

令和元年6月19日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16382

研究課題名(和文)アルツハイマー型認知症の病態とABCA7遺伝子の役割

研究課題名(英文)The role of the ABCA7 gene in Alzheimer's disease

研究代表者

山崎 聖広(Yamazaki, Kiyohiro)

愛媛大学・医学部附属病院・助教(病院教員)

研究者番号：20724579

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー型認知症50例と対照群50例の血液を用いて遺伝子発現量を測定し、gDNAからメチル化、一塩基多型(rs3764650)の測定を行った。結果、ABCA7遺伝子の発現量がアルツハイマー型認知症で有意に上昇しており、メチル化や一塩基多型の遺伝子発現への関与は否定的であった。アルツハイマー型認知症の罹病期間が長く、認知機能障害が重症になるほど遺伝子発現量は減少しており、ABCA7がアルツハイマー型認知症のバイオマーカーとなりうる可能性を示唆する結果が得られた。さらに統合失調症でも対照群と比較しABCA7遺伝子の発現量が上昇していることが分かった。これらの知見をそれぞれ学会報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アルツハイマー型認知症は未だ根治的な治療がなく、血液などの簡便なバイオマーカーも確立していない。今回の研究成果は、そのバイオマーカーの確立に寄与する可能性のあるものであり、学術的にも社会的にも大きな意義を持つと考えられる。また、同じバイオマーカーにおいて統合失調症でも変化がみられたことから、未だ解明されていない精神疾患の解明にも役立つ可能性があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：AD subjects (n=50) and age- and sex-matched healthy controls (n=50) were recruited. A single nucleotide polymorphism in ABCA7 (rs3764650), methylation rates of CpG sites, and ABCA7 mRNA expression levels in peripheral blood were examined. Although the distribution of the rs3764650 polymorphisms and the methylation rates of AD subjects were not significantly different from those of controls, the ABCA7 mRNA expression levels in AD subjects was significantly higher than that in controls. Additionally, the ABCA7 mRNA expression levels in AD subjects were significantly correlated with the cognitive functions and duration of illness. The ABCA7 mRNA expression levels in peripheral blood may be a marker for early stages of AD and disease progression regardless of rs3764650 and the methylation rate of its promoter. Additionally, we found that the ABCA7 mRNA expression levels were higher than control subjects. We reported these findings.

