

けども、その割には初歩的な質問なんですけど、要するに neuronal loss というのが、やはり一番のアルツハイマーの病変だと思うんですね。そうすると NFT というのがニューロンの中に出てきますから、非常に密接に関係があるということは素直に分かるんですけども、長岡の花火みたいに senile plaque が出てても、なんとなくニューロンと少し離れた位置に出ている気がして、なんでこれが Neuronal loss と、こんなに密接に関係してくるのか、いまひとつ分からないのです。何か病理学的に Neuronal loss と senile plaque との correlation, あるいは、死んでゆく細胞というのは、全部 NFT が出てきて死んでゆくのか、そういうことについてコメ

ントがいただければと思います。

高橋 私の印象で物を言っても仕方ない御質問だと思うので、文献的に知っているところを少し加えさせていただきます。senile plaque のかなりそばにニューロンがあつて primary な変化はニューロンからだと言っている説はあります。ですから senile plaque が neuronal loss と関係がないとは言えないと思います。NFT についても“死んでいく神経細胞は必ず NFT 形成を経る”と考えている先生は多くおられます。しかし、まだこのことは実証されてはいないと思います。

司会 また後ディスカッションになると思います。ありがとうございました。では柳澤先生、お願いします。

### 3) アルツハイマー病研究の動向

新潟大学脳研究所神経内科学教室（主任：宮武 正教授）

（現：東京医科歯科大学医学部神経内科）

柳 澤 勝 彦

#### Recent Advances in The Research of Alzheimer's Disease

Katsuhiko YANAGISAWA

*Department of Neurology, Brain Research Institute,  
Niigata University*

*(present: Department of Neurology, School of Medicine,  
Tokyo Medical and Dental University)*

Pathological hallmarks of Alzheimer's disease (AD) are neuritic plaques and neurofibrillary tangles (NFT). Biochemical studies on AD have been based on these pathological features. The amyloid fibrils in plaques consist of polymers of a 4 kDa protein subunit,  $\beta$ -protein. The  $\beta$ -protein is a cleaved product from a precursor protein (APP). Neither the cellular origin of the amyloid nor the mechanism of amyloid accumulation is understood.

Involvement of fetal type phosphorylation and fetal type cytoskeletal protein in the formation of paired helical filament, component of NFT, is another important aspect, suggesting that there is some regenerating process in AD brains.

Recently lack of growth inhibitory activity was found in AD brains. This biochemical finding may be important to unravel the mechanism of regenerating process in AD brains.

Reprint request: Katsuhiko YANAGISAWA  
Department of Neurology,  
Tokyo Medical and Dental University  
1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113.

別刷請求先：〒113 東京都文京区湯島1-5-45  
東京医科歯科大学神経内科 柳澤勝彦

Altered protein kinase was found in AD brains. The abnormality in phosphorylation may be related to the expression of some biochemical characteristics like amyloid accumulation or PHF formation.

The research on AD has been also advanced with molecular genetics. Very recently Hardy and his colleague found point mutation in APP gene. The pathological significance of this mutation will be elucidated in the near future.

Key words: Alzheimer's disease,  $\beta$ -protein, tau-protein protein kinase C, neurotrophic factor

アルツハイマー病,  $\beta$ -蛋白, タウ蛋白, プロテインキナーゼC, 神経栄養因子

アルツハイマー病は、病理学的に神経細胞の変性・消失以外に老人斑、神経原線維変化、アミロイドアンギオパシーなど特徴ある所見を呈しており、これまでのアルツハイマー病研究の多くはそれらの病理学的知見を出発点として、おもに生化学的方法を用いて展開してきたといえる。一方、アルツハイマー病の一部は家族性に生じることなど、アルツハイマー病発症には何等かの遺伝的負因のあることが次第に明らかになり、近年の分子遺伝学的研究方法の目ざましい発展とも相まって、遺伝子レベルからのアプローチも最近のアルツハイマー病研究の大きな流れを成している。

