

地域在住高齢者における認知機能低下を予測するバイオマーカーの 確立に向けたコホート研究 —酸化LDL活性とBDNFに着目して—

慶應義塾大学医学部 衛生学公衆衛生学教室

原田 成

要 約

地域在住高齢者における認知機能低下を予測するバイオマーカーを検討する目的で、群馬県高崎市倉渕町の高齢者557名において、酸化LDL活性を示すLOX-1 Ligand Containg ApoB (LAB) およびBrain-Derived Neurotropic Factor (BDNF) と、改訂長谷川式簡易知能評価スケール (HDS-R) スコアおよびClock Drawing Test (CDT) スコアの関連を時間断面的に調べた。LAB 値により低い順からQ1-Q4の4群に分類して共分散分析を行ったところ、HDS-R スコアは群間で有意な変動を示した。加えて多重比較 (tukey 法) を行った結果、Q1 (平均24.2 SD4.5) とQ3 (平均25.5 SD4.0) の2群間のみ有意な差を認めた。CDT スコアでは有意な変動を認めなかった。BDNF 値は認知機能と有意な関連を示さなかった。今回の報告では酸化LDL活性が低い群で認知機能が低いことを示唆する結果となったが、限界として①時間断面研究である②サンプル数が少ないことが挙げられ、因果関係の検討には更なる追跡研究が必要である。

はじめに

高齢者の認知機能低下予防には、無自覚・未受診で自立して生活している段階での高リスク群を把握し、そのリスク群に対して効果的な予防方法を確立することが必須である。しかしながら現状では、認知症の前駆状態であるMild Cognitive Impairment (MCI) のような軽度の認知機能低下をスクリーニングする効果的な方法がないこと、またリスク要因が十分に明らかでないことから、高リスク群の把握は困難である。そのような状況から、地域在住高齢者における認知機能低下リスク要因の解明と、認知機能低下を予測する客観的指標として、信頼性が高く地域で検査可能なバイオマーカーの発見が待望されているが、確立されていない。

認知機能低下のリスクとして、近年、脳血管性認知症に加え、Alzheimer病においても動脈硬化との関連が明らかになってきている。しかしコレステロール値との関連を調べた疫学研究の結果は一定していない。また、コレステロールの中でも特に動脈硬化の進展に寄与すると考えられている酸化LDLとの関連を調べた疫学研究は渉猟しうる限り見つからない。そこで我々は、コレステロールと認知機能低下の関連を明らかにするために、酸化LDLに着目することとした。酸化LDLは従来、抗酸化LDL抗体を用いて測定されてきたが、酸化LDLと

は、様々な酸化脂質、部分的に酸化を受けたタンパク質から成る不均一な集合体であり、抗体では一部のエピトープの量しか測定できないという限界があった。その限界に対して、酸化LDLの内皮細胞への作用を媒介する受容体であるLOX-1を用いる方法が考案された。この方法は、病態の発症・進展に寄与する実際の作用因子としてLOX-1に結合するリガンドであるapoB含有リポ蛋白（LOX-1 Ligand Containing ApoB: LAB）を定量する方法である。この方法を用いることにより、酸化LDL活性を効果的に評価することができる^{1) 2)}。

一方、Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) は神経細胞の発生、成長、維持、修復に関与するタンパクで、学習や記憶においても重要な役割を持つとされ、Alzheimer病患者の脳でBDNFの発現量が減少しているという報告がある。したがってBDNFも認知機能低下のバイオマーカーとなり得るが、本邦の地域在住高齢者においてBDNFと認知機能の関連を検討した報告はない³⁾。

以上のことから、本研究では地域在住高齢者の認知機能低下を予測するバイオマーカーとしてLABおよびBDNFに着目して、その関連を検討する。時間経過による認知機能低下を予測するには地域密着型の追跡研究が必要となるが、本報告ではまずベースラインの状態について時間断面的に検討する。

方 法

我々の研究グループは、2005年から現在まで継続して、群馬県高崎市倉渕町在住の65歳以上高齢者を対象としたコホート研究である「倉渕コホート」を実施している。倉渕コホートは、隔年の健康診断調査と、毎年の全戸訪問健康調査によって構成されている。本研究の対象者は、倉渕コホートの参加者のうち、2009年-2010年の健康診断調査を受診し、認知機能の検査を受診した557名である。これらの対象者について、バイオマーカーの候補として血清中のLABならびにBDNFの値と、認知機能の関連を時間断面的に検討した。

