

次抗体に WGA-Biotin、二次抗体はアルカリホスファターゼ標識 Streptavidin を反応させ、Western Blue で発色したバンドを検討した。リン酸化タウタンパク(Tau pS199)の測定は、ヒトリン酸化タウ(pS199) ELISA キット (BioSource 社) を用いて測定した。また O-GlcNAc の検出は、抗 O-GlcNAc 抗体(RL2)を用いた免疫沈降法により O-GlcNAc 結合タンパクを Protein A Sepharose によって精製し、ウエスタンブロットを行った。各疾患の診断は詳細な問診、内科学的診察、神経学的診察、高次機能検査、画像検査(CT,MRI,SPECT)などを行い、以下の診断基準を参考にして行った。AD では DSM-IV および NINCDS-ADRDA の診断基準を、VD で NINDS-AIREN の診断基準を、正常圧水頭症(NPH)、レビー小体型痴呆(DLBD)は、クロイツフェルトヤコブ病 (CJD) , PSP は NINDS-SPSP の診断基準、CBD では Rinne、森松らの診断基準を満足するものとした。

C. 結果および考察

AD で低値を示す WGA 結合糖タンパクは 3 種を候補としており、これらのうち多症例での検討によりさらに約 75kDa と約 25kDa の 2 種のタンパク(それぞれ a, c とする) が診断マーカーとして有用であることが示唆された。いずれのタンパクも、AD 群と non-AD 群と比較して検討すると、有意に ($p < 0.001$) 低値を示した。さらにリン酸化タウタンパクを同症例にて測定し、比較検討した。その結果 2 種のタンパクのうち、WGA 結合糖タンパク-a は、AD で減少し、リン酸化タウタンパクは増加していた (すでに報告もされているように⁹⁾) ため、WGA 結合糖タンパク-a に対するリン酸化タウタンパクの比を検討したところ、AD 群で non-AD 群よりも明らかに高値を示し ($p < 0.001$)、この指標は WGA 結合糖タンパク単独よりもさらに精度の高いマーカーとなる可能性が示唆された。さらにレビー小体病では、AD 群と比較して明らかに低値を示しており、この指標によりタウオパチーであるレビー小体病と AD との鑑別診断の可能性が期待できる。今後、これらのタンパクの同定と、その働きに注目する必要がある。

また、WGA が認識する糖鎖のうち、

O-GlcNAc が近年注目されている。O-GlcNAc による糖鎖修飾 (グリコシル化) は、タンパクの転写・翻訳に関与したり^{4, 5)}、タンパクの輸送⁶⁾、シグナル伝達に関与していると報告されている⁴⁾。APP、タウタンパクも O-GlcNAc によってグリコシル化されるタンパクであり、AD に関与するタンパクにおいてグリコシル化は何らかの役割を担っていると考えられる。そこで今回検索された WGA 結合タンパク-a, -c のグリコシル化を測定したところ、a は O-GlcNAc によるグリコシル化はされていなかった。一方 c は、O-GlcNAc が検出され、O-GlcNAc によるグリコシル化がなされていることが示唆された。これらのことにより、タンパク a は AD の診断マーカーとして有効であり、タンパク c はさらに O-GlcNAc によりグリコシル化されており、その機能は非常に興味深いタンパクといえる。WGA により検出されたこれらの 2 種のタンパクは、AD に深く関与していると考えられる。今後、診断マーカーとしてより発展させる為には、これらのタンパクの検出方法をより簡単に、より高感度にする必要があると思われる。同時にこれらのタンパクを同定し、その機能を検索することによって、AD に深く関わる機能を明らかにできると期待できる。

D. まとめ

WGA によって、AD に関連があると思われる糖タンパクを 2 種検出した。これらの WGA と結合する髄液中糖タンパクは、リン酸化タウタンパクとともに用いることによって AD の有効な診断マーカーとなりうることが示された。この指標により、困難であるとされたタウオパチー、特にレビー小体病と AD の鑑別診断が可能となると期待できる。

E. 健康危険情報

特記すべきことなし。

F. 文献

- 1) Lisa RF, et al: Wheat Germ Agglutinin-binding glycoproteins are decreased in Alzheimer's disease cerebrospinal fluid. J. Neurochem. 79: 1022-1026, 2001.
- 2) Tony L, et al: Evidence of balance between phosphorylation and O-GlcNAc glycosylation of Tau proteins - a role in

nuclear localization. *Biochim. Biophys. Acta* 1619: 167-176, 2003.

3) Itoh N, et al: 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.

4) Wells L, Vosseller K, Hart GH. Glycosylation of nucleocytoplasmic proteins: signal transduction and O-GlcNAc. *Science* 291: 2376-2378, 2001.

5) Wells L, Whelan SA, Hart GH. O-GlcNAc: a regulatory post-translational modification. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 302: 435-441, 2003.

6) Comer FI, Hart GH. O-glycosylation of nuclear and cytosolic proteins. *J. Biol. Chem.* 275(38): 29179-29182, 2000.