本稿においては、ここ数年急速な勢いで展開しているアルツハイマー病研究の流れを概説してみたい。

### 1) $\beta$ -蛋白

アルツハイマー病大脳皮質に出現する直径 50~200  $\mu$ m の斑状構造物である老人斑は、中心にアミロイド (amyloid core), 周囲に腫脹した嗜銀性の変性神経突起, 反応性グリア細胞を認める。アミロイドは後述の  $\beta$  蛋白を主成分とすることが明らかにされた。

1984 年, Glenner はアルツハイマー病患者脳の髄膜血管アミロイドから分子量 4.2KD の蛋白 ( $\beta$ -蛋白) を精製し, そのアミノ酸配列を決定した<sup>1)</sup>。この研究はその後の本疾患をめぐる生化学的, 分子遺伝学的研究の端緒となったといえる。1987 年, Kang らは  $\beta$ -蛋白のアミノ酸配列をもとに cDNA クローニングを行い, その結果,  $\beta$ -蛋白はアミノ酸 695 個からなる前駆体 (amyloid protein precursor, APP) から生じること, APP は細胞膜受容体蛋白類似の糖蛋白であることを明かにした<sup>2)</sup> (図 1)。さらに Kitaguchi らにより APP には APP-695 のほかに, Kunitz-type のプロテアーゼインヒビタードメインを有するものがほかに 2 種類 (APP-750, APP-771) 存在することが判明した<sup>3)4)5)</sup>。これまでの研究では APP-695 は神経系に選択的に発現され, プロテアーゼ

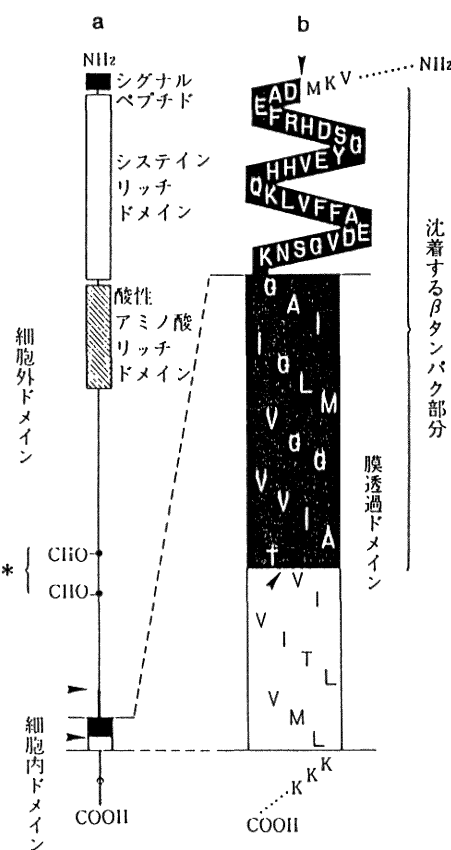


図 1 アミロイド前駆体蛋白の構造

a. 全体構造

b. 膜貫通ドメイン付近の拡大図

黒色部分は脳に沈着する  $\beta$ -蛋白を示す (北口ら, 1989 より引用)

インヒビタードメインを有する APP は腎などの全身臓器にひろく発現されていると理解されている<sup>3)</sup>。APP の一部のみがどのような機序で蓄積するのか, またアル

ツハイマー病脳において APP のどのタイプが $\beta$ -蛋白の沈着と関係しているのかは現在までのところまだ明かにされていない。

APP ないしは $\beta$ -蛋白の生物学的役割に関しては、神経細胞に対する trophic な作用<sup>6)</sup>と toxic な作用<sup>7)</sup>の両者が報告されているが、脳内における生理作用に関しては明かではない。プロテアーゼインヒビタードメインを有する APP の soluble form はプロテアーゼインヒビターの一種である protease nexin II であることが sequence homology の解析から明らかとなり<sup>8)9)</sup>、何等かの神経栄養因子活性をもっていると考えられる。 $\beta$ -蛋白の起源については、従来より血液由来説、神経細胞由来説、グリア細胞由来説がある。最近、Selkoe らは $\beta$ -蛋白に対する特異的な抗体を用いて、アルツハイマー病患者の皮膚および腸管に $\beta$ -蛋白の沈着を確認し、脳内のアミロイドも血液により運ばれた前駆体が脳において代謝をうけ蓄積したとする考えを示した<sup>10)</sup>。しかし、アルツハイマー病をそのような考えかたで全身疾患と結論するにはまだ多くの検討が必要であろう。