研究分野：精神科

キーワード：アルツハイマー型認知症 遺伝子発現 メチル化 一塩基多型 統合失調症

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

1. 研究開始当初の背景

私の研究室では、白血球を利用したうつ病や統合失調症、アルツハイマー型認知症(以下 AD)をはじめとした認知症の病態解明とバイオマーカーの検索を行っており、私は、AD 患者において、白血球におけるセロトニントランスポーター遺伝子の発現が上昇しており、特にアパシーと関連していることを報告した(Yamazaki K et al. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2016)。AD ではアミロイド やタウの凝集により、神経細胞の変性や消失が起こり、認知機能障害をはじめとする症状が引き起こされるが、近年は、AD モデルマウスで LFA-1 インテグリン機能不全を引き起こさせ好中球輸送を阻害すると記憶が改善するといった報告があり、白血球が AD の病態に関与していることが注目されている(Zenaro E et al. *Nat Med* 2015)。近年、Genome-wide association studies (GWAS)で ATP-binding cassette sub-family A member 7 gene (ABCA7)が AD 発症リスクと関連していることが繰り返し報告された。特に ABCA7 の一塩基多型 rs3764650 が AD 発症のリスクとして注目されているが(Hollingsworth P et al. *Nat Genet* 2011) ABCA7 の機能と AD との関連は不明な点が多い。そこで私は、AD 患者の ABCA7 遺伝子多型と白血球 mRNA 発現量および DNA メチル化率を健常者と比較し、AD 発症のリスクや症状との関連を解析し、AD のバイオマーカーになりうるか検討したいと考えている。ABCA7 は、ATP-binding cassette (ABC) トランスポーターをコードする遺伝子であり、リン脂質の輸送やマクロファージの貪食能と関与していると考えられている(Kim WS et al. *J Neurochem* 2008)。これらの機能が、AD の死後脳でみられるアミロイド の沈着と関連していると考えられているものの、その因果関係は、未だ明らかとなっていない。近年、アミロイド沈着モデルマウスにおいて、遺伝子改変により ABCA7 の欠損を引き起こすと、アミロイド沈着が有意に増加することが報告された(Kim WS et al. *J Neurosci* 2013)。さらに ABCA7 欠損マウスの海馬では、アミロイド のクリアランスが低下することが示されている(Fu Y et al. *J Alzheimers Dis.* 2016)。これらの研究結果から、ABCA7 に異常が起こることで、マクロファージの貪食能の機能不全に至り、その結果、アミロイド の沈着を引き起こし、AD 発症につながる可能性が予想される。また、ヒトの死後脳において、ABCA7 の mRNA 遺伝子発現量を解析した研究では、AD で有意に発現量が増加していると報告された(Vasquez JB et al. *Neurosci Lett* 2013)。さらにこの研究では、rs3764650 遺伝子多型が ABCA7 の mRNA 遺伝子発現量と関連していることが確認されている。ヒト脳で ABCA7 の DNA メチル化率を測定した研究では、いくつかの ABCA7 の遺伝子の CpG サイトで、mRNA 発現量との相関が確認されているが、解析対象となっている CpG サイトが ABCA7 のプロモーター領域から数千塩基も離れた場所にあるため、どのような機序で関与しているかについては、不明である(Lei Yu et al. *JAMA Neurol* 2015)。以上のように、ABCA7 と AD の関係については、報告はあるものの、その関連はまだ、黎明期にあり詳細な検討は行われていない。

2. 研究の目的

AD 患者の末梢血白血球を用いて、ABCA7 遺伝子多型、白血球 ABCA7mRNA 発現量および転写調節領域の DNA メチル化率を、認知機能や精神症状とあわせて総合的に解析し、評価することで、AD の病態解明およびバイオマーカーの検索を目的とする。

3. 研究の方法

当院の精神科を受診した患者の内、国際的診断基準である NIA-AA に基づき、AD と診断した患者を対象とする。性別、年齢を一致させた健常対照ボランティアにもご協力頂く。いずれの群も書面を用いた同意を得た後に研究に参加して頂く。対象者すべてに遺伝子採血を行った。ABCA7 mRNA 発現量の測定については、末梢白血球より total RNA を精製し、逆転写酵素を用いて cDNA を作成し保存し、total RNA を抽出して、real-time PCR にて ABCA7 mRNA 発現量を解析する。遺伝子多型については、rs3764650 を Taqman プローブ (Applied Biosystems) を用いて real-time PCR で genotyping にて測定する。メチル化率の算出には、pyrosequencer (PyroMark Q24 Advanced) を用い、ABCA7 遺伝子の exon 1 の上流にある転写調節領域にプライマーを設計し、解析を行う。これらの生物学的指標の測定を AD 群と健常対照群で行い、両群で比較検討する。また、これら生物学的な結果を、AD 患者本人に対して行う Mini-Mental State Examination (MMSE)、Alzheimer's Disease Assessment Scale (ADAS)、介護者に対して行う Neuropsychiatric Inventory (NPI) などの認知機能や精神症状とあわせて、統計的に解析し、評価する。加えて、レビー小体型認知症やパーキンソン病など、AD と鑑別を要する精神神経疾患に測定を広げる。

