

decreased the risk. Bic et al reported that there was a significant positive correlation between baseline dietary fat intake and headache frequency in migraineurs.²⁶ In general, the Japanese diet contains lower fat and more fish than Western diets. These observations may provide evidence for a prophylactic diet for migraine; however, further studies including interventions are necessary.

Based on this study, we would emphasize that Japanese migraineurs currently do not adequately use appropriate medical services. Public education concerning headaches is one of the most urgent issues in Japan.

Acknowledgments: This study was supported in part by grant-in-aid for scientific research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Government of Japan (T. T.), Health and Labor Sciences Research Grants (T. T. and K. N.), and a grant from AstraZeneca Japan. Appreciation is expressed to the local public health nurses of Daisen for their cooperation.

REFERENCES

- Mishima K, Takeshima T, Okada H, et al. Epidemiology of headache in a small island in San-in, Japan. *Auton Nerv Syst.* 1996;33:298-305.
- Shimomura T, Kowa H, Takahashi K. Epidemiologic study of migraine in west Tottori. *Jpn J Headache.* 1992;19:93-95.
- Stewart WF, Schechter A, Rasmussen BK. Migraine prevalence: a review of population-based studies. *Neurology.* 1994;44(suppl 4):S17-S23.
- Lipton RB, Scher AI, Kolodner K, et al. Migraine in the United States: epidemiology and patterns of health care use. *Neurology.* 2002;58:885-894.
- Sakai F, Igarashi H. Prevalence of migraine in Japan: a nationwide survey. *Cephalalgia.* 1997;17:15-22.
- Headache Classification Committee of the International Headache Society. Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain. *Cephalalgia.* 1988;8(suppl 7):1-96.
- Urakami K, Igo M, Takahashi K. An epidemiologic study of cerebrovascular disease in western Japan: with special reference to transient ischemic attacks. *Stroke.* 1987;18:396-401.
- Urakami K, Adachi Y, Takahashi K. A community-based study of parental age at the birth of patients with dementia of the Alzheimer type. *Arch Neurol.* 1989;46:38-39.
- Kusumi M, Nakashima K, Nakayama H, Takahashi K. Epidemiology of inflammatory neurological and inflammatory neuromuscular diseases in Tottori Prefecture, Japan. *Psychiatry Clin Neurosci.* 1995;49:169-174.
- Nakashima K, Yokoyama Y, Shimoyama R, et al. Prevalence of neurological disorders in a Japanese town. *Neuroepidemiology.* 1996;15:208-213.
- Wang SJ, Liu HC, Fuh JL, et al. Prevalence of headaches in a Chinese elderly population in Kinmen: age and gender effect and cross-cultural comparisons. *Neurology.* 1997;49:195-200.
- Tekle-Haimanot R, Seraw B, Forsgren L, Ekblom K, Ekstedt J. Migraine, chronic tension-type headache, and cluster headache in an Ethiopian rural community. *Cephalalgia.* 1995;15:482-488.
- Alders EE, Hentzen A, Tan CT. A community-based prevalence study on headache in Malaysia. *Headache.* 1996;36:379-384.
- Wang SJ, Fuh JL, Young YH, Lu SR, Shia BC. Prevalence of migraine in Taipei, Taiwan: a population-based survey. *Cephalalgia.* 2000;20:566-572.
- Henry P, Michel P, Brochet B, et al. A nationwide survey of migraine in France: prevalence and clinical features in adults. *Cephalalgia.* 1992;12:229-237.
- Dahlof C, Linde M. One-year prevalence of migraine in Sweden: a population-based study in adults. *Cephalalgia.* 2001;21:664-671.
- Gobel H, Petersen Braun M, Soyka D. The epidemiology of headache in Germany: a nationwide survey of a representative sample on the basis of the headache classification of the International Headache Society [see comments]. *Cephalalgia.* 1994;14:97-106.
- Phanthumchinda K, Sithi-Amorn C. Prevalence and clinical features of migraine: a community survey in Bangkok, Thailand. *Headache.* 1989;29:594-597.
- Stewart WF, Lipton RB, Liberman J. Variation in migraine prevalence by race. *Neurology.* 1996;47:52-59.
- Rasmussen BK, Olesen J. Migraine with aura and migraine without aura: an epidemiological study. *Cephalalgia.* 1992;12:221-228.
- Silberstein SD, Lipton RB, Solomon S, Mathew NT. Classification of daily and near-daily headaches:

- proposed revisions to the IHS criteria. *Headache*. 1994;34:1-7.
22. Silberstein SD, Lipton RB, Sliwinski M. Classification of daily and near-daily headaches: field trial of revised IHS criteria. *Neurology*. 1996;47:871-875.
 23. Seltzer S. Foods, and food and drug combinations, responsible for head and neck pain. *Cephalalgia*. 1982;2:111-124.
 24. Grant EC. Food allergies and migraine. *Lancet*. 1979;1:966-969.
 25. Medina JL, Diamond S. The role of diet in migraine. *Headache*. 1978;18:31-34.
 26. Bic Z, Blix GG, Hopp HP, Leslie FM, Schell MJ. The influence of a low-fat diet on incidence and severity of migraine headaches. *J Womens Health Gend Based Med*. 1999;8:623-630.

The Regulatory Region Polymorphisms of the MTHFR Gene Are Not Associated with Alzheimer's Disease

Yosuke Wakutani^a Hisanori Kowa^a Masayoshi Kusumi^a Kazuhiro Nakaso^a
Kenji Isoe-Wada^a Hidetaka Yano^a Katsuya Urakami^b Takao Takeshima^a
Kenji Nakashima^a

^aDepartment of Neurology, Institute of Neurological Sciences, and ^bDepartment of Biological Regulation, School of Health Science, Faculty of Medicine, Tottori University, Yonago, Japan

Key Words

Alzheimer's disease · MTHFR gene · Regulatory region · Genetics · Polymorphisms

Abstract

Recent epidemiological studies have emphasized the impact of elevated blood homocysteine levels on the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD). In spite of a significant impact of a MTHFR C677T polymorphism on the blood homocysteine levels, the association between the C677T polymorphism and AD remains controversial. Therefore, other unidentified genetic factor(s) that regulate blood homocysteine levels may exist. Here, we have analyzed the 5'-upstream region of the MTHFR gene and examined AD patients ($n = 223$) and nondemented individuals ($n = 323$) for polymorphisms in the 5'-upstream region of the MTHFR gene. We identified two polymorphisms (-713G/A and -393C/A, upstream of the start codon). We found no significant relationship between AD and the 5'-upstream region polymorphisms of the MTHFR gene. Thus, our study does not reinforce the hypothesis of an independent involvement of the MTHFR gene upstream region polymorphisms in AD risk.

Copyright © 2004 S. Karger AG, Basel

Introduction

Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) is a pivotal enzyme for DNA synthesis and homocysteine (Hcy) remethylation. A C677T polymorphism has been well characterized with regard to thermolability and reduced activity which lead to an increased concentration of plasma total Hcy [1]. The TT genotype of the C677T mutation has been reported to relate to various diseases and differences in drug metabolism, including neural tube defects, cardiovascular diseases, cancers, migraine, and *L*-dopa treatment [2–4]. Recent epidemiological studies have been discussing that increased levels of plasma Hcy are one of the independent risk factors for the development of Alzheimer's disease (AD) [5–8]. However, it is yet unclear whether elevated plasma Hcy levels finally lead to AD, clinically and pathologically. In spite of the evident effect of the C677T TT genotype (or the T allele) on increased Hcy levels, the impact on the development of AD has been controversially discussed [9–12].

Recent studies have reported that the MTHFR gene has multiple promoters, leading to variable-length transcripts [13–15]. A putative 70-kD MTHFR1 polypeptide is thought to be a major functional transcript; however, a 77-kD MTHFR2 polypeptide has conserved amino acid sequence in human, pig, and mouse and is the predominant form of the pig liver enzyme. Therefore the 77-kDa MTHFR2 polypeptide may have similar properties to

KARGER

Fax +41 61 306 12 34
E-Mail karger@karger.ch
www.karger.com

© 2004 S. Karger AG, Basel
1420-8008/04/0173-0147\$21.00/0

Accessible online at:
www.karger.com/dem

Yosuke Wakutani
Department of Neurology, Institute of Neurological Sciences
Faculty of Medicine, Tottori University
Yonago 683-8504 (Japan)
Tel. +81 859 34 8032, Fax +81 859 34 8083, E-Mail ywaku@grape.med.tottori-u.ac.jp

those of the MTHFR1 polypeptide or may have alternative properties based upon its additional amino terminus polypeptides [13–15].

