

or NICD generation in transfected cells. Thus, we have formally ruled out direct modulation of  $\gamma$ -secretase by CD147. Third, we have reported that medium conditioned by cells overexpressing CD147 had higher levels of A $\beta$ -degrading activities, indicating that the function of CD147 in modulating MMPs may be responsible for the elevated degradation of extracellular A $\beta$ . Collectively, these results suggest that the dose-dependent increase of A $\beta$  in the conditioned medium of CD147-depleted cells observed in both our studies and the previous report (16) is mediated through CD147-dependent A $\beta$ -degrading MMPs in the culture medium rather than direct modulation of  $\gamma$ -secretase activity, as was proposed previously.

In agreement with the data presented in the previous report by Zhou *et al.* (16), we found that depletion of CD147 in cultured HEK293 cells led to an increase in the steady-state levels of A $\beta$  in the conditioned medium, but without discernible changes in the levels of CTFs derived from  $\alpha$ - and  $\beta$ -secretase processing of APP. Although these findings suggested a role for CD147 in the modulation of  $\gamma$ -secretase processing of APP CTFs, additional studies were required to validate this notion. However, CD147 expression had no effect on the levels of AICD or NICD production in transfected cells. More important, *in vitro*  $\gamma$ -secretase assays performed using membranes purified from cells in which CD147 was depleted failed to show an increase in A $\beta$  production, thus formally ruling out direct modulation of  $\gamma$ -secretase activity by CD147. In this regard, CD147 differs from p23/TMP21, another type I membrane protein that co-purified with  $\gamma$ -secretase complexes and was found to regulate  $\gamma$ -secretase activity (17). We recently reported that depletion of p23 elevated A $\beta$  production in the same *in vitro*  $\gamma$ -secretase assay employed in the CD147 experiments described above (20). Thus, unlike the case of p23 depletion, which caused an increase in A $\beta$  levels in both intact cells and *in vitro* assays, depletion of CD147 failed to exert any influence on A $\beta$  production *in vitro*. This unexpected finding prompted us to explore alternative interpretations of the data that emerged from CD147 knockdown studies showing increased levels of A $\beta$  in the conditioned medium described here and in the earlier report (16).

Many different cellular functions have been ascribed to CD147, including induction of several metalloproteases (37), cell adhesion (38), retinal cell development (39), T-cell activation (40, 41), and calcium mobilization (42). The ability of CD147 to induce multiple MMPs, including MMP-1, MMP-2, and MMP-3, has been well documented, and this is the basis of the alternative name EMMPRIN (18). Thus, we reasoned that the influence of CD147 on A $\beta$  levels might be mediated through an indirect mechanism involving extracellular MMPs that degrade A $\beta$  in the cultured medium. Indeed, studies that directly assessed the stability of synthetic A $\beta$  peptides demonstrated enhanced A $\beta$  degradation when incubated with medium conditioned by cells overexpressing CD147. Incubation of CD147 cells with Compound E, a potent  $\gamma$ -secretase inhibitor, did not have any discernible effect on the A $\beta$ -degrading activity in the conditioned medium, formally ruling out any connection between  $\gamma$ -secretase activity and CD147-mediated A $\beta$ -degrading activity (Fig. 7). Inhibitory profiles from EDTA and 1,10-phenanthroline strongly suggest the involvement of

## CD147 Mediates Extracellular Degradation of A $\beta$

metalloprotease, whereas partial inhibition of A $\beta$  degradation by GM6001 and actinonin might indicate that more than one MMP is involved in the degradation.

Studies by independent groups previously demonstrated that subunits of the  $\gamma$ -secretase complex cooperatively mature and traffic through the secretory pathway; incomplete assemblies are incapable of exiting the ER and are eventually degraded (reviewed in Ref. 11). In contrast to the well established codependent stability of the core  $\gamma$ -secretase subunits, we have shown that the stability or subcellular localization of CD147 in the Golgi and plasma membrane was unaffected in cells lacking either PS1/PS2 or nicastrin expression. It is also evident from our studies that the postnatal developmental expression profile of CD147 in mouse brain markedly differs from those of PS1 and nicastrin. Furthermore, unlike the overlapping neuronal distribution observed for nicastrin and PS1 in all major areas of adult rat brain (28), we found non-overlapping cellular distributions of CD147 and nicastrin in neurons within the cortex and hippocampus (Fig. 4D). Based on these data alone, it is implausible that all  $\gamma$ -secretase complexes in these neurons are bound to CD147 or subject to CD147 modulation. Nevertheless, our results cannot exclude the possibility that CD147 localized largely at the cell surface/neuronal processes modulates a small subset of active  $\gamma$ -secretase localized in these neuronal compartments.

How can we reconcile with the apparently discrepant data that CD147 co-purifies with the  $\gamma$ -secretase complex, but is not involved in the regulation of its enzyme activity? Both CD147 and the  $\gamma$ -secretase complex localize to cholesterol- and sphingolipid-enriched membrane microdomains, raising the possibility that co-purification in certain detergents might not necessarily represent *bona fide* protein-protein interaction, but rather co-isolation of several proteins that are tightly packed in membrane rafts. In this regard, CD147 interacts with caveolin-1 in a cholesterol-dependent manner and has been shown to be a potent modulator of lipid rafts in T-lymphocytes (43, 44). Nonetheless, we have demonstrated that membrane raft distribution of CD147 and  $\gamma$ -secretase occurs independently of one another, ruling out a role for CD147 in lipid raft targeting of the  $\gamma$ -secretase complex.

Despite the strengths of our findings, it remains plausible that transient interactions between distinct subcellular populations of CD147 and  $\gamma$ -secretase may be of physiological relevance. In this regard, the interaction of nicastrin and Rer1p, a transmembrane protein that is located primarily in the *cis*-Golgi and functions in the retrieval of a variety of ER membrane proteins lacking KKXX or KDEL signals, has recently been demonstrated (45). Similarly, it remains to be determined whether CD147, localized primarily at the cell surface, is involved only in the targeting to or retention of a very small pool of  $\gamma$ -secretase complexes at the cell surface in a manner not dissimilar from the reported CD147-dependent trafficking of the monocarboxylate transporters MCT1 and MCT4 to the cell surface (32). In any event, although the significance of the potential CD147- $\gamma$ -secretase complex interaction is not yet apparent, our data unambiguously demonstrate that CD147 regulates secreted A $\beta$  levels by mediating proteolytic degradation in the extracellular milieu. Further studies to identify and



## CD147 Mediates Extracellular Degradation of A $\beta$

characterize the protease(s) responsible for CD147-dependent extracellular turnover of A $\beta$  are critical and may provide the foundation for novel therapeutic targets focused on enhancing A $\beta$  degradation.

**Acknowledgments**—We thank Drs. Wim Annaert and Bart De Strooper (Katholieke Universiteit Leuven and Flanders Interuniversity Institute for Biotechnology, Belgium) for the gift of PS1<sup>-/-</sup>/PS2<sup>-/-</sup> MEFs and Drs. Tong Li and Philip C. Wong (The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore) for the gift of NCT<sup>-/-</sup> and APH1ab<sup>-/-</sup> MEFs. We thank Dr. Toshio Kitamura (University of Tokyo) for providing retroviral vector and packaging cells. We thank M. Sekiguchi and K. Watanabe for technical assistance.