G. 研究発表

1. 論文発表

著書

1) 浦上克哉: アポ E. 医学書院 医学大辞典: 45, 2003

2) 浦上克哉: アポ E4. 医学書院 医学大辞典: 45, 2003

3) 浦上克哉: アポ E 遺伝子. 医学書院 医学大辞典: 45, 2003

原著

1) Watanabe Y, Shimizu Y, Urakami K, Matsushima E, Nakashima K: Vertical ophthalmoplegia in a demented patient with striatopallidodentate calcification. *Psychiatry Clin Neurosci.* Aug; 57(4): 447-450, 2003

2) Inoue M, Suyama A, Kato T, Urakami K, Nakashima K, Meshitsuka S: Development of computerized Kana Pick out test for the neuropsychological examination. *Comput Meth Programs Biomed* 70: 271-276, 2003.

3) Takeshima T, Ishizaki K, Fukuhara Y, Ijiri T, Kusumi M, Wakutani Y, Mori M, Kawashima M, Kowa H, Adachi Y, Urakami K, Nakashima K: Population based door-to-door survey of migraine in Japan: the Daisen Study. *Headache* 44: 8-19, 2004.

4) Wakutani Y, Kowa H, Kusumi M, Nakaso K, Yasui K, Wada-Isoe K, Urakami K, Takeshima T, Nakashima K. The regulatory region polymorphisms of the MTHFR gene are not associated with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 17: 147-150, 2004.

5) Wakutani Y, Kowa H, Kusumi M, Nakaso K, Yasui K, Wada-Isoe K, Urakami K, Takeshima T, Nakashima K. A haplotype of the methylenetetrahydrofolate reductase gene is protective against late-onset Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 25: 291-294, 2004.

6) Wakutani Y, Watanabe K, Adachi Y, Isoe-Wada K, Urakami K, Ninomiya H, Hashimoto H, Saido TC, Iwatsubo T, Nakashima K. Novel amyloid precursor protein gene missense mutation (D678N) in probable familial Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* (in press).

7) Wada-Isoe K, Wakutani Y, Urakami K, Nakashima K. Elevated interleukin-6 levels in cerebrospinal fluid of vascular dementia patients. *Acta Neurol Scand* (in press)

総説

1) 涌谷陽介、古和久典、和田健二、浦上克哉、中島健二: アルツハイマー病の遺伝子研究. 遺伝子医学 Vol.7 No.1 第 23 号 別刷 44-50, 2003

2) 浦上克哉、伊藤伸朗、荒井啓行、石黒幸一、大野英人、中島健二: アルツハイマー病における髄液中リン酸化タウ蛋白の測定. 精神神経学雑誌 第 105 卷 第 4 号 393-397, 2003

3) 浦上克哉: バイオマーカー. アルツハイマー病の早期診断 老年精神医学雑誌 第 14 卷 第 5 号 606, 2003

4) 浦上克哉、石黒幸一、荒井啓行、伊藤伸朗、中島健二: アルツハイマー病. *CLINICAL NEUROSCIENCE* Vol.21 No.8 923-925, 2003

5) 浦上克哉、谷口美也子、山形薫、和田健

二、浦谷陽介、中島健二：アルツハイマー病と酸化ストレスおよび治療に関連する遺伝子. ゲノム医学 Vol.3 No.5 557-562, 2003

6) 浦上克哉：アルツハイマー病と MCI の薬物療法. 第 45 回日本老年医学会学術集会イブニングセミナー抄録. ライフサイエンス 老年医学 VOL. 41 No. 9 1322-1324, 2003

7) 浦上克哉、浦谷陽介、和田健二、楠見公義、足立芳樹、中島健二：アルツハイマー病の疫学. *Cognition and Dementia* Vol. 2 No.4 9-13 2003

8) 櫻井孝、浦上克哉、横野浩一：脳血管性の認知障害がオーバーラップしたアルツハイマー病の 1 例. 老年医学 Vol.41 No. 6 2003 858-862

9) 浦上克哉、谷口美也子：アルツハイマー病に対するその他の治療の試みの現況. 老年精神医学雑誌 Vol. 14 第 5 号 567-569, 2003

10) 浦上克哉：アルツハイマー型痴呆への薬の使い方. 内科専門医会誌 Vol.15 No.3 433-435, 2003.

11) 浦上克哉、谷口美也子、足立芳樹、浦谷陽介、中島健二：血管性痴呆の遺伝リスクファクター. 老年精神医学雑誌 Vol.14 No.11 1378-1382, 2003.11

12) 浦上克哉、谷口美也子、和田健二、浦谷陽介、中島健二：痴呆症学(1)-高齢社会と脳科学の進歩-臨床編 VIII.痴呆の診断脳脊髄液検査 生物学的マーカー検査 総アミロイドβペプチド 485-487 日本臨床 61 巻 増刊号 9 2003.12.28 別冊

13) 浦上克哉、谷口美也子、和田健二、浦谷陽介、中島健二：痴呆症学(1)-高齢社会と脳科学の進歩-臨床編 VIII.痴呆の診断脳脊髄液検査 生物学的マーカー検査アミロイドβペプチド40(Aβ40) 488-489 日本臨床 61 巻 増刊号 9 2003.12.28 別冊

