

令和 2 年 4 月 15 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08725

研究課題名(和文) 高齢者タウパチ[®]チ-診断を目指した病態研究

研究課題名(英文) The research of pathological condition for clinical diagnosis of tangle only dementia

研究代表者

赤津 裕康 (Hiroyasu, Akatsu)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授

研究者番号：00399734

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：年間30例程の病理解剖症例の蓄積が継続され、臨床・病理解剖記録の臨床記録のデータ収集が終了した。蓄積された症例の臨床神経病理検討で確定した高齢者タウパチ[®]チ-症例での免疫染色を補体関連、鉄代謝関連マーカーを中心に行った。血液診断マーカー探索は新たなコホート体制を構築できた。血液マーカーにおいて、アルツハイマー病の診断の新たな候補因子を共同研究で同定した。これらも含めて臨床的高齢者タウパチ[®]チ-症例でも診断的意義があるかの検討を開始した。さらに、変性タウ蛋白の精製、それらの炎症起点の可能性を検討するため、試験管レベルでの実験の展開を開始している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢者タウオパチ[®]は、世界的に進むアルツハイマー病(AD)の画像病理相関研究において、ADの原因とされているアミロイド(A β)沈着を認めないケースとして注目されている。臨床的にADと誤診されやすく、A β 除去を狙った治療が無効となる。ADの血液での診断は困難とされたが、我々はその可能性を世界で始めて報告した。本研究では網羅的に臨床データ、凍結脳を用いた発現遺伝子解析・質量分析と、固定脳での免疫染色を駆使して高齢者タウオパチ[®]の病態解析、変性タウ蛋白の挙動解析を進めている。社会的意義にまでつながる結果には至っていないが、現状の体制での研究を推進すれば、いずれADと差別化できる候補因子を見出せる。

研究成果の概要(英文)：In our institute, the autopsy of about 30 cases per year was continued. And the clinical and pathological data collection was completed. Immunostaining of accumulated cases, tangle only dementia confirmed by clinical neuropathological examination, was performed mainly for complement-related and iron metabolism-related markers. The search for blood diagnostic markers has established a new cohort system. A new candidate factor for the diagnosis of Alzheimer's disease in blood markers was identified with collaboration. We have begun to investigate whether there is any diagnostic significance in clinical tauopathy patients including these. In addition, we have begun developing experiments in vitro level in order to purify denatured tau proteins and examine their potential for inflammation.

研究分野：神経病理・老年医学

キーワード：高齢者タウオパチ 補体 鉄 神経源線維変化 嗜銀顆粒

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

認知症の最大リスクは加齢であり 80 歳以上で 4 人に 1 人が認知症であると言われている。AD を含む認知症患者は 2025 年に 700 万人を超えると考えられるが、高齢者タウオパチ-の認知度は極めて低く、臨床診断されことはまれである。

AD との鑑別診断の困難さ:AD は物忘れを初発症状として 60 歳 ~ 70 歳で発症し最終的には記憶、思考、行動障害を生じ寝たきり状態となる。国際的確定診断は生研か剖検での神経病理学的検索である。必須所見は アミロイド(A)で構成される老人斑(上写真)とリン酸化タウ蛋白(*p*-tau)で構成される神経原線維変化(下写真)所見である。一方、高齢者タウオパチ-は脳内の *p*-tau 沈着が A より優位となる疾患群で様々な疾患が含まれる(日老医誌 49; 281)。特に AD との鑑別が難しいのは臨床像が類似する嗜銀顆粒認知症 (argyrophilic grain dementia: AGD) や神経原線維変化型老年期認知症 (senile dementia of neurofibrillary tangle type: SD-NFT) である。

AD の原因は家族性 AD 等の研究から A の蓄積が開始点であるとされる(アミロイドカスケード仮説; Science, 297: 353)。AD モデルマウスへの A ワクチン効果 (Nature, 400: 173) での治療薬開発は一時停滞したが、今秋良好な結果が報告された (Nature, 537: 7618)。一方、A 沈着を陽電子ラベルプローブで画像化するアミロイドイメージングが米国を中心に開発され、国産プローブ開発では我々も 2000 年代に入り医薬品機構 BF 研究所(工藤幸司博士:現東北大学加齢医学研究所教授)と共同研究を行った(業績 18)。この貢献は世界をリードしている東北大学のタウイメージング(*p*-tau を画像化する)の開発にもつながった。臨床研究では浜松医大分子イメージング先端研究センター尾内康臣博士と協力しバイエルン社(現在ピラマ社に権利移管)の国際臨床治験(業績 3,9)で我々が世界最多 21 例の病理相関症例(生前画像取得症例を病理解剖で確認する)を提示し、国内初の施設として EU からの医薬品承認監査を受けた。これらの経験から我々は AGD や SD-NFT の診断の困難さと重要性を認識した。世界的に進むアミロイドイメージングの結果、A の発症前での蓄積状況が認識され、治療介入時期の見直しとなった。それとともに、A 未蓄積症例(高齢者タウオパチ-の AGD や SD-NFT)もアミロイドイメージング(陰性所見)により認識され、AD との鑑別の重要性が認識されつつある。