### REFERENCES

- Vassar, R. (2004) *J. Mol. Neurosci.* **23**, 105–114
- Iwatsubo, T. (2004) *Curr. Opin. Neurobiol.* **14**, 379–383
- Wolfe, M. S., Xia, W., Ostaszewski, B. L., Diehl, T. S., Kimberly, W. T., and Selkoe, D. J. (1999) *Nature* **398**, 513–517
- Li, Y.-M., Xu, M., Lai, M. T., Huang, Q., Castro, J. L., DiMuzio-Mower, J., Harrison, T., Lellis, C., Nadin, A., Neduvellil, J. G., Register, R. B., Sardana, M. K., Shearman, M. S., Smith, A. L., Shi, X. P., Yin, K. C., Shafer, J. A., and Gardell, S. J. (2000) *Nature* **405**, 689–694
- Shah, S., Lee, S. F., Tabuchi, K., Hao, Y. H., Yu, C., LaPlant, Q., Ball, H., Dann, C. E., III, Sudhof, T., and Yu, G. (2005) *Cell* **122**, 435–447
- Edbauer, D., Winkler, E., Regula, J. T., Pesold, B., Steiner, H., and Haass, C. (2003) *Nat. Cell Biol.* **5**, 486–488
- De Strooper, B., Saffig, P., Craessaerts, K., Vanderstichele, H., Guhde, G., Annaert, W., Von Figura, K., and Van Leuven, F. (1998) *Nature* **391**, 387–390
- Li, T., Ma, G., Cai, H., Price, D. L., and Wong, P. C. (2003) *J. Neurosci.* **23**, 3272–3277
- Ma, G., Li, T., Price, D. L., and Wong, P. C. (2005) *J. Neurosci.* **25**, 192–198
- Takasugi, N., Tomita, T., Hayashi, I., Tsuruoka, M., Niimura, M., Takahashi, Y., Thinakaran, G., and Iwatsubo, T. (2003) *Nature* **422**, 438–441
- Vetrivel, K. S., Zhang, Y. W., Xu, H., and Thinakaran, G. (2006) *Mol. Neurodegener.* **1**, 4
- Leem, J. Y., Vijayan, S., Han, P., Cai, D., Machura, M., Lopes, K. O., Veselits, M. L., Xu, H., and Thinakaran, G. (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 19236–19240
- Kimberly, W. T., LaVoie, M. J., Ostaszewski, B. L., Ye, W., Wolfe, M. S., and Selkoe, D. J. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **100**, 6382–6387
- Li, Y.-M., Lai, M. T., Xu, M., Huang, Q., DiMuzio-Mower, J., Sardana, M. K., Shi, X. P., Yin, K. C., Shafer, J. A., and Gardell, S. J. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **97**, 6138–6143
- Sato, T., Diehl, T. S., Narayanan, S., Funamoto, S., Ihara, Y., De Strooper, B., Steiner, H., Haass, C., and Wolfe, M. S. (2007) *J. Biol. Chem.* **282**, 33985–33993
- Zhou, S., Zhou, H., Walian, P. J., and Jap, B. K. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **102**, 7499–7504
- Chen, F., Hasegawa, H., Schmitt-Ulms, G., Kawarai, T., Bohm, C., Katayama, T., Gu, Y., Sanjo, N., Glista, M., Rogava, E., Wakutani, Y., Pardossi-Piquard, R., Ruan, X., Tandon, A., Checler, F., Marambaud, P., Hansen, K., Westaway, D., St. George-Hyslop, P., and Fraser, P. (2006) *Nature* **440**, 1208–1212
- Gabison, E. E., Hoang-Xuan, T., Mauviel, A., and Menashi, S. (2005) *Biochimie (Paris)* **87**, 361–368
- Jenne, N., Frey, K., Brugger, B., and Wieland, F. T. (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 46504–46511
- Vetrivel, K. S., Gong, P., Bowen, J. W., Cheng, H., Chen, Y., Carter, M., Nguyen, P. D., Placanica, L., Wieland, F. T., Li, Y.-M., Kounnas, M. Z., and Thinakaran, G. (2007) *Mol. Neurodegener.* **2**, 4
- Wang, J., Brunkan, A. L., Hecimovic, S., Walker, E., and Goate, A. (2004) *Neurobiol. Dis.* **15**, 654–666
- Kim, S. H., Ikeuchi, T., Yu, C., and Sisodia, S. S. (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 33992–34002
- Onishi, M., Kinoshita, S., Morikawa, Y., Shibuya, A., Phillips, J., Lanier, L. L., Gorman, D. M., Nolan, G. P., Miyajima, A., and Kitamura, T. (1996) *Exp. Hematol.* **24**, 324–329
- Zhang, Y. W., Luo, W. J., Wang, H., Lin, P., Vetrivel, K. S., Liao, F., Li, F., Wong, P. C., Farquhar, M. G., Thinakaran, G., and Xu, H. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 17020–17026
- Thinakaran, G., Borchelt, D. R., Lee, M. K., Slunt, H. H., Spitzer, L., Kim, G., Ratovitsky, T., Davenport, F., Nordstedt, C., Seeger, M., Hardy, J., Levey, A. I., Gandy, S. E., Jenkins, N. A., Copeland, N. G., Price, D. L., and Sisodia, S. S. (1996) *Neuron* **17**, 181–190
- Vetrivel, K. S., Cheng, H., Kim, S. H., Chen, Y., Barnes, N. Y., Parent, A. T., Sisodia, S. S., and Thinakaran, G. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 25892–25900
- Vetrivel, K. S., Cheng, H., Lin, W., Sakurai, T., Li, T., Nukina, N., Wong, P. C., Xu, H., and Thinakaran, G. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 44945–44954
- Kodam, A., Vetrivel, K. S., Thinakaran, G., and Kar, S. (2008) *Neurobiol. Aging* **29**, 724–738
- Yin, K.-J., Cirrito, J. R., Yan, P., Hu, X., Xiao, Q., Pan, X., Bateman, R., Song, H., Hsu, F. F., Turk, J., Xu, J., Hsu, C. Y., Mills, J. C., Holtzman, D. M., and Lee, J.-M. (2006) *J. Neurosci.* **26**, 10939–10948
- Tang, W., Chang, S. B., and Hemler, M. E. (2004) *Mol. Biol. Cell* **15**, 4043–4050
- Cheng, H., Vetrivel, K. S., Gong, P., Meckler, X., Parent, A., and Thinakaran, G. (2007) *Nat. Clin. Pract. Neurol.* **3**, 374–382
- Wilson, M. C., Meredith, D., and Halestrap, A. P. (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 3666–3672
- Backstrom, J. R., Lim, G. P., Cullen, M. J., and Tokes, Z. A. (1996) *J. Neurosci.* **16**, 7910–7919
- Iwata, N., Higuchi, M., and Saido, T. C. (2005) *Pharmacol. Ther.* **108**, 129–148
- White, A. R., Du, T., Loughton, K. M., Volitakis, I., Sharples, R. A., Xilinas, M. E., Hoke, D. E., Holsinger, R. M., Evin, G., Cherny, R. A., Hill, A. F., Barnham, K. J., Li, Q. X., Bush, A. L., and Masters, C. L. (2006) *J. Biol. Chem.* **281**, 17670–17680
- Yan, P., Hu, X., Song, H., Yin, K., Bateman, R. J., Cirrito, J. R., Xiao, Q., Hsu, F. F., Turk, J. W., Xu, J., Hsu, C. Y., Holtzman, D. M., and Lee, J.-M. (2006) *J. Biol. Chem.* **281**, 24566–24574
- Sameshima, T., Nabeshima, K., Toole, B. P., Yokogami, K., Okada, Y., Goya, T., Koono, M., and Wakisaka, S. (2000) *Int. J. Cancer* **88**, 21–27
- Cho, J. Y., Fox, D. A., Horejsi, V., Sagawa, K., Skubitz, K. M., Katz, D. R., and Chain, B. (2001) *Blood* **98**, 374–382
- Yoshimoto, M., Sagawa, H., Masuda, K., and Hirotsawa, K. (1998) *Exp. Eye Res.* **67**, 331–340
- Kasinerker, W., Fiebigler, E., Stefanova, I., Baumruker, T., Knapp, W., and Stockinger, H. (1992) *J. Immunol.* **149**, 847–854
- Koch, C., Staffler, G., Huttlinger, R., Hilgert, I., Prager, E., Cerny, J., Steinlein, P., Majdic, O., Horejsi, V., and Stockinger, H. (1999) *Int. Immunol.* **11**, 777–786
- Huang, Y., Jiang, J., Dou, K., and Chen, Z. (2005) *Eur. J. Cell Biol.* **84**, 59–73
- Tang, W., and Hemler, M. E. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 11112–11118
- Staffler, G., Szekeres, A., Schutz, G. J., Saemann, M. D., Prager, E., Zeyda, M., Drbal, K., Zlabinger, G. J., Stulnig, T. M., and Stockinger, H. (2003) *J. Immunol.* **171**, 1707–1714
- Spasic, D., Raemaekers, T., Dillen, K., Declerck, I., Baert, V., Smeels, L., Fullekrug, J., and Annaert, W. (2007) *J. Cell Biol.* **176**, 629–640

