

図3 認知症と非認知症の生存率とその95%信頼区間

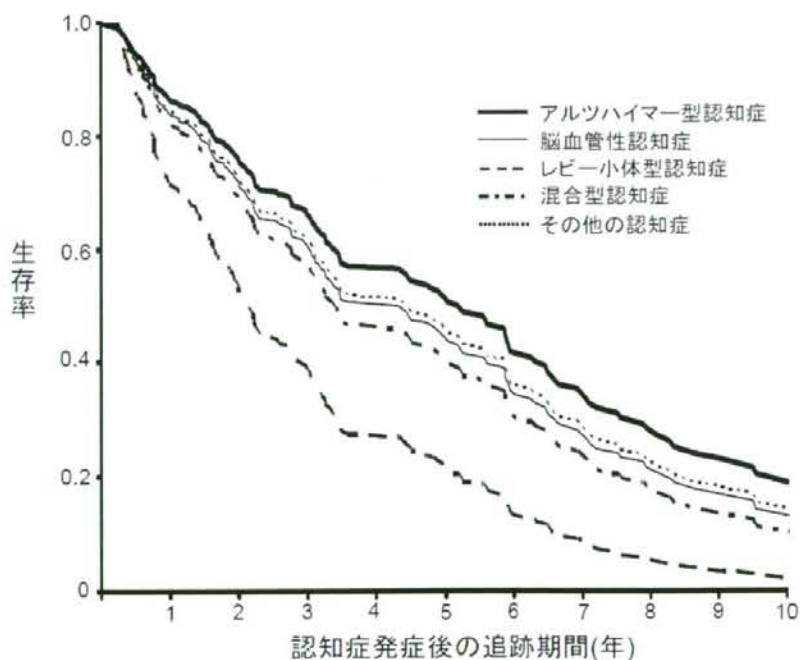


図4 病型別認知症の生存率, 性・年齢調整

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）  
アルツハイマー病の危険因子の解明と予防に関する大規模ゲノム疫学研究  
分担研究報告

アルツハイマー病の危険因子と病理学的変化の定量的評価

研究分担者 岩城 徹  
(九州大学大学院医学研究院神経病理学分野・教授)

**研究要旨** コホート研究によって、糖尿病（DM）および耐糖能異常（IGT）者はアルツハイマー病の危険率が有意に高まることを報告している。そこで1988年の健診および認知症調査を受けた165名の連続剖検による脳データベースを用いて、アルツハイマー病の病理学的変化を定量的に評価し、病理変化と耐糖能異常との関連について統計学的に検討を行った。その結果、食後のインスリン値が病理変化のうち、老人斑の形成に参与している可能性が示された。

**A. 研究目的**

久山町における病理疫学コホート研究によって、糖尿病（DM）および耐糖能異常（IGT）者はアルツハイマー病の危険率が有意に高まる事を見出した。アルツハイマー病は病理学的に老人斑と神経原線維変化を特徴とする変性疾患であり、どの病理所見が耐糖能異常とより関連が強いかを検討することは、その病態機序の関連を明らかにする上で、重要と考えられる。そこでアルツハイマー病の病理学的変化を定量的に評価し、耐糖能異常との関連について統計学的に検討を行った。さらに今回は、1988年の健診データを用いて、その他の生活習慣関連因子についても検討を行った。

**B. 研究方法**

1998年10月1日～2003年3月31日の期間に死亡した久山町住民290名のうち、九州大学で解剖した連続剖検は211例であった。

そのうち、1988年の健診を受診した165名の剖検脳データベースよりパラフィン切片を用いて、平野銀染色及びタウ抗体免疫染色を行った。アルツハイマー病病理学的変化は、老人斑の評価はCERAD criteria、神経原線維変化については、Braak and Braak stage分類に基づいて行った。DMおよびIGTの診断は、日本糖尿病学会の診断基準（1999年）に準拠し、検診で上記診断基準に合致した症例とした。解析は累積ロジットを利用した比例オッズモデル（性、年齢を調整）を行った。

（倫理面への配慮）

病理解剖承諾書を遺族より得ている。

**C. 研究結果**

165例のうち、IGTは71例（43%）（うちDMは28例（17%））であった。IGTの有無と老人斑の程度、食前インスリンと老人斑の程度、食後血糖と老人斑の程度、HOMA-R指数（ $HOMA-R = \text{空腹時血糖値} \times \text{空腹時イン}$

スリン濃度÷405：インスリン分泌が比較よく保たれている軽度の糖尿病患者のインスリン抵抗性を把握する指数）と老人斑の程度に、有意ではないが軽度の相関を認めた。食後2時間のインスリン値と老人斑の程度に有意な相関(RR 1.55, p=0.029)が認められた。その他の生活習慣関連因子では、コレステロール、LDL-Cと老人斑の程度に、有意ではないが軽度の相関を認めた。

#### D. 考察

日本人の認知症は欧米に比べて、脳血管型認知症の割合が高かったが、生活習慣が欧米型に移行するにしたがって、アルツハイマー病の割合が増加してきている。欧米の研究でカトリック教会の高齢な神父や修道女ら824人を平均5.5年追跡した調査で、2型糖尿病があるとアルツハイマー病のリスクが65%高くなることが報告されている。久山町コホート疫学研究でも耐糖能異常は脳血管型認知症と同様にアルツハイマー病において高い危険因子であることを明らかにした。そこで耐糖能異常などの生活習慣病因子がアルツハイマー病の主たる病理変化である老人斑と神経原線維変化のいずれに強い相関があるか統計学的に解析した結果、老人斑の定量的データとインスリン値に相関が見られる等、いくつかの生活習慣病危険因子とアルツハイマー病の脳病変との関連を示唆する予備的データが得られた。