近年の分子遺伝学の発展は APP 遺伝子に関する我々の知識を大きく広げたといえる。これまでの研究から APP 遺伝子は第21番染色体上に局在すること、APP 遺伝子のプロモーターには heat shock consensus sequence および AP-1 結合部位が確認され、種々の外的因子により発現調節を受けている可能性が示唆されている<sup>11)</sup>。APP 発現調節の研究も $\beta$ -蛋白の起源の問題と同様に今後の重要な研究課題と考えられる。

脳脊髄液中には C 末端が切断された APP が存在することが明かにされている。APP 切断の部位は、いわゆる secretase によって $\beta$ -蛋白の sequence の中であることから、アルツハイマー病脳においては正常の processing が起きず、 $\beta$ -蛋白の N 端で切断され、 $\beta$ -蛋白を細胞質膜側に残しているものと考えられる。脳脊髄液中の APP 分解産物の解析は、異常な APP processing を経時的に評価しうる可能性を含んでおり、臨床的にも重要な研究課題と考えられる。

## 2. タウ蛋白

アルツハイマー病脳の病理学的所見の中で、老人斑とともに重要なものに神経原線維変化 (NFT) がある。NFT は 2 本の直径 10 nm の filament が 80 nm 周期にねじれた構造からなる paired herical filament (PHF) である。PHF は細胞骨格蛋白のひとつであるタウ蛋白を主成分としている。タウ蛋白は PHF のなかにおいて、異常な胎児型のリン酸化をうけていることが明かに

されたが、リン酸化酵素の実体は不明である。さらに PHF の構成要素として他の胎児型細胞骨格蛋白である MAP-5 が含まれることが明かにされた。

胎児型リン酸化、胎児型細胞骨格蛋白発現の意義は不明であるが、病理学的にもアルツハイマー病脳において curly fiber など神経突起の増生を認める。“再生は初期発生を繰り返す”という考えにたてば、上記“胎児型”の意味は、アルツハイマー病脳における何等かの再生過程の反映と考えられる。

NFT はアルツハイマー病以外の神経変性疾患脳においても認められる非特異的な変化であるが、これまでの研究から NFT は唯一ヒト脳においてのみ認められており、人類に特異な痴呆性疾患を解明する上では重要であると思われる。

## 3. 神経栄養因子

古くからアルツハイマー病における神経細胞の萎縮・消失の原因として、神経栄養因子の欠如の可能性が考えられていた。代表的な神経栄養因子である Nerve growth factor (NGF) については多くの研究があるが、現在までのところ NGF の低下ないしはその受容体の異常を本疾患の直接の原因とするだけの研究結果は得られていない。しかし、NGF は神経系のなかでアルツハイマー病において最も強く障害され、しかも記憶や学習など高次な脳機能との関連が深いコリン作動性神経細胞の生存、維持に不可欠と考えられ、AD 脳におけるこれらの神経細胞の変性メカニズム研究するうえで重要な因子である。

最近、Uchida らは、アルツハイマー病患者脳抽出液の中に神経細胞に対する強い栄養因子活性のあることを報告した<sup>12)</sup>。その後の彼女らの研究により、さきに認められた栄養因子活性の上昇は、栄養因子に対する阻害因子 (神経成長抑制因子, GIF) の欠如によることが明らかにされている<sup>13)</sup>。アルツハイマー病脳内における異常な栄養因子活性は、形態学的に認められる樹状突起からの sprouting や curly fiber と呼ばれる異常な神経突起の出現を説明するのに都合がよい。GIF の欠如が神経細胞の異常な sprouting が引き起こされ、神経細胞の疲弊をもたらす細胞死に至るとする考えを彼女たちは提唱している。

