

平成 30 年 9 月 3 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15335

研究課題名(和文) 血漿中アミノ酸プロファイルに着目したアルツハイマー病の血液マーカー探索

研究課題名(英文) Amino acid profile in plasma of Alzheimer's disease

研究代表者

池内 健 (Ikeuchi, Takeshi)

新潟大学・脳研究所・教授

研究者番号：20372469

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病に対する侵襲性が低い診断マーカーの必要性が増している。血液中の微量成分を測定する血液バイオマーカーの開発が進歩している。本研究では、生体内の代謝経路の中心的な存在であるアミノ酸に着目し、アミノ酸を網羅的にプロファイルする技術をアルツハイマー病の血液バイオマーカーに応用する取り組みを行った。アルツハイマー病患者(n=36)と年齢をマッチさせた対照者(n=34)の血漿中アミノ酸プロファイルを測定した。アルツハイマー病患者で有意に変動するアミノ酸を5種類同定した。これらの結果から、血漿中アミノ酸はアルツハイマー病の診断に有用な血液マーカーとなる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：There is a strong need for blood-based biomarker for the diagnosis of dementia including Alzheimer's disease (AD). Plasma free amino acids and amines are potent metabolites, and different patterns of plasma free amino acid have shown to be associated with various disease conditions in previous studies. We here determine the plasma free amino acids in patients with AD (n=36) and cognitively normal controls (n=34). Five metabolites showed significant changes in AD patients. Among them, the level of the amino acid was significantly correlated with the MMSE scores. These results suggest that measurement of the plasma free amino acids and amines may offer a potential blood-based diagnostic tool for AD.

研究分野：認知症学 神経内科学 バイオマーカー

キーワード：アミノ酸 認知症

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

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病等認知症患者の増加に伴い早期診断マーカーの必要性が増している。特に侵襲性が低く、マスキングが可能な血液マーカーに対する期待は大きい。現在まで、アルツハイマー病の血液マーカーの候補として報告されたものはあるが、再現性が得られ実用化されたものは未だ存在しない。

アミノ酸は多くの代謝経路において基質や調整因子としての役割を担う。生体成分の遊離アミノ酸を測定することは、種々の疾患の診断に有効である。生体内のアミノ酸分析は血液、尿、羊水などを用いて行われることが多いが、母乳、脳脊髄液、細胞抽出液、あるいは肝臓、筋肉、骨などの組織内液を用いても測定可能である。生体内のアミノ酸プロファイルはイオン交換クロマトグラフィーあるいは質量分析器を用いた約 40 種類のアミノ酸と関連化合物のアッセイが可能である。

研究代表者は、生体内の代謝経路の中心的存在であるアミノ酸に着目し、アミノ酸を網羅的にプロファイルする技術をアルツハイマー病の血液診断に応用する試みを行った。

2. 研究の目的

本研究は血漿中の遊離アミノ酸を網羅的に解析し、アルツハイマー病の診断マーカーとしての有用性を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

インフォームドコンセントの上にて採取されたアルツハイマー病患者 (n=37) と年齢マッチさせた対照群 (n=30) を対象とした。血漿サンプルの採取は空腹時午前中の採血とし、採血後直ちに冷却、4 時間以内に血漿遠心分離を行った。アミノ酸プロファイルへの影響が知られているアルコール依存症患者、担癌患者、肝硬変患者、人工透析患者などは除外基準とし、対象には含めなかった。

表1. 被験者の情報

	アルツハイマー病	対照者
サンプル数 (女, 男)	37 (22, 15)	30 (14, 16)
APOC		
ε2	3	2
ε3	48	54
ε4	23	4

血漿をカラムで前処理後、high performance liquid chromatography/electrospray mass spectrometry (HPLC/ESI-MS) を用いアミノ酸を含めた代謝産物を網羅的に解析した。

