

アルツハイマー病の分子病態

山田, 猛
九州大学医学部脳研神経内科 : 助教授

<https://doi.org/10.15017/7234605>

出版情報 : 福岡医学雑誌. 89 (2), pp.29-33, 1998-02-25. Fukuoka Medical Association
バージョン :
権利関係 :



解 説

アルツハイマー病の分子病態

九州大学医学部脳研神経内科助教授
山 田 猛

アルツハイマー病 (AD) は、老年期痴呆の代表的疾患であり、欧米では 80%, わが国でも 50% 近くを占め、老年医学における最重要課題の一つである。AD はアルツハイマーの記載以来、細胞外の老人斑と神経細胞内の神経原線維変化の二つの病理学的変化で特徴づけられる。AD の研究は両者の物質的基礎が明かにされて飛躍的に進歩した。とくに老人斑を構成するアミロイド β 蛋白 ($A\beta$) については、前駆体蛋白の遺伝子クローニング以来、AD における分子病態研究の中心となっている。本稿では $A\beta$ に関連した最近の知見を紹介する。

アミロイド前駆体蛋白

1984 年 Glenner らは、AD 患者の髄膜脳血管に沈着したアミロイドを抽出精製、一次構造を決定し、 β シート構造をとりやすいことから β 蛋白と命名した。1987 年 Kang らによる遺伝子クローニングの結果、 β 蛋白は前駆体蛋白 (amyloid β -protein precursor, APP) から生成されることが明らかにされた。APP は alternative splicing によりいくつかの isoform が存在するが、APP 695, APP 751, APP 770 (数字はアミノ酸の数) が主要なものである。APP 695 は神経細胞に主に発現し、APP 751 と APP 770 はその他の細胞で発現している。APP は細胞膜に局在する膜蛋白と考えられ、細胞外部分に糖鎖結合部位があり、APP 751 と APP 770 はセリンプロテアーゼ阻害領域を持ち、細胞内の C 末部分の His 732-Lys 751 は Go 蛋白活性化機能をもつことが示されている (図 1)。 $A\beta$ は細胞外部分から膜貫通部分に相当する。APP の主要な代謝過程は、 $A\beta$ 内で切断されて細胞外部分が分泌されるものであるが、一部は $A\beta$ の N 末部分で切断されて分泌される。これらの切断酵素は明らかにされていないが、 α -secretase, β -secretase と仮称されている。APP の β -secretase による切断後、 γ -secretase により C 末部分が切断されて $A\beta$ は生成されると考えられている。

APP そのものの機能については、in vitro の実験で細胞増殖、細胞接着、神経突起の伸長を促進するといった報告があるが、確実に明らかにされたものはない。ノックアウトマウスの解析では、APP の欠損により体重減少、前肢の筋力低下、探索行動の減少がみられ、脳組織のグリオーシスは認められるものの神経細胞の異常は明らかではなかった。ただし APP には APLP 1, APLP 2 といった相同蛋白があり、APP の欠損を後者が機能的に代償している可能性はある。神経系における APP の機能解明についてはさらに研究が必要である。

アミロイド β 蛋白

$A\beta$ は分子量約 40 kDa のペプチドであり、672 番目 (APP 770 の場合) のアスパラギン酸から始まり、711 番目のバリンまでの $A\beta$ 1-40 が最も多く認められるが、多様性がある。C 末部分については 39~43 の違いが報告されているが、 γ -secretase による切断部位が多様なのか、43 より長い $A\beta$ が生成されてからカルボキシペプチダーゼによって短縮されるのかは確定していない。ELISA による定量では、 $A\beta$ 1-42 の量は $A\beta$ 1-40 の 1/10 程度と報告されてい

Takeshi YAMADA

Department of Neurology, Neurological Institute, Faculty of Medicine, Kyushu University 60, Fukuoka 812-8582