14) 浦上克哉、谷口美也子、和田健二、浦谷陽介、中島健二：痴呆症学(1)-高齢社会と脳科学の進歩-臨床編 VIII.痴呆の診断脳脊髄液検査 生物学的マーカー検査 ア

ミロイドβペプチド 42(Aβ42) 490-492 日本臨床 61 巻 増刊号 9 2003.12.28 別冊

15) 浦上克哉：痴呆症の治療意義と適切なケアについて -主治医意見書のポイントを含めて-. 癌と化学療法 Vol.30 Supplement I 49-53, 2003.12

その他

1) 浦上克哉、谷口美也子：アルツハイマー型痴呆と鑑別を必要とする疾患の鑑別診断に役立つ生物学的診断マーカーの文献的検討. 厚生労働科学研究費補助金医療技術評価総合研究事業「アルツハイマー型痴呆の診断・治療・ケアに関するガイドラインの作成(一般向け)に関する研究」 55-65, 2003.4

2) Urakami K, Arai H, Itoh N, Ishiguro K, Oono H, Nakashima K: CSF tau protein is a useful diagnostic biomarker in Alzheimer's disease and related disorders. 6th International Conference AD/PD 2003 8-12, 2003 44

3) 浦上克哉：日常診療に役立つ「アルツハイマー型痴呆の見つけ方」DVD (VTR) のポイント. 2003.9

4) 浦上克哉：学会印象記 「第6回国際アルツハイマー病とパーキンソン病学会」日本痴呆学会誌 Vol.17 No.2 209-211, 2003

5) 浦上克哉：第44回日本人間ドッグ学会ランチョンセミナー 「アルツハイマー型痴呆の早期診断に有用 感度・特異性が高い タッチパネル式コンピュータ 簡易スクリーニング法」 *Medical Tribune* Vol.36 No.43 44, 2003

6) 浦上克哉：第22回日本痴呆学会 ~髄液中リン酸化タウ蛋白質~ ADの早期診断マーカーとして有用. *Medical Tribune* Vol.36 No.45 20, 2003.11

7) 浦上克哉：Alzheimer's Disease SLIDE KIT (医師向け講演会 編) 解説書 アルツハイマー型痴呆研究会 編著：スライドキット作成委員会 11月2003年

8) 浦上克哉：「末梢血 T 細胞表面発現ケモカインレセプターの解析による多発性硬

化症の病態評価」に対するコメント. 内科
専門医会誌 Vol.15 No.4 596, 2003.11

学会

国内学会

1) 浦上克哉、谷口美也子、井上仁、浦谷陽介、和田健二、中島健二、佐久間研司：アルツハイマー病簡易スクリーニングテストの有用性の検討。第44回日本神経学総会 パシフィコ横浜 2003年5月15-17日

2) 浦谷陽介、古和久典、楠見公義、中曾一裕、安井健一、和田健二、竹島多賀夫、浦上克哉、中島健二：アルツハイマー型痴呆症におけるメチレンテトラヒドロキシ葉酸還元酵素 (MTHFR) 遺伝子多型の検討。第45回日本老年医学会学術集会 名古屋国際会議場 2003年6月18-20日

3) 浦上克哉：アルツハイマー病とMCIの薬物療法。第45回日本老年医学会学術集会 イブニングシンポジウム 名古屋国際会議場 2003年6月18-20日

4) 浦上克哉：「アルツハイマー病の早期診断」、バイオマーカーの立場から。第45回日本老年精神医学会 シンポジウム 名古屋国際会議場 2003年6月18-20日

5) 浦上克哉：痴呆症の治療意義と適切なケアについて；主治医意見書のポイントを含めて。第14回日本在宅医療研究会学術集会 ワークショップ 名古屋国際会議場 2003年7月4-5日

6) 浦上克哉：アルツハイマー型痴呆早期診断のための簡易（タッチパネル式コンピューター）スクリーニング法。第44回日本人間ドック学会 ランチョンセミナー ホテルグランヴィア京都 2003年8月28-29日

7) 浦上克哉：早期アルツハイマー病の臨床診断 CSF バイオマーカー。第22回日本痴呆学会総会 ミニシンポジウム 大田区産業プラザ コンベンションホール 2003年10月3日

8) 谷口美也子、和田健二、浦谷陽介、中島健二、浦上克哉：アルツハイマー病診断マーカーとしての髄液中 WGA 結合糖たんぱく質の有用性。第22回日本痴呆学会総会 大田区産業プラザ コンベンションホール

2003年10月3日

9) 浦上克哉、谷口美也子、井上仁、浦谷陽介、和田健二、中島健二：アルツハイマー型痴呆早期発見のための簡易スクリーニング法の検討。第22回日本痴呆学会総会 大田区産業プラザ コンベンションホール 2003年10月3日

10) 浦谷陽介、和田健二、楠見公義、浦上克哉、中島健二：アルツハイマー型痴呆症における Human Aph-1 alpha、Aph-1 beta、PEN2 遺伝子変異のスクリーニング。大田区産業プラザ コンベンションホール 2003年10月3日

