

## 神経変性疾患におけるスフィンゴ脂質の役割

湯山 耕平, 五十嵐 靖之

アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患の病理形成過程にスフィンゴ脂質と呼ばれる膜脂質の一群が関与することが示唆されている。パーキンソン病ではリスク因子としてスフィンゴ糖脂質の分解酵素であるグルコセレブロシダーゼ遺伝子変異が同定され、関連脂質はレビー小体形成に関与する可能性がある。またアルツハイマー病ではA $\beta$ アミロイドやタウ病理など複数の病理形成過程においてセラミドやスフィンゴミエリンをはじめとしたスフィンゴ脂質が関与する分子機序が提案されている。本稿では、これら疾患におけるスフィンゴ脂質の役割について、セラミド依存的に産生されA $\beta$ 分解機能を持つエクソソームに関する我々の最近の研究を含めて紹介する。

### 1. はじめに

スフィンゴ脂質は、グリセロ脂質やコレステロールとともに細胞膜を構成する主要な脂質の一群であり、皮膚バリア形成や神経機能、免疫、血管形成など多様な生理作用に関わっている。一方で、スフィンゴ脂質の遺伝性の代謝異常はスフィンゴリピドーシスと呼ばれる多くのリソソーム蓄積病を引き起こすことも知られている。また神経変性疾患においても、スフィンゴ脂質の代謝異常や病理形成メカニズムとの関連を示唆する報告がなされている。本稿では特に報告例の多いパーキンソン病とアルツハイマー病関連研究について、我々のグループの最近の研究も含めて紹介したい。

### 2. スフィンゴ脂質とは

スフィンゴ脂質は、スフィンゴイド塩基と呼ばれる長鎖アミノアルコールを構成単位として含む脂質の総称である(図1)<sup>1)</sup>。一般的な哺乳動物の細胞での含有率は、脂質全体の約10%、細胞膜ではおよそ20~30%といわれてい

る。スフィンゴイド塩基のアミノ基に脂肪酸が結合したセラミド(Cer)を基本構造として、Cerにさまざまな親水性の頭部が結合して複合スフィンゴ脂質が形成される。哺乳動物では、セラミドにリン酸コリンが結合したスフィンゴミエリン(sphingomyelin: SM)が多く、総リン脂質のおよそ5~10%を占めている。また頭部に、さまざまな糖分子(グルコースやガラクトース、N-アセチルグルコサミン、シアル酸、フコース)が結合するとスフィンゴ糖脂質(glycosphingolipid: GSL)と呼ばれる一群の糖脂質が産生される。GSLには、グルコースやガラクトース1分子のみがセラミドに付加したグロボシド[グルコシルセラミド(GlcCer)やガラクトシルセラミド(GalCer)]から、さまざまな糖が異なる順番で連なった複雑な糖脂質まで数百種類の分子種が存在し、特に中枢神経系には多く発現している。

スフィンゴ脂質の生合成は、図1のようにセリンとパルミトイルCoAのセリンパルミトイルトランスフェラーゼ(serine palmitoyltransferase: SPT)による縮合反応から始まり、セラミド合成酵素(ceramide synthase: CERS)による脂肪酸の付加などを経てセラミドが形成される。その後Cerから、SM合成酵素によってSMが、各種の特異的な糖転移酵素によって多彩なGSLが生み出される。スフィンゴ脂質は最終的にエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれリソソームにおいて、極性基は、たとえばグルコシルセラミド(GlcCer)を分解するグルコシルセラミダーゼなどの加水分解酵素群によって除去され、Cerはさらにセラミダーゼによって長鎖塩基と脂肪酸にまで分解される。スフィンゴ脂質分解系で生じた長鎖塩基は、再度

北海道大学大学院先端生命科学研究院(〒001-0021 北海道札幌市北区北21条西11丁目)

Roles of sphingolipids in neurodegenerative diseases

Kohei Yuyama and Yasuyuki Igarashi (Faculty of Advanced Life Science, Hokkaido University, Kita 21 Nishi 11, Kita-ku, Sapporo 001-0021, Japan)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2020.920640

© 2020 公益社団法人日本生化学会

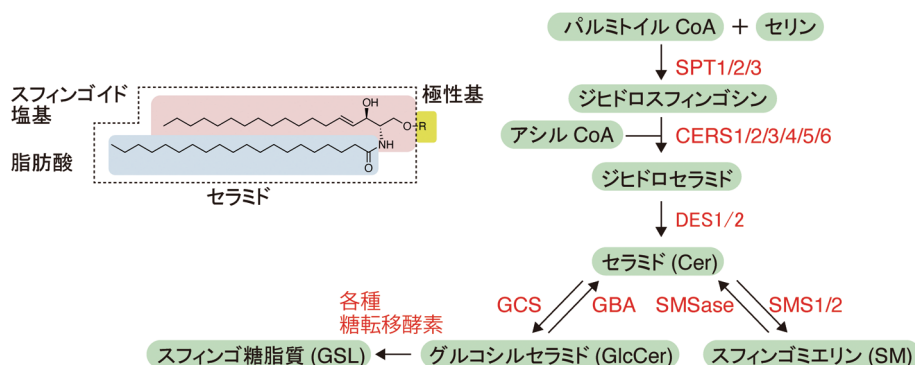


図1 スフィンゴ脂質の構造と生合成経路

SPT：セリンパルミトイル転移酵素，CERS：セラミド合成酵素，DES：ジヒドロセラミド不飽和化酵素（dihydroceramide desaturase），SMS：スフィンゴミエリン合成酵素（sphingomyelin synthase），SMase：スフィンゴミエリン分解酵素（sphingomyelinase），GCS：グルコシルセラミド合成酵素（glucosylceramide synthase），GBA：グルコシルセラミド分解酵素（グルコシルセラミダーゼ）。

スフィンゴ脂質合成に再利用されるか，またはスフィンゴシン1-リン酸（sphingosine 1-phosphate：S1P）を経由した分解系によってペンタデカノイル CoAまで代謝された後，主にグリセロリン脂質合成に利用される。

### 3. パーキンソン病

#### 1) パーキンソン病の病理形成

パーキンソン病（Parkinson's disease：PD）は，主に中脳黒質にあるドーパミン作動性ニューロンが変性・脱落することで起こる進行性の神経変性疾患で，手足の震えや筋肉のこわばり，動きづらさなどの運動症状を特徴とする<sup>2)</sup>。1000人あたり1～1.5人が罹患する，アルツハイマー病（Alzheimer's disease：AD）に次いで2番目に頻度の高い神経変性疾患で，40歳以上の中高年で発症率が高くなる加齢性の疾患でもある。病変部位の神経細胞内にはレヴィ小体と呼ばれる封入体が形成され，その主要構成成分は $\alpha$ シヌクレインタンパク質の凝集体である。この $\alpha$ シヌクレイン凝集体が毒性を持ち神経細胞死を惹起することでPD発症に関与しているとの説が現在有力であるが，凝集体形成の分子機構ははっきりわかっていない。 $\alpha$ シヌクレイン凝集体が中脳以外の部位で形成された場合，レヴィ小体型認知症（dementia with Lewy body：DLB）や多系統萎縮症（multiple system atrophy：MSA）の原因となることも知られており，これら $\alpha$ シヌクレインが関与する疾患はシヌクレオパチーと総称されている。

