

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03898

研究課題名(和文)日本人一般地域男性におけるメタボロミクス解析を用いた認知症発症要因の疫学的解明

研究課題名(英文)Epidemiological study of dementia related factors using metabolomics analysis in general Japanese men

研究代表者

門田 文(Kadota, Aya)

滋賀医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60546068

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：本申請課題はメタボロミクス解析を一般地域住民男性コホート研究で、認知症の前段階である軽度の認知機能低下や脳体積萎縮に關与する代謝産物を同定し、認知機能低下のメカニズム解明や予防法の提言を行う事を目的とする。メタボロミクス解析で同定した血中442代謝物と認知機能および頭部MRIで評価した微小脳血管病変との關連を分析し、病態に關与する代謝経路を検討した。

結果、認知機能と51代謝物が統計的に有意な關連を認め、特に、短期記憶、言語能力、流暢さにおいて統計的に有意な關連を認める代謝物が明らかとなった。また、微小脳血管病変数と45代謝物が統計的に有意な關連を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により日本人一般地域住民男性において認知機能低下に關与する代謝物を明らかにする事ができた。また、認知機能に加えて、頭部MRI所見、頸動脈エコー所見と代謝物との關連分析を行った。これらの成果を合わせ、代謝物からみた認知機能低下のメカニズム解明、予防法に關する提言を行う。認知症患者ではなく、一般住民を対象とした認知機能と代謝物の検討は世界的に少ない。本研究の成果は、特に本邦の認知症の一次予防に役立つと考える。

研究成果の概要(英文)：This project is to identify metabolites associated with mild cognitive decline and brain volume atrophy, which are the pre-stages of dementia, in a general community male cohort study using metabolomics analysis, and to elucidate the mechanism of cognitive decline and preventive measures. We analyzed the relationships between the 442 metabolites in blood identified by metabolomics analysis and cognitive function and microcerebrovascular lesions evaluated by head MRI, and investigated the metabolic pathways involved in the pathology.

As a result, a statistically significant relationship was found between cognitive function and 51 metabolites, and in particular, they have a statistically significant relationship with short-term memory, verbal ability, and fluency. A statistically significant association was also observed between the number of microcerebrovascular lesions and 45 metabolites.

研究分野：疫学・予防医学

キーワード：認知症 疫学研究 メタボロミクス

1. 研究開始当初の背景

(1) 超高齢化社会を迎え、認知症の患者数は世界的に増加している。WHO Global Action Plan on the Public Health Responses to Dementia 2017-2025 において、認知症の病態解明や予防法の探索が公衆衛生学的にも解決すべき緊急の課題であることが示された。これまでの基礎研究により、アミノ酸やエネルギー代謝を含めた種々の代謝産物(メタボローム)が脳機能に関与する事が示唆されてきた(1,2)。しかしながら、認知症病態の確定的な解明には到らず、予防法も確立されていない。

(2) 近年、開発されたメタボロームの解析手法(メタボロミクス)は、ゲノムにおける Genome-Wide Association Study (GWAS)と同様に、未知のスペクトラムを含めてメタボロームの種類や濃度を網羅的に探索する事、即ち、Metabolome-Wide Association Study (MWAS)を可能とした。認知症患者のメタボロミクス研究からアミノ酸や脂質代謝等の異常が報告されている(3-5)。しかし、メタボロームは、食習慣、生活習慣等の影響を受けるため、このような認知症患者の集団は、病態による行動変化によってメタボロームも変化している可能性が極めて高い。よって、因果の逆転の可能性があり、結果の解釈に疑問の余地がある。

上記の問題を解決するには、認知症の未病状態、軽度認知機能低下、軽度脳萎縮との関連を検討する必要がある。しかしながら、患者集団ではなく一般地域住民等を対象としたメタボロミクス解析は世界でも希少である(6,7)。また、食習慣、生活習慣等は、地域や民族によって異なるため、メタボロームも海外の報告が本邦にそのまま当てはまるとは限らない。

2. 研究の目的

本申請課題は一般地域住民男性コホートにおいてメタボロミクス解析を行い、認知症の前段階である軽度の認知機能低下や脳体積萎縮に関与する代謝産物を、網羅的に探索し、認知症発症のバイオマーカーを明らかにすることを目的とした。

