

厚生科学研究費補助金

21世紀型医療開拓推進研究事業

アルツハイマー病生物学的診断マーカーの
確立に関する臨床研究

平成13年度 総括研究報告書

主任研究者 武田 雅俊

平成14年(2002年)3月

目 次

I. 総括研究報告書

アルツハイマー病生物学的診断マーカーの確立に関する臨床研究・・・・・・・・・・ 1

II. 分担研究報告書

1. アルツハイマー病遺伝子的マーカーの確立に関する研究・・・・・・・・・・ 11

武田 雅俊

2. 8-オキソグアニン DNA グリコシダーゼ (OGGI) 遺伝子多型とアルツハイマー病
の関連ならびに診断マーカーとしての有用性の検討・・・・・・・・・・ 15

浦上 克哉

3. アルツハイマー病生物学的診断マーカーの確立に関する臨床研究・・・・・・・・・・ 21

千葉 茂

4. アルツハイマー病生物学的診断マーカーの確立に関する臨床研究・・・・・・・・・・ 25

服部 英幸

5. アルツハイマー病骨髄液マーカーの確立に関する研究・・・・・・・・・・ 30

田中 稔久

6. アルツハイマー病痴呆と遺伝子多型との関連・・・・・・・・・・ 34

谷向 仁

III. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・ 38

VI. 研究成果の刊行物・別刷・・・・・・・・・・ 39

主任研究者 武田雅俊 大阪大学大学院医学系研究科・精神医学
分担研究者 浦上克哉 鳥取大学医学部・保健学科
分担研究者 千葉 茂 旭川医科大学医学部・精神医学講座
分担研究者 服部英幸 金沢医科大学・老年病学
分担研究者 田中稔久 大阪大学大学院医学系研究科・精神医学
分担研究者 谷向知国立療養所中部病院 精神科

研究要旨

高齢化社会にいたる現代は早期診断・早期治療のためにアルツハイマー病の生物学的診断マーカーの確立はきわめて重要である。アルツハイマー病生物学的診断マーカーの確立するにあたり、今回は遺伝的因子からの検討、酸化ストレス関連因子からの検討、そして簡便でかつ確実性の高いマーカーの開発といった3つのアプローチを用いた。

まず遺伝因子からの検討では、アルツハイマー病の生物学的診断マーカーとして APOE、ALDH2、LRP、A2M-ins/del、A2M-V/I、 α 多型のうちで、診断に寄与するリスク遺伝子多型は、APOE、ALDH2 多型であった。APOE 多型のみでは、患者検出率は 52.8%、健常者除外率は 82.6%であったが、APOE/ALDH2 多型両者を考慮した場合、患者検出率は 29.9%、健常者除外率は 95.0%であった。さらに、APOE、ALDH2、LRP、A2M-ins/del、A2M-V/I、 α 多型のうちで、生涯発症率に寄与するリスク遺伝子多型は、APOE、ALDH2、LRP、ABI 多型であり、APOE、ALDH2、LRP、 α 多型による生涯発症予測正答率は、82.4%と推測された。以上より、APOE/ALDH2 は痴呆症状がある場合の診断に、APOE/ALDH2/LRP/ α 多型はリスク判定に使用できる可能性が示唆された。また、APOE 多型はアルツハイマー病のみではなく、レビー小体を伴う痴呆でも高頻度に認め、この2疾患における危険因子であることが判明した。APOE プロモーター領域の多型によりプロモーター活性が異なるとの報告から、491A/T 多型について検討したところ、A アリルはアルツハイマー病において有意差を持って高頻度に認められたが、 $\epsilon 4$ の有無には影響されず発症年齢との関連も否定的であった。そして、APOE 多型とアルツハイマー病の側頭葉内側面の体積を比較したところ、海馬・扁桃体体積と $\epsilon 4$ アリル数には負の相関を認めた。さらに、8-オキソグアニン DNA グリコシダゼ(OGG1)遺伝子エクソン7の C/G 多型により、コドン 326 にセリンからシステインへ置換する変異があり、OGG1 の活性低下をきたすことが知られているのだが、我々は OGG1 のエクソン7 C/G 多型とアルツハイマー病との関連を検討し、エクソン7の C/G 多型とアルツハイマー病との有意な関連が示唆された。これは、APOE4 を持つ群でその傾向はより有意であり、OGG1 の GG 型と APOE4 の組み合わせでオッズ比が 5.56 と有意に上昇した。OGG1 の GG 型は APOE4 と協調して働き AD の発症・進展に関与している可能性が示唆された。

次に、酸化ストレス関連因子からの検討においては、先に検討した OGG1 の基質となる 8-hydroxyguanosine (8OHG)量の変化をアルツハイマー病早期の病態において知ることを目的に、AD 剖検脳を用いて神経細胞の酸化的傷害と β アミロイド (A β)沈着、神経原線維変化ならびに AD 罹病期間との関連性について検討した。アルツハイマー病脳の神経細胞内 8OHG は、老人斑(神経細胞外 A β)沈着の軽度な例でより顕著であった。また、神経細胞内 8OHG 免疫反応性の増強は、アルツハイマー病罹病期間の短い例においてより顕著であり、神経原線維変化を伴わない神経細胞で高度であった。さらに、神経細胞内 A β 沈着は老人斑沈着に先行する早期変化と考えられるが、同一の神経細胞内に A β 沈着と 8OHG の出現が観察された。以上の結果から、AD 脳における酸化的傷害は、AD の神経細胞変過程の早期段階に生じることが示唆され、酸化的傷害のマーカーは、AD 早期診断マーカーの候補として重要なもののひとつであることが明らかになった。この酸化スト

レス産物である 8OHG のマーカーとしての活用が必要なことが判明した。これとは別の酸化ストレス産物にのひとつであるカルボニル化蛋白の脳脊髄液中での検出をおこない、アルツハイマー病患者の脳脊髄液中には約 30 kDa のカルボニル化蛋白が正常圧水頭症患者に比べて多量に含まれていることが判明した。

最後に、簡便でかつ確実性の高いマーカーの開発については、口腔粘膜上皮を擦過しその細胞内の tau 蛋白量をウェスタンブロット法にて同定し、ELISA 法で定量化した。非リン酸化タウに対する抗体である BT-2 を用いたウェスタンブロットでは 65kDa および 110kDa に陽性のバンドを認め、ELISA 法を用いた測定ではアルツハイマー病例では血管性痴呆例、対照例に比し tau 蛋白量が有意に高値を示し、発症年齢が低いほど高値であることを認めた。口腔粘膜上皮のタウ蛋白をマーカーとして測定することにより簡便にアルツハイマー病の診断を行える可能性が示唆された。

キーワード：アルツハイマー病、アポリポ蛋白 E、タウ蛋白、酸化ストレス、8-オキシグアニン DNA グリコンダゼ

A. 研究目的

我が国の痴呆性高齢者は現時点で 130 万人を数えるが、この数は今後も増加し続けており 2035 年には 300 万人に達するものと予想されている。このうちの約半数はアルツハイマー病(AD)とされており、AD の早期診断法の確立は社会的急務ともいえる。アルツハイマー病の早期診断には、臨床症状、神経心理学的検査、生理学的検査、脳機能画像検査などが考えられるが、早期に、多人数をスクリーニングするという目的のためには、生物学的診断マーカーが最も有効と考えられる。

生物学的診断マーカーの必要性は、AD 治療薬が開発されつつあることを考えると、AD の確定診断に基づいた投薬や治療的介入を計画し、さらに、発症前段階の AD を的確に診断することにより AD の予防への道を切り開くために必要である。AD の生物学的診断マーカーの確立により、AD の早期診断、発症前診断が可能となれば、AD の発症を防ぐことができ、これは AD 患者の医療と介護に必要な多大の費用を抑えることが期待されることは言うまでもない。

国内外の多くのグループにより AD の生物学的診断マーカーの研究が進められている。例えば、糖鎖化アセチルコリンエステラーゼ、インターロイキン-6、サブスタン-P、シスタチン C などの上昇が AD 脳脊髄液中で検討されてきた。末梢血では、血清アポリポ蛋白レベル、血清ホモシステイン、APP アイソフォーム、IL-6、 $\alpha 1$ アンチキモトリプシン、オキシゲナーゼ-1、24S-ヒドロキシコレステロールのレベルなどが検討されてきた。現時点で臨床上の有用性が確認とされている診断マーカーとして脳脊髄液中のタウ蛋白とアミ

ロイド $\beta 42$ とがあるが、未だ生前診断を簡易に確定できるものではない。

今回、今回は遺伝的因子からの検討、酸化ストレス関連因子からの検討、そして簡便でかつ確実性の高いマーカーの開発といった 3 つのアプローチを用いて、AD の生物学的診断マーカー開発のための検討をおこなった。

B. 研究方法

遺伝因子からの検討では、対象は高齢発症型アルツハイマー病患者、年齢マッチの非痴呆コントロール、レビー小体を伴う痴呆患者、前頭側頭型痴呆患者、正常圧水頭症患者、進行性核上性麻痺患者、皮質基底核変性症であり、採血の際に患者および家族に検査の目的と内容等について十分な説明を行いインフォームドコンセントを得た。また、遺伝子検索においては、研究者が個人を特定できないようにし患者が不利益を被らないよう配慮した。検索したのは以下の遺伝子である。