We postulated that polymorphism(s) in the regulatory region of the MTHFR gene may have a potential impact on the transcriptional regulation of the MTHFR gene and/or the metabolism of MTHFR polypeptides. Thus, we screened the regulatory region of the MTHFR gene and performed genetic case-control studies on the identified polymorphisms to evaluate associations with AD.

Patients and Methods

Patients and Controls

The study refers to a total of 546 Japanese subjects in a western region of Japan, composed of 223 individuals with a clinical diagnosis of AD and 323 cognitively normal controls. The cognitively normal controls included the individuals without any neurological diseases or with some minor neurological diseases (e.g., viral meningitis, headache, etc.), excluding other neurodegenerative diseases (e.g., Parkinson's disease, cerebrosplinal degeneration, etc.). The profiles for AD and controls are detailed in table 1. The diagnosis of AD was determined clinically according to DSM-III-R and the NINCDS-ADRDA criteria (provable AD). The age at onset was defined on the basis of the first appearance of clinical symptoms.

DNA Collection and Analysis

After informed consent had been obtained, blood samples of each subject were taken by venous puncture. Leukocyte DNA was isolated with a standard phenol-chloroform method. We generated three primer sets covering a 2.5-kb upstream region of the MTHFR gene according to a genomic sequence in the NCBI database (accession No. NT-021937). The primer sequences (size of the PCR product) and PCR conditions were as follows: PCR1, MTHFR-Pro-F1: 5'-TGAACTTGGGTCTGGCTATTTT-3', MTHFR-Pro-R1: 5'-ACACA-TCAAGACACCTGAGTGG-3' (797 bp); PCR2, MTHFR-Pro-F2: 5'-TGCACCTGTGTGTGTATTTTCAG-3', MTHFR-Pro-R2: 5'-GA-AACAGTTCGTGCACAGGAT-3' (953 bp), and PCR3, MTHFR-Pro-F3: 5'-AGTGTAACCTCCCAATGGCTACC-3', MTHFR-Pro-R3: 5'-CCAGGTGAGGTTTCATTTCTTTC-3' (1,074 bp), all with the same PCR conditions: initial denaturation at 95 °C for 5 min, 40 cycles of denaturation at 95 °C for 30 s, annealing at 58 °C for 39 s, and extension at 72 °C for 50 s, and a final extension at 72 °C for 5 min using a hot start PCR kit (TaKaRa, Kyoto, Japan) and a model 9700 thermal cycler (Applied Biosystems Japan, Tokyo, Japan). The PCR products were purified and subjected to sequential analysis using a Big-Dye cycle sequence kit (Amersham Bioscience Japan, Tokyo) and a model ALF automated sequencer (Applied Biosystems Japan).

Sequence analysis of the regulatory region of the MTHFR gene revealed two novel polymorphisms: the -713G/A and -393C/A polymorphisms in the upstream region of the originally reported initiation codon (fig. 1). Importantly, the -393C/A polymorphism results in a putative amino acid substitution from aspartate to glutamate at codon 2 of the MTHFR2 polypeptide (A2G/MTHFR2) (fig. 1). For the genetic case-control study of the identified polymorphisms on the

Table 1. Profiles for AD patients (n = 223) and controls (n = 323)

Age years	n	Mean age ± SD years	Females %	ApoE ε4 carriers, %
AD patients				
≤64	34	60.2 ± 3.1	52.9	44.1
≥65	189	77.0 ± 6.8	73.5	49.7
Total	223	74.5 ± 8.8	74.6	48.9
Controls				
≤64	57	59.4 ± 4.1	78.9	28.1
≥65	266	76.0 ± 6.8	73.7	15.0
Total	323	73.1 ± 9.0	70.4	17.3

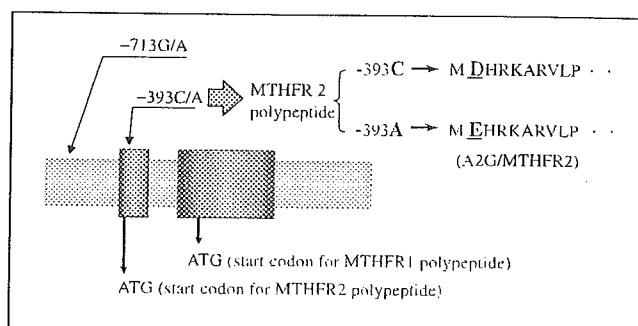


Fig. 1. Schematic representation of the -393C/A and -713G/A polymorphisms. The -393C/A polymorphism results in a putative amino acid substitution at codon 2 of the MTHFR2 polypeptide (A2G/MTHFR2).

PCR1 reaction, we employed a double digest restriction fragment length polymorphism analysis using *Apal* and *Apal*I. The -713G/A mutation abolishes an *Apal* site, and the -393C/A mutation abolishes an *Apal*I site. These polymorphisms were visualized and distinguished by 2% agarose gel electrophoresis. Apolipoprotein E (ApoE) genotypes were determined by a standard *Hha*I RFLP method [16, 17].

Statistics

Hardy-Weinberg equilibrium was confirmed for both populations. The allele frequencies were compared using the chi-square test. The number of positive individuals having at least one polymorphism was also compared using the chi-square test. Possible interactions between the allele of each polymorphism and the ApoE ε4 allele were determined using logistic regression analysis with age, sex, and at least one ApoE ε4 allele as covariates. Odds ratios were calculated with exact 95% confidence intervals (CI); p values and significance considerations are two-sided and subject to a significance level of 5%. Analyses were performed by the SPSS statistical package (Japanese version 11; SPSS Japan, Tokyo).

Table 2. -713 G/A and -393 C/A polymorphisms in the regulatory region of the MTHFR gene in controls (n = 323) and AD patients (n = 223) – comparisons of genotype distributions and allele frequencies and concurrence of both polymorphisms

		n	-393 C/A genotype		
			CC	AC	AA
	Controls	323	278 (86.1%)	44 (13.6%)	1 (0.3%)
	AD patients	223	199 (89.2%)	21 (9.4%)	3 (1.3%)
-713 G/A genotype					
AA	Controls	259 (80.2%)	216	42	1
	AD patients	187 (83.9%)	166	18	3
AG	Controls	64 (19.8%)	62	2	-
	AD patients	34 (15.2%)	31	3	-
GG	Controls	0 (0.0%)	0	-	-
	AD patients	2 (0.9%)	2	-	-

Table 3. MTHFR promoter polymorphisms (P0, P1 and P2) in controls and AD patients – genotype distribution and allele frequency

	Genotype distribution						Allele frequency		
	P0/P0	P0/P1	P0/P2	P1/P1	P1/P2	P2/P2	P0	P1	P2
Normal controls (n = 323)									
n	216	61	42	0	2	1	0.83	0.07	0.10
%	67.2	18.9	13.0	0.0	0.6	0.3			
AD patients (n = 223)									
n	166	31	18	2	3	3	0.85	0.05	0.08
%	74.4	13.9	8.1	0.9	1.3	1.3			

P0 = -713G/-393C (wild); P1 = -713A/-393C; P2 = -713G/-393A.

Results

Genotype distributions and allele frequencies of the -713G/A and -393C/A polymorphisms are shown in table 2. We did not find genotype combinations which would indicate the concurrence of both polymorphisms. Accordingly, the concurrence of both polymorphisms shown in table 2 indicates that the two polymorphisms never occurred on the same allele in our samples and that the regional alleles for this region of the MTHFR gene are divided into three types. Genotype distribution and allele frequencies are shown in table 3.

As expected, the ApoE ε4 allele was associated with a highly significant risk for developing AD, as estimated by logistic regression analysis (odds ratio OR = 4.8, 95% CI 3.2–7.1, age and gender adjusted). Statistical analysis failed to show a significant difference between AD patients and controls in the genotype (P0/P0, P0/P1, P0/P2, P1/P1, P1/P2, and P2/P2) distributions and allele (P0, P1, and P2) frequencies (table 3). The number of positive

individuals having at least one polymorphism also showed no statistical difference (data not shown). Logistic regression analysis (adjusted by age, gender, and presence of at least one ApoE ε4 allele) did not confirm significant influences for either polymorphism (P1: OR = 0.735, p = 0.210, 95% CI 0.445–1.189, absence versus presence of P1; P2: OR = 0.697, p = 0.213, 95% CI 0.395–1.230, absence versus presence of P2).

