

平成 31 年 4 月 12 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2018

課題番号：26282126

研究課題名(和文) 血中A 除去によるアルツハイマー病治療システムの腎不全患者における予備的臨床研究

研究課題名(英文) Development of blood Abeta removal system toward a preliminary clinical study

研究代表者

北口 暢哉 (Kitaguchi, Nobuya)

藤田医科大学・保健学研究科・教授

研究者番号：70508077

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：医療機器を用いて血中A を除去することで脳内A を減少させ、アルツハイマー病を治療・予防するシステムを創製している。本研究課題では、1) 血中A モノマを高効率で除去できる濾過吸着システム、2) 血中A オリゴマ除去システム、3) 血中A モノマ・オリゴマ同時除去システムを各々構築した。さらに、ラットでは血中A を60分間除去すれば脳内A が減少すること、ヒトでは、血中A が除去される血液透析患者の脳内A 沈着量が減少することを病理解析および脳イメージングで明らかにした。これらを踏まえて、軽度認知障害・軽度アルツハイマー病患者の血中A 除去療法の臨床研究を開始した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は、アルツハイマー病の原因物質のひとつであるA を、血中から除去することで脳内量を減少させるアルツハイマー病治療・予防機器を創製しつつある。本研究期間内に、A モノマだけでなく、神経毒性がより強いAオリゴマも除去できるシステムを構築できた。さらに、血中A 除去で脳内A が減少することも明らかにできたので、医師主導の小規模臨床研究を開始した。医薬は体内に薬物を「入れる」治療だが、我々の方法は、血液の体外循環というハードルは有るものの、原因物質を物理化学的に「除く」方法なので副作用は少ないと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We have been developing Extracorporeal Blood A Removal System for therapy and prevention of Alzheimer's disease. During this KAKENHI study, we created 1) adsorptive filtration systems for highly efficient removal of A monomers, 2) Removal system of blood A oligomers, 3) Simultaneous removal systems of blood A monomers and oligomers. In vivo study, we revealed that brain A was decreased by blood A removal for 60 min in rats using cerebrospinal fluid and brain homogenates, and in hemodialysis patients, whose blood A s are removed thrice a week, by histopathological study and A imaging. Based on these findings, we have started a preliminary pilot study of blood A removal for patients with mild Alzheimer's disease and Mild Cognitive Impairment (MCI).

研究分野：血液浄化、生化学、医用材料工学、医療機器、アルツハイマー病

キーワード：認知症 アルツハイマー病 アミロイドベータ A 血中A 除去 医療機器 臨床研究 血液透析

1. 研究開始当初の背景

1. 研究の学術的背景

アルツハイマー病の主な原因物質として、アミロイド β ($A\beta$)とタウがあり、 $A\beta$ にはモノマと、それが凝集したオリゴマとが存在する。

1) 本応募の研究代表者 北口は、 $A\beta$ の新規な前駆体の発見を緒として、以前からアルツハイマー病の原因は脳に蓄積する $A\beta$ と考え研究を進めてきた (KPI ドメインを有する $A\beta$ 前駆体 (APP751,APP770) の発見 (Kitaguchi, et al. Nature 1988, Biochem. Biophys. Acta. 1990 等など)。