APOE : $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ 多型
および-491A/T 多型

LRP : エクソン 3-silent c/t 多型

A2MV : コドン 1000 Val/Ile 多型

A2MD : エクソン 18-5' 側の ins/del 多型

ALDH2 : Glu/Lys 多型

α : chromosome 12p anonymous marker

OGG1 : エクソン 7 の C/G 多型

ALDH2 : Glu/Lys 多型

α : chromosome 12p anonymous marker

統計に関してはオッズ比検定(検定 1)、APOE 多型とのロジスティック検定(検定 2)、年齢補正による

ライフタイムリスク検定(APOE 多型/sex とのロジスティック検定) (検定3)をおこなった。

海馬・扁桃体体積の計測については、海馬、偏頭体を画像解析ソフト上でトレースして体積を計測し、その体積を頭蓋内容量で補正した左右の平均値を海馬、扁桃体体積として用いた。有意検定は Spearman correlation coefficient を用いた。

剖検脳の検討においては、確定診断されたAD脳22例、対照高齢者脳17例を用い、Methacarn固定(16h)後に海馬を含む切片を作製し、1F7(抗80HG抗体; Trevigen, 1:30)、7A2(抗Nitrotyrosine抗体; Dr. Beckman JSより供与, 1:100)、4G8(抗A β 抗体; Senetek, 1:1000)、およびAT8(抗リン酸化タウ抗体; Biosource, 1:500)を一次抗体として免疫染色(PAP法)を行った。また、神経細胞内A β 蓄積を検出するために、全長A β 前駆体蛋白質とは交差反応性を示さないA β 40およびA β 42のC末端に特異的な抗体(QCB-Biosource; 順に1:100, 1:250)による免疫染色も行った。二重染色法あるいは、連続切片法によってA β やタウと80HGの免疫反応を観察した。つづいて、海馬支脚における錐体細胞の80HG免疫反応強度(Optical density)ならびにA β 沈着量(% area)をQuantimet 570C Image Analysis System (Leica)を用いて解析した。

脳脊髄液の検討においては、サンプルはアルツハイマー病患者および正常圧水頭症患者から採取した脳脊髄液を用いて検討をおこなった。1mlのサンプルに10 μ lの500mM PMSF、2.5mg/ml aprotinine、2.5mg/ml leupeptineを添加し(最終濃度5mM PMSF、25 μ g/ml aprotinine、25 μ g/ml leupeptine)、それを100度で5分間ボイルしたあと200K x Gにて遠心し凝固物を遠沈して可溶性画分(supernatant)を得た。このステップはタウ蛋白などの熱耐性の蛋白を收拾するためのものである。このsupernatantをセントリカット超ミニ(分子量10,000画分)を用いて300 μ lまで濃縮し、それを氷冷アセトンによって蛋白沈降をかけてたあと、SpeedVacによって乾燥させた。この蛋白をポリアクリルアミドゲルにアプライして通常のウエスタンブロット解析と同様に、PVDF膜に転写した。転写後、カルボニル化蛋白の検出のために、PVDF膜をジニトロフェニル(DNP)溶液(0.2% DNP、2N HCl)に5分間浸潤させたあと転写溶液にて洗浄し、そこからブロッキングを開始して、抗体をアプライした。1次抗体は抗DNP抗体(Vector laboratory)を用い、検出はECL

システムをもちいた。また、同様の検討をアルツハイマー病脳由来のリン酸化タウ蛋白AD p-tau (Dr. Iqbal, K.. (NYS Institute for Basic Research, NY, U.S.A.)より供与)を用いて検討した。また、DNP溶液の処理をおこなわないものを、抗タウ蛋白抗体(Sigma)にて検討した。

簡便なマーカーの開発のためにおこなった、口腔粘膜上皮tau蛋白の検討においては、アルツハイマー病例(AD)37例、血管性痴呆例(VD)32例、65歳以上の高齢対照例(OC)36例、65歳以下の若年対照例(YC)35例を対象とした。である。口腔粘膜上皮採取は被検者に0.1%popidone iodine溶液にてうがいを繰り返してもらい、食物残渣を除去した後金属製の舌圧子にて頬部粘膜を擦過することによりおこない、採取後5% antibiotic antimycotic solutionを加えたDMEMに浮遊させて殺菌後、0.4%popidone iodine溶液を加えて洗浄した。Phosphate bufferで洗浄後、遠心してpelletをとり1%SDS400 μ lを加えて蛋白融解をおこなった。遠心後の上澄み液をウエスタンブロット、ELISA、蛋白量測定を試料とした。そして、口腔粘膜タウ蛋白の性状を調べる目的で、抗タウ蛋白抗体(BT-2, HT-7, TAU1, TAU2, TAU5, AT180, AT270, tau C terminal)を用いたウエスタンブロットを行った。また、脳脊髄液タウ蛋白を測定するキットであるフィノスカラーh TAU(ニプロ)を用いて口腔上皮タウ蛋白を測定した。一次抗体としてAT-120を用い、二次抗体としてHT-7, BT-2を用いた。採取される上皮の量は個人差があるため、BCA protein Assay Kit (PIERCE)を用いて蛋白定量を行い、上皮の総蛋白量を測定した。さらに、口腔粘膜上皮を採取しえた症例のうち同時に脳脊髄液を採取した29例(AD14例、VD9例、OC6例)についてはフィノスカラーh TAUキットを用いて脳脊髄液タウ蛋白濃度を測定し、口腔粘膜上皮タウ蛋白濃度との相関性を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は人体サンプルをもちいたものであるが、サンプル採取の際に患者および家族に検査の目的と内容等について十分な説明を行いインフォームドコンセントを得た。また、遺伝子検索においては、研究者が個人を特定できないようにし患者が不利益を被らないよう配慮した。

C. 研究結果

まず遺伝因子からの検討では、オッズ比(共優性効果とし、個別検定した場合)による検討をおこな

うと、検定 1(直接オッズ)、検定 2 (APOE 多型とのロジスティック検定)、検定 3(生涯オッズ)では、この結果より APOE にきわめて高いオッズが観察された他に ALDH2 においても一定の高い直接オッズ比が認められた。また、生涯オッズ比においては LRP と α においても有意に高い比が認められた。そこで遺伝因子での診断(補正なしにて検定)の可能性を検討するため、尤度比検定をおこなうと、有意と考えられるのは APOE と ALDH2 だけであり、この 2 つの遺伝因子による診断率を検討すると、健常正答率は 95.02%、患者正答率は 29.92%であり、全体で計算すると 74.75%となった。さらに、生涯発症予測検定(共優性として総合した場合)をおこなうと、有意なものは X chromosome、APOE、ALDH2、LRP、 α が挙げられた。そこで、遺伝因子での生涯発症予測(補正後検定)を検討するため、尤度比検定をおこなうと、APOE、ALDH2、LRP、 α が有意な値を示した。そこで、この 4 因子による発症予測率を計算すると、健常正答率は 91.81%、患者正答率は 61.42%となり、全体では 82.35%となって、高い予測率が観察された。

次に、疾患別の研究であるが、アルツハイマー病患者 211 例、レビー小体を伴う痴呆患者 68 例、前頭側頭型痴呆患者 62 例、正常圧水頭症患者 25 例、進行性核上性麻痺患者 21 例、皮質基底核変性症 19 例 DAT 211 例、DLB 68 例、FTD 62 例、NPH 25 例、PSP 21 例、CBD 19 例における apoE e4 アリルの出現率はそれぞれ、0.332、0.281、0.140、0.140、0.102、0.121 であった。それぞれの apoE 多型と健常対象者 211 例のデータ (e4 アリルの出現率: 0.111) との間で行った検定の結果、アルツハイマー病患者およびレビー小体を伴う痴呆患者で有意 ($p < 0.001$) であった。apoE 遺伝子プロモーター領域-491A/T 多型解析では、アルツハイマー病患者 213 例、レビー小体を伴う痴呆患者 39 例の apoE 遺伝子プロモーター領域-491A/T 多型 A アリルの出現率はそれぞれ 0.891、0.886 であった。それぞれの疾患と健常対象者 221 例 (A アリル出現率: 0.801) との間で検定を行った結果、アルツハイマー病患者では有意 ($p < 0.001$)、レビー小体を伴う痴呆患者では有意差は認めなかった ($p = 0.057$)。発症年齢による A アリルに出現は 65 歳未満発症群 0.904、65 歳以降発症群 0.888 であったが差異は認めなかった。さらに DAT の発症は e4 アリルの有無と A アリルの存在に影響されなかった ($p = 0.356$)。apoE 多型による海馬・扁桃体体積の相違においては、年齢、性別、教育歴、MMSE を 1 対 1 で対応させた apoEe3/3

群、e4/3 群、e4/4 群の海馬体積はそれぞれ $2,526 \pm 400$ 、 $2,401 \pm 412$ 、 $2,249 \pm 390$ (mm^3) であった。また扁桃体体積は $1,437 \pm 279$ 、 $1,372 \pm 299$ 、 $1,309 \pm 267$ (mm^3) であった。Spearman correlation coefficient を用いた検定により、海馬体積は apoEe4 アリルに容量依存的に減少を認めた ($r = -0.285$ 、 $p = 0.0007$)。また、扁桃体体積においても同様な結果であった ($r = -0.178$ 、 $p = 0.037$)。

OGG1 遺伝子エクソン 7 の C/G 多型については、アルツハイマー病患者との有意な関連が示唆され ($P < 0.05$)、その傾向はアポ E4 を持つ群でより顕著であった ($P = 0.039$)。OGG1 遺伝子の GG 型とアポ E4 の組み合わせでオッズ比が 5.56 と有意に上昇した。OGG1 遺伝子の GG 型はアポ E4 と協調して働きアルツハイマー病の発症・進展に関与している可能性が示唆された。しかし、認めた有意差は軽度であり、OGG1 遺伝子多型の検討が直接アルツハイマー病の診断マーカーとして有用とする結果は得られなかった。