Discussion

This is the first study identifying polymorphisms in the 5'-upstream region of the MTHFR gene and analyzing the possible involvement of the identified polymorphisms in AD. The -393C/A polymorphism corresponded to a putative amino acid substitution at codon 2 of the MTHFR2 polypeptide (A2G/MTHFR2). We failed to confirm a positive association between this polymorphism and AD. However, since the A2G/

MTHFR2 polymorphism potentially impacts on function or processing of the MTHFR2 polypeptide. Further characterization of the A2G/MTHFR2 polypeptide will be needed. The A2G/MTHFR2 polymorphism may be related to other diseases that are involved in the metabolism of Hcy.

Similarly, no positive associations between -713G/A polymorphism and AD were observed. The sequences surrounding the -713G/A polymorphism do not correspond to any putative transcription factor binding elements, and the G/A nucleotide substitution does not produce an alternative transcriptional regulator site, as estimated by online TFSEARCH analysis [<http://www.cbrc.jp/research/db/TFSEARCH.html>]. Therefore, the -713G/A polymorphism may be a nonfunctional single-nucleotide polymorphism. However, the identification of such regulatory consensus sites is imprecise, and ultimately functional studies are needed.

It has been discussed whether or not Hcy has been thought to play an important role in the development of AD [5-8]. Assuming that dysmetabolism of Hcy is a risk factor for the development of AD, MTHFR is predicted to be implicated in the pathomechanism of AD. However, the effects of the common exonic polymorphisms (C677T

and A1298C) on the pathogenesis of AD have not been firmly demonstrated.

The mRNA expression levels of the MTHFR gene are regulated by the complicated processing of the 5'-upstream region and the 3'-untranslated region [13-15]. In the 3'-downstream region, the MTHFR gene is reported to have multiple polyadenylation sites, resulting in multiple mRNA species having differently sized 3'-untranslated regions. Since the tissue specificity of mRNA expression has been reported to be determined by these complicated expression regulations, the expression levels or metabolism of MTHFR may differ between the central nervous system and the peripheral organs. Assuming that MTHFR is associated with the pathogenesis of AD through Hcy homeostasis, alternative genetic factors may exist. Recently, we proposed that a haplotype formed by the combination of exonic nonsynonymous polymorphisms (C677T, A1298C, and A1793G) is protective against the development of late-onset AD, whereas a conventional 677TT genotype (or 677T allele) is not associated with late-onset AD [18]. Therefore, further investigations to identify other genetic regulators that affect the MTHFR gene expression combined with exonic polymorphisms (haplotypes) will be required.

References

- Kang SS, Passen EL, Ruggie N, Wong PW, Sora H: Thermolabile defect of methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *Circulation* 1993;88:1463-1469.
- Ueland PM, Hustad S, Schneede J, Refsum H, Vollset SE: Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism. *Trends Pharmacol Sci* 2001;22:195-201.
- Kowa H, Yasui K, Takeshima T, Urakami K, Sakai F, Nakashima K: The homozygous C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for migraine. *Am J Med Genet* 2000;96:762-764.
- Yasui K, Kowa H, Nakaso K, Takeshima T, Nakashima K: Plasma homocysteine and MTHFR C677T genotype in levodopa-treated patients with PD. *Neurology* 2000;55:437-440.
- Borroni B, Agosti C, Panzali AF, Di Luca M, Padovani A: Homocysteine, vitamin B₆, and vascular disease in patients with AD. *Neurology* 2002;59:1475.
- Clarke R, Smith AD, Jobst KA, Refsum H, Sutton L, Ueland PM: Folate, vitamin B₁₂, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1998;55:1449-1455.
- Miller JW, Green R, Mungas DM, Reed BR, Jagust WJ: Homocysteine, vitamin B₆, and vascular disease in AD patients. *Neurology* 2002;58:1471-1475.
- Seshadri S, Beiser A, Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH, D'Agostino RB, Wilson PW, Wolf PA: Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2002;346:476-483.
- Brunelli T, Bagnoli S, Giusti B, Nacmias B, Pepe G, Sorbi S, Abbate R: The C677T methylenetetrahydrofolate reductase mutation is not associated with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2001;315:103-105.
- McIlroy SP, Dynan KB, Lawson JT, Patterson CC, Passmore AP: Moderately elevated plasma homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase genotype, and risk for stroke, vascular dementia, and Alzheimer disease in Northern Ireland. *Stroke* 2002;33:2351-2356.
- Nishiyama M, Kato Y, Hashimoto M, Yukawa S, Omori K: Apolipoprotein E, methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) mutation and the risk of senile dementia - an epidemiological study using the polymerase chain reaction (PCR) method. *J Epidemiol* 2000;10:163-172.
- Prince JA, Feuk L, Sawyer SL, Gottfries J, Ricksten A, Nagga K, Bogdanovic N, Blennov K, Brookes AJ: Lack of replication of association findings in complex disease: An analysis of 15 polymorphisms in prior candidate genes for sporadic Alzheimer's disease. *Eur J Hum Genet* 2001;9:437-444.
- Gaughan DJ, Barbaux S, Kluijtmans LA, Whitehead AS: The human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genes: Genomic organization, mRNA structure and linkage to the CLCN6 gene. *Gene* 2000;257:279-289.
- Goyette P, Pai A, Milos R, Frosst P, Tran P, Chen Z, Rozen R: Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mamm Genome* 1998;9:652-656.
- Tran P, Leclerc D, Chan M, Pai A, Hiou-Tim F, Wu Q, Goyette P, Artigas C, Milos R, Rozen R: Multiple transcription start sites and alternative splicing in the methylenetetrahydrofolate reductase gene result in two enzyme isoforms. *Mamm Genome* 2002;13:483-492.
- Hixson JE, Vernier DT: Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res* 1990;31:545-548.
- Ji Y, Urakami K, Adachi Y, Maeda M, Isoe K, Nakashima K: Apolipoprotein E polymorphism in patients with Alzheimer's disease, vascular dementia and ischemic cerebrovascular disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1998;9:243-245.
- Wakutani Y, Kowa H, Kusumi M, Nakaso K, Yasui K, Isoe-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. *Neurobiol Aging*, in press.

アルツハイマー病の 遺伝的危険因子

genetic risk factor in Alzheimer's disease

浦上 克哉*・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講座・環境保健学分野

**鳥取大学医学部附属脳幹性疾患研究施設・脳神経内科部門



浦上 克哉(うらかみ かつや)
1983年鳥取大学医学部卒業。1988年鳥取大学医学部大学院博士課程修了。1988年鳥取大学医学部脳神経内科助手採用。1996年鳥取大学医学部脳神経内科講師。2001年鳥取大学医学部保健学科教授承認。現在に至る。
研究テーマはアルツハイマー病及び関連疾患の原因、病態及び診断マーカーに関する研究、痴呆性疾患の治療及びケアに関する研究。

⇒Key Words:

アルツハイマー病、酸化ストレス、治療、遺伝子多型

Abstract

アルツハイマー病(AD)は、現在65歳以上の約20人に1人の割合で存在するといわれるほど頻度の高いCommon diseaseである。孤発性アルツハイマー病(SAD)の遺伝的危険因子としてアポリポ蛋白E4(アポE4)が報告されて以来、数多くの遺伝子が疾患関連遺伝子の候補として報告されている。しかし、アポE4以外は未だ共通の見解を得るには至っていない。現在ADの病因のひとつとして酸化ストレスが注目されている。ADに本邦でも塩酸ドネペジルが発売され、治療が可能となっている。しかし、本剤がどのような症例で有効か、あまり有効でないか、また有効性が得られない時いつまで投与すべきか等早急に明らかにすべき問題点がある。このような治療効果を予知できるような遺伝子多型が分かれば、臨床上大変有用である。これまで報告されている遺伝子多型に関する研究の紹介と我々のグループが検討した酸化ストレス関連の遺伝子多型及びADにおける塩酸ドネペジルへの反応性とアセチルコリン関連遺伝子多型との関連について述べた。

大多数を占めるSADの危険因子が未同定であり、アポE4以外の遺伝的危険因子の検討が必要である。本邦においてもミレニアムプロジェクトとして遺伝子多型の解析が進行中であり、今後、ADの原因究明や治療予知に役立つ遺伝子多型が発見されることが望まれる。