神経栄養因子としては、これ以外にもグリア細胞由来の栄養因子やサイトカインなど数多くの因子が報告されており、今後はそれらの生物学的意義およびアルツハイマー病脳における役割についても解明が進むものと期待される。

#### 4. リン酸化異常

アルツハイマー病脳におけるリン酸化異常に関しては PHF 内タウ蛋白が胎児型のリン酸化を受けていることについてはすでに述べた。一方、リン酸化酵素自体の変化については 1988 年、Cole らは AD 脳中の protein kinase C の活性低下を報告した<sup>14)</sup> (図 2)。彼らはさらに PKC の細胞内分布の詳細な解析から、AD 脳においては、細胞質膜分画内 PKC 活性が特異的に低下していることを報告した。PKC の細胞内局在が変化していることの理由は不明であるが、動物実験において記憶・学習させた動物の海馬において、PKC は細胞内の分布を変えることが最近示され<sup>15)</sup>、AD 脳における PKC 分布の異常が記憶障害と何等かの関連を有していることが想像される。

さらに Huynh らは、AD 患者皮膚線維芽細胞においても PKC 活性の異常を報告しており、何等かの全身的要因によって PKC 活性が調節をうけている可能性が考えられる<sup>16)</sup>。

さて、AD 脳は病理学的には老人斑と神経原線維変化を特徴としている。リン酸化異常が AD の病態において一時的意義をもっているとした場合、これらの病理学的所見とどのような関連を有しているのだろうか。

神経原線維変化に関しては、その主要な構成要素のタウ蛋白の異常なリン酸化が PHF 形成の初期において重要であると考えられる。老人斑形成との関わりはどう

であろうか。昨年、Buxbaum らは培養細胞を用いた実験から APP はリン酸化をうけ、その processing が修飾されることを報告した<sup>17)</sup>。即ち、リン酸化された APP はより活発な turnover をうけ代謝される。老人斑形成における重要な因子のひとつは、APP の processing がどのようなメカニズムによって障害を受け、APP の一部の $\beta$ -蛋白が分解を受けずに蓄積するかである。PKC の異常は、APP processing を修飾し得る因子のひとつとして、今後重要な研究課題と考えられる。

#### 5. 分子遺伝学的アプローチ

アルツハイマー病の一部は家族性に発症すること、第 21 番染色体のトリソミーであるダウン症候群は中年以降においてアルツハイマー病と同一の病理像を呈し、その発症率は FAD の家系内で高いこと<sup>18)</sup> などから、少なくともアルツハイマー病の一部はその発症になんらかの遺伝的負因をもっていると考えられる。

FAD は常染色体優性遺伝であり、St George Hyslop らにより FAD 遺伝子座 (FAD locus) は第 21 番染色体の DNA マーカーの D21S16 および D21S1/D21S11 と連鎖することが報告された<sup>19)</sup>。FAD locus に関しては第 21 番染色体との関連を否定する論文も発表され<sup>20)</sup>、現在のところ、発症年齢から early-onset と late-onset とに分けられる 2 種類の FAD は分子遺伝学的には異なると考えられている。

APP 遺伝子も第 21 番染色体上に局在することが明らかとなり、当初 FAD との関連が期待されたが、FAD locus との直接の関係は一度否定された。しかし最近になって、英国の Hardy のグループは FAD の一部の家系において APP の点突然変異を確認した<sup>21)</sup>。APP 遺伝子異常のみによってアルツハイマー病の臨床像ならびに病理像が引き起こされることが示された意義は大きく、今後は分子遺伝学的手法を用いて、変異遺伝子を導入した細胞や動物を用いて、APP 遺伝子異常がもたらす APP processing への影響および AD 脳における他の病変形成について詳細に検討されるものと思われる。

#### おわりに

遺伝学的に多様な FAD や、孤発例のなかでも発症年齢の異なるアルツハイマー病 (狭義) やアルツハイマー型老年痴呆が臨床的に類似した痴呆症状を呈し、病理学的には均一な像を呈することにはどのような意味があるのだろうか。