剖検脳の検討においては、海馬支脚における錐体細胞の 8OHG 免疫反応強度は、アルツハイマー病脳において対照脳に比べて有意に増加していた。8OHG 免疫反応の出現は、別な酸化傷害のマーカーである Nitrotyrosine の免疫反応と一致して観察された。アルツハイマー病脳における錐体細胞の 8OHG および Nitrotyrosine の免疫反応性の増強は、老人斑として観察される A β 沈着の軽度な例でより顕著であった。また、錐体細胞の 8OHG 免疫反応性増強は、アルツハイマー病罹病期間の短い例においてより顕著であった。画像解析によって 8OHG 免疫反応強度と A β 沈着量 (% area) を計測したところ、両者の間に逆相関が認められ (Spearman の順位相関検定で $p < 0.001$)、8OHG 免疫反応強度と罹病期間との間にも逆相関が認められた (Spearman の順位相関検定で $p < 0.05$)。また、アルツハイマー病脳海馬錐体細胞の 8OHG 免疫反応強度は、神経原線維変化を伴う錐体細胞に比べて神経原線維変化を伴わない錐体細胞でより高度であった (Mann-Whitney の U 検定で $p < 0.01$)。さらに、アルツハイマー病海馬の 8OHG 陽性神経細胞群の一部に細胞内 A β 42 の蓄積が認められた。

脳脊髄液の検討においては、アルツハイマー病患者および正常圧水頭症患者から採取した脳脊髄液を用いて検討をおこなったが、今までの検討から両者はともにタウ蛋白濃度が高いことが判明している(アルツハイマー病: 430.6 ± 74.7 pg/ml、正常圧水頭症: 665.4 ± 329.7 pg/ml)。このサンプルをポリアクリルアミド

ゲルにアプライして PVDF 膜に転写し、DNP 溶液に浸潤後、抗 DNP 抗体を用いてウエスタンブロットをおこなうと、アルツハイマー病患者のサンプルでは約 30 kDa のところにバンドが染色されたが、正常圧水頭症患者のサンプルではその染色性が薄かった。この染色性の程度をデンストメトリーにて測定すると、アルツハイマー病患者のサンプルでは 5.5 ± 1.1 units であったが、正常圧水頭症患者のサンプルで 1.6 ± 0.8 units であり、値は有意に低かった。この、約 30 kDa のバンドが何であるかを詳しく検討するために、アルツハイマー病患者の脳脊髄液サンプルを DNP 溶液による処理なしで抗タウ蛋白抗体によって染色すると約 30 kDa のところにバンドが染色され、抗 DNP 抗体による染色とほぼ同じ位置にバンドがあることが確認された。さらに、アルツハイマー病脳由来のリン酸化タウ蛋白 AD p-tau を用いて、DNP 溶液処理をおこなって検討したところ、約 60 kDa の AD p-tau も抗 DNP 抗体によって染色されることが確認された。よって、この約 30 kDa の抗 DNP 抗体反応性のバンドはタウ蛋白である可能性が示唆された。

口腔粘膜上皮 tau 蛋白の検討においては、BT-2 によるウエスタンブロットでは 110 k Da および 65 k Da に陽性バンドを認めた。TAU1, TAU2, AT270, では陰性であったが、TAU5, AT180, anti-TAU C-terminal では陽性バンドをみとめた。非リン酸化タウに対する抗体だけでなく、リン酸化タウに対する抗体でも陽性像を認めた。脳脊髄液タウ蛋白と口腔粘膜上皮タウ蛋白との関連を比較すると、有意な正の相関をみとめた ($r=0.43$, $p=0.011$)。タウ蛋白濃度測定・群間比較においては、ELISA で測定したタウ蛋白量を総蛋白量で除した値をタウ蛋白濃度としてこれを指標として各疾患、対照例との比較を行った。アルツハイマー型痴呆では血管性痴呆、高齢対象例、若年対象例に比し有意に高値を示した (AD 0.93(0.11), VD 0.49(0.06), OC 0.53(0.06), YC 0.52(0.05), $p<0.01$)。カットオフポイントを 0.8 とした場合、sensitivity 50.0%, specificity 83.3%であった。若年および高齢対象例 72 例について年齢とタウ蛋白濃度との関連を検討したが有意な相関は認められなかった ($r=0.06$, NS)。アルツハイマー病例の発症年齢、重症度との関連においては、アルツハイマー病例 37 例において発症年齢との関連を検討したところ有意な負の相関を認めた ($r=-0.45$, $p=0.014$)。MMSE を指標として重症度との関連を検討したところ有意な相関は認められなかった ($r=0.08$, NS)。

D. 考察

神経原線維変化はアルツハイマー病の病理学的特徴のひとつであり、それを構成するタウ蛋白はアルツハイマー病の発症メカニズムの探求において重要であると同時に、診断においてもその重要性が高いと考えられている。アルツハイマー病の遺伝的因子の検討においては、APOE、ALDH2、LRP の 4 因子による発症予測率を計算すると、健常正答率は 91.81%、患者正答率は 61.42% となり、全体では 82.35% となって、高い予測率が観察されたので、有用な補助手段の一つと考えてよいと思われる。

また、アルツハイマー病のみではなくレビー小体を伴う痴呆でも $\epsilon 4$ の存在が有意に増加していたがレビー小体を伴う痴呆においても老人斑が多数認められるとの報告があり、整合性のある結果であると考えられる。apoE のプロモーター領域には少なくとも 5 箇所に多型が存在することが知られているが、その中で -491A/T に関しては A アリルが高頻度で出現しているという報告がみられ、本研究では A アリルの出現はアルツハイマー病で有意に増加は認められたものの $\epsilon 4$ アリルの有無では発症年齢には関連しない結果であった。-219G/T 多型あるいは -491 と -219 多型の組み合わせによりアルツハイマー病の発症や発症年齢に影響している可能性があり、これらについてさらに検討を行う必要があると考える。さらに、本研究では年齢、性差、教育歴、MMSE を合致させた DAT の側頭葉内側面の体積は $\epsilon 4$ アリル数に対して負の相関を認めるという結果を得た。側頭葉内側面は近時記憶に関与する部位であることから考えると記憶障害が緩徐に進行する経過をたどるアルツハイマー病は apoE $\epsilon 4$ を多く持つ可能性が示唆された。

OGG1 遺伝子の検討においては、その多型結果からアルツハイマー病患者では OGG1 活性が低下し、8-オキシグアニン量が増加している可能性が示唆される。そこで今後は、AD 抹消サンプル(髄液、血液、尿)での OGG1 活性と 8-オキシグアニン量を定量し、AD の診断マーカーとなり得る否かを検討していきたいと考える。

剖検脳の結果からは、アルツハイマー病脳における酸化的傷害は、老人斑形成の早期段階、すなわち、アルツハイマー病の神経細胞変性過程の早期段階に生じることが示唆された。このことは、アルツハイマー病の病理学的モデルであるダウン症候群の脳や家族性アルツハイマー病の原因遺伝子を導入したモデル動物脳において酸化的傷害が老人斑形成に先行す

るという報告によっても支持される。したがって、酸化的傷害のマーカーは、AD 早期診断マーカーの候補として重要なもののひとつであることが明らかになった。

脳脊髄液検討においては、皮質基底核変性症・前頭側頭葉型痴呆や正常圧水頭症などアルツハイマー病と同様にタウ蛋白が増加する痴呆性疾患の鑑別の可能性を考えたが、結果としてはアルツハイマー病患者の脳脊髄液中には約 30 kDa のカルボニル化蛋白が正常圧水頭症患者に比べて多量に含まれていることが判明した。この約 30 kDa のカルボニル化蛋白が、通常認められているタウ蛋白フラグメントかどうかについては結論付できないが、今後はその十分な同定をおこなう予定である。また、このようなカルボニル化蛋白の増加が、病気の重症度（ステージ）とどのように関係するののかも、今後の検討課題としたいと考えている。

口腔粘膜上皮細胞内のタウ蛋白の検討では、血管性痴呆や対象例に比し有意に増加していることを報告し、各種の抗タウ蛋白抗体を用いたウェスタンブロットの結果からは中枢神経系とおなじく口腔上皮内にもリン酸化および非リン酸化タウ蛋白が存在することを示している。これより、アルツハイマー病の病理変化が口腔上皮に反映されている可能性が示唆され、さらにこの性状についてはさらにくわしく検討していきたいと考えている。

E. 結論

高齢化社会にいたる現代は早期診断・早期治療のためにアルツハイマー病の生物学的診断マーカーの確立はきわめて重要である。アルツハイマー病生物学的診断マーカーの確立するにあたり、今回は遺伝的因子からの検討、酸化ストレス関連因子からの検討、そして簡便でかつ確実性の高いマーカーの開発といった3つのアプローチを用いた。

遺伝因子からの検討では、アルツハイマー病の生物学的診断マーカーとして診断に寄与するリスク遺伝子多型は、APOE、ALDH2 多型であり、生涯発症率に寄与するリスク遺伝子多型は、APOE、ALDH2、LRP、ABI 多型であり、APOE/ALDH2 は痴呆症状がある場合の診断に、APOE/ALDH2/LRP/ α 多型はリスク判定に使用できる可能性が示唆された。また、APOE 多型はアルツハイマー病のみではなく、レビー小体を伴う痴呆でも高頻度に認め、この2疾患における危険因子であることが判明した。APOE プロモーター領域の多型によりプ

