

平成 22 年 3 月 5 日現在

研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19300125
 研究課題名(和文)久山町研究における病理所見別にみた変性型認知症の危険因子の決定とその意義
 研究課題名(英文)Clinicopathological study of risk factors for degenerative dementia: the Hisayama Study
 研究代表者
 岩城 徹 (IWAKI TORU)
 九州大学・大学院医学研究院・教授
 研究者番号：40221098

研究成果の概要(和文)：

久山研究の認知症調査におけるアルツハイマー病の病理学的変化を半定量的に評価し、糖尿病関連因子との関連を統計学的に解析した。その結果、耐糖能異常、特にインスリン抵抗性が老人斑の形成に関与することを明らかにした。さらにAPOE ε 4による層別解析の結果、APOE ε 4とインスリン抵抗性が高い群では老人斑のオッズ比が相乗的に高くなることを見出した。一方、神経原線維変化については有意な関連はなかった。

研究成果の概要(英文)：

We examined the association between diabetes-related factors and pathology of Alzheimer's disease in the Hisayama study. The results suggest that hyperinsulinemia and hyperglycemia caused by insulin resistance accelerate neuritic plaque formation in combination with the effects of APOE ε 4. There were no relationships between diabetes-related factors and neurofibrillary tangles.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	6,200,000	1,860,000	8,060,000
2008年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2009年度	2,700,000	810,000	3,510,000
年度			
年度			
総計	11,600,000	3,480,000	15,080,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経解剖学、神経病理学

キーワード：認知症、アルツハイマー病、老人斑、神経原線維変化、糖尿病、インスリン、耐糖能異常、生活習慣病

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病(AD)に代表される変性型認知症はその発症にアポリポ蛋白 E(APOE)の遺伝子多型など、遺伝性素因が関与している事が知られている。一方、日本人の認知症は欧米に比べて、脳血管型認知症(VD)の割合が高かったが、生活習慣が欧米型に移行するにしたがって、ADの割合が増加してきている。

さらに久山研究の第3集団から認知症調査を開始し、この前向きコホート研究によって、耐糖能異常がADの有意な危険因子である事を明らかにした。

2. 研究の目的

本研究では久山研究での剖検症例を用いて、ADとレビー小体型認知症(DLB)に出現す

る神経病理学的所見の検出とその定量的、半定量的解析を行ない、認知症の病理所見の詳細なデータベースを構築する。ついで様々な検診データとの相関を統計学的に解析し、生活習慣病関連因子が認知症のどのような病理所見の形成に影響を及ぼし、その発症率を増加させているかを解明する事を目的としている。

3. 研究の方法

(1) 認知症の病理学的病型分類と病理所見のデータベースの構築

① ADの評価：老人斑の評価を CERAD 診断基準 (Neurology 1991) に基づき、また神経原線維変化の評価を改訂された Braak の stage 分類 (Acta Neuropathol. 2006) に基づいて行った。最終的に NIA-Reagan institute criteria により老人斑と神経原線維変化を組み合わせて、AD の病理学的変化を評価した (Neurobiology of Aging 1997)。染色は HE 染色、Bielschowsky 染色変法 (平野銀染色)、tau 免疫染色を行なった。

② DLB の評価：DLB の神経病理学的診断は、国際ワークショップ (Third report of the DLB consortium) でまとめられた新たな病理診断基準に基づいて行い (Neurology 2005)、染色はルーチンに α -synuclein 免疫染色を行った。

③ VD の評価：脳血管障害病変の発症年齢、部位と大きさ、脳動脈硬化の強度を記録した。この所見をもとに NINDA-AIREN 診断基準を使用した。

④ 混合型認知症の評価：混合型認知症の診断は現在、疾病分類学的に確定した診断名ではない。そこで NINDA-AIREN 診断基準に合致する脳血管性認知症病理所見と重度の AD 病理所見 (CERAD 診断基準の "Definite" または NIA-RI 診断基準の "High likelyhood") を合わせ持つ場合を便宜的に混合型認知症と診断した。

(2) 認知症スクリーニングのための住民検診項目

平成 17 年度からあらたに調査項目を増やし、より充実した高次機能調査を開始した。改訂版長谷川式簡易知能スケール (HSD-R)、Mini-Mental State Examination (MMSE)、Clinical Dementia Rating (CDR) に加えて睡眠調査 (Pittsburgh Sleep Quality Index) とうつに関する調査 (Geriatric Depression Scale と大うつ病エピソード) の一次調査を始めた。脳神経疾患が発症した症例では MRI や CT などの画像を収集し、脳血管障害や脳萎縮の有無などの評価を継続的に行なっている。