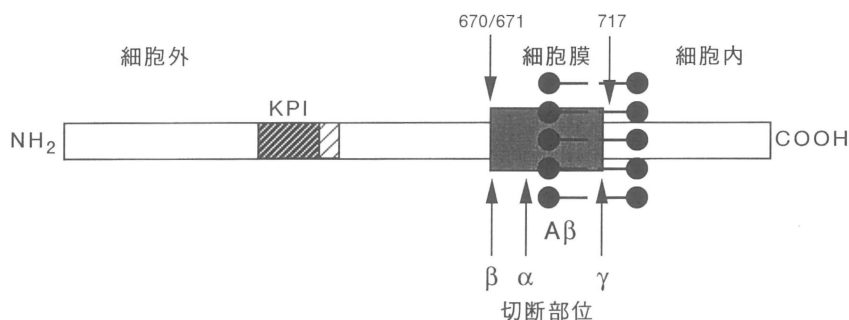


図 1 アミロイド前駆体蛋白 (APP 770)の模式図. Aβ: アミロイド β 蛋白.
KPI: セリンプロテアーゼ阻害領域. 670/671, 717: 家族性アルツハイマー病の変異コドン.

る. N 末部分についても多様性があり, 1~9 アミノ酸短いものが存在する. また 1, 7 番目のアスパラギン酸は L-イソ体が最も多く, D-イソ体, L 体, D 体は少ない. 3, 11 番目のグルタミン酸がピロ化しているものが存在する.

従来, Aβ は非神経細胞を対象として, 特異抗体を用いた免疫沈降法や ELISA によって検出, 定量されていた. これらの細胞では Aβ は培養上清中に分泌され, 細胞内には検出されなかった. AD ではアミロイドは神経細胞外に沈着することから, 細胞外に分泌された Aβ が凝集してアミロイドとなり, 神経細胞変性を引き起こすと考えられていた. 最近, 細胞内にも Aβ が存在するという報告が相次いでいる. ラットの海馬神経細胞あるいはヒト神経細胞株 NT 2 N に Semliki Forest virus ベクターを用いて APP を過剰発現させると, Aβ が細胞内の小胞体に検出され, 細胞外に分泌される Aβ とは異なる調節をうけているというものである. このことは Aβ は神経細胞内で生成され, 神経細胞変性を引き起こすという考え方に支持を与える.

アミロイド β 蛋白の凝集

Aβ は, 他のアミロイド形成蛋白であるトランスサイレチンやプリオン蛋白と同様に, β シート構造をとりやすい. Aβ の水溶液を 3 日~1 週間 37°C で保存すると凝集して線維状となるが, 凝集性は Aβ 1-42 の方が Aβ 1-40 よりも高い. 凝集の kinetics は, 結晶化と類似しており, 核が存在すると急速に進行する. すなわち少量の Aβ 1-42 が核となり, 多量に存在する可溶性の Aβ 1-40 が凝集してアミロイドとなるのである. この考え方は, AD 脳で Aβ 1-42 が病初期に沈着し始め, ついで Aβ 1-40 が沈着することと合致する.

Aβ の凝集は様々な物質の影響を受ける. 亜鉛, アポリポ蛋白 E, α 1-アンチキモトリプシン, アセチリコリンエステラーゼにより, in vitro で凝集が促進される. また, Aβ とプロテオグリカンと一緒にラット脳に接種するとアミロイドを形成する. Aβ の一次構造は, ヒト, 猿, 熊, 犬, 牛, 豚, 羊, 兎, モルモットは同じであるが, マウスやラットは三カ所アミノ酸が異なっており, マウスやラットの脳にアミロイドが沈着しにくいことと関連しているのかもしれない.

アミロイド β 蛋白による神経細胞変性

Aβ は正常な状態で生成されることから, 何らかの生理機能を有すると考えられるが, よく分かっていない. Aβ 1-40 や Aβ 1-42 は溶解状態では細胞毒性はないが, 凝集状態で細胞毒性を示すようになる. 培養神経細胞を用いた実験系では, Aβ 25-35 の部分に神経細胞毒性が存在することが示されている. Aβ が細胞変性を引き起こす機構については, in vitro で Aβ そのものがフリーラジカルを生成する, 培養細胞内の過酸化水素を増加させ, 脂質の過酸化を起こすといった報告があり, ラジカル説が提唱されている.

