

(3) 研究方法：

血液を通常の方法で約7ml採取します。採血にともなう身体の危険性はほとんどありません。血液の中のDNAという物質を取り出し、遺伝子の型が他の人とどのように違うかを調べアルツハイマー病と関連があるかもしれない遺伝子を探し出します。

(4) 研究計画などの開示：

あなたが希望されるならば、この研究の計画の内容を見ることができます。また、遺伝子を調べる方法などに関する資料が必要な場合は用意いたします。

(5) 試料提供者にもたらされる利益および不利益

この研究に参加されても、あなた自身の治療方針が大きく変わることはありません。ただ、あなたの遺伝子に原因となる変異が見つかった場合は、血縁者が同じ遺伝体質をもっているかどうかを同様の検査によって確かめやすくなります。

一方、あなたが受ける不利益としては、あなた自身の遺伝子解析結果が外部に漏れた場合、社会における不当な差別などにつながる可能性が考えられます。しかし、この研究では多くの方々を対象として、集団としての分析を行うのでその恐れはまずないと考えられます。それでも、万が一の漏洩による不利益を防ぐため、遺伝子を調べたあなたやご家族の機密保持については、機密保持のための責任者を置くなどの配慮をしています。

なお、研究成果を公表する際には、個人が特定される形では公表しませんので、それにより不利益を受けることはありません。

(6) 個人情報の保護

遺伝子の研究結果は、さまざまな問題を引き起こす可能性があるため、他の人に漏れないように、取り扱いを慎重に行います。あなたの血液などの試料や診療情報は、解析する前に診療録や試料の整理簿から、住所、氏名、生年月日などを削り、代わりに新しい符号を付けます。あなたとこの符号を結びつける対応表は九州大学病院医療情報部において厳重に保管いたします。このようにすることによって、あなたの遺伝子の解析結果は、解析を行う研究者にも、あなたのものであるとわからなくなります。ただし、遺伝子解析の結果についてあなたに説明する場合など、必要な場合には、九州大学病院医療情報部においてこの符号を元の氏名などに戻す操作を行い、結果をあなたにお知らせすることが可能になります。

(7) 遺伝子解析結果の開示

この研究に許可を与えた代諾者が遺伝情報の開示を希望される場合は、本研究の研究員で構成される班会議にて審議を行い、妥当と判断された場合はその求めに応じます。代諾者の承諾や依頼がない場合には、たとえ親戚に対しても結果を告げることはいたしません。ただし、当該遺伝情報が、提供者の健康状態等を評価するための情報としての精度や確実性に欠けており、開示することにより、かえって提供者又は第三者の生命、身体、財産その他の権利利益を害するおそれがあると考えられる場合には、遺伝情報は開示しません。

(8) 研究結果の公表

あなたの協力によって得られた研究の成果は、提供者本人やその家族の氏名などが明らかにならないようにした上で、学会発表や学術雑誌およびデータベースなどで公に発表されることがあります。

(9) 研究から生じる知的財産権の帰属

遺伝子解析研究の結果として特許権などが生じる可能性があります、その権利は国、研究機関、民間企業を含む共同研究機関および研究遂行者などに属し、あなたには属しません。

(10) 遺伝子解析研究終了後の試料などの取り扱いの方針

あなたの血液などの試料は、原則として本研究のために用いさせていただきます。しかし、もし、あなたの同意が得られるならば、将来の研究のための貴重な資源として、研究終了後も保管させていただきますと思います。この場合も、(4)で説明した方法により、解析を行う研究者にもどこの誰の試料かがわからないようにした上で、試料が使い切られるまで保管いたします。

なお、将来、試料を研究に用いる場合は、改めてその研究計画書をヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査専門委員会において承認をうけた上で利用します。

(11) 費用負担に関する事項

ここで行われる遺伝子解析研究に必要な費用は、文部科学省等の研究に対する助成金から出され、あなたが負担することはありません。

(12) 遺伝カウンセリングの体制

九州大学では、あなたやその家族が、病気のことや遺伝子解析研究に対して、不安に思うことや、相談したいことがある場合に備えて、遺伝カウンセリング体制を整えています。あなたはここで、臨床遺伝医療部の医師に相談をすることができます。相談したい時は診療を担当する医師あるいは説明担当者にその旨申し出てください。

平成 年 月 日

お問い合わせ先

〒812-8582 福岡市東区馬出3-1-1
九州大学大学院医学研究院 精神病態医学
担当：門司 晃
電話 092-642-5622

〒811-2501 福岡県粕屋郡久山町大字久原1822-1 ヘルスC&Cセンター内
九州大学大学院医学研究院 環境医学 久山町研究室
担当：小原知之、関田敦子
電話 092-652-3080

(資料 2)

遺伝子解析研究への協力の同意文書

清原 裕 殿

私は遺伝子解析研究（アルツハイマー病に関するゲノム疫学的研究）について、説明文書を用いて説明を受け、その方法、危険性、解析結果のお知らせの方法などについて十分理解しました。ついては、研究協力に同意します。

説明を受け理解した項目

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> 遺伝子の解析を行うこと | <input type="checkbox"/> 遺伝子解析結果の開示 |
| <input type="checkbox"/> 研究協力の任意性と撤回の自由 | <input type="checkbox"/> 研究成果の公表 |
| <input type="checkbox"/> 研究目的 | <input type="checkbox"/> 研究から生じる知的財産権の帰属 |
| <input type="checkbox"/> 研究方法 | <input type="checkbox"/> 費用負担に関する事項 |
| <input type="checkbox"/> 研究計画書などの開示 | <input type="checkbox"/> 遺伝カウンセリングの体制 |
| <input type="checkbox"/> 試料（血液）提供者にもたらされる利益
および不利益 | <input type="checkbox"/> 遺伝子解析研究終了後の試料（血液）の
取り扱いの方針 |
| <input type="checkbox"/> 個人情報の保護 | |

