

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08913

研究課題名(和文) 軽度認知機能障害の認知機能悪化速度を予測するバイオマーカーの探索研究

研究課題名(英文) Exploratory research for plasma biomarkers to predict a future exploratory research in patients with mild cognitive impairment

研究代表者

武田 昌生 (Takeda, Masao)

大阪大学・医学系研究科・特任助教(常勤)

研究者番号：80747113

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：認知症の最大の原因疾患であるアルツハイマー病(AD)を、初期段階の軽度認知障害(MCI)で検出することは臨床上有用である。MCI患者のADへの移行(認知機能低下の進行)を予測する事は困難であるが、その予測手段の候補として、血漿中マイクロRNA(miRNA)が挙げられる。本研究では、血漿中miRNAによりMCI患者の将来の認知機能低下を予測することが可能かについて検討を行った。同一年齢の高齢者を対象とした疫学研究を用いた検討の結果、3年後の認知機能が低下した群で19中2種類のmiRNAが有意に低下している事が明らかになった。診断マーカーとしての有用性を明らかにするためには更なる検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：It is clinically useful to detect Alzheimer's diseases (AD), the most common cause of dementia at the early phase which is called mild cognitive impairment (MCI). However, it is difficult to predict a future cognitive decline in patients with MCI, as this population involves normal subjects. Plasma micro RNA (miRNA) is a potential biomarker of AD, and thus could be useful in predicting cognitive decline in patients with MCI. In this study, we explored miRNAs that can predict future cognitive decline in patients with MCI. We used the cohort study of the elderly at the same age, and found that 2 out of 19 plasma miRNAs decreased significantly in the subjects who reduced cognitive function during three years compared to those without progressive cognitive decline. Further validation study will be required to clarify the usefulness of the plasma miRNAs to predict cognitive decline in patients with MCI.

研究分野：老年医学

キーワード：アルツハイマー病 バイオマーカー 軽度認知機能障害

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会を迎えた本邦で寿命の延長による認知症患者の増加は社会的、医療経済的に大きな問題となっている。認知症の主要な原因疾患であるアルツハイマー病(AD)は物忘れを初発症状とし Functional Assessment Staging(FAST)で分類される一定の臨床経過を経て死に至る神経変性疾患である。AD はアミロイド β (A β)の脳内沈着と続発する神経細胞障害をその発症病理とするが、A β の蓄積は認知機能低下に先行し、AD と診断される病期においては神経細胞障害が進行している事が明らかになっている¹。欧米で開発されたADの根本治療薬はいずれも臨床応用に至っていないが、その要因の一つとして臨床試験の対象であったAD患者では神経細胞障害が既に不可逆的であることが挙げられる。またADの進行抑制薬として使用されるAchエステラーゼ阻害薬やメマンチンは認知機能低下が軽度な段階から投与することで、より有効な治療効果が期待できる。これらのことからADに移行しやすい物忘れを伴う軽度認知機能障害(amnesic MCI, 以下 MCI)を早期発見し治療介入することが求められている。MCIは Peterson らの定義に従えば、・主観的な物忘れの訴え、・年齢に比し記憶力が低下(記憶検査で平均値の1.5SD以下)、・日常生活動作は正常、・全般的な認知機能は正常、・認知症は認めないことにより診断される²。MCIに治療介入する現状の問題点として、その診断が臨床症状や認知機能検査に依存するため診断時点でその後の認知症(AD)への移行が予測できないことがある。実際、MCIと診断された患者は年間10-15%が認知症に移行することが知られている反面、45%がその後正常と診断されることも報告されている³。このためMCIへの治療介入の為にMCIからADに移行する群を検出する手法が求められており、画像診断やバイオマーカーの研究開発が進行中である。

近年、バイオマーカーとしての血漿(または血清)中マイクロRNA(miRNA)の有用性が注目されている。miRNAは生体で産生される18-25塩基のRNAで蛋白をコードしないnon-coding RNAの一種である。miRNAは相補的なRNAに結合し蛋白合成を停止させることで多くの遺伝子の発現調節を担っている。細胞で産生されたmiRNAの一部は血中に放出され循環するため、血液検査による定量的検査が可能である。miRNAがバイオマーカーとして注目される理由として臓器特異性が高いmiRNAを検出することで高い疾患特異性が得られること、検出感度が高いこと、血液中で蛋白と結合している為分解されにくく安定であること、などが挙げられる。中枢神経系のmiRNAも血中に移行することから認知症領域でも研究が進められており、正常集団、MCI、ADで特定の血漿中miRNA発現量が変化することが報告されている⁴。

我々がH22年より実施している関西健康長寿研究では、70歳、80歳、90歳の高齢者各500人および、100歳超の高齢者を対象に臨床調査を施行し、3年毎の追跡検査を行っている。同研究ではMCIの検出に優れたMontreal Cognitive Assessment-Japan (MoCA-J)を用いて認知機能の評価を行っており追跡検査によって経時的な認知機能の変化を検出することが可能である。

