

長寿医療研究開発費 平成29年度 総括研究報告

国立長寿医療研究センター・東京都健康長寿医療センターの共同事業による長寿バイオリソースの構築並びに認知症の発症病態 (29-27)

主任研究者 村山 繁雄 国立長寿医療研究センター 特任研究員

研究要旨

東京都健康長寿医療センター (TMGHIG) で蓄積する脳脊髄液・血液・ゲノムを、剖検脳・全身組織とともに包括研究同意の元にリソース化し、国立長寿医療研究センターと共同で研究基盤を構築する。TMGHIG 神経内科が 30 年間行って来た高齢者認知症・運動障害パス入院時、サロゲートバイオマーカー、apoE phenotyping 等について、保険適用である髄液リン酸化タウ蛋白以外の測定を本研究費で行い患者臨床に還元するとともに、包括研究同意のもとに残髄液・血清をリソースとして構築する事業を継続する。本研究費で新たに apoE genotyping を行い、残血漿、ゲノムリソース構築を開始する。

髄液リソースとしては、正常圧水頭症タップテスト時の髄液 30ml を上記サロゲートバイオマーカー測定で層別化し、探索研究に使用可能リソースとして蓄積する。VP shunt 時に Quopio University 方式で採取皮質を、リン酸化タウ、アミロイドβ蛋白 (Aβ)、リン酸化αシヌクレイン抗体免疫染色で病理学的に検索し診断精度を上げると同時に、蓄積リソースに神経病理診断の根拠を与える。レビー小体病について、末梢自律神経障害を認める場合、皮膚生検、抗リン酸化αシヌクレイン抗体免疫染色による診断を加え、リソースの信頼度を高める努力を継続する。これらのリソース提供患者を臨床的にフォローし、死亡時に開頭剖検許可と、ブレインバンク登録同意を得る努力を最大限行う。またブレインバンク登録を神経病理診断援助を含め全国より受け入れ、リソース数増加に努める。

主任研究者

村山 繁雄 国立長寿医療研究センター 特任研究員

分担研究者

里 直行 国立長寿医療研究センター 部長
新飯田俊平 国立長寿医療研究センター センター長
仙石 錬平 東京都健康長寿医療センター 医長
金丸 和富 東京都健康長寿医療センター 部長
仁科 裕史 東京都健康長寿医療センター 専門部長
高田 忠幸 東京都健康長寿医療センター 研究員
本山 りえ 東京都健康長寿医療センター 主事

山崎 幹大	東京都健康長寿医療センター	非常勤医師
小幡 真希	東京都健康長寿医療センター	臨床心理士
松原 知康	東京都健康長寿医療センター	主事
坂下 泰浩	東京都健康長寿医療センター	後期研修医

A. 研究目的

老化・認知症の克服のため、アルツハイマー病 (AD)・レビー小体型認知症 (DLB)・高齢者タウオパチーを主な対象に、神経学的診察 (含神経心理検査)・形態 (MRI) 機能画像 (SPECT/ FDG-PET)、サロゲートバイオマーカー (髄液、PIB、THK5351)、apoE 遺伝子多型で層別化された、血液・髄液・ゲノムリソースよりなる高齢者ブレインバンクプロジェクト・バイオバンクを創設する。これら長期縦断追跡症例を高齢者ブレインバンクに登録することで、付加価値を持つ死後脳を含む全身リソースとしての、高齢者ブレインバンクプロジェクトを継続する。

B. 研究方法

1. 高齢者バイオバンクリソース構築

TMGHIG物忘れ・神経内科・精神科・フレール外来受診変性型認知症・運動障害・MCI患者に神経学的診察 (神経心理検査)、MRI VSRAD、SPECT eZisによるスクリーニング後、長期縦断追跡可能症例をパス入院で、髄液サロゲートバイオマーカー (τ , p τ , A β , HVA, 5HIAA)、apoE phenotypingを行い、残髄液・血清を包括研究同意の元リソースとして構築する (仙石・金丸・仁科・本山)。認知症パスの場合残髄液は5mlで確認研究用、正常圧水頭症の場合残髄液は25mlで探索研究用とし、タウ、リン酸化タウ、A β 1-42で層別化、1mmごとアリコットに分け、-80°Cで凍結保存する。

