cleavage of essential sequences for their activity [11]. Thus, the reduced numbers of SP-ir cells in NPC^(-/-) mouse appear not to represent a developmental abnormality, but rather appear to be related with an abnormal

lysosomal metabolism. However, based on the results of the present study in isolation, it is not possible to determine whether reduced SP-ir cell numbers are directly related to the etiology of this disease. Overall, these results suggest that the neuropathological consequences of NPC are highly influenced by the neurotransmitter system, especially, SP, in the cerebral cortex.

The present study demonstrates significantly reduced SP-ir cell numbers in the cerebral cortex of 11-week-old NPC ($-/-$) mouse, which suggests that a pathway rather than one involving NPC1 protein itself may be responsible for the disease consequences observed in the NPC ($-/-$) mouse cerebral cortex. We hope that our study provides useful data for future investigations.

Acknowledgment

This work was supported in part by the National Niemann–Pick Disease Foundation, Inc., USA.

References

- [1] S. Akaboshi, T. Yano, S. Miyawaki, K. Ohno, K.A. Takeshita, C57BL/KsJ mouse model of Niemann–Pick disease (spin) belongs to the same complementation group as the major childhood type of Niemann–Pick disease type C, *Hum. Genet.* 99 (1997) 350–353.
- [2] H. Arai, T. Moroji, K. Kosaka, Somatostatin and vasoactive intestinal polypeptide in postmortem brains from patients with Alzheimer-type dementia, *Neurosci. Lett.* 52 (1984) 73–78.
- [3] E.D. Carstea, J.A. Morris, K.G. Coleman, S.K. Loftus, D. Zhang, C. Cummings, J. Gu, M.A. Rosenfeld, W.J. Pavan, D.B. Krizman, J. Nagle, M.H. Polymeropoulos, S.L. Sturley, Y.A. Ioannou, M.E. Higgins, M. Comly, A. Cooney, A. Brown, C.R. Kaneski, E.J. Blanchette-Mackie, N.K. Dwyer, E.B. Neufeld, T.Y. Chang, L. Liscum, D.A. Tagle, et al., Niemann–Pick C1 disease gene: homology to mediators of cholesterol homeostasis, *Science* 277 (1997) 228–231.
- [4] C.I. Cha, Y.I. Lee, E.Y. Lee, K.H. Park, S.H. Baik, Age-related changes of VIP, NPY and somatostatin-immunoreactive neurons in the cerebral cortex of aged rats, *Brain Res.* 753 (1997) 235–244.
- [5] K. Deguchi, B.A. Antalffy, L.J. Trowhill, S. Chakraborty, D.G. Glaze, D.D. Armstrong, Substance P immunoreactivity in Rett syndrome, *Pediatr. Neurol.* 22 (2000) 259–266.
- [6] R.P. Erickson, O. Bernard, Studies on neuronal death in the mouse model of Niemann–Pick C disease, *J. Neurosci. Res.* 68 (2002) 738–744.
- [7] N.L. Foster, C.A. Tamminga, T.L. O'Donohue, K. Tanimoto, E.D. Bird, T.N. Chase, Brain choline acetyltransferase activity and neuropeptide Y concentrations in Alzheimer's disease, *Neurosci. Lett.* 63 (1986) 71–75.
- [8] D.C. German, E.M. Quintero, C.L. Liang, B. Ng, S. Punia, C. Xie, J.M. Dietschy, Selective neurodegeneration, without neurofibrillary tangles, in a mouse model of Niemann–Pick C disease, *J. Comp. Neurol.* 433 (2001) 415–425.
- [9] D.C. German, C.-L. Liang, T. Song, U. Yazdani, C. Xie, J.M. Dietschy, Neurodegeneration in the Niemann–Pick C mouse: glial involvement, *Neuroscience* 109 (2002) 437–450.
- [10] S. Iritani, M. Fujii, K. Satoh, The distribution of substance P in the cerebral cortex and hippocampal formation: an immunohistochemical study in the monkey and rat, *Brain Res. Bull.* 22 (1989) 295–303.
- [11] T. Kagcyama, Rabbit procathepsin E and cathepsin E. Nucleotide sequence of cDNA, hydrolytic specificity for biologically active peptides and gene expression during development, *Eur. J. Biochem.* 216 (1993) 717–728.
- [12] D.C. Ko, M.D. Gordon, J.Y. Jin, M.P. Scott, Dynamic movements of organelles containing Niemann–Pick C1 protein: NPC1 involvement in late endocytic events, *Mol. Biol. Cell* 12 (2001) 601–614.
- [13] N.W. Kowall, B.J. Quigley Jr., J.E. Krause, F. Lu, B.E. Kosofsky, R.J. Ferrante, Substance P and substance P receptor histochemistry in human neurodegenerative diseases, *Regul. Pept.* 46 (1993) 174–185.
- [14] Y. Liu, Y.P. Wu, R. Wada, E.B. Neufeld, K.A. Mullin, A.C. Howard, P.G. Pentchev, M.T. Vanier, K. Suzuki, R.L. Proia, Alleviation of neuronal ganglioside storage does not improve the clinical course of the Niemann–Pick C disease mouse, *Hum. Mol. Genet.* 9 (2000) 1087–1092.
- [15] S.K. Loftus, J.A. Morris, E.D. Carstea, J.Z. Gu, C. Cummings, A. Brown, J. Ellison, K. Ohno, M.A. Rosenfeld, D.A. Tagle, P.G. Pentchev, W.J. Pavan, Murine model of Niemann–Pick C disease: mutation in a cholesterol homeostasis gene, *Science* 277 (1997) 232–235.
- [16] J. Marksteiner, A. Saria, R. Kirchmair, R. Pycha, H. Benesch, R. Fischer-Colbrie, C. Haring, H. Maier, G. Ransmayr, Distribution of secretoneurin-like immunoreactivity in comparison with substance P- and enkephalin-like immunoreactivities in various human forebrain regions, *Eur. J. Neurosci.* 5 (1993) 1573–1585.
- [17] M.F. Mazurek, M.F. Beal, E.D. Bird, J.B. Martin, Vasopressin in Alzheimer's disease: a study of postmortem brain concentrations, *Ann. Neurol.* 20 (1986) 665–670.
- [18] H. Nakanishi, Neuronal and microglial cathepsins in aging and age-related diseases, *Ageing Res. Rev.* 2 (2003) 367–381.
- [19] K. Ohmi, D.S. Greenberg, K.S. Rajavel, S. Ryazantsev, H.H. Li, E.F. Neufeld, Activated microglia in cortex of mouse models of mucopolysaccharidoses I and IIIB, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100 (2003) 1902–1907.
- [20] R.H. Perry, G.J. Dockray, R. Dimaline, E.K. Perry, G. Blessed, B.E. Tomlinson, Neuropeptides in Alzheimer's disease, depression and schizophrenia: a post mortem analysis of vasoactive intestinal peptide and cholecystokinin in cerebral cortex, *J. Neurol. Sci.* 51 (1981) 465–472.
- [21] P.C. Reid, S. Sugii, T.Y. Chang, Trafficking defects in endogenously synthesized cholesterol in fibroblasts, macrophages, hepatocytes, and glial cells from Niemann–Pick type C1 mice, *J. Lipid Res.* 44 (2003) 1010–1019.
- [22] M.T. Vanier, K. Suzuki, Recent advances in elucidating Niemann–Pick C disease, *Brain Pathol.* 8 (1998) 163–174.
- [23] I. Vincent, B. Bu, R.P. Erickson, Understanding Niemann–Pick type C disease: a fat problem, *Curr. Opin. Neurol.* 16 (2003) 155–161.
- [24] V. Voikar, H. Rauvala, E. Ikonen, Cognitive deficit and development of motor impairment in a mouse model of Niemann–Pick type C disease, *Behav. Brain Res.* 132 (2002) 1–10.
- [25] M. Vruwink, H.H. Schmidt, R.J. Weinberg, A. Burette, Substance P and nitric oxide signaling in cerebral cortex: anatomical evidence for reciprocal signaling between two classes of interneurons, *J. Comp. Neurol.* 441 (2001) 288–301.
- [26] R. Wada, C.J. Tiffit, R.L. Proia, Microglial activation precedes acute neurodegeneration in Sandhoff disease and is suppressed by bone marrow transplantation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97 (2000) 10954–10959.
- [27] H. Weintraub, A. Abramovici, U. Sandbank, P.G. Pentchev, R.O. Brady, M. Sekine, A. Suzuki, B. Sela, Neurological mutation characterized by dysmyelination in NCTB-Balb/C mouse with lysosomal lipid storage disease, *J. Neurochem.* 45 (1985) 665–672.
- [28] G. Yadid, I. Somnik-Barkai, C. Tornatore, B. Baker-Cairns, J. Harvey-White, P.G. Pentchev, E. Goldin, Neurochemical alterations in the cerebellum of a murine model of Niemann–Pick type C disease, *Brain Res.* 799 (1998) 250–256.
- [29] M. Zoli, F. Ferraguti, G. Toffano, K. Fuxe, L.F. Agnati, Neurochemical alterations but not nerve cell loss in aged rat neostriatum, *J. Chem. Neuroanat.* 6 (1993) 131–145.

アルツハイマー病とコレステロール代謝

道川 誠

アルツハイマー病とコレステロール代謝の問題は、様々な要因を孕みながら見解も複雑化しており、それを紐解くには今までの研究の経過を理解するとともに問題点を洗い出して慎重に見直しをする必要がある。特に、体循環と脳内におけるコレステロール代謝の相互関係の解明、脳内コレステロール代謝の制御機構の解明と制御法の開発、コレステロール代謝変動とアルツハイマー病病理発現との関係の解明、などに焦点をおいた研究が必要であり、ヒト検体の解析やモデル動物を使った実験等によって得られた仮説を検証する必要がある。高齢社会に突入したわが国において、アルツハイマー病の問題は待ったなしの状況にあり、基礎研究によって得られた知見を基盤にアルツハイマー病の発症予防法・治療法の開発が求められている。

1. コレステロール代謝とアルツハイマー病

コレステロール代謝とアルツハイマー病との関連を示唆する発見は、1993年に apolipoprotein E (apoE) の対立遺伝子 e4 がアルツハイマー病発症の危険因子であるという報告が始まると筆者は考えている。なぜなら apoE は脳内においてコレステロール代謝制御を行う主要なアポリポタンパク質であるからである。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^{1,2)}が報告され、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らかにしたのは、1993年に発表された論文である。すなわち e4 遺伝子を持つ頻度が遅発型家族性アルツハイマー病で著しく高いこと³⁾、この関連は孤発型アルツハイマー病でも確認されること⁴⁾、さらに e4 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 (e4 アリル数依存

性)⁵⁾ 等である。Corder らによれば、e4 遺伝子が一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、また発症年齢は平均 84 歳から 69 歳に早まるとされる⁵⁾。これらの関連は、わが国でも翌年には確認され、アルツハイマー病患者における e4 遺伝子の頻度が正常群では 10% 程度なのに対して 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⁶⁻⁸⁾。また、頭部外傷はアルツハイマー病の危険因子の一つと考えられているが、頭部外傷後に amyloid β タンパク質 (A β) の沈着した人の apoE 遺伝子型を調べたところ e4 遺伝子を持つ割合が 52% であった⁹⁾ ということから、A β 沈着に apoE が関与することが明らかになった。

しかし、1993年の発見の後、apoE 研究は、必ずしもコレステロール代謝との関連で進められたわけではなかった。膨大な生化学的、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、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が、主にそれらは apoE のコレステロール代謝以外の作用として議論されたのである。しかしその後、以下に述べるように血清コレステロール値とアルツハイマー病発症率の関連を示唆する疫学研究が発表されるに及んで、改めてコレステロール代謝とアルツハイマー病との関連が研究者の関心を喚起した。すでに横断的なロッテルダム研究により高コレステロール血症が危険因子となっている動脈硬化とアルツハイマー病との関連が指摘されていた

国立長寿医療センター研究所アルツハイマー病研究部
(〒474-8522 愛知県大府市森岡町源吾 36-3)
Alzheimer's disease and cholesterol metabolism
Makoto Michikawa (Department of Alzheimer's Disease Research, National Institute for Longevity Sciences National Institute for Geriatrics and Gerontology 36-3 Gengo, Morioka, Obu, Aichi 474-8522, Japan)

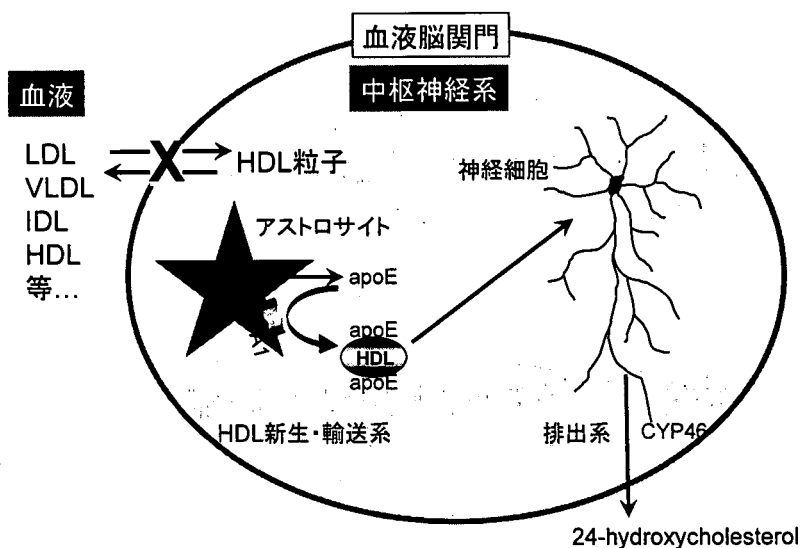


図1 中枢神経系のコレステロール代謝の独自性

リポタンパク質が存在し、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様粒子のみが存在する。これは、血液脳関門によって血液中のLDL, VLDL, IDL, カイロミクロンなどのリポタンパク質が脳内に入れなかったことを示している(図1)。アルツハイマー病をコレステロール代謝の側面から考える場合、血中のコレステロール代謝がどの程度脳内コレステロール代謝に影響するのか、しないのかの検討が必要である。これは、当然スタチンの効果を考える際にも避けて通れない問題となる。故にアルツハイマー病発症機構とコレステロールの関係を検討するためには、中枢神経系独自のコレステロール代謝系を明らかにし、さらに「コレステロール代謝」と「アルツハイマー病理」発現との関連を議論する必要があり、スタチンの効果についても同様の議論が必要となる。しかし、こうした基本的な点を考慮しない議論が多いことに注意しなければならない。

確かに、血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のアイソフォーム依存的である(高い順に $\text{apoE4} > \text{apoE3} > \text{apoE2}$)ことが知られている²⁹⁻³¹⁾。この傾向は、アルツハイマー病の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。しかし、興味深いことに血清HDL値は逆相関すること(高い順に $\text{apoE2} > \text{apoE3} > \text{apoE4}$)が同時に指摘されている^{29,31)}。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^{32,33)}。このようにリポタンパク質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タンパクの種類(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

タンパク質およびリポタンパク質と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。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³⁴⁾、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がapoAIのそれと共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、 $\text{apoE2} > \text{apoE3} > \text{apoE4}$ 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 $\text{apoE2} > \text{apoE3} > \text{apoE4}$ である^{33,35)})。更に、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³⁶⁾やアルツハイマー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、アルツハイマー病脳内におけるHDLコレステロール量は対象群に比し低下していることが示唆される。従って、血清HDLコレステロール値の低下(そして恐らくHDL形成機序から考えて脳内HDLコレステロール量も低下)がアルツハイマー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、アルツハイマー病患者の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³⁷⁾。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アルツハイマー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。

しかし、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考え方から、神経細胞のコレステロー

ル値を下げればアルツハイマー病病理現象は減弱するのではないかという考え方が生じたのは当然かもしれない。以下にその試みを記す。

3. スタチンは疾患発症を抑制するか？

長期に先行する高コレステロール血症（あるいは低HDL血症）がアルツハイマー病あるいは軽度認知障害（MCI）の発症と正の相関があるならば、コレステロール降下剤であるスタチン服用は、アルツハイマー病予防に効果があるかも知れない。この疑問に対して、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アルツハイマー病発症率の有意な低下が見られるという報告³⁸⁾がなされ、大きな関心を持った。本稿の読者の多くも、この点に関心を持たれているに違いない。スタチンのアルツハイマー病予防効果の分子機構として以下の可能性が提示された。すなわち、スタチンおよびメチルペータサイクロデキストリン処理によって細胞内および細胞膜コレステロール量を減少させるとA β 産生が低下するという報告³⁹⁾である。更に、この研究結果を補完する研究が別のグループによってなされた。すなわち、細胞膜のコレステロール濃度を下げると α セクレターゼ活性が増強して α APP量を増加させ、同時にA β 産生量を減少させるというものである。更に、スタチンを服用させたモルモットの解析から、スタチン服用によって、髄液中のA β 量が減少することが報告された⁴⁰⁾。これらの研究は、新たにスタチンの作用機序を提示し、疫学データを下支えする理論を提供した点で意義があると思われる。

しかし、上記の考え方に対していくつかの疑問点も出されている。例えば、スタチンのアルツハイマー病抑制効果に関しては、コレステロール値とA β 産生との関連で説明ができるのかという疑問が提起されている。すなわち、実験に使われたスタチン濃度は極めて高いことから、臨床で使われるスタチン濃度でもA β 産生を抑制する程度にコレステロール代謝を動かしているのかどうかという問題である。スタチンの髄液移行濃度とその作用効果との観点からの検討が必要である。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⁴¹⁾。また中枢神経系へのスタチンの影響は、脳脊髄液中の24-hydroxycholesterol値への影響からも確認されている。24-hydroxycholesterolはコレステロール24-ヒドロキシラーゼによって酸化されて生成され、血液脳関門を通過して血液中に運び出され、LDLとして肝臓に運ばれて胆汁酸となる。24-hydroxycholesterolのほとんどは脳内で生成されることから脳内コレステロール代謝を反映するマーカーと考えることができる。スタチンの服用者では、血漿中のLDL値とともに24-hydroxycholesterol値が減少す

ることが解っている^{42,43)}。これらは、確かに臨床使用量のスタチンが脳内コレステロール代謝にも影響することを示している。しかし、問題はそれがA β を低下させる効果を発揮しているかどうかである。上記論文では、スタチンの常用量では髄液コレステロール値を下げるもののA β 産生には影響しない⁴¹⁾とされており、スタチンのアルツハイマー病抑制効果をA β 産生との関連で説明することはできないとしている。スタチンによって髄液中のA β 量の低下を招いたとする研究⁴⁰⁾は、通常服用量の100倍も高いスタチン量を投与したためであり、疫学研究で見られた抑制効果がA β 量の低下によるものかどうか慎重に検討する必要が生じているのである。こうした混乱はマウス実験でも見られる。例えば、高コレステロール食により脳内A β 沈着が亢進し、亢進の程度は血清および髄液コレステロール濃度に比例するという報告⁴⁴⁻⁴⁶⁾がある一方、反対に高コレステロール食により脳内A β 量が低下するとする報告⁴⁷⁾があり、現状ではこれら相反する事実を巧く説明できていない。そもそも高コレステロール食は、脳内コレステロール産生に影響しないとする報告⁴⁸⁾もある。おそらくこうした混乱の原因は、スタチンの髄液移行の問題以外に、冒頭に述べたように体循環系と中枢神経系におけるコレステロール代謝の関係および、コレステロール代謝変動とアルツハイマー病病理発現との関係が未解決であることに起因しているのではないかと考えられる。

