
原 著

孤発性アルツハイマー病への多因子遺伝学的アプローチ

新潟大学脳研究所神経内科（主任：辻 省次教授）

奥 泉 薫

Polygenic Approaches to Sporadic Alzheimer Disease

Kaoru OKUIZUMI

*Department of Neurology, Brain Research Institute,
Niigata University
(Director Prof. Shoji TSUJI)*

Alzheimer disease (AD) is the most common cause of dementia. Accumulation of senile plaques and neurofibrillary tangles is the characteristic neuropathological manifestation of the disease. Recent investigations have revealed the presence of apolipoprotein E (apoE) in these structures. APOE4 is one of the genotypes of apoE isoforms. First, the results of this study revealed that APOE4 is a susceptibility gene for sporadic AD in Japanese, especially with early age of onset. Second, this study focused on the gene for the very low density lipoprotein (VLDL) receptor which is one of the receptors for apoE. Association studies were performed using a polymorphic triplet repeat in the gene for the VLDL receptor. The results indicated the possibility that the VLDL receptor gene is associated with sporadic AD in Japanese, but the association was not significant in the Caucasian population.

Key words: sporadic Alzheimer disease, polygenic disease, apolipoprotein E gene, very low density lipoprotein receptor gene
孤発性アルツハイマー病, 多因子遺伝病, アポリポ蛋白 E 遺伝子, VLDL 受容体遺伝子

1. はじめに

痴呆性疾患は増加の一途をたどっていて、わが国における痴呆老人の数は現在 100 万人を越えており、なかで

もアルツハイマー病の占める割合は大きい。

アルツハイマー病の大部分は、家族歴のない孤発性アルツハイマー病であるが、少数例ではあるが家族歴のある家族性アルツハイマー病の家系の報告がある。家族性

Reprint requests to: Kaoru OKUIZUMI,
Department of Neurology, Brain Research
Institute, Niigata University,
Niigata City, 951-8510 JAPAN.

別刷請求先：〒951-8510 新潟市旭町通1番町
新潟大学脳研究所神経内科 奥 泉 薫

アルツハイマー病の病因遺伝子については、分子遺伝学的アプローチによって、1991年からその原因遺伝子が発見され^{1)–4)}、アルツハイマー病の病態機序の解明が進んでいる。

一方で、前述のようにアルツハイマー病の大部分は、家族歴のない孤発性アルツハイマー病である。このような孤発性のアルツハイマー病においては、遺伝的リスクファクター（疾患感受性遺伝子）と環境因子が複合的に加わって発症するものと考えられている。遅発性家族性アルツハイマー病の連鎖解析を基盤として第19染色体上のアポリポ蛋白 E 遺伝子が、白人集団において、遅発性家族性アルツハイマー病のみならず、孤発性の遅発性アルツハイマー病においても遺伝的危険因子であることが見いだされ¹⁾、アルツハイマー病を多遺伝子性疾患ととらえる考え方が提唱されてきた。

アポリポ蛋白 E は (apoE: 蛋白) は、他のリポ蛋白が主に肝で産生されるのに対し、中枢神経内のアストロサイトやオリゴデンドロサイトらによっても産生されており、神経系の変性や、神経細胞損傷後の再生修復における脂質の再利用に祭し重要な役割を果たしていることがこれまで明らかとなっていた⁵⁾。また、アルツハイマー病剖検脳において、その重要な病理所見である老人斑や神経原線維変化中に apoE が存在することが近年の研究により明らかとなり⁶⁾、アルツハイマー病の病態形成に際し、apoE が何らかの役割を果たしている可能性が示唆されていた。

本研究においては、日本人の孤発性アルツハイマー病患者集団を対象として、アポリポ蛋白 E 遺伝子および apoE の受容体として注目されている、超低密度リポ蛋白 (VLDL) 受容体遺伝子について、孤発性アルツハイマー病の疾患感受性遺伝子であるかどうかの検討を、疾患一対象研究により行った。