4. 研究成果

AD 患者 50 名と対照群の健常者 50 名において解析を行った。AD 群のうち 25 名はコリンエステラーゼ阻害薬(塩酸ドネペジル)内服中であり、残り 25 名はコリンエステラーゼ阻害薬非内服群であった。AD 群に対しては、Mini Mental State Examination (MMSE)、Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale (ADAS)、Neuropsychiatric Inventory (NPI)、Clinical Dementia Rating (CDR) といった検査を施行した。対照群は、認知機能障害、神経学的異常所見、精神疾患の既往のない、50 名の健常高齢者とした。AD 患者 50 名と対照群の健常者 50 名において、ABCA7mRNA 発現量を比較すると、図 1 のように AD 群が有意に高値であった(Mann-Whitney U test, $p = 0.017$)。一方で、ABCA7 の転写調節領域の CpG にて DNA メチル化率を算出したところ、図 2 のように両群での有意差はみられなかった。同様に、ABCA7 遺伝子機能性多型である rs3764650 においても両群で比較し、有意差はみられなかった。ここで、AD 群において、認知機能や罹病期間に着目したところ、図 3 のように ADAS の得点が高くなるほど

ABCA7mRNA 発現量が下がり、図 4 のように罹病期間長くなるほど同様に ABCA7mRNA 発現量が下がることが分かった。また、AD の ABCA7 遺伝子発現量は、コリンエステラーゼ阻害薬非内服群に比較して内服群の方が有意に低かった。しかし、コリンエステラーゼ阻害薬内服群は AD の罹病期間が長く、ABCA7 遺伝子発現量は AD の罹病期間、ADAS 合計得点と負の相関があったことから、発現量はコリンエステラーゼ阻害薬の内服よりむしろ罹病期間、病状の進行の影響を受けていると考えられた。先行研究では、98 の軽度認知障害群と 50 の健常群を比較し、末梢血の ABCA7 遺伝子発現量と脳 MRI 検査で評価した海馬の萎縮とが負の相関を示すことが示されている (Ramirez LM et al. Neurobiol Aging 2016;39:82-89.) ため、ABCA7 遺伝子発現は認知機能障害と関連している可能性があると考えられる。AD を含む多くの神経変性疾患は、共通の特徴を持つ慢性的な免疫反応が病態の基盤にあり、病初期に起こるこれらの反応により疾患が引き起こされると考えられていることから (Amor S et al. Immunology. 2010;129:154-169.) AD の末梢血における ABCA7 遺伝子発現量の増加は、AD 初期の病態を反映した神経保護的な免疫学的変化に基づくものである可能性があり、病期の進行とともに ABCA7 遺伝子発現量が低下していくと考えられ、AD における有用なバイオマーカーとなる可能性があると考えられた。

図 1 .

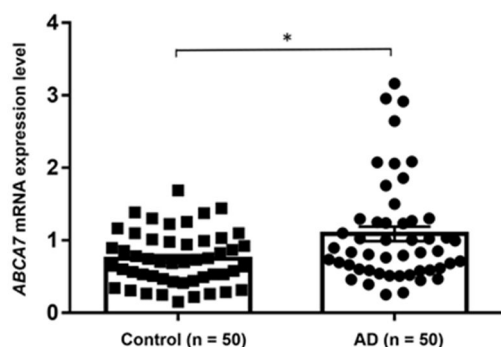


図 2 .

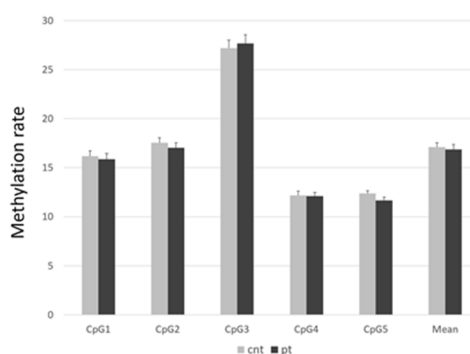


図 3 .