4. 研究成果

アルツハイマー病患者の血漿で有意に変動する 5 種類のアミノ酸代謝物を同定した

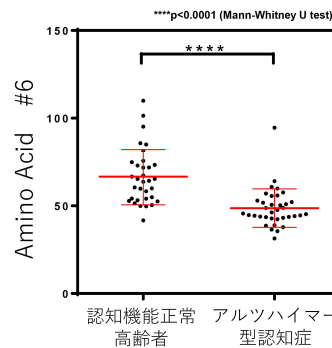
表2. 血漿アミノ酸の測定

アミノ酸	アルツハイマー型認知症群	認知機能正常高齢者群
1	29.26 ± 15.08	28.81 ± 13.35
2	109.88 ± 20.00	109.56 ± 18.81
3	45.08 ± 7.47	42.86 ± 6.50
4	220.68 ± 71.13	232.99 ± 62.84
5	593.70 ± 63.99	584.78 ± 62.76
6	48.73 ± 10.81	68.75 ± 20.59**
7	75.03 ± 9.83	75.96 ± 8.75
8	114.39 ± 22.96	108.43 ± 21.68
9	355.05 ± 65.63	320.94 ± 85.31*
10	95.65 ± 17.06	92.28 ± 23.20
11	140.85 ± 32.95	130.78 ± 42.50
12	43.33 ± 12.41	40.72 ± 15.58
13	60.29 ± 10.24	56.76 ± 9.05
14	214.13 ± 43.85	194.47 ± 37.30*
15	23.52 ± 3.86	22.72 ± 3.48
16	58.55 ± 14.78	57.64 ± 18.91
17	183.37 ± 26.85	172.54 ± 31.26
18	60.16 ± 14.76	53.22 ± 12.86*
19	113.40 ± 26.48	101.37 ± 18.17*
20	57.57 ± 7.86	56.37 ± 8.67
21	47.45 ± 7.21	46.11 ± 9.52
22	387.69 ± 81.57	349.06 ± 66.26*
23	889.02 ± 124.80	831.19 ± 114.48*

\*P<0.05, \*\*P<0.01

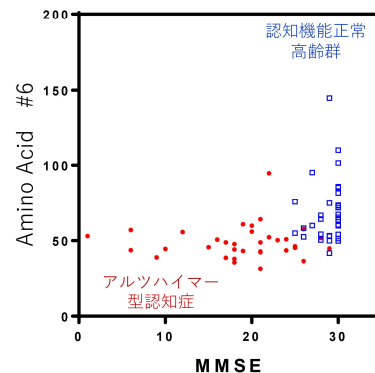
(表2, 図1)。その一つのアミノ酸代謝物は、認知機能スケール Mini-Mental Stage Examination スコアと有意な相関を示した(図2)。

図1



軽度認知障害と診断された方の中で、経過観察中に認知症にコンバートした群 (n=17) と非コンバート群 (n=10) でアミノ酸分析を行い、軽度認知障害から認知症コンバート予測に有用なアミノ酸代謝物を 3 種類同定した。

図2



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 10 件)

