

20102600/A

厚生労働科学研究費補助金
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

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 清原 裕

平成23（2011）年3月

目 次

はじめに-----	1
I. 総括研究報告	
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-----	2
清原 裕 (九州大学大学院医学研究院環境医学分野・教授)	
II. 分担研究報告	
1. 地域住民における高血圧と認知症発症の関係：久山町研究-----	7
清原 裕 (九州大学大学院医学研究院環境医学分野・教授)	
2. 地域住民における認知症の有病率の時代的变化、アルツハイマー病 の遺伝的危険因子の解明：久山町研究-----	11
神庭 重信 (九州大学大学院医学研究院精神病態医学分野・教授)	
3. 脂質代謝異常症とアルツハイマー病の病理学的変化との関連-----	16
岩城 徹 (九州大学大学院医学研究院神経病理学分野・教授)	
4. 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-----	19
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)	
5. アルツハイマー病発症におけるミトコンドリアゲノムと ミトコンドリア機能の関連についての探索-----	21
康 東天 (九州大学大学院医学研究院臨床検査医学分野・教授)	
6. 日本人におけるアルツハイマー病関連遺伝子の探索-----	24
久保 充明 (理化学研究所ゲノム医科学研究センター・副センター長)	
7. 地域在宅高齢者の認知機能と栄養素等摂取との関連について：久山町研究---	29
内田 和宏 (中村学園大学・講師)	
8. 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-----	32
熊谷 秋三 (九州大学健康科学センター・教授)	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	36
IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	39

はじめに

わが国では、高齢化社会を迎えて、高齢人口の伸びに比例して認知症患者が急速に増加している。厚生労働省の推計では、その数は西暦 2010 年に約 200 万人となり、2025 年頃には約 310 万人に達するとされる。このように増え続ける老年期認知症の予防、治療、介護を含めた総合的な対策を講じるには、基礎的研究によって認知症の成因を解明するとともに、疫学研究によって一般住民中の認知症の実態を把握し、その危険因子を明らかにすることが必要不可欠である。しかし、現在のところ、主な認知症病型であるアルツハイマー病 (AD) の危険因子として確立されたものは年齢とアポリポ蛋白 E ϵ 4 遺伝子多型 (ApoE ϵ 4) のみである。また、脳血管性認知症 (VaD) の危険因子の検討もほとんど行われていない。一方、福岡県久山町では、1985 年から 65 歳以上の高齢住民を対象に、世界で最も精度の高い認知症の疫学調査が進行中である。また、この町では 2002 年より生活習慣病のゲノム疫学研究が開始され、その基盤が整備されている。本研究の目的は、久山町における老年期認知症の疫学調査において、AD をはじめ認知症の有病率・発症率の時代的変化を明らかにし、危険因子・防御因子を包括的な健診成績の中より明らかにすることにある。そしてゲノムワイド研究およびマイクロアレイ解析によって、AD の遺伝的危険因子を特定することを目指している。さらに、以上の成果を踏まえ、食事・運動の面からの介入試験を行い、その予防手段の確立を図ることも大きな目標である。

本年度の研究成果により、耐糖能異常は AD および VaD の発症の有意な危険因子であり、病理学的にも耐糖能異常、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が明らかとなった。そして、大豆食品の摂取や運動習慣がアルツハイマー病の発症を予防することも示唆された。さらに、認知症の大規模ゲノム疫学研究やマイクロアレイ解析の基盤が整いつつある。今後、研究をさらに推し進め、運動、食事性因子、高血圧・糖尿病などの症候因子を含む包括的な健診を基盤とした追跡調査とわが国のトップレベルのゲノム解析によって、認知症の危険因子・防御因子を解明していく所存である。その成果によって認知症の予防手段が確立され、引いては国民の保健・医療・福祉の向上や高齢者医療費の削減につながることを期待したい。

研究代表者 清原 裕

厚生労働科学研究費補助金（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
総括研究報告

研究代表者 清原 裕
(九州大学大学院医学研究院環境医学分野・教授)

研究要旨 福岡県久山町において、1988年の循環器病健診に参加した65-79歳の認知症のない久山町住民668名を17年間前向きに追跡し、老年期高血圧が認知症発症に与える影響を検討した。血圧レベルは米国高血圧合同委員会の第7次報告書に基づいて分類された。追跡期間中に232名が認知症を発症し、そのうちアルツハイマー病(AD)123例、脳血管性認知症(VaD)76例であった。正常血圧群を基準とすると、多変量調整後のVaD発症の相対危険は、老年期血圧レベルの上昇に伴い直線的に増加した。さらに、同対象者の15年前の血圧値を用いて中年期高血圧と認知症発症の関係を検討したところ、VaD発症の相対危険(多変量調整後)は、正常血圧群(<120/80 mmHg)に比べ、ステージ1高血圧群(140-159/90-99 mmHg)から有意に上昇した。一方、老年期および中年期高血圧とAD発症の間に有意な関連を認めなかった。

さらに、久山町における認知症有病率の時代的变化を検討した。久山町の4つの断面調査において、性・年齢調整後の認知症の有病率を病型別にみると、ADは1985年1.1%、1992年1.3%、1998年2.3%、2005年3.8%で、1998年から有意な上昇傾向を示した。一方、脳血管性認知症(VaD)の有病率は1985年2.3%、1992年1.5%、1998年1.5%と減少傾向にあったが、2005年は2.5%と上昇傾向に転じた。

また、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の連続剖検例211例のうち、1988年の久山町健診で空腹時採血を行った147例を対象とし、脂質代謝異常症とADの病理学的変化との関連を検討した。その結果、老人斑のない群に比べ、老人斑を多く有する群では、総コレステロールとLDLコレステロールの平均値(多変量調整)は有意に高く、HDLコレステロールは有意に低かった。総コレステロール値の最も低い群に比べ、最も高い群(224 mg/dL以上)では老人斑を有するオッズ比が有意に高かった。

認知症の予防因子として食習慣や運動の種類の影響を検討した。食習慣に関する検討では、認知機能低下を有する者は、正常群に比べ、カリウム、マグネシウム、多価不飽和脂肪酸(PUFA)、n6系PUFAおよび食物繊維の摂取量が有意に低かった。食品群でみると、認知機能低下群では、油脂類、緑黄色野菜、きのこ類の摂取量が有意に低かった。運動の種類に関する検討では、AD発症の相対危険(多変量調整後)は、個人種目実施群で0.66、集団種目実施群で0.56であり、集団種目実施群においてADの発症リスクが有意に低かった。

本研究では、ADの遺伝的要因を検討することを目的としたマイクロアレイ解析やゲノムワイド研究を行った。マイクロアレイ解析では、新鮮脳凍結検体26例について海馬のRNAの抽出を行った。AD患者群と対照群から各4例を選出し、海馬における遺伝子の発現量を比較した。その結果、発現量が上昇した遺伝子を10個、低下した遺伝子を27個認めた。

ゲノムワイド研究では、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、AD関連遺伝子の同定を試みた。約60.3万SNPについて関連解析を実施した結果、アポリポ蛋白E(APOE)遺伝子領域に $p=9.0 \times 10^{-22}$ (オッズ比4.0)の非常に強い関連を認めた。APOE遺伝子領域以外には、ゲノムワイドレベルの有意水準を満たすSNPは認められなかった。そこで、関連解析結果の上位100個のSNPを選択し、SNP間の連鎖不平衡を考慮して、69個のSNPを再現性研究の候補として選択した。さらに、ミトコンドリアゲノムやミトコンドリア機能とAD発症との関連を検討するために、まず、久山町一般住民約3000人で、mtDNA複製転写御領域であるD-loopのDNA配列を決定した。

今後、研究をさらに推し進め、運動、食事性因子、高血圧・糖尿病などの環境因子に遺伝的要因を加えることで、包括的なADの危険因子や防御因子を解明していく予定である。

分担研究者：

神庭 重信	(九州大学大学院医学研究院精神病態医学分野・教授)
岩城 徹	(九州大学大学院医学研究院 神経病理学分野・教授)
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)
康 東天	(九州大学大学院医学研究院臨床検査医学分野・教授)
久保 充明	(理化学研究所ゲノム医科学研究センター・副センター長)
内田 和宏	(中村学園大学・講師)
熊谷 秋三	(九州大学健康科学センター・教授)

