

老年痴呆 ～ 研究の動向

新潟大学脳研究所神経内科 宮 武 正

Senile Dementia ~ The Trend of the Research

Tadashi MIYATAKE

Department of Neurology, Brain Research Institute, Niigata University

The research on senile dementia of Alzheimer type is overviewed from following aspects.

- (1) Analysis of paired helical filament (PHF) and amyloid β -protein (β -AP)
- (2) Molecular cloning and characterization of a cDNA encoding the amyloid precursor protein (APP)
- (3) Genetic linkage studies on familial Alzheimer's disease (FAD)

Key words: Alzheimer's disease, familial Alzheimer's disease, paired helical filament (PHF), amyloid β -protein (β -AP)

アルツハイマー病, 家族性アルツハイマー病, paired helical filament (PHF), アミロイド β -蛋白 (β -AP)

はじめに

老年期痴呆というのは、65才以降に発症する痴呆である。その病因による頻度では、わが国では男性では、血管性痴呆が54.6%、老年痴呆が21.8%と血管性痴呆が多いが、女性では、老年痴呆が38.7%、血管性痴呆が35.0%と老年痴呆の方が多し。老年痴呆 (senile dementia) というものは、Alzheimer 病と同一の病的過程に属する疾患で、病理学のおよび生化学的には Alzheimer 病と何ら差異が認められない。これはアルツハイマー型老年痴呆 (senile dementia of Alzheimer type, SDAT) とも呼ばれる。

我が国における痴呆性疾患は、昭和60年に約60万人、昭和75年には100万人を超え昭和90年には180万人になると推定されている。この中で、血管性痴呆とSDATが大半をしめるが、今回は、Alzheimer 病の病因に関する研究について概説する。

I. Alzheimer 病における蓄積物質

本疾患における病理形態学的特徴は、神経原線維変化 (neurofibrillary tangle : NFT) と老人斑 (senile plaque) の出現である。

(1) Alzheimer 神経原線維変化 (Alzheimer's neurofibrillary change)

これは Alzheimer 型痴呆を特徴づける変化の1つで

Reprint requests to: Tadashi MIYATAKE,
Department of Neurology, Brain Research
Institute, Niigata University, Asahimachi
1, Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先 〒951 新潟市町旭町通1番町
新潟大学脳研究所神経内科 宮 武 正

ある。神経細胞内に生ずるが、神経細胞が死んでも残り、グリア線維に覆われ、清掃されない。NFTを構成する線維は、PHF (paired helical filament) から成る。これは、ねじれ細管 (twisted tubule) と直細管 (straight tubule) とに分けられ、前者は、太いところが220Åの幅をもち、800Åごとに幅が100Åのくびれた形を示す。後者は、150Åの一様な太さを示す。

このような物質が神経細胞に蓄積することが、本症の病因に関係することが明らかになり、本症が protein storage disease として特徴づけられた。このような neuronal storage disease, 例えば lipidosis の病因解明の過程をふり返ると、まず蓄積物質の構造決定、次いでその分解酵素が検討された。Alzheimer 病においても同様な strategy で研究が開始された。しかし PHF がきわめて不溶性であるため、その構造解析に困難をきわめた。

Ihara ら¹⁾は、逆にこの不溶性を利用して、これに対する、抗体を作成し、脳ホモジェネートのイムノブロットを行って、抗体が認識する蛋白を調べたが、正常脳ではこれに反応するものはなく、Alzheimer 病脳ではスメアとよばれる高分子から低分子域まで一様に染まるパターンが認められた。この抗 PHF は、ヒト胎児脳に存在する分子量 50kd のポリペプチドと強く反応する。これはその後の検討で胎児型 tau と同定された。tau は発達の段階で分子形を変形させる。即ち、リン酸化及び脱リン酸化された状態で存在する。抗 PHF のうち、リン酸化された tau のみを認識する抗体で、検討した結果、PHF にはリン酸化された tau そのものが、存在することが明らかにされた²⁾。又、正常老人脳においては、tau は脱リン酸化された状態で存在し、胎児脳では tau は全てリン酸化された状態で存在する。

次に、PHF に対するモノクロナル抗体を作成して、PHF と共通抗原性をもつ物質が脳可溶画分で検討された³⁾。その結果、この抗 PHF 抗体は、分子量 5kd のポリペプチドを認識した。これを精製してアミノ酸組成を決定した結果、これはユビキチンであることが明らかにされた。ユビキチンは、分子量 8.5kd の蛋白で、その機能の一つとして、生体に蓄積した異常蛋白と結合して、ATP 依存性の蛋白分解酵素系を増強する作用が知られており、PHF においても同様な作用の存在が考えられる。しかし、PHF の他の組成物質及び、これらの蛋白を分解すべき酵素に関しては現在不明で、今後の研究を待たざるを得ない。

