

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H03566

研究課題名(和文)細胞膜・血液脳関門通過型A オリゴマーマイクロ抗体による新規PET画像診断の創出

研究課題名(英文) Novel PET imaging of Abeta oligomer using cell- and BBB-penetrating microantibody

研究代表者

松原 悦朗 (Matsubara, Etsuro)

大分大学・医学部・教授

研究者番号：70219468

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：A オリゴマーフルボディー抗体でのPET画像診断を達成するため、放射性同位体ジルコニウム-89(89Zr)標識抗体でAPP-K1マウスにおける脳への集積の検証を行った。脳への抗体集積は、Zr標識抗Aオリゴマー抗体を投与した対照マウスおよびコントロール抗体を投与した同月齢のアルツハイマー病モデルマウスと比べ有意に高かったが、脳移行性は0.05～0.1%とこれまでの報告と同等であった。一方、Zr標識フラグメント抗体での抗体血液脳関門(BBB)通過能は1%前後と10-20倍の移行が達成されたが、脳実質内を移行しうる可溶性AオリゴマーのPET画像可視化には至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アルツハイマー病の疾患修飾薬であるレカネマブがFDAで迅速承認され、その適切使用を可能とする診断法、さらにより早期の診断治療法開発が世界中から切望されている。研究代表者らはより早期段階を標的とした先制医療薬開発を進め、その適応症例を選択する診断方法を本研究で進めてきた。この取り組みはアルツハイマー病の未来診断医療体制構築に不可欠で大きな学術的・社会的意義を有している。

研究成果の概要(英文)：In an AD mice model (APP-K1 mice), brain positron emission tomography (PET) imaging by means of 89Zirconium (Zr)-labelled anti-A oligomer-specific antibody, full-body type, revealed higher PET signal in the cortex compared with age-matched non-K1 mice. However, blood-brain barrier permeability was 0.05-0.1%, which is similar to the previous reports. To improve BBB-permeability, we used fragmented-antibody, which resulted in 10-20 times higher BBB permeability. However, no PET signal was detected in the cortex and hippocampus of APP-K1 mice, indicating that diffusible soluble A oligomer is difficult target to visualize in PET imaging.

研究分野：脳神経内科学

キーワード：A オリゴマー 画像バイオマーカー PETイメージング

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

現在、直接的にアミロイド PET (Pittsburg Compound-B (PiB) プローブ等による PET 検査) で生体脳に蓄積するアミロイド線維からなる老人斑 (プロトフィブリル以上) の定量的マッピングが可能となり、家族性アルツハイマー病 (AD) 家系での自然歴検証から、PiB-PET で検出される老人斑蓄積は認知症の発症 25 年前から生じていることが明らかとされた。ADNI-1 研究において、軽度認知機能障害 (MCI) 患者の半数以上で PiB-PET が陽性となり、AD への移行率が高いことから、PiB-PET 陽性 MCI は AD 予備群と結論づけられた (MCI due to AD と命名)。一方、認知機能正常な高齢者でも PiB-PET 陽性例が存在し、こうした症例でも毎年 2% 程度が MCI や AD へと進行するため、PiB-PET 陽性はハイリスク要因ととらえられている。こうした PET 検査で AD 病理の発症が疑われるが、全く無症候にとどまる段階を preclinical AD と定義し、この早期段階診断に焦点を絞った preclinical AD 研究が AMED 主導で 3 年前から開始されており、我々も参加している。世界での AD の治療介入は二次予防へと大きくシフトし、欧米では既に家族性 AD 家系の未発症キャリアーや孤発性の preclinical AD 症例を対象に据えて抗体投与での発症予防介入研究 (それぞれ DIAN 研究と A4 研究と呼称) が積極的に展開されていた。しかし、preclinical AD 症例より早期病態 (preclinical AD の pre-stage) では PiB-PET は陰性な非アミロイド線維からなる瀰漫性老人斑脳内蓄積を特徴とし、現状でこうした治療介入対象からの見逃しは約 18% にものぼる。さらに、研究代表者等の検討からは、シナプス毒性を有し、AD の記憶障害発症分子基盤である非線維性 A $\beta$  オリゴマーは、細胞外での瀰漫性分布に加え、細胞内蓄積パターンを呈しており (Mol Neurodegener, 2011; Life Sci, 2013)、従来存在しないと考えられていた嗅内野皮質にも認知機能正常の状態から蓄積していることが明らかとなった (J Neurosci Res, 2011)。しかし、現行の PiB-PET 等では検出する術はなく、真の意味での予防治療介入が必要にもかかわらず、蚊帳の外の状態である。この弱点克服には Preclinical AD の pre-stage からの、細胞内外に蓄積する脳内 A $\beta$  オリゴマーのリアルタイムな可視化が不可欠である。研究代表者の発明抗体は、前駆期から中等度の AD を対象として、この A $\beta$  オリゴマーを標的とした本邦初の純国産疾患修飾薬 (研究代表者の発明抗体をヒト化した KHK6640) による第 I 相臨床試験を欧州 5 カ国と日本において無事終了した実績を有しており、この新規画像診断法開発による AD 二次予防牽引に大きな期待が寄せられている。