A. 研究目的

わが国では、高齢者人口が急速に増加し、高齢者の精神疾患として最も頻度の高い認知症が大きな医療・社会問題となっている。このように増え続ける認知症の予防対策を講じるには、認知症発症の危険因子・防御因子を明らかにすることが重要である。本研究では、老年期認知症の疫学調査において、高血圧が認知症発症に与える影響を健診成績を用いて明らかにする。また、脂質代謝異常症とアルツハイマー病 (AD) の病理学的変化との関連を剖検組織の病理学的検討を用いて検証する。そしてゲノムワイド研究およびマイクロアレイ解析によってアルツハイマー病の遺伝的危険因子を特定する。さらに、以上の結果を踏まえ、食事・運動の面からの介入試験を行い、その予防手段の確立を図る。

B. 研究方法

福岡県久山町では、1988年の久山町循環器病健診に参加した65-79歳の認知症のない久山町住民668名を1988年11月から2005年10月まで17年間前向きに追跡し、老年期高血圧が認知症発症に与える影響を検討した。さらに同対象者の15年前の血圧値を用いて中年期高血圧と認知症発症の関係を検討した。血圧レベルは米国高血圧合同委員会の第7次報告書に基づいて分類された (清原)。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。追跡期間中に232名が認知症を発症し、そのうち208例 (90%) の脳を剖検あるいはCT/MRIで形態学的に調べた (清原、神庭、岩城)。認知症発症例の病型別内訳はAD 123例、脳血管性認知症 (VaD) 76例だった。

さらに久山町では、1985年に65歳以上の高齢住民を対象に認知症の有病率調査が行われ、その後1992年、1998年、2005年にも同様の調査が実

施された。これらのデータを用いて、地域住民における認知症の有病率の時代的变化を検討した。各調査の受診者はそれぞれ887名 (受診率95%)、1,189名 (97%)、1,437名 (99%)、1,566名 (92%) であった。認知症の有無とその病型の判定は、まず長谷川式簡易知能評価スケールなどの神経心理テストを用いて認知機能を評価し、その後認知症が疑われた者に対して二次調査を行い、臨床的な認知症の有無、重症度、病型を判定した (清原、神庭)。

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、空腹時採血を行った147例を対象とし、脂質代謝異常症とADの病理学的変化との関連を検討した。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。AD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。脂質関連因子として、総コレステロール、LDLコレステロール、HDLコレステロール、中性脂肪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。(岩城)。

2008年より久山町の剖検脳を用いて、マイクロアレイ解析に適した検体の冷凍保存を開始した (岩城、中別府)。この冷凍保存した検体から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た。さらに、高品質RNAを用いてマイクロアレイ解析を行い、AD脳特異的に発現変化する遺伝子を同定した。また、ADモデル動物 (3xTg-ADホモ接合マウス) やミトコンドリア転写因子TFAM-Tgマウスの導入を行った (中別府)。

患者対照研究を用いたゲノムワイド研究を行うために、2008年度より九州大学病院精神科および21の関連施設・病院の連携を構築し、ADの血液サンプル収集を開始した (神庭)。60歳以上の認知症患者のうち、病歴・画像検査・神経心理検査によりADと診断された患者で、研究への同意が得られた827例をAD群とした。理化学研究所ゲノム医科学研究センターが保有するDNAサンプル8,238例を対照群とした。SNPのタイピングには、73万SNPを搭載したイルミナ社のOmniExpress ビーズチップを用いた。種々の品質管理フィルターをパスしたAD群816例および対照群7,992例を用いてAD関連遺伝子の同定を目的としたゲノムワイド関連解析を実施した (久保)。

また、AD発症におけるミトコンドリアゲノムとミトコンドリア機能の関連について検討するために、上述のAD群と、久山町一般住民 (対象群) 約3000人のDNAサンプルを用いて、mtDNA複製転

写御領域である D-loop の DNA 配列を決定した(清原、神庭、康)。さらに、p32 の全身ノックアウトマウスを作製し、その胎児からマウス胎児線維芽細胞 (MEF) 細胞を樹立した。その細胞の増殖能、ミトコンドリア電子伝達系活性、ミトコンドリア DNA, mRNA ならびに翻訳能を測定した(康)。また、ミトファジー関連遺伝子の網羅的スクリーニングを行うために、pH が中性領域では赤、酸性領域では緑の蛍光を発する蛍光蛋白質 KEIMA を線虫の筋肉に発現させ、線虫におけるミトファジー検出系の確立を目指した(康)。

栄養と運動が AD 発症に与える影響に関する介入研究を行うにあたり、まず、栄養因子や運動習慣が認知症発症に予防的に作用するかどうか検討した。久山町における 2002 年度の成人健診を受診した 60 歳以上の高齢者のうち、2005 年度の高齢者調査に参加した久山町住民 1,133 名を対象とし、食習慣と認知機能の関係を検討した。食習慣調査は、自記式食事歴法調査票 (DHQ) を用いた。認知機能の評価には、改訂長谷川式簡易知能評価スケール (HDS-R) と Mini-Mental State Examination (MMSE) の日本語版を用い、HDS-R は 20 点以下を、MMSE は 23 点以下を認知機能低下と判定した (内田)。さらに、1988 年の久山町循環器病健診に参加した 60 歳以上の認知症のない久山町住民 804 名を 17 年間前向きに追跡し、認知症の抑制に効果的な運動の種類について検討を行った。運動種目のうち、散歩、速歩など、基本的には一人で行っていると考えられる種目を「個人種目」、ゲートボール、ゴルフなど、通常 2 人以上で実施する種目を「集団種目」と定義した(熊谷)。

(倫理面への配慮)

本研究は、「疫学研究に関する倫理指針」「臨床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。研究者は、対象者の個人情報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

久山町における疫学研究では、高血圧と AD および VaD 発症の関係を検討した。1988 年に測定された老年期血圧レベルの上昇に伴い VaD 発症の相対危険は直線的に増加した (p for trend = 0.009)。正常血圧群 (<120/80 mmHg) を基準とすると、多変量調整後の VaD 発症の相対危険は、前高血圧症 (120-139/80-89 mmHg) 3.0、ステージ 1 高血圧 (140-159/90-99 mmHg) 4.5、ステージ 2 高血圧 (\geq 160/100 mmHg) 5.6 であり、ステージ 1 高血圧群から有意に上昇した ($p < 0.05$)。

さらに、同対象者の 15 年前の血圧値を用いて中年期高血圧と認知症発症の関係を検討したところ、VaD 発症の相対危険 (多変量調整後) は、正常血圧群に比べ、ステージ 1 高血圧群 6.0、ステージ 1 高血圧群 10.1 と有意に上昇した ($p < 0.01$)。一方、老年期および中年期高血圧と AD 発症の間に有意な関連を認めなかった (清原)。

さらに、久山町における認知症有病率の時代的变化を検討した。久山町の 4 つの断面調査において、性・年齢調整後の認知症の有病率を病型別にみると、AD は 1985 年 1.1%、1992 年 1.3%、1998 年 2.3%、2005 年 3.8% で、1998 年から有意な上昇傾向を示した。一方、脳血管性認知症 (VaD) の有病率は 1985 年 2.3%、1992 年 1.5%、1998 年 1.5% と減少傾向にあったが、2005 年は 2.5% と上昇傾向に転じた。VaD/AD の有病率比は、1985 年では 2.1 であったが、その後 2005 年 0.7 となり、時代とともに VaD 優位から AD 優位に変化した。

また、久山町の連続剖検例において、脂質代謝異常症と老人斑の形成の関係を検討した。その結果、老人斑のない群に比べ、老人斑を多く有する群では、総コレステロールと LDL コレステロールの平均値 (多変量調整) は有意に高く、HDL コレステロールは有意に低かった。総コレステロール値の最も低い群に比べ、最も高い群 (224 mg/dL 以上) では老人斑を有するオッズ比が有意に高かった (岩城)。

マイクロアレイ解析に関しては、新鮮脳凍結検体 83 例について RNA の抽出を行った。前頭葉から 38 例、側頭葉から 35 例、海馬から 26 例、RIN6.9 以上の品質の良い RNA を抽出できた。マイクロアレイ解析の結果、海馬に AD 群と対照群の間で発現量に差のある遺伝子が多数存在した。そこで、他の病態の合併がすくない AD 患者と対照者をそれぞれ 4 例ずつ選出し、海馬における遺伝子の発現量を比較した。その結果、発現レベルが上昇した遺伝子を 10 個、低下した遺伝子を 27 個認めた。さらに、AD モデル (3xTg-AD) マウスのホモ接合体マウスを樹立した。AD モデル (3xTg-AD) マウスと交配する目的で TFAM-Tg マウスを導入した (中別府)。

