

---

---

# アルツハイマー病研究の進歩 —特に脂質代謝と関連して

## Progress in the Alzheimer disease research — From the aspect of lipid metabolism —

独立行政法人国立長寿医療研究センターアルツハイマー病研究部／部長

道川 誠\*

---

---

### はじめに

1993年にアポリポ蛋白 E (ApoE) の対立遺伝子  $\epsilon 4$  が晩発性家族性アルツハイマー病で著しく高いことが報告され、さらにこの傾向は孤発型アルツハイマー病でも確認された。また、その後の研究から、 $\epsilon 4$  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 ( $\epsilon 4$  アリル数依存性)、ApoE  $\epsilon 4$  遺伝子と脳内 A $\beta$  沈着量の増加には正の相関があることが明らかにされ、ApoE  $\epsilon 4$  の危険因子の意義として A $\beta$  沈着との関連が強く示唆されている。しかし、ApoE の産生や機能調節を標的とした治療法の開発には至っていない。ApoE を標的にした予防・治療法の開発には、その構造ならびに構造に関連した機能解析が必要である。ApoE は 299 のアミノ酸から成る 34kDa の蛋白質であり、ApoE2, ApoE3, ApoE4 の主要な 3 つのアイソフォームが存在するが、これらはそれぞれ 3 つの対立遺伝子  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$ ,  $\epsilon 4$  の遺伝子産物である。ApoE2, ApoE3, ApoE4 のアイソフォームの違いは、112 番目と 158 番目のアミノ酸が 1 つずつ異なることによって生じる。ApoE3 は 112 番目がシステインで 158 番目がアルギニンであるが、ApoE2 は両方ともシステインであり、ApoE4 は両方ともアルギニンである。このアミノ酸 1 つの違いが、ApoE の構造の違いを生じさせその結果 ApoE の機能の違いを生んでいると考えられていることから、構造と機能を明らかにし、それらを調節・制御する標的を攻略することによって予防・治療法を確立できる可能性がある。

### I. ApoE の構造と機能

ApoE のアイソフォーム特異性をささえる分子メカニズムについて、1 つのアミノ酸の違いが分子内構造ならびに分子間相互作用に影響し、それが ApoE アイソフォーム特異的作用を決定していると考えられる。

#### (i) ApoE4 ドメイン相互作用 (分子内相互作用) 仮説

ApoE4 は二つの構造的ドメインを持つ。すなわち 22-kDa の N 末端側ドメイン (アミノ酸残基 1-191) と 10-kDa の C 末端側ドメインである。N 末端側ドメインは LDL 受容体結合領域を含み、C 末端側ドメインは脂質結合領域を含む。構造解析から、ApoE4 の N 末端側ドメインに存在する 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 末端側ドメインに存在する 255 番目のグルタミン酸と salt bridge を形成してコンパクトな 3 次構造を作ることが知られている。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<sup>1)</sup>。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<sup>1)</sup>、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。

#### (ii) ApoE 分子間相互作用

ApoE2, ApoE3, および ApoE4 はそれぞれ 2, 1, および 0 個のシステインを持っているため、ApoE2 お

---

\* Makoto Michikawa: Department Head, Department of Alzheimer's Disease Research, National Center for Geriatrics and Gerontology

よび ApoE3 は、disulfide 結合によってホモあるいはヘテロ 2 量体を形成しうる。実際、ApoE 間による disulfide 結合によって血漿中の ApoE3 の約 55% は 2 量体として存在することが確認されている<sup>2)</sup>。ApoE3 分子間の 2 量体形成は構造上も大きな違いを生むため ApoE 機能を左右すると考えられる。システイン 112 は N 末端側ドメインに存在するが、2 量体を形成した ApoE は N 末端のみならず C 末端側ドメイン機能である受容体結合効率や脂質との結合効率などに影響を及ぼすと考えられる。実際に 2 量体を形成した ApoE3 は、単体に比べて HDL への結合親和性が有意に増加する。我々も、ApoE3 における 2 量体形成が ApoE3 による HDL 産生能に関与することを確認している<sup>3-5)</sup>。

## II. 脳内コレステロール代謝と ApoE

### (i) 脳内コレステロール代謝の特異性

中枢神経系でのコレステロールの持つ意義について特筆すべきは、脳を構成する脂質量の多さと神経系細胞構造の特異性がある。特に、神経突起の伸長やシナプス形成では、細胞体からのコレステロール供給(輸送)ではなく、末端局所での HDL を介するコレステロール供給の果たす役割が大きい<sup>6)</sup>ことが分かっている。脳内コレステロール代謝を議論する際に注意すべきことは、体循環系と脳内との間には血液脳関門が存在するために、脳内には体循環系とはその制御が異なった独自のコレステロール代謝系が存在する点である。例えば、血液中には LDL, VLDL, IDL, HDL, カイロミクロンなどのリポ蛋白が存在し、血液中でそれぞれが運搬・代謝されているが、中枢神経系(脳積髄液中)には HDL 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蛋白が脳内に入れないことを示している

