

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25461375

研究課題名(和文) 脂質代謝異常症としてのアルツハイマー病：ABCA1とABCA7はどうかっている？

研究課題名(英文) ABCA1 and ABCA7: what are their roles in the pathogenesis of Alzheimer's disease?

研究代表者

堂前 純子 (ABE-DOHMAE, Sumiko)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：70227700

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：マウスを用いた解析から、ABCA7欠損は内因性アミロイド(A₄₂)のうち、毒性の高いA₄₂の産生が高いこと、アミロイド産生亢進モデルマウスでは、ABCA7欠損に伴ってアミロイド沈着が増加することを確認した。またABCA7欠損では、ミクログリア細胞表面でのA₄₂産生に直結するアミロイド前駆体タンパク質のエンドサイトーシスが亢進することもわかった。さらに、ABCA7はヘテロ欠損であっても腹腔マクロファージ細胞のファゴサイトーシス活性低下の生じることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：ABCA7 knock-out mice displayed an increased production of endogenous murine amyloid A₄₂ species. Crossing ABCA7-deficient animals to an APP transgenic model resulted in significant increases in the soluble A₄₂ as compared with mice expressing normal levels of ABCA7. In vitro studies indicated a more rapid endocytosis of APP in ABCA7 knock-out cells that is mechanistically consistent with the increased A₄₂ production. Phagocytotic activities in peritoneal macrophages were lower even in ABCA7 heterozygous deficiency.

研究分野：生化学

キーワード：ABCA7 ABCA1 HDL アルツハイマー病 動脈硬化

1. 研究開始当初の背景

(1) HDL新生とABCタンパク質

HDL新生反応は、lipid-freeのアポリポタンパク質と細胞脂質から新たなHDL粒子の形成される細胞生物学的な現象である。遺伝性HDL欠損症 (Tangier病) の解析から、血中HDLはHDL新生に起因し、この反応にはABCA1の関与することが示されている。ABCA7はABCA1に最も高い相同性を持つABCタンパク質であるが、その生体内分布はABCA1と大きく異なり、機能も不明である。申請者らは培養細胞にヒトABCA7を発現させた系を用い、ABCA1非存在下でも細胞コレステロールの放出を伴うHDL新生反応の生じることや、ABCA1を介したHDL新生反応との差異の詳細を報告している。

(2) 食作用とABCタンパク質

食作用は細胞の基本的な機能の一つで、アポトーシス細胞除去やマクロファージ泡沫化等、生理的/病的なさまざまな場面で行われる。細胞膜の変形や移動を伴う食作用は、細胞コレステロール動態と密接に関係するはずであるが、現時点でABCA1の食作用への関与への統一見解は存在しない。(申請者らのデータでも、in vitroとin vivoでの効果が一部異なる。) 申請者らは、ABCA7の転写がSREBP2の支配下にあることを発見した。各種コレステロール合成阻害剤によるABCA7転写促進、アポA-I等のHDLアポリポタンパク質を介したABCA7の分解抑制が、ともに細胞の食作用を増強させることも証明している。

2. 研究の目的

本研究計画では、上記の知見に基づき、ABCA1、ABCA7の反応メカニズムとその制御機構、神経系でのアポEサブタイプ毎の反応性の違いやA β の毒性ならびにクリアランスへ与える影響を詳細に解析する。

3. 研究の方法

各種培養細胞および遺伝子改変マウスを含む実験動物を材料に用い、ABCA1、ABCA7 遺伝子発現レベルとA β 代謝回転、エンドサイトーシス活性等の違いを調べる。