特に食後2時間のインスリン値と老人斑の程度に有意な相関が認められたことは、老人斑の蓄積にインスリン抵抗性がなんらかの関係があることを示唆している。アミロイドβ蛋白は老人斑として脳に10~30年という長い時間をかけて蓄積し、神経細胞

死などの神経障害を生じて、認知症が発症すると考えられている。この過程にインスリン抵抗性が及ぼす分子機序を明らかにするためには実験モデルを用いた検証が重要である。一方、インスリン抵抗性を改善する長期に渡る介入試験がアルツハイマー病による認知症発症を遅延ないし抑制する効果があるかを検討することが意味ある研究テーマになりうることも示している。

危険因子の関与をより正確に評価するための今後の課題として、連続剖検症例の検討数を更に増やす事と、informed consentの得られたDNAサンプルについてはアルツハイマー病の重要な危険因子であるアポリポ蛋白Eの遺伝子多型を解析し、その結果を調整因子として考慮した統計学的処理をする事が望ましい。

久山町研究ではここ数十年で耐糖能異常がある人が女性で2割、男性で4割増えており、対策を急ぐ必要があることを示している。重要な事は糖尿病患者の血糖管理が良好であれば他の糖尿病合併症と同様に認知障害のリスクに違いが出る可能性があり、糖尿病管理のためのもう一つの論点になるであろう。

#### E. 結論

臨床データと神経病理所見との相関関係についてコンピューターを用いた統計学的解析を行った。その結果、老人斑の定量的データとインスリン値に相関が見られる等、いくつかの生活習慣病危険因子とアルツハイマー病の脳病変との関連を示唆するデータが得られた。

[参考文献]

1. de la Monte SM, Wands JR. Review of insulin and insulin-like growth factor expression, signaling, and malfunction in the central nervous system: Relevance to Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis.* 2005; 7(1): 45-61
2. Irie F, Fitzpatrick AL, Lopez OL, Kuller LH, Peila R, Newman AB, Launer LJ. Enhanced risk for Alzheimer disease in persons with type 2 diabetes and APOE epsilon4: the Cardiovascular Health Study Cognition Study. *Arch Neurol.* 2008; 65(1): 89-93

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Fujimi K, Sasaki K, Noda K, Wakisaka Y, Tanizaki Y, Matsui Y, Sekita A, Iida M, Kiyohara Y, Kanba S, Iwaki T. Clinicopathological outline of dementia with Lewy bodies applying the revised criteria: The Hisayama study. *Brain Pathol.* 2008; 18(3): 317-325
  2. Matsui Y, Tanizaki Y, Arima H, Yonemoto K, Doi Y, Ninomiya T, Sasaki K, Iida M, Iwaki T, Kanba S, Kiyohara Y. Incidence and survival of dementia in a general population of Japanese elderly: the Hisayama Study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2008; Oct 31. [Epub ahead of print]
  3. Kato T, Mizoguchi Y, Monji A, Horikawa H, Suzuki SO, Seki Y, Iwaki T, Hashioka S, Kanba S. Inhibitory effect of aripiprazole on interferon-gamma-induced microglial activation via intracellular Ca(2+) regulation in vitro. *J. Neurochem.* 2008; 106(2): 815-825
- ##### 2. 学会発表
1. 松崎尊信, 藤見恒平, 佐々木健介, 松井幸子, 関田敦子, 谷崎弓裕, 鈴木諭, 清原裕, 岩城徹. 耐糖能異常とアルツハイマー病の病理学的関連. 第49回日本神経病理学会. 東京, 2008. 5. 20-5. 22
  2. 本田裕之, 皆木晴彦, 柴野智子, 佐々木健介, 岩城徹. プリオン病の病理形態学および蛋白生化学的定量解析の試み. 第49回日本神経病理学会. 東京, 2008. 5. 20-5. 22
  3. 皆木晴彦, 佐々木健介, 岩城徹. プリオン蛋白オリゴマーの簡便な検出法. 第49回日本神経病理学会. 東京, 2008. 5. 20-5. 22
  4. 佐々木健介, 皆木晴彦, 岩城徹. プリオン病モデルマウスにおける重合プリオン蛋白形成の経時的解析. 第49回日本神経病理学会. 東京, 2008. 5. 20-5. 22
  5. 鈴木諭, 荒川健次, 古谷博和, 岩城明子, 藤井直樹, 岩城徹. 新規proteolipid protein遺伝子点変異Tyr262Cysを伴う成人発症家族性瘧性対麻痺2型の1剖検例. 第49回日本神経病理学会. 東京, 2008. 5. 20-5. 22
  6. 松岡健, 鈴木諭, 中村憲道, 藤井直樹, 岩城徹. 多数の好塩基性封入体を認めた孤発性成人発症筋萎縮性側索硬化症の1剖検例. 第49回日本神経病理学会. 東京,

2008. 5. 20- 5. 22

7. 関善弘, 鈴木諭, 岩城徹. SV40 large T 抗原遺伝子導入によるラット・ミクログリア細胞株の樹立. 第49回日本神経病理学会. 東京, 2008. 5. 20- 5. 22

#### H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし



厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）  
アルツハイマー病の危険因子の解明と予防に関する大規模ゲノム疫学研究  
分担研究報告

