

- D.G., & Alessi, D.R. (2004) *EMBO J.*, **23**, 833–843.
- 6) Narkar, V.A., Downes, M., Yu, R.T., Embler, E., Wang, Y.X., Banayo, E., Mihaylova, M.M., Nelson, M.C., Zou, Y., Juguilon, H., Kang, H., Shaw, R.J., & Evans, R.M. (2008) *Cell*, **134**, 405–415.
  - 7) Hardie, D.G. (2004) *J. Cell Sci.*, **117**, 5479–5487.
  - 8) Okoshi, R., Ando, K., Suenaga, Y., Sang, M., Kubo, N., Kizaki, H., Nakagawara, A., & Ozaki, T. (2009) *Genes Cells*, **14**, 1429–1440.
  - 9) Oda, K., Arakawa, H., Tanaka, T., Matsuda, K., Tanikawa, C., Mori, T., Nishimori, H., Tamai, K., Tokino, T., Nakamura, Y., & Taya, Y. (2000) *Cell*, **102**, 849–862.
  - 10) Hofmann, T.G., Moller, M., Sirma, H., Zentgraf, H., Taya, Y., Droge, W., Will, H., & Schmitz, M.L. (2002) *Nat. Cell Biol.*, **4**, 1–10.
  - 11) D’Orazi, G., Cecchinelli, B., Bruno, T., Manni, I., Higashimoto, Y., Saito, S., Gostissa, M., Coen, S., Marchetti, A., Del Sal, G., Piaggio, G., Fanciulli, M., Appella, E., & Soddu, S. (2002) *Nat. Cell Biol.*, **4**, 11–19.
  - 12) Dauth, I., Kruger, J., & Hofmann, T.G. (2007) *Cancer Res.*, **67**, 2274–2279.
  - 13) Yoshida, K., Liu, H., & Miki, Y. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 5734–5740.

大越 林太郎<sup>1)</sup>, 久保 奈津実<sup>1)</sup>, 木崎 治俊<sup>2)</sup>,  
 中川原 章<sup>1)</sup>, 尾崎 俊文<sup>1)</sup>  
 (<sup>1)</sup>千葉県がんセンター研究所, <sup>2)</sup>東京歯科大学)

A novel molecular mechanism behind p53-dependent apoptosis in response to energetic stress  
 Rintaro Okoshi<sup>1)</sup>, Natsumi Kubo<sup>1)</sup>, Harutoshi Kizaki<sup>2)</sup>, Akira Nakagawara<sup>1)</sup>, and Toshinori Ozaki<sup>1)</sup> (<sup>1)</sup>Chiba Cancer Center Research Institute, 666-2 Nitona, Chuou-ku, Chiba 260-8717, Japan; <sup>2)</sup>Tokyo Dental College, 1-2-2 Masago, Mihama-ku, Chiba 261-8502, Japan)

## アンギオテンシン変換酵素の新しい顔： Aβ変換酵素

### 1. はじめに

数多くの研究から、アミロイド前駆体タンパク質 (amyloid precursor protein, APP) から産生されるアミロイドβタンパク質 (amyloid β-protein, Aβ) の重合や蓄積が、アルツハイマー病発症の要因とされている。分泌されるAβは、主にAβ40とAβ42の2種存在し、Aβ40がその9割を占める。Aβ42は重合能および神経毒性が強い分子であり、Aβ42の増加、またはAβ42/Aβ40比の増加がアルツハイマー病の発症を引き起こす原因であることが示唆されてい

る。一方、筆者らの研究から、単体で存在しうるAβ40は、抗酸化作用と抗Aβ42凝集作用を持つことによって神経保護作用を発揮することが明らかとなった。更に、筆者らは、毒性の強いAβ42をAβ40へ変換する酵素 (Aβ変換酵素) として、アンギオテンシン変換酵素 (angiotensin-converting enzyme, ACE) を同定した。ACEは、血圧調節に重要な酵素であり、高血圧症治療のために多くのACE阻害薬が臨床に用いられている。本稿では、新しく見出されたACEの持つAβ変換活性について紹介し、Aβ代謝及びアルツハイマー病発症におけるACEの役割について考察したい。