説明を受け理解された方は、1の「はい」または「いいえ」に○をつけてください。

1. 提供する試料が本研究に使用されることに同意します。

はい ・ いいえ

2. 提供する試料の残りを保存し、関連する研究に使用させていただきますか。

はい ・ いいえ

平成_____年_____月_____日

本人氏名 _____

代諾者氏名 _____ (本人との関係) _____

住所 _____

上記の説明を行った者

所属 _____ 氏名 (署名) _____

厚生労働科学研究（認知症対策総合研究事業）
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

耐糖能異常とアルツハイマー病の病理学的変化との関連

分担研究者 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 久山町における病理疫学コホート研究における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半定量的に評価し、老人斑などの病理変化と耐糖能異常との関連について検討した。糖尿病関連因子として、空腹時血糖、75gOGTT 負荷後血糖、空腹時インスリン、HOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance) とアルツハイマー病の病理所見との関連を統計学的に解析し、耐糖能異常、特にインスリン抵抗性が主に老人斑の形成に関与することを明らかにした (HOMA-IR の老人斑の有無に対するオッズ比 2.03、95%信頼区間 1.14-3.60、 $p=0.02$ 。性、年齢、収縮期血圧、コレステロール、BMI、喫煙、運動調整)。さらに APOE ϵ 4 による層別解析の結果、APOE ϵ 4 と負荷後血糖が高い群では老人斑のオッズ比が相乗的に高くなることを見出した。

A. 研究目的

生活習慣病関連因子が認知症の発症にどのような影響を及ぼしているかを明らかにすることを目的としている。糖尿病のアルツハイマー病に対する相対危険度は久山町研究 (2.18 倍、1995 年)、ロッテルダム研究 (1.9 倍、1999 年)、ホノルルアジアエイジング研究 (1.8 倍、2002 年) で、およそ 2 倍前後という結果が得られている。一方、糖尿病とアルツハイマー病の病理の関連に関する報告は少ない。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し、その病態機序の関連を明らかにすることが重要である。

B. 研究方法

1998 年 10 月 1 日から 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 (解剖率: 73%)。そのうち、1988 年の健診を受診し、75gOGTT を施行した 135 名を対象とした。これによって糖負荷後の血糖を反映させることが可能となる。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蛋白免疫染色を行

った。アルツハイマー病の病理学的変化は、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。糖尿病および耐糖能異常の診断は、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。糖尿病関連因子として、空腹時血糖、75gOGTT 負荷後血糖、空腹時インスリン、HOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance、インスリン抵抗性指標) とアルツハイマー病の病理との関連を統計学的に解析した。解析の際の調整因子として、性、年齢、総コレステロール、BMI、収縮期血圧、喫煙、運動を用いた。全ての症例において遺伝子解析のための informed consent が得られており、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 の遺伝子多型を直接シーケンス法にて決定し、APOE ϵ 4 による層別解析も行った。

C. 研究結果

血糖値、インスリン、HOMA-IR の CERAD 別平均値を性、年齢調整をして共分散分析 (ANCOVA) をした結果を表 1 に示す ($\dagger P<0.10$, $*P<0.05$ vs none)。空腹時血糖については平均値でみて none に比べると上昇している

が、有意でなかった。糖負荷後血糖については、frequent でやや下がっているが、none と比較して、sparse でマージナル、moderate で有意に上昇していた。空腹時インスリンや HOMA-IR でも、none と比較して、sparse で有意に上昇、frequent でもマージナルに上昇していた。しかしこの解析では、4 階級に分けた場合、トレンドの p 値はどの因子でも有意でなかった。

	none	sparse	moderate	frequent
空腹時血糖	102.8	108.3	111.1	106.3
糖負荷後血糖	129.4	162.8†	172.1*	156.6
空腹時インスリン	4.6	6.1*	5.2	5.6†
HOMA-IR	1.2	1.6*	1.4	1.4†

そこで none 対 sparse、moderate、frequent と老人斑の有無の 2 段階に分けてみると、糖負荷後血糖、空腹時インスリン、HOMA-IR で有意な関連を認めた (表 2. ロジスティック解析；性、年齢、収縮期血圧、コレステロール、BMI、喫煙、運動調整)。

	オッズ比	P 値
空腹時血糖	1.39	0.18
糖負荷後血糖	1.66	0.04
空腹時インスリン	1.94	0.03
HOMA-IR	2.03	0.02

各因子について、APOE ε 4 による層別解析を行った。APOE ε 4 キャリアはすべてヘテロで 19.4% であり、糖負荷後血糖の高い群、低い群、APOE ε 4 のあり、なしで 4 群に分け、血糖が低くかつ APOE ε 4 が無い群の老人斑有に対するオッズ比を 1 として解析すると、APOE ε 4 と負荷後血糖が高い群でオッズ比

が相乗的に高い結果が得られた (図 1)。

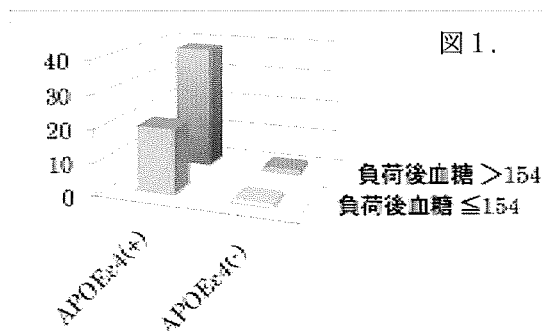


図 1.

一方、耐糖能異常と神経原線維変化との関連について、Braak ステージ別に分けて得られた平均値が none と比較して上昇がみられたのは、糖負荷後血糖について Braak stage I, II の部分だけで、全体として、有意に上昇したところはなかった (表 3. †P<0.10)。

	0	I, II	III, IV	V, VI
空腹時血糖	102.4	110.3	104.6	108.4
糖負荷後血糖	126.4	166.4†	151.4	152.3
空腹時インスリン	5.1	5.0	5.2	5.7
HOMA-IR	1.3	1.4	1.3	1.5

D. 考察

昨年度の研究成果との違いは 1988 年の健診を受診し、75gOGTT を施行した 135 名を対象としたことにより、耐糖能異常との関連をより精細に検討できた。さらに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 の遺伝子多型を決定し、APOE ε 4 と負荷後血糖等の耐糖能異常を示す群で老人斑のオッズ比が相乗的に高くなる事を示す事ができた。

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てきたが、本研究で老人斑の蓄積にインスリン抵抗性が関与する可能性を示唆できたことは意義深いと考える。

耐糖能異常とアルツハイマー病の病変形成の分子機序は今後の課題であるが、仮

説として肥満からインスリン抵抗性、耐糖能異常、糖尿病という一連の流れと、アディポカイン、炎症、高インスリン血症、高血圧、脂質代謝異常、終末糖化産物、血管障害などの要因が密接に関連して、結果として、 β アミロイド沈着や、脳血管障害を引き起こし、記憶障害からMCI、認知症へ至る流れが示されている (Luchsinger JA, Gustafson DR. 2009)。

今後の課題として、脂質代謝異常がアルツハイマー病発症の危険因子になるという報告もある。検診で総コレステロール以外にも、HDL-C、TGなどの脂質関連の項目を正確に測定しており、本年度と同様の統計学的解析法にて脂質代謝異常とアルツハイマー病病変の関連を検討する計画である。

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、生活習慣病関連因子である耐糖能異常がアルツハイマー病の病理所見のうち、老人斑の形成を通して、アルツハイマー病の病態に関与している可能性があり、これらに対する介入により、アルツハイマー病の発症を軽減できることが期待される。

[参考文献]

Luchsinger JA, Gustafson DR. Adiposity, type 2 diabetes, and Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis.* 2009; 16 (4); 693-704

G. 研究発表

1. 論文発表
1. 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.* 2009; 80 (4); 366-370
2. Sasaki K, Minaki H, Iwaki T. Development of oligomeric prion-protein aggregates in a mouse model of prion disease. *J. Pathol.* 2009; 219 (1); 123-130
3. Minaki H, Sasaki K, Honda H, Iwaki T.

Prion protein oligomers in Creutzfeldt-Jakob disease detected by gel-filtration centrifuge columns. *Neuropathology* 2009; 29 (5); 536-542

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50回日本神経病理学会. 高松, 2009. 6. 6
2. 佐々木健介、岩城徹. 多彩なプリオン蛋白沈着パターンを示したMM1+2 孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病の一剖検例. 第50回日本神経病理学会. 高松, 2009. 6. 6
3. 本田裕之、皆木晴彦、柴野智子、佐々木健介、岩城徹. ペントサンポリ硫酸治療症例におけるプリオン蛋白重合度変化の解析. 第50回日本神経病理学会. 高松, 2009. 6. 6
4. 柴野智子、佐々木健介、皆木晴彦、岩城徹. プリオン持続感染細胞株におけるプリオン蛋白重合度の解析. 第50回日本神経病理学会. 高松, 2009. 6. 6
5. 尾本雅俊、柏村陽子、佐野泰照、小笠原淳一、古賀道明、川井元晴、根来清、神田隆、坪井義夫、佐々木健介、鈴木諭、岩城徹. 臨床所見で中枢性低換気を合併した家族性パーキンソン症状を示し、病理学的に TDP-43 陰性のタウオパチーを認めた46歳女性剖検例. 第50回日本神経病理学会. 高松, 2009. 6. 6
6. 松岡健, 鈴木諭, 岩城徹, 吉良潤一. 日本人多発性硬化症剖検症例の特徴: アストロサイトにおける AQP4 発現に注目して. 第21回日本神経免疫学会. 2009. 3. 12

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
3. その他 なし

厚生労働科学研究（認知症対策総合研究事業）
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に関する研究

分担研究者 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 剖検脳からの RNA 抽出と品質判定系を確立し、マイクロアレイ解析を開始した。認知症発症の危険因子となる遺伝子の検証系としてアルツハイマー病モデルマウスを導入した。

A. 研究目的

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マイクロアレイ解析により同定することを目的とする。

B. 研究方法

(1) RNAの品質を定量化し、マイクロアレイ解析の可否の判定基準を検討する。(2) 久山町の剖検脳からRNAを抽出し、その品質を定量化し、マイクロアレイ解析の可否を判定し、マイクロアレイ解析を行う。(4) アルツハイマー病モデル動物を導入する。

(倫理面への配慮)

九州大学ヒトゲノム遺伝子解析倫理審査専門委員会に承認された研究計画（承認番号：第319-00号）に従っている。

C. 研究結果

マイクロアレイ解析に耐えるRNAの品質の定量的判定の指標として Agilent 2100 Bioanalyzer によって求めた RIN (RNA Integrity Number) が有効であることが明らかになった。34例の剖検脳（各4部位）から抽出し

た136のRNAサンプルの品質をAgilent 2100 Bioanalyzerを用いて定量化し、66サンプル（48.5%）がRIN<6.9マイクロアレイ解析に使用可能な品質であることが判明した。4サンプルのRNAを用いてマイクロアレイ解析を行い、遺伝子発現のプリファイリングが可能であると判断した。3つの変異遺伝子のトランスジェニックマウス（3xTgAD）のヘテロ接合体胚を入手し、胚移植により複数のヘテロマウスを得た。得られたマウスの交配により、Non-Tgおよび3xTgADホモマウスを樹立した。

D. 考察

剖検脳からの RNA 抽出は Isogen/RNeasy 法、品質判定は RIN 値により客観的な判定が可能となり、剖検脳標本のうち 50%弱がマイクロアレイ解析が可能と判断された。今後、候補遺伝子が真に認知症の発症・進展に関与することを実験的に検証する系を確立することが急務である。

E. 結論

剖検脳からの RNA 抽出、品質判定、マイクロアレイ解析が可能となった。剖検脳の遺伝子発現

プロファイルの解析から同定されたアルツハイマー病の発症の危険因子となる遺伝子の検証系として 3xTgAD マウスを導入した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Behmanesh, M, Nakabeppu, Y, et al. : ITPase-deficient mice show growth retardation and die before weaning. *Cell Death Differ* 2009; 16: 1315-22.
2. Fujita, K, Nakabeppu, Y, et al. : Hydrogen in drinking water reduces dopaminergic neuronal loss in the 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. *PLoS One* 2009; 4: e7247.