(2) 老人斑とアミロイド蛋白

老人斑は、大脳皮質や海馬などに沈着する斑点で、その数は、痴呆の程度と相関するという報告がある⁴⁾。老人斑は、鍍銀染色で好銀性の球状構造物で、典型的なものは、中心部に核 (central core) と呼ばれる濃染部があり、その周囲に明かるい部分 (halo) が存在し、その外側には好銀性の部分 (corona) が存在する。以上が典型的老人斑であるが、その他 corona に相当する部分のみが認められる原子老人斑 (primitive plaque)、核のみの amyloid 斑が存在する。Alzheimer 病脳においては、この老人斑以外に高頻度に、脳血管に amyloid の沈着が認められる。

Glenner ら⁵⁾は、髄膜血管アミロイドを分離して、そのアミノ酸組成を決定した。これは分子量4,200の蛋白でβ蛋白 (又は A₄ 蛋白) と命名された。これは Alzheimer 病や Down 症患者の脳血管のみならず、老人斑のアミロイドとも同一アミノ酸配列を示した。

このアミロイド蛋白のアミノ酸配列をもとにして、1987年 Kang らにより、脳アミロイドβ蛋白前駆体 (amyloid precursor protein, APP) を code する cDNA のクローニングに成功した⁶⁾。cDNA の構造から推定されるアミノ酸配列より、APP は細胞表面受容体様の構造をとるものと考えられている。

このように、APP 及びその cDNA が明らかにされ、(i) APP の特性 (ii) Alzheimer 病脳におけるβ-amyloid protein の起源 (iii) APP 遺伝子の組織発現などの検討が急激に進行して来ている。

(i) APP の特性

APP は細胞外ドメイン (extracellular domain)、次いで疎水性アミノ酸に富む膜貫通ドメイン (transmembrane domain)、更に細胞質ドメイン (cytoplasmic domain) より成る。β-protein は細胞外ドメインと膜貫通ドメインの境界部に位置する。

APP 自体がどのような生理学的機能を有するかに関しては、現時点では明らかにされていない。

ただ、APP は遺伝子解析の結果、APP の3種の mRNA が cDNA としてクローン化され、3種の APP が存在することが明らかとなった⁷⁾⁸⁾⁹⁾。即ち、695、751、770個のアミノ酸残基から構成される APP695、APP751 及び APP770 である。この3種の APP は、1つの染色体遺伝子から alternative splicing により図1の如くに生成される。このうち、Exon 1の168bp が APP751 と APP770 には挿入されているが、この部分のアミノ酸配列は Kunitz 型塩基性トリプシンインヒビターと強い相同性をもつ。事実、

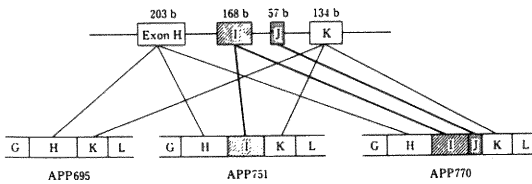


図1 Alternative splicingにより3種のAPPが生成される⁽⁹⁾

この cDNA を COS-1 細胞に導入すると蛋白分解酵素阻害活性が発現して来る。以上の結果より、この阻害活性の出現により Alzheimer 病脳で、APP の分解が阻害されてアミロイドが沈着する可能性が考えられているが、いまだ確証にはいたっていない。

(ii) Alzheimer 病脳における β -amyloid protein (β AP) の起原

これには、2つの説がある。即ち神経細胞由来と、血管由来である。

神経細胞由来を支持する事実として① APP695 の mRNA が神経細胞に局在する。② β -amyloid protein (β -AP) が白質ではなく灰白質に出現する。③ 多くの Alzheimer 病脳において、血管アミロイドが微少なるにもかかわらず、多数の老人斑が認められるなどである。一方、血管由来としては、① β -AP が髄膜血管に沈着する。② 老人斑の中にしばしば、毛細管が認められる。③ β APP751 の mRNA は神経細胞以外に出現するなどである。