11) 網分信二、木村有希、中村真由子、室谷裕子、紙野幸子、谷口美也子、浦上克哉：痴呆症へのアロマセラピーの有用性の検討。第22回日本痴呆学会総会

大田区産業プラザ コンベンションホール 2003年10月3日

12) 浦上克哉：タッチパネル式コンピューターを用いた痴呆症スクリーニング法の検討。文部科学省「先端脳」平成15年度班会議 砂防会館 2003年12月19-20日

国際学会

1) Urakami K, Arai H, Itoh N, Ishiguro K, Oono H, Nakashima K: CSF tau protein is a useful diagnostic biomarker in Alzheimer's disease and related disorders. 6th International Conference AD/PD 2003 Spain May 8-12, 2003

2) Chairs: Katsuya Urakami, Louise Poulin de Courval, Poster Presentations Dementia I: The 7th Asia/Oceania Regional Congress of Gerontology Tokyo International Forum November 24-28, 2003

3) Wakutani Y, Kowa H, Kusumi M, Nakaso K, Yasui K, Isoe-Wada K, Fukuhara Y, Urakami K, Takeshima T, Nakashima K: A protective haplotype of the methylenetetrahydrofolate reductase gene against late-onset Alzheimer's disease. Society for Neuroscience (New Orleans) 2003.

4) Chairperson: Katsuya Urakami, Speakers: H Hampel (Germany), Niels

Andreasen(Sweden), H Arai(Japan), M Takeda(Japan), Christopher M Clark (United States), Symposium : International Congress of Biological Psychiatry 2004, Sydney, Australia 9-13 February 2004

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）特許第 3515988 号 発明の名称：物忘れ自己診断システムおよびその装置 出願番号：特願 2001-281442 出願年月日：平成 13 年 9 月 17 日 登録日：平成 16 年 1 月 30 日

厚生労働科学研究費補助金（効果的医療技術の確立推進研究事業）
平成 15 年度 分担研究報告書

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

分担研究者 千葉 茂 旭川医科大学医学部精神医学講座教授
分担研究協力者 布村 明彦 旭川医科大学医学部精神医学講座助教授
田端 一基 旭川医科大学医学部精神科神経科助手

研究要旨

アルツハイマー病 (Alzheimer Disease, AD) の早期診断を可能にする生物学的診断マーカーの確立のためには、AD の病理学的カスケードの最上流に位置する普遍的な変化を解明することが重要である。われわれは、孤発性および家族性 AD や AD 型の脳病理が併存するレビー小体型痴呆の剖検脳を用いて、神経細胞内の酸化ストレスが AD 型の変性過程において早期段階の普遍的な変化であることを明らかにした。そこで本年度は、尿や血清中で測定可能な酸化ストレス (Oxidative Stress, OS) マーカーの測定値が AD 患者で変化しているかどうかを検討した。14 例の AD 群 (平均 69 歳) および 39 例の健常対照群 (平均 65 歳) を対象に、OS 強度の指標として尿中 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) および血清 ubiquinol に対する ubiquinone の比 (CoQ10 酸化率) を測定し、OS に対する防御能力の指標として serum total antioxidant status (STAS) を測定した。AD 群における尿中 8-OHdG および血清 CoQ10 酸化率は対照群に比較して有意に高く (いずれも $p < 0.05$)、AD 群の STAS は対照群に比較して有意に低かった ($p < 0.001$)。以上の結果から、AD 患者では尿および血清を用いて OS の増加が検出され得ることが明らかになった。

キーワード：アルツハイマー病、酸化ストレス、生物学的診断マーカー

A. 研究目的

アルツハイマー病 (Alzheimer Disease, AD) の早期診断を可能にする生物学的診断マーカーの確立のためには、AD の病理学的カスケードの最上流に位置する変化を解明することが重要である。従来、AD の生物学的診断マーカーとしては、AD 脳で観察される老人斑や神経原線維変化の主要構成蛋白である β アミロイドやタウに注目が集まっていた。もし AD 脳において老人斑や神経原線維変化の形成に先行する普遍的な変化を見出すことができれば、早期診断や発症前診断法の確立に寄与することが期待される。

近年、AD の病態に酸化ストレス (Oxidative Stress, OS) が関与していることを示唆する報告が相次いでいるが、われわれは、孤発性および家族性 AD や AD 型の脳病理が併存するレビー小体型痴呆の剖検脳を用いて、神経細胞内の酸化ストレスが AD 型の変性過程において早期段階の普遍的な変化であることを明らかにしてきた (平成 13 年度および平成 14 年度の成果)。そ

こで本研究では、AD 診断マーカーとして OS マーカーを臨床応用する前段階として、尿や血清中で測定可能な OS マーカーの測定値が AD 患者で変化しているかどうかを検討した。

B. 研究方法

臨床的に診断 (ICD-10) された 14 例の AD 群 (男 5 例、女 9 例、年齢 57-82 歳、平均 69 歳)、および 39 例の健常対照群 (男 24 例、女 15 例、年齢 60-77 歳、平均 65 歳) を対象に、朝食前に尿および静脈血を採取し (尿および血清を解析まで -70°C で保存)、OS マーカーについて検討した。すなわち、OS 強度の指標として尿中 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG; ELISA 法) および血清 ubiquinol に対する ubiquinone の比 (CoQ10 酸化率; HPLC 法) を測定し、OS に対する防御能力の指標として serum total antioxidant status (STAS; 比色法) を測定した。

