アルツハイマー病に関する最近の知見

東海林幹夫

＜要 約＞ ここ数年の Alzheimer's disease (AD) 研究の進歩は脳における β 蛋白 (Amyloid β protein: $A\beta$) の沈着が疾患特異的に早期から出現する最も重要な変化であることを明らかにした。このうち N 末端の修飾された $A\beta_{42}$ が老人斑アミロイドの主成分である。Amyloid β protein precursor (AD1), presenilin-1 (AD3), presenilin-2 (AD4) が家族性 AD の原因遺伝子として同定されたが、いずれもその遺伝子変異は $A\beta_{1-42}$ の生成を亢進するように働くことが明らかとなった。孤発例 AD の major risk factor である ApoE は $A\beta$ の凝集を促進し、ApoJ は $A\beta$ 凝集を抑制する。動物モデル作製の試みは脳にアミロイド沈着と記憶障害を起こす transgenic mice の作製に成功した。脳脊髄液 Tau と $A\beta_{1-40/1-42}$ の測定は臨床的に有用な診断マーカーとして確立しつつある。今後、これらの動物モデルと診断マーカーを用いて現実的な治療法の開発が急がれる。

Key words : amyloid β protein, Alzheimer's disease, recent advance

(日老医誌 1997 ; 34 : 607—611)

はじめに

アルツハイマー病 (Alzheimer disease: AD) は初老期に発症する進行性痴呆疾患である。先進各国ではいずれも高齢化社会の到来とともに痴呆患者の増加が問題となっており、65歳以上人口の約5%が痴呆患者と言われている。日本では現在、126万人と推定されており、ピークを迎える2035年には337万人となり、逆にこれを支える生産年齢人口は現在の痴呆老人1人に対して69人から21人に減少することから、痴呆疾患の解明と治療法は早急に解決すべき重要課題である。これらの患者の多くを占めるのがADである。この10年間の研究の進歩はAD脳における蓄積物質 (Tau と amyloid β protein: $A\beta$) を同定し、病像の進展過程の共通性 (common pathway) を明らかにするとともに、家族性ADにおけるいくつかの異なる原因遺伝子を明らかにした。

1. ADの脳変化と common pathway

AD脳の特徴的变化は老人斑アミロイドの沈着と神経原線維変化の出現および広範な神経細胞の脱落である。神経原線維変化は10nmの2本の線維が約80nm

の周期でよじれ合って走行する構造を示しており、paired helical filament (PHF) とも呼ばれている。PHFは微小管結合蛋白であるタウ蛋白 (Tau) の一部とユビキチンの全長から成り、タウ蛋白が異常あるいは過剰にリン酸化される過程で不溶化し、神経細胞に蓄積して神経細胞死を生ずるものと考えられている。老人斑は8~12nmのアミロイド細線維から成り、40から43個のアミノ酸から成る β 蛋白 ($A\beta$) から成っている。これらの特徴的な脳の病理変化のうちどれが先に出現するかを検討すると、まず、早期病変としてびまん性老人斑が出現し、その後に成熟型の老人斑と神経原線維変化、神経細胞死の順に出現する。正常加齢でも同様な進展経過がみられるが、ADでは著しく発症が加速されている。

2. 家族性AD (FAD) と原因遺伝子

ADの一部に常染色体優性遺伝形式で発症する家系 (Familial AD: FAD) が存在する。FADでは連鎖解析を用いて、昨年までに重要な原因遺伝子とその変異が明らかにされた (表1)。1991年にFADのうち染色体21番に連鎖する家系 (AD1) は $A\beta$ の前駆体 (β APP) に点突然変異があることが明らかにされた^{1)~3)}。AD1における β APPの主な遺伝子変異には $A\beta$ 配列直後の1アミノ酸が置換されたもの β APP V717I, β APP V717F, β APP V717G と Sweden 家系にみられる $A\beta$

表 1 Alzheimer's disease is a polygene syndrome

classification	onset and population	gene	chromosome loci	pathology
AD1	early onset AD(<3%)	amyloid β protein precursor	21	A β amyloid, PHF, neuronal loss
AD2	late onset AD	apolipoprotein E	19	A β amyloid, PHF, neuronal loss
AD3	early onset AD(>70%)	presenilin-1	14	A β amyloid, PHF, neuronal loss
AD4	Volga German family	presenilin-2	1	A β amyloid, PHF, neuronal loss
AD5	late onset		12?	
Down syndrome	early onset	21trisomy	21	A β amyloid, PHF, neuronal loss
HCHWAD	Dutch family	amyloid β protein precursor	21	amyloid angiopathy
sporadic	Majority	apolipoproteinE as risk factor?		A β amyloid, PHF, neuronal loss

