

20000467

厚生科学研究費補助金

脳科学研究事業

臨床応用可能なアルツハイマー病の生物学的マーカーの確立に  
関する研究

平成12年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 難波 吉雄

平成13年3月

## 目次

### I. 総括研究報告書

- 臨床応用可能なアルツハイマー病の生物学的マーカーの確立に関する研究 . . . 1  
難波吉雄

### II. 分担研究報告

1. 要介護認定等における痴呆症の早期診断に関する研究 . . . 4  
遠藤英俊
2. 診断応用の生物学的マーカーとしてのアルツハイマー病 . . . 11  
特異神経病変蛋白分子種に関する研究  
森啓
3. アルツハイマー病の SPECT による早期診断 . . . 16  
宇野正威、朝田隆
4. 脂質代謝に関連した蛋白のアルツハイマー病生物学的マーカーの  
可能性に関する研究 . . . 19  
難波吉雄

- III. 研究成果の刊行物に関する一覧表 . . . 22

- IV. 研究成果の刊行物、別刷 . . . 26

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

（総括）研究報告書

臨床応用可能なアルツハイマー病の生物学的マーカーの確立に関する研究

主任研究者 難波吉雄 東京大学講師

研究要旨 痴呆症の早期診断の確立は早急に解決すべき課題である。現時点では神経心理テスト、生物学的マーカーの測定、画像診断の三つの組み合わせが最も合理的な早期診断の可能性がある。ドイツで開発された神経心理テスト、タウの不均一性、食餌因子と脂肪酸結合蛋白等の脂質関連蛋白、SPECT 画像所見の年齢による差違等新たな生物学的マーカーの候補が本研究により明らかとなった。今後これら手法を組み合わせることによるシステムの構築、要介護認定等実際の現場での応用方法等が今後の検討課題と思われる。

分担研究者 遠藤英俊  
国立療養所中部病院内科医長  
分担研究者 森啓  
大阪市大教授  
分担研究者 宇野正威  
国立精神・神経センター

アルツハイマー病の診断に、より客観性を持たせるだけではなく、アルツハイマー病の早期診断、早期治療を可能とする、痴呆の進行度や治療薬の効果判定に資する、要介護認定が行われる歳の痴呆の判定等に役立つといった点を可能とするべく、臨床応用可能なアルツハイマー病の生物学的マーカーを確立することを目的とする。

A. 研究目的

我が国では、最近公的介護保険制度が導入された。概ねその運営はスムーズに行われているが、痴呆の判定に関しては実際の状態よりも軽く判定されるといった問題点も指摘されている。また、DSM-IVなど通常使用されている痴呆の診断基準では、アルツハイマー病と診断される時点において記憶・認知機能障害は中等度以上であり、早期であるとは言い難い。そこで本研究では、

B. 研究方法

アルツハイマー病の早期診断における生物学的マーカーには、神経心霊学的検査、生物学的マーカー、画像診断を組み合わせることが最も有効であると考えられる。そこで、これら3つの面について、それぞれ検討を行った。

神経心理学的検査では、ドイツの Ihr 氏が開発した痴呆症の早期診断テストを邦訳

した。この神経心理テストはアルツハイマー病の早期診断を目的に開発された新しいテストであり、点数は50点満点で、34点以下が痴呆症の疑いありと判定される。計91名(平均年齢78歳)を対象に検討を行った。

生物学的マーカーとしては、1つには既存のマーカーとしてその有効性について認識が確立されつつあるタウ蛋白について、新たな視点から検討を加えた。タウ愛想フォーム特異抗体は、領域特異的な合成ペプチドを抗原とした6種類のタウアイソフォーム別抗体を作製した。本抗体を用いて生化学的、免疫細胞学的検討を行った。また、アルツハイマー病患者ではその病態形成にアポEが関与していることが知られているがその機序は明らかでない。さらに最近アルツハイマー病患者において、摂取栄養の詳細な検討により多価不飽和脂肪酸N6(リノレン酸等)/N3(EPA, DHA等)比が有意に高いことが明らかとなった。アポE、多価不飽和脂肪酸とも体内の脂質代謝において重要な役割を果たしている物質である。そこで脂質代謝の面から、また環境因子の1つである食餌因子についてその影響をマーカーで評価する目的から、脂肪酸結合蛋白についてその特異抗体を用いてアルツハイマー病脳を免疫細胞学的に検討した。

画像診断では、NINCDS-ADRDAによるアルツハイマー病診断基準を満たした108名を対象とした。詳細な神経心理学的検査、SPECT, MRI 検査を施行した。以来1年ごとに同様の検査を繰り返した。また、これらの患者のうち15名に対して造形療法と演奏による音楽療法を6ヶ月間施行し、SPECT所見を比較した。

