総説

脳の老化と脂質

安 藤 進

(財) 東京都老人総合研究所 生体膜部門

(〒173 東京都板橋区栄町 35-2)

Aging Brain and Lipids

Susumu ANDO

Department of Membrane Biochemistry Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology

(35-2 Sakae-cho, Itabashi-ku, Tokyo, 〒173)

Living organisms are cell aggregates functionally assembled, and each cell can survive and play roles due to its normal membrane functions. Since the membrane functions are controlled by the lipid microenvironment in lipid bilayers, altered lipid composition which could take place in senescence should result in the decrease of membrane and cellular functions, and eventually in the diminished activities of organs and whole bodies. Focused on aging brain in this article, the changes in membrane lipids will be correlated with the decreases in membrane functions, and the importance of so-called "brain plasticity" will be discussed by describing an example in which a modification of membrane lipids appears to improve synaptic functions.

はじめに

水の惑星である地球上で、水に溶けにくい脂質が細胞膜の主要な構成員として採用された経緯には人知の及ばない必然が働いたにちがいない。細胞膜が脂質でできているからこそ、水環境において細胞内外を明確に分けて細胞独自の環境を保つことができ、イオン類の大きな濃度勾配をつくり出している。特に神経細胞（ニューロン）においてはイオンの透過性の調節が電気的興奮性を発生させるもとになっている。細胞膜は基本的に脂質の2分子からなる薄膜（脂質二重層）で厚さはわずか80 Å程度であるが、それは単なる隔壁にとどまらず、イオンチャネル、イオンポンプ、輸送機構、ホルモン受容体とそれに結合する情報伝達機構などを備えるいわば機能する膜を形成している。それらの膜機能は細胞膜脂質の組成が一定に保たれることによって確保されていると言える。とすれば、生体の加齢（aging）とともに膜の脂質構成が変化することによって膜機能の発現も影響を受けることになると考えられよう。本小文ではまずこの点について述べる。

生体の各臓器は互に協調して個体の生物活動を維持しているが、とりわけ脳は高度な情報を処理する器官として特異な存在にある。生まれた時に脳は白紙のようなもので、いろいろな知識や経験が書きこまれて初めて有能

な脳になると言える。神経活動の機能単位であるニューロンは細胞分裂によって増殖することはできないので、細胞増殖によらない別の脳機能増大の機構があるはずである。それに対して、神経線維の増生とシナプス（神経終末）の新生によるネットワークのち（緻）密化と、シナプス伝達効率のこう（亢）進の二つが考えられている。このような脳の柔軟に変化しうる性質は可塑性（plasticity）と呼ばれる。老齢脳あるいは痴呆（呆）脳においても多少の可塑性が残っているとすれば、脳機能を高めるように可塑性を賦活することが本質的な治療法になる可能性が考えられる。神経細胞膜脂質の改変を介するニューロン可塑性の研究にも触れ、脳の老化とその予防における脂質の意義について言及したい。

1 加齢及び痴呆症における脳脂質の変化

ヒト全脳の脂質含量と組成の加齢変化は Rouser, Kritchevsky¹⁾ の総説に詳しい。加齢研究にはラット、マウスなどの小動物が頻繁に用いられる。マウス全脳についてはリン脂質、コレステロール量は加齢によってわずかな増加があるにすぎないが、特定の分画のみをとり出してみると特徴ある変化がみえてくる。神経線維をおおうミエリン膜の脂質組成の加齢変化を調べたデータを Table-1 に示す。コレステロール含量 (C) はほとんど一定であるが、リン脂質 (P) の割合が減少するので、

Table-1 Changes in the myelin composition of mouse brain with aging.

