

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19227

研究課題名(和文) 認知症、血管性認知症発症の予測因子の検討

研究課題名(英文) Predictive value of biomarkers for the risk of dementia and vascular dementia in patients with vascular risk factors

研究代表者

三輪 佳織 (Miwa, Kaori)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：80645341

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：動脈硬化ハイリスク患者を対象の前向きコホート研究から、以下のことが明らかとなった。(1)血清インターロイキン(IL)-6値は頭部MRI病変(脳小血管病、脳萎縮)やApo 4、遺伝多型(rs2228145)から独立して、認知症発症に有意な関連を認めた。(2)血清ホモシステイン値は脳微小出血など脳小血管病と関連を認めたが、認知症発症にも独立して有意な関連を認めた。(3)脂肪酸 4分画のうち、DHA濃度のみ独立して認知症発症の低減に有意な関連を認めた。本研究によりIL6、ホモシステイン、DHAの各バイオマーカーは各々認知症発症の関連が認められ、介入の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We aimed to investigate the predictive value of baseline interleukin-6 (IL-6), C-reactive protein (CRP) and gene variants [IL-6 receptor (IL-6R), rs2228145; IL-6, rs2097677; CRP, rs3093059] for dementia risk in patients with vascular risk factors who are initially cognitively intact. In multivariable analyses adjusted for covariates and IL-6R variant (rs2228145), IL-6 levels for dementia remained significant. Although subjects with rs2228145 carrier had significantly higher IL-6 levels, a significant association between rs2228145 and dementia was not observed. We also explored the predictive value of baseline homocysteine or circulating levels of eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid [DHA], dihomo- γ -linolenic acid, and arachidonic acid for dementia risk. The effect of IL-6, homocysteine, or DHA for dementia risk remain consistent irrespective of conventional risk factors including apolipoprotein E 4, cerebral small-vessel disease and brain atrophy.

研究分野：脳卒中、認知機能低下、脳小血管病

キーワード：認知症 脳小血管病 白質病変 ホモシステイン インターロイキン6 CRP 遺伝多型 IL6R 遺伝多型 脂肪酸

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会の現代では、認知症患者の増加は大きな社会問題となっている。老年期認知症は Alzheimer 病 (AD) と血管性認知症 (VaD) の 2 つに大別されるが、未だ病態の解明や有効な治療手段の確立がなされておらず、それらと共に予防策が重要と考えられる。そのためには、認知症発症を予測できる簡便なバイオマーカー同定が必要である。

研究の蓄積により、AD 発症や進行にも血管性危険因子が関わっていることが明らかとなっている。またこれらの因子に介入することで、AD の発症や進行が予防できる可能性が示唆されている。そのほかにも、認知症発症には、年齢、低教育歴、Apo 4 carrier や側頭葉内側萎縮などの画像病変が、危険因子として確立している。頭部 MRI 上の慢性虚血性病変である白質病変やラクナ梗塞といった脳小血管病 (small-vessel disease) も将来の認知機能低下への関与が示されている。

一方、動脈硬化の発症、進展には炎症機転が働いているとされ、末梢血中の炎症マーカー濃度の軽度高値は動脈硬化の重症度を反映している。さらに、炎症マーカー高値は、多くの大規模研究で将来の脳心血管イベントとの関連性も報告されている。脳卒中発症と同様に、血管性危険因子の関連が指摘されている認知症発症にも炎症マーカーの関連が推測されるが、明らかではない。申請者らは、2001 年以後、40 歳以上で血管性危険因子を 1 つ以上有し、心血管病一次二次予防の管理目的のために外来通院していた 1500 症例を登録した前向きコホート研究 (Osaka Follow-Up Study for Carotid Atherosclerosis 2) において、定期的に頸動脈超音波検査および頭部 MRI 検査、血液試料保存を行い、脳血管イベント、認知機能検査を追跡調査してきた。この研究では、高感度 CRP、インターロイキン (IL)-6 などの血清炎症マーカー濃度高値も将来の脳血管イベン

トの発症リスクを高めること (Okazaki S, et al. *Cerebrovascular Dis* 30:180-187, 2010)、これらの炎症マーカーが頸動脈 (large-vessel) だけでなく、無症候性ラクナ梗塞 (Hoshi T, et al. *Stroke* 36:768-772, 2005) や脳微小出血 (microbleeds) (Miwa K, et al. *Stroke* 42:3202-3206, 2011) といった脳小血管病と血清炎症マーカー高値との関連性を明らかにした。さらに、多発性の脳微小出血が、他の画像病変 (脳萎縮、small-vessel disease) から独立して認知症発症の危険因子であることも報告している。(Miwa K, et al. *Neurology*.82:1051-1057, 2014)。これらの知見により、血清炎症マーカーは無症候性の頭頸部大小血管病変いずれにも関連があること、認知症発症には血管危険因子や脳小血管病が関連していることも鑑みると、血清炎症マーカーが認知症発症と関連していることも示唆される。しかし、現時点では血清炎症マーカーの認知症発症への臨床的意義について、既に確立された認知症に対する危険因子である頭部 MRI 病変 (脳萎縮、白質病変、脳小血管病) の程度や Apo 4 アレルの有無などを上回る予測能があるかを検討した報告はない。また、認知機能低下との関連が示唆される血漿ホモシステイン濃度や遊離脂肪酸、脂肪酸分画 (アラキドン酸、エイコサペンタン酸、ドコサヘキサエン酸) が、認知症発症への関連因子となっているのかについても、系統的な検索はされていない。また、脳小血管病の重症度と関連ある脳底動脈径について、その縦断的变化や臨床的意義も系統的な検索はされていない。

2. 研究の目的

本研究は、研究計画書に記載した下記の課題の解明を目的として調査を行った。

- (1) 血清炎症マーカー濃度と認知症の関連
- (2) 血清ホモシステイン濃度と認知症の関連
- (3) 血清脂肪酸分画と認知症の関連

(4)脳底動脈径と心血管イベントの関連

3. 研究の方法

(1)血清炎症マーカー濃度と認知症の関連

(2)血清ホモシステイン濃度と認知症の関連

(3)血清脂肪酸分画と認知症の関連

本研究で用いた 2013 年 6 月末までの脳血管イベントについての予後調査は、2013 年 12 月 1 日時点で終了し、約 1500 症例についての詳細な経過記録および予後調査のデータを得ている。各症例についての登録時の血清炎症マーカー、頸動脈 IMT 厚、頸動脈プラークの超音波画像データに加え、年齢、性別、既往歴、家族歴、喫煙歴、合併症の有無、身体測定、血圧、脈拍、血液データ、内服薬、認知機能検査についてデータベース化している。登録時の頭部 MRI 画像病変の評価として、脳小血管病（白質病変、ラクナ梗塞、脳微小出血）や脳萎縮（脳全体、側頭葉内側）についても、データベースに記録している。

血清バイオマーカー測定には追跡調査時の頸動脈超音波検査と同時に採血した血清が -80 で凍結保存されており、これらの保存血清を用いて ELISA 法等により計測した。さらに、登録患者のうち、遺伝子検査の同意が得られた 964 例について、IL6 受容体 (IL-6R), rs2228145 (A>C)、IL-6, rs2097677 (G>A), CRP, rs3093059 (T>C) について測定した。また、脂質関連因子、ホモシステイン、MMPs は登録時についても凍結保存血清を用いて計測した。以下の項目(1)血清炎症マーカー濃度と認知症発症の関連、(2)血清ホモシステイン濃度と認知症発症の関連、(3)血清脂肪酸と認知症発症の関連、動脈硬化危険因子の管理状況と認知症発症との関連についての解析を行った。各バイオマーカーの認知症に対する関連性を評価するため、年齢、高血圧などの動脈硬化危険因子に加えて、初回頸動脈 IMT、頭部 MRI 病変、教育歴、Apo 4 アレルの有無を変数に含めた多変量解析を行った。