### 2. アルツハイマー病の発症機構における Aβ40とAβ42の異なる役割

アルツハイマー病は、認知症の原因のおおよそ60%を占める進行性の神経変性疾患である。APPがβおよびγセクレターゼで切断され、生じたAβが脳内に蓄積してアミロイドが沈着する。生理的条件下で産生・分泌されるAβは、主に2種類 (アミノ酸40個から成るAβ40ならびに42個から成るAβ42) あり、Aβ40:Aβ42比はほぼ10:1である。アルツハイマー病の発症機序にはアミロイドカスケード仮説が最も有力視され、広く受け入れられている。すなわち、Aβの凝集・沈着が引き金となって、それ以降の現象、すなわち神経原繊維変化、神経細胞脱落、引いては認知症を引き起こすという考え方である。この考え方は、1984年から1995年にかけて家族性アルツハイマー病原因遺伝子としてAPP、プレセニリン1、そしてプレセニリン2の3種類が発見され、この何れの遺伝子の変異もAβ42の増加、またはAβ42/Aβ40比の増加を引き起こすことが明らかになったことによって支持されている。更に、臨床病理学的研究では、大脳皮質のAβ42やアミロイド沈着の増加が認知機能障害を増悪する結果が得られている。しかし、一方で、Aβが神経保護作用を持つ分子であることを主張している研究者もいる。確かに、アミロイド沈着と認知機能障害が相関しないことや正常脳にもアルツハイマー病患者なみのアミロイド沈着が見つかっていることが知られている。また、脳内アミロイド沈着の増加に伴って酸化ストレスを表すマーカーが減少していくという報告や、脳脊髄液または血漿中のAβは脂質タンパク質の酸化を防ぐ作用を持つという報告もある。これらの状況を整理して理解することはできないだろうか。以下に筆者らの実験結果ならびに他の研究結果を基に一つの考え方を提案したい。

筆者らは、 $A\beta$ の神経毒性発揮のメカニズムに関する研究を行う中で、 $A\beta 42$ は強い毒性を発揮するが、驚くべきことに $A\beta 40$ は強い神経保護作用を持つことを発見した。そのメカニズムとして、 $A\beta 42$ は強い凝集性を持つために直ちに重合体を形成して神経毒性を発揮するが、単体で存在しうる $A\beta 40$ は遷移金属をキレートして活性酸素の発生を抑制することで細胞保護作用を発揮することを明らかにした<sup>1)</sup>。また、充分量の $A\beta 40$ が存在すると $A\beta 42$ の重合体形成・線維化を競合的に抑制し、 $A\beta 42$ の神経毒性を抑制することを*in vitro*及び*in vivo*実験で明らかにした<sup>2)</sup>(図1)。ヒトの病理組織の検討結果から、家族性以外の孤発性アルツハイマー病の脳内にも $A\beta 42$ が早期に沈着し、 $A\beta 42$ が発症の原因分子であることが示唆されている<sup>3)</sup>。また、家族性アルツハイマー病の原因遺伝子プレセニリン変異の中には、 $A\beta 42$ の産生を増大せず、 $A\beta 40$ 産生の減少のみを起こすタイプがあり、この結果は $A\beta 40$ の神経保護作用を示すという筆者らの発見を支持しているように思われる<sup>4)</sup>。更に、アメリカのKimらは、高いレベルの $A\beta 40$ が産生されても脳内アミロイド沈着が起こらず、逆に $A\beta 42$ の沈着を防ぐという結果をトランスジェニックマウスを用いた実験から得ている<sup>5)</sup>。この結果も、 $A\beta 42$ は生理条件下で直ちに凝集し神経毒性を持つが、単体で存在しうる $A\beta 40$ は、 $A\beta 42$ の凝集を抑制するという筆者らの結果