アルツハイマー病の遺伝的危険因子の解明に関する研究

研究分担者 中別府 雄作  
(九州大学生体防御医学研究所脳機能制御学分野・教授)

**研究要旨** マイクロアレイ解析により、認知症の発症・進展に関連する遺伝子群を同定する目的で、久山町の剖検脳からマイクロアレイ解析に適したRNAサンプルを調製する方法と保存法を確立した。

**A. 研究目的**

認知症例および非認知症例の剖検脳の新鮮組織からmRNAを抽出してマイクロアレイ解析を行い、アルツハイマー病（AD）をはじめとする認知症の発症・進展に関連する遺伝子群を同定し、ゲノムワイド研究の成績と対比し、認知症発症のメカニズムを解明することを目的とする。

**B. 研究方法**

本年度は、剖検脳を用いた研究を実施するために、九州大学大学院・医学研究院の倫理審査委員会の承認を得るとともに、剖検脳組織からのRNA抽出法の確立を目指した。さらに、剖検までの死後時間の経過がRNAの品質及びマイクロアレイ解析に及ぼす影響をマウスの組織を用いて検討した。

**C. 研究結果**

1) RNA抽出法の確立：脳組織をアイソジェン（ニッポンジーン）に溶解後、クロロホルム抽出後、RNA、DNA、Protein画分を分取する。RNA画分はさらにRNeasy

（Quiagen）によりDNAを除去し、超低温槽（-80度）に凍結保存する。DNAおよびprotein画分も必要に応じて精製し、超低温槽（-80度）に凍結保存する。

- 2) RNAの定量と品質検定：マイクロアレイ解析に適した品質のRNAサンプルであることを確認するために、以下の方法で、定量とRNA品質を検定する。(1)  $A260 = 1, 40 \mu\text{g RNA/ml}$ , (2)  $A260/A280 > 2$ , (3) BioanalyzerによるrRNA 28S/18S比  $> 2$ 。
- 3) 死後時間の検討：死後24時間まで4度に保存された脳組織から調製したRNAの品質は新鮮脳からのものと同等であったが、48時間後には28S/18S比が2以下となりRNAの分解が認められた。
- 4) 用いるマイクロアレイ：十分なアノテーションが得られた28,869遺伝子をバーシ、かつ構成するエクソン全体に対応するプローブを固定化しているGene1.0 ST アレイ（Affymetrix）を用いる。

**D. 考察**

剖検脳の組織片が大きいので実際にRNA等を調製する際には凍結下に迅速に組織を細断し、アイソジェンに可溶化する必要がある。剖検までの死後時間と遺体保存温度がRNA品質およびマイクロアレイの結果に及ぼす影響を詳細に検討し、問題のないサンプルを用いてマイクロアレイ解析を行う必要がある。

#### E. 結論

剖検脳からマイクロアレイ解析に適したRNAサンプルを調製する方法と保存法を確立した。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kajitani K, Nomaru H, Ifuku M, Yutsudo N, Dan Y, Miura T, Tsuchimoto D, Sakumi K, Kadoya T, Horie H, Poirier F, Noda M, Nakabeppu Y. (2008) Galectin-1 promotes basal and kainate-induced proliferation of neural progenitors in the dentate gyrus of adult mouse hippocampus. *Cell Death Differ*, Nov 14. [Epub ahead of print].

##### 2. 学会発表

1. Nomaru H, Kajitani K, Ifuku M, Kadoya T, Horie H, Poirier H, Noda M, Sakumi K, Nakabeppu Y. Galectin-1 expressed in astrocytes promotes neurogenesis in the mouse hippocampus after brain damage caused by excitotoxicity. 第31回日本神経科学学会大会, 2008. 07. 09.

#### H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）  
アルツハイマー病の危険因子の解明と予防に関する大規模ゲノム疫学研究  
分担研究報告

APOE遺伝子多型の判定法に関する研究

研究分担者 久保 充明

(理化学研究所ゲノム医科学研究センター基盤技術開発グループ・グループディレクター)

**研究要旨** APOE遺伝子多型は、これまでに報告されたアルツハイマー病の遺伝要因のうち、唯一多くの研究で再現性を持って認められる強力な遺伝的危険因子である。本研究では、APOE2/E3/E4を判定するAPOE遺伝子上の2つのSNPについて、インベーター法を応用したSNP判定法を開発した。本法は、剖検サンプルなどの高度に分解されたDNA試料においてもSNPの判定が可能であり、久山町研究における蓄積されたサンプルにも応用可能である。

**A. 研究目的**

散発性高齢発症型アルツハイマー病（LOAD）におけるAPOE遺伝子多型は、人種を問わず最強の遺伝的リスクとして確立している。久山町研究においてAPOE遺伝子多型を測定する場合、通常の採血により得られたDNAだけではなく、剖検例から抽出されたDNAを用いてSNPを判定する必要がある。しかし、剖検組織においては、ホルマリンや長期保管等の影響によりDNAが高度に分解し断片化している。通常のSNP判定法では、このような高度に断片化した試料では判定が困難である。そこで、今回我々は、高度に分解した試料においてもAPOE遺伝子多型の判定が可能なSNPタイプング方法を開発した。

**B. 研究方法**

我々が用いているインベーター法を応用し、APOE遺伝子多型の判定法を開発した。具体的には、複数のプライマーを用いてサ

イズの短いPCR産物を作り、その後PCR産物を希釈しインベーター法を実施した。

（倫理面への配慮）

本研究では、一般的に入手可能なハップマップサンプル270例を用いた。

**C. 研究結果**

APOE遺伝子のE2/E3/E4は2SNP（rs429358, rs7412）により判定可能であると報告されている（Hum Mol Genet, 2007）。

この2SNPについて、周辺配列を考慮し、可能な限りサイズの小さいPCR産物が得られるプライマーを設計した。このプライマーセットを用いてPCRを実施したところ、目的のサイズのPCR産物が得られた。



