

令和元年6月13日現在

機関番号：82674

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19950

研究課題名(和文) 糖尿病合併症としての認知症に関する診断指標の開発と予防戦略への発展

研究課題名(英文) Development of diagnostic marker and preventive strategy for diabetic dementia

研究代表者

岩本 真知子(Iwamoto, Machiko)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号：40167284

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病合併症としての認知症は、糖尿病の予後を悪化させる大きな原因となっている。このため、認知機能の低下を早期に発見して治療を開始することは重要な課題であり、初期の認知機能低下に対する診断指標の開発が求められている。そこで本研究では、大規模長期縦断コホート(SONIC)を用いて糖尿病患者群を追跡調査し、認知機能低下前後の同一対象者の血漿タンパク質についてプロテオミクスによる比較解析を行った。今後、糖尿病に合併した認知機能低下の診断マーカーとしての有用性について明らかにする。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高感度プロテオミクス解析と申請者らの独自に開発した先端的グライコミクス解析の手法を用い、多様性の高い大規模コホートを利用した探索的研究を行う。独自の手法を用いて貴重なコホートの解析を行う本研究課題は、きわめて独創的な研究であるだけでなく、診断マーカーの開発から合併症の予防戦略までを見据えたきわめて挑戦的な研究であると確信する。

研究成果の概要(英文)：Diabetes mellitus (DM) is known to elevate the risk of Alzheimer's disease (AD), and AD causes to deteriorate prognosis of DM. Therefore, the diagnostic biomarkers of cognitive impairment at early stage is required for early intervention to prevent AD in DM patients. In the present study, we performed comparative analysis of plasma proteome profiles before and after onset of cognitive impairment in each subject using longitudinal cohort (SONIC), and found the candidate proteins of diagnostic biomarkers of cognitive impairment at early stage. In future study, we will perform validation study for these candidates.

研究分野：生化学

キーワード：糖尿病 認知機能 縦断コホート プロテオミクス グライコミクス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ポストゲノム時代といわれて久しいが、プロテオミクス解析から開発された診断バイオマーカーは、現在に至るまで驚くほど少ない。この最も大きな原因は「患者 vs 正常人」など、別人のプロテオームプロファイルと比較している点にあると考えられる。特に「タンパク質」や「タンパク質の糖鎖修飾」は、遺伝的要因だけでなく生活習慣やストレスなどの環境的要因によっても大きく変動するため個人差によるばらつきが大きく、疾患による変化を検出できないのである。そこで我々は、大規模長期縦断研究コホート (SONIC: Septuagenarians, Octogenarians, Nonagenarians Investigation with Centenarians) に着目した。縦断コホートの検体を用いることで、同一対象者の疾患発症前後の血漿プロテオームを比較することが可能となり、個人差の問題を排除し、バイオマーカーとなる候補タンパク質を効率よく見いだせるものとする。SONIC は、関東と関西、都市部と非都市部をまたぐ大規模縦断調査 (70 歳 1,000 名、80 歳 1,000 名、90 歳 (600 名)) であり、認知機能 (総合的認知指標 MoCA-J) の他、医学的要因 (HbA1C などの血液検査等)、歯学的要因、心理学的要因などについて、3 年ごとに継続的に調査し、血漿の保存も行っている。このような大規模な縦断調査コホートは他にはなく、それぞれの分野の専門家が調査を行うため、背景データファイルの信頼性も高い。

超高齢社会を迎えたわが国では 70 歳以上の男性の 4 人に一人、女性は 6 人に一人が糖尿病に罹患しており、糖尿病はまさに国民病となっている。慢性的な高血糖が様々な合併症を引き起こし、予後が悪いことでも知られる糖尿病であるが、近年、合併症の中でも認知症に注目が集まっている。血管病変を合併する重症の糖尿病においては、血管性認知症が高頻度に生じることが以前から知られていたが、比較的軽症の糖尿病であってもインスリン抵抗性や高インスリン血症により、アルツハイマー病のリスクが高まることが明らかになってきたのである。このため、糖尿病を重症化させないだけでは、アルツハイマー病の合併を防ぐことができない。また、糖尿病の治療に最も必要なのは、生活習慣の改善を含めた「自己管理」であるが、認知症を合併することは、この自己管理を妨げる最大の要因となる。そこで、いかに糖尿病患者の認知機能の低下を早期に発見して適切な治療を開始するかが、大きな課題となっている。

2. 研究の目的

本研究では、1. プロテオミクス (タンパク質の網羅的解析) 及びグライコミクス (糖鎖の網羅的解析) を用いて、糖尿病による認知機能の低下を初期の段階で発見する診断指標を開発する。2. さらに、認知症の合併に伴って変化するタンパク質や糖鎖及び糖タンパク質の発症機序への関与を分子レベルで明らかにし、合併症としての認知症の予防戦略の開発につなげることを目的とする。国民病である糖尿病の予後を改善し、健康な超高齢社会を実現するため、本研究は社会に大きく貢献するものと確信する。

