

「高齢期脳内βアミロイド蓄積に関する国際比較とアミロイド蓄積に関与する食事因子の解明」

## 1 遺伝子解析をする必要性

アポリポ蛋白Eの型（E2, E3, E4）を調べるには、遺伝子解析をしてアポリポ蛋白Eの遺伝子型を特定する方法と、血中のアポリポ蛋白質（表現型）から調べる方法がある。アポリポ蛋白Eの遺伝子型の解析には、一般にRFLP（restriction fragment length polymorphism、制限酵素断片長多型）法を用いる。RFLP法では血液から抽出したDNAから対象の遺伝子をPCR（polymerase chain reaction、ポリメラーゼ連鎖反応）法で増幅し、制限酵素（特定の配列を認識して作用する）でPCR産物を切断し、DNA断片の長さから遺伝子型を判定する。一方、アポリポ蛋白Eの蛋白質から調べる時は、等電点電気泳動法という方法を用いる。E2, E3, E4は、それぞれ等電点が異なるため、別のバンドとして検出される。ほとんどの場合は、アポE遺伝子型と表現型は一致する。しかし、E2, E3, E4に関する遺伝子多型が存在すると、E2, E3, E4以外のバンドを認めたり、アポ蛋白の量の変動し検出できなかったりすることにより結果が一致しないことがある。（図1）

今回は、アポリポ蛋白Eの遺伝子多型による米国の研究と比較する必要があるため遺伝子型を調べる方法で行う必要がある。そこで本研究では当初はRFLP法で遺伝子型を調べる予定にしていた。しかし、今回の研究ではDNAは抽出せず、直接PCR法でアポEの遺伝子型を調べる方法を用いることとした。現在、その研究変更申請を行っており、倫理委員会での承認後に測定を実施する。

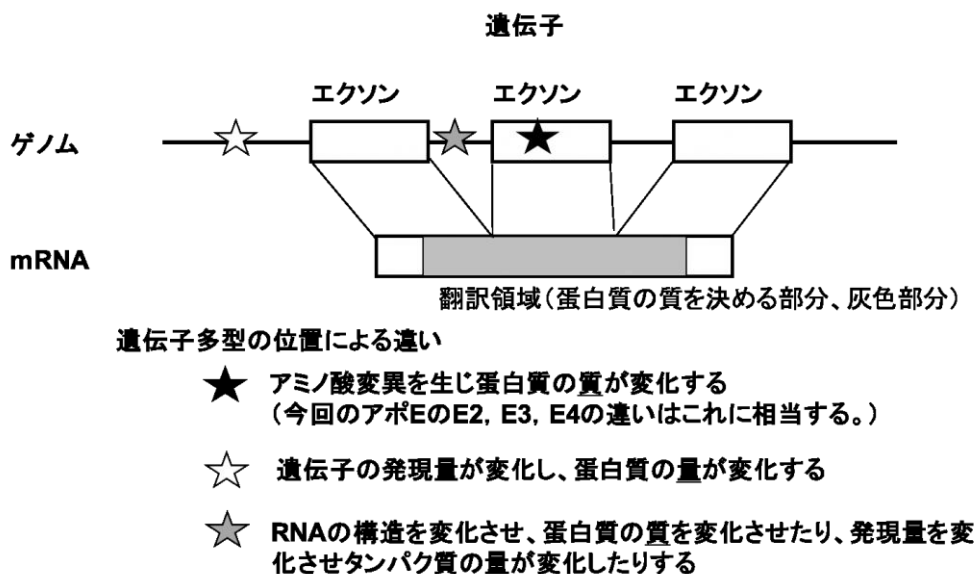


図1 遺伝多型と蛋白質

## 2 検体の保存・廃棄について

研究計画では当初、血液検体をピッツバーグ大学に送付し、オメガ3及びイソフラボンを測定する予定であった。しかし、ピッツバーグ大学での測定ができなくなったため、研究計画を変更し、検体はピッツバーグ大学に送らず国内の検査会社で測定することになった。現在、その研究変更申請を行っており、倫理委員会での承認後に測定を実施する。

以下に匿名化の方法、試料等の保存方法、廃棄の時期とその方法を示す。

	匿名化の方法	保存方法	廃棄の時期：方法
オメガ3、イソフラボン、脳由来神経栄養因子、神経心理検査の結果を含む数値データ及び画像データ	症例登録時に本研究固有の識別番号を付した対応表を作成することにより匿名化し、対応表を用いて管理する。対応表は、センターの規程に基づき、遅くとも解析開始前および外部研究機関への提供前には研究等個人情報管理室へ提出する。それまでは研究責任者の責任の下、予防健診部データ処理室に保管する。	外部とのネットワークのない研究用サーバーに保管。	当センターの規程により論文発表後10年間保管してその後廃棄。ただし、あらかじめ文書で同意を得られたものについては、将来別の医学研究に二次利用する目的で、前述の保存期間を超えて保存。 紙媒体の情報はシュレッダー処理、電子データはデータ削除を行う。
アポリポ蛋白Eの型を調べるために採血した血液検体	同上	予防健診部内の施設された検体保管室内の冷凍庫に保管	当センターの規程により論文発表後5年間保管しその後廃棄 次亜塩素酸処理もしくはオートクレーブ処理など特定の個人を識別できないようにして廃棄

注：オメガ3、イソフラボン、脳由来神経栄養因子の測定は、吹田研究追跡研究での研究用採血の血清の一部を用いるため本研究のため、このために新たに採血をすることはない。

### 3. 対象者の年齢範囲の変更

本研究の対象者は、80-89歳で認知機能検査や神経心理検査により認知機能が正常と判定された吹田研究対象者としていた。しかし、目標とする解析対象者数に達することが困難であり、統計的に対象者数が少ないと科学的な評価ができないこと、比較する米国の集団の年齢範囲を変更できることがわかった。そこで、対象者を70-89歳で認知機能検査や神経心理検査により認知機能が正常と判定された吹田研究対象者とする研究変更申請を行っており、倫理委員会での承認後に対象者の年齢範囲を変更する。