## 7. 疾病

## アルツハイマー病の分子病理学

西道隆臣

家族性アルツハイマー病原因遺伝子変異の同定とその表現型解析によって、脳内におけるアミロイド $\beta$ ペプチド(A $\beta$ )蓄積がアルツハイマー病全般における根本的原因物質であることが確立した。A $\beta$ 蓄積が始まって発症に至るまで10年以上の時間を要するので、その機構の解明は容易ではない。A $\beta$ は正常脳内でも定常的に産生されており、通常は速やかに分解されるため、蓄積することはない。A $\beta$ の定常量は産生と分解のバランスによって規定される。

A $\beta$ には40残基のアミノ酸からなるA $\beta$ 40と42残基からなるA $\beta$ 42の二種類が存在し、後者の重合性と凝集性が高いことから、A $\beta$ 42が一次病因分子種であると考えられる。家族性アルツハイマー病ではA $\beta$ (特にA $\beta$ 42)の産生増加が病理的蓄積の原因であると考えられる。一方、孤発性アルツハイマー病の機構は確定していないが、蓄積に先立ってA $\beta$ 分解系が低下するのに対して、明確な産生系の上昇は認められないことから、分解系低下が原因である可能性が高い。

● A $\beta$ の産生

アルツハイマー病の病理学的定義は、老人斑形成(A $\beta$ 蓄積)・神経原線維変化(タウタンパク質蓄積)・神経変成(神経細胞の形態異常と細胞死)の三点が存在することである。家族性アルツハイマー病(常染色体優性遺伝し、若年で発症する)原因遺伝子の同定によって、A $\beta$ 蓄積が根本的原因であることが確立した。ただし、発症機構に直接関与するのは必ずしも老人斑ではなく、A $\beta$ 重合体(オリゴマー)の可能性も指摘されている。また、「A $\beta$ 蓄積→タウ蓄積」の機構は今後解明されるべき最重要課題の一つである。

A $\beta$ はアミロイド前駆体タンパク質(amyloid precursor protein: APP)から生成される。APPの分子量が約70,000であるのに対して、A $\beta$ は約4,000であるから、前駆体のごく一部由来の断片である。A $\beta$ のN末端部分でAPPを切断する酵素を $\beta$ セクレターゼと称する。続いてC末端部分に作用する酵素が $\gamma$ セクレターゼである。 $\gamma$ セクレターゼは少なくとも4種類の膜タンパク質から構成される巨大複合体で、後述のプレセニリンが活性中心を担うと考えられる。 $\gamma$ セクレターゼの作用によっておもに2種類のA $\beta$ が産生される。40残基のアミノ酸からなるA $\beta$ 40と42残基からなるA $\beta$ 42である。後者の重合性と凝集性が高いことから、A $\beta$ 42が一次病因分子種であると考えられる。

これまでに百以上の家族性アルツハイマー病原因変異が報告されており、調べられたもの全てがA $\beta$ 産生や蓄積に影響を与えることが示された。その作用は、A $\beta$ 40とA $\beta$ 42双方の増加やA $\beta$ 42の選択的増加であった。その後、A $\beta$ 40レベルの選択的低下が家族性アルツハイマー病の原因となることが報告された。その意義は当初不明であったが、2007年に遺伝子改変動物を用いて脳内におけるA $\beta$ 42の蓄積をA $\beta$ 40が抑制することが示された<sup>1)</sup>。以上のことは、A $\beta$ 42の絶対量だけでなく(A $\beta$ 40に対する)相対量の増加がA $\beta$ 蓄積の原因となることを意味する。

● A $\beta$ の分解

アルツハイマー病の大半(99%以上)を占める孤発性アルツハイマー病では、A $\beta$ 産生系の明確な上昇がA $\beta$ 蓄積に先行する形では認められない。また、アルツハイマー病の最大の危険因子は加齢



であり、加齢は一般に代謝の上昇よりは低下をと  
もなう。このような理由から、 $A\beta$ 分解系が孤発  
性アルツハイマー病に密接に関わる可能性が考え  
られた。筆者らは、実験動物を用いた一連の研究  
によって、ネプリライシン(タンパク質分解酵素  
の一種)を主要な $A\beta$ 分解酵素の候補として同定  
した<sup>2)</sup>。ネプリライシン活性が50%低下すると脳  
内 $A\beta$ レベルが50%上昇する<sup>2)</sup>。

ダウン症ではAPP遺伝子発現が1.5倍上昇す  
ることにより、若齢で $A\beta$ 蓄積が始まる。また最  
近、APP遺伝子座の重複が家族性アルツハイマー  
病の原因となることが示された<sup>3)</sup>。この場合も  
 $A\beta$ レベルの上昇は1.5倍と考えられるので、こ  
れらのことは、脳内の $A\beta$ レベルが厳密に制御さ  
なければならないこと、そして、分解システム  
の低下は $A\beta$ 蓄積ひいてはアルツハイマー病の原  
因となることを強く示唆している。

加齢はアルツハイマー病の最大の危険因子であ  
る。したがって、孤発性アルツハイマー病の根本  
的原因は加齢とともに著しく変化するものである  
ことが予想される。マウス脳では海馬および新皮  
質でネプリライシン発現が加齢依存的に低下す  
る<sup>2)</sup>。ヒト脳でも加齢によってネプリライシンの  
発現や活性が低下することを多くの研究者が報告  
した。アルツハイマー病の前段階においてネプリ  
ライシン発現は約50%低下する<sup>4)</sup>。

また、アルツハイマー病の前段階である(進行  
性の)軽度認知障害(mild cognitive impairment ;  
MCI)の髄液において、ネプリライシン活性が正  
常コントロール群と比較して有意に低下してい  
る<sup>5)</sup>。髄液中のネプリライシン活性は実質の  
ニューロン由来のものであることがわかってお  
り、この結果も、アルツハイマー病発症の前段階  
でネプリライシン活性が低下していることを示し  
ている。

#### ● $A\beta$ オリゴマーのシナプス毒性

最近、 $A\beta$ 単量体や線維化 $A\beta$ よりも、 $A\beta$ 重合  
体がシナプスに作用して神経可塑性を低下させる  
との考えが支持されつつある。現在最も頻繁に用  
いられるアルツハイマー病モデルマウスはAPP  
を過剰発現するトランスジェニックマウスである  
が、これらのマウスは $A\beta$ だけでなく可溶性の

APP断片(APPs)や細胞内でシグナル伝達に関与  
する可能性のある細胞内ドメイン(APP intracel-  
lular domain ; AICD)も過剰に産生する。さらに、  
APP自身が軸索輸送に関与するという報告もあり、  
通常の10倍以上もAPPを過剰発現するマウスは、  
厳密な意味で $A\beta$ アミロイドーシス特異的  
なモデルということではできない。しかし、ネプリ  
ライシンは $A\beta$ は分解するのに対して、APP、  
APPs、AICDを分解することができないので、  
APPトランスジェニック(APP-Tg)マウスとネ  
プリライシンノックアウト(NEP-KO)マウスを  
交配することによって、 $A\beta$ だけを選択的に上昇  
させることが可能になる。

