

第5領域 (公募班員)

研究課題名	脳内コレステロール代謝調節によるアルツハイマー病発症予防・治療に関する研究		
研究代表者名	道川 誠	E-mail	michi@nils.go.jp
所属・職名	国立長寿医療センター研究所 アルツハイマー病研究部・部長		
研究分担者名			
分担者所属			

研究成果報告書

背景：脳内コレステロール代謝に関連する *ApoE*, *ABCA1*, *CYP46* などの遺伝子多型とアルツハイマー病発症との関連が指摘されているが、脳内コレステロール代謝の理解は十分ではない。脳脊髄液中には HDL のみ存在し、それがシナプス可塑性維持や神経修復ならびに Amyloid beta 蛋白(Abeta)除去に働くこと、脳内 HDL 産生には ApoE および ABCA1 が関与すること、ApoE による HDL 産生は ApoE のアイソフォーム依存的である(ApoE3>ApoE4)こと等が明らかになっている(細胞外 ApoE の作用)。一方、細胞内に取り込まれた ApoE は再利用され ApoE-HDL 粒子として分泌されるが、その効率に ApoE3 と ApoE4 で大きな違いがある(ApoE3>ApoE4)ことが分かっている(細胞内 ApoE の作用)。しかし、その詳細は不明である。

目的：(1) ApoE や ABCA1 等によって担われる脳内コレステロール代謝の主要経路の解明と HDL 産生における ApoE アイソフォーム依存性の分子機構の解明(細胞外 ApoE 作用)

(2) ApoE あるいは ABCA1 の機能制御による脳内コレステロール代謝調節を通してのアルツハイマー病病理発現の抑制法の開発。

(3)細胞内 ApoE 輸送機構ならびに細胞内 ApoE 機能の解明(細胞内 ApoE 作用)

方法：(1) ラット大脳皮質から調整した神経細胞培養に各種 ApoE 等のアクセプターを投与し培地中へ放出された脂質(コレステロールおよびリン脂質)を定量する。ApoE は、ヒト ApoE3, ApoE4, 変異 ApoE4、22 kDa-ApoE3 ならびに ApoE4 断片、10 kDa の C 末端断片を用いる。

(2)脳内 HDL 産生を増強させる薬剤スクリーニングを確立し、薬剤探索を行う。

(3) FLAG - ApoE リコンビナント蛋白質を用いたアフィニティーカラムを用いた実験から、ApoE に結合しうる蛋白質を同定後、その機能解析を行う。

結果：(1): (i)ApoE によるコレステロール搬出は N 末端断片のみでアイソフォーム依存的である、(ii)その理由は ApoE3 N 末端断片が持つシステイン間による disulfide 結合による 2 量体形成(分子間相互作用)にある、(iii)C 末端断片はそれ自体ではコレステロール搬出能が弱い、N 末端断片の作用を相加的に修飾する、(iv)しかし ApoE4 では、ドメイン相互作用のため C 末端断片が相加的に働かない(分子内相互作用)ことを明らかにし(論文投稿中)、ApoE アイソフォーム特異的 HDL 産生機構のほぼ全容が明らかにした。

(2) 薬剤スクリーニング系を確立し、複数の薬剤ライブラリーを用いて探索を開始した。

(3) 細胞内で ApoE4 に特異的に結合する蛋白質を複数同定することに成功した。

考察：目的(1)：細胞外における ApoE のアイソフォーム依存的機能(HDL 産生)のメカニズムのほぼ全容を解明した。一度分泌された細胞外の ApoE 構造を変えることは比較的困難であると現時点では考え、ApoE4 の劣った HDL 産生作用を補強するために細胞側因子である ABCA1 の発現増強を標的にしている。そのためのプロジェクトは、目的(2)に示すとおりである。これに関しては現在薬剤スクリーニング系を確立して探索を開始した。来年度以降、候補薬剤を同定し、Abeta 沈着などアルツハイマー病病理に対する影響をモデルマウスで確認する予定である。目的(3)：細胞内における ApoE のアイソフォーム依存的輸送機構に関しては、本年度において ApoE4 に特異的に結合する蛋白質を同定した。現在、この蛋白質の機能解析を行っている。