慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	アルツハイマー病における神経細胞死機序と細胞死抑制因子Humanin
Sub Title	
Author	新倉, 貴子(Niikura, Takako) 西本, 征央(Nishimoto, Ikuo)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.1 (2004. 3) ,p.9- 16
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	綜説
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040300-0009

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

慶應医学・81(1)：9～16，2004

綜　　説

アルツハイマー病における神経細胞死機序と細胞死抑制因子 Humanin

慶應義塾大学医学部薬理学教室
新倉貴子・西本征央
（にいくらたかこ・にしもといくお）

Key words： Alzhemier's disease, neurodegeneration, neuronal cell death, neuroprotective factor, Humanin

はじめに

アルツハイマー病（AD）は記憶障害，認知障害を主徴とする進行性の神経変性疾患である．患者数は全世界で1000万人以上といわれ，老人性痴呆の原因として最も頻度が高い．罹患率が加齢と共に増加するため，高齢化が進む現代においては，ADの早期診断，予防，治療法の確立は必須である．しかしながら，現在のところ早期診断および予防法は確立していない．治療薬については，ADで最も障害を受けるとされているコリン作動性神経の活動を高めるためのアセチルコリン分解酵素阻害剤が用いられているが，あくまで対症療法であり根治性はない．そのため，ADの病態機序を基盤とした治療薬開発のための研究が数多く為されている．

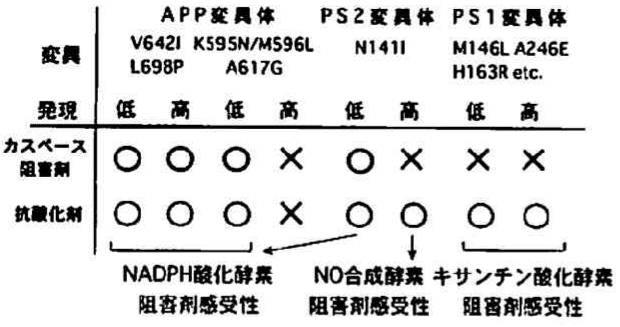
Alois Alzheimerによる1907年の最初の報告で，大脳における神経細胞の脱落，アミロイド斑（または老人斑）および神経原線維変化が観察され，以後これらがADの病理学的三大主徴とされている．ADの病因は老人斑の主成分であるベータアミロイド（Aβ）であり，その異常な凝集によって神経細胞死が誘導されるという仮説に基づいて，Aβの産生抑制や分解促進によってADを治療しようとする方針での治療法開発が進行している．しかし，Aβの過剰発現により多数の老人斑の形成を促したトランスジェニックマウスにおいて神経細胞死が全く認められないことなどから，AβがAD病態発生の主因であるという説に異を唱える研究者も多く未だ結論は出ていない．一方，ADによる痴呆などの臨床症状や顕著な脳の萎縮は，神経細胞の脱落に起因するものであることから，神経細胞死の阻止によりADの根治が期待できる．この神経細胞死を標的とした治療法確立のためには，ADにおける神経細胞死機序を解明することが必要不可欠である．そこで，著者らのグループでは，単一の遺伝子の変異によりADが引き起こされる家族性AD（FAD）の原因遺伝子変異体を用いて，神経細胞死機序の解析を実施した．さらに，この神経細胞死を抑制する因子の探索を実施し，新規の細胞死抑制因子Humanin（HN）を同定した．

FAD遺伝子変異体による神経細胞死

FAD原因遺伝子としては現在までに，Aβの前駆体であるアミロイド前駆体蛋白質（APP），プレセニリン1（PS1）およびプレセニリン2（PS2）が同定されている[1~3]．FAD変異体により神経細胞死が誘導されることは，ロンドン型APP変異体V642I-APPで初めて報告された[4]．その後，PS2の変異体[5]，PS1の変異体[6]，そしてスウェーデン型APP変異体（K595N/M596L-APP；NL-APP）[7]が *in vitro* で神経細胞死を誘導することが報告され，全てのFAD遺伝子の変異体が神経細胞死を惹起することが確認された．

FAD遺伝子変異体による神経細胞死は，FAD変異体蛋白質を過剰に発現させることで誘導される．その機序を解析する際に，過剰発現ではなく内在性の発現量と同程度のFAD変異体蛋白質でも神経細胞死を誘導するのだろうか，という疑問が起こった．そこで，昆虫ホルモンであるエクジソンによる誘導発現系を用いて，1細胞あたりのFAD変異体蛋白質の発現量を安定的に自在に調節できる系を確立した．つまり，エクジソンの量に比例して目的蛋白質の発現量を変化させることが可能な系である．この系を用いてFAD変異体の誘導する神経細胞死について検討した(第1図)[8]．

まず，ロンドン型APP変異体V642I-APPは，内在性蛋白質と同程度の低発現量でも細胞死を誘導することが分かった[7]．そこで，1細胞あたりの変異体蛋白質の量が内在性と同程度の低発現と過剰発現と同程度の高発