(4) 脳底動脈径と心血管イベントの関連

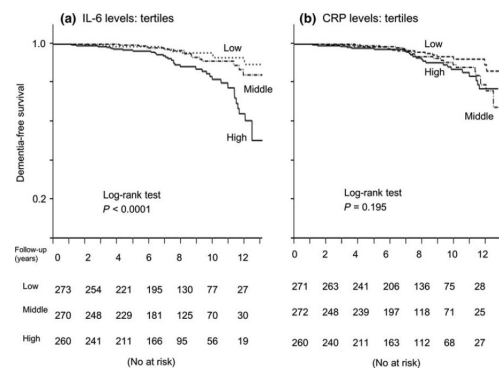
(1) ~ (3)と同じ対象患者において、頭部 MRIT2 強調画像で測定する脳底動脈径を登録時、追跡時に評価し、その径の変化とデータベースから抽出した脳卒中を含む心血管イベント発症の縦断的関連を評価した。冷凍保存血清を用いて、MMP2, MMP3, MMP9, NtproBNP について測定し、脳底動脈径の変化の関連性についても評価した。

4. 研究成果

(1)血清炎症マーカー濃度と認知症の関連

対象患者 803 名中 (平均年齢 67.0 歳、男性 59%), 観察期間 (中央値) 7.5 ± 3.2 年間で 60 名 (アルツハイマー型認知症 31 名、血管性認知症 31 名、混合型認知症 6 名、その他の認知症 6 名) が新規の認知症と診断された。年齢、性別、脳卒中既往、MRI 画像所見、IL-6 受容体変異 (rs2228145) から独立して、血清 IL-6 値 (1 SD 上昇) は 1.68 倍 (P=0.048)、もしくは、IL-6 値の 3 分位のうち、最低位に比べ、最高位は 2.38 倍 (P=0.031) と認知症発症に有意な関連を認めた (図 1)。IL-6 受容体変異 (rs2228145) を有する対象は有意に血清 IL6 濃度が高値であるが、IL-6 受容体変異 (rs2228145) と認知症発症に有意な関連は認めなかった。高感度 CRP 濃度と他の遺伝多型と認知症発症に有意な関連は認めなかった。本研究から、血清 IL6 の上昇は、認知症発症の予測因子であるが、IL6 値上昇させる遺伝的関連は示されなかった。

(図 1)

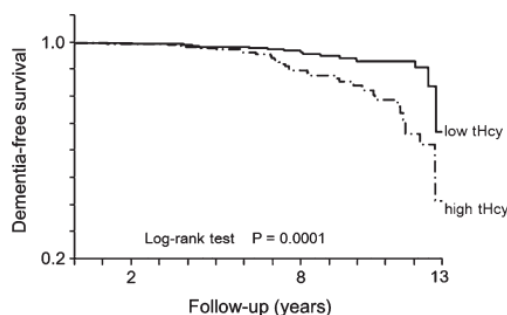


(2)ホモシステイン濃度、血清脂肪酸分画と認知症の関連

対象患者 643 名中 (平均年齢 67.2 歳、男性 59%), 観察期間 (中央値) 7.3 ± 3.2 年間で 47 名 (アルツハイマー型認知症 24 名、血管性認知症 18 名、混合型認知症 3 名、その他の認知症 2 名) が新規の認知症と診断された。既知の動脈硬化危険因子や eGFR、頸動脈内中膜厚 (IMT) で補正後も、ホモシステイン値の 3 分位のうち、最低位に比べ、最高位はと脳小血管病変 (ラクナ梗塞、microbleeds、基底核にある microbleeds) とそれぞれ有意な関連を認めた。さらに、ホモシステイン値は既知の動脈硬化危険因子や脳小血管病、脳萎縮など MRI 所見で補正後も、認知症発症に

有意な関連を認めた (ホモシステイン値 1 SD 上昇に対する認知症ハザード比: 1.08, $p = 0.043$ 、ホモシステイン値 3 分位のうち、最高位に対する認知症ハザード比 HR: 2.50, $p = 0.047$) を認めた(図 2)。血清ホモシステイン濃度高値が認知症発症の予測因子の可能性が示された。

(図 2)