最近、 $A\beta$ と結合して細胞障害を惹起する蛋白がクローニングされた。Endoplasmic-reticulum-associated binding protein (ERAB) と名付けられたこの蛋白は、分子量 27 kDa で水酸化ステロイド脱水素酵素の一種と考えられる。各組織で発現が認められ、細胞内の小胞体に局在している。 $A\beta$ 1-20 の部分と結合し、細胞障害を引き起こし、AD 脳の神経細胞での発現が増加している。ERAB を発現させた細胞の培地に $A\beta$ 1-42 を添加すると、ERAB は小胞体から細胞膜下に移動することから、細胞外の $A\beta$ を取り込んで結合する可能性が考えられる。また神経細胞では、細胞内にも $A\beta$ が検出されることから、細胞内 $A\beta$ との結合も考えられる。一方、ERAB による $A\beta$ の細胞障害誘導が、ERAB の生理的機能とどのように結びつくかは不明である。

この他に、 $A\beta$ がイオンチャンネルを形成する、線維芽細胞の K チャンネルを阻害する、 $A\beta$ による細胞膜の負荷電を消去すると細胞障害が減少するといった報告もある。また、 $A\beta$ は in vitro で血管を収縮させ、血管内皮細胞の変性を引き起こす。この効果は superoxide dismutase により抑制されることから、酸素ラジカルを介した反応と考えられるが、アミロイドによる虚血性障害を示唆する。

アミロイド β 蛋白とミクログリア

AD 脳の病理所見として、ミクログリアを主体とした炎症性変化が指摘されているが、活性化ミクログリアは老人斑周辺に集集している。これが沈着アミロイドを除去しようとする防御的反応なのかどうかは明らかではないが、活性化ミクログリアがラジカルやサイトカインを産生することにより周辺の神経細胞死を引き起こして、AD の病態に関与している可能性が考えられている。単独では影響ない濃度の $A\beta$ 25-35 あるいは $A\beta$ 1-42 を、インターフェロン γ (IFN- γ) と同時に培養系に添加すると、ミクログリアが活性化されて NO_2^- や TNF- α が産生され、共培養下で神経細胞の変性が起こる。また、分泌 APP によるミクログリアの活性化では、NF- κ B を介してインターロイキン 1 β や誘導型 NO 合成酵素の発現増加、NO 産生増加が起こる。この活性化はアポリポ蛋白 E- ϵ 3 により抑制されるが、アポリポ蛋白 E- ϵ 4 では抑制されない。

$A\beta$ によるミクログリアの活性化はどのようにして起こるのであろうか。二つの経路が報告されている。 $A\beta$ 25-35 をコートした培養皿にミクログリアは接着するが、スカベンジャー受容体 (SR) のリガンドであるアセチル化 LDL により接着が阻害されることから、ミクログリアは SR を介して $A\beta$ と結合するというものである。そして $A\beta$ は細胞内に取り込まれることから、SR はミクログリアによるアミロイドの除去処理に関与していると考えられている。さらに、 $A\beta$ は TNF- α や LTB4 といったミクログリアの走化因子よりも強力な走化性をもつことが示され、AD 脳の老人斑周囲にミクログリアが集集する理由を示唆している。

$A\beta$ 1-40 と結合する蛋白を牛肺から抽出・精製したところ、RAGE (receptor for advanced glycation end products) であった。 $A\beta$ による酸化ラジカル生成が RAGE 発現により増加し、抗 RAGE 抗体や可溶性 RAGE により抑制されることから、 $A\beta$ の酸化ストレスは RAGE を介することが示唆された。さらに AD 脳で老人斑周囲のミクログリアの RAGE 発現量が増加していること、 $A\beta$ によるミクログリアの TNF- α 産生が RAGE を介することが示され、AD の病態におけるミクログリアの RAGE の重要性が指摘されている。

遺伝子変異とアルツハイマー病

AD 発症の危険因子として家族歴は重要であるが、AD の多くは孤発性であり、単一遺伝子変異に基づく家族性 AD (FAD) はまれである。家族性 AD のうち 60 歳以前に発症する早発型は AD の 5 % 以下であり、現在までに原因遺伝子として APP, presenilin 1, presenilin 2 が見い出されている。このうち APP 変異は 5 %, presenilin 1 変異は 75 % 程度を占め、presenilin 2 は 2 家系のみが報告されている。60 歳以後に発症する遅発型は、アポリポ蛋白 E が危険因子としてみつかったが、単一遺伝子変異は明らかではない。