2. 学会発表

1. Yutsudo N, Nakabeppu Y, et al. :

Poor proliferation of neural progenitors in the dentate gyrus of hippocampus in adult fosB-null mice exhibiting increased susceptibility for spontaneous epileptic seizures, 第 32 回日本神経学会大会

2. Zijing S, Nakabeppu Y, et al. : Mitochondrial toxin, 3-nitropropionic acid induces MUTYH-dependent striatal degeneration, 第 32 回日本神経学会大会

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（認知症対策総合研究事業）
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

日本人における脳梗塞と PDE4D 遺伝子多型の関連

分担研究者 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ディレクター)

研究要旨 認知症の大きな発症要因の一つである脳梗塞について、関連遺伝子である PDE4D 遺伝子多型と日本人脳梗塞との関連を検討した。九州大学およびバイオバンクジャパンで収集された 2 つの患者・対照集団を用いて、脳梗塞との関連を 3 つの方法（単 SNP 解析、ハプロタイプ解析、タグ SNP 解析）を用いて検討したが、いずれの解析においても PDE4D 遺伝子多型と脳梗塞との間に有意な関連を認めなかった。さらに、久山町追跡集団を用いた解析においても、PDE4D 遺伝子多型は脳梗塞発症との間に有意な関連を認めなかった。以上より、日本人において PDE4D 遺伝子内の多型と脳梗塞の間には関連を認めなかった。

A. 研究目的

認知症の発症には種々の要因が関与しているが、脳梗塞は認知症を引き起こす大きな要因である。そこで本研究では、世界で初めて脳梗塞関連遺伝子として報告された PDE4D 遺伝子多型と日本人脳梗塞との関連を検討した。

B. 研究方法

PDE4D 遺伝子多型と脳梗塞との関連は、多くの研究で検討されているが一定した結果は得られていない。これは研究により、検討する SNP や脳梗塞病型が最初の報告と異なっていることが最大の要因と考えられている。そこで、本研究では、日本人の脳梗塞と PDE4D 遺伝子多型との関連を検討するため、3 通りのケースコントロール解析を施行した。すなわち、1) 最初の報告で関連が見られた 6SNP について、同じ脳梗塞病型を用いた単 SNP 解析、2) 最初の報告で関連が認められた LD ブロック（ブロッ

ク B、C) について、同じ脳梗塞病型を用いたハプロタイプ解析、3) PDE4D 遺伝子全体をカバーするタグ SNP を用いた解析、の 3 通りの解析を行った。用いた患者対照集団は、九州大学およびバイオバンクで収集された 2 つの独立した集団を用いた。

さらに、久山町一般住民の追跡集団のデータを用いて、PDE4D 遺伝子多型と脳梗塞発症との関連を検討した。

(倫理面の配慮)

本研究で用いたサンプルは、すべて研究機関において文書による同意が取得されており、各倫理審査委員会において承認を受けたサンプルを用いた。

C. 研究結果

1) 単 SNP 解析 (Table 1)

まず、最初の報告で関連が認められた 6SNP

について、同じ病型（アテローム血栓性梗塞、心原性塞栓症＋アテローム血栓性梗塞）で検討した。SNP45、SNP41 は日本人では多型ではなく、残りの4SNP はすべて有意な関連を認めなかった。

2) ハプロタイプ解析 (Table 2)

次に、最初の報告で関連が認められた PDE4D 遺伝子内のブロック B、C 領域について、SNP56 および 16 個のタグ SNP を選択しハプロタイプ解析を行った。ブロック B では、有意な関連を認めるハプロタイプはなかった。ブロック C では、最も頻度の高いハプロタイプに $P=0.03$ の関連が認められたが、多重比較の調整後は有意ではなかった ($P=0.33$)。

3) タグ SNP 解析 (Figure 1)

さらに、PDE4D 遺伝子全体 (2.2Mb) をカバーする 212SNP を選択し、脳梗塞との関連を検討した。最初の報告とは異なり、PDE4D 遺伝子の 3' 側に位置する SNP、rs7730070 において最も強い関連 ($P=0.0037$) が認められたが、多重比較の調整後は有意ではなかった ($P=0.36$)。

4) コホート研究 (Figure 2)

久山町研究で 1988 年より 14 年間追跡されている集団を用いて、PDE4D 遺伝子多型と脳梗塞発症との関連を検討したが、解析できた 4SNP はいずれも脳梗塞発症と有意な関連を認めなかった。

D. 結論

日本人において、PDE4D 遺伝子多型は脳梗塞と有意な関連を認めなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Asano K, et al. A genome-wide association study identifies three new

susceptibility loci for ulcerative colitis in the Japanese population. *Nat Genet.* 2009;41:1325-1329.

2. Satake W, et al. Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat Genet.* 2009;41:1303-1307.
3. Hosono N, et al. CYP2D6 genotyping for functional-gene dosage analysis by allele copy number detection. *Clin Chem.* 2009;55:1546-54.
4. Nakahara H, et al. Automated SNPs typing system based on the Invader assay. *Leg Med.* 2009;11:S111-S114
5. Nuinon M, et al. A genome-wide association identified the common genetic variants influence disease severity in beta(0)-thalassemia/hemoglobin E. *Hum Genet.* 2009 Nov 19. [Epub ahead of print, PMID: 19924444]
6. Okada Y, et al. HLA-DRB1*0901 lowers anti-cyclic citrullinated peptide antibody levels in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2009 Oct 22. [Epub ahead of print, PMID: 19854714]
7. Okada Y, et al. Contribution of a haplotype in the HLA region to anti-cyclic citrullinated peptide antibody positivity in rheumatoid arthritis, independently of HLA-DRB1. *Arthritis Rheum.* 2009;60:3582-3590.
8. Cui R, et al. Functional variants in ADH1B and ALDH2 coupled with alcohol and

smoking synergistically enhance
esophageal cancer risk.
Gastroenterology. 2009;137:1768-75.

9. Nakashima Y, et al. Risk factors for coronary atherosclerosis in a general Japanese population: The Hisayama study. Pathol Res Pract. 2009;205:700-8.
10. Ng CC, et al. A genome-wide association study identifies ITGA9 conferring risk of nasopharyngeal carcinoma. J Hum Genet. 2009;54:392-7.
11. Betcheva ET, et al. Case-control association study of 59 candidate genes reveals the DRD2 SNP rs6277 (C957T) as the only susceptibility factor for schizophrenia in the Bulgarian population. J Hum Genet. 2009;54:98-107.
12. Kamatani Y, et al. A genome-wide association study identifies variants in the HLA-DP locus associated with chronic hepatitis B in Asians. Nat Genet. 2009;41:591-595.
13. Matsushita T, et al. Lack of association between variations of PDE4D and ischemic stroke in the Japanese population. Stroke. 2009;40:1245-1251.
14. Yamazaki K, et al. Positive association of genetic variants in the upstream region of NKX2-3 with Crohn's disease in Japanese patients. Gut. 2009;58:228-32.
15. Shimane K, et al. A single nucleotide polymorphism in the IRF5 promoter region is associated with susceptibility to rheumatoid arthritis in the Japanese patients. Ann Rheum Dis. 2009;68:377-83.

