

201311009A

厚生労働科学研究費補助金  
認知症対策総合研究事業

大規模ゲノム疫学共同研究による認知症の  
危険因子および防御因子の解明

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 清原 裕  
平成26(2014)年 3月

厚生労働科学研究費補助金  
認知症対策総合研究事業

大規模ゲノム疫学共同研究による認知症の  
危険因子および防御因子の解明

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 清原 裕  
平成26（2014）年 3月

# 目 次

はじめに-----	1
<b>I. 総括研究報告</b>	
大規模ゲノム疫学共同研究による認知症の危険因子および防御因子の解明-----	2
清原 裕 (九州大学大学院医学研究院環境医学分野・教授)	
<b>II. 分担研究報告</b>	
1. 地域住民における老年期および中年期の喫煙と認知症発症の関係：久山町研究--	6
清原 裕 (九州大学大学院医学研究院環境医学分野・教授)	
小原 知之 (九州大学大学院医学研究院精神病態医学・助教)	
2. 久山町剖検例における認知症の病理学的検討-----	13
岩城 徹 (九州大学大学院医学研究院神経病理学分野・教授)	
3. 認知症，特にアルツハイマー病の遺伝的危険因子の検討-----	21
久保 充明 (理化学研究所統合生命医科学研究センター・副センター長)	
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-----	27
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. 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-----	30
内田 和宏 (中村学園大学短期大学部食物栄養学科・講師)	
6. 認知機能低下の生活習慣要因(ライフスタイルマーカー)に関する研究： 臨床前認知機能評価における体力指標の有用性-----	33
熊谷 秋三 (九州大学基幹教育院・大学院人間環境学府 キャンパスライフ・健康支援センター・教授)	
7. 大規模疾患コホート研究における認知症の疫学調査-----	36
北園 孝成 (九州大学大学院医学研究院病態機能内科学・教授)	
8. 地域高齢住民を対象とした認知症データベースの形成-----	37
朝田 隆 (筑波大学大学院医学医療系臨床医学域精神医学・教授)	
中島 健二 (鳥取大学医学部医学科脳神経医科学講座脳神経内科学分野・教授)	
山田 正仁 (金沢大学大学院医学系研究科脳老化神経病態学・教授)	
目黒 謙一 (東北大学大学院医学系研究科高齢者高次脳医学寄附講座・教授)	
清原 裕 (九州大学大学院医学研究院環境医学分野・教授)	
<b>III. 研究成果の刊行に関する一覧表</b> -----	43
<b>IV. 研究成果の刊行物・別刷</b> -----	50

## はじめに

超高齢社会を迎えたわが国では、急増する認知症患者が大きな医療・社会問題となっている。認知症の予防対策を講じるには地域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必要がある。しかし、現在のところ日本人における認知症の危険因子はほとんど解明されていないのが実状である。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り、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、アルツハイマー病（AD）をはじめ認知症の有病率・発症率の時代的变化を明らかにし、その危険因子および防御因子を包括的な健診項目の中より解明する。そしてゲノム解析およびマイクロアレイ解析によって認知症、特にADの遺伝的危険因子を特定する。また、血管性認知症（VaD）のリスクが高い脳卒中患者とADのリスクが高い糖尿病患者を対象にした大規模疾患コホートの解析と久山町の一般住民の追跡データを合わせた解析により、短期間に認知症の危険因子・防御因子を明らかにする。さらに認知症の疫学研究を行っている全国5つの研究グループから構成されるコンソーシアムを組織し、地域住民における軽度認知障害および認知症のデータベースを統合してデータバンクを形成し、日本人における認知症の危険因子および防御因子を特定することも大きな目標である。

本年度の研究成果により、中年期および老年期の喫煙が認知症、特にAD発症の有意な危険因子であることが明らかとなった。病理学的検討では、時代とともにVaDの頻度が減少する一方でADの頻度が有意に増加しており、特に男性でその傾向が強かった。さらに、久山町高齢者の断面調査において、ビタミンB群の中でも葉酸の摂取が多い群では、認知機能低下のリスクが有意に低かった。また、握力や5m歩行速度などの体力指標は認知機能のライフスタイルマーカーとして有用であることが示唆された。大規模疾患コホートおよび認知症データバンクについては、各研究における基礎的な調査が完了した。

今後、久山町における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だけでなく、大規模疾患コホートにおける追跡調査や認知症データバンクを作成するためのデータセット作成を推し進め、日本人における認知症の危険因子および防御因子を解明していく所存である。そして、その成果が認知症の予防手段の確立を通して国民の保健・医療・福祉の向上をもたらし、特に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（認知症対策総合研究事業）  
大規模ゲノム疫学共同研究による認知症の危険因子および防御因子の解明  
総括研究報告書

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年の循環器病健診で75g経口糖負荷試験を受けた認知症のない高齢者を15年間追跡した結果、老年期の現在喫煙群におけるアルツハイマー病(AD)および血管性認知症(VaD)発症のハザード比はそれぞれ上昇傾向にあるも有意でなかった。一方、この集団が15年前の健診を受診した際の中年期の喫煙と老年期における認知症発症の関係を検討すると、中年期の喫煙は老年期のAD発症の有意な危険因子だった。さらに、中年期から老年期にかけての喫煙レベルの変化と認知症発症の関係を検討した結果、中年期と老年期ともに非喫煙であった群を基準とすると、中年期と老年期ともに喫煙していた群におけるADおよびVaDの発症リスクはいずれも有意に高かった。一方、中年期は喫煙していたが老年期は非喫煙であった群と認知症発症の関連は明らかでなかった。

また、久山町において1986年から2013年までの連続剖検1,206例中の認知症352例について、認知症病型の時代的变化を検討した。その結果、時代とともにVaDの頻度が低下する一方でADの頻度が有意に増加しており、特に男性でその傾向が強かった。さらにタウ蛋白陽性病変を定量化する解析プログラムでBraak stageとの相関を検討した結果、海馬CA1領域におけるタウ蛋白陽性病変の総面積はBraak stageが重度になるほど有意に増加した。

遺伝的危険因子の検討では、ゲノムワイド関連解析で同定されたAD関連遺伝子の再現性研究で有意な関連を認めたAPOEとPICALM遺伝子多型が認知症発症に及ぼす影響を検討した。認知症がなく遺伝子研究の同意を得た久山町高齢住民1,554名を10年間追跡した結果、APOE-ε4遺伝子型はAD発症の有意な危険因子であった。一方、PICALM遺伝子多型は、AD、VaDともにリスクは上昇傾向にあるも、統計学的に有意ではなかった。また、久山町連続剖検脳海馬からRNAを抽出し、最新のマイクロアレイを用いて遺伝子発現レベルとスプライシングについての統合解析を開始した。さらに3xTg-ADマウスを用いた実験から、ミトコンドリア機能障害が認知機能障害と全身のインスリンシグナリング異常に関与することが強く示唆された。ミトコンドリア機能障害とAD変化の機序を解明するために、iPS由来神経細胞がADのモデル細胞として有用であることが明らかとなった。

食習慣に関する検討において、2005年の久山町高齢者に参加した1,133名の高齢住民を対象とした断面調査の結果、ビタミンB群の中でも葉酸の摂取量が多い群では、認知機能低下のリスクが有意に低かった。運動に関する検討では、握力、脚進展力、椅子立ち上がり速度、5m歩行速度、および開眼片足立ち時間による体力指標が認知機能のライフスタイルマーカーとして有用であることが示唆された。