ロモーター活性が異なるとの報告から-491A/T 多型について検討したところ、A アリルはアルツハイマー病において有意差を持って高頻度に認められた。そして、APOE 多型とアルツハイマー病の側頭葉内側面の体積を比較したところ、海馬・扁桃体体積と $\epsilon 4$ アリル数には負の相関を認めた。さらに、8-オキシグアニン DNA グリコシダゼ遺伝子エクソン7の C/G 多型とアルツハイマー病との有意な関連が示唆された。これは、APOE4 を持つ群でその傾向はより有意であり。

酸化ストレス関連因子からの検討においては、アルツハイマー病脳の神経細胞内 8OHG は、老人斑（神経細胞外 A β ）沈着の軽度な例でより顕著であり、神経細胞内 8OHG 免疫反応性の増強はアルツハイマー病罹病期間の短い例においてより顕著であり、神経原線維変化を伴わない神経細胞で高度であった。アルツハイマー病脳における酸化的傷害は、早期段階に生じることが示唆された。これとは別の酸化ストレス産物のひとつであるカルボニル化蛋白の脳脊髄液中での検出をおこない、アルツハイマー病患者の脳脊髄液中には約 30 kDa のカルボニル化蛋白が正常圧水頭症患者に比べて多量に含まれていることが判明した。

最後に、簡便でかつ確実性の高いマーカーの開発については、口腔粘膜上皮を擦過しその細胞内の tau 蛋白量を ELISA 法を用いた測定ではアルツハイマー病例では血管性痴呆例、対照例に比し tau 蛋白量が有意に高値を示し、発症年齢が低いほど高値であることを認めた。口腔粘膜上皮のタウ蛋白をマーカーとして測定することにより簡便にアルツハイマー病の診断を行える可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Fukusyo, E., Nakamura, Y., Kashiwagi, Y., Kudo, T., Tanaka, T., Matsumoto, N., Kida, T., Nakano, Y., Shinosaki, K., Takeda, M. Effects of presenilin 1 missense mutation and aluminum on early neuronal development of mouse brain. *Psychogeriatrics* 1,126-132, 2001.

Takeda, M., Tanaka, T., Arai, H., Sasaki, H., Shoji, M., Okamoto, K., Urakami, K., Nakashima, K., Matshubayashi, T., Sugita, M.,

Yoshida, H. Basic and clinical studies on the measurement of β -amyloid(1-42) in cerebrospinal fluid as a diagnostic marker for Alzheimer's disease and related disorders: Multi study in Japan. *Psychogeriatrics* 1,56-63,2001.

田中稔久、武田雅俊 シリーズ精神医学用語解説 タウオパチー、臨床精神医学 30,80-82,2001.

田中稔久、武田雅俊 文献抄録「アミロイド β ペプチドの免疫はアルツハイマー病モデルマウスの行動障害および老人斑を減少させる」「変異タウ蛋白(P301L)を発現するマウスにおける神経原線維変化、筋萎縮、進行性運動障害」老年精神医学雑誌 12, 305, 2001.

田中稔久、山森英長、和田健二、辻尾一郎、工藤喬、中村祐、柏木雄次郎、車谷隆宏、田上真次、森裕、小池裕子、神野由華、松本均彦、瀬川優子、福所英理子、武田雅俊 一次変性痴呆治療のためのタウ蛋白重合阻害についての研究 精神薬療研究年報 33,2-10,2001

田中稔久、武田雅俊 タウ蛋白の異常リン酸化機構 先端医療シリーズ 14 神経・筋疾患 杉田秀夫、福内靖男、柴崎浩監修 先端医療技術研究所 190-194,2001

浦上克哉、涌谷陽介、中島健二。パーキンソン病・関連変性疾患。治療別刷 83: 378~381, 2001.

岡村信行、荒井啓行、伊藤伸朗、浦上克哉、石黒幸一。Alzheimer 病診断の新機軸。医学のあゆみ 198: 377~382, 2001.

浦上克哉、谷口美也子、山形薫、和田健二、涌谷陽介、中島健二。アルツハイマー病の遺伝学的研究成果と今後の展望。Japan Medicine 11, 2001.

浦上克哉、中島健二。大脳皮質基底核変性症をめぐって—生化学的診断マーカー—。神経変性疾患に関する研究班 2000 年研究報告書 厚生科学研究費 25~28, 2000.

浦上克哉、谷口美也子、山形薫、和田健二、涌谷陽介、中島健二。老いにみられる脳機能障害—アルツハイマー病の遺伝的背景—。老年医学 39: 1421~1426, 2001.

浦上克哉、涌谷陽介、和田健二、山形薫 足立芳樹、中島健二。アルツハイマー病の疾患関連遺伝子。日老医誌 38: 117~120, 2001.

村田満、花房俊昭、武部啓、三木哲郎、掛江直子、高橋真理子、浦上克哉、小林祥泰、山根清美、杉浦勇、中川和子、今川彰久、木原康樹。日常診療におけるゲノム医療の役割。内科専門医会誌 13: 428-471, 2001.

浦上克哉。家族・介護者からの質問にどう答えるか。アリセプトはいつまで投与できるのでしょうか? クリニシアン 48: 98~99, 2001.

浦上克哉。家族・介護者からの質問にどう答えるか。アリセプトを投与する意義は何でしょうか? クリニシアン 48: 100~101, 2001.

浦上克哉、谷口美也子、涌谷陽介、中島健二。アルツハイマー病研究の新展開。現代医療 34: 97-102, 2002.

人見裕江、岩崎尚子、中村陽子、小河孝則、畝博、郷木義子、岡京子、徳山ちえみ、谷垣静子、宮林郁子、浦上克哉、稲光哲明、矢倉紀子。地域で暮らしている痴呆性高齢者の生活の満足度。米子医誌 53: 79-88, 2002.

人見裕江、中村陽子、小河孝則、畝博、森千佳、浜田美穂、岩崎祥子、郷木義子、岡京子、徳山ちえみ、谷垣静子、宮林郁子、浦上克哉、稲光哲明、矢倉紀子。在宅痴呆性高齢者の介護負担感と介護保険サービス利用に関する研究。米子医誌 53: 89-97, 2002.

浦上克哉。アルツハイマー病—診断のポイントと薬物療法—。日本総合診療医学会会誌 7: 37, 2002.

Itoh N, Arai H, Urakami K, Ishiguro K, Ohno H, Hampel H, Buerger K, Wiltfang J, Otto M, Kretzschmar H, Moeller HJ, Imagawa M, Kohno H, Nakasima K, Kuzuhara S, Sasaki H, Imahori K. Large-scale, multicenter study of cerebrospinal fluid tau protein phosphorylated at serine 199 for the antemortem diagnosis of Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 50: 150~156, 2001.

Urakami K, Arai H, Itoh N, Ishiguro K, Oono H, Kohno H, Kuzuhara S, Sasaki H, Imahori K, Nakashima K. CSF tau protein phosphorylated at serine 199 in Alzheimer's disease—A large scale and multi-center study. *World J Biol Psychiatry* 2: 181S, 2001.

Urakami K, Wada K, Arai H, Sasaki H, Kanai M, Shoji M, Ishizu H, Kashihara K,

Yamamoto M, Tsuchiya-Ikemoto K, Morimatsu M, Takashima H, Nakagawa M, Kurokawa K, Maruyama H, Kaseda Y, Nakamura S, Hasegawa K, Oono H, Hikasa C, Ikeda K, Yamagata K, Wakutani Y, Takeshima T, Nakashima K. Diagnostic significance of tau protein in cerebrospinal fluid from patients with corticobasal degeneration or progressive supranuclear palsy. *J Neurol Sci* 183: 95-98, 2001.

Urakami K, Wakutani Y, Nakashima K. Epidemiology and risk factor of dementia. 2001 Collegium Internationale Neuro-Psychopharmacologicum (CINP) Regional Meeting Hiroshima, Japan 329, 2001.

Shoji M, Matsubara E, Murakami T, Manabe Y, Abe K, Kanai M, Ikeda M, Tomidokoro Y, Shizuka M, Watanabe M, Amari M, Ishiguro K, Kawarabayashi T, Harigaya Y, Okamoto K, Nishimura T, Nakamura Y, Takeda M, Urakami K, Adachi Y, Nakashima K, Arai H, Sasaki H, Kanemaru K, Yamanouchi H, Yoshida Y, Ichise K, Tanaka K, Hamamoto M, Yamamoto H, Matsubayashi T, Yoshida H, Toji H, Nakamura S, Hirai S. Cerebrospinal fluid tau in dementia disorders: a large scale multicenter study by a Japanese study group. *Neurobiol Aging* 22: (2001) in press.

Yamagata K, Wakutani Y, Urakami K, Wada K, Arai H, Sasaki H, Higuchi S, Sato K, Nakashima K. Apolipoprotein E promoter-186 G/T polymorphism and Japanese Alzheimer's disease. *Alz Rep* 4: 161-165, 2001.

浦上克哉, 涌谷陽介, 和田健二, 山形薫, 足立芳樹, 中島健二. アルツハイマー病の原因遺伝子ならびに遺伝的危険因子の解析. *日老医誌* 38: 769~771, 2001.

Wakutani Y, Ito T, Wada-Isao K, Yamagata K, Adachi Y, Taniguchi M, Arai H, Sasaki H, Higuchi S, Sato K, Urakami K, Nakashima K. Identification of aberrant tau mRNA in brain tissue. *Alz Rep* 4: 145-150, 2001.

