

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

老年期痴呆研究会誌 (2003.12) 13巻:83～85.

アルツハイマー病と酸化ストレス

布村明彦, 千葉茂, Smith Mark A, Perry George

アルツハイマー病と 酸化ストレス

Alzheimer's Disease and Oxidative Stress

旭川医科大学医学部精神医学教室

布村明彦* (講師) 千葉 茂* (教授)

ケース・ウェスタン・リザーブ大学医学部病理学研究所

Mark A. Smith** (教授) George Perry** (教授)

1. はじめに

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) 脳における酸化ストレスの傷害として、蛋白質の酸化¹⁾、脂質の過酸化²⁾、およびDNAの酸化³⁾⁴⁾が知られている。最近、著者らは、AD脳組織の神経細胞内でRNAの酸化修飾産物である8-hydroxyguanosine (8OHG)が認められることを報告した⁵⁾⁻⁷⁾。

AD脳に存在する過酸化脂質やカルボニル化合物は架橋凝集物を形成して細胞内に残存する性質があるが、8OHGはヌクレオシドとしてより速く分解されると推定される⁸⁾。したがって、剖検脳において過酸化脂質やカルボニル化合物は酸化ストレスの履歴を示すマーカーであるのに対して、8OHGは動的な酸化ストレスのレベルを評価するのに適したマーカーといえる。

本稿では、酸化ストレスがAD脳で顕著に認められること、および、酸化ストレスがADの早期段階に生じると推定されることについて述べる。

2. 神経細胞内RNAの酸化はAD脳で顕著である AD脳22例と対照脳17例のmethacarn固定、パ

ラフィン包埋組織を用いて、8OHGの免疫染色 (1F7抗体; 米国Columbia大学Dr. Santella RMより恵与)を行った。8OHGの免疫反応は、前頭葉・側頭葉・後頭葉皮質、海馬神経細胞ではAD脳は対照脳に比べて著明に増強していたが、小脳プルキンエ細胞では両者に差がなかった。8OHG免疫反応は、細胞質優位の細胞内分布を示し、組織切片をDNaseで前処理してもほとんど減弱しなかったのに対してRNase前処理では著しく減弱した⁵⁾。したがって、AD脳で認められた8OHG免疫反応の大部分がRNAの酸化ヌクレオシドに由来すると考えられた。

半定量的解析として、前海馬支脚において、錐体細胞内8OHGの免疫反応強度optical densityを画像解析装置を用いて計測した⁵⁾。前海馬支脚における錐体細胞の8OHG免疫反応性は、AD群では対照群よりも有意に増強していた(図1-a)。なお、剖検時の死後経過時間や特定の死因が8OHG免疫反応性に影響することは否定されている⁵⁾。

* Akihiko NUNOMURA, M.D., Ph.D. (Assistant Professor) & Shigeru CHIBA, M.D., Ph.D. (Professor): Department of Psychiatry and Neurology, Asahikawa Medical College, Asahikawa.

** Mark A. SMITH, Ph.D. (Professor) & George PERRY, Ph.D. (Professor): Institute of Pathology, Case Western Reserve University, Cleveland.

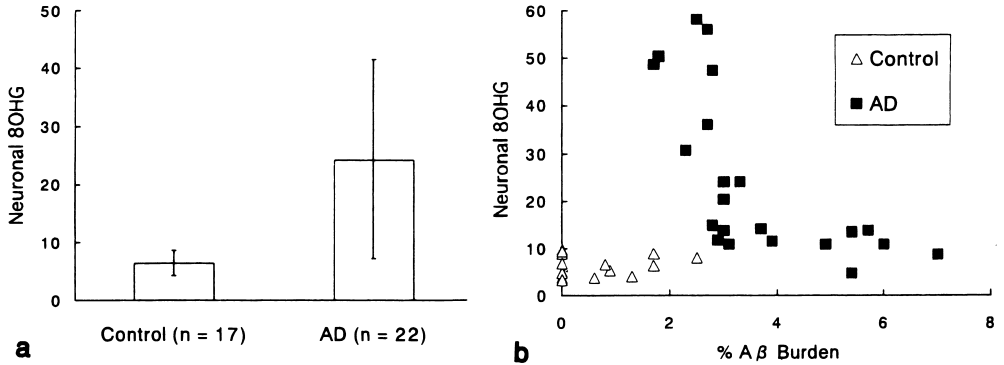


図1 Neuronal 8-hydroxyguanosine (8OHG), a marker of RNA oxidation, in Alzheimer's disease (AD)
 a : Relative scale of 8OHG immunoreactivity with 1F7 antibody in prosubiculum neurons of controls (age 62~86 years, average 73.6) and cases of AD (age 57~93 years, average 78.2). Values shown are the means with SD. The difference between controls and AD is significant by Mann-Whitney U test ($p < 0.0001$).
 b : The extent of amyloid β deposition (% A β burden) is significantly associated with a decrease in relative 8OHG in AD (Spearman's rank correlation, $r = -0.84$; $p = 0.0001$).