その他 astrocyte 由来する説も最近でて来ている。

II. 家族性 Alzheimer 病 (FAD)

今日まで、88家系の報告がある。遺伝形式は常染色体性優性形式をとる。これまで、孤発の Alzheimer 病と比較して、若年に発症する傾向が指摘されていたが、最近、Bird らによると、FAD には臨床的に“heterogeneity”が存在することを明らかにしている¹⁰⁾。即ち、180症例を含む24家系の FAD を少なくとも3つの亜型に分類した。(1) 早期発症家系：初発年齢42才(30~51才)。(2) 晩期発症家系：初発年齢68才(59~78才)。(3) Volga German の家系：初発年齢55.9才(40~72才)。このように FAD に heterogeneity があるかどうかを慎重に検討することが後述するような連鎖解析法(linkage analysis)により発症遺伝子を検索するにあたって極めて重要である。

まず、St. George-Hyslop らは、FAD 4家系について、染色体21上の制限断片長多型現象(Restriction

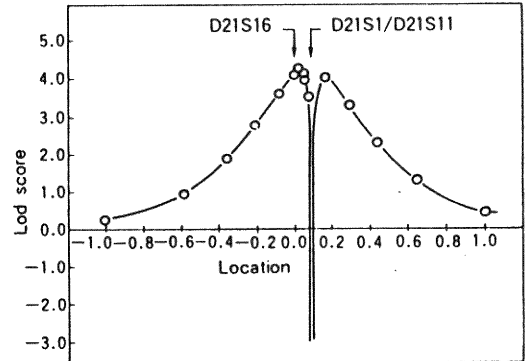


図2 FAD 遺伝子, D21 S16 及び D21S1/D21S11 の multipoint linkage analysis.⁽¹¹⁾

Fragment Length Polymorphism, RFLP) を示す10の DNA マーカーとの連鎖解析を行なった。この方法は、DNA マーカーを用いて、疾患の遺伝子座との連鎖の確率より遺伝子の位置を推定する方法である。Hyslop らは、先に示した10の DNA マーカーとの連鎖をプログラム LIPED による二点解析法により解析した¹¹⁾。その結果、D21 S15, S17, S19, S53, S55, S58 との連鎖はなく、21q 11.2-21 上に存在する、D21S1/S11 と D21S16 との連鎖が認められた。更に Hyslop らは D21S16, D21S1/D21 S11 と FAD の3つの遺伝子の連鎖性について、プログラム LINKMAP による multipoint linkage analysis を行なった。

その結果、図2に示す如く、D21S16 と D21S1/D21S11 の間に lod score: $2=4.25$ のピークがみられ S1/S11 の右に $2=4.06$ のピークが認められる。FAD と DNA マーカーとの距離はいずれも 0.1 Morgan (M) 以下であることが明らかとなった。

その後、Schellenberg らは、同様に、染色体21の DNA マーカーを用いて、独自の FAD 家系で検討しているが、D21S1/D21S72 及び D21S16 のマーカーとも、この FAD 家系の FAD 遺伝子とは連鎖が認められなかったとしている¹²⁾。

Pericak-Vane らは、晩期発症 FAD (平均初発年齢60才以上)の家系で連鎖解析を行っているが、この FAD 家系においても、D21S16, D21S1/D21S11 との間に連鎖を認めていない¹³⁾。

しかし、最近 Goate らは、D21S1/S11, D21S16 の他 D21S13 についても検討し、D21S1/S11 より centromeric にあり、D21S13 と D21S16 の近くに位置することを報告している(図3)。

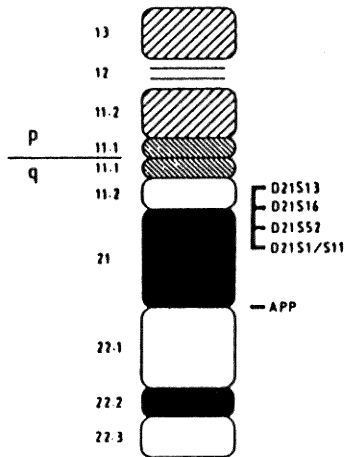


図3 染色体21上の DNA マーカーの部位⁽¹⁴⁾

以上の如く、FAD は一疾患というより遺伝的に heteroginuous であるため、異なった結果がでていると考えられる。

おわりに

このように現在、Alzheimer 病脳に蓄積した PHF と β -AP の構造の解析から出発し、PHF β -AP の蓄積機序、APP の機能を中心に分子生物学ないしは遺伝子学的研究が急速に展開している。一方、FAD の遺伝子解析も進行しており、近い将来、Alzheimer 病の原因が解明され、この疾患の治療、予防法が確立されることが待たれる。