Age (days)	20	44	88	144	365	820	1055
Myelin (dry wt. mg/cerebrum)	1.68±0.13	5.88±0.15	7.39±0.26	5.33±0.19	12.31±0.48	12.10±0.41	12.30±0.61
Myelin component (per mg dry myelin)							
Protein	255±2.2	258±8.6	264±2.2	248±6.3	267±1.6	281±3.4	290±7.7
Cholesterol (C)	168±1.7	170±1.1	176±0.5	173±1.6	176±0.4	165±2.5	176±1.0
Phospholipid (P)	397±7.1	343±2.0	345±1.8	322±3.0	330±1.1	310±6.3	316±3.1
Cerebroside	186±5.4	213±3.1	212±0.6	198±2.8	211±3.4	186±3.3	256±8.4
Sulfatide	36±1.9	31±6.0	39±2.1	41±1.5	39±4.4	32±1.4	55±4.0
Ganglioside (ng sialic acid)	508±55	546±43	1074±29	1103±32	1260±72	1511±34	1378±57
C/P molar ratio	0.847±0.009	0.993±0.005	1.020±0.008	1.072±0.005	1.068±0.001	1.068±0.001	1.119±0.012

C/P ratio : molar ratio of cholesterol to phospholipid. Values are averages ($n=4$) $\pm$ SD. *, $p<0.01$ as compared to 6 month old mice (Student's t -test).

Fig.-1 Age-related changes in the contents of phospholipids and cholesterol in mouse synaptic membranes.

両者の比 (C/P) は上昇する。糖脂質のなかではgangliosideの増加が特徴的である。これらの脂質組成の経時変化は、ミエリンを生成するオリゴデンドロサイトの代謝調節の変化を反映していると考えられる。

神経系の膜系で重要な部位はシナプス膜である。シナ

PE : Phosphatidylethanolamine
PC : Phosphatidylcholine
PS : Phosphatidylserine
SM : Sphingomyelin

Fig.-2 Compositional changes of phospholipid classes with aging in mouse brain synaptic membrane.

プスはニューロン間の神経伝達を調節する役割をもっており、そのために各種のイオン透過と神経伝達物質放出の制御を行っている。これらのシナプス膜機能は脂質二重層の一定の性質によって維持されていると考えられるので、その脂質組成の変化に関心をもたれる。Fig.-1にマウス脳シナプス膜の総リン脂質とコレステロール含量の加齢変化を、Fig.-2にリン脂質組成の変化を示す²⁾。タンパク質当たりの総リン脂質量は、18か月齢あ

たりまで増加するが、それ以降の老齢期では減少傾向に転じる。一方、コレステロール量は老齢期に入ると増加速度は遅くなるものの増えつづける。その結果として、C/P 比は一生を通じて直線的に増加する傾向がみられた。加齢による C/P 比の増加は、ラット脳ホモジネートを用いて得られた Bonetti らの報告³⁾と一致するものであった。シナプス膜のリン脂質組成をみると、約 50 % をホスファチジルエタノールアミン (PE) が、約 30 % をホスファチジルコリン (PC) が占め、残りの 20 % にホスファチジルセリン (PS) とスフィンゴミエリン (SM) が含まれている。これらのリン脂質のなかで大きく減少するものは PC であった。老齢後期 (27 か月齢) の PC 量は 6~12 か月齢の 85 % にまで減少している。老齢期にみられる総リン脂質量の低下 (Fig.-1) は、もっぱら PC 量の減少によるものであることがわかった。これは、2 年齢ラット脳の PC 量が 5 か月齢のもの 83 % に減少しているとの Benzi らの報告⁴⁾と一致している。

シナプス膜にガングリオシドが多く存在することが知られているが、ラット脳のシナプスでは老齢期に入る前に減少するようである⁵⁾。痴呆脳において、セブレロシド、スルファチド、ガングリオシドなどの糖脂質が低下することは既に Cherayil によって報告されている⁶⁾。スロウィルス感染によって痴呆をきたすクローイツフェルドヤコブ病 (CJ) 患者の脳では、ガングリオシドが著しく低くなっているが、ガングリオシドの生合成経路別にみるとその特徴が浮かび上がってくる。脳組織所見からはアストロサイトが増殖して海綿状を呈する点で慢性有機水銀中毒脳に似ているといわれるが、後者では A 系列ガングリオシドが減少する⁷⁾のに対して、CJ 脳では B 系列のものが特に減少すること⁸⁾から、両者の発症機構は異なると推察された。