このPCR産物を用いてインベーター反応



を実施したところ、2SNPともに明瞭なクラスターを示しており、容易にSNPの判定が可能であった

#### D. 考察

APOE遺伝子多型は、LOADの確立した遺伝的危険因子である。その遺伝的リスクは強力であり、LOAD発症例の約半数はAPOE\_E4アレルを持つ。また、APOE\_E4アレルを持たない人のLOAD生涯発症確率は20%であるのに対し、E4アレルを持つ人は90%にのぼるとも報告されている。久山町研究における長期追跡調査データを用いてAPOE遺伝子多型との関連を検討することにより、日本人におけるアルツハイマー病の遺伝的危険因子の解明や予防法の開発につながることが期待される。

#### E. 結論

剖検サンプル等の高度に分解された試料においても測定可能な、APOE遺伝子多型の判定方法を開発した。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kubo M, Hata J, Doi Y, Tanizaki Y, Iida M, Kiyohara Y. Secular trends in the incidence of and risk factors for ischemic stroke and its subtypes in Japanese population. *Circulation*. 2008;118:2672-2678.
2. Hosono N, Kubo M, Tsuchiya Y, Sato H, Kitamoto T, Saito S, Ohnishi Y, Nakamura Y. Multiplex PCR-based real-time Invader assay (mPCR-RETINA): a novel SNP-based method for detecting allelic asymmetries within copy number

variation regions. *Hum Mutat*. 2008;29:182-189.

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）  
アルツハイマー病の危険因子の解明と予防に関する大規模ゲノム疫学研究  
分担研究報告

アルツハイマー病と他の認知症の栄養疫学調査・食事に関する研究

研究分担者 城田 知子  
(中村学園大学・客員教授)

**研究要旨** 久山町における老年期認知症の疫学研究は1985年から開始され、ADをはじめ認知症の有病率・発症率が明らかになりつつある。2002年、2007年の健診において実施した自記式食事歴調査法（DHQ）による栄養・食事調査の成績からAD発症に関わる食事性因子を明らかにしていく。本年度は、栄養・食事データの整理に加えて、Reviewsにより食事性因子の知見をまとめた。

#### A. 研究目的

糖尿病やがんなどの生活習慣病等の発症には、長年にわたる食生活、食習慣が関与している。最近ではアルツハイマー病（AD）などの脳の病気にも栄養・食事が関係していることが明らかになりつつある。そこで、2002年に開始された生活習慣病のゲノム疫学研究による住民健診時に実施した自記

式食事歴質問表（Dietary History Questionnaire: DHQ）を用いた調査と2007年に実施した同調査の成績を用いてAD発症に関わる食事性因子を明らかにする。食事性因子に関しては、Reviewsにより最近の知見をまとめる。

#### B. 研究方法

久山町における2002年、2007年（一部、2008年）に実施した住民健診時にDHQを用いて食習慣の調査を実施した。調査は、事前に役場を通じて質問表を配布し、健診当

日に持参していただき、管理栄養士や調査の訓練を受けた学生が全員を面接のうえフードモデル等を用いて記入内容の確認と記入の援助を行った。栄養素等摂取量の計算は、五訂日本食品標準成分表を用い、さらに、食習慣、食品群別摂取量等の計算、集計等は、SPSS10.0Jを用いた。

#### C. 研究結果

食事性因子について、第1には野菜・果物の摂取によるADの予防、第2は魚介類の摂取によるADの予防で魚油に含まれるn-3系多価不飽和脂肪酸の関与、第3は、エネルギーの摂取過剰、脂質・糖の摂取過剰、糖尿病、高インスリン血症との関連、第4は、これらはサプリメントでは効果がなく、食事として摂取することが重要である知見であった。これらを踏まえ、食事調査の成績から、エネルギー摂取量を含めて16の因子（総脂質、動物性脂質、魚由来脂質、ビタミンC、ビタミンE、飽和脂肪酸、一価不

飽和脂肪酸, 多価不飽和脂肪酸, EPA, DHA, アルコール, 魚介類, 果実類, 野菜類, 酒類) の摂取量について性別, 年齢階級別に集計・検討した.

#### D. 考察

Reviewsによって抽出した食事性因子について, DHQにより得られた栄養・食事調査の成績から性別, 年齢階級別に整理した. 各因子の摂取量は, 個人間格差も大きく個々についての解析が必要である. とくに, エネルギー摂取量については, 個人ごとに求めた推定平均必要量との比較が必須であり, 脂質, 脂肪酸 (SFA, MUFA, PUFA) については国が示す目標量等と比較しAD発症との関連を検討していくことが重要である. また, 食品群別摂取量については, ライフスタイルも視野に入れて「食事摂取パターン」の検討が必要と思われる.

#### E. 結論

DHQにより得られたデータについて, AD発症に関わる食事性因子 (16因子) の基本統計を整理した. 個々の因子について分布等の詳細な検討に加え, 食べ方 (食行動) の総合的な検討が必要であると思われる.

