

令和元年6月3日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16114

研究課題名(和文) フォトニック結晶を用いた高感度センサーによるアルツハイマー病血液生化学診断

研究課題名(英文) Development of photonic crystal based sensor for measuring blood biomarkers of Alzheimer's disease

研究代表者

長島 優 (Nagashima, Yu)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20635586

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ポリマー製フォトニック結晶を用いたセンサーの読み取り装置を、LED光源を用いて新たに作成した。この読み取り装置を用いて、センサー基板の反射光強度を試料アプライ前後で測定し、その比の値を計算することで、試料中のA<sub>42</sub>濃度に線形に比例する測定値を得た。開発したセンサー基板と読み取り装置を用いて、A<sub>42</sub>の検量線を描き、同じく100fM～1μM程度の範囲において、センサー測定値のlinearityを確認する実験を行った。AD患者および健常者10例ずつの髄液・血液検体を用いて、検体中のA<sub>42</sub>濃度の測定を行う臨床研究を実施し、開発センサーを用いて、髄液・血液検体中のA<sub>42</sub>の値に相関があることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化社会が本格化するなか、我が国における認知症患者は400万人を超えるといわれる。認知症は介護負担が大きく、社会に対する負の経済的インパクトも大きいことから、認知症の中でも最も頻度の高いアルツハイマー病(AD)の治療法開発は急務である。安価なAD血液診断を実現することは、将来AD大規模観察研究の成果として代理バイオマーカーが確立され、市中病院におけるADの日常的な保険診療において、体液生化学マーカーを大量に測定する必要性が生じることを見据えた際に、重要かつ必要不可欠な施策である。

研究成果の概要(英文)：A new reader device for polymer-based photonic crystal sensor chip was developed using LED (light emitting diode) light source. Using this reader device, reflection signals from the sensor chip was measured before and after applying liquid samples. The ratio of the two signals before and after sample application was confirmed to be linearly correlated to the Amyloid (A<sub>42</sub>) concentration in the samples. As a result, A<sub>42</sub> calibration curve was depicted between the concentrations of 100 fM and 1 μM. Then cerebrospinal fluid (CSF) and serum (10 samples each) from Alzheimer's disease and normal control cases were measured using the developed sensor chip and device, and the correlation between A<sub>42</sub> concentrations from CSF and serum samples was confirmed.

研究分野：神経内科学

キーワード：アルツハイマー病

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

高齢化社会が本格化するなか、我が国における認知症患者は 400 万人を超えるといわれる。認知症は介護負担が大きく、社会に対する負の経済的インパクトも大きいことから、認知症の中でも最も頻度の高いアルツハイマー病(AD)の治療法開発は急務である。

既にいくつかの新しい治療薬が開発され、欧米では臨床治験も開始されているが、治療薬の効果判定に不可欠な正しい診断と進行度評価の標準化を実現するための AD の客観的指標は現在のところ存在しない。そのため、AD プレクリニカル期および予備軍である軽度認知障害(MCI)から AD への変化を反映する代理バイオマーカー確立を目指し、米国および日本で正常者・患者群の大規模観察研究が進行している。代理バイオマーカーとして有望視されているのは、脳イメージングと体液生化学マーカー或いはその組み合わせである。生化学マーカーには髄液中のアミロイドβ(Aβ)や tau といったタンパク質濃度が調べられているが、これらの測定には従来、ELISA 法や Western blot 法、質量分析法が用いられることが多かった。しかしこれら測定法は①操作が煩雑、②専門技師が必要、③専門機関への検査委託が必要、④高コストといった課題があり、特に市中病院での検査は困難であった。上記課題を解決することは、将来 AD 大規模観察研究の成果として代理バイオマーカーが確立され、市中病院における AD の日常的な保険診療において、体液生化学マーカーを大量に測定する必要性が生じることを見据えた際に、重要かつ必要不可欠な施策である。

### 2. 研究の目的

本研究開発では、ナノインプリントリソグラフィにて作製した光学デバイス「ポリマー製フォトニック結晶」が、抗原抗体反応に起因する屈折率変化によって光学特性が変化することを利用し、簡便・高感度・安価にアルツハイマー病(AD)の生化学バイオマーカー定量が可能なセンサー素子および検査デバイスの開発を行う。平成 26-27 年度 AMED 認知症研究開発事業で培ったセンサー素子の概念実証を元に、実際の臨床現場での検査技師によるハンドリングを想定し、センサー読み出しのための安価で可搬性に優れた検査デバイスを開発し、実効的な社会保障費抑制効果を持つ高感度認知症バイオマーカーセンサー及び検査デバイスの開発を目指す。

さらに臨床検体を積極的に収集・蓄積している東京大学医学部附属病院において、実患者検体を用いた臨床研究を展開し、開発したバイオセンサーのみを用いて AD 患者の生化学的診断ができることを実証する。また、ELISA 法より感度が一桁以上よい本センサーの特性を活かし、血液検体を用いた侵襲性の低い AD の生化学的診断の可能性について実患者検体で検討する。

### 3. 研究の方法

3-1. 安定で再現性の高い測定を行うためのセンサーパッケージ・読み取りデバイスを作成する。また測定データから濃度を自動計算するためのソフトウェアを開発する。

3-2. 東大病院に蓄積された AD 患者症例および疾患コントロール症例の髄液検体を対象に、AD バイオマーカーの測定を行い、開発したセンサーのみを用いて現実の AD 患者の生化学的診断ができることを実証する。東大病院では、確実な臨床診断・病理診断のもと、正しい臨床情報の付帯された患者検体を長年にわたり収集・保存しており、本研究ではこれを用いる。臨床研究の実施にあたっては、東京大学医学部附属病院の施設内倫理委員会による倫理審査を受け、その承認のもとに研究を進める。

3-3. 測定したセンサーおよび読み取り装置を用いて、髄液および血液検体を対象に AD バイオマーカーの測定を行う。開発した測定感度の高いセンサー技術を用いた、血液検体での AD の診断可能性を検討する。

### 4. 研究成果

4-1. フォトニック結晶を用いた高感度 Aβ センサーの読み取り装置を、LED 光源と分光器を用いて新たに作成した。また測定データを解析し、自動でバイオマーカー濃度を計算・数値化するソフトウェアを開発した。

この読み取り装置のセットアップを用いて、センサー基板の 500nm の反射光強度を試料アプライン前後で測定し、その比の値を計算することで、試料中の Aβ 濃度に線形に比例する測定値を得た。しかしこの測定値は、センサー基板が湾曲し基板表面のナノスケールの繰り返し構造が歪むことにより、変動することが分かった。そこでセンサー素子の湾曲を抑制する機構を備えたセンサーパッケージを新たに設計し、測定の再現性を確保した。

4-2. 尿素ゲル Western blot 法を用いた Aβ 42 の定量法を確立し、100fM~1μM の範囲で測定

値の linearity を確認した。開発したセンサー基板と読み取り装置を用いて、 $A\beta 42$  の検量線を描き、同じく  $100\text{fM}\sim 1\mu\text{M}$  程度の範囲において、センサー測定値の linearity を確認する実験を行った。

4-3. AD 患者および健常者 10 例ずつの髄液・血液検体を用いて、検体中の  $A\beta$  濃度の測定を行う臨床研究を実施し、開発センサーを用いて、髄液・血液検体中の  $A\beta 42$  の値に相関があることを確認した。

## 5. 主な発表論文等

期間内ではなし

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

一件、出願を検討中。

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

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:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号 (8 桁):

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。