

## アミロイドオリゴマー測定キットの開発のための予備検討

### 《対象者》

2013年4月1日から2021年11月30日までに、剖検脳および血液・髄液の採取と研究への利用を書面により承諾を得て福祉村病院で剖検され、ブレインバンクに登録されたアルツハイマー病および非変性神経疾患対照例（脳梗塞、脳出血例も含む）の患者さん

### 研究協力をお願い

福祉村病院ブレインバンクでは、滋賀医科大学、京都大学農学研究科と共同で、「アミロイドオリゴマー測定キットの開発のための予備検討」という研究を行います。この研究は、2013年4月1日から2021年11月30日までに、剖検脳および血液・髄液の採取と研究への利用を書面により承諾を得て福祉村病院で剖検され、ブレインバンクに登録されたアルツハイマー病および非変性神経疾患対照例の患者さん（脳梗塞、脳出血例も含む）の剖検脳ならびに血液・髄液を調査する研究で、研究目的や研究方法は以下の通りです。直接のご同意はいただかずに、この掲示などによるお知らせをもってご同意を頂いたものとして実施されます。研究対象となる患者さんのご遺族の方におかれましては研究の主旨をご理解いただき、本研究へのご協力を賜りますようお願い申し上げます。この研究に関するご質問は下記の問い合わせ先へご連絡下さい。

### (1)研究の概要について

研究課題名：アミロイドオリゴマー測定キットの開発のための予備検討

研究期間：（倫理委員会承認後）～2026年3月31日

実施責任者： 滋賀医科大学 理事・副学長 遠山 育夫

### (2)研究の意義、目的について

#### 《研究の意義、目的》

日本の認知症患者数は460万人を越え、軽度認知機能障害といわれる認知症予備軍を加えると800万人に達すると推測されている。なかでもアルツハイマー病は、認知症患者のうちの60%以上をしめることから、認知症の解決のためには、アルツハイマー病の解決が最も重要である。アルツハイマー病は、ベータアミロイドペプチド(A $\beta$ )オリゴマー形成、ベータシート構造を持つアミロイドフィブリルを主成分とする老人斑の形成、リン酸化タウ蛋白を主成分とする神経原線維変化の形成、神経細胞死と進んでいくと考えられている。最近、老人斑の数は認知症の重症度とは比例せず、むしろ可溶性のA $\beta$ オリゴマーが強い神経毒性を持ち、アルツハイマー病の病態を進行させることが指摘されており、A $\beta$ オリゴマーの毒性を除去することがアルツハイマー病の根本治療に繋がる可能性がある。すなわち、血液中あるいは髄液中のA $\beta$ オリゴマーの量を定量することで、アルツハイマー病の早期診断や治療効果の判定ができる可能性がある。最近、共同研究者である京都大学農学研究科教授の入江一浩博士らは、固体NMRやESR法を用いたA $\beta$ 凝集体の構造解析から、A $\beta$ オリゴマーが中央部分に屈曲構造を持ち、そのC端にラジカル分子が生じて強い酸化ストレスを示すことを明らかにし、これを毒性コンホマーと名付けた。さらに毒性コンホマーに特異的な抗体を開発し、毒性コンホマーを指標とすることで、A $\beta$ オリゴマーの定量をする方法(サンドイッチELISAキット)を開発した。そこで本研究では、福祉村ブレインバンクの所有しているアルツハイマー病例と非神経疾患対照例の患者さんの剖検脳、血液、髄液サンプルを用いて、開発したキットでA $\beta$ オリゴマーの定量を行い、アルツハイマー病の診断が可能かどうかの予備検討を行う。血液や髄液中に存在するA $\beta$ オリゴマーの定量が可能になれば、A $\beta$ オリゴマーを標的にした診断法、治療法が開発が開発につながり、患者さんやそのご家族へ大きく貢献できると考える。