その後、スタチンのアルツハイマー病予防効果を見る研究として20,536人を対象とした5年間に亘る前向き調査の結果が報告された。この研究は、simvastatinを40mg/日服用した群とプラセボ服用群間での認知症発症を検討しているが、両者間に有意差は見られなかったという⁴⁹⁾。さらに、5,804人を対象に、無作為に選択したプラセボ投与群とpravastatin投与群（40mg/日）間で行った研究でも、3年後の評価では認知機能に有意差はなかったとのことである⁵⁰⁾。一方、スタチンのアルツハイマー病発症予防効果の分子機構として提唱されているA β 産生抑制効果に対しても、異なる研究結果が報告されている。例えば、APPトランスジェニックマウスであるTg2576マウスにスタチンを投与すると、脳内A β 産生量を増加させたとする報告^{51,52)}があり、De Strooperらは、スタチンで細胞内コレステロールを軽度（20-30%程度）減少させるとA β 産生が増加すると報告している⁵³⁾。これらの結果に対しては、疫学研究においても、生化学的解析においても、スタチン療法とアルツハイマー病発症との関連については、検討の余地を残していると言わざるをえない。

以上のような状況を考慮すれば、スタチンの持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検討されなければならない。実際、スタチンは、細胞内シグナル伝達や細胞増殖に関与するGタンパク質の修飾に必要

な中間産物である farnesyl pyrophosphate や geranylgeranyl pyrophosphate などの産生を阻害する他, 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⁵⁴⁾。スタチンによるコレステロールレベルの低下ではなくイソプレノイドの低下が細胞内 A β 量を増加させるとする報告が最近なされた⁵⁵⁾。また, 動脈硬化がアルツハイマー病および血管性痴呆両者の危険因子である¹⁰⁾とされることから, 高コレステロール血症は直接的には動脈硬化促進を介してアルツハイマー病の危険因子となっている可能性, そしてスタチンは炎症性疾患でもある動脈硬化を抑制すること⁵⁶⁾でアルツハイマー病発症を抑制している可能性がある。

最後に, これら一連の研究は, 「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」ことの分子機構を明らかにしているのではないことを銘記すべきであろう。あくまでもスタチンの予防効果の分子機構として提案された仮説であり, その意味では, コレステロール代謝をめぐる理論としては, 残された側面についての考察が必要である。一般に, 細胞内の遊離コレステロール量は厳密に制御され余剰分はエステル化されてしまうため, その量を増やすことは容易ではない。その点では, 「高い血清コレステ

ロール値がアルツハイマー病発症頻度を上げる」ことのメカニズムに対するアプローチとしては, 「コレステロールエステル量との関連」を論じた研究²¹⁾から, あるいは説明が可能かもしれない。

4. コレステロールとアミロイドカスケード

いままでのアルツハイマー病とコレステロールに関する議論の中で, メカニズムに関しては細胞内コレステロール量が A β の産生を左右するという議論であった。筆者らは, 既述した考え方以外に, アルツハイマー病とコレステロールの関連に関して独自の考え方を持っている。それは, コレステロールを A β 産生・オリゴマー形成より下流の神経細胞変性を左右する分子としてアミロイドカスケードに位置づける考え方である (図2)。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 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 によって産生される HDL 様粒子と異なり, 細胞に取り込まれないこと⁵⁷⁾, (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

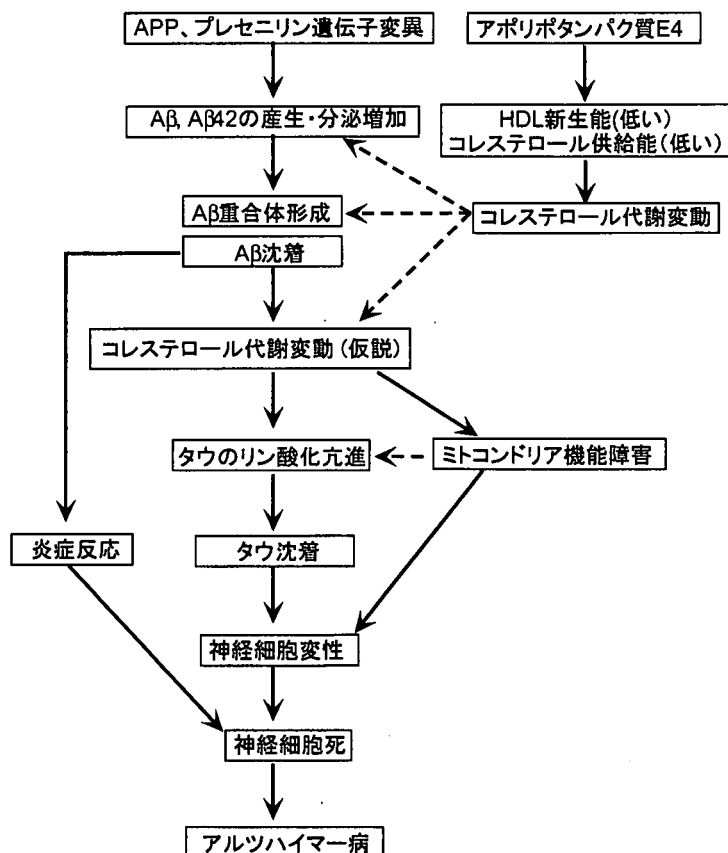


図2 アミロイドカスケード仮説

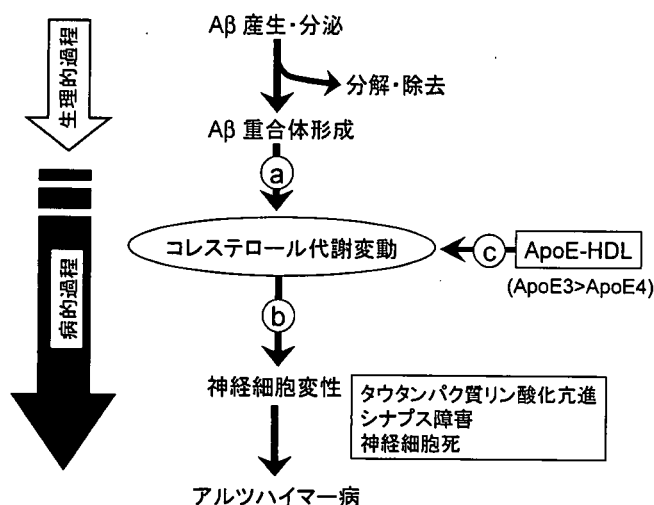


図3 アミロイドカスケード仮説とコレステロール代謝

きがあること⁵⁸⁾である。こうした作用は単体 Aβ には見られない⁵⁹⁾。アルツハイマー病脳ではオリゴマー Aβ 量が増加すると考えられることから、これらの結果は、アルツハイマー病では、増加したオリゴマー Aβ 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を示している(図3a)。こうした Aβ による細胞膜コレステロール代謝への影響は、他の研究者によっても報告されており、コレステロール合成抑制効果を持つ酸化ステロール (4-cholestan-3-one や 7β-hydroxycholesterol) を生成すること^{60,61)} が明らかになっている。更に、筆者らをはじめとするいくつかのグループの研究結果から、神経細胞内コレステロール量の減少がタウタンパク質のリン酸化亢進⁶²⁾、シナプス可塑性および機能の低下⁶³⁾、そして神経細胞に特異的な細胞死の誘導等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が明らかになった(図3b)。こうした

たオリゴマー Aβ 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 新生とその神経細胞への供給によって維持していると考えられる。筆者らは、apoE の HDL 形成作用がアイソフォーム依存的であり (apoE3>apoE4)^{33,35)}、コレステロール供給能が apoE3>apoE4 であることを明らかにした(図3c, 図4)。神経細胞のコレステロール代謝は、Aβ オリゴマーや活性酸素によって増加する酸化コレステロール (酸化ステロールには強いコレステロール合成抑制作用を持つものがある) によって代謝変動の圧力がかかると考えられるが、apoE3 はコレステロール代謝の恒常性維持能力が高いために、アルツハイマー病発症の抑制に効果的であると考えられることができるかもしれない。コレステロール欠乏とタウタンパク質のリン酸化亢進との関連については、コレステロール代謝異常を中核病態とする Niemann-Pick disease, type C1 (NPC1) のモデルマウス脳で解析され、MAPK 活性の上昇およびタウタンパク質のリン酸化亢進が確かめられている⁶⁴⁾。この他に、cyclin-dependent kinase 5 (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とする報告があった⁶⁵⁾ が、p35 欠損マウスと NPC1 マウスとの交配実験から、cdk5 活性化は神経変性に本質的ではないことが示されている⁶⁶⁾。NPC1 における MAPK 活性の上昇およびタウタンパク質のリン酸化亢進の機序として、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招くこと、さらにマイクロドメイン機能が APP 代謝にも重要であることが明らかになっている⁶⁷⁾。

我々は最近、ミトコンドリア膜コレステロールには至適濃度が存在し、それが適切に保たれていることがミトコン

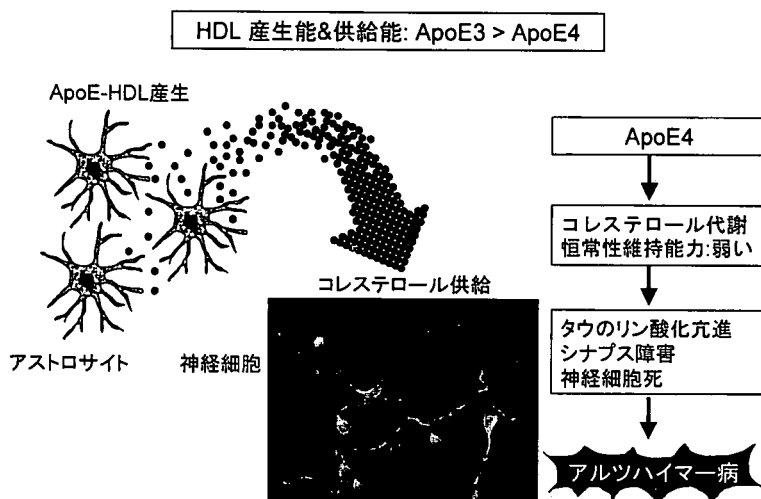


図4 ApoE のアイソフォーム依存的 HDL 産生作用

ドリア機能を正常に維持するために重要であること、NPC1 マウス脳では細胞内コレステロールの代謝変動によってミトコンドリア膜のコレステロール代謝変動が生じるためミトコンドリア機能障害・ATP産生低下を来すことを見出した^{68,69}。アルツハイマー病においてもミトコンドリア障害が指摘されていることから、アルツハイマー病におけるコレステロール代謝変動がNPC1病と同様にタウオパチーおよびミトコンドリア障害を誘導し神経細胞変性に関与している可能性がある(図3b)。更に、我々は脳内コレステロール代謝が、神経細胞の種類によって異なっていることも見出した。海馬神経と大脳皮質神経細胞を培養したもので脂質解析を行うと、タンパク質当りのコレステロール濃度が大脳皮質神経細胞に比べて海馬神経で有意に高いこと、コレステロール濃度を増減させたときの神経突起伸長への影響も神経細胞の種類によって異なることを見出した⁷⁰。これらの結果は、コレステロール代謝変動の影響が、神経細胞の種類によって、あるいは脳部位別に異なることを示しており、コレステロール代謝とアルツハイマー病病理を議論する際に重要な視点になると考えられる。