(3) 血清脂肪酸分画と認知症の関連

(2)同様の対象患者の保存血清から、脂肪酸分画 (アラキドン酸[AA]、エイコサペンタン酸[EPA]、ジホモ- -リノレン酸[DHLA]、ドコサヘキサエン酸[DHA])を測定した。いずれの脂肪酸濃度は、各脳小血管病変との関連を認めなかった。一方で、既知の動脈硬化危険因子や脳小血管病、脳萎縮など MRI 所見で補正後も、ドコサヘキサエン酸について、3 分位のうち、最高位に対する RR: 0.42 ($p = 0.04$)と認知症発症に抑制的な関連を認めた。

(4) 脳底動脈径と心血管イベントの関連

1)と同様の対象患者の登録時と追跡時の脳底動脈径を評価し、その径の変化とデータベースから抽出した脳卒中を含む心血管イベント発症の縦断的関連を評価した。登録時 BA 径の低値が BA 径変化の拡大に有意であるが、BA 径変化と心血管イベントの発症とは統計学的に関連を認めなかった。

MMP2, MMP3, MMP9, NtproBNP について測定し、脳底動脈径の変化の関連性については、BA 径は唯一 MMP3 濃度と相関を認めた。BA 径の進行との関連については、さらなる検討を要する。

なお、本研究は大阪大学医学部附属病院の倫理委員会の承認を得ており、全ての患者から書面による同意を得ている。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

Association between cerebral small vessel diseases and mild parkinsonian signs in the elderly with vascular risk factors.

Hatate J, Miwa K, et al. Parkinsonism Relat Disord. 2016;26:29-34 (査読有)
10.1016/j.parkreldis.2016.02.011

Interleukin-6,interleukin-6 receptor gene variant,small-vessel disease and incident dementia.

Miwa K, Okazaki S, Sakaguchi M, et al. Eur J Neurol.2016;23(3):656-63 (査読有)
doi: 10.1111/ene.12921.

Serum high-molecular-weight adiponectin level and incident dementia in patients with vascular risk factors.

Kitagawa K, Miwa K, et al. Eur J Neurol. 2016;23(3):641-7 (査読有)
doi: 10.1111/ene.12915

Increased Total Homocysteine Levels Predict the Risk of Incident Dementia Independent of Cerebral Small-Vessel Diseases and Vascular Risk Factors.

Miwa K, Tanaka M, et al. J Alzheimers Dis. 2015;49(2):503-1 (査読有).
doi: 10.3233/JAD-150458.

Association between carotid stenosis or lacunar infarction and incident dementia in patients with vascular risk factors.

Kitagawa K, Miwa K, et al.

Eur J Neurol. 2015;22(1):187-92 (査読有)

doi: 10.1111/ene.12553

〔雑誌論文〕(計 5 件)

脳卒中とバイオマーカー ~新たな展開
~ホモシステイン

三輪 佳織 分子脳血管病 2016:15:7-10

脳小血管病の成因、意義、脳卒中、認知
症のリスクとして

三輪 佳織 メディカルサイエンスダイ
ジェスト 2015;41:21-4

〔学会発表〕(計 5 件)

三輪佳織

Long-chain omega-3 polyunsaturated fatty
acids, Cerebral small-vessel disease, and
Incident dementia 第 57 回日本神経学会学
術大会 口演発表
平成 28 年 5 月 20 日 神戸国際会議場

三輪佳織

脳小血管病と認知機能低下の縦断的関連
第 42 回日本脳卒中学会学術集会
口演発表 平成 29 年 3 月 18 日 大阪国際会
議場

Kaori Miwa, et al.

Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids,
Cerebral Small Vessel Disease and Incident
Dementia, International Stroke Conference
2016, 2016.2.17 LA, USA

竹内麻里子、三輪佳織 他 動脈硬化危
険因子を有する症例における脳底動脈径
と脳小血管病との関連 第 42 回日本脳
卒中学会学術集会 口演発表 平成 29
年 3 月 18 日 大阪国際会議場

竹内麻里子、三輪佳織 他
動脈硬化危険因子を有する患者における
脳底動脈の長期自然経過
および径変化と心血管イベントの関連
第 57 回日本神経学会学術大会 口演発
表 平成 28 年 5 月 20 日 神戸国際会議
場

6 . 研究組織

(1)研究代表者

三輪 佳織 (MIWA Kaori)

大阪大学医学部附属病院・医員