

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

野口 美和

専攻分野：神経精神科学

コース：

指導教授：山口 登

主論文の題目：

Roles of Serum Fibrinogen α Chain-Derived Peptides in Alzheimer's Disease

(アルツハイマー病におけるフィブリノゲン α 鎖由来ペプチドの役割)

共著者：

Toshiyuki Sato, Kouhei Nagai, Itaru Utagawa, Itsuku Suzuki, Mitsumi Arito, Nobuko Iizuka, Naoya Suematsu, Kazuki Okamoto, Tomohiro Kato, Noboru Yamaguchi, Manae S. Kurokawa

緒言

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease, AD) は進行性の認知機能障害を来す神経変性疾患である。アミロイド β (amyloid β , A β) ペプチドやタウ蛋白質が病因に関わると考えられるが、機序は不明である。

ADの早期診断のため、簡便かつ低侵襲性のバイオマーカーの確立が必要とされている。脳脊髄液中のA β 1-42ペプチド、タウ総量、リン酸化タウのバイオマーカーとしての有用性は認められているが、脳脊髄液の採取は侵襲性である。血漿のバイオマーカー候補は、大半がその有用性を確認中であり、未だ確立されたものはない。

本研究では血清中のフィブリノゲン α 鎖 (fibrinogen α chain, FIBA) 由来ペプチド10個と年齢の組合せにより、AD患者と健常人 (healthy control, HC) を受信者動作特性曲線下面積 (area under the receiver operating characteristic curve, AUROC) 0.717を基準とし判別した。

方法・対象

AD患者62例とAD以外の認知症10例、軽度認知障害(mild cognitive impairment, MCI)13例、認知症以外の精神疾患10例及びHCの82例より文書による同意のもと血清を採取した。陽イオン交換によるペプチドの精製、質量分析によるペプチドイオン強度の測定とペプチドの同定は既報の如く施行した(Noguchi et al, Hepatol Res 43:743, 2013)。群間の各ペプチドイオン強度差はStudentのt検定により解析した。判別モデルは直交部分最小二重判別分析(orthogonal partial least square-discriminant analysis, OPLS-DA)により作製した。FIBA由来ペプチドのイオン強度差とOPLS-DAモデル予測値の有意差は、Wilcoxon符号順位検定で計算した。本研究はヘルシンキ宣言の倫理規定に従い、聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会(第794号)の承認を得て施行した。

結果

AD30例とHC30例からなるtraining setにおいて血清ペプチドを網羅的に解析したところ、157個のペプチドイオンピークを検出した。そのうち39個が、2群間でイオン強度に有意差を示した($p < 0.05$)。

全157個のペプチドイオン強度値を用い作製した判別モデル(157Pモデル)によりAD30例とHC30例を完全に鑑別した。説明変数 R^2 は0.907、予測変数 Q^2 は0.191であった。有意差を認めた39個のペプチドの殆どは、当該判別モデル作製において高い貢献度(variable importance of the projection, VIP)を示した。次にペプチドの数を減らし新たな判別モデルの作製を試みた。157Pモデルにおいて $VIP > 0.7$ を示した43個と、群間で有意差を示した39個のペプチド(重複あり、計60個)のイオン強度を用いた判別モデル(60Pモデル)も、AD群とHC群を完全に鑑別した。 R^2 は0.843、 Q^2 は0.414と Q^2 値の向上を認めた。

60Pモデルに使用した60個のペプチドについて同定を試み、16個のペプチドを同定した。16個のうち10個がFIBA由来であった。10個のうち4個はフィブリノペプチドA(fibrinopeptide A, FPA)由来、6個は α CドメインのC末端に位置する54個のアミノ酸配列(A α 557-610)由来であった。この配列の部分をも α CDCと命名した。上記10個のFIBA由来ペプチドを用いて判別モデルを作製し(FIBA10Pモデル)ROC解析を行ったところ、AD群とHC群の判別におけるAUROCは0.900であった。testing setとして新たにAD32例とHC19例を用い、これまで作製した3つのモデル(157Pモデル、60Pモデル、FIBA10Pモデル)を評価したところ、AUROCはどれも低めであったが(0.472-0.536)、FIBA10Pモデルが最も高い値を示した(0.536)。そこで、FIBA10Pモデルに年齢(age)を変数として加えたFIBA10PAモデルを作製したとこ

ろ、training set で AUROC 0.940、testing set で AUROC 0.717 を示し、このモデルが AD のバイオマーカー候補となることが示唆された。

FIBA10PA モデルを用い、testing set の AD 群、HC 群、AD 以外の認知症、MCI、認知症以外の精神疾患を評価したところ、AD 群・AD 以外の認知症群・MCI 群と HC 群の間に有意差を認めた($p<0.05$)。1～3 年後まで観察した MCI 8 例のうち期間中 AD を発症した 3 例は、MCI のまま経過した 5 例より FIBA10PA 前値が高い傾向を示した。

FIBA10PA モデルにおいてカットオフ値を 0.564 としたところ、testing set における AD の検出力は感度 65.6%、特異度 73.7%であった。また FIBA10PA 値 0.04029 は testing set で感度 96.9%を示した。

60P モデルに含まれなかった FPA 由来ペプチド 2 個を含め、FPA 由来ペプチドと α CDC 由来ペプチド各 6 個のイオン強度を、全 AD 62 例と全 HC 49 例で検討した。FPA を含む FPA 由来ペプチド 3 個と α CDC を含む α CDC 由来ペプチド 3 個が AD 群で HC 群に比較し有意に高値を示し、 α CDC 由来ペプチド 1 個が有意に低値を示した($p<0.05$)。FPA と α CDC のイオン強度は AD 群で HC 群に比較し約 1.3 倍高値を示し、これらのペプチドが AD で有意に産生される可能性を示した。

考察

FIBA10PA 値は、AD 群、AD 以外の認知症群、MCI 群で HC 群に比較し有意に高値を示したことから、AD に限らず認知症全体のバイオマーカーとなる可能性がある。このため、当モデルで選別された症例は診療で正確に診断される必要がある。FIBA10PA モデルは、MCI の予後予測にも有用な可能性を示した。高齢者における認知症の頻度は MCI も含め約 12%と考えられ、その場合カットオフ値 0.564 の陰性的中率 negative predictive value (NPV) は 94.0%となる。FIBA10PA 値 0.04029 の NPV は上記推定コホートでは 99.0%となることから、この数値以下を示す例の AD 発症の確率は極めて低いと考えた。

AD の血管病変に対するフィブリノゲンの関与が報告されている。フィブリノゲンは $A\beta$ 1-42 ペプチド存在下で異常な重合を示すが、この際の高次構造の変化が α CDC の N 末端を蛋白質分解酵素に曝露し切断される可能性が考えられる。AD では $A\beta$ ペプチドが存在するため、 α CDC の産生が増加すると考えた。FPA 産生は α C 領域の C 末端分解と関連するとの報告があり、 α CDC の切断が FPA の増加を惹起しているかもしれない。 α CDC の切断阻害が AD の治療となる可能性が考えられた。

結論

FIBA 由来ペプチドが AD の病態に関与する可能性を示した。FIBA10PA モデルは、AD 患者選別のためのバイオマーカー候補と考え

られる。FPA と α CDC の増加は凝固異常に関与し、AD の血管病変を増悪させる可能性が示された。