さらに、北口は企業における血液浄化用医療機器の開発経験を有していた。

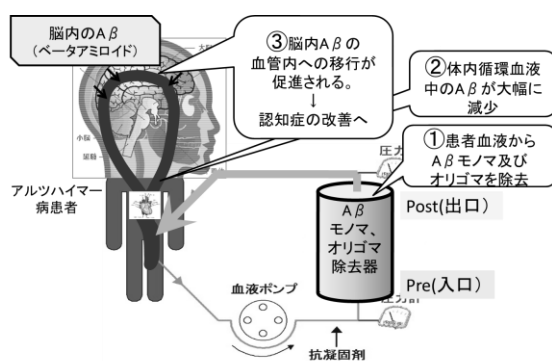
2) 研究開始時のアルツハイマー病治療法として、 $A\beta$ に対する抗体の末梢血への投与や $A\beta$ ワクチン療法が試みられた結果、脳内 $A\beta$ の減少は確認された。しかし、認知機能については、一部で改善がみられたが、総じて軽-中等度アルツハイマー病患者では効果が不十分で、より早期段階 ($A\beta$ の脳内蓄積がすでに起こっている) での介入試験が実施されつつあった。特に、抗 $A\beta$ 抗体の投与では、血中には $A\beta$ モノマがむしろ高濃度で長期間滞留することが明らかとなった。また、神経毒性の強い $A\beta$ オリゴマの除去については明確となっていなかった。

3) $A\beta$ 前駆体 APP の点変異でアルツハイマー病発症リスクが大幅に低下することも明らかになった (Jonsson et al., nature 2012)。

2. 研究の目的

本応募者らはアルツハイマー病アミロイドベータ蛋白($A\beta$)を血中から除去することにより、脳内 $A\beta$ を減少させてアルツハイマー病を治療する医療機器システムを創製しつつある。本研究課題開始までに①血液透析用中空糸デバイス(ダイアライザ)や血液浄化用吸着材により、血中 $A\beta$ モノマを高効率で除去し、即時的に体内から $A\beta$ を低減できる方法を創出、②特定素材の中空糸による血液透析で、血中 $A\beta$ モノマが除去され、同時に、血中への $A\beta$ 湧出しが起こることを見出した。

それらを踏まえて、本研究課題では、1) $A\beta$ オリゴマ除去を行えるデバイスの開発、2) Proof of Concept の一環として、血中 $A\beta$ の除去 (血液透析) によって腎不全患者の脳内 $A\beta$ が減少するかを、 $A\beta$ イメージング等により小規模の横断研究・前向き研究で明らかにする、3) 認知障害腎不全患者への血中 $A\beta$ 除去介入による予備的臨床研究を開始する、ことを目的とする。



3. 研究の方法

1) ヒトに関わる研究は、藤田医科大学医学研究倫理審査委員会等の承認と書面による患者同意を得て、また、ラットに関する研究は、藤田医科大学動物実験委員会の承認を得て行った。 $A\beta$ モノマ、オリゴマは ELISA キットを用い、血漿タウは Simoa を用いて測定した。

2) $A\beta$ モノマ、オリゴマ除去システムの構築：細孔(ポア)サイズの異なる中空糸デバイス(小孔径ダイアライザ、中孔径ダイアライザ、さらにアルブミンを通過させる大孔径の血漿成分分画膜2種)を用いて、 $A\beta$ オリゴマの除去、及び、 $A\beta$ モノマのより効率的な除去を検討する。ヒト血漿は、血漿交換療法で廃棄されたものを患者同意を得て使用した。

3) ラットでは、吸着材 (HexDC) を充填したミニカラムを用いて麻酔下で血中 $A\beta$ を除去した。血液だけでなく、大槽から採取した脳脊髄液、脳ホモジネート中の $A\beta$ を測定した。

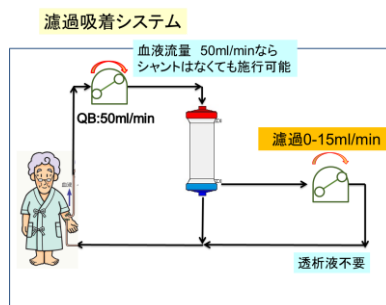
4) 血液透析患者、及び、透析導入直前の腎不全患者の血中 $A\beta$ 濃度を測定した。脳 $A\beta$ は、国立長寿医療研究センターの脳 $A\beta$ イメージング (PiB/PET) で測定した。