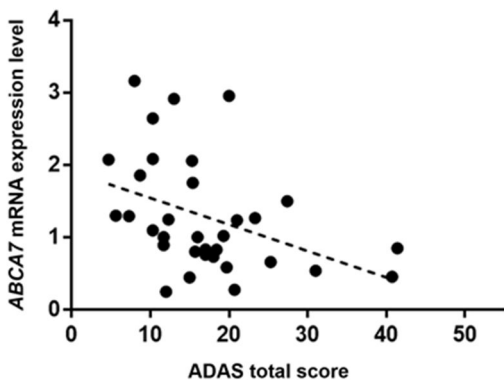
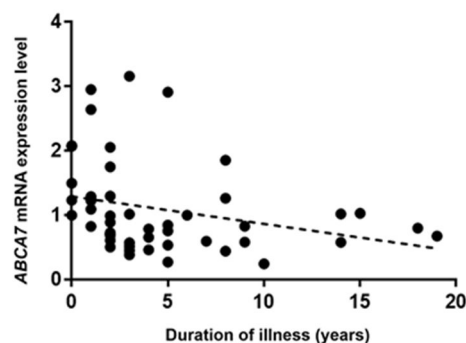
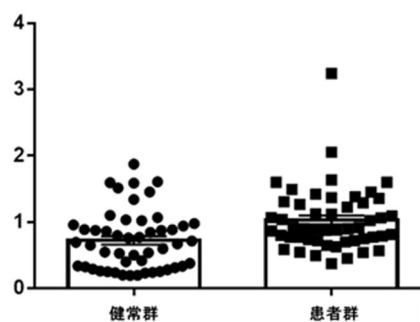


図 4 .



また、さらに AD のみでなく他の精神疾患においても ABCA7mRNA 発現量の解析を行い、バイオマーカーの意義を見出すため、長期の期間を経て認知機能が低下していく統合失調症においても解析を行った。統合失調症患者 50 名と対照群である健常者 50 名において ABCA7mRNA 発現量比較すると、図 5 のように統合失調症患者群において有意に ABCA7mRNA 発現量が高いことが分かった。これらの結果を踏まえて、今後は、AD 群の症例数を増やすとともに、統合失調症を含めた他の精神疾患においても解析をすすめていき、ABCA7 遺伝子と精神疾患の関連性を解明していきたいと考えている。

図 5 .



5 . 主な発表論文等

{ 雑誌論文 } (計 0 件)

{ 学会発表 } (計 3 件)

1. 統合失調症学会 2018/3/23-24 徳島

○統合失調症における ABCA7 遺伝子の白血球遺伝子発現と多型解析

山崎 聖広、吉野 祐太、河邊 憲太郎、尾崎 優樹、佐尾 知子、森 蓉子、越智 紳一郎、安部 賢郎、吉田 卓、森 崇明、細田 能希、伊賀 淳一、上野 修一

2. SfN's 47th annual meeting. 2017/11/11-15, Washington, DC, USA

○Gene Expression and Methylation Analysis of ABCA7 in Patients with Alzheimer's Disease

Yamazaki K, Yoshino Y, Mori T, Yoshida T, Ozaki Y, Sao T, Mori Y, Ochi S, Iga JI, Ueno SI

3. 第39回日本生物学的精神医学会・第47回日本神経精神薬理学会合同年会 2017/9/28-30 北海道

アルツハイマー型認知症患者の血液における ABCA7 遺伝子の DNA メチル化率および mRNA 発現量の解析

山崎 聖広、吉野 祐太、森 崇明、吉田 卓、尾崎 優樹、佐尾 知子、森 蓉子、越智紳一郎、伊賀淳一、上野修一

〔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〕なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：上野 修一、伊賀 淳一、森 崇明、安部 賢郎、越智 紳一郎、河邊 憲太郎、吉田 卓、森 蓉子、吉野 祐太、尾崎 優樹、佐尾 知子、細田 能希、大西 智恵美、伊吹 知真

ローマ字氏名：Shu-ichi Ueno, Jun-ichi Iga, Takaaki Mori, Masao Abe, Shinichiro Ochi, Kentaro Kawabe, Taku Yoshida, Yoko Mori, Yuta Yoshino, Yuki Ozaki, Tomoko Sao, Yohsiki Hosoda, Chiemi Onishi, Tomomasa Ibuki

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。