ルーチンの住民検診時には生活習慣に関わる多くの調査 (栄養調査を含む) と血液サンプリング (血液生化学検査) を行っている。

糖尿病および耐糖能異常の診断は、日本糖尿病学会の診断基準 (1999 年) に準拠し、検診で上記診断基準に合致した症例とした。1988 年の健診で始めて、40-79 歳の約 80% に当たる住民に経口糖負荷試験 (75gOGTT) を実施し、耐糖能異常の正確な頻度を調査した。

さらに本研究対象の全例において遺伝子解析のための informed consent が得られており、AD の重要な危険因子である APOE の遺伝子多型を直接シーケンス法にて決定した。

(3) 統計学的解析

糖尿病関連因子として、空腹時血糖、75gOGTT 負荷後血糖、空腹時インスリン、HOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance、インスリン抵抗性指標) と AD の病理所見 (老人斑、神経原線維変化) との関連を統計学的に解析した。解析の際の調整因子として、性、年齢、総コレステロール、BMI、収縮期血圧、喫煙、運動を用いた。さらに APOE ϵ 4 の有無による層別解析を行った。

4. 研究成果

一般住民を対象とした疫学調査では認知症のスクリーニング、用いる臨床診断基準、断面および追跡調査の精度が問われるが、正確な認知症の診断、特に変性型認知症の病型については臨床所見のみではその分類に限界があり、剖検による病理学的診断が精度を高めるためには必須である。久山研究は認知症発症者の剖検率が 89.5% (1985 年)、77.0% (1992 年)、73.4% (1998 年) であり、診断の精度が極めて高い研究となっている。そこでまず認知症の全剖検例の病理診断を確定した。その結果、認知症の病型別頻度は AD (53%)、VD (43%)、DLB (15%) (混合例を含む) の順に多かった。AD の有病率が健診ごとに上昇しており、日本人の認知症の頻度にも欧米化の傾向がみとめられる。

AD の病理所見からみた危険因子の解析のためのデータセットとして、1998 年 10 月から 2003 年 3 月の期間に死亡した久山町住民 290 名のうち、九州大学で解剖した連続剖検は 211 例 (解剖率: 73%) であり、そのうち 1988 年の健診を受診し、75gOGTT を施行した 135 名を研究対象とした。これによって糖負荷後の血糖を反映させることが可能となった。老人斑は CERAD criteria、神経原線維変化は Braak and Braak stage に基づいて病変の強度を決定した。135 例の性別と平均値は、男性 54.8%、検診時年齢 67 歳、空腹時血糖 106 mg/dl、糖負荷後血糖 150 mg/dl、空腹時インスリン 5.2 μ U/ml (正常値の範囲は空腹時 5~15 μ U/mL)、HOMA-IR は 1.3 であった。その他、収縮期血圧 139 mmHg、拡張期血圧 77 mmHg、コレステロール 202 mg/dl、BMI 22、

喫煙率 32%、運動習慣 11%、APOE4 キャリアが 19%であった。死亡時の平均年齢は、79.5 歳で脳重量は 1240g であった。

老人斑の程度 (CERAD criteria) から見た空腹時血糖値、糖負荷後血糖値、インスリン、HOMA-IR の平均値を性、年齢調整をして共分散分析 (ANCOVA) をした結果を表 1 に示す († P<0.10, *P<0.05 vs none)。

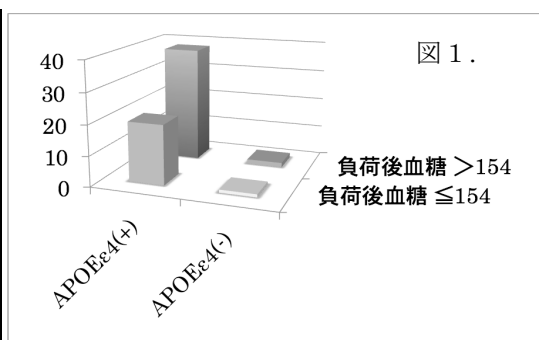
表 1. 老人斑	none	sparse	moderate	frequent
空腹時血糖	102.8	108.3	111.1	106.3
糖負荷後血糖	129.4	162.8†	172.1*	156.6
空腹時インスリン	4.6	6.1*	5.2	5.6†
HOMA-IR	1.2	1.6*	1.4	1.4†

空腹時血糖については平均値でみて none に比べると上昇しているが、有意でなかった。糖負荷後血糖については、frequent でやや下がっているが、none と比較して、sparse で軽度、moderate で有意に上昇していた。空腹時インスリンや HOMA-IR でも、none と比較して、sparse で有意に上昇、frequent でも軽度の上昇していた。しかしこの解析では、4 階級に分けた場合、トレンドの p 値はどの因子でも有意でなかった。

