

課題番号 9

## 研究課題名

# アルツハイマー病脳初期病変とシナプス関連物質との関連— マイクロアレーを用いた解析—

### [1] 組織

代表者：松井 敏史

(独立行政法人国立病院機構久里浜アルコール症センター)

対応者：荒井 啓行

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

樋口 進 (独立行政法人国立病院機構久里浜アルコール症センター)

松下 幸生 (独立行政法人国立病院機構久里浜アルコール症センター)

研究費：物件費 (試薬、文具) 27 万円

### [2] 研究経過 (以下10.5ポイント)

本研究はアルツハイマー病脳におけるシナプス関連物質のmRNAレベルでのマイクロアレー解析である。申請者らはこれまで平成20年度の研究において、アルツハイマー病の初期に神経細胞の脱落および神経原線維変化が生ずる嗅内皮質に注目し、シナプス関連物質であるCa<sup>2+</sup>/calmodulin kinase II (CaMKII $\alpha$ ) mRNAの発現がアルツハイマー病脳で低下していることを定量的PCR法によって明らかにした。この嗅内皮質は海馬一歯状回にいたる記憶回路のgatewayの上流を形成し、アルツハイマー病初期より神経細胞の脱落および神経原線維が観察されることから、特にこの部位でのシナプス関連物質の動向は直接アルツハイマー病の症状に直結するものと考えられる。今回は、まず同様に、アルツハイマー病脳の嗅内皮質より凍結切片を作成し、ジゴキシゲニンによるin-situ hybridizationを行った。続いて、嗅内皮質を含む組織からmRNAを抽出した上で、マイクロアレー解析を行い、正常脳とどのようにmRNA上の発現に違いがあるのか解析を行った。

以下研究活動の概要を記す。

本研究の打ち合わせは、7月11日、9月25日、11月27日と計3回行った。

### [3] 成果

(3-1) 研究成果

まず嗅内皮質領域の凍結切片を使用し、シナプス関連遺伝子である CamKII $\alpha$  遺伝子に特異的な DNA probe を作成し、in-situ hybridization を行った上で、Thioflavin-S 染色をし、2重染色を行った。その結果、神経原線維を染める Thio-S 染色部位と、camKII $\alpha$  の発現部位は一致せず、神経原線維変化が生ずるような、変性の生じている神経細胞内では、CamKII $\alpha$  遺伝子の発現が減少していることが示唆された。

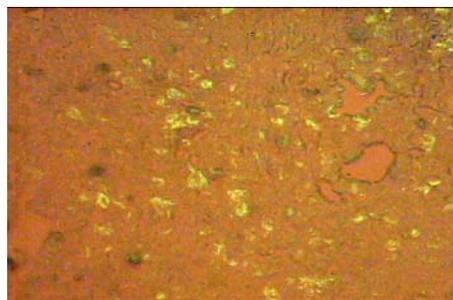
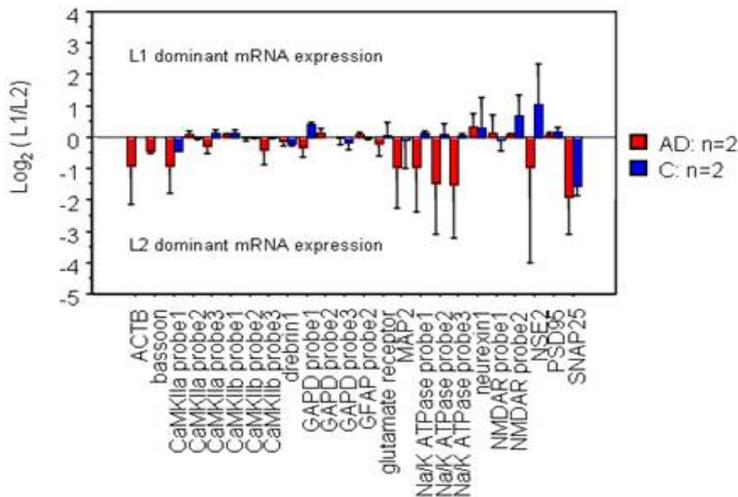


図1：嗅内皮質における CamKII $\alpha$  の in-situ hybridization.