実際、そのようなAPP-Tg X NEP-KOマウス  
はAPP、APPs、AICDは変化せず、(SDS-PAGE  
で確認される) $A\beta$ 2量体を中心とした重合体が3  
倍近く上昇していた<sup>6)</sup>。これらのマウスの神経可  
塑性や認知能力は、ネプリライシンの欠損によっ  
て著しく低下した<sup>6)</sup>。このことは、ネプリライシ  
ンがシナプス毒性のある $A\beta$ 重合体を分解する能  
力があること、すなわち、脳内におけるネプリ  
ライシン活性を上昇あるいは賦活化することによ  
って、軽度認知障害やアルツハイマー病における認  
知能力の低下を抑制することができる可能性のあ  
ることを示している。特に大切なことは、ネプリ  
ライシンがプレシナプスに存在し、神経可塑性に  
おいて最も重要な部位であるシナプスにおける  
 $A\beta$ を分解することである。脳内における $A\beta$ の  
クリアランス機構としては、ネプリライシン以外  
のプロテアーゼによる分解や脳血管関門・髄液に  
よる輸送の関与も指摘されているが、シナプスで  
 $A\beta$ 定常量を制御することができるのは、ネプリ  
ライシンだけである。これらの結果は、ネプリ  
ライシンを用いた実験的遺伝子治療<sup>2)</sup>の効果とよく  
一致する。

#### 文 献

- 1) Kim J et al : *J Neurosci* 27 : 627-633, 2007
- 2) Saido TC, Iwata N : *Neurosci Res* 54 : 235-253, 2006
- 3) Rovelet-Lecrux A et al : *Nat Genet* 38 : 24-26, 2006
- 4) Yasojima K et al : *Neurosci Lett* 297 : 97-100, 2001
- 5) Maruyama M et al : *Ann Neurol* 57 : 832-842, 2005
- 6) Huang SM et al : *J Biol Chem* 281 : 17941-17951, 2006

## 4 アミロイドβペプチド代謝異常とアルツハイマー病

さいとう たかおみ  
■西道 隆臣  
理化学研究所 脳科学総合研究センター



西道 隆臣  
1982年筑波大学生物学類卒業。  
88年東京大学大学院薬学系研究  
科博士課程修了。85～86年  
Cornell大学応用物理学部留学。  
88年東京都臨床医学総合研究所  
主事。97年理化学研究所脳科学  
総合研究センターチームリーダー。  
08年同グループディレクター。  
研究テーマはタンパク質分解  
と脳老化。趣味は読書。

Key words : アミロイドβペプチド(Aβ), ネプリライシン, 代謝異常, ソマトスタチン, amyloid β peptide(Aβ), neprilysin, dysmetabolism, somatostatin

### Abstract

家族性アルツハイマー病原因遺伝子変異の同定とその表現型解析によって、アミロイドβペプチド(Aβ)蓄積がアルツハイマー病全般における根本的原因物質であることが確立した。Aβは正常脳内でも定常的に産生されており、通常は速やかに分解されるため、蓄積することはない。Aβの定常量は産生と分解のバランスによって規定される。Aβには40残基のアミノ酸からなるAβ40と42残基からなるAβ42の二種類が存在し、Aβ42が一次病因分子種であると考えられる。家族性アルツハイマー病ではAβ(特にAβ42)の産生増加が病理的蓄積の原因であると考えられる。一方、孤発性アルツハイマー病の機構は確定していないが、蓄積に先立ってAβ分解系が低下するのに対して、明確な産生系の上昇は認められないことから、分解系低下が原因である可能性が高い。

### 1. Aβの産生

アルツハイマー病(AD)の病理学的定義は、老人斑形成(Aβ蓄積)・神経原線維変化

(タウタンパク質蓄積)・神経変成(神経細胞の形態異常と細胞死)の三点が存在することである。実質におけるAβ沈着が老人斑であり、血管外壁に蓄積したものがアミロイドアンギオパチーである。家族性AD(常染色体優性遺伝し若年で発症する)原因遺伝子の同定によって、Aβ蓄積が根本的原因であることが確立した。ただし、発症機構に直接関与するのは必ずしも老人斑ではなく、Aβ重合体(オリゴマー)の可能性も指摘されている(後述)。いずれにしても、ヒト脳にAβが蓄積し始めて症状が生じるまでに10年以上(恐らく30～60年)を要するので、病因論的機構の解明は容易ではない。

Aβは、アミロイド前駆体タンパク質(APP: amyloid precursor protein)から生成される。APPの分子量が約70,000であるのに対して、Aβは約4,000であるから、前駆体の

*Dysmetabolism of amyloid β peptide and Alzheimer's disease* : Takaomi C. Saido, Ph. D., Laboratory Head, Laboratory for Proteolytic Neuroscience, Group Director, Chemical Neuroscience Group, RIKEN Brain Science Institute



ごく一部由来の断片である。A $\beta$ は $\beta$ セクレターゼと $\gamma$ セクレターゼの作用によって生じる（第2章参照）。生理的過程において、おもに2種類のA $\beta$ が産生される。40残基のアミノ酸からなるA $\beta$ 40と42残基からなるA $\beta$ 42である。後者の重合性と凝集性が高いことからおよび以下の理由から、A $\beta$ 42が一次病因分子種であると考えられる。

ADは、大きく「家族性AD」（常染色体優性遺伝し、若年で発症する）と「孤発性AD」（明確な遺伝性が認められず、通常65歳以上の高齢で発症する）に分類される。前者の原因変異は、APPおよびプレセニリンの遺伝子に見いだされた。これまでに百数十の変異が報告されており、調べられたもの全てがA $\beta$ 産生・蓄積に影響を与えることが示された。その作用は、A $\beta$ 40とA $\beta$ 42双方の増加やA $\beta$ 42の選択的増加であった。その後、A $\beta$ 40レベルの選択的低下が家族性ADの原因となることが報告された。その意義は当初不明であったが、2007年に遺伝子改変動物を用いて脳内におけるA $\beta$ 42の蓄積をA $\beta$ 40が抑制することが示された。以上のことは、A $\beta$ 42の絶対量だけでなく（A $\beta$ 40に対する）相対量の増加がA $\beta$ 蓄積の原因となることを意味する。

## 2. A $\beta$ の分解

孤発性ADでは、A $\beta$ 産生系の明確な上昇がA $\beta$ 蓄積に先行する形では認められない。（むしろ、A $\beta$ 蓄積によって、APPの発現や $\beta$

セクレターゼ活性が上昇するようである。）また、ADの最大の危険因子は加齢であり、加齢は一般に代謝の上昇よりは低下をとまなう。このような理由から、A $\beta$ 分解系が孤発性ADに密接に関わる可能性が考えられた。

筆者らは、実験動物を用いた一連の研究によって、ネプリライシン（NEP: ペプチドを分子の内側で切断する中性エンドペプチダーゼの一種）を主要なA $\beta$ 分解酵素の候補として同定した。NEPを欠損するノックアウトマウスを用いて、NEP活性が低下すると脳内A $\beta$ レベルが上昇することを見いだした。A $\beta$ レベルは、ホモのノックアウトマウス（NEP活性が100%消失している）で約2倍、ヘテロ（50%消失）では約1.5倍上昇していた。このことは、加齢によって部分的にでもNEPの活性が低下すると、脳内のA $\beta$ レベルが上昇することを意味している。ダウン症では、APP遺伝子発現が1.5倍上昇することにより、若齢でA $\beta$ 蓄積が始まる。また、最近APP遺伝子座の重複が家族性ADの原因となることが示された。この場合もA $\beta$ レベルの上昇は1.5倍と考えられるので、これらのことは、脳内のA $\beta$ レベルが厳密に制御されなければならないこと、そして、分解システムの低下はA $\beta$ 蓄積ひいてはADの原因となることを強く示唆している。

