

平成 30 年 9 月 4 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09820

研究課題名(和文) 老年期神経変性性認知症に対する超早期診断と予防的、先制的治療の確立

研究課題名(英文) Study of preclinical diagnosis and pre-emptive treatment trial for neurodegenerative dementia

研究代表者

藁谷 正明 (Waragai, Masaaki)

東北大学・加齢医学研究所・非常勤講師

研究者番号：50533775

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：AD発症危険対象者をスクリーニングに日常診療レベルで有用な超早期バイオマーカーを検討した。今回、血漿中リン酸化タウ(以下p-tau)が早期アルツハイマー病患者及びADと同様の脳病理を有する早期ダウン症候群患者において優位に高値であることを見出した。さらにMRIを用いたMRスペクトロスコピー(MRS)の縦断的解析で、AD患者脳では、発症前から後部帯状回のN-アセチルアスパラギン酸(NAA)/ミオイノシトール(MI)比は有意に低下している事を明らかにした。血漿中p-tauの上昇とMRSによる後部帯状回のNAA/MI比の低下は、将来的ADの発症を予測するスクリーニングマーカーとなる可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：We studied early and easy diagnostic methods for Mild Cognitive Impairment (MCI) and Alzheimer's Disease(AD) using by blood based factors and usual 1.5T Magnetic Resonance Imaging(MRI) and spectroscopy(MRS) of the brain combined with cerebrospinal fluid(CSF) biomarkers amyloid beta and phosphorylated tau (p-tau) in clinical practice. We found that plasma p-tau level is significantly increased in patients with early AD and Down syndrome which have same brain pathology as AD. Thus, the plasma levels of p-tau may be used for good blood biomarker for screening subjects at risk of AD.

Furthermore, our longitudinal study of brain metabolites by MRS demonstrated that significant decreased N-acetylaspartate (NAA)/Myo-inositol(MI) ratio in the posterior cingulate gyri(PCG) not only in symptomatic AD but also preclinical AD.

Thus, we concluded that accurate measurement of plasma p-tau and amyloid beta together with decreased NAA/MI in the PCG could be used as useful peripheral AD biomarker.

研究分野：アルツハイマー病

キーワード：アルツハイマー病 血液バイオマーカーバイオマーカー MRスペクトロスコピー 後部帯状回

1. 研究開始当初の背景

2015年の厚生労働省の発表では、本邦の認知症患者数は2012年時点で約462万人、65歳以上の高齢者の約7人に1人と推計されている。認知症の前段階とされる「軽度認知障害 (mild cognitive impairment: MCI)」と推計される約400万人を合わせると、高齢者の約4人に1人が認知症あるいはその予備群と推測される。厚労省の推計によれば、団塊の世代が75歳以上となる2025年には、認知症患者数は700万人前後に達し、65歳以上の高齢者の約5人に1人が認知症患者という予測がされ、大きな社会的問題である。特に老年期認知症の60%以上を占めるアルツハイマー病(AD)に対する対応は最重要課題である。神経変性疾患であるADは進行性疾患であり、その中核病理変化である脳内異常アミロイド沈着と異常タウ蛋白凝集は発症の約20年前から潜行性に始まっており、日常生活動作に支障が出る病期では既に不可逆的である。一方で、ADの発病促進、増悪因子には、遺伝的背景のみならず、耐糖能異常、生活習慣病及び環境因子も関与していることから、発症に至るまであるいは発症早期の予防的介入も重要であり、日常診療レベルでのAD発症予備軍のスクリーニングと予防的対応、介入の確立は重要な課題である。

2. 研究の目的

<ADの新規末梢サロゲートマーカー>
アミロイドPETやタウPETなどの分子イメージングやMRIを用いたVSRAD (Voxel-Based Specific Regional Analysis System for Alzheimer's Disease)などの画像統計解析臨床研究により、脳病理所見を待たずして、ADの確定診断のみならず経年的な病態の進行様式：脳内異常アミロイド沈着 異常タウ沈着 神経細胞脱落 脳萎縮)が判明している。一方で、AD発症後にアミロイドを標的として抗体等を用いたこれまでのアミロイド除去治療は全て無効であった。その原因の1つとして、AD発症時には既にAD病態は神経細胞脱落期にあり、不可逆的で遅きに失っていると推測され、無症候であるが脳内アミロイド沈着が潜行性に進行している病期：発症前AD(preclinical AD)あるいは認知機能障害が出現し始める超早期AD対象者をスクリーニングし、強力な脳内異常アミロイド除去を行う治験が進行中である (Biogen社が治験中のaducanumab等)。