Common diseaseである^{1,2)}。孤発性アルツハイマー病(SAD)の遺伝的危険因子としてアポリポ蛋白E4(アポE4)が報告されて以来、数多くの遺伝子が疾患関連遺伝子の候補として報告されている(表1)。しかし、アポE4以外は未だ共通の見解を得るには至っていない。現在ADの病因のひとつとして酸化ストレスが注目されている。ADに本邦でも塩酸ドネペジルが発売され、治療が可能となっている。しかし、本剤がどのような症例で有効か、あまり有効でないか、また有効性が得られない時いつまで投与すべきか等早急に明らかにすべき問題点がある³⁾。このような治療効果を予知できるような遺伝子多型が分かれば、臨床上大変有用である。以上のことから、本稿ではこれまでの遺伝子多型に関する研究の紹介と、そして次に我々のグループが検討した酸化ストレス関連の遺伝子多型及びADにおける塩酸ドネペジルへの反応性とアセチルコリン関連遺伝子多型との関連について述べる。

はじめに

アルツハイマー病(AD)は、現在65歳以上の約20人に1人の割合で存在するといわれるほど頻度の高い

1. プレセニリン(PS)遺伝子

PS-1遺伝子が、SADの発症に関与しているか否かは、重要な問題である。PS-1遺伝子の多型につ

■Katsuya Urakami*, Miyako Taniguchi*, Kaoru Yamagata**, Kenji Wada**, Yosuke Wakutani**, Kenji Nakashima**

*Section of Environment and Health Science, Department of Biological Regulation, School of Health Science, Faculty of Medicine, Tottori University

**Department of Neurology Institute of Neurological Science, Faculty of Medicine, Tottori University

表1 これまでに報告されている候補遺伝子

アルツハイマー病の危険因子としての候補遺伝子		
遺伝子	報告者	報告年
Apolipoprotein E (ApoE)	Corder	1993
α 1-antichymotripsin (ACT)	Kamboh	1995
Very low density lipoprotein receptor (VLDL-R)	Okuizumi	1995
Presenilin 1 (PS1)	Wragg	1996
Presenilin 2 (PS2)	Brooks	1997
Estrogen receptor (ER)	Isoe	1997
Dihydrolipoyl succinyltransferase(DLST)	Sheu	1997
Apolipoprotein A-IV (ApoA-IV)	Csaszar	1997
Low density lipoprotein receptor related protein(LRP)	Kang	1997
Butyrylcholinesterase K variant (BCHE-K)	Lehmann	1997
α 2-macroglobulin (α 2M)	Blackler	1998
Bleomycin hydrolase (BH)	Montoya	1998
Angiotensin-converting enzyme (ACE)	Kehoe	1999
Interleukin 6	Papassotiropoulos	2000
Interleukin 1 α	Nicoll	2000
Fas receptor	Fenk	2000
5-HT transporter	Hu	2000
Cystatin C	Crawford	2000
Tumor necrosis factor- α	McCusker	2001
α -synuclein	Matsubara	2001
Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)	Riemenschneider	2002
Fe65L2	Tanahashi	2002
Interleukin10	Lio	2003

いては、WraggらによりSADの危険因子となる可能性が報告された。筆者らも、日本人でPS-1遺伝子の多型を検討したが、アポE4を有さない晩発型SADでのみ有意に高値を示し、アポE4以外の危険因子である可能性を指摘した⁴⁾。ただし、この結果については賛否両論別れており、アポE4に比較して関連が弱い可能性が考えられる。

PS-2の遺伝子多型については、1997年にBrooksらによりSADと関連するとの報告がなされた。しかし、欧米や本邦からの追試ではいずれも関連を否定するものであり、PS-2の遺伝子多型はSADの危険因子としての意義は否定的と思われる。

■ 2. α 2マクログロブリン(α 2M)遺伝子

PS1とPS2が発見された後、12番染色体に連鎖する晩期発症型FAD家系が存在することが報告された。連鎖解析では α 2Mが近傍に位置することは分

かっていたが原因遺伝子とする結果は得られていなかった。しかし、Tanziらのグループより α 2MとADが有意に関連するとの報告がなされ注目されたが、以後否定的な追試が欧米および本邦で多くなされている。現時点では、Tanziらのグループが報告した α 2Mのエクソン18の5' splice-siteのdeletion多型はADと関連していないと考えられる。しかし、 α 2Mは12番染色体上のlod scoreの高い位置に存在しており、それ以外の部位がADと関連する可能性も否定できないので、その他の部位についての検討も今後必要と思われる。

■ 3. エストロゲンレセプター α (ER α)遺伝子

ADは多くの疫学調査より女性に圧倒的に頻度が多いこと、閉経後女性の認知機能低下と関連すること、およびエストロゲン補充療法が有用であるとすることなどの報告等により、AD発症にエスト

ロゲンが密接に関連している可能性が指摘されている。このような背景より、エストロゲンレセプター α (ER α)遺伝子はADの有力な候補遺伝子と考えられる。そこで筆者らのグループは、既に骨粗鬆症で報告されているER α の遺伝子多型部位をADで検討してみた。その結果ER α の遺伝子多型がADと有意に関連するとの初めてのデータを得た⁵⁾。Maruyamaらは日本人と英国人を対象として同様の検討を行っているがER α の転写活性は約2倍増加しているが遺伝子多型とADの間に有意な関連を認めなかったと報告している。しかしその後、筆者らはさらに多数の日本人例で検討し我々の前回の結果を確認した⁶⁾。欧米でも、イタリア人、スウェーデン人とフィンランド人、イギリス人などを対象とした報告で我々の報告を支持する結果がなされており、ER α の多型はアポEに次ぐ危険因子である可能性が示唆される(表2)。今後その機序の解明が必要と思われる。

■ 4. Angiotensin-converting enzyme (ACE)遺伝子

ACE遺伝子多型は高血圧の領域でよく研究されており、ACEのdeletionを有するD/D型が高血圧患者で多いと報告されている。Kehoeらは、ADでACE遺伝子多型を検討し、逆にInsertionを持つI/I型がADに多いことを報告し注目されている。本邦でも、直ちにHuらが日本人を対象として同様の検討を行いKehoeらとよく一致した結果を報告している。ACE遺伝子変異はADにおける血管性要因のひとつと考えられる。今後の追試報告が期待されるところである。

■ 5. 酸化ストレス関連の遺伝子

ADの原因のひとつとして酸化ストレスの問題は以前より注目され、AD脳ではDNA酸化の増加と酸化グアニン修復能の低下が報告されてきた。これまでに報告されているADと酸化ストレス関連遺伝子多型の結果を表2にまとめた。残念ながらすべての報告で一致した見解が得られておらず、有力なものは未だ発見されていない。

表2 酸化ストレスに関連する遺伝子多型

NOS2 CCTTT	negative Xu et al Neuroreport 2000
NOS3 intron4 repeat	negative Alvarez et al JNNP 1999
exon7 Glu298Asp	positive Dahiyat et al Ann Neurol 1999
	negative Singelton et al Neurosci Lett 2001
	negative Guerra et al JNNP 2001
	negative Crawford et al Ann Neurol 2000
	negative Higuchi et al Ann Neurol 2000
DLST C19183T	positive Nakano et al Lancet 1997
	negative Matsushita et al Neurobiol Aging 2001
Transferrin C2 allele	positive Namckata et al Hum Genet 1997
	negative Hussain et al Neurosci Lett 2002
	negative Kim et al Neurosci Lett 2001
HFE H63D	positive Sampietro et al Neurobiol Aging 2001
	negative Candore et al Mech Ageing Dev 2003

NOS nitric oxide synthase
DLST dihydrolipoyl succinyltransferase
HFT hemochromatosis

そこで我々は、以下の理由から酸化ストレスの修復系に視点を向けてみた。AD脳でのDNA酸化について報告は多数なされてきているが、修復酵素に関する報告は少ない。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-オキシグアニンの形成)に関与する可能性がある。8-オキシグアニン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。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。そこで、著者らのグループはOGG1エクソン7のC/G多型とADとの関連をPCR-FLP法にて検討した⁷⁾。その結果、ADでは変異型であるGG型を有する頻度が高く(p<0.05)、その傾

向はアポE4を持つ群でより顕著であった ($p < 0.039$, 表3)。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。これらの結果より、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。今後、人種差を越えて一致した結果が得られるかの更なる検討が必要である。