患者対照研究を用いたゲノムワイド研究を行うために、2010 年 6 月までに計 843 例の AD 患者の血液サンプルを収集した (神庭)。これらのサンプルからゲノム DNA が抽出され、2010 年 7 月より理化学研究所横浜研究所ゲノム医科学研究センターでゲノムワイド関連解析を開始した。約 60.3 万 SNP について関連解析を実施した結果、アポリポ蛋白 E (APOE) 遺伝子領域に $p = 9.0 \times 10^{-22}$ (オッズ比 4.0) の非常に強い関連を認めた。APOE 遺伝子領域以外には、ゲノムワイドレベルの有意水準を満たす SNP は認められなかつ

た。なお、解析集団における集団階層化の影響は少ないと考えられた(ラムダ値 1.087)。次に、関連解析結果の上位 100 個の SNP を選択し、SNP 間の連鎖不平衡を考慮して、69 個の SNP を再現性研究の候補として選択した(久保)。今後、協力研究機関において収集された独立した AD 例を用いて、これらの SNP の再現性を検討する(久保、神庭)。

AD 発症におけるミトコンドリアゲノムとミトコンドリア機能の関連について検討では、まず、久山町一般住民約 3000 人で、mtDNA 複製転写御領域である D-loop の DNA 配列を決定した。さらに、p32 ノックアウトマウスの作製した。p32 ノックアウトマウスは、胎生 10.5 日で致死であった。そこで胎児より MEF 細胞を樹立した。樹立した細胞の細胞増殖は野生型に比べ、きわめて不良であった。ノックアウトマウス由来の細胞のミトコンドリア電子伝達系の各複合体の活性を測定したところ、複合体 I、III、IV の活性低下を認めた。その原因はミトコンドリア内翻訳の阻害であった(康)。

認知症の予防因子として、栄養因子と運動習慣に注目した。まず、栄養因子に関して、食習慣と認知機能の関係を検討した。HDS-R および MMSE において、認知機能低下と判定された者は、それぞれ 74 名(6.5%)、117 名(10.3%)であった。認知機能低下群では、正常群に比べ、カリウム、マグネシウム、多価不飽和脂肪酸(PUFA)、n6 系 PUFA および食物繊維の摂取量が有意に低かった。食品群でみると、認知機能低下群では、油脂類、緑黄色野菜、きのこ類の摂取量が有意に低かった(内田)。運動習慣に関しては、運動の種類と認知症発症の関係を検討した。その結果、AD 発症の相対危険(多変量調整後)は、個人種目実施群で 0.66、集団種目実施群で 0.56 であり、集団種目実施群において、AD の発症リスクが有意に低かった(熊谷)。

D. 考察

今回の久山町の成績では、老年期および中年期高血圧は VaD 発症の有意な危険因子であった。この成績から、VaD は高血圧による脳動脈硬化を基盤に発症することがうかがえる。さらに、老年期のみならず中年期からの厳格な血圧管理が、VaD の発症予防において大変重要であることを示唆するものとして興味深い。一方、動脈硬化の最大の危険因子である高血圧は、AD 発症に明らかな影響を及ぼさなかったことから、AD の発症には、脳動脈硬化以外の別の機序が作用していることが示唆される。AD 発症の危険因子の探索は、今後も重要な検討課題であろう

久山町における認知症有病率の時代的变化では、1990 年代後半から AD の有病率が年齢調整を

行っても(人口の高齢化の影響を越えて)上昇傾向にあった。その大きな要因として、AD の危険因子とされる代謝性疾患の頻度が、近年増加していることがあげられる。一方、わが国では、高血圧治療の普及によって脳卒中の発症リスクが減少傾向にあり、それを反映して 1990 年代まで VaD の有病率も減少傾向にあった。しかし、2000 年代に入り VaD の有病率が再び上昇傾向に転じた背景には、やはり近年の代謝性疾患の増加が関与していると思われる。

久山町における連続剖検例を用いた検討では、脂質代謝異常症が老人斑の形成に関与することを明らかにした。脳内のコレステロール代謝に関わる APOE の遺伝子多型は、AD の強力な危険因子である事が知られている。血液中と脳内のコレステロール代謝は、血液脳関門により隔絶されているため、脳内コレステロールは血清コレステロールとは別の代謝・輸送系を有している。今回得られた血清脂質代謝異常と老人斑との関連に関する知見を分子レベルで解明するためには、脂質代謝異常症が脳内の脂質代謝に及ぼす影響を検討する事が必要であろう。

本年度、我々は、2002 年に行ったより詳細な食習慣調査の成績を用いて、食事性因子の及ぼす認知機能低下リスクについて横断的に検討を行った。その結果、いくつかの食事性因子について関連がみられた。個々の栄養素について、カリウム、マグネシウムについては、血圧上昇を抑制することにより、食物繊維については血中のコレステロールを低下させ動脈硬化や脳梗塞を予防することにより、認知症の予防につながると考えられている。しかしながら、まだ十分な研究成果は報告されていない。

さらに、認知症の抑制に効果的な運動の種類について検討を行った結果、集団種目を行っている者では、運動を行っていない者に比べ、AD 発症リスクは、有意に低かった。一方、個人種目の実施は AD 発症リスクを抑制する傾向を認めたが、統計学的には有意ではなかった。この成績は、他人とのコミュニケーションをより必要とするような種類の運動習慣を有することが、AD 発症予防により有効であることを示している。運動は、骨格筋を収縮させエネルギーを消費するという「身体的活動」、他者と交流するなどの「社会的活動」、さらには運動技術の獲得などの「知的活動」の 3 つ側面を併せもっている。集団種目は、「社会的活動」および「知的活動」の側面がより強い。従って、その実施者に周囲から多様な刺激がもたらされ、その結果、認知予備能の向上により、認知症発症がより抑制されたと推察する。今後、久山町における栄養と運動のデータをさらに解析して、認知症の予防に重要な因子を検討し、その結果を介入試験へと応用する必要性がある

E. 結論

久山町における疫学調査では、老年期および中年期高血圧は VaD 発症の有意な危険因子であったが、AD 発症との関連は見られなかった。一方、脂質代謝異常が老人斑の形成に関与することや、油脂類、緑黄色野菜、きのこ類の摂取や集団での運動習慣により AD 発症のリスクが低下することが示唆された。今後、脂質代謝異常などの AD の危険因子を遺伝的側面からの検討も加え、介入試験による予防の可能性を検討する必要がある。

F. 健康危険情報

- 高血圧は VaD 発症の有意な危険因子である。(清原)
- 病理学的に、脂質代謝異常が老人斑の形成に関与する。(岩城)
- 油脂類、緑黄色野菜、きのこ類の摂取や集団で実施する運動習慣は AD 発症を予防する可能性がある。(内田、熊谷)

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

地域住民における高血圧と認知症発症の関係：久山町研究

研究代表者 清原 裕
(九州大学大学院医学研究院環境医学分野・教授)

研究要旨 福岡県久山町において、1988年の循環器病健診に参加した65-79歳の認知症のない久山町住民668名を17年間前向きに追跡し、老年期高血圧が認知症発症に与える影響を検討した。追跡開始時の老年期血圧レベルは米国高血圧合同委員会の第7次報告書に基づいて分類した。その結果、追跡期間中に232名が認知症を発症し、そのうち208例(90%)に剖検あるいはCT/MRIによる形態学的評価を行った。認知症発症例の病型別内訳はアルツハイマー病(AD)123例、脳血管性認知症(VaD)76例であった。正常血圧群を基準とすると、多変量調整後のVaD発症の相対危険は、老年期血圧レベルの上昇に伴い直線的に増加した。さらに、同対象者の15年前の血圧値を用いて中年期高血圧と認知症発症の関係を検討したところ、VaD発症の相対危険(多変量調整後)は、正常血圧群(<120/80 mmHg)に比べ、ステージ1高血圧群(140-159/90-99 mmHg)から有意に上昇した。一方、老年期および中年期高血圧とAD発症の間に有意な関連を認めなかった。

以上の成績より、老年期および中年期高血圧はVaD発症の有意な危険因子であることが明らかとなった。

A. 研究目的

わが国では、超高齢化社会を迎えて、高齢人口の伸びに比例して認知症患者が急速に増加している。このように増え続ける認知症の予防対策を講じるには、疫学研究にて、その成因や危険因子を解明することが必要不可欠である。なかでも頻度の高いアルツハイマー病(AD)はその成因が未だ十分に解明されていない。一方、海外の疫学調査の成績では中年期高血圧がADの発症リスクを上昇させるとの報告が散見されるが、未だ結論はでていない。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、一般住民における高血圧と認知症の関係を検討した。