### C. 研究結果

1hrの神経心理学的テストでは、91名の素点は17点から48点に分布し、平均点は34.3であった。MMSEは15点から30点に分布し、平均点は24.4であった。新テストはMMSEより加齢に伴う記憶障害の患者や痴呆でない患者の点が広く分布し、より鋭敏なテストであることが示された。基本的にはMMSEと本テストは相関するが、MMSEが25点以上であっても3名が本テストで34点を下回った。6種類のタウ分子種を識別できる特異抗体を用いた検討によって、アルツハイマー病脳には6種類のすべてのタウ分子種が存在すること、さらにそのうち2つの分子種(352と381)のアルツハイマー病脳内蓄積が他の4種のタウアイソフォーム(383, 410, 412, 441)より顕著であることが見いだされた。また、脂肪酸結合蛋白に対する特異抗体を用いたアルツハイマー病脳の免疫細胞学的検討によって、皮膚型の脂肪酸結合蛋白免疫原性がアルツハイマー神経原線維の一部に認められた。また、一部の神経細胞体も陽性に染色された。心型脂肪酸結合蛋白抗体を用いた検討ではこれらの所見は認められなかった。

画像診断に関して、脳血流初回調査時点での年齢が69歳以下のグループでは、従来の報告同様帯状回後部の血流変化が最初に認められた。しかし、70歳代では帯状回前部と海馬で、80歳代では海馬において血流変化が初期変化として認められた。また、脳リハビリテーションによるSPECT所見の変化に関する検討では、認知機能の改善が明らかであった例では前頭葉前部での血流が維持・改善される傾向が認められた。

#### D. 考察

本研究で用いられた新テストは軽度痴呆患者の鋭敏な診断補助ツールとして有用である可能性が示された。今後さらなる症例の蓄積が必要であると考えられる。

タウについては、従来タウの異常性がリン酸化の亢進にのみ焦点が当てられてきたが、本研究によってアルツハイマー病等痴呆性疾患脳内におけるタウの不均一性についても検討を加えることが重要であることが示された。また、脂肪酸結合蛋白抗体を用いた研究では通常脳内では発現の少ない皮膚型の脂肪酸結合蛋白がアルツハイマー病脳で過剰に発現している可能性も考えられ、食餌因子との関連も含め、今後生物学的マーカーとなり得るかどうかについてさらに検討を進める必要があると思われる。

画像所見については、70歳前後を境にその所見が異なることから、患者数の多い70歳以降発症のアルツハイマー病の初期診断では本研究で明らかとなった画像所見に留意する必要があると思われる。また、脳リハビリテーションの効果について考察する場合、各リハビリテーションの方法や併用薬剤等についても考慮する必要があると思われる。

#### E. 結論

アルツハイマー病の早期診断を行う際には生物学的マーカーを活用することが重要である。なかでも神経心理学的検査、生物学的マーカー、画像診断が有効であるがこれらの手法を効果に組み合わせていくシステムあるいはプロトコルを検討する必要がある。また、要介護認定における痴呆の判定のように多くの人数について短時間

で検討する場合や実際の診療現場においても利用できる取った視点も考慮する必要があると思われる。

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

（分担）研究報告書

要介護認定等における痴呆症の早期診断に関する研究

分担研究者 遠藤英俊 国立療養所中部病院 内科医長

**研究要旨** 痴呆症の早期診断の確立は早急に解決すべき課題である。現時点では神経心理テスト、生物学的マーカーの測定、画像診断の三つの組み合わせが最も合理的な早期診断の可能性がある。ただ痴呆症の介護、福祉の面からいうと介護保険における痴呆性老人の要介護認定という課題があり、社会的には緊急的に解決すべき課題である。この目的にそって「痴呆症と要介護認定方法に関する研究」以下の二つの研究を行った。はじめに要介護認定方法における痴呆症課題について検討した。早期診断に有効な新しい神経心理テストを日本に導入し、その有用性を確認した。

分担研究者 遠藤英俊  
国立療養所中部病院内科医長

必要度との関連、痴呆のスケールとの関連、ADL や手段的 ADL との関連で検討した。

**研究 1：痴呆症と要介護認定方法に関する研究**

**A. 研究目的**

平成 12 年 4 月から開始された介護保険法においては高齢者で長期ケアを必要とする要介護者を在宅や施設での介護を提供する新しいシステムを保険という枠組みで創設した。主な対象となる疾患は痴呆症や脳血管障害、骨折などで介護を必要としている高齢者である。そこで本研究班の目的でもある痴呆症の診断、経過観察、介護の必要度を推定する新たな方法を検討することを目的とした。

**B. 研究方法**

認定調査の質問項目における痴呆症に関連する項目の検討、痴呆の重症度と介護の

**C. 研究結果**

**訪問調査員の課題**

調査員は実務研修で要介護認定調査については熟知しているはずであるが、要介護高齢者の理解が十分でないとか、調査員の多くが必ずしも痴呆の専門家とは限らず、痴呆の症状の判断ができないとか、痴呆の症状には日内変動があることなどが認定調査に反映されていない場合がある。またまだ痴呆などでは調査員の前で、普段いえない名前がいえたり、場所や季節が答えたりする場合がある。調査員はこうした痴呆に特有の症状について理解する必要がある。すなわち実務研修や調査員の研修において痴呆の病態についてもビデオやテキストによる再教育が必要であろう。痴呆の要介護認定において調査員の痴呆症に関する教育