2. 対象および方法

(1) 日本人孤発性アルツハイマー病におけるアポリポ蛋白 E 遺伝子多型の解析

apoE は主なアイソフォームとして apoE2, apoE3, apoE4 の3種類の型が知られており、各アイソフォームに対応する遺伝子多型としてそれぞれ、APOE2, APOE3, APOE4 の3種類が知られている。本研究では、日本人を対象として、臨床的に孤発性アルツハイマー病と診断された33名から、informed consentのもとに末梢白血球からゲノム DNA の調製を行った。さらに病理学的に確定診断された孤発性アルツハイマー病

11例の剖検脳より、それぞれゲノム DNA を抽出した。また、比較対照のため、痴呆のない38名の健常者からも informed consentのもとにゲノム DNA の抽出を行った。これらのゲノム DNA を用いて、APOE 遺伝子型を、Wenham らの方法⁷⁾により解析した。

(2) 日本人孤発性アルツハイマー病患者における VLDL 受容体遺伝子多型の解析

ヒト VLDL 受容体遺伝子は1994年、Sakai らによりクローン化されたが、その5'側非翻訳領域の三塩基 (CGG) の繰り返し配列に多型性があることが知られている⁸⁾。本研究では、まず日本人を対象として、臨床的に孤発性アルツハイマー病と診断された181名から、informed consentのもとに末梢白血球からゲノム DNA を調製した。さらに、病理学的に確定診断された孤発性アルツハイマー病21例の剖検脳からもゲノム DNA を抽出した。また、比較対照のため、痴呆のない190名の健常者からも informed consentのもとに、ゲノム DNA の調製を行った。そして、これらゲノム DNA の VLDL 受容体遺伝子その5'側非翻訳領域の三塩基 (CGG) の繰り返し配列数の多型性を、Sakai らの方法⁸⁾により解析した。

(3) 白人集団における孤発性アルツハイマー病と VLDL 受容体遺伝子多型

本研究では、さらに白人を対象として、臨床的に孤発性アルツハイマー病と診断された84例の末梢白血球からの informed consentのもとにゲノム DNA を調製した。また、比較対照のため、痴呆のない54名の白人健常者から、informed consentのもとにゲノム DNA の調製も行った。そして、これら DNA の VLDL 受容体遺伝子その5'側非翻訳領域の三塩基 (CGG) の繰り返し配列数の多型性を、Sakai らの方法⁸⁾により解析した。

3. 結 果

(1) 日本人孤発性アルツハイマー病におけるアポリポ蛋白 E 遺伝子多型

本研究における日本人孤発性アルツハイマー病群における APOE4 アリル頻度は0.30であり、健常対照群における0.09に比し有意に高値 ($\chi^2 = 21.2$; $p < 0.001$)であった。また、孤発性アルツハイマー病群の APOE4 アリル頻度を発症年代別にみると、65歳未満のアリル頻度が0.32、65–74歳のアリル頻度が0.30と高く、75歳以上のアリル頻度は0.08と健常対照群のアリル頻度と同程度の頻度であった (図1)。