大規模疾患コホート研究である脳卒中患者からなるコホート(Fukuoka Stroke Registry: FSR)ならびに糖尿病患者からなるコホート(Fukuoka Diabetes Registry: FDR)のデータを整備した結果、FSRは既登録者における認知症の発症調査が困難であることが、FDRは既登録者の一部に対して登録時に認知機能を評価していたことが判明した。そこでFSRは新規対象者のうち、脳梗塞発症前に認知症がなく、脳梗塞発症後も高次脳機能障害がない者の追跡調査を、FDRは上記対象者の追跡調査を開始した。

わが国における認知症データバンクを作成するために全国5カ所で進行中の認知症疫学研究を組織化した。各研究の調査内容を調べたところ、生活習慣病関連因子、調査期間、および調査回数にばらつきが認められたうえ、対象者の一部に介入研究を行っている研究もあった。さらに、筑波大学が利根町で過去5回施行した調査内容を検討した結果、調査時によって調査項目が微妙に異なることが明らかとなった。

今後、高血圧や糖尿病などの生活習慣病、運動、および食事性因子などの環境因子に遺伝的要因を加えるだけでなく、大規模疾患コホートの追跡調査や認知症データバンクの形成を推し進め、包括的に認知症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：

岩城 徹	(九州大学大学院医学研究院 神経病理学分野・教授)
久保 充明	(理化学研究所統合生命医科学研究センター・副センター長)
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)
内田 和宏	(中村学園大学短期大学部食物栄養科・講師)
熊谷 秋三	(九州大学基幹教育院・大学院人間環境学府・キャンパスライフ・健康支援センター・教授)
北園 孝成	(九州大学大学院医学研究院病態機能内科学・教授)
朝田 隆	(筑波大学医学医療系臨床医学域精神医学・教授)
中島 健二	(鳥取大学医学部医学科脳神経医科学講座脳神経内科学分野・教授)
山田 正仁	(金沢大学大学院医学系研究科脳老化神経病態学・教授)
目黒 謙一	(東北大学大学院医学系研究科高齢者高次脳医学寄附講座・教授)
小原 知之	(九州大学大学院医学研究院精神病態医学分野・助教)

### 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。本年度は、久山町における認知症の疫学調査において、老年期および中年期の喫煙と認知症発症の関係と病理診断に基づく認知症病型の頻度の時代的变化を検討した。遺伝的危険因子の検討では、アルツハイマー病(AD)の遺伝的危険因子が認知症発症に及ぼす影響を明らかにするとともに、最新のマイクロアレイを用いた解析を開始した。そして、食事性因子または体力指標と認

知機能との関係を検討した。さらに、血管性認知症(VaD)のリスクが高い脳卒中患者とADのリスクが高い糖尿病患者を対象にした大規模疾患コホートにおける認知症発症者を特定するためのデータ整備を行ったほか、わが国における認知症データバンクを形成するために、全国5つの地域で進行中の認知症の疫学研究を組織化した。

### B. 研究方法

1988年に久山町循環器健診を受診した65-84歳の住民のうち、75g経口糖負荷試験を受けた認知症のない712名を1988年から2003年までの15年間前向きに追跡し、老年期の喫煙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年前の喫煙情報を用いて中年期の喫煙と認知症発症の関係を検討した。喫煙レベルは、喫煙なし群、過去喫煙群、現在喫煙群の3群に分類した。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と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)の診断基準と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(清原, 小原)。

また、久山町において1986年から2013年までの連続剖検1,206例のうち、認知症連続剖検352例について、病理診断に基づく各認知症別の頻度の時代的变化を検討した。病理診断にはHE染色とKlüver-Barrera染色に加えて、Bielschowsky変法およびリン酸化タウ蛋白免疫染色(AT8抗体)とA $\beta$ タンパク免疫染色を行った。ADの病理学的

評価については、老人斑の評価は CERAD criteria に、神経原線維変化は、Braak and Braak の分類に基づいて行った。レビー小体型認知症は 2005 年改訂の臨床・病理診断基準を用いた。脳血管障害についての病理学的評価については、臨床症状の有無にかかわらず、肉眼的および顕微鏡的な観察により、すべてのタイプの脳梗塞および脳出血を評価した。さらに、リン酸化タウ蛋白陽性病変を定量的に評価するために MATLAB で色空間変換、K-means クラスタリングを組み合わせた画像解析アルゴリズムを作成し、海馬 CA1 のリン酸化タウ蛋白陽性病変の定量的データ（面積）と Braak stage との相関関係を検討した（岩城）。

遺伝的危険因子の検討では、ゲノムワイド関連解析で同定された AD 関連遺伝子の再現性研究で日本人 AD 患者と有意な関連を認めた APOE と PICALM 遺伝子多型が認知症発症に及ぼす影響を検討した。対象は 2002 年の久山町循環器健診を受診した 60 歳以上の住民のうち、認知症がなく遺伝子研究に同意し、空腹時採血であった 1,554 名であり、この集団を 10 年間前向きに追跡した。認知症、AD、および VaD の臨床診断は、それぞれ DSM-III-R, NINCDS-ADRDA, NINDS-AIREN の診断基準を用いた。なお、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。また、遺伝子解析には multiplex PCR-based Invader assay を用い、本遺伝子解析における全 call 率は 99.6% だった（久保）。

久山町住民の剖検脳のうち、海馬の新鮮凍結検体 18 例から RIN6.9 以上の High quality の RNA を抽出し、GeneChip® Human Transcriptome Array (HTA2.0) を用いて計 67,539 個の遺伝子を対象に遺伝子発現レベルと選択的スプライシングの統合解析を開始した。また、AD モデル動物（変異型マウス *Ps1* 遺伝子、ヒトの変異型 APP および TAU トランスジーンを持つ 3xTg-AD マウス）とヒトミトコンドリア転写因子 TFAM トランスジーン (hTFAM) を導入した 3xTg-AD マウスの認知障害とインスリンシグナリングへの影響を解析するほか、AD 発症の機序を細胞レベル

で解明するためにヒト iPS 細胞を用いた実験を開始した（中別府）。

ビタミン B6、ビタミン B12、および葉酸の摂取と認知機能との関係を検討するために 2005 年の久山町高齢者調査に参加した 65 歳以上の住民のうち、2002 年の循環器健診で栄養調査を受けた 1,133 名の成績を用いた。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) 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定義した。また、食事調査は自記式食事歴法調査票を用い、ビタミン B6、B12 および葉酸の摂取量は残差法でエネルギー調整した（内田）。

運動に関しては、認知機能評価における体力指標の有用性を検討した。対象は 2011 年に福岡県篠栗町の篠栗元気もん調査に参加し、認知症、うつ症状、およびパーキンソン病などがなく、日常生活が自立している 65 歳以上の住民 1,445 名であり、認知機能は日本語版 Montreal Cognitive Assessment (MoCA-J) で評価した。また、同対象者に体力指標として握力、脚進展力、椅子立ち上がり速度、5m 歩行速度、および開眼片足立ち時間を測定した（熊谷）。

VaD のハイリスク群である脳卒中患者のコホート研究である福岡脳卒中データベース研究 (Fukuoka Stroke Registry: FSR) と、AD のハイリスク群である糖尿病患者のコホート研究である福岡県糖尿病データベース研究 (Fukuoka Diabetes Registry: FDR) において、新規に認知症を発症した症例を特定し、久山町健常住民を対照群として、認知症発症の危険因子と防御因子を明らかにするためのデータ整備を行った（北園）。

さらに、わが国における認知症データバンクを作成するために全国 5 カ所で進行中の認知症疫学研究を組織化した。各組織の既存データを経時的に整理し、内容の異なる既存のデータを統一された方法で再整理して全国規模のデータベースを作成するために、各研究の基礎的データを調査した（朝田、山田、中島、目黒、清原）。

(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、対象者の個人情報へ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

1988年の久山町循環器病健診に参加した認知症のない高齢住民を15年間追跡した結果、202名の認知症発症をみた。非喫煙群を基準にすると、老年期の現在喫煙群におけるADおよびVaD発症のハザード比(多変量調整)はいずれも上昇傾向にあるも有意な関係は認めなかった。この集団が15年前の健診を受診した際の中年期の喫煙と老年期の認知症発症との関係を検討すると、中年期の喫煙は老年期のAD発症の有意な危険因子であった。一方、老年期および中年期の過去喫煙群と認知症発症との関係はいずれも有意でなかった。さらに、中年期から老年期にかけての喫煙レベルの変化と認知症発症との関係を検討した。その結果、中年期と老年期ともに非喫煙であった群を基準にすると、中年期と老年期ともに喫煙していた群におけるADおよびVaDの発症リスクはいずれも有意に上昇した。一方、中年期は喫煙していたが老年期は非喫煙であった群と認知症発症の関連は明らかではなかった(清原, 小原)。

また、久山町の認知症連続剖検例における認知症病型の頻度の時代的変化を検討すると、時代とともにVaDの頻度は低下する一方、ADの頻度が有意に増加していた。男女別にみると、男性は調査当初VaDが最も多かったが、2000年代からAD優位に変化し、近年、特にADの頻度増加が顕著だった。一方、女性では、ADの頻度が時代を通じて最も高いうえ、その頻度は時代とともに増加した。さらに、Matlabを用いた定量的データ解析プログラムで異常タウ蛋白質の蓄積を定量化し、Braak

stageとの相関を検討した結果、海馬CA1領域のタウ陽性病変の総面積はBraak stageが重度になるほど有意に増加した(岩城)。

遺伝的危険因子の検討では、2002年の久山町循環器病健診に参加した認知症のない高齢住民を10年間追跡した結果、339名の認知症発症をみた。APOE- $\epsilon$ 4の有無別に認知症の危険因子の平均値と頻度を比較したところ、APOE- $\epsilon$ 4陰性群と比べてAPOE- $\epsilon$ 4陽性群は総コレステロール、Non HDLコレステロール、およびLDLコレステロール値と飲酒の頻度が有意に高かった。一方、PICALM遺伝子多型は、認知症危険因子の平均値や頻度に明らかな差は認めなかった。多変量解析でその他の危険因子を調整した結果、APOE- $\epsilon$ 4遺伝子型はAD発症の独立した有意な危険因子であり、VaD発症との関連はなかった。一方、PICALM遺伝子多型は、AD、VaDともにリスクは上昇傾向にあるも、統計学的に有意ではなかった(久保)。

マイクロアレイ解析に関しては、久山町連続剖検脳海馬からRNAを抽出し、最新のマイクロアレイを用いて遺伝子発現レベルとスプライシングについての統合解析を開始した。また、3xTG-ADとhTFAMを導入した3xTG-AD/hTFAMマウスのモリス水迷路の解析から、hTFAMの発現により短期記憶維持機能と学習機能が有意に改善することを認めた。さらに、肥満の傾向がある3xTG-ADマウスにおいて、3xTG-AD/hTFAMマウスでは肥満が有意に改善していた。一方、ヒトiPS細胞由来の神経細胞に変異型*PSEN1 (L381V)*遺伝子を導入することでアミロイドベータの産生増加と*PCSK1* mRNAの発現低下が再現されたことから、このiPS由来神経細胞がADのモデル細胞として有用なことが明らかとなった(中別府)。

食事性因子の検討では、ビタミンB6および葉酸摂取量の増加に伴いMMSE低下のリスクは有意に低くなる傾向が認められたが、ビタミンB12摂取との関連は明らかでなかった。一方、ビタミンB6およびビタミンB12の摂取とHDS-Rの間に有意な関連は認めなかったが、葉酸摂取量の増加に伴



い HDS-R 低下のリスクは低くなる傾向があった。葉酸の摂取量と食品摂取との関連を検討すると、葉酸の摂取量が多い群では、野菜、藻類、魚介類、果実類、きのこ類、および乳・乳製品の摂取量が有意に多く、米類とアルコールの摂取が有意に少なかった（内田）。

認知機能評価における体力指標の有用性についての検討では、多変量解析でその他の危険因子を調整しても握力、脚進展力、椅子立ち上がり速度、5m 歩行速度、および開眼片足立ち時間はいずれも MoCA-J の点数と正の関連が認められた（すべての  $p < 0.01$ ）（熊谷）。

FSR の既登録者において、既存の調査内容を検討したところ、認知機能評価や認知症の新規発症情報が不十分であり、既登録者の認知症発症調査は困難であると判断した。そこで FSR の新規登録者のうち、脳梗塞発症前に認知症がなく、脳梗塞発症後も高次脳機能障害がない者を対象に IQCODE を用いた認知症の追跡調査を開始した。また、FDR の調査内容を調べた結果、既登録者の一部に対して、登録時に認知機能評価を施行していたことが判明した。そこで FDR はこれらの対象者の追跡調査を開始した（北園）。

認知症の疫学調査を行っている全国 5 つの研究における調査内容を調べた結果、認知症、軽度認知障害、うつ症状、および ADL 障害の診断基準や生活習慣（喫煙、飲酒、運動）については、研究間で共通している点が多かった。一方、高血圧、糖尿病などの生活習慣病関連因子、調査期間、および調査回数に研究間でのばらつきが認められた。また、利根町、中島町、および大崎市では、一部の対象者に介入研究を行っていた。さらに、利根町で計 5 回施行した調査内容を詳細に検討したところ、調査時によって調査内容が微妙に異なることが判明した（朝田、中島、山田、目黒、清原）。

#### D. 考察

今回の久山町の成績では、老年期および中年期の喫煙は認知症、特に AD 発症の有意な危険因子

であった。また、中年期と老年期ともに喫煙していた群では、AD と VaD 発症のリスクがいずれも有意に上昇した。喫煙により酸化ストレスが惹起されることは広く知られている。この酸化ストレスがインスリン抵抗性を上昇させるだけでなく、脳の老化や動脈硬化を促進させるという説があり、喫煙は酸化ストレスの増大を通じて脳内に AD および VaD 的变化をもたらすと考えられている。一方、中年期は喫煙していたが老年期は非喫煙であった群と認知症発症の間に有意な関連は認めなかった。また、中年期、および老年期の過去喫煙群と認知症発症の関連はいずれも明らかでなかった。このことは、禁煙によって神経の変性または損傷を修復する未知の機序が存在することを示唆しており、喫煙による認知症発症のリスクは禁煙することで比較的速やかに低下する可能性がある。

久山町認知症連続剖検例における病理診断による認知症病型の時代的变化をみると、男女とも時代とともに AD の増加が顕著であった。老人斑の形成は糖代謝異常と脂質異常症に関与していることから、生活習慣の欧米化に伴う代謝性疾患の増加が近年の AD 増加に寄与していると考えられる。さらに本研究では、タウ蛋白陽性病変の自動定量化ソフトを開発し、それを久山町研究の脳病理データベースに応用した。その結果、定量的評価による海馬 CA1 総タウ蛋白陽性病変の面積は Braak stage の進行程度を反映していた。以上より、今後は定量化したタウ蛋白陽性病変の蓄積と生活・環境因子の関係を久山町研究の成績を用いて検討する予定である。

遺伝的危険因子の検討では、APOE- $\epsilon$ 4 遺伝子多型は AD 発症の強力な危険因子であった。APOE 遺伝子産物であるアポリポ蛋白 E は脂質代謝においてカイロミクロンや VLDL などの細胞への取り込みやその代謝に関与することが知られており、久山町での検討でも APOE- $\epsilon$ 4 陽性群の脂質レベルは APOE- $\epsilon$ 4 陰性群と比べて高かった。しかし、多変量解析で脂質の影響を調整しても APOE- $\epsilon$ 4

遺伝子多型は AD 発症の有意な危険因子であったことから、APOE- $\epsilon$ 4 遺伝子多型は脂質とは独立して AD の発症に影響を及ぼす危険因子であると考えられる。一方、PICALM 遺伝子多型が AD 発症に及ぼす影響は比較的小さいため（ゲノムワイド関連解析のオッズ比：1.2）、統計学的検出力不足が原因で有意な関連が認められなかった可能性がある。また、Human Transcriptome Array (HTA2.0) を用いたマイクロアレイ解析から、AD 脳におけるスプライシングの異常と顕著な発現変化を示す遺伝子のさらなる同定が可能となった。動物実験では、3xTg-AD マウスにおけるミトコンドリア恒常性を維持する hTFAM の過剰発現が認知機能障害と肥満を有意に改善したことから、AD 脳におけるミトコンドリア機能障害は認知機能障害と全身のインスリンシグナリング異常に関与することが強く示唆される。また、ヒト iPS 細胞由来の神経細胞が AD のモデル細胞として有用であることから、今後は iPS 細胞を用いてミトコンドリア機能障害が AD 病理にもたらす機序を解明したい。

ビタミン B 群と認知機能低下の関係を検討した結果、特に葉酸の摂取が認知機能低下の防御因子となることが示唆された。ビタミン B6, B12 および葉酸の欠乏は、いずれも高ホモシステイン血症をもたらすことが知られている。高ホモシステイン血症は脳梗塞の危険因子であると同時に、アミロイド  $\beta$  の蓄積と関連するという説がある。ビタミン B6, B12 は肉類や魚介類など動物性食品に多く含まれているのに対して、葉酸は野菜類や海藻類など植物性食品での含有量が多い。本研究でも葉酸の摂取量が多い群は野菜類を中心とした副菜型の食事パターンであった。今後は久山町における追跡調査の成績から、ビタミン B 群の摂取が認知症発症に及ぼす影響を検討する必要がある。

認知症のない生活が自立している高齢者において、握力や歩行速度などの体力指標と認知機能との間に有意な正の関連が認められた。このことは、高齢者において、体力指標が認知機能のライフスタイルマーカーとして有用である可能性を

示すものと考えられる。今後は追跡調査の成績を用いて体力指標が認知機能に与える影響を検討するするとともに、各体力指標を用いる際の評価基準の確立を図る予定である。

認知症データバンクの形成では、研究間における調査項目や調査方法の不均一性という問題が明らかとなった。また、同一の研究であっても調査内容が時代によって微妙に異なっていたため、各研究における調査内容を経時的に明示し、共通項目を抽出する必要がある。さらに、同じカテゴリーの項目でも用いられた評価尺度にばらつきがある場合や、研究機関によっては未調査の項目がある場合に、これらの項目をどのように扱うか一定のルールを作成しなければならない。以上より、来年度は各施設で経時的に一貫性のあるデータセットを作成するだけでなく、それらを統合するためのルール作りを行う必要がある。

## 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の喫煙は認知症、特に AD 発症の有意な危険因子であった。

認知症連続剖検例における病理診断による認知症病型の頻度の時代的变化を検討すると、男女ともに VaD の頻度が減少し、AD の頻度が有意に増加していた。また、タウ蛋白陽性病変の定量化プログラムを用いて、タウ蛋白陽性病変の蓄積の評価に応用した。

遺伝的危険因子の検討では、APOE- $\epsilon$ 4 遺伝子多型は AD 発症の強力な危険因子であった。また、ミトコンドリア機能障害が認知機能障害と全身のインスリンシグナリング異常に関与することが強く示唆された。

ビタミン B 群の中でも特に葉酸の摂取は、認知機能低下の防御因子である可能性がある。また、握力や歩行速度などの体力指標は認知機能のライフスタイルマーカーとなることが示唆された。

大規模疾患コホート研究である FSR, FDR において、認知症発症の追跡調査を開始した。

全国5カ所で進行中の認知症の疫学研究を組織化し、認知症データバンクを形成するための基礎的調査を完了した。

#### F. 健康危険情報

- 老年期のみならず中年期の喫煙は認知症，特にAD発症の有意な危険因子である（清原，小原）。
- 病理診断による認知症病型別頻度の時代的变化をみると，時代とともにVaDの頻度が減少し，ADの頻度が顕著に増加していた（岩城）。
- APOE-ε4遺伝子多型はAD発症の強力な危険因子であった（久保）。
- AD脳において，ミトコンドリア機能障害が認知機能障害と全身のインスリンシグナリング異常に関与する（中別府）。
- 葉酸の摂取は認知機能低下の防御因子である可能性がある（内田）。
- 握力や歩行速度などの体力指標は認知機能と相関する（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）  
大規模ゲノム疫学共同研究による認知症の危険因子および防御因子の解明  
分担研究報告

地域住民における老年期および中年期の喫煙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)

分担研究者 小原 知之

(九州大学大学院医学研究院精神病態医学・助教)

**研究要旨** 福岡県久山町において、1988年の循環器健診を受診した65-84歳の住民のうち、75g 経口糖負荷試験を受けた認知症のない712名を15年間前向きに追跡し、中年期および老年期の喫煙が認知症発症に与える影響を検討した。喫煙レベルは、喫煙なし群、過去喫煙群、現在喫煙群の3群に分類した。その結果、追跡期間中に202名が認知症を発症し、そのうち182例(90%)に剖検あるいはCT/MRIによる形態学的評価を行った。非喫煙群を基準にすると、老年期の現在喫煙群におけるアルツハイマー病(AD)および血管性認知症(VaD)発症のハザード比(多変量調整)はいずれも上昇傾向にあるも有意な関係はなかった。この集団が15年前の健診を受診した際の中年期の喫煙と老年期の認知症発症との関係を検討すると、中年期の喫煙は老年期のAD発症の有意な危険因子であった。一方、老年期および中年期の過去喫煙群と認知症発症との関連はいずれも有意でなかった。さらに、中年期から老年期にかけての喫煙レベルの変化と認知症発症との関係を検討した。その結果、中年期と老年期ともに非喫煙であった群を基準にすると、中年期と老年期ともに喫煙していた群におけるADおよびVaDの発症リスクはいずれも有意に上昇した。一方、中年期は喫煙していたが老年期は非喫煙であった群と認知症発症の関連は明らかではなかった。

以上の成績より、老年期および中年期の喫煙は認知症、特にAD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

超高齢化社会を迎えたわが国では、急増する認知症が大きな医療・社会問題となっている。認知症の病型で最も頻度の高いアルツハイマー病(AD)の成因は未だ十分に解明されておらず、根本的な治療法も確立されていないため、ADを含めた認知症の予防対策を構築するには、疫学的に認知症の危険因子を明らかにする必要がある。これまで喫煙と認知症の関係を検討した前向き追跡研究の成績が散見されるが、一定した見解は得られていない。そこで福岡県久山町の地域高齢住民の追跡調査において、中年期および老年期の喫煙が認知症発症に及ぼす影響を検討した。

