

令和 3 年 5 月 13 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10317

研究課題名(和文) DNAメチル化を用いたアルツハイマー病患者の行動・心理症状の病態の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of behavioral and psychological symptoms in Alzheimer's disease patients using DNA methylation

研究代表者

品川 俊一郎 (SHIANGAWA, Shunichiro)

東京慈恵会医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90459628

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)：本研究ではDNAメチル化量がBPSDのバイオマーカーとなる可能性を検証することを目的とした。BPSDの中でも対応が難しい興奮に注目し、まずは少数例でのDNAメチル化の包括的な解析を行った。GO解析とKEGGパスウェイ解析などを行った結果、興奮に対するWntシグナル経路の関与が示唆された。そのため、認知症患者108名をさらに解析した結果、興奮の有無でWNT5AのDNAメチル化量が有意に差があった。年齢、性別、BMI、APOE 4、投薬、炎症性サイトカインの影響はなかった。WNT5AのDNAメチル化量が興奮のバイオマーカーとして有用であり、BPSDの神経機序の解明にも寄与すると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血液を利用した簡便に実施可能なバイオマーカーが実現すれば、速やかで適正な治療法の選択が可能となる。臨床医の視点に立脚したものとして、患者のQOLの向上と介護負担の軽減に繋がり、社会的な意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Agitation is the most common and difficult to treat among behavioral and psychological symptoms of dementia (BPSD). The objective of this study was to identify a region where changes in DNA methylation levels are associated with agitation. Using genome-wide DNA methylation analysis data, we determined a signaling pathway in the WNT5A gene promoter region to be associated with agitation. Based on this result, we measured DNA methylation levels in this region for 26 dementia subjects with agitation and 82 dementia subjects without agitation. The WNT5A DNA methylation level in subjects with agitation was significantly lower than in those without agitation. This change was not influenced by age, sex, body mass index, APOE 4, medication or inflammatory cytokines. This result suggested an association of agitation with changes in WNT5A DNA methylation levels, which could be a potentially useful biomarker of agitation. It may contribute to the elucidation of the mechanism of BPSD.

研究分野：老年精神医学

キーワード：BPSD 興奮 認知症 アルツハイマー病 DNAメチル化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

AD (Alzheimer's disease: AD) は緩徐進行性の神経変性疾患である。AD では脳内の DNA メチル化量が変化することは既に報告されている。我々は血中の DNA メチル化変化に着目し、AD のみでなく MCI でも細胞分裂に関わる NCAPH2/LMF2 のプロモーター領域の DNA メチル化量が、健常高齢者と比較し大きく変化しており、診断バイオマーカーとなり得ることを報告した (Kobayashi N, et al. Plos One, 2016)。そして同領域のメチル化量が頭部 MRI 画像における海馬萎縮が関与していることも報告した (Shinagawa S, et al. Neurosci Lett, 2016)。

AD では不安、抑うつ、易怒性、意欲低下や妄想などの多様な BPSD (Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia: BPSD) が高頻度に出現する。これらの BPSD の出現機序は明らかではない。また、BPSD のバイオマーカーを明らかにすることを目指し、血漿 BDNF 量が AD における BPSD (攻撃性) と相関すると報告した (Nagata T, et al. J Neural Transm, 2014)。加えて BDNF の発現に影響を与える、BDNF プロモーター領域のメチル化が AD で有意に変化していることを明らかにした (Nagata T, et al. Dement Geriatr Cogn Disord Extra, 2015)。以上のことから、我々は DNA メチル化量が AD の多彩な BPSD の発現に関連すると考えた。

## 2. 研究の目的

本研究では、特に DNA メチル化量が BPSD の出現に影響を与え、BPSD の出現および治療反応性の予測バイオマーカーとなる可能性を検証し、そして DNA メチル化が BPSD の出現に関与する神経機序を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

臨床的に AD 及び MCI と診断された症例を対象とし BPSD の有無とその種類を評価し、網羅的に DNA メチル化量を測定する。同時に年齢、性別等の患者背景、認知機能、認知症の重症度といった臨床表現型を包括的に評価し、さらに頭部 MRI 画像、脳血流 SPECT 画像も撮影する。DNA メチル化量と上記各指標、そして BPSD の有無とその種類の相関を解析することで、BPSD の出現を予測するバイオマーカーとなりうるか、出現に関与する場合はその神経画像的な基盤を明らかにする。

## 4. 研究成果

BPSD のなかでも最もマネジメントが難しいとされる興奮に注目した。プレリミナリな検討として、アルツハイマー病 12 例および正常対照群 4 例を対象とし、網羅的に 485577 箇所の DNA メチル化量を定量した。興奮の有無で有意差がつき、かつ興奮あり群と NC で有意差のつく領域が 1772 箇所あった。CpG 部位の出現頻度が高い領域に存在し、ゲノムブラウザー・データベースに登録されている遺伝子に存在する CpG 部位は 286 箇所であった。これらの 286 箇所に関連する遺伝子について、GO 解析を行ったところ 71 の GO term が得られた。一方、KEGG パスウェイ解析を行ったところ 7 つのパスウェイが得られた。そのなかでもっとも Enrichment factor が高かったのが Wnt シグナルであった。そのため、次に WNT5A 遺伝子が興奮の発現に関与している可能性を認知症と診断された

108 例で検証した。26 例は興奮を伴う対象であり、82 例は興奮を伴わない対象であった。MS-HRM 法による解析の結果、興奮を伴う認知症の対象者の WNT5A の DNA メチル化レベルは、興奮を伴わない被験者に比べて有意に低かった ( $P = 0.001$ )。WNT5A DNA メチル化量の変化は、年齢、性別、BMI、APOE $\epsilon$ 4、投薬、炎症性サイトカインの影響を受けなかった。

この結果から興奮と Wnt シグナル、特に WNT5A の DNA メチル化量の変化との関連が示された。これは興奮の出現を予測するためのバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。この結果は BPSD の神経機序の解明にも貢献すると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kobayashi N, Shinagawa S, Nagata T, Tagai K, Shimada K, Ishii A, Oka N, Shigeta M, Kondo K.	4. 巻 82
2. 論文標題 Blood DNA methylation levels in WNT5A gene promoter region a potential biomarker for agitation in subjects with dementia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Alzheimers Dis	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3233/JAD-210078	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小林伸行, 品川 俊一郎, 永田智行, 繁田雅弘, 近藤 一博
2. 発表標題 DNAメチル化量を指標としたアルツハイマー病 患者の行動・心理症状出現機序の検討
3. 学会等名 第 37 回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林伸行, 品川俊一郎, 永田智行, 嶋田和也, 柴田展人, 大沼徹, 笠貫浩史, 新井平伊, 繁田雅弘, 近藤一博.
2. 発表標題 さまざまな変性性認知症疾患におけるDNAメチル化変化とその臨床的意義の検討.
3. 学会等名 第36回日本認知症学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	小林 伸行  (KOBAYASHI Nobuyuki)  (20385321)	東京慈恵会医科大学・ウイルス学・講師    (32651)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------