

令和 3 年 4 月 23 日現在

機関番号：14202

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24029

研究課題名(和文) 鼻腔検体を利用したアルツハイマー病早期診断法(リキッドバイオプシー)の開発

研究課題名(英文) Development of diagnostic method (liquid biopsy) for Alzheimer's disease by nasal samples

研究代表者

中村 圭吾 (Nakamura, Keigo)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号：50848380

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)：アルツハイマー病は進行性の認知機能障害を特徴とする疾患である。現在行われている対症療法はより早期から治療を開始するとある程度の効果が得られるため、早期診断することが重要である。脳神経のうち唯一外界にさらされる嗅神経が鼻腔の天盖に嗅上皮として存在する。若年性アルツハイマー病患者の剖検組織を用いた検討では、脳組織だけでなく嗅上皮にもアルツハイマー病特異的なバイオマーカーが存在することを確認した。また、非認知症患者の鼻腔洗浄液には総タウ蛋白が比較的高濃度で含まれていた。これらの結果から、鼻腔検体を用いてアルツハイマー病を早期に非侵襲的に診断できる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アルツハイマー病の診断のための検査として、画像診断法や髄液検査があるが、実施可能な検査施設に限られる上に、患者にとっては侵襲が大きい検査である。より簡便で侵襲の少ない検査が鼻腔検体で可能となればその臨床的意義は非常に大きい。また、アルツハイマー病患者の脳組織での変化は発症の10-20年前から既に始まっているとされる。発症前に頭蓋内の変化を嗅上皮を介して鼻腔でとらえることができれば、早期に治療を開始することが可能となり、その社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Alzheimer's disease is characterized by progressive cognitive impairment. Early diagnosis is important because the current therapy is effective only when treatment starts in early stage. The olfactory nerve is the only brain nerve exposed to the outside and exists as an olfactory epithelium at the nasal cavity. In the present study, an autopsy of patients with juvenile Alzheimer's disease confirmed the presence of Alzheimer's disease-specific biomarkers such as phosphorylated tau protein not only in brain tissue but also in the olfactory epithelium. In addition, nasal lavage fluids of non-dementia patients contained relatively high concentrations of total tau protein. These results suggest that nasal samples may be useful for the noninvasive diagnosis of Alzheimer's disease in early stage.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：アルツハイマー病 嗅上皮 アルツハイマー型認知症 アミロイド リン酸化タウ蛋白 タウ蛋白
鼻腔洗浄液

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病は、初老期から老年期に起こる進行性の認知機能障害を特徴とする疾患であり、今後人口の高齢化に伴いその数は確実に増加すると予想される。臨床症状は、記憶障害、高次脳機能障害（失語、失行、失認、構成失行）などである。既存の治療薬の多くは、進行を遅らせる薬や発現した周辺症状に対する対症療法薬であり、より早期から投与を開始することである程度の効果が得られる。したがって治療効果を得るためには、アルツハイマー病を早期に診断する必要がある。われわれの施設では、アルツハイマー病モデルマウスにおいて脳だけでなく鼻腔にも老人斑の主たる構成成分であるアミロイド (A) が沈着することを見出し、ヒト鼻腔内でも A を検出できることを確認している^{1,2}。

2. 研究の目的

本研究では、鼻腔検体を用いたリキッドバイオプシーによるアルツハイマー病早期診断の可能性を検討した。脳神経のうち唯一外界の自由表面に曝される嗅神経が鼻腔の天蓋部に存在する。ヒト鼻腔に脳脊髄液または中枢神経組織由来の蛋白が漏出していることを証明すること、鼻腔検体によるリキッドバイオプシーの可能性を探索することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

アルツハイマー病患者の剖検例で、嗅裂を観察した。アルツハイマー病患者の嗅裂、嗅球、海馬、側頭葉の HE 染色、ガリアス染色、A₄₂ とリン酸化タウの免疫染色を行った。