配列の直前の 2 アミノ酸置換を認める β APP K670 N/M671L が知られ、最近では β APP I716V の家系が報告された。早期発症 FAD の多くは第14番染色体(14 q24.3) に連鎖しており (AD3家系)、1995年に St. George-Hyslop らにより、presenilin-1 (S182) と名づけられた遺伝子が早期発症家族性アルツハイマー病患者に特異な一連の変異が存在することが発見された⁴⁾。その後すぐに早期発症 FAD のうち Volga German 家系は第 1 番染色体上の1q31-42に連鎖し、この領域に presenilin-1 と相同性の高い他の遺伝子が存在することを Schellenberg らは発見した (AD4家系)。この presenilin-2 (STM2) と呼ばれる新しい遺伝子は AD 発症者で変異をしめすことがさらに明らかにされ、AD4の原因遺伝子として報告された⁵⁾。

これらの FAD 患者の脳病理変化を検討するといずれも著明な老人斑アミロイドと神経原線維性変化の蓄積がみられ、孤発例 AD と同様であることが示されている^{6)~9)}。以上から AD は異なる遺伝子の異常によって引き起こされる polygene disease であるが、最終的には共通の病理過程 (common pathway) に入り、病像を完成するものと考えられる。

3. common initiation factor としての A β 1-42

A β 1-42/43は A β の minor な分画ではあるが自己凝集が著しく速いため、核となって A β の凝集を飛躍的に促進させ、大量の A β 凝集が老人斑アミロイドを形成するものと考えられてきた¹⁰⁾。さらに最近では A β の N 末端側もイソ化、ラセミ化、ピログルタミン酸化などの様々な修飾がされており、その蓄積機序における関与が明らかにされている。著者らは26例の孤発例 AD 脳の A β 1-40と A β 1-42 (43) と、N 末端の修飾された A β 総量である A β x-40と A β x-42 (43) を

ELISA で測定した。AD 脳には nmol/g 程度の A β の蓄積がみられ、脳血管アミロイドを有する例では A β 1-40と A β x-40が蓄増しており、脳血管アミロイドアンギオパチーを有する例ではこれらの A β が蓄積しているものと思われる。脳血管アミロイドアンギオパチーを有さない16例では、A β 1-42 (43) と A β x-42 (43) が蓄積していることから、ヒト脳老人斑アミロイドとして蓄積するのは A β 1-42 (43) であり、その後 N 末端が修飾されるものと思われる。従って、AD 脳の病理形成の共通過程の上流にはさらに A β 1-42 (43) の蓄積過程が存在しているものと思われる¹¹⁾。

4. 家族性 AD 遺伝子変異と AD 発症機序

これまでに同定された家族性 AD の原因遺伝子の変異の意義が、培養細胞系、患者線維芽細胞培養上清、患者血漿などで検討されている。AD1における β APP の主な遺伝子変異はいずれも培養細胞上清中に A β 1-42 (43) の分泌が増加することが示されている¹²⁾。Down 症患者血漿では A β 1-42 (43) も1.5~2 倍に上昇している。さらに最近同定された AD3, AD4家系患者の培養線維芽細胞上清や血漿でも上昇していることが明らかにされた¹³⁾。変異 PS-1を発現する transgenic mice 脳でも、A β 1-42 (43) の割合が増加し、変異 PS-1と PS-2を発現する培養細胞系の上清でも A β 1-42 (43) の増加が示されている¹⁴⁾¹⁵⁾。このように AD1, AD3, AD4の原因遺伝子変異は A β 1-42 (43) の産生、分泌の増加によって AD 脳病変の最終共通経路の引き金を引くものと考えられている (表 2)。

ApoE はコレステロールを運搬する血漿蛋白であり、299個のアミノ酸のうち 1 アミノ酸の相違によりそれぞれ ApoE2, ApoE3, ApoE4の 3 つの表現型が存在する。1993年に晩期発症の FAD (AD2) と遺伝子座19

表 2 Suspected routes to Alzheimer's Disease

Mutation	Biochemical cause	Molecular effect
Down's syndrome	increased β APP production	$A\beta 1-40 \uparrow$, $A\beta 1-42(43) \uparrow$
β APP KM670/671NL (Swedish)	Potentialtion of β -secretase	$A\beta 1-40 \uparrow$, $A\beta 1-42(43) \uparrow$
β APP A692G (Flemish)	inhibition of α -secretase	$A\beta 1-42(43) \uparrow$
β APP I716V (Florida)	alteration of γ -secretase site	$A\beta 1-42(43) \uparrow$
β APP I717I/F/G (London)	alteration of γ -secretase site	$A\beta 1-42(43) \uparrow$
PS1	Potentialtion of γ -secretase	$A\beta 1-42(43) \uparrow$
PS2	Potentialtion of γ -secretase	$A\beta 1-42(43) \uparrow$

