

---

---

# アルツハイマー病患者の 脳脊髄液は $\beta$ アミロイド 線維形成を促進する

Cerebrospinal fluid of Alzheimer patients promotes  
 $\beta$ -amyloid fibril formation in vitro

金沢大学大学院脳老化・神経病態学（神経内科）

小野 賢二郎\* 山田 正仁

---

---

はじめに

アルツハイマー病（AD）は、 $\beta$  アミロイド蛋白（A $\beta$ ）からなる老人斑とタウ蛋白からなる神経原線維性変化の出現を示す脳病理変化によって特徴づけられる進行性の認知症である<sup>1)</sup>。特に脳内におけるA $\beta$ の沈着がADの進行に重要な役割を果たすという説が現在のところ、有力である（アミロイドカスケード仮説）<sup>1) 2)</sup>。A $\beta$ は、細胞の正常な代謝産物で健常人の脳脊髄液や血漿からも検出されるが、今回、我々は、健常者脳においてなぜ、A $\beta$ 線維（fA $\beta$ ）が形成されないのかを明らかにする目的でAD患者とnon-AD患者の脳脊髄液がfA $\beta$ 形成に及ぼす影響を解析した<sup>3)</sup>。

## 1. 研究方法

pH 7.5、37°Cにおいて、AD患者40名、non-AD患者40名から得られた脳脊髄液がfA $\beta$  (1-40)およびfA $\beta$  (1-42)の形成に及ぼす影響を、チオフラビン T (ThT) を用いた分光蛍光定量法（励起波長445nm、蛍光波長490nm）、及びネガティブ染色後の電子顕微鏡観察等を用いて経時的に観測した。また、脳脊髄液中のA $\beta$  (1-42)、tau、総蛋白、IgG

値を測定し、fA $\beta$ 形成の最終平衡値との相関を調べた。

（倫理面への配慮）

本研究は金沢大学大学院医学系研究科倫理委員会の承認を得て行われた。また、AD患者及びnon-AD患者の脳脊髄液採取は本人、または家族から十分なインフォームドコンセントを書式にて得てから行われた。

## 2. 研究結果

図1に示すようにA $\beta$  (1-40)およびA $\beta$  (1-42)を37°Cでインキュベーションすると反応曲線は重合核依存性重合モデルに従う<sup>4) 5)</sup>。

AD患者群、non-AD患者群から得られた脳脊髄液はともにfA $\beta$  (1-40)およびfA $\beta$  (1-42)形成を抑制したが、non-AD患者群の方がAD患者群に比し有意に、強い抑制効果を示した（図1）<sup>3)</sup>。電子顕微鏡観察においてもAD患者群では多くの短い線維が観察されたが、non-AD患者群では線維はほとんど観察されず、無構造的な凝集体が観察された<sup>3)</sup>。また、AD患者群におけるfA $\beta$ 形成の最終平衡値は脳脊髄液中におけるA $\beta$  (1-42)レベルと有意

---

\* Kenjiro Ono, M.D., Ph.D.: Assistant Professor, Department of Neurology and Neurobiology of Aging, Kanazawa University Graduate School of Medical Science