#### 2) PDとグルコシルセラミダーゼ遺伝子変異

近年の疫学的研究から，グルコシルセラミダーゼ（glucosylceramidase：GBA）遺伝子変異がPDの強いリスク因子であることが示された。GBAはスフィンゴ糖脂質分解酵素の一つでグルコシルセラミド（GlcCer）からグルコースを除去する。GBA遺伝子変異は，ゴーシェ病と呼ばれるリソソーム蓄積病の原因でもある<sup>3)</sup>。ゴーシェ病は遺伝性の代謝異常症であり，GBAの活性低下によって末梢組織で

はマクロファージに基質のグルコシルセラミド（GlcCer）が，中枢神経系ではGlcCerとそのリゾ体であるグルコシルスフィンゴシンが蓄積することで発症する。このゴーシェ病のうち神経症状のないI型の患者がPD様症状を呈し，ゴーシェ病患者の家系内で（発症しない）GBA変異ヘテロ保有者にPD患者が頻出することが報告された<sup>4)</sup>。このため2009年に日本を含めた世界の16施設が共同参加した国際研究が実施され，PD患者と健常者それぞれ約5000名についてGBA遺伝子が解析された。その結果，GBA遺伝子変異キャリアは非キャリアと比較して5.4倍のオッズ比でPDにかかりやすく，GBA遺伝子変異は現在知られているなかで最も強いPDのリスク因子であることが明らかになった<sup>5,6)</sup>。ちなみにPDを発症している人の約7%が変異型GBAのキャリアであり，L44PやN370Sなど特定の変異が多くみられるものの，マイナーなものを含めると30種以上の変異型が報告されている。またGBA遺伝子変異によってDLBの発症率も9倍程度上昇することなどから，GBA遺伝子変異はシヌクレオパチー全般のリスクファクターと認識されている<sup>7)</sup>。

GBA遺伝子変異がどのような分子機序でPD病理形成に関与しているかは今のところ未解明である。現在そのメカニズムとして，変異型GBA自体が毒性を発揮するというgain of toxic function説と，GBAの活性低下，つまりスフィンゴ脂質代謝の変動が関係するというloss of function説の2通りが提唱されており議論が続いている<sup>8)</sup>。gain of function説を支持する根拠としては，変異の大半がミスセンス変異であること，GBAがレヴィ小体に局在していることや，培養細胞系においてGBAタンパク質が直接 $\alpha$ シヌクレイン凝集を誘導するという実験結果による。一方，loss of function説は，84GG，VA2+1GといったGBAを発現しないナンセンス変異型においても発症リスクの上昇がみられることがあげられる。ヒト型 $\alpha$ シヌクレインを発現するキロショウジョウバエPDモデルにおいても，GBA欠損で $\alpha$ シヌクレイン凝集体形成と運動行動異常が観察される<sup>9)</sup>。コンズリトールBエポキシドなどを用いたGBA活

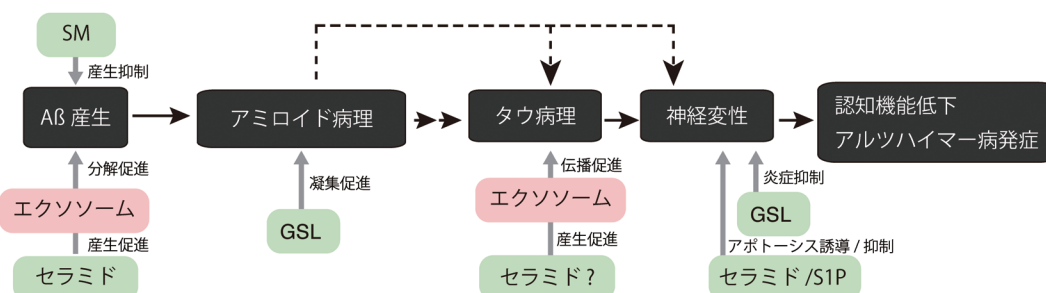


図2 AD病理カスケードとスフィンゴ脂質の関与部位

$A\beta$ の産生・代謝異常や凝集誘導を起点として形成されるアミロイド病理は、タウ病理の神経原線維変化を経て認知機能の低下を引き起こしアルツハイマー病を発症させる。スフィンゴ脂質は、直接的に、またはエクソソーム産生誘導を介して病理形成の各過程に関与する可能性がある。

性阻害が $\alpha$ シヌクレインの蓄積や凝集を誘導することが、培養細胞系やモデルマウスへの投与実験で実証されている<sup>10, 11)</sup>。また培養細胞実験においてGBA活性と $\alpha$ シヌクレイン蓄積量に負の相関がみられている。PD患者由来のiPSニューロンを用いた実験では、GlcCer量やGlcCer/Cer比率と $\alpha$ シヌクレイン二量体/単量体比率が正の相関を示しており、GlcCer自体が $\alpha$ シヌクレイン凝集体の形成を誘導する可能性もある<sup>11)</sup>。実際、合成リポソームを用いた実験ではGlcCerやGlcCerから脂肪酸が脱離したリゾ体のグルコシルスフィンゴシンが、 $\alpha$ シヌクレインオリゴマーを安定化することで凝集体形成を促進することが示されている<sup>12)</sup>。最近の研究ではマウス実験においてGBA遺伝子変異による $\alpha$ シヌクレイン蓄積が酸性セラミダーゼの阻害で緩和されることが示されている<sup>13)</sup>。これは $\alpha$ シヌクレイン蓄積にGlcCerではなくCerが関与することを示唆する報告で、この論文ではCerが分泌型オートファジーを誘導して $\alpha$ シヌクレイン蓄積を抑制するという機序が提案されている。さらに別の最近の研究でGBAにはGlcCer分解活性だけでなく、GlcCerのグルコースをコレステロールに転移しコレステリルグルコシドを生成する活性を持つことも報告された<sup>14, 15)</sup>。GBA遺伝子変異が脂質プロファイルに及ぼす影響はより大きいと考えられ、どの脂質分子種がどのような機序で $\alpha$ シヌクレインの形成誘導を行っているのか、今後の研究の発展が待たれる分野となっている。

#### 4. アルツハイマー病

##### 1) アルツハイマー病の病理形成

アルツハイマー病(AD)は、最も患者数の多い認知症で、進行性の神経変性疾患である。初期病理としてまずアミロイド $\beta$ タンパク質( $A\beta$ )のアミロイド凝集体が細胞外に沈着した老人斑が脳内に出現する(図2)。続いて神経細胞内に異常リン酸化したタウタンパク質の凝集体である神経原線維変化(neurofibrillary tangle: NFT)が現れ、その後、神経変性が起こり認知機能が低下した結果、ADが発症する<sup>16)</sup>。 $A\beta$ は膜タンパク質のアミロイド前駆タンパク質(amyloid precursor protein: APP)が、 $\beta$ および $\gamma$ セク

レーターゼという二つの分解酵素によって切断を受けて産生される。家族性(遺伝性)ADでは、APPやセクレターゼの遺伝子変異による $A\beta$ 産生亢進が病因となるが、9割以上を占める孤発性ADでは明確な $A\beta$ 沈着の原因はわかっていない。 $A\beta$ 産生を標的とする薬剤の開発が世界中で進んでおり、介入時期を早めることで予防・治療効果を期待できると見込まれているものの、病理進行の機序については、アミロイド病理形成やタウ病理形成・拡散など不明な点が多く残っている。スフィンゴ脂質がこれらAD病理形成の複数のプロセスに関与することを示唆する研究が近年多数報告されている。