加齢はADの最大の危険因子である。したがって、孤発性ADの根本的原因は加齢とともに著しく変化するものであることが予想される。マウス海馬において、歯状回（多

型細胞層・分子層)およびCA3透明層で、NEPの発現が低下する。酵素化学的にも海馬および新皮質でNEP活性が加齢依存的に低下する。McGeerらのグループは、病理学的にADの前段階と定義される(Braak stage II)脳を用いて、海馬および側頭葉においてNEP mRNAの発現が正常コントロールと比較して約50%に低下していることを報告した。これは、 $A\beta$ の定常レベルが1.5倍上昇していることを意味しており、一般的な家族性ADの表現型に相当する。さらに、 $A\beta$ 病理が顕著ではない小脳では、NEP mRNAの発現が海馬・前頭葉と比較してより高いうえに、コントロールとの差が非常に小さい。マウスでの発見が臨床レベルで確認されたと言えよう。

また、ADの前段階である(進行性の)軽度認知障害(MCI: mild cognitive impairment)の髄液において、NEP活性が正常コントロール群と比較して、有意に低下している。現時点では診断に用いられるほどの感度や精度を有しているわけではないが、髄液中のNEP活性は実質のニューロン由来のものであることが示されており、この結果も、AD発症の前段階でNEP活性が低下していることを示している。

### 3. $A\beta$ 重合体のシナプス毒性

最近、 $A\beta$ 単量体や線維化 $A\beta$ よりも、 $A\beta$ 重合体( $A\beta$  oligomers)が、シナプスに作用して神経可塑性を低下させるとの考えが支持

されつつある。現在最も頻繁に用いられるADモデルマウスは、APPを過剰発現するトランスジェニックマウスであるが、これらのマウスは、 $A\beta$ だけでなく、可溶性のAPP断片(APPs)や細胞内でシグナル伝達に関与する可能性のある細胞内ドメイン(AICD: APP intracellular domain)も過剰に産生する。さらに、APP自身が軸索輸送に関与するという報告もあり、通常10倍以上APPを過剰発現するトランスジェニックマウスは、完全なADモデルではない。しかし、NEPは、 $A\beta$ は分解するのに対して、APP, APPs, AICDを分解することができないので、APPトランスジェニック(APP-Tg)マウスとNEPノックアウト(NEP-KO)マウスを交配することによって、 $A\beta$ だけを選択的に上昇させることが可能になる。

実際、そのようなAPP-Tg X NEP-KOマウスは、APP, APPs, AICDは変化せず、 $A\beta$ 2量体を中心とした重合体が3倍近く上昇していた。これらのマウスの神経可塑性や認知能力を、*in vivo*の長期増強実験と行動実験で検討したところ、NEPの欠損によって、著しい能力の低下が認められた。このことは、NEPがシナプス毒性のある $A\beta$ 重合体を分解する能力があること、すなわち、脳内におけるNEP活性を上昇あるいは賦活化することによって、軽度認知障害やADにおける認知能力の低下を抑制することができる可能性のあることを示している。特に大切なことは、NEPがプレシナプスに存在し、神経可塑性において最も重要な部位であるシナ



ブスにおけるA $\beta$ を分解することである。脳内におけるA $\beta$ のクリアランス機構としては、NEP以外のプロテアーゼによる分解や脳血管関門・髄液による輸送の関与も指摘されているが、シナプスでA $\beta$ 定常量を制御することができるのは、NEPだけである。これらの結果は、NEPを用いた実験的遺伝子治療の効果とよく一致する。

#### 4. ソマトスタチンによる A $\beta$ 分解系の制御

筆者らは薬理的に脳内のNEP活性を操作する可能性を探索してきた。その結果、神経ペプチドであるソマトスタチンが、培養神経細胞のNEP活性を上昇させることを見いだした。これは*in vitro*の観察であるので、ソマトスタチン遺伝子破壊マウスを用いて*in vivo*における蓋然性を検討したところ、海馬においてソマトスタチンはNEP活性を制御することによってA $\beta$ （特に病原性の高いA $\beta$ 42）の量を調節することを見いだした。

ソマトスタチンは、ソマトスタチンリセプターを介して作用する。ソマトスタチンリセプターは、G蛋白にカップルするリセプターであるため、格好の創薬の標的である。また、ソマトスタチンリセプターには5種類の（異なる遺伝子の産物である）サブタイプが存在し、その中には脳内に選択的に発現するものがある。このサブタイプだけを活性化する低分子薬剤は、systemicな副作用なく、脳内のA $\beta$ レベルを下げる作用があると期待される。また、ソマトスタチン自身に認知機能改善作用があることが報告されており、2重の意味でADに対して予防・治療作用があることが期待される。さらに、脳内のソマトスタチンは加齢によって減少し、孤発性AD患者では顕著に低下することが報告されている。このことは、加齢に伴うソマトスタチンレベルの低下が、NEP活性を低下させ、A $\beta$ レベルを上昇させることによって、孤発性ADの原因となる可能性を示唆している。これが事実であれば、孤発性ADの原因が初めて解明されることになる。

<BIO Information>

#### 第49回日本臨床ウイルス学会

日本臨床ウイルス学会は下記日程で学術総会を開催します。

会 期：2008年6月14日（土）～15日（日）

会 場：愛知県犬山市・名鉄犬山ホテル

会 長：尾崎 隆男（愛知県厚生連昭和病院副院長）

シンポジウム1：「拡大するウイルス性感染症とその対策」

教育セミナー1：「性器ヘルペス再発抑制療法について」

教育セミナー2：「麻疹・新たな展開」

教育セミナー3：「水痘ワクチンによる水痘と帯状疱疹の予防」

特別発言：「グローバルレベルの感染症対策—世界ポリオ根絶計画の最終段階—」

特別講演1：「B型・C型ウイルス性肝炎 最新の診断と治療の進歩」

シンポジウム2：「Common Diseaseの最新知見」

他多数

連絡先：愛知県厚生連昭和病院小児科：TEL (0587) 56-4155 / FAX (0587) 58-0340

※バックナンバーを会場で販売予定です。お立ち寄り下さい。



EXPERIMENTAL MEDICINE

# 実験医学

月刊

別刷

 羊土社

〒101-0052

東京都千代田区神田小川町2-5-1 神田三和ビル

TEL : 03-5282-1211 (代表) FAX : 03-5282-1212

E-mail : eigyo@yodosha.co.jp

URL : <http://www.yodosha.co.jp/>

# アミロイド $\beta$ 分解を標的とする アルツハイマー病の予防・治療戦略

斉藤貴志, 岩田修永, 津吹 聡, 西道隆臣

アルツハイマー病 (AD) は、脳内でのアミロイド  $\beta$  ペプチド ( $A\beta$ ) の蓄積を発症の引き金にしていると考えられている。脳内  $A\beta$  の蓄積は、認知機能障害を呈するはるか以前からはじまっており、現在  $A\beta$  の産生抑制・分解促進法・凝集抑制法が、ADの予防・治療法の標的とされている。本稿では、 $A\beta$  の分解促進法の探索に着目し、特に脳内  $A\beta$  分解に携わる主要プロテアーゼであるネプリライシンの活性制御機構について、最新の知見を取り上げたい。また、 $A\beta$  が受ける翻訳後修飾等によって、その分解耐性に変化が生じる機構についても紹介したい。