(倫理面への配慮)

旭川医科大学倫理委員会の承認(平成 15 年 1 月 17 日承認、受付番号 104)のもとに研究を行った。各対象例からの採血・採尿にあたっては、文書にて本研究の趣旨を患者および保護者(対照群は本人のみ)に説明し、研究に対する協力の同意を得た。協力の同意の有無によって、患者が临床上、不利益を被ることがないように配慮した。

C. 研究結果

AD 群における尿中 8-OHdG[13.2(9.0) ng/ml, 平均(標準偏差)]は対照群[7.9(4.2) ng/ml]に比較して有意に高く($p < 0.05$, Wilcoxon/Kruskal-Wallis の検定)、AD 群の血清 CoQ10 酸化率[7.5(2.1)]も対照群[4.8(0.9)]に比較して有意に高かった($p < 0.05$)。一方、AD 群の STAS[1186(96) μ M]は対照群[1398(129) μ M]に比較して有意に低かった($p < 0.001$)。以上の結果から、AD 患者では尿および血清を用いて OS の増加が検出され得ることが明らかになった。

D. 考察

AD および関連疾患の剖検脳における検討から、酸化的傷害は AD 型の変性過程において早期段階の普遍的な変化であることが示唆されている。したがって、OS マーカーは、AD 早期診断マーカーとして重要な候補の 1 つであると考えられる。

今回の研究結果から、AD 患者の尿および血清において OS 強度の増加や OS に対する防御能力の低下が認められた。すなわち、AD 患者では尿および血清を用いて OS の増加が検出され得ることが明らかになった。

今後、尿および血清中 OS マーカーの疾患特異性や疾患重症度との相関について検討する必要がある。これらの検討を通して、尿および血清中 OS マーカーの AD 生物学的診断マーカーとしての重要性が証明されることが期待される。また、AD の前段階である Mild Cognitive Impairment 症例における尿および血清中 OS マーカーの変化を経時的に追跡することによって、OS マーカーが AD 発症危険度を予測する尺度となり得るかどうかについて検討することも、今後の重要な課題である。

E. 結論

AD 患者の尿および血清において、OS 強度の増加や OS に対する防御能力の低下が認められ、AD 患者では尿および血清を用いて OS の増加が検出され得ることが明らかになった。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Nunomura A, Chiba S, Takeda A, Smith MA, Perry G. Oxidative stress in Alzheimer disease: the earliest cytological and biochemical feature. In: Molecular neurobiology of Alzheimer diseases and related disorders, Takeda M (Ed) Karger Japan, Tokyo, 2004 (in press)

布村明彦、千葉 茂、Smith MA、Perry G. アルツハイマー病脳における酸化的傷害とアミロイド β 沈着. 老年期痴呆研究会誌 13: 43-45, 2004

布村明彦、千葉 茂、Smith MA、Perry G. アルツハイマー病と酸化的ストレス. 老年期痴呆研究会誌 13: 83-85, 2004

2. 学会発表

44th Annual Meeting of the Japanese Society of Neuropathology (29-31 May 2003, Nagoya)

Nunomura A, Chiba S, Lippa CF, Cras P, Kalaria RN, Smith MA, Perry G. Increased neuronal RNA oxidation in familial Alzheimer disease. Neuropathology 23 (2): A53, 2003

第 18 回日本老年精神医学会(平成 15 年 6 月 18-20 日、名古屋)

田村義之、千葉 茂、高崎英気、滝沢修一、白濱靖幸、田端一基、土田英文、石丸雄二、石本隆広、尾森伸行、布村明彦. せん妄に対して塩酸ドネペジルが著効したアルツハイマー病の1例. 老年精神医学雑誌 14(5): 672, 2003

XVth International Congress of Neuropathology (14-18 September 2003, Turin, Italy)
Nunomura A, Chiba S, Smith MA, Perry G. Oxidative damage to neuronal RNA shows age-dependent increases in human brain. Brain Pathology Supplement: S101, 2003

第22回日本痴呆学会(平成15年10月3-4日、東京)
シンポジウム1 変性疾患における神経細胞死
布村明彦. アルツハイマー病における酸化ストレスと神経細胞死. Dementia Japan 17(2): 145, 2003

7th Asia/Oceania Regional Congress of Gerontology (24-28 November, 2003, Tokyo)
Tabata K, Nunomura A, Chiba S, Takeuchi M, Ochi H. Urinary and serum biomarkers of oxidative stress in Alzheimer disease. Geriatrics Gerontology 3 Supplement 1: S121, 2003