非認知症患者の鼻腔洗浄液中の A₄₂、総タウ蛋白、およびリン酸化タウ蛋白の濃度を ELISA 法で測定した。

4. 研究成果

若年性アルツハイマー病患者の剖検組織の観察

図1に示すように、海馬では A₄₂ で染色される老人斑、リン酸化タウとガリアス染色で染色される神経原線維変化が観察された。側頭葉も同様の染色性が観察された。嗅球では、鼻腔の嗅神経細胞の軸索が嗅球に到達してシナプスを形成する嗅糸球を観察した。海馬ほど明瞭ではないが、老人斑と神経原線維変化を認めた。

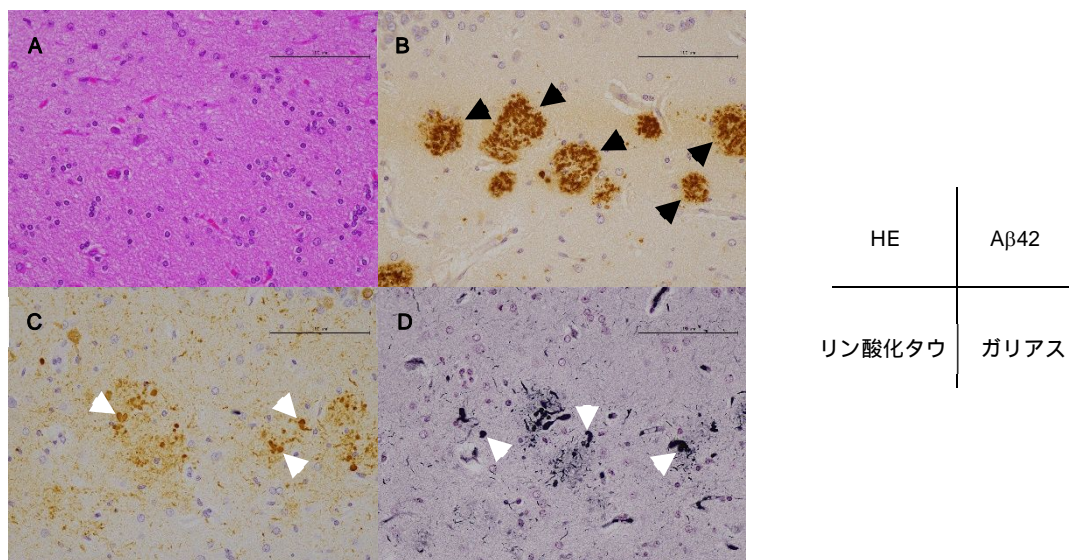


図1 若年性アルツハイマー型認知症患者の海馬
老人斑（黒矢頭）、神経原線維変化（白矢頭）を認める。

次に、嗅裂の組織を観察した。嗅上皮の構造は均一ではなかった。左右対称に部位によって特徴的な構造を認めた。図2にABCの3つに分けて提示した。まず、両側天蓋(A)では、基底細胞と2-3層の嗅神経細胞と支持細胞で構成される典型的な嗅上皮が確認できた。一方の両側中隔側(B)では嗅神経細胞の層が乱れ、嗅神経細胞の数も少なく、基底細胞との間に繊維状の構造物を認める領域が存在した。この変化は鼻中隔側のみ認められた。また、主に両側上鼻甲介側(C)には基底細胞と支持細胞が目立つ嗅神経細胞に乏しい上皮が散見された。これらの3つの部位をそれぞれ染色した。A₄₂は支持細胞の細胞質が薄く染色されるのみで、海馬や側頭葉で観察された老人斑は認めなかった。一方、リン酸化タウ蛋白はBの鼻中隔の繊維状の構造物に強く染