第1図　FAD原因遺伝子変異体による神経細胞死機序
APP, PS1およびPS2のそれぞれの変異体を，培養神経細胞に内在性と同程度の低発現(低)と過剰発現と同程度の高発現(高)した際に惹起される神経細胞死の，カスペース阻害剤と抗酸化剤に対する感受性を示した．O：感受性あり，X：感受性なし．抗酸化剤が抑制する活性酸素種産生因子は細胞死機序により異なる．詳細は本文参照．

現でのFAD変異体蛋白質が誘導する神経細胞死機序を明らかにするため，細胞死誘導に関与する因子の阻害剤を用いてその効果を検討した．その結果，V642I変異による神経細胞死は，低発現量でも高発現量でも，カスペース阻害剤DEVDと抗酸化剤GEE（glutathione ethyl-ester）によって抑制されるアポトーシス型細胞死であった．さらに，GEEにより抑制される活性酸素種産生に関与する分子のうち，V642I変異が活性化させるのはNADPH酸化酵素であることが，特異的阻害剤アポシニンを用いて確認できた．この細胞死にはまた，百日咳毒素PTXで抑制される三量体G蛋白質Goが関与することが明らかとなった．一方，スウェーデン型APP変異体NL-APPも，低発現量で神経細胞死を誘導し，この細胞死機序はV642I-APPと同様であることが分かった．しかし，V642I変異とは異なり，高発現量ではDEVD，GEEどちらの阻害剤でも抑制されない細胞死を誘導し，非アポトーシス型細胞死機序を活性化させると考えられた．また，野生型APPは低発現量では細胞死を誘導しないが，高発現では弱い細胞毒性を示し，この細胞死はDEVD及びGEEで抑制されない非アポトーシスであった．NL-APPの高発現時には，この野生型APPの非アポトーシス型細胞死と同じ経路が活性化されることが推測される．V642I-APPの高発現による細胞死は，DEVDなどのアポトーシス阻害剤を添加すると，野生型APPと同等の細胞死率を示した．この結果は，V642I-APPの高発現による細胞死の一部はこの野生型APPの高発現による細胞死を含んでおり，DEVDなどの阻害剤で抑制される神経細胞死機序はFAD変異依存性に特異的に起こることを示唆している．また，APPの変異体のうち，Aβの過剰産生をもたらすがADは起こさず脳血管障害を起こすオランダ型遺伝性アミロイド症の変異体A617G-APPは，野生型APPと同様に，低発現量では細胞毒性を示さず高発現で低頻度の細胞死を誘導した．このことからも，FAD変異により，APPがADの病態に関連した神経細胞死を誘導していることが推察される．

APP同様，PSのFAD変異体についても，その細胞死機序を検討した[9]．PS2の変異体であるN141I-PS2も，低発現量で細胞死を惹起し，その細胞死はDEVD，GEE，アポシニンで抑制されたことから，V642I-APPと同一の細胞死機序を活性化させると考えられた．しかし，高発現による神経細胞死はDEVDでは抑制されずGEEで抑制されるものの，その標的はNADPH酸化酵素ではなくキサンチン酸化酵素であることが分かった．さらに，PS1の変異体M146L-PS1では，低発現，高発現ともにDEVDでは抑制されない細胞死を誘導した[10]．この細胞死機序では，活性酸素種産生分子のうち一酸化窒素合成酵素が活性化され，PTXで抑制されるがPTX感受性三量体G蛋白質Go/i以外の分子が関与することも分かった．

これらの結果から，FAD原因遺伝子変異体はその種類や発現量の違いによって，異なる細胞死経路を活性化させて神経細胞死を誘導することが明らかとなった．このことは，これらのFAD変異体によってADという同一の疾患が発症することと矛盾するようだが，ADの臨床病態の本質が神経脱落であることを鑑みると，たとえ細胞死機序が異なっていても，特定の脳の部位の神経細胞が特定の時期に細胞死を起こすならば同一の症状をもたらしても不思議ではない．また，FAD変異体はいずれも細胞毒性の高いAβ42の産生量もしくは細胞毒性のないAβ40に対する産生量比率を上昇させることが報告されており，Aβが老人斑の主成分であることと合わせると，神経細胞死そのものは異なる機序で起こっても，病理所見は同様となると推考される．