黒：CamKII $\alpha$  発現部位、緑：Thioflavin-S 染色部位。

続いて、アルツハイマー病脳と正常脳から RNA を抽出し、GeneChip® Human X3P チップを用いたマイクロアレー解析を行った結果、アルツハイマー病脳と、コントロール群では、mRNA の発現分布が嗅内皮質 1 層と 2 層とで異なるものがあり、神経に特異的に発現する NSE や以前報告した CamKII $\alpha$  は、コントロール群では樹状突起が多く存在する 1 層に多く、逆に、アルツハイマー病脳では神経細胞体が多く存在する 2 層にとどまっていることが考えられた。



### (3-2) 波及効果と発展性など

嗅内皮質は海馬一歯状回にいたる記憶回路のgatewayの上流を形成し、アルツハイマー病初期より神経細胞の脱落および神経原線維が観察されることから、特にこの部位でのシナプス関連物質の動向は直接アルツハイマー病の症状に直結するものと考えられる。画像上もこの嗅内皮質の萎縮はアルツハイマー病の診断マーカーとして注目されている。特に加齢医学研究所加齢脳・神経研究部門、久里浜アルコール症センターは共にその参加施設となり、荒井教授が臨床コア主任を務めJADNI研究を統括しているJapanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (J-ADNI)アルツハイマー病大規模縦断臨床研究により画像・髄液マーカー・神経心理検査とアルツハイマー病の初期像との関連がより詳細に解明されると思われる。したがって本研究はJADNIの病理学的な根拠を与える研究とも位置づけている。今回の検討ではまだ症例数が少ないが、今後は症例数を増やし、また他の神経伝達物質や、アルツハイマー病の炎症やアポトーシスに関与するmolecule群での機能解析を試みる予定である。

また今後のJ-ADNIの進展により、アルツハイマー病に至る経過において、脳の形態的あるいは機能的に低下しうるその関心領域が具体的に絞られてくるものと考えられる。さらには本研究の今後により新たに見出される、アルツハイマー病に特に関係するシナプス関連物質とその病理的特異部は、今後の画像・臨床マーカーにフィードバックされることが期待される。

### [4] 成果資料 (以下10.5ポイント)

1. Skoglund L, Matsui T, Freeman SH, et al.: Novel Progranulin Mutation Detected in 2 Patients With FTLD. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2011.
2. Roh S, Matsushita S, Hara S, Matsui T, et al.: Role of GABRA2 in Moderating Subjective

Responses to Alcohol. *Alcohol Clin Exp Res*, 2011.

3. 松井敏史, 横山颯, 松下幸生, et al.: アルコール依存症患者における骨粗鬆症の頻度と断酒治療に伴う修復過程(2年目)とアセトアルデヒド脱水素酵素多型によるアルコール代謝の骨に与える影響. *Osteoporosis Japan* 18:689-696, 2010.
4. 松井敏史, 樋口進: アルコール認知症について. *日本医事新報*:78-80, 2010.
5. 松下幸生, 松井敏史, 樋口進: 【精神障害が併存するアルコール依存症の病態と治療】アルコール依存症に併存する認知症. *精神神経学雑誌* 112:774-779, 2010.
6. Matsui T, Yokoyama A, Matsushita S, et al.: Effect of a comprehensive lifestyle modification program on the bone density of male heavy drinkers. *Alcohol Clin Exp Res* 34:869-875, 2010.
7. Matsui T, Yokoyama A, Matsushita S, et al.: Changes in the serum bone metabolism markers of elderly alcoholics during abstinence. *J Am Geriatr Soc* 58:984-986, 2010.
8. 松井敏史, 松下幸生, 横山颯, et al.: アルコール依存症患者における骨密度の決定因子. *アルコールと医学生物学* 28:70-72, 2009.
9. 横山颯, 森朱夏, 松井敏史, et al.: アルコール依存症の食道癌患者における慢性萎縮性胃炎と異時性胃癌. *アルコールと医学生物学* 28:3-5, 2009.
10. 松井敏史, 横山颯, 松下幸生, et al.: アルコール依存症患者における骨密度悪化因子と断酒治療に伴う骨改善効果. *Osteoporosis Japan* 17:708-713, 2009.