色され、鼻腔に伸びる樹状突起や固有粘膜層の嗅糸も陽性で、同じ部位がガリアス染色陽性であることから嗅神経細胞の神経原線維変化であると考えられた。

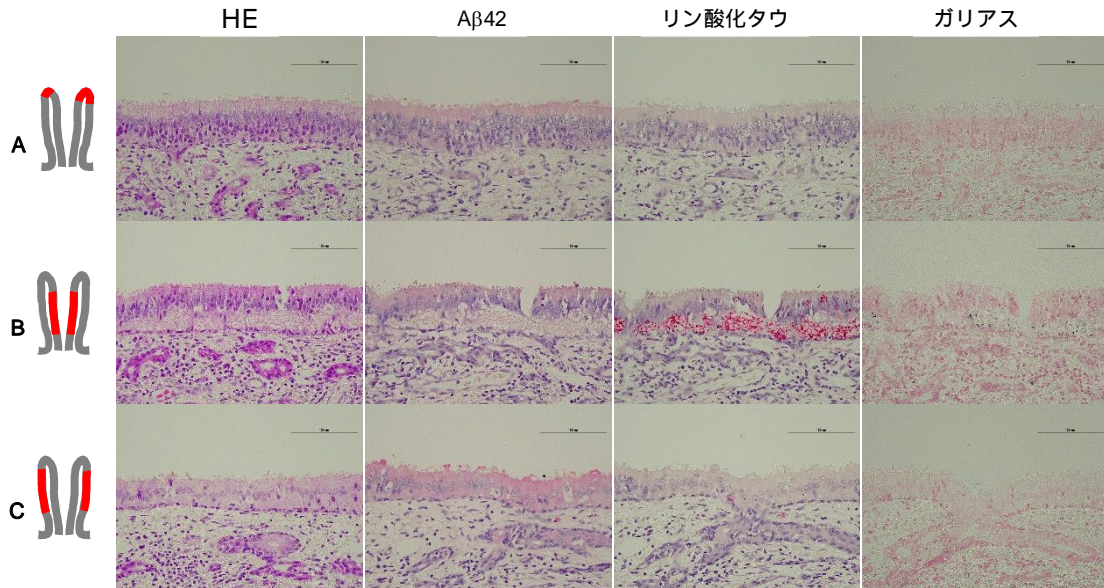


図2 若年性アルツハイマー型認知症患者の嗅上皮

非認知症患者の鼻腔洗浄液中のバイオマーカーの測定

非認知症患者の鼻腔洗浄液中の A 42、総タウ蛋白、リン酸化タウ蛋白の濃度を測定した。A 42 は検出されなかった。総タウ蛋白は神経変性の指標となる蛋白で、認知症でなくても脳脊髄液中濃度は年齢と共に上昇する。鼻腔洗浄液中の総タウ蛋白濃度の平均値は 66.83pg/mL であった(図3)。脳脊髄液では 200-300 pg/mL、血漿では 5 pg/mL であると報告されており、比較的高濃度で検出された。総タウ蛋白濃度と年齢との間に若干の相関を認めたが有意なものではなかった。