5) 透析患者、対照者の解剖脳は、連絡がつく限りご遺族の同意を得て研究に供した。

4. 研究成果

1) より効率の高い $A\beta$ モノマ除去システムとして「中空糸を用いた濾過吸着システム」を構築した。プール血漿の $A\beta$ モノマ濃度低減率は濾過流量に依存し、血漿流量の 20% 程度の濾過流量で十分な除去率向上効果が確認できた。さらに、透析膜を用いた 1 段法での濾過透析システムについて、圧損発生デバイスを 3D プリンターで作成し、ほぼ目的とする濾過流量、血流量が 1 ポンプで実現できることを確認した。ヒト血漿を用いて 1 ポンプで血中 $A\beta$ の除去を検討したところ、10 分間程度の短時間で高効率に血中 $A\beta$ 1-40、 $A\beta$ 1-42 とも除去できた。(in vitro)

2) 血液透析用ダイアライザの濾過吸着や吸着材 HexDC では血中 $A\beta$ オリゴマはあまり除去できなかったが、ポアサイズの大きな血漿成分分画膜では $A\beta$ オリゴマが中空糸内腔にとどまり、



その内液を廃棄することで Aβ オリゴマが効率よく除去できた。条件を選べば血漿プール中の血中 Aβ オリゴマが 90%除去できた。また、血中に存在する Aβ オリゴマはアルブミンより大きいと考えられた。さらに、血中 Aβ モノマとオリゴマを同時除去するシステムを構築した。Aβ モノマを高効率で除去すると、高分子 Aβ オリゴマが低分子オリゴマに解離することが確認された。(in vitro)

3) 血漿成分分画膜を用いた二重濾過療法を施行した患者では、血中 Aβ オリゴマは効率よく除去され、90 分の血液浄化で血中濃度はほぼゼロになった。血中 Aβ オリゴマ除去によって、血中への Aβ オリゴマの湧き出しが惹起された症例もあった。(in vivo)

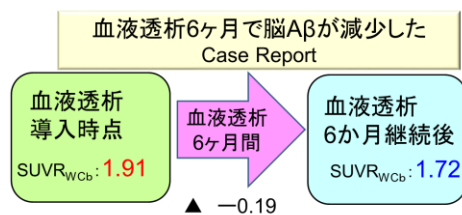
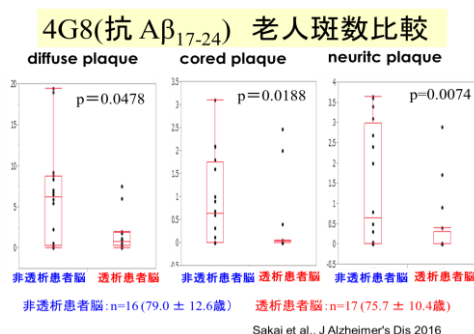
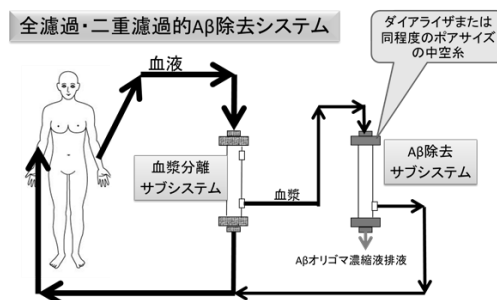
4) 血液透析患者死後脳および年齢対応非透析者脳を病理解析した結果、大脳皮質に沈着する Aβ は透析患者で有意に少なかった。さらに、透析患者脳の脳血管アミロイドシス (CAA) も有意に少なく、脳血管壁を通して脳 Aβ が血中に湧き出す可能性が示唆された。(in vivo)

5) HexDC カラムを用いて正常ラット(若年)の血中 Aβ を 1 時間除去すると、カラムを通過する Aβ を 90%程度除去しているにも関わらず、血中 Aβ 濃度は上昇し、脳脊髄液中の Aβ が有意に減少することを見出した。さらに、脳ホモジネート中の Aβ も血中 Aβ 除去で減少することから、脳実質から髄液へ、さらには血液へ Aβ が移行することが確認された。(in vivo)