すでに述べたように、細胞内コレステロール高値は、 $A\beta$ 産生を促進しアルツハイマー病の病的過程のスイッチを入れるのかもしれない。また、細胞膜コレステロール濃度が高いと毒性を持つ $A\beta$ 重合体形成を促進させるのかもしれない。その意味では、それがコレステロール代謝を介する $A\beta$ の産生抑制・重合抑制であれ、それ以外の作用(例えば抗炎症作用)であれ、スタチンに疾患予防効果が本当にあるかどうかを確定する必要がある。一方、アルツハイマー病の病理過程がかなり進行し、脳内での $A\beta$ のオリゴマー形成が進んだ状態になると、神経細胞のコレステロール代謝に悪影響を与え始め、コレステロール量の低下などによる利用障害が神経細胞変性を促進させる可能性があるのではないだろうか。故に、少なくともアルツハイマー病発症以降では、神経細胞内コレステロール量はむしろ低過ぎないことが大事であると言えるかもしれない。もちろん、これらは *in vitro* または動物モデルでの知見であり、当然ながらただちにヒトに適用できる訳ではないが、少なくともアルツハイマー病発症後におけるスタチン服用には慎重でなくてはならない。病的過程におけるコレステロールの意義については、スタチンによるコレステロール減少の他に、HDL新生を促進させること(HDL療法: 下記参照)によるアルツハイマー病病理発現への影響をモデル動物を用いて検証する必要がある。

5. ABCA1発現のアミロイド沈着

最後に、脳内コレステロール代謝調節によるアルツハイマー病発症予防・治療の観点からなされた研究を紹介したい。脳内のリポタンパク質はHDL様の粒子にしか存在し

ないことは記述した。このHDL粒子にはapoEが含まれることから、apoE受容体を介して細胞に取り込まれ、コレステロール供給源としても働く。近年の研究から、アポリポタンパク質によるHDL新生には、ABCA1が重要な役割を果たすことが明らかになった^{71,72}。また、このABCA1発現は、酸化ステロールをリガンドとするLXRやレチノイン酸をリガンドとするRXRなどの核内受容体によって制御されることも解ってきた⁷³⁻⁷⁵。従って脳内のコレステロール代謝調節には、これら核内受容体のリガンドの投与が有力な戦略の一つと考えられる。LXR受容体とRXR受容体はヘテロダイマー複合体を形成して作用を発揮するとされる。これらそれぞれのアゴニストである22-hydroxycholesterol並びにretinoic acidを培養細胞に投与したところ、ABCA1発現が増強され、それに伴ってコレステロール搬出が増強された結果、細胞内コレステロール量が下がり $A\beta$ 分泌が減少したとする報告⁷⁶がなされた。しかし一方、同様の処理によって逆の結果、すなわち $A\beta$ 分泌が増加しRNAiによるABCA1発現抑制で $A\beta$ 分泌量の増加は抑えられたとする報告⁷⁷もあり異なる結果となっている。そこで重要なのは、生体内における作用である。最近、ABCA1のノックアウトマウスを用いてABCA1の脳内 $A\beta$ 沈着に対する影響を検討した3編の論文が同時に発表された⁷⁸⁻⁸⁰。それらに共通する結果は、ABCA1ノックアウトマウスでは脳内 $A\beta$ の沈着が増強するという点、apoEレベルが低下することであった。これらの結果に対しては、いくつかの解釈が可能であろうが、HDLの産生量が著明に低下したためHDLに結合して除去されるべき $A\beta$ が除去されなかったため、 $A\beta$ 沈着が増強した可能性や、脂質の少ないapoE-HDLのためにapoEの $A\beta$ 線維化作用が増強された可能性などが考えられる。我々もABCA1に関しては、神経修復やコレステロール代謝の恒常性維持の観点から、HDL新生調節が重要であろうと考えている。今後は、ABCA1の発現増強によって、 $A\beta$ 沈着を予防し、神経変性を抑制できる可能性を検証し、“HDL療法”ともいべき予防・治療法の開発につなげたいと考えている。

文 献

- 1) Namba, Y., Tomonaga, M., Kawasaki, H., Otomo, E., & Ikeda, K. (1991) *Brain Res.* 541, 163-166
- 2) Wisniewski, T. & Frangione, B. (1992) *Neurosci. Lett.* 135, 235-238
- 3) Strittmatter, W.J., Saunders, A.M., Schmechel, D., Pericak-Vance, M., Enghild, J., Salvesen, G.S., & Roses, A.D. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 1977-1981
- 4) Saunders, A.M., Strittmatter, W.J., Schmechel, D., George-Hyslop, P.H., Pericak-Vance, M.A., Joo, S.H., Rosi, B.L., Gusella, J.F., Crapper-MacLachlan, D.R., Alberts, M.J., et al. (1993) *Neurology* 43, 1467-1472