また我々は 1990 年代よりブレインバンクを構築し国内でも屈指の 700 例以上の新鮮凍結脳を蓄積する。数年間の AD 症例解析では高齢発症ほど他の認知症疾患病理を複合的に合併するケースが多い事を世界で初めて報告し高齢発症での診断の困難さを提言した。

2. 研究の目的

アミロイドイメージングは高額でありスクリーニング検査には向かない。髄液検査は A リン酸化 tau の組み合わせの有効性が報告されているが、腰椎穿刺が必要で外来検査としては不向きである。血液検査は簡便ではあるが、AD 診断は困難であるとされていた。しかし我々は連携研究者の内田博士と質量分析の手法を応用し、複数の組み合わせで世界に先んじて AD の血液検査の可能性を報告した (Alzheimers Dement (Amst). 1(2):270-80 (2015))。

この経験を活かし、神経病理学的に確定診断のついた凍結脳組織から候補因子を検索するとともに、高齢者タウオパチ-で蓄積するリン酸化タウを用いた in vivo/vitro 解析などを応用し血液検査で用いることが出来る可能性のある候補因子の検討を進めて行く

3. 研究の方法

(1) 初年度：高齢者タウオパチーの臨床病理的検討と凍結脳解析

AD 症例を比較検討対象とし SD-NFT/AGD の臨床記録、画像からその臨床的特徴の洗い出しを行う。

病理所見に関してはすでに、臨床病理診断のための一般的染色と A、*p*-tau などの主な免疫染色が行われているが、改めて神経細胞、グリア細胞マーカーや神経伝達因子などに加え補体の挙動を免疫染色法で検索していく。

SD-NFT 症例のマイクロアレー解析は AD 症例、正常加齢症例をコントロールとしてすでに行っており、連携研究者の小西博士が統計解析を行っている。さらに、本研究では AGD 症例の凍結脳を用いたマイクロアレー解析も行い、総合的に発現遺伝子変動解析を行う。正常加齢症例をコントロールとして、AD での血液、脳組織における質量分析、メタボローム解析を連携研究者である井之上博士と行っており（業績 7,10,13,17：右図）このチームで SD-NFT/AGD の病変部（主に海馬、辺縁系、側頭葉）におけるメタボローム解析を行い変動分子の検索を行う。

(2) 次年度：標的分子の形態的解析

候補分子の独自の割り出しにより得られた候補因子に加え、連携研究者の岡澤博士が報告した Myristoylated alanine-rich C-kinase substrate (MARCK) など、AD 関連分子（連携研究者業績 1）の免疫組織染色などを用いて組織内分布の検討を行う。

流用許可がとれている保存血液や臨床的に SD-NFT/AGD と診断されている症例から、書面での承諾を新たに得て採血を行い、候補分子の血液動態の検討と追跡を行う。

4. 研究成果

(1) 年間 30 例程の病理解剖症例の蓄積は継続的に行われた。神経原線維変化型認知症 (SD-NFT) 及び嗜銀顆粒型認知症 (AGD) の症例は必ずしも多数ではなく、症例数は予定通りには蓄積されていない。これまでに病理解剖が終了し、病理診断まで終了している症例における臨床・病理解剖記録の臨床記録のデータ収集は終了した。新たな症例に関しては、今後もサンプル収集、臨床・病理解析を進めていく。体制的に 2019 年秋からブレインバンク担当医の増員が行われたため、解剖症例数は 36 例となり例年より症例数を増やす事ができた。

(2) 病理検索においては、神経病理診断のため一般的形態的組織染色の他老人斑を形成するアミロイド蛋白 (A β) や、神経原線維変化の原因物質であるリン酸化タウ蛋白 (*p*-tau) などの主な免疫染色も新たに追加された症例を除いて終了している。蓄積された症例に関しても臨床神経病理検討会を定期的に行ない、一定ペースで進めている。マーカー候補の探索においては、昨年度の補体の挙動に加え、今年度は鉄代謝関連マーカーの検索を継続的に行っているが新たな診断因子の発見には至っていない。

