

201445002A

厚生労働科学研究委託費

難治性疾患実用化研究事業

認知症の根本的な原因の解明を目指したコホート研究と
網羅的ゲノム配列解析研究

平成26年度 委託業務報告書

業務主任者 辻 省 次

平成27年(2015)3月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業による委託業務として、国立大学法人東京大学医学部附属病院が実施した平成26年度「認知症の根本的な原因の解明を目指したコホート開発と網羅的ゲノム配列解析研究」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）	1
認知症の根本的な原因の解明を目指したコホート研究と網羅的ゲノム配列解析研究 辻 省次	
II. 委託業務成果報告書（業務項）	
1. 罹患同胞対に関する、ノンパラメトリック連鎖解析とエクソーム解析	5
辻 省次	
2. 弧発性アルツハイマー病の発症リスクを高める遺伝子の検索	7
池内 健、春日健作、桑野良三	
3. アルツハイマー病の自然歴を前向き研究として取得するコホート研究の推進	10
辻 省次、池内 健、宮川統爾、岩田 淳	
III. 学会等発表実績	13
IV. 研究成果の刊行物・別刷	16

厚生労働科学研究委託費(認知症研究開発事業)

委託業務成果報告(総括)

認知症の根本的な原因の解明を目指したコホート研究と網羅的ゲノム配列解析研究

担当責任者 辻 省次
東京大学医学部附属病院神経内科教授

研究要旨

アルツハイマー病の発症に対する影響度の大きい遺伝子探索を、罹患同胞対解析と、関連解析によって進めた。罹患同胞対解析からは、同胞で高頻度に共有される遺伝子が見出されており、今後、孤発性アルツハイマー病の大規模検体を用いた検証実験を進めていく。コホート研究については、東京大学大学院医学系研究科倫理委員会で承認が得られ、新潟大学の倫理委員会で承認を得て、コホートの運用を開始する予定である。

A. 研究目的

アルツハイマー病の自然歴を前向き研究で取得すると共に、アルツハイマー病の発症および、その進行速度と関連するゲノム要因の解明するために、既に収集してあるアルツハイマー病の罹患同胞対に集中したノンパラメトリック連鎖解析と全エクソン配列解析を実施して、発症リスクを高める遺伝子を見出すこと、既に収集してある孤発性アルツハイマー病と対照例(4,600例)について、上記で見出した遺伝子についてアルツハイマー病発症のリスクを評価すること、そして、アルツハイマー病のコホート研究体制を構築し、アルツハイマー病の自然歴を前向き研究で取得すると共に、ゲノムリソースを含むバイオリソースを収集し、ゲノム配列解析を実施する。

B. 研究方法

アルツハイマー病罹患同胞対解析に基づく、発症リスクを高める遺伝子の探索

対象は、アルツハイマー病の疾患同胞対 63 家系 132 検体について、エクソーム解析を行った。短鎖長配列は、BWA を用いて参照配列 hg19 に alignment を行い、SAMtools を用いて variant call を行った。Minor allele frequency (MAF) については、現在まで蓄積されてきた日本人対照者のエクソーム解析・全ゲノム配列解析データと、公開データベースにおけるデータを用いた。

孤発性アルツハイマー病の発症リスクを高める遺伝子の探索

孤発性アルツハイマー病および認知機能正常高齢者由来のゲノム DNA は既に収集が済んでいる。アルツハイマー病患者：臨床診断例

1977人(男性570人,女性1407人),剖検例213人(男性128人,女性85歳),認知機能正常高齢対照者:臨床診断例2128人(男性1226人,女性902人),剖検例370人(男性145例,女性225例)である。

APOE多型を判別するTaqManプローブを用い384プレートにゲノムDNAを分注し,ABI7900を用いてAPOE遺伝子型を決定した。TREM2内のnon-synonymousバリエーションとしてp.Q33X, p.Y38C, p.R47H, p.R62H, p.T66M, p.N68K, p.D87N, p.T97K, p.R98W, p.R136Q, p.H157Y, p.L211Pについて遺伝子型を判別可能なTaqManプローブを作成し遺伝子型を決定した。

アルツハイマー病の自然歴を前向き研究として取得するコホート研究の推進

東京大学医学部附属病院及び新潟大学病院にて行われるアルツハイマー病を主体とした認知症ゲノムコホート研究であり,ゲノムリソースの収集とともに,詳細な臨床情報やバイオマーカーを定期的に採取していく。コホートにおいて次の項目を経時的に評価する。(1)神経心理学的検査としてMMSE, FAB, ADAS-CogJ, ADL評価スケールとしてCDR-SB, ADCS-ADLを, BPSD評価のためNPI, GDS-J, SAPSを, 介護負担尺度としてZaritを, 12か月毎に臨床心理士もしくは医師が評価を行う。(2)3テスラMRIによる脳の形態画像撮像:頭部MRIを12ヶ月に一度撮像する。(3)FDG-PET, PIB-PET:いずれも承諾を得られた患者のみに行う。FDG-PETは12か月に一度, アミロイドイメージングの役割を担うPIB-PETはベースライン時と36か月時に撮像を行う。(4)心筋MIBGシンチグラム, (5)体液生化学検査:脳脊髄液を採取し(原則15ml以内), A β やtauなどのAD関連バイオマーカーを東京大学

もしくは新潟大学で定量する。血液採取(20ml)は12ヶ月に一度行い, 血漿・血清に分離後一般生化学検査およびRNAサンプル採取をSRL社に委託して行う。採取した生体試料は, 匿名化, 研究用IDを付して生化学検査および遺伝子解析を目的として東京大学および新潟大学にて-80℃で保存管理を行う。

(倫理面への配慮)

東京大学, 新潟大学で, 倫理委員会の承認のもとに, 研究を進める。

C. 研究結果

アルツハイマー病罹患同胞対解析に基づく, 発症リスクを高める遺伝子の探索

エクソーム解析を行い, 平均カバレッジとして, 64Xから128Xのデータを得られた。家族性アルツハイマー病の原因遺伝子であるAPP, PSEN1, PSEN2と, その他認知症を来す前頭側頭型認知症, hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids (HDLS), prion病などの原因遺伝子(MAPT, GRN, CSF1R, PRNP)などの原因変異の有無について検討したところ, 1家系でPSEN1の既知の変異, 1家系でCSF1Rの新規変異が認められ, 同変異は同胞で共有されていたこともあり, 病的と考えられた。その他の家系については, genome-wide association study (GWAS)で認められた遺伝子などのrare variantについて検討を行っている。1つの遺伝子については, 8同胞対で共有されるrare variantの存在が示唆され, 今後validationを進めていく。

孤発性アルツハイマー病の発症リスクを高める遺伝子の探索

多検体(4688人)のSNPの遺伝子型の判別

を効率的に行う解析システムを確立した。
384 プレートにゲノム DNA を分注し、遺伝子多型の判別が可能な TaqMan プローブを用いた解析を自動化で行うシステムを構築した。

APOE 遺伝子型解析については、本邦の大規模アルツハイマー病患者および認知機能正常高齢対照者の APOE 遺伝子型頻度を明らかにした。アルツハイマー病患者では APOE3/4 42.1%, APOE 4/4 8.9%であり、約半数が APOE4 陽性者であった。一方、健常高齢者では APOE3/4 14.6%, APOE4/4 0.005%であった。APOE3/3 に対する APOE3/4 のオッズ比は 4.81 (95%信頼区域 4.26-5.42)であった。

欧米のアルツハイマー病では TREM2 多型が遺伝的危険因子となることが報告されていることから、TREM2 遺伝子型解析について、解析した TREM2 のバリエーションの中で日本人で多型性を示したのは p.R47H, p.H157Y, p.L211P の3つのバリエーションであった。この3つのバリエーションのアレル頻度をアルツハイマー病患者と認知機能正常健常高齢者とで比較したところ、有意な差は認めなかった。

アルツハイマー病の自然歴を前向き研究として取得するコホート研究の推進

以上の計画を東京大学大学院医学系研究科倫理委員会に研究計画書を提出・審議いただき、2015年2月20日承認を得られた。今後新潟大学でも同様の申請を行い、新潟大学の倫理委員会審議を行って頂く。東京大学および倫理委員会での承認が得られ次第新潟大学とでコホート研究を開始していく予定である。

D. 考察

アルツハイマー病の発症に関わる遺伝子探索を、罹患同胞対解析と、関連解析によって進めた。罹患同胞対解析からは、同胞で高頻度に共有される遺伝子が見出されており、今後、孤発性アルツハイマー病の大規模検体を用いた検証実験を進めていく。罹患同胞対解析に基づく解析では、疾患発症に与える影響度の大きい遺伝子を同定するのに有用であると考えられる。

コホート研究については、東京大学大学院医学系研究科倫理委員会で承認が得られ、新潟大学の倫理委員会での承認を得て、コホートの運用を開始する予定である。

E. 結論

アルツハイマー病の発症に関わる遺伝子探索を、罹患同胞対解析と、関連解析によって候補遺伝子が見出された。コホート研究については、東京大学大学院医学系研究科倫理委員会で承認が得られ、新潟大学の倫理委員会での承認を得て、コホートの運用を開始する。

F. 健康危険情報

委託業務成果報告(業務項目)のため、該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

該当せず

2. 実用新案登録

該当せず

3. その他

該当せず

厚生労働科学研究委託費(認知症研究開発研究事業)

委託業務成果報告(業務項目)

罹患同胞対に関する、ノンパラメトリック連鎖解析とエクソーム解析

担当責任者 辻 省次

東京大学医学部附属病院神経内科 教授

研究要旨

アルツハイマー病の発症に関連する遺伝子を解明するために、63 家系の疾患同胞対のサンプルについてエクソーム解析を行った。2 家系については既知の病原性と考えられる変異が認められた。残り 61 家系について引き続き解析を行い、疾患遺伝子の解明を目指す。

A. 研究目的

アルツハイマー病は進行性で未だ根本的な治療法のない神経変性疾患である。アルツハイマー病の発症に関連するゲノム要因の解明は、病態機序の解明に大きく寄与し、新規の治療法の開発に有益な情報になると考えられる。今回、アルツハイマー病の疾患同胞対についてエクソーム解析を行うことで、疾患関連関連遺伝子の同定を目指した。

B. 研究方法

対象は、アルツハイマー病の疾患同胞対 63 家系 132 検体。57 家系については発症者 2 名の同胞、6 家系については発症者 3 名の同胞のゲノム DNA が得られている。エクソーム解析は Agilent 社の SureSelect V4+UTR キットもしくは SureSelect V5+UTR キットを用い、HiSeq2000/2500 を用いて 101 塩基ペアエンド

法で塩基配列解析を行った。短鎖長配列は、BWA を用いて参照配列 hg19 に alignment を行い、SAMtools を用いて variant call を行った。Minor allele frequency (MAF) については、現在まで蓄積されてきた日本人対照者のエクソーム解析・全ゲノム配列解析データと、公開データベースにおけるデータを用いた。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づいて研究を行った。

C. 研究結果

エクソーム解析を行い、平均カバレッジとして、64X から 128X のデータを得られた。家族性アルツハイマー病の原因遺伝子である APP、PSEN1、PSEN2 と、その他認知症を来たす前頭側頭型認知症、hereditary diffuse

leukoencephalopathy with spheroids (HDLS), prion 病などの原因遺伝子 (MAPT、GRN、CSF1R、PRNP) などの原因変異の有無について検討したところ、1 家系で PSEN1 の既知の変異、1 家系で CSF1R の新規変異が認められ、同変異は同胞で共有されていたこともあり、病的と考えられた。

その他の家系については、genome-wide association study (GWAS) で認められた遺伝子などの rare variant について検討を行っている。1 つの遺伝子については、8 同胞対で共有される rare variant の存在が示唆され、今後 validation を進めていく必要があると考えられた。

D. 考察

アルツハイマー病の疾患同胞対のエクソーム解析を行った。従来の GWAS では、MAF 5% 以上の SNP を対象としていたが、エクソーム解析を行うことで、MAF 5% 以下の variant まで検討対象に含めることができ、rare ではあるものの高リスクである variant を検出できる可能性がある。家族内での共分離を確認することは有用であり、今回のような疾患同胞対の解析は高リスク variant の検出においては有益であろうと考える。

E. 結論

アルツハイマー病の疾患同胞対のエクソーム解析を行った。今後、GWAS 遺伝子内の rare variant に注目した解析を行うとともに、新規の遺伝子の同定を目指す。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
該当せず
2. 学会発表
該当せず

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
該当せず
2. 実用新案登録
該当せず
3. その他
該当せず

厚生労働科学研究委託費(認知症研究開発研究事業)

委託業務成果報告(業務項目)

孤発性アルツハイマー病の発症リスクを高める遺伝子の検索

担当責任者 池内 健¹

分担研究者 春日健作², 桑野良三³

1. 新潟大学脳研究所遺伝子機能解析学 教授,
2. 新潟大学研究推進機構超域学術院 助教
3. 新潟大学脳研究所 フェロー

研究要旨

アルツハイマー病の同胞罹患対の症例(総計で 173 検体)を用いたノンパラメトリック連鎖解析と全エクソン配列解析により抽出されたバリエントを孤発性アルツハイマー病の遺伝的危険因子になるか否かの検証に向けて予備解析を実施した。孤発性アルツハイマー病 2,190 人および認知機能正常対照者 2,498 人のサンプルについて一塩基置換 (SNPs) を迅速に解析できるシステムを構築した。このシステムを検証するために、孤発性アルツハイマー病の遺伝的危険因子として知られている *APOE* 多型解析を実施した。その結果、本邦のアルツハイマー病患者では *APOE*3/4 42.1%, *APOE* 4/4 8.9% であり、約半数が *APOE*4 陽性者であった。一方、健常高齢者では *APOE*3/4 14.6%, *APOE*4/4 0.005% であった。欧米の孤発性アルツハイマー病患者の遺伝的危険因子として報告された *TREM2* 多型について日本人・孤発性アルツハイマー病患者の解析を行ったが、日本人では *TREM2* 多型がアルツハイマー病の遺伝的リスクとなるというエビデンスは得られなかった。

A. 研究目的

アルツハイマー病の同胞罹患対の症例(総計で 173 検体)を用いたノンパラメトリック連鎖解析と全エクソン配列解析により抽出されたバリエントを孤発性アルツハイマー病の遺伝的危険因子になるか否かについて検証する。

B. 研究方法

(1) 孤発性アルツハイマー病および認知機能正常高齢者由来のゲノム DNA は既に収集が済んでいる。アルツハイマー病患者: 臨床診断例 1977 人(男性 570 人, 女性 1407 人),

剖検例 213 人(男性 128 人, 女性 85 歳), 認知機能正常高齢対照者: 臨床診断例 2128 人(男性 1226 人, 女性 902 人), 剖検例 370 人(男性 145 例, 女性 225 例)である。

(2) *APOE* 遺伝子型解析

APOE 多型を判別する TaqMan プローブを用い 384 プレートにゲノム DNA を分注し, ABI7900 を用いて *APOE* 遺伝子型を決定した。

(3) *TREM2* 遺伝子型解析

TREM2 内の non-synonymous バリエントとし

て p.Q33X, p.Y38C, p.R47H, p.R62H, p.T66M, p.N68K, p.D87N, p.T97K, p.R98W, p.R136Q, p.H157Y, p.L211P について遺伝子型を判別可能な TaqMan プローブを作成し遺伝子型を決定した。TaqMan プローブ解析で上記バリエントが認められたサンプルについては、DNA 直接シーケンスによりバリエントの存在を確認した。

(倫理面への配慮)

解析に用いたゲノム DNA は、遺伝子解析についての同意が文書で得られている。

C. 研究結果

(1) 多検体(4688 人)の SNP の遺伝子型の判別を効率的に行う解析システムの確立

384 プレートにゲノム DNA を分注し、遺伝子多型の判別が可能な TaqMan プローブを用いた解析を自動化で行うシステムを構築した。

(2) APOE 遺伝子型解析

本邦の大規模アルツハイマー病患者および認知機能正常高齢対照者の APOE 遺伝子型頻度を明らかにした。アルツハイマー病患者では APOE3/4 42.1%, APOE 4/4 8.9%であり、約半数が APOE4 陽性者であった。一方、健常高齢者では APOE3/4 14.6%, APOE4/4 0.005%であった。APOE3/3 に対する APOE3/4 のオッズ比は 4.81 (95%信頼区域 4.26-5.42)であった。

(3) TREM2 遺伝子型解析

欧米のアルツハイマー病では TREM2 多型が遺伝的危険因子となることが報告されている。解析した TREM2 のバリエントの中で日本人で多型性を示したのは p.R47H, p.H157Y, p.L211P の3つのバリエントであった。この3つのバリエントのアレル頻度をアルツハイマー病

患者と認知機能正常健常高齢者で比較したところ、有意な差は認めなかった。

D. 考察

日本人のアルツハイマー病患者および認知機能正常高齢者由来の多数の検体について、遺伝子多型を効率よく解析するシステムを構築した。この解析システムを適応することにより、同胞罹患対解析により抽出されたバリエントの遺伝子型の解析が効率よく進められるものと思われる。

日本人・アルツハイマー病患者の約半数は APOE4 陽性であり、APOE3/3 と比較し、APOE3/4 ではオッズ比 4.81 と強力な遺伝的危険因子となることが確認された。今後の新規バリエントの解析の際に、APOE4 陽性者と陰性者を階層化した解析手法が有効かもしれない。

欧米人アルツハイマー病患者で遺伝的危険因子とされた TREM2 多型は、日本人アルツハイマー病では遺伝的危険因子となるエビデンスは得られなかった。この知見は、アルツハイマー病の遺伝的危険因子にはアレル頻度の差を含めた人種差が存在する可能性を示唆している。

E. 結論

アルツハイマー病の同胞罹患対の症例を用いて抽出されたバリエントを孤発性アルツハイマー病の遺伝的危険因子になるか否かについて検証する解析システムを構築した。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

該当せず

2. 学会発表

該当せず

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

該当せず

2. 実用新案登録

該当せず

3. その他

該当せず

厚生労働科学研究委託費(認知症研究開発研究事業)

委託業務成果報告(業務項目)

アルツハイマー病の自然歴を前向き研究として取得するコホート研究の推進

担当責任者 辻 省次¹, 池内 健²

分担研究者 宮川 統爾³, 岩田 淳⁴

1. 東京大学医学部附属病院神経内科 教授, 2. 新潟大学脳研究所遺伝時実験施設 教授
3. 東京大学医学部附属病院神経内科 助教, 4. さきがけ研究員

研究要旨

アルツハイマー病の病態機序に寄与する遺伝学的因子やバイオマーカーを明らかにすることを目的に、アルツハイマー病を主体とした網羅的ゲノム配列解析を含む認知症ゲノムコホート研究を東京大学および新潟大学で行う。今年度は研究体制の構築とともに東京大学大学院医学系研究科倫理委員会での研究承認を2015年2月20日に得て、近日中の新潟大学での倫理委員会申請・審査を予定している。新潟大学での倫理委員会承認後、参加者の組み入れと網羅的ゲノム配列解析、各種バイオマーカーおよび神経心理検査の評価を行っていく予定である。

A. 研究目的

アルツハイマー病のコホート研究に基づき、アルツハイマー病の自然歴を前向き研究で取得すると共に、ゲノムリソースを含むバイオリソースを収集し、網羅的ゲノム配列解析を実施して、アルツハイマー病の発症のみでなく、その進行速度や精神神経症状と関連するゲノム要因の解明を目指す

B. 研究方法

本研究は、東京大学医学部附属病院及び新潟大学病院にて行われるアルツハイマー病を主体とした認知症ゲノムコホート研究であり、ゲノムリソースの収集とともに、詳細な臨床情報

やバイオマーカーを定期的に採取していく。コホートにおいて

- (1) 神経心理学的検査として MMSE, FAB, ADAS-CogJ, ADL 評価スケールとして CDR-SB, ADCS-ADL を、BPSD 評価のため NPI, GDS-J, SAPS を、介護負担尺度として Zarit を、12 か月毎に臨床心理士もしくは医師が評価を行う。1 回の全検査時間は被験者および study partner とも約 2 時間である。DLB の存在が疑われる場合には、12 か月毎に一度、医師により UPDRS の評価を行う。
- (2) 3 テスラ MRI による脳の形態画像撮像: 頭部 MRI を 12 ヶ月に一度撮像する。
- (3) FDG-PET, PIB-PET: いずれも承諾を得ら

れた患者のみに行い、検査時間はいずれも約 90 分となる。FDG-PET は 12 か月に一度、アミロイドイメージングの役割を担う PIB-PET はベースライン時と 36 か月時に撮像を行う。

(4) 心筋 MIBG シンチグラム:0 か月時に撮像を行う。研究期間中に担当医師によって DLB の診断や合併が疑われた際には 12 か月、24 か月、36 か月時に適宜撮像を行う。検査時間は 2 度に分けて計約 90 分となる。

(5) 体液生化学検査:腰椎穿刺により 0 か月時と 24 か月時に脳脊髄液を採取し(原則 15ml 以内)、A β や tau などの AD 関連バイオマーカーを東京大学もしくは新潟大学で定量する。血液採取(20ml)は 12 ヶ月に一度行い、血漿・血清に分離後一般生化学検査および RNA サンプル採取を SRL 社に委託して行う。採取した生体試料は、匿名化、研究用 ID を付して生化学検査および遺伝子解析を目的として東京大学および新潟大学にて-80℃で保存管理を行う。

(6) 遺伝子解析:全ゲノム解析や全エクソン解析を含む網羅的ゲノム解析を行う。同意が得られた試料提供者の血液からリンパ球を分離し不死化作業を SRL 社に委託して行い、凍結リンパ球を新潟大学と東京大学神経内科(バックアップ)に保管する。病態に関与する遺伝子やその変異が見出された場合、見出された変異及び関連する病態に関して、患者由来の血液・髄液・剖検脳組織、腫瘍を含む手術生検組織、線維芽細胞を用いた機能解析(細胞生物学的・生化学的・病理学的解析)を行う。

(倫理面への配慮)

個人情報への十分な管理を含め倫理面への配慮を行ったうえで東京大学大学院医学系研究

科倫理委員会での承認を得ている。

C. 研究結果

以上の計画を東京大学大学院医学系研究科倫理委員会に研究計画書を提出・審議いただき、2015 年 2 月 20 日承認を得られた。今後新潟大学でも同様の申請を行い、新潟大学の倫理委員会審議を行って頂く。東京大学および倫理委員会での承認が得られ次第新潟大学とでコホート研究を開始していく予定である。

D. 考察

今年度は網羅的ゲノム解析を含む認知症コホート研究を開始するにあたり、研究体制の構築とともに東京大学での倫理委員会での承認を得た。近日中の新潟大学での倫理委員会での申請・審査を予定している。

E. 結論

次年度からコホート研究の参加者を組み入れ、コホート参加者での網羅的ゲノム配列解析、各種バイオマーカーの測定、神経心理検査の評価などを進めていく。

F. 健康危険情報

準備段階であり、該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

該当せず

2. 実用新案登録

該当せず

3. その他

該当せず

委託業務題目「認知症の根本的な原因の解明を目指したコホート研究と網羅的ゲノム配列解析研究」
機関名 新潟大学 脳研究所

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
高グルコース状態がアミロイドβに及ぼす影響について（ポスター）	手塚敏之, 斎藤健智, 矢島隆二, 徳武孝允, 春日健作, 西澤正豊, 池内健	日本認知症学会	2014年11月	国内
リポ蛋白受容体LR11によるApoE isoform依存性ApoE-A・複合体の代謝機能の解析（ポスター）	矢島隆二, 徳武孝允, 小山哲秀, 春日健作, 手塚敏之, 西澤正豊, 池内健	日本認知症学会	2014年11月	国内
血漿中アミノ酸プロファイルによるアルツハイマー型認知症の診断有用性（ポスター）	池内 健, 山門實, 手塚敏之, 佐久間真由美, 田中弘, 遠藤直人, 河合信宏, 村松孝彦, 森妹子, 野口泰志, 桑野良三	日本認知症学会	2014年11月	国内
本邦・家族性アルツハイマー病のデータベース（JFADdb）の構築（ポスター）	春日健作, 菊地正隆, 徳武孝允, 手塚敏之, 月江珠緒, 原範和, 宮下哲典, 中谷明弘, 桑野良三, 池内健	日本認知症学会	2014年11月	国内
アルツハイマー病における生体分子間ネットワーク解析手法の提案（ポスター）	菊地正隆, 原載和, 宮下哲典, 初田裕幸, 斉藤祐子, 村山繁雄, 池内健, 桑野良三	日本認知症学会	2014年11月	国内
ヒト剖検脳を用いたアルツハイマー病関連マイクロRNA解析（ポスター）	原載和, 菊地正隆, 宮下哲典, 初田裕幸, 斉藤祐子, 村山繁雄, 赤津裕康, 池内健, 桑野良三	日本認知症学会	2014年11月	国内
Facilitated production of amyloid-β in neuronal cells under high glucose conditions. (ポスター)	Tezuka T, Kasuga K, Saito K, Tokutake T, Nishizawa M, Ikeuchi T	Society for Neuroscience	2014年11月	国外
糖尿病とアルツハイマー病：糖代謝異常が脳内インスリンシグナル異常を誘発するか？（シンポジウム口演）	池内 健	日本認知症学会	2014年11月	国内
血液を用いてアルツハイマー型認知症を診断することは可能か（シンポジウム口演）	池内 健	滋賀医大 認知症シンポジウム	2015年1月	国内
Altered CpG Methylation of APP, MAPT and GSK3B in Sporadic Alzheimer's Disease. (ポスター)	岩田淳	American Academy of Neurology	Apr-14	国外

How is Alzheimer's disease diagnosed and treated?	岩田淳	Asian Clinical Congress	Apr-14	国内
---	-----	-------------------------	--------	----

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文（発表題目）	発表者氏名	発表した場所 （学会誌・雑誌等名）	発表した時期	国内・外の別
Reduced plasma desmosterol/cholesterol and longitudinal cognitive decline in Alzheimer's disease.	Sato Y, Bernier F, Yamanaka Y, Aoshima K, Oda Y, Ingelsson M, Lannfelt L, Miyashita A, Kuwano R, Ikeuchi T	Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring	2015年	国外
A second pedigree with amyloid-less familial Alzheimer's disease harbors an identical mutation in the amyloid precursor protein gene (E693delta).	Kutoku Y, Ohsawa Y, Kuwano R, Ikeuchi T, Inoue H, Ataka S, Shimada H, Mori H, Sunada Y.	Internal Medicine	2015年	国内
Reduction of water influx into CSF in Alzheimer's disease, supporting the β -amyloid clearance hypothesis.	Suzuki Y, Nakamura Y, Yamada K, Igarashi H, Kasuga K, Yokoyama Y, Ikeuchi T, Nishizawa M, Kwee IL, Nakada T.	PLoS One	2015年	国外
Systematic review and meta-analysis of Japanese familial Alzheimer's disease and FTDP-17.	Kasuga K, Kikuchi M, Tokutake T, Nakaya A, Tezuka T, Tsukie T, Hara N, Miyashita A, Kuwano R, Ikeuchi T	J Hum Genet	2015年	国内
ApoE-isoform-dependent cellular uptake of amyloid-b is mediated by lipoprotein receptor LR11/SorLA.	Yajima R, Tokutake T, Koyama A, Kasuga K, Tezuka T, Nishizawa M, *Ikeuchi T	BBRC	2015年	国外
Globular glial mixed four repeat tau and TDP-43 proteinopathy with motor neuron disease and frontotemporal dementia	Takeuchi R, Toyoshima Y, Tada M, Tanaka H, Shimizu H, Miura T, Aoki K, Aikawa A, Ishizawa S, Ikeuchi T, Nishizawa M, Kakita A, Takahashi H.	Brain Pathology	2015年	国外
Genes associated with the progression of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease brain.	Miyashita A, Hatsuta H, Kikuchi M, Nakaya A, Saito Y, Tsukie T, Hara K, Ogishima S, Kakita A, Takahashi H, Murayama S, Ihara Y, Ikeuchi T, Kuwano R, Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative.	Translational Psychiatry	2014年	国外

Lack of genetic association between TREM2 and late-onset Alzheimer's disease in the Japanese population	Miyashita A, Wen Y, Kitamura N, Matsubara E, Kawarabayashi T, Shoji M, Tomita N, Arai H, Asada T, Harigaya Y, Ikeda M, Amari M, Hanyu H, Higuchi S, Nishizawa M, Suga M, Kawase Y, Akatsu H, Imagawa M, Hamaguchi T, Yamada M, Morihara T, Takeda M, Takao T, Nakata K, Sasaki K, Watanabe K, Nakajima K, Urakami K, Ooya T, Takahashi M, Yuzuriha T, Serikawa K, Yoshimoto S, Nakagawa R, Saito Y, Hatsuta H, Murayama S, Kakita A, Takahashi H, Yamaguchi H, Akazawa K, Kanazawa I, Ihara Y, Ikeuchi T, Kuwano R, Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative.	Journal of Alzheimer's disease	2014年	国外
Relative Ratio and Level of Amyloid- β 42 Surrogate in Cerebrospinal Fluid of Familial Alzheimer Disease Patients with Presenilin 1 Mutations.	Tagami S, Okochi M, Yanagida K, Kodama T, Arai T, Kuwano R, Ikeuchi T, Takeda M.	Neurodegenerative Disorder	2014年	国外
Altered CpG methylation in Alzheimer's disease is associated with APP and MAPT dysregulation.	Iwata A, Nagata K, Hatsuta H, Takuma H, Bundo M, Iwamoto K, Tamaoka A, Murayama S, Saido T and Tsuji S.	Human Molecular Genetics	Jan-14	国外
認知症とてんかんの交差点	岩田淳	Brain and Nerve	Nov-14	国内

(注1) 発表者氏名は、連名による発表の場合には、筆頭者を先頭にして全員を記載すること。

(注2) 本様式はexcel形式にて作成し、甲が求める場合は別途電子データを納入すること。



Featured Article

Reduced plasma desmosterol/cholesterol and longitudinal cognitive decline in Alzheimer's disease

Yoshiaki Satō^a, Francois Bernier^a, Yasukazu Yamanaka^b, Ken Aoshima^a, Yoshiya Oda^c,
 Martin Ingelsson^d, Lars Lannfelt^d, Akinori Miyashita^e, Ryoza Kuwano^c, Takeshi Ikeuchi^{c,*}

^aEisai Co., Ltd., Tsukuba, Ibaraki, Japan

^bEIDIA Co., Ltd., Inashiki-gun, Ibaraki, Japan

^cEisai Inc., Andover, MA, USA

^dGeriatrics, Department of Public Health and Caring Sciences, Uppsala University, Uppsala, Sweden

^eDepartment of Molecular Genetics, Brain Research Institute, Niigata University, Niigata, Japan

Abstract

Background: We here examined whether plasma desmosterol-to-cholesterol ratio (DES/CHO) is decreased in patients with Alzheimer's disease (AD) and investigated the association between plasma DES/CHO and longitudinal cognitive decline.

Methods: Plasma DES/CHO of AD patients and age-matched controls in a Japanese cross-sectional cohort was determined. Plasma DES/CHO at baseline and follow-up visits was assessed in relation to cognitive decline in Japanese and Swedish longitudinal cohorts.

Results: Plasma DES/CHO was significantly reduced in Japanese AD patients and significantly correlated with Mini-Mental State Examination (MMSE) score. The longitudinal analysis revealed that plasma DES/CHO in AD patients shows a significant decrease at follow-up intervals. The decline in plasma DES/CHO is larger in the AD group with rapid progression than in that with slow progression. The changes in plasma DES/CHO significantly correlated with changes in the MMSE score.

Conclusion: Plasma DES/CHO is decreased in AD patients and may serve as a longitudinal surrogate marker associated with cognitive decline.

© 2015 The Alzheimer's Association. Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Keywords:

Alzheimer's disease; Mild cognitive impairment; Blood-based biomarker; Desmosterol; Longitudinal biomarker

1. Introduction

Alzheimer's disease (AD) is one of the most common and debilitating neurodegenerative disorders of the aging population. AD manifests itself as a progressive decline in memory accompanied by other cognitive and functional disabilities [1]. From the viewpoint of clinical practice and therapeutic clinical trials in AD, biomarkers are becoming increasingly important particularly when disease-modifying drugs will become available. Numerous studies have shown that tau, phosphorylated tau, and amyloid- β (A β) 42 in cerebrospinal

fluid (CSF) are reliable biomarkers for AD diagnosis [2–4]. However, the CSF examination of AD patients has not been broadly applied in general clinical practice because lumbar puncture to obtain CSF is relatively invasive and time consuming. Moreover, these CSF markers do not seem to be associated with longitudinal cognitive decline in patients with AD [5]. Thus, there is a compelling need to establish a noninvasive biomarker for AD that follows the disease progression. Efforts to find reliable blood-based biomarkers for AD have met with little success [6]. Several reports have been published describing altered levels of proteins, peptides, or metabolites in patients with AD, but those blood-based biomarkers have proven difficult to replicate in independent studies [6], highlighting the importance of multiple validations.

*Corresponding author. Tel.: +81-25-227-2343; Fax: +81-25-227-0793.

E-mail address: ikeuchi@bri.niigata-u.ac.jp

<http://dx.doi.org/10.1016/j.dadm.2014.11.009>

2352-8729/© 2015 The Alzheimer's Association. Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Table 1

Demographic characteristics of AD patients and age-matched cognitively normal controls in the Japanese cross-sectional cohort

Variable	Control (n = 201)	AD (n = 200)
Female (%)	72	75
Age, mean (SD)		
Age at examination (y)	77.6 (4.7)	77.6 (5.4)
Age at onset (y)	n/a	73.5 (5.0)
MMSE, mean (SD)	28.7 (1.5)	17.0 (5.2)**
APOE genotype		
2*3	15	6
2*4	2	1
3*3	151	71
3*4	32	99
4*4	1	23
DES/CHO ($\times 10^6$), mean (SD)	456 (119)	357 (134)**

Abbreviations: AD, Alzheimer's disease; n/a, not available; MMSE, Mini-Mental State Examination; DES/CHO, desmosterol-to-cholesterol ratio.

** $P < .01$.

In our previous report, we found that the plasma desmosterol-to-cholesterol ratio (DES/CHO) is significantly decreased in Caucasian patients with AD and subjects with mild cognitive impairment (MCI) [7]. Desmosterol is the most abundant precursor but rarely exceeds 1% of total brain sterols because the conversion from desmosterol to cholesterol is tightly regulated by the enzyme 3-hydroxysterol 24-reductase (DHCR24) [8]. A substantially higher desmosterol concentration in the hippocampus could be attributed to neurogenesis and synaptic plasticity that take place in the adult dentate gyrus [9]. Conversely, a decrease in desmosterol level in the hippocampus could at least in part correlate with the reduced number of progenitor cells differentiating into neurons [10]. These reports suggest an important role of desmosterol in the brain.

With this background, we here measured plasma DES/CHO of samples from a large Japanese cohort to extend our previous result that plasma DES/CHO is decreased in patients with AD in a different ethnic group. Furthermore, we

Table 2

Demographic characteristics of subjects in the longitudinal study

Variable	Japanese cohort, AD (n = 17)	Swedish cohort			Combined cohort, MCI/AD (n = 39)
		Control (n = 6)	MCI (n = 12)	AD (n = 10)	
Female (%)	71	75	33	30	56
Age, mean (SD)	68 (8)	67 (9)	62 (8)	66 (10)	66 (9)
Follow-up time, y, mean (SD)	2.0 (1.0)	2.7 (0.8)	1.8 (0.9)	2.2 (0.9)	2.1 (1.0)
MMSE, mean (SD)					
Baseline	20 (5)	30 (1)	28 (2)	25 (3)	24 (6)
Follow-up	16 (7)	30 (0)	28 (2)	22 (3)	21 (7)
Δ MMSE	-4 (4)**	0 (1)	0 (2)	-3 (3)*	-2 (4)**
DES/CHO (10 ⁻⁶), mean (SD)					
Baseline	329 (103)	654 (146)	660 (200)	556 (232)	489 (225)
Follow-up	290 (79)	661 (130)	607 (237)	487 (276)	438 (237)
% Change	-10 (14)*	1.7 (5.1)	-8.3 (21)	-18 (27)	-11 (20)**

Abbreviations: AD, Alzheimer's disease; MCI, mild cognitive impairment; MMSE, Mini-Mental State Examination; DES/CHO, desmosterol-to-cholesterol ratio.

* $P < .05$, ** $P < .01$.

performed longitudinal studies to determine the association between plasma DES/CHO and cognitive decline in patients with AD over time.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

For cross-sectional analysis, plasma samples of 200 patients with AD and 201 age-matched cognitively normal elderly individuals (older than 65 years) were collected from seven clinical institutions in Japan (Table 1). The diagnosis of AD was made on the basis of the criteria of the National Institute of Neurological and Communicative Disorders Association [11]. Each participant was asked to complete the Mini-Mental State Examination (MMSE) [12]. APOE genotyping was performed as previously reported [13].

For longitudinal analysis, we used 17 subjects with AD (Japanese longitudinal cohort collected at Niigata University Hospital) and 28 subjects (Swedish longitudinal cohort consisting of 6 control, 12 MCI, and 10 AD subjects collected at Uppsala University Hospital), whose blood was drawn at two different time points (Table 2). Additional longitudinal plasma samples of 30 subjects at least at 3 different time points were obtained from Uppsala University Hospital (AD, n = 6; MCI, n = 6; control, n = 2) or purchased from PrecisionMed, Inc. (AD, n = 12; control, n = 4) (San Diego, CA, USA). The criteria of Petersen et al. [14,15] were used for the diagnosis of MCI. To be considered as having MCI, the patients had to be free of significant underlying medical, neurologic, or psychiatric illness and meet the following criteria: (1) subjective memory complaint, (2) objective signs of decline in any cognitive domain, (3) intact activities of daily living, and (4) clinical features not fulfilling the DSM-IV/ICD-10 criteria for dementia [16]. The two AD/MCI groups with slow and rapid progression were classified on the basis of