

平成23年3月

森本香織 学位論文審査要旨

主 査 岡 田 太
副主査 畠 義 郎
同 武 谷 浩 之

主論文

Expression profiles of cytokines in the brains of Alzheimer' s disease (AD) patients, compared to the brains of non-demented patients with and without increasing AD pathology

(アルツハイマー病 (AD) 患者と、認知症状が無くAD病理の増加が有るまたは無い患者との脳におけるサイトカインの発現特性に関する比較検討)

(著者：森本香織、堀尾樹里、佐藤晴久、Lucia Sue、Thomas Beach、有田清三郎、遠山育夫、小西吉裕)

平成23年 Journal of Alzheimer' s Disease 掲載予定

学 位 論 文 要 旨

Expression profiles of cytokines in the brains of Alzheimer' s disease (AD) patients, compared to the brains of non-demented patients with and without increasing AD pathology

(アルツハイマー病 (AD) 患者と、認知症状が無くAD病理の増加が有るまたは無い患者との脳におけるサイトカインの発現特性に関する比較検討)

近年、コントロールとアルツハイマー病 (AD) 患者の脳で発現に有意差のある遺伝子には、中枢神経系内での炎症と免疫シグナリングに関与するものが含まれていることが報告された。また、非ステロイド系抗炎症剤がADの重症度や発症を下げるとの疫学的報告もある。神経系での炎症の発症が、認知症状を導く病理変化である老人斑や神経変性を引き起こすのか、これらADに特徴的な病理変化の結果として生じるのかは、未だ議論の余地がある。そこで本研究は、老人斑は認めるが、認知症状の無い患者であると定義されるhigh pathology control (HPC) に注目した。ノーマルコントロールであるlow pathology control (LPC) ・HPC ・ADの脳におけるサイトカインとその関連遺伝子の発現を測定し、サイトカイン発現の特徴を分析した。

方 法

患者の剖検脳より、診療記録や神経心理学的検査テストのスコア、病理学的診断所見を基に、LPC ・HPC ・ADを各10症例ずつ選択した。脳は死後4時間以内に取り出して1 cm間隔で冠状断した後すぐに、凍結保存した。側頭葉皮質と小脳よりtotal RNAを抽出して逆転写後、16のサイトカインとその関連遺伝子および、リファレンス遺伝子であるpeptidylprolyl isomerase A (PPIA) のmRNA濃度をリアルタイムPCRで検討した。リアルタイムPCRにはUPLプローブとそれに適したプライマーを用いた。PCR産物はゲル電気泳動し、予期されるサイズにPCR産物のシングルバンドを確認した。シングルバンドが確認できなかった場合は、SYBR green Iを用いた。目的の各サイトカイン遺伝子mRNAの相対値を比較するため、側頭葉皮質と小脳由来の各々のサンプルにおける、ターゲット遺伝子 (サイトカインまたは関連遺伝子) のCp値をPPIAで補正した。続いて、その側頭葉皮質におけるCp比を、小脳のCp比で補正した。これを最終的なCp比とし、LPC ・HPC ・ADグループ間で比較、統計解析した。

結 果

症例を組織学的に診断するため、Campbell-Switzer銀染色などの組織化学染色と免疫組織染色を行った。その結果、新皮質 β アミロイドプラークの数がHPCはLPCよりも有意に多く、HPCとADに差は無かった。リアルタイムPCRより得られた最終的なCp比については、Kruskal-Wallis testにより、3グループ間において、IL-1 β 、IL-10、IL-13、IL-18、IL-33、TACEで有意差を見出した ($p < 0.05$)。また、Steel-Dwass testにより、HPCとADグループ間においてIL-1 β 、IL-10、IL-13、IL-18、IL-33、TACE、TGF β 1、LPCとADグループ間においてIL-1 β 、IL-10、IL-18で有意差を見出した ($p < 0.05$)。LPCとHPCグループ間で有意差はなかった。

考 察

本研究においては、短いpostmortem intervals (<4hr) で剖検を行った脳サンプルを用いた点、ターゲットmRNA発現レベルを補正するリファレンス遺伝子としてPPIAを選択した点、側頭葉皮質のCp比を小脳のCp比で補正した点、HPC患者のサイトカイン発現を検討している点が新規性に当たる。結果より、サイトカインは老人斑が出現・進展しているHPCの段階ではなく、それ以降の認知症状・神経変性が出現・進行しているADの段階で誘導・動員されるものと考えられた。さらに、LPCやHPCと比較して、ADではIL-1 β やそれに拮抗するサイトカインの発現が増加し、そのようなサイトカインの増加がADでの病理的变化に対する二次的な反応であることが示唆された。LPC・HPC・ADグループ間のサイトカイン発現特性の差異に関する結果は、ADの病態発生への炎症性機序の関与の時期について、ひいては、ADの発症予防に抗炎症剤が有効かの論議についても、重要な情報を提供するものと期待される。

結 論

本研究より、ADに特徴的な老人斑を有していても認知症状が無ければ、主なサイトカインは高い発現を示さないことを証明した。さらに言えば、サイトカインは老人斑出現の一次的な原因でもないことが判明した。サイトカインの誘導・動員は、ADでみられる神経変性に伴う認知症の出現・進行とともにみられるものであると考えられた。この結果は、主なサイトカインの動員が、ADに特徴的な病理変化に対する二次反応であり、ADに至る疾病の過程において後期に起こる可能性を示唆した。