Matsushita S, Arai H, Yuzuriha T, Kato

M, Matsui T, Urakami K, Higuchi S. No association between DLST gene and Alzheimer's disease or Wernicke-Korsakoff Syndrome. *Neurobiol Aging* 22: 569-574, 2001.

Nunomura A, Perry G, Aliev G, Hirai K, Takeda A, Balraj EK, Jones PK, Ghanbari H, Wataya T, Shimohama S, Chiba S, Atwood CS, Petersen RB, Smith MA. Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *Journal of Neuro pathology and Experimental Neurology* 60(8):759-767, 2001

H Hattori, M Matsumoto, K Iwai, H Tsuchiya, E Miyouchi, M Takasaki, K Kamino, J Munehira, Y Kimura, K Kawanishi, T Hoshino, H Murai, H Ogata, H Maruyama, H Yoshida: The tau protein of oral mucosa increases in Alzheimer's disease. *J Gerontology, Medical Science*, 57(1), 64-70, 2002

2. 学会発表

田中稔久, 和田健二, 山森英長, 武田雅俊 リチウムによるタウ蛋白のリン酸化誘導 第21回リチウム研究会 2001.04.21 東京経団連会館

Yamamori H., Tanaka T., and Takeda M. Changes of Phosphorylation Level of Tau Protein in Cultured Cells by Cytotoxic Reagents. 5th International Conference on Progress in Alzheimer's and Parkinson's Disease (ADPD 2001), 2001.03.31-04.05., Kyoto International Conference Hall (KICHH).

Tanaka T., Yamamori H., Wada K., Nakashima K. and Takeda M. Phosphorylation of Tau Protein in Cultured Cells by Polyinosinic-Polycytidylic Acid. 5th International Conference on Progress in Alzheimer's and Parkinson's Disease (ADPD 2001), 2001.03.31-04.05., Kyoto International Conference Hall (KICHH).

田中稔久, 山森英長, 和田健二, 中島健二, 武田雅俊 2本鎖RNAによるタウ蛋白リン酸化への影響の検討 第42回日本神経学会総会 2001.5.11-13, 東京国際展示場(東京ビッグサイト)

和田健二、田中稔久、中島健二、武田雅俊 Ribotoxic stress 応答におけるタウ蛋白リン酸化の検討 第 42 回日本神経学会総会 2001.5.11-13、東京国際展示場（東京ビッグサイト）

Takeda M., Tanaka T, Arai H, Sasaki H, Shoji M, Okamoto K, Urakami K, Nakashima K, Katsubayashi T, Sugita M, Yoshida H. Basic and clinical studies on the measurement of β -amyloid (1-42) in cerebrospinal fluid as a diagnostic marker for Alzheimer's disease and related disorders : Multi center study in Japan. (Abst.) Tenth Congress of the International Psychogeriatric Association Sept, 9-13, 2001. (Nice in France)

Tanaka T, Yamamori H, Takeda M Effects of lithium on phosphorylation levels of tau protein (Abst.) Tenth Congress of the International Psychogeriatric Association Sept, 9-13, 2001. (Nice in France)

田中稔久、和田健二、山森英長、武田雅俊 アルツハイマー病のリン酸化調節異常 第 44 回日本神経化学・第 24 回日本神経科学合同大会 (Neuro2001)、2001.9.26、京都国際会議場

田中稔久、山森英長、和田健二、中島健二、武田雅俊 タウ蛋白リン酸化と結合蛋白 第 20 回日本痴呆学会、2001.10.4 アスト津（三重県）

和田健二、田中稔久、涌谷陽介、浦上克哉、山形薫、中島健二、武田雅俊 酸化ストレスによるタウ蛋白リン酸化の検討 第 20 回日本痴呆学会、2001.10.4 アスト津（三重県）

山森英長、田中稔久、武田雅俊 カスパーゼ阻害とタウ蛋白リン酸化について 第 20 回日本痴呆学会、2001.10.4 アスト津（三重県）

田中稔久、山森英長、和田健二、田中修二、鈴木英雄、工藤喬、紙野晃人、大河内正康、谷井久志、小池裕子、安田由華、貴田智之、松本均彦、福森亮雄、武田雅俊 タウ蛋白重合蓄積への結合因子の関与とその阻害剤開発についての研究 第 34 回精神神経系薬物治療研究報告会、2001.12.7、千里ライフサイエンスセンター

浦上克哉、涌谷陽介、山形薫、和田健二、中島健二. タウオパチーにおけるタウ遺伝子解析. 第 42 回日本神経学会総会 東京 5 月 11 日-13 日 2001

涌谷陽介、浦上克哉、和田健二、山形薫、荒井啓行、佐々木英忠、樋口進、中島健二. アルツハイマー型痴呆症剖検脳における Tau 遺伝子の異常スプライシングの解析. 第 42 回日本神経学会総会 東京 5 月 11 日-13 日 2001.

山形薫、涌谷陽介、浦上克哉、中島健二. アルツハイマー病(AD)におけるアポリポ蛋白 E(アポ E)とプロモーター多型によるハプロタイプの検討. 第 42 回日本神経学会総会 東京 5 月 11 日-13 日 2001.

浦上克哉. 高齢者痴呆の診断. 第 22 回日本老年学会総会 第 43 回日本老年医学会学術集会 ランチョンセミナー 大阪 6 月 13-15 日 2001.

浦上克哉. アルツハイマー病の原因遺伝子ならびに遺伝的危険因子の解析. ノバルティス老化および老年医学研究基金 1999 年度 研究助成受賞者講演第 22 回日本老年学会総会 第 43 回日本老年医学会学術集会 6 月 13-15 日 2001.

伊藤伸朗、荒井啓行、石黒幸一、大野英人、浦上克哉、今川正樹、葛原茂樹. 脳脊髄液 Serine199 部位リン酸化タウ;新しいアルツハイマー病の生物学的診断マーカー. 第 20 回日本痴呆学会 津 10 月 3-4 日 2001.

涌谷陽介、石崎公郁子、足立芳樹、森昌忠、森望美、鮫嶋美佳、和田健二、浦上克哉、中島健二. 鳥取県大山町における 2000 年度痴呆性疾患疫学調査. 第 20 回日本痴呆学会 津 10 月 3-4 日 2001.

山形薫、涌谷陽介、浦上克哉、和田健二、荒井啓行、佐々木英忠、樋口進、杠岳文、中島健二. アルツハイマー病と 8-オキシグアニン DNA グリコシラーゼ(hOGG1)遺伝子多型. 第 20 回日本痴呆学会 津 10 月 3-4 日 2001.

涌谷陽介、浦上克哉、和田健二、山形薫、荒井啓行、佐々木英忠、樋口進、中島健二. アルツハイマー型痴呆症剖検脳における Tau 遺伝子の異常スプライシングの解析 第 22 回日本老年学会総会 第 43 回日本老年医学会学術集会 大阪 6 月 13-15 日 2001

荒井啓行、岡村信行、丸山将浩、佐々木英忠、浦上克哉、中島健二. Alzheimer 病の論理的 bio-marker としての脳脊髄液リン酸化タウ. 第 22 回日本老年学会総会 第 43 回日本老年医学会学術集会 大阪 6 月 13-15 日 2001.

山形薫、涌谷陽介、浦上克哉、中島健二. ア

ルツハイマー病における Brain Mitochondria Carrier Protein 1(BMCP1)遺伝子多型のスクリーニング. 第22回日本老年学会総会 第43回日本老年医学界学術集会 大阪6月13-15日 2001

浦上克哉, 古和久典, 山形薫, 和田健二, 涌谷陽介, 中島健二. 日本人の脳血栓症および脳血管性痴呆における Activated Protein C-resistance の意義. 第22回日本老年学会総会 第43回日本老年医学界学術集会 大阪6月13-15日 2001.

浦上克哉. アルツハイマー病—診断のポイントと薬物療法—. 第10回日本総合診療医学会モ—ニングセミナー 高松2月17日 2002.

Urakami K, Wakutani Y, Wada K, Yamagata K, Nakashima K. Cerebrospinal fluid tau protein as a diagnostic marker in corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy. The 5th International Conference on Progress in Alzheimer's and Parkinson's Disease. The 9th International Catecholamine Symposium March31-April5, 2001 Kyoto, Japan.

Urakami K, Arai H, Ito N, Ishiguro K, Oono H, Kohno H, Kuzuhara S, Sasaki H, Imahori K, Nakashima K. CSF tau protein phosphorylated at serine 199 in Alzheimer's disease-A large scale and multi-center study. World Biol Psychiatry (2001) 2, 118S CLINICAL PSYCHIATRY-Symposia July1-7, 2001, Berlin, Germany.