一方で、preclinical ADあるいは発症早期ADを診断するためにはアミロイドPETやタウPET等の大規模施設が必要で施行施設は限定的であり、日常診療や脳ドック等では現実的ではない。我々の目的は、AD発症危険対象者のスクリーニング、予防的介入及びAD病態が可逆的時期からの早期介入さらに薬物治療の指標となる簡易AD特異的サロゲートマーカーの確立である。

3. 研究の方法

松戸市立東松戸病院 神経内科の物忘れ

外来と脳ドックを受診した患者様を対象に本研究の目的を説明し、同意を得た320例(年齢69歳から82歳)の対象者に対して、詳細な問診、認知機能検査としてMMSE、1.5テスラMRI：VSRADと大脳後部帯状回のMRスペクトロスコピー (magnetic resonance spectroscopy, MRS)及び採血、採尿、APOE遺伝多型検査と脳脊髄液検査 (CSF) 採取を経年的に施行した。脳脊髄液については、既に確立したADのCSFバイオマーカーであるリン酸化タウとアミロイドペプター1-42を測定した。また採取した血漿、脳脊髄液の一部は、の目的で、研究協力者である京都府立医科大学 分子脳病態解析学講座教授 徳田隆彦先生、北海道大学薬学部神経学講座教授 鈴木利治先生及びアミンファーマ研究所所長 五十嵐一衛先生にご提供し、血液、尿中ADバイオマーカー探索、解析を依頼した。

<AD危険因子の生活習慣病との関連解析>

一方で、ADの危険因子として 型糖尿病等の生活習慣病との関連が知られている。我々は、ADの病態とインスリンシグナル以上の関連の有無に注目し、現在、インスリン耐糖能に関連する分子として注目されているアディポネクチンとの関連を *in Vitro* 及び *in Vivo* で検討した。健常高齢者100例、MCI 100例、AD100例で血漿中とCSF中アディポネクチンをELISAで測定した。また健常高齢者剖検脳とAD患者剖検脳においてアディポネクチンの免疫染色とウエスタンブロットによる解析を行った。

4. 研究成果

<ADの新規末梢サロゲートマーカー>
CSFバイオマーカーとMRI/MRSによる評価により、AD/MCI患者の正診率は97%と上昇した。また、受診時に健常高齢者であった289例の経年的追跡中に5年間で、53例(18.3%)がMCI、21例(7.2%)がADを発症した。ADを発症した21例は、認知機能正常時期から、CSFアミロイド1-42の低値(300pg/ml以下)及びCSFリン酸化タウ高値(70pg/ml以上)を認め、CSFアミロイド1-42及びCSFリン酸化タウがADのバイオマーカーに有用でありうることは従来の知見と同様な結果であり、ADの発症予測因子、予後予測因子であることも確認された。しかしCSF採取は腰椎穿刺を施行する必要があることからやや侵襲的である点でスクリーニングマーカーとしては適さない。これらのCSFバイオマーカーの動態を反映しうる末梢体液サロゲートマーカーとして研究協力者との共同研究により、これまで、アミロイド前駆体蛋白と同様に「セクターゼ」による脳内アルカデインの分解産物である血漿中p3-A1c 35がAD/MCIで上昇し認知機能と相関する事が報告された(北大：鈴木利治教授)。また、血漿中の過酸化脂質関連毒性物質である血漿中蛋白結合アクロレイン及びその尿中代謝物が3-ヒドロキシプロピ

ルメルカプツール酸 (3-HPMA) と血漿中アミロイド 1-40/1-42 比が AD で有意に高値であることを報告した(アミンファーマ: 五十嵐一衛先生)。さらに 2017 年には連携研究者の京都府立医科大学の徳田隆彦教授らと共に新規超好感度免疫アッセイ法による定量で血漿リン酸化タウ p-tau181 値が AD と AD と同様の脳病理を示すダウン症候群で高値であることを報告し、AD の有力な血漿バイオマーカーとなりうることを報告し、今後の施設共同研究による検証が期待される。さらに代表研究者(藁谷正明)ら独自に、1.5 テスラ MRI を用いて後部帯状回の MRS による代謝物の構成と変動を経時的に全対象脳ドック等に AD/MCI サロゲートマーカーとして活用できるものと期待され、今後、さらに対象者を増やし追跡検討して行く。