これまでに報告されたメタボロミクス解析を用いた認知機能や脳萎縮に関する臨床・疫学研究は、認知症患者における検討が主である。本申請課題は一般地域住民を対象とすることで、メタボロームが認知症の前段階である軽度の認知機能低下や脳体積萎縮に及ぼす影響を検討できる。また、メタボロミクス解析を行う事により、認知機能および脳体積と代謝産物の関連を網羅的に検討できる。さらに、将来、長期予後との関連を明らかにすることで、認知機能低下、脳体積萎縮のメカニズム解明、予防法の提言を行う。より早期、のスクリーニング、介入が可能となれば、本邦の認知症の一次予防に役立つと考える。

3. 研究の方法

【研究対象者】

申請者らは 2001 年より草津市に在住する 40 歳から 79 歳の一般地域住民 1500 人を対象に、冠動脈石灰化や頸動脈硬化所見等の潜在性動脈硬化症およびその関連要因に関する疫学調査(潜在性動脈硬化日米比較研究(ERA JUMP)/滋賀動脈硬化疫学研究(SESSA))を実施してきた(主任研究者 上島弘嗣)。平成 21 年から 26 年に実施した追跡調査では、初回調査で実施した冠動脈 CT や頸動脈超音波検査などの潜在性動脈硬化症の検査に加えて、認知機能検査や核磁気共鳴画像(MRI)検査を実施した(基盤研究 A, 平成 21 年度~23 年度, 研究代表者 上島弘嗣, 基盤研究 A, 平成 24 年度~26 年度, 研究代表者 三浦克之)。本申請課題では、平成 21 年から 26 年に実施した追跡調査に参加した男性約 800 人(MRI 調査時 45 歳から 85 歳)を研究対象者とした。

本研究の実施については「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守し、滋賀医科大学倫理委員会の承認の下に実施した。

【調査項目】

メタボロミクス解析

平成 21 年から 26 年に実施した追跡調査で採取した血液試料は滋賀医科大学 NCD 疫学研究センター内の生体試料室に凍結保存されている。本申請課題では、既に凍結保存されている血液試料を用いて、London Imperial College にて、脂質代謝、解糖系、エネルギー代謝等を中心としてメタボロミクス解析を行った。メタボロミクス解析には、Liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS)および)を用いる。分析は Human metabolome Database (HMDB), Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomics (KEGG) pathways 解析などを用いた。

認知機能評価)

トレーニングされた調査者が対面式質問票 Cognitive Abilities Screening Instruments (CASI) を用いて評価した。調査のテープ録音等により精度管理を行った。下記の九つのドメインから構成されている。

- Attention
- Concentration
- Orientation
- Short-term memory
- Long-term memory
- Language abilities
- Visual construction
- List-generating fluency
- Abstraction, and judgment

頭部 MRI による微小脳血管病変および脳体積の定量的評価

頭部 MRI 画像は、脳神経外科医二名が読影し cerebrovascular lesion の評価を行った。脳体積は、Voxel-based Specific Regional Analysis System for Alzheimer's Disease (VSRAD) および Brain Anatomical Analysis using Diffeomorphic Deformation (BAAD) を用いて、海馬傍回を含む脳体積を測定評価した。

【統計解析】

CASI スコア 82 点未満を認知機能低下群、82 点以上を認知機能正常群とし、Principle component analysis(PCA)、Partial least squares (PLS)、Partial least squares rank order of groups (PLS-ROG) を用いて 2 群間の代謝物の差を検討し、抽出された代謝物は、認知機能との関連を Multivariable logistic regression、Multivariable fractional logistic regression を用いて検討した。CASI スコアを 4 分位で 4 群とした検討も行った。抽出された代謝物は、Enrichment analysis (MSEA)、Pathway analysis にて、代謝経路や構造を確認した。同様に代謝物と頭部微小脳血管病変、脳体積、頸部動脈硬化症との関連を分析している。

上記に並行して、各種バイオマーカーと認知機能、微小脳血管病変、脳体積などとの関連についても分析を行った。

4. 主な研究成果

(1) 代謝物測定

Liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS) によるメタボロミクス解析を実施し、6439 代謝物の濃度結果を得た。442 代謝物を同定できた。

HPOS 1,232 untargeted 39 annotated
LPOS 4,096 untargeted 319 annotated
LNEG 1,111 untargeted 84 annotated.

