

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：24402

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24650187

研究課題名(和文)アルツハイマー病のリスクファクターとして、酸化型アルブミンの検証研究

研究課題名(英文)A verification study of oxidized albumin as a risk factor for Alzheimer's disease

研究代表者

山本 圭一 (YAMAMOTO, KEIICHI)

大阪市立大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：90623257

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,600,000円、(間接経費) 480,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病(AD)患者での、脳内アミロイド(A $\beta$ )排出低下に関し、申請者は血中でA $\beta$ の90%がアルブミンと結合していることに着目し、アルブミンの性質の変化が、脳から血中へのA $\beta$ 排出の低下をもたらすと仮説を立てた。

AD患者で血中アルブミンA $\beta$ 複合体は低下しているかにつき、ELISAで測定したが、コントロール群に比べ血中複合体が少なくなること、またその原因はアルブミンの性質変化によることを発見し報告した。具体的にどのような修飾を受けているかについては、アルブミンには酸化型、還元型があり最初そこに注目したが、ADでどちらかが増えていることはなく、期間中に修飾内容は明らかにできなかった。

研究成果の概要(英文)：Regarding decreased excretion of brain amyloid beta (A $\beta$ ) in patients with Alzheimer's disease (AD), the applicant focused attention on the fact that 90% of A $\beta$  was bound to albumin in blood and hypothesized that changes in the properties of albumin would result in decreased excretion of A $\beta$  from the brain into the blood.

The blood albumin-A $\beta$  complex in AD patients was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to determine whether or not there is a decrease. It was found and reported that AD patients showed lower blood complex levels than the control group and that changes in the properties of albumin were the cause. Regarding the concrete contents of such modification, the applicant initially focused attention on oxidized and reduced albumin, neither of which was increased in AD patients, and the content of modification was thus not clarified during the study period.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経解剖学・神経病理学

キーワード：アルツハイマー病 バイオマーカー 血液

### 1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD) の発症機序としてアミロイド仮説が有力であるが、これは脳内でアミロイドβ蛋白 (Aβ) が蓄積し毒性を発揮するというものである。Aβ が蓄積する原因としては、AD 患者において Aβ 産生が増加しているのではなく、クリアランスの低下に起因するという可能性が考えられている (Science. 330(6012):1774, 2010)。その要因として知られているのは、AD 発症リスクファクターの 1 つであるアポリポプロテイン 4 型 (apoE4) を遺伝的に持っていることで、Aβ のクリアランス低下が起こることである (Sci Transl Med. 29;3(89):89ra57, 2011)。しかし、AD 患者の 70% は apoE4 を持たず、また他のリスクファクターが無くても AD が発症する例は多い。Aβ の排出機構に関してはグリア細胞での処理、レセプターを介しての脳外への移行、sink 仮説 (Aβ 濃度に中枢と末梢の勾配があると、結果的に中枢の Aβ が末梢に引き抜かれる) などがあるが、申請者らは、血中では Aβ の 90% がアルブミンと結合し、しかもアルブミンは apoE よりも血中、髄液中の存在量が多く、Aβ により結合し易い (J Biol Chem. 271(51):32916-22, 1996) ことに注目し、血中アルブミンの性質の違いにより Aβ が結合しにくくなり運搬されなければ、sink 仮説の通り脳内 Aβ が血中に移行できず、脳内に蓄積するのではないかと考えた。

### 2. 研究の目的

アルブミンは 35 個のシステインを持つが、17 対 (34 個) はジスルフィド結合しており、残りの 1 つだけが free の状態で存在する還元型と、それが酸化された酸化型の 2 つに大別される事が分かっている。今まで、AD 患者とアルブミンの性質 (酸化型、還元型) の関連について述べた論文は無く、これまでに申請者らが行った予備実験で、輸液用のアルブミ

ンを過酸化水素で酸化させ、アルブミンの酸化型と還元型で Aβ との結合を調べたところ、酸化型は還元型に比べ Aβ との結合力は非常に弱くなっていたことを踏まえ AD 患者では還元型アルブミンが少なく酸化型が多いため、Aβ の運搬ができず脳内に蓄積し認知症を来すという仮説を立て、本研究にて検証した。