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし。

厚生労働科学研究費補助金（効果的医療技術の確立推進研究事業）

平成 15 年度 分担研究報告書

遺伝子多型によるアルツハイマー型痴呆の特徴に関する研究

分担研究者 谷向 知 筑波大学臨床医学系 精神医学 講師

分担研究協力者

森 悦郎 （東北大学大学院医学系研究科 高次機能障害学）

橋本 衛 （兵庫県立姫路循環器病センター 高次脳機能治療室）

保田 稔 （神戸大学医学部 精神神経科学）

今村 徹 （新潟医療福祉大学）

博野信次 （愛媛大学医学部 看護学科）

研究要旨

アポリポ蛋白 E(apoE)遺伝子 $\epsilon 4$ 多型がアルツハイマー型痴呆 (dementia with the Alzheimer type ; DAT) と深く関連していることが知られている。平成 13 年度は、apoE $\epsilon 4$ アリル頻度が DAT とレビー小体を伴う痴呆 (dementia with lewy bodies; DLB) で他の痴呆症よりも高いこと、DAT の海馬の萎縮が apoE $\epsilon 4$ 型の用量依存的に促進されていることなどを報告した。

本年度は、DAT と鑑別が重要となる DLB と皮質基底核変性症(corticobasal degeneration; CBD)との遺伝的背景について apoE 遺伝子、 $\alpha 1$ アンチキモトリプシン (ACT) 遺伝子多型、ブチルコリンエステラーゼ K (BChE-K) 変異遺伝子について検討した。ACT 多型 T アリルは DAT で高頻度に認められる傾向は認められたが apoE 多型との促進効果はみられなかった。CBD では BChE-K 変異型の出現頻度が有意に増加しており、パーキンソン症状がみられる DLB において BChE-K 変異型との関連がみられた。

キーワード：アルツハイマー型痴呆、レビー小体を伴う痴呆、皮質基底核変性症、アポリポ蛋白 E 遺伝子多型、 $\alpha 1$ アンチキモトリプシン遺伝子多型、ブチルコリンエステラーゼ K 変異遺伝子

A. 研究目的

初年度の本研究では、①アルツハイマー型痴呆 (DAT) とレビー小体を伴う痴呆 (DLB) においてアポリポ蛋白 E 遺伝子(apoE) $\epsilon 4$ アリルが有意に高頻度で出現すること、②apoE プロモーター領域-491A/T 多型の A アリルが DAT において有意に高頻度で認めること、③DAT の海馬・扁桃体体積は apoE $\epsilon 4$ アリルの数に対して負の相関が認められる

ことを報告した。さらに昨年度は、①apoE プロモーター領域-219 T アリルは DAT で高頻度に認められ、発症年齢 65 歳以上の群でこの傾向はより顕著に認められること、②DAT 発症は apoE プロモーター領域-491 で A アリルを、-219 で T アリルを homo で有する apoE $\epsilon 4$ carrier において顕著であること、③アセチルコリンエステラーゼ阻害薬である塩酸ドネペジルの投与により 27%で副作用を認めたが

BChE-K 変異型の有無と副作用の出現との関連は否定的であることを報告した。

DAT と DLB は、抗精神病薬の感受性が大きく異なること、アセチルコリンエステラーゼ阻害薬である塩酸ドネペジルが有効であること、介護法が異なることなどから鑑別が重要である。また、DAT の中には初期から頭頂葉皮質が萎縮し、失行や構成障害が近時記憶障害よりも目立つ一群があり、皮質基底核変性症 (corticobasal degeneration; CBD) との鑑別が困難である場合が少なくない。また、本疾患ではアセチルコリンエステラーゼ阻害薬の投与により錐体外路系の副作用が増強することにより初期からの鑑別が重要である。そこで、今年度は、DAT、DLB、CBD の遺伝的な背景の違いの相違について検討を行う。遺伝子としては apoE 多型、ACT 多型、BChE-K 多型について行った。

B. 研究方法

【対象】

兵庫県立高齢者脳機能研究センター（現：兵庫県立姫路循環器病センター）に痴呆の精査目的で入院し、神経心理学検査（MMSE, ADAS, WAIS-R など）、神経所見、形態画像（MRI）、機能画像（PET, SPECT）のすべてを行い、遺伝子解析に関して説明を行い、文書による同意が得られた患者で以下の診断基準を満たすもの。

【診断基準】

- ・ アルツハイマー型痴呆 (DAT) : NINCDS-ADRDA の probable AD
- ・ レビー小体を伴う痴呆 (DLB) : DLB international workshop 1995 の probable DLB
- ・ 皮質基底核変性症 (CBD) : Litvan (1997) が提唱する臨床症状の特徴に加え、MRI・PET による画像検査
- ・ 健常高齢者 (Cont) : MMSE 27 点以上で自由再生が 2/3 以上で再生できないものに関して 3 択による再認が可能であったもの

【遺伝子多型の同定】

研究の目的と方法を十分説明し、同意が得られた患者あるいは健常者から採血を行い遺伝子を抽出した。apoE 多型、ACT 遺伝子多型、BChE-K 変異型は PCR-RFLP 法を用いて同定した。有意検定はカイ二乗検定を用いた。

（倫理面への配慮）

遺伝子収集に関しては兵庫県立高齢者脳機能センターにおいて倫理委員会を設け承認を受けた。

C. 研究結果

【apoE 遺伝子多型】

apoE ε 4 アリルの出現頻度は DAT 群で 0.332、DLB 群で 0.281、健常対象者 (Cont) 群 0.111 と比べ有意な増加（それぞれ $p < 0.001$ ）がみられた。一方、CBD 群では 0.121 と Cont 群と同程度であった。