アルツハイマー病 (広義) は病因論的には多様でありながら、病態生理学的に共通のカスケードを有しており、

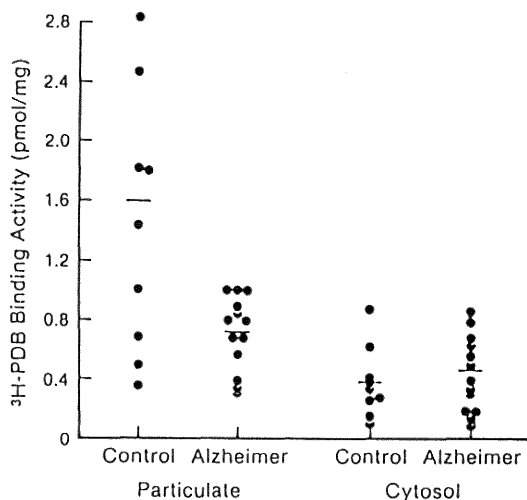


図 2 アルツハイマー病脳内 PROTEIN KINASE C の量的変動 (Cole ら, 1988 より引用)

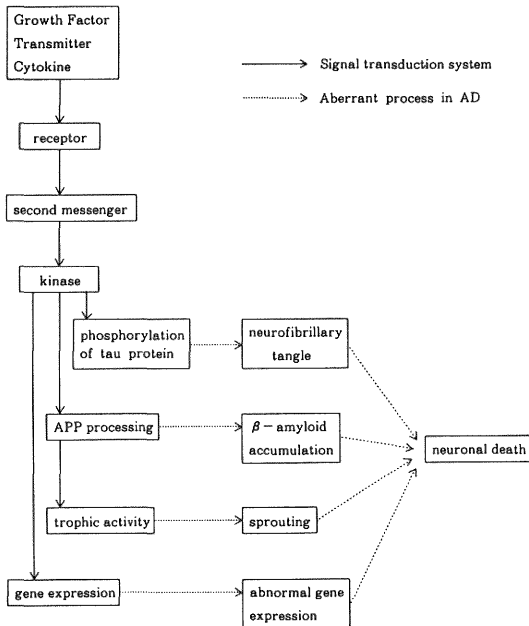


図 3 アルツハイマー病の発症機構の想定図

最終病理像としてこれまで紹介してきた所見に至るのではないだろうか。

図 3 は神経細胞におけるシグナルトランスダクション系を縦軸にとり AD 発症機構（想定）を簡略化して示したものである。AD が図に示したような神経細胞に特異な系に生じた遺伝的ないしは後天的異常であるとした場合、臨床的に一次的異常を補正することが仮に不可能であるとしても、そのカスケードの一部を操作することで病変の進行を鈍化させることが可能ではないだろうか。