献脳ドナー登録をコーディネーター (小幡) を活用し推進する。献脳登録者には治験を含む実証研究にリクルートし、最終神経病理診断による確認作業を行う。死亡時BBAR本登録を得ることで、確定診断のついたバイオリソースとして品質を高める。BBAR本登録時、脳・脊髄・末梢自律神経・嗅上皮・骨格筋・心筋・皮膚・胃食道移行部を、ブレインバンクドクター (高田・松原・山崎・坂下) がリソース蒐集し、ブレインバンクを含むバイオリソース全体の価値を高める。

上記コホートリソースに加え、オールジャパン稀少疾患レジストリーとしてBBAR登録を引き受け、TMGHIGブレインバンクIDを発行管理し、オープンリソースとして運用する (村山)。

2. 高齢者ブレインバンクプロジェクト施設維持

超低温槽は年間保守契約に入り、二酸化炭素ポンペ、非常電源バックアップを行い、槽内温度はインターネットメール・電話回線通報システム (村山・松原・坂下)・中央監

視アラームシステム監視下に置く。10年の保証期間を超えた機器は入れ換える。

3. 高齢者ブレインバンクプロジェクトデータベース構築

血清・髄液・死後脳・全身リソースは、電子カルテと連携した高齢者ブレインバンクプロジェクトデータベースをTMGHIGセンター予算で構築する。臨床情報は仙石・金丸・仁科・本山が、髄液バイオマーカー情報は金丸が、MRI、PETはそれぞれ研究協力者である徳丸阿耶放射線部長・石井賢二神経画像研究部長が責任を負う。

BBARデータベースについて、神経病理診断は、Ventana NX20自動免疫染色装置を用い、国際標準免疫組織学に基づいてブレインバンクドクター（高田・松原・坂下・山崎）が所見を提出し、主任研究者、鈴木衣子BBAR非常勤研究員（ノースカロライナ大学名誉教授、研究協力者）、国立精神・神経医療研究センター病院臨床検査科齊藤祐子医長（研究協力者）が品質管理を行う。

4. 高齢者ブレインバンクプロジェクトリソース提供

研究者の申請に森島リサーチマネージャーが窓口となり、外部学術委員（貫名信行・岩坪威博士）による守秘義務下査読承認を前提とする。申請研究者所属施設倫理委員会承認後、TMGHIG倫理委員会迅速審査承認を得る。最適リソースをカンファランスで選定後、協力研究員を委嘱し共同研究として行う。NCGGでの活用促進には、里班員が主催し主任研究員が行うNCGG教育コースを再開する。ゲノム蒐集・分配に関して新井田班員の指導を受ける。

（倫理面への配慮）

高齢者ブレインバンク、血清・髄液と臨床・画像情報よりなるバイオリソース活用については倫理委員会承認済みである。ゲノムに関してのみ、施設構築が不備として継続審議となっている。

C. 研究結果

1. リソース蓄積状況

今年度認知症・パーキンソン病パス入院を通じての臨床情報、神経心理検査、髄液・血清蓄積症例は今年度149例（表1）、累積4,213例であった。うち探索研究に用いることが可能な正常圧水頭症タッピングテスト時の髄液は7例、累積15例であった（表2）。

剖検症例は52例で、老化性変化の網羅的検討を行った。うち生前同意に基づく症例は8例であった（表3）。稀少難病蓄積は20例であった。施設蓄積支援を含め、ブレインバンクネットワークとし150例のオープンリソース構築に貢献した（表4）。

2. リソース提供状況

本年度42研究者への提供を行った。長寿医療研究センターに関しては、里博士との共同研究に関して、部位、例数の調整を統計学者と含め検討を重ね、決定した。数が極めて多く、次年度に切り出しを開始予定である。また研究員との唾液線に関する研究に関しては、顎下腺凍結材料を前方視的に蓄積し、リソース化した。次年度研究に貢献予定である。

3. 長寿研関連広報活動

長寿研研究者教育活動として、毎週火曜日行っているブレインカッティングにリクルートした。また CPC の発信を複数回行った。さらに主任研究者による直接長寿研での講演を行うことで、死後脳研究が円滑に行える基盤構築の努力を行った。またブレインバンク啓蒙都民公開講座を NCGG 共催で行った。