LABについては、2009-2010年に収集しディープフリーザ内で-80℃にて凍結保存されていた血清サンプルを、2012年に株式会社バイオマーカーサイエンスに委託し、サンドイッチEIA法にて測定を行った。また、BDNFについても同様の検体について、三菱化学メディエンス株式会社に委託し、酵素免疫測定法（ELISA）にて測定を行った。LABならびにBDNFの値によって対象者をそれぞれ4分位で4群に分類して解析を行った。

認知機能の評価には改訂長谷川式簡易知能評価スケール（HDS-R）およびClock Drawing Test（CDT）を用いた。HDS-Rは30点満点（30点＝認知機能正常）で認知機能の評価するスケールであり、一般に21/20がカットオフとされるが、今回はスコア値をそのまま解析に使用した。CDTの評価にはいくつかの方法があるが、今回は7点法を用いて評価を行い、7点満点（7点＝認知機能正常）のスコア値をそのまま解析に使用した。

また交絡を検討するため、個人の属性・健康状態・生活習慣について情報を得た。その内訳は、性別・年齢、隔年健康診断時に測定を実施した諸項目（BMI・血圧・総コレステロー

ル値・LDL コレステロール値・HDL コレステロール値・アルブミン値・HbA1c 値)ならびに自記式質問票から回答を得た諸項目(教育歴・飲酒習慣・喫煙習慣・活動能力指標・抑うつ傾向・既往歴)、お薬手帳に記載されていた現在の服用薬である。活動能力指標の評価には老健式活動能力指標(13点満点:13点=活動能力正常)のスコア値を用いた。抑うつ度の評価には5-item Geriatric Depression Scale (GDS-5)を用い、2点以上を抑うつ傾向ありと分類した。

統計学的手法としては、LAB・LDL コレステロール・BDNFの値により対象者をそれぞれ4分位で分類し、4群間の差をHSD-RスコアならびにCDTスコアを分散分析により検討した。また交絡を検討するため、共変量として性別・年齢・教育歴・飲酒習慣・喫煙歴・脳卒中の既往歴を加えて共分散分析を実施した。さらに、Tukey-Kramer法による多重比較を行った。また感度分析としてLDL コレステロールによる層化解析、脳卒中既往者を除いた解析を実施した。解析にはSAS®9.2(SAS Institute Inc)を使用した。

結 果

対象者のLAB値によって分類されたcharacteristicsを表1に、BDNF値によって分類されたcharacteristicsを表2に示した。それぞれ4分位に分類し、最下位からQ1、Q2、Q3、Q4と記した。LABではQ1は0.6-4.4 μ g/dl、Q2は4.4-6.0 μ g/dl、Q3は6.0-7.7 μ g/dl、Q4は7.7-20.3 μ g/dl、BDNFではQ1は5097-20312pg/ml、Q2は20326-25017 pg/ml、Q3は25031-29954 pg/ml、Q4は29956-51848であった。

LABの値は性差があり、高値ほど女性が多い傾向である。また、総コレステロール値、LDL コレステロール値もLAB値とともに上昇する傾向が認められた。一方、HDL コレステロール値とLAB値との関係は明らかでない。年齢や喫煙・飲酒習慣、教育歴、活動能力その他の健康状態についても、LAB値による明らかな違いは認められなかった。

BDNF値については性・年齢との関係はなく、喫煙・飲酒習慣や教育歴との関連も明らかでない。また、この対象者では抑うつ傾向との関連も認められなかった。

LABと認知機能の関連を検討した結果、Q1がHDS-Rスコア24.2と最低値を示し、Q3がHDS-Rスコア25.5と最高であった(表3)。分散分析の結果、調整前のp値は0.08であり、調整後のp値は0.04と有意な変動を認めた。またTukey法による多重比較の結果、Q1とQ3のHDS-Rスコアに有意な差を認めたが、他の群間には有意差は認められなかった。CDTスコアにおいてもLAB Q1はやや低値を示したが、分散分析、多重比較のいずれも有意な結果ではなかった。

LDLと認知機能の関連も、LABと認知機能の関連と類似の傾向を示した。すなわち、Q1がHDS-Rスコア、CDTスコアともに他群に比べてやや低値であった。しかし分散分析、多重比較ともに有意な結果ではなかった。

