

学 位 論 文 の 要 約 (研 究 成 果 の ま と め)

氏 名 山崎 聖広

学位論文名 アルツハイマー病におけるセロトニントランスポーター遺伝子の多型、白血球 mRNA 発現量、メチル化の関連研究とメタ解析

学位論文の要約

はじめに

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease, 以下 AD) は、最も多い変性による認知症疾患で、近時記憶障害をはじめとする認知機能障害や抑うつ、幻覚、妄想、アパシーといった精神症状をきたす。AD では、アミロイド β の沈着 (老人斑) やリン酸化タウの凝集 (神経原繊維変化) がみられるが、未だ詳細な病態や病因は不明であり、コリンエステラーゼ阻害薬などの治療薬が使用されているものの、根治療法はみつかっていない。私が注目した神経伝達物質セロトニンは、摂食行動や性行動、情動などの他、認知機能の調節にも関与していることが一般的に知られている。向精神薬にはセロトニン神経系を標的にした薬剤が多く、特にセロトニントランスポーター (5-hydroxytryptamine transporter, 以下 5-HTT) は抗うつ薬の主要な標的部位である。5-HTT 遺伝子転写調節領域には 5-HTT-length polymorphic region (以下 5-HTT-LPR) として知られる遺伝子多型が存在し、主に Long allele (L アレル) と Short allele (S アレル) に分類され、L アレルはさらに一塩基多型 rs25531 のバリエーションによって LA アレルと LG アレルに分類される。LG アレルは S アレルと同様にメッセンジャー RNA (以下、mRNA) 発現の低下と関与していると報告されており、日本人に多い S アレルはストレスに反応してうつ病を発症しやすいとの報告もある。

一方で、AD とうつ病はしばしば合併し、うつ病が AD のリスクとなることも知られている。AD 患者の死後脳において 5-HTT の機能低下を示唆する報告が存在するが、5-HTT 遺伝子と症状や発症のリスクについて詳細に検討した研究はない。本研究の目的は AD と 5-HTT 遺伝子との関係を明らかにすることであり、我々は、AD と 5-HTT 遺伝子の遺伝子やエピジェネティック解析、mRNA 発現解析を行った。

方法

本研究の対象は AD 患者 43 名 (男性 16 名、女性 27 名、年齢 79.8 ± 3.84 歳) と健常者 47 名 (男性 16 名、女性 31 名、年齢 79.7 ± 4.41 歳) とした。AD 患者群と健常群における性別、年齢に有意差はない。対象患者・家族 (介護者) には、Mini Mental State Examination (MMSE)、Clinical Dementia Rating (CDR)、Neuropsychiatric Inventory (NPI) を施行し、認知機能と

精神症状を評価した。すべて対象者には、本学倫理委員会で承認されたプロトコルを用いて書面です承をいただいている。末梢白血球から DNA を抽出し、5-HTT-LPR 多型および rs25531 は、polymerase chain reaction (PCR) を行い、MspI 制限酵素処理後に、電気泳動によって PCR 産物のサイズを判別し、LA、LG、S アレルに分類した。メチル化率については、プロモーター領域の 9 つの CpG サイトを解析対象とし、末梢白血球 DNA をバイサルファイト処理後に、パイロマーク Q24 を用いて解析を行った。末梢白血球から RNA を抽出後、mRNA 発現量については、内部標準遺伝子として GAPDH を同時に測定し、タックマンプローブを用いたリアルタイム PCR を行い、定量化した。また、5-HTT-LPR 多型が AD 発症に関与するリスクを PubMed で検索した文献でメタ解析した[Yamazaki K et al. 2016:主論文]。

結果

解析の結果、5-HTT-LPR 多型と rs25531 のアレル頻度は、いずれも AD 患者群と健常群において差はなかった。それぞれの CpG サイトにおけるメチル化率にも、AD 患者群と健常群に差はなかったが、末梢白血球での 5-HTT mRNA 発現量は、健常群に比較して AD 患者群で有意に増加していた。認知機能、精神症状を併せて評価すると、遺伝子多型とそれぞれの CpG サイトにおけるメチル化率については、認知機能や精神症状との関連はみられなかった。しかしながら、5-HTT mRNA 発現量と NPI の得点において正の相関がみられた。NPI の下位項目で解析を行うと、アパシーを伴う患者群で mRNA 発現量の増加がみられた。mRNA 発現量と抗認知症薬であるコリンエステラーゼ阻害薬の内服の有無には、関連は確認できなかった。その他、5-HTT-LPR 多型と AD のリスクについてメタ解析を行ったところ、アジア人では有意な関連はみられなかったが、白人では、L/L アレルが AD のリスクを減少させるとの関連がみられた。

主論文: Kiyohiro Yamazaki, Yuta Yoshino, Takaaki Mori, Mitsuo Okita, Taku Yoshida, Yoko Mori, Yuki Ozaki, Tomoko Sao, Jun-ichi Iga, Shu-ichi Ueno. Association study and meta-analysis of polymorphisms, methylation profiles, and peripheral mRNA expression of the serotonin transporter gene in patients with Alzheimer disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2016;41(5-6):334-47. doi: 10.1159/000447324.