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Asano K, Kubo M, Yonemoto K, Doi Y, Ninomiya T, Tanizaki Y, Arima H, Shirota T, Matsumoto T, Iida M, Kiyohara Y. Impact of serum total cholesterol on the incidence of gastric cancer in a population-based prospective study: the Hisayama Study :Int J Ca

ncer 122: 909-914, 2008

2. Shimazaki Y, Shirota T, Uchida K, Yonemoto K, Kiyohara Y, Iida M, Saito T, Yamashita Y. Intake of dairy products and periodontal disease: the Hisayama Study: J Periodontol 79: 131-137, 2008

3. 友納美恵子, 城田知子, 内田和宏, 今村裕行, 佐々木 敏, 清原 裕. 地域住宅高齢者の栄養状態に及ぼす要因について: 久山町における栄養疫学研究: 中村学園大学・中村学園大学短期大学部研究紀要 40: 181-187, 2008

##### 2. 学会発表

1. 友納美恵子, 城田知子, 内田和宏, 今村裕行, 佐々木敏, 清原裕. 地域在宅高齢者の主食パタンからみた栄養素等摂取状況, 第55回日本栄養改善学会, 神奈川, 2008.9. p153

#### H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）  
アルツハイマー病の危険因子の解明と予防に関する大規模ゲノム疫学研究  
分担研究報告

血清の脳由来神経栄養因子の血清BDNFのバイオマーカーとしての役割と  
ライフスタイル関連要因の検討：特に身体活動・運動との観点から

研究分担者 熊谷 秋三  
(九州大学健康科学センター・教授)

**研究要旨** 研究分担者としての平成20年度の役割は、久山研究でこれまで報告されている研究成果の成果を踏まえて、アルツハイマー病を含む認知症発症への身体活動および運動の影響に関する疫学的前向き研究のデータ解析および運動によるアルツハイマー病予防のための介入試験の準備をすることであった。その目的達成に加え、地域での認知症および認知機能低下の予防に関する包括的なプログラムの検索やモデル化を行うと共に研究フィールドの確保を行った。さらに、認知機能低下に関わる感度の良い調査項目の精選も行った。また、認知機能のバイオマーカーとしての脳由来神経栄養因子(BDNF:brain-derived neurotrophic factor)と身体活動との関連性を検討し、一般男性健常者において両指標との間に負の関連性を報告した(Neuroscience Letter, 2008, 437:29-32.)。この点に関しては、性差の確認のために女性においても検討を行うと共に、一過性の運動(疲労困憊運動と低・中運動強度での30分間運動)負荷試験に伴う血液中(血清・血漿)のBDNFの動態に関する調査研究を行った。

#### A. 研究目的

近年、生活習慣病やうつ、認知症の増加が問題となっている。一方で運動にはこれらの予防および改善効果があることも数多く報告されている。

脳由来神経栄養因子(brain-derived neurotrophic factor: BDNF)は、神経細胞の発生や成長、維持、修復に働き、さらには認知・学習機能やうつの改善、摂食行動の抑制、糖脂質代謝の亢進においても重要な働きをしている蛋白質である。近年、このBDNFの発現量がうつ病やアルツハイマー病の患者の脳や血液で減少していることが報告されている(1, 2, 3, 4)。

一方動物実験では、運動により海馬でのBDNF発現の増加を介してうつ関連行動や学習・記憶が改善することや、BDNFを投与することで糖代謝が改善するが報告されており(5)、ヒトでも運動がもたらす様々な効果をBDNFが仲介しているのではないかと考えられる。

BDNFは中枢神経系に多く存在しているが、血液にも存在している。血中のBDNFには、血小板の中に貯蔵されているものと血漿中にフリーの状態が存在するものの2種類があり、血清BDNFは両者を、血漿BDNFは後者のみを示していると考えられている。これまでに、著者らは安静時



の血清BDNF水準は日常的に運動を行っている競技者で低下していること、さらに身体活動量と血清BDNF水準との間に負の相関関係がみられることを明らかにした(6)が、本研究ではさらに様々な強度の一過性の運動の運動に対する血清及び血漿BDNFの応答を明らかにすることを目的とした。日常的な運動は様々な適応をもたらすことから、日常的に運動を行っている者と行っていない者とは一過性の運動に対するBDNFの反応は異なると考えられる。そこで、本研究では運動に対する血清及び血漿BDNF水準の応答を運動習慣の有無という観点から検討を加えた。

## B. 研究方法

健康な20歳代の女性16名(非運動者8名、競技者8名)を対象とした。非運動者の定義は、日常的な運動を最低1年は行っていないこと、競技者は、3年以上前から週3回以上の運動を競技として行っていることとした。日常的な身体活動量を確認するために、実験開始前に活動量計(Lifecorder, スズケン)を1週間着用させた。

運動前後の血中BDNFの変化は3種類の運動で検討した。まず、多段階の運動負荷試験を疲労困憊まで行い、最大酸素摂取量( $VO_{2max}$ )を求めた(オールアウト)。次に、求めた最大酸素摂取量の40%(低強度)あるいは60%(中強度)に相当する負荷で30分間の運動を行った。40%および60% $VO_{2max}$ の運動は無作為に割り付け、クロスオーバーで行い、各試行間は1週間とした。いずれの運動も自転車エルゴメーター(モナーク社製 ERGOMEDIC 818E)で行い、それぞれ安静時、運動終了直後、運動終了

30分及び60分後に採血を行い、血漿と血清を分離し-80℃で保存した。血清および血漿BDNFの濃度はenzyme-linked immunoassay (ELISA) kit (Promega, Madison, WI)を用いて測定した。統計解析にはSPSS 13.0を用いた。非運動者と競技者の特性は、対応のない学生t検定により比較を行った。一過性の運動によるBDNFの変化量の比較には繰り返しのある一元配置の分散分析を用い有意な変化が観察された場合にはダネットの多重比較検定を行った。P<0.05を統計学的に有意とした。