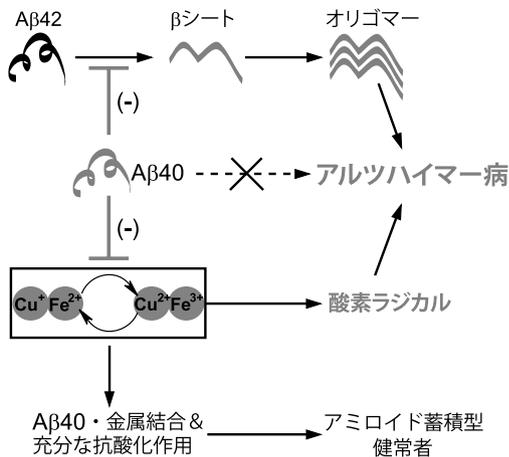


図1  $A\beta 40$ と $A\beta 42$ の異なる役割

$A\beta 42$ は凝集性が高く、random coilから $\beta$ シートに変換し、さらにオリゴマーを形成してアルツハイマー病を引き起こすと考えられている。遷移金属は、酸素ラジカルを産生して強い神経毒性を示すため、アルツハイマー病発症のもう一つの要因となっている。一方、 $A\beta 40$ は、 $A\beta 42$ のオリゴマー形成および遷移金属からの酸素ラジカル産生を阻害し、神経保護作用を有している。 $A\beta 40$ と遷移金属が結合して充分な抗酸化作用を示せば、アミロイド蓄積型の健常者に成りうる。

とよく一致している。すなわち、アルツハイマー病患者の脳内では、 $A\beta$ の神経毒性及び神経保護作用が同時に進行しているように思われる。この視点から考えれば、アミロイドカスケード仮説とアミロイド善玉仮説を矛盾なく説明でき、また、アルツハイマー病の予防・治療法としては、 $A\beta 42$ を減らし、 $A\beta 40$ を増やす方法が考えられる。

### 3. $A\beta$ 変換酵素としてのACE

上記考え方を基に筆者らは、もし細胞毒性の強い $A\beta 42$ からジペプチドを切り出して神経保護作用を持つ $A\beta 40$ を産生する酵素が存在すれば、その酵素活性を制御することによって脳内 $A\beta 42/A\beta 40$ の比や $A\beta$ の沈着を調節できる可能性があると考えた。筆者らは、こうした酵素の存在を予想してその同定を進めた。その結果、マウス脳ならびにヒト剖検脳において $A\beta 42$ から $A\beta 40$ を産生する酵素を発見し、それがACEであることを特定した<sup>6)</sup>(図2A)。さらに、ACE活性がアルツハイマー病脳で低下していること、スウェーデン型変異APP遺伝子を導入したトランスジェニックマウス(Tg2576)にACEの阻害剤であるカプトプリルを長期投与したところ、Tg2576マウス脳において、 $A\beta 42$ の沈着が著明に増強することを見出した<sup>6,7)</sup>。この結果は、ACEが $A\beta 42$ を $A\beta 40$ へ変換して、*in vivo*で $A\beta 42/A\beta 40$ の比を制御する可能性を示唆するものである。

ACEはN端とC端ドメインにそれぞれ活性部位を持つ。最近の研究によると、二つの活性ドメインが $A\beta 42$ 及び $A\beta 40$ に対して同等な分解能力を持つことが明らかにされている<sup>8)</sup>。興味深いことに、筆者らが、ACEの持つ $A\beta 42$ を $A\beta 40$ へ変換する活性がどちらのドメインに存在するかを検討したところ、N端ドメインにだけ存在することを発見した<sup>9)</sup>(図2BとD)。一方、アンギオテンシン変換活性は、ACEのC端ドメインに存在し、N端ドメインには殆ど検出されなかった<sup>9)</sup>(図2BとC)。筆者らの研究結果は、ACE阻害薬は降圧剤として広く使われているが、ACEのN端ドメインを阻害した場合には、 $A\beta 42$ を増加する恐れがあることを示唆している。従って、降圧効果を狙うには、ACEのC端ドメインを特異的に阻害する薬剤の開発が望ましい(図3)。また、アルツハイマー病の予防・治療の介入点としてACEのN端ドメイン活性を促進する方法が考えられる<sup>9)</sup>。

