

## 学位論文審査結果の要旨

氏名	山崎 聖広
審査委員	主査 松田 正司 副査 前山 一隆 副査 矢野 元 副査 山田 武司 副査 西川 典子

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

### 【審査結果の要旨】

本論文はアルツハイマー病患者 43 名と健常者 47 名の血液試料の解析と PubMed で検索した文献のメタ解析による研究である。

### 【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  $\beta$  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 $79.8 \pm 3.84$ 歳）と健常者47名（男性16名、女性31名、年齢 $79.7 \pm 4.41$ 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了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。

審査会は平成29年1月5日に開催された。発表後の質疑応答では、ADとセロトニンとの関係に着目した理由、末梢血と中枢神経との関連、血中セロトニンと血液脳関門について、将来的な実験計画とその展望等について多くの質問が出され、申請者はこれらに的確に回答した。審査委員は、申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が学位授与に値すると判定した。