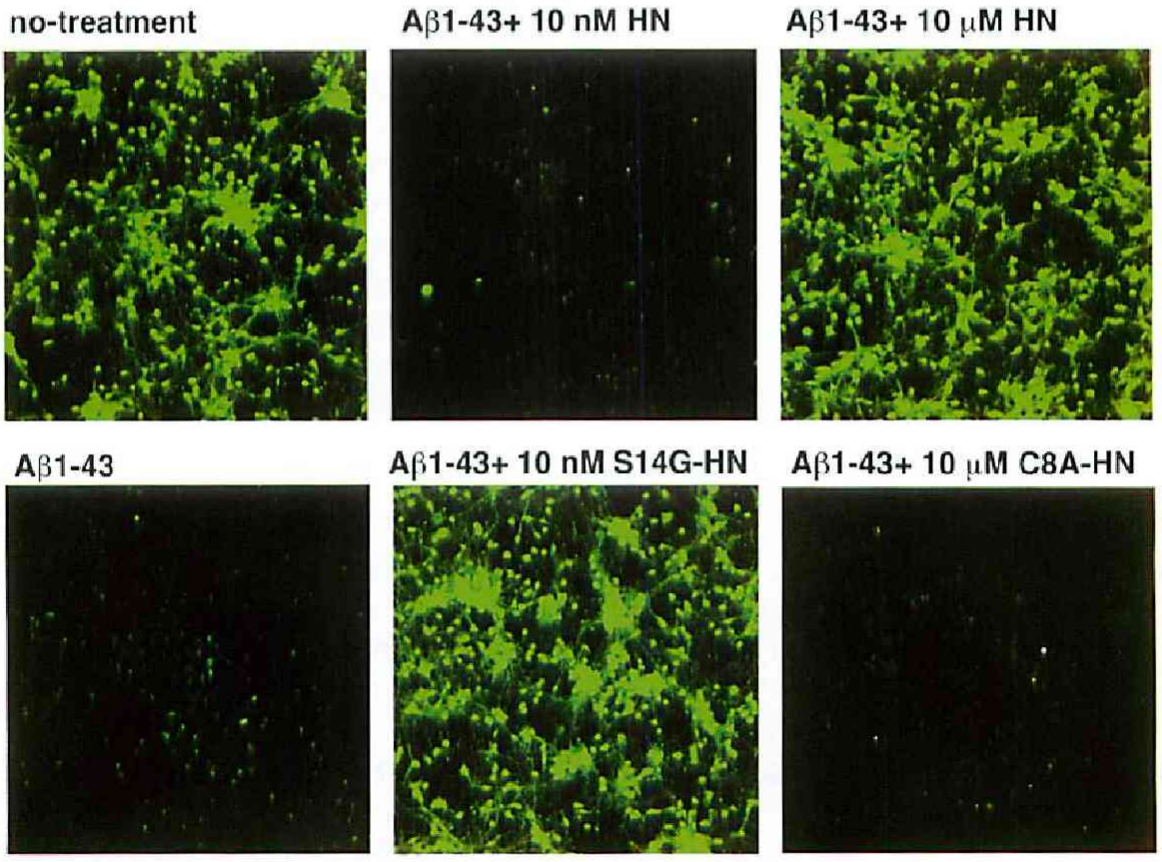
神経細胞死抑制因子の探索

ADにおける神経脱落の原因がこのように多様で複雑であると，特定の経路を標的として細胞死を抑制する治療薬や治療法では，孤発性ADはおろかFADすらも完治することは不可能であると予想される．そこで，細胞死機序にはこだわらずに，細胞死抑制のみを評価基準として抑制因子の同定を行う機能的スクリーニングを実施

した．採用したのは，D'Adamio らが開発した Death trap 法で[11]．発現 cDNA ライブラリーを株化細胞に導入し，cDNA がコードしている蛋白質を発現させた後に細胞死を誘導して，生存細胞から cDNA を単離するという方法である．生存細胞に含まれている cDNA には細胞死抑制に関する因子がコードされている確率が高いと予想される．この原法を，AD の神経細胞死に関与する細胞死抑制因子がより効率的に獲得できるように改良し，Disease-based death trap 法と名付けた．この方法では，培養細胞に神経細胞を，細胞死誘導因子として V642I-APP を用いた．Death trap 法では，全ての細胞に細胞死を誘導させる必要があるため，通常の一過性発現系ではなくエクジソンによる誘導発現によって全ての細胞に V642I-APP が高発現する細胞株を樹立した[12]．さらにライブラリーは AD 脳後頭葉の cDNA ライブラリーを用いた．後頭葉は AD 患者において萎縮などの程度が低く比較的正常な状態に保たれていることが多いことから，細胞死抑制因子がより多く発現している可能性が考えられたからである．このスクリーニングにより，V642I-APP が惹起する神経細胞死を抑制する因子として最も高頻度で単離された cDNA は，新規の短鎖ペプチドをコードしており，このペプチド因子をヒューマニン（Humanin：HN）と名付けた[13]（総説は 8 を参照）．

ヒューマニンは分泌性の細胞死抑制因子

HN は 24 残基のペプチド（MAPRGFSCLLLLTSEI DLPVKRRA）で，単離した cDNA もしくは 24 残基ペプチド部分をコードする ORF のみを挿入した発現プラスミドを細胞に導入することで V642I-APP による神経細胞死を抑制した．さらに，HN 遺伝子を導入した細胞の培養上清を V642I-APP を導入した細胞に添加することでも細胞死抑制が認められた．そこで，HN ペプチ