### 2. 研究の目的

新規に開発した細胞膜透過性と血液脳関門通過性を有すマイクロ抗体を PET プローブとして、これまで検出する術のなかった神経細胞内外の脳内 A $\beta$  オリゴマーをリアルタイムで可視化して診断と予防治療を融合した新規画像バイオマーカーを創出する。

### 3. 研究の方法

研究代表者等が開発したフルボディー抗 A $\beta$  オリゴマー抗体 (6H4) とその脳血液関門・細胞膜通過型マイクロ抗体を放射性同位体ジルコニウム-89 ( $^{89}\text{Zr}$ ) 標識することで PET プローブ化して、ヒト病態を忠実に再現する AD モデルマウス (APP-KI マウス) の細胞内外に蓄積する脳内 A $\beta$  オリゴマーのリアルタイムな可視化を検証する。

#### 4 . 研究成果

(1) <sup>89</sup>Zr 標識フルボディー抗 A オリゴマー抗体 (6H4) での脳内標識をコントロールマウスで検証した結果、<sup>89</sup>Zr 標識コントロール抗体に比し有意な脳内蓄積を認めた。さらに、APP-KI マウスでの検討も同様の <sup>89</sup>Zr 標識コントロール抗体の有意な蓄積の再現結果を観察した。フルボディー抗体の BBB 通過での脳内移行性は <sup>89</sup>Zr 標識プローブ全体の 0.01 ~ 0.1%とこれまでの報告と同等であった。