■ 6. Fe65L2遺伝子

Fe65L2はFe65蛋白ファミリーに属しており、アミロイドβ蛋白の産生に関与すると考えられている low-density lipoprotein receptor-related protein (LRP) と結合する。田平らのグループはFe65L2の遺伝子多型を解析し、c954C→T多型がAD群と健常対照群の間で有意差がみられることを報告した²¹⁾。さらにアポE4アレルを考慮して検討したところ、このc954C→T多型は独立したリスクファクターであることも見出している²²⁾。最近フランスのグループからも同様な報告がなされている²³⁾。

■ 7. 治療の有効性に関連する遺伝子多型

これまでに、アポE4を有するか否かで塩酸ドネペジルへの感受性が異なるとする報告がなされたが、現在必ずしも一致した見解が得られていない。塩酸ドネペジルはアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害剤であり、アセチルコリンを増加させ

て記憶を改善する効果がある。本剤は患者のAChE 自体やアセチルコリンレセプター (AChR) の感受性の差異により薬剤の有効性が異なり、その感受性が遺伝子レベルで調節されている可能性が考えられる。そこで、まず塩酸ドネペジルのADへの効果を検討し、次いで薬剤への反応が良好な群 (responder) と反応が良好でない群 (non-responder) に分けて、アセチルコリン関連遺伝子の多型性との関連を解析した²⁴⁾。

7-1. AChE及びAChR遺伝子多型とADの関連

AChE遺伝子多型の対象はAD98例 (男24/女74, 平均年齢70.8才), 対照群101例 (男30/女71, 平均年齢69.7才), AChR遺伝子多型の対象はAD96例 (男31/女65, 平均年齢69.8才), 対照群99例 (男29/女70, 平均年齢69.1才) であった。AChE遺伝子多型は、エクソン2コドン322のCAC(His)からAAC(Asn)に置換するミスセンス変異を検討した。AChR遺伝子多型はα7のエクソン6のTGの2 base pair deletionの多型を検討した。患者ならびに家族に研究の目的・方法について十分な説明を行い同意が得られた後に、DNA用の血漿採血 (EDTA-2 Na入り) を行った。AChE及びAChR遺伝子多型をPCR-FRLP法にて解析した。DNAの抽出は、フェノールクロロホルム法にて行った。統計解析に

表3 OGG1遺伝子多型の結果
結果1-2 アポリポ蛋白遺伝子型別におけるOGG1遺伝子型とアレル分布

アポE ε3/ε3	コントロール (n=182)	p*	アルツハイマー (n=96)	アポE ε3/ε4	コントロール (n=51)	p*	アルツハイマー (n=89)
遺伝子型				遺伝子型			
Ser/Ser	61 (33.5%)	0.741	33 (34.3%)	Ser/Ser	15 (29.4%)	0.098	14 (15.7%)
Ser/Cys	78 (42.8%)		37 (38.5%)	Ser/Cys	26 (50.9%)		47 (52.8%)
Cys/Cys	43 (23.6%)		26 (27.0%)	Cys/Cys	10 (19.6%)		28 (31.4%)
アレル				アレル			
Ser	200 (54.9%)	0.769	103 (53.6%)	Ser	56 (54.9%)	0.039	75 (42.1%)
Cys	164 (45.0%)		89 (46.3%)	Cys	46 (45.0%)		103 (57.8%)

*χ²検定によるp値

は、 χ^2 乗検定を用いた。AChE遺伝子のエクソン2コドン322のCAC(His)からAAC(Asn)に置換するミスセンス変異の多型は、AD、対照群共にすべての例がC/C型であり、ADとの有意な関連は認めなかった。AChR α 7遺伝子のエクソン6のTGの2 base pair deletionの多型は、ADで30例、対照群に24例のヘテロが存在したが、ADと対照群の間に有意差は認めなかった。

7-2. 塩酸ドネペジルの有効性とAChR遺伝子多型

AD患者43例を対象として塩酸ドネペジルへのresponderとnon-responderに分けて、AChR α 7遺伝子多型を解析した。薬剤の有効性の判定は、家族もしくは介護者の印象、主治医の印象、及び知的機能検査（長谷川式簡易知的機能検査、ほか）のいずれかにおいて改善と判断できたものをresponderとし、それ以外をnon-responderとした。患者ならびに家族に研究の目的・方法について十分な説明を行い同意が得られた後に、DNA用の血漿採血（EDTA-2Na入り）を行った。AChR遺伝子多型はPCR-FRLP法にて解析した。DNAの抽出は、フェノール-クロロホルム法にて行った。統計解析には、 χ^2 乗検定を用いた。塩酸ドネペジルの有効性は、49%（21例）が改善、不変が35%（15例）、悪化が7%（3例）、中止が9%（4例）にみられた。著効例は改善例中の約20%程度にみられており、絵が描けるようになった著効例として既に文献報告¹⁰⁾した症例1（63才男性）は、現在も絵を描き続け以前はクレヨンを使っていたのか、絵の具を使って描くようになり、使う道具にも進歩がみられている。

その他、同文献で症例2として報告している例（73才女性）は、最近短歌が作れるようになり、また年賀状もすばらしい字で書かれている。さらに、キーボードが弾けるようになったり、卓球ができるようになった症例なども新たに経験している。Responderとnon-responderでの検討では、AChE遺伝子はヘテロの例もなかったため、ヘテロの例を有したAChR α 7の遺伝子多型との関連を検討した。そ

の結果、responder群にヘテロの頻度が統計学的に有意に多いことが分かった（ $p < 0.05$ 、表4）。

まず、塩酸ドネペジルの有効性についてであるが、我々の結果では49%（21例）が改善、不変が35%（15例）、悪化が7%（3例）にみられ、他の報告と極めて良く一致した結果であった。塩酸ドネペジルは根本的に直せる薬剤ではないが、2例に1例は何らかの改善があることが分かり、またこの改善例中の約20%に著効例も認めることから、是非試してみる価値のある薬剤と考えられる。副作用による中止は2例のみで、1例は食欲不振のため、もう1例は興奮・易怒性のためであり、重篤なものはなく安全性も高い薬剤と考えられる。有効性を判断するにあたって、単に知的面だけでなく機能維持の観点からも評価する必要があることが指摘されている。

AChE及びAChR遺伝子多型とADの関連については、まずAChE遺伝子のエクソン2コドン322のCAC(His)からAAC(Asn)に置換するミスセンス変異の多型は、われわれの今回検討したAD、対照群共にすべての例がC/C型（野生型）であり、ADとの有意な関連は認めなかった。欧米では、A/A型、C/A型を認めており、他の遺伝子でもしばしば経験していることではあるが日本人と欧米人での著しい人種差が存在すると思われる。AChR遺伝子多

表4 塩酸ドネペジルの有効性とAChR α 7遺伝子多型

χ^2 乗検定	例数	遺伝子型		
		W/W	W/M	M/M
良好群 $p < 0.05$ (改善)	21	10	11	0
不良群 (改善以外)	22	17	5	0

型は17のエクソン6のTGの2base pair deletionの多型は、ADに30例、対照群に24例のヘテロが存在したが、ADと対照群の間に有意差は認めなかった。Kawamataらが孤発性ADを対象としてAChR $\alpha 7$ 遺伝子多型を検討しているが、われわれと同様に有意な関連を認めていない。しかし、AD群と対照群共にヘテロを認めたので、次のresponderとnon-responderに分けての検討を行った。その結果、responder群にヘテロの頻度が統計学的に有意に多いことが分かった。

このことより、塩酸ドネペジルのAD患者への有効性とAChR $\alpha 7$ 遺伝子多型との関連が示唆された。正確な機序はまだ分からないが、AChR $\alpha 7$ 遺伝子の2base pair deletionはフレームシフトを起し、エクソン6にストップコドンを生じて、AChRの機能に影響する可能性が考えられる。例数がまだ少なく今後の検討が必要ではあるが、AChR $\alpha 7$ 遺伝子多型の検査が塩酸ドネペジルの有効性の予知に役立つ可能性が示唆される。AChE及びAChR遺伝子多型とADとの関連については、両遺伝子共に今回検討した以外の部位に多型が存在する可能性があり、今後その他の部位の多型の解析も必要と思われる。Responderとnon-responderについての検討は、これまでにいくつかの報告がなされているが、responderとnon-responderの分け方が報告間で一致しておらず、十分な結論が出ていない。