(2) 代謝物と認知機能との関連 (図 1)

PCA では、認知機能低下群と正常群に統計的に有意な代謝物の差を認めなかった。PLS では、22 代謝物が認知機能と統計的に有意な関連を認めた (部分的最小二乗回帰で $q < 0.01$ を示したもので、正方向 21 代謝物; 主に Glycerophosphocholines, 負方向 1 代謝物; Phenacetylcarnitine)。多変量調整オッズ比 OR(95%CI) は、Phenacetylcarnitine 1.33(1.01-4.75), 正方向 21 代謝物 0.50 前後であった。CASI スコアを 4 分位で 4 群とした検討では、51 代謝物が認知機能と統計的に有意な関連を認めた (部分的最小二乗回帰で $q < 0.01$ を示したもので、正方向 33 代謝物; 主に Glycerophosphocholines, 負方向 18 代謝物; Phenacetylcarnitins と主に fatty acids)。九つの認知機能ドメイン毎に分析したところ、認知症の中核症状である短期記憶、言語能力、流暢さにおいて統計的に有意な関連を認める代謝物を検出できた。一般地域住民を研究対象とする事でより早期の病態を明らかに出来たと考える。MSEA の結果、負方向は unsaturated fatty acids, fatty acylcarnitines、正方向は LPC, diacylglycerophosphocholines に分類され、pathway analysis の結果、負方向は統計的に有意な代謝経路を検出できなかったが、正方向は Linoleic acid metabolism と有意な関連を認めた。

(3) 代謝物と頭部微小脳血管病変との関連 (図 2)

微小脳血管病変（深部皮質下白質病変、脳室周囲病変、ラクナ梗塞、微小出血）の有無の合計数で5群に分類し、PLS-ROGで代謝物の差を認めた。結果、45代謝物が微小脳血管病変の合計数と統計的に有意な関連を認めた(Partial Least Square Rank Order, $q < 0.01$ を示したものの、負方向45代謝物、正方向23代謝物)。ドメイン毎の分析では、脳室周囲病変が24代謝物と、ラクナ梗塞が3代謝物と統計的に有意な関連を認めた。脳室周囲病変と関連を示す代謝物は負方向が主に Glycerophosphocholines、正方向が fatty esters, fatty acids であった。微小脳血管病変の存在が認知機能低下の要因である事が報告されている。上記(2)(3)の代謝物の分析結果からも二つの病態の関係が示唆された。

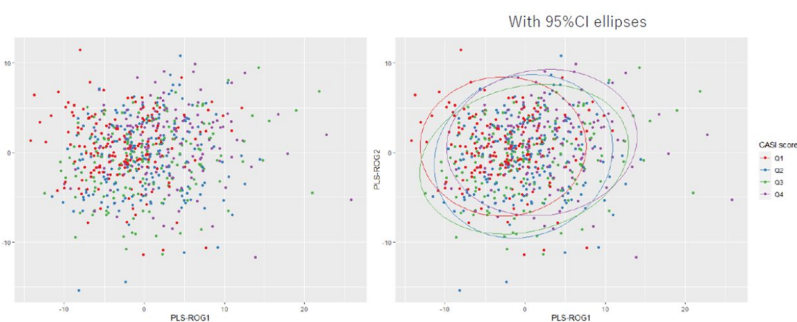
以上により日本人一般地域住民男性において認知機能および頭部微小脳血管病変に関与する代謝物を明らかにする事ができた。引き続き、脳体積、頸動脈エコー所見と代謝物との関連分析を行っている。これらの成果を合わせ、代謝物からみた認知機能低下のメカニズム解明、予防法に関する提言を行う。一般住民を対象とした検討は世界的に少なく、本邦の認知症の一次予防に役立つと考える。

< 引用文献 >

1. Bubber P. et al. Ann Neurol. 2005.
2. Mosconi L. et al. Ann N.Y.Acad Sci. 2008.
3. Graham SF. et al. Anal Chem. 2013.
4. Figueria J. et al. Mol Biosys. 2016.
5. Ciavardeli D. et al. Neurobiol Aging. 2016.
6. Bressler J. et al. Transl Psychiatry 2017.
7. Mapstone M. et al. Neruobiol Aging. 2017

図1 代謝物と認知機能との関連

Partial least squares rank order of groups (PLS-ROG) among Quartiles of the CASI score



The difference of PLS-ROG1 score seems a little different among Quartiles of the CASI score.