2. 研究の目的

本研究の主目的はMCIに分類される認知機能を有する集団から治療すべきMCI患者を血漿中miRNAにより検出することにある。上述のようにある時点でMCIと診断される集団は必ずしも全てが将来認知症に移行することが決定づけられている訳ではない。治療すべきMCIとは認知機能が経時的に低下し将来認知症に移行する患者群であり、本研究では血漿中miRNAによりMCI患者の将来の認知機能低下を予測できるか検討する

3. 研究の方法

● 関西健康長寿研究の患者調査と MoCA-J スコアによる研究対象抽出

関西健康長寿研究とは H22 年に開始されたコホート研究で、住民基本台帳から選出した、70 歳、80 歳、90 歳の高齢者各 500 人（兵庫県伊丹市および朝来市在住の高齢者 250 人ずつ）および 100 歳超の高齢者を対象に、詳細な問診、血圧、腹囲、肺機能検査、頸動脈エコー、採血、認知機能検査などを施行し、3 年ごとの追跡検査を行う計画である。H26 年度までに第 1 回目の調査および 70 歳、80 歳の 3 年後追跡調査が終了しており現在データベースの整理と入力が行進中である。H27 年度には 90 歳の高齢者 500 人の 3 年後追跡調査を行う。データベースが完成次第、第 1 回目の調査の MoCA-J スコアに基づき研究対象を抽出する。抽出する MoCA-J スコアは過去に MCI と正常者を鋭敏に選別することが報告されている 25 点以下とする。

● 研究対象血漿からの miRNA 抽出と定量

初回調査時の血漿サンプルは採血同日に分離され-20 度に保存されている。miRNA 抽出は miRNeasy kit (Qiagen) を用いて行う。保存された血漿サンプルの miRNA の抽出効率は同条件で保存した健常ボランティアの血漿サンプルを用いて確認済みである。逆転写は TaqMan Universal Master Mix II (Life technology) を用い、Custom TaqMan miRNA Array Card (Life technology) を用いて real time PCR を施行する。同システムでは一被検者につき最大 48 種類の miRNA の定量が可能である(コントロール遺伝子含む)。定量する遺伝子は既報において正常者と MCI(または AD)患者を高感度に選別できることが報告されている miRNA を 30~40 種類抽出する。本研究では 80 歳の血漿サンプルから miRNA の抽出を行う。

● データ解析

データベースは SPSS(IBM)を基に作成され

ている。関西健康長寿研究で得られた患者背景データと血漿中 miRNA 定量値、血漿蛋白濃度、ApoE 遺伝子型を入力し多変量解析等を用いて血漿中 miRNA の有用性を評価する。

4. 研究成果

SONIC で 3 年間追跡可能であった 80 歳のうち、MCI に相当する $18 < \text{MoCA} < 26$ であり除外基準*に当てはまらない 114 人を抽出した。(*除外基準：認知症、がん、脳卒中、甲状腺疾患、パーキンソン病関連疾患と診断されている参加者)

3 年間の MoCA 変化(83 歳時の MoCA-80 歳の MoCA)が 2SD に相当する > 2 であった参加者を低下群と定義した。

Baseline の比較において、維持・上昇群と低下群においては糖尿病、高血圧の罹患歴、心疾患の既往歴に有意な差を認めず、HbA1C は低下群で高い傾向にあった($p=0.056$)

評価する miRNA に関しては、2 つ以上の文献において認知症や MCI との関連が報告されている 19 種類の miRNA を抽出して、array-PCR を施行した。その結果、二種類の血漿 miRNA(miRX, miRY)において MoCA 低下群での低下を認めた (Relative expression; miRX, 20.35 vs. 4.23 ($p=0.033$), miRY, 19.56 vs. 16.85 ($p=0.044$)). 80 歳参加者の 6 年後の MoCA は既に収集しており、現在データのクリーンアップ中である。6 年後の Moca の変化と上述の miRNA の変化とも比較を行ったうえで論文報告を行う予定にしている。

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 0 件)

[学会発表](計 0 件)

[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

武田 昌生 (TAKEDA, Masao)
大阪大学大学院医学系研究科 老年・総合
内科学 特任助教
研究者番号：80747113

(2)研究分担者

山本 浩一 (YAMAMOTO, Koichi)
大阪大学大学院医学系研究科 老年・総合
内科学 講師
研究者番号：00528424

楽木 宏実 (RAKUGI, Hiromi)
大阪大学大学院医学系研究科 老年・総合
内科学 教授
研究者番号：20252679

神出 計 (KAMIDE, Kei)
大阪大学大学院医学系研究科 保健学専
攻 総合ヘルスプロモーション科学講座
教授
研究者番号：80393239