Allele frequencies of APOE4

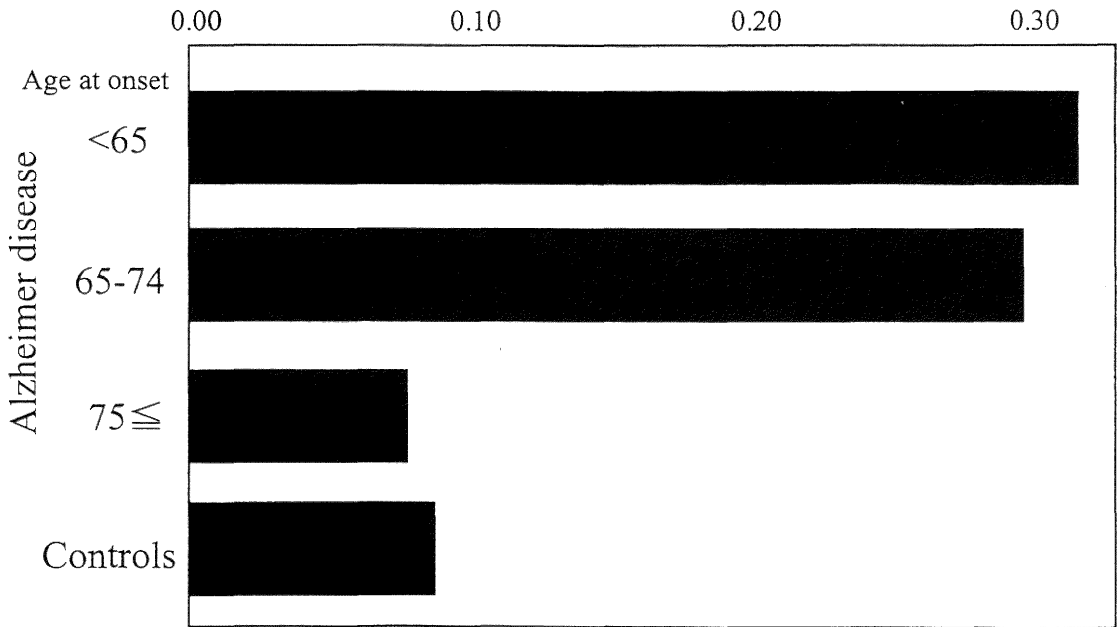


図1 日本人集団における, アポリポ蛋白 E 遺伝子多型 (APOE4) のアレル頻度
日本人孤発性アルツハイマー病患者では, 75歳未満の若年発症群で APOE4 の頻度が高値であった.

(2) 日本人孤発性アルツハイマー病患者における
VLDL 受容体遺伝子多型

日本人健常対照群では, 5回の繰り返し配列をもつ5-リピートアレルの頻度が0.36, 8-リピートアレルが0.59と高率に認められた. これに対し, 患者群における5-リピートアレル頻度は0.45と健常対照群の頻度に比し有意に高率 ($p < 0.02$) であった. また, 患者群の8-リピートアレルの頻度は0.51であり, 健常対照群の頻度に比し有意に低率 ($p < 0.05$) であった. 5-リピートアレル頻度を発症年代別にみると, 65歳未満発症の患者群の頻度は0.48, 65-74歳発症の患者群では0.46と健常対照群全体の頻度に比し有意に高率 ($p < 0.05$) であった (図2). そして, 5-リピートアレルをホモ接合体で有する患者群のオッズ比は2.1 (95%信頼区間 = [1.1 : 4.2]) と有意に高値 ($p < 0.05$) であり, なかでも65歳未満発症の患者群のオッズ比は2.7 (95%信頼区間 = [1.1 : 4.2]) と特に高値 ($p < 0.05$) であった (図3). さらに, APOE4を少なくとも1つ有し, 5-リピートアレルをホモ接合体で有する患者では, オッズ

比が8.7 (95%信頼区間 = [2.9 : 25.8]) と著明な高値を示した (図4).

(3) 白人集団における孤発性アルツハイマー病と
VLDL 受容体遺伝子多型

白人集団では, 健常群に比し, 患者群で5-リピートアレルが軽度高率, 8-リピートアレルが低率であったが, 有意差は認めなかった. 発症年代別では, 75歳未満発症の患者群の8-リピートアレルが0.26と健常対照群全体の頻度に比べ, 有意に低率 ($p < 0.05$) であった (図5).

4. 考 察

(1) 孤発性アルツハイマー病の危険因子としての
アポリポ蛋白 E 遺伝子多型

本研究から, アポリポ蛋白 E の遺伝子多型のなかでも, APOE4をもつ者は孤発性アルツハイマー病を発生しやすい, すなわち APOE4は孤発性アルツハイマー病の危険因子となっていることが示唆された. その後, APOE4の孤発性アルツハイマー病の危険因子として

	Japanese sporadic AD patients				Japanese controls
	Total	<65	65-74	75≤	(n=380)
	(n=404) ^a	(n=128)	(n=156)	(n=120)	
4-repeat	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5-repeat	0.45 ^b	0.48 ^c	0.46 ^c	0.40	0.36
7-repeat	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8-repeat	0.51 ^c	0.48	0.49	0.56	0.59
9-repeat	0.03	0.03	0.04	0.03	0.04
10-repeat	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01