(3) マイクロアレー解析は既に終了し、炎症性ファクターが多くを占める結果となり、非特異的な発現変化が散見され、データの見直しを余儀なくされている。

- (4) メタボローム解析でも未だ有力候補を得るには至っていない。
- (5) 血液診断マーカー探索は新たなコホート体制を構築できた。また、筑波大内田らとともに英国との共同研究体制の構築を開始した。また別件での共同研究で AD 診断の候補が得られ、高齢者タウオパチ での検討を始めている。
- (6) 認知症関連の異常蓄積蛋白が実際の血漿補体などに影響を及ぼすかについて、*in vitro* における実験体制が構築でき解析を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Takayama T, Mizuno H, Toyo'oka T, Akatsu H, Inoue K, Todoroki K.	4. 巻 19(3)
2. 論文標題 Isotope Corrected Chiral and Achiral Nontargeted Metabolomics: An Approach for High Accuracy and Precision Metabolomics Based on Derivatization and Its Application to Cerebrospinal Fluid of Patients with Alzheimer's Disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anal Chem	6. 最初と最後の頁 4396-4404
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.8b04852. Epub 2019 Mar 15.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Matsuoka T, Manabe T, Akatsu H, Hashizume Y, Yamamoto S, Ogawa N, Kanesaka T, Taniguchi C, Yamamoto T, Mizukami K.	4. 巻 19(3)
2. 論文標題 Factors influencing hospital admission among patients with autopsy-confirmed dementia.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Psychogeriatrics.	6. 最初と最後の頁 255-263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/psyg.12393. Epub 2019 Jan 24.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Liu S, Suzuki H, Ito H, Korenaga T, Akatsu H, Meno K, Uchida K.	4. 巻 Jan 12
2. 論文標題 Serum levels of proteins involved in amyloid- clearance are related to cognitive decline and neuroimaging changes in mild cognitive impairment.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Alzheimers Dement (Amst).	6. 最初と最後の頁 85-97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dadm.2018.11.003. eCollection 2019 Dec.	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 -
1. 著者名 Yamaguchi-Kabata Y, Morihara T, Ohara T, Ninomiya T, Takahashi A, Akatsu H, Hashizume Y, Hayashi N, Shigemizu D, Borojevich KA, Ikeda M, Kubo M, Takeda M, Tsunoda T.	4. 巻 37(6-7)
2. 論文標題 Integrated analysis of human genetic association study and mouse transcriptome suggests LBH and SHF genes as novel susceptible genes for amyloid- accumulation in Alzheimer's disease.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Hum Genet.	6. 最初と最後の頁 521-533
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00439-018-1906-z. Epub 2018 Jul 13.	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 -

1. 著者名 Endo R, Takashima N, Nekooki-Machida Y, Komi Y, Hui KK, Takao M, Akatsu H, Murayama S, Sawa A, Tanaka M.	4. 巻 84(7)
2. 論文標題 TAR DNA-Binding Protein 43 and Disrupted in Schizophrenia 1 Coaggregation Disrupts Dendritic Local Translation and Mental Function in Frontotemporal Lobar Degeneration.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biol Psychiatry.	6. 最初と最後の頁 509-521
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biopsych.2018.03.008. Epub 2018 Mar 29.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuo Ko, Shindo Akihiro, Niwa Atsushi, Tabei Ken-ichi, Akatsu Hiroyasu, Hashizume Yoshio, Akiyama Haruhiko, Ayaki Takashi, Maki Takakuni, Sawamoto Nobukatsu, Takahashi Ryosuke, Oikawa Shinji, Tomimoto Hidekazu	4. 巻 44
2. 論文標題 Complement Activation in Capillary Cerebral Amyloid Angiopathy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Dement Geriatr Cogn Disord	6. 最初と最後の頁 343 ~ 353
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000486091	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujita Kyota, Chen Xigui, Homma Hidenori, Tagawa Kazuhiko, Amano Mutsuki, Saito Ayumu, Imoto Seiya, Akatsu Hiroyasu, Hashizume Yoshio, Kaibuchi Kozo, Miyano Satoru, Okazawa Hitoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Targeting Tyro3 ameliorates a model of PGRN-mutant FTLN-TDP via tau-mediated synaptic pathology	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 433
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-02821-z	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 -

1. 著者名 Analysis of the gut microbiome and plasma short-chain fatty acid profiles in a spontaneous mouse model of metabolic syndrome.	4. 巻 7(1)
2. 論文標題 Analysis of the gut microbiome and plasma short-chain fatty acid profiles in a spontaneous mouse model of metabolic syndrome.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 15876
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-16189-5.	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 -

