

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

鈴木 慈

専攻分野：神経精神科学

コース：

指導教授：伊東 文生

主論文の題目：

Serum Peptides as Candidate Biomarkers for Dementia With Lewy Bodies

(レビー小体型認知症のバイオマーカー候補となる血清ペプチドの検出)

共著者：Miwa Noguchi, Mitsumi Arito, Toshiyuki Sato, Kazuki Omoteyama, Mito Maedomari, Hiroshi Hasegawa, Naoya Suematsu, Kazuki Okamoto, Tomohiro Kato, Noboru Yamaguchi, Manae S. Kurokawa

緒言

レビー小体型認知症(dementia with Lewy bodies, DLB)は、老年期認知症の中で 10-15%を占め、アルツハイマー型認知症(Alzheimer's disease, AD)に次いで頻度が高い。現在、DLB の診断は問診や脳の画像検査が主体であるが、これらの評価は専門家の間でも意見が分かれる場合がある。また DLB は AD と臨床症状が重複し、鑑別が難しい症例を認める。DLB の診断のために、簡便かつ非侵襲的で DLB と AD を鑑別可能な血液バイオマーカーが求められている。本研究では、DLB 患者、AD 患者および健常人(healthy control, HC)の血清中のペプチドを網羅的に解析し、DLB のバイオマーカー候補となるペプチド、特に DLB と AD を効果的に鑑別するペプチドを検出することを目的とした。

方法・対象

DLB 50 例、AD 60 例、HC 42 例、および健忘型の軽度認知機能障害(mild cognitive impairment, MCI) 15 例より、文書による同意を得て血清を採取した。血清から弱陽イオン交換体を用いてペプチドを抽出し、得られたペプチドをマトリックス支援レーザー脱離イオン化-飛行時間型質量分析により網羅的に検出・定量した。DLB 30 例、AD 30 例、HC 28 例からなる作製コホートで、ペプチドのイオン強度を用い直交部分最小二乗-判別分析(orthogonal partial least square-discriminant analysis, OPLS-DA)により判別モデルを作製し、DLB 20 例、AD 30 例、HC 14 例からなる評価コホートで、作製した判別モデルを評価した。DLB と AD、または DLB と HC の群間比較および判別に貢献したペプチドを液体クロマトグラフィー質量分析にて同定した。統計は ROC 解析を行った。本研究は、聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会(承認 794 号)の承認を得た。

結果

全 167 例より 146 個の血清ペプチドが検出された。モデル作製コホートの DLB 群と AD 群は 146 個のペプチドイオン強度を用いた OPLS-DA で完全に判別された(DLB/AD-146P モデル)。同コホートの DLB 群と HC 群も同様に完全に判別された(DLB/HC-146P モデル)。完全な判別に要する最小数のペプチドを、モデル作製における貢献度・信頼性・寄与度を用い検討したところ、DLB/AD 群間で 13 個(DLB/AD-13P モデル)、DLB/HC 群間で 6 個(DLB/HC-6P モデル)であった。

次に DLB 群を non-DLB 群(AD 群と HC 群)から判別を試みたところ、146 個のペプチドイオン強度では完全に判別されたが(DLB/nonDLB-146P モデル)、それ以下のペプチド数では完全には判別されなかった。しかし上記 13 個と 6 個のペプチド(重複あり計 17 個)で DLB 一例を除き完全に判別された(DLB/nonDLB-17P モデル)ため、この 17 個のペプチドから有用なものを選択することとした。ペプチドの受信者動作特性

曲線を解析した結果、2個のペプチド(1737, 5002m/z)からなる DLB/nonDLB-2P モデルが感度・特異度共に 80%以上を示した。評価コホートで、このモデルは感度 95.0%、特異度 86.4%を示し、DLB 群を AD 群より感度 95.0%、特異度 93.3%で判別した。さらにペプチドの信頼性と寄与度を解析した結果、作製・評価両コホートで感度・特異度共に 80.0%以上を示すモデルを 10 個検出した。そのうち 4 個のペプチド(2898, 4052, 4090, 5002m/z)からなる DLB/nonDLB-4P モデルは、作製コホートで感度 93.3%、特異度 87.9%、評価コホートで感度 90.0%、特異度 88.6%を示した。このモデルは AD 群を作製コホートで 86.7%、評価コホートで 90.0%と高率に non-DLB 群と判別し、また AD に進展する可能性が高い健忘型の MCI 15 例を全例 non-DLB 群と判別した。

同定されたペプチド中には、フィブリノゲン α 鎖由来 (1462, 1613, 2860, 2988m/z)や補体 C4 由来(1737m/z)、Wnt-2 由来(2898m/z)、LPS 結合蛋白質由来(4052m/z)のものが含まれていた。

考察

血清ペプチドイオン強度の多変量解析は、DLB のバイオマーカー候補を検出するのに有用であった。特に DLB/nonDLB-4P モデルは DLB、non-DLB および AD、健忘型 MCI 等全ての判別に全般的に有用であり、また DLB/nonDLB-2P モデルは、DLB と AD の鑑別に有用である可能性を示した。今後これらモデルに使用されたペプチドを全て同定し、ELISA や定量性に再現を持たせた質量分析を確立することにより、DLB のバイオマーカーとしての使用を容易に出来る可能性がある。

同定された親蛋白質中には、DLB または類縁疾患であるパーキンソン病の病態、認知症の血管障害、海馬での神経発生等に関わる蛋白質が含まれており、DLB の病態に関与している可能性が示された。

結論

血清ペプチドは DLB のバイオマーカー候補として有用であり、また

DLB の病態に関与している可能性が示唆された。