今回われわれは例数が少ない関係上改善例をresponder、それ以外をnon-responderに分けて検討したが、これだけでは不十分と考えている。不変例も悪化していないという観点からは効果が見られている可能性もあり、また欧米では5mgで不変でも10mgへの増量で効果を認めた例（本邦では5mgしか認可されていない）もあり、安易な判断をしてはいけないと思われる。今後、例数を増やし種々の分類を試みた上で、真のresponderとnon-responderを区別できるパラメーターを明らかにする必要もある。

■ まとめ

大多数を占めるSADの危険因子が未同定であり、APOE以外の遺伝的危険因子の検討が必要である。本邦においてもミレニアムプロジェクトとして遺伝子多型の解析が進行中であり、今後の発展が期待される。

酸化ストレスについてはADの原因のひとつとして有力なものであるが、酸化ストレス関連遺伝子多型についてはまだ十分な検討がなされていない。治療の有効性を判定するための遺伝子多型として、AChR $\alpha 7$ 遺伝子多型との間に有意な関連がある可能性を報告したが、今後の追試、多数例の検討が必要である。今後、ADの原因究明や治療予知に役立つ遺伝子多型が発見されることが望まれる。

文 献

- 1) 浦谷陽介, 石崎公郁子, 足立芳樹, ほか: 鳥取県大山町における2000年度痴呆性疾患疫学調査. *Dementia Japan*. 15: 140, 2001.
- 2) Urakami K, Adachi Y, Wakutani Y, *et al.*: Epidemiologic and genetic studies of dementia of the Alzheimer type in Japan. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 9: 294-298, 1998.
- 3) 浦上克哉, 谷口美也子, 佐久間研司, ほか: アルツハイマー型痴呆の遺伝子多型と簡易スクリーニング法. *老年精神医学雑誌*. 13: 5-10, 2002.
- 4) Isoe K, Urakami K, *et al.*: Presenilin-1 polymorphism in patients with Alzheimer's disease, vascular dementia and alcohol-associated dementia in Japanese population. *Acta Neurol Scand*. 94: 326-328, 1996.
- 5) Isoe K, Ji Y, Urakami K, *et al.*: Genetic association of estrogen receptor gene polymorphisms with sporadic Alzheimer's disease. *Alzheimer's Res*. 3: 195-197, 1997.
- 6) Ji Y, Urakami K, Isoe K, *et al.*: Estrogen receptor gene polymorphisms in patients with Alzheimer's disease, vascular dementia and alcohol-associated dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 11: 119-122, 2000.
- 7) 浦上克哉, 谷口美也子, 山形薫, ほか: 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との関連ならびに診断マーカーとしての有用性の検討. 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年度報告書. 15-20, 2002.
- 8) Tanahashi H, Asada T, Tabira T.: c954C_T polymorphism in Fe65L2 gene is associated with early-onset Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 52: 691-693, 2002.
- 9) Cousin E, Hannequin D, Ricard S, *et al.*: A risk factor for early-onset Alzheimer's disease associated with the APBB1 gene (F1365) intron 13 polymorphism. *Neurosci Lett*. 342: 5-8, 2003.
- 10) 浦上克哉, 浦谷陽介, 中島健二.: アルツハイマー病における塩酸ドネペジル(アリセプト)の使用経験—絵の描けるようになった著効例の報告—新薬と臨床. 37: 1087-1091, 2000.

特集：もの忘れ外来
—痴呆症の早期診断・治療ならびに機能評価—

「もの忘れ外来」における 痴呆の早期鑑別診断のコツ

浦上 克哉

株式会社 ライフ・サイエンス

「もの忘れ外来」
— 痴呆症の早期診断・治療ならびに機能評価 —

「もの忘れ外来」における 痴呆の早期鑑別診断のコツ

浦上 克哉*

KEY WORD

塩酸ドネペジル
髄液
タウ蛋白
アミロイドβ蛋白
リン酸化タウ蛋白
タッチパネル式コン
ピュータ

POINT

- アルツハイマー型痴呆の診断には、楽天的な雰囲気、ゆっくりと悪くなっていくという症状・経過をとらえることが重要。
- 髄液中タウ蛋白、アミロイドβ蛋白、リン酸化タウ蛋白の測定は早期診断に役立つ。
- タッチパネル式コンピュータを用いたスクリーニング機器は、もの忘れ外来でも有用と思われる。

0387-1088/04/4500/論文/JCLS

はじめに

「もの忘れ外来」は患者にもわかりやすい名称であり、受診しやすく、早期発見・早期診断を担う役割は大変大きい。痴呆症をきたす疾患の中でアルツハイマー型痴呆は約半数を占めており^{1, 2)}、近年塩酸ドネペジル(アリセプト®)が本邦でも発売され、治療が可能となり効果が期待されている^{3, 4)}。このことから、「もの忘れ外来」でアルツハイマー型痴呆の診断が早期にかつ的確にできるか否かが重要なポイントとなってくる。

そこで、本稿では痴呆症の中でも、とくにアルツハイマー型痴呆の早期鑑別診断について述べる。

診断

現在のアルツハイマー型痴呆診断の主体は除外診断である。詳細な問診、内科学的診察、神経学的診察、神経心理学的検査、検尿一般、血液一般、血液生化学検査、内分泌学的検査、生理学的検査、画像検査、髄液検査などを行い、DSM-IV、NINCDS-ADRDAの診断基準を満足するものをアルツハイマー型痴呆と診断している。基本概念としては、緩徐に進行する痴呆症状のために日常的、社会的生活に支障をきたすということである。しかし、この概念の日常的、社会的生活に支障をきたすということには、著しい個人差が存在することが問題であり、科学的根拠に基づいていない。しかも、この基準は治療がなかった時代の診断基準であり、できる限り確実に診断しようとしたものである。塩酸ドネペジルというアルツハイマー型痴呆の薬剤

*うらかみ かつや：鳥取大学医学部保健学科生体制御学講座・環境保健学分野教授

が発売された今日、より早期診断が求められ、科学的根拠に基づいた早期診断が可能な診断基準の作成が望まれる。

問診では、もの忘れなどの症状の発症時期が明確でなく、徐々に進行していくことが本症の特徴である。家族性アルツハイマー病の若年発症のケースでは進行が急速なことがあるが、65歳以上で発症してくる老年発症のアルツハイマー型痴呆ではほぼ当てはまる。鑑別診断で最も重要な脳血管性痴呆では、発症時期が比較的明確であり、典型例では階段状に悪化していく。また、主訴がもの忘れではなく、性格変化や周囲を困らせる症状で来院する場合、前頭側頭型痴呆(ピック病)であることが多い。アルツハイマー型痴呆に特徴的というわけではないが、痴呆患者の病歴で配偶者を亡くして症状が発症、悪化したということをしつぱし聴取する。症状の中で、もの盗られ妄想はアルツハイマー型痴呆に必ずしも特異的ではないが、アルツハイマー型痴呆のみみられる妄想の大半を占める。患者の雰囲気として、割合あっけらかんとして深刻さがなく楽天的な痴呆が特徴的である。もちろん、病初期には“もの忘れ”を自覚して深刻に悩み、うつ的な訴えで受診することもある。

一方、脳血管性痴呆では、一般的に“もの忘れ”を深刻に受け止める傾向が強く、悲観的な印象がある。アルツハイマー型痴呆では、家族と一緒に診察室に居る際検者からの質問のたびに、家族の方を振り向いて確認を求める動作(head rolling sign)はしばしばみられ、診断の参考になる。

薬剤の使用状況は必ず聞いておく必要がある。特発性パーキンソニスムに用いる抗コリン薬・塩酸トリヘキシフェニジル(アーテン®)、抗ドパミン薬・チアプリド(グラマリール®)、睡眠薬などはしばしば痴呆様症状をきたし、これら薬剤の中止により改善が得られる。

内科学的診察では、誌面の関係上詳細は割愛するが、内科疾患に伴う治療可能な痴呆を見逃さぬよう所見をとる必要がある。

神経学的診察では、局所神経徴候を見逃さないようにする。治療可能な神経疾患、主に脳外

科的疾患となるが脳腫瘍、慢性硬膜下血腫、正常圧水頭症ほかでは通常神経徴候がみられる。脳血管性痴呆では、構語障害、前頭葉徴候、麻痺、パーキンソニスムなどがみられる。大脳皮質基底核変性症では、パーキンソニスム、症候の左右差、動きのぎこちなさなどが特徴である。アルツハイマー型痴呆では、比較的末期まで明確な神経所見を呈することはまれで、異常な神経所見がないことが診断する際重要なポイントとなる。しかし、重症になってくると筋トーンの亢進、ミオクローヌス、歩行障害、パーキンソニスムや原始反射などがみられるようになる。