がもっとも急務な課題である。

#### 一次判定の課題

自分の名前、季節、場所がいないなどの現在の調査項目ではかなり重い痴呆症でしか影響がうけることがない。つまり現在の調査項目では軽い痴呆症では判定されないという根本的な欠点をはらんでいる。すなわち痴呆症の軽症は判定がしにくく、中等症から重症になるにつれ、徐々に傾斜配分されている訳ではなく、その判定は困難である。同様なことは問題行動の調査項目にもあてはまり、21も調査項目があるが、多くの症状をすべて同時にもつことはなく、いくつかの症状があるのみであり、たとえば徘徊や昼夜逆転、被害妄想など症状としてあれば介護負担が大きくなるという重みづけがなされていない。つまり障害は単体ではなく心身の障害により複雑なファクターの総合的な影響をうけるのであって、多くの項目がかさならなければ要介護度が上がらないことになる。さらに問題行動がいくつか重なりと一次判定がかえって軽くなる事実がある。これは現実の感覚と全く乖離しており、一次判定に対する矛盾や問題がこうしたことから派生してきている。痴呆に関連した調査項目を表1に示す。こうした問題行動のうち異食行為、感情不安定、火の不始末、不潔行為は問題行動関連介助の樹形図において一次判定に反映されていない。さらにこうした問題行動はいつも症状がでるとは限らず、症状が不定期にでることにより介護時間と数日間の調査では捉えられていない可能性がある。また痴呆患者をケアするのに鍵をかけた施設での介護時間の調査が行われた可能性も否定で

きない。そのあたりの調査の背景は明らかでない。基本的に痴呆患者のケアにおける精神的負担はいづれにせよ反映されていないため、介護者の心身の負担感が反映されにくいシステムとなっており、構造的に痴呆の要介護度は現状のシステムでは難しいといえるであろう。修正は今後の課題である。

#### 主治医意見書の課題

主治医意見書の内容は医師の力量により大きく異なるのはいうまでもないことである。かかりつけ医といっても痴呆の専門家もいればそうでない医師もいる。地域に専門家がそうそういるものでもないし、痴呆疾患センターに相談しようにも遠かったり、その数もキャパシティも十分でない。その点で愛知県医師会では改訂長谷川式スケールを推奨しているのはある意味で見識である。いづれにしてもかかりつけ医による痴呆の診断、症状の把握がポイントである。痴呆症の日内変動や日によって症状が異なる「まだら痴呆」のような場合には調査員による訪問調査では捉えにくいいため、主治医意見書が重要である。痴呆のことがきちんと診断できる医師の意見書はそれだけでも二次判定に影響を与えるというまでもない。痴呆症の診断で最も重要なことはせん妄や、うつ病、甲状腺機能低下症などの鑑別である。要介護認定が低ければ困るのは患者であれ、家族である。医師会を中心に主治医意見書の講習や痴呆の知識を広める努力も必要である。

#### 介護認定審査会の課題

日内変動や日によって症状が異なる「ま

だら痴呆」のような場合には主治医意見書が重要である。痴呆症の診断で最も重要なことはせん妄や、うつ病、甲状腺機能低下症などとの鑑別である。審査会委員による一次判定だけでなく、特記事項や主治医意見書からの病状の読みとりが必要である。今後は認定審査会での変更する場合のガイドブックなどが必要であろう。

#### 痴呆症のケアの観点から

痴呆の介護と寝たきりの介護の比較を表1に示した。痴呆の介護において身体的介護はどちらかといえば痴呆の末期や重症において必要であり、当初は見守り、指示、精神的負担が大きく、身体介護より精神的介護を要することが多い。こうしたケアの現状を要介護認定に反映させることは難しい。しかし今後要介護認定の改善を考える上では検討が必要であろう。

#### 要介護認定が軽いと感ずる要因

これまで利用していた在宅サービスが使えない場合や、必要なサービスが介護報酬のための利用制限をするしかない場合などに、寝たきりの要介護高齢者に比較して痴呆の認定は軽いと認識される。多くの場合は介護認定審査会に持ち込まず、症状が変化した場合に行う再申請を選んでいるようだ。基本的にこれまでの介護時間の決定にあたり、直接介護時間に対して、痴呆の介護は相容れないものがあり、介護負担感こそが痴呆介護への重荷となる本質であり、要介護度と疾患の重症度との乖離、要介護度と痴呆介護の負担感との乖離がみられるといえる。本質的に要介護認定を見直すのであればこの「痴呆の介護負担」を評価する

必要がある。

#### D. 考察

痴呆が軽くでるのは、施設のデータから誘導した計算法であることも一因である。また施設には痴呆専門病棟が入っており、一括して合理的な介護をしている事情が影響した可能性がある。また、施設では身体拘束や病棟などの鍵かけも介護時間に影響を与えていることは明白である。原則はADLが保たれている痴呆患者に対する要介護度をどう判定

するかが必要で、差し当たりは訪問調査員の痴呆症に関する教育、主治医意見書における痴呆症の診断とコメントの充実、介護認定審査会での痴呆症の判断基準の統一などが早期に修正できるポイントであろう。また在宅の介護時間の調査も必要であろう。介護保険の育てていく視点を持ち、痴呆の要介護認定の方法を早期に検証する必要がある。これらの結果から介護保険の要介護認定においては軽度の痴呆症の患者、徘徊などがあるが身体機能の低下が著しくないものは要介護認定が軽くなる結果を得た。これに対して主治医意見書の重要性、生物学的マーカの導入など検討を要することが示唆された。