第 2 図　Aβ による神経細胞死に対する HN の効果　マウス大脳皮質神経細胞を未処理（no-treatment）もしくは HN とその誘導体存在下で 25 μM Aβ 1-43 により処理し，72 時間後に Calcein-AM で染色した．生細胞の蛍光が蛍光顕微鏡下で観察される．HN は 10 μM で細胞死を抑制するが，10 nM では効果を示さない．S14G-HN は 10 nM でも完全な細胞死抑制効果を持つ．C8A-HN は細胞死抑制効果の喪失した変異体である．

第1表　HNの細胞死抑制スペクトル

HNが有効な神経細胞死侵害刺激		
FAD変異体	APP	V642I, K595N/M596L, A617G, L698P
	PS1	V82L, V96P, Y115H, E120K, M139T/V/I
		V82L, V96P, Y115H, E120K, M139T/V/I
		I143T/F, M146L/V, H163R/Y, I213T, A231T
		A246E, L250S, A260V, C263R, P264L, P267S, R269H
		E280V/G, L286Y, E318G, G384A, L392V, C410Y
	PS2	N141I, M239V
Aβ		Aβ1-42, Aβ1-43, Aβ25-35
抗APP抗体		22C11
HNが無効な神経細胞死侵害刺激		
長鎖ポリグルタミン		
SOD1変異体		A4T, G85R, G93A
プリオンペプチド		PrP106-126
抗癌剤		エトポシド

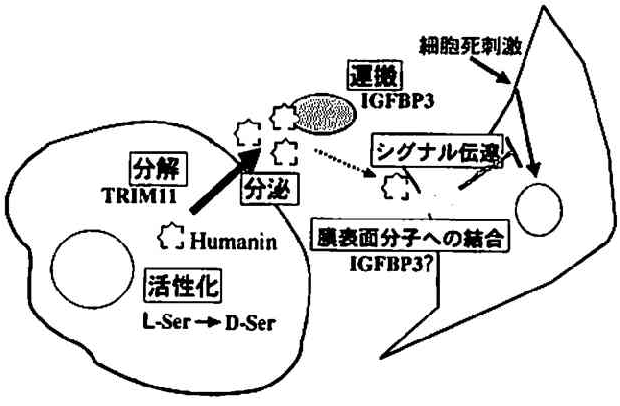
ドを合成して細胞の培地に加えたところ，合成ペプチドでも神経細胞死抑制活性があることが分かった．すなわち，HN遺伝子の導入により細胞内で合成されたHNペプチドは細胞外へ分泌されると考えられた．実際，HN遺伝子導入細胞の培養上清中にHNペプチドが含まれていることがimmunoblotにより確認された．また，HNの配列は，分泌蛋白質のシグナルペプチド予測プログラムで解析すると，シグナルペプチドとしての条件をほぼ満たしていた．GFP蛋白質のN末端にHNを付加することで，GFP蛋白質は細胞外に分泌され，HNは自己分泌だけでなく，シグナルペプチドとしても働くことが分かった[14]．

HNの細胞死抑制活性の特異性

HNは，V642I-APPを過剰発現させてもその細胞死を基礎レベル（遺伝子導入などの操作で自然に起こる細胞死）にまで抑制したことから，V642I変異特異的なアポトーシスだけでなく，野生型APPが高発現時に誘導する非アポトーシス型細胞死をも抑制すると考えられた．そこで，他のFAD変異体が誘導する神経細胞死についてもHNの効果を検討したところ，現在までに検討した全てのFAD変異体による細胞死に対して抑制効果が認められた（第1表）．これらの細胞死抑制はいずれも基礎レベルまでの完全な抑制であった．すなわち，HNはFAD変異体が惹起する複数の細胞死経路をいずれも抑制すると考えられた．さらに，ADにおける神経細胞死に関与するとされているAβについても，細胞毒性のあるAβ1-42，Aβ1-43，またはAβ25-35が初代大脳皮質神経細胞に誘導する細胞死をHNは完全に抑制した（第2図）．一方，Aβによる初代神経細胞の細胞死を抑制することが報告されているIGF-I，bFGF ADNFはいずれも，FAD変異体の誘導する細胞死の全てを抑制する効果は認められなかった[15]．これらの結果も含めて現在までに，AD関連の細胞死侵害刺激全てを抑制することが分かっているのは，HNのみである．HNはまた，Aβによる脳血管平滑筋細胞への細胞毒性も抑制することが最近報告された[16]．この脳血管平滑筋のAβによる細胞死は，ADにも高頻度で認められるアミロイドアンギオパチーで惹起される．一方，ハンチントン病の原因因子であるポリグルタミンや，家族性筋萎縮性側索硬化症の原因遺伝子であるSOD1変異体などのADに関連しない神経変性疾患原因因子が神経細胞に誘導する細胞死に対しては，HNは全く効果を示さなかった[13]．つまり，HNはどんな細胞死にも有効なのではなく，ADに関連した細胞死を特異的に抑制する細胞死抑制因子であると考えられる．

HNの細胞死抑制機序

HNがFAD変異体による神経細胞死を全て抑制したので，FAD変異体に共通するAβ産生亢進，特に細胞毒性の高いAβ42/43の産生に，HNが何らかの影響を与えているのではないかと考えた．そこで，*in vitro*の系でAβ42/43と細胞毒性のないAβ40ともに産生の増加が認められているNL-APPの過剰発現系を用いて



第3図　HNの産生と細胞死抑制作用機序　HNは細胞内で合成されると分泌するが，細胞内での産生はTRIM11により分解調節される．また，細胞内で第14SerがD体化することにより活性化される可能性がある．細胞外のHNはIGFBP3に結合し運搬される．AD侵害刺激に対しては，神経細胞の表面に存在する分子（受容体）に結合して，チロシンキナーゼを主とした細胞内シグナル経路を活性化させることで神経細胞死を抑制する．詳細は本文参照．

HN存在下でのAβ量を測定した．その結果，Aβ40もAβ42/43もHNの存在の有無により有意な産生量の差は認められず，HNは細胞におけるAβ産生を変化させないことが分かった[17]．

次に，HNにより細胞死が抑制される際，どのような細胞内シグナル因子が関与しているのかを検討した．一般に細胞死抑制や細胞生存シグナルに関与しているとされているMAPキナーゼ，チロシンキナーゼ，PI3キナーゼの阻害剤を用いたところ，HNによる細胞死抑制効果はチロシンキナーゼ阻害剤genistein存在下で消失し，他のキナーゼ阻害剤では影響されなかった[13]．同様の検討で，IGF-Iによる細胞死抑制には，PI3キナーゼとチロシンキナーゼの両方が関与することが分かった[18]．これらの結果は，HNの刺激により細胞内シグナル伝達経路が活性化されて細胞死抑制効果が発揮されること，そのシグナルにはチロシンキナーゼが中心的役割を果たすこと，HNによるシグナル経路はIGF-Iの細胞死抑制シグナル経路とは異なることを示唆している．また，放射性標識したHNペプチドは培養神経細胞に結合し，この結合は過剰な非標識体により阻害されたが細胞死抑制作用のないHN変異体では抑制されなかったことから，HNに特異的に結合する分子が神経細胞表面に存在することが示唆された．さらに，HNは細胞外から働くこと，低濃度でその効果を発揮すること，HNの構造活性相関が侵害刺激によらず同様であることなどの知見を考え合わせると，細胞表面のHN結合分子は受容体であると推測される．すなわち，HNは受容体に結合し，チロシンキナーゼを主とした細胞内シグナル伝達経路を活性化させて細胞死抑制効果を発揮すると考えられる（第3図）．

最近，HNが細胞内においてBcl-2ファミリーの細胞死促進因子Baxに結合し，そのアポトーシス誘導を阻害することが報告された[19]．このHNの細胞死抑制は，Baxが関与するアポトーシスについて細胞の種類や侵害刺激に関係なく有効であることから，HNが広範なBax依存性アポトーシス抑制作用を持つことを示している．HNの第9LeuをArgに置換した変異体L9R-HNは，Bax結合能がないためアポトーシス抑制活性もない．しかし，L9R-HN合成ペプチドをV642I-APP遺伝子を導入した神経細胞の培地に添加すると，完全な細胞死抑制効果を発揮した．このL9R-HNは，その遺伝子をV642I-APPと共導入した神経細胞では細胞死抑制効果を示さなかったが，L9R-HNは細胞外への分泌能を欠失した変異体であり，培養上清中にはL9R-HNペプチドは検出されなかった[13]．つまり，L9R-HN遺伝子導入により過剰に細胞内に発現されたL9R-HNはV642I-APPによるアポトーシス型細胞死を抑制することができず，これはL9R-HNが細胞外への分泌能を欠くために細胞外の作用標的（受容体）に作用できなかったためと考えられる．さらに，抗癌剤エトポシドによるアポトーシスの少なくとも一部はBaxが関与することが分かっているが，細胞外に添加したHNペプチドはエトポシドが初代神経細胞に誘導するアポトーシスを全く抑制しなかった．これらの知見を考え合わせると，HNは独立したふたつの細胞死抑制作用を有すると考えられる．つまり，細胞外から受容体結合によりADの侵害刺激特異的に作用する神経細胞死抑制作用と，細胞内でBaxに結合することによる細胞の種類に依存しないアポトーシス抑制作用である．エトポシドの例が示すように，HNが細胞外から作用する場合は後者の細胞内での作用は機能しないと考えられる．HNがこれらふたつの機能を同時に発揮する可能性としては，細胞内で合成されたHNの一部が細胞外へ分泌され細胞外からの神経細胞死抑制活性を示し，一部は細胞内に分布してBax抑制の働きをするという推測ができる．また，HN配列を分子内にドメインとして持つHN様蛋白質が本来は後者の作用を担っていることも考えられる．