^a Number of chromosomes; ^bp<0.02; ^cp<0.05

図2 日本人集団における、超低密度リポ蛋白 (VLDL) 受容体遺伝子多型のアレル頻度
日本人孤発性アルツハイマー病患者では健常者に比し、VLDL 受容体遺伝子 5-リピートアレルの頻度が有意に高い。また発症年代別には、75歳未満の若年発症群で有意差が認められる。

Number of 5-repeat alleles (0 is reference)	All (n=202) [*]		Age at onset:<65 (n=64)		Age at onset:65-74 (n=78)		Age at onset:75≤ (n=60)		Control (n=127)
	n (%)	Odds ratio (95% CI)	n (%)	Odds ratio (95% CI)	n (%)	Odds ratio (95% CI)	n (%)	Odds ratio (95% CI)	n (%)
1	94 (46.5)	1.1 (0.7:1.8)	27 (42.2)	1.0 (0.5:2.0)	35 (44.9)	1.1 (0.6:2.0)	32 (53.3)	1.2 (0.6:2.4)	64 (50.4)
2	43 (21.3)	2.1* (1.1:4.2)	17 (26.6)	2.7* (1.1:6.5)	18 (23.1)	2.3 (1.0:5.3)	8 (13.3)	1.3 (0.5:3.5)	15 (11.8)

^{*}Number of individuals; ^{*}p<0.05

図3 VLDL 受容体遺伝子 5-リピートアレルによる、アルツハイマー病発症の相対危険度
VLDL 受容体遺伝子 5-リピートアレルをホモ接合体で有する患者群のオッズ比は有意に高値であり、発症年代別では65歳未満発症の患者群のオッズ比が有意に高値であった。

APOE4 5-repeat allele

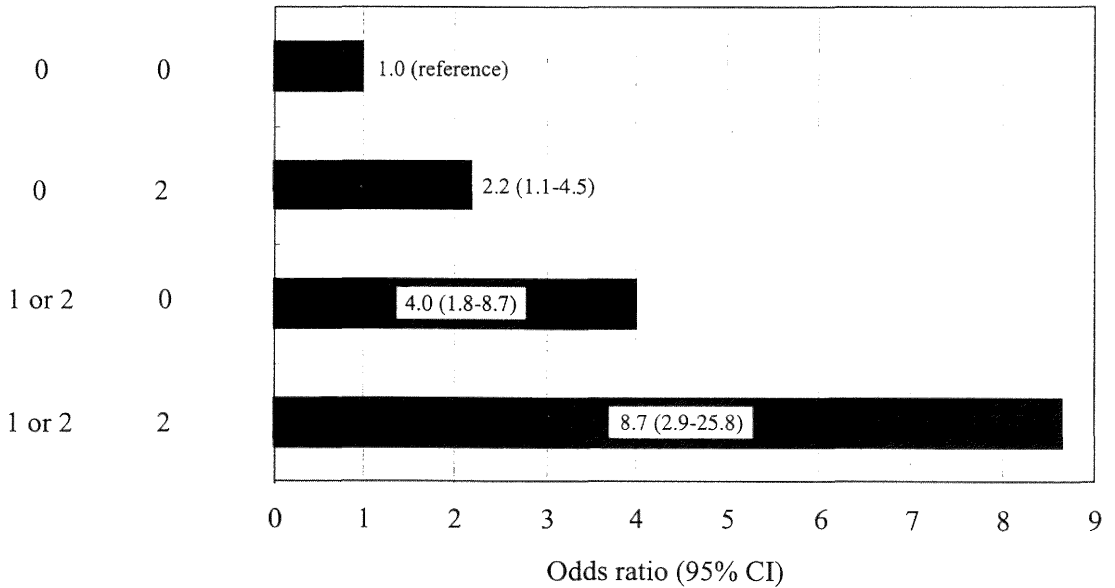


図 4 APOE4 アリルと VLDL 受容体遺伝子 5-リピートアリルの相互作用によるアルツハイマー病発症の相対危険度

APOE4 アリルを少なくとも 1 つ有し、VLDL 受容体遺伝子 5-リピートアリルをホモ接合体で有する患者では、オッズ比が有意に著明な高値を示した。

	Caucasian data set				Japanese data set	
	AD (overall)	AD (<75) #	AD (≥75)	Control	AD	Control
	(n=168)	(n=108)	(n=60)	(n=208)	(n=404)	(n=380) †
5-repeat	0.34	0.36	0.32	0.32	0.45 ^a	0.36
6-repeat	0	0	0	0.01	0	0
8-repeat	0.30	0.26 ^b	0.37	0.37	0.51 ^b	0.59
9-repeat	0.35	0.37	0.30	0.27	0.03	0.04
10-repeat	0	0	0	0.01	0.02	0.01
11-repeat	0.01	0.01	0.02	0.02	0	0