##### 2) AD脳におけるスフィンゴ脂質代謝

AD患者脳においてスフィンゴ脂質濃度が変動することが、まだ少数ではあるが報告されている<sup>17)</sup>。まず脳内Cer濃度は正常対照者と比較してAD患者の脳で増加していることが複数の研究グループから報告されており、その傾向も文献間で一致している<sup>18-21)</sup>。ADに移行するリスクの高い軽度認知障害(mild cognitive impairment: MCI)対象者でも観察されており<sup>20)</sup>、Cer増加がAD初期病理の原因となるか、もしくは結果として出現する可能性がある。またCerとともにSM濃度の報告も複数なされているがその傾向は一致しておらず、増加、減少または変動なしと文献間で相違がある<sup>18, 21-23)</sup>。他の分子種に関しては、S1PがAD脳で増加すること、硫酸化GSLであるスルファチドの減少が報告されている<sup>18, 20, 24)</sup>。最近では組織局所での変化を調べるためスフィンゴ脂質の質量分析イメージング技術の開発も進んでいる。現在のところADモデルマウスを用いた検証の段階であるが、 $A\beta$ 沈着斑の近傍において特定の脂肪酸鎖長の脂肪酸を持つセラミドやGSLの変動がみられるなど興味深い観察結果が得られている<sup>25, 26)</sup>。今後このように部位特異的な脂質変化が捉えられることで病理形成機序について議論が進むことが期待される。

##### 3) スフィンゴ脂質による $A\beta$ 産生制御

APPは主に神経細胞で発現する1型膜タンパクであり、翻訳後に細胞膜にリクルートされる。その後、アミロイド



形成経路 (amyloidogenic pathway) では、APPはエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれ、 $\beta$ および $\gamma$ セクレターゼの連続的な切断を受け $A\beta$ が産生される。産生された $A\beta$ はまずエンドソーム内腔に放出され、エンドソームリサイクリングによって細胞外に分泌される。一方、非アミロイド形成経路 (non-amyloidogenic pathway) では、 $\alpha$ と $\gamma$ セクレターゼによる切断が行われ、 $A\beta$ とは異なる毒性を持たないp3ペプチドが産生される。

スフィンゴ脂質の組成変動が、 $A\beta$ 産生効率に影響を与える例が報告されている。APP遺伝子導入CHO細胞において、SPT阻害剤のミリオシン処理や不活性SPT導入によってスフィンゴ脂質全体を枯渇させると、 $A\beta$ 産生量が増加する<sup>27)</sup>。またこの報告とは矛盾するようであるが、同じくAPP遺伝子導入CHO細胞において、C6-Cer添加やSMase処理でCerを増加させた場合も、 $A\beta$ 産生が促進される<sup>28)</sup>。この論文によるとCer処理によって $\beta$ セクレターゼの本体であるBACE1タンパク質の分子寿命が伸びることが $A\beta$ 産生亢進に寄与するようである。また $A\beta_{1-42}$  (重合性の高い $A\beta$ 分子種) がSM分解酵素の中性SM分解酵素 (nSMase) を賦活化し、さらにSMが $\gamma$ セクレターゼの活性を負に制御しているとの報告もある<sup>29)</sup>。したがって $A\beta_{1-42}$ 濃度が高くなるとnSMaseが活性化しSMが減少する。その結果 $\gamma$ セクレターゼが活性化し、 $A\beta_{1-42}$ 産生が促進されるという負のループが形成される可能性がある。実際に $A\beta_{1-42}$ 濃度が高いAD患者脳において、nSMase活性亢進やSM濃度低下が観察されている。また、 $\beta$ および $\gamma$ セクレターゼは細胞膜に存在するが、特にSM、GSLやコレステロールを多く含む脂質マイクロドメインと呼ばれる領域に局在することが知られている<sup>30,31)</sup>。SMによる $\gamma$ セクレターゼ活性抑制は、局所の脂質環境の酵素活性への影響が考えられる。また $\beta$ セクレターゼについても活性本体のBACE1タンパク質を組み込んだ合成リポソームで膜脂質の影響を調べた実験によると、GlcCerやGalCerの存在でその活性が亢進されることが報告されている<sup>32)</sup>。

#### 4) スフィンゴ糖脂質によるアミロイド線維形成

GSL、特にシアル酸を含有するガングリオシドと呼ばれる酸性GSLに $A\beta$ が結合することが以前から知られている。1995年に柳澤らは、初期AD病変を示す脳内にGM1ガングリオシド (GM1) と結合した $A\beta$  (GM1結合型 $A\beta$ ,  $GA\beta$ ) が形成されていることを発見し報告した<sup>33)</sup>。高齢になるとAD様の病変が現れる霊長類カニクイザルの脳内においても、加齢依存的にGM1の増加と $GA\beta$ の出現が観察されている<sup>34)</sup>。このGM1と $A\beta$ の結合は人工脂質膜やリポソームを用いた実験でも確認されており、さらに原子間力顕微鏡解析からは $A\beta$ はGM1分子1個ではなく複数が膜上で集積したクラスターに結合することがわかっている<sup>35)</sup>。GM1ミセルを用いたNMR解析によると、 $A\beta$ はもともとランダムコイル構造をとるが、GM1クラスターと結合したときにはアミノ酸配列の中央部分に二つの $\alpha$ ヘリックス

構造が形成される<sup>36)</sup>。この際 $A\beta$ はGM1クラスターの親水性と疎水性の境界面に横たわるように位置しており、分子動力学計算の結果も合わせて糖残基の根元側と脂質の頭部側が結合に重要であると考えられている<sup>37)</sup>。また強弱の差はあるもののGM1以外のガングリオシド分子種の $A\beta$ との結合も確認されている<sup>38)</sup>。

さらにADのアミロイド病理との関係において重要なのは、 $GA\beta$ がシード(種)となって $A\beta$ のアミロイド線維化を誘導することである。 $GA\beta$ 存在下では自己重合が起らない低濃度でもアミロイドが形成される<sup>39)</sup>。NMR解析から、GM1クラスター上で $A\beta$ が密になる条件において、C末端領域を介して $A\beta$ 間の相互作用と $\beta$ 構造への遷移が起こると考えられる<sup>40)</sup>。加齢マウス脳シナプトソームでのGM1増加や、AD患者海馬でのGM1分布攪乱が観察されることから<sup>41,42)</sup>、これらの脳では $GA\beta$ 形成の基盤となるGM1クラスターが局所的に形成されやすい状態になっているのかもしれない。またGM2ガングリオシド分解酵素のヘキソサミニダーゼを欠損するサンドホフ病モデルマウスにおいて、ガングリオシド蓄積とともに神経細胞における $GA\beta$ 形成や $A\beta$ 蓄積が観察されている<sup>43)</sup>。逆にヘキソサミニダーゼ活性のエンハンサーとして働く化合物をAPP遺伝子導入マウスへ経口投与すると、 $GA\beta$ が減少するとともに、脳神経細胞内の $A\beta$ 蓄積の減少と認知行動の改善が認められる<sup>44)</sup>。また最近 $A\beta$ を発現するショウジョウバエのADモデルにおいても、GSL合成酵素遺伝子導入とシアル酸給餌によってガングリオシドを体内産生させると $A\beta$ 凝集体が増加することが報告されている<sup>45)</sup>。これらの知見からGSLが $A\beta$ 凝集に影響を与えることは明らかであり、今後この現象が $A\beta$ 代謝やアミロイド病理形成にどのように関与しているか明らかになると期待される。加えてGM1を含むGSLは細胞膜上で脂質マイクロドメインに局在する。脂質マイクロドメインの他の構成脂質であるSMがGSLのクラスター化を牽引することも報告されており<sup>46)</sup>、GSL以外のスフィンゴ脂質組成変動が $GA\beta$ 依存性 $A\beta$ 凝集という現象を通していかにAD病理に関与するかも興味深い。