【ACT 遺伝子多型】

ACT 遺伝子 T アリルの出現頻度は、DAT 群 0.637、DLB 群 0.564、CBD 群 0.521、Cont 群 0.555 であった。DAT 群では Cont 群と比較して T アリルの増加傾向 ($p = 0.06$) がみられた。

DAT 群において、apoE ε 4 アリルの有無と ACT 遺伝子多型との関連について検討したが促進効果はみられなかった。

【BChE-K 遺伝子多型】

BChE-K 変異型の出現頻度は、DAT 群 0.137、DLB 群 0.131、Cont 群 0.120 で 3 群間に差は認められなかった。一方、CBD 群では BChE-K 変異型の出現頻度が 0.222 で Cont 群と比較して有意に増加 ($p = 0.038$) していた。

D. 考察

抗精神病薬に対する感受性が強いことやパーキンソンズを伴わない probable DLB であっても易転倒性が強く治療や介護を考える上で DAT との鑑別は重要である。

DAT 発症の危険因子として apoEε4 は広く認められており、apoE のタイプによってアミロイド β 蛋

白との結合に違いがある報告などから、アミロイド沈着との関与が示唆されている。DLB の剖検脳ではレビー小体のほかに老人斑も多数出現しているとの報告があることから、本研究の結果で DLB の apoE ϵ 4 アリルは高頻度で認められたことは妥当な結果であると考えられる。

ACT 多型と DAT との関連については統一的な見解が得られていない。本研究での今回の結果はデータは Cont 群と比較して DAT 群では有意差は認めないものの T アリルの出現頻度が増加する傾向を認めたが、DLB 群ではみられなかった。DLB の発症には DAT と比べ ACT 遺伝子 T アリルによる影響は少ないと考えられた。

BChE-K 変異型と DAT 発症との関連については、肯定的なものや高齢発症の DAT で関連があるとするとの報告もみられる。しかし否定的な報告も少なくない。BChE-K は正常なコリンエステラーゼに比べ、catalytic 活性が低下していることが知られており、DLB でみられるパーキンソン症状や幻覚・妄想などの臨床症状や、DAT と比較してアセチルコリンエステラーゼ阻害薬使用による効果が期待できるといった報告などからの違いについて検討するに値する。DLB では BChE-K 変異型のアリル頻度が高いとする報告がある。しかし、本研究においては Cont 群と比較して DAT 群、DLB 群いずれにおいても BChE-K 変異型が高頻度で認められることはなく、高齢発症群や apoE ϵ 4 多型との促進効果をも認められなかった。一方 CBD 群では BChE-K 変異型の頻度が有意に増加していた。CBD では DLB と同様、筋硬直、不随意運動などの錐体外路症状を認める。Probable DLB は 2 つ以上の主症候が認められれば診断されるためパーキンソン症状を伴わない DLB も存在する。今回検討した DLB の中でパーキンソン症状の有無について BChE-K 変異型との関連を検討したところ、BChE-K アリルの出現頻度には増加傾向がみられ、BChE-K の carrier であるか否かを検討したところ、BChE-K carrier ではパーキンソン症状の出現が有意に増加していた。この結果

は、BChE-K が CBD や DLB の錐体外路症状に関連している可能性が考えられた。また、apoE ϵ 4 と DLB の主症状との関連は認められなかった。

昨年、apoE 多型、BChE-K 変異型とアセチルコリンエステラーゼ阻害薬の DAT への投与における初期に出現する副作用について差がないことを報告した。今回の 1 年間のフォローにおいて新たな副作用の出現はみられなかった。アセチルコリンエステラーゼ阻害薬は DAT や DLB の症状改善には効果を認めるものの、その脳内で起こっている神経細胞死の速度を抑制しているのではない。いつまで服用を続けるべきかについての議論は分かれるところではあるが、少なくとも 1 年近い服用継続で新たな副作用の出現はみられないことから、特に注意を要するのは投与開始 1 ヶ月までの初期ではないかと考える。

アセチルコリンエステラーゼ阻害薬投与による responder、non-responder の違いが apoE 多型によって異なるとする報告がみられる。しかし、発症年齢や apoE 多型によって記憶障害や脳の萎縮するパターンが異なることなどから臨床症状の進行経過が異なると考えられるため、このような生物学的背景を考えながら今後検討を進めていくことが重要であると考えられる。