### (ii) ApoE の HDL 産生におけるアイソフォーム依存性

脳内コレステロール代謝を制御する主要な因子の一つが ApoE であり、ApoE が産生する HDL は ApoE 受容体を介して細胞に取り込まれ再利用される。この HDL 産生作用が ApoE3 と ApoE4 では大きく異なり、ApoE3 は効率よく HDL を産生するが、ApoE4 はその作用が弱く ApoE3 に比べて半分以下の能力しかないこと、その分子機構は ApoE の分子間ならびに分子内の相互作用による構造の違いによって説明できることを私たちは明らかにした<sup>3,4)</sup>。

## III. アルツハイマー病病理と ApoE

### (i) Aβ 沈着と ApoE

脳内 Aβ 濃度の上昇や Aβ 沈着がアルツハイマー病病態の中心的な役割を果たすと考えられている(アミロイドカスケード仮説)。ApoE は、Aβ の輸送や代謝にある役割を果たしていると考えられている。例えば、lipid-poor あるいは lipid-free な ApoE4 は、LRP1 や ApoER2 を介した APP の endocytosis を増加させることによって Aβ 産生を増加させると報告されている<sup>7)</sup>。しかし、他方では APP 代謝にたいする ApoE のアイソフォーム特異性はないとされる。また、Aβ 産生についての効果は確定していないが、Aβ の除去作用にはいくつかの分子機構によって深く関わっていると考えられている。Aβ の沈着が始まる前の若い APP トランスジェニックマウスでは、ApoE 欠損によって可用性 Aβ レベルが上昇することが示されている。また、脂質と結合した ApoE と遊離した ApoE では Aβ との結合結果が異なることが明らかにされた。生理的条件下では ApoE は主に HDL 粒子と結合して存在するが、こうした ApoE は Aβ に対して ApoE3 が ApoE4 の 20 倍以上の結合親和性を示すことが示された。これらの結果は、ApoE3 は Aβ により強く結合して脂質複合体を作るために HDL 取り込みを介して Aβ を除去し、毒性の強い Aβ 重合体形成を防いでいることを示唆している。

### (ii) Aβ 除去・分解と ApoE

最近、ApoE を含むリポ蛋白粒子が、Aβ と結合し受容体を介して細胞内への取り込みを調節している可能性が明らかにされている。ApoE は脳内の Aβ 細胞内分解および細胞外分解を制御することが示され、しかもこの機能にアイソフォーム特異性があることが報告された。それによると、ApoE (特に脂質との複合体を形成した ApoE、これは HDL-ApoE のこと)が Aβ の細胞内ならびに細胞外分解を促進すること(作用の強さは ApoE2>ApoE3>ApoE4 の順である)、HDL 産生を増強させる ABCA1 発現を増強させる LXR アゴニストを投与すると脳内 Aβ 沈着が減少し、記憶障害が改善することなどが、培養細胞ならびにモデルマウスを用いて明らかにされている。すなわち、ApoE-HDL を増加させる鍵分子である ABCA1 発現を上昇させると脳内 Aβ 沈着が減少するという報告がある<sup>8)</sup>。これとは逆に、ABCA1 ノックアウトマウスでは脳内 Aβ 沈着増加とする論文も複数発表されており、ApoE-HDL 産生が脳内 Aβ 沈着を左右することが示されている。最近、アルツハイマー病患者を両親に持つヒトの血漿中の ApoE レベル

は、両親に患者を持たないヒトに比べて ApoE 遺伝子型に関係なく低下すること、低下しているレベルの中でも ApoE  $\epsilon 2 > \epsilon 3 > \epsilon 4$  の遺伝子型による違いがあったとされる<sup>9)</sup>。これが直ちに脳内 ApoE レベルでも同様の違いがあるかどうかは、今後の検討を待つ必要があるが、脳内 HDL 量の低下を示唆するデータであり、ApoE-HDL を増やすことの重要性を示唆しているかもしれない。