#### 5) エクソソーム産生制御を介したAD病理への関与

エクソソームは、さまざまな細胞から放出される直径が100nm程度の細胞外小胞の一種である。multivesicular body (MVB) の内腔小胞がリサイクリングによって細胞外に放出されたものであり、多くの細胞外小胞のように細胞膜由来ではなくエンドソーム膜を由来とする。中枢神経系でも生理的に産生されており、マウス、ヒツジ、サルなどのモデル動物やヒト脳脊髄液 (cerebrospinal fluid: CSF) 中に存在することが確認されている<sup>47-49)</sup>。また培養細胞においてニューロンやグリア細胞 (アストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリア) からのエクソソーム放出が確認されている<sup>50-52)</sup>。脳内エクソソームの役割については発生の期、ミエリン成熟や神経突起伸長などの生理的役割が報

告されている一方で、PDやAD、プリオン病、筋萎縮性側索硬化症（amyotrophic lateral sclerosis：ALS）などさまざまな神経変性疾患の関連分子がエクソソームに含まれることが報告され、これら疾患分子の脳内代謝や伝播にエクソソームが関与する可能性も取り沙汰されている<sup>25)</sup>。

$A\beta$ はAPP遺伝子導入マウス（APPマウス）やヒトのCSFや血液中のエクソソームに含まれることが報告されている。上述のように $A\beta$ はMVBを含むエンドソームでAPPから切り出され内腔側に放出される。このため、 $A\beta$ とエクソソームは表面膜を介して相互作用すると考えられ、実際我々のグループでは以前、共鳴プラズモン共鳴法などを用いて、培養神経細胞（N2a細胞、マウス脳初代神経細胞）から調製したエクソソームの表面に $A\beta$ が結合することを確認した<sup>53)</sup>。またエクソソームの膜脂質を解析したところ、GM1をはじめとしたGSLが、由来細胞と比較して多量に含まれていることがわかった<sup>54)</sup>。またエンドグリコシルセラミダーゼ処理でGSLの糖鎖を除去したエクソソームでは $A\beta$ 結合性が失われることから、 $A\beta$ は表面GSL糖鎖を介して神経細胞由来エクソソームに結合すると考えられる。ちなみに培養ミクログリアやアストロサイト由来のエクソソームはGSL含量が低く、 $A\beta$ 結合性は認められない。前項で述べたようなGSLクラスターがエクソソーム膜上にできて $A\beta$ 結合の場が形成されると考えられる。実際、神経細胞由来エクソソームは $A\beta$ 結合だけでなく $A\beta$ アミロイド線維形成も促進する<sup>55)</sup>。

また、放出されたエクソソームは主に、脳内の貪食細胞であるミクログリアに取り込まれる<sup>55)</sup>。エクソソームに結合した $A\beta$ も一緒にミクログリアに貪食され、リソソームで分解される。APPマウスの脳へ培養神経細胞由来のエクソソームを注入すると、脳内 $A\beta$ との結合、ミクログリアへの移行が観察される<sup>54)</sup>。また浸透圧ミニポンプを用いてエクソソームを2週間持続投与すると、脳内 $A\beta$ が減少し、アミロイド沈着が低減する。神経細胞由来のエクソソームは、GSLで $A\beta$ を捕捉しミクログリアへ送達することで、 $A\beta$ クリアランスを促進すると考えられる（図3）。一方で、加齢やAD発症に伴ってミクログリアの活性が低下するといった報告も多く、この場合、エクソソーム結

合 $A\beta$ は細胞外空間にとどまり老人斑形成の核となったり、後述するタウ病理のように神経細胞間の $A\beta$ 凝集体伝播に関与する可能性も想定される。

$A\beta$ 結合にGSLが関与するだけでなく、エクソソームの産生にもスフィンゴ脂質が関与することが明らかになっている。神経細胞由来エクソソームが $A\beta$ クリアランスを補助することが明らかになったので、次に我々は、エクソソーム産生を亢進させる方法はないかと考えた。2008年にSimonsらのグループから、Cer依存的にエクソソームが産生されることが報告されている<sup>56)</sup>。エンドソーム膜のSMがnSMaseに分解されてCerが増加すると、膜が物理的性質の変化によって内腔側に陥入し内腔小胞が形成される。こうしてできたMVBによって結果的にエクソソームが増加することになる。セラミド依存性（nSMase依存性）とは別に、MVBの内腔小胞形成にはESCRT（endosomal sorting complex required for transport）複合体が関与する系が知られているが、両者は独立して働くと考えられている<sup>56)</sup>。

これらの知見から、我々のグループではエクソソーム産生亢進のためにCerが利用できるのではないかと考え、神経細胞株SH-SY5Yの培養液中にCerを直接添加する実験を行った。その結果、この外部添加Cerによってもエクソソームの増加が認められた<sup>57)</sup>。また増加したエクソソームもGSLを含有しており $A\beta$ 結合性を維持していた。トランスウェル培養系において、インサート内にAPP遺伝子導入SH-SY5Y細胞、下部ウェルにミクログリア細胞株BV-2を播種して共培養すると、SH-SY5Y細胞から分泌された $A\beta$ のBV-2細胞への取り込みが観察される。この系の培養液中にCerを添加するとBV-2の $A\beta$ 取り込みが促進され、培養液の $A\beta$ 濃度が減少する。Cer外部処理によって $A\beta$ 分解促進が起こったと考えられる。また最近の我々のAPPマウスを用いた研究では、植物由来Cerを2週間経口投与すると脳内 $A\beta$ 濃度が減少するという結果も得られている<sup>57)</sup>。植物由来Cerは、哺乳動物Cerと構造が若干異なりスフィンゴイド塩基の8位部分に二重結合が一つ多いが、同様にエクソソーム産生促進効果を示す。植物Cer投与マウスの脳組織と血清からエクソソームを調製して解析すると、総粒子数には差が認められないものの、神経細胞

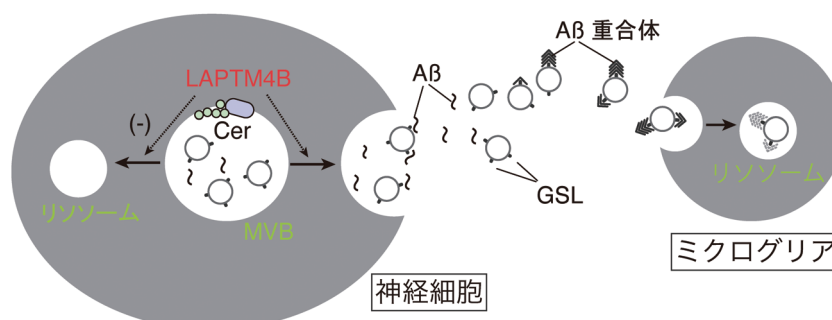


図3 セラミドによるエクソソーム産生と $A\beta$ 除去

神経細胞由来エクソソームは、細胞内（MVB内腔）や細胞外で $A\beta$ をGSL依存的に捕捉し、アミロイド線維化により積載する。エクソソーム結合 $A\beta$ は最終的にはミクログリアに取り込まれ分解される。神経細胞におけるエクソソーム産生にはセラミドによるLAPT4B依存性MVB輸送制御が関与している。