図2 代謝物と頭部微小脳血管病変との関連

Partial least squares rank order of groups (PLS-ROG)



The difference of PLS-ROG1 score seems a little different according to total CSVD scores.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Moniruzzaman Mohammad, Kadota Aya, Shiino Akihiko, Fujiyoshi Akira, Ito Takahiro, Haidar Syaifullah Ali, Miyagawa Naoko, Kondo Keiko, Hisamatsu Takashi, Segawa Hiroyoshi, Tooyama Ikuo, Ueshima Hirotsugu, Miura Katsuyuki, _ _	4. 巻 18
2. 論文標題 Seven-Day Pedometer-Assessed Step Counts and Brain Volume: A Population-Based Observational Study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Physical Activity and Health	6. 最初と最後の頁 157 ~ 164
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1123/jpah.2019-0659	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 Moniruzzaman Mohammad, Kadota Aya, Hisamatsu Takashi, Segawa Hiroyoshi, Kondo Keiko, Torii Sayuki, Miyagawa Naoko, Fujiyoshi Akira, Yano Yuichiro, Watanabe Yoshiyuki, Shiino Akihiko, Nozaki Kazuhiko, Ueshima Hirotsugu, Miura Katsuyuki, on behalf of the SESSA Research Group	4. 巻 999
2. 論文標題 Relationship between Serum Irisin Levels and MRI-Measured Cerebral Small Vessel Disease in Japanese Men	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 999
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.63824	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 Salman Ebtehal, Kadota Aya, Hisamatsu Takashi, Segawa Hiroyoshi, Torii Sayuki, Fujiyoshi Akira, Kondo Keiko, Watanabe Yoshiyuki, Arima Hisatomi, Shiino Akihiko, Nozaki Kazuhiko, Ueshima Hirotsugu, Miura Katsuyuki	4. 巻 29
2. 論文標題 Relationship of Four Blood Pressure Indexes to Subclinical Cerebrovascular Diseases Assessed by Brain MRI in General Japanese Men	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 174 ~ 187
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.58537	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 Azahar Nazar M., Yano Yuichiro, Kadota Aya, Shiino Akihiko, Syaifullah Ali H., Miyagawa Naoko, Kondo Keiko, Moniruzzaman Mohammad, Torii Sayuki, Segawa Hiroyoshi, Hisamatsu Takashi, Fujiyoshi Akira, Nozaki Kazuhiko, Tooyama Ikuo, Ueshima Hirotsugu, Miura Katsuyuki, for the SESSA Research Group	4. 巻 12
2. 論文標題 Association of Arterial Stiffness and Atherosclerotic Burden With Brain Structural Changes Among Japanese Men	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of the American Heart Association	6. 最初と最後の頁 e028586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/JAHA.122.028586	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 Syaifullah Ali Haidar, Shiino Akihiko, Kitahara Hitoshi, Ito Ryuta, Ishida Manabu, Tanigaki Kenji	4. 巻 11
2. 論文標題 Machine Learning for Diagnosis of AD and Prediction of MCI Progression From Brain MRI Using Brain Anatomical Analysis Using Diffeomorphic Deformation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Neurology	6. 最初と最後の頁 576029
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fneur.2020.576029	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 Syaifullah Ali Haidar, Shiino Akihiko, Fujiyoshi Akira, Kadota Aya, Kondo Keiko, Ito Takahiro, Segawa Hiroyoshi, Moniruzzaman Mohammad, Waki Takashi, Miyagawa Naoko, Tooyama Ikuo, Ueshima Hirotsugu, Miura Katsuyuki	4. 巻 90
2. 論文標題 Alcohol drinking and brain morphometry in apparently healthy community-dwelling Japanese men	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Alcohol	6. 最初と最後の頁 57 ~ 65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alcohol.2020.11.006	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0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	遠山 育夫 (Toyama Ikuo) (20207533)	滋賀医科大学・医学部・理事 (14202)	
研究分担者	椎野 顯彦 (Siino Akihiko) (50215935)	滋賀医科大学・神経難病研究センター・准教授 (14202)	
研究分担者	三浦 克之 (Miura Katsuyuki) (90257452)	滋賀医科大学・医学部・教授 (14202)	
研究分担者	森野 勝太郎 (Morino Katsutaro) (90444447)	滋賀医科大学・医学部・准教授 (14202)	

	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
研究協力者	岡見(高山) 雪子 (Okami Takayama Yukiko)	滋賀医科大学 (14201)	
研究協力者	上島 弘嗣 (Ueshima Hirotsugu)	滋賀医科大学 (14201)	
研究協力者	岡村 智教 (Okamura Tomonori)	慶應義塾大学 (32621)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	有馬 久富 (Arima Hisatomi)	福岡大学 (37111)	
研究協力者	藤吉 朗 (Fujiyoshi Akira)	和歌山県立医科大学 (24701)	
研究協力者	近藤 慶子 (Kondo Keiko)	滋賀医科大学 (14201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関