参考文献

- 1) Nukina, N. and Ihara, Y.: One of the antigenic determinants of paired helical filaments is related to tau protein. *J. Biochem.*, **99**: 1541~1544, 1986.
- 2) Ihara, Y., Nukina, N., Miura, R. and Ogawara, M.: Phosphorylated tau protein is integrated into paired helical filaments in Alzheimer's disease. *J. Biochem.*, **99**: 1807~1810, 1986.
- 3) Mori, H., Kondo, J. and Ihara, Y.: Ubiquitin is a component of paired helical filaments in Alzheimer's disease. *Science*, **235**: 1641~1644, 1987.
- 4) Blessed, G., Tomlinson, B.E. and Roth, M.: The association between quantitative measures of dementia and of senile change in the cerebral

grey matter of elderly subjects. *Brit. J. Psychiatr.*, **114**: 798~811, 1968.

- 5) Glenner, G.G. and Wong, C.W.: Alzheimer's disease and Down's syndrome: Sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **122**: 1131~1135, 1984.
- 6) Kang, J., Lemaire, H.-G., Unterbeck, A., Salbaum J.M., Masters, C.L., Grzeschik, K.-H., Multhaup, G., Beyreuther, K. and Muller-Hill, B.: The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature*, **325**: 733~736, 1987.
- 7) Ponte, P., Gonzalez-DeWhitt, P., Schilling, J., Miller, J., Hsu, D., Greenberg, B., Davis, K., Wallace, W., Lieberburg, I., Fuller, F. and Cordell, B.: A new A4 amyloid mRNA contains a domain homologous to serine proteinase inhibitors. *Nature*, **331**: 525~527, 1988.
- 8) Tanzi, R.E., McClatchey, A.I., Lamperti, E.D., Villa-Komaroff, L.L., Gusella, J.F. and Neve, R.L.: Protease inhibitor domain encoded by an amyloid protein precursor mRNA associated with Alzheimer's disease. *Nature*, **331**: 528~530, 1988.
- 9) Kitaguchi, N., Takahashi, Y., Tokushima, Y., Shiojiri, S. and Ito, H.: Novel precursor of Alzheimer's disease amyloid protein shows protease inhibitory activity. *Nature*, **331**: 530~532, 1988.
- 10) Bird, T.D., Sumi, S.M., Nemans, E.J., Nochlin, D., Schellenberg, G., Lampe, T.H., Sadovnick, A., Chui, H., Miner, G.W., and Tinklenberg, J.: Phenotypic heterogeneity in familial Alzheimer's disease: a study of 24 kindreds. *Ann. Neurol.*, **25**: 12~25, 1989.
- 11) St George-Hyslop, P.H., Tanzi, R.E., Polinski, R.J., Haines, J.I., Nee, L., Watkins, P.C., Myers, R.H., Feldman, R.G., Pollen, D., Drachman, D., Growdon, J., Bruni, A., Foncin, J.-F., Salmon, D., Frommelt, P., Amaducci, L., Sorbi, S., Piacentini, S., Stewart, G.D., Hobbs, W.J., Conneally, P.M. and Gusella, J.F.: The genetic defect causing familial Alzheimer's disease Maps on Chromosome 21. *Science*, **235**: 885~890, 1987.

- 12) Schellenberg, G.D., Bird, T.D., Wizsman, E.M., Moore, D.K., Boehnke, M., Bryant, E.M., Lampe, T.H., Nochlin, D., Sumi, S.M., Dees, S.S., Beyreuther, K. and Martin, G.M.: Absence of linkage of chromosome 21q21 markers to familial Alzheimer's disease. *Science*, **241**: 1507~1510, 1988.
- 13) Pericak-Vance, M.A., Yamaoka, L.H., Haynes, C.S., Speer, M.C., Haines, J.L., Gaskell, P.C., Hung, W.-Y., Clark, C.M., Heyman, A.L., Trofatter, J.A., Eisenmenger, J.P., Gilbert, J.R., Lee, J.E., Alberts, M.J., Dawson, D.V., Bartlett, R.J., Earl, N.L., Siddique, T., Vance, J.M., Conneally, P.M. and Roses, A.D.: Genetic linkage studies in Alzheimer's disease families. *Exp. Neurol.*, **102**: 271~279, 1988.
- 14) Goate, A.M., Haynes, A.R., Owen, M.J., Farrall, M., James, L.A., Lai, L.Y.C., Mullan, M.J., Roques, P., Rossor, M.N. and Williamson, R.: Predisposing locus for Alzheimer's disease on chromosome 21. *Lancet*, **i**: 352~355, 1989.
-