- 5) Corder, E.H., Saunders, A.M., Strittmatter, W.J., Schmechel, D.E., Gaskell, P.C., Small, G.W., Roses, A.D., Haines, J.L., & Pericak-Vance, M.A. (1993) *Science* **261**, 921-923
- 6) Dai, X.Y., Nanko, S., Hattori, M., Fukuda, R., Nagata, K., Isse, K., Ueki, A., & Kazamatsuri, H. (1994) *Neurosci. Lett.* **175**, 74-76
- 7) Yoshizawa, T., Yamakawa-Kobayashi, K., Komatsuzaki, Y., Arinami, T., Oguni, E., Mizusawa, H., Shoji, S., & Hamaguchi, H. (1994) *Ann. Neurol.* **36**, 656-659
- 8) Okuizumi, K., Onodera, O., Tanaka, H., Kobayashi, H., Tsuji, S., Takahashi, H., Oyanagi, K., Seki, K., Tanaka, M., Naruse, S., et al. (1994) *Nat. Genet.* **7**, 10-11
- 9) Nicoll, J.A., Roberts, G.W., & Graham, D.I. (1996) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **777**, 271-275
- 10) Hofman, A., Ott, A., Breteler, M.M., Bots, M.L., Slooter, A.J., van Harskamp, F., van Duijn, C.N., Van Broeckhoven, C., & Grobbee, D.E. (1997) *Lancet* **349**, 151-154
- 11) Notkola, I.L., Sulkava, R., Pekkanen, J., Erkinjuntti, T., Ehnholm, C., Kivinen, P., Tuomilehto, J., & Nissinen, A. (1998) *Neuroepidemiology* **17**, 14-20
- 12) Jarvik, G.P., Wijsman, E.M., Kukull, W.A., Schellenberg, G.D., Yu, C., & Larson, E.B. (1995) *Neurology* **45**, 1092-1096
- 13) Evans, R.M., Emsley, C.L., Gao, S., Sahota, A., Hall, K.S., Farlow, M.R., & Hendrie, H. (2000) *Neurology* **54**, 240-242
- 14) Kivipelto, M., Helkala, E.L., Hanninen, T., Laakso, M.P., Hallikainen, M., Alhainen, K., Soininen, H., Tuomilehto, J., & Nissinen, A. (2001) *Neurology* **56**, 1683-1689
- 15) Kolsch, H., Lutjohann, D., Ludwig, M., Schulte, A., Ptok, U., Jessen, F., von Bergmann, K., Rao, M.L., Maier, W., & Heun, R. (2002) *Mol. Psychiatry* **7**, 899-902
- 16) Papassotiropoulos, A., Streffer, J.R., Tzolaki, M., Schmid, S., Thal, D., Nicosia, F., Iakovidou, V., Madgalena, A., Lutjohann, D., Ghebremedhin, E., Hegi, T., Pasch, T., Traxler, M., Bruhl, A., Benussi, L., Binetti, G., Braak, H., Nitsch, R.M., & Hock, C. (2003) *Arch. Neurol.* **60**, 29-35
- 17) Lutjohann, D., Papassotiropoulos, A., Bjorkhem, I., Locatelli, S., Bagli, M., Oehring, R.D., Schlegel, U., Jessen, F., Rao, M.L., von Bergmann, K., & Heun, R. (2000) *J. Lipid Res.* **41**, 195-198
- 18) Bretillon, L., Siden, A., Wahlund, L.O., Lutjohann, D., Minthon, L., Crisby, M., Hillert, J., Groth, C.G., Diczfalusy, U., & Bjorkhem, I. (2000) *Neurosci. Lett.* **293**, 87-90
- 19) Papassotiropoulos, A., Lutjohann, D., Bagli, M., Locatelli, S., Jessen, F., Buschfort, R., Ptok, U., Bjorkhem, I., von Bergmann, K., & Heun, R. (2002) *J. Psychiatr. Res.* **36**, 27-32
- 20) Wollmer, M.A., Streffer, J.R., Lutjohann, D., Tzolaki, M., Iakovidou, V., Hegi, T., Pasch, T., Jung, H.H., Bergmann, K., Nitsch, R.M., Hock, C., & Papassotiropoulos, A. (2003) *Neurobiol. Aging* **24**, 421-426
- 21) Puglielli, L., Konopka, G., Pack-Chung, E., Ingano, L.A., Berezovska, O., Hyman, B.T., Chang, T.Y., Tanzi, R.E., & Kovacs, D.M. (2001) *Nat. Cell Biol.* **3**, 905-912
- 22) Reitz, C., Tang, M.X., Luchsinger, J., & Mayeux, R. (2004) *Arch. Neurol.* **61**, 705-714
- 23) Mielke, M.M., Zandi, P.P., Sjogren, M., Gustafson, D., Ostling, S., Steen, B., & Skoog, I. (2005) *Neurology* **64**, 1689-1695
- 24) Craig, A.M. & Banker, G. (1994) *Annu. Rev. Neurosci.* **17**, 267-310
- 25) Okabe, S., Kim, H.D., Miwa, A., Kuriu, T., & Okado, H. (1999) *Nat. Neurosci.* **2**, 804-811
- 26) Mauch, D.H., Nagler, K., Schumacher, S., Goritz, C., Muller, E.C., Otto, A., & Pflieger, F.W. (2001) *Science* **294**, 1354-1357
- 27) Koudinov, A.R. & Koudinova, N.V. (2001) *FASEB J.* **15**, 1858-1860
- 28) Hayashi, H., Campenot, R.B., Vance, D.E., & Vance, J.E. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 14009-14015
- 29) Braeckman, L., De Bacquer, D., Rosseneu, M., & De Backer, G. (1996) *Atherosclerosis* **120**, 67-73
- 30) Kallio, M.J., Salmenpera, L., Siimes, M.A., Perheentupa, J., Gylling, H., & Miettinen, T.A. (1997) *J. Lipid Res.* **38**, 759-764
- 31) Frikke-Schmidt, R., Nordestgaard, B.G., Agerholm-Larsen, B., Schnohr, P., & Tybjaerg-Hansen, A. (2000) *J. Lipid Res.* **41**, 1812-1822
- 32) Michikawa, M. & Yanagisawa, K. (1999) *Mech. Ageing Dev.* **107**, 233-243
- 33) Gong, J.S., Kobayashi, M., Hayashi, H., Zou, K., Sawamura, N., Fujita, S.C., Yanagisawa, K., & Michikawa, M. (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 29919-29926
- 34) Fagan, A.M., Younkin, L.H., Morris, J.C., Fryer, J.D., Cole, T.G., Younkin, S.G., & Holtzman, D.M. (2000) *Ann. Neurol.* **48**, 201-210
- 35) Michikawa, M., Fan, Q.W., Isobe, I., & Yanagisawa, K. (2000) *J. Neurochem.* **74**, 1008-1016
- 36) Merched, A., Xia, Y., Visvikis, S., Serot, J.M., & Siest, G. (2000) *Neurobiol. Aging* **21**, 27-30
- 37) Mulder, M., Ravid, R., Swaab, D.F., de Kloet, E.R., Haasdijk, E.D., Julk, J., van der Boom, J.J., & Havekes, L.M. (1998) *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **12**, 198-203
- 38) Wolozin, B., Kellman, W., Ruosseau, P., Celesia, G.G., & Siegel, G. (2000) *Arch. Neurol.* **57**, 1439-1443
- 39) Simons, M., Keller, P., De Strooper, B., Beyreuther, K., Dotti, C.G., & Simons, K. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 6460-6464
- 40) Fassbender, K., Simons, M., Bergmann, C., Stroick, M., Lutjohann, D., Keller, P., Runz, H., Kuhl, S., Bertsch, T., von Bergmann, K., Hennerici, M., Beyreuther, K., & Hartmann, T. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 5856-5861
- 41) Fassbender, K., Stroick, M., Bertsch, T., Ragoeschke, A., Kuehl, S., Walter, S., Walter, J., Brechtel, K., Muehlhauser, F., Von Bergmann, K., & Lutjohann, D. (2002) *Neurology* **59**, 1257-1258
- 42) Locatelli, S., Lutjohann, D., Schmidt, H.H., Otto, C., Beisiegel, U., & von Bergmann, K. (2002) *Arch. Neurol.* **59**, 213-216
- 43) Vega, G.L., Weiner, M.F., Lipton, A.M., Von Bergmann, K., Lutjohann, D., Moore, C., & Svetlik, D. (2003) *Arch. Neurol.* **60**, 510-515
- 44) Sparks, D.L. (1996) *Neurobiol. Aging* **17**, 291-299
- 45) Refolo, L.M., Malester, B., LaFrancois, J., Bryant-Thomas, T., Wang, R., Tint, G.S., Sambamurti, K., Duff, K., & Pappolla, M.A. (2000) *Neurobiol. Dis.* **7**, 321-331
- 46) Shie, F.S., Jin, L.W., Cook, D.G., Leverenz, J.B., & LeBoeuf, R.C. (2002) *Neuroreport* **13**, 455-459
- 47) Howland, D.S., Trusko, S.P., Savage, M.J., Reaume, A.

- G., Lang, D.M., Hirsch, J.D., Maeda, N., Siman, R., Greenberg, B.D., Scott, R.W., & Flood, D.G. (1998) *J. Biol. Chem.* **273**, 16576-16582
- 48) Jurevics, H., Hostettler, J., Barrett, C., Morell, P., & Toews, A.D. (2000) *J. Lipid Res.* **41**, 1048-1054
- 49) Group, Heart Protection Study (2002) *Lancet* **360**, 7-22
- 50) Shepherd, J., Blauw, G.J., Murphy, M.B., Bollen, E.L., Buckley, B.M., Cobbe, S.M., Ford, I., Gaw, A., Hyland, M., Jukema, J.W., Kamper, A.M., Macfarlane, P.W., Meinders, A.E., Norrie, J., Packard, C.J., Perry, I.J., Stott, D.J., Sweeney, B.J., Twomey, C., & Westendorp, R. G. (2002) *Lancet* **360**, 1623-1630
- 51) Park, I.H., Hwang, E.M., Hong, H.S., Boo, J.H., Oh, S.S., Lee, J., Jung, M.W., Bang, O.Y., Kim, S.U., & Mook-Jung, I. (2003) *Neurobiol Aging* **24**, 637-643
- 52) Molander-Melin, M., Blennow, K., Bogdanovic, N., Dellheden, B., Mansson, J.E., & Fredman, P. (2005) *J. Neurochem.* **92**, 171-182
- 53) Abad-Rodriguez, J., Ledesma, M.D., Craessaerts, K., Perga, S., Medina, M., Delacourte, A., Dingwall, C., De Strooper, B., & Dotti, C.G. (2004) *J. Cell Biol.* **167**, 953-960
- 54) Hess, D.C., Demchuk, A.M., Brass, L.M., & Yatsu, F.M. (2000) *Neurology* **54**, 790-796
- 55) Cole, S.L., Grudzien, A., Manhart, I.O., Kelly, B.L., Oakley, H., & Vassar, R. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 18755-18770
- 56) Ross, R. (1999). *N. Engl. J. Med.* **340**, 115-126
- 57) Michikawa, M., Gong, J.S., Fan, Q.W., Sawamura, N., & Yanagisawa, K. (2001) *J. Neurosci.* **21**, 7226-7235
- 58) Gong, J.S., Sawamura, N., Zou, K., Sakai, J., Yanagisawa, K., & Michikawa, M. (2002) *J. Neurosci. Res.* **70**, 438-446
- 59) Zou, K., Gong, J.S., Yanagisawa, K., & Michikawa, M. (2002) *J. Neurosci.* **22**, 4833-4841
- 60) Puglielli, L., Friedlich, A.L., Setchell, K.D., Nagano, S., Opazo, C., Cherny, R.A., Barnham, K.J., Wade, J.D., Melov, S., Kovacs, D.M., & Bush, A.I. (2005) *J. Clin. Invest.* **115**, 2556-2563
- 61) Nelson, T.J. & Alkon, D.L. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 7377-7387
- 62) Fan, Q.W., Yu, W., Senda, T., Yanagisawa, K., & Michikawa, M. (2001) *J. Neurochem.* **76**, 391-400
- 63) Fan, Q.W., Yu, W., Gong, J.S., Zou, K., Sawamura, N., Senda, T., Yanagisawa, K., & Michikawa, M. (2002) *J. Neurochem.* **80**, 178-190
- 64) Sawamura, N., Gong, J.S., Garver, W.S., Heidenreich, R. A., Ninomiya, H., Ohno, K., Yanagisawa, K., & Michikawa, M. (2001) *J. Biol. Chem.* **276**, 10314-10319
- 65) Bu, B., Li, J., Davies, P., & Vincent, I. (2002) *J. Neurosci.* **22**, 6515-6525
- 66) Hallows, J.L., Iosif, R.E., Biasell, R.D., & Vincent, I. (2006) *J. Neurosci.* **26**, 2738-2744
- 67) Sawamura, N., Ko, M., Yu, W., Zou, K., Hanada, K., Suzuki, T., Gong, J.S., Yanagisawa, K., & Michikawa, M. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 11984-11991
- 68) Yu, W., Ko, M., Yanagisawa, K., & Michikawa, M. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 27296-27302
- 69) Yu, W., Gong, J.S., Ko, M., Garver, W.S., Yanagisawa, K., & Michikawa, M. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 11731-11739
- 70) Ko, M., Zou, K., Minagawa, H., Yu, W., Gong, J.S., Yanagisawa, K., & Michikawa, M. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 42759-42765
- 71) Brooks-Wilson, A., Marcil, M., Clee, S.M., Zhang, L.H., Roomp, K., van Dam, M., Yu, L., Brewer, C., Collins, J. A., Molhuizen, H.O., Loubser, O., Ouelette, B.F., Fichter, K., Ashbourne-Excoffon, K.J., Sensen, C.W., Scherer, S., Mott, S., Denis, M., Martindale, D., Frohlich, J., Morgan, K., Koop, B., Pimstone, S., Kastelein, J.J., Genest, J., Jr., & Hayden, M.R. (1999) *Nat. Genet.* **22**, 336-345
- 72) Oram, J.F. (2000) *Biochim. Biophys. Acta* **1529**, 321-330
- 73) Repa, J.J., Turley, S.D., Lobaccaro, J.A., Medina, J., Li, L., Lustig, K., Shan, B., Heyman, R.A., Dietschy, J.M., & Mangelsdorf, D.J. (2000) *Science* **289**, 1524-1529
- 74) Costet, P., Luo, Y., Wang, N., & Tall, A.R. (2000) *J. Biol. Chem.* **275**, 28240-28245
- 75) Venkateswaran, A., Laffitte, B.A., Joseph, S.B., Mak, P. A., Wilpitz, D.C., Edwards, P.A., & Tontonoz, P. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**, 12097-12102
- 76) Koldamova, R.P., Lefterov, I.M., Ikonovic, M.D., Skoko, J., Lefterov, P.I., Isanski, B.A., DeKosky, S.T., & Lazo, J.S. (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 13244-13256
- 77) Fukumoto, H., Deng, A., Irizarry, M.C., Fitzgerald, M.L., & Rebeck, G.W. (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 48508-48513
- 78) Wahrle, S.E., Jiang, H., Parsadanian, M., Hartman, R.E., Bales, K.R., Paul, S.M., & Holtzman, D.M. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 43236-43242
- 79) Hirsch-Reinshagen, V., Maia, L.F., Burgess, B.L., Blain, J.F., Naus, K.E., McIsaac, S.A., Parkinson, P.F., Chan, J. Y., Tansley, G.H., Hayden, M.R., Poirier, J., Van Nostrand, W., & Wellington, C.L. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 43243-43256
- 80) Koldamova, R., Staufenbiel, M., & Lefterov, I. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 43224-43235