Age at onset † Number of chromosomes ^ap<0.02; ^bp<0.05

図 5 白人集団における、VLDL 受容体遺伝子多型のアリル頻度

健常者群に比し、患者群で VLDL 受容体遺伝子 5-リピートアリルが軽度高率、8-リピートアリルが低率だが、有意差は認められなかった。発症年代別では、75歳未満発症の患者群の 8-リピートアリルが健常対照者群のアリル頻度に比べ、有意に低値であった。

の地位は、大規模な研究からも裏づけられることとなった⁹⁾。発症年代別にみると、欧米の白人を対象とする報告では比較的発症年台が高齢の群で APOE 4 の頻度が高い¹⁾ のに対し、本研究における日本人を対象とした解析では、比較的発症年代が若年の群で APOE 4 の頻度が高いという結果であった。このことから、日本人の高齢発症の孤発性アルツハイマー病では APOE 4 以外の他の因子が発症に関与している可能性が考えられた。

(2) VLDL 受容体遺伝子多型と孤発性アルツハイマー病

APOE 遺伝子多型の解析を行い興味深いことは、約 1/3 程度の患者は APOE 4 を有しないにも関わらず発症しており、逆に APOE 4 を有するにも関わらず発症しない高齢者が存在するという事実である。このことは、APOE 4 以外の他の因子が発症に関与している可能性を示唆する。このような理由から、本研究では apoE の受容体の一つである VLDL 受容体遺伝子がアルツハイマー病の発症に影響を与えている可能性を考え、この遺伝子多型の解析を行った。

日本人集団においては、VLDL 受容体遺伝子の 5-リピートアリルは孤発性アルツハイマー病の危険因子である可能性が示唆され、その傾向は特に若年発症の患者群で高いことが示された。そして、5-リピートアリルと APOE 4 の両方を有することにより、発症の可能性が高くなる可能性が示唆された。

また、このような結果は、人種を超えて再現されるかを確認するため、本研究では白人集団にまで対象を広げて解析を行った。

今回の研究では、白人集団では日本人のように、VLDL 受容体遺伝子多型が発症の危険因子であることを示唆する有意な結果は得られなかった。その理由としては、白人患者における VLDL 受容体遺伝子多型の役割は日本人ほど強くない可能性、今回の解析では白人の症例数が日本人の場合よりも少なかったため、有意な結果が得られなかった可能性などが考えられる。本解析の後に、白人においても VLDL 受容体遺伝子多型が発症の危険因子であることを示唆する報告がなされている¹⁰⁾ が、否定的な報告もあり¹¹⁾ 明確な結論を得るには、さらに大規模な解析が待たれる。

5. おわりに

本研究から、APOE 遺伝子多型は、これまでと言われていた高齢発症の孤発性アルツハイマー病だけでなく、若年発症の患者においても発症の危険因子となっている

ことが示された。また、APOE 遺伝子多型の他に、VLDL 受容体の遺伝子多型が、孤発性アルツハイマー病の遺伝的危険因子である可能性が示された。以上の結果から、孤発性アルツハイマー病は複数の遺伝的因子が発症に関与する多因子遺伝病であることが強く示唆された。

今後はさらなる分子遺伝学的解析はもとより、これら蛋白や受容体の生化学的な作用メカニズムの解明も含めて、より発展的な研究が期待される。

謝辞

本稿を終えるにあたり、研究の御指導を頂きました新潟大学脳研究所神経内科 辻 省次教授、小野寺 理先生、貴重な検体の御提供を頂きました新潟大学脳研究所病理学部門 高橋 均先生、自治医科大学神経内科 植木 彰先生、関 MRI 診断ネット 関 耕次先生、帝京大学精神科 南光晋一郎先生、Duke 大学 Allen D. Roses 博士、Ann M. Saunders 博士、Margaret A. Pericak-Vance 博士に深謝申し上げます。