(2) 放射性同位体ジルコニウム-89(<sup>89</sup>Zr)標識プローブ作成に成功し、若いコントロールマウスでの脳内移行性を確認後、脳内AD病態が完成した加齢APP-KIマウスで検証したところ、若年コントロールマウス同等のBBB移行性が確認され、BBB通過型マイクロ抗体の傍証を得た。しかしながら、既存のアミロイドPETプローブと同等の脳内移行性を有するにも関わらず、PET画像でのA オリゴマー可視化には至らなかった。原因として可溶性で脳実質内を拡散可能なA オリゴマーは脳内に蓄積する病態を取らず、結果としてPET画像で捉えきれぬ動態が考えられ、その診断応用にはこの特性を加味した工夫が必要と考えられた。しかし、これまでの抗体の弱点を克服したBBB通過型抗体の取得に至ることができた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Amano A, Sanjo N, Araki W, Anraku Y, Nakakido M, Matsubara E, Tomiyama T, Nagata T, Tsumoto K, Kataoka K, Yokota T	4. 巻 21
2. 論文標題 Peripheral administration of nanomicelle-encapsulated anti-A oligomer fragment antibody reduces various toxic A species in the brain	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Nanobiotechnology	6. 最初と最後の頁 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12951-023-01772-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ataka T, Kimura N, Eguchi A, Matsubara E	4. 巻 22
2. 論文標題 Changes in objectively measured lifestyle factors during the COVID-19 pandemic in community-dwelling older adults	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Geriatr	6. 最初と最後の頁 326
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12877-022-03043-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Goto M, Kimura N, Matsubara E	4. 巻 22
2. 論文標題 Association of serum thyroid hormone levels with positron emission tomography imaging in non-demented older adults	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Psychogeriatrics	6. 最初と最後の頁 373-381
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/psyg.12825	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Islam S, Sun Y, Gao Y, Nakamura T, Noorani AA, Li T, Wong PC, Kimura N, Matsubara E, Kasuga K, Ikeuchi T, Tomita T, Zou K, Michikawa M	4. 巻 42
2. 論文標題 Presenilin 1s Essential for ApoE Secretion, a Novel Role of Presenilin Involved in Alzheimer's Disease Pathogenesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Neurosci	6. 最初と最後の頁 1574-1586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.2039-21.2021.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Senda M, Ishii K, Ito K, Ikeuchi T, Matsuda H, Iwatsubo T, Iwata A, Ihara R, Suzuki K, Kasuga K, Ikari Y, Niimi Y, Arai H, Tamaoka A, Arahata Y, Itoh Y, Tachibana H, Ichimiya Y, Washizuka S, Odawara T, Ishii K, Ono K, Yokota T, Nakanishi A, Matsubara E, Mori H, Shimada H.	4. 巻 8
2. 論文標題 A Japanese Multicenter Study on PET and Other Biomarkers for Subjects with Potential Preclinical and Prodromal Alzheimer's Disease.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Prev Alzheimers Dis	6. 最初と最後の頁 495-502
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14283/jpad.2021.37.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Aso Y, Kimura N, Matsubara E.	4. 巻 84
2. 論文標題 Novel Serum Biomarkers of Neurovascular Unit Associated with Cortical Amyloid Deposition.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Alzheimers Dis	6. 最初と最後の頁 905-914
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-215135.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sasaki Y, Kimura N, Aso Y, Yabuuchi K, Aikawa M, Matsubara E.	4. 巻 11
2. 論文標題 Relationship between Cerebrospinal Fluid Matrix Metalloproteinases Levels and Brain Amyloid Deposition in Mild Cognitive Impairment.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 1496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom11101496.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Abe M, Kimura N, Sasaki Y, Eguchi A, Matsubara E.	4. 巻 18
2. 論文標題 Association between Benton Visual Retention Test Scores and PET Imaging in Elderly Adults.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Curr Alzheimer Res	6. 最初と最後の頁 900-907
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1567205018666211207094121.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kimura N, Aso Y, Yabuuchi K, Ishibashi M, Hori D, Sasaki Y, Nakamichi A, Uesugi S, Jikumaru M, Sumi K, Eguchi A, Obara H, Kakuma T, Matsubara E.	4. 巻 3(6)
2. 論文標題 Association of Modifiable Lifestyle Factors With Cortical Amyloid Burden and Cerebral Glucose Metabolism in Older Adults With Mild Cognitive Impairment.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JAMA Netw Open	6. 最初と最後の頁 e205719
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1001/jamanetworkopen.2020.5719.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kimura N, Aikawa M, Etou K, Aso Y, Matsubara E.	4. 巻 17(6)
2. 論文標題 Association between Matrix Metalloproteinases, Their Tissue Inhibitor and White Matter Lesions in Mild Cognitive Impairment.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Curr Alzheimer Res	6. 最初と最後の頁 547-555
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1567205017666200810171322.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ataka T, Kimura N, Mizukami K, Uchida H, Matsubara E.	4. 巻 17(12)
2. 論文標題 Association of Cerebrospinal Fluid Adiponectin Levels With Cerebral Glucose Metabolism In Mild Cognitive Impairment:A Pilot Study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Curr Alzheimer Res	6. 最初と最後の頁 1126-1132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1567205017666201109150358.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kimura N, Aso Y, Yabuuchi K, Matsubara E.	4. 巻 15(12)
2. 論文標題 Association between objectively measured walking steps and sleep in community-dwelling older adults: A prospective cohort study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0243910
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0243910.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inoue M, Hada K, Shiraishi H, Yatsuka H, Fujinami H, Morisaki I, Nishida Y, Matsubara E, Ishitani T, Hanada R, Matsumoto M, Penninger JM, Ihara K, Hanada T.	4. 巻 525
2. 論文標題 Tyrosine pre-transfer RNA fragments are linked to p53-dependent neuronal cell death via PKM2.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 726-732
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.02.157.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Abe K, Shang J, Shi X, Yamashita T, Hishikawa N, Takemoto M, Morihara R, Nakano Y, Ohta Y, Deguchi K, Ikeda M, Ikeda Y, Okamoto K, Shoji M, Takatama M, Kojo M, Kuroda T, Ono K, Kimura N, Matsubara E, Osakada Y, Wakutani Y, Takao Y, Higashi Y, Asada K, Senga T, Lee LJ, Tanaka K.	4. 巻 73
2. 論文標題 A New Serum Biomarker Set to Detect Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease by Peptidome Technology.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Alzheimers Dis.	6. 最初と最後の頁 217-227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-191016.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Abdullah M, Kimura N, Akatsu H, Hashizume Y, Ferdous T, Tachita T, Iida S, Zou K, Matsubara E, Michikawa M.	4. 巻 72
2. 論文標題 Flotillin is a Novel Diagnostic Blood Marker of Alzheimer's Disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Alzheimers Dis.	6. 最初と最後の頁 1165-1176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-190908.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kaneko H, Kimura N, Nojima S, Abe K, Aso Y, Matsubara E.	4. 巻 19
2. 論文標題 Diagnosis of mild cognitive impairment using multiple neuroimaging modalities in addition to the Mini-Mental State Examination.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Geriatr Gerontol Int.	6. 最初と最後の頁 1193-1197
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ggi.13789.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Eguchi A, Kimura N, Aso Y, Yabuuchi K, Ishibashi M, Hori D, Sasaki Y, Nakamichi A, Uesugi S, Jikumaru M, Sumi K, Shimomura T, Matsubara E.	4. 巻 16
2. 論文標題 Relationship Between the Japanese Version of the Montreal Cognitive Assessment and PET Imaging in Subjects with Mild Cognitive Impairment.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Relationship Between the Japanese Version of the Montreal Cognitive Assessment and PET Imaging in Subjects with Mild Cognitive Impairment.	6. 最初と最後の頁 852-860
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1567205016666190805155230.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kimura N, Aso Y, Yabuuchi K, Ishibashi M, Hori D, Sasaki Y, Nakamichi A, Uesugi S, Fujioka H, Iwao S, Jikumaru M, Katayama T, Sumi K, Eguchi A, Nonaka S, Kakumu M, Matsubara E.	4. 巻 10
2. 論文標題 Modifiable Lifestyle Factors and Cognitive Function in Older People: A Cross-Sectional Observational Study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Front Neurol.	6. 最初と最後の頁 401
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fneur.2019.00401.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 松原悦朗
2. 発表標題 アルツハイマー病：抗体医療と地域コホート研究からの認知症予防介入法開発
3. 学会等名 2022年日本認知症学会専門医教育セミナー (招待講演) (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松原悦朗
2. 発表標題 A オリゴマー標的治療開発
3. 学会等名 第22回日本早期認知症学会学術大会 (招待講演) (招待講演)
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 松原悦朗
2. 発表標題 進化するアルツハイマー病の治療とその展望
3. 学会等名 第73回日本内科学会九州支部主催生涯教育講演会（招待講演）（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松原悦朗
2. 発表標題 アルツハイマー病の新規診断・治療法開発と発症予防に向けた取り組み
3. 学会等名 日本内科学会北海道支部主催 第61回生涯教育講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

#### 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	佐々木 崇了 (Takanori Sasaki)  (10461253)	岡山大学・医歯薬学域・助教  (15301)	
研究分担者	藪内 健一 (Kenichi Yabuuchi)  (10763807)	大分大学・医学部・助教  (17501)	
研究分担者	松浦 栄次 (Eiji Matsuura)  (20181688)	岡山大学・中性子医療研究センター・教授  (15301)	

#### 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------