6) 透析導入時に脳 Aβ 陽性 (PiB/PET) であった軽度認知障害 (MCI) 腎不全患者は、透析導入 6 ヶ月後に脳 Aβ が減少していた。(in vivo)

7) 血液透析中のタウ蛋白についても検討した。ダイアライザでは血中タウは除去できないが、血中 Aβ 除去に伴い Aβ が血中に湧き出す際に、タウも湧き出すことが確認された。(in vivo)

8) 予備的臨床研究 (REMOVE) : 認知症専門医、腎臓内科医、血液浄化センター、脳 Aβ イメージング担当医からなる臨床研究体制を構築した。脳 Aβ 蓄積を確認した軽度アルツハイマー病患者 1 例および MCI 患者 1 例のリクルートに成功し、血中 Aβ 除去を開始した。(in vivo)



5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 7 件)

① [Nobuya Kitaguchi](#), Harutsugu Tatebe, [Shinji Matsunaga](#), [Hajime Takechi](#), [Shigeru Nakai](#), [Yukio Yuzawa](#), Takahiko Tokuda, et al., Influx of tau and amyloid-β proteins into the blood during hemodialysis as a therapeutic extracorporeal blood Aβ removal system for Alzheimer's disease. Journal of Alzheimer's Disease, 査読有 2019: in press

② [Nobuya Kitaguchi](#), Takashi Kato, [Shinji Matsunaga](#), [Hajime Takechi](#), [Yukio Yuzawa](#), [Kengo Ito](#), et al., Removal of blood amyloid-β with hemodialysis reduced brain amyloid-β, confirmed by brain imaging: A case report. Neuropsychiatric Disease and Treatment 査読有 2018;14:2931-2937 DOI <https://doi.org/10.2147/NDT.S186118>

③ [Shigeru Nakai](#), [Nobuya Kitaguchi](#), et al., Is hemodialysis itself a risk factor for dementia? An analysis of nationwide registry data of patients on maintenance hemodialysis in Japan. Renal Replacement Therapy 査読有 2018;4:12. DOI <https://doi.org/10.1186/s41100-018-0154-y>

④ [Nobuya Kitaguchi](#), Kazunori Kawaguchi, [Yukio Yuzawa](#), et al., Adsorptive filtration systems for effective removal of blood amyloid β: a potential therapy for Alzheimer's disease. J Artif Organs. 査読有 2018;21:220-229. DOI: 10.1007/s10047-017-1012-3.

⑤ Kazuyoshi Sakai, Masato Abe, [Shigeru Nakai](#), [Yukio Yuzawa](#), [Nobuya Kitaguchi](#), et al., Patients That Have Undergone Hemodialysis Exhibit Lower Amyloid Deposition in the Brain: Evidence Supporting a Therapeutic Strategy for Alzheimer's Disease by Removal of Blood Amyloid. J Alzheimer's Disease. 査読有 2016;51:997-1002 DOI 10.3233/JAD-151139

⑥ Kazunori Kawaguchi, Akira Saigusa, [Shigeru Nakai](#), [Yukio Yuzawa](#), [Nobuya Kitaguchi](#), et al., Toward the treatment for Alzheimer's disease: Adsorption is primary mechanism of removing amyloid β protein with hollow-fiber dialyzers of the suitable materials, Polysulfone and polymethyl methacrylate. J Artif Organs. 査読有 2016;19:149-158. DOI 10.1007/s10047-015-0878-1

⑦ Kitaguchi N, Hasegawa M, Kawaguchi K, Nakai S, Ito K, Yuzawa Y, et al., A prospective study on blood A β levels and the cognitive function of patients with hemodialysis: a potential therapeutic strategy for Alzheimer's disease. J Neural Transm 査読有 2015;122:1593-1607. DOI: 10.1007/s00702-015-1431-3