**キーワード** ● アルツハイマー病 (AD), アミロイド  $\beta$  ペプチド ( $A\beta$ ), ネプリライシン, ソマトスタチン (SST), ピログルタミン化

## はじめに

後期高齢者問題で揺れるわが国において、今後ますます深刻な問題を呈すると予想される認知症、とりわけその比率の多くを占めるアルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) の予防・治療法の確立が、切に望まれている。今後10年で、わが国におけるAD患者の数は、現在の倍 (300万人以上ともいわれている) に膨れ上がるとの試算もある。少子化の影響も考慮すると、若い世代の負担は今後ますます大きくなっていくと考えられるが、現在までにわが国で認められているAD治療薬は、塩酸ドネペジル (アリセプト) のみであり、しかもそれは対症療法に過ぎないのが現状である。世界規模で見ても、AD治療薬は、未だに根本治療にはほど遠く、新規創薬ターゲットの登場が心待ちにされている。

AD予防・治療の標的は、ADの2大病理でもあるアミロイド  $\beta$  ペプチド ( $A\beta$ ) および、異常にリン酸化されたタウの蓄積をいかに抑制するかにかたがら絞られている。

$A\beta$  には、40アミノ酸からなる  $A\beta$  (1-40) と、さらに疎水性アミノ酸が2残基多く、 $A\beta$  (1-40) よりもはるかに神経毒性が高い  $A\beta$  (1-42) の2種類が主として存在していることが知られている。家族性ADの原因遺伝子が、 $A\beta$ 、特に  $A\beta$  (1-42) の産生・比率を増加することが明らかとなつてから、アミロイド仮説に基づく研究が盛んに行われている。認知症の症状が現れる30年以上も前から  $A\beta$  の蓄積が起こりはじめる事実に着目すると、 $A\beta$  の産生・分解・凝集・クリアランス等の代謝機構を解明することが、根本的治療・予防法発見への最短距離を走ることになるのではなかろうか。

## 1 $A\beta$ 分解酵素ネプリライシン

● **ネプリライシン活性制御機構とソマトスタチン**  
老化疾患は、生体のホメオスタシス・代謝の低下に伴って誘発されるものが多く、ADはまさに、 $A\beta$  の代謝異常による疾患とも捉えられている (図1)。2001

The prevention and therapeutic strategy for AD employing the acceleration of  $A\beta$  degradation  
Takashi Saito/Nobuhisa Iwata/Satoshi Tsubuki/Takaomi C. Saido: Laboratory for Proteolytic Neuroscience, Brain Science Institute of RIKEN (理化学研究所脳科学総合研究センター神経タンパク質制御研究チーム)



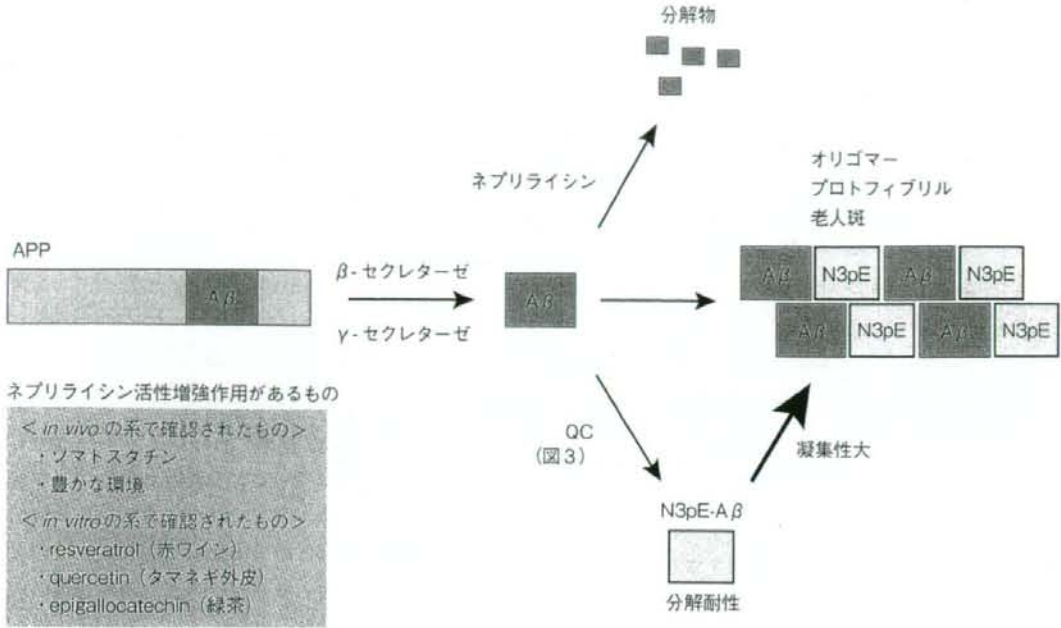


図1 Aβの代謝機構

前駆体APPからβ、γ-セクレターゼによりプロセッシングを受け産生されたAβは、ネプリライシンによって分解される。一方で、分解を免れたAβや、QC等による翻訳後修飾を受けたAβ(詳細は図3に記載)は脳内で蓄積をはじめ、N3pE-Aβ:N3位グルタミン酸が環化(ピログルタミル化)されたAβ、QC:グルタミンシルクラーゼ

年の岩田らの報告により、ネプリライシンがAβ分解の主要プロテアーゼであることが明らかにされて以来、Aβ代謝における分解系の重要性がクローズアップされるようになってきた<sup>1)</sup>。加齢に伴うネプリライシン発現の低下<sup>2)</sup>や、孤発性AD脳におけるネプリライシン発現の低下<sup>3)</sup>は、ネプリライシン依存的Aβ分解活性の低下による脳内Aβレベルの増加を引き起こすと考えられ、孤発性ADの部分的な原因であるかもしれない。実際に、ネプリライシントランスジェニック(tg)マウスとアミロイド前駆体タンパク質(APP)-tgマウスのかけ合わせマウスを用いた解析<sup>4)</sup>や、ネプリライシン遺伝子を組込んだアデノ随伴ウイルス等をAPP-tgマウスの脳内に注入する方法でネプリライシンの発現を高めた結果<sup>5)</sup>、脳内Aβレベルの顕著な低下が認められた。このことは、脳内ネプリライシンの発現量を高める方法が、ADの予防・治療に有望であることを示している。さらにわれわれは、ネプリライシン活性制御機構を明らかにし、薬理的に脳内ネ

プリライシンを活性化するアプローチを模索すべく、ネプリライシン活性増強因子のスクリーニングを行った。その結果、ソマトスタチン(SST)が、脳内ネプリライシン活性の制御因子であることを明らかにした<sup>6)</sup>。

SSTは、古くからAD脳で低下していることが知られており<sup>7)8)</sup>、その因果関係が注目されていた神経ペプチドで、記憶力増強・安定化作用をはじめ多くの生理活性を有することが知られている。われわれは、*in vitro*、*in vivo*の両方の系でSSTが、ネプリライシンの発現・活性を制御していることを見出した<sup>6)</sup>。特に興味深いことは、SSTが神経でのネプリライシンの局在も制御していることである。SST欠損マウスでは、海馬・歯状回の外側分子層で、ネプリライシンのプレシナプスへの局在が低下していたのである。ネプリライシンは、細胞内コンパートメントのpHの違いのため、プレシナプスでしかAβ(1-42)を分解することができない。このため、ネプリライシンのプレシナプス局在の低下は、Aβ(1-42)の蓄積を加速させると

考えられる。さらに、海馬・歯状回の外側分子層は、ネプリライシンの発現が加齢により低下する領域と同じであり<sup>2)</sup>、SSTもまた、加齢に伴いその脳内レベルが低下することが知られている<sup>9)</sup>。これらの結果からわれわれは、「加齢に伴うSSTレベルの低下が、海馬・歯状回における領域特異的なネプリライシンの発現およびプレシナプスへの局在の低下を引き起こし、脳内Aβ(1-42)レベルを増加させる」という仮説を提唱しており、孤発性ADの発症メカニズムを部分的に説明できるのではないかと考えている。