文 献

- 1) Corder, E.H., Saunders, A.M., Strittmatter, W.J., Schmechel, D.E., Gaskell, P.C., Small, G.W., Roses, A.D., Hains, J.L. and Pericak-Vance, M.A.: Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*, 261: 921~923, 1993.
- 2) Goate, A., Chartier-Harlin, M.C., Mullan, M., Brown, J., Crawford, F., Fidani, L., Giuffra, L., Haynes, A., Irving, N., James, L., Mant, R., Newton, P., Rooke, K., Roques, P., Talbot, C., Pericak-Vance, M., Roses, A., Williamson, R., Rossor, M., Owen, M. and Hardy, J.: Segregation of missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*, 349: 704~706, 1991.
- 3) Sherrington, R., Rogaev, E.I., Liang, Y., Rogaeva, E.A., Levesque, G., Ikeda, M., Chi, H., Lin, C., Li, G., Holman, K., Tsuda, T., Mar, L., Foncin, J.F., Bruni, A.C., Montest, M.P., Sorbi, S., Rainero, I., Pinessi, L., Nee, L., Chumacov, I., Pollen, D., Brookes, A., Sanseau, P., Polinsky, R.J., Wasco, W., Da Silva, H.A.R., Haines, J.L. Pericak-Vance,

- M., Tanzi, R.E., Roses, A.D., Fraser, P.E., Rommens, J.M., St. and George-Hyslop, P.H.: Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature.*, **375**: 754~760, 1995.
- 4) Levey-Lahad, E., Wasco, W., Poorkaj, P., Romano, D.M., Oshima, J., Pettingell, W.H., Yu, C.E., Jondro, P.D., Schmidt, S.D., Wang, K., Crowley, A.C., Ying-Hui, Fu., Guenette, S.Y., Galas, D., Nemens, E., Wijsman, E.M., Bird, T.D., Schellenberg, G.D. and Tanzi, R.E.: Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science.*, **269**: 973~977, 1995.
- 5) Ignatius, M.J., Gebicke-Harter, P.J., Pate Skene, J.H., Schilling, J.W., Weisgraber, K.H., Mahley, R.W. and Shooter, E.M.: Expression of apolipoprotein E during nerve degeneration and regeneration. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, **83**: 1125~1129, 1986.
- 6) Namba, Y., Tomonaga, M., Kawasaki, H., Otomo, E. and Ikeda, K.: *Brain Res.*, **541**: 163~166, 1991.
- 7) Wenham, P.R., Price, W.H. and Blundell, G.: Apolipoprotein E genotyping by one-stage PCR. *Lancet.*, **337**: 1158~1159, 1991.
- 8) Sakai, J., Hoshino, A., Takahashi, S., Miura, Y., Ishii, H., Suzuki, H., Kawarabayashi, Y. and Yamamoto, T.: Structure, chromosome location, and expression of the human very low density lipoprotein receptor gene. *J Biol Chem.*, **269**: 2173~2182, 1994.
- 9) Farrer, L.A., Cupples, L.A., Haines, J.L., Hyman, B., Kukull, W.A., Mayeux, R., Myers, R.H., Pericak-Vance, M.A., Risch, N. and van Duijn, C.M.: Effects of age, sex and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA.*, **278**: 1349~1356, 1997.
- 10) Helbecque, N., Richard, F., Cotel, D., Neuman, E., Guez, D. and Amouyel, P.: The very low density lipoprotein (VLDL) receptor is a genetic susceptibility factor for Alzheimer disease in European Caucasian population. *Alzheimer Disease and Associated Disorders.*, **12**: 368~371, 1998.
- 11) Chen, L., Baum, L., Ng, H.K., Chan, Y.S., Mak, Y.T., Woo, J., Chiu, H. and Pang, C.P.: No association detected between very-low-density lipoprotein receptor (VLDL-R) and late-onset Alzheimer's disease in Hong Kong Chinese. *Neuroscience Letters.*, **241**: 33~36, 1998.

(平成13年1月9日受付)