#### E. 結論

要介護認定方法は痴呆症の認定については今後検討が必要である。

#### 研究2：早期診断を目的とした神経心理テストの開発に関する研究

##### A. 研究目的

痴呆症のスケールには現在長谷川式簡



易知能スケールやミニメンタルステート検査、西村式などがあるが痴呆症の有無を推定するための補助診断であり、早期診断を目的するものではなかった。そこで今回ドイツで開発されたスケールを日本語訳し、その有効性について検討した。

## B. 研究方法

Ihrらが開発した痴呆症の早期診断テストを日本語訳した。この神経心理テストはアルツハイマー病の早期診断を目的に開発された全く新しいテストであり、点数は50点満点であり、34点以下において痴呆症の疑いありとされている。本研究ではMMSEの得点が15点以上の高齢者で27人を対象とした。対象者の平均年齢は78歳であり、合計91名であった。

## C. 結果

早期から軽度の痴呆症の患者には鋭敏な早期診断のための補助診断ツールとして用いられることが示唆された。

## C. 研究結果

結果を図1に示す。Dr. Ihrの開発した神経心理テストの91名の素点は17点から48点に分布し、平均点は34.3であった。一方MMSEは15点から30点に分布し、平均は24.4点であった。MMSEより加齢に伴う記憶障害の患者や痴呆でない患者の点が広く分布し、より鋭敏なテストであることが示された。基本的にMMSEと本スケールは相関するが、MMSEが25点以上であっても3名がスケールでは34点を下回り、痴呆の存在を推定された。

## D. 考察

本スケールはドイツで開発されたものであるが、日本での使用も可能であり、今後はさらに症例をふやし、本スケールの早期診断の補助診断としての可能性について検討する必要がある。また本スケールに生物学的マーカや画像診断を併用することにより早期診断のシステムを検討し、発症が2年以内であり超早期の診断を行うことを可能にする予定である。今後の発展の可能性としては、このスケールの生物学的マーカを併用し、早期診断の確率をあげることである。

## E. 結論

我々がドイツから日本語訳して、導入した新しい神経心理テストは早期診断に有効である可能性がある。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Toshio Hayashi, Izumi Ito, Hatsuyo Kano, Hidetoshi Endo, and Akihisa Iguchi, Estriol (E3) Replacement Improves Endothelial Function and Bone Mineral Density in Very Elderly Women, *Journal of Gerontology, BIOLOGICAL SCIENCES*, 55, 4, 183-190, 2000.

Hiroyuki Umegaki, Hiroyuki Ikari, Hideki Nakahata, Hidetoshi Endo, Yusuke Suzuki, Osamu Ogawa, Akira Nakamura, Takayuki Yamamoto, Akihisa Iguchi, Plasma cortisol levels in elderly female subjects with Alzheimer's disease: a cross-sectional and longitudinal study, (in press). *Brain Research* 881, 241-243, 2000

Osamu Ogawa, Hirrrroyuki Umegaki, Daigo

Sumi, Toshio Hayashi, Akira Nakamura,  
Navin Kumar Thakur, Juri Yoshimura,  
Hidetoshi Endo, Akihisa Iguchi,  
Inhibitory effects of indomethacin and  
ibuprofen on  $\beta$ -amyloid-stimulated  
inducible nitric oxide synthase gene  
expression and nitric oxide production  
in the murine macrophage, (in press).

Osamu Ogawa, Hirrrroyuki Umegaki, Daigo  
Sumi, Toshio Hayashi, Akira Nakamura,  
Navin Kumar Thakur, Juri Yoshimura,  
Hidetoshi Endo, Akihisa  
Iguchi, Inhibition of inducible nitric  
oxide synthase gene expression by  
indomethacin or ibuprofen in  $\beta$ -amyloid  
protein-stimulated J774 cells. European  
Journal of Pharmacology  
408, 137-141, 2000

Hiroyuki Umegaki, Hiroyuki Ikari, Hideki  
Nakahata, Juri Yoshimura, Hidetoshi  
Endo, Takayuki Yamamoto, Akihisa  
Iguchi, Low plasma epinephrine in  
eiderly female subjects of dementia of  
Alzheimer tyre, Brain Research  
858, 67-70, 2000