原因不明の痴呆症として関心の高いアルツハイマー病で、脂肪酸組成の変化が最近指摘されている。スエーデンにおける調査では、患者脳リン脂質の組成には変化が認められなかったが、特に PE の脂肪酸構成に異常のあることが報告された⁹⁾。灰白質、白質いずれの PE においても、飽和酸が増え、*n*-6 と *n*-3 系列の高度不飽和酸が減少していた (Fig.-3)。デンマークからの報告では、アルツハイマー病のみならず脳血管痴呆患者でも、赤血球膜の脂肪酸組成に同様な変化のみられることが示されている¹⁰⁾。しかし、これらの変化が痴呆症に固有のものであるかどうかが問題である。脂質組成は摂取する食事内容によって影響されるから、患者の栄養調査とも合わせて慎重に検証されなければならない。

2 老齢脳における細胞膜機能の低下

神経細胞には Na^+ , K^+ -ATPase などのイオンポンプ

Fig.-3 Abnormalities in the fatty acid composition of phosphatidylethanolamine from Alzheimer's brains.

が発達しており、細胞内外に大きなイオンの濃度勾配がつくられている。特に細胞内に汲み込まれた K^+ が外へ流れ出すことによって、細胞膜内を陰性とする膜電位が発生する。静止膜電位が一定レベルに保たれていることが、ニューロンが刺激を受けた時に活動電位を発生させることができる基本的な条件である。したがって、細胞膜を貫通して存在する Na^+ , K^+ -ATPase のイオンポンプとしての活性の維持は、正常な神経活動にとって極めて重要なことといえる。 Na^+ , K^+ -ATPase 活性は、その酵素タンパク質をとり囲む膜脂質の微小環境によって影響を受けることがよく知られている¹¹⁾。Wrigglesworth¹²⁾ は種々の臓器の Na^+ , K^+ -ATPase について、活性発現に必要とされる脂質種を文献上サーベイしている。それによると、PS やホスファチジン酸のような酸性リン脂質を要求する例が多いが、ウシの脳やサメの塩せん(腺)の酵素では PC も活性を上昇させるようである。一方、Tettamanti のグループ¹³⁾ はラット脳の粗膜分画の Na^+ , K^+ -ATPase について、酸性糖脂質であるガングリオシドの効果を報告している。脳から抽出して得たガングリオシド混合物は 50 nM という低濃度で酵素活性を高めるが、高濃度ではかえって阻害するという。永田ら¹⁴⁾ は、自律神経系の Na^+ , K^+ -ATPase 活性が、副交感神経系の節状神経節ではガングリオシドによって著しく促進されるのに、交感神経系の上頭神経節では抑制されることを見いだしている。これまで報告さ

れているデータによると、 Na^+ , K^+ -ATPase の活性は膜脂質環境によって影響を受けることは確かであるが、同一の脂質組成の修飾が組織や細胞によって活性を高めたり抑制したりすることは、酵素のそもそもの脂質環境が細胞の種類ごとに違っていることを示していると考えられる。

筆者らは、老齢動物の脳シナプスにおいて静止膜電位が若齢のものに比べて減少していることを見いだした²⁾。その直接の原因として、細胞内 K^+ 濃度の減少が確かめられ、さらに細胞内外の K^+ 濃度差が小さくなるのはイオンポンプである Na^+ , K^+ -ATPase の活性が低下するためであることがわかった。老齢後期に酵素活性が低下するのは酵素量そのものの減少によることが示された。ところが、老齢前期に酵素量はまだ減少しないにもかかわらず酵素活性が低下するのは、酵素周囲の膜脂質環境が変わることによるのではないかと推定された。実際にシナプス膜脂質の加齢変化を調べてみると、Fig.-2 に示したように老齢前期から PC のみが減少しはじめることがわかった。PC 量と Na^+ , K^+ -ATPase 活性との相関関係をみたところ、相関関数 +0.86 という高い値が得られ、両者の間に強い正の相関が認められた。したがって、脳のシナプスにおいて、老齢期に入るとまずシナプス膜の脂質組成が変化し、それによって Na^+ , K^+ -ATPase 活性低下がもたらされ、細胞内外の K^+ 濃度差が小さくなって静止膜電位の減少に至ると考えられた。