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

Table 1. Association between SNPs reported in the initial study and the subtypes of ischemic stroke among Japanese.

Ischemic stroke subtype	SNP	Allele		Sample	Case	Control	P value	OR (95% CI)	Meta-analysis	
		1	2		AF	AF			P value	OR (95% CI)
ATI	SNP83	C	T	Kyushu	0.13	0.14	0.31	0.86 (0.64-1.16)	0.14	0.87 (0.73-1.05)
				BioBank	0.13	0.15	0.32	0.88 (0.70-1.12)		
				Prospective	0.12	0.14	0.66	0.79 (0.28-2.25)		
Combined ATI & CEI	SNP41	T	C	Kyushu	1.00	1.00	-	-		
				BioBank	1.00	1.00	-	-		
				Prospective	1.00	1.00	-	-		
	SNP45	C	T	Kyushu	1.00	1.00	-	-		
				BioBank	1.00	1.00	-	-		
				Prospective	1.00	1.00	-	-		
	SNP56	A	T	Kyushu	0.58	0.54	0.07	1.18 (0.99-1.41)	0.11	1.09 (0.98-1.21)
				BioBank	0.56	0.56	0.88	1.01 (0.88-1.16)		
				Prospective	0.73	0.55	0.02	2.17 (1.14-4.11)		
SNP87	T	C	Kyushu	0.15	0.15	0.87	0.98 (0.76-1.25)	0.21	0.91 (0.78-1.06)	
			BioBank	0.11	0.13	0.10	0.84 (0.68-1.03)			
			Prospective	0.17	0.14	0.60	1.22 (0.57-2.63)			
SNP89	T	G	Kyushu	0.95	0.97	0.03	0.62 (0.40-0.97)	0.27	0.87 (0.67-1.12)	
			BioBank	0.95	0.95	0.99	1.00 (0.73-1.37)			
			Prospective	0.98	0.95	0.39	2.33 (0.32-17.0)			

Allele 1 indicates the risk allele in the initial study; AF, allele frequency of allele 1; OR, odds ratio; CI, confidence interval; ATI, atherothrombotic infarction; CEI, cardioembolic infarction. Meta-analysis was performed using a fixed-effect model.

Table 2. Haplotype analysis of SNPs selected from the region of blocks B and C among combined samples.

	Haplotype in Block B					Frequency (%)		Haplotype in Block C					Frequency (%)		P value	
						Case	Control							Case		Control
rs4502776	A	G	A	A	A	41.5	40.9	0.63	G	C	C	A	G	34.4	31.7	0.03
rs13172481	G	C	G	T	T	14.5	16.0	0.11	C	T	T	G	G	26.0	27.3	0.26
rs6869495	A	G	A	A	A	8.1	7.2	0.17	G	C	C	A	A	23.1	24.6	0.16
rs1423246	A	G	A	T	T	4.7	5.7	0.10	G	T	C	A	A	7.5	7.0	0.51
rs1345782	G	C	A	G	T	4.1	4.7	0.33	G	C	T	G	G	2.7	2.5	0.56
rs6860887	A	G	A	C	T	4.1	3.6	0.41								
rs10514896	G	C	A	T	A	3.1	3.1	0.87								
rs6860887	G	C	A	C	A	3.5	2.7	0.10								
rs1423246	G	C	A	G	T	2.9	2.2	0.08								
rs13172481	A	G	A	C	A	1.9	2.6	0.07								
rs4502776	A	G	A	C	G	2.1	2.1	0.82								

Haplotypes with frequency > 2% are shown.