### 4. ACE遺伝子多型とアルツハイマー病

ACEは、アンギオテンシンI(AngI)からC端の2個のアミノ酸を切り離し、血圧上昇作用のあるアンギオテン

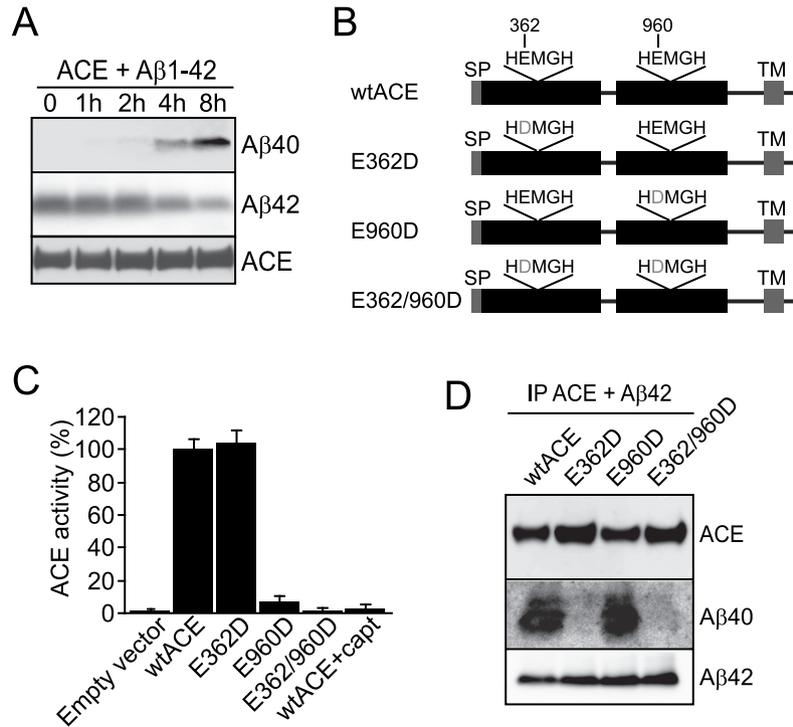


図2 ACEの持つAβ変換活性とアンジオテンシン変換活性の測定

A: 合成ペプチドAβ1-42をヒト腎臓由来の精製ACEと混合し、示されたインキュベーション時間(h)で産生されたAβ40と分解されたAβ42をそれぞれの特異抗体で検出した。この結果、ACEは、Aβ42をAβ40へ変換する活性(Aβ変換活性)を有することが認められた。

B: ACEの二つの活性ドメインのそれぞれ、あるいは両方に遺伝子変異を導入し、プロテアーゼ活性を不活性化したACE cDNAを作成した。Wt: 野生型; E362D: N端ドメイン不活性型; E960D: C端ドメイン不活性型; E362/960D: 両方ドメイン不活性型。HEMGH, メタロプロテアーゼ活性モチーフ。SP, シグナルペプチド。TM, 膜貫通ドメイン。

C: 野生型および変異型ACE cDNAを線維芽細胞にトランスフェクションし、細胞のTriton X-100可溶性画分のアンジオテンシン変換活性を測定した。アンジオテンシン変換活性は主にACEのC端ドメインに検出された。

D: 免疫沈降法による精製した野生型および変異型ACEを合成Aβ1-42と混合し、Aβ変換活性を検出した。その結果、Aβ変換活性はN端ドメインに存在することが明らかとなった。