SSTは、5つのソマトスタチン受容体(SSTR 1~5)を介してその生理作用を発揮することが知られている。SSTRは、Gタンパク質共役7回膜貫通型受容体であり、創薬のターゲットとしても有望であると考えられる。現在われわれは、どのSSTRがネプリライシンの活性制御に主に関与しているのか解析を進めている。このSSTRが同定され、それに特異的な作動薬が合成されれば、副作用を抑え、脳内で効率的にAβ(1-42)レベルを低下させることができるようになるかもしれない<sup>8)</sup>。また、SSTR作動薬は、脳内で低下したSSTを補う補充療法としての意味合いもあると考えられる。一方で、ネプリライシンの発現・活性を低下させる因子に対する阻害物質も、脳内ネプリライシンの発現を保持する点で重要な標的となりうるだろう。そのため、ネプリライシンの活性を制御する一連のメカニズムをより広く解明していくことが非常に重要であると考えている。

一部の研究者から、Aβプロセッシングにおける副産物であるAPPのC末端フラグメント(AICD)がネプリライシンの発現を制御しているという報告があり<sup>10)</sup>、ついでチロシナーゼ阻害物質であるGleevec(グリーベック)がAICDを介してネプリライシンの発現を制御しているという報告がなされた<sup>11)</sup>。しかしながら、これらについてはまだ議論の余地がありそうである<sup>12) 13)</sup>。

## ② ネプリライシン活性化因子

最近、生活の身近でよく耳にするようになったものに、ポリフェノールがある。これらポリフェノールのなかでも、赤ワインに含まれるresveratrol<sup>14)</sup>やタマネギの外皮等に含まれるquercetin<sup>14)</sup>、緑茶ポリフェノール

の1つepigallocatechin<sup>15)</sup>などに、ネプリライシン活性を増加する作用があるという*in vitro*での結果が相次いで報告された。これらポリフェノール類が、実際に生体内でどれほどの効果を発揮できるか現在解析が待たれているが、毎日の生活のなかで摂取でき、しかも医薬品ではない成分にネプリライシン活性の増加作用があることは大変興味深い結果である。一方で最近注目されているものに、環境因子による影響もあげられる。豊かな環境<sup>※</sup>(environmental enrichment)で飼育したAPP-tgマウスの脳内で、ネプリライシンの発現が選択的に増加していたという結果は特筆に値する<sup>16)</sup>。さらに、豊かな環境で飼育したマウスの脳内で、SSTの発現が増加しているとの報告もあり<sup>17)</sup>、今後ますます、食生活や環境改善に基づいたADの予防法がクローズアップされるのではないだろうか。このような、日常的に摂取する食品に含まれるある種の成分を利用して病気を予防・治療するというのは東洋医学に近い考え方である。老化疾患のように長時間をかけて発症するような病気に対し、薬剤をもって急激に治療するのは少なからず危険を伴うこともあると思われる。長期的視点に立ち、日常的にできる予防習慣をうまく取り入れ、弱い効果ながら持続的に用いることができるような予防薬を使用する道を模索する時期がきているのかもしれない。

## ③ ネプリライシンとAβオリゴマー

最近、Selkoeらは、どのAβオリゴマーが脳内で真に神経毒性を示すのかを明らかにするために、AD脳から直接抽出した画分を齧歯類の脳内に注入するなどして、神経毒性の主体がAβ二量体であることを報告している<sup>18)</sup>。これは、すでに岩田らが報告していたAPP-tgマウスとネプリライシン欠損マウスとの交配マウスを用いた解析とも一致しており、ネプリライシンの欠損がAβ二量体の量を増加させる点でも実際の病態を反映しているのではなかろうか<sup>19)</sup>。また、ネプリライシンはAβ単量体のみでなく、Aβ二量体なども

### ※ 豊かな環境

environmental enrichmentとも表される飼育環境。マウスを通常の飼育ケージよりも広いケージで飼育し、回し車やブロック、筒等の遊び道具をケージ内に入れて通常飼育よりも「豊かな環境」として飼育すること。



Aβ(1-42)のアミノ酸配列

野生型: DAEFRHDSGY EVHHQKLVFF AEDVGSNKGAIIGLMVGGVV IA  
 Italian変異: DAEFRHDSGY EVHHQKLVFF AKDVGSNKGAIIGLMVGGVV IA  
 Dutch変異: DAEFRHDSGY EVHHQKLVFF AQDVGSNKGAIIGLMVGGVV IA  
 Flemish変異: DAEFRHDSGY EVHHQKLVFF GEDVGSNKGAIIGLMVGGVV IA  
 Arctic変異: DAEFRHDSGY EVHHQKLVFF AGDVGSNKGAIIGLMVGGVV IA

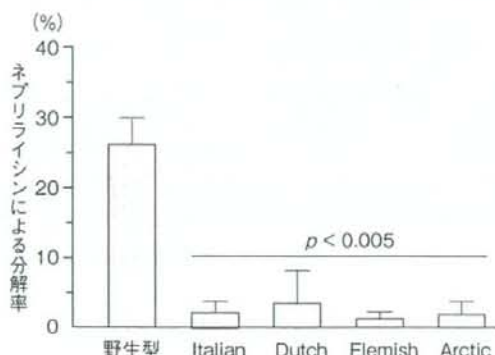


図2 Aβの内部配列変異とネプリライシン分解耐性

家族性ADの家系 (Italian, Dutch, Flemish, Arctic) は、Aβの内部配列に変異 (赤文字) が存在している。この変異を有するAβは、ネプリライシンにより分解されにくく、その半減期の増加に伴うAβレベルの増加を引き起こすと考えられる<sup>21)</sup>

分解できるプロテアーゼであることも示されており<sup>20)</sup>、ネプリライシンの活性を高める方法が今後さらに重要になると思われる。

## 2 分解基質としてのAβ

### ① Aβの分解耐性

前述したように、Aβ分解の主要プロテアーゼはネプリライシンであるが、一方で分解基質としてのAβについても重要な報告が相次いでいる。現在までに報告されている家族性ADのなかでも、Aβの内部配列に変異を有するItalian, Dutch, Flemish, Arcticといった変異では、SwedishやLondon変異 (APP遺伝子内ではあるが、Aβの内部配列以外に変異を有する) のような、脳内Aβの量やAβ42比率の増加は認められていない。しかしながら、Aβ内部のアミノ酸残基の変異が、ネプリライシンに対する分解耐性を示し、その生物学的半減期が上昇した結果、脳内でAβレベルが増加し、ADの発症に寄与していると考えられている (図2)<sup>21)</sup>。すなわち、ネプリライシンによるAβ分

解率の低下が、ADの発症に大きくかかわっていることを示しているのである。これらのことも、加齢に伴うネプリライシン発現の低下が、孤発性ADの発症にかかわっていることを補説していると考えられる。

### ② N3pE型Aβとグルタミンシルクラーゼ

基質としてのAβの物性について特に最近注目を集めているのは、AβのN末端が修飾を受けた、すなわち、3位のグルタミン酸が環化 (ピログルタミル化) したAβ (N3pE-Aβ) の存在である (図3)。これは、Aβ(1-x)のN末端が、アミノペプチダーゼやジペプチジルペプチダーゼ等のエキソペプチダーゼによる消化を受けて露出した3位のグルタミン酸が環化したもので、実際のAD患者の脳では、N3pE-Aβ、特にAβ(3pE-42)の比率が非常に高いことも知られている<sup>22)</sup>。N3pE-Aβは、Aβ(1-40)やAβ(1-42)よりもプロテアーゼに対する分解耐性を示し、神経毒性が有意に高く、Aβ(3pE-42)の凝集性はAβ(1-42)の250倍も高いことが報告されている<sup>23) 24)</sup>。