D. 考察

今年度新臨床研究指針が制定されたことを受け、ゲノムをオープンリソースとして構築することに対しては倫理委員会承認が得られなかった。ゲノム蓄積し、研究使用時個別同意を得ることで、倫理委員会事前審査承認は得られたが、セキュリティーレベルの高い蓄積設備の構築を求められた。すでに国際的に認知されている高齢者ブレインバンク名称を用い、高齢者ブレインバンクプロジェクトバイオバンクとして組織を改変し、東京都の理解を得ていく決定がされた。次年度新任の研究推進室長の就任を待って、バイオマーカー診断を持つ認知症ゲノムリソース構築を推進していく予定である。

高齢者ブレインバンクに関しては、主任研究者が神経病理学会理事長、神経学会理事に選任されたこと、2018年9月世界神経病理学会事務局長として実質運用責任を担ったことを受け、日本中の生前同意登録者のリクルートとリカバリーに携わることが出来、かつ韓国、インド、スリランカ等のアジアのブレインバンク構築に協力しネットワーク化する基盤構築が可能となった。

長寿研研究者への提供については、前方視的対応に加え、切り出し部位の精密化で対応予定であるが、より精密に行うためには前方視的切り出しを考慮することを検討中である。

E. 結論

高齢者ブレインバンクプロジェクトとしてバイオリソースを含めるかたちで、プロジェクト全体のシェープアップを図ることが出来た。長寿研との協力関係をさらに密にし、アウトプットに向かう体制構築が可能となった。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表 (英文原著のみ)

- 1) Akasaka-Manyu K, Kawamura M, Tsumoto H, Saito Y, Kitazume S, Hatsuta H, Miura Y, Hisanaga S, Murayama S, Hashimoto Y, Manyu H, Endo T; Excess APP O-glycosylation by GalNAc-T6 decreases A β production. J Biochem. 2017, 161 (1): 99-111. doi: 10.1093/jb/mvw056.
- 2) Dzamko N, Gysbers AM, Bandopadhyay R, Bolliger MF, Uchino A, Zhao Y, Takao M, Wauters S, van de Berg, WD, Takahashi-Fujigasaki J, Nichols RJ, Holton JL, Murayama S, Halliday GM: LRRK2 levels and phosphorylation in Parkinson's disease brain and cases with restricted Lewy bodies. Mov Disord. 2017; 32(3): 423-432. doi: 10.1002/mds.26892.
- 3) Hara N, Kikuchi M, Miyashita A, Hatsuta H, Saito Y, Kasuga K, Murayama S, Ikeuchi T, Kuwano R: Serum microRNA miR-501-3p as a potential biomarker related to the progression of Alzheimer's disease. Acta Neuropathol Commun. 2017; 5(1) :10. doi: 10.1186/s40478-017-0414-z
- 4) Honma N, Saji S, Mikami T, Yoshimura N, Mori S, Saito Y, Murayama S, Harada N: Estrogen-Related Factors in the Frontal Lobe of Alzheimer's Disease Patients and Importance of Body Mass Index. Sci Rep. 2017; 7 (1): 726. doi: 10.1038/s41598-017-00815-3.
- 5) Morimoto S, Hatsuta H, Kokubo Y, Nakano Y, Hasegawa M, Yoneda M, Hirokawa Y, Kuzuhara S, Shiraishi T, Murayama S: Unusual tau pathology of the cerebellum in patients with amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex from the kii peninsula, Japan. Brain Pathol 2018 Mar;28(2):287-291. doi: 10.1111/bpa.12500.
- 6) Morimoto S, Hatsuta H, Komiya T, Kanemaru K, Tokumaru A. M, Murayama S: Simultaneous skin-nerve-muscle biopsy and abnormal mitochondrial inclusions in intranuclear hyaline inclusion body disease. J Neurol Sci. 2017; 372: 447-449. doi: 10.1016/j.jns.2016.10.042.
- 7) Morimoto S, Takao M, Hatsuta H, Nishina Y, Komiya T, Sengoku R, Nakano Y, Uchino A, Sumikura H, Saito Y, Kanemaru K, Murayama S: Homovanillic acid and 5-hydroxyindole acetic acid as biomarkers for dementia with Lewy bodies and coincident Alzheimer's disease: An autopsy-confirmed study. PLoS One 2017; 12 (2) : e0171524. doi: 10.1371/journal.pone.0171524. eCollection 2017.
- 8) Kokubo Y, Banack S.A, Morimoto S, Murayama S, Togashi T, Metcalf J.S, Cox P.A, Kuzuhara S: beta-N-methylamino-L-alanine analysis in the brains of patients with Kii ALS/PDC. 2017, Neurology 89(10): 1091-1092.
- 9) Sabbagh MN, Schauble B, Anand K, Richards D, Murayama S, Akatsu H, Takao M, Rowe CC, Masters CL, Barthel H, Gertz HJ, Peters O, Rasgon N, Jovalekic A, Sabri O, Schulz-Schaeffer WJ and Seibyl J; Histopathology and Florbetaben PET in Patients Incorrectly Diagnosed with Alzheimer's Disease. J Alzheimers Dis. 2017; 56(2): 441-446. doi: 10.3233/JAD-160821.