HNの1次構造と細胞死抑制活性

HNのアミノ酸置換や欠損変異体ペプチドを作製し，1次構造と細胞死抑制活性の関連性について検討した[13,14]．HNの最大活性を示す必要最小領域は，第3Proから第19Proまでの17残基であった．全長HNの各アミノ酸をAlaに置換した検討で，第3Pro，第7Ser，第8Cys，第9Leu，第11Leu，第12Leu，第13Thr，第14Ser，もしくは第19ProのAla置換体は細胞死抑制活性を喪失し，これらのアミノ酸残基が重要であることが示された．これらのうち，第7SerをAlaに置換したS7A-HNは，そのN末端側に自己2量体化配列（EFLIVIKS）を付加することで細胞死抑制活性が回復した．*In vitro*のpull-down assayによっても，HNは2量体化するがS7A-HNはしないことが分かった．これらのことから，HNが細胞に作用する際には，自己2量体化が必須であることが明らかとなった[20]．

第14番目のSerをGlyに置換したS14G-HNは，HNの細胞死抑制活性が1-10 μMで発揮されるのに対し，1000分の1の1-10 nMで完全な細胞死抑制を示した．同様の活性の上昇は，第14 Serを通常のL体ではなくD体アミノ酸に置換したD-Ser14-HNでも認められた[20]．第7SerをD体化しても活性に影響がないことから，アミノ酸のD体化による活性上昇は第14Serに特異的なものと考えられる．この*in vitro*での結果から，生体内でもHNペプチドの第14Serが修飾（異性化）を受けて活性化することが示唆され，Gly置換による活性の上昇はこのSer残基の翻訳後修飾を模倣した結果ではないかと考えられた．なお，リン酸化Serを含むペプチドについても検討したが，第14Serをリン酸化しても有効濃度は1-10 μMと，HNと変わりなかった．さらに，蛋白質分解酵素の認識部位となりうる第4Argと第6Pheの両方をAlaに置換し，第14SerをGlyに置換したHNの置換体AGA-HNG（配列：MAPAGASCLLLLTGEIDLPVKRRA，下線部は置換したアミノ酸)は，S14G-HNよりさらに低濃度の100-300 pMで完全に神経細胞死を抑制した．このように，HNの1次構造を変化させることで，より活性が高く安定な置換体を得られると考えられる．

HNの生体内での発現と結合分子による調節

抗HN抗体を用いた免疫組織染色により，HN抗体陽性の神経細胞がAD脳後頭葉に認められた．この結果は，HN cDNAがAD脳後頭葉のcDNAライブラリーから単離された事実と良く符合している．一方，同年代の正常脳においては陽性神経細胞は認められなかった．抗体陽性のグリア細胞も，AD脳においては数多く認められたが，正常脳ではわずかであった[21]．これらの結果から，HNの脳での発現はADの病態依存的に何らかの発現調節が為されることが推察された．また，正常マウス組織のimmunoblotによる解析では，抗HN抗体陽性のバンドは脳では検出されなかった．陽性バンドが認められたのは精巣で，加えて3週齢では大腸で発現が認められたが12週齢では検出されなかった．これらのことから，正常組織ではHNは主に脳以外で発現し，消化管での発現は年齢依存的に調節される可能性が考えられた．

HN産生調節については，転写および翻訳レベルでの機構は未だ明らかとなっていないが，HNが翻訳後に産生調節を受けることが分かっている．HNの結合分子をyeast two-hybrid法で探索したところ，tripartite motif protein（TRIM）family分子のひとつTRIM11がHNに特異的に結合する分子として同定された[22]．TRIM11はTRIM family共通のRING finger，B-box，coiled-coilの3つのドメインとB30.2と呼ばれる独自のドメインを持ち，HNへの結合にはcoiled-coilとB30.2の両方のドメインが必要であった．RING fingerドメインはユビキチンE3リガーゼとして働くことが示唆されており，実際，過剰発現したTRIM11存在下ではHNの発現が消失するが，RING fingerドメインの一部を欠損させるかもしくはプロテアソーム阻害剤を用いるとHNの発現は回復した．TRIM11のmRNAの発現は脳だけでなく多くの組織に認められることから，TRIM11の結合によるHNの分解促進による発現調節は，全ての組織において共通であると考えられる．