そこで老人斑の有無の 2 段階 (none 対 sparse、moderate、frequent) に分けてみると、糖負荷後血糖、空腹時インスリン、HOMA-IR で有意な関連を認めた (表 2. ロジスティック解析; 性、年齢、収縮期血圧、コレステロール、BMI、喫煙、運動調整)。

表 2. 老人斑の有無に対するオッズ比	オッズ比	P 値
空腹時血糖	1.39	0.18
糖負荷後血糖	1.66	0.04
空腹時インスリン	1.94	0.03
HOMA-IR	2.03	0.02

各因子について、APOE ε 4 による層別解析を行った。APOE ε 4 キャリアはすべてヘテロで 19.4%であり、糖負荷後血糖の高い群、低い群、APOE ε 4 の有り、無しで 4 群に分け、血糖が低かつ APOE ε 4 が無い群の老人斑有に対するオッズ比を 1 とし解析すると、APOE ε 4 と負荷後血糖が高い群でオッズ比が相乗的に高い結果が得られた (図 1)。



同様に APOE ε 4 による層別解析を空腹時インスリンと HOMA-IR で行った所、APOE ε 4 が有りインスリンが高い群、および APOE ε 4 が有り HOMA-IR が高い群で、老人斑有りのオッズ比が相乗的に高くなった。

一方、耐糖能異常と神経原線維変化との関連について、Braak ステージ別に分けて得られた平均値が none と比較して上昇がみられたのは、糖負荷後血糖について Braak stage I, II の部分だけで、全体として、有意に上昇したところはなかった (表 3. †P<0.10)。

表 3. 神経原線維変化	0	I, II	III, IV	V, VI
空腹時血糖	102.4	110.3	104.6	108.4
糖負荷後血糖	126.4	166.4†	151.4	152.3
空腹時インスリン	5.1	5.0	5.2	5.7
HOMA-IR	1.3	1.4	1.3	1.5

数多くの疫学調査から、糖尿病は AD の発症リスクを高めることが報告されている。糖尿病の AD に対する相対危険度は久山 研究 (2.18 倍、1995 年)、ロッテルダム研究 (1.9 倍、1999 年)、ホノルルアジアエイジング研究 (1.8 倍、2002 年) で、およそ 2 倍前後という結果が得られている。一方、糖尿病と AD 病理 (老人斑および神経原線維変化) の関連に関する論文は現在までに 4 編と少なく、関連を認めたのは一般住民を対象としたホノルルアジアエイジング 研究のみで、APOE ε 4 と糖尿病を有する群で、海馬の老人斑、皮質および海馬の神経原線維変化 に有意差があったと報告している。久山町コホート疫学研究で耐糖能異常は脳血管型認知症と同様に AD において高い危険因子であることを明らかにしてきたが、本研究で老人斑の蓄積にインスリン抵抗性が関与する可能性を示唆できたことは意義深いと考える (Neurology, in press)。

インスリン抵抗性が AD 病理に影響する分子機序は今後の課題であるが、以下のような

経路が想定されている。①糖尿病が酸化ストレス、炎症反応を引き起こし、アミロイド沈着を促進する経路。②インスリン自体がアミロイド放出を促進し、老人斑形成を引き起こしている経路。③インスリン分解酵素 (IDE) は A β の分解酵素でもあり、過剰なインスリンと結びつくことによって、A β の分解が阻害される経路。他にインスリンシグナルの低下が GSK3 を活性化し、タウをリン酸化させることで神経原線維変化を引き起こすという経路が提唱されているが、今回の研究では耐糖能異常と神経原線維変化との有意な関連を導くことができなかった。

生活習慣病関連因子という視点では脂質代謝異常も AD 発症の危険因子であるという報告がある。久山研究では検診で総コレステロール以外にも、HDL コレステロール、中性脂肪などの脂質関連の項目を正確に測定しており、本研究と同様の統計学的解析法にて脂質代謝異常と AD 病変の関連を検討することを次の課題として取り組んでいる。