マーカータンパク質NCAM-1とL1CAMが増加した。またエクソソーム含有A $\beta$ 量もCer投与群で増加していた。体内において経口投与セラミドでエクソソーム依存性A $\beta$ 除去系が賦活化している可能性が示唆される結果である。

また最近我々は、外部添加Cer依存的なエクソソーム産生誘導機構についてSH-SY5Y細胞を用いて調べた（未発表データ）。外部から添加したCerは、当初nSMase依存産生系と同様に、ESCRT依存産生系と独立して作用すると考えたが、ESCRT構成タンパク質のHSGやTsg101のノックダウンによって外部Cer処理の効果が阻害されたことから、ESCRT依存系と関連することが示唆された。さらに異なる鎖長の脂肪酸を持つCerで効果を比較したところ、C16やC18の炭素鎖長を持つ長鎖脂肪酸結合Cerで最もエクソソーム産生誘導作用が強く、C2やC6の短鎖脂肪酸やC24の極長鎖脂肪酸を持つCerには効果がなかった。またSMやGlcCer処理でもエクソソーム量に変化はなかった。長鎖脂肪酸結合Cerは処理後にエンドサイトーシスによって取り込まれリソソームに蓄積することから、我々は、リソソームや後期エンドソームに局在するタンパク質でセラミドと相互作用することが報告されているlysosomal-associated transmembrane protein 4B (LAPTM4B)<sup>58, 59)</sup>に注目し実験を行った。lipid-protein overlay assayでセルロース膜上にスポットした脂質とLAPTM4Bタンパク質との結合を調べたところ、エクソソーム産生誘導作用の強い長鎖脂肪酸結合Cerと強い結合がみられた。SMやGlcCerとの結合は認められなかった。そしてsiRNAでLAPTM4B遺伝子をノックダウンした細胞では外部Cer処理によるエクソソーム増加がほぼ完全に阻害されることから、外部添加CerはLAPTM4Bを介してエクソソーム産生を誘導すると考えられた。また酸性セラミダーゼ阻害でもLAPTM4B依存性のエクソソーム産生が誘導されることが明らかになった。酸性セラミダーゼは、リソソーム内でCerをスフィンゴイド塩基と脂肪酸に分解する酵素で、活性阻害するとCerが蓄積することが知られており、この酵素の遺伝子欠損はファブー病というリソソーム蓄積病の原因となっている<sup>60)</sup>。またCer処理後、GFP標識CD63 (MVBマーカータンパク質) 発現細胞を観察すると、MVBとリソソームの共局在率が減少し、リサイクリングエンドソームのマーカータンパク質であるRab11との共局在率が上昇した。この共局在率の変化は酸性セラミダーゼ阻害でも同様に起こった。

さらにCerはエクソソームに含まれて細胞外放出されることも知られている<sup>61)</sup>。我々の使用した培養細胞系では、酸性セラミダーゼ阻害下でも細胞内Cer量は変化しなかったが、LAPTM4Bノックダウンでエクソソーム産生を抑制すると細胞内（リソソーム内）におけるCer量が顕著に増加した。これらの結果は、LAPTM4Bによってエンドソーム・リソソーム内のCer蓄積が感知され、MVB輸送方向の転換によってエクソソーム放出が誘導されることが示唆される。前述したようにMCIや初期AD患者脳でCer増加

が認められることから、この病理過程にエクソソーム産生が関与する可能性も考えられ、今後研究を進めていきたい。

またエクソソームはタウ病理の脳内での拡散に関与する可能性があることが報告されている<sup>62)</sup>。タウ病理のNFTはまず旧内皮質の神経細胞に現れ、その後神経回路の投射先である海馬の神経細胞でも観察されるようになる。池津らのグループでは、このタウ病理の伝播を短期間で再現できるモデルマウスを作製し実験を行ったところ、ミクログリアを欠損させた場合に、タウ病理の伝播が抑制されることを明らかにした。また細胞培養系において、神経細胞で形成されたタウ凝集体を取り込んだミクログリアは、タウを含有したエクソソームを放出すること、さらにこのエクソソームが別の神経細胞に取り込まれ、その細胞内でタウ凝集体形成が誘導される。これらの結果からは、ミクログリアによるタウ凝集体の取り込みと、エクソソームに封入されたかたちでの再放出、そのエクソソームの神経細胞へのターゲティングがタウ病理拡散に関与することが示唆される。またマウス実験では、nSMase阻害剤を投与するとタウ病理伝播が抑制されことから、この系のエクソソーム産生過程、もしくは別のステップにSMやセラミドが関与している可能性も考えられ、現在検討されている。またエクソソームには $\alpha$ シヌクレインも含まれその脳内拡散に関与することを示唆する研究も報告されている<sup>63)</sup>。GBAによる生成物の一つはCerでありPD病理形成においてもエクソソームが関与するか今後の研究の進展が興味深い。

## 5. 診断バイオマーカー分子としてのスフィンゴ脂質の可能性

CSFや血液中のスフィンゴ脂質を診断バイオマーカー利用することを目指した研究も行われている。ADは初期病理であるアミロイド蓄積の開始から発症までが15年以上と長期にわたるため、発症前の診断バイオマーカーが必要とされており、またAD、PDともに治療薬が開発段階にあることから、薬剤候補の治療効果を評価するためにもバイオマーカーが望まれている。現在のところ、SMとCerに関して少数ではあるが報告がなされている。CSF中のSMレベルを解析した報告<sup>64)</sup>では、MCI期の前認知症期間（prodromal AD期）において、正常期と比較して濃度上昇が観察されている。この濃度上昇は一過性でAD初期、後期患者においては正常期と差は認められない。またCerレベルは、AD患者では正常対照者と比較して血液中では減少し、脳組織とCSFで逆に増加することが報告されている<sup>65)</sup>。またADを含む認知症患者120名で血清中のCer、ジヒドロセラミド (DHCer)、SM、ジヒドロスフィンゴミエリン (DHSM) 値を2年間追跡調査した研究では、認知機能低下速度の早い患者群ではCerとDHCer濃度が高く、遅い患者群ではSMとDHSM、およびSM/Cer比、DHSM/SM比が高いというデータが報告されている<sup>19)</sup>。またPD患者

においては正常対照者と比較して血清中のセレブロシド (GlcCer または GalCer), ラクトシルセラミド (LacCer), ガングリオシド GM3 濃度の上昇が報告されている<sup>65-67)</sup>。GBA 活性との関連が示唆され, GBA 変異型分類と合わせたより詳細な調査が期待される。今後この分野は, 今般の脂質質量分析技術の進展からより精査され進展していくと考えられる。また脳由来のエクソソームは血液中に漏出することも報告されていることから<sup>68)</sup>, エクソソームも体液診断バイオマーカーのターゲットとして注目されている。エクソソームは多種のスフィンゴ脂質を含有している。AD 病理進展過程でエクソソームの量や質が変化する可能性があることから, 現在タンパク質や miRNA 解析が進んでおり, 今後含有脂質のプロファイルについても解析されることが期待される。

## 6. おわりに

アルツハイマー病やパーキンソン病といった神経変性疾患の病理形成機構にはいまだ不明な点が多く, このため根本治療薬も実現できていない。スフィンゴ脂質は本稿で概説したものの他にも, これら疾患で観察される炎症やアポトーシス<sup>69)</sup>を含めたさまざまな病理発現過程に関与している可能性がある。今後の研究からより詳細な機能性スフィンゴ脂質分子種の同定やその機能解析, そして治療法開発へ進展することが期待される。