APP 遺伝子は 21 番染色体長腕上にあり、21 トリソミーであるダウン症候群患者が AD を発症しやすいことから、FAD の原因遺伝子として検索が進められた。その結果、Val 717 Ile, Val 717 Phe, Val 717 Gly, Lys 670 Asn+Met

671 Leu の変異が見い出された(図 1)。いずれも $A\beta$ の近傍に位置しており、発見当初から $A\beta$ の生成過程に影響を及ぼすことが推定されていた。その後、培養細胞を用いた実験から、コドン 717 変異は $A\beta$ 1-42 の産生量を増加させ、コドン 670, 671 の二重変異は $A\beta$ の産生量を増加させることが示された。すなわち、APP の変異により $A\beta$ がアミロイドとして沈着しやすくなることが、FAD 発症の原因となるという考え方である。実際、Val 717 Phe あるいは Lys 670 Asn+Met 671 Leu 変異ヒト APP を発現させたトランスジェニックマウスで、9 カ月以後にアミロイドの沈着が起こることが示されている。とくに、後者では水迷路試験での学習・記憶能力の低下もみられている。

またコドン 717 変異は、G 蛋白活性化機構を介して培養後根神経細胞のアポトーシスを引き起こすという報告もある。

Ala 692 Gly と Glu 693 Gln の変異は $A\beta$ の内部に存在し、前者は脳出血と痴呆の合併、後者はオランダ型のアミロイドアンギオパチーを伴う遺伝性脳出血の原因となる。このことから $A\beta$ の内部の変異は脳出血を引き起こしやすいことが示唆される。

Presenilin

Presenilin 1 (PS 1) は早期発症型 FAD の連鎖解析から、presenilin 2 (PS 2) は Volga German の FAD 家系の連鎖解析からクローニングされた遺伝子で、それぞれ 14 番、1 番染色体上にある。PS 1 は 467 アミノ酸、PS 2 は 448 アミノ酸からなり、相同性が高くアミノ酸は 67% 一致しており、同一蛋白ファミリーに属するものと考えられる。PS は 7~8 回膜貫通蛋白と考えられ、生成後速やかに 25 kDa と 19 kDa の二つに切断され、小胞体あるいはゴルジ装置に局在するとされている。ヒトにおける PS の機能はまだ不明であるが、線虫の sel-12 とアミノ酸が 48% 一致し、sel-12 は線虫の PS 相同蛋白と考えられる。Sel-12 は線虫の notch ファミリー受容体である lin-12 のシグナル伝達に関与しており、PS 1 が Sel-12 の作用をもつことが示され、PS はシグナル伝達あるいは受容体の局在に関与している可能性がある。また線虫の精子形成においてゴルジ装置での蛋白輸送に関係する spe-4 と PS は 25% の相同性があり、PS が細胞内での APP を含めた蛋白の輸送に関与していることも考えられる。

FAD における PS 1 変異は 40 種類以上、PS 2 変異は 2 種類報告されている。FAD 患者の線維芽細胞、変異 PS 遺伝子を導入した培養細胞あるいはトランスジェニックマウスにおいて、 $A\beta$ 1-42 の産生量が増加していることが示され、PS 変異は $A\beta$ 1-42 の産生量を増加することにより AD 発症に関わっていると考えられる。PS と APP が相互作用するという報告があり、PS が APP の代謝に関与していることが示唆される。また、PS 2 が G 蛋白を介して PC 12 細胞のアポトーシスに関与しており、変異 PS 2 はアポトーシスを促進するという報告もあり、PS 変異が AD を引き起こす機構は多様なものと考えられる。

アポリポ蛋白 E

遅発型 FAD の解析において、19 番染色体のアポリポ蛋白遺伝子領域が注目され、アポリポ蛋白 E (ApoE) の ϵ 4 多型が発症の危険因子として見い出された。ApoE には ϵ 2, ϵ 3, ϵ 4 の三種類の多型が知られている。孤発 AD 例でも ϵ 4 の頻度が 2~3 倍多いことから、 ϵ 4 はすべての AD 発症の危険因子と考えられている。 ϵ 4 には量的効果があり、ヘテロで 3~4 倍、ホモで 7~20 倍ちかく AD 発症の確率が増し、発症年齢も早くなる。また病理学的にも、 ϵ 4 の量とアミロイドの沈着の間に相関がみられている。一方、 ϵ 2 は AD で頻度の少ないことから、AD 発症に対して抑制的に働く可能性が指摘されている。