シンII (AngII)を産生する酵素として1956年に初めて発見された。1988年にACEの遺伝子配列が決定され、ACEは1277アミノ酸からなる膜貫通型の糖タンパク質で、二つの活性中心(HEXXH)を有する亜鉛結合型メタロプロテアーゼであることが分かった。二つの活性部位は細胞外に存在し(図2と3)、膜から切断されると血液や脳脊髄液などに移行する。ACEの基質としては、AngI以外にブラジキニン、サブスタンスP、コレシストキニン、性腺刺激ホルモン放出ホルモン(LHRH)等多くのペプチドがある。生体内でもACEはN-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline

(AcSDKP)を分解し、造血幹細胞の成熟に関与していることが知られている。ACEは、血圧調節に役割を果たしているレニン・アンジオテンシン系の鍵分子で、脳内には独立したレニン・アンジオテンシン系が存在することも明らかとなっている<sup>10)</sup>。

同一個体の血漿中ではACEの量が一定レベルで保たれているが、血漿ACE量には、個体差がある。興味深いことに、個体間におけるACE量の違いは、ACE遺伝子のイントロン16に287塩基対のインサートがあるか無いかによって影響を受けている。このインサートがあるタイプは

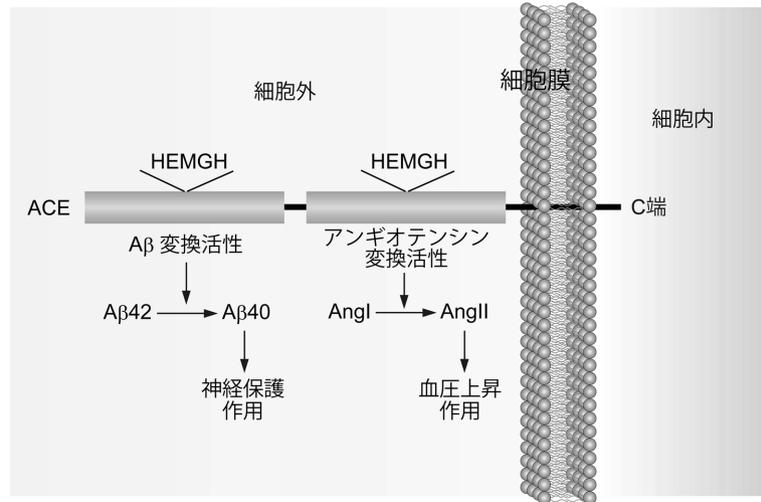


図3 ACEの異なる活性ドメインに存在するAβ変換活性とアンギオテンシン変換活性

ACEは、type I膜貫通型タンパク質で、そのN端側活性ドメインがAβ変換活性を持ち、C端側活性ドメインがアンギオテンシン変換活性を持つ。HEMGH、メタロプロテアーゼ活性モチーフ。

I (insertion) allele, 無いタイプはD (deletion) alleleと呼ばれ、D allele のホモ型であるDDタイプの個体が、I allele のホモ型IIタイプの個体より、血漿や組織のACEレベルは2倍前後高い。しかし、このACE遺伝子型は、血圧値と関連がないと報告されている。1999年にKehoeらは初めてI alleleがアルツハイマー病発症のリスクとなることを報告した<sup>11)</sup>。その後、アルツハイマー病やそれを含む認知障害に及ぼすこの遺伝子型の影響については多くの研究が行われ、Kehoeらの結果を否定する報告も数多く存在する。2004年及び2005年に複数の報告を総合したメタアナリシスが行われた結果、やはりI alleleがアルツハイマー病発症と正に相関することが認められた<sup>12,13)</sup>。

##### 5. ACE阻害薬とアルツハイマー病

高血圧症はアルツハイマー病を含めて認知症の危険因子とされており、臨床疫学研究では降圧剤投与が認知症の発症を抑制するという結果が報告されている。しかし、一方では抑制しないという結果も報告されており、ACE阻害薬は降圧剤として広く使用されているものの、ACEの阻害作用とアルツハイマー病分子病態との関連は未だ明らかではない。2004年にOhruいらは、ACE阻害薬服用群全体でみれば認知機能の進行に影響しないが、血液脳関門を通過するACE阻害薬服用群に着目すれば高血圧を持つアルツハイマー病患者の認知機能の低下を改善することを報告