## 文 献

- Hannun, Y.A. & Obeid, L.M. (2018) Sphingolipids and their metabolism in physiology and disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **19**, 175–191.
- Kalia, L.V. & Lang, A.E. (2015) Parkinson's disease. *Lancet*, **386**, 896–912.
- Lin, G., Wang, L., Marcogliese, P.C., & Bellen, H.J. (2019) Sphingolipids in the pathogenesis of Parkinson's disease and Parkinsonism. *Trends Endocrinol. Metab.*, **30**, 106–117.
- Goker-Alpan, O., Schiffmann, R., LaMarca, M.E., Nussbaum, R.L., McInerney-Leo, A., & Sidransky, E. (2004) Parkinsonism among gaucher disease carriers. *J. Med. Genet.*, **41**, 937–940.
- Sidransky, E., Nalls, M.A., Aasly, J.O., Aharon-Peretz, J., Annesi, G., Barbosa, E.R., Bar-Shira, A., Berg, D., Bras, J., Brice, A., et al. (2009) Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.*, **361**, 1651–1661.
- Mitsui, J., Mizuta, I., Toyoda, A., Ashida, R., Takahashi, Y., Goto, J., Fukuda, Y., Date, H., Iwata, A., Yamamoto, M., et al. (2009) Mutations for Gaucher disease confer high susceptibility to Parkinson disease. *Arch. Neurol.*, **66**, 571–576.
- Nalls, M.A., Duran, R., Lopez, G., Kurzawa-Akanbi, M., McKeith, I.G., Chinnery, P.F., Morris, C.M., Theuns, J., Crociers, D., Cras, P., et al. (2013) A multicenter study of glucocerebrosidase mutations in dementia with lewy bodies. *JAMA Neurol.*, **70**, 727–735.
- Sidransky, E. & Lopez, G. (2012) The link between the GBA gene and parkinsonism. *Lancet Neurol.*, **11**, 986–998.
- Suzuki, M., Fujikake, N., Takeuchi, T., Kohyama-Koganeya, A., Nakajima, K., Hirabayashi, Y., Wada, K., & Nagai, Y. (2015) Glucocerebrosidase deficiency accelerates the accumulation of proteinase K-resistant  $\alpha$ -synuclein and aggravates neurodegeneration in a Drosophila model of Parkinson's disease. *Hum. Mol. Genet.*, **24**, 6675–6686.
- Mazzulli, J.R., Xu, Y.-H., Sun, Y., Knight, A.L., McLean, P.J., Caldwell, G.A., Sidransky, E., Grabowski, G.A., & Krainc, D. (2011) Gaucher disease glucocerebrosidase and  $\alpha$ -synuclein form a bidirectional pathogenic loop in synucleinopathies. *Cell*, **146**, 37–52.
- Zunke, F., Moise, A.C., Belur, N.R., Gelyana, E., Stojkovska, I., Dzaferbegovic, H., Toker, N.J., Jeon, S., Fredriksen, K., & Mazzulli, J.R. (2018) Reversible conformational conversion of  $\alpha$ -synuclein into toxic assemblies by glucosylceramide. *Neuron*, **97**, 92–107.e10.
- Taguchi, Y.V., Liu, J., Ruan, J., Pacheco, J., Zhang, X., Abbasi, J., Keutzer, J., Mistry, P.K., & Chandra, S.S. (2017) Glucosyl-sphingosine promotes  $\alpha$ -synuclein pathology in mutant GBA-associated Parkinson's disease. *J. Neurosci.*, **37**, 9617–9631.
- Kim, M.J., Jeon, S., Burbulla, L.F., & Krainc, D. (2018) Acid ceramidase inhibition ameliorates  $\alpha$ -synuclein accumulation upon loss of GBA1 function. *Hum. Mol. Genet.*, **27**, 1972–1988.
- Akiyama, H., Nakajima, K., Itoh, Y., Sayano, T., Ohashi, Y., Yamaguchi, Y., Greimel, P., & Hirabayashi, Y. (2016) Aglycon diversity of brain sterolglucosides: Structure determination of cholesteryl- and sitosterylglucoside. *J. Lipid Res.*, **57**, 2061–2072.
- Akiyama, H., Ide, M., Nagatsuka, Y., Sayano, T., Nakanishi, E., Uemura, N., Yuyama, K., Yamaguchi, Y., Kamiguchi, H., Takahashi, R., et al. (2020) Glucocerebrosidases catalyze a transgalactosylation reaction that yields a newly-identified brain sterol metabolite, galactosylated cholesterol. *J. Biol. Chem.*, **295**, 5257–5277.
- Selkoe, D.J. & Hardy, J. (2016) The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol. Med.*, **8**, 595–608.
- Zhang, J., Zhang, X., Wang, L., & Yang, C. (2017) High performance liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) based quantitative lipidomics study of ganglioside-NANA-3 plasma to establish its association with parkinson's disease patients. *Med. Sci. Monit.*, **23**, 5345–5353.
- He, X., Huang, Y., Li, B., Gong, C.-X., & Schuchman, E.H. (2010) Deregulation of sphingolipid metabolism in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*, **31**, 398–408.
- Mielke, M.M., Haughey, N.J., Bandaru, V.V.R., Schech, S., Carrick, R., Carlson, M.C., Mori, S., Miller, M.I., Ceritoglu, C., Brown, T., et al. (2010) Plasma ceramides are altered in mild cognitive impairment and predict cognitive decline and hippocampal volume loss. *Alzheimers Dement.*, **6**, 378–385.
- Han, X., M. Holtzman, D., McKeel, D.W. Jr., Kelley, J., & Morris, J.C. (2002) Substantial sulfatide deficiency and ceramide elevation in very early Alzheimer's disease: Potential role in disease pathogenesis. *J. Neurochem.*, **82**, 809–818.
- Bandaru, V.V.R., Troncoso, J., Wheeler, D., Pletnikova, O., Wang, J., Conant, K., & Haughey, N.J. (2009) ApoE4 disrupts sterol and sphingolipid metabolism in Alzheimer's but not normal brain. *Neurobiol. Aging*, **30**, 591–599.
- Cutler, R.G., Kelly, J., Storie, K., Pedersen, W.A., Tammara, A., Hatanpaa, K., Troncoso, J.C., & Mattson, M.P. (2004) Involvement of oxidative stress-induced abnormalities in ceramide and cholesterol metabolism in brain aging and Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 2070–2075.
- Igbavboa, U., Eckert, G.P., Malo, T.M., Studniski, A.E., Johnson, L.N.A., Yamamoto, N., Kobayashi, M., Fujita, S.C., Appel,