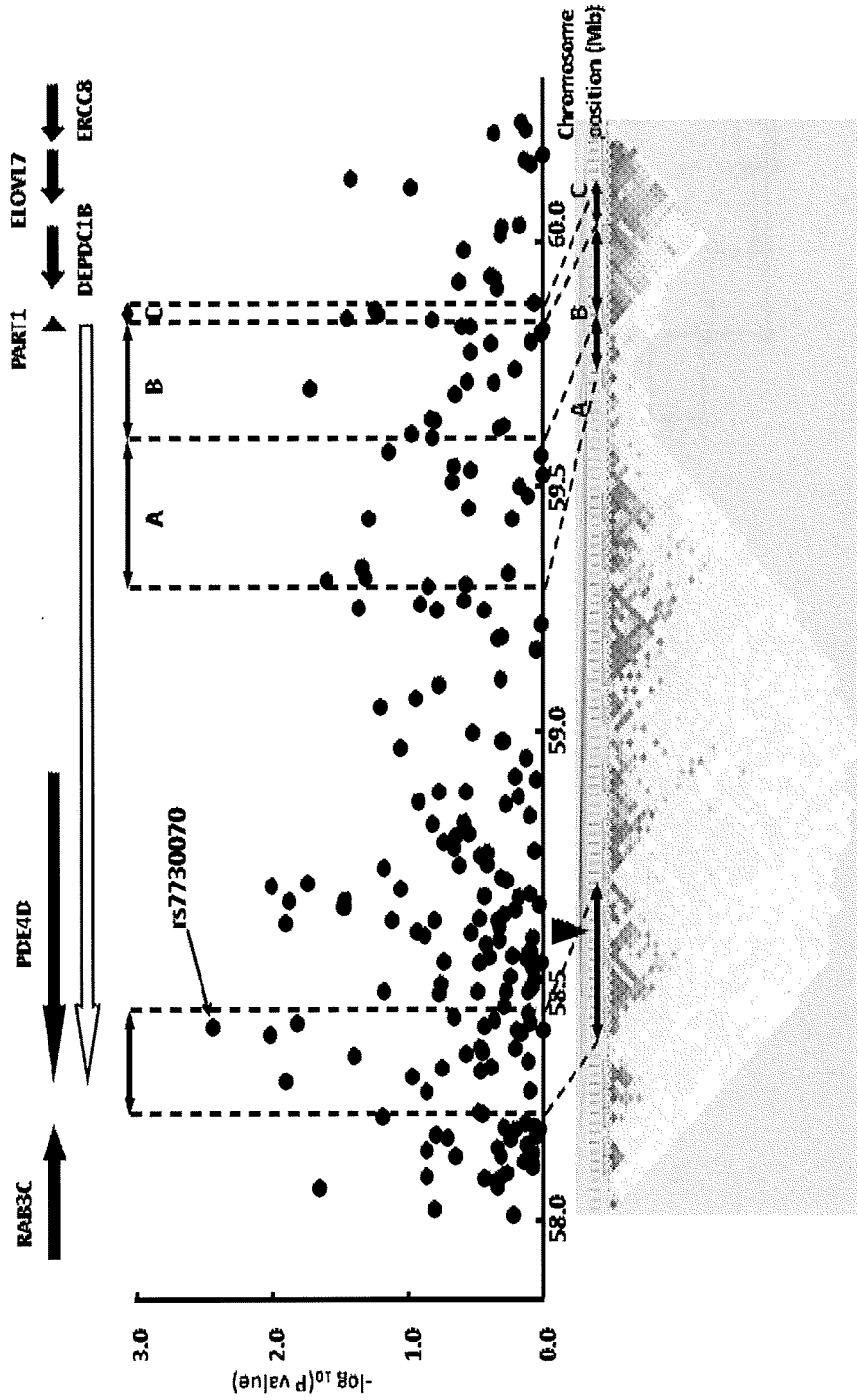


Figure 1. Genomic structure, case-control results, and linkage disequilibrium map of the 2.2 Mb region including *PDE4D*.

(a) Genomic structure around *PDE4D*. The white arrow indicates *PDE4D* reported by the initial study. (b) Case-control association results for ischemic stroke among Japanese. The $-\log_{10}$ -transformed *P* values calculated by the Cochran-Armitage trend test are plotted on the y axis. "A" indicates block A; "B", block B; "C", block C in the initial study. (c) Pairwise linkage disequilibrium map between SNPs. The strength of the LD increases from white to black. A black inverse triangle indicates the location of rs7730070 in the map.

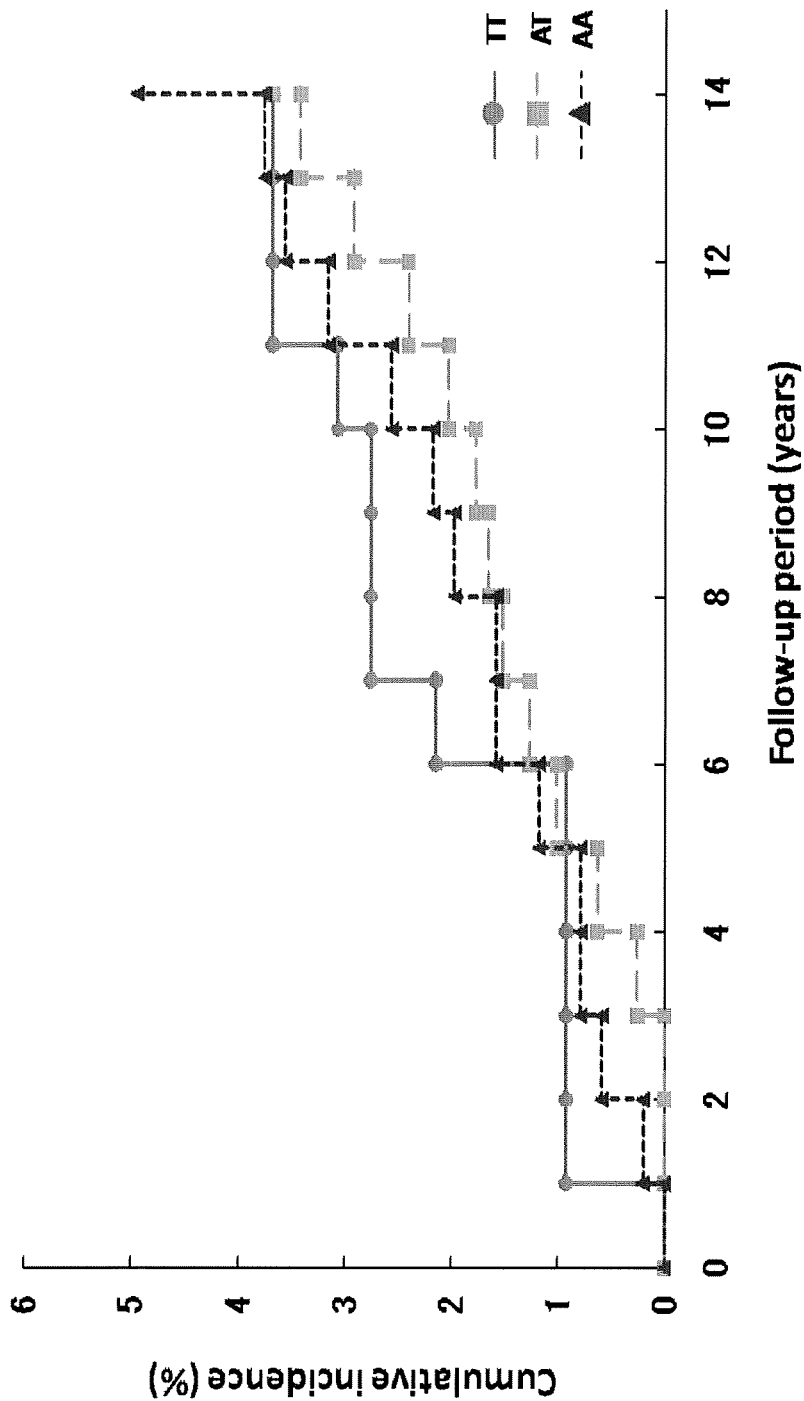


Figure 2. Kaplan-Meier estimate of the incidence of ischemic stroke by SNP56 genotype during 14-year follow-up period in the Hisayama study

厚生労働科学研究（認知症対策総合研究事業）
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

地域住民における大豆製品の摂取と認知症発症の関係：久山町研究

研究分担者 城田 知子
(中村学園大学・客員教授)