(倫理面への配慮)

この研究は九州大学健康科学センターの倫理委員会の承認のもとで行われ、対象者には事前にインフォームドコンセントを行い、同意を得て行った。

## C. 研究結果

表1に対象者の特性を示す。次に一過性の運動による血清BDNF水準の変化を図1に示す。結果はいずれも安静時からの変化量で示した。血清BDNFはオールアウト運動では、非運動者、競技者ともに運動直後に有意に増加した(A)。運動終了後、血清BDNFは減少し、競技者では安静時の水準を下回った(A)。中強度の運動でも非運動者、競技者ともに運動直後に血清BDNFは増加し、その後安静時の水準まで回復した(B)。低強度運動ではいずれの群でも血清BDNF水準は変化しなかった(C)。血漿BDNFに関してはオールアウト運動で競技者のみ運動終了直後に増加したが(D)、その他の強度では血漿BDNF水準の変化は見られなかった(E, F)。

#### D. 考察

一過性の運動に対する血清BDNF水準の変化には強度依存性があり、中等度以上の運動で運動直後に増加していることを明らかにした。また日常的な運動習慣が、特に疲労困憊まで至るような高強度の運動において、運動終了後の血清BDNF水準の動態に影響を及ぼすことも確認した。一過性の運動による血液中のBDNFの増加がどの組織に由来し、増加が何に働いているのかは不明である。しかし運動により全身を循環するBDNFが増加することは、組織で利用できるBDNFの増加につながり、それが運動による認知機能やうつ、代謝の改善に寄与しているのかもしれない。

非運動者の血清BDNF水準は、高強度の運動後に安静時の水準に戻ったのに対し、競技者では安静時の水準よりも低下した。さらに、競技者のみで高強度運動直後に血漿BDNFが増加した。これらの結果は、競技者の方が運動による血小板からのBDNFの放出と、組織での利用が多いことを反映している可能性がある。競技者は非運動者よりも運動中や運動直後に血中BDNFを組織で迅速に利用する能力が高いのかもしれない。

#### E. 結論

中等度以上の急性運動負荷では血清BDNF水準は一時的に増加した。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 船越弥生, 岸本裕代, 山津幸司, 佐々木悠, 熊谷秋三: 2型糖尿病患者における生活行動の特性把握のための調査研究. *ブラクテイス*, 2008, 25:318-327.

2. 畑山知子, 本城(中川)薫子, 平野(小原)裕子, 白浜雅司, 熊谷秋三: 農村地域住民の精神的健康度と首尾一貫感覚. *厚生*の指標, 2008, 55:29-34.

3. Nofujia, Y., Suwa, M., Moriyama, Y., Nakano, H., Ichimiya, A., Nishichid, R., Haruka Sasaki, H., Radak, Z., and Kumagai, S.: Decreased serum brain-derived neurotrophic factor in trained men. *Neuroscience Letter*, 2008, 437:29-32.

##### 2. 学会発表

1. Nishizaki, Y., Hatayama, T., Nagano, M., and Kumagai, S.: The predictors for the onset of certification of long-term care insurance among community-dwelling elderly people. The 13rd East Asia Society of Exercise and Sport Science, August 1, Korea.
2. Nofuji, Y., Suwa, M., Moriyama, Y., Ichimiya, A., Nishichi, R., Sasaki, H., and Kumagai, S.: Decreased platelet and brain-derived neurotrophic factor in Japanese trained men. The 13rd East Asia Society of Exercise and Sport Science, August 1, Korea.
3. Yamamoto, K., Oishi, Y., and Kumagai, S.: Expression of heat shock protein and apoptotic process in hypertrophied skeletal muscle of aged rat. The 13rd East Asia Society of Exercise and Sport Science, August 1, Korea.
4. Sakita, M., Takasugi, S., and Kumagai, S.: Effects of Tibialis Anterior and Soleus EMG activities applying va