シナプス伝達機能の一つとしてアセチルコリン放出活性をみたところ、老齢期に低下することが認められた。神経伝達物質はシナプスにおいてシナプス小胞に蓄積されている。刺激に応じる膜電位の変化(脱分極)にともなって流入する Ca^{2+} によってシナプス小胞のシナプス膜への融合反応が起こる。その結果、シナプス小胞内の伝達物質はシナプス外へ放出される。この過程は開口放出(exocytosis)と呼ばれる。開口放出の過程は膜融合の起こりやすさによって影響を受けると考えられる。膜脂質の流動性(membrane fluidity), すなわち柔らかさが失われると膜融合の反応が遅延するために伝達物質の放出活性が低下すると推論される。Fig.-4 に示すように、蛍光プローブを用いて測定された蛍光偏光消度 P 値(大きい値ほど流動性が低い)は老齢で高値となることがわかり、神経伝達物質の放出においても膜脂質組成が一定に保たれることの意義が指摘される。

3 シナプス膜脂質とニューロンの可塑性

脳という臓器は様々な経験の蓄積に立って情報処理能力を高めるという可塑性をもつ点で、コンピュータなどの機械とは違っている。その情報処理を担うところのシナプスには、強い刺激が頻回に通ることによって信号の

Fig.-4 Age-related changes in the membrane fluidity of mouse brain synaptic membranes.

伝達効率が高まるという性質がある。このように頻回利用で強化されるシナプスはヘッブのシナプス(Hebbian synapse)と呼ばれ、脳の可塑性の根底にある現象と想像される。前項で述べたように、シナプスの機能はシナプス膜脂質の変化によって影響されるので、老齢脳でもシナプス膜脂質の修飾ができればシナプス機能の向上、ひいては脳の若返りも可能になるかもしれない。

老齢脳のシナプス膜では脂質二重層の流動性が低下しているので(Fig.-4), その回復を目指して PC 製剤の投与が試みられた。Shinitzky ら¹⁵⁾ は、卵黄から調製した脂質混合物で PC, PE, 中性脂質が 7:2:1 の割合に含まれた Active lipid と称するものに、強力な膜流動性を高める作用があると唱えている。筆者らは、老齢マウス脳のシナプトソームを PC ミセルで処理することによって、アセチルコリン放出活性の回復をみている。

生体膜を構成するリン脂質のなかでユニークな存在のものに PS がある。この PS は脂質二重層の内側おもに分布していて、膜内面に陰性荷電を与え、疎水性部分に高度不飽和脂肪酸を多く含んでいる。PS は比較的少量成分なので、わずかな外来性の PS によって修飾を加えやすいと考えられる。*in vitro* の系で、PS の添加によって Na^+ , K^+ -ATPase 活性やアデニレートシクラーゼ活性が増強されることが知られている。ニューロンのシナプス機能も、アセチルコリンの放出活性が *in vitro*, *in vivo* の系で PS によって促進されることが Pepeu らの一連の研究によって示されてきた。若齢(3 か月齢)と老齢前期(19 か月齢)のラットの頭頂葉皮質におけるアセチルコリンの放出をマイクロ透析法(microdialysis)で測定するようにおいて、ウシ脳の PS 精製標品の腹腔注射(15 mg/kg)による効果が調べ

られた¹⁶⁾。老齢脳のアセチルコリン放出は若齢のに比べて40%低下していたが、PSを8d投与したところ、6割程度の回復が認められた。

シナプス機能のモジュレーターとして作用する脂質として、ガングリオシドが知られている(文献17にガングリオシドの神経機能モジュレーション作用がまとめられている)。ガングリオシドはシアル酸を1~6個含む酸性の糖脂質で、シナプス膜に多いことから神経伝達機能の調節にかかわっているのではないかと想像されているものである。ガングリオシドはシナプス膜脂質のなかでは微量成分であるが、わずかな増量によって膜流動性を高めるので、シナプスからのアセチルコリン放出促進、すなわちシナプスの若返りが期待される³⁾。