[学会発表] (計 35 件)

- ① Yuta Saito, Moe Kobayakawa, Yukio Yuzawa, Nobuya Kitaguchi, et al., Removal of A β oligomers from the blood using hollow fibers; a potential therapeutic system for Alzheimer's disease. Alzheimer's Association International Conference AAIC 2018. July 23, 2018 Chicago, U.S.A.
 - ② Nobuya Kitaguchi, Kazunori Kawaguchi, Jun Kinomura, et al., Alzheimer's Association International Conference AAIC 2017. July 17, 2017 London, UK.
 - ③ Hiroshi Morikawa, Yukio Yuzawa, Nobuya Kitaguchi, et al., Potential therapeutic system for Alzheimer's disease by removal of blood A β ; Effects of blood purification period on A β removal efficiencies in hemodialysis patients. Alzheimer's Association International Conference AAIC 2017 July 17, 2017 London, UK.
 - ④ Hiroshi Morikawa, Shigeru Nakai, Nobuya Kitaguchi, et al., Potential therapeutic system for Alzheimer's disease by removal of blood A β ; Efficient A β removal system by enhancing adsorption on hollow fibers with hemodiafiltration. Alzheimer's Association International Conference AAIC 2016 July 25, 2016 Toronto, Canada.
 - ⑤ Kazuyoshi Sakai, Masato Abe, Shigeru Nakai, Yukio Yuzawa, Nobuya Kitaguchi, et al., Evidence supporting a therapeutic strategy for Alzheimer's disease by removal of blood amyloid; Patients that have undergone hemodialysis exhibit lower Amyloid deposition in the brain. Alzheimer's Association International Conference AAIC 2016 July 25, 2016 Toronto, Canada.
 - ⑥ Kitaguchi N, Kawaguchi K, Hasegawa M, Sakai K, Shimano Y, Suzuki N, Ishida O, Kato T, Ito K, Sugiyama S, Kato M, Nakai S, Hiki Y, Yuzawa Y, et al., As a model of extracorporeal blood A-beta removal system for Alzheimer's Disease therapy: Prospective study of hemodialysis. The 12th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases and related neurological disorders (AD/PD 2015) March 21, 2015, Nice, France
 - ⑦ N. Kitaguchi, M. Hasegawa, K. Ito, S. Nakai, Y. Yuzawa, et al., Extracorporeal A β Removal System for Alzheimer's Disease Therapy: Most Effective Materials. 41st Annual ESAO Congress (European Society for Artificial Organs, ESAO2014) September 18, 2014, Rome, Italy; Int. J Artif Organs 2014;37(8):620
 - ⑧ 川地宏志, 北口暢哉, 湯澤由紀夫, 他. 血中 A β 除去によるアルツハイマー病治療:腹膜透析と単純血漿交換の A β 除去について. 第 37 回日本認知症学会 2018 年 10 月 札幌
 - ⑨ 酒井一由, 湯澤由紀夫, 北口暢哉, 他. 血中 A β 除去による Alzheimer 病治療をめざして 血液透析患者の老人斑の特徴. 第 37 回日本認知症学会 2018 年 10 月 札幌
 - ⑩ 川口和紀, 北口暢哉, 他. 血中 A β 除去による脳脊髄液 A β 濃度低下にシロスタゾール投与はどうか. 第 37 回 日本認知症学会 2018 年 10 月 札幌
 - ⑪ 齋藤優太, 湯澤由紀夫, 北口暢哉, 他. 血中アミロイド β 蛋白(A β)オリゴマ除去システム: 血漿成分分画器を用いて. 第 37 回 日本認知症学会 2018 年 10 月 札幌
 - ⑫ 北口暢哉. 血中 A β 除去による脳 A β 減少をめざして. 第 8 回日本認知症予防学会 2018 年 9 月 東京
 - ⑬ 酒井一由, 飯塚拓実, 北口暢哉, 他. 血中 A β 除去による Alzheimer 病治療・予防をめざして; 血液透析患者の脳実質と血管の A β 沈着. 第 8 回日本認知症予防学会 2018 年 9 月 東京
 - ⑭ 川口和紀, 近藤大貴, 北口暢哉, 他. 血中 A β 除去によるアルツハイマー病の治療方法の検討〜ドネペジル投与による血液、髄液中の A β 濃度変化〜. 第 8 回日本認知症予防学会 2018 年 9 月 東京
 - ⑮ 川地宏志, 北口暢哉, 湯澤由紀夫, 他. 血中 A β 除去によるアルツハイマー病治療:透析時間別における A β 除去率と湧出量の検討. 第 36 回日本認知症学会 2017 年 11 月 金沢
 - ⑯ 酒井一由, 湯澤由紀夫, 北口暢哉, 他. 血中 A β 除去による Alzheimer 病治療をめざして; 血液透析患者の大脳皮質 CAA. 第 36 回日本認知症学会 2017 年 11 月 金沢
 - ⑰ 川口和紀, 湯澤由紀夫, 北口暢哉, 他. アルツハイマー病治療に向けて: 濾過・吸着を併用した血中 A β 除去システム. 第 36 回日本認知症学会 2017 年 11 月 金沢
 - ⑱ 酒井一由, 湯澤由紀夫, 北口暢哉, 他. 血中 A β 除去による Alzheimer 病治療・予防をめざして; 血液透析患者の脳内 A β 沈着および脳病理組織. 第 7 回日本認知症予防学会 2017 年 9 月 岡山
 - ⑲ 川口和紀, 野村秀太, 北口暢哉, 他. 血中アミロイド β 蛋白(A β) 除去によるアルツハイマー病治療システム: A β 吸着材量の影響. 第 7 回日本認知症予防学会 2017 年 9 月 岡山
- [以下 演題/発表月日略]
- ⑳ 酒井一由, 湯澤由紀夫, 北口暢哉, 他. 第 35 回日本認知症学会 2016 年 東京
 - ㉑ 川口和紀, 北口暢哉, 他. 第 35 回日本認知症学会 2016 年 東京
 - ㉒ 川口和紀, 木野村淳, 北口暢哉, 他. 第 6 回日本認知症予防学会 2016 年 仙台
 - ㉓ 酒井一由, 伊與田亮太, 湯澤由紀夫, 北口暢哉, 他. 第 6 回日本認知症予防学会 2016 年 仙台