- brations of the malleolus during sud-  
den feet translations. 10th Internat-  
ional Congress of the Asian Cofedera-  
tion for Physical Therapy. Makuhari,  
Chiba.
5. 崎田正博, 高杉紳一郎, 熊谷秋三: 足関節, 下腿筋筋紡錘振動負荷が足部部外乱による姿勢反応の足圧中心および重心偏位に及ぼす影響. 第63回日本体力医学会年次学術集会, 別府市, 2008年9月18-20日
  6. 長野真弓, 佐々木悠, 熊谷秋三: 新規糖尿病患者における全身持久力と肝機能指標との関連性. 第63回日本体力医学会年次学術集会, 別府市, 2008年9月18-20日
  7. 峰 悠子, 野藤 悠, 齊藤誠二, 村木里志, 熊谷秋三: 足部足趾背屈機能を目的とした靴下の歩行分析による評価. 第63回日本体力医学会年次学術集会, 別府市, 2008年9月18-20日
  8. 畑山知子, 西崎佳子, 長野真弓, 熊谷秋三: 地域在宅高齢者の介護認定に関連する要因. 第63回日本体力医学会年次学術集会, 別府市, 2008年9月18-20日
  9. 高柳茂美, 畑山知子, 永野 純, 熊谷秋三: ボディートークのからだほぐしが免疫能および感情に及ぼす一過性の影響. 第1回日本統合医療学会総会, 福岡市, 2008年12月6-7日
  10. 畑山知子, 長野真弓, 畝 博, 井出幸二郎, 熊谷秋三: 域高齢者において種々の体力指標が3年後の精神的健康に与える影響. 第10回日本健康支援学会年次学術集会, 福岡市, 2009年2月20-21日
  11. 峰 悠子, 村木里志, 熊谷秋三: 足部・足趾伸展機能を付加した機能性靴下の運動学および感性学的評価. 第10回日本健康支援学会年次学術集会, 福岡市, 2009年2月20-21日
  12. 野藤 悠, 諏訪雅貴, 佐々木悠, 熊谷秋三: 一過性の運動による血液中の脳由来神経栄養因子水準の動態. 第10回日本健康支援学会年次学術集会, 福岡市, 2009年2月20-21日
  13. 西地令子, 東 治道, 鷺尾昌一, 諏訪雅貴, 熊谷秋三: 血液透析患者における精神的健康度と血清脳由来神経栄養因子との関連性. 第10回日本健康支援学会年次学術集会, 福岡市, 2009年2月20-21日
  14. Kumagai, S.: Introduction of Exercise Epidemiology; Why Is Physical Fitness or Physical Activity a Good Predictor of Health Outcome? The 13th East Asia Society of Exercise and Sport Science, August 1, Korea.
  15. 熊谷秋三: シンポジウム (座長): 内臓脂肪・アディポサイトカインと運動. 第16回日本運動生理学会大会, 奈良市, 2008年8月2-3日
  16. 熊谷秋三: シンポジウム (シンポジスト): オーバービュー; 疫学から介入, 機構まで. 第16回日本運動生理学会大会, 奈良市, 2008年8月2-3日
- H. 知的所有権の取得状況**
1. 特許取得 なし
  2. 実用新案登録 なし
- 研究協力者  
佐々木 悠 (九州大学健康科学センター・学術協力研究員)

野藤 悠 (九州大学人間環境学府博士課程・大学院生)

諏訪 雅貴 (東北工業大学ライフデザイン学部・講師)



表1 対象者の特性

	非運動者	競技者	
年齢 (歳)	22.8±1.9	21.6±3.6	
身長 (cm)	159.2±6.0	162.9±6.8	
体重 (kg)	50.8±6.7	54.5±7.5	
体脂肪率 (%)	23.6±5.9	21.8±2.0	
最大酸素摂取量 (ml/kg/分)	34.5±4.3	42.3±5.0	*
総エネルギー消費量 (kcal/日)	1799.6±189.3	2089.7±201.2	*
運動による消費量 (kcal/日)	266.3±90.5	470.5±152.8	*
歩数 (歩/日)	10889.5±2949.8	14960.8±4117.8	*
平均値±標準偏差	*; p<0.05 vs 安静状態		