ApoE は末梢では、肝臓で産生され VLDL として脂質の輸送に関与する。中枢神経系ではアストロサイトにより産生され、神経系の修復の際に増加する。AD との関連では、老人斑やアミロイドアンギオパチーとして沈着することが知られていた。ApoE- ϵ 4 が AD 発症を促進する機序について、ApoE 多型と $A\beta$ との関係が調べられた。ApoE は合成 $A\beta$ と結合するが、 ϵ 4 の方が ϵ 3 よりも親和性が高く、先に述べた $A\beta$ の凝集促進効果は ϵ 4 が一番強く、 ϵ

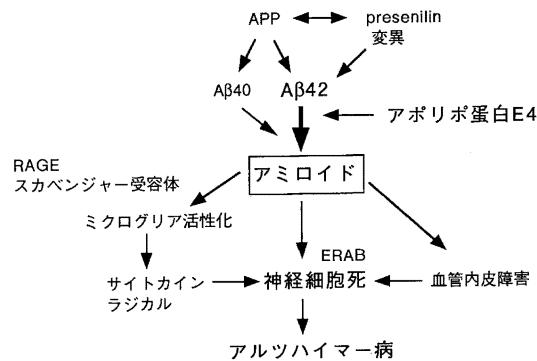


図 2 . アルツハイマー病におけるアミロイド β カスケード.

3, $\epsilon 2$ の順である. 最近, 脳に $A\beta$ が沈着する APP トランスジェニックマウスと ApoE 欠損マウスを交配することにより, 導入 APP 遺伝子が発現しているにもかかわらず ApoE がないと $A\beta$ が沈着しなくなることが報告され, in vivo で ApoE のアミロイド沈着促進効果が明らかにされた.

また ApoE はタウ蛋白と結合し, タウ蛋白のリン酸化および重合を阻害することにより神経原線維変化を抑制する可能性が示されている. この結合は $\epsilon 3$ の方が $\epsilon 4$ よりも強いことから, $\epsilon 4$ は AD 発症抑制効果が少ないという考え方もできる.

まとめと今後の展望

AD の病態を $A\beta$ を主体としたアミロイドカスケード説に沿って述べてきた (図 2).

APP から $A\beta$ が生成され, 細胞外でアミロイドとして沈着し, 直接的あるいはミクログリアを介して間接的に神経細胞死が起こる. APP や presenilin の遺伝子変異, ApoE- $\epsilon 4$ 多型はアミロイド沈着を促進する. ただこれらのみで AD の発症は規定されず, 病態解明には他の因子 (酸化ストレス, 女性ホルモン, 環境因子など) の検討が必要である.

現在, AD の治療薬としては, 脳内アセチルコリンの低下を改善する目的でアセチルコリンエステラーゼ阻害剤が開発されているが, 十分満足のいくものではない. $A\beta$ を産生する β -, γ -secretase の阻害剤, $A\beta$ の凝集や細胞毒性を抑制する薬剤, ミクログリアのサイトカインを抑制する抗炎症薬などの開発が, AD の発症・進行を抑止する治療法となることが期待される.

参 考 文 献

- 1) Hardy J: Amyloid, the presenilin and Alzheimer's disease. TINS 20 : 154-159, 1997
- 2) Lendon CL, Ashall L and Goate AM: Exploring the etiology of Alzheimer disease using molecular genetics. JAMA 277 : 825-831, 1997
- 3) Levy-Lahad E and Bird TD: Genetic factors in Alzheimer's disease: A review of recent advances. Ann Neurol 40 : 829-840, 1996
- 4) Yan SD, Fu J, Soto C, Chen X, Zhu H, Al-Mohanna F, Collison K, Zhu A, Stern E, Saido T, Tohyama M, Ogawa S, Roher A and Stern D: An intracellular protein that binds amyloid- β peptide and mediates neurotoxicity in Alzheimer's disease. Nature 389 : 689-695, 1997
- 5) Yankner BA: Mechanism of neuronal degeneration in Alzheimer's disease. Neuron 16 : 921-932, 1996