### (iii) 血液脳関門と ApoE

また、ApoE 受容体によって内皮細胞に取り込まれた A $\beta$  は、血液脳関門を介して体循環系へ排出を担うことも示されている<sup>10)</sup>。こうした ApoE による A $\beta$  取り込みとその細胞内取り込み作用という脳内での ApoE 作用の他に、アルツハイマー病では血液脳関門の機能不全が起こっていること、ApoE 欠損マウスでは血液脳関門の透過性が上昇していること、などが示されており、血液脳関門形成や機能維持に ApoE が深く関わっている可能性がある<sup>10)</sup>ことから、脳内 A $\beta$  の clearance の観点では脳内 ApoE-A $\beta$  複合体の細胞内取り込みから搬出の経路には、血液脳関門の機能不全も関わる可能性があるだろう。我々は最近、内皮細胞、周皮細胞、アストロサイトの3種類の培養細胞からなる BBB モデルを確立し、ApoE3, ApoE4 の違いによる BBB 形成を tight junction 形成による電気抵抗値上昇を指標として評価した。その結果、ApoE4 型アストロサイトの培養系では ApoE3 に比して抵抗値は低値であった。また in vivo における BBB 透過性をエバンスブルー法により行ったところ、ApoE4 型マウスでは BBB 透過性の亢進が認められた。以上から、ApoE4 型脳では、BBB の機能障害(脆弱性)があることが示され、これが A $\beta$  搬出低下などと関連して AD 発症を早めている可能性がある<sup>11)</sup>。また、脳内に存在するがその機能は不明であったりポタンパクリパーゼが、新規の A $\beta$  結合分子であり、A $\beta$  の細胞内取り込みとその後の分解を促進することを発見した<sup>12)</sup>。この LPL によって促進する A $\beta$  の取り込みと分解は、ApoE の存在に依存しないことを見出した。すなわち apoE-HDL 依存と非依存の機序で細胞外 A $\beta$  は分解除去されることを示した。また、これらのことから LPL の代謝調節は治療標的になり得ると考えられる。

### 文 献

1) Dong, L.M., and Weisgraber, K.H. 1996. Human apolipoprotein E4 domain interaction. Arginine 61 and glutamic acid 255 interact to direct the

preference for very low density lipoproteins. *J Biol Chem* 271:19053-19057.

- 2) Weisgraber, K.H., and Shinto, L.H. 1991. Identification of the disulfide-linked homodimer of apolipoprotein E3 in plasma. Impact on receptor binding activity. *J Biol Chem* 266:12029-12034.
- 3) Gong, J.S., Kobayashi, M., Hayashi, H., Zou, K., Sawamura, N., Fujita, S.C., Yanagisawa, K., and Michikawa, M. 2002. Apolipoprotein E (ApoE) isoform-dependent lipid release from astrocytes prepared from human ApoE3 and ApoE4 knock-in mice. *J Biol Chem* 277:29919-29926.
- 4) Minagawa, H., Gong, J.S., Jung, C.G., Watanabe, A., Lund-Katz, S., Phillips, M.C., Saito, H., and Michikawa, M. 2009. Mechanism underlying apolipoprotein E (ApoE) isoform-dependent lipid efflux from neural cells in culture. *J Neurosci Res* 87:2498-2508.
- 5) Minagawa, H., Watanabe, A., Akatsu, H., Adachi, K., Ohtsuka, C., Terayama, Y., Hosono, T., Takahashi, S., Wakita, H., Jung, C.G., et al. 2010. Homocysteine, another risk factor for Alzheimer disease, impairs apolipoprotein E3 function. *J Biol Chem* 285:38382-38388.
- 6) Hayashi, H., Campenot, R.B., Vance, D.E., and Vance, J.E. 2004. Glial lipoproteins stimulate axon growth of central nervous system neurons in compartmented cultures. *J Biol Chem* 279:14009-14015.
- 7) He, X., Cooley, K., Chung, C.H., Dashti, N., and Tang, J. 2007. Apolipoprotein receptor 2 and X11 alpha/beta mediate apolipoprotein E-induced endocytosis of amyloid-beta precursor protein and beta-secretase, leading to amyloid-beta production. *J Neurosci* 27:4052-4060.
- 8) Wahrle, S.E., Jiang, H., Parsadanian, M., Kim, J., Li, A., Knoten, A., Jain, S., Hirsch-Reinshagen, V., Wellington, C.L., Bales, K.R., et al. 2008. Overexpression of ABCA1 reduces amyloid deposition in the PDAPP mouse model of Alzheimer disease. *J Clin Invest* 118:671-682.
- 9) van Vliet, P., Oleksik, A.M., Mooijaart, S.P., de Craen, A.J., and Westendorp, R.G. 2009. APOE genotype modulates the effect of serum calcium levels on cognitive function in old age. *Neurology* 72:821-828.

- 10) Deane, R., Sagare, A., Hamm, K., Parisi, M., Lane, S., Finn, M.B., Holtzman, D.M., and Zlokovic, B.V. 2008. apoE isoform-specific disruption of amyloid beta peptide clearance from mouse brain. *J Clin Invest* 118:4002-4013.
- 11) Nishitsuji, K., Hosono, T., Nakamura, T., Bu, G., and Michikawa, M. 2011. Apolipoprotein E regulates the integrity of tight junctions in an isoform-dependent manner in an in vitro blood-brain barrier model. *J Biol Chem* 286:17536-17542.
- 12) Nishitsuji, K., Hosono, T., Uchimura, K., and Michikawa, M. 2011. Lipoprotein lipase is a novel amyloid beta (Abeta)-binding protein that promotes glycosaminoglycan-dependent cellular uptake of Abeta in astrocytes. *J Biol Chem* 286:6393-6401.

この論文は、平成 23 年 11 月 26 日（土）第 19 回  
東北老年期認知症研究会で発表された内容です。