B. 研究方法

1988年の久山町循環器病健診に参加した65-79歳の認知症のない久山町住民668名を1988年11月から2005年10月まで17年間前向きに追跡し、老年期高血圧が認知症発症に与える影響を検討した。さらに同対象者の15年前の血圧値を用いて中年期高血圧と認知症発症の関係を検討した。血圧レベルは米国高血圧合同委員会の第7次報告書に基づいて分類された。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(VaD)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。

(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

追跡期間中に232名が認知症を発症し、そのう

ち 208 例 (90%) の脳を剖検あるいは CT/MRI で形態学的に調べた (115 例に剖検を, 199 例に画像診断を行った)。認知症発症例の病型別内訳は AD 123 例、VaD 76 例だった。

図 1 に示すように、1988 年に測定された老年期血圧レベルの上昇に伴い VaD 発症の相対危険は直線的に増加した (p for trend = 0.009)。正常血圧群 (<120/80 mmHg) を基準とすると、性、年齢、学歴、降圧薬内服、糖尿病、血清総コレステロール、慢性腎臓病、脳卒中既往歴、BMI、喫煙、飲酒を調整後の VaD 発症の相対危険は、前高血圧症 (120-139/80-89 mmHg) 3.0、ステージ 1 高血圧 (140-159/90-99 mmHg) 4.5、ステージ 2 高血圧 (\geq 160/100 mmHg) 5.6 であり、ステージ 1 高血圧群から有意に上昇した ($p < 0.05$)。さらに、同対象者の 15 年前の血圧値を用いて中年期高血圧と認知症発症の関係を検討したところ、VaD 発症の相対危険 (多変量調整後) は、正常血圧群に比べ、ステージ 1 高血圧群 6.0、ステージ 2 高血圧群 10.1 と有意に上昇した ($p < 0.01$)。一方、老年期および中年期高血圧と AD 発症の間に有意な関連を認めなかった。

さらに、中年期から老年期の血圧レベルの変化と脳血管性認知症発症の関係を検討した (図 2)。多変量調整後の VaD 発症の相対危険は、中年期と老年期の両時期の血圧が 140/90mmHg 未満であった群に比べ、老年期のみ 140/90mmHg 以上であった群では 3.3 倍、中年期のみ 140/90mmHg 以上であった群では 5.3 倍、中年期と老年期の両時期で 140/90mmHg 以上であった群では 4.7 倍といずれも有意に上昇していた。

D. 考察

今回の久山町の成績では、老年期および中年期高血圧は VaD 発症の有意な危険因子であった。この成績から、VaD は高血圧による脳動脈硬化を基盤に発症することがうかがえる。さらに、本研究では、中年期血圧が 140/90mmHg 以上であったものは、老年期血圧が 140/90 mmHg 未満であっても、VaD の発症リスクが高値であった。これまでの臨床研究の成績では、降圧療法が脳白室病変や細動脈病変の増悪を予防することが報告されている。しかしながら、中年期からの長期間の高血圧により脳皮質下の細動脈病変や lipohyalinosis が増悪し、一旦脳神経細胞への障害などの病変が確立してしまうと、降圧療法の効果が減弱するのかもしれない。老年期のみならず中年期からの厳格な血圧管理が、VaD の発症予防において大変重要であることを示唆するものとして興味深い。

一方、近年 AD の成因において予防や治療が可能と思われる血管障害因子の関与が指摘されている。しかしながら、本研究では、動脈硬化の最大の危険因子である高血圧は、AD 発症に明らかな

影響を及ぼさなかった。このことから、AD の発症には、脳動脈硬化以外の別の機序が作用していることが示唆される。AD 発症の危険因子の探索は、今後も重要な検討課題であろう。

E. 結論

老年期および中年期高血圧は VaD 発症の有意な危険因子であった。これらの成績は、老年期のみならず中年期からの厳格な血圧管理が、VaD の発症予防において大変重要であることを示唆している。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Doi Y, Ninomiya T, Hata J, Fukuhara M, Yonemoto K, Iwase M, Iida M, Kiyohara Y. Impact of glucose tolerance status on development of ischemic stroke and coronary heart disease in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Stroke* 41: 203-209, 2010
2. Matsushita T, Ashikawa K, Yonemoto K, Hirakawa Y, Hata J, Amitani H, Doi Y, Ninomiya T, Kitazono T, Ibayashi S, Iida M, Nakamura Y, Kiyohara Y, Kubo M. Functional SNP of ARHGEF10 confers risk of atherothrombotic stroke. *Hum Mol Genet* 19: 1137-1146, 2010
3. Hata J, Doi Y, Ninomiya T, Tanizaki Y, Yonemoto K, Fukuhara M, Kubo M, Kitazono T, Iida M, Kiyohara Y. The effect of metabolic syndrome defined by various criteria on the development of ischemic stroke subtypes in a general Japanese population. *Atherosclerosis* 210: 249-255, 2010
4. Yasuda M, Kiyohara Y, Hata Y, Arakawa S, Yonemoto K, Doi Y, Iida M, Ishibashi T. Prevalence and systemic risk factors of retinal vein occlusion in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 51: 3205-3209, 2010
5. Matsushita T, Umeno J, Hirakawa Y, Yonemoto K, Ashikawa K, Amitani H, Ninomiya T, Hata J, Doi Y, Kitazono T, Iida M, Nakamura Y, Kiyohara Y, Kubo M. Association study of the polymorphisms on chromosome 12p13 with atherothrombotic stroke in the Japanese population. *J Hum Genet* 55: 473-476, 2010
6. Nagata M, Ninomiya T, Doi Y, Yonemoto K,

- Kubo M, Hata J, Tsuruya K, Iida M, Kiyohara Y. Trends in the prevalence of chronic kidney disease and its risk factors in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Nephrol Dial Transplant* 25: 2557-2564, 2010
7. Matsuzaki T, Sasaki K, Tanizaki Y, Hata J, Fujimi K, Matsui Y, Sekita A, Suzuki SO, Kanba S, Kiyohara Y, Iwaki T. Insulin resistance is associated with the pathology of Alzheimer disease: the Hisayama Study. *Neurology* 75: 764-770, 2010
 8. Maebuchi D, Arima H, Doi Y, Ninomiya T, Yonemoto K, Tanizaki Y, Kubo M, Hata J, Matsumura K, Iida M, Kiyohara Y. QT interval prolongation and the risks of stroke and coronary heart disease in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Hypertens Res* 33: 916-921, 2010
 9. Kawamura R, Doi Y, Osawa H, Ninomiya T, Hata J, Yonemoto K, Tanizaki Y, Iida M, Makino H, Kiyohara Y. Circulating resistin is increased with decreasing renal function in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Nephrol Dial Transplant* 25: 3236-3240, 2010
 10. Sekita A, Ninomiya T, Tanizaki Y, Doi Y, Hata J, Yonemoto K, Arima H, Sasaki K, Iida M, Iwaki T, Kanba S, Kiyohara Y. Trends in prevalence of Alzheimer's disease and vascular dementia in a Japanese community: the Hisayama Study. *Acta Psychiatr Scand* 122: 319-325, 2010
 11. Yonemoto K, Doi Y, Hata J, Ninomiya T, Fukuhara M, Ikeda F, Mukai N, Iida M, Kiyohara Y. Body mass index and stroke incidence in a Japanese community: the Hisayama Study. *Hypertens Res* 34: 274-279, 2011
2. 学会発表
 1. 小原知之、清原 裕: 地域一般住民における耐糖能レベルと認知症発症の関係: 久山町研究. 第 29 回日本社会精神医学会、島根、2010. 2
 2. 清原 裕: 糖尿病と認知症<レクチャー>糖尿病療養指導に必要な知識 4. 第 44 回糖尿病学の進歩、大阪市、2010. 3
 3. 秦 淳、清原 裕: 久山町研究を基盤とした脳梗塞のゲノムワイド関連研究<シンポジウム>生活習慣病を標的とした分子疫学コホート研究の展望. 第 80 回日本衛生学会学術総会、仙台市、2010. 5
 4. 小原知之、清原 裕: 地域住民における糖尿病・耐糖能異常が認知症発症におよぼす影響: 久山町研究. 第 106 回日本精神神経学会、広島市、2010. 5
 5. 清原 裕: 認知症の疫学調査: 久山町研究<シンポジウム>血管性認知症再考. 第 25 回日本老年精神医学会、熊本市、2010. 6
 6. 小原知之、清原 裕: 地域住民における耐糖能レベルが認知症発症におよぼす影響: 久山町研究. 第 52 回日本老年医学会学術集会・総会、神戸市、2010. 6
 7. 清原 裕: 久山町研究にみる生活習慣病と栄養・食生活<特別講演>. 福岡県栄養士大会 第 36 回福岡県栄養改善学会、福岡市、2010. 9
 8. Ninomiya T, Kiyohara Y: Impact of midlife and late-life blood pressure on the development of dementia in Japanese elderly: the Hisayama Study. <poster> The 23rd scientific meeting of the international society of hypertension, Vancouver Canada, 2010
 9. 清原 裕: 認知症の疫学調査: 久山町研究<シンポジウム>認知症最前線. 第 32 回日本生物学的精神医学会、北九州市、2010. 10
 10. 二宮利治、清原 裕: 高齢者社会における高血圧管理のあり方: 久山町研究<シンポジウム>わが国の高血圧の代表的疫学コホートとその成果. 第 33 回日本高血圧学会、福岡市、2010. 10
 11. 清原 裕: 日本人の生活習慣病の実態と課題: 久山町研究<特別講演>. 第 3 回日本健康医療学会大会、東京都、2010. 10

