

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591695

研究課題名(和文) RIと末梢バイオマーカーによるアルツハイマー病発症前簡易スクリーニング法の探索

研究課題名(英文) Clinical study of preclinical useful diagnosis of Alzheimer's Disease using by MRI and periperal biomarkers

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) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：日常診療でアルツハイマー病(以下AD)及び軽度認知障害(以下MCI)の予防、早期介入のため、ADの早期スクリーニングに有用な診断法の確立を検討してきた。MRIを用いたVSRADによる脳萎縮の評価及び磁気共鳴スペクトル(MRS)がADの早期診断に有用である事を示した。またAD/MCI患者では過酸化脂質代謝産物であるアクロレイン、その代謝産物である3-HMPA がAD/MCI患者の末梢体液で高値であった。さらにAD/MCI患者ではアルカデインの脳内 -セクレターゼによる分解産物であるp3-Alc 35がの血液中で有意に高値で、血液バイオマーカーとしてADスクリーニングに有用である可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：We studied methods of early diagnosis for Alzheimer's Disease(AD)/Mild Cognitive Impairment(MCI). We showed that MRI using by VSRAD combined with MRS(magnetic resonance spectroscopy) of the brain is useful for early diagnosis and tracking progression of AD. We found acrolein, a product of lipid peroxidation related factors are changed in the biofluids in MCI/AD. Furthermore, we also showed plasma p3-Alc 35, a major fragment of Alcadein by -secretase cleavage are increased in AD suggesting plasma p3-Alc 35 could be good biomarker for MCI/AD. Thus, we found potentially useful peripheral biomarkers and demonstrated MRI/MRS are useful for screening of AD in clinical practice.

研究分野：老年期神経変性疾患

キーワード：アルツハイマー病 バイオマーカー 神経変性疾患 MRI

## 1. 研究開始当初の背景

これまでの研究からアルツハイマー病 (以下 AD) の中核的病態である脳内アミロイド沈着は発症の約 20 年前から進行し、発症時にはほぼアミロイド沈着はプラトーに達していることが明らかとなった。これまでのアミロイド沈着除去を目的とした治療薬 (セクレタゼ阻害剤、アミロイドワクチン療法) の治験は現時点までは失敗に終わっている。これらの治験は主に AD を発症してから症状が進行している患者を対象としており、AD 発症からの治療開始では既に遅きに失している可能性もあるとされている。したがって早期の軽度認知障害 (以下 MCI) さらには preclinical AD を対象とする方策が期待されている(1)。本邦の認知症有病者数は約 400 万人 (65 歳以上高齢者の 12-17%) であり今後も認知症有病率は増加することが予想される一方で、AD の前段階である MCI のレベルで維持している患者 (stable MCI) あるいは MCI から健常者レベルに改善するケースもあることは大変重要である。すなわち、MCI due to AD であっても AD に進行せず MCI のレベルを維持または改善しうるケースが少なからずあることを示していると考えられる。中年期以降の 2 型糖尿病、肥満、高血圧、動脈硬化及び運動不足等のいわゆる生活習慣病が MCI や AD の危険因子とされ、中年期からの ACE 阻害剤による高血圧の管理、適切な 2 型糖尿病管理及び適度な有酸素運動等の包括的介入が認知症予防に有効であるとされている。実際に、我々は、2014 年に老年期神経変性疾患の 1 つである シヌクレイノパチーのマウスモデルにおいて、インスリン感受性改善作用のあるアディポネクチンの発症前からの超早期的経鼻投与が神経症状の発症を遅らせ、神経症状を軽減することを報告している(2)。

以上から、AD 治療戦略として、発症前あるいは発症超早期からの生活習慣病の管理の重要性が指摘されている。

## 2. 研究の目的

今後さらに増加する AD 患者数を予防的、先制的診療により抑制する日常診療システムを構築する。これらを遂行するために、スクリーニングに適した簡便、臨床実用的な AD サロゲートマーカー (血液バイオマーカー等) を探索、検討する。これらの背景から、研究代表者らは、文部科学省の援助にて 2012 年からは「MRI と末梢バイオマーカーによるアルツハイマー病発症前簡易スクリーニング法の探索」のテーマで主に MCI、AD の早期診断法確立の研究を行った。

## 3. 研究の方法

松戸市立東松戸病院の物忘れ外来受診患者を主体に約 300 名の対象者に対し、神経心理学的検査、VBM-MRI の頭部 MRI 及び MR スペクトロスコピー (magnetic resonance spectroscopy, MRS)、採血、採尿を施行した。患者の同意を得られた場合は、APOE 遺伝型解析、血漿、尿、脳脊髄液 (以下 CSF) を解析のために -80℃ に保管した。これらの患者検体を用いて、これまで AD に関連のあると考えた因子を検討した。

## 4. 研究成果

### 1) 脂質過酸化反応産物アクロレインと AD の病態の関連。

血液中脂質過酸化反応産物である蛋白結合型アクロレイン (以下 PC-Acrorelin) と血漿中 PC-Acrorelin 濃度と血漿アミロイド B40/42 比率が高値であることを報告した(3)。さらに MCI/AD において CSF 中の Aβ42 低下と共に Aβ40/PC-Acro が高値であることが見出された(4)。さらに PC-Acro の代謝産物である尿中 3-hydroxypropyl mercapturic acid

(3-HPMA)がMCI/ADにおいて低下していることを報告した(5)。したがってアクロレインがADの神経変性の病態に関与している可能性とアクロレインがADの末梢体液診断マーカーとして有用である可能性を見出した。

## 2) 構造的MRI(VBM-MRI)とMRSによるMCI/AD早期診断法の検討及び確立。

MCI/AD患者脳では、発症時に既に側頭葉内側部の萎縮が認められる。またその萎縮の程度は認知機能と相関する。我々は、対象280名に対して、松田博史博士により本邦で開発されたVoxel-based morphometric MRI (VBM-MRI)の1つであるVoxel-based Specific Regional analysis system for Alzheimer's Disease, VSRADによる側頭葉内側部萎縮の評価と大脳後部帯状回におけるMRSを用いた生化学的評価を施行した。脳萎縮程度の評価には画像統計解析にてZ-score mappingを用いた。対象者には同時期にMMSEとAD特異的バイオマーカーであるCSF中アミロイドA<sub>42</sub>、リン酸化タウの測定も施行した。

MCI/ADでは、早期から側頭葉内側部の萎縮があることが再確認された。ROC解析で、Z-scoreのカットオフ値1.74以上で、感度、特異度共に80%以上でADの可能性があると示された。さらに側頭葉内側部の萎縮が明らかではない症例においても、萎縮が明らかでなき時点からMRSでは大脳後部帯状回における、NAA/MI比(N-acetyl aspartate / myo-inositol)が低下していることが見出された。MRSはADにおける脳の構造的変化より先んじて病理的变化を検出している可能性が示された。VSRADとMRSを用いたMRIによる評価は、CSFバイオマーカー同等の診断精度を有することも示され、MRIによりADの非侵襲的早期スクリーニングと予後予測が日常診療レベルで可能である可能性を報告した(6)。

3)  $\gamma$ -セクレターゼによるアルカデイン分

解産物とAD

北海道大学 薬学部の鈴木利治教授との共同研究で、AD/MCI患者ではアルカデインの脳内 $\gamma$ -セクレターゼ(脳内アミロイド前駆蛋白切断と同じ酵素)による主要分解産物であるp3-Alc $\alpha$ 35がMCI/AD患者の血液中では有意に上昇しており血液バイオマーカーとして有用である可能性が示された(7)。

アルカデイン分解産物に関しても解析を行っており、さらに感度の高い血液バイオマーカーの検討が進んでいる。

これまでの研究成果を総合的に判断すると、VSRAD等の画像統計解析法を用いたMRIは認知症(主にAD)の診療において日常診療の中で信頼度、利便性ともに高く欠かせないものと結論された。末梢バイオマーカーについては、従来のCSFバイオマーカー:A<sub>42</sub>、タウ、リン酸化タウに比較し未だ信頼性に関して検討する余地はあるが可能性があると示唆された。したがってMRIと末梢バイオマーカーの総合的検討によりADスクリーニングは日常診療レベルで可能であることを研究成果として得た。

## <引用文献>

1. Bateman RJ et al Dominantly Inherited Alzheimer Network. Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease. N Engl J Med. 2012 ;367:795-804
2. Sekiyama K, **Waragai M**, Akatsu H, Sugama S, Takenouchi T, Takamatsu Y, Fujita M, Sekigawa A, Rockenstein E, Inoue S, La Spada AR, Masliah E, Hashimoto M. Disease-Modifying Effect of Adiponectin in Model of  $\alpha$ -Synucleinopathies. Ann Clin Transl Neurol. 2014;1:479-489.
3. **Waragai M**, Yoshida M, Mizoi M, Saiki R, Kashiwagi K, Takagi K, Arai H,