図1 MMSEと早期診断スケールの相関関係

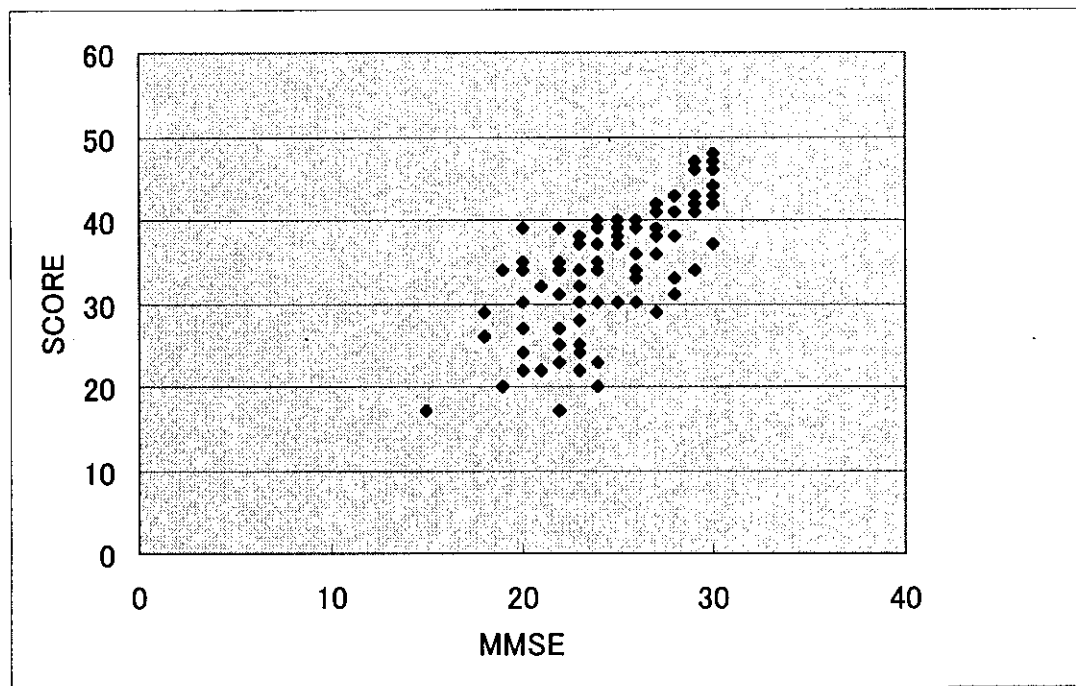


表1. 痴呆の介護と寝たきりの介護の比較

	痴呆症の介護	寝たきりの介護
身体的問題	<p>介護者の負担小？                      排泄の介護（おむつはずし）                      （トイレ誘導）                      入浴の介護                      着替えの介護                      食事の介護</p>	<p>介護者の負担大？                      排泄の介護（おむつ交換）                      入浴の介護（負担大）                      着替えの介護（負担大）                      食事の介護（負担大）</p>
精神的問題	<p>介護者の負担大？                      同じことを何度もきく                      （精神的負担大）                      コミュニケーション困難                      24時間目が離せない                      徘徊（精神的負担大）                      転倒などの事故の危険                      見守り型の介護                      介護者のベースでできない                      ありがとうといえない                      被害妄想（精神的負担大）                      人間関係がくずれる</p>	<p>介護者の負担小？                      会話不能                      コミュニケーション困難                      介護時間は短い？                      束時間は長い                      体位交換（褥そうの予防）                      全介助                      介護者のベースでできる                      人間関係は保たれる                      （満足感につながる）</p>
時間的問題	<p>介護者の負担                      徘徊や昼夜逆転に対して                      24時間 気をぬけない                      見守り介護（手をださない介護）</p>	<p>介護者の負担                      身体介護に対して                      介護者のベースで介護                      手をだす介護</p>

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

（分担）研究報告書

診断応用の生物学的マーカーとしてのアルツハイマー病特異神経病変  
蛋白分子種に関する研究

分担研究者 森啓 大阪市立大学医学部 教授

**研究要旨** アルツハイマー病での脳病変としてのタウ蛋白が知られているが、今回、6種類のタウ蛋白分子種を識別する抗体を用いた分析によって、タウ 352 とタウ 381 の2つの分子種の脳内蓄積が他のアイソフォーム（タウ 383、410、412、441）より顕著であることを見出した。従来タウの異常性がリン酸化の亢進だけに焦点が集められてきたのに対し、今回の研究成果は、痴呆研究に新たな視点を与えるものであり、診断を中心に病因機構の解明にタウ蛋白分子種の選別という概念について議論した。

分担研究者 森啓  
大阪市立大学医学部教授

A. 研究目的

神経変性疾患の中でも大脳皮質の病変を主症状とする痴呆症は、アルツハイマー病に代表される重要な医学的、社会的課題であるといえる。痴呆性神経疾患における脳病変である老人斑および神経原線維変化を構成するAbetaとタウは、病理学的診断だけでなく、生前の臨床診断にとっても有力なマーカー分子として広く認識され、その応用が期待されている。

髄液中に含まれるAbetaとタウ分子の定量についての研究が特にAbetaに集中してきた理由は、Abetaがアルツハイマー病に高い特異性をしめすことによる。しかしながら、Abetaはアルツハイマー病以外の痴呆症での関連性が低く、また、臨床的痴呆度との相関性についての研究蓄積も定着し

ていない。一方、タウはアルツハイマー病の診断には非特異的であるが、むしろ痴呆症という疾患群に直結する分子としての性格が注目されてきている。診断マーカーとしてのタウに関する問題点は広範な痴呆症を特異的に鑑別診断する方法の開発であり、そのための理論的、応用的研究が強く望まれている。

タウに関する病変として異常リン酸化が確立しており、リン酸化酵素とアミノ酸部位が詳細に検討されてきた。従来の研究ではタウのアイソフォームに関する視点が残されてきたとも言える。アイソフォームレベルでのリン酸化をはじめ病変担当分子としてのアイソフォームの同定に関する研究は、最近のFTDP-17を始めとするタウオパチー研究の上からも最重要課題の1つであるといえる。本研究では、タウ分子を中心とした脳病変分子に注目し、痴呆症診断での臨床応用を目的とした場合の従来の