した<sup>14)</sup>。しかし、2006年にKhachaturianらは、降圧剤を服用する3,000人の患者データを解析し、β阻害剤や利尿剤服用群ではアルツハイマー病の発症が低減するが、ACE阻害薬服用群ではアルツハイマー病発症が増加するという結果を示した。この研究は、ACE阻害薬全体を見ており、血液脳関門の通過の有無で種類ごとに分ける必要があると思われる。さらに、2009年にSinkらは、Ohruいらの報告を支持する結果を発表した。すなわち、血液脳関門を通過するACE阻害薬がアルツハイマー病の発症を低減するが、血液脳関門を通過しないACE阻害薬は逆にアルツハイマー病発症のリスクになっているという報告である<sup>15)</sup>。これらの作用は、血圧値とは無関係の点が興味深い。血圧調節とは別に中枢神経系においてレニン・アンギオテンシン系を遮断することによる作用、または、ACE阻害薬の新たな作用を示唆していると思われる。筆者らは、ACE阻害薬のなかには、ACEのN端ドメインのAβ変換活性およびC端ドメインのアンギオテンシン変換活性に対して、異なる阻害特異性を示すものがあることを見出した。すなわち、カプトプリルはAβ変換活性およびアンギオテンシン変換活性を同程度に阻害するが、エナラプリラトはAβ変換活性をより強く阻害した<sup>9)</sup>。今後は、服用したACE阻害薬の持つAβ変換活性阻害の特異性とアルツハイマー病発症との関連を検討する必要があると思われる<sup>9)</sup>。

## 6. おわりに

筆者らのアルツハイマー病モデルマウスを用いた研究から、長期的な ACE 阻害剤の投与が A $\beta$ 42 の沈着を増強し、アルツハイマー病の発症を促進する可能性が示唆された。一方、臨床では ACE 阻害薬やアンジオテンシン受容体阻害剤は高血圧症や心不全の主要な治療薬として長期にわたって投与される場合が多い。しかしながら、このことが、認知症の進行やアルツハイマー病発症にどの程度影響を与えるか、一部、疫学的調査の報告はあるものの、最終的な結論は出ていない。今後、さらに、疫学、神経病理学および遺伝子工学などの手段を駆使し、アルツハイマー病発症におけるレニン・アンジオテンシン系の関与の解明が望まれる。

## 謝辞

本稿で紹介した筆者らの研究成果は、多くの方々との共同研究によるものであり、ここに深謝いたします。これらの研究は科学研究費補助金、武田科学振興財団、加藤記念バイオサイエンス研究振興財団、金原一郎記念医学医療振興財団、鈴木謙三記念医科学応用研究財団等の支援を受けて行われました。

- 1) Zou, K., Gong, J.S., Yanagisawa, K., & Michikawa, M. (2002) *J. Neurosci.*, **22**, 4833–4841.
- 2) Zou, K., Kim, D., Kakio, A., Byun, K., Gong, J.S., Kim, J., Kim, M., Sawamura, N., Nishimoto, S., Matsuzaki, K., Lee, B., Yanagisawa, K., & Michikawa, M. (2003) *J. Neurochem.*, **87**, 609–619.
- 3) Iwatsubo, T., Odaka, A., Suzuki, N., Mizusawa, H., Nukina, N., & Ihara, Y. (1994) *Neuron*, **13**, 45–53.
- 4) Bentahir, M., Nyabi, O., Verhamme, J., Tolia, A., Horre, K., Wiltfang, J., Esselmann, H., & De Strooper, B. (2006) *J. Neurochem.*, **96**, 732–742.
- 5) Kim, J., Onstead, L., Randle, S., Price, R., Smithson, L., Zwizinski, C., Dickson, D. W., Golde, T., & McGowan, E. (2007) *J. Neurosci.*, **27**, 627–633.
- 6) Zou, K., Yamaguchi, H., Akatsu, H., Sakamoto, T., Ko, M., Mizoguchi, K., Gong, J. S., Yu, W., Yamamoto, T., Kosaka, K., Yanagisawa, K., & Michikawa, M. (2007) *J. Neurosci.*, **27**, 8628–8635.
- 7) Zou, K. & Michikawa, M. (2008) *Rev. Neurosci.*, **19**, 203–212.
- 8) Hemming, M.L. & Selkoe, D.J. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 37644–37650.
- 9) Zou, K., Maeda, T., Watanabe, A., Liu, J., Liu, S., Oba, R., Satoh, Y., Komano, H., & Michikawa, M. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 31914–31920.
- 10) von Bohlen und Halbach, O., & Albrecht, D. (2006) *Cell Tissue Res.*, **326**, 599–616.