## 謝 辞

ご校閲頂いた、宮武 正教授に深謝致します。

## 参 考 文 献

- 1) Glenner, G. and Wong, C.: Alzheimer's disease: Initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun*, **120**: 885~890, 1984.
- 2) Kang, J., Lemaire, H-G., Unterbeck, A., et al.: The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell surface
- 3) Ponte, P., Gonzalez-DeWhitt, P., Schilling, J., et al.: A new A4 amyloid mRNA contains a domain homologous to serine proteinase inhibitors. *Nature*, **331**: 525~527, 1988.
- 4) Tanzi, R., McClatchey, A., Lamperti, E., et al.: Protease inhibitor domain encoded by an amyloid protein precursor mRNA associated with Alzheimer's disease. *Nature*, **331**: 528~530, 1988.
- 5) Kitaguchi, N., Takahashi, Y., Tokusima, Y., et al.: Novel precursor of Alzheimer's disease amyloid protein shows protease inhibitory activity. *Nature*, **331**: 530~532, 1988.
- 6) Whitson, J., Selkoe, D. and Cotman, C.: Amyloid protein enhances the survival of hippocampal neurons in vitro. *Science*, **243**: 1488~1490, 1989.
- 7) Yankner, B., Dawes, L., Fisher, S., et al.: Neurotoxicity of a fragment of the amyloid precursor associated with Alzheimer's disease. *Science*, **245**: 417~420, 1989.
- 8) Oltersdorf, T., Fritz, L., Schenk, D., et al.: The secreted form of the Alzheimer's amyloid precursor protein with the Kunitz domain is protease nexin-II. *Nature*, **341**: 144~147, 1989.
- 9) Van Nostrand W., Wagner, S., Suzuki, M., et al.: Protease nexin-II, a potent antichymotripsin, shows identity to amyloid protein precursor. *Nature*, **341**: 546~549, 1989.
- 10) Joachim, C., Mori, H. and Selkoe, D.: Amyloid protein deposition in tissues other than brain in Alzheimer's disease. *Nature*, **341**: 226~230, 1989.
- 11) Salbaum, J., Weidemann, A., Lemaire, H-G., et al.: The promoter of Alzheimer's disease amyloid A4 precursor gene. *EMBO J*, **7**: 2807~2813, 1988.
- 12) Uchida, Y., Ihara, Y. and Tomonaga, M.: Alzheimer's disease brain extract stimulates the survival of cerebral cortical neurons from neonatal rats. *Biochem Biophys Res Commun*, **150**: 1263~1267, 1988.
- 13) Uchida, Y. and Tomonaga, M.: Neurotrophic action of Alzheimer's disease brain extract is due to the loss of inhibitory factors for survival and

- neurite formation of cerebral cortical neurons. *Brain Res*, 481: 190~193, 1989.
- 14) **Cole, G., Dobkins, K.R., Hansen, L.A., Terry, R.D. and Saitoh, T.:** Decreased levels of protein kinase C in Alzheimer brain. *Brain Res*, 452: 165~174, 1988.
- 15) **Olds, J.L., Golski, S., McPhie, D.I., Olton, D., Mishkin, M. and Alkon, D.L.:** Discrimination learning alters the distribution of protein kinase C in the hippocampus of rats. *J Neurosci*, 10: 3707~3713, 1990.
- 16) **Huynk, T.V., Cole, G., Katzman, R., Huang, K-P. and Saitoh, T.:** Reduced protein kinase C immunoreactivity and altered protein phosphorylation in Alzheimer's disease fibroblasts. *Arch Neurol*, 46: 1195~1199, 1989.
- 17) **Buxbaum, J.D., Gandy, S.E., Cicchetti, P., Ehrich, M.E., Czernik, A.J., Fracasso, R.P., Ramabhadran, T.V., Unterbeck, A.J. and Greengard, P.:** Processing of Alzheimer  $\beta$ /A4 amyloid precursor protein: modulation by agents that regulate protein phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 87: 6003~6006, 1990.
- 18) **Heyman, A., Wilkinson, W., Hurwitz, B., et al.:** Alzheimer's disease: Genetic aspects and associated clinical disorders. *Ann Neurol*, 14: 507~515, 1983.
- 19) **St George-Hyslop, Tanzi, R., Polinsky, R., et al.:** The genetic defect causing familial Alzheimer's disease maps on chromosome 21. *Science*, 235: 885~890, 1987.
- 20) **Schellenberg, G., Bird, T., Wijsman, E., et al.:** Absence of linkage of chromosome 21q21 markers to familial Alzheimer's disease. *Science*, 241: 1507~1510, 1988.
- 21) **Goate, A., Chartier-Harlin, M-C., Mullan, M., Brown, J., Crawford, F., Fidani, L., Giuffra, L., Haynes, A., Irving, N., James, L., Mant, R., Newton, P., Rooke, K., Roques, P., Talbot, C., Pericak-Vnces, M., Roses, A., Williamson, R., Rossor, M., Owen, M. and Hardy, J.:** Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*, 349: 704~706, 1991.

司会 ありがとうございます。御質問お願いします。  
たくさんディスカッションある御発表だとは思いますが、  
直接、今質問したい方いらっしゃいませんか。では、ま  
たあとでお願い致します。では辻先生お願いします。