カムキナーゼ II を中心とする神経機能調節の 分子メカニズム

山 内 卓

Ca²⁺/カルモデュリン依存性プロテインキナーゼ II (カムキナーゼ II) は、脳で特に重要な酵素であり、現在は記憶分子と考えられている。記憶・学習等の高次脳機能を分子の働きとして理解するために、『記憶分子』、『記憶装置』、『記憶形成装置』、あるいは、『可塑性装置』の本体と分子構成およびその調節機構を明らかにすることが重要である。刺激に応じてシナプスを組換えるいわゆるシナプス可塑性はシナプス機能調節のそのものであり、神経細胞の軸索終末 (神経終末) と樹状突起において基本的なメカニズムが存在する可能性がある。筆者らは、シナプス後肥厚 (PSD, postsynaptic density) および神経終末とその周辺に記憶装置が存在すると考え研究している。最近、PSD の分子構成が明らかになり、カムキナーゼ II が PSD の主要構成成分であり、カムキナーゼ II の PSD での基質タンパク質の解析も進んできた。カムキナーゼ II の発見から 4 半世紀以上にわたる本酵素に関する研究が、脳の高次機能を分子レベルで理解するための研究の一つの方向性を示している。

はじめに

ヒトの学習、記憶、思考、情動行動に対する脳の働きほど興味をそそられるものはない。脳を理解するために、神経系のダイナミックな情報処理を分子レベルで解明することが必須である。中枢神経では、神経の情報は神経細胞から神経細胞へシナプスにおいて伝達物質により伝達される。シナプスは、軸索の終末と樹状突起の間に形成される特殊な伝達装置である。神経細胞の働きは、刺激に応じてシナプス伝達効率を変化させることにより全身の機能調節に関わっている。シナプスの一時的な変化は短期記憶と関連し、長期間の変化は長期記憶と関連する。学習過程で現れる神経可塑性において樹状突起のスパインが増加しシナ

プス後肥厚が増加し、新しいシナプスが形成される (図 1 A)¹⁾。神経細胞は生後、普通の条件では細胞数を増加させないで突起を伸ばし、急速にシナプスを形成する。シナプス形成により神経細胞同士の連絡が密になり、神経ネットワーク (神経回路網) を形成する。神経ネットワークの形成により脳の働きが活発となり全身の機能が発達する (図 1 D)²⁾。このようなシナプス可塑性 (synaptic plasticity) は、シナプスの伝達効率あるいはシナプスの形状が、シナプスの活動によって持続的に変化することである。伝達効率の変化は、一定のシグナルが通ったあとに、持続的に増大する長期増強 (LTP, long-term potentiation) と、減弱する長期抑圧 (LTD, long-term depression) の現象として実験的に観察される。シナプス可塑性の機能的意義は、(i) 記憶・学習の基礎過程、(ii) 生後の環境への脳機能の適応変化、(iii) 脳の部分損傷の後に起こる神経回路機能の変化、などである。記憶等の脳の高次機能は神経細胞が形成するネットワークによって形成されると考えられている。

シグナル伝達調節においてタンパク質リン酸化は主要なメカニズムであり、すべての細胞に備わっている調節機構である。神経組織においても、多くの組織と同様に細胞外

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・薬学部
(〒770-8505 徳島市庄町1丁目)

Molecular mechanism of the regulation of neuronal function based on Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II

Takashi Yamauchi (Institute of Health Biosciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokushima, Shomachi 1, Tokushima 770-8505, Japan)

ファルマシア

別刷

コレステロールとアルツハイマー病

Cholesterol Paradox をひも解く—考察

道川 誠

Makoto MICHIKAWA

国立長寿医療センター研究所・アルツハイマー病研究部部长

はじめに

アルツハイマー病患者の第1例がドイツの精神科医である Alois Alzheimer によって報告されたのは1906年のことである。今年で101年目を迎えたが、未だに根本的な治療法は確立していない。しかし、世界的にも平均寿命が延びて65歳以上の高齢者の占める割合が高くなっている状況下において、アルツハイマー病の制圧は医学のみならず社会的にも大きな課題となっている。ここ20年間に、アルツハイマー病研究は長足の進歩を遂げ、発症メカニズムの大きな枠組みはほぼ理解されたと考えられている。1つには、家族性アルツハイマー病を引き起こす原因遺伝子が複数特定され、それらの機能解析が進み、アルツハイマー病病態を引き起こす病的カスケードが明らかにされたことがあげられる。その結果、治療法の開発においても研究結果に基づいたアプローチが可能になり、より根本的な方法の開発が数多く試みられている。

また、1993年にはHDL新生を通してコレステロール代謝を司る apolipoprotein E (ApoE) の対立遺伝子 $\epsilon 4$ が遺伝的な危険因子であることが明らかになった。さらに、血中コレステロール高値がアルツハイマー病の発症と相関すること、血中のコレステロール値を降下させる薬剤であるスタチンがアルツハイマー病発症の予防効果があることが報告され、コレステロール代謝とアルツハイマー病との関連が注目されている。しかし、この両者の関係は未だに不確定であり、現在でも議論の残る問題となっている。本稿では、両者の関連について今日に至る混乱した議論を整理して解説するつもりであるが、それがアルツハイマー病研究におけるコレステロー

ルパラドックスをひも解くヒントになれば幸いである。

2

コレステロールパラドックス： 血清コレステロール値とアルツハイマー病

血液中のコレステロール値が高いことがアルツハイマー病のリスクになることが示された。¹⁾ しかし、アルツハイマー病発症頻度と血中コレステロールの高値との相関が常に観察されているわけではない。例えば、総コレステロールレベルは違いないが、LDLコレステロールレベルで比較すれば対象群に比べてアルツハイマー病群で有意に高く、HDLコレステロールレベルで比較すればアルツハイマー病群で有意に低いとする報告があり、リポタンパクの種類によって高低に違いがあるとしている。²⁾ さらに、血中コレステロール値は両者間で違いないとする報告がある。³⁾ 逆に、LDL-コレステロール値は両者間で違いないが、総コレステロール値はアルツハイマー病患者群で低いとする報告や、⁴⁾ 血清コレステロール高値はアルツハイマー病あるいは血管性認知症になるリスクを減少させるとする研究もある。⁵⁾

1986~1999年までになされた10報告のメタ解析では、コレステロール値はアルツハイマー病患者で有意に低下していることが示されている。⁶⁾ 以上のように、血中コレステロールレベルの高低とアルツハイマー病発症との相関に一定の関連はないように見える。メカニズムに関する視点からいえば、たとえ血中コレステロールレベルに違いがあったにせよ、上記報告でみいだされた程度の違いでアルツハイマー病が発症するか否かは依然として議論の余地を残している。少なくとも血中におけるコレステロール値の違いの程度がそのまま脳内のコレステ

有意な低下が見られるという報告があるが,¹¹⁾ その機序として前章で述べたように血中コレステロール値の降下作用によって抗動脈硬化効果が発揮され、脳虚血等が予防されることでアルツハイマー病予防に効果があると理解することが可能である。しかし、スタチン服用とアルツハイマー病発症抑制の分子メカニズムを説明する研究は、この考え方とは異なる展開をみせた。すなわち、脳内の神経細胞におけるコレステロールレベルと A β 産生との関連に焦点が当てられたのである。スタチン及びメチルベータサイクロデキストリン処理によって細胞内及び細胞膜コレステロール量を減少させると A β 産生が低下し、¹²⁾ α -セクレターゼ活性が増強して無毒な sAPP α 量を増加させるというものであった。さらに、スタチンを服用させたモルモットの解析から、スタチン服用によって髄液中の A β 量が減少することが示され、¹³⁾ スタチンのアルツハイマー病発症抑制の機序として APP 代謝・A β 産生系への作用を提示している。しかし、これらの研究は血中のコレステロール代謝の問題を脳内コレステロール代謝に直ちに適応し、スタチンによって脳内神経系細胞のコレステロール値も下げるはずだ(証明しているものは少ない)という論理の飛躍によって成り立っている。