Nunomura A, Chiba S, Kosaka K, Castellani RJ, Smith MA, Perry G. Oxidative damage to neuronal RNA in the cerebral cortex of dementia with Lewy bodies. Neuropathology 21 (Suppl.): A22, 2001 42nd Annual Meeting of the Japanese Society of Neuropathology (24-26 May 2001, Tokyo)

Nunomura A, Chiba S, Kosaka K, Castellani RJ, Smith MA, Perry G. Widespread oxidative damage to neuronal RNA in dementia with Lewy bodies. Poster Abstracts p 4-5, 2001 4th International Neurodegeneration in Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Related Disorders (23-24 July 2001, Princeton, New Jersey)

服部英幸、土屋 博、高崎幹裕、宮内英二、宗平純一、星野智子、村井 裕、紙野晃人、松本正幸、吉田 博：アルツハイマー型痴呆の口腔粘膜上皮タウ蛋白定量に関する検討（第3報）。第43回日本老年医学会学術集会、大阪、2001年6月

Hideyuki Hattori, Masayuki Matsumoto, Hiroshi Tsuchiya, Kunimitsu Iwai, Eiji Miyauchi, Mikihiro Takasaki, Kouzin Kamino, Junichi Munehira, Yasuhiro Kimura, Kenichi Kawanishi, Tomoko Hoshino, Hiroshi Murai, Hajime Ogata, Hidemichi Maruyama. : Tau protein of oral epithelium increases in Alzheimer's disease. The 17th Congress of the International Association of Gerontology, Vancouver, Canada, July, 2001

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

研究要旨

高齢化社会にいたる現代は早期診断・早期治療のためにアルツハイマー病の生物学的診断マーカーの確立はきわめて重要である。今回の研究では、アルツハイマー病の生物学的診断マーカーとして、遺伝的因子を検討した。APOE、ALDH2、LRP、A2M-ins/del、A2M-V/I、 α 多型のうちで、診断に寄与するリスク遺伝子多型は、APOE、ALDH2多型であった。APOE多型のみでは、患者検出率は52.8%、健常者除外率は82.6%であったが、APOE/ALDH2多型両者を考慮した場合、患者検出率は29.9%、健常者除外率は95.0%であった。さらに、APOE、ALDH2、LRP、A2M-ins/del、A2M-V/I、 α 多型のうちで、生涯発症率に寄与するリスク遺伝子多型は、APOE、ALDH2、LRP、ABI多型であり、APOE、ALDH2、LRP、 α 多型による生涯発症予測正答率は、82.4%と推測された。以上より、APOE/ALDH2は痴呆症状がある場合の診断に、APOE/ALDH2/LRP/ α 多型はリスク判定に使用できる可能性が示唆された。

キーワード：アルツハイマー病、遺伝多型、アポリポタンパク質E、アルコールデヒドロゲナーゼ

A. 研究目的

我が国の痴呆性高齢者は現時点で130万人を数えるが、この数は今後も増加し続けており2035年には300万人に達するものと予想されている。このうちの約半数はアルツハイマー病(AD)とされており、ADの早期診断法の確立は社会的急務ともいえる。アルツハイマー病の早期診断には、臨床症状、神経心理学的検査、生理学的検査、脳機能画像検査などが考えられるが、早期に、多人数をスクリーニングするという目的のためには、生物学的診断マーカーが最も有効と考えられる。

生物学的診断マーカーの必要性は、AD治療薬が開発されつつあることを考えると、ADの確定診断に基づいた投薬や治療的介入を計画し、さらに、発症前段階のADを的確に診断することによりADの予防への道を切り開くために必要である。ADの生物学的診断マーカーの確立により、ADの早期診断、発症前診断が可能となれば、ADの発症を防ぐことができ、これはAD患者の医療と介護に必要な多大の費用を抑えることが期待されることは言うまでもない。

国内外の多くのグループによりADの生物学的診断マーカーの研究が進められている。例えば、糖鎖化アセチルコリンエステラーゼ、インターロイキン-6、サブスタン-P、シスタチンCなどの上昇がAD脳脊髄液

で検討されてきた。末梢血では、血清アポリポタンパク質レベル、血清ホモシステイン、APPアイソフォーム、IL-6、 α 1アンチキモトリプシン、オキシゲナーゼ-1、24S-ハイドロキシコレステロールのレベルなどが検討されてきた。現時点で临床上の有用性が確認とされている診断マーカーとして脳脊髄液中のタウ蛋白とアミロイド β 42とがあるが、未だ生前診断を簡易に確定できるものではない。

今回、我々はアルツハイマー病の遺伝的因子を検索し、それを診断の補助に結び付けられないかと考え検索をおこなった。今までの欧米での統計結果によると、アルツハイマー病発症の遺伝的因子の強さ λ_s (患者家系での発症率と一般集団での発症率との比)は全体では4~5であり、APOEの λ_s は約2で約50%を占めること、残る遺伝因子は40~60%と考えられている。そこで、日本人での特徴と問題点を整理すると、家族性が少ないこと、死亡原因が時代により変遷していること、近年平均寿命の急激な延長が認められたこと、 λ_s を正確に概算するデータベースがないことなどが挙げられる。それでも、日本人におけるAPOE遺伝子の寄与は約50%であり、APOE遺伝子のリスク効果を見る限り、少なくとも高齢発症型については家族性と孤発性とを区別する必要はないと思われる。以上のことを前提として、高齢発症型アルツハイマー病患者お

よび年齢マッチの非痴呆コントロールを対象として、アルツハイマー病の遺伝的因子を検索し、診断補助の可能性を探る検討をおこなった。

B. 研究方法

対象は高齢発症型アルツハイマー病患者 (127 名) および年齢マッチの非痴呆コントロール (281 名) であり、遺伝解析の本人または家族の同意をいただいでい検討をおこなった。検索したのは以下の遺伝子である。

- APOE : $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ 多型
- LRP : エクソン 3-silent c/t 多型
- A2MV : コドン 1000 Val/Ile 多型
- A2MD : エクソン 18-5' 側の ins/del 多型
- ALDH2 : Glu/Lys 多型
- α : chromosome 12p anonymous marker

統計に関してはオッズ比検定 (検定 1)、APOE 多型とのロジスティック検定 (検定 2)、年齢補正によるライフタイムリスク検定 (APOE 多型/sex とのロジスティック検定) (検定 3) をおこない、年齢補正によるライフタイムリスク検定においては以下の補正值を用いた。

	男性	女性
65-69 歳	0.07	0.03
70-74 歳	0.26	0.09
75-80 歳	0.66	0.23
81-84 歳	1.00	0.35
85 歳以上	1.00	1.00

(倫理面への配慮)

本研究は人遺伝子をもちいたものであるが、遺伝解析のための血液採取においては本人または家族の同意をいただいているので、倫理面への配慮はなされているものと考え。

C. 研究結果

まず、オッズ比 (共優性効果とし、個別検定した場合) による検討を以下に示す。オッズ比 (p value)

	検定 1 (直接オッズ)	検定 2	検定 3 (生涯オッズ)
APOE	4.647* (<0.001)		10.892* (<0.0001)
LRP	0.933	0.916	2.304* (0.0048)
A2MD	1.889	1.604	1.549 (0.4398)
A2MV	1.174	1.196	1.209 (0.6662)
ALDH2	1.680* (0.0011)	1.718*	2.068* (0.0016)
α	1.182	1.250	2.125* (0.0003)

この結果より APOE にきわめて高いオッズが観察さ

れた他に ALDH2 においても一定の高い直接オッズ比が認められた。また、生涯オッズ比においては LRP と α においても有意に高い比が認められた。

そこで遺伝因子での診断 (補正なしにて検定) の可能性を検討すると以下ようになる。尤度比検定表

Factor	χ^2 値	p value
APOE*	50.293	<0.0001
ALDH2*	10.138	0.0015
A2MD	1.977	0.1597
A2MV	0.303	0.5818
LRP	0.016	0.8994
α	1.667	0.1966

p value より有意と考えられるのは APOE と ALDH2 と考えられるので、この 2 つの遺伝因子による診断率を検討すると、健常正答率は 95.02%、患者正答率は 29.92% であり、全体で計算すると 74.75% となる。さらに、生涯発症予測検定 (共優性として総合した場合) をおこなうと以下に示すデータとなる。

	OR	[95% C. I.]	(p value) X
chromosome	3.7*	[2.10 - 6.43]	(<0.0001)
APOE	9.9*	[4.88 - 20.0]	(<0.0001)
ALDH2	1.9*	[1.16 - 2.97]	(0.0097)
LRP	1.9*	[1.08 - 3.65]	(0.0284)
A2MD	1.9	[0.64 - 5.91]	(0.2411)
A2MV	1.2	[0.51 - 2.94]	(0.6405)
α	1.7*	[1.14 - 2.67]	(0.0110)

ここで有意なものは X chromosome、APOE、ALDH2、LRP、 α が挙げられる。そこで、遺伝因子での生涯発症予測 (補正後検定) を検討すると以下ようになる。尤度比検定表

Factor	χ^2 値	p value
APOE*	57.430	<0.0001
ALDH2*	9.856	0.0017
A2MD	2.607	0.1064
A2MV	0.293	0.5886
LRP*	26.452	<0.0001
α *	9.174	0.0025

APOE、ALDH2、LRP、 α が有意な値を示したことからこの 4 因子による発症予測率を計算すると、健常正答率は 91.81%、患者正答率は 61.42% となり、全体では 82.35% となって、高い予測率が観察された。

D. 考察

今回、我々はアルツハイマー病の遺伝的因子を検索し、それを診断の補助に結び付けられないかと考え検索

をおこなった。結果としては、APOE、ALDH2、LRPの4因子による発症予測率を計算すると、健常正答率は91.81%、患者正答率は61.42%となり、全体では82.35%となって、高い予測率が観察された。我々は以前の検討において、脳脊髄液中のタウ蛋白とAβ42の濃度を求めて、診断率を検討してきた。カットオフ値をAβ42は450pg/ml以下、タウ蛋白は300pg/ml以上、AD unit (タウ蛋白/Aβ42)を0.67以上と設定した場合の診断率は以下の通りであった。

	Aβ42	TAU	AD unit	健常正答率
患者正答率	75.3%	89.5%	89.8%	72.7%

今回の遺伝子診断のデータはこの脳脊髄液のデータとほぼ同じ程度で予測できることから、有用な手段の一つと考えてよいと思われる。

E. 結論

高齢化社会にいたる現代は早期診断・早期治療のためにアルツハイマー病の生物学的診断マーカーの確立はきわめて重要である。今回の研究では、アルツハイマー病の遺伝的因子を検索し、それを診断の補助に結び付けられないかと考え検討をおこなったところ、APOE、ALDH2、LRPの4因子による発症予測率を計算すると、健常正答率は91.81%、患者正答率は61.42%となり、全体では82.35%となって、高い予測率が観察された。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Fukusyo, E., Nakamura, Y., Kashiwagi, Y., Kudo, T., Tanaka, T., Matsumoto, N., Kida, T., Nakano, Y., Shinosaki, K. and Takeda, M. Effects of presenilin 1 missense mutation and aluminum on early neuronal development of mouse brain. *Psychogeriatrics* 1,126-132, 2001.

