

Title	C677T polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene affects plasma homocysteine level and is a genetic factor of late-onset Alzheimer's disease
Author(s)	貴田,智之
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45253
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、〈a href="https://www.library.osaka- u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏 名 **貴** 田 智 之

博士の専攻分野の名称 博士(医学)

学 位 記 番 号 第 18502 号

学位授与年月日 平成16年3月25日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当

医学系研究科生体統合医学専攻

学 位 論 文 名 ${\sf C677T}$ polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)

gene affects plasma homocysteine level and is a genetic factor of

late-onset Alzheimer's disease

(メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素の C677T 多型は血漿ホモシステイン濃度に影響し、高齢発症型アルツハイマー病の遺伝因子である)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 武田 雅俊

(副査)

教 授 荻原 俊男 教 授 遠山 正彌

論文内容の要旨

[目 的]

現在、白人と日本人で高齢者の痴呆でもっとも多いのは高齢発症型アルツハイマー病(LOAD)である。また白人対照のコホート研究では血漿ホモシステイン濃度(Hcy)の上昇が LOAD のリスクである。Hcy の上昇は動脈硬化性疾患と脳血管障害のリスクでもある。Hcy は食餌の影響を受けるが、高ホモシステイン尿症は多くの症例で遺伝性である。メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素(MTHFR)遺伝子の C677T 多型は Hcy に関連する遺伝子である。しかし、MTHFR-T アレルが LOAD のリスクなのかはっきりわかっていない。シスタチオニンベータシンターゼ(CBS)遺伝子は Hcy を規定する別な遺伝子であり、そのエクソン 13 とイントロン 13 に介在する 31 塩基の反復配列繰り返し多型(VNTR)は Hcy に影響する。ダウン症の患者では 30 歳代に脳内にアルツハイマー病(AD)の病理所見である老人斑がみられる。CBS 遺伝子はダウン症の重要領域である 21q22.3 に局在するが、いまだ LOAD と CBS 遺伝子の遺伝関連報告はない。本研究は Hcy に関与するこれらの遺伝子が LOAD の発症を規定するのか検討した。

[方法ならびに成績]

患者は the National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association の診断基準により probable AD と診断した。大阪府吹田市在住の正常対照高齢者は、質問によって認知障害のないことを確認した。研究への参加に対して文書で同意を得た後、末梢血を患者と正常対照者より採取した。この研究は大阪大学におけるヒトゲノム研究に関する規程に従っておこなった。患者(n=196)の年齢は 65 から 98 歳で 79.2±7.0(平均生標準偏差)歳、正常対照者(n=385)は 65 から 92 歳で 75.4±5.0 歳であった。発症年齢は 65 から 94 歳で、平均 74.7±6.9 歳だった。末梢血は EDTA2Na を加え、DNA は抽出キットを用いて抽出した。

Apo E 遺伝子の遺伝子型と MTHFR 遺伝子の C677T 多型はともに以前に報告されているように PCR-RFLP 法を用いて同定し、CBS 遺伝子の 31 塩基 VNTR 領域は"5'-ggaatggtgacgettgggaacat-3"と"5'-acttgtaaagtgggtgcttetcage-

3" のプライマーを用いて増幅し、もっとも多い頻度の 18 リピートで得られる PCR 断片長 796 塩基を基準に視覚的 に比較することによって同定した。

遺伝子頻度をカイ二乗検定したところ MTHFR-C677T と CBS-VNTR の両多型とも有意差はみられず、患者群で MTHFR-T アレルが相対的に頻度が多い程度だった。 $ApoE-\epsilon 4$ (Apo4) キャリアーと非キャリアーで分けると、非キャリアーでは正常群より患者群で MTHFR-T アレルは有意に頻度が高かった(p<0.02)。それに対して、CBS-VNTR の遺伝子頻度は各群間でなんら有意差を認めなかった。

リスク効果に遺伝的関係を組み込むために Apo4、MTHFR-T、CBS-20 リピート(CBS-20)の各アレルを LOAD 発症についてのロジスティック回帰分析をおこなった。Apo4 のリスク効果は有意であったが(オッズ比(OR)5.2、95%信頼区間(CI)3.51-7.59、p=0.04)、CBS-20 アレルは有意な効果を認めなかった。MTHFR-T アレルのリスク効果は Apo4 非キャリアーでより顕著であった(OR1.5、95% CI=1.04-2.14、p=0.03)。

低頻度アレルの遺伝効果を検討するために、高頻度の MTHFR-CC 型と低頻度の MTHFR-TT 型で LOAD 発症までの生存曲線を調べた。いずれの対象群でも MTHFR-TT 遺伝子群では CC 群に比べて LOAD の発症が早くなる傾向がみられ、有意差を Apo4 非キャリアーで認めた (p<0.05)。それに対して、高頻度 CBS-18/18 型と低頻度 CBS-20/20 型では LOAD 発症までの生存率に差はなかった。

次に Hey を HPLC 法で、血漿アルブミン濃度を BCG 法で測定し、Hey に対する年齢、性、栄養摂取、アレルの効果を検討した重回帰分析をおこなった。有意に相関したのは X 染色体濃度(標準回帰係数(SC)=-0.266、p=0.001)と MTHFR-T アレル濃度であった(SC=0.404、p=0.0002)。CBS-20 アレル濃度は Hey を増加させる傾向を示したが、有意差はなかった。

[総 括]

ホモシステインの酵素活性を低下させる MTHFR-C677T の TT 型が LOAD の発症と関連することを示した。Hcy をコントロールすることが高齢者の LOAD 予防になる可能性がある。

論文審査の結果の要旨

アルツハイマー病は早期発症型と高齢発症型に分けられるが、高齢発症型がその 90%以上を占める。高齢発症型アルツハイマー病は多因子遺伝と考えられており、複数の遺伝因子と環境因子の相互作用がその発症に影響を与えるものと考えられる。ホモシステインはこれまで動脈硬化性疾患、脳血管障害のリスク因子として注目されてきたが、近年アルツハイマー病における血管性因子の重要性が指摘されていることから、本研究では高齢発症型アルツハイマー病の発症リスクとしてのホモシステイン代謝経路の関与を検討することを目的として、血漿ホモシステイン濃度とそれに影響する遺伝子多型について解析したものである。

本論文は血漿ホモシステイン濃度に影響するメチレンテトラヒドロヒドロ葉酸還元酵素 (MTHFR) の C677T 多型 が高齢発症型アルツハイマー病発症のリスク遺伝因子であることを示した。また、発症リスクであるだけでなく、発症促進効果をもつことを示した。すなわち全人口の約 65%の T アレルキャリアーではホモシステイン濃度をコントロールすることで高齢発症型アルツハイマー病の発症を予防できる重要な可能性を示したものであり、学位を授与するに十分に値すると判断する。