### (3) 研究の方法について

#### 《研究の方法》

本研究は、福祉村病院ブレインバンクに保管されている標本を用いた後ろ向き研究です。福祉村病院では剖検脳の固定標本からパラフィン切片を作成し、神経病理学的染色を行って診断を確定します。確定した症例の固定標本と凍結標本ならびに血液・髄液試料を滋賀医科大学に送付します。滋賀医科大学では、A $\beta$ 、タウ、リン酸化タウ、シヌクレイン、TDP-43 など、神経変性疾患関連蛋白に結合する抗体およびプローブを用いて、それら神経変性疾患関連蛋白の局在や発現を確認します。また、凍結標本は、A $\beta$  オリゴマー、A $\beta$  (A $\beta$  40 あるいは A $\beta$  42 あるいは両方) の ELISA 法による定量と総蛋白定量、ならびに総タウタンパク量、リン酸化タウタンパク量、タウタンパク凝集体量の測定を行います。血液、髄液サンプルは、A $\beta$  オリゴマーと A $\beta$  (A $\beta$  40 あるいは A $\beta$  42 あるいは両方) の ELISA 法による定量と総蛋白定量を行います。剖検脳、髄液、血液それぞれで、アルツハイマー病と非変性神経疾患対照例の患者さんの両群で A $\beta$  オリゴマーの量に違いがあるかを判定するとともにタウタンパク量との相関を解析します。

### (4) 予測される結果 (利益・不利益) について

参加頂いた場合の利益・不利益はありません。

### (5) 個人情報保護について

研究にあたっては、個人情報に直接同定できる情報は使用されません。福祉村病院ブレインバンクで個人が識別できないように匿名化し、対応表を作成します。対応表は、福祉村病院の鍵のかかる部屋に保存し、他には持ち出しません。性別、年齢、死後経過時間、診断名と病理所見のみが、滋賀医科大学に送られます。また、研究発表時にも個人情報は使用されません。

(5) - (1) 試料・情報は、上記 (1) (2) (3) の目的と方法によって使用します。

(5) - (2) 試料を利用するのは、以下の研究代表者と研究分担者です。

研究代表者

滋賀医科大学・理事・副学長 遠山育夫 研究総括

研究分担者

神経難病研究センター・神経診断治療学部門 准教授 柳沢大治郎 研究全般

創発的研究センター・国際共同研究部門 特任助教 Rabiatul Adawiyah binti Razali ELISA 測定、病理学的染色、バイオアッセイ

創発的研究センター・国際共同研究部門 SUMS 留学生 (外国人客員研究員) Faris Hazwan Bin Nazar ELISA 測定、病理学的染色、バイオアッセイ

創発的研究センター・国際共同研究部門 大学院生 Uswah Hasanah binti Mohd Hafizal ELISA 測定、病理学的染色、バイオアッセイ

創発的研究センター・国際共同研究部門 技術補佐員 加藤智子 ELISA 測定、病理学的染色、バイオアッセイ

医師臨床教育研究センター・研修医 (研究医) 景山裕介 研究全般

各共同研究機関における研究責任者の役割；

福祉村病院長寿医学研究所・神経病理研究所 副所長 金田大太 0532-46-7511

福祉村ブレインバンクへの手続きを仲介し、病理学的確定診断を行い福祉村ブレインバンクからの試料を選択して、滋賀医科大学に送付する。

京都大学農学研究科食品生物科学専攻食品生命科学講座 教授 入江 一浩 075-753-6281

A オリゴマー抗体、A オリゴマー-ELISA キットの作成と供与

**(6)研究成果の公表について**

この研究成果は学会発表、学術雑誌などで公表します。

**(7)問い合わせ等の連絡先**

研究全般に関する問合せ窓口（担当者・所属・連絡先、連絡方法）

滋賀医科大学神経難病研究センター 柳沢 大治郎

〒520-2192 滋賀県大津市瀬田月輪町

TEL：077-548-2331

E-mail：daijiroy@belle.shiga-med.ac.jp

プライバシーポリシーに関する問合せ窓口（担当者・所属・連絡先、連絡方法）

滋賀医科大学神経難病研究センター 遠山育夫

〒520-2192 滋賀県大津市瀬田月輪町

TEL：077-548-2002

E-mail：riji2002@belle.shiga-med.ac.jp