問題点を解決し、診断マーカーとしての分子（及びその修飾）の確率をめざすものである。

## B. 研究方法

### (1) 生体試料

アルツハイマー病脳組織は凍結あるいはホルマリン固定後、5ミクロンに薄切したものをを用いた。Abeta およびタウに対する抗体を用いた免疫染色、HE染色、生前の臨床経過から総合して確定診断された試料を研究対象として用いた。

### (2) タウアイソフォーム抗体の調製

全てのタウアイソフォーム特異抗体は各タウアイソフォームの領域特異的な合成ペプチドをデザインして免疫源とした。エクソン3と10の内部配列に対する抗体(E3、E10)は、ポリクローナル抗体を用いた。

### (3) ヒトタウアイソフォーム cDNA の大腸菌による発現

6種類のヒトタウアイソフォーム cDNA は以前クローニングしたものを使用した。ヒトタウアイソフォーム cDNA は、全て大腸菌発現用の pET ベクターに組み込み、大腸菌 BL21 に形質転換し終濃度 0.3mM の IPTG によってヒトタウアイソフォームタンパク質発現を誘導した。

### (4) ウエスタンブロッティング

ヒトタウアイソフォームを発現させた大腸菌を 10% のポリアクリルアミドゲルで電気泳動し、PVDF 膜に転写した。転写した膜は、ブロッキング、一次抗体、ビオチン化 2 次抗体、アビチン-ビオチン複合体の反応後、4-クロロ-1-ナフトールで発色させた。

### (5) 免疫組織化学

ホルマリン固定、パラフィン包埋後、5ミ

クロン厚の脳切片を脱パラフィンした後、HE染色あるいは免疫組織染色をした。内因性ペルオキシダーゼ活性を阻害させる場合には、室温で 30 分間 0.03% 過酸化水素溶液中で処理した。

(6) PHF タウの調製は、Goedert らによる既報に従った。

## C. 研究結果

タウアイソフォーム抗体を用いたアルツハイマー病脳免疫組織染色は、すべての抗体について実施し、タウアイソフォーム抗体の特異性は、大腸菌で発現した 6 種類のヒトタウ蛋白によってすでに、検索されているが、過剰リン酸化された異常なタウ分子も又、これらの抗体によって特異的に認識されていることが分かった。さらに、その免疫反応性は、最初に見られた免疫組織像とは異なり、E3抗体を別としてほぼ等しい陽性反応を示した。

## D. 考察

本研究では、アルツハイマー病神経原線維変化について集中して分析した結果を示している。ここで明らかになったことは、タウアイソフォームという視点で異常タウを見た場合、従来 of 異常タウとして知られる PHF-tau とは明らかに異なる神経病理学的な神経原線維変化（アルツハイマー病神経原線維）の免疫組織学染色の結果が得られたことである。従来 of タウ抗体あるいは、異常リン酸化タウ抗体による分析では、考えられなかったタウアイソフォームの不均一性は、アルツハイマー病神経原線維変化の新たな異常性とも考えることができる。

近年、大きな話題となっている FTDP-17

( Frontotemporal dementia with Parkinsonism linked to chromosome 17) では、タウのアイソフォーム分布の異常が遺伝的に示されている。この異常性の生物学的解釈は、微小管の重合能の差異によって、部分的に説明されているが、なお十分であるとは言えない。今回の結果は、FTDP-17 という前頭葉側頭葉痴呆症だけでなく、アルツハイマー病でもタウアイソフォームの異常が生じていることが初めて示唆されているわけであり、痴呆症一般について、タウのアイソフォーム異常が存在する可能性がある。

もちろん、本研究におけるアイソフォームの異なる免疫反応結果は、タウアイソフォーム分子の不均一性ではなく、抗体の異なる反応性による可能を完全には否定できていないし、定量結果も、画像分析であり、ELISA という化学分析でない点で本研究成果を確定するには、さらなる検討が必要である。

## E. 結論

6種類のタウアイソフォームに特異的な複数の抗体を用いて、アルツハイマー病神経原線維変化を分析した結果、タウアイソフォームが不均一である証拠をしめした。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

#### 原著論文

1) Wolf, D.S., Gearing, M., Snowden, D.A., Mori, H., Markesbery, W.R. & Mirra, S.S. (1999) *Alzheimer Disease and Associated Disorders* 13(4): 226-231

Progression of regional neuropathology in Alzheimer disease and normal elderly: findings from the nun study

2) Maruyama, K., Usami, M., Kametani, F., Tomita, T., Iwatsubo, T., Saido, T.C., Mori, H., and Ishiura, S. (2000) *Int. J. Molecular Medicine* 5: 269-273  
Molecular interactions between presenilin and calpain: Inhibition of m-calpain-protease activity by presenilin-1, 2 and cleavage of presenilin-1 by m-, m-calpain

3) Lippa, C.F., Schmidt, M.L., Nee, L.E., Bird, T., Nochlin, D., Hulette, C., Mori, H. Lee, V.M-Y., and Trojanowski, J.Q. (2000) *Neurology* 54: 100-104  
AMY plaques in familial AD; Comparison with sporadic Alzheimer's disease

4) Sahara, N., Tomiyama, T., and Mori, H. (2000) *J. Neurosci. Res.* 60(3): 380-387  
Missense point mutations of tau to segregate with FTDP-17 exhibit site-specific effects on microtubule structure in COS cells: A novel action of R406W mutation

5) Tamaoka, A., Miyatake, F., Matsuno, S., Ishii, K., Nagase, S., Sahara, N., Ono, S., Mori, H., Wakabayashi, K., Tsuji, S., Takahashi, H. & Shoji, S. (2000) *Neurology* 54: 2319-2321  
Apolipoprotein E allele-dependent antioxidant activity in brains with

Alzheimer's disease

6) Shimizu, T., Watanabe, A., Ogawara, M., Mori, H. & Shirasawa, T. (2000) Archives of Biochemistry and Biophysics. 381(2): 225-234

Isoaspartate formation and neurodegeneration in Alzheimer's disease.

7) Cavani, S., Tamaoka, A., Moretti, A., Marinelli, L., Angelini, G., Di Stefano, S., Piombo, G., Cazzulo, V., Matsuno, S., Shoji, S., Furiya, Y., Zaccheo, D., Dagna-Bricarelli, F., Tabaton, M. & Mori, H. (2000) The American Journal of Medical Genetics 95 (3): 224-228

Plasma levels of amyloid b40 and 42 are independent from apoE genotype and mental retardation in Down syndrome

8) Pigino, G., Pelsman, A., Mori, H. & Busciglio, J. (2001) J. Neurosci. 21 (3): 834-842

Presenilin 1 mutations reduce cytoskeletal association, deregulate neurite growth and potentiate neuronal dystrophy and tau phosphorylation

9) Ishii, K., Lippa, C., Tomiyama, T., Miyatake, F., Ozawa, K., Tamaoka, A., Hasegawa, T., Fraser, P.E., Shoji, S., Nee, L.E., Pollen, D.A., St.

George-Hyslop, P.H., Li, K., Ohtake, T., Kalaria, R.N., Rossor, M.N., Plantos, P.L., Cairns, N.J., Farrer, L.A., and

Mori, H. (2001) Neurobiology of Aging (in press)

Distinguishable effects of *Presenilin-1* and *APP717* mutations on amyloid plaque deposition

総説

1) 石黒幸一、森 啓(2000) 臨床精神医学講座 S9, 319-332

タウとそのリン酸化、タウ遺伝子の突然変異

2) 小坂 理、森 啓(2000) 現代医療 32 (9), 2263-2268

タウ蛋白の変異と痴呆性疾患

3) 森 啓 (2000) KEY WORD 精神[第2版], 138-139. (樋口輝彦、神庭重信、染矢俊幸、宮岡 等、編集), (株) 先端医学社  
アポE4

4) Mori, H. (2000) Neuropathology 20: S55-S60

Untangling Alzheimer's disease from fibrous lesions of neurofibrillary tangles and senile plaques

5) Kosaka, S., Takuma, H. & Mori, H. (2000) Research Trends (in press)

Clonopathology and gene expression in tauopathies

6) 詫間 浩、森 啓(2000) 神経難病の分子機構 タンパク質のコンホメーション異常による疾患 , 156-163. (石浦章一



編), シュプリンガー・フェアラーク東京  
株式会社  
タウとコンホメーション

7) Sahara, N., Tomiyama, T. & Mori, H.  
(2001) Neuroscientific Basis of Dementia  
(ed. Tanaka, C., McGeer, P.L., & Ihara,  
Y.) Birkhauser Verlag Basel, Switzerland,  
113-120

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）  
（分担）研究報告書

アルツハイマー病のSPECTによる早期診断

分担研究者 宇野正威 国立精神・神経センター副院長

研究要旨 ごく早期のアルツハイマー病患者を対象に経年的にSPECT検査を施行した。特に70歳以上のアルツハイマー病患者に注目し、ごく早期に特徴的な血流所見を確認した。これは海馬を中心とする脳血流低下であった。既に比較的若年発症のアルツハイマー病かんじゃにおける最初期所見は帯状回後部・楔前部にみられると報告されている。我々がえた結果は、既報における所見と明らかに異なるものである。70歳以降にアルツハイマー病の発症は急増する。こうした数の多い晩発性のタイプを早期診断する上で有用な所見と考えられる。

分担研究者 宇野正威  
国立精神・神経センター副院長

イマー病患者の脳がリハビリテーションにより可逆的に変化するか否かもY Pびてきに検討した。

A. 研究目的

今日アルツハイマー病診断の生物学的マーカーとして最も有力と考えられるのはSPECTなどの脳機能画像である。既に1990年代半ばから最初期の血流異常が帯状回後部、楔状部に現れることが知られていた。ところが、患者数が急増する70歳代以降のかんじゃについては、この所見は当てはまりにくいという印象を我々は持っていた。そこで、早期アルツハイマー病患者における最初期の所見が年齢によって異なるか否かをSPECTによる縦断調査から明らかにすることを目的とした。