研究要旨 福岡県久山町において、60歳以上の認知症のない1081名を1988年から15年間前向きに追跡し、大豆製品の摂取とアルツハイマー病（AD）および脳血管性認知症（VD）発症の関係を検討した。追跡期間中に259例の認知症発症が認められ、235例（90.7%）に形態学的評価を行った（136例を剖検で、99例を画像診断で評価した）。大豆製品の摂取量を3分位し、第1分位群を基準とした。性、年齢、学歴、高血圧、脳卒中既往、心電図異常、糖尿病、総コレステロール、body mass index、喫煙、飲酒、運動で調整した全認知症発症の相対危険は、第2分位群で0.70、第3分位群で0.78と低下し、第1-2分位群間に有意差を認めた。AD発症の相対危険は、第2分位群0.55、第3分位群0.56といずれも有意に低かった。一方、VDの相対危険は有意な関連を認めなかった。以上の成績より、大豆製品の摂取はアルツハイマー病発症を予防すると考えられる。

A. 研究目的

わが国では、高齢者人口の増加に伴い認知症患者が急速に増えている。近年、アルツハイマー病などの脳の疾患にも栄養・食事に関係していることが報告されるようになり、認知症発症における食事性因子の予防効果が注目されるようになってきたが、まだ十分な検討がなされていない。そこで、福岡県久山町で行われた認知症の追跡調査の成績から、一般住民における大豆製品の摂取と認知症発症との関係について検討した。

B. 研究方法

1988年に60歳以上の住民1,228名（参加率91.1%）に対して認知症の有病率調査を行った。認知症と診断された33名、食事調査票が使用不可能であった112名、追跡開始前に死亡した2名を除いた1,081名をこの研究の対象とし、この対象者を1988年12月から2003年11月まで前向きに追跡した。対象者が死亡した場合は

九州大学病理学教室で剖検を行い、詳細な神経病理学的評価を行った。なお、認知症の臨床診断は、米国精神医学会による精神疾患の診断と統計のためのマニュアル改訂第3版（DSM-III R）に基づいて行った。AD、脳血管性認知症（VD）の診断には、それぞれNational Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association（NINCDS-ADRDA）の診断基準、Branch of the National Institute of Neurological Disorders and Stroke with support from the Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences（NINDS-AIREN）の診断基準を用いた。15年間の追跡期間中に259名が認知症を発症し、そのうち235例（90.7%）の脳を剖検あるいはCT/MRIで形態学的に調べた（136例を剖検で、99例を画像診断で評価した）。認知症発症例の病型別内訳はAD117例、VD72例、その他70例だった。

(倫理面の配慮)

本研究は、「疫学研究に関する倫理指針」「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき研究計画書を作成し、九州大学医学部倫理委員会の承認を得て行われた。本研究は、すべての対象者からインフォームドコンセントを取得したうえで実施した。研究者は、対象者の個人情報の漏洩を防ぐうえで細心の注意を払い、その管理に責任を負っている。

C. 研究結果

大豆製品の摂取量により対象者を3分位し、その摂取量ごとの全認知症、AD、VDとの関連を検討した。摂取量別にみた全認知症の性・年齢調整後の発症率(対千人年)は第1分位群26.3、第2分位群21.1、第3分位群23.3であり、第2分位群は第1分位群に比べ有意に低かった($p < 0.03$) (図1)。ADの発症率はそれぞれ29.9、15.5、18.3で第2分位群と第3分位群は第1分位群に比べ有意に低かった($p < 0.01$) (図2)。VDの発症率はそれぞれ7.3、7.6、5.4で有意な差は認めなかった(図3)。

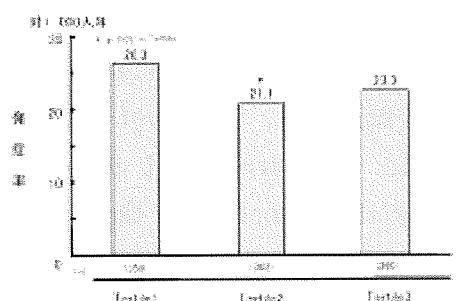


図1: 大豆の摂取レベル別にみた全認知症の発症率
 久山町男女1061名、60歳以上、1988-2003年、性・年齢調整

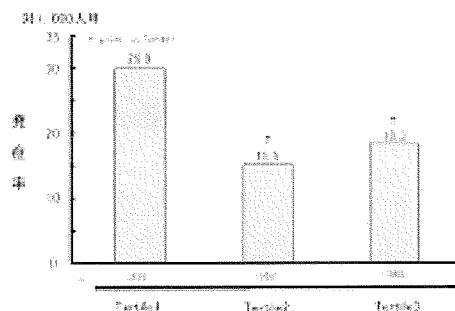


図2: 大豆の摂取レベル別にみたアルツハイマー病の発症率
 久山町男女1061名、60歳以上、1988-2003年、性・年齢調整

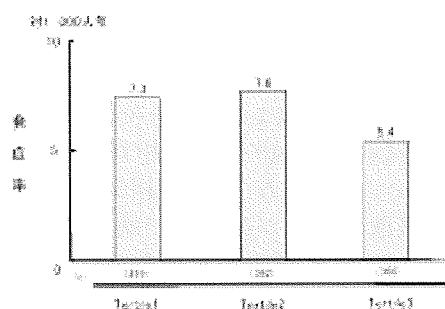


図3: 大豆の摂取レベル別にみた脳血管性認知症の発症率
 久山町男女1061名、60歳以上、1988-2003年、性・年齢調整

性、年齢、学歴、高血圧、脳卒中既往、心電図異常、糖尿病、総コレステロール、body mass index、喫煙、飲酒、運動で調整した全認知症発症の相対危険は、第1分位群を基準とすると第2分位群で0.70 (95%信頼区間:0.51-0.96)、第3分位群で0.78 (0.58-1.06)と低下し、第1-2分位群間に有意差を認めた(図4)。病型別にみると、AD発症の相対危険(多変量調整)は、第2分位群0.55 (0.35-0.87)、第3分位群0.56 (0.36-0.86)といずれも有意に低かった(図5)。一方、VDの相対危険(多変量調整)は第2分位群0.79 (0.45-1.39)、第3分位群0.75 (0.41-1.37)と有意な関連を認めなかった(図6)。