### 3. 研究の方法

当院に通院中の患者で、アルブミンの点滴を 1 年以内に受けていない AD 患者 25 例、コントロール患者 25 例を対象に、血清アルブミンの還元型システイン残基の量を、蛍光物質モノプロモバイメイン (タンパク質中の還元型システイン残基を特異的に標識する) を用いたゲル染色にて調べた。しかし AD 患者とコントロールで差は認めなかった。

そこで、AD 患者のアルブミンの具体的な性質変化を確認するのではなく、アルブミンが Aβ と結合しにくくなっているかについて確かめることにした。まず、代表的な AD 患者、コントロール患者から血清を採取し、免疫沈降法およびウェスタンブロット法にてアルブミン Aβ 複合体の存在を確認し、また AD 患者のアルブミンは Aβ 1-42peptide と結合しにくくなっていることを確認した。次に当院に外来通院している 44 例の認知症を有さない内科疾患患者、45 例の AD 患者を対象に、血清採取を行い、サンドイッチ ELISA 法にてアルブミンアミロイドβ複合体の濃度を測定し、アルツハイマー型認知症の有病率との関連について、横断的に検証した。また、CSF バイオマーカーの測定を、同意を得られたそれぞれ 13 例、23 例で行った。

### 4. 研究成果

AD 患者の血中アルブミン Aβ 複合体は、コントロール群に比べ有意に低下し、その原因はアルブミンの性質変化によることを発見し

た。また、この血中複合体の低下は、髄液中のAβ42の低下やリン酸化タウ蛋白の増加など、AD発症前から変化する髄液マーカーとも関連することが分かった。

以上から、当初目的としていた、AD患者ではアルブミンが変化しAβと結合しにくくなっていることが確認できた。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3件)

(1) Serum levels of albumin-amyloid beta complexes are decreased in Alzheimer's disease Yamamoto K., Shimada H. Koh H. Ataka S. Miki T. Geriatrics & Gerontology International. in press. (Article first published online: 11 SEP 2013 | DOI: 10.1111/ggi.12147) 査読有り

(2) A case of anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis with Multiple Sclerosis-like demyelinated lesions.

Takeda A. Shimada H. Tamura A. Yasui M. Yamamoto K. et.al. Multiple Sclerosis and Related disorders. (Article first published online: 25 OCT 2013 | DOI: 10.1016/j.msard.2013.09.005) 査読有り

(3) Fluoro-jade b is a usable marker to stain brain degenerative neurons in Alzheimer disease patients and Alzheimer disease model mice. Yamamoto K. Osaka City Medical Journal. 61(1/2):45-51, 2012. 査読有り

[学会発表] (計 4件)

(1) 血清アルブミンAβ複合体は、アルツハイマー型認知症の髄液バイオマーカーと関連する。山本圭一、嶋田裕之、安宅鈴香、山川義弘、田村暁子、伊藤和博、蔦田強司、三木隆巳. 第32回日本認知症学会総会(2013年11月9日、長野)

(2) Serum levels of albumin-amyloid beta

complexes are useful for monitoring of progression of Alzheimer's disease.

K.Yamamoto, H. Shimada, S. Ataka, T. Miki. 21rd World Congress of Neurology, Vienna, Austria, September 24, 2013

(3) Serum Levels of Albumin-Amyloid Beta Complexes are Usable biomarker for Alzheimer's Disease.

K.Yamamoto, H. Shimada, Y. Yamakawa, S. Ataka, T. Miki. Alzheimer's Association International Conference (AAIC 2013), Boston, USA, July 14, 2013

(4) 血清アルブミン蛋白複合体はアルツハイマー型認知症で低下する。山本圭一、嶋田裕之、安宅鈴香、山川義弘、三野俊和、江村俊也、武田景敏、田村暁子、伊藤和博、正木秀樹、蔦田強司、三木隆巳. 第54回日本神経学会総会 (2013年6月1日、東京)

[図書] (計 0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1件)

名称: アルツハイマー病を検出する方法及びキット

発明者: 山本圭一、嶋田裕之、三木隆巳

権利者: 公立大学法人大阪市立大学

種類: 特許

番号: 特開 2014-013190

出願年月日: 2012年7月4日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0件)

[その他]

なし

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 圭一 (YAMAMOTO KEIICHI)

大阪市立大学・大学院医学研究科・後期臨  
床研究医  
研究者番号：90623257

(2)研究分担者  
なし

(3)連携研究者  
なし