<AD 危険因子の生活習慣病との関連解析>
我々の解析では、血漿中アディポネクチンは AD/MCI 例で、健常高齢者のそれに比較して有意に上昇していた。一方で、CSF 中アディポネクチンは AD/MCI 例で、健常高齢者に比較し優位に低値であった。剖検脳を用いた組織学的検討では、AD 脳では、神経原線維タングルにアディポネクチンが共在する所見を認めた。非 AD 脳ではその所見は認められなかった。また脳組織を用いたアディポネクチンのウエスタンブロットでは、非 AD 剖検脳組織抽出物では、アディポネクチンは機能的三量体分画(高、中、低分子分画)が確認できたが、AD 脳ではアディポネクチンの機能的三量体分画は明らかに低下していた。以上の検討結果から、アディポネクチンは AD の病態に分子レベルで関与しており、アディポネクチンの正常機能として、抗糖尿病作用以外に、AD の病態を抑制する機能も示唆された。今後、アディポネクチンの中枢神経系に対する分子機能の解明により、アディポネクチン関連物質が AD の治療薬として有用である可能性もあると考えられた。

〔雑誌論文〕(計 4 件)

1. Waragai M, Moriya M, Nojo T. Decreased N-Acetyl Aspartate/Myo-Inositol Ratio in the Posterior Cingulate Cortex Shown by Magnetic Resonance Spectroscopy May Be One of the Risk Markers of Preclinical Alzheimer's Disease: A 7-Year Follow-Up Study. *J Alzheimers Dis.* 2017;60(4):1411-1427. doi: 10.3233/JAD-170450.

2. Tatebe H, Kasai T, Ohmichi T, Kishi Y, Kakeya T, Waragai M, Kondo M, Allsop D, Tokuda T. Quantification of plasma phosphorylated tau to use as a biomarker for brain Alzheimer pathology: pilot case-control studies including patients with Alzheimer's disease and down syndrome.

者に前向き検討したところ、AD 患者脳では、発症前から後部帯状回の N-アセチルアスパラギン酸(NAA)/ミオイノシトール(MI)比は有意に低下している事を明らかにした。さらに NAA のピーク値は MMSE と有意に相関することも示された。これらから通常の後部帯状回の MRS で AD/MCI の発症予測のみならず、病状の進行状況も客観的に評価できる可能性を示し、直ちに日常診療及び

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

Mol Neurodegener. 2017 Sep 4;12(1):63. doi: 10.1186/s13024-017-0206-8.

3. Waragai M, Adame A, Trinh I, Sekiyama K, Takamatsu Y, Une K, Masliah E, Hashimoto M. Possible Involvement of Adiponectin, the Anti-Diabetes Molecule, in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2016 Apr 8;52(4):1453-9. doi: 10.3233/JAD-151116.

4. Igarashi K, Yoshida M, Waragai M, Kashiwagi K. Evaluation of dementia by acrolein, amyloid- and creatinine. *Clin Chim Acta.* 2015 Oct 23;450:56-63. doi: 10.1016/j.cca.2015.07.017.

〔学会発表〕(計 1 件)

1. Masaaki Waragai, Masaru Moriya Abnormalities of MRS of the Posterior Cingulate Cortex May Precede onset of MCI Due to Alzheimer's Diseases -Five Years Follow up Study of 277 Cognitive Normal Elderly Subjects- Alzheimer's Association International Conference 2017 London (国際学会)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

(1)

藁谷正明 東北大学 加齢医学研究所
研究者番号：50533775

(2) 研究分担者

(0)

研究者番号：

(3) 連携研究者

(0)

研究者番号：

(4) 研究協力者

(3)

徳田隆彦
京都府立医科大学大学院医学研究科
分子脳病態解析学(神経内科) 教授
研究者番号：80242692

鈴木利治
北海道大学，薬学研究院 教授
研究者番号：80179233

荒井啓行教授
東北大学，加齢医学研究所 教授
研究者番号：30261613