1. 著者名 Niwa Atsushi, Ii Yuichiro, Shindo Akihiro, Matsuo Ko, Ishikawa Hidehiro, Taniguchi Akira, Takase Shinichi, Maeda Masayuki, Sakuma Hajime, Akatsu Hiroyasu, Hashizume Yoshio, Tomimoto Hidekazu	4. 巻 59
2. 論文標題 Comparative Analysis of Cortical Microinfarcts and Microbleeds using 3.0-Tesla Postmortem Magnetic Resonance Images and Histopathology	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Alzheimer's Disease	6. 最初と最後の頁 951 ~ 959
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-161242	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Manabe T, Mizukami K, Akatsu H, Hashizume Y, Ohkubo T, Kudo K, Hizawa N.	4. 巻 56(8)
2. 論文標題 Factors Associated with Pneumonia-caused Death in Older Adults with Autopsy-confirmed Dementia.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Intern Med	6. 最初と最後の頁 907-914
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.56.7879.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Hiroyasu Akatsu 1,2), Norihiro Ogawa1), Takeshi Kanesaka1), Chie Taniguchi1), Sakon Yamamoto1), Takayuki Yamamoto, Masaki Takao, Shigeo Murayama, Yoshio Hashizume
2. 発表標題 Fukushima Brain Bank; Unique activity of Japanese private geriatric hospital
3. 学会等名 ICN2018TOKYO 19th International Congress of Neuropathology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高山卓大1,2・水野初1・豊岡利正1・赤津裕康3,4・井之上浩一5・轟木堅一郎1
2. 発表標題 アルツハイマー病患者試料の高精度キラルメタボロミクスによるマーカー探索
3. 学会等名 日本質量分析学会・日本プロテオーム学会2018年合同大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 六車宜央, 筒井陽仁, 赤津裕康, 井之上浩一
2. 発表標題 アルツハイマー型認知症の病理診断に基づく脳脊髄液・血液ペアのワイドターゲットメタボロミクス解析
3. 学会等名 第31回バイオメディカル分析科学シンポジウム 教育講演
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 兼松孝好, 林 紘太郎, 荒川和幸, 田中創始, 赤津裕康, 大原弘隆
2. 発表標題 精神科病院からの紹介転院を契機に診断されたMM2-視床型孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病の剖検例
3. 学会等名 第10回 日本神経病理学会 東海・北陸地方会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 赤津裕康, 川出義浩, 間辺利江, 井上風吹, 井村尚斗, 日比英志, 荒川和幸, 正木克由規, 田中創始, 兼松孝好, 橋詰良夫, 常山幸一, 大原弘隆
2. 発表標題 長期経静脈鉄剤投与剖検症例での肝臓鉄沈着、死後血液鉄関連因子の関連性の検討
3. 学会等名 第42回 日本鉄バイオサイエンス学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 *Akatsu H, Arai S, Tanaka T, Kamiya A, Arakawa K, Masaki Y, Tanaka H, Kanematsu T, Ohara H, Inoue K, J.-Z. Xia, Maruyama M.
2. 発表標題 Investigation on the effect of aminolevulinic acid on intestinal environment of aging mice
3. 学会等名 ESPEN(欧州静脈経腸栄養学会) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 加藤智子、小西吉裕、下濱俊、BEACH T. G.、赤津裕康
2. 発表標題 アルツハイマー病モデルマウスにおける脳特異的タンパク質 1 chimaerinの発現
3. 学会等名 第36回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 劉珊、鈴木秀昭、目野浩二、赤津裕康、松川則之
2. 発表標題 MCIとアルツハイマー病の血液バイオマーカーとしての補体タンパク質プロファイル
3. 学会等名 第36回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 長友涼介、岡田泰毅、筒井陽仁、赤津裕康
2. 発表標題 ピコリルアミン誘導体化法による短鎖脂肪酸のLC ESI MS/MS分析法の開発:腸内細菌叢解析への応用
3. 学会等名 第30回バイオメディカル分析科学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高山卓大、水野初、豊岡利正、井之上浩一、赤津裕康、轟木堅一郎
2. 発表標題 安定同位体誘導体化を基盤とする高精度キラルメタボロミクスの開発とアルツハイマー病患者CSF解析
3. 学会等名 第30回バイオメディカル分析科学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 六車宜央、筒井陽仁、赤津裕康
2. 発表標題 Fmoc誘導体化LC MS/MSを用いたヒト脳脊髄液中のアミノ酸骨格代謝系の網羅的定量分析
3. 学会等名 第30回バイオメディカル分析科学シンポジウム
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

Profesor BP Morgan https://www.cardiff.ac.uk/people/view/126579-morgan-paul

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
研究分担者	正木 克由規 (Masaki Yoshiyuki) (00365652)	名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員 (23903)	
研究分担者	兼松 孝好 (Kanematsu Takayoshi) (20381824)	名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師 (23903)	
研究分担者	田中 創始 (Tanaka Hajime) (30433220)	名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師 (23903)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	大原 弘隆 (Ohara Hirotaka) (80285212)	名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授 (23903)	
研究 分 担 者	間辺 利江 (Manabe Toshie) (50723110)	帝京大学・医学部・助教 (32643)	