Takeda, M., Tanaka, T., Arai, H., Sasaki, H., Shoji, M., Okamoto, K., Urakami, K., Nakashima, K., Matshubayashi, T., Sugita, M., Yoshida, H. Basic and clinical studies on the measurement of β-amyloid(1-42) in cerebrospinal fluid as a diagnostic marker for

Alzheimer's disease and related disorders: Multi study in Japan. *Psychogeriatrics* 1,56-63,2001.

田中稔久、武田雅俊 シリーズ精神医学用語解説 タウオパチー、臨床精神医学 30,80-82,2001.

田中稔久、武田雅俊 文献抄録「アミロイドβペプチドの免疫はアルツハイマー病モデルマウスの行動障害および老人斑を減少させる」「変異タウ蛋白(P301L)を発現するマウスにおける神経原線維変化、筋萎縮、進行性運動障害」老年精神医学雑誌 12, 305, 2001.

田中稔久、山森英長、和田健二、辻尾一郎、工藤喬、中村祐、柏木雄次郎、車谷隆宏、田上真次、森裕、小池裕子、神野由華、松本均彦、瀬川優子、福所英理子、武田雅俊 一次変性痴呆治療のためのタウ蛋白重合阻害についての研究 精神薬療研究年報 33,2-10,2001

田中稔久、武田雅俊 タウ蛋白の異常リン酸化機構 先端医療シリーズ14 神経・筋疾患 杉田秀夫、福内靖男、柴崎浩監修 先端医療技術研究所 190-194,2001

2. 学会発表

田中稔久、和田健二、山森英長、武田雅俊 リチウムによるタウ蛋白のリン酸化誘導 第21回リチウム研究会 2001.04.21 東京経団連会館

Yamamori H., Tanaka T., and Takeda M. Changes of Phosphorylation Level of Tau Protein in Cultured Cells by Cytotoxic Reagents. 5th International Conference on Progress in Alzheimer's and Parkinson's Disease (ADPD 2001), 2001.03.31-04.05., Kyoto International Conference Hall (KICH).

Tanaka T., Yamamori H., Wada K., Nakashima K. and Takeda M. Phosphorylation of Tau Protein in Cultured Cells by Polyinosinic-Polycytidylic Acid. 5th International Conference on Progress in Alzheimer's and Parkinson's Disease (ADPD 2001), 2001.03.31-04.05., Kyoto International Conference Hall (KICH).

田中稔久、山森英長、和田健二、中島健二、武田雅俊 2本鎖RNAによるタウ蛋白リン酸化への影響の検討 第42回日本神経学会総会

2001.5.11-13、東京国際展示場（東京ビッグサイト）

和田健二、田中稔久、中島健二、武田雅俊
Ribotoxic stress 応答におけるタウ蛋白リン酸化の検討 第 42 回日本神経学会総会
2001.5.11-13、東京国際展示場（東京ビッグサイト）

Takeda M., Tanaka T, Arai H, Sasaki H, Shoji M, Okamoto K, Urakami K, Nakashima K, Katsubayashi T, Sugita M, Yoshida H. Basic and clinical studies on the measurement of β -amyloid (1-42) in cerebrospinal fluid as a diagnostic marker for Alzheimer's disease and related disorders : Multi center study in Japan. (Abst.) Tenth Congress of the International Psychogeriatric Association Sept, 9-13, 2001. (Nice in France)

Tanaka T, Yamamori H, Takeda M
Effects of lithium on phosphorylation levels of tau protein (Abst.) Tenth Congress of the International Psychogeriatric Association Sept, 9-13, 2001. (Nice in France)

田中稔久、和田健二、山森英長、武田雅俊 アルツハイマー病のリン酸化調節異常 第 44 回日本神経化学・第 24 回日本神経科学合同大会 (Neuro2001)、2001.9.26、京都国際会議場

田中稔久、山森英長、和田健二、中島健二、武田雅俊 タウ蛋白リン酸化と結合蛋白 第 20 回日本痴呆学会、2001.10.4 アスト津（三重県）

和田健二、田中稔久、涌谷陽介、浦上克哉、山形薫、中島健二、武田雅俊 酸化ストレスによるタウ蛋白リン酸化の検討 第 20 回日本痴呆学会、2001.10.4 アスト津（三重県）

□□□□□□□□□□□□□□ □□□□□
阻害とタウ蛋白リン酸化について 第 20 回日本痴呆学会、2001.10.4 アスト津（三重県）

田中稔久、山森英長、和田健二、田中修二、鈴木英雄、工藤喬、紙野晃人、大河内正康、谷井久志、小池裕子、安田由華、貴田智之、松本均彦、福森亮雄、武田雅俊 タウ蛋白重合蓄積への結合因子の関与とその阻害剤開発についての研究 第 34 回精神神経系薬物治療研究報告会、2001.12.7、千里ライフサイエンスセンター

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

分担研究報告書

研究課題名：アルツハイマー病生物学的診断マーカーの確立に関する臨床研究
(分担研究課題名：8-オキソグアニン DNA グリコシダーゼ(OGG1)遺伝子多型と
アルツハイマー病の関連ならびに診断マーカーとしての有用性の検討)

分担研究者 浦上克哉*

分担研究協力者：谷口美也子*、山形 薫**、和田健二**、涌谷陽介**、
中島健二**。

*鳥取大学医学部保健学科、生体制御学、**同脳神経内科

研究要旨

アルツハイマー病(AD)脳で DNA 酸化の増加と酸化グアニン除去修復能の低下が報告されている。8-オキソグアニン DNA グリコシダーゼ(OGG1)遺伝子エクソン7の C/G 多型により、コドン 326 にセリンからシステインへ置換する変異があり、OGG1 の活性低下をきたすことが知られている。そこで、我々は OGG1 のエクソン7 C/G 多型と AD との関連を検討した。AD183 例、年齢を一致させた対照群(CTL)233 例を対象とした。方法は制限酵素 Fnu4HI を用いた PCR-RFLP 法でエクソン7の C/G 多型を解析した。エクソン7の C/G 多型と AD との関連が示唆された ($P < 0.05$)。アポ E4 を持つ群で、その傾向はより有意であった ($P = 0.039$)。OGG1 の GG 型とアポ E4 の組み合わせでオッズ比が 5.56 と有意に上昇した。OGG1 の GG 型はアポ E4 と協調して働き AD の発症・進展に関与している可能性が示唆された。しかし、認めた有意差は軽度であり、OGG1 多型の検討が直接 AD の診断マーカーとしての有用性を示す結果は得られなかった。

キーワード:アルツハイマー病、診断マーカー、遺伝子多型、OGG1、8-オキソグアニン

A. 研究目的

アルツハイマー病(AD)脳で DNA 酸化の増加と酸化グアニン除去修復能の低下が報告されている。AD 脳での DNA 酸化に関しては多数の報告があるが、修復酵素に関する研究は極めて少ない。AD 脳は強い酸化ストレスにさらされているが、Reactive oxygen species 産生だけでなく、抗酸化系、修復系の活性低下が DNA 酸化(8-オキソグアニンの形成)に関与する可能性がある。8-オ

キソグアニン DNA グリコシダーゼ(OGG1)遺伝子エクソン7の C/G 多型により、コドン 326 にセリンからシステインへ置換する変異があり、OGG1 の活性低下をきたすことが知られている 1-2)。最近 AD 脳で OGG1 の蛋白レベルの発現が低下し、それが神経原線維変化と関連しているとする報告もなされている 3)。そこで、我々は OGG1 のエクソン7 C/G 多型と AD との関連ならびに診断マーカーとしての可能性を検討した。

B. 研究方法

対象は本研究内容に関する説明に同意が得られた AD183 例(76.1±8.6 歳)、年齢を一致させた対照群(CTL)233 例(73.5±9.2 歳)を対象とした。AD の診断は DSM-IV および NINCDS-ADRDA の診断基準を満足し、且つ Hachinski 脳虚血スコアが 4 点未満のものとした。OGG1 遺伝子多型の解析は制限酵素 Fnu4HI を用いた PCR-RFLP 法で行い、エクソン 7 の C/G 多型を検討した。統計解析には χ^2 検定を用いた。

(倫理面への配慮)

採血の際に患者および家族に検査の目的と内容等について十分な説明を行いインフォームドコンセントを得た。また、遺伝子検索においては、研究者が個人を特定できないようにし患者が不利益を被らないよう配慮し、鳥取大学医学部倫理委員会の承認を得て実施した。