検査

1. 検尿一般、血液一般、血液生化学検査、内分泌学的検査

内科疾患に伴う治療可能な痴呆を見逃さないために行う。甲状腺ホルモン、ビタミンB₁₂、葉酸などを通常の尿、血液一般、生化学検査(肝・腎機能検査)などに加えて行う必要がある。とくに甲状腺機能低下症は頻度が多いので、ぜひTSH、フリーT₃、フリーT₄などを測定することを推奨する。

2. 生理学的検査

一般生理学的検査では、アルツハイマー型痴呆を積極的に診断するのに役立つものはない。脳波検査では、肝性脳症の3相波、クロイツフェルト・ヤコブ病の周期性同期性放電(PSD)などが特徴的で診断に役立つ。

3. 神経心理学的検査

1) 痴呆スクリーニング検査

長谷川式簡易知的機能検査-改訂版(HDS-R)、Mini-mental state examination(MMSE)がスクリーニング検査として汎用されている。HDS-Rの特徴としては、最後の問題で言葉の流暢性を調べる検査があり、これは前頭葉の機能を反映する実行機能のみであり、これがMMSEにはない。一方MMSEは、図形の模写や文章作成

などの動作性検査が含まれている点の特徴である。ただ、MMSEにおける図形の模写は平面図形であるため比較的平易であるため、あまり感度が高くない。

2) 詳細な神経心理学的検査・高次機能検査

①Alzheimer's Disease Assessment Scale (ADAS)

新薬の治験や薬物療法の効果判定に国際的に用いられている検査である。施行は約30～60分かかる。満点は70点(全く答えられない場合)で、15点はMMSE 26点相当と考えられる。

②Wechsler Adult Intelligent Scale-Revised (WAIS-R)

IQが算出でき、言語性IQと動作性IQに分けて評価できる。高次機能評価のスケールとして信頼性が高いが、適用年齢が74歳までとなっており、痴呆性高齢者は75歳以上に多くみられ施行が限定される。また、施行に1～2時間を要し、患者の負担が大きく協力を得にくい欠点がある。

3) 観察式認知機能評価

前述の詳細な神経心理学的検査・高次機能検査は、高齢者には精神的にも肉体的にも負担が大きい。観察式検査はこのような欠点がなく有用である。ただ観察者に観察力が要求される。

①Mental Function Impairment Scale (MENFIS)

認知機能(場所の見当識、時間の見当識、最近の記憶、昔の記憶、会話理解の障害、意思表示の障害、判断の障害)、動機づけの機能障害(自発性の障害、興味・関心の障害、気力の障害)、感情機能障害(感情表現の多様性の障害、感情表現の安定性の障害、感情表現の適切性の障害)合計13項目について、0(全く障害なし)～6(完全な障害)までの7段階で評価する。

②Functional Assessment Staging (FAST)

日常の行動の観察から、重症度を評価するスケールである。重症度ごとに具体的な記載がされており、それに該当すると思われる重症度をチェックすればよいので、具体的に簡便に使いやすい。

表1 アルツハイマー型痴呆と脳血管性痴呆の鑑別点のまとめ

	アルツハイマー型痴呆	脳血管性痴呆
雰囲気	楽天的	悲観的
痴呆症状	もの忘れ	意欲低下
麻痺	なし	あり
随伴症状	もの盗られ妄想	感情失禁
脳血流低下経過	側頭・頭頂葉 徐々に	前頭葉 階段状

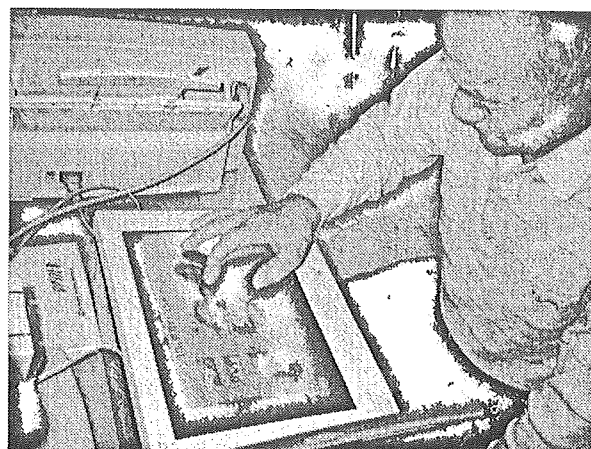


図1 アルツハイマー型痴呆簡易スクリーニングのためのタッチパネル式コンピュータ

4. 画像検査

頭部CT/MRIはアルツハイマー型痴呆では一般的には脳萎縮を示すのみであり、直接的な診断の助けとはならない。ただ、頭部CT/MRIは除外診断のために重要である。治療可能な神経疾患、主に脳外科的疾患となるが脳腫瘍、慢性硬膜下血腫、正常圧水頭症ほかの診断に有用である。また、脳血管性痴呆では脳血管障害の所見を有する。ただ、逆に脳血管病変があったら脳血管性痴呆と短絡的に診断してはならない。現在存在する認知機能低下がCT/MRIで示された血管病変の部位・大きさから責任病巣として説明可能か否かを慎重に判断する必要がある。脳血管性痴呆との鑑別は最も重要であり、鑑別のポイントを表1に示す。

脳血流シンチ(SPECT)では、アルツハイマー型痴呆では側頭・頭頂葉の血流低下が特徴的で、そのほかの痴呆では前頭葉の血流が低下することが多い。

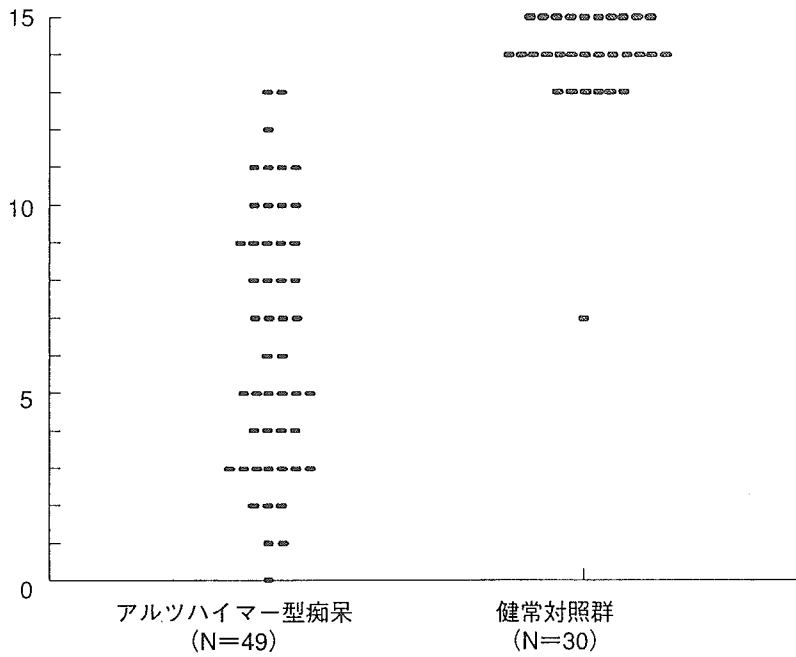


図2 タッチパネル式コンピュータを用いたアルツハイマー型痴呆の簡易スクリーニング法の結果

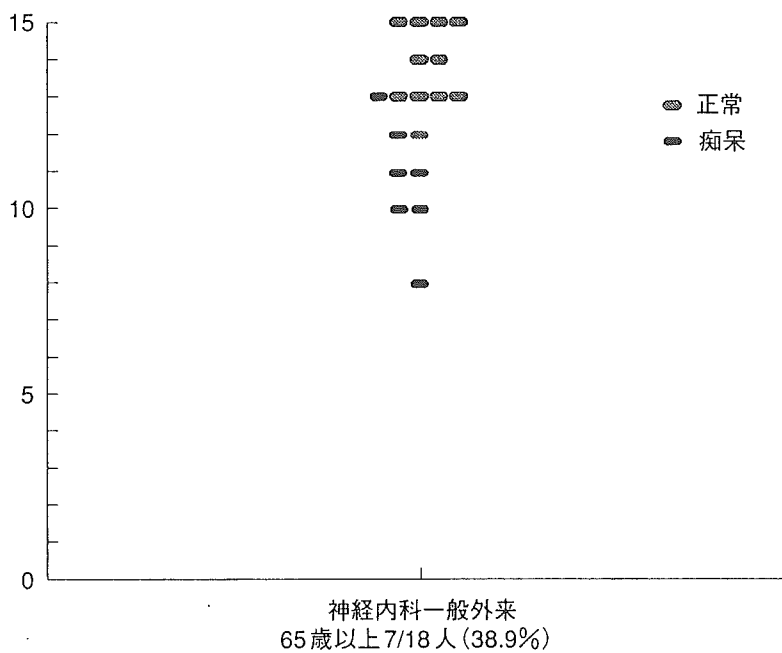


図3 一見正常と考えられていた患者におけるタッチパネル式コンピュータを用いたアルツハイマー型痴呆の簡易スクリーニング法による発見率

5. 髄液検査

腰椎穿刺による脳脊髄液検査では、アルツハイマー型痴呆に対して直接役立つ検査は、後述する(早期診断への試み)髄液中総タウ蛋白、アミロイドβ蛋白、リン酸化タウ蛋白があるが、