ところが両者の間には血液脳関門が存在するため、スタチンの効果が神経細胞に及ぶかどうかは丁寧な検証が必要である。実際その後、幾つかの疑問点が出されている。例えば、実験に使われたスタチン濃度は極めて高いことから、臨床で使われるスタチン濃度でも同じことがいえるのかどうか、スタチンの髄液移行濃度とその効果との観点からの検討が必要だという批判である。その後の報告では、スタチンの常用量では髄液コレステロール値を下げるものの A β 産生には影響しないと報告され、¹⁴⁾ スタチンのアルツハイマー病抑制効果を A β 産生との関連で説明する考え方には否定的な見方もある。スタチンによって髄液中の A β 量の低下を招いたとする動物実験¹⁵⁾ は、通常服用量の 100 倍も高いスタチン量を投与したためであり、疫学研究で見られた抑制効果が A β 量の低下によるものかどうか慎重に検討する必要が生じている。このほかに、スタチン

投与はアルツハイマー病発症に関係ないとする疫学研究³⁾ や、スタチン投与は逆に A β 産生を促進するという結果が報告されている。¹⁵⁾

以上から、血液脳関門を越えて脳内コレステロール代謝に働いた結果 A β 産生量を抑制するという可能性の他に、血管内皮細胞に作用して動脈硬化抑制効果を介してアルツハイマー病発症抑制に働いている可能性を考えるべきかもしれない。これは、高コレステロール血症が動脈硬化促進を介してアルツハイマー病の危険因子となっている可能性¹⁶⁾ とも符号する。なお、動脈硬化とその結果としての脳循環障害が、どのようにアルツハイマー病病理に関係するのかについては既に 3 で述べた通りである。

5 コレステロール代謝と ApoE 遺伝子多型

コレステロール代謝、特に HDL 産生に重要な役割を果たす ApoE をコードする対立遺伝子 $\epsilon 4$ を持つことがアルツハイマー病発症の危険因子であることが 1993 年に明らかになった。¹⁷⁾ ApoE 4 のアルツハイマー病発症に関わるメカニズムに関する研究にあたり、私たちは ApoE の脳内コレステロール代謝において果たす作用に着目した。なぜなら、脳内において ApoE は HDL 産生を通してコレステロール代謝に大きな役割を果たすことが予想されたこと、また私たちの研究からコレステロール代謝変動(異常)がタウオパシー発症に関与する可能性をみいだしたからである。^{18,19)}

驚くべきことに、最もコレステロールに富む臓器である脳におけるコレステロール代謝系に関する研究は少なかった。神経細胞は、その形態が他の細胞と異なり細胞体の数十倍から数百倍に及ぶ膜表面積を持つ神経突起を有するため、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早い変化(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。したがって、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く、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。²⁰⁾ 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。例えば、

ロール値の違いに相関することはないと考えられることから(血液脳関門の存在等により), 脳内の $A\beta$ 産生にはほとんど影響ないと考えるのが妥当であろう。血中のコレステロール値と脳内アミロイド沈着を比較した最近の研究によれば, アミロイド沈着の程度と血中コレステロール値との間には相関はなかったとされる。¹⁾

これら血中コレステロールレベルにおける相反する結果や, 脳内 $A\beta$ 代謝との関係をどう説明したらよいのであろうか。自明のことではあるが, アルツハイマー病は中枢神経系の疾患である。中枢神経系のコレステロール代謝は, 血液脳関門によって隔絶されているため血液中(体循環)のコレステロール代謝から独立した系を営む。そのため, 両系におけるコレステロール代謝に直接の相関はない。したがって, 血中のコレステロール代謝の変動によって中枢神経系疾患であるアルツハイマー病の発症機構を説明するのは不可能である。しかるに, 両者を同じ土俵で考えてしまうところにコレステロール代謝変動とアルツハイマー病の発症機構を考えたときの混乱の原因の1つがある。これらのコレステロールパラドックスを紐解くために, 以下のように論点を整理して話を進めたい。

1つの可能性として, 血清コレステロール値が中年期に測定されたものか,¹⁾ 老年期に測定されたものか²⁾によってコレステロール高値が全く逆の意味を持つという可能性がある。両者間に相関がないとする研究は, コレステロール測定時の年齢の幅が大きく, そのため一定の傾向が出にくかったのかもしれない。虚血性心疾患のリスクに関する研究から, 中年期における血清コレステロール高値は, 虚血性心疾患のリスクの上昇と関連するが, 老年期の血清コレステロール高値は相関しないことが分かっている。これと類似したことがコレステロール代謝とアルツハイマー病発症の場合にも当てはまるのかもしれない。すなわち, 虚血性心疾患と同様に動脈硬化を来した結果, 脳循環障害・虚血によって脳内のアルツハイマー病発症に直接関わる事象に参与する可能性である。実際, 動脈硬化並びにその関連因子とアルツハイマー病発症との相関は, 多くの研究が指摘しているところでもある。最近, 低HDL血症

を含むメタボリック症候群が, アルツハイマー病発症と強く相関することが示されており, アルツハイマー病発症の背景に血管性要因(動脈硬化)が関与することが示唆されている。⁷⁾ なお, 血清コレステロール値は高い順に $ApoE 4 < ApoE 3 < ApoE 2$ であることが複数の研究で示されており, $ApoE 4$ は動脈硬化の危険因子とされている。

3 動脈硬化・循環障害とアルツハイマー病病理

動脈硬化・循環障害とアルツハイマー病病理との関連については, 既に幾つかの報告がある。例えば, 加齢ラット脳の慢性的な循環不全によってAPPの代謝を変化させ, 脳内 $A\beta$ レベルが増加するとされている。⁸⁾ また, 局所的な脳虚血によってラット脳のAPPのmRNAレベルが増加し, 脳全体の虚血負荷の後にAPPがタンパクレベルでも増加することが確認されている。⁹⁾ これらの研究結果は, アルツハイマー病における神経変性過程に, 脳虚血が増悪因子として一定の役割を果たしている可能性を示唆している。禁煙の研究から, 脳血管性認知症の危険因子であった, 高血圧, 糖尿病, 高コレステロール血症などがアルツハイマー病の危険因子でもあることが明らかになってきた。これらの危険因子の果たす詳細なメカニズムは, 今後検討される必要があるが, 今までの研究から明らかになったことから判断して, 動脈硬化などの血管性病変に起因する循環障害や慢性脳虚血がアルツハイマー病発症の閾値を下げる可能性が考えられる。すなわち, 循環障害や慢性脳虚血がより直接的に $A\beta$ の産生や沈着を促進する作用を持つ可能性, さらに血液脳関門の脆弱性を惹起させ, その結果脳外への $A\beta$ のクリアランス能力を障害してしまう可能性¹⁰⁾などが考えられる。

4 スタチンとアルツハイマー病

スタチン服用とアルツハイマー病発症予防との関係も, こうした文脈から理解できるかもしれない。すなわち, スタチンの服用者は非服用者あるいは他の薬剤の服用者に比べてアルツハイマー病発症率の

中枢神経系(髄液中)にはLDL, VLDLなどのリポタンパク質は存在せずHDLのみが存在する。中枢神経系のHDLは主にアストロサイトから分泌されるApoEによって産生され、ApoE受容体を介して神経細胞に供給される。私たちは、アストロサイトで産生・分泌されるApoEのHDL産生能は、 $ApoE2 > ApoE3 > ApoE4$ であることを明らかにした。²¹⁾ 加齢やA β 毒性などによってシナプスの可塑性維持や外傷や回復が必要になる場合に、より多くのコレステロールを供給できるApoE2やApoE3型のアストロサイトを持つヒトでは、ApoE4を持つヒトに比べて神経機能維持に有利である可能性が考えられる。

6 脳内コレステロール代謝とアルツハイマー病

既にコレステロールとアルツハイマー病との関連は、動脈硬化を介する脳循環障害・脳虚血に起因するものとして理解しうる、ということ述べた。それでは、脳内コレステロール代謝(変動)とアルツハイマー病発症(病理発現)には直接の関係はないのであろうか。脳内コレステロールを解析した研究によると、アルツハイマー病患者の脊髄液ではコレステロール濃度が有意に低下している、²²⁾ あるいは脳のコレステロールレベルが低下している²³⁾と報告されている。ApoE3はApoE4に比べてHDL新生能力が2倍以上あるため、²¹⁾ ApoE3型のヒトでは神経突起の伸長やシナプス形成に有利であると考えられる。以上から、HDL産生増加が治療法開発につながるかもしれないと考えられる。

近年の研究から、アポリポタンパク質によるHDL新生にはABCA1が重要な役割を果たすこと、このABCA1発現は、酸化ステロールをリガンドとするLXRやレチノイン酸をリガンドとするRXRなどの核内受容体によって制御されることが明らかになった。したがって脳内のコレステロール代謝調節には、これら核内受容体のリガンドの投与が有力な戦略の一つと考えられる。ABCA1のノックアウトマウスを用いた研究によると、²⁴⁾ ABCA1ノックアウトマウスでは脳内A β の沈着が増強し、ApoEレベルも低下するという。ABCA1のノックアウト

マウス脳ではHDLの産生量が著明に低下することから、HDLに結合して除去されるべきA β が除去されず脳内に留まったためA β 沈着が増強した可能性、またABCA1欠損によって脂質の少ないApoE-HDLが作られてしまい、結果としてApoEのA β 線維化作用が増強された可能性などが考えられる。A β 除去以外にも、本来のHDLの作用である神経修復やコレステロール代謝の恒常性維持が重要であると考えられることから、ABCA1の発現・機能調節は重要である。今後は、ABCA1の発現増強によって、A β 沈着を予防し、神経変性を抑制できる可能性を検証し、“HDL療法”ともいえるべき予防・治療法の開発ができるかもしれない。