- 11) Kehoe, P.G., Russ, C., McIlroy, S., Williams, H., Holmans, P., Holmes, C., Liolitsa, D., Vahidassr, D., Powell, J., McGleenon, B., Liddell, M., Plomin, R., Dynan, K., Williams, N., Neal, J., Cairns, N.J., Wilcock, G., Passmore, P., Lovestone, S., Williams, J., & Owen, M.J. (1999) *Nat. Genet.*, **21**, 71–72.
- 12) Elkins, J.S., Douglas, V.C., & Johnston, S.C. (2004) *Neurology*, **62**, 363–368.
- 13) Lehmann, D.J., Cortina-Borja, M., Warden, D.R., Smith, A.D., Slegers, K., Prince, J.A., van Duijn, C.M., & Kehoe, P.G. (2005) *Am. J. Epidemiol.*, **162**, 305–317.
- 14) Ohru, T., Tomita, N., Sato-Nakagawa, T., Matsui, T., Maruyama, M., Niwa, K., Arai, H., & Sasaki, H. (2004) *Neurology*, **63**, 1324–1325.
- 15) Sink, K.M., Leng, X., Williamson, J., Kritchevsky, S.B., Yaffe, K., Kuller, L., Yasar, S., Atkinson, H., Robbins, M., Psaty, B., & Goff, D.C., Jr. (2009) *Arch. Intern. Med.*, **169**, 1195–1202.

鄒 鞏<sup>1</sup>, 道川 誠<sup>2</sup>, 駒野 宏人<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 岩手医科大学薬学部神経科学講座,

<sup>2</sup> 独立行政法人 国立長寿医療研究センター

アルツハイマー病研究部)

A novel A $\beta$ -converting activity of angiotensin-converting enzyme and its role in Alzheimer's disease

Kun Zou<sup>1</sup>, Makoto Michikawa<sup>2</sup>, and Hiroto Komano<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Department of Neuroscience, School of Pharmacy, Iwate Medical University, 2-1-1 Nishitokuta, Yahaba, Iwate 028-3694, Japan; <sup>2</sup>Department of Alzheimer's Disease Research, National Institute for Longevity Sciences, National Center for Geriatrics and Gerontology, 36-3 Gengo, Morioka, Obu, Aichi 474-8522, Japan)

## mRNA 安定性制御による免疫応答調節機構

### 1. はじめに

自然免疫担当細胞は病原体の侵入をパターン認識受容体により検知し、感染排除応答を惹起すると共に、獲得免疫系を活性化し免疫記憶を誘導する<sup>1)</sup>。自然免疫におけるパターン認識受容体の一つとして Toll-like receptor (TLR) ファミリーが知られている。TLR はマクロファージや樹状細胞など自然免疫担当細胞に多く発現する I 型の膜タンパク質で細菌、ウイルス、真菌、寄生虫など様々な病原体由来の構造物を認識し細胞内にシグナルを伝える。シグナルカスケードを経て転写因子である NF- $\kappa$ B や、MAP キナーゼの下流で別の転写因子複合体 AP1 が核に移行し炎