また，血中に多く存在しIGF-I/IIの運搬を担っていることで知られるIGFBP3（insulin-like growth factor binding protein 3）がHNに結合することが明らかとなった[23]．前述したように，HNは細胞外へ分泌されることから，脳以外の組織で産生されたHNがIGFBP3に結合することで，全身に運ばれる可能性が考えられる．さらに，S14G-HNはIGFBP3存在下で非存在下の10分の1の濃度で細胞死抑制効果を示したことから，生体内においてもIGFBP3のHNへの結合がHNの作用の亢進を促すと推測される．

おわりに

神経細胞死はADの中心病態でありながら，その機序の解明は必ずしも進んでいるとはいえない．私達は，FAD原因遺伝子変異体が誘導する神経細胞死を詳細に解析することで，FADにおける神経細胞死が遺伝子の種類や変異体の種類などの条件依存的に，複数の細胞死経路の単独または同時活性化により誘導されることを明らかにした．この結果は，特定の細胞死経路を阻害することでADの神経細胞死を抑制することを目的とした方法では全てのADに有効な治療薬は得られないという結論を導き，細胞死を標的としたAD治療薬開発の困難さを示すこととなった．一方，細胞死経路にこだわらない探索方法で神経細胞死抑制因子HNを同定した．HNは，全てのFAD変異体に加えAβの細胞死も細胞死機序に関わらず抑制するが，AD以外の神経変性疾患関連因子による神経細胞死には効果がないという特長を持ち，HNがAD治療薬として優れていることを示唆している．同時に，HNが細胞表面の分子（おそらくは受容体）を介した細胞内シグナル経路の活性化という唯一の細胞死抑制機序によって，AD関連の全ての侵害因子による神経細胞死を抑制することから，やはりADの侵害因子による細胞死には何らかの共通点があると推測される．その完全な理解には更なる解析が必要であるが，その共通点が明らかになれば，ADの99%以上を占める原因の不明な孤発性ADの病態解明にも役立つと期待できる．HNは24残基という短鎖ペプチドであり，そのアミノ酸置換により低濃度で有効な置換体が作出できることから，HNそのものが治療薬として有望である．加えて，HNの生体内産生調節に関与する分子を制御するというAD治療法も可能であろう．HNの作用標的は細胞死であり，現在世界の多くのグループが開発中のAβを標的とした治療法とは異なることから，HNをシードとした治療法とAβ療法を併用することでより有効な治療が可能となり，ADの根治が実現することを期待している．

文　献

1) Goate A, Chartier-Harlin M-C, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, Giuffra L, Haynes A, Irving N, James L, Mant R, Nweton P, Rooke K, Roques P, Talbot C, Pericak-Vance M, Roses A, Williamson R, Rossor M, Owen M, Hardy J：Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. Nature 349：704-706, 1991

2) Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Chi H, Lin C, Li G, Holman K, Tsuda T, Mar L, Foncin J-F, Bruni AC, Montesi MP, Sorbi S, Rainero I, Pinessi L, Nee L, Chumakov I, Pollen D, Brookes A, Sanseau P, Polinsky RJ, Wasco W, Da Silva HAR, Haines JL, Pericak-Vance MA, Tanzi RE, Roses AD, Fraser PE, Rommens JM, St George-Hyslop PH：Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. Nature 375：754-760, 1995

3) Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Liang Y, Chi H, Lin C, holman K, Tsuda T, Mar L, Sorbi S, Nacmias B, Piacentini S, Amaducci L, Chumakov I, Cohen D, Lannfelt L, Fraser PE, Rommens JM, St George-Hyslop PH：Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. Nature 376：775-778, 1995

4) Yamatsuji T, Okamoto T, Takeda S, Fukumoto H, Iwatsubo T, Suzuki N, Asami Okada A, Ireland S, Kinae TB, Nishimoto I：G-protein-mediated neuronal DNA fragmentation by familial Alzheimer's disease-associated V642 mutants of APP. Science 272：1349-1352, 1996

5) Wolozin B, Iwasaki K, Vito P, Ganjei JK, Lacana E, Sunderland T, Zhao B, Kusiak JW, Wasco W, D'Adamio L：Participation of presenilin 2 in apoptosis：Enhanced basal activity conferred by an Alzheimer mutation. Science 274：1710-1713, 1996

6) Weihl CC, Ghadge GD, Kennedy SG, Hay N, Miller RJ, Roos RP：Mutant presenilin-1 induces apoptosis and downregulates Akt/PKB. J Neurosci 19：5360-5369, 1999

7) Hashimoto Y, Niikura T, Ito Y, Nishimoto I：Multiple mechanisms underlie neurotoxicity by different types of Alzheimer's disease mutations of amyloid precursor protein. J Biol Chem 275：34541-34551, 2000

8) Niikura T, Hashimoto Y, Tajima H, Nishimoto I：Death and survival of neuronal cells exposed to Alzheimer's insults. J Neurosci Res 70：380-391, 2002