Risk Factor	Suspected biochemical cause	Effect
ApoE 4	acceleration of amyloid fibril for formation? antagonist Apo J?	acceleration of onset

表 3 Characteristics of transgenics expressing different isoforms/fragments of β APP

Construct	extracellular amyloid	Neuronal loss	Behavioural deficits	electrophysic-al alerations	Ref.
β APPV717F	++	ND	ND	ND	Games et al
β APP751WT	+/-	ND	ND	ND	Quon et al
β APPKM670/671NL	+	ND	+	ND	Haiao et al
β APP(C104)	+	+	+	+	Nalbantoglu et al
β APP(C104KM/NL)	+	+/-	ND	ND	Kawarabayashi et al

図 1 ヒト脳脊髄液 Tau, $A\beta 1-40$, $A\beta 1-42(43)$
○ : NC, 正常対照, ● : AD, Alzheimer 病患者 (AD)

q13.2にある ApoE の関連が報告された。Genotype である $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ のうち $\epsilon 4$ が孤発例 AD でも頻度が高く、晩期発症 FAD 患者では $\epsilon 4$ の数が 0, 1, 2 と増えるに従って発症時の平均年齢がそれぞれ 84.3, 75.5, 68.4 歳と促進されること (gene dose effect), また, $\epsilon 4$ を有する者の方が脳の変化が強いことなどから、現在, ApoE4 は AD 発症の普遍的危険因子として考えられるようになってきている¹⁶⁾。ApoE がいかに AD 脳の変化と関連するかは明らかではないが, ApoE が脳アミロイドばかりでなくすべての型の全身性アミロイドーシスに関与していること, $A\beta$ アミロイドと共に沈着していること, in vitro ではむしろ $A\beta$ を β sheet 構造へ変化させることから、普遍的なアミロイド細線維形成促進作用が推定されている。さらに, $A\beta$ の凝集・沈着の抑制因子と考えられる ApoJ との生体内における拮抗作用が最近明らかにされた¹⁷⁾。

5. $A\beta$ を蓄積させる Transgenic mice

以上のことからもし $A\beta$ を過剰生成させた動物で脳アミロイドの沈着が再現されれば Alzheimer 病のモデルが出来ることとなる。既に、数カ所の研究施設で現実的なモデルが成功しており、Platelet-derived growth factor promoter に β APP V717F を発現させたマウスでは 6 ~ 9 カ月齢の大海馬、脳梁、大脳皮質などに $A\beta$ の沈着が起こりはじめ、8 カ月で多量の $A\beta$ の沈着が認められた。形態的にもヒトのび漫性老人斑や典型的老人斑に類似するものまですべての種類の老人斑に相当する変化がみられている。さらにその周囲にグリオースや神経突起の変性がみられ、ほぼ AD の病理変化と同様な変化が出現していた¹⁸⁾。また、hamster prion protein promoter を用いて β APP K670N/M671L を導入した C57B6/SJL マウスでは 11 ~ 13 月齢の脳から多量の $A\beta 1-40$ および $A\beta 1-42$ (43) が検出され、組織学的にはアミロイド芯を有する老人斑が認められた。加齢に伴って脳の $A\beta$ 量は著明に増加し、記憶、学習障害が出現し増悪した¹⁹⁾。表 3 にこれまでの主な transgenic mice の結果をまとめる^{20) ~ 22)}。

6. 診断マーカー

家族性 AD における遺伝子診断以外にこれまで様々な生化学的マーカーが検討されてきた^{23) 24)}。このうち、脳脊髄液で Tau と $A\beta 1-40$ と $A\beta 1-42$ の比が感度 70 ~ 90%、特異性 80% で最も優れており、現実的に

臨床で使用するものと考えられる (図 1)。

ま と め

近年のアルツハイマー病研究の進歩は $A\beta 1-42$ の AD における common initiating factor としての役割を明らかにし、有用な動物モデルと診断マーカーを確立してきた。今後、これらの成果に基づく治療法の開発が望まれている。

文 献

- 1) Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, Salbaum JM, Masters CL, Grzeschik KH, et al: The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 1987; 325: 733—736.
- 2) Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, et al: Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 1991; 349: 704—706.
- 3) Mullan M, Crawford F, Axelman K, Houlden H, Lilius L, Winblad B, et al: A pathogenic mutation for probable gene at N-terminus of β -amyloid. *Nature Genetics* 1992; 1: 345—347.
- 4) Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, et al: Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 1995; 375: 754—760.
- 5) Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Liang Y, et al: Familial Alzheimer's disease in kindreds in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature* 1995; 376: 775—778.
- 6) Ikeda M, Sharma V, Sumi SM, Rogaeva E, Poorkaj P, Sherrington R, et al: The clinical phenotype of two missense mutations in the presenilin I gene in Japanese patients. *Ann Neurol* 1996; 40: 912—917.
- 7) Giannakopoulos P, Hof PR, Savioz A, Guimon J, Antonarakis SE, Bouras C: Early-onset dementias: Clinical, neuropathological and genetic characteristics. *Acta Neurol* 1996; 91: 451—465.
- 8) Lampe TH, Bird TD, Nochlin D, Nemens E,