シナプス伝達の効率化は、シナプスがよく使われるほどよくなること、すなわちシナプスには可塑性のあることが神経科学の領域で関心を集めている。記憶の一時中枢と想定される海馬のニューロンに頻回に刺激を与えると、シナプス伝達効率の上昇が長時間にわたって認められる。この現象は長期増強(long-term potentiation, LTP)と呼ばれ、その分子レベルの解析から記憶のメカニズムが解けるかもしれないと注目されているモデルである。筆者らは加藤宏教授らのグループ(山形大医・生理)と協力して、ガングリオシドがLTPを促進することを見だしている¹⁸⁾。その作用機作としては、上に述べた前シナプスにおけるアセチルコリン放出促進効果の寄与のほか、ガングリオシドが後シナプスの情報伝達機構を活性化することも考えられる。いずれにしても、ガングリオシドはシナプス可塑性の発現を調節する一要因であることが示唆された。

おわりに

生体の老化にともなう脂質の変化を、脳に焦点を絞って細胞膜脂質と神経機能を関連づけながら解説した。脳に特徴的な性質として可塑性の問題をとりあげ、神経細胞膜脂質の修飾による神経機能改善の可能性に触れた。最後に述べたガングリオシドには神経線維を伸展させる効果も広く知られているが、本小文に含めることができなかったので文献を参照されたい¹⁹⁾。このガングリオシドによる神経線維伸展効果がニューロンネットワークの

改善に寄与して脳の可塑性を真に賦活するものであるかどうかは今後の研究に待たれる。

[平成4年(1992年)5月11日受理]

文 献

- 1) G. Rouser, G. Kritchevsky, *Adv. Lipid Res.*, **10**, 261 (1972)
- 2) Y. Tanaka, S. Ando, *Brain Res.*, **506**, 46 (1990)
- 3) A.C. Bonetti, A. Battistella, G. Calderini, S. Teolato, F.T. Crews, A. Gaiti, S. Algeri, G. Toffano, In: "Aging of the Brain" (D. Samuel *et al.* eds) Raven Press, New York, (1983) p. 171
- 4) G. Benzi, O. Pastoris, S. Tentoni, R.F. Villa, *Neurobiol. Aging*, **8**, 457 (1987)
- 5) S. Ando, Y. Tanaka, K. Kon, In: "Gangliosides and Neuronal Plasticity" (G. Tettamanti, *et al.* eds) Liviana Press, Padova, (1986) p. 105
- 6) G.D. Cherayil, *J. Neurochem.*, **16**, 913 (1969)
- 7) S. Ando, Y. Toyoda, Y. Nagai, F. Ikuta, *Japan. J. Exp. Med.*, **54**, 229 (1984)
- 8) S. Ando, Y. Toyoda, Y. Nagai, F. Ikuta, *Japan. J. Exp. Med.*, **55**, 1 (1985)
- 9) M. Soderberg, C. Edlund, K. Kristensson, G. Dallner, *Lipids*, **26**, 421 (1991)
- 10) G.J.C.G.M. Bosman, I.G.P. Bartholomeus, W. J. de Grip, *Gerontology*, **37**, 95 (1991)
- 11) 安藤 進, 蛋白質核酸酵素, **35**, 527 (1990)
- 12) J-M. Wrigglesworth, In "Structure and Properties of Cell Membrane", Vol I (Benga, G., ed) CRC Press, Florida, (1985) p. 137
- 13) A. Leon, L. Facci, G. Toffano, S. Sonnino, G. Tettamanti, *J. Neurochem.*, **37**, 350 (1981)
- 14) Y. Nagata, M. Ando, M. Iwata, A. Hara, T. Taketomi, *J. Neurochem.*, **49**, 201 (1987)
- 15) M. Lyte, M. Shinitzky, *Biochim. Biophys. Acta*, **812**, 133 (1985)
- 16) F. Casamenti, C. Scali, G. Pepeu, *Eur. J. Pharmacol.*, **194**, 11 (1991)
- 17) 安藤 進「老人性痴呆症と脳機能改善薬」(朝長正徳, 斎藤洋編)シーエムシー, 東京(1988) p. 126
- 18) S. Ando, Y. Tanaka, H. Waki, K. Kon, Y. Kudo, K. Ito, H. Kato, *J. Glycosphingolipid Res.*, **1**, 27 (1990)
- 19) 安藤 進, 神経精神薬理, **11**, 573 (1989)
- 20) 安藤 進, 日本臨床, **43**, 97 (1985)