- T.R., Müller, W.E., et al. (2005) Murine synaptosomal lipid raft protein and lipid composition are altered by expression of human apoE 3 and 4 and by increasing age. *J. Neurol. Sci.*, **229**–230, 225–232.
- 24) Huang, Y., Tanimukai, H., Liu, F., Iqbal, K., Grundke-Iqbal, I., & Gong, C.-X. (2004) Elevation of the level and activity of acid ceramidase in Alzheimer's disease brain. *Eur. J. Neurosci.*, **20**, 3489–3497.
  - 25) Yuyama, K. & Igarashi, Y. (2016) Physiological and pathological roles of exosomes in the nervous system. *Biomol. Concepts*, **7**, 53–68.
  - 26) Kaya, I., Zetterberg, H., Blennow, K., & Hanrieder, J. (2018) Shedding light on the molecular pathology of amyloid plaques in transgenic Alzheimer's disease mice using multimodal MALDI Imaging mass spectrometry. *ACS Chem. Neurosci.*, **9**, 1802–1817.
  - 27) Sawamura, N., Ko, M., Yu, W., Zou, K., Hanada, K., Suzuki, T., Gong, J.-S., Yanagisawa, K., & Michikawa, M. (2004) Modulation of amyloid precursor protein cleavage by cellular sphingolipids. *J. Biol. Chem.*, **279**, 11984–11991.
  - 28) Puglielli, L., Ellis, B.C., Saunders, A.J., & Kovacs, D.M. (2003) Ceramide stabilizes beta-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1 and promotes amyloid beta-peptide biogenesis. *J. Biol. Chem.*, **278**, 19777–19783.
  - 29) Grimm, M.O.W., Grimm, H.S., Pätzold, A.J., Zinser, E.G., Halonen, R., Duering, M., Tschäpe, J.-A., De Strooper, B., Müller, U., Shen, J., et al. (2005) Regulation of cholesterol and sphingomyelin metabolism by amyloid-beta and presenilin. *Nat. Cell Biol.*, **7**, 1118–1123.
  - 30) Hur, J.-Y., Welander, H., Behbahani, H., Aoki, M., Frånberg, J., Winblad, B., Frykman, S., & Tjernberg, L.O. (2008) Active  $\gamma$ -secretase is localized to detergent-resistant membranes in human brain. *FEBS J.*, **275**, 1174–1187.
  - 31) Vetrivel, K.S., Cheng, H., Kim, S.-H., Chen, Y., Barnes, N.Y., Parent, A.T., Sisodia, S.S., & Thinakaran, G. (2005) Spatial segregation of gamma-secretase and substrates in distinct membrane domains. *J. Biol. Chem.*, **280**, 25892–25900.
  - 32) Kalvodova, L., Kahya, N., Schwill, P., Eehalt, R., Verkade, P., Drechsel, D., & Simons, K. (2005) Lipids as modulators of proteolytic activity of BACE: Involvement of cholesterol, glycosphingolipids, and anionic phospholipids in vitro. *J. Biol. Chem.*, **280**, 36815–36823.
  - 33) Yanagisawa, K., Odaka, A., Suzuki, N., & Ihara, Y. (1995) GM1 ganglioside-bound amyloid beta-protein (A $\beta$ ): A possible form of preamyloid in Alzheimer's disease. *Nat. Med.*, **1**, 1062–1066.
  - 34) Hayashi, H., Kimura, N., Yamaguchi, H., Hasegawa, K., Yokoseki, T., Shibata, M., Yamamoto, N., Michikawa, M., Yoshikawa, Y., Terao, K., et al. (2004) A seed for Alzheimer amyloid in the brain. *J. Neurosci.*, **24**, 4894–4902.
  - 35) Matsubara, T., Iijima, K., Yamamoto, N., Yanagisawa, K., & Sato, T. (2013) Density of GM1 in nanoclusters is a critical factor in the formation of a spherical assembly of amyloid  $\beta$ -protein on synaptic plasma membranes. *Langmuir*, **29**, 2258–2264.
  - 36) Utsumi, M., Yamaguchi, Y., Sasakawa, H., Yamamoto, N., Yanagisawa, K., & Kato, K. (2009) Up-and-down topological mode of amyloid beta-peptide lying on hydrophilic/hydrophobic interface of ganglioside clusters. *Glycoconj. J.*, **26**, 999–1006.
  - 37) Yagi-Utsumi, M., Kameda, T., Yamaguchi, Y., & Kato, K. (2010) NMR characterization of the interactions between lyso-GM1 aqueous micelles and amyloid beta. *FEBS Lett.*, **584**, 831–836.
  - 38) Ariga, T., Kobayashi, K., Hasegawa, A., Kiso, M., Ishida, H., & Miyatake, T. (2001) Characterization of high-affinity binding between gangliosides and amyloid beta-protein. *Arch. Biochem. Biophys.*, **388**, 225–230.
  - 39) Kakio, A., Nishimoto, S.I., Yanagisawa, K., Kozutsumi, Y., & Matsuzaki, K. (2001) Cholesterol-dependent formation of GM1 ganglioside-bound amyloid beta-protein, an endogenous seed for Alzheimer amyloid. *J. Biol. Chem.*, **276**, 24985–24990.
  - 40) Yagi-Utsumi, M., Matsuo, K., Yanagisawa, K., Gekko, K., & Kato, K. (2010) Spectroscopic characterization of intermolecular interaction of amyloid  $\beta$  promoted on GM1 micelles. *Int. J. Alzheimers Dis.*, **2011**, 925073.
  - 41) Yamamoto, N., Matsubara, T., Sato, T., & Yanagisawa, K. (2008) Age-dependent high-density clustering of GM1 ganglioside at presynaptic neuritic terminals promotes amyloid beta-protein fibrillogenesis. *Biochim. Biophys. Acta*, **1778**, 2717–2726.
  - 42) Hirano-Sakamaki, W., Sugiyama, E., Hayasaka, T., Ravid, R., Setou, M., & Taki, T. (2015) Alzheimer's disease is associated with disordered localization of ganglioside GM1 molecular species in the human dentate gyrus. *FEBS Lett.*, **589**, 3611–3616.
  - 43) Keilani, S., Lun, Y., Stevens, A.C., Williams, H.N., Sjöberg, E.R., Khanna, R., Valenzano, K.J., Checler, F., Buxbaum, J.D., Yanagisawa, K., et al. (2012) Lysosomal dysfunction in a mouse model of sandhoff disease leads to accumulation of ganglioside-bound amyloid- $\beta$  peptide. *J. Neurosci.*, **32**, 5223–5236.
  - 44) Knight, E.M., Williams, H.N., Stevens, A.C., Kim, S.H., Kottwitz, J.C., Morant, A.D., Steele, J.W., Klein, W.L., Yanagisawa, K., Boyd, R.E., et al. (2015) Evidence that small molecule enhancement of  $\beta$ -hexosaminidase activity corrects the behavioral phenotype in Dutch APP (E693Q) mice through reduction of ganglioside-bound A $\beta$ . *Mol. Psychiatry*, **20**, 109–117.
  - 45) Yamasaki, Y., Tsuda, L., Suzuki, A., & Yanagisawa, K. (2018) Induction of ganglioside synthesis in Drosophila brain accelerates assembly of amyloid  $\beta$  protein. *Sci. Rep.*, **8**, 8345.
  - 46) Yuyama, K. & Yanagisawa, K. (2010) Sphingomyelin accumulation provides a favorable milieu for GM1 ganglioside-induced assembly of amyloid  $\beta$ -protein. *Neurosci. Lett.*, **481**, 168–172.
  - 47) Vella, L.J., Greenwood, D.L.V., Cappai, R., Scheerlinck, J.-P. Y., & Hill, A.F. (2008) Enrichment of prion protein in exosomes derived from ovine cerebral spinal fluid. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **124**, 385–393.
  - 48) Yuyama, K., Sun, H., Usuki, S., Sakai, S., Hanamatsu, H., Mioka, T., Kimura, N., Okada, M., Tahara, H., Furukawa, J.-I., et al. (2015) A potential function for neuronal exosomes: Sequestering intracerebral amyloid- $\beta$  peptide. *FEBS Lett.*, **589**, 84–88.
  - 49) Saman, S., Kim, W., Raya, M., Visnick, Y., Miro, S., Saman, S., Saman, S., Jackson, B., McKee, A.C., Alvarez, V.E., et al. (2012) Exosome-associated tau is secreted in tauopathy models and is selectively phosphorylated in cerebrospinal fluid in early Alzheimer disease. *J. Biol. Chem.*, **287**, 3842–3849.
  - 50) Fauré, J., Lachenal, G., Court, M., Hirrlinger, J., Chatellard-Causse, C., Blot, B., Grange, J., Schoehn, G., Goldberg, Y., Boyer, V., et al. (2006) Exosomes are released by cultured cortical neurones. *Mol. Cell. Neurosci.*, **31**, 642–648.
  - 51) Taylor, A.R., Robinson, M.B., Gifondorwa, D.J., Tytell, M., & Milligan, C.E. (2007) Regulation of heat shock protein 70 release in astrocytes: Role of signaling kinases. *Dev. Neurobiol.*, **67**, 1815–1829.
  - 52) Krämer-Albers, E.-M., Bretz, N., Tenzer, S., Winterstein, C., Möbius, W., Berger, H., Nave, K.-A., Schild, H., & Trotter, J. (2007) Oligodendrocytes secrete exosomes containing major myelin and stress-protective proteins: Trophic support for axons? *Proteomics Clin. Appl.*, **1**, 1446–1461.