3. 研究の方法

1. 解析対象者の抽出

大規模長期縦断コホート SONIC から解析対象の抽出を行った。糖尿病群 (HbA1c \geq 6.5%) の中から、初回調査では認知機能が正常だった (MoCA-J スコア $>$ 26) にも関わらず、追跡調査 (初回調査から 3 年後と 6 年後) において MoCA-J スコアが大きく低下した解析対象者を抽出した。

2. プロテオミクス解析

解析対象者グループの初回調査 (認知機能正常) 時に採血した血漿と 6 年後の追跡調査 (認知機能低下) 時に採血した血漿について、それぞれ個人を対応させて比較解析した。

まず、血漿からアルブミンとイムノグロブリンを除いた後、残りのタンパク質について蛍光標識を行った。次に、蛍光標識二次元ディファレンシャルゲル電気泳動法(2D-DIGE)を用いてプロテオミクス解析を行い、血漿タンパク質の変動を調べた。正常な認知機能を有していた時と、認知機能低下を示した時の二次元電気泳動像を画像解析により比較し、発現の変動したタンパク質スポットを抽出し、同定した。

4. 研究成果

1. 解析対象者の抽出

70代のSONICコホートの中から、解析対象者を抽出した。SONIC調査は、初回調査(1 wave)、3年後に追跡調査(2 wave)、6年後に追跡調査(3 wave)が行われている。そこで、1 wave参加者1,000人の中から、2 waveと3 waveにも参加し、糖尿病マーカー(HbA1c)と認知機能検査(MoCA-J)のデータを取得しているグループを抽出した(約500人)。そしてその中から、1, 2, 3 waveともに糖尿病及び糖尿病予備軍と考えられ(HbA1c (NGSP) 6.5%以上)、かつMoCA-Jのスコアが3年後、6年後と連続して低下した認知機能低下群(1 wave > 2 wave > 3 wave)を解析対象とした。さらに、対照群として1, 2, 3 waveともに糖尿病及び糖尿病予備軍と考えられるが(HbA1c (NGSP) 6.5%以上)、MoCA-Jのスコアは1, 2, 3 waveともにカットオフ値以上で認知機能の低下が認められない群(コントロール1)、1, 2, 3 waveともに正常(HbA1c (NGSP) < 6.5%)で認知機能の低下も認められない群(コントロール2)を、教育歴、性別を考慮して抽出した。

2. プロテオミクス解析

抽出した解析対象者(HbA1c: 6.5%以上かつMoCA-Jスコア: 6年間連続低下)の初回調査及び3回目調査(6年後)の血漿について、タンパク質の蛍光標識二次元ディファレンシャルゲル電気泳動法(2D-DIGE)を用いたプロテオーム解析を行った。まず、血漿からアルブミンとイムノグロブリンを除き、タンパク質定量を行った後、すべての検体を等量混合して標準検体を作成した。標準検体と個別の検体についてそれぞれタンパク質の蛍光標識を行った(標準検体: IC3-0Su、個別検体: IC5-0Su)。標準検体と個別検体を等量混合し、等電点電気泳動(pH4-7)とSDS-PAGE(%T=7.5, %C=3.0)による二次元電気泳動を行った。電気泳動後、同一ゲルのIC3とIC5の二次元電気泳動画像をそれぞれ別々にスキャンし、Progenesis SameSpots (TotalLab)を用いて、画像解析を行った。検出したそれぞれのタンパク質スポットについて、標準検体の強度に対する相対強度を求め、同一対象者を対応させて認知機能の低下前と低下後の比較を行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 1件)

1. 三浦ゆり、岩本真知子、稲垣宏樹、増井幸恵、石岡良子、津元裕樹、樺山 舞、杉本 研、阿部由紀子、新井康通、神出 計、池邊一典、石崎達郎、権藤恭之、高橋龍太郎、遠藤玉夫：高齢者の縦断調査血液サンプルを用いた初期の認知機能低下に関するプロテオミクス解析、第68回日本電気泳動学会総会、広島、2017.11.24-25

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

地方独立行政法人 東京都健康長寿医療センター研究所 老化機構研究チーム・プロテオーム
<http://www.tmg Hig.jp/research/team/roukakikou/proteome/>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：三浦 ゆり

ローマ字氏名：MIURA yuri

所属研究機関名：地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）

部局名：東京都健康長寿医療センター研究所

職名：研究副部長

研究者番号（8 桁）：00216574

(2)研究分担者

研究分担者氏名：津元 裕樹

ローマ字氏名：TSUMOTO hiroki

所属研究機関名：地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）

部局名：東京都健康長寿医療センター研究所

職名：研究員

研究者番号（8 桁）：00409385

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。