ピログルタミル化の生物学的意味合いは古くから知られており、ペプチドホルモンである甲状腺刺激ホル

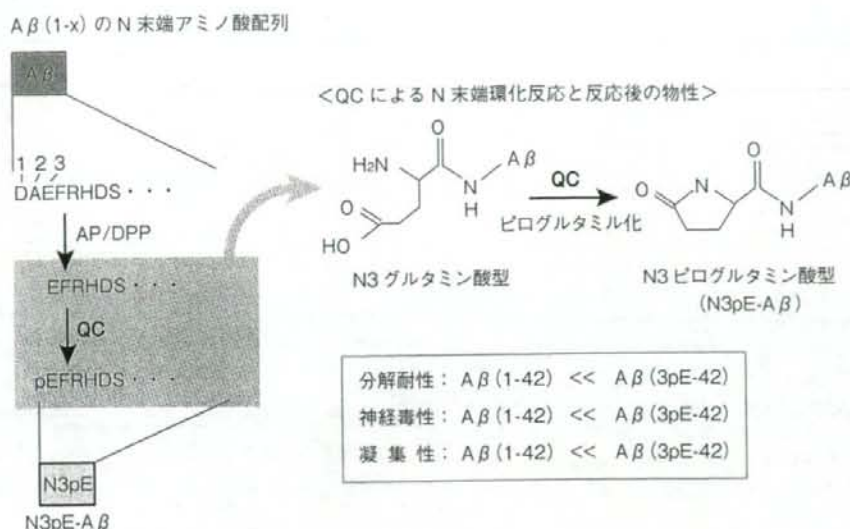


図3 QCによる3位グルタミン酸の環化(ピログルタミル化)反応

脳内で産生されたAβは、APやDPPのようなエキソペプチダーゼによって切断を受け、N末端3位のグルタミン酸(E)が露出する。このグルタミン酸がQCの作用により環化(ピログルタミル化)されたN3pE-Aβは、プロテアーゼに対する分解耐性を獲得し、高い神経毒性および凝集性を獲得する。AP:アミノペプチダーゼ、DPP:ジペプチジルペプチダーゼ

モン放出ホルモン(TRH)や黄体形成ホルモン放出ホルモン(LHRH)等もそのN末端がピログルタミン酸である。これらペプチドホルモンは、そのN末端がピログルタミル化されることで、生体内での安定性(プロテアーゼ耐性による)を保つと考えられている。一方で、N3pE-Aβのピログルタミル化は、老化に伴う長期変容によって獲得したものだと考えられ、その毒性・凝集性から、ADの発症・進行を早める危険性がある。このため、N3pE-Aβのピログルタミル化を特異的に阻害する方法の探索も、今後重要な課題になると推察される。

N末端グルタミン酸の環化には、酵素学的な反応として、グルタミニルシクラーゼ(glutaminyl cyclase: QC)が関与していると考えられている。QCは、亜鉛依存性のメタロエンザイムで、多様な組織に分布しており、脳での発現も高いことが知られている。また、脳組織のなかでも発現部位によって、その活性が異なっていることも報告されている。最近、イミダゾール誘導体PBD150がQCを阻害し、N3pE-Aβの形成を抑制したことが*in vitro*の実験で確認された<sup>25)</sup>。*in vivo*でも同様の効果が確認されれば、N3pE-Aβの形成を

抑制し、ネプリライシンによる速やかなAβ分解を促すことができると予想されるため、QC阻害剤のさらなる検証が期待されている。

## おわりに

Aβの分解促進を標的としたADの予防・治療法の確立には、これまで考えられていたような、ネプリライシンの発現量を増加させる方法だけにとどまらず、毒性の高いAβ(1-42)を効率的に分解するために、ネプリライシンの局在を制御したり、基質となるAβの翻訳後修飾(Aβのピログルタミル化を含め)をいかに制御するかということまで考慮する必要が出てきた。これらを総合的に解析していくためには、ADモデル動物が必要不可欠である。しかしながら、現存するADモデルマウスの脳内では、N3pE-Aβの存在はほとんど認められておらず、これまでのマウスを用いて新たに評価を行うことが難しい。そのためにも、よりヒトの病理に近付けたADモデルマウスを構築する必要性があり、N3pE-Aβを産生するモデルマウスの作製も強く望まれるところである。



文献

- 1) Iwata, N. et al. : Science, 292 : 1550-1552, 2001
- 2) Hellstrom-Lindahl, E. et al. : Neurobiol. Aging, 29 : 210-221, 2008
- 3) Yasojima, K. et al. : Neurosci. Lett., 297 : 97-100, 2001
- 4) Leissring, M. A. et al. : Neuron, 40 : 1087-1093, 2003
- 5) Iwata, N. et al. : J. Neurosci., 24 : 991-998, 2004
- 6) Saito, T. et al. : Nature Medicine, 11 : 434-439, 2005
- 7) Davies, P. et al. : Nature, 288 : 279-280, 1980
- 8) Burgos-Ramos, E. et al. : Mol. Cell. Endocrinol., 286 : 104-111, 2008
- 9) Lu, T. et al. : Nature, 429 : 883-891, 2004
- 10) Pardossi-Piquard, R. et al. : Neuron, 46 : 541-554, 2005
- 11) Eisele, Y. S. et al. : Mol. Biol. Cell, 18 : 3591-3600, 2007
- 12) Chen, A. C. & Selkoe, D. J. : Neuron, 53 : 479-483, 2007
- 13) Pardossi-Piquard, R. et al. : Neuron, 53 : 483-486, 2007
- 14) Melzig, M. F. & Escher, F. : Pharmazie, 57 : 556-558, 2002
- 15) Ayoub, S. & Melzig, M. F. : J. Pharm. Pharmacol., 58 : 495-501, 2006
- 16) Lazarov, O. et al. : Cell, 120 : 701-713, 2005
- 17) Nilsson, L. et al. : Brain Res., 628 : 93-98, 1993
- 18) Shankar, G. M. et al. : Nature Med., in press (2008)
- 19) Huang, S. M. et al. : J. Biol. Chem., 281 : 17941-17951, 2006

- 20) Iwata, N. et al. : Pharmacol. Ther., 108 : 129-148, 2005
- 21) Tsubuki, S. et al. : Lancet, 361 : 1957-1958, 2003
- 22) Saido, T. C. et al. : Neuron, 14 : 457-466, 1995
- 23) Russo, C. et al. : J. Neurochem., 82 : 1480-1489, 2002
- 24) Schilling, S. et al. : Biochemistry, 45 : 12393-12399, 2006
- 25) Cynis, H. et al. : Biochemistry, 47 : 7405-7413, 2008

参考図書

『アルツハイマー病にならない!』(井原康夫, 荒井啓行), 朝日新聞社, 2007

Profile

筆頭著者プロフィール

斎藤貴志: 理化学研究所脳科学総合研究センター神経タンパク質制御研究チーム研究員。1998年、熊本大学薬学部卒業後、同大学大学院修士課程修了。2002年、大阪大学大学院医学系研究科にて学位取得。同年から現職。現在、アルツハイマー病に関するプロテアーゼの活性制御機構の解析、および第2、第3世代のアルツハイマー病モデルマウスの作製に携わっている。基礎研究の現場から、難治性疾患の予防・治療法を発見し、臨床への橋渡しをしていきたい。

歴史から最新トピックスまで一気にわかる!

# タンパク質の一生

## 集中マスター

遠藤 斗志也, 森 和俊, 田口英樹/編

好評発売中

バイオ研究  
マスター  
シリーズ



～目次・レビュー編より～

- 第1章・フォールディング入門/第2章・分子シャペロンの作動原理/第3章・プローベ
- コード/第4章・細胞機能を支える巧みな物流管理システム/第5章・細胞品質管理に関与
- する/第6章・タンパク質の品質管理機構/第7章・品質管理にかかわる細胞応答の仕組み
- /第8章・シャペロンと分解の交差点/第9章・秩序ある凝集: アミロイドとプリオン

■ 定価 (本体3,800円+税) ■ B5判 ■ 147頁 ■ ISBN978-4-7581-0713-6

発行 羊土社