- 10) Sakurai K, Tokumaru AM, Shimoji K, Murayama S, Kanemaru K, Morimoto S, Aiba I, Nakagawa M, Ozawa Y, Shimohira M, Matsukawa N, Hashizume Y and Shibamoto Y: Beyond the midbrain atrophy: wide spectrum of structural MRI finding in cases of pathologically proven progressive supranuclear palsy. *Neuroradiology*. 2017; 59(5): 431-443. doi: 10.1007/s00234-017-1812-4
- 11) Sano K, Atarashi R, Satoh K, Ishibashi D, Nakagaki T, Iwasaki Y, Yoshida M, Murayama S, Mishima K, Nishida N : Prion-Like Seeding of Misfolded alpha-Synuclein in the Brains of Dementia with Lewy Body Patients in RT-QUIC. *Mol Neurobiol*. 2018 May;55(5):3916-3930. doi: 10.1007/s12035-017-0624-1
- 12) Yamamoto T, Murayama S, Takao M, Isa T, Higo N : Expression of secreted phosphoprotein 1 (osteopontin) in human sensorimotor cortex and spinal cord: Changes in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Res*; 2017; 1655: 168-175. DOI: 10.1016/j.brainres.2016.10.030
- 13) Araki W, Hattori K, Kanemaru K, Yokoi Y, Omachi Y, Takano H, Sakata M, Yoshida S, Tsukamoto T, Murata M, Saito Y, Kunugi H, Goto Y, Nagaoka U, Nagao M, Komori T, Arima K, Ishii K, Murayama S, Matsuda H, Tachimori H, Araki YM, Mizusawa H: Re-evaluation of soluble APP-alpha and APP-beta in cerebrospinal fluid as potential biomarkers for early diagnosis of dementia disorders. *Biomark Res*. 2017; 5: 28.
- 14) Wang T, Matsuda Y, Seki A, Nonaka K, Kakizaki M, Kaneda D, Takahashi-Fujigasaki J, Murayama S, Arai T:(2017). "Carbohydrate antigen 19-9- positive gastric adenocarcinoma: autopsy findings and review of the literature. *Case Rep Gastroenterol*. 2017; 11(3): 545-553.
- 15) Matsuda Y, Seki A, Nonaka K, Kakizaki M, Wang T, Aida J, Ishikawa N, Nakano Y, Kaneda D, Takata T, Takahashi-Fujigasaki J, Murayama S, Takubo K, Ishiwata T, Sawabe M, Arai T: Clinicopathological characteristics of distant metastases of adenocarcinoma, squamous cell carcinoma and urothelial carcinoma: An autopsy study of older Japanese patients. *Geriatr Gerontol Int*. 2018 Feb;18(2):211-215. doi: 10.1111/ggi.13165
- 16) Uchino A, Ogino M, Takahashi-Fujigasaki J, Oonuma S, Kanazawa N, Kajita S, Ichinoe M, Hasegawa M, Nishiyama K, Murayama S: Pathological and immunoblot analysis of phosphorylated TDP-43 in sporadic amyotrophic lateral sclerosis with pallido-nigro-luysian degeneration. *Neuropathology*. 2018 Apr;38(2):171-178. doi: 10.1111/neup.12430.
- 17) Morimoto S, Hatsuta H, Motoyama R, Kokubo Y, Ishiura H, Tsuji S, Kuzuhara S, Murayama S: Optineurin Pathology in the Spinal Cord of Amyotrophic Lateral Sclerosis/Parkinsonism-Dementia Complex Patients in Kii Peninsula, Japan." *Brain Pathol*. 2017 Sep 27. doi: 10.1111/bpa.12558. [Epub ahead of print] No abstract available. PMID: 28960710
- 18) Kimura H, Takao M, Suzuki N, Kanemaru K, Mihara B, Murayama S: Pathologic Study of Intracranial Large Artery Atherosclerosis in 7260 Autopsy Cases. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2017 Dec;26(12):2821-2827. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.06.056.