一方、BDNFと認知機能の関連については、特定の傾向は認められなかった。

表1: 対象者のLAB値によるcharacteristics									
LAB		Q1(n=133)		Q2(n=133)		Q3(n=133)		Q4(n=133)	
		平均 or N	SD or %	平均 or N	SD or %	平均 or N	SD or %	平均 or N	SD or %
性別	男性	72	54.1%	60	45.1%	51	38.3%	48	36.1%
年齢	歳	76.29	6.70	76.23	6.35	76.35	6.73	75.80	6.18
BMI		22.81	3.23	23.15	3.60	22.68	3.66	22.80	2.89
喫煙	現在喫煙中	14	10.5%	11	8.3%	16	12.0%	8	6.0%
飲酒	週2回以上	42	31.6%	32	24.1%	33	24.8%	34	25.6%
最高血圧	mmHg	129.12	19.65	133.22	20.50	131.60	21.19	133.59	20.34
最低血圧	mmHg	73.74	12.11	75.86	11.77	75.72	11.82	76.10	12.09
高血圧薬	服用中	58	43.6%	53	39.9%	54	40.6%	54	40.6%
アルブミン値	g/dL	4.23	0.26	4.29	0.30	4.28	0.28	4.30	0.28
HbA1c	%	5.57	0.64	5.56	0.57	5.62	0.60	5.58	0.69
総コレステロール	mg/dL	184.17	33.76	202.92	31.29	211.42	29.25	220.58	32.04
HDLコレステロール	mg/dL	56.58	13.77	58.23	14.06	57.89	12.98	59.51	13.42
LDLコレステロール	mg/dL	99.70	28.05	113.64	24.69	117.42	24.11	123.69	26.79
高脂血症薬	服用中	26	19.6%	25	18.8%	31	23.3%	24	18.1%
活動能力指標	0-13点(満点)	12.05	1.58	12.09	1.64	12.02	1.79	12.14	1.60
抑うつ傾向	あり	32	24.1%	32	24.1%	29	21.8%	37	27.8%
脳卒中	既往あり	8	6.0%	8	6.0%	4	3.0%	2	1.5%
同居の有無	独居	20	15.0%	23	17.3%	17	12.9%	21	15.8%
教育歴	中卒以下	93	73.2%	99	76.7%	97	74.6%	88	67.7%

表2: 対象者のBDNF値によるcharacteristics									
BDNF		Q1(n=136)		Q2(n=137)		Q3(n=137)		Q4(n=137)	
		平均 or N	SD or %	平均 or N	SD or %	平均 or N	SD or %	平均 or N	SD or %
性別	男性	61	44.9%	62	45.3%	56	40.9%	63	46.0%
年齢	歳	76.63	5.76	77.14	6.66	75.34	6.71	75.34	6.64
BMI		21.90	3.36	22.64	3.17	23.42	3.31	23.47	3.42
喫煙	現在喫煙中	9	6.6%	16	11.7%	14	10.2%	14	10.2%
飲酒	週2回以上	33	24.3%	41	29.9%	35	25.6%	37	27.0%
最高血圧	mmHg	128.29	21.87	129.92	19.99	134.25	20.23	135.60	18.72
最低血圧	mmHg	73.56	11.89	73.48	11.15	77.12	11.31	77.67	12.70
高血圧薬	服用中	51	37.5%	58	42.3%	59	43.1%	59	43.1%
アルブミン値	g/dL	4.19	0.29	4.26	0.28	4.29	0.25	4.37	0.27
HbA1c	%	5.49	0.70	5.57	0.54	5.58	0.63	5.70	0.64
総コレステロール	mg/dL	198.57	34.20	200.34	32.21	206.09	31.39	214.53	36.48
HDLコレステロール	mg/dL	58.36	12.86	58.58	13.12	56.50	13.08	58.91	15.12
LDLコレステロール	mg/dL	108.35	26.11	111.04	26.37	114.50	26.10	120.58	29.54
高脂血症薬	服用中	22	16.2%	26	19.0%	28	20.4%	34	24.8%
活動能力指標	0-13点(満点)	12.21	1.43	12.07	1.73	12.08	1.65	11.99	1.73
抑うつ傾向	あり	33	24.3%	32	23.4%	36	26.3%	33	24.1%
脳卒中	既往あり	6	4.4%	6	4.4%	6	4.4%	5	3.7%
同居の有無	独居	18	13.2%	22	16.1%	27	19.7%	17	12.6%
教育歴	中卒以下	91	67.9%	98	73.1%	98	73.1%	99	74.4%

考 察

本研究では、酸化LDLの活性を示すLAB低値が認知機能低下と関連があることが示唆された。一方、BDNFと認知機能には関連は認められなかった。

血中の高いLAB濃度はそれ自体が原因となって動脈硬化を進展させることが動物モデルにおいて報告されている^{4) 5)}。またわが国における都市型コホートの代表である吹田コホートでは、平均追跡期間11年後の脳梗塞・脳卒中の発症リスクが上昇することが報告されている⁶⁾。こうした背景から、認知機能においても、LAB高値が動脈硬化を介して認知機能低下リスクを上昇させることが仮説として考えられる。しかしながら、本研究では逆の結果が示された。LDLコレステロールも同様の傾向を示していることから、本対象群では、LDLコレステロール、酸化LDLコレステロール活性高値は、むしろ高い認知機能と関連しているように見受けられる。ただし本研究はあくまでも時間断面研究であり、サンプル数も少ない。メカニズム的な背景も明らかでない以上、この結果からLAB高値が認知機能高値と関連していると短絡することはできない。今後、更に追跡研究を行って結果を検証していく必要がある。

BDNFについては関連が認められなかったが、フィンランドの女性およびアメリカの男女

においては、BDNF 高値と良好な認知機能は関連が認められている^{7) 8)}。日本人との人種差・生活習慣や環境の差を反映している可能性もあるが、本研究とは認知機能の評価方法が異なるため単純な比較はできない。BDNF についても、追跡調査とともに更なる研究が必要である。

また本研究の限界として、サンプルサイズが小さいため検出力が充分でないことがあり、またバイオマーカーの有用性については多地域での比較検討も重要であることから、今後他地域でのコホートへの展開も必要であり、そのための準備を進めている。

表3: LAB, LDL, BDNF値と認知機能の関連			
		HDS-Rスコア (平均値±SD)	CDTスコア (平均値±SD)
LAB	Q1	24.2±4.5	6.09±1.29
	Q2	25.1±3.7	6.34±1.01
	Q3	25.5±3.9	6.25±1.21
	Q4	25.0±4.0	6.25±1.16
	分散分析		
	crude p	0.08	0.37
	adjusted p ¹	0.04	0.35
LDL	Q1	24.3±4.8	6.12±1.26
	Q2	25.3±3.5	6.27±1.10
	Q3	25.1±4.0	6.38±1.03
	Q4	25.2±3.7	6.19±1.22
	分散分析		
	crude p	0.36	0.37
	adjusted p ²	0.40	0.35
BDNF	Q1	25.4±3.9	6.26±1.18
	Q2	24.7±4.3	6.30±1.10
	Q3	24.8±3.8	6.24±1.16
	Q4	25.1±4.0	6.18±1.21
	分散分析		
	crude p	0.40	0.87
	adjusted p ¹	0.54	0.90
* 多重比較(Tukey法)にてp<0.05			
1: 性別・年齢・喫煙習慣・飲酒習慣・脳卒中既往・教育歴にて調整			

文 献

1. Kakutani M, Ueda M, Naruko T, Masaki T, Sawamura T. Biochem Biophys Res Commun. 2001 Mar 23;282(1):180-5.
2. Iwamoto S, Fujita Y, Kakino A, Yanagida K, Matsuda H, Yoshimoto R, Sawamura T. J Atheroscler Thromb. 2011;18(9):818-28.
3. Phillips HS, Hains JM, Armanini M, Laramie GR, Johnson SA, Winslow JW. Neuron. 1991 Nov;7(5):695-702.
4. Sato Y, Nishimichi N, Nakano A, Takikawa K, Inoue N, Matsuda H, Sawamura T. Atherosclerosis. 2008 Oct;200(2):303-9.
5. Ishigaki Y, Katagiri H, Gao J, Yamada T, Imai J, Uno K, Hasegawa Y, Kaneko K, Ogihara T, Ishihara H, Sato Y, Takikawa K, Nishimichi N, Matsuda H, Sawamura T, Oka Y. Circulation. 2008 Jul 1;118(1):75-83.
6. Inoue N, Okamura T, Kokubo Y, Fujita Y, Sato Y, Nakanishi M, Yanagida K, Kakino A, Iwamoto S, Watanabe M, Ogura S, Otsui K, Matsuda H, Uchida K, Yoshimoto R, Sawamura T. LOX index, a novel predictive biochemical marker for coronary heart disease and stroke. Clin Chem. 2010 Apr;56(4):550-8.
7. Komulainen P, Pedersen M, Hänninen T, Bruunsgaard H, Lakka TA, Kivipelto M, Hassinen M, Rauramaa

- TH, Pedersen BK, Rauramaa R. *Neurobiol Learn Mem.* 2008 Nov;90(4):596-603.
8. Gunstad J, Benitez A, Smith J, Glickman E, Spitznagel MB, Alexander T, Juvancic-Heltzel J, Murray L. Serum brain-derived neurotrophic factor is associated with cognitive function in healthy older adults. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 2008 Sep;21(3):166-70.