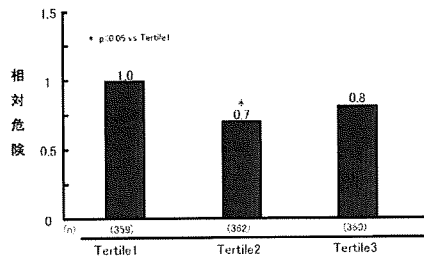


図4:大豆の摂取レベル別にみた全認知症発症の相対危険
久山町男女1081名、60歳以上、1988-2003年、多変量調整
調整因子: 性、年齢、学歴、高血圧、心電図異常(左室肥大 or 虚血性変化 or 心房細動)、
糖尿病、脳卒中既往、総コレステロール、BMI、喫煙、飲酒、運動

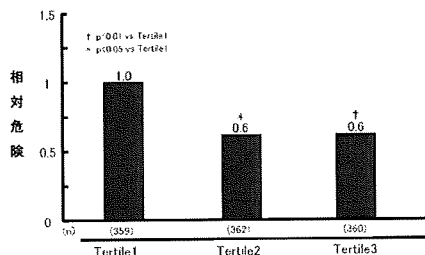


図5:大豆の摂取レベル別にみたアルツハイマー病発症の相対危険
久山町男女1081名、60歳以上、1988-2003年、多変量調整
調整因子: 性、年齢、学歴、高血圧、心電図異常(左室肥大 or 虚血性変化 or 心房細動)、
糖尿病、脳卒中既往、総コレステロール、BMI、喫煙、飲酒、運動

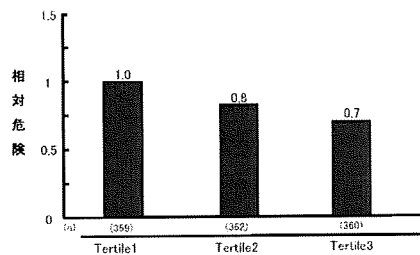


図6:大豆の摂取レベル別にみた脳血管性認知症発症の相対危険
久山町男女1081名、60歳以上、1988-2003年、多変量調整
調整因子: 性、年齢、学歴、高血圧、心電図異常(左室肥大 or 虚血性変化 or 心房細動)、
糖尿病、脳卒中既往、総コレステロール、BMI、喫煙、飲酒、運動

D. 考察

今回の久山町における食事調査の結果より、大豆製品の摂取はAD発症を予防することが示唆された。これまでに大豆製品の摂取とADの関連を検討した報告は我々が調べた限り認められず、その作用機序は明らかではないが、大豆製品に含まれる栄養素では、その予防的な効果を報告したものが散見される。大豆に含まれるイソフラボン(フィトエストロゲン)はエストロゲン様作用があり、これまでにエストロゲンのホルモン療法によって閉経後の女性にお

いてADのリスクが低下したという報告がされている。また、大豆製品、特に納豆に多く含まれている葉酸は不足するとホモシステイン値を上昇させ、ADの原因と言われているβアミロイドの毒性を増強させることが動物実験で報告されている。追跡研究においても葉酸の摂取がAD発症のリスクを低下させたという報告もあり、葉酸がAD発症を予防することが期待される。このような栄養素の働きによって、大豆製品がADに対して予防的に作用していることが考えられる。

E. 結論

わが国の地域住民において、大豆製品の摂取はAD発症を予防することが示唆された。食事は食品を単品で摂取することは少なく、いくつかの食品を組み合わせることで摂取することが多い。今後は食事パターン解析を通しての検討が必要であると考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表

八田美恵子、城田知子、内田和宏、佐々木敏、清原裕:地域在宅高齢者における魚介類摂取の実態について、日本老年医学会九州地方会、熊本(2010年3月)

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

I. 研究協力者

内田和宏(中村学園大学短期大学部・食物栄養学科・講師)

八田美恵子(中村学園大学短期大学部・食物栄

養学科・助手)

小澤未央(九州大学大学院医学研究院・環境医学分野・大学院生)

厚生労働科学研究（認知症対策総合研究事業）
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

地域住民における運動習慣と認知症発症との関係：久山町研究

研究代表者 熊谷 秋三
(九州大学健康科学センター・教授)

研究要旨 福岡県久山町において、1988年から60歳以上の認知症のない1191名を17年間前向きに追跡し、運動習慣とアルツハイマー病（AD）および脳血管性認知症（VD）発症との関係を検討した。追跡期間中に349例の認知症発症が認められ、316例（90.6%）に形態学的評価を行った（182例を剖検で、134例を画像診断で評価した）。調査開始時の運動習慣の有無により対象者を2群に分類し、運動なし群を基準として、運動あり群のAD、およびVD発症の相対危険を算出した。年齢、学歴、収縮期血圧、心電図異常（左室肥大、ST低下、心房細動）、糖尿病、body mass index、血清総コレステロール、脳卒中の既往、喫煙、飲酒習慣を調整したAD発症の相対危険は、運動あり群で0.69と有意に低かった。一方、VD発症の相対危険は両群で有意な差異を認めなかった。以上の成績より、運動習慣を有することはAD発症の有意な予防因子であることが示唆された。今後、運動量とAD発症と関連性について、より詳細な検討を行っていく。

A. 研究目的

日常的な運動は、心肺機能の向上や循環血流量の増大、糖・脂質代謝の改善、血圧降下など、生体にとって様々な恩恵をもたらす。また、心理的ストレスの軽減や、いきがいくくりにも貢献することから、生活習慣病の予防における介入手段として注目されてきた。近年では、さらにアルツハイマー病（AD）や脳血管性認知症の予防においてもその効果に期待が高まりつつある。本研究では、福岡県久山町で行われた認知症の追跡調査の成績から、一般住民における運動習慣の有無と認知症発症との関連性について検討を行った。

B. 研究方法

1988年に60歳以上の住民1,228名（参加率91.1%）に対して認知症の有病率調査を行った。

既に認知症を発症していた33名、追跡開始時までに死亡した2名、及びデータに欠損のあった2名を除いた1,191名を研究対象者とし、1988年12月から2005年11月までの17年間前向きに追跡した。対象者が死亡した場合は九州大学病理学教室で剖検を行い、詳細な神経病理学的評価を行った。なお、認知症の臨床診断は、米国精神医学会による精神疾患の診断と統計のためのマニュアル改訂第3版（DSM-III-R）に基づいて行った。AD、脳血管性認知症（VD）の診断には、それぞれNational Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association（NINCDS-ADRDA）の診断基準、Branch of the National Institute of Neurological Disorders and Stroke with support from the