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

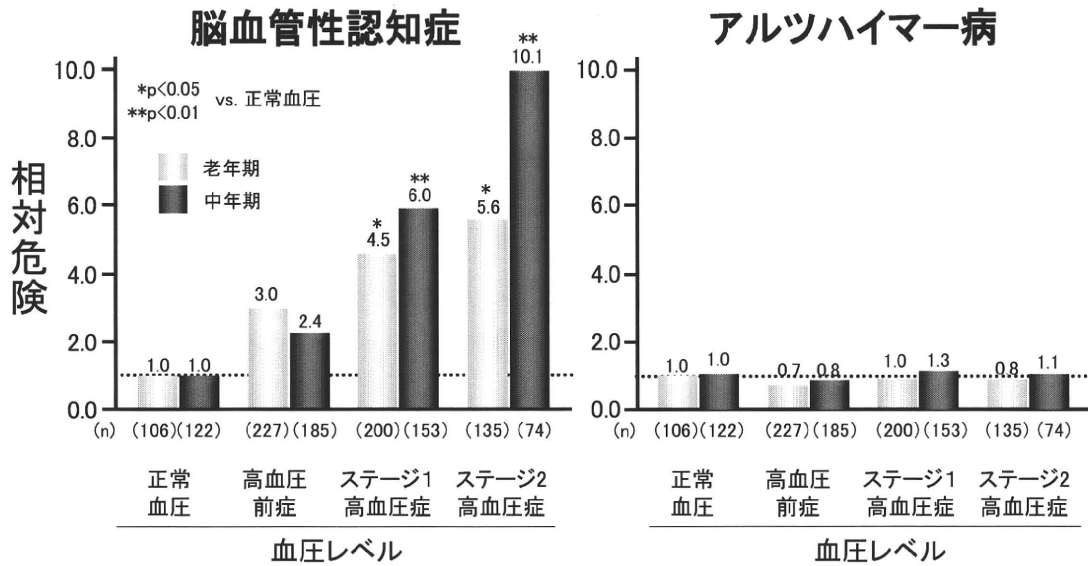


図1: 老年期および中年期血圧レベル別にみた認知症の各病型の相対危険(多変量調整)
 久山町男女668名、1988-2005(老年期): 534名、1973-2005(中年期)
 調整因子: 性、年齢、学歴、降圧薬内服、糖尿病、血清総コレステロール、慢性腎臓病、脳卒中既往、BMI、喫煙、飲酒

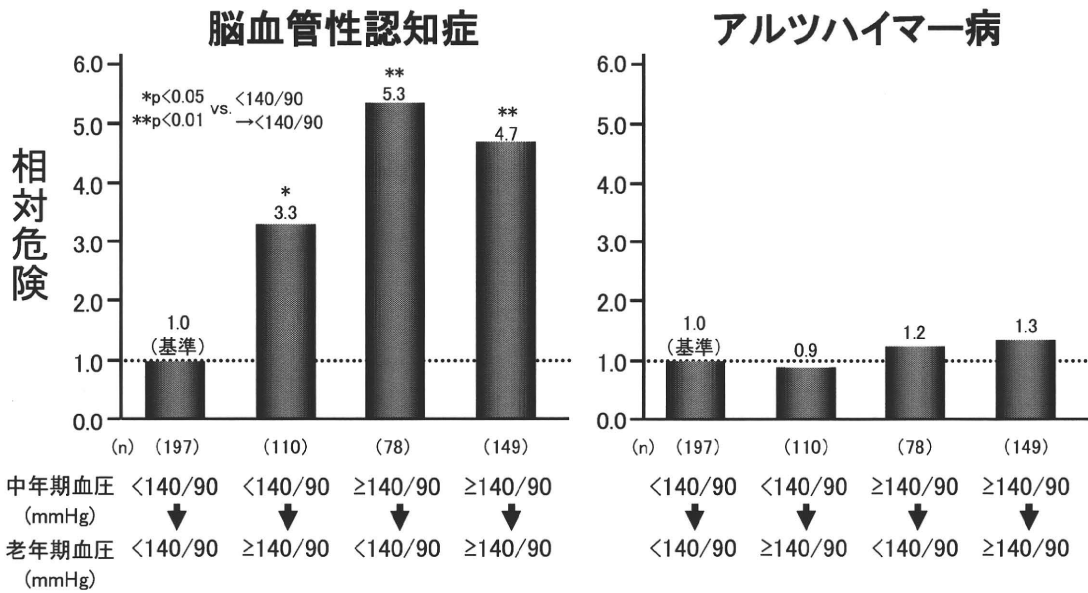


図2: 血圧レベルの変化別にみた認知症の各病型の相対危険(多変量調整)
 久山町男女534名、65-79歳、1988-2005年
 調整因子: 性、年齢、学歴、降圧薬内服、糖尿病、血清総コレステロール、慢性腎臓病、脳卒中既往、BMI、喫煙、飲酒

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

地域住民における認知症の有病率の時代的变化、
アルツハイマー病の遺伝的危険因子の解明：久山町研究

分担研究者 神庭 重信
(九州大学大学院医学研究院精神病態医学分野・教授)

研究要旨 福岡県久山町において1985年、1992年、1998年、2005年に65歳以上の住民を対象に4回の認知症の有病率調査を行った。性・年齢調整したアルツハイマー病（AD）の有病率は、時代とともに有意に増加した（1985年1.1%、1992年1.3%、1998年2.3%、2005年3.8%）。一方、脳血管性認知症（VaD）の性・年齢調整した有病率は、J-shape型を示した（それぞれ2.3%、1.5%、1.5%、2.5%）。ADに対するVaDの有病率の比は、時代とともに減少した（1985年2.1、1992年1.2、1998年0.7、2005年0.7）。以上の成績より、わが国の高齢の地域住民は、AD有病率が増加し続けているほか、減少傾向だったVaD有病率も近年、再び増加傾向にあることが示唆された。さらに2008年度より九州大学病院精神科および21の関連施設・病院の連携を構築し、ADのゲノムワイド関連解析のための血液サンプル収集を開始した。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。AD群については、対象者のみならず、代諾者からもインフォームドコンセントを取得した。2010年6月までに843例の血液サンプルを収集し、2010年7月から理化学研究所横浜研究所ゲノム医科学研究センターでゲノムワイド関連解析を開始した。また、ゲノムワイド関連解析で得られた結果の再現性研究を行うために、計5つの大学および研究機関と連携を構築し、AD群1,049例のゲノムDNAを収集した。

A. 研究目的

わが国では、高齢人口が急増しており、認知症対策が大きな問題となっている。効果的な認知症の予防には、認知症の有病率の時代的变化やその遺伝的危険因子の解明に基づいた戦略が必要である。しかし、特定の地域住民における認知症の有病率の時代的变化を調査した疫学研究はまれなうえ、2000年代までその時代的变化を調べた研究はほとんどない。また主な認知症病型であるアルツハイマー病（AD）の危険因子として確立されたものはアポリポ蛋白E ϵ 4遺伝子多型（ApoE ϵ 4）のみである。

そこで本研究では、我が国の一地域で行われた認知症の有病率調査の成績を比較し、その時代的变化について検討したほか、AD患者群と対照群を比較したゲノムワイド関連解析において、約73万ヶ所の一塩基多型を比較してADの関連遺伝子を探索し、ADの遺伝的危険因子を解明することを目的に、AD患者の血液およびゲノムDNAの収集を行った。