- 1) Kidana K, Tatebe T, Ito K, Hara N, Kakita A, Saito T, Ouchi Y, Makino M, Ikeuchi T, Saido TC, Akishita M, Iwatsubo T, Hori Y, Tomita T. Astrocyte-derived kallikrein-related peptidase 7 attenuates amyloid- $\beta$  deposition in a mouse model of Alzheimer disease. *EMBO Molecular Medicine* (印刷中)
  - 2) Mano T, Ohtomo R, Nagata K, Takahashi-Fujigasaki J, Murayama S, Saido TC, Yamashita S, Ushijima T, Hashimoto T, Tamaoka A, Ikeuchi T, Iwatsubo T, Tsuji S, Iwata A. Neuron-specific methylome analysis reveals epigenetic regulation of BRCA1 and its tau-related dysfunction in Alzheimer's disease. *PNAS USA* (印刷中)
  - 3) Morihara R, Yamashita T, Deguchi K, Kurata T, Nomura E, Sato K, Nakano Y, Ohta Y, Hishikawa N, Ikeuchi T, Kitaguchi M, Abe K. Familial and sporadic chronic progressive degenerative parietal ataxia. *Journal of Neurological Science* 387:70-74, 2018
  - 4) Hasegawa I, Takeda A, Hatsuta H, Kubo Y, Osawa M, Nakano Y, Ikeuchi T, Hasegawa M, Murayama S, Itoh Y. An autopsy case of globular glial tauopathy presenting with clinical features of motor neuron disease with dementia. *Neuropathology* (in press)
  - 5) Takahashi Y, Ohta Y, Sasaki R, Tadokoro K, Sato K, Shang J, Takemoto M, Hishikawa N, Yamashita T, Haraguchi T, Ikeuchi T, Abe K. A novel presenilin 1 mutation (Leu418Trp) associated with spasticity, parkinsonism, and white matter lesion in a dominant Alzheimer's family. *Journal of Neurological Science* 387:166-169, 2018
  - 6) Nakamura S, Hara T, Joh T, Kobayashi A, Yamazaki A, Kasuga K, Ikeuchi T, Ohtsubo K. Effects of super-hard rice bread blended with black rice bran on amyloid  $\beta$  peptide production and abrupt increase in postprandial blood glucose levels in mice. *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry* 81: 323-334, 2017
  - 7) Tagami S, Yanagida K, Kodama TS, Takami M, Mizuta N, Oyama H, Nishitomi K, Chui YW, Okamoto T, Ikeuchi T, Sakaguchi G, Kudo T, Matuura Y, Fukumori A, Takeda M, Ihara Y, Okochi M. Semagacestat is a pseudo-inhibitor of  $\gamma$ -secretase. *Cell Reports* 21: 259-273, 2017
  - 8) Watanabe Y, Kitamura K, Nakamura K, Sanpei K, Wakasugi M, Yokoseki A, Kabasawa K, Onodera O, Ikeuchi T, Kuwano R, Momotsu T, Narita I, Endo N. The association of dialysis treatment and cognitive decline: a study from the Project in Sado for Total Health (PROST), Japan. *Geriatrics Gerontology International* 17:1584-1587, 2017
  - 9) Hosaka T, Ishii K, Miura T, Mezaki N, Kasuga K, Ikeuchi T, Tamaoka A. A novel frameshift GRN mutation results in frontotemporal lobar degeneration presenting a distinct clinical phenotype in a family: a literature review. *BMC Neurology* 17: 182, 2017
  - 10) Hara N, Kikuchi M, Miyashita A, Hatsuta H, Saito Y, Kasuga K, Murayama S, Ikeuchi T, Kuwano R. Serum microRNA miR-501-3p as a potential biomarker related to the progression of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica Communications* 5:10, 2017
- 〔学会発表〕(計 10 件)
- 1) 池内 健 .アルツハイマー病の遺伝因子と臨床的意義 . シンポジウム「ゲノム医療の活用」第 59 回日本老年医学会学術集会 . 2017.6.14. 名古屋国際会議場 (名古屋市)
  - 2) 池内 健 . シンポジウム「アルツハイマー病のリスク遺伝子とその分子病態」アルツハイマー病の遺伝的因子と新規リスク遺伝子の探索 . 第 36 回日本認知症学会 . 2017.11.24. 金沢県立音楽堂 (金沢市)
  - 3) 池内 健 . シンポジウム「認知症を呈する白質脳症」分子遺伝学を基盤とした成人発症大脳白質脳症の理解 . 第 36 回日本認知症学会 . 2017.11.26. 金沢県立音楽堂 (金沢市)
  - 4) Ishiguro T, Kasuga K, Saito K, Mezaki N, Miura T, Onodera O, Ikeuchi T. The effect of neuronal activity on  $\beta$ -amyloid precursor protein (APP) processing in cultured cells. 23rd World Congress of Neurology. 2017.9.16, Kyoto, Japan
  - 5) Kasuga K, Tokutake T, Miura T, Mezaki N, Ishiguro T, Onodera O, Ikeuchi T. Alzheimer's disease related cerebrospinal fluid biomarkers in patients with neurological disorders. 23rd World Congress of Neurology. 2017.9.16, Kyoto, Japan
  - 6) Tokutake T, Kasuga K, Ishiguro T, Miura T, Mezaki N, Hirai K, Onodera O, Ikeuchi T. Characteristic clinical presentations and CSF biomarker features in patients with semantic dementia. 23rd World Congress of Neurology. 2017.9.16, Kyoto, Japan
  - 7) Miura T, Mezaki N, Sanpei K, Aoki K, Takeuchi R, Tanaka H, Toyoshima Y, Kakita A, Takahashi H, Onodera O, Ikeuchi T. Globular glial tauopathy (GGT): clinical-pathological study of two autopsied cases and review of literature. 69th Annual Meeting of American Academy of Neurology. 2017.4.24, Boston, USA
  - 8) Mezaki N, Miura T, Ogaki K, Eriguchi M, Yamazaki H, Komatsu K, Ono N, Kawajiri S, Nozaki H, Kasuga K, Okuma Y, Hara H,

Onodera O, Ikeuchi T. LMNB1-related autosomal dominant leukodystrophy: genetic and clinical studies of three Japanese families. 69th Annual Meeting of American Academy of Neurology. 2017.4. 23, Boston, USA

- 9) Lee JJ, Kang S, Lee W, Gunasekaran TI, Park JE, Seo H, Park M, Rhee S, Kim H, Kim BC, Choo IH, Ikeuchi T, Choi KY, Lee KH. Age-weighted polygenic risk model effectively predicts the onset of Alzheimer disease. AAIC 2017.7.16, London, UK
- 10) Kikuchi M, Hara N, Hasegawa M, Miyashita A, Kuwano R, Ikeuchi T, Nakaya A. The prediction method of deleterious variants for Alzheimer's disease using chromatin higher-order structure. AAIC 2017.7.16, London, UK

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

池内 健 (IKEUCHI, Takeshi)  
新潟大学・脳研究所・教授  
研究者番号：20372469

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

春日健作 (KASUGA, Kensaku)  
新潟大学・脳研究所・助教  
研究者番号：70547546

徳武孝允 (TOKUTAKE, Takayoshi)  
新潟大学・医歯学総合病院・助教  
研究者番号：00707838

### (4) 研究協力者

河合信宏 (KAWAI, Nobuhiro)  
味の素株式会社・研究員  
研究者番号：なし