E. 結論

- ① apoE ϵ 4 アリルは、DAT と DLB で有意に高頻度に出現した。
- ② ACT 多型は、いずれの疾患群、Cont 群と間で差は認めず、apoE ϵ 4 アリルの有無にも関連はみられなかった。
- ③ BChE-K 変異型は、cont 群と比べ CBD で有意に増加していた。
- ④ BChE-K 変異型は、パーキンソン症状と関連している可能性がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 谷向 知, 朝田 隆. 痴呆. *日本臨床* 40 145-148, 2003
- 2) 谷向 知, 三浦利奈, 有園陽子. 痴呆の認知障害. 新世紀の精神科治療「認知の科学と臨床」, 武田雅俊編, 中山書店, 東京, pp103-115, 2003
- 3) 遠藤英俊, 三浦久幸, 谷向 知, 上村和正. 高齢者の生活管理とケア. *ダイナミックメディスン* 7, 下条文武, 斎藤康監修, 西村書店, 東京, pp30-20-22, 2003.
- 4) 有園陽子, 谷向 知. 言語障害を伴う痴呆性高齢者の Rorschach 法反応—思考言語カテゴリーを用いて—. *ロールシャッハ法研究* 7: 51-61, 2003
- 5) 谷向 知. 家族性アルツハイマー病 ApoE. *老年精神医学雑誌* 14(11); 1354-1360, 2003
- 6) 谷向 知, 朝田 隆. 初期アルツハイマー病と軽度認知障害. *こころの臨床ア・ラ・カルト* 22(4) 435-442, 2003
- 7) 谷向 知, 水上勝義, 朝田 隆. 物忘れ外来. 「頭痛外来から女性外来まで人気の専門外来を知るガイド」, 朝倉書店, 東京, pp131-144, 2004
- 8) 谷向 知. 痴呆の早期診断における精神科医の役割. *日本精神神経学会誌* 106(1) 2004 (印刷中)
- 9) 谷向 知, 久米明人, 荒井啓行. 学会印象記 第1回 Mild Cognitive Impairment シンポジウム. *Dementia Japan* 18(1) 2004 (印刷中)

2. 学会発表

- 1) 谷向 知. 痴呆の早期診断における精神科医の役割. 第99回日本精神神経学会総会 シンポジウム 東京 2003.05.28-30
- 2) 谷向 知. 痴呆症の診断におけるビタミン B1 の意義. 第18回日本老年精神医学会 名古屋 2003.06.18-20

- 3) 石井竜介, 谷向 知, 水上勝義, 朝田 隆. 主症状の出現前に抑うつ状態を呈したレビー小体を伴う痴呆の3例. 第69回東京精神医学会学術集会 東京 2003.11.08
- 4) 谷向 知, 飯島佳路, 小倉宏三, 堀 孝文, 朝田 隆. 双極性障害への無けいれん性通電療法のは非を考える—5例の躁転例を通して—. 第2回 Bipolar Disorder 研究会 東京 2003.11.08
- 5) 谷向 知, 有園陽子, 奥村由美子, 久世淳子. 心理検査を用いた作話の判定と家族指導への試み. 第4回日本痴呆ケア学会 総会 仙台 2003.11.22-23
- 6) 三浦利奈, 服部英幸, 谷向 知. 発症から8年が経過した語義失語の1例. 第27回日本高次脳機能障害学会 東京 2003.12.04-05

3. 平成15年度長寿財団助成による「効果的医療技術の確立推進臨床研究事業 痴呆・骨折部門 研究成果発表会 (一般向け) を2004.02.14、ウヰル愛知 (名古屋) で開催

谷向 知. 臨床の視点に立った基礎的研究—遺伝子のタイプから痴呆症を予想する—.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

研究成果に関する一覧

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
田中稔久、和田健二、山森英長、工藤喬、田中修二、武田雅俊	アルツハイマー病診断に対する生物学的マーカー	精神神経学雑誌	105	387-392	2003
田中稔久、武田雅俊	タウ蛋白の異常と痴呆症 - 神経変性メカニズムの理解 -	脳と神経	54(9)	777-788	2002
田中稔久、武田雅俊	アルツハイマー型痴呆	老年精神医学雑誌	14(6)	783-794	2003
Pei J-J, Khatoon S, An WL, Nordlinder M, Tanaka T, Braak H, Tsujio I, Takeda M, Alafuzoff I Winblad B, Cowburn RF, Grundke-Iqbal, Iqbal K.	Role of Protein kinase B in Alzheimer's neurofibrillary pathology	Acta Neuropathology	105	381-392	2003
田中稔久、山森英長、田中修二、和田健二、鈴木英鷹、紙野晃人、工藤喬、大河内正康、谷井久志、以倉康充、貴田智之、松本均彦、福森亮雄、金山大祐、武田雅俊	アポトーシス阻害蛋白との相互作用と神経細胞死に関する研究	精神薬療研究年報	35	63-73	2003
布村明彦、千葉 茂、Smith MA、Perry G	アルツハイマー病脳における酸化的傷害とアミロイドβ沈着	老年期痴呆研究会誌	13	43-45	2004
布村明彦、千葉 茂、Smith MA、Perry G	アルツハイマー病と酸化的ストレス	老年期痴呆研究会誌	13	83-85	2004
Inoue M, A Suyama, T Kato, Urakami K, Nakashima K, Meshitsuka S	Development of computerized Kana Pick-out Test for the neuropsychological examination	Computer Methods and Programs in Biomedicine	70	271-276	2003
Wakutani Y, Kowa H, Kusumi M, Nakaso K, Yasui K, Wada K, Yano H, Urakami K, Takeshima T, Nakashima K	A haplotype of the methylenetetrahydrofolate reductase gene is protective against late-onset Alzheimer's disease	Neurobiology of Aging	25	291-294	2004

20030487

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。