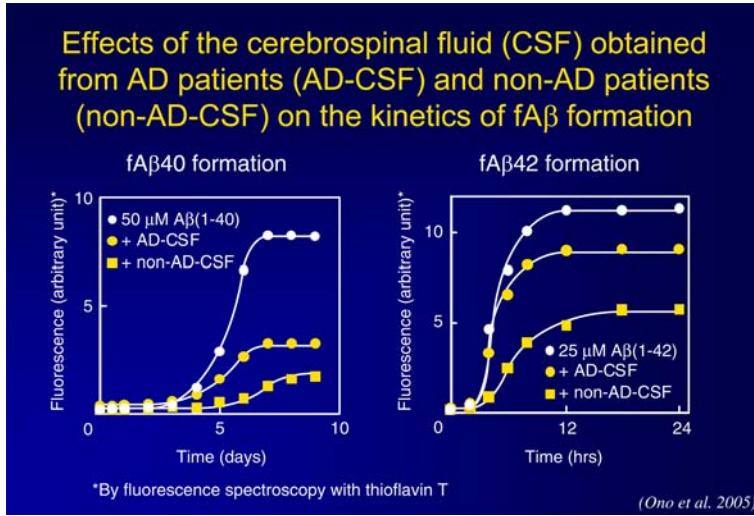


図1 AD患者群および non-AD患者群の脳脊髄液の fAβ(1-40)(A) および fAβ(1-42)(B) 形成に及ぼす影響

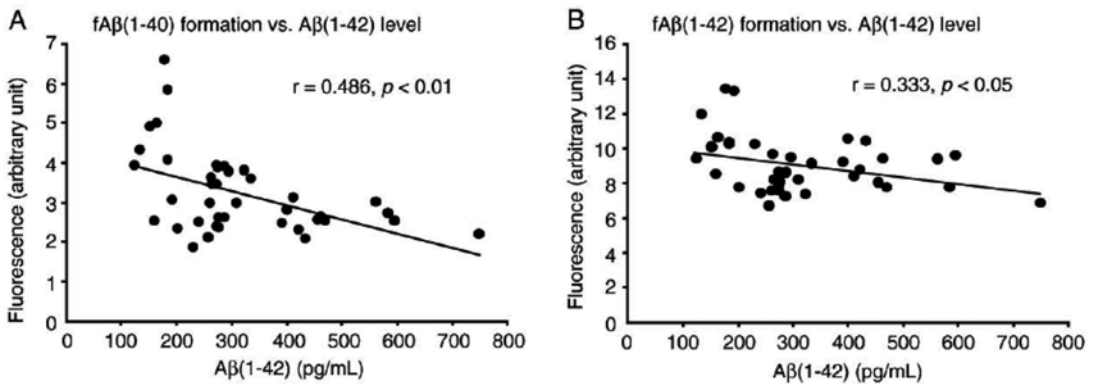


図2 AD患者群における fAβ(1-40)(A) および fAβ(1-42)(B) 形成の最終平衡値と脳脊髄液中の Aβ(1-42) レベルとの相関

な逆相関を示した一方で (図2)、tau、総蛋白、IgGレベルとは有意な相関を示さなかった<sup>3)</sup>。

### 3. 考察

今回の実験で我々は、AD患者40名と non-AD患者40名の脳脊髄液が fAβ 形成に及ぼす影響を解析した。Wisniewskiらは、AD患者5名と non-AD患者5名の脳脊髄液の影響を解析したところ、両群ともに抑制効果を示すが、両群に有意な差は見られなかったと報告している<sup>6)</sup>。ただ、彼らの研究は患者数が少なく、測定方法も予備的であったため、有意な差が認められなかった可能性がある。

これまでにアポリポ蛋白E (Apo E)、Apo J、α2マクログロブリン、トランスサイレチン、抗Aβ

抗体などの因子が fAβ 形成を抑制することが報告されている一方で<sup>7) 8) 9) 10) 11)</sup>、アンチキモトリプシンやApoEなどの因子が fAβ 形成を促進することが報告されている<sup>12)</sup>。よって、脳脊髄液中のこれらの抑制因子や促進因子の総バランスによって fAβ 形成への抑制効果が規定されている可能性がある。

また、AD患者群における fAβ 形成の最終平衡値が脳脊髄液中の Aβ(1-42) レベルと有意な逆相関を示したが、このことから脳内の Aβ 凝集に伴う Aβ 消費と平行して脳脊髄液中的の特異的な抑制因子もトラップされている可能性があると考えた。

## 結語

今回の我々の結果から、AD脳における  $\text{fA}\beta$  沈着は脳脊髄液中の特異的な因子の増減によって反映されている可能性があると考えられ、アミロイドカスケード仮説を支持する結果としても着目される。現在、脳脊髄液中の特異的な因子の同定のための解析を行っている。

## 文献

- 1) Selkoe DJ: Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* 81: 741-766, 2001.
- 2) Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, et al: The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 325: 733-736, 1987.
- 3) Ono K, Noguchi M, Matsumoto Y, et al: Cerebrospinal fluid Alzheimer patients promotes beta-amyloid fibril formation in vitro. *Neurobiol Dis* 20: 233-240, 2005.
- 4) Lomakin A, Teplow DB, Kirschner DA, et al: Kinetic theory of fibrillogenesis of amyloid beta-protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 7942-7947, 1997.
- 5) Naiki H, Gejyo F. Kinetic analysis of amyloid fibril formation. *Methods Enzymol* 309: 305-318, 1999.
- 6) Wisniewski T, Castano E, Ghiso J, et al: Cerebrospinal fluid inhibits Alzheimer beta-amyloid fibril formation in vitro. *Ann Neurol* 34: 631-633, 1993.
- 7) Calero M, Rostagno A, Matsubara E, et al: Apolipoprotein J (clusterin) and Alzheimer's disease. *Microsc Res Tech* 50: 305-15, 2000.
- 8) Du Y, Bales KR, Dodel RC, et al: Alpha2-macroglobulin attenuates beta-amyloid peptide 1-40 fibril formation and associated neurotoxicity of cultured fetal rat cortical neurons. *J Neurochem* 70: 1182-1188, 1998.
- 9) Du Y, Wei X, Dodel R, et al: Human anti-beta-amyloid antibodies block beta-amyloid fibril formation and prevent beta-amyloid-induced neurotoxicity. *Brain* 126: 1935-1939, 2003.
- 10) Naiki H, Hasegawa K, Yamaguchi I, et al: Apolipoprotein E and antioxidants have different mechanisms of inhibiting Alzheimer's beta-amyloid fibril formation in vitro. *Biochemistry* 37: 17882-17889, 1998.
- 11) Schwarzman AL, Gregori L, Vitek MP, et al: Transthyretin sequesters amyloid beta protein and prevents amyloid formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91: 8368-8372, 1994.
- 12) Ma J, Yee A, Brewer HB Jr, et al: Amyloid-associated proteins alpha 1-antichymotrypsin and apolipoprotein E promote assembly of Alzheimer beta-protein into filaments. *Nature* 372: 92-94, 1994.

この論文は、平成18年10月14日(土) 第16回中部老年期痴呆研究会で発表された内容です。