B. 研究方法

1. 久山町における認知症の有病率調査

福岡県久山町では1985年に65歳以上の高齢住民を対象に認知症の有病率調査が行われ、その後1992年、1998年、2005年にも同様の調査が実施された。各調査の受診者はそれぞれ887名（受診率95%）、1,189名（97%）、1,437名（99%）、1,566名（92%）であった。全ての年でほぼ同一の2段階方式の調査法がとられ、第1段階のスクリーニング調査では原則的に医師が各対象者を直接面接し、長谷川式簡易知能評価スケールなどの神経心理テストを用いて認知機能低下者を抽出した。認知症が疑われる者に対して2次調査を行い、家族あるいは主治医からの病歴聴取と神経・理学的所見より、臨床的な認知症の有無、重症度、病型を判定した。

2. ADの遺伝的危険因子の解明

2008年度に、九州大学病院精神科および21の関連施設・病院との連携を構築し、ADの血液サンプル収集を開始した。AD群は60歳以上の認知症患者のうち、病歴・画像検査・神経心理検査を

もとに再評価を行ったうえでADと診断された患者を対象とした。同意取得については、対象者のみならず代諾者にも、研究協力の任意性と撤回の自由研究目的、研究方法、個人情報の保護など全13項目で構成された文書(資料1)を用いて遺伝子研究について説明した。そして、資料2の文書を用いてインフォームドコンセントを取得したうえで血液サンプルを収集した。

またゲノムワイド関連解析で得られた結果の再現性研究を行うために、2010年5月から11月にかけて、大阪大学医学部精神科、岡山大学医学部精神科、順天堂大学医学部精神科、藤田保健衛生大学医学部精神科、長寿医学研究所と連携を構築した。AD群は上記と同様の診断基準で診断され、各施設で患者および代諾者からインフォームドコンセントを取得できた者を対象とした。

(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、理化学研究所横浜研究所ゲノム医科学研究センター、大阪大学医学部、岡山大学医学部、順天堂大学医学部、藤田保健衛生大学医学部、および長寿医学研究所、それぞれの施設における倫理委員会の承認を得て行われた。本研究は、すべての対象者および代諾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

1. 久山町における認知症有病率の時代的变化

久山町の4つの断面調査において、性・年齢調整後の認知症の有病率を病型別にみると、ADは1985年1.1%、1992年1.3%、1998年2.3%、2005年3.8%で、横ばい状態であった有病率は1998年から有意な上昇傾向を示した(図1)。一方、脳血管性認知症(VaD)の有病率は1985年2.3%、1992年1.5%、1998年1.5%と減少傾向にあったが、2005年は2.5%と上昇傾向に転じた。さらに年齢階級別にみた性調整後のADの有病率は、75歳以上の年齢層で1985年から2005年にかけて有意に増加した(図2)。一方、VaDの有病率は、80歳以上の対象者において近年増加する傾向にあった。

VaD/ADの有病率比は、1985年では2.1であったが、その後1992年1.2、1998年0.7、2005年0.7となり、時代とともにVaD優位からAD優位に変化した(図3)。

2. ADの遺伝的危険因子の解明

2010年6月までに計843例のAD患者の血液サ

ンプルを収集した。これらのサンプルからゲノムDNAが抽出され、2010年7月より理化学研究所横浜研究所ゲノム医科学研究センターでゲノムワイド関連解析が開始された。またゲノムワイド関連解析の再現性研究を行うために、2010年5月から11月にかけて、大阪大学医学部精神科から380例、岡山大学医学部精神科から322例、順天堂大学医学部精神科から206例、藤田保健衛生大学医学部精神科から33例、長寿医学研究所から108例、計1,049例のAD患者の血液から抽出されたゲノムDNAを収集した。

D. 考察

今回の久山町の成績では、1990年代後半からADの有病率が人口の高齢化を越えて(年齢調整しても)上昇傾向にあった。つまり、本研究の対象人口の高齢化は、認知症の有病率が増加した主な原因ではないと考えられる。その大きな要因として、ADの危険因子とされる糖尿病を代表とする代謝性疾患の頻度が、近年とくに高齢者で増加していることがあげられる。一方、わが国では、高血圧治療の普及によって脳卒中の発症リスクが減少傾向にあり、それを反映して久山町では1990年代までVaDの有病率も減少傾向にあったと推測される。しかし、2000年代に入りVaDの有病率が再び上昇傾向に転じた背景にも、やはり代謝性疾患の増加があることが示唆される。また、本研究によって、ADの遺伝的危険因子が解明されると考えられる。その成果は、ADをはじめとする認知症の病態解明と治療法の飛躍的進歩とともに、認知症の予防手段の確立を通して保健・医療・福祉の向上をもたらし、とくに高齢者医療費の削減につながると期待される。

E. 結論

最近20年間でADの有病率は有意に上昇した。またゲノムワイド関連解析用にAD群843例の血液サンプルを、その再現性研究用にAD群1,049例のゲノムDNAを収集した。

F. 健康危険情報

我が国のAD有病率は増え続けている。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sekita A, Ninomiya T, Tanizaki Y, Doi Y, Hata J, Yonemoto K, Arima H, Sasaki K, Iida M, Iwaki T, Kanba S, Kiyohara Y. Trends in prevalence of Alzheimer's disease and vascular dementia in a Japanese community: the Hisayama Study. *Acta Psychiatr Scand.* 2010; 122: 319-325

2. Yoshiura K, Hiwatashi A, Yamashita K, Ohyagi Y, Monji A, Takayama Y, Kamano N, Kawashima T, Kira JI, Honda H. Deterioration of abstract reasoning ability in mild cognitive impairment and Alzheimer's Disease: correlation with regional grey matter volume loss revealed by diffeomorphic anatomical registration through exponentiated lie algebra analysis. European Radiology 2010 (in press)

2. 学会発表

1. 小原知之, 関田敦子, 土井康文, 谷崎弓裕, 秦淳, 二宮利治, 清原 裕, 神庭重信: 地域一般住民における耐糖能レベルと認知症発症の関係: 久山町研究. 第 29 回日本社会精神医学会, 松江市, 2010. 2

2. 小原知之, 関田敦子, 門司 晃, 清原 裕, 神庭重信: 地域住民における糖尿病/耐糖能異常が認知症発症におよぼす影響: 久山町研究. 第 106 回日本精神神経学会, 広島市, 2010. 5

3. 小原知之, 土井康文, 二宮利治, 谷崎弓裕, 秦淳, 福原正代, 清原 裕: 地域住民における耐糖能レベルが認知症発症におよぼす影響: 久山町研究. 第 52 回日本老年医学会, 神戸市, 2010. 6