C. 結果および考察

OGG1 遺伝子エクソン 7 の C/G 多型と AD との有意な関連が示唆され ($P<0.05$)、その傾向はアポ E4 を持つ群でより顕著であった ($P=0.039$)。OGG1 遺伝子の GG 型とアポ E4 の組み合わせでオッズ比が 5.56 と有意に上昇した。OGG1 遺伝子の GG 型はアポ E4 と協調して働き AD の発症・進展に関与している可能性が示唆された。しかし、認められた有意差は軽度であり、OGG1 遺伝子多型の検討が直接 AD の診断マーカーとして有用とする結果は得られなかった。

今回の検討結果より、AD では OGG1 活性が低下し、8-オキシグアニン量が増加している可能性が示唆される。そこで今後は、AD 抹消サンプル(髄液、血液、尿)での

OGG1 活性と 8-オキシグアニン量を定量し、AD の診断マーカーとなり得る否かを検討していきたいと考える。

E. 参考文献

- 1) Kohno T, et al: Genetic polymorphisms and alternative splicing of the OGG1 gene, that is involved in the repair of 8-hydroxyguanine in damaged DNA. *Oncogene* 16: 3219-3225, 1998.
- 2) Lovell MA, et al: Decreased base excision repair and increased helicase activity in Alzheimer's disease brain. *Brain Res* 855: 116-123, 2000.
- 3) Iida T, et al: Expression of 8-oxoguanine DNA glycosylase is reduced and associated with neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease brain. *Acta Neuropathol (Berl)* 103: 20-25, 2002.

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 浦上克哉, 涌谷陽介, 中島健二. パーキンソン病・関連変性疾患. 治療別刷 83: 378~381, 2001.
- 2) 岡村信行, 荒井啓行, 伊藤伸朗, 浦上克哉, 石黒幸一. Alzheimer 病診断の新機軸. *医学のあゆみ* 198: 377~382, 2001.
- 3) 浦上克哉, 谷口美也子, 山形薫, 和田健二, 涌谷陽介, 中島健二. アルツハイマー病の遺伝学的研究成果と今後の展望. *Japan Medicine* 11, 2001.
- 4) 浦上克哉, 中島健二. 大脳皮質基底核変性症をめぐって—生化学的診断マーカー—. 神経変性疾患に関する研究班 2000 年研究報告書 厚生科学研究費 25~28, 2000.
- 5) 浦上克哉, 谷口美也子, 山形薫, 和田健

- 二, 涌谷陽介, 中島健二. 老いにみられる脳機能障害—アルツハイマー病の遺伝的背景—. 老年医学 39: 1421~1426, 2001.
- 6) 浦上克哉, 涌谷陽介, 和田健二, 山形薫, 足立芳樹, 中島健二. アルツハイマー病の疾患関連遺伝子. 日老医誌 38: 117~120, 2001.
- 7) 村田満, 花房俊昭, 武部啓, 三木哲郎, 掛江直子, 高橋真理子, 浦上克哉, 小林祥泰, 山根清美, 杉浦勇, 中川和子, 今川彰久, 木原康樹. 日常診療におけるゲノム医療の役割. 内科専門医会誌 13: 428-471, 2001.
- 8) 浦上克哉. 家族・介護者からの質問にどう答えるか. アリセプトはいつまで投与できるのでしょうか? クリニシアン 48: 98~99, 2001.
- 9) 浦上克哉. 家族・介護者からの質問にどう答えるか. アリセプトを投与する意義は何でしょうか? クリニシアン 48: 100~101, 2001.
- 10) 浦上克哉, 谷口美也子, 涌谷陽介, 中島健二. アルツハイマー病研究の新展開. 現代医療 34: 97-102, 2002.
- 11) 人見裕江, 岩崎尚子, 中村陽子, 小河孝則, 畝博, 郷木義子, 岡京子, 徳山ちえみ, 谷垣静子, 宮林郁子, 浦上克哉, 稲光哲明, 矢倉紀子. 地域で暮らしている痴呆性高齢者の生活の満足度. 米子医誌 53: 79-88, 2002.
- 12) 人見裕江, 中村陽子, 小河孝則, 畝博, 森千佳, 浜田美穂, 岩崎祥子, 郷木義子, 岡京子, 徳山ちえみ, 谷垣静子, 宮林郁子, 浦上克哉, 稲光哲明, 矢倉紀子. 在宅痴呆性高齢者の介護負担感と介護保険サービス利用に関する研究. 米子医誌 53: 89-97, 2002.
- 13) 浦上克哉. アルツハイマー病—診断のポイントと薬物療法—. 日本総合診療医学会会誌 7: 37, 2002.
- 14) Takeda M, Tanaka T, Arai H, Sasaki H, Shoji M, Okamoto K, Urakami K, Nakasima K, Matsubayashi T, Sugita M, Yoshida H. Basic and clinical studies on the measurement of β -amyloid(1-42) in cerebrospinal fluid as a diagnostic marker for Alzheimer's disease and related disorders: multi center study in Japan. Psychogeriatrics 1: 56~63, 2001.
- 15) Itoh N, Arai H, Urakami K, Ishiguro K, Ohno H, Hampel H, Buerger K, Wiltfang J, Otto M, Kretzschmar H, Moeller HJ, Imagawa M, Kohno H, Nakasima K, Kuzuhara S, Sasaki H, Imahori K. Large-scale, multicenter study of cerebrospinal fluid tau protein phosphorylated at serine 199 for the antemortem diagnosis of Alzheimer's disease. Ann Neurol 50: 150~156, 2001.
- 16) Urakami K, Arai H, Itou N, Ishiguro K, Oono H, Kohno H, Kuzuhara S, Sasaki H, Imahori K, Nakashima K. CSF tau protein phosphorylated at serine 199 in Alzheimer's disease-A large scale and multi-center study. World J Biol Psychiatry 2: 181S, 2001.
- 17) Urakami K, Wada K, Arai H, Sasaki H, Kanai M, Shoji M, Ishizu H, Kashihara K, Yamamoto M, Tsuchiya-Ikemoto K, Morimatsu M, Takashima H, Nakagawa M, Kurokawa K, Maruyama H, Kaseda Y, Nakamura S, Hasegawa K, Oono H, Hikasa C, Ikeda K, Yamagata K,

Wakutani Y, Takeshima T, Nakashima K. Diagnostic significance of tau protein in cerebrospinal fluid from patients with corticobasal degeneration or progressive supranuclear palsy. *J Neurol Sci* 183: 95-98, 2001.

18) Urakami K, Wakutani Y, Nakashima K. Epidemiology and risk factor of dementia. 2001 Collegium Internationale Neuro-Psychopharmacologicum (CINP) Regional Meeting Hiroshima, Japan 329, 2001.

19) Shoji M, Matsubara E, Murakami T, Manabe Y, Abe K, Kanai M, Ikeda M, Tomidokoro Y, Shizuka M, Watanabe M, Amari M, Ishiguro K, Kawarabayashi T, Harigaya Y, Okamoto K, Nishimura T, Nakamura Y, Takeda M, Urakami K, Adachi Y, Nakashima K, Arai H, Sasaki H, Kanemaru K, Yamanouchi H, Yoshida Y, Ichise K, Tanaka K, Hamamoto M, Yamamoto H, Matsubayashi T, Yoshida H, Toji H, Nakamura S, Hirai S. Cerebrospinal fluid tau in dementia disorders: a large scale multicenter study by a Japanese study group. *Neurobiol Aging* 22: (2001) in press.

20) Yamagata K, Wakutani Y, Urakami K, Wada K, Arai H, Sasaki H, Higuchi S, Sato K, Nakashima K. Apolipoprotein E promoter-186 G/T polymorphism and Japanese Alzheimer's disease. *Alz Rep* 4: 161-165, 2001.

21) 浦上克哉, 涌谷陽介, 和田健二, 山形

薫, 足立芳樹, 中島健二. アルツハイマー病の原因遺伝子ならびに遺伝的危険因子の解析. *日老医誌* 38: 769~771, 2001.

22) Wakutani Y, Ito T, Wada-Isoe K, Yamagata K, Adachi Y, Taniguchi M, Arai H, Sasaki H, Higuchi S, Sato K, Urakami K, Nakashima K. Identification of aberrant tau mRNA in brain tissue. *Alz Rep* 4: 145-150, 2001.

23) Matsushita S, Arai H, Yuzuriha T, Kato M, Matsui T, Urakami K, Higuchi S. No association between DLST gene and Alzheimer's disease or Wernicke-Korsakoff Syndrome. *Neurobiol Aging* 22: 569-574, 2001.

2. 学会発表

1) 浦上克哉, 涌谷陽介, 山形薫, 和田健二, 中島健二. タウオパチーにおけるタウ遺伝子解析. 第42回日本神経学会総会 東京 5月11日-13日 2001.

2) 涌谷陽介, 浦上克哉, 和田健二, 山形薫, 荒井啓行, 佐々木英忠, 樋口進, 中島健二. アルツハイマー型痴呆症剖検脳におけるTau 遺伝子の異常スプライシングの解析. 第42回日本神経学会総会 東京 5月11日-13日 2001.

3) 山形薫, 涌谷陽介, 浦上克哉, 中島健二. アルツハイマー病(AD)におけるアポリポ蛋白 E(アポ E)とプロモーター多型によるハプロタイプの検討. 第42回日本神経学会総会 東京 5月11日-13日 2001.

4) 浦上克哉. 高齢者痴呆の診断. 第22回日本老年学会総会 第43回日本老年医学会学術集会 ランチョンセミナー 大阪 6月13-15日 2001.