なお、本年度は、アルツハイマー病脳の可塑性に注目し、こうした早期のアルツハ

B. 研究方法

対象は追跡期間中に、NINCDS-ADRDAによるアルツハイマー病の診断基準を満たした患者108名である。これらの対象に対して、詳細な神経心理学的検査とSPECT, MRI検査を施行した。以来、1年ごとに同様の検査を繰り返した。いずれも最高5年に及ぶ追跡期間内にNINCDS-ADRDAのprobableかpossibleADの診断基準を満たしている。この研究に先立って、知的に正常な者のデータを用いて各年代ごとに標準となる脳画像所見を得ている。これを要約すると、まず詳細な神経心理学的検査を行い、知的低下のない高齢健常者(N=119)であることを確認した。これらの健常者にSPECTとMRI検査を施行し、そのデータを集積して各年代

別に基準画像を作製した。このコントロールは119名、50～80歳代で各年代ごとに約30名からなる。検討は、各年代別に補正した局所の脳血流を3D-SSPにより比較することで行った。もちろん対象においては初回のデータを用いている。次に、脳の可塑性研究として、これらの患者のうち15名を無作為に選んで、造形療法と演奏による音楽療法を6ヶ月にわたり施行した。この介入前後でSPECT所見を比較した。

### C. 研究結果

初回調査時点での年齢が69歳以下のグループでは、従来の報告と同様に帯状回後部と楔前部で最初期の血流変化が認められた。これとは異なり、70歳代では帯状回前部と海馬で、80歳代では海馬において最初期の変化が認められた。さらに、70歳代のデータを2分して検討した。70歳代前半では、多少とも帯状回後部における所見が見られたが、後半ではこれが消失する傾向があった。脳リハビリテーションによるSPECT所見の変化として、認知機能の改善が明らかであった例では、前頭葉の前部で血流が医事・改善される傾向が示された。もビデオやテキストによる再教育が必要であろう。痴呆の要介護認定において調査員の痴呆症に関する教育がもっとも急務な課題である。

### D. 考察

今回我々が得た主な所見は、70歳前後を境としてアルツハイマー病の最初期SPECT所見は変化することにまとめられる。今日アルツハイマー病と一括される疾患群を病理学的あるいは症候的な根拠から、発症年齢によって分類すべきだという強い意見が

ある。すなわち、発症年齢65歳を持ってアルツハイマー病とアルツハイマー型痴呆とを区別すべきだと言われる。この根拠として最大なものがその特徴的な病理学所見の強度と分布であろう。

今回の対象は、発症年齢ではなく初回検査時の年齢によって区分されている。従って初回検査時に70歳であればおそらく発症は60歳代後半と推定される。つまり、このあたりでアルツハイマー病と一括される疾患には血流パターンに相違を生じてくるようである。とすれば、この所見と従来からの病理学的知見との間には対応関係があると思われる。つまり、アルツハイマー病は発症年齢によって形態的にも機能的にも異なるようである。既に詳細な病理学的検討によりアルツハイマー病の最初期の病理学的変化は海馬の近傍である内嗅野付近に現れることが示されている。比較的若年発症のアルツハイマー病脳における血流変化が帯状回後部に見られると最初に報じたのは養島らである。彼らは病理での海馬と画像所見での帯状回後部と言う一見矛盾する点について詳しく論じている。そして、一種の遠隔効果と神経伝達物質に重きを置いた理論でこの点を説明している。

若年とは異なり、晩発型ではなぜ海馬付近に最初期の所見が現れるかについては不明である。しかし1つの説明として、晩発型が正常加齢現象が加速したもので病因論的に若年型とは異なるという見方も可能かもしれない。

なお、造形・音楽療法による脳の可塑性については方法、併用薬剤など、考慮しなくてはならない課題が多い。

## E. 結論

70歳前後を境にして、アルツハイマー病の脳血流変化の最初期の所見が認められる部位が、帯状回後部・楔前部から海馬付近に移る。患者数の多い晩発型アルツハイマー病の初期診断は、この点を留意すべきである。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Asada T, Motonaga T, Yamagata Z, Uno M, Takahashi K. Association between retrospectively recalled napping behavior and later development of Alzheimer's disease. *Sleep* 23:629-634, 2000.

Asada T, Kinoshita T, Kakuma T. Analysis of behavior distribution among community dwelling elderly individuals with Alzheimer's disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 14:160-167, 2000.

Asada T, Motonaga T, Kinoshita T. Predictors of severity of behavioral disturbances among community dwelling elderly individuals with Alzheimer's disease: 6 year follow up study. *Psychiatry Clin Neurosci* 54:673-677, 2000.

Asada T, Matsuda H, Morooka T, Nakano S, Kimura M, Uno M. Quantitative SPECT analysis for the diagnosis of transient global amnesia. *Psychiatry Clin Neurosci* 54:691-694, 2000.

Ohnishi T, Matsuda H, Asada T, Hirakata M, Aruga M, Sakamoto S, Imabayashi E, Nishikawa M, Kato A. Activation in the auditory cortex during mental music rehearsal in highly trained musicians. *Cereb Cortex* 8:754-760, 2001.