- Risse SC, Sumi SM, et al: Phenotype of chromosome 14-linked familial Alzheimer's disease in a large kindred. *Ann Neurol* 1987; 36: 369—378.
- 9) Mann DMA, Iwatsub T, Cairns NJ, Lantos PL, Nochlin D, Sumi SM, et al: Amyloid β protein ($A\beta$) deposition in chromosome 14-linked Alzheimer's disease: Predominance of $A\beta$ 42(43). *Ann Neurol* 1996; 40: 149—156.
 - 10) Iwatsubo T, Odaka A, Suzuki N, Mizusawa H, Nukina N, Ihara Y: Visualization of $A\beta$ 42(43) and $A\beta$ 40 in senile plaques with end-specific $A\beta$ monoclonals: Evidence that an initially deposited species is $A\beta$ 42(43). *Neurol* 1994; 13: 45—53.
 - 11) Gravina SA, Ho L, Eckman CB, Long KE, Otovos L Jr, Younkin LH, et al: Amyloid β protein ($A\beta$) in Alzheimer's disease brain: Biochemical and immunocytochemical analysis with antibodies specific for forms ending at $A\beta$ 40 or $A\beta$ 42(43). *J Biol Chem* 1995; 270: 7013—7016.
 - 12) Suzuki N, Cheung TT, Cai XD, Odaka A, Otvos L Jr, Eckman C, et al: An increased percentage of long amyloid β protein secreted by familial amyloid β protein precursor (β APP717) mutants. *Science* 1994; 264: 1336—1340.
 - 13) Scheuner D, Eckman C, Jensen M, Song X, Citron M, Suzuki N, et al: Secreted amyloid β -protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nature Med* 1992; 2: 864—870.
 - 14) Duff K, Eckman CB, Zehr C, Yu X, Prada CM, Perez-tur J, et al: Increased amyloid- β 42(43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. *Nature* 1996; 383: 710—713.
 - 15) Citron M, Westaway D, Xia W, Carlson G, Diehl T, Levesque G, et al: Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-residue amyloid β -protein in both transfected cells and transgenic mice. *Nature Medicine* 1992; 3: 67—72.
 - 16) Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, et al: Gene dose of apolipoprotein E type a allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993; 261: 921—923.
 - 17) Matsubara E, Frangione B, Ghiso J: Characterization of apolipoprotein J-Alzheimer's A beta interaction. *J Biol Chem* 1995; 270: 7563—7567.
 - 18) Games D, Adams D, Alessandrini R, Barbour R, Berthelette P, Blackwell C, et al: Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F β -amyloid precursor protein. *Nature* 1995; 373: 523—527.
 - 19) Hsiao KK, Chapman P, Nilson S, Eckman CB, Harigaya Y, Younkin S, et al: Correlative memory deficits, $A\beta$ elevation and amyloid plaques in transgenic mice. *Science* 1996; 274: 99—102.
 - 20) Quon D, Wang Y, Catalano R, Scardina JM, Murakami K, Cordell B: Formation of β -amyloid protein deposits in brains of transgenic mice. *Nature* 1991; 352: 239—241.
 - 21) Kwarabayashi T, Shoji M, Sato M, Sasaki A, Ho L, Eckman CB, et al: Accumulation of β amyloid fibrils in pancreas of transgenic mice. *Neurobiol Aging* 1996; 17: 215—222.
 - 22) Nalbantoglu J, Tirado-Santiago G, Lahsaini A, Poirier J, Goncalves O, Verge G, et al: Impaired learning and LTP in mice expressing the carboxy terminus of the Alzheimer amyloid precursor protein. *Nature* 1997; 387: 500—505.
 - 23) Shoji M, Golde TE, Ghiso J, Cheung TT, Estus S, Shaffer LM, et al: Production of the Alzheimer amyloid β protein by normal proteolytic processing. *Science* 1992; 258: 126—129.
 - 24) Nakamura T, Shoji M, Harigaya Y, Watanabe M, Hosoda K, Cheung TT, et al: Amyloid β protein levels in cerebrospinal fluid are elevated in early-onset Alzheimer's disease. 1994; 36: 903—911.