

氏 名	かわ 川 又 純
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2463 号
学位授与の日付	平 成 14 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻
学位論文題目	Association of novel and established polymorphisms in neuronal nicotinic acetylcholine receptors with sporadic Alzheimer's disease. (孤発性アルツハイマー病と神経型ニコチン性アセチルコリン受容体の未報告及び既知の多型性との関連)
論文調査委員	(主 査) 教 授 金 子 武 嗣 教 授 川 口 三 郎 教 授 柴 崎 浩

論 文 内 容 の 要 旨

家族性アルツハイマー病 (AD) の原因遺伝子として、現在までにアミロイド前駆体蛋白、プレセニリン 1・2、アポリポ蛋白 E (APOE) が同定されている。孤発性 AD については APOE $\epsilon 4$ アレルが危険因子である以外は明かな遺伝的危険因子は同定されていない。一方、生化学的な研究では、AD の記憶障害の説明をアセチルコリン系の障害によるとするコリン仮説が約25年前に発表されて以降、これを支持する in vivo 及び in vitro の膨大な研究がなされている。臨床面においても、現時点で有効性が認められ使用が認可されている AD 治療薬はアセチルコリンエステラーゼ阻害剤であることも、この仮説を強めている。また、個々の AD 患者においてアセチルコリンエステラーゼ阻害剤による治療の反応性が異なることが知られており、遺伝的な背景が関与していることが推定されている。さらに近年、アミロイド β がニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) の $\alpha 7$ 型と強く結合するという報告もなされるなど、アミロイド β と nAChR との相互作用も注目されている。

孤発性 AD 発症における神経型 nAChR 遺伝子の多型の関与について検討するため、中枢神経系で多く発現している神経型 nAChR の $\alpha 3$, 4, 7, $\beta 2$ の 4 つの遺伝子 (CHRNA3, CHRNA4, CHRNA7, CHRNB2) について孤発性 AD 群 (58例) と対照群 (52例) で遺伝的多型の頻度などについて検討を行なった。末梢血より DNA を抽出し、各遺伝子のエクソンごとに100から200bpの長さにPCRにて増幅しSSCP法を用い多型性のスクリーニングを行った。既知の多型の確認を行い、各遺伝子について幾つかの未報告の多型を見出した。確認されたこれらの多型につき、両群におけるアレル頻度の差を χ^2 検定または Fisher の直接確率法を用い解析を行った結果、CHRNA3 と CHRNA4 遺伝子のアミノ酸置換を伴わない特定の多型群のアレル頻度が、AD 群と対照群で統計的に有意に差を示した。AD 群と対照群をさらに APOE $\epsilon 4$ アレルの有無によってグループを分けて検討したところ、APOE $\epsilon 4$ のアレルを含まない群での比較でも有意差を示した。APOE $\epsilon 4$ のアレルをもつ群でも同様の分布傾向を示したが、有意差は示さなかった。これらのアレル頻度の差は、APOE $\epsilon 4$ アレルの有無に関係無く認められ、独立した危険因子であると推定された。

また、AD 患者一例に CHRNA4 遺伝子のミスセンス変異 (Ser413Leu)、さらにもう一例の AD 患者にも CHRNB2 遺伝子のミスセンス変異 (Gln397Pro) を認めた。これらのアミノ酸は共に哺乳類では保存されているが、M3 と M4 の間にある種によって多様性の高い細胞質側ループ領域に位置していた。CHRNA4 と CHRNB2 遺伝子は共に常染色体優性遺伝性夜間前頭葉てんかんの原因遺伝子としても知られ、大規模なスクリーニングが行われているが、今回認めた細胞質側ループ領域のアミノ酸置換は報告されていない。

以上の検討から、神経型 nAChR 遺伝子多型が APOE 多型とは独立して孤発性 AD の発症に関連している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

孤発性アルツハイマー病（AD）発症における神経型ニコチン性アセチルコリン受容体（nAChR）遺伝子の多型の関与を検討するため、中枢神経系で発現している神経型 nAChR の 4 つの遺伝子（CHRNA3, CHRNA4, dHRNA7, CHRNB2）について、孤発性 AD 群（58例）と対照群（52例）で遺伝子多型の頻度を検討した。既知の多型の確認を行うと共に、single-strand conformational polymorphism 法を用いて多型のスクリーニングを行い、各遺伝子でいくつかの未報告の多型を見出した。これらの多型の両群におけるアレル頻度を χ^2 検定を用いて解析した結果、CHRNA3 と CHRNA4 遺伝子の特定の多型群のアレル頻度に両群間で有意な差を認めた。このアレル頻度の差は APOE ϵ 4 アレルの有無に関係無く認められた。

また、AD 患者一例に CHRNA4 遺伝子のミスセンス変異（Ser413Leu）、他の一例に CHRNB2 遺伝子のミスセンス変異（Gln397Pro）を認めた。これらの変異は、nAChR の 3, 4 番目の膜貫通領域間の細胞質側ループ領域に位置していた。

以上の検討から、神経型 nAChR 遺伝子多型が、孤発性 AD の発症に関して、APOE 多型とは独立した危険因子である可能性が示唆された。

以上の研究は、孤発性 AD の発症と神経型 nAChR 多型の関連性の解明に貢献し、AD の予防法・治療法の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成14年2月6日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。