- ⑭ 北口暢哉 第 6 回日本認知症予防学会 2016 年仙台
- ⑮ 富澤寛、北口暢哉、他. 第 61 回透析医学会 2016 年大阪
- ⑯ 中井滋、北口暢哉、他. 第 61 回透析医学会 2016 年大阪
- ⑰ 川口和紀、北口暢哉、他. 第 53 回日本人工臓器学会 2015 年東京
- ⑱ 森川宏志、中井滋、北口暢哉、他. 第 34 回日本認知症学会 2015 年青森
- ⑲ 酒井一由、湯澤由紀夫、北口暢哉、他. 第 34 回日本認知症学会 2015 年青森
- ⑳ 加藤夕奈、平林晃知、湯澤由紀夫、中井滋、北口暢哉、他. 第 5 回日本認知症予防学会 2015 年神戸
- ㉑ 川口和紀、酒井一由、中井滋、北口暢哉、他. 第 5 回日本認知症予防学会 2015 年神戸
- ㉒ 北口暢哉. 第 5 回日本認知症予防学会 2015 年神戸
- ㉓ 川口和紀、湯澤由紀夫、北口暢哉、他. 第 33 回日本認知症学会 2014 年横浜
- ㉔ 森川宏志、中井滋、北口暢哉、他. 第 52 回日本人工臓器学会 2014 年札幌
- ㉕ 北口暢哉、中井滋、湯澤由紀夫、他. 第 4 回認知症予防学会 2014 年東京