- 19) Mano T, Nagata K, Nonaka T, Tarutani A, Imamura T, Hashimoto T, Bannai T, Koshi-Mano K, Tsuchida T, Ohtomo R, Takahashi-Fujigasaki J, Yamashita S, Ohyagi Y, Yamazaki R, Tsuji S, Tamaoka A, Ikeuchi T, Saido CT, Iwatsubo T, Ushijima T, Murayama S, Hasegawa M, Iwata A: Neuron-specific methylome analysis reveals epigenetic regulation and tau-related dysfunction of BRCA1 in Alzheimer's disease. Proc Natl Acad Sci U S A., 2017 Nov 7;114(45):E9645-E9654. doi: 10.1073/pnas.1707151114.
- 20) Kakuda N, Miyasaka T, Iwasaki N, Nirasawa T, Wada-Kakuda S, Takahashi-Fujigasaki J, Murayama S, Ihara Y, Ikegawa M : Distinct deposition of amyloid-beta species in brains with Alzheimer's disease pathology visualized with MALDI imaging mass spectrometry. Acta Neuropathol Commun . 2017; 5(1): 73.
- 21) Zhao Y, Perera G, Takahashi-Fujigasaki J, Mash DC, Paul J, Vonsattel G, Uchino A, Hasegawa K, Nichols RJ, Holton JL, Murayama S, Dzamko N, Halliday GM : Reduced LRRK2 in association with retromer dysfunction in postmortem brain tissue from LRRK2 mutation carriers. Brain, 141(2): 486-495. 2018; 10.292(2017)
- 22) Nishioka M, Bundo M, Ueda J, Katsuoka F, Sato Y, Kuroki Y, Ishii T, Ukai W, Murayama S, Hashimoto E, Nagasaki M, Yasuda J, Kasai K, Kato T, Iwamoto K: Identification of somatic mutations in postmortem human brains by whole genome sequencing and their implications for psychiatric disorders. Psychiatry Clin Neurosci 2018 Apr;72(4):280-294. doi: 10.1111/pcn.12632.

2. 学会発表（国際発表のみ）

- 1) Murayama S, Motoyama R, Shimizu T, Nakano Y, Fujigasaki J, Sengoku R, Sato K, Takao M: Neuropathological study of two cases with false positive real time quakeinduced conversion result of cerebrospinal fluid for prion protein. 93st American Association of Neuropathologists. Garden Grove, CA USA, 2017.6.8-11
- 2) Murayama S, Sengoku R, Shibukawa M, Kanemaru K, Sato N, Yanagisawa K: Annual Report of Bibank of aging research, a joint project of Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital and Institute of Gerontology (TMGHIG) and National Center of Gerontology and Geriatrics (NCGG). Alzheimer's Association International Conference (AAIC 2017). London, England, 2017. 7. 16-20
- 3) Murayama S: The establishment of the next generation brain bank and biobank system for aging research. Advanced School of Neuroscience: the epigenome in aging and neurodegenerative diseases: current state and approaches for a new path to gene discovery and understanding disease mechanism. August 30 to September 6, 2017, San Paulo.
- 4) Murayama S, Sengoku R., Takada T, Matsubara T, Yamazaki M, Kobayashi M, Sakashita Y, Shibukawa M, Morimoto S, Motoyama R, Hiroyoshi Y, Higashihara M, Nishina Y, Kanemaru K, Yanagisawa K, Saito Y: The Brain Bank for Aging Research Project, Tokyo, Japan. 23th World Congress of Neurology. Kyoto, Japan, 2017.9.16-21

- 5) Murayama S: The Japanese Brain Bank Network and α -synucleinopathy; The spread of Lewy body pathology in the peripheral autonomic nervous system. Seoul National University Hospital Brain Bank Symposim. Seoul, Korea, 2017.12.1

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。