4. 研究成果

(1) アルツハイマー病病理像形成とABCA7
ABCA7 KOマウスでは、内因性アミロイド(A β)のうち、毒性の高いA β 42の産生が高いことがわかった。アルツハイマー病モデルマウスであるTgCRND8トランスジェニックマウスとの交配実験では、ABCA7欠損により可溶性A β のレベル上昇や脳内のアミロイド班の増加が確認された。これとは異なるモデル(J20トランスジェニックマウス)を用いた他の研究室からの報告でも、類似の結果が報告されている。病態モデルや組織像が異なってもABCA7欠損でアミロイド沈着増加の生じていることは、ABCA7とAPP代謝の密接な関係を示すものと考えられる。また、初代培養ミクログリアの系を用い、A β 産生に直結する細胞膜表面のアミロイド前駆体タンパク質(APP)のエンドサイトーシスは、ABCA7欠損で亢進することを発見した。これはABCA7 KOマウスでの脳内A β 出現早期化とも整合性があるものの、食作用とは傾向が逆であるため、引き続き解析を行う。

(2) ABCA1による細胞ステロール輸送
ABCA1ノックアウトマウス由来線維芽細胞を用いた実験から、ABCA1欠損ではコレステロールならびにその前駆体ラノステロールの細胞膜から小胞体への輸送低下が生じていることを見出し、ABCA1はHDL新生を介した細胞コレステロールの搬出のみならず、細胞膜から小胞体に向かうエンドサイトーシスも制御していることを明らかにした。

(3) 経時的・定量的ファゴサイトーシス活性測定システム

蛍光pH指示薬標識化合物とイメージングサ

イトレーターを使い、リアルタイムでのファゴサイトーシス活性を経時的に観察できる系を構築した。これを用いて各種遺伝子変換マウスの腹腔膜マクロファージ細胞の比較を行い、ABCA7はヘテロ欠損であってもファゴサイトーシス活性低下をもたらすことを明らかにできた。またABCA7 KOより軽度ながら、ABCA1 KO及びapoE KOでもファゴサイトーシス速度低下のあることがわかり、ABCA7に特異的な機能解明に活用できると考えている。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 12 件)

Fuwa D, Fukuda M, Ogiyama Y, Sato R, Mizuno M, Miura T, Abe-Dohmae S, Michikawa M, Kobori H, Ohte N. Addition of hydrochlorothiazide to angiotensin receptor blocker therapy can achieve a lower sodium balance with no acceleration of intrarenal renin angiotensin system in patients with chronic kidney disease.

J Renin Angiotensin Aldosterone Syst. 2016; 17(2) 1470320316652032 doi: 10.1177/1470320316652032. <査読あり>

Ko M, Hattori T, Abdullah M, Gong JS, Yamane T, Michikawa M.

Phosphatidylcholine protects neurons from toxic effects of amyloid beta-protein in culture. Brain Res, 2016; 1642: 376-383 doi: 10.1016/j.brainres.2016.04.035. <査読あり>

Sano O, Tsujita M, Shimizu Y, Kato R, Kobayashi A, Kioka N, Remaley AT, Michikawa M, Ueda K, Matsuo M. ABCG1 and ABCG4 Suppress -Secretase Activity

and Amyloid Production. PLoS One. 2016 May 19;11(5):e0155400. doi: 10.1371/journal.pone.0155400. eCollection 2016. <査読あり>

Abdullah M, Takase H, Nunome M, Enomoto H, Ito J, Gong JS, Michikawa M. Amyloid- Reduces Exosome Release from Astrocytes by Enhancing JNK Phosphorylation. J Alzheimers Dis. 2016 Jul 2;53(4):1433-41. doi: 10.3233/JAD-160292. <査読あり>

Satoh K, Abe-Dohmae S, Yokoyama S, St George-Hyslop P, Fraser PE. ATP-binding Cassette Transporter A7 (ABCA7) Loss of Function Alters Alzheimer Amyloid Processing. J Biol Chem. 2015; 290(40):: 24152-241565 doi: 10.1074/jbc.M115.655076. <査読あり>

Yamauchi Y, Iwamoto N, Rogers MA, Abe-Dohmae S, Fujimoto T, Chang CC, Ishigami M, Kishimoto T, Kobayashi T, Ueda K, Furukawa K, Chang TY, Yokoyama S. Deficiency in the Lipid Exporter ABCA1 Impairs Retrograde Sterol Movement and Disrupts Sterol Sensing at the Endoplasmic Reticulum. J Biol Chem. 2015; 290(39): 23464-23477 doi: 10.1074/jbc.M115.662668. <査読あり>

Hotta N, Abe-Dohmae S, Taguchi R, Yokoyama S. Preferential incorporation of shorter and less unsaturated acyl phospholipids into high density lipoprotein-like particles in the ABCA1- and ABCA7-mediated biogenesis with apoA-I. Chem Phys Lipids. 2015; 187: 1-9 doi: 10.1016/j.chemphyslip.2015.01.005. <査読あり>

Sheikh AM, Michikawa M, Kim S-U, Nagai A. Lysophosphatidylcholine increases the neurotoxicity of Alzheimer's amyloid 1-42 peptide: Role of oligomer formation. *Neuroscience*. 2015; 292: 159-169. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.02.034. <査読あり>

Okihara H, Ito J, Kokai S, Ishida T, Hiranuma M, Kato C, Yabushita T, Ishida K, Ono T, Michikawa M.

Liquid diet induces memory impairment accompanied by a decreased number of hippocampal neurons in mice. *J Neurosci Res* 2014; 92(8):1010-1017. doi: 10.1002/jnr.23383. <査読あり>

Ito J, Nagayasu Y, Miura Y, Yokoyama S, Michikawa M. Astrocytes endogenous apoE generates HDL-like lipoproteins using previously synthesized cholesterol through interaction with ABCA1. *Brain Res*. 2014; 1570: 1-12. doi: 10.1016/j.brainres.2014.04.037. <査読あり>

Que H, Miyamoto Y, Okada S, Koretake K, Jung CG, Michikawa M, Akagawa Y. Tooth loss induces memory impairment and neuronal cell loss in APP transgenic mice. *Behav Brain Res* 2013; 252: 318-325. doi: 10.1016/j.bbr.2013.06.015. <査読あり>

Zou K, Liu J, Watanabe A, Hiraga S, Liu S, Tanabe C, Maeda T, Terayama Y, Takahashi S, Michikawa M, Komano H. A 43 is the earliest depositing A species in APP transgenic mouse brain and is converted to A 41 by two active domains of ACE. *Am J Pathol* 2013; 182(6): 2322-2331. doi:

10.1016/j.ajpath.2013.01.053. <査読あり>

〔学会発表〕（計 6 件）

浅井遥, 深見優衣, 堂前純子, 福石信之 脂質代謝異常による骨髄由来肥満細胞の分化と機能への影響についての検討 第137回日本薬学会 2017年3月26日 仙台国際センター（宮城県・仙台市）

堂前純子, 高瀬弘嗣, 吉武仙達, 道川誠 ABCA7 遺伝子型とファゴサイトーシス活性 第48回日本動脈硬化学会 2016年7月15日京王プラザホテル（東京・新宿区）

市野農人, 奥平桂一郎, 川原遥華, 木村仁, 辻大輔, 西辻和親, 堂前純子, 道川誠, 坂下直実, 伊藤孝司, 斎藤博幸 グリア細胞における ABCA7 発現制御機構の検討 136回日本薬学会 2016年3月29日 パシフィコ横浜（神奈川県・横浜市）

Sumiko Abe-Dohmae, Yuji Isono, Shinji Yokoyama, Makoto Michikawa ABCA1 modulates SAA turnover International Symposium on Atherosclerosis 2015年5月25日 Rai Meeting Venue アムステルダム（オランダ）

堂前純子, 磯野裕司, 横山信治, 道川誠 Serum amyloid A の代謝回転と ABCA1 第87回日本生化学会 2014年10月18日 国立京都国際会館・グランドプリンスホテル 京都（京都府・京都市）

Sumiko Abe-Dohmae, Yuji Isono, Shinji Yokoyama, Makoto Michikawa SAA turnover is modulated by ABCA1 第46回日本動脈硬化学会 2014年7月11日 京王プラザホテル（東京都・新宿区）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

該当するものなし

6. 研究組織

(1)研究代表者

堂前 純子 (ABE-DOHMAE Sumiko)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：70227700

(2)研究分担者

道川 誠 (MICHIKAWA Makoto)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：40270912