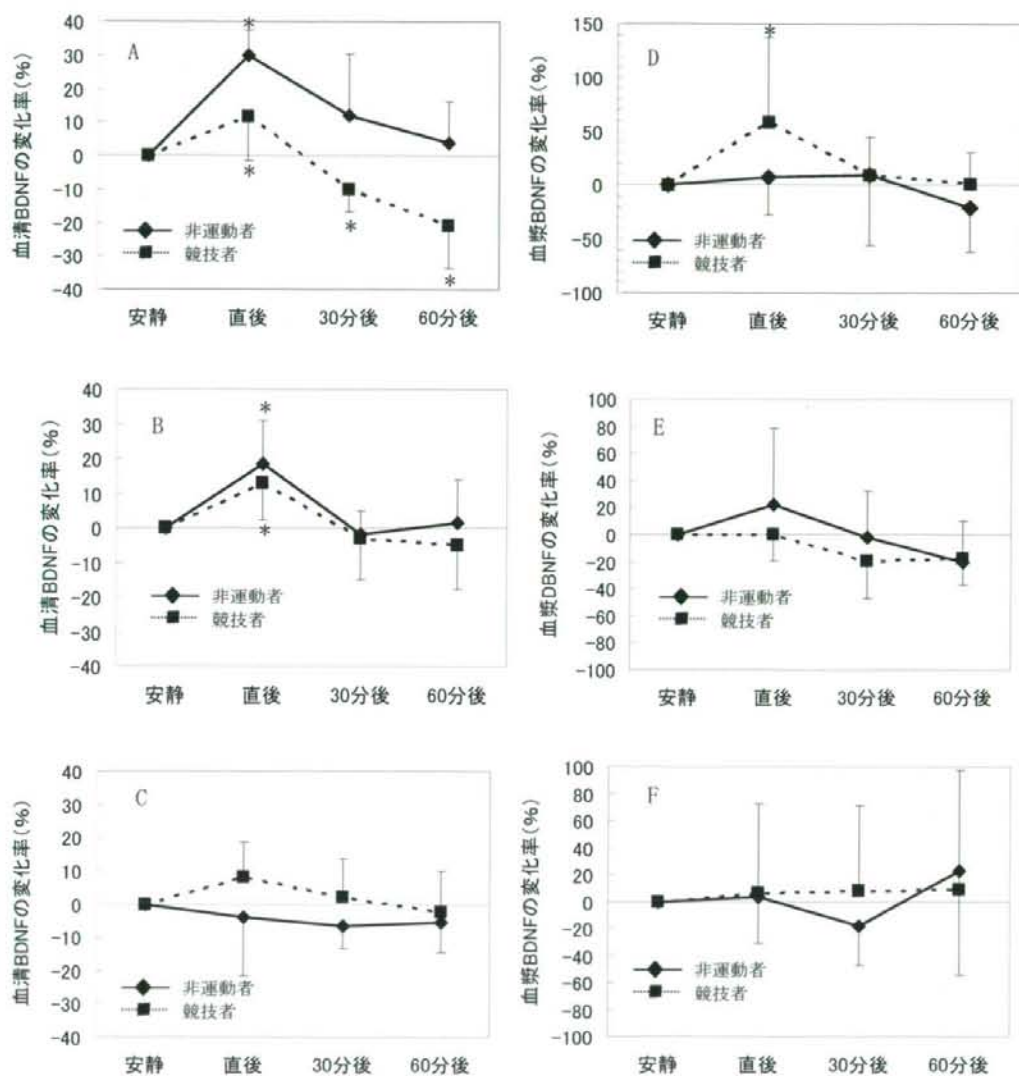


図1. 安静時に対する血清 (A, B, C) 及び血漿 (D, E, F) BDNF水準の変化量.  
 A, D: オールアウト. B, E: 中等度. C, F: 低強度.  
 平均値±標準偏差 \*;  $p < 0.05$  vs 安静状態

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
熊谷秋三, 森山善彦	(第3章) 健康と運動の疫学・各論と対人支援：介護予防B 認知機能障害と認知症	熊谷秋三	健康と運動の疫学入門- エビデンスに基づくヘルスプロモーションの展開 -	医学出版	東京	2008年	172-180

## 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
Fujimi K, Sasaki K, Noda K, Wakisaka Y, Tanizaki Y, Matsui Y, Sekita A, Iida M, Kiyohara Y, Kanba S, Iwaki T	Clinicopathological outline of dementia with Lewy bodies applying the revised criteria: The Hisayama study.	Brain Pathol	18	317-325,	2008
Matsui Y, Tanizaki Y, Arima H, Yonemoto K, Doi Y, Ninomiya T, Sasaki K, Iida M, Iwaki T, Kanba S, Kiyohara Y	Incidence and survival of dementia in a general population of Japanese elderly: the Hisayama Study.	J Neurol Neuro Psychiatry	80	in press	2009
Arima H, Kubo M, Yonemoto K, Doi Y, Ninomiya T, Tanizaki Y, Hata J, Matsumura K, Iida M, Kiyohara Y	High-sensitivity C-reactive protein and coronary heart disease in a general population of Japanese: the Hisayama study.	Arterioscler Thromb Vasc Biol	28	1385-1391	2008
Maebuchi D, Arima H, Ninomiya T, Yonemoto K, Kubo M, Doi Y, Tanizaki Y, Matsumura K, Iida M, Kiyohara Y	Arterial stiffness and QT interval prolongation in a general population: the Hisayama Study.	Hypertens Res	31	1339-1345	2008
Doi Y, Kubo M, Yonemoto K, Ninomiya T, Iwase M, Arima H, Hata J, Tanizaki Y, Iida M, Kiyohara Y	Fasting plasma glucose cutoff for diagnosis of diabetes in a Japanese population.	J Clin Endocrinol Metab	93	3425-3429	2008

Kubo M, Hata J, Doi Y, Tanizaki Y, Iida M, Kiyohara Y	Secular trends in the incidence of and risk factors for ischemic stroke and its subtypes in Japanese population.	Circulation.	118	2672-2678	2008
Kato T, Mizoguchi Y, Monji A, Horikawa H, Suzuki SO, Seki Y, Iwaki T, Hashioka S, Kanba S	Inhibitory effects of aripiprazole on interferon-gamma-induced microglial activation via intracellular Ca(2+) regulation in vitro.	J Neurochem	106	815-825	2008
Kajitani, K, Nomaru, H, Ifuku, M, Yutsudo, N, Dan, Y, Miura, T, Tsuchimoto, D, Sakumi, K, Kadoya, T, Horie, H, Poirier, F, Noda, M and Nakabeppu, Y	Galectin-1 promotes basal and kainate-induced proliferation of neural progenitors in the dentate gyrus of adult mouse hippocampus.	Cell Death Differ	in press		Nov 14, 2008 [Epub ahead of print].
Hosono N, Kubo M, Tsuchiya Y, Sato H, Kitamoto T, Saito S, Ohnishi Y, Nakamura Y	Multiplex PCR-based real-time Invader assay (mPCR-RETINA): a novel SNP-based method for detecting allelic asymmetries within copy number variation regions.	Hum Mutat	29	182-189	2008
Asano K, Kubo M, Yonemoto K, Doi Y, Ninomiya T, Tanizaki Y, Arima H, Shirota T, Matsumoto T, Iida M, Kiyohara Y	Impact of serum total cholesterol on the incidence of gastric cancer in a population-based prospective study: the Hisayama Study.	Int J Cancer	122	909-914	2008
Shimazaki Y, Shirota T, Uchida K, Yonemoto K, Kiyohara Y, Iida M, Saito T, Yamashita Y	Intake of dairy products and periodontal disease: the Hisayama Study.	J Periodontol	79	131-137	2008
友納美恵子, 城田知子, 内田和宏, 今村裕行, 佐々木 敏, 清原 裕	地域住宅高齢者の栄養状態に及ぼす要因について: 久山町における栄養疫学研究	中村学園大学・中村学園大学短期大学部研究紀要	40	181-187	2008
船越弥生, 岸本裕代, 山津幸司, 佐々木悠, 熊谷秋三	2型糖尿病患者における生活行動の特性把握のための調査研究	プラクティス	25	318-327	2008