次に、神経原線維変化の指標となるリン酸化タウ蛋白を測定した。リン酸化タウ蛋白はほとんど検出されず検出下限レベルの濃度であった(図4)。

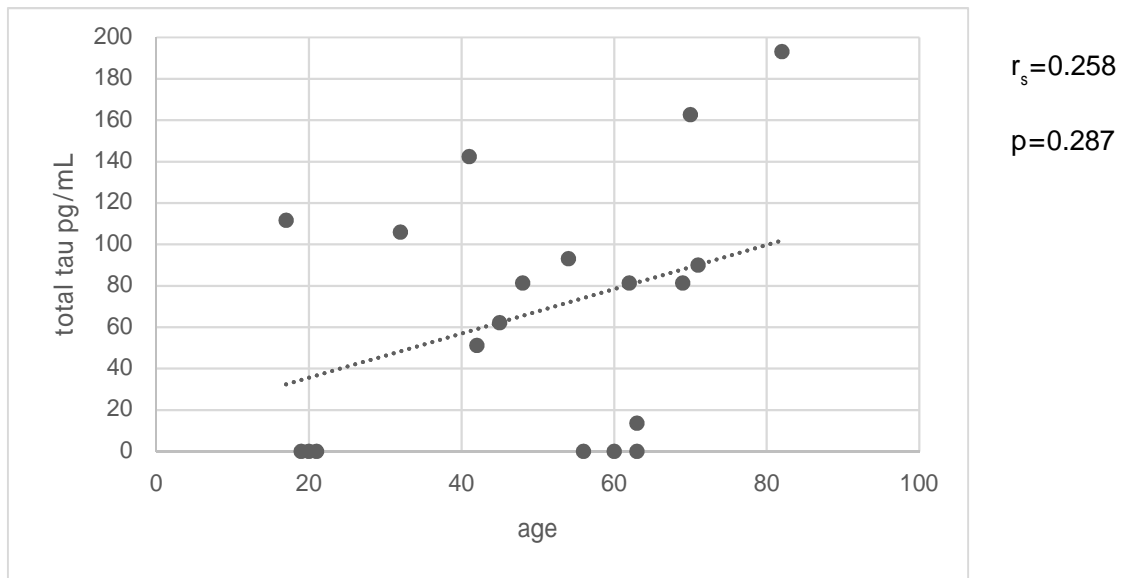


図3 非認知症患者 19 名の鼻腔洗浄液中の総タウ蛋白濃度
総タウ蛋白濃度の平均値は 66.83 pg/mL であった。

以上、若年性アルツハイマー型認知症患者の嗅上皮で観察されたバイオマーカーの所見、非認知症患者の鼻腔洗浄液のバイオマーカー測定結果より、鼻腔検体で非侵襲的にアルツハイマー病の病態をとらえることが可能であることが示唆された。

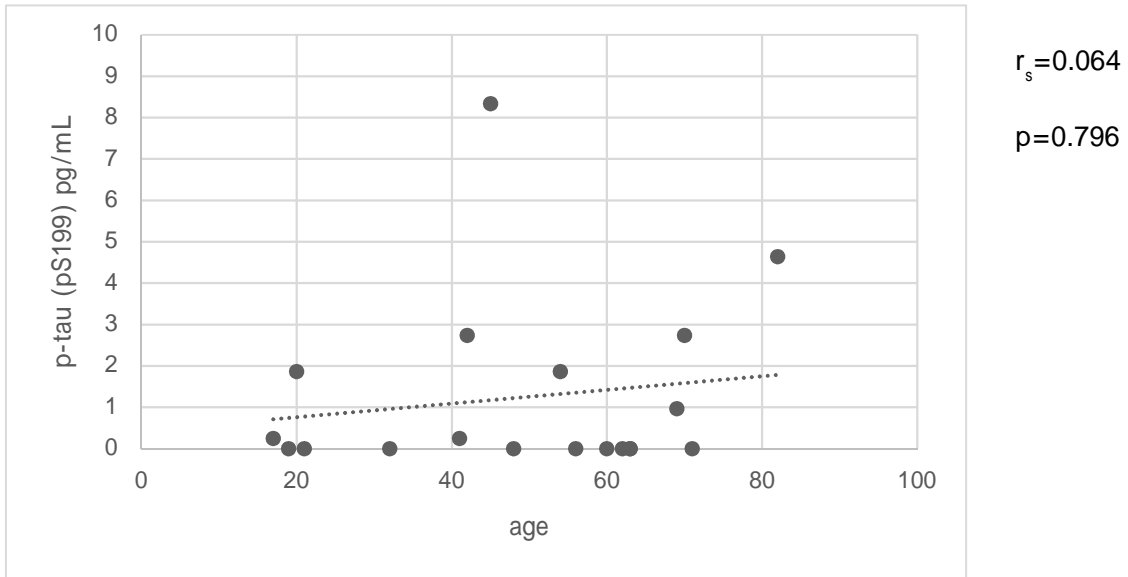


図4 非認知症患者 19 名の鼻腔洗浄液中のリン酸化タウ蛋白濃度

< 引用文献 >

Nanjo T, Fukuhara T, Kameshima N, Yanagisawa D, Shimizu S, Shimizu T, Shiino A, Akatsu H, Yamamoto T, Tooyama I. Development of a method to measure Aβ42 in nasal cavity samples and its application in normal human volunteers. *J Brain Science* 44:5-23, 2014.

Liu Z, Kameshima N, Nanjo T, Shiino A, Kato T, Shimizu S, Shimizu T, Tanaka S, Miura K, Tooyama I. Development of a High-Sensitivity Method for the Measurement of Human Nasal Aβ42, Tau, and Phosphorylated Tau. *J Alzheimer's Disease*. 62:737-744. 2018.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 清水志乃、戸嶋一郎、中村圭吾、神前英明、赤津裕康、遠山育夫、清水猛史
2. 発表標題 若年性アルツハイマー型認知症患者の嗅上皮における特異的蛋白の発現について
3. 学会等名 第59回日本鼻科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2020年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------