7 脳内コレステロール代謝とタウオパシー

さて、脳内コレステロール代謝変動は何を招くのであろうか。私たちの実験から、神経細胞内コレステロール量の減少がタウタンパクのリン酸化亢進を招くことが示された。¹⁸⁾ コレステロール代謝異常とタウタンパクのリン酸化亢進との関連については、コレステロール代謝異常を中核病態とするNiemann-Pick disease, type C1 (NPC1)のモデルマウス脳でも解析され、MAPK活性の上昇及びタウタンパクのリン酸化亢進、¹⁹⁾ cdk5の活性化亢進や他の細胞骨格タンパクのリン酸化亢進が確かめられている。最近、私たちはNPC1神経細胞におけるコレステロール輸送障害は、ミトコンドリア機能障害を誘導することをみいだした。²⁵⁾ アルツハイマー病においてもミトコンドリア障害が指摘されていることから、アルツハイマー病における神経細胞変性とコレステロール代謝変動との関連を検討することが必要と考えている。

8 おわりに

血液中のコレステロール代謝と中枢疾患であるアルツハイマー病との関連は、血液脳関門の存在があるため直接関係で理解することは困難であると考えられ、むしろ動脈硬化—脳虚血を介したアルツハイマー病病理との関連で理解できるかもしれない。危

危険因子としての中年期における高コレステロール血症やスタチンの予防効果などは、これによって説明できるかもしれない。これとは別に、脳内コレステロール代謝と神経細胞変性過程との直接関連から危険因子としての ApoE のアイソフォーム特異性や脳内 HDL の意義などが説明できるのではないかと考えている。

本稿では述べなかったが、脂質とアルツハイマー病との関連は、コレステロール以外にはガングリオシドが知られている。特に、GM 1 ガングリオシドの A β 凝集開始点 (seed 形成) における意義と分子機構については多くの研究から明らかにされており、²⁶⁾ ここへの介入によって予防・治療法の開発の可能性が指摘されている。

文 献

- 1) Pappolla M. A. *et al.*, *Neurology*, 61, 199-205 (2003).
- 2) Kuo Y. M. *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 252, 711-715 (1998).
- 3) Li G. *et al.*, *Neurology*, 63, 1624-1628 (2004).
- 4) Romas S. N. *et al.*, *Neurology*, 53, 517-521 (1999).
- 5) Hall K. *et al.*, *Neurology*, 66, 223-227 (2006).
- 6) Knittweis J. W., McMullen W. A., *Neurology*, 54, 2356-2358 (2000).
- 7) Vanhanen M. *et al.*, *Neurology*, 67, 843-847 (2006).
- 8) Bennett S. A. *et al.*, *Neurobiol. Aging*, 21, 207-214 (2000).
- 9) Lin B. *et al.*, *Acta Neuropathol. (Berl)*, 97, 359-368 (1999).
- 10) Sadowski M. *et al.*, *Neurochem. Res.*, 29, 1257-1266 (2004).
- 11) Wolozin B. *et al.*, *Arch. Neurol.*, 57, 1439-1443 (2000).
- 12) Simons M. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 95, 6460-6464 (1998).
- 13) Fassbender K. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 98, 5856-5861 (2001).
- 14) Fassbender K. *et al.*, *Neurology*, 59, 1257-1258 (2002).
- 15) Abad-Rodriguez J. *et al.*, *J. Cell. Biol.*, 167, 953-960 (2004).
- 16) Hofman A. *et al.*, *Lancet*, 349, 151-154 (1997).
- 17) Strittmatter W. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 90, 1977-1981 (1993).
- 18) Fan Q. W. *et al.*, *J. Neurochem.*, 76, 391-400 (2001).
- 19) Sawamura N. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 276, 10314-10319 (2001).
- 20) a) Mauch D. H. *et al.*, *Science*, 294, 1354-1357 (2001); b) Hayashi H. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 1354-1357 (2004).
- 21) a) Michikawa M. *et al.*, *J. Neurochem.*, 74, 1008-1016 (2000); b) Gong J. S. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 277, 29919-29926 (2002).
- 22) Demeester N. *et al.*, *J. Lipid Res.*, 41, 963-974 (2000).
- 23) Molander-Melin M. *et al.*, *J. Neurochem.*, 92, 171-182 (2005).
- 24) Koldamova R. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 280, 43224-43235 (2005).
- 25) a) Yu W. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 280, 11731-11739 (2005); b) Yu W. *et al.*, *ibid.*, 280, 27296-27302 (2005).
- 26) a) Hayashi H. *et al.*, *J. Neurosci.*, 24, 4894-4902 (2004); b) Yamamoto N. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 282, 2646-2655 (2007).



4. アルツハイマー病とアポリポタンパク質 E

道川 誠

アポリポタンパク質 E (ApoE) は脳内コレステロール代謝を担う主要なアポリポタンパク質である。近年, ApoE の対立遺伝子 e4 をもつことが, 最も強力なアルツハイマー病 (AD) の危険因子であることが明らかになった。この発見以降, ApoE のもつコレステロール輸送以外の新たな機能に関する研究が相次ぎ, それらにおけるアイソフォーム依存的な観点から AD 発症を説明しようとする仮説が数多く生まれた。しかし, 実際に ApoE のどのような機能が AD 発症に関与するのかについては依然議論のあるところであり, 具体的な ApoE 機能に着目した治療法の開発までには至っていない。

はじめに

1993 年にアポリポタンパク質 E (apolipoprotein E: ApoE) をコードする対立遺伝子 epsilon 4 がアルツハイマー病の危険因子であることが明らかになり¹⁾, それ以降 ApoE4 の発症メカニズムについてさまざまな研究が行われた。その結果, 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ている。その多くは, ApoE3 には神経保護的な作用があるが ApoE4 は神経細胞の

保護作用が弱くむしろ結果的に傷害作用を発揮するという内容になっている。例えばそれらは, 神経突起伸長作用²⁾, 神経変性過程の抑制作用³⁾, 認知機能低下に対する作用⁴⁾, タウタンパク質リン酸化状態および神経原線維変化形成に対する作用⁵⁾, 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^{6) 7)}, HDL 産生作用^{8) 9)}, アミロイド β タンパク質 ($A\beta$) の沈着や除去そして老人斑形成に対する作用¹⁰⁾, 細胞内シグナル伝達に対する作用, 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などにおける ApoE A

[キーワード&略語]

アポリポタンパク質 E, コレステロール, 高密度リポタンパク質 (HDL), アミロイド β タンパク質

AD: Alzheimer's disease (アルツハイマー病)
ApoE: apolipoprotein E (アポリポタンパク質 E)
HDL: high density lipoprotein (高密度リポタンパク質)
IDL: intermediate density lipoprotein (中間密度リポタンパク質)

LDL: low density lipoprotein (低密度リポタンパク質)
MCI: mild cognitive impairment (軽度認知障害)
VLDL: very low density lipoprotein (超低密度リポタンパク質)

Alzheimer's disease and apolipoprotein E

Makoto Michikawa: Department of Alzheimer's Disease Research, National Center for Geriatrics and Gerontology (国立長寿医療センター研究所アルツハイマー病研究部)

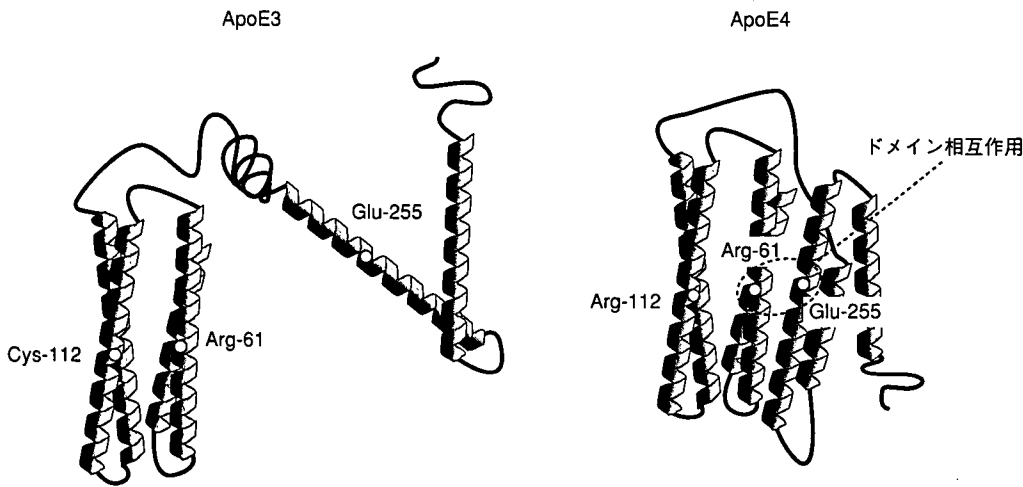


図1 ApoEのアイソフォーム特異的な構造の違い

ApoE4では、112番目のアミノ酸残基 Arg が、61番目のアミノ酸残基 Arg と作用してその構造を変え、その結果 Arg-61 と Glu-255 が結合してN末端側ドメインとC末端側ドメインが近接してコンパクトな構造をとる(ドメイン相互作用, 図右)。ApoE3では、112番目のアミノ酸残基が Cys であるためこのような構造変化は生じない(図左)

アイソフォーム依存的な作用として報告されている。しかし、これら多くの ApoE の作用のなかで、実際の脳内で最も重要な役割を果たすものは何か、あるいは 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おらず、したがって ApoE 作用の調節・制御による予防・治療法の開発は今後に残された課題となっている。

1 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。後述するように、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も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もつ。22kD のN末端側ドメイン (アミノ酸残基1-191) と10kD のC末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タンパク質結合領域

を含む。X線構造解析による結果から、ApoE4 のN末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末端側ドメイン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つくるが、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末端側ドメインとC末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¹¹⁾(図1)。この構造上の違いが、ApoE4 は粒子サイズの大きな VLDL と結合しやすいのに比べ¹¹⁾、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むと考えられている。われわれも、コレステロール搬出、すなわち 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^{8) 9)}、その違いの原因の一部としてドメイン間相互作用が働いている可能性がある。

2) ApoE 分子間相互作用

後述するように、ApoE2, ApoE3, および ApoE4 はそれぞれ2, 1, および0個のシステインをもっている。したがって ApoE2 および ApoE3 は、ジスルフィド結合によってホモあるいはヘテロ二量体の形成が可能である。ApoE 間によるジスルフィド結合によって血漿中の ApoE3 の約55% は二量体として存在し、