〔図書〕 (計 3 件)

- ① Akinori Akaike, Shun Shimohama, Yoshimi Misu (Eds.) Nicotinic Acetylcholine Receptor Signaling in Neuroprotection. Springer; 1st ed. (2018/4/4) ISBN 978-981-10-8488-1
Pages 173-191 (total 1-191) Nobuya Kitaguchi, Kazunori Kawaguchi, Kazuyoshi Sakai. Removal of Blood Amyloid As a Therapeutic Strategy for Alzheimer's Disease: The Influence of Smoking and Nicotine
- ② 新井平伊 監修. アルツハイマー病 発症メカニズムと新規診断法・創薬・治療開発. 2018 年 8 月発刊. 460 頁 (株)エヌ・ティー・エス ISBN 978-4-86043-578-3 C3047
p 319-331 第 2 編 第 5 章 第 1 節 血中アミロイド β 除去によるアルツハイマー病治療システムの開発 <北口暢哉, 川口 和紀 >
- ③ Edited by Victor R. Preedy. The Neuroscience of Dementia. Elsevier
Removal of blood amyloid β as an effective and safe therapeutic strategy for Alzheimer's disease. Nobuya Kitaguchi, Kazunori Kawaguchi, Kazuyoshi Sakai. 2019 in press

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 3 件)

名称: Aβ 除去システム

発明者: 北口暢哉 川口和紀

権利者: 学校法人藤田学園

種類: 特許

番号: 特願 2017-108457

出願年: 平成 29 年

国内外の別: 国内

名称: Aβ 除去システム

発明者: 北口暢哉 川口和紀

権利者: 学校法人藤田学園

種類: 特許

番号: 特願 2017-202756

出願年: 平成 29 年

国内外の別: 国内

名称: アミロイド β 除去システム

発明者: 北口暢哉 川口和紀 齋藤優太

権利者: 学校法人藤田学園

種類: 特許

番号: 特願 2018- 88432

出願年: 平成 30 年

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 1 件)

名称: Aβ 除去システム

発明者: 北口暢哉 川口和紀

権利者: 学校法人藤田学園

種類: 特許

番号: 特許査定済み 番号付与中

取得年: 平成 31 年

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：湯澤由紀夫
ローマ字氏名：Yukio Yuzawa
所属研究機関名：藤田医科大学
部局名：医学部
職名：教授
研究者番号（8桁）：00191479

研究分担者氏名：武地 一
ローマ字氏名：Hajime Takechi
所属研究機関名：藤田医科大学
部局名：医学部
職名：教授
研究者番号（8桁）：10314197

研究分担者氏名：松永慎史
ローマ字氏名：Shinji Matsunaga
所属研究機関名：藤田医科大学
部局名：医学部
職名：講師
研究者番号（8桁）：30726641

研究分担者氏名：伊藤健吾
ローマ字氏名：Kengo Ito
所属研究機関名：国立長寿医療研究センター
部局名：認知症先進医療開発センター 脳機能画像診断開発部
職名：部長
研究者番号（8桁）：70184653

研究分担者氏名：中井滋
ローマ字氏名：Shigeru Nakai
所属研究機関名：藤田医科大学
部局名：保健学研究科
職名：教授
研究者番号（8桁）：20345896

研究分担者氏名：武藤多津郎
ローマ字氏名：Tatsuro Muto
所属研究機関名：藤田医科大学
部局名：医学部
職名：教授
研究者番号（8桁）：60190857

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：川口和紀
ローマ字氏名：Kazunori Kawaguchi

研究協力者氏名：酒井一由
ローマ字氏名：Kazuyoshi Sakai

研究協力者氏名：長谷川みどり
ローマ字氏名：Midori Hasegawa

研究協力者氏名：加藤政雄
ローマ字氏名：Masao Kato

研究協力者氏名：伊藤信二
ローマ字氏名：Shinji Ito