- Tashiro J, Hashimoto M, Iwai N, Uemura K, Igarashi K. Increased protein-conjugated acrolein and amyloid- $\beta$ 40/42 ratio in plasma of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2012; 32:33-41.
4. Mizoi M, Yoshida M, Saiki R, **Waragai M**, Uemura K, Akatsu H, Kashiwagi K, Igarashi K. Distinction between mild cognitive impairment and Alzheimer's disease by CSF amyloid  $\beta$ 40 and  $\beta$ 42, and protein-conjugated acrolein. *Clin Chim Acta.* 2014;430:150-5.
  5. Yoshida M, Higashi K, Kuni K, Mizoi M, Saiki R, Nakamura M, Waragai M, Uemura K, Toida T, Kashiwagi K, Igarashi K. Distinguishing mild cognitive impairment from Alzheimer's disease with acrolein metabolites and creatinine in urine. *Clin Chim Acta.* 2015; 441:115-21.
  6. **Waragai M**, Hata S, Suzuki T, Ishii R, Fujii C, Tokuda T, Arai H, Ohru T, Higuchi S, Yoshida M, Igarashi K, Moriya M, Iwai N, Uemura K. Utility of SPM8 plus DARTEL (VSRAD) combined with magnetic resonance spectroscopy as adjunct techniques for screening and predicting dementia due to Alzheimer's disease in clinical practice. *J Alzheimers Dis.* 2014; 41:1207-22
  7. Omori C, Kaneko M, Nakajima E, Akatsu H, **Waragai M**, Maeda M, Morishima-Kawashima M, Saito Y, Nakaya T, Taru H, Yamamoto T, Asada T, Hata S, Suzuki T; Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Increased levels of plasma

p3-alca35, a major fragment of Alcadeina by  $\gamma$ -secretase cleavage, in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2014;39:861-70.

## 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 )

[ 雑誌論文 ] ( 計 6 件 )

1. Sekiyama K, **Waragai M**, Akatsu H, Sugama S, Takenouchi T, Takamatsu Y, Fujita M, Sekigawa A, Rockenstein E, Inoue S, La Spada AR, Masliah E, Hashimoto M. Disease-Modifying Effect of Adiponectin in Model of  $\alpha$ -Synucleinopathies. *Ann Clin Transl Neurol.* 2014 Jul 3; 1(7):479-489. PubMed PMID: 25126588; PubMed Central PMCID: PMC4128281.

**査読： 有**

2. **Waragai M**, Yoshida M, Mizoi M, Saiki R, Kashiwagi K, Takagi K, Arai H, Tashiro J, Hashimoto M, Iwai N, Uemura K, Igarashi K. Increased protein-conjugated acrolein and amyloid- $\beta$ 40/42 ratio in plasma of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2012; 32:33-41. PMID: 22751175 **査読： 有**

3. Mizoi M, Yoshida M, Saiki R, **Waragai M**, Uemura K, Akatsu H, Kashiwagi K, Igarashi K. Distinction between mild cognitive impairment and Alzheimer's disease by CSF amyloid  $\beta$ 40 and  $\beta$ 42, and protein-conjugated acrolein. *Clin Chim Acta.* 2014;430:150-5. doi: 10.1016/j.cca.2014.01.007. **査読： 有**

4. Yoshida M, Higashi K, Kuni K, Mizoi M,

Saiki R, Nakamura M, Waragai M, Uemura K, Toida T, Kashiwagi K, Igarashi K. Distinguishing mild cognitive impairment from Alzheimer's disease with acrolein metabolites and creatinine in urine. Clin Chim Acta. 2015; 441:115-21.

doi: 10.1016/j.cca.2014.12.023.

**査読： 有**

5. **Waragai M**, Hata S, Suzuki T, Ishii R, Fujii C, Tokuda T, Arai H, Ohru T, Higuchi S, Yoshida M, Igarashi K, Moriya M, Iwai N, Uemura K. Utility of SPM8 plus DARTEL (VSRAD) combined with magnetic resonance spectroscopy as adjunct techniques for screening and predicting dementia due to Alzheimer's disease in clinical practice. J Alzheimers Dis. 2014; 41:1207-22 doi: 10.3233/JAD-132786.

**査読： 有**

6. Omori C, Kaneko M, Nakajima E, Akatsu H, **Waragai M**, Maeda M, Morishima-Kawashima M, Saito Y, Nakaya T, Taru H, Yamamoto T, Asada T, Hata S, Suzuki T; Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Increased levels of plasma p3-alca35, a major fragment of Alcadeina by  $\gamma$ -secretase cleavage, in Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis. 2014;39:861-70.

doi: 10.3233/JAD-131610. **査読： 有**

[学会発表](計 3 件)

**Waragai Masaaki et al. SPM8 plus DARTEL (VSRAD) combined with magnetic resonance spectroscopy are useful for screening and predicting dementia due to Alzheimer's disease in**

**clinical practice. Alzheimer's Association International Conference(AAIC) July 15 , 2014.Copenhagen, Denmark**  
**Waragai Masaaki et al. MRI using voxel-based specific regional analysis system for Alzheimer's disease and magnetic resonance spectroscopy are useful methods for routine management of Alzheimer's diseases Alzheimer's Association International Conference (AAIC). July 17, 2013. Boston, MA, USA,**  
**Waragai Masaaki et al. Increased protein-conjugated acrolein and amyloid- $\beta$  40/42 ratio in plasma from patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. Alzheimer's Association International Conference (AAIC), July 16, 2012. , Vancouver, British Columbia, Canada**

[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：

出願年月日：

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 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

(2)研究分担者

( 0 )

研究者番号：

(3)連携研究者

( 0 )

研究者番号：