3. 神経細胞内RNAの酸化はADの早期段階に生じる

従来の *in vitro* の検討では、A β ペプチドが酸化ストレスを介して神経毒性を示すことや⁹⁾、A β 沈着周囲部のミクログリアが活性酸素の発生源になり得ることから¹⁰⁾、酸化傷害は、A β 沈着のカスケードの下流で生じるとみなされてきた。しかし、著者らの *in situ* での検討は、酸化傷害の指標がA β 沈着の程度と逆相関するという予想外の結果を示した。

著者らは、A β 沈着の組織に占める面積比を画像解析装置を用いて計測し、8OHGの免疫反応強度とA β 沈着の程度との関連性について検討した。8OHGの免疫反応は、A β 沈着が軽症のAD群で高度であり、A β 沈着が重症のAD群で軽度であった。また、AD群22例の半定量的検討では、8OHGの免疫反応強度とA β 沈着の程度との間に有意な逆相関が認められた(図1-b)。さらに、罹病期間が明らかなAD16例についてみると、8OHGの免疫反応強度とADの罹病期間との間に有意な逆相関が認められた(Spearmanの順位相関係数 $r = -0.59$, $p < 0.03$)。以上の結果は、RNAの酸化がADの早期段階に生じる変化であることを示唆している。

著者らは、加齢に伴って例外なくAD脳と同一の病理学的変化を示すダウン症候群脳において

8OHGを検出し、興味深い結果を得た⁷⁾。すなわち、ダウン症候群脳では、10~20歳代で神経細胞内8OHG免疫反応性の増大がもっとも顕著であり、A β 沈着が高度になる30歳代以後では8OHG免疫反応性は低下していた。これは、RNAの酸化がA β 沈着に先行することを支持する重要な所見である。

4. おわりに

AD発症機序を酸化ストレスの観点から解明するために、RNA酸化の指標である8OHGについてAD脳組織を用いて免疫組織化学的に検討した。神経細胞内RNAの酸化は、AD脳で顕著にみられる変化であり、また、この変化はADの病理学的カスケードの上流で生じると考えられる。ビタミンE, selegiline, ginkgo biloba, 抗炎症薬, estrogenなど、ADの発症率や進行速度を減少させると報告されている薬剤の多くは抗酸化作用を有していることから¹¹⁾、これらはADの初期あるいはsubclinicalな段階においてより有効であるかもしれない。

文献

1) Smith MA, Perry G, Richey PL, et al: Oxidative damage in Alzheimer's disease. *Nature* 382: 120-121, 1996

- 2) Sayre LM, Zelasko DA, Harris PLR, et al : 4-Hydroxynonenal-derived advanced lipid peroxidation end products are increased in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 68 : 2092-2097, 1997
 - 3) Mecocci P, MacGarvey U, Beal MF : Oxidative damage to mitochondrial DNA is increased in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 36 : 747-751, 1994
 - 4) Gabbita SP, Lovell MA, Markesbery WR : Increased nuclear DNA oxidation in the brain in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 71 : 2034-2040, 1998
 - 5) Nunomura A, Perry G, Pappolla MA, et al : RNA oxidation is a prominent feature of vulnerable neurons in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 19 : 1959-1964, 1999
 - 6) Nunomura A, Perry G, Zhang J, et al : RNA oxidation in Alzheimer and Parkinson diseases. *J Anti-Aging Med* 2 : 227-230, 1999
 - 7) Nunomura A, Perry G, Hirai K, et al : Neuronal RNA oxidation in Alzheimer's disease and Down's syndrome. *Ann NY Acad Sci* 893 : 362-364, 1999
 - 8) Dani SU : Molecular turnover and aging. In *Principles of Neural Aging* (edited by Dani SU, Hori A, Walter GF), Elsevier, Amsterdam, 1997, pp 83-101
 - 9) Behl C, Davis JB, Lesley R, et al : Hydrogen peroxide mediates amyloid β protein toxicity. *Cell* 77 : 817-827, 1994
 - 10) Colton CA, Gilbert DL : Production of superoxide anions by a CNS macrophage, the microglia. *FEBS Lett* 223 : 284-288, 1987
 - 11) Smith MA, Hirai K, Nunomura A, et al : Mitochondrial abnormalities : a primary basis for oxidative damage in Alzheimer's disease. *Drug Dev Res* 46 : 26-33, 1999
- 追記：脱稿後，以下の2編を公表したので参照いただきたい。
- ・ Nunomura A, Perry G, Pappolla MA, et al : Neuronal oxidative stress precedes amyloid- β deposition in Down syndrome. *J Neuropathol Exp Neurol* 59 : 1011-1017, 2000
 - ・ Nunomura A, Perry G, Aliev G, et al : Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 60 : 759-767, 2001