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

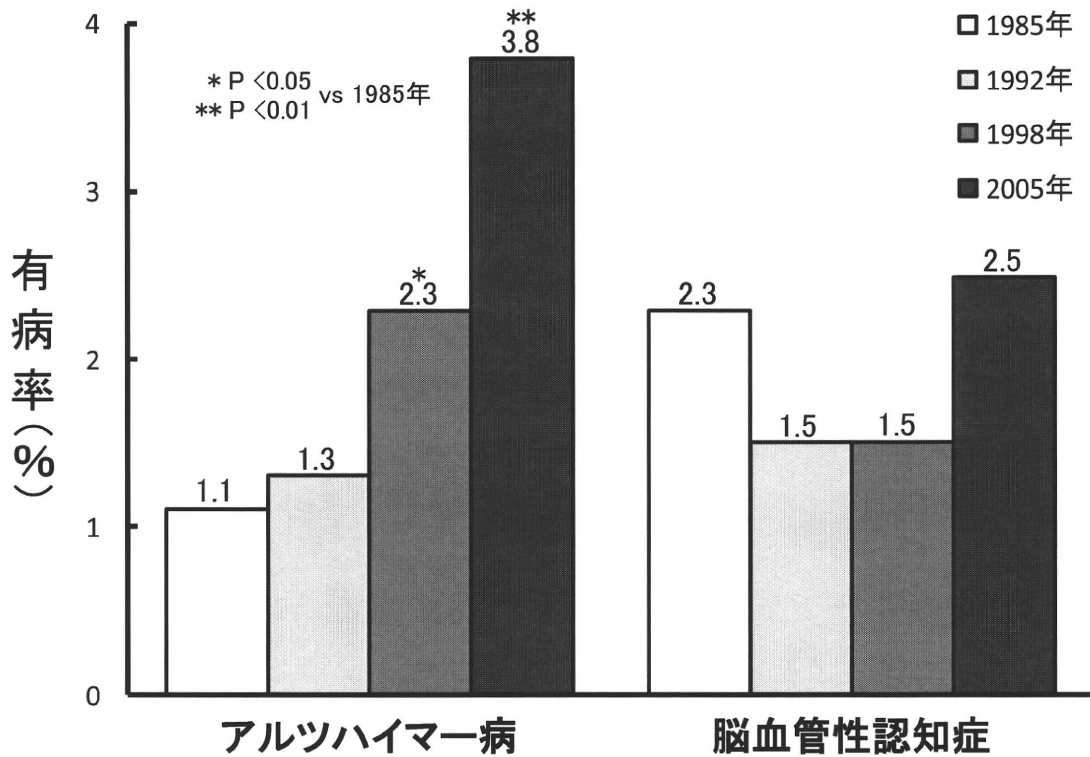


図1: 病型別認知症の有病率の時代的推移
久山町4集団の断面調査、65歳以上、男女、性・年齢調整

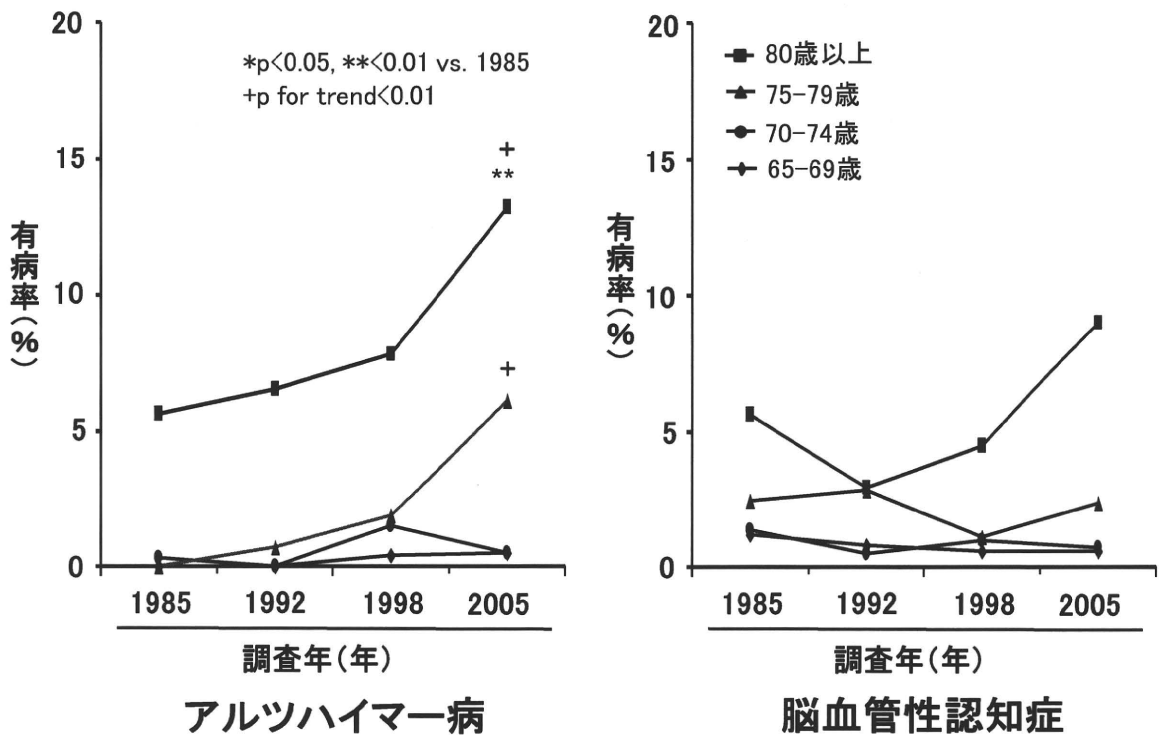


図2: 年齢階級別にみた病型別認知症の有病率の時代的推移
久山町4集団の断面調査、65歳以上、男女、性齢調整

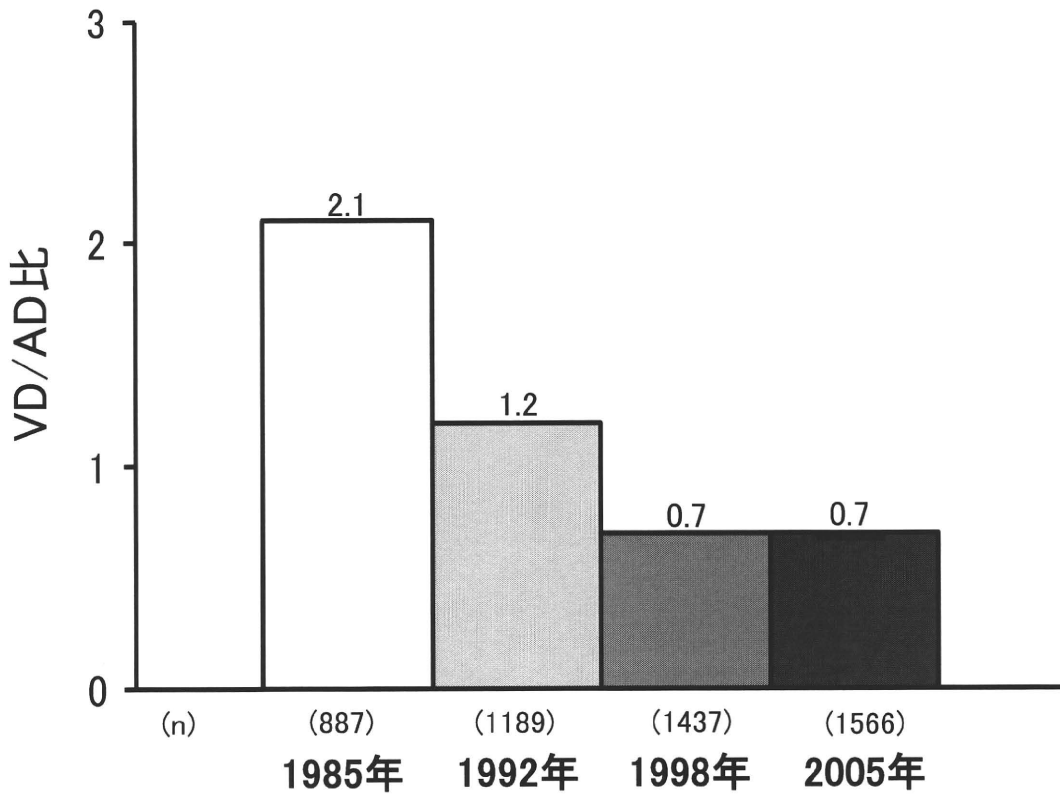


図3:脳血管性認知症/アルツハイマー病(VD/AD)比の時代的变化
 久山町4集団の断面調査、65歳以上、男女、性・年齢調整

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

脂質代謝異常症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脂質代謝異常との関連について検討した。検診データは空腹時採血により、総コレステロール、中性脂肪、HDL-C の値を測定した。その結果、総コレステロール値は、老人斑が出現している群で有意に上昇していた。総コレステロール値と LDL-C 値が一定の値を超えると老人斑形成のリスクが有意に高まった。一方、各脂質関連因子と神経原線維変化においては有意な関連を見いだせなかった。昨年度の研究成果と合わせて、生活習慣病関連因子である耐糖能異常や脂質代謝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る。

A. 研究目的

生活習慣病関連因子が認知症、特にアルツハイマー病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。生活習慣病関連因子として、高血圧、耐糖能異常、脂質代謝異常の3つが主要な因子であり、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有意な危険因子であることを明らかにしてきた。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神経変性疾患であり、昨年度に引き続き老人斑と神経原線維変化の蓄積にインスリン抵抗性が関与する可能性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、その成果を学術誌に発表した (Neurology, 2010)。続いて脂質代謝異常とアルツハイマー病の病理所見、特に老人斑の蓄積に焦点を当てた研究を推進した。これまでコレステロールとアルツハイマー病との関連について、数多くの疫学研究が報告されているが、その結果はコレステロールが高値であると、アルツハイマー病のリスクを上昇させる、または減少させる、あるいは相関なしと様々である (表1)。さらにコレステロールとアルツハイマー病の病理所見の関連について報告した研究はほとんどない。そこで本年度は耐糖能異常との関連を調べたこれまでの研究と同様の手法を用いて脂質代謝異常との関連について統計学的解析を行った。

表1 コレステロールとアルツハイマー病の関係

Notkola et al.	Neuroepidemiology	リスクを 上昇
Pappolla et al.	Neurology	
Romas et al.	Neurology	リスクを 減少
Reitz et al.	Arch Neurol.	
Mielke et al.	Neurology	
Hall et al.	Neurology	相関無し
Tan et al.	Arch. Intern. Med.	
Li et al.	Neurology	