9) Hashimoto Y, Ito Y, Arakawa E, Kita Y, Terashita K, Niikura T, Nishimoto I：Neurotoxic mechanisms triggered by Alzheimer's disease-linked mutant M146L presenilin 1：involvement of NO synthase via a novel pertussis toxin target. J Neurochem 80：426-437, 2002

10) Hashimoto Y, Niikura T, Ito Y, Kita Y, Terashita K, Nishimoto I：Neurotoxic mechanisms by Alzheimer's disease-linked N141I mutant of presenilin2.. J Pharmacol Exp Ther 300：736-745, 2002

11) Vito P, Lacana E, D'Adamio L：Interfering with apoptosis：Ca(2+)-binding protein ALG-2 and Alzheimer's disease gene ALG-3. Science 271：521-525, 1996

12) Niikura T, Murayama N, Hashimoto Y, Ito Y, Yamagishi Y, Matsuoka M, Takeuchi Y, Aiso S, Nishimoto I : V642I APP-inducible neuronal cells : a model system for investigating Alzheimer's disorders. Biochem Biophys Res Commun 274 : 445-454, 2000
13) Hashimoto Y, Niikura T, Tajima H, Yasukawa T, Sudo H, Ito Y, Kita Y, Kawasumi M, Kouyama K, Doyu M, Sobue G, Koide T, Tsuji S, Lang J, Kurokawa K, Nishimoto I : A rescue factor abolishing neuronal cell death by a wide spectrum of familial Alzheimer's disease genes and Aβeta. Proc Natl Acad Sci USA 98, 6336-6341, 2001 Correction in : Proc Natl Acad Sci U S A 98 : 12854, 2001
14) Yamagishi Y, Hashimoto Y, Niikura T, Nishimoto I : Identification of essential amino acids in Humanin, a neuroprotective factor against Alzheimer's disease relevant insults. Peptides 24 : 585-595, 2003
15) Hashimoto Y, Niikura T, Ito Y, Sudo H, Hata M, Arakawa E, Abe Y, Kita Y, Nishimoto I : Detailed characterization of neuroprotection by a rescue factor Humanin against various Alzheimer's disease-relevant insults. J Neurosci 21 : 9235-9245, 2001
16) Jung SS, & Van Nostrand WE : Humanin rescues human cerebrovascular smooth muscle cells from Abeta-induced toxicity. J Neurochem 84 : 266-72, 2003
17) Hashimoto Y, Ito Y, Niikura T, Shao Z, Hata M, Oyama F, Nishimoto I : Mechanisms of neuroprotection by a novel rescue factor Humanin from Swedish mutant amyloid precursor protein. Biochem Biophys Res Commun 283 : 460-468, 2001
18) Niikura T, Hashimoto Y, Okamoto T, Abe Y, Yasukawa T, Kawasumi M, Hiraki T, Kita Y, Terashita K, Kouyama K, Nishimoto I : Insulin-like growth factor I (IGF-I) protects cells from apoptosis by Alzheimer's V642I mutant amyloid precursor protein through IGF-I receptor in an IGF-binding protein-sensitive manner. J Neurosci 21 : 1902-1910, 2001
19) Guo B, Zhai D, Cabezas E, Welsh K, Nouraini S, Satterthwait AC, Reed JC : Humanin peptide suppresses apoptosis by interfering with Bax activation. Nature. 423 : 456-61, 2003
20) Terashita K, Hashimoto Y, Niikura T, Tajima H, Yamagishi Y, Ishizaka M, Kawasumi M, Chiba T, Kanekura K, Yamada M, Nawa M, Kita Y, Aiso S, Nishimoto I : Two serine residues distinctly regulate the rescue function of Humanin, an inhibiting factor of Alzheimer's disease-related neurotoxicity : functional potentiation by isomerization and dimerization. J Neurochem 85 : 1521-1538, 2003
21) Tajima H, Niikura T, Hashimoto Y, Ito Y, Kita Y, Terashita K, Yamazaki K, Koto A, Aiso S, Nishimoto I : Evidence for *in vivo* production of Humanin peptide, a neuroprotective factor against Alzheimer's disease-related insults. Neurosci Lett 324 : 227-231, 2002
22) Niikura T, Hashimoto Y, Tajima H, Ishizaka M, Yamagishi Y, Kawasumi M, Nawa M, Terashita K, Aiso S, Nishimoto I : A tripartite motif protein TRIM11 binds and destabilizes Humanin, a neuroprotective peptide against Alzheimer's disease-relevant insults. Eur J Neurosci 17 : 1150-1158, 2003
23) Ikonen M, Liu B, Hashimoto Y, Ma L, Lee K-W, Niikura T, Nishimoto I, Cohen P : Interaction between the Alzheimer's survival peptide humanin and insulin-like growth factor-binding protein 3 regulates cell survival and apoptosis. Proc Natl Acad Sci USA 100 : 13042-13047, 2003