まだ一般臨床で使えるところまで行っていない。現段階での意義で大きいものは、慢性あるいは亜急性の髄膜炎や脳炎との鑑別である。これらの炎症の場合、細胞数増多がみられ、神経梅毒ではIgGの増加や梅毒反応の陽性所見、ヘル

ペス脳炎ではヘルペス抗体価の上昇などがみられる。

早期診断への試み

現在アルツハイマー型痴呆を積極的に診断できるマーカーが存在しない。このために、前記のごとく煩雑な診断プロセスを必要としている。有力な診断マーカーとしては、髄液中総タウ蛋白、アミロイドβ蛋白、リン酸化タウ蛋白がある。髄液中総タウ蛋白、アミロイドβ蛋白の組み合わせにより、おおむね信頼できる感度、特異度が達成できている⁵⁾。単独でということになると、髄液中リン酸化タウ蛋白が最も良いと考えられる。現在リン酸化タウはわれわれのグループが報告しているセリン 199 のリン酸化部位をみる方法⁶⁾とスレオニン 181⁷⁾、スレオニン 231⁸⁾のリン酸化部位をみる方法が報告されている。いずれも良い成績である。さらに、診断精度を上げるためには、大脳皮質基底核変性症や進行性核上性麻痺などに代表されるタウオパチーとの鑑別力を上げていく試みが必要と思われる⁹⁻¹¹⁾。一般臨床ということ考えると、やはり単独でのマーカーが望ましく髄液中リン酸化タウ測定が最短距離にあるものと考えられる。ただし、髄液検査は手軽にできないため、これにつなげるためのスクリーニング検査が必要と考える。1つは、尿や血液でできる検査であるが、残念ながらまだ有力なマーカーが開発されていない。われわれは、タッチパネル式コンピュータを用いたアルツハイマー型痴呆の簡易スクリーニング法を開発し(図1)、その有用性を報告した。これは、手軽にどこでも簡便に行えるもので、非侵襲的で、かつ感度96%、特異度97%ときわめて有用な結果が得られている(図2)¹²⁾。さらに筆者のような専門医が正常と考えていた症例にこのスクリーニング法を実施したところ、図3のごとく38.9%も痴呆症がみつかった。日本の保険医療の現状では、専門医療機関といえど多くの診療時間を割くことが難しい。そのような観点からも「もの忘れ外来」においてもこのような簡便なスクリーニン

グ機器は必要と考える。クロイツフェルト・ヤコブ病では髄液中14-3-3蛋白が90%以上の症例で陽性となり診断的価値が高いと報告されている¹³⁾。

遺伝子検査では、家族性アルツハイマー病の原因遺伝子としてアミロイドβ前駆体蛋白(APP)、プレセニリン1、プレセニリン2遺伝子の変異が明らかにされており、遺伝性が疑われた場合これらの遺伝子診断は可能である。アポリポ蛋白(アポE)E4が孤発性のアルツハイマー型痴呆と関連することが報告されているが、これはあくまで危険因子であり診断の指標としては使えない。現在アポE以外の遺伝的危険因子が世界中で精力的に検討されているが、残念ながら一致したコンセンサスの得られているものはまだない^{14, 15)}。

おわりに

アルツハイマー型痴呆は現在徹底した除外診断に基づいてなされており、より容易に誰でもできる診断マーカーの開発が望まれる。また、近年話題になっている軽度認知障害(MCI)の問題点を検討するとともに、アルツハイマー型痴呆の早期診断を考えた診断基準の作成も早急に行われなければならない。

文 献

- 1) Urakami K et al : Epidemiologic and genetic studies of dementia of the Alzheimer type in Japan. *Dement Geriatr Cogn Disord* 9 : 294-298, 1998.
- 2) 涌谷陽介ほか : 鳥取県大山町における2000年度痴呆性疾患疫学調査. *Dementia Japan* 15 : 140, 2001.
- 3) 浦上克哉ほか : アルツハイマー病における塩酸ドネペジル(アリセプト)の使用経験—絵の描けるようになった著効例の報告—. *診療と新薬* 37 : 1087-1091, 2000.
- 4) 浦上克哉ほか : アルツハイマー病における塩酸ドネペジルの有効性とアセチルコリンエステラーゼおよびアセチルコリンレセプター遺伝子多型との関連の検討. *内科医会誌* 14 : 424-428, 2002.
- 5) Kanai M et al : Longitudinal study of

- cerebrospinal fluid levels of tau, A β 1-40 and A β 1-42(43) in Alzheimer's disease : A study in Japan. *Ann Neurol* 44 : 17-26, 1998.
- 6) 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(2) : 150-156, 2001.
 - 7) Vanmechelen E et al : Quantitation of tau phosphorylated at threonine 181 in human cerebrospinal fluid : a sandwich ELISA with a synthetic phosphopeptide for standardization. *Neurosci Lett* 285 : 49-52, 2000.
 - 8) Kohken R et al : Detection of tau phosphorylated at threonine 231 in cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients. *Neurosci Lett* 287 : 187-190, 2000.
 - 9) Urakami K et al : A comparison of tau protein in cerebrospinal fluid between corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy. *Neurosci Lett* 259 : 1-3, 1998.
 - 10) Urakami K et al : Diagnostic significance of tau proteins in cerebrospinal fluids from patients with corticobasal degeneration or progressive supranuclear palsy. *J Neurol Sci* 183 : 95-98, 2001.
 - 11) 浦上克哉ほか : 大脳皮質基底核変性症と進行性核上性麻痺をめぐって—生化学的マーカー—. *臨神経* 42 : 1162-1164, 2002.
 - 12) 浦上克哉ほか : アルツハイマー型痴呆の遺伝子多型と簡易スクリーニング法. *老年精医誌* 13 : 5-10, 2002.
 - 13) Burkhard PR et al : CSF detection of the 14-3-3 protein in unselected patients with dementia. *Neurology* 56 : 1528-1533, 2001.
 - 14) 浦上克哉ほか : アルツハイマー病の遺伝素因の解析. *クリニカ* 29 : 53-57, 2002.
 - 15) 浦上克哉ほか : 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* 3 : 557-562, 2003.

(執筆連絡先) 浦上克哉 〒683-8504 鳥取県米子市西町 36-1 鳥取大学医学部保健学科生体制御学講座・環境保健学分野

◇図書案内◇

鼻アレルギー診療ガイドライン

—通年性鼻炎と花粉症— 2002年版(改訂第4版) CD-ROM付

作成：鼻アレルギー診療ガイドライン作成委員会

[B5判/84頁/定価3,150円(本体3,000円+税5%)]

- 編集顧問 奥田 稔(日本医科大学名誉教授)
 - 編集委員 馬場広太郎*(獨協医科大学医学部耳鼻咽喉科気管食道科教授)
 - 今野 昭義((財)脳神経疾患研究所附属総合南東北病院アレルギー・頭頸部センター長)
 - 竹中 洋(大阪医科大学耳鼻咽喉科教授) *代表
- (株)ライフ・サイエンス

最新医学・別冊 新しい診断と治療のABC 22 (別刷)

神経 3 アルツハイマー病

アルツハイマー病の診断

評価スケール

浦上 克哉 谷口 美也子

最新医学社