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例のうち、他院剖検例、検討不能例を除いて連続剖検例が211例あり、解剖率は約73%であった。そのうち、1988年の久山町住民健診を受診し、かつ中性脂肪に対する食事の影響を除外するため空腹時採血を受診した147例を対象とした。

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。脂質関連因子として、総コレステロール、LDL コレステロール、HDL コレステロール、中性脂肪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。LDL コレステロールの値は Friedewald の式 (LDL コレステロール = 総コレステロール - HDL コレステロール - 中性脂肪/5) にて算出し

た。解析の際の調整因子として、性、年齢、収縮期血圧、空腹時血糖、空腹時インスリン、BMI、喫煙、運動、脳血管障害を用いた。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シング法にて決定し、APOE ε 4 の有無も調整因子として加えて解析した。

C. 研究結果

総コレステロール、LDL コレステロール、HDL コレステロール、中性脂肪の CERAD 別平均値 (mg/dL) を性、年齢調整をして共分散分析 (ANCOVA) をした結果を表 2 に示す ($\dagger P < 0.10$, $*P < 0.05$ vs none)。総コレステロールと LDL コレステロール平均値は老人斑なし (none) に比べると老人斑が出現すると上昇しており、一方 HDL コレステロールの平均値は、老人斑なし (none) と比較して、老人斑が出現すると低下していた。調整因子を増やした多変量解析 (性、年齢、収縮期血圧、空腹時血糖、空腹時インスリン、BMI、喫煙、運動、脳血管障害、APOE) でも同様の結果が得られた。

表 2. 老人斑	none	sparse	moderate	frequent
総コレステロール	188.4	211.5*	218.9*	205.8 \dagger
LDL コレステロール	118.0	137.0 \dagger	148.2*	133.7 \dagger
HDL コレステロール	52.7	48.5	51.5	47.4 \dagger
中性脂肪	89.3	116.1 \dagger	88.4	108.7 \dagger

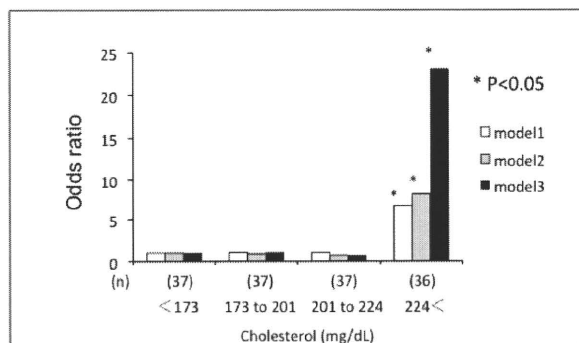
ついで none 対 sparse、moderate、frequent と老人斑の有無の 2 段階に分けて、各脂質関連因子の値を数値順に並べ、n の数が均等になるように 4 群に分け、値が最も低い群を 1 とし、老人斑のリスクについて、ロジスティック解析によりオッズ比を算出した。総コレステロールでは、値の最も低い群と比べると、最も高い群 (224mg/dL 以上) でオッズ比は急上昇し、多変量解析後も、有意な差を認めた (図 1)。モデル 1 が性年齢調整、モデル 2、3 が多変量解析の結果である (Model 2: Model 1 + 収縮期血圧、空腹時血糖、空腹時インスリン、BMI、喫煙、運動、脳血管障害調整; Model 3: Model 2 + APOE4 キャリア調整)

LDL コレステロールでも同様に最も高い群 (156mg/dL 以上) で、オッズ比が急上昇した。HDL コレステロールでは、値が 40mg/dL 以上に上昇した群で、オッズ比が低下したが、多変量解析後は有意差がなくなった。中性脂肪でも最も高い群 (139mg/dL 以上) でオッズ比が上昇したが、有

意差は認めなかった。

一方、脂質代謝関連遺伝子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 と比較して有意差のある値はみられず、多変量解析でも同様に有意な関連はみとめなかった。

図 1. コレステロールの4分位毎の老人斑に対するオッズ比



D. 考察

昨年度から継続して耐糖能異常が主に老人斑の形成に関与することを明らかにし、その成果を学術誌に発表した (Neurology, 2010)。本年度は脂質代謝異常とアルツハイマー病の病理所見、特に老人斑の蓄積に焦点を当て、以下の成果を得た。

(1) 血清総コレステロールと LDL コレステロールは老人斑と有意な関連を認めた。(2) 総コレステロール値が一定の値を超えた時に老人斑形成のリスクが急上昇する傾向を認めた。

脳内のコレステロール代謝に関わるアポリポ蛋白 E は老人斑に沈着すると共に、その遺伝子多型がアルツハイマー病の強力な危険因子である事が知られている。しかも血液中と脳内のコレステロール代謝は、血液脳関門により隔絶されていて、脳内のコレステロールは血清コレステロールとは別の代謝・輸送系を有している。今回得られた血清脂質代謝異常と老人斑との関連を分子レベルで解明するためには脂質代謝異常症が脳内の脂質代謝に及ぼす影響を合わせて検討する事が必要であり、今後の課題である。

これまでのアルツハイマー病の脳病変に重点を置いた研究の成果として、生活習慣病関連因子である耐糖能異常や脂質代謝異常の両方が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を示した。耐糖能異常と脂質代謝異常の予防および改善といった介入がアルツハイマー病の発症リスクを実際にどの程度軽減できるかを疫学研究で明らかにすることが重要な目標となる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Matsuzaki T, Sasaki K, Tanizaki Y, Hata J, Fujimi K, Matsui Y, Sekita A, Suzuki SO, Kanba S, Kiyohara Y, Iwaki T. Insulin resistance is associated with the pathology of Alzheimer's disease: the Hisayama Study. *Neurology* 2010; 75(9); 764-770
 2. Sekita A, Ninomiya T, Tanizaki Y, Doi Y, Hata J, Yonemoto K, Arima H, Sasaki K, Iida M, Iwaki T, Kanba S, Kiyohara Y. Trends in prevalence of Alzheimer's disease and vascular dementia in a Japanese community: the Hisayama study. *Acta Psychiatr. Scand.* 2010; 122(4); 319-325
2. 学会発表
1. 佐々木健介、岩城徹. 久山町疫学調査と神経病理. 第 51 回日本神経病理学会, 東京, 2010. 04. 24.
 2. 松崎尊信、佐々木健介、秦淳、藤見恒平、松井幸子、関田敦子、谷崎弓裕、鈴木諭、清原裕、岩城徹. 脂質代謝異常とアルツハイマー病の病理所見との関連. 第 51 回日本神経病理学会, 東京, 2010. 04. 24.
 3. Matsuzaki T, Sasaki K, Hata J, Fujimi K, Matsui Y, Sekita A, Tanizaki Y, Suzuki SO, Kiyohara Y, Iwaki T. Association of Alzheimer disease pathologies with abnormal lipid metabolism. the XVIIth International Congress of Neuropathology オーストリア, 2010.09.
 4. Suzuki SO, Matsuoka T, Suenaga T, Iwaki T, Kira J. Aquaporin-4 astrocytopathy in Balo's disease, neuromyelitis optica, and multiple sclerosis in Asians. the XVIIth International Congress of Neuropathology オーストリア, 2010.09.
 5. Harada S, Suzuki SO, Seki Y, Nakamura S, Iwaki T. The neurodegenerative process of the mouse trigeminal motor nucleus after nerve injury. the XVIIth International Congress of Neuropathology オーストリア, 2010.09.
 6. Shibano S, Sasaki K, Kidoaki S, Iwaki T, Detection of prion-protein oligomers by single molecule fluorescence imaging. the XVIIth International Congress of Neuropathology オーストリア, 2010.09.
 7. Sasaki K, Shibano S, Sonoda E, Iwaki T, Effect of therapeutic drugs on prion protein polymerization in a prion-infected cell line. the XVIIth International Congress of Neuropathology オーストリア, 2010.09.
 8. Omoto M, Suzuki SO, Ikeuchi T, Kobayashi T, Tsuboi Y, MD, Ogasawara J, Koga M, Kawai M, Iwaki T, Kanda T. Tauopathy with intronic 10+14 splice site tau gene mutation mimicking Perry syndrome. the XVIIth International Congress of Neuropathology オーストリア, 2010.09.
 9. 岩城徹. 認知症の病理疫学研究: 久山町研究. 第 38 回臨床神経病理懇話会, 第 1 回日本神経病理学会中国四国地方会 山口県宇部市, 2010. 10. 30.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし