

厚生労働科学研究委託費

認知症研究開発事業

アルブミンの劣化に主眼をおいたアルツハイマー病発症前診断及びその治療応用に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 山本 圭一

平成27(2015)年 3月

目 次

I . 委託業務成果報告（総括）		
アルブミンの劣化に主眼をおいたアルツハイマー病発症前診断 及びその治療応用に関する研究	-----	1
山本圭一		
II . 委託業務成果報告（業務項目）		
アルブミンの劣化に主眼をおいたアルツハイマー病発症前診断 及びその治療応用に関する研究	-----	1
山本圭一		
III . 学会等発表実績	-----	4

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・業務項目）

アルブミンの劣化に主眼をおいたアルツハイマー病発症前診断
及びその治療応用に関する研究

業務主任者又は担当責任者 山本 圭一 大阪市立大学医学部神経内科

研究要旨

アルツハイマー病(AD)発症前段階からの治療介入を目指し、申請者らが発見したアルブミンA複合体の多寡を抗アルブミンA 複合体抗体により測定、またAD及びその前段階でのアルブミンの性質の変化も調べる。

A．研究目的

AD 発症前段階から治療介入できれば、より効果的に認知症発症を抑制できる可能性が高く、そのため申請者が発見したアルブミン A 複合体の低下やアルブミンの変化について、次の点を明らかにしたい。

現在抗 A 抗体と抗アルブミン抗体とのサンドイッチ法にて複合体を測定しているが、抗アルブミン A 複合体抗体と抗アルブミン抗体とのサンドイッチ法の方が感度、特異度とも高いであろう。大阪市立大学工学部と協力し抗アルブミン A 複合体抗体を作成し、複合体の濃度を測定する。

アルブミンの性質の変化に関しては、酸化や糖化などが知られているが、酸化型は加齢にて増加し、糖化型は高血糖にて増加する。加齢も糖尿病も AD のリスクファクターとして知られている為、これらのファクターによりアルブミンが修飾を受け A と結合しにくい形態となり、A をクリアランスできず AD が発症すると考えている。AD 患者ではアルブミンはどのような修飾を受けているのか検証する。

B．研究方法

感度、特異度のより高い検査法の開発
現在抗 A 抗体と抗アルブミン抗体とのサンドイッチ法にて複合体を測定しているが、感度、特異度とも 80%弱である。更に感度、特異度を向上させる為、抗アルブミン A 複合体抗体と抗アルブミン抗体とのサンドイッチ法を開発する。抗アルブミン A 複合体抗体は大阪市立大学工学部准教授立花太郎先生と協力し作成する。具体的には、ヒト血清アルブミンに A 1-42 ペプチドを加え、複合体を形成させた後、ゲル濾過クロマトグラフィーで精製し、マウスに投与しモノクローナル抗体を作製。A 単独やアルブミン単独に反応せず、アルブミン A 複合体のみを認識する抗体をスクリーニングする。その抗体を用い、血清アルブミン A 複合体の測定値と、AD の発症リスクにつき検証する前向きコホート研究を大阪市立大学医学部老年科神経内科にて行う。大阪市立大学では平成 19 年度より PIB-PET を導入しており、すでに 300 例以上撮影を行っており、また PIB-PET 撮影者の血液検体が保管されている。PIB-PET 陽性でかつ AD を発症していない患者をピックアップ

し、血清アルブミン A 複合体の値により、血清採取時より 2 年間以内にどの群が有意に AD を発症しやすいかを、年齢、性別、家族歴、教育歴などを加味した多変量解析を行う。解析は大阪市立大学血液内科講師 康秀男先生と協力して行う。

アルブミン修飾解析

MCI や AD 患者の脳には、A が凝集した老人斑を認めるが、その中には Cu や Zn など 2 価の金属が多く含まれ (Journal of the Neurological Sciences 158: 47-52: 1998)、Cu や Zn は A を凝集させ、神経毒性を持たせる (Br J Pharmacol. 163: 211-219: 2011) ことが報告されている。また、アルブミンは Cu と結合しやすい蛋白である。以上から、MCI や AD 患者では非認知症群に比べアルブミンが Cu と結合しにくい状態になっており、そのため Cu を介した A との結合ができず複合体量が減少し、その結果 A 及び Cu が脳内に留まりし神経毒性を發揮すると仮定し、銅イオンと結合できる正常アルブミンの量を測定する方法で、軽度認知障害とアルツハイマー型認知症を、非認知症群と鑑別できるかについて横断的に検証した。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヒトを対象とする医学研究の倫理的原則(ヘルシンキ宣言)および疫学研究の倫理指針を遵守し、試験審査委員会を設置し、研究計画書、同意文書の作成を行い、当該施設の倫理審査委員会の承認を得る。本臨床研究の開始に際して、担当医は対象となる患者に対して同意説明文を参考に治療法、検査および遺伝学的な解析デー

タの使用について、患者に十分な説明を行った上で患者本人の自由意思による同意を書面により得ることとする。本研究への参加の有無によって患者にはいかなる不利益もかかることはなく、また患者はいつでも同意を撤回することができる。患者データは定期的に試験審査委員会で検討し、重篤な有害事象が生じる可能性がある場合には、一時中断し、試験方法の改正を行う。プライバシーや遺伝子に関わる情報の守秘義務を徹底する。また、本研究プロトコールについては大阪市立大学大学院医学研究科の倫理委員会に提出し、受理されている。

C . 研究結果

抗アルブミン A モノクローナル抗体作製

マウスに抗原投与、及びハイブリドーマは作製した。今後、目的とする抗体ができているかを確認する予定である。

検体に関しては、PIB陽性MCI患者より血清を集めている。複合体濃度の測定は、まだ行っていない。

アルブミン修飾解析

当科に通院された 14 例の認知症を有さない他疾患患者(Control)、22 例の PIB 陽性 MCI 患者、26 例の PIB 陽性 AD 患者を対象に血液を採取し、銅イオン親和性アルブミンの濃度を測定し、一元配置分散分析及び多変量解析にて比較し、銅イオン親和性アルブミン濃度は、Control > MCI > AD の順で、低下することが分かった。

D . 考察

抗アルブミン A モノクローナル抗体が作製できれば、アルブミン A 複合体の

測定を開始する。また、アルブミン A 複合体測定以外で、MCI を診断する方法として、血中銅イオン親和性アルブミンが、MCI(due to AD)及び AD のバイオマーカーになる可能性がある。

E . 結論

アルブミン A モノクローナル抗体作製、検体採取を継続して行っていく。併せて、血中銅イオン親和性アルブミンについても、更なる検証を行う。

F . 健康危険情報

なし

研究発表

1. 論文発表

Serum levels of albumin-amyloid beta complexes are decreased in Alzheimer's disease.

Yamamoto K, Shimada H, Koh H, Ataka S, Miki T.

Geriatr Gerontol Int. 2014; 14(3): 716-23.

Cerebral infarction in the left hemisphere compared with the right hemisphere increases the risk of aspiration pneumonia.

Yamamoto K, Koh H, Shimada H, Takeuchi J, Yamakawa Y, Kawamura M, Miki T.

Osaka City Med J. 2014; 60: 81-86.

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

特願 2014-139665

(出願日：2014年7月7日)

発明の名称：銅イオンと結合するアルブミンを測定することでの、軽度認知障害及びアルツハイマー型認知症を診断する方法及びキット

出願人：公立大学法人大阪市立大学

発明者：山本圭一

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし