

*Original article***Plasma amyloid β 40/42 ratio and its characteristics**

Manami Meno, Saki Yokota, Miho Hashimoto, Masayuki Yagi, Yoshikazu Yonei

Anti-Aging Medical Research Center and Glycative Stress Research Center, Faculty of Life and Medical Sciences,
Doshisha University, Kyoto, Japan

Glycative Stress Research 2021; 8 (2): 62-72
(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

血漿アミロイド β 40/42比とその特性

米野愛美、横田早紀、橋本美帆、八木雅之、米井嘉一

同志社大学生命医科学部アンチエイジングリサーチセンター／糖化ストレス研究センター

抄録

アミロイド β ($A\beta$) はアミロイド前駆蛋白質 (APP) が切断されることにより生じ、脳内の沈着を特徴とする。血漿 $A\beta$ 40/42 比が高いと認知症の発症率が高いとされている。本研究では2019年に実施したアンチエイジング健診のデータより、老化指標が $A\beta$ 40/42に及ぼす影響について解析を行なった。対象は大学教職員21名 (49.3 ± 12.9 歳) および京都市有隣地区在住の自立高齢者 (Yurin elderly: YE) 36名 (79.3 ± 6.4 歳) とした。統計解析は、性別・年齢・BMIとアンチエイジング健診項目 (筋年齢・神経年齢・骨年齢・血管年齢・ホルモン年齢・糖化ストレス・酸化ストレス・免疫ストレス・心身ストレス・生活習慣) の計13項目を独立変数、 $A\beta$ 40/42を従属変数とし、ステップワイズ法重回帰分析にて検討した。教職員では従属変数Y ($A\beta$ 40/42) は「 $Y = -0.131 X_1$ (生活習慣スコア) + 19.7」の式で示され、悪しき生活習慣が $A\beta$ 40/42上昇のリスク要因となった。有隣高齢者では神経年齢が、全例解析では血管年齢と糖化ストレスが $A\beta$ 40/42上昇のリスク要因となった。結論として、神経年齢、血管年齢、糖化ストレス、悪しき生活習慣が血漿 $A\beta$ 40/42 比に影響を及ぼし、認知症増悪の危険因子となっている可能性が示唆された。

KEY WORDS: 認知症、アミロイド β ($A\beta$)、動脈硬化、糖化ストレス、 $A\beta$ 40/42 比

はじめに

認知症とは、何らかの原因によって脳が障害を受けて認知機能が低下し、様々な症状を呈する疾患である。認知症の原因疾患にはいくつかあり、患者数の多い順にアルツハイマー型認知症 (AD) 67.6%、脳血管性認知症 19.5%、レビー小体型認知症 4.3%、その他 8.6% がある¹⁾。AD が最も患者数が多く、発症メカニズムの解明は急務である。

AD は、病態生理学的には、神経細胞外へのアミロイド β ($A\beta$) 凝集体の蓄積が引き金になって、神経細胞内にタウ凝集体が蓄積し、その結果シナプス障害や神経細胞死に至る疾患と考えられる。これらの脳内変化により、認知機能障害や精神症状・行動障害を引き起こす。つまり、AD では、認知機能障害が現れる前から脳中に $A\beta$ が凝集・蓄積することが知られており、 $A\beta$ を標的とする治療法では、早期診断、早期介入がより有効性を高めると考えられる^{2,3)}。しかし $A\beta$ の沈着レベルを高い信頼性で調べるために利用できる方法は、 $A\beta$ -PET (positron emission tomography) 画像化と、脳脊髄液中の $A\beta$ レベルの計測のみであり費用面・身体面で当事者への大きな負担となっている。

$A\beta$ はアミロイド前駆蛋白質 (APP) が切断されることにより生じ、脳内の沈着を特徴とする。近年、微量の血液検体から MALDI-TOF 質量分析法により $A\beta$ の検出が可能となった⁴⁾。血漿 $A\beta$ 40/42 比が高いと認知症の発症率が高いと言われている⁵⁾。当研究室では 2008 年より有隣研究 (Yurin Study) として京都市有隣地域において健康増進活動を行なっている⁶⁻⁹⁾。また 2006 年より大学教職員を対象にアンチエイジング健診を行っている¹⁰⁾。今回、これらの健診受診者を対象に血漿 $A\beta$ 40/42 比を測定し、背景因子との関連性の解析を行った。

方法

対象

研究の対象は、大学教職員 (faculty and staff: FS) 21 名 (男性 18 名, 女性 3 名, 49.3 ± 12.9 歳) および京都市下京区有隣地区在住の自立高齢者 (Yurin elderly: YE) 36 名 (男性 16 名, 女性 20 名, 79.3 ± 6.4 歳) とした。今回対象となった有隣高齢者については、2008 年 12 月より先行研究⁶⁾として歩数計と印刷物を用いた健康増進プログラム (健法塾) による介入研究を行っている。

アンチエイジング健診

動機づけ支援及び成果確認を目的にアンチエイジング健診を行った。アンチエイジング健診は身体計測、筋・骨・ホルモン・神経・血管の五つの機能年齢の評価と糖化ストレス検査を実施した。アンチエイジング健診における機能年齢の算出には Age Management Check[®] システム

(銀河工房) を元に改変した Life Style Compass (日本シューター、東京都千代田区) を使用し、これらのデータベースから相対的機能年齢を算出し、各被験者に提示した^{8,10)}。機能年齢は、身体機能を何歳相当かという形式で提示することにより、被験者にとって馴染みやすく行動変容に結びつきやすいというメリットがある。アンチエイジング健診の結果を各被験者に提示することで、自己の老化の弱点を理解し、衰えた機能年齢の若返りを目指そうという意識からの行動変容を期待した。現在、汎用版ソフトウェアを開発中である¹¹⁾。

自覚症状の評価

自覚症状の評価は、「身体の症状」と「心の症状」に分け、抗加齢 QOL 共通問診票 (Anti-Aging QOL Common Questionnaire: AAQoL)^{12,13)} を用いてポイント 1 ~ 5 の 5 段階に分けて評価した。

身体測定

身体測定については、身長、体重、体組成測定を行なった。対組成測定には生体インピーダンス筋肉量測定器 (PhysionMD; 日本シューター) を用いた¹⁴⁾。

血液生化学検査

血液生化学検査については、血漿 $A\beta$ 40 及び $A\beta$ 42、総コレステロール、低比重リポ蛋白コレステロール (low-density lipoprotein cholesterol: LDL-C)、高比重リポ蛋白コレステロール (high-density lipoprotein-cholesterol: HDL-C)、空腹時血糖、ヘモグロビン A1c (Hemoglobin A 1c: HbA 1c) [国際標準値 (National Glycohemoglobin Standardization program: NGSP)]、インスリン、インスリン様成長因子-I (insulin-like growth factor-I: IGF-I)、デヒドロエピアンドロステロンサルフェート (dehydroepiandrosterone-sulfate: DHEA-s)、コルチゾルの血中濃度を測定した。これらは LSI メディエンス (東京都千代田区) にて測定した。コロナ禍における健診であることを配慮し、血清 SARS-CoV2 IgG 抗体 (MBL、東京都港区) を測定した。尿中メラトニン代謝産物については夜間膀胱内蓄尿中 6-sulfatoxymelatonin (SaMT)¹⁵⁻¹⁷⁾ を測定した。

筋年齢測定

筋年齢算出に用いる筋量は先行研究の方法に則り、生体電気インピーダンス法 (Physion MD) を使用し、体重支持指数 (weight bearing index: WBI) と基礎代謝量 (kcal/day) を指標に筋年齢を評価した¹⁴⁾。

骨年齢測定

骨年齢算出に用いる骨密度は超音波法 (A-1000; GE 横河メディカルシステム、東京都日野市) を使用し、踝骨のスティフネス (stiffness) 値及び若年成人比較 (% young adult means: %YAM) を指標に骨年齢を算出した。

ホルモン年齢測定

ホルモン年齢算出に用いる加齢の血中マーカーである IGF-I、DHEA-s¹⁸⁾ は血液生化学検査により測定し、ホルモン年齢に換算した。

神経年齢測定

神経年齢算出に用いる高次脳機能は Wisconsin Card Sorting Test (WCST) を使用した¹⁹⁻²¹⁾。ソフトウェアにカテゴリー達成数 (categories achieved: CA)、第 1 カテゴリー達成までに使用された反応カード数 (numbers of response cards until the first category achieved: NUCA)、Nelson 型の保続性の誤り (perseverative errors of Nelson: PEN)、Milner 型の保続性の誤り (perseverative errors of Milner: PEM)、全誤反応数 (total errors: TE)、反応時間の指標データを入力することにより、神経年齢を評価できるようになった¹¹⁾。

血管年齢測定

血管年齢算出に用いる動脈硬化度は指尖加速度脈波計 (ダイナパルス SDP-100; フクダ電子、東京都文京区) を用いて測定した²²⁻²⁴⁾。

糖化ストレス

糖化ストレス指標は既報の如く、AGE Reader muTM (DiagnOptics, Groningen, Netherlands) を使用し、AGEs (advanced glycation end products) の自主蛍光値の積分データである SAF (skin autofluorescence) 値を測定した²⁵⁻²⁷⁾。

免疫ストレス

スコアの指標としてリンパ球数を用いた。リンパ球数 2,665~3,188 /mm³ をスコア 90 点以上とした。リンパ球数 706 /mm³ 未満、4,191 /mm³ 以上をスコア 50 点以下とした¹¹⁾。

心身ストレス

スコア指標として cortisol/DHEA-s 比 (C/D 比) を用いた。C/D 比 4.58~5.77 をスコア 90 点以上とした。C/D 比 11.07 以上、2.99 未満をスコア 50 点以下とした¹¹⁾。

生活習慣

運動習慣、飲酒、喫煙、睡眠時間をスコア算出指標とした¹¹⁾。

酸化ストレス

今回は酸化ストレス指標を測定しなかったため AAQoI を用いた推定評価値を使用した¹¹⁾。

統計解析

結果は平均値 ± 標準偏差として表した。統計解析は、性別・年齢・BMI とアンチエイジング健診項目 (筋年齢・

神経年齢・骨年齢・血管年齢・ホルモン年齢・糖化ストレス・酸化ストレス・免疫ストレス・心身ストレス・生活習慣) の計 13 項目を独立変数、Aβ40/42 を従属変数とし、Microsoft Excel を用いたステップワイズ法重回帰分析にて解析した。危険率 5% 未満を有意差ありとした。

倫理審査

本試験は、ヘルシンキ宣言 (2013 年 WMA フォルタレザ総会で修正) 及び人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (文部科学省、厚生労働省告示) を遵守した。本試験を開始する際は、対象者は本プログラムへの参加、不参加を自由に決定することができること、一度参加を決意したものの都合により途中で中止しても一切の不利益を被らないことを説明し承諾を得た。本研究は同志社大学「人を対象とする研究」に関する倫理審査委員会の承認を得た (申請番号: #14089、17093)。

結果

血漿 Aβ40/42 比の推移

Aβ40/42 の年齢推移は、加齢に伴って緩徐に上昇しているように見えるが (Fig. 1-a)、年齢との有意差な相関性は認められなかった ($y = 0.0109x + 7.5934$, $r = 0.15$, $n = 57$)。

今回の対象は教職員 (faculty and staff: FS) と有隣高齢者 (Yurin elderly: YE) から構成され、それぞれ生活習慣、環境、男女構成が異なる。そのため集団別の解析を行った (Table 1, 2)。SARS-CoV2 抗体は全例陰性であった。

有隣高齢者は教職員に比べ高齢であり、筋・骨・ホルモン・神経・血管の機能年齢の老化が顕著であったが、Δ機能年齢 (機能年齢 - 実年齢) を比較すると、筋・ホルモン・神経が実年齢より若く保たれていた。老化を促進する危険因子については有隣高齢者の方が心身ストレスと酸化ストレススコアが低く、これらのストレスが強かった。

有隣高齢者は教職員に比べ、IGF-I、DHEA-s、メラトニン分泌が低く、C/D 比が高かった。糖化ストレス指標の SAF、ペントシジン (pentosidine) も有意に高かった。しかし HDL-C は高く保たれ、Aβ40/42 には両群間に有意差がなかった。有隣高齢者は健康度が高い集団であることがわかる。

教職員の Aβ40/42 は 8.2 ± 0.8 (95% CI: 7.8~8.6) で、加齢に伴い増加傾向を示し、年齢 (年齢範囲 23~65 歳) との弱い相関性 ($r = 0.29$) を認めた (Fig. 1-a)。教職員うち女性の割合が少なく、Aβ40/42 の推移は主に男性の値を反映している (Fig. 1-b, c)。

男性では、有隣高齢者の回帰直線は、教職員の回帰直線に比べ傾きが急峻であったが、下方シフトがみられた (Fig. 1-b)。有隣高齢者の女性は男性に比べて回帰直線の傾きが緩やかであった (Fig. 1-c)。

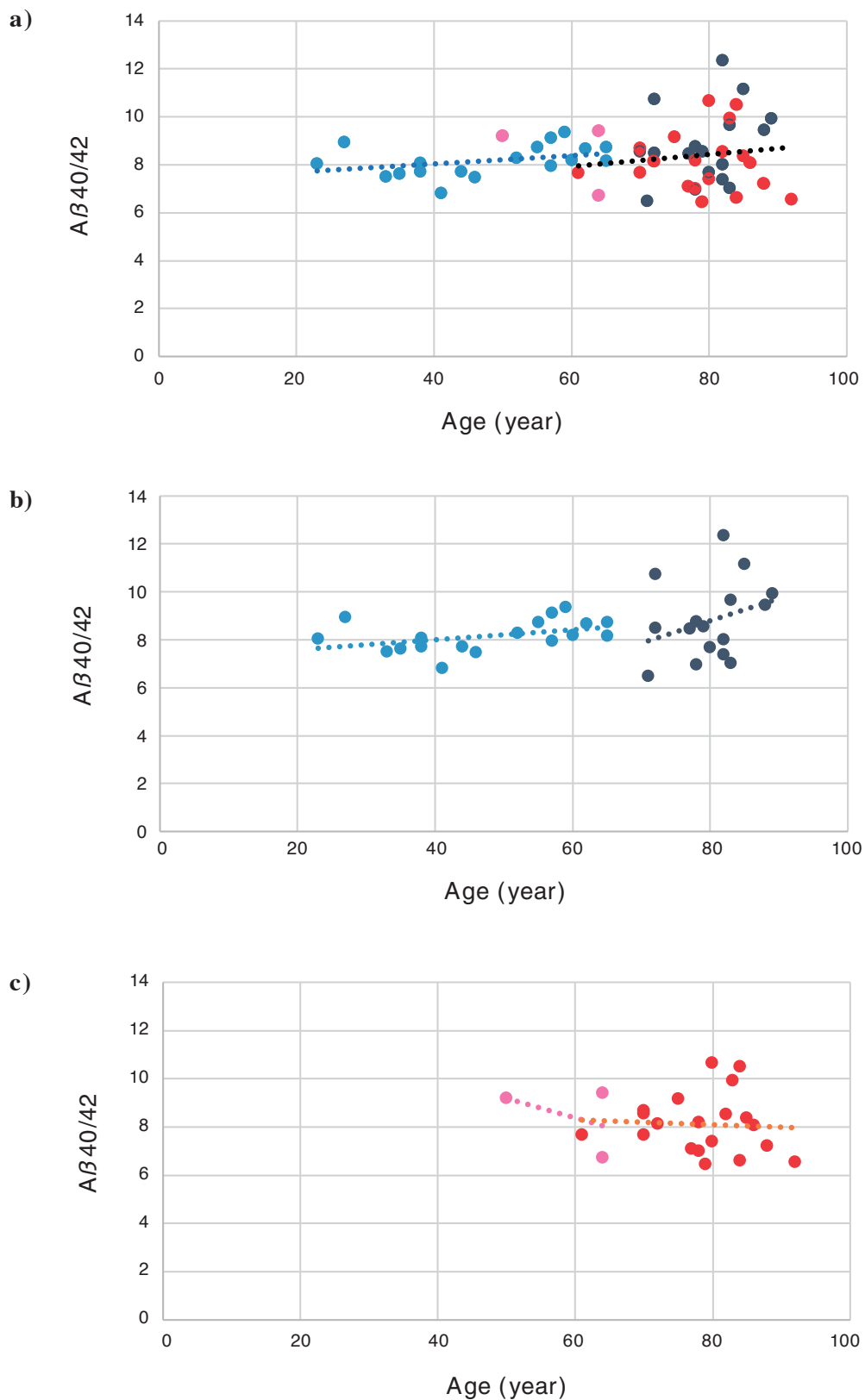


Fig.1. Age-related changes in the Aβ40/42 ratio

Faculty and staff (FS) ● Male (n = 18), ● Female (n = 3). Yurin elderly (YE) ● Male (n = 16), ● Female (n = 20).
a) Male and female total. FS: $y = 0.0172x + 7.3509$, $r = 0.29$. YE: $y = 0.0251x + 6.426$, $r = 0.11$. **b)** Male. FS: $y = 0.0208x + 7.1698$, $r = 0.42$, $p < 0.05$. YE: $y = 0.0931x + 1.3503$, $r = 0.30$. **c)** Female. FS: $y = -0.0811x + 13.244$, $r = -0.44$. YE: $y = -0.0102x + 8.911$, $r = 0.06$.

Table 1. Functional age and risk factors for aging.

	Faculty & staff (FS), n = 21				Yurin elderly (YE), n = 36				p value
	Mean	±	SD	95% CI Lower Upper	Mean	±	SD	95% CI Lower Upper	
Age	49.3	±	12.9	43.3 55.3	79.3	±	11.6	77.1 81.5	<0.001
BMI	23.5	±	1.6	22.7 24.2	22.6	±	3.1	21.6 23.7	0.27
【Functional age】									
Muscle age	60.7	±	13.6	54.4 67.1	79.3	±	11.6	75.3 83.3	<0.001
Bone age	49.2	±	16.27	41.6 56.8	72.4	±	19.7	65.7 79.2	<0.001
Hormone age	49.6	±	15.6	42.4 56.9	71.3	±	8.8	60.5 82.2	<0.001
Neural age	43.2	±	4.3	41.2 45.3	47.3	±	4.5	45.7 48.8	<0.001
Blood vessel age	41.9	±	11.2	36.7 47.1	67.6	±	12.0	63.5 71.7	<0.001
Δ Muscle age	11.4	±	9.3	7.1 15.8	0.0	±	12.0	-4.1 -13.4	<0.001
Δ Bone age	-0.1	±	17.0	-8.0 7.8	-6.9	±	19.2	-13.4 -0.3	0.19
Δ Hormone age	0.3	±	11.8	-5.2 5.9	-7.8	±	11.0	-11.6 -4.0	0.01
Δ Neural age	-6.0	±	14.6	0.8 -12.9	-32.1	±	5.9	-34.1 -30.0	<0.001
Δ Blood vessel age	-7.4	±	10.9	-12.5 -2.3	-11.7	±	11.2	-15.5 -7.8	0.17
【Risk factors】									
Glycative stress	63.3	±	10.2	58.5 68.0	62.3	±	13.3	57.7 66.8	0.77
Oxidative stress	80.4	±	7.1	77.0 83.7	70.6	±	12.5	66.3 74.8	<0.001
Physical & mental stress	57.5	±	16.5	49.8 65.2	48.4	±	12.5	44.1 52.7	0.02
Immune stress	67.8	±	6.8	64.6 70.9	73.0	±	14.0	68.2 77.8	0.12
Life styles	87.8	±	2.9	86.4 89.2	88.8	±	4.4	87.3 90.3	0.35

Statistical analysis by Student's t test. Δ Functional age defined as "Functional age – Age". BMI, body mass index; 95 % CI, 95 % confidence interval; SD, standard deviation.

Table 2. Blood and urine chemistry profile.

	Faculty & staff (FS), n = 21				Yurin elderly (YE), n = 36				p value
	Mean	±	SD	95% CI Lower Upper	Mean	±	SD	95% CI Lower Upper	
Aβ40/42	8.2	±	0.8	7.8 8.6	8.4	±	1.4	7.9 8.9	0.53
IGF-I (ng/mL)	152.7	±	49.4	129.6 175.7	82.2	±	24.8	73.7 90.7	<0.001
DHEA-s (μg/mL)	195.0	±	123.0	137.7 252.4	77.9	±	50.0	60.7 95.0	<0.001
Cortisol (μg/mL)	9.9	±	2.5	8.7 11.0	9.9	±	2.9	8.9 10.9	0.93
C/D ratio	8.3	±	7.2	4.9 11.6	18.3	±	10.9	14.6 22.0	<0.001
Urine SaMT (ng/mL)	62.3	±	35.6	45.7 79.0	22.6	±	21.7	15.1 30.0	<0.001
FPG (mg/dL)	88.6	±	5.9	85.9 91.4	91.0	±	16.3	85.4 96.6	0.53
HbA1c (%)	5.5	±	0.3	5.4 5.6	5.8	±	0.9	5.5 6.1	0.09
Insulin (μU/mL)	5.3	±	1.8	4.5 6.1	6.0	±	5.3	4.2 7.9	0.55
Pentosidine (pmol/mL)	23.5	±	6.3	20.6 26.4	35.0	±	10.0	31.6 38.5	<0.001
SAF	2.1	±	0.5	1.9 2.3	2.6	±	0.4	2.4 2.7	<0.001
TC (mg/dL)	215.4	±	35.4	198.9 231.9	212.6	±	31.7	201.7 223.4	0.76
LDL-C (mg/dL)	122.5	±	29.4	108.8 136.2	119.6	±	23.5	111.6 127.7	0.69
HDL-C (mg/dL)	57.4	±	12.7	51.5 8.6	72.3	±	19.6	65.6 79.0	<0.001
TG (mg/dL)	97.4	±	45.0	76.4 118.4	97.5	±	52.1	79.6 115.4	1.00
Lymphocyte count (/μL)	1624.0	±	367.6	1452.5 1795.5	1881.0	±	702.4	1639.9 2122.0	0.13

Statistical analysis by Student's t test. Aβ40/42, amyloid β40/42 ratio; IGF-I, insulin-like growth factor-I; DHEA-s, dehydroepiandrosterone-sulfate; C/D, cortisol/DHEA-s ratio; SaMT, 6-sulfatoxymelatonin; FPG, fasting plasma glucose; HbA1c, hemoglobin A1c [NGSP]; NGSP, National Glycohemoglobin Standardization program; SAF, skin AGE fluorescence measure by AGE Reader mu; AGE, advanced glycation endproduct; TC, total cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein-cholesterol; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; TG, triglyceride; 95 % CI, 95 % confidence interval; SD, standard deviation.

単相関解析

アンチエイジング健診項目とA β 40/42との単相関解析の結果は次の通りであった。

教職員では、弱い相関性を認めたのはホルモン年齢 ($r = 0.34$) と血管年齢 ($r = 0.30$) であった (Table 3)。一方、神経年齢 ($r = -0.36$)、 Δ 神経年齢 ($r = -0.36$)、 Δ 筋年齢 ($r = -0.39$) に逆相関がみられたが、A β 40/42の高い年配者にWCST熟練者が多く、筋肉低下者が多い傾

向が影響した。老化危険因子については、生活習慣 ($r = -0.51$)、心身ストレス ($r = -0.40$) のスコアが低くストレスが強い者にA β 40/42が高い傾向がみられた。

有隣高齢者ではA β 40/42との間に大変弱い相関性が神経年齢 ($r = 0.29$) と血管年齢 ($r = 0.25$) にみられた。ホルモン分泌が少なく、骨密度の低い女性にA β 40/42低い傾向があった影響で、骨年齢とホルモン年齢に逆相関が生じた。老化危険因子については、糖化ストレス

Table 3. Simple correlation analysis.

	Faculty & staff (FS) (n = 21)	Yurin elderly (YE) (n = 36)	Total (n = 57)
A β 40/42	1.00	1.00	1.00
Age	0.29	0.11	0.15
Sex (Male 0, Female 1)	0.13	-0.24	-0.12
BMI	-0.18	0.23	0.15
Muscle age	0.01	0.04	0.07
Bone age	0.08	-0.35	-0.18
Hormone age	0.34	-0.30	0.00
Neural age	-0.36	0.29	0.15
Blood vessel age	0.30	0.25	0.24
Δ Muscle age	-0.39	-0.02	-0.12
Δ Bone age	-0.15	-0.40	-0.35
Δ Hormone age	0.13	-0.33	-0.22
Δ Neural age	-0.36	0.09	-0.12
Δ Blood vessel age	-0.04	0.21	0.13
Glycative stress	-0.21	-0.30	-0.28
Oxidative stress	0.04	0.32	0.22
Physical & mental stress	-0.14	0.17	0.05
Immune stress	-0.01	-0.19	-0.15
Life styles	-0.51	0.32	0.19
IGF-I	-0.27	0.19	-0.05
DHEA-s	-0.25	0.29	-0.01
Cortisol	0.12	-0.19	-0.12
C/D ratio	0.36	-0.17	-0.03
Urine SaMT	-0.32	-0.08	-0.16
FPG	0.14	0.17	0.17
HbA1c	0.24	0.22	0.24
Insulin	-0.01	0.20	0.19
Pentosidine	-0.03	0.20	0.18
SAF	0.14	0.43	0.33
TC	-0.16	-0.16	-0.16
LDL-C	-0.10	-0.03	-0.05
HDL-C	-0.20	-0.18	-0.14
TG	0.03	-0.16	-0.12
Lymphocyte count	-0.01	-0.16	-0.12

Statistical analysis by Pearson's correlation analysis. Δ Functional age defined as "Functional age - Age". A β 40/42, amyloid β 40/42 ratio; BMI, body mass index; IGF-I, insulin-like growth factor-I; DHEA-s, dehydroepiandrosterone-sulfate; C/D, cortisol/DHEA-s ratio; SaMT, 6-sulfatoxymelatonin; FPG, fasting plasma glucose; HbA1c, hemoglobin A1c; SAF, skin AGE fluorescence measure by AGE Reader mu; AGE, advanced glycation endproduct; TC, total cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein-cholesterol; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; TG, triglyceride.

($r = -0.30$) のスコアが低く糖化ストレスが強い者にAβ40/42が高い傾向がみられた。高齢者では心身ストレス、生活習慣、酸化ストレスのスコアが低い者の方がAβ40/42が低く保たれる傾向が認められた。心身ストレスを伴う社会活動への積極的参加などの行動が有益に働く可能性がある。Aβ40/42が高く認知症傾向がある者では、生活習慣スコアに関わる指標（睡眠時間、喫煙、飲酒）がみかけ上良くなっていると考えられる。

全例を対象とした解析では、血管年齢が高い者にAβ40/42が高い傾向がみられた ($r = 0.24$)。また糖化ストレススコアが低くストレスが強い者にAβ40/42が高い傾向がみられた ($r = -0.28$)

測定項目とAβ40/42との単相関解析の結果は次の通りであった。

教職員では、IGF-I、DHEA-s、メラトニン分泌が低く、C/D比が高い者がAβ40/42が高い傾向を認めた。糖脂質代謝指標では、HbA1cが高い方がAβ40/42が高い傾向を認めた。

有隣高齢者で最も相関性が高かったのは皮膚AF値 ($r = 0.43$) で、糖化ストレスが高いほどAβ40/42が高かった。

全例解析では、皮膚AF値 ($r = 0.33$)、HbA1c ($r = 0.24$) が高い者にAβ40/42が高い傾向がみられた。

ステップワイズ法重回帰分析

教職員の重回帰分析の結果、補正 R^2 は0.216で、Aβ40/42の22%が説明できる回帰式が得られた。

従属変数 Y (Aβ40/42) は下記の式で示された。

$$Y = -0.131 X1 (\text{生活習慣スコア}) + 19.7$$

有意 F は5%未満の有意水準であった。生活習慣の係数が0となることを示す検定では $p = 0.0194$ であった。t 値も絶対値2より大きく、生活習慣が血漿Aβに影響することが示された。標準偏回帰係数は、X1において有意で、残差（未知要因）の寄与率 (e) は0.744であった。回帰式より、良好な生活習慣を送り生活習慣スコアが高いほどAβ40/42が低下することが示された。

有隣高齢者の重回帰分析の結果、補正 R^2 は0.354であり、Aβ40/42の35%を説明できる回帰式が得られた。

$$Y = 0.115 X1 (\text{生活習慣スコア}) + 0.0372 X2 (\text{心身ストレススコア}) - 0.0221 X3 (\text{骨年齢}) + 0.106 X4 (\text{神経年齢}) - 6.68$$

有意 F より1%未満の有意水準であった。

生活習慣、心身ストレス、骨年齢、神経年齢のそれぞれのp値は0.0154, 0.0333, 0.0338, 0.0216であり、係数は有意に0と異なっていた。t値も絶対値2より大きく、それぞれの因子がある程度血漿Aβに影響があることを示

した。標準偏回帰係数は、X1, X2, X3, X4共に有意で、残差（未知要因）の寄与率 (e) は0.579であった。回帰式より、神経年齢が老化しているほどAβ40/42が高まることが示された。一方、生活習慣指標が良好で心身ストレスが少ない者の方がAβ40/42が高い傾向がみられた。骨密度の低い高齢女性にAβ40/42低値例が多かったことに影響を受けた。

全例を対象とした重回帰分析の結果、補正 R^2 は0.270であり、Aβ40/42の27%を説明できる回帰式が得られた

$$Y = -0.0218 X1 (\text{骨年齢}) + 0.0346 X2 (\text{血管年齢}) + 0.0340 X3 (\text{酸化ストレススコア}) - 0.0246 X4 (\text{糖化ストレススコア}) + 6.74$$

有意 F より1%未満の有意水準であった。骨年齢、血管年齢、酸化ストレス、糖化ストレスにおいてp値がそれぞれ0.00498, 0.000980, 0.00882, 0.0390となり有意に0と異っていた。t値は絶対値2より大きく、それぞれの因子が血漿Aβに影響があることを示した。標準偏回帰係数は、X1, X2, X3, X4共に有意で、残差（未知要因）の寄与率 (e) は0.675であった。回帰式より、血管年齢が老化しているほど、糖化ストレススコアが低くストレスが強いほどAβ40/42が高まることが示された。骨密度の低い高齢女性にAβ40/42低値例が多かったことによる影響を受けた。

考察

MALDI-TOF質量分析法によるAβ40/42測定

Aβはアミロイド前駆蛋白質 (APP) が切断されることにより生じ、脳内の沈着を特徴とする。Aβの沈着レベルを高い信頼性で調べるために利用できる方法は、Aβ-PET画像化と、脳脊髄液中のAβ濃度の計測がある^{28, 29)}。本研究でMALDI-TOF質量分析法⁴⁾により血漿Aβ40/42比を測定した。教職員と有隣高齢者を対象に、老化関連指標がAβ40/42との関連について解析を行なった。

教職員の老化指標の特徴を示す (Fig.2)¹⁰⁾。教職員の特徴として骨年齢、筋年齢に弱点を有する者が多い。神経年齢に弱点を有する者が5%と極めて少ない。日常業務の中で知的作業が多いこと、また学生や大学院生など若者と接する機会多いことが要因とされる。今回の結果からは老化危険因子のうち心身ストレスが最も大きかった。生活習慣スコアが高く、喫煙、飲酒、運動、睡眠の質に関しては問題が少ない。

有隣高齢者の特徴を述べる。我々の研究室では自立高齢者にウォーキングを奨励し貸与した加速度センサーのデータを毎月確認している。平均1日歩数は男性10,648歩、女性7,272歩で、70歳代の平均値 (男性4,800歩、女性3,800歩) より高く保たれており¹⁷⁾、月間平均活動量

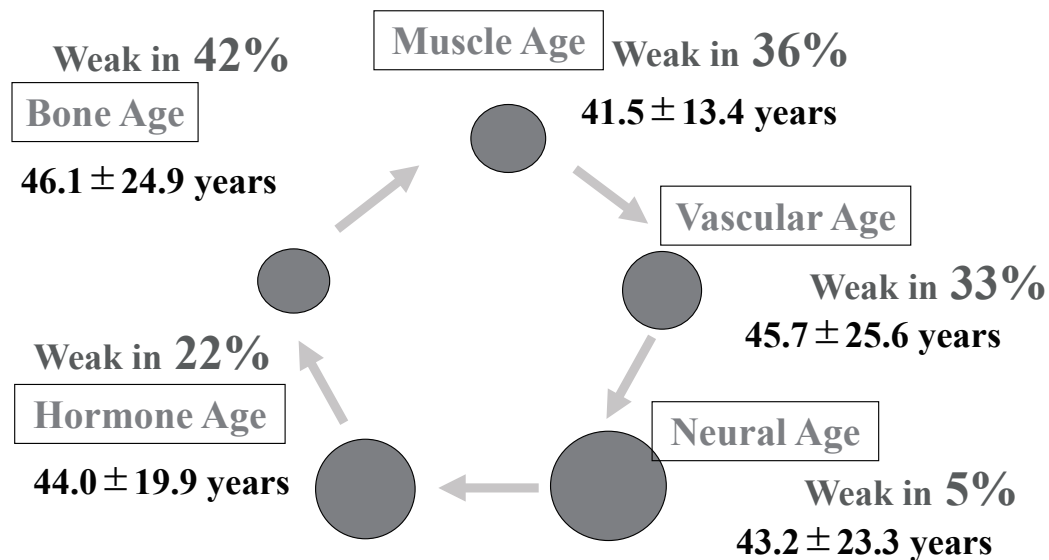


Fig.2. Anti-aging medical check-ups in enterprises: university staff and faculty (October, 2006).

Regarding university staff and faculty (FS, n = 714; male, n = 445; female, n = 269; age, 44.4 ± 26.9 years), weakness due to aging is most seriously observed in bone age, followed by muscle function age. There were few who have weakness due to aging in neural age. The results were expressed as average value ± standard deviation. This figure was cited and modified from Reference 10).

は 59.1 ± 53.5 Ex⁹⁾であった。2012年から2014年の間にAF値は低下傾向を示した¹⁷⁾。有隣高齢者は同年代男女に比べて運動量が多く、糖化ストレスが少ない集団である。教職員と同様に、生活習慣スコアが高く、喫煙、飲酒、運動、睡眠の質に関しては問題が少ない。

糖化ストレス

糖化ストレスとは還元糖や脂質由来のアルデヒドが過剰になり蛋白のカルボニル化やAGEsを生成する一連の反応である。アルデヒドは糖化反応中間体として作用する。糖化ストレスに強い糖尿病患者ではADの発症リスクが大きい³⁰⁻³³⁾。ADの発症・進展には、アクロレイン^{34, 35)}やMGO³⁶⁾が中間体アルデヒドとして、Aβやタウ蛋白の糖化の関与する可能性がある。

全例年齢解析結果では、糖化ストレスがむしろ負の相関性を認めた。その理由を次に考える。有隣高齢者は健法塾に所属し、1日歩行数が同年代平均よりも多い集団である。川本ら¹⁷⁾によれば、2年間の観察期間において糖化ストレス指標SAFの低下を認めており、糖化ストレスの小さい集団と推測される。中高年者の多い教職員では糖化ストレス対策指導をしておらず、有隣高齢者では指導により糖化ストレスが軽減していたことが、多変量回解析で糖化ストレス指標が負の相関に至った原因と考えられる。

糖化ストレス指標に関連した項目の単相関解析結果を見ると、有隣高齢者においてもHbA1C、インスリン、ペントシジン、SAFにAβ40/42との正相関が認められ、妥当な結果となっている。

神経年齢

WCSTではCA、NUCA、PEN、PEM、TE、反応時間の6指標を用いた。これらの項目がAβ40/42にどう影響を与えるのかを高検証した結果、CA以外が増加するほどAβ40/42が高くなることがわかった。このことより、多くのカテゴリー課題を正答し、なるべく少ないミスで早く回答した人、言い換えれば認知機能が優れている人ほどAβ40/42が小さい、すなわち脳内Aβ蓄積が少ないと考えられる。またAβ40/42の上昇は前頭葉の機能である行動を計画、立案、実行するといった遂行機能に影響を与えると予想される。

有隣高齢者について、WCSTにて評価した神経年齢、及びΔ神経年齢(Δ神経年齢 = 神経年齢 - 実年齢)を、要支援者、要介護者と比較した先行研究では、神経年齢は有隣高齢者 71.1 ± 16.7 歳、要支援者 81.2 ± 9.1 歳、要介護者 88.5 ± 5.8 歳、Δ神経年齢は有隣高齢者 0.3 ± 11.8 歳、要支援者 3.2 ± 13.4 歳、要介護者 4.8 ± 6.8 歳であった³¹⁾。彼らは同年代の方と比べ多くの運動をされており、要支援者、要介護者に比べて神経年齢が若い状態にあることが示されている。WCSTを約10年にわたり繰り返し施行し、慣れや熟練の影響もある。これらの要因が重なった結果、彼らが他の集団に比べてAβ40/42が小さい値をとったものと考えられる。

血管年齢

全例を対象とした多変量解析では血管年齢がAβ40/42増加リスクになっていた。動脈は脳に酸素と栄養を供給する大切な役割を果たすことから脳血管性認

知症の要因となる。ADにおいても動脈硬化が混在する場合が多い。動脈硬化のリスク因子についてA β 40/42との単相関解析結果をみると、教職員・有隣高齢者ともにHbA1cに弱い正相関、HDL-Cに弱い負相関を認め、妥当な結果といえる。高齢者ではTG、LDL-Cは栄養指標としての比重が高いことから、これらが負相関を示したことは栄養不良がA β 40/42増加リスクとなる可能性を示唆している。

生活習慣

両集団共に生活習慣の点数は極めて高い水準（82～99, 88.5 ± 3.9）であった。生活習慣スコアはタバコ、酒、運動、睡眠時間、水分摂取の問診票結果から総合的に評価されている。教職員では生活習慣スコアが低くなるほどA β 40/42が高まり妥当な結果であったが、有隣高齢者においては生活習慣の点が高くなるほどA β 40/42が高くなるという逆の結果が得られた。一般的に高齢者では認知機能の低下に伴い、社交性が低下、社会活動への参加機会が減り、夜の会合への参加機会の減少、飲酒機会の減少が生じる。その影響で生活習慣スコアは低下に転じる。高齢者における認知機能の維持・低下予防の観点から、社会活動へ積極的に参加した方がA β 40/42増加リスクが低下する可能性を示唆している。

A β 42/40に関する文献的考察

論文の中にはA β 40/42表記のものがあるが、本論文ではすべてA β 40/42に統一して表した。

認知症の生化学的指標については、血漿中の蛋白結合アクロレイン（PC-Acro）およびA β 40/42が軽度認知障害（MCI）およびADの検出に使用できることが報告されている³⁷⁾。アクロレインはアルデヒド基を有する糖化ストレス中間体の一つである。血漿PC-AcroおよびMCIとADのA β 40/42は、AD患者では健常者と比較して有意に高かった³⁸⁾。

A β -PETは脳内のA β の病理学的蓄積の存在を検知する方法であるが、手技の煩雑さ、費用面の問題が残っている。A β -PET陽性者を検出するためのA β 40/42の識別性能は、Youdenのカットオフでそれぞれ感度77.8%と特異度87.5%であり、ADの前臨床および前駆段階における脳のA β 陽性を特定するためのスクリーニング法として有用であることが示されている³⁹⁾。皮質A β 負荷を陽電子放出断層撮影に評価しA β 40/42との関連を解析した報告では、A β 40/42と皮質A β 負荷の正相関を示した³⁷⁾。

血漿A β 40、A β 42、A β 40/42は加齢とともに増加する。A β 42値の年齢依存性の増加はAPOE- ϵ 4による調整に緩和される⁴⁰⁾。APOE- ϵ 4はアポリポ蛋白E（ApoE）の対立遺伝子で晩発性家族性AD、孤発性ADで高く、脳内A β 沈着量と正の相関がある。

フレイルとの関連をみると、フレイルの表現型（健常、プレフレイル、フレイル）とA β 40/42の相関性は認められなかった⁴¹⁾。APOE- ϵ 4遺伝子型の調整後のサブクラ

ス解析で、フレイル患者でA β 40/42の上昇傾向がみられた⁴¹⁾。

A β 40/42は、PC-Acroと同様に、AD患者では健常者と比較して有意に高く³⁸⁾、認知機能の低下とともに上昇する⁴²⁾。A β 40/42は健忘性軽度認知障害（a-MCI）においても高まる⁴³⁾。

血漿A β 40/42は脳脊髄液中A β 40/42と弱い正の相関（ $r = 0.22$ ）があったが、血漿A β 40/42単独では、AD患者と対照を統計的に区別することができなかったとの報告もある⁴⁴⁾。しかし、AD及びMCIのCSFのA β 42減少とA β 40/42の増加は、ADにおける特異的に変化と一般的に考えられている⁴⁵⁾。

A β 42/40が老人性うつ病⁴⁶⁾、自閉症小児⁴⁷⁾で低い可能性も示唆されている。

我々の研究室では、寝具が合わず睡眠の質が低下した対象についてA β 40/42を測定した結果、睡眠の質の改善1か月後の変化は観察されなかった⁴⁸⁾。今回のデータと比較すると、睡眠の質低下者ではA β 40/42が高い傾向にある。年齢補正後の比較では、睡眠の質低下者ではA β 40/42が有意に高かった。「睡眠の質」低下がA β 40/42上昇のリスク因子である可能性を示唆する所見である。

結論

神経年齢、血管年齢、糖化ストレスが血漿A β 40/42比の増加に影響を及ぼし、認知症増悪の危険因子となっている可能性が示唆された。

利益相反申告

本研究を遂行するにあたり利益相反に該当する事項はない。

謝辞

本研究は文部科学省研究助成（20K11593）によって実施された。

参考文献

- 1) 朝田 隆. 都市部における認知症有病率と認知症の生活機能障害への対応. 厚生労働科学研究費補助金 認知症対策総合研究事業 平成23年度～平成24年度総合研究報告書. http://www.tsukuba-psychiatry.com/wp-content/uploads/2013/06/H24Report_Part1.pdf
- 2) Takahashi RH, Nagao T, Gouras GK. Plaque formation and the intraneuronal accumulation of beta-amyloid in Alzheimer's disease. *Pathol Int.* 2017; 67: 185-193.
- 3) Gallardo G, Holtzman DM. Amyloid-beta and Tau at the crossroads of Alzheimer's disease. *Adv Exp Med Biol.* 2019; 1184: 187-203.
- 4) Kitamura Y, Usami R, Ichihara S, et al. Plasma protein profiling for potential biomarkers in the early diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurol Res.* 2017; 39: 231-238.
- 5) Igarashi K, Yoshida M, Waragai M, et al. Evaluation of dementia by acrolein, amyloid- β and creatinine. *Clin Chim Acta.* 2015; 450: 56-63.
- 6) Miyazaki R, Hasegawa T, Fujioka N, et al. Effects on anti-aging indicators in middle-aged men of an intervention to prevent lifestyle-related diseases: Pilot study utilizing a company-wide anti-aging medical check-up and pedometers. *Anti-Aging Med.* 2009; 6: 83-94.
- 7) Miyazaki R, Kotani K, Tsuzaki K, et al. Effects of a year-long pedometer-based walking program on cardiovascular disease risk factors in active older people. *Asia Pac J Public Health.* 2015; 27: 155-163.
- 8) Yonei Y, Takabe W. Aging assessment by Anti-Aging Medical Checkup. *Health Evaluation and Promotion.* 2015; 42: 459-464.
- 9) Tsuruta A, Zheng T, Ogura M, et al. Sleep quality, physical activity, and glycative stress in the elderly: The Yurin Study. *Glycative Stress Res.* 6: 39-48, 2019.
- 10) Yonei Y, Takabe W, Yagi M. What does the Anti-Aging Medical Checkup show?: Data presentation. *Health Evaluation and Promotion.* 2017; 44: 600-605.
- 11) 林あやね. アンチエイジングドックにおけるデータの活用環境構築. 同志社大学卒業論文. 2021.
- 12) Yonei Y, Takahashi Y, Hibino S, et al. Effects on the human body of a dietary supplement containing L-carnitine and *Garcinia cambogia* extract: A Study using double-blind tests. *J Clin Biochem Nutr.* 2008; 42: 89-103.
- 13) Oguma Y, Iida K, Yonei Y, et al. Significance evaluation of Anti-Aging QOL Common Questionnaire. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 177-185.
- 14) Yonei Y, Miwa Y, Hibino S, et al. Japanese anthropometric reference data: Special emphasis on bioelectrical impedance analysis of muscle mass. *Anti-Aging Med.* 2008; 5: 63-72.
- 15) Yamauchi H, Iwamoto M, Harada N. Effects of night work on urinary excretion rates of 6-sulfatoxymelatonin and norepinephrine in hospital nurses. *International Medical Journal.* 2003; 10: 185-190.
- 16) Kondo M, Tokura H, Wakamura T, et al. Physiological significance of cyclic changes in room temperature around dusk and dawn for circadian rhythms of core and skin temperature, urinary 6-hydroxymelatonin sulfate, and waking sensation just after rising. *J Physiol Anthropol.* 2007; 26: 429-436.
- 17) Kawamoto T, Takabe W, Maruyama Y, et al. Relationships between urinary melatonin metabolites and glycative stress and body functional age. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 15-22.
- 18) Nomoto K, Arita S, Yonei Y. Development of a model of functional endocrine age in Japanese people: Serum dehydroepiandrosterone-sulfate (DHEA-s) concentration as an index of aging. *Anti-Aging Med.* 2011; 8: 69-74.
- 19) Igarashi K, Oguni H, Osawa M, et al. Wisconsin card sorting test in children with temporal lobe epilepsy. *Brain Dev.* 2002; 24: 174-178.
- 20) Tsuchiya E, Oki J, Yahara N, et al. Computerized version of the Wisconsin card sorting test in children with high-functioning autistic disorder or attention-deficit/hyperactivity disorder. *Brain Dev.* 2005; 27: 233-236.
- 21) Nakaaki S, Murata Y, Sato J, et al. Reliability and validity of the Japanese version of the Frontal Assessment Battery in patients with the frontal variant of frontotemporal dementia. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2007; 61: 78-83.
- 22) Takada H, Okino K, Niwa Y. An evaluation method for heart rate variability by using acceleration plethysmography. *Health Evaluation & Promotion (Sogokenshin).* 2004; 31: 547-551.
- 23) Ushiroyama T, Kajimoto Y, Sakuma K, et al. Assessment of chilly sensation in Japanese women with laser dopplerfluxmetry and acceleration plethysmogram with respect to peripheral circulation. *Bulletin of the Osaka Medical College.* 2005; 51: 76-84.
- 24) Takazawa K, Kobayashi H, Shindo N, et al. Relationship between radial and central arterial pulse wave. *Hypertens Res.* 2007; 30: 219-228.
- 25) Nomoto K, Yagi, Arita S, et al. Survey of fluorescence derived from advanced glycation end products in the skin of Japanese: Differences with age and measurement location. *Anti-Aging Med.* 2012; 9: 119-124.
- 26) Roorda MM. Therapeutic interventions against accumulation of advanced glycation end products (AGEs). *Glycative Stress Res.* 2017; 4: 132-143.
- 27) Morita Y, Yagi M, Ishizaki K, et al. Evaluation of the glycative stress by non-invasive skin AGEs measurement devices. *Glycative Stress Res.* 2019; 6: 92-102.
- 28) Whitwell JL. Alzheimer's disease neuroimaging. *Curr Opin Neurol.* 2018; 31: 396-404.
- 29) Bunai T, Kakimoto A, Yoshikawa E, et al. Biopathological significance of early-phase amyloid imaging in the spectrum of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2019; 69: 529-538.
- 30) Hanyu H. Diabetes-related dementia. *Adv Exp Med Biol.* 2019; 1128: 147-160.
- 31) Shinohara M, Sato N. Bidirectional interactions between diabetes and Alzheimer's disease. *Neurochem Int.* 2017; 108: 296-302.
- 32) Sasaki N, Fukatsu R, Tsuzuki K, et al. Advanced glycation end products in Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. *Am J Pathol.* 1998; 153: 1149-1155.
- 33) Abate G, Marziano M, Rungratanawanich W, et al. Nutrition and AGE-ing: Focusing on Alzheimer's disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017: 7039816.
- 34) Waragai M, Yoshida M, Mizoi M, et al. Increased protein-conjugated acrolein and amyloid-beta40/42 ratio in plasma of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2012; 32: 33-41.

- 35) Yoshida M, Higashi K, Kuni K, et al. Distinguishing mild cognitive impairment from Alzheimer's disease with acrolein metabolites and creatinine in urine. *Clin Chim Acta*. 2015; 441: 115-121.
- 36) Angeloni C, Zamboni L, Hrelia S. Role of methylglyoxal in Alzheimer's disease. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 238485.
- 37) Waragai M, Yoshida M, Mizoi M, et al. Increased protein-conjugated acrolein and amyloid-β40/42 ratio in plasma of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2012; 32: 33-41.
- 38) Igarashi K, Yoshida M, Waragai M, et al. Evaluation of dementia by acrolein, amyloid-β and creatinine. *Clin Chim Acta*. 2015; 450: 56-63.
- 39) Pérez-Grijalva V, Arbizu J, Romero J, et al. Plasma Aβ42/40 ratio alone or combined with FDG-PET can accurately predict amyloid-PET positivity: A cross-sectional analysis from the AB255 Study. *Alzheimers Res Ther*. 2019; 11: 96.
- 40) Nakamura T, Kawarabayashi T, Seino Y, et al. Aging and APOE-ε4 are determinative factors of plasma Aβ42 levels. *Ann Clin Transl Neurol*. 2018; 5: 1184-1191.
- 41) Lu WH, Giudici KV, Rolland Y, et al. Prospective associations between plasma amyloid-beta 42/40 and frailty in community-dwelling older adults. *J Prev Alzheimers Dis*. 2021; 8: 41-47.
- 42) Giudici KV, de Souto Barreto P, Guyonnet S, et al. Assessment of plasma amyloid-β42/40 and cognitive decline among community-dwelling older adults. *JAMA Netw Open*. 2020; 3: e2028634.
- 43) Pérez-Grijalva V, Romero J, Pesini P, et al. Plasma Aβ42/40 ratio detects early stages of Alzheimer's disease and correlates with CSF and neuroimaging biomarkers in the AB255 Study. *J Prev Alzheimers Dis*. 2019; 6: 34-41.
- 44) Feinkohl I, Schipke CG, Kruppa J, et al. Plasma amyloid concentration in Alzheimer's disease: Performance of a high-throughput amyloid assay in distinguishing Alzheimer's disease cases from controls. *J Alzheimers Dis*. 2020; 74: 1285-1294.
- 45) Seino Y, Nakamura T, Kawarabayashi T, et al. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in neurodegenerative diseases. *J Alzheimers Dis*. 2019; 68: 395-404.
- 46) Pomara N, Doraiswamy PM, Willoughby LM, et al. Elevation in plasma Aβ42 in geriatric depression: A pilot study. *Neurochem Res*. 2006; 31: 341-349.
- 47) Al-Ayadhi LY, Ben Bacha AG, Kotb M, et al. A novel study on amyloid β peptide 40, 42 and 40/42 ratio in Saudi autistics. *Behav Brain Funct*. 2012; 8: 4.
- 48) Haasbroek K, Yagi M, Ando M, et al. Effects of mats with "A Distinctive 4-Layer 3-Dimensional Structure" on sleep quality and gut microbiota: A non-controlled open-label study. *Glycative Stress Res*. 2021; 8: 73-86.