#### B. 研究方法

1988年に久山町循環器健診を受診した65-84歳の住民のうち、75g 経口糖負荷試験を受けた認知症のない712名を1988年11月から2003年10月まで15年間前向きに追跡し、老年期の喫煙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年前の喫煙情報を用いて中年期の喫煙と認知症発症の関係を検討した。喫煙レベルは、喫煙なし群、過去喫煙群、現在喫煙群の3群に分類した。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

ル改訂第3版(DSM-ⅢR)に基づいて行った。ADと血管性認知症(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)の診断基準と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202名の認知症発症をみた。そのうち182例(90%)の脳を剖検あるいはCT/MRIで形態学的に調べた(174例に画像診断を、86例に剖検を行った)。認知症発症例の病型別内訳はAD:110例、VaD:63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

多変量解析で年齢、性、学歴、高血圧、降圧薬服用、心電図異常、糖代謝異常、body mass index、血清総コレステロール、脳卒中既往歴、飲酒を調整すると、非喫煙群に対する現在喫煙群におけるADおよびVaDのハザード比(多変量調整)はそれぞれ1.8( $p=0.06$ )、2.0( $p=0.12$ )と上昇傾向にあるも有意でなかった(図1)。一方、過去喫煙と認知症発症の関連は有意ではなかった。また、この集団が15年前の健診を受診した際の中年期の喫煙と老年期の認知症発症との関係を検討すると、中年期の喫煙は老年期のAD発症の有意な危

険因子だった(ハザード比:2.3, $P<0.01$ ,図2)。一方、中年期の過去喫煙と老年期の認知症発症との間に有意な関連は認めなかった。

さらに、老年期および中年期の喫煙レベルと老年期の認知症発症との関係を検討した。その結果、非喫煙群(過去喫煙群も含む)を基準とすると、老年期に1-9本/日喫煙している群におけるADおよびVaDのハザード比はそれぞれ2.2、3.1と有意に高かった(すべて $p<0.05$ ,図3)。しかし、老年期の10-19本/日喫煙群および20-本/日喫煙群と認知症発症の関連は明らかでなかった。一方、中年期の喫煙レベルの上昇に伴い老年期のAD発症のハザード比は上昇し、非喫煙群と比べて10-19本/日喫煙群および20-本/日喫煙群で有意に高かった(10-19本/日喫煙群のハザード比:3.3, $P<0.01$ ;20-本/日喫煙群のハザード比:3.2, $P<0.05$ )。中年期の喫煙レベルと老年期のVaD発症の関連については、老年期の喫煙レベルと同様の関係が認められた。

最後に、中年期から老年期にかけての喫煙レベルの変化と認知症発症の関係を検討した。中年期と老年期ともに非喫煙であった群を基準にすると、中年期と老年期ともに喫煙していた群におけるADおよびVaDの発症リスクはそれぞれ2.7、3.0と有意に上昇した(すべて $p<0.01$ ,図4)。一方、中年期は喫煙していたが老年期は非喫煙であった群と認知症発症の関連は明らかではなかった。

### D. 考察

今回の久山町での成績では、老年期および中年期の喫煙は認知症、特にAD発症の有意な危険因子であった。また、中年期と老年期ともに喫煙していた群では、ADとVaD発症のリスクがいずれも有意に上昇した。喫煙が酸化ストレスを増大させることは広く知られている。この酸化ストレスがインスリン抵抗性を上昇させるだけでなく、脳の老化や動脈硬化を促進させるという説があり、喫煙は酸化ストレスの増大を通じて脳内にADおよ

びVaD的变化をもたらすと考えられている。喫煙レベル別の検討では、老年期の10-19本/日喫煙群、および20-本/日喫煙群と認知症発症の間に有意な関連は認めず、中年期の喫煙レベルと老年期のVaD発症の関係も同様であった。喫煙は心血管病など動脈硬化性疾患や癌の発症と密接に関連することが知られている。つまり、中等量以上の喫煙群では、動脈硬化性疾患や癌による死亡の影響をうけて関連が弱まったと考えられる。また、老年期に中等量以上の喫煙をしていた対象者が少なかったため、特にADとの関連が弱まった可能性もある。一方、中年期は喫煙していたが老年期は非喫煙であった群と認知症発症の間に有意な関連は認めなかった。また、中年期、および老年期の過去喫煙群と認知症発症の関連はいずれも明らかでなかった。このことは、禁煙によって神経の変性または損傷を修復する未知の機序が存在することを示唆しており、喫煙による認知症発症のリスクは禁煙することで比較的速やかに低下する可能性がある。

### E. 結論

老年期および中年期の喫煙は認知症、特にAD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禁煙が認知症の予防において極めて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. Ozawa M, Ninomiya T, Ohara T, Doi Y, Uchida K, Shirota T, Yonemoto K, Kitazono T, Kiyohara Y: Dietary patterns and risk of dementia in an elderly Japanese population: the Hisayama Study. *Am J Clin Nutr* 97: 1076-1082, 2013
2. Hokama M, Oka S, Leon J, Ninomiya T, Honda H, Sasaki K, Iwaki T, Ohara T, Sasaki T,

Laferla FM, Kiyohara Y, Nakabeppu Y: Altered expression of diabetes-related genes in Alzheimer's disease brains: the Hisayama Study. *Cereb Cortex* 2013, (in press)

3. Hata J, Ninomiya T, Hirakawa Y, Nagata M, Mukai N, Gotoh S, Fukuhara M, Ikeda F, Shikata K, Yoshida D, Yonemoto K, Kamouchi M, Kitazono T, Kiyohara Y: Secular trends in cardiovascular disease and its risk factors in Japanese: half-century data from the Hisayama Study (1961-2009). *Circulation* 128: 1198-1205, 2013
4. Ninomiya T, Nagata M, Hata J, Hirakawa Y, Ozawa M, Yoshida D, Ohara T, Kishimoto H, Mukai N, Fukuhara M, Kitazono T, Kiyohara Y: Association between ratio of serum eicosapentaenoic acid to arachidonic acid and risk of cardiovascular disease: the Hisayama Study. *Atherosclerosis* 231: 261-267, 2013
5. Hata A, Doi Y, Ninomiya T, Mukai N, Hirakawa Y, Hata J, Ozawa M, Uchida K, Shirota T, Kitazono T, Kiyohara Y: Magnesium intake decreases Type 2 diabetes risk through the improvement of insulin resistance and inflammation: the Hisayama Study. *Diabet Med* 30: 1487-1494, 2013
6. Soejima N, Ohyagia Y, Nakamura N, Himeno E, M. Iinuma K, Sakae N, Yamasaki R, Tabira T, Murakami K, Irie K, Kinoshita N, F. M. LaFerla, Kiyohara Y, Iwaki T, Kira J: Intracellular accumulation of toxic turn Amyloid- $\beta$  is associated with endoplasmic reticulum stress in Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research* 10: 11-20, 2013
7. Arimura H, Tokunaga C, Yoshiura T, Ohara T, Yamashita Y, Toyofuku F: Automated measurement of cerebral cortical thickness

- based on fuzzy membership map derived from MR images for evaluation of Alzheimer's disease. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc Jul: 7116-7119, 2013
8. Tokunaga C, Arimura H, Yoshiura T, Ohara T, Yamashita Y, Kobayashi K, Magome T, Nakamura Y, Honda H, Hirata H: Automated measurement of three-dimensional cerebral cortical thickness in Alzheimer's patients using localized gradient vector trajectory in fuzzy membership maps. J. Biomedical Science and Engineering 6: 327-336, 2013
  9. Fukuhara M, Arima H, Ninomiya T, Hata J, Hirakawa Y, Doi Y, Yonemoto K, Mukai N, Nagata M, Ikeda F, Matsumura K, Kitazono T, Kiyohara Y: White-coat and masked hypertension are associated with carotid atherosclerosis in a general population: the Hisayama Study. Stroke 44: 1512-1517, 2013
  10. Nakano T, Ninomiya T, Sumiyoshi S, Onimaru M, Fujii H, Itabe H, Nakashima Y, Sueishi K, Tsuruya K, Oda Y, Kitazono T, Kiyohara Y: Chronic kidney disease is associated with neovascularization and intraplaque hemorrhage in coronary atherosclerosis in elders: results from the Hisayama Study. Kidney Int 84: 373-380, 2013
  11. Nagata M, Ninomiya T, Doi Y, Hata J, Ikeda F, Mukai N, Tsuruya K, Oda Y, Kitazono T, Kiyohara Y: Temporal trends in sudden unexpected death in a general population: the Hisayama Study. Am Heart J 165: 932-938, 2013
  12. Ninomiya T, Kojima I, Doi Y, Fukuhara M, Hirakawa Y, Hata J, Kitazono T, Kiyohara Y: Brachial-ankle pulse wave velocity predicts the development of cardiovascular disease in a general Japanese population: the Hisayama Study. J Hypertension 31: 477-483, 2013
  13. Doi Y, Ninomiya T, Hirakawa Y, Takahashi O, Mukai N, Hata J, Iwase M, Kitazono T, Oike Y, Kiyohara Y: Angiotensin-like protein 2 and risk of type 2 diabetes in a general Japanese population: the Hisayama Study. Diabetes Care 36: 98-100, 2013
2. 学会発表
    1. 小原知之, 二宮利治, 神庭重信, 清原裕: 認知症の危険因子・防御因子. <ワークショップ17> 認知症の臨床-予防, 診断, 治療のコツ, 第109回日本精神神経学会, 福岡市, 2013.5
    2. 小原知之, 二宮利治, 神庭重信, 清原裕: 生活習慣病と認知症: 久山町研究. <地区推薦> 第27回老年期認知症研究会, 東京都, 2013.7
    3. 小原知之: 久山町研究からみた血管性認知症の疫学. <シンポジウム> 血管病としての認知症, 第4回血管性認知障害研究会, 東京都, 2013.8
    4. Ozawa M, Ninomiya T, Ohara T, Doi Y, Uchida K, Shirota T, Yonemoto K, Kitazono T, Kiyohara Y, the Hisayama Study group: Dietary patterns and risk of dementia in an elderly Japanese population: the Hisayama Study. XXI world congress of neurology, Vienna, Austria, 2013.9
    5. 二宮利治, 清原裕: 高血圧症が動脈硬化性疾患発症に及ぼす影響: 久山町研究. <シンポジウム2> 日本の高血圧疫学研究: 最新の知見, 第36回日本高血圧学会総会, 大阪市, 2013.10
    6. 清原裕: 日本人の生活習慣病の時代的変遷~半世紀に及ぶ久山町からのメッセージ~. 第9回日本食品免疫学会特別講演, 東京都, 2013.10
    7. Ozawa M, Ohara T, Ninomiya T, Hata J, Uchida

K, Shirota T, Kiyohara Y: Milk and dairy consumption and risk of dementia in an elderly Japanese population: the Hisayama Study. IDF world dairy summit 2013, Yokohama, Japan, 2013.11

8. 小澤未央, 二宮利治, 小原知之, 秦 淳, 内田和宏, 城田知子, 清原 裕: 地域高齢住民における食事パターンが認知症発症に与える影響: 久山町研究. 第 20 回日本未病システム学会学術総会, 東京都, 2013.11
9. 清原 裕: わが国の生活習慣病と認知症~久山町研究からの考案~. CLIP Advisory Board Meeting 学術講演, 東京都, 2013.11
10. 清原 裕: 生活習慣病と認知症: 久山町研究. 第 25 回 21 世紀の認知症を考える会特別講演, 金沢市, 2013.11
11. 清原 裕: 脳卒中と認知症にならないために. 第 10 回広島脳卒中市民シンポジウム特別講演, 広島市, 2013.12

#### 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



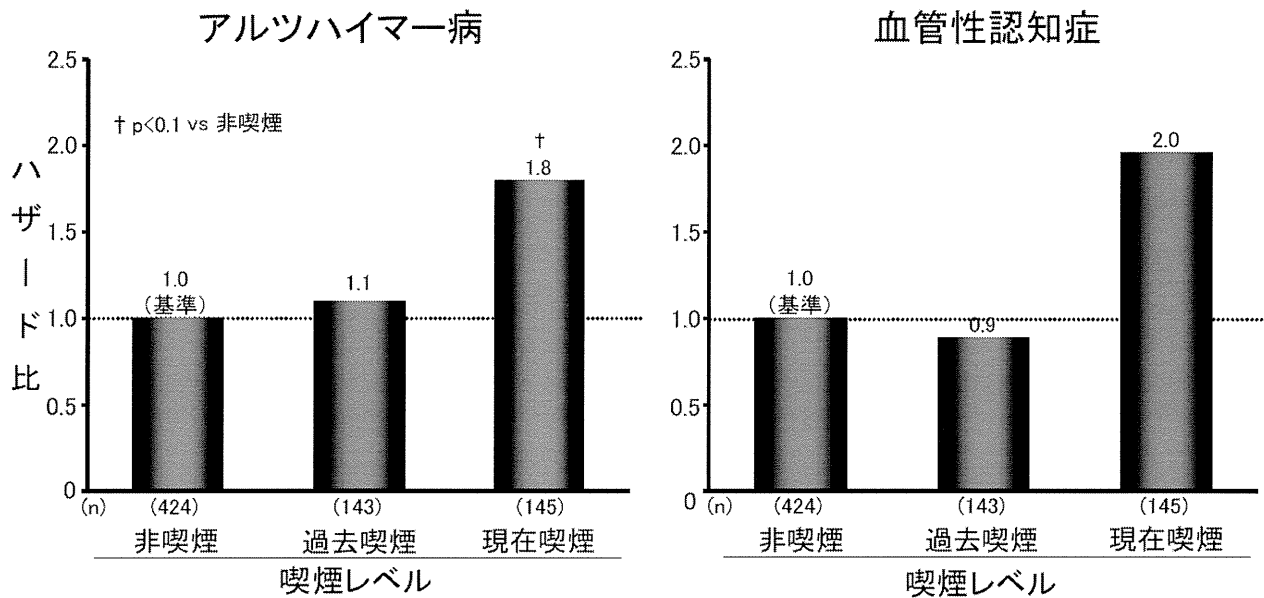


図1. 老年期の喫煙レベル別に見た認知症発症のハザード比  
久山町男女712名、平均72歳、1988-2003年、多変量調整

調整因子: 年齢、性、学歴、高血圧、降圧薬服用、心電図異常、糖代謝異常、BMI、血清総コレステロール、脳卒中既往歴、飲酒

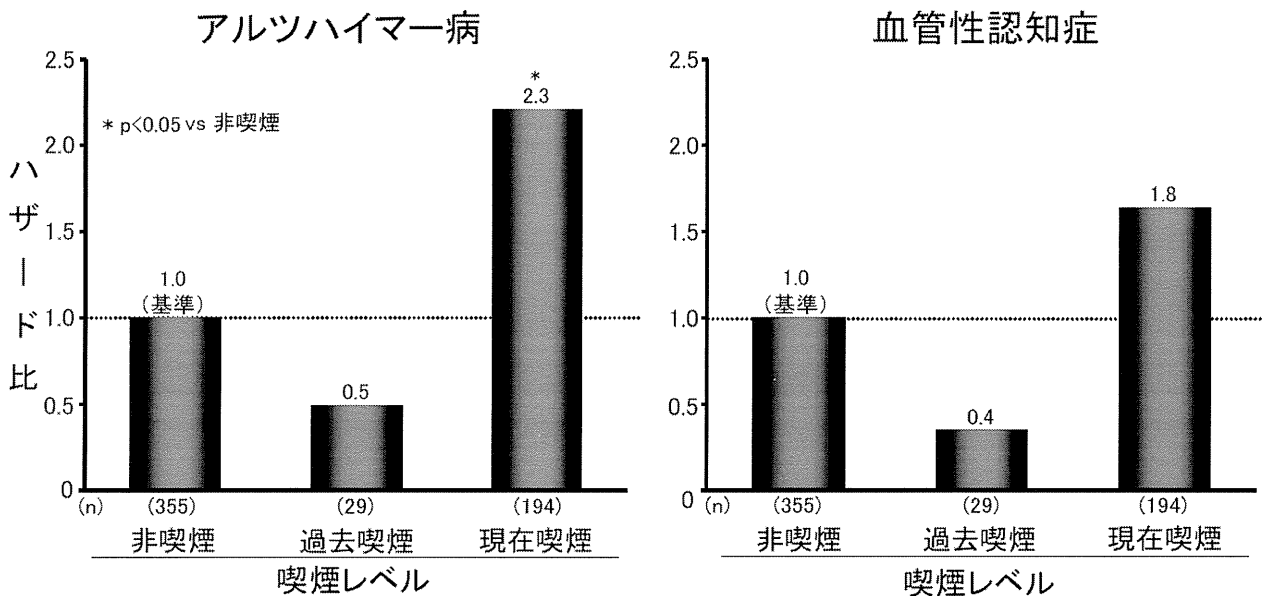


図2. 中年期の喫煙レベル別に見た認知症発症のハザード比  
久山町男女578名、平均57歳、1973-2003年、多変量調整

調整因子: 年齢、性、学歴、高血圧、降圧薬服用、心電図異常、糖代謝異常、BMI、血清総コレステロール、脳卒中既往歴、飲酒

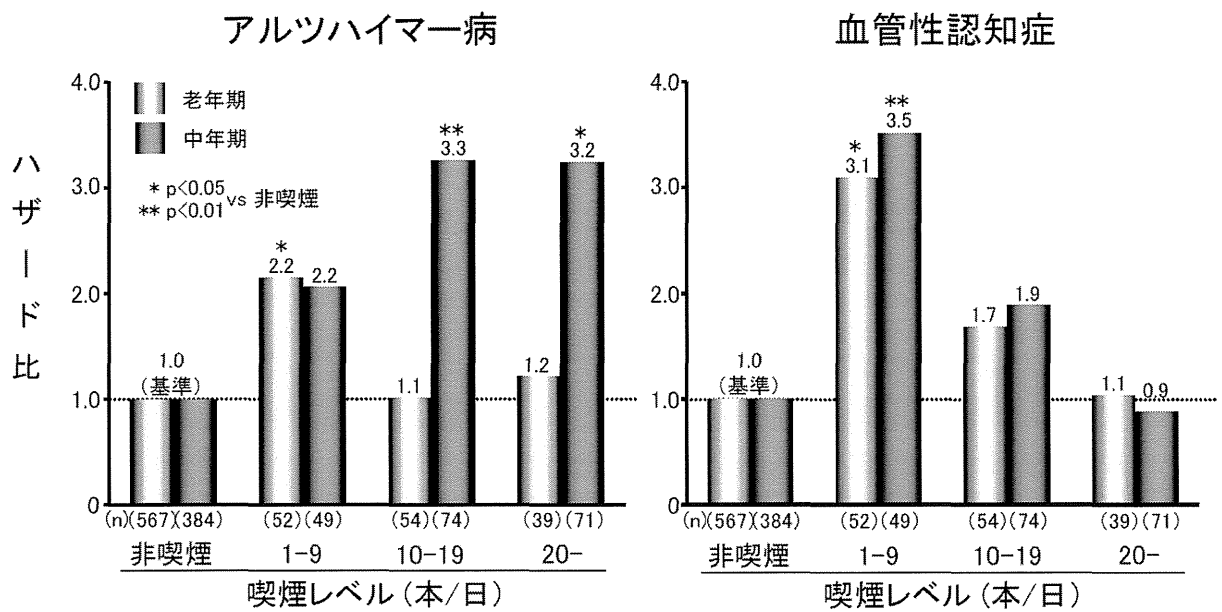


図3. 老年期および中年期の喫煙レベルにみた認知症発症のハザード比  
 久山町男女712名、平均72歳(老年期)、1988-2003年; 男女578名、平均57歳(中年期)、1973-2003年、多変量調整  
 調整因子: 年齢、性、学歴、高血圧、降圧薬服用、心電図異常、糖代謝異常、BMI、血清総コレステロール、  
 脳卒中既往歴、飲酒

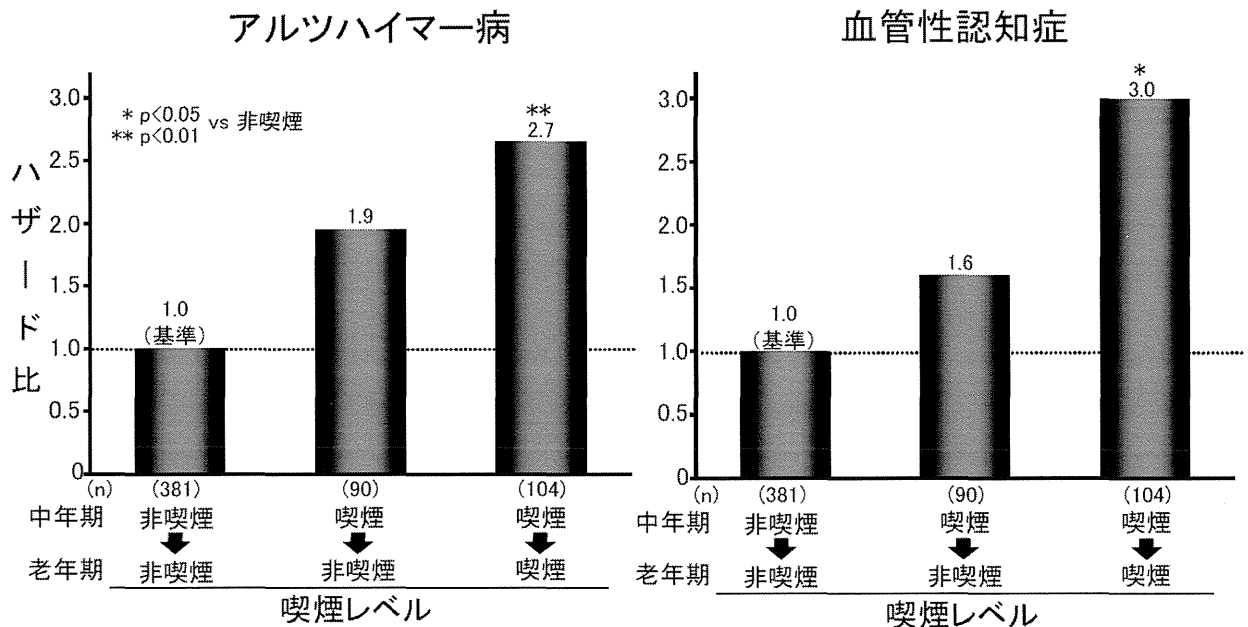


図4. 喫煙レベルの変化別にみた認知症発症のハザード比  
 久山町男女575名、65-84歳、1988-2005年、多変量調整  
 調整因子: 年齢、性、学歴、高血圧、降圧薬服用、心電図異常、糖代謝異常、BMI、血清総コレステロール、  
 脳卒中既往歴、飲酒

厚生労働科学研究（認知症対策総合研究事業）  
大規模ゲノム疫学共同研究による認知症の危険因子および防御因子の解明  
分担研究報告書

久山町剖検例における認知症の病理学的検討

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** 認知症病型の近年の動向を調査するために、久山町研究で剖検によって確定診断された認知症の病型別頻度を調べた。1986年から2013年まで（28年間）の連続剖検1206例の内、認知症連続剖検352例の臨床病理診断に基づく各認知症別の頻度を明らかにし、近年の動向を検討した。その結果、女性では全期間に渡りアルツハイマー病(AD)の頻度が最も多く、ADは増加傾向を示した。男性では当初、血管性認知症(VaD)が最も多かったがその後減少し、2005年以降はADが最も頻度が高く、特にここ数年の間にADが急峻に増えていた。異常タウ蛋白質の蓄積について、数値形態解析ソフトを用いたデータ解析プログラムを開発し、海馬における定量的評価を自動化した。海馬CA1領域のリン酸化タウ蛋白質陽性病変の総面積はBraak stageが重度になるほど有意に増加していた。

#### A. 研究目的

本研究の目的は剖検脳の病理診断によって認知症の分類の精度を高め、一般住民における病理所見に裏付けられた正確な認知症の病型分類とその動向を明らかにする事にある。得られた病理学的変化をデータベースとして整理し、健診データとの関連を統計学的に解析し、その危険因子や防御因子を探索する。さらに剖検時脳のサンプルを採取、凍結保存し、生化学的診断やマイクロアレイ解析などに供する。

#### B. 研究方法

##### 1) 対象

1961年より福岡市近郊の久山町において、脳血管・心臓血管系疾患の長期前向きコホート研究が継続されており、1985年から認知症調査が開始された。そこで近年の認知症病型の動向をより詳細に検討するために、1986年から2013年まで（28年間）の一般住民連続剖検1206例（認知症352

例、29.2%）について認知症に関する病理学的検討を行なった。

##### 2) 認知症の病理学的病型分類

各症例の脳標本は、中前頭回、上中側頭回、下頭頂小葉、前部帯状回、扁桃体、海馬（外側膝状体レベル、嗅内野、経嗅内野を含む）、鳥距溝領域、マイネルト核を含む基底核、視床、小脳半球、小脳虫部、中脳、橋、延髄を採取した。病理診断にはHE染色とKlüver-Barrera染色に加えて、Bielschowsky変法およびリン酸化タウ蛋白免疫染色(AT8抗体)とA $\beta$ タンパク免疫染色を行った。アルツハイマー病(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ステージ分類に基づいて行った。レビー小体型認知症は2005年改訂の臨床・病理診断基準を用いた。脳血管障害についての病理学的評価については、臨床症状の有無にかかわらず、肉眼的および顕微鏡的な観察により、すべてのタイプの脳梗塞および脳出血を評価した。

### 3) タウ蛋白質陽性病変の定量的解析法

顕微鏡用デジタルカメラ（画素数 192 万画素 1600 × 1200pixels）にて対物レンズ 20 倍で撮影し、JPEG 形式のデジタル画像として保存した。MATLAB®は、プログラミング、アルゴリズム開発、データの可視化等の目的のために開発された汎用の数値解析用ソフトウェアであり、本研究では MATLAB で色空間変換、K-means クラスタリングを組み合わせた画像解析アルゴリズムを作成した。海馬 CA1 のリン酸化タウ蛋白質陽性病変の定量的データ（面積）と Braak stage との相関関係を検討した。

## C. 研究結果

### 1) 認知症の病理学的病型分類と推移

認知症健診が始まった 1985 年の翌年の 1986 年から 2013 年に至るまでの 28 年間に 1206 例の病理解剖を行なった。平均死亡年齢は  $78.5 \pm 13.0$  歳であった。性別では男性が 637 名、女性が 569 名（男女比 1.12）、平均死亡年齢は男性が  $75.6 \pm 12.7$  歳、女性が  $81.9 \pm 12.6$  歳と女性が高齢であった。そのうち認知症が 352 例（29.2%）にみられ、男性が 129 例、女性が 224 例（男女比 1:1.74）と女性が高率であった。認知症症例の平均死亡年齢は  $87.1 \pm 7.0$  歳で、男性が  $84.1 \pm 6.8$  歳、女性が  $88.8 \pm 6.5$  歳であった。経時的な推移を検討するために、久山町の認知症健診が行われた年度を考慮して、5 つのグループに分けて検討した（表 1）。

認知症健診が 1985 年、1992 年、1998 年、2005 年、2012 年に計 5 回行われており、それに合わせて 1986-1991 年、1992-1997 年、1998-2004 年、2005-2011 年、2012-2013 年の 5 グループに分けた。各グループの人数は 258 人、265 人、321 人、299 人で、最後のグループのみ 2 年間と短く 65 例での検討である。グループ毎の平均死亡年齢は 76 歳から 82 歳へと、より高齢化している。一方、グループ毎の認知症の死亡年齢は男性で 84 歳から 85 歳、女性が 88 歳から 89 歳と変化に乏しいにもかかわらず、

認知症率の明らかな上昇傾向が認められた（図 1, 表 1）。特に 2012 年以降のグループは 1986 ~ 1991 年のグループと比較して有意な増加がみられた。女性では最初のグループにおいてすでに認知症率が 33.9%と高く、その後やや減少したが、1998~2004 年のグループから増加が目立ち、最近では 48.4%に達している。男性は 2012 年以降のグループで 37.1%と増加が見られたが、最初のグループと比較した場合の統計学的有意差は得られなかった。

次に認知症の各病型について、その推移を検討した。まず 図 2 に男女合わせた推移を示す。全体の傾向として AD の増加が目立ち、1986~1991 年のグループとそれ以降のグループとを比較した所、2012 年以降のグループで有意な増加を示した。一方 VD は 2005~2011 年のグループから減少していた。

性別に検討した結果を図 3（女）と図 4（男）に示す。女性では全期間に渡り AD の頻度が最も多く、AD は持続的に増加傾向を示した。女性の血管性認知症（VaD）は当初 9.3%で AD の約半数であったが、その後上昇傾向で、1998~2004 年のグループでピーク（16.9%）に達した。その後は減少して、最初のグループと同じ程度の頻度となっている。

男性では当初、VaD が 12.1%と AD よりも多かったがその後、VaD は持続的に減少し、2005 年以降は AD が最も頻度が高い認知症病型となった。特にここ数年の間に AD が急峻に増えていた。その他、神経原線維変化型老年期認知症（SD-NFT）が、症例数は少ないものの 2012 年以降のグループで男女ともに有意に上昇していた。

### 2) タウ蛋白質陽性病変の定量的解析法

タウ陽性物の定量化にあたり、各種タウオパチー症例の病理写真からタウ陽性物の抽出を行うアルゴリズム（アルゴリズム名: colorseg, color segmentation）を作成し、MATLAB を用いてプログラミングを行った。次に抽出した画像から、タウ陽性物を定量化するアルゴリズム（アルゴリズム