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)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Matsuzaki T, Sasaki K, Tanizaki Y, Hata J, Fujimi K, Matui Y, Sekita A, Suzuki SO, Kanba S, Kiyohara Y, Iwaki T. Insulin resistance is associated with the pathology of Alzheimer's disease: the Hisayama Study. *Neurology* 査読有、(in press)
- ② Matsui Y, Tanizaki Y, Arima H, Yonemoto K, Doi Y, Ninomiya T, Sasaki K, Iida M, Iwaki T, Kanba S, Kiyohara Y. Incidence and survival of dementia in a general population of Japanese elderly: the Hisayama Study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 査読有、2009: 80(4); 366-370
- ③ Sasaki K, Minaki H, Iwaki T. Development of oligomeric prion-protein aggregates in a mouse model of prion disease. *J. Pathol.* 査読有、2009: 219(1); 123-130
- ④ Minaki H, Sasaki K, Honda H, Iwaki T. Prion protein oligomers in Creutzfeldt-Jakob disease detected by gel-filtration centrifuge columns. *Neuropathology* 査読有、2009: 29(5); 536-542
- ⑤ Fujimi K, Sasaki K, Noda K, Wakisaka Y, Tanizaki Y, Matsui Y, Sekita A, Iida M, Kiyohara Y, Kanba S, Iwaki T. Clinicopathological outline of dementia with Lewy bodies applying the revised

criteria: The Hisayama study. *Brain Pathol.* 査読有、2008: 18(3); 317-325

- ⑥ Fujimi K, Noda K, Sasaki K, Wakisaka Y, Tanizaki Y, Iida M, Kiyohara Y, Kanba S, Iwaki T. Altered expression of COX-2 in subdivisions of the hippocampus during aging and in Alzheimer's disease: the Hisayama study, *Dement Geriatr Cogn Disord.* 査読有、2007: 23; 423-431

[学会発表] (計 13 件)

- ① 松崎尊信、耐糖能異常とアルツハイマー病の病理学的関連、第 50 回日本神経病理学会、2009 年 6 月 6 日、高松
- ② 柴野智子、プリオン持続感染細胞株におけるプリオン蛋白重合度の解析、第 50 回日本神経病理学会、2009 年 6 月 6 日、高松
- ③ 本田裕之、ペントサンポリ硫酸治療症例におけるプリオン蛋白重合度変化の解析、第 50 回日本神経病理学会、2009 年 6 月 6 日、高松
- ④ 尾本雅俊、臨床所見で中枢性低換気を合併した家族性パーキンソン症状を示し、病理学的に TDP-43 陰性のタウオパチーを認めた 46 歳女性剖検例、第 50 回日本神経病理学会、2009 年 6 月 6 日、高松
- ⑤ 佐々木健介、多彩なプリオン蛋白沈着パターンを示した MM1+2 孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病の一剖検例、第 50 回日本神経病理学会、2009 年 6 月 6 日、高松
- ⑥ 本田裕之、プリオン病の病理形態学および蛋白生化学的定量解析の試み、第 49 回日本神経病理学会、2008 年 5 月、東京
- ⑦ 皆木晴彦、プリオン蛋白オリゴマーの簡便な検出法、第 49 回日本神経病理学会、2008 年 5 月、東京
- ⑧ 佐々木健介、プリオン病モデルマウスにおける重合プリオン蛋白形成の経時的解析、第 49 回日本神経病理学会、2008 年 5 月、東京
- ⑨ 松崎尊信、耐糖能異常とアルツハイマー病の病理学的関連、第 49 回日本神経病理学会、2008 年 5 月、東京
- ⑩ Iwaki T, Clinicopathological study of dementia: the Hisayama study, The 4th International Symposium. Kyushu University COE Program. Frontier Research and Education on Lifestyle-Related Diseases based on the Large-scale Cohort Study, 2007 年 11 月、福岡
- ⑪ Sasaki K, Time course of the development of PrP aggregates in a mouse model of prion disease, *Prion* 2007, 2007 年 9 月、英国エジンバラ
- ⑫ 谷崎弓裕、高齢者における耐糖能異常と高血圧が認知症発症に及ぼす影響、第 49 回日本老年医学会、2007 年 6 月、札幌
- ⑬ 藤見恒平、一般住民におけるレビー小体

型認知症の新しい診断基準に基づく臨床病理学的検討、第48回日本神経病理学会、2007年5月、東京

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩城 徹 (IWAKI TORU)

九州大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：40221098

(2) 研究分担者

鈴木 諭 (SUZUKI SATOSHI)

九州大学・大学院医学研究院・准教授

研究者番号：90294917

(H19→H20：連携研究者)

佐々木 健介 (SASAKI KENSUKE)

九州大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号：80380616

(H19→H20：連携研究者)

清原 裕 (KIYOHARA YUTAKA)

九州大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：80161602

(H19→H20：連携研究者)

谷崎 弓裕 (TANIZAKI YUMIHIRO)

九州大学・大学院医学研究院・学術研究員

研究者番号：30437785

(H19→H20：連携研究者)

(3) 連携研究者