- 53) Yuyama, K., Sun, H., Mitsutake, S., & Igarashi, Y. (2012) Sphingolipid-modulated exosome secretion promotes clearance of amyloid- $\beta$  by microglia. *J. Biol. Chem.*, **287**, 10977–10989.
- 54) Yuyama, K., Sun, H., Sakai, S., Mitsutake, S., Okada, M., Tahara, H., Furukawa, J.-I., Fujitani, N., Shinohara, Y., & Igarashi, Y. (2014) Decreased amyloid- $\beta$  pathologies by intracerebral loading of glycosphingolipid-enriched exosomes in Alzheimer model mice. *J. Biol. Chem.*, **289**, 24488–24498.
- 55) Fitzner, D., Schnaars, M., van Rossum, D., Krishnamoorthy, G., Dibaj, P., Bakhti, M., Regen, T., Hanisch, U.-K., & Simons, M. (2011) Selective transfer of exosomes from oligodendrocytes to microglia by macropinocytosis. *J. Cell Sci.*, **124**, 447–458.
- 56) Trajkovic, K., Hsu, C., Chiantia, S., Rajendran, L., Wenzel, D., Wieland, F., Schwille, P., Brügger, B., & Simons, M. (2008) Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science*, **319**, 1244–1247.
- 57) Yuyama, K., Takahashi, K., Usuki, S., Mikami, D., Sun, H., Hanamatsu, H., Furukawa, J., Mukai, K., & Igarashi, Y. (2019) Plant sphingolipids promote extracellular vesicle release and alleviate amyloid- $\beta$  pathologies in a mouse model of Alzheimer's disease. *Sci. Rep.*, **9**, 16827.
- 58) Blom, T., Li, S., Dichlberger, A., Bäck, N., Kim, Y.A., Loizides-Mangold, U., Riezman, H., Bittman, R., & Ikonen, E. (2015) LAPT4B facilitates late endosomal ceramide export to control cell death pathways. *Nat. Chem. Biol.*, **11**, 799–806.
- 59) Zhou, K., Dichlberger, A., Martinez-Seara, H., Nyholm, T.K.M., Li, S., Kim, Y.A., Vattulainen, I., Ikonen, E., & Blom, T. (2018) A ceramide-regulated element in the late endosomal protein LAPT4B controls amino acid transporter interaction. *ACS Cent. Sci.*, **4**, 548–558.
- 60) Ferreira, C.R. & Gahl, W.A. (2017) Lysosomal storage diseases. *Transl. Sci. Rare Dis.*, **2**, 1–71.
- 61) Record, M., Carayon, K., Poirot, M., & Silvente-Poirot, S. (2014) Exosomes as new vesicular lipid transporters involved in cell-cell communication and various pathophysiological. *Biochim. Biophys. Acta*, **1841**, 108–120.
- 62) Asai, H., Ikezu, S., Tsunoda, S., Medalla, M., Luebke, J., Haydar, T., Wolozin, B., Butovsky, O., Kügler, S., & Ikezu, T. (2015) Depletion of microglia and inhibition of exosome synthesis halt tau propagation. *Nat. Neurosci.*, **18**, 1584–1593.
- 63) Kara, E., Marks, J.D., & Aguzzi, A. (2018) Toxic protein spread in neurodegeneration: Reality versus fantasy. *Trends Mol. Med.*, **24**, 1007–1020.
- 64) Kosicek, M., Zetterberg, H., Andreasen, N., Peter-Katalinic, J., & Hecimovic, S. (2012) Elevated cerebrospinal fluid sphingomyelin levels in prodromal Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.*, **516**, 302–305.
- 65) Mielke, M.M., Haughey, N.J., Bandaru, V.V.R., Weinberg, D.D., Darby, E., Zaidi, N., Pavlik, V., Doody, R.S., & Lyketsos, C.G. (2011) Plasma sphingomyelins are associated with cognitive progression in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.*, **27**, 259–269.
- 66) Mielke, M.M., Maetzler, W., Haughey, N.J., Bandaru, V.V.R., Savica, R., Deuschle, C., Gasser, T., Hauser, A.-K., Gräber-Sultan, S., Schleicher, E., et al. (2013) Plasma ceramide and glucosylceramide metabolism is altered in sporadic Parkinson's disease and associated with cognitive impairment: A pilot study. *PLoS One*, **8**, e73094.
- 67) Chan, R.B., Perotte, A.J., Zhou, B., Liong, C., Shorr, E.J., Marder, K.S., Kang, U.J., Waters, C.H., Levy, O.A., Xu, Y., et al. (2017) Elevated GM3 plasma concentration in idiopathic Parkinson's disease: A lipidomic analysis. *PLoS One*, **12**, e0172348.
- 68) Fiandaca, M.S., Kapogiannis, D., Mapstone, M., Boxer, A., Eitan, E., Schwartz, J.B., Abner, E.L., Petersen, R.C., Federoff, H.J., Miller, B.L., et al. (2015) Identification of preclinical Alzheimer's disease by a profile of pathogenic proteins in neurally derived blood exosomes: A case-control study. *Alzheimers Dement.*, **11**, 600–607.e1.
- 69) Yuyama, K., Mitsutake, S., & Igarashi, Y. (2014) Pathological roles of ceramide and its metabolites in metabolic syndrome and Alzheimer's disease. *Biochim. Biophys. Acta*, **1841**, 793–798.

## 著者寸描

### ●湯山 耕平 (ゆやま こうへい)



北海道大学大学院先端生命科学研究院特任准教授。博士 (理学)。

■略歴 1997年愛媛大学理学部卒業。2002年横浜市立大学大学院総合理学研究科修了。東京都臨床医学総合研究所、国立長寿医療センター研究所を経て、北海道大学大学院先端生命科学研究院。15年から現職。

■研究テーマと抱負 スフィンゴ脂質による細胞内外の分子輸送制御機構と、その神経変性疾患、特にアルツハイマー病病態への関与について理解したい。

■ウェブサイト <http://sphingolipidfunction.com>

■趣味 美術鑑賞。