

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 26 日現在

機関番号：83801

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19481

研究課題名(和文)アルツハイマー病におけるタウ病変、ミクログリア活性、アミロイド蓄積の病態関連研究

研究課題名(英文)Tau deposition and microglial activation, amyloid deposition Alzheimer disease

研究代表者

寺田 達弘(Terada, Tatsuhiro)

独立行政法人国立病院機構(静岡・てんかん神経医療センター臨床研究部)・神経内科・その他

研究者番号：80550178

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病(AD)のタウ病変を、新たに開発された[11C]PBB3-PETで評価し、脳内炎症とアミロイド沈着との関連を検討した。AD初期ではタウ病変は側頭葉主体に認められたが、進行とともに前頭頭頂葉へと広がっており、Braakの提唱する進展様式と一致した。タウ病変と脳内炎症、アミロイド病変の広がりには相関を示し、アミロイド仮説を支持するとともに、脳内炎症はタウ病変が直接関与していると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Amyloid-beta and tau are representative proteins that characterize the pathology of Alzheimer's disease (AD). It remains unclear whether tau pathology and neuroinflammation occur in parallel. Tau and activated microglia can be depicted in vivo with a newly developed positron emission tomography (PET) tracers [11C]PBB3 and [11C]DPA713, respectively. AD patient at the CDR0.5 exhibited [11C]PBB3 BPND increase in the temporal and frontal cortex. In contrast, AD patient at the CDR1 showed greater elevation of [11C]PBB3 BPND more broadly in the temporal, parietal, and frontal cortices. In the right hippocampus, positive correlation was found between [11C]PBB3 BPND and [11C]DPA713 BPND. In addition, there were significant correlation between increased [11C]PBB3 in the temporal area and amyloid deposition in the frontal area. Our results were consistent with tau spreading known in the AD pathology, and tau deposition may accompany microglial activation in the cerebral cortex.

研究分野：神経内科学

キーワード：アルツハイマー病 タウ ミクログリア アミロイド PET PBB3

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病(AD)は著しく増加している。ADは三大認知症の一つであり、介護量の増加が社会に与える影響は大きい。高齢化社会にさらされている本邦にとってADの克服は重要な課題である。ADの主要病理はアミロイド沈着と神経原線維変化(タウ蛋白病変)と考えられているが、タウ病変の生体イメージングは最近開始されたところであり、タウ病変が脳内環境に与える影響などAD病態との関連は未だ不明である。そこで、新たに開発された薬剤 ^{11}C PBB3を用いてタウ蛋白病変の分布・程度をポジトロン断層法(PET)で撮像し、活性化ミクログリアのトレーサーである ^{11}C DPA713を用いて脳内炎症を評価するとともに、認知機能障害、アミロイドの沈着との関連を検討することで、網羅的にAD病理と病態を明らかにする。

2. 研究の目的

アルツハイマー病(AD)は、初老期以降に発症する認知症疾患であり、臨床的には、記憶障害を中核とする認知機能障害が特徴であるが、進行とともに、視空間障害、計算障害、言語障害など各種認知機能障害および、行動障害、精神症状が出現し、日常生活に支障をきたす認知症に至る。

ADの脳内の主要な病理変化はアミロイドを主要構成成分とする老人斑の沈着とタウ蛋白からなる神経原線維変化(タウ蛋白病変)である考えられている。これまで、アミロイドに特異的に結合する放射性薬剤として ^{11}C PIBが広く使用されており、ADや類似認知症性疾患の生体脳内でのアミロイド蓄積が画像化されている。

しかしながら、これまでの検討で、アミロイドの沈着による老人斑の出現はADの発症の初期段階から始まることからAD診断には有用であるが、ADにおける脳内アミロイド沈着は、発症前か発症早期に既に平衡に達していることが指摘され、病態(神経障害)の進展を予測するバイオマーカーにはなりにくい点も明らかになってきた。

一方、タウ蛋白の沈着からなる神経原線維変化の発現量は、記憶障害をはじめとして各種認知機能障害などADの臨床症状と相関関係があることが報告されている。そのため、タウ蛋白の脳内イメージングはADの早期診断だけでなく、病状診断、病期診断に有用であると考えられる。しかしながら、これまで、タウ蛋白のイメージングに有用なプローブの開発は遅れており、本格的な臨床応用はなされてこなかった。

近年、放射線医学総合研究所(放医研)で、ヒト生体におけるタウ蛋白病変を画像化できる『放射性薬剤

2-[4-(6- ^{11}C methylaminopyridinyl)-1,3-butadienyl]-benzothiazol-6-ol(別名

pyridinyl-butadienyl-benzothiazole 3; ^{11}C PBB3)が開発され、ADの脳内に蓄積するタウ蛋白病変をPETで特異的に可視化できることが報告された。さらに ^{11}C PBB3を用いた定量的測定法や、侵襲的手技である動脈採血を必要としない脳内参照部位を用いた簡便な定量測定法が開発され、より臨床応用しやすくなった。 ^{11}C PBB3とPETをもちいて生体の脳内タウ蛋白病変のイメージングできることは、ADを含めたタウオパチーの診断に極めて有用な可能性が期待され、さらに製薬会社が開発を進めているタウ蛋白病変を治療標的とした新規治療薬の治療効果の評価に重要となる。しかし、ADにおいて、PETで評価したタウ蛋白病変の分布・程度と様々な神経変性疾患の病態との関連に関しては、まだ十分な検討がなされていない。特に、ADの主要な病理変化であるアミロイド沈着とタウ蛋白病変との関連を生体脳で検討した報告は少ない。一方、近年、活性化ミクログリアのマーカーであるミトコンドリア外膜の末梢性ベンゾジアゼピン受容体(18 kDa translocator protein:TSPO)へのリガンドである ^{11}C PK11195や ^{11}C DPA713を用いた検討において、ADの脳内では、ミクログリアの活性の啓示的な上昇が示されており、早期から神経炎症の存在とその進展がADの病態に重要であると報告がされてきている。しかしながら、脳内炎症とタウ病変との関連に関しても十分な検討がなされていない。

本研究では、健常ボランティアとAD症例に対して、新規PETトレーサーである脳内タウイメージング用放射性薬剤 ^{11}C PBB3によるタウ蛋白イメージングを行う。まず、健常対照者の脳内分布を定量的に評価し、正常データベースを作成する。次にAD患者を対象に、 ^{11}C PBB3を用いたPET検査にてタウ病変をイメージングし、正常データベースと比較することで、脳組織におけるタウ蛋白病変の程度と分布を明らかにする。さらに、神経心理学的検査、 ^{11}C PIBおよび ^{11}C DPA713を用いたPET検査の結果と比較することで、タウ蛋白病変が各種認知機能障害、アミロイド蓄積、神経炎症に与える影響を検討する。これにより、 ^{11}C PBB3で評価したタウ蛋白病変の脳病態意義を他の病態変化との関連から明らかにすることができる。本研究により、 ^{11}C PBB3で測定したタウ蛋白病変の分布・程度と脳病態との関連が明らかになれば、アミロイド蓄積とは異なる、ADの客観的で安全性の高い早期診断法、鑑別診断法、病態評価法の確立に寄与することが期待される。

本薬剤をもちいた PET 検査は、視覚的に評価可能なタウ蛋白病変のイメージング製剤として世界で唯一であり、AD の早期診断、病態把握に極めて有用な可能性が期待される。

一方、AD は本邦における三大認知症のひとつとして挙げられている代表的な認知症疾患であるが、根本的な治療方法は開発されていない。AD では大脳皮質においてアセチルコリンの合成酵素であるコリンアセチルトランスフェラーゼ活性が低下し、なおかつ認知機能障害との相関が認められていることから、現在行われている薬物療法の方法は、もっぱら、アセチルコリン系を賦活させる方法が主体である。しかしながら、近年、脳保護作用をもつ薬剤への関心が高まっており、タウ蛋白病変や認知機能検査と脳内炎症との関連を解明することは、その薬剤の保護作用による病態抑制の効果判定に関して、客観的な証拠を得ることができることと期待される。さらに、現在、製薬会社が開発を進めているタウ蛋白病変を治療標的とした新規治療薬の開発が進められているが、今後、これらタウを標的とした治療法の特異的な治療評価法となりうることが期待される。その際、画像的評価を得ることは临床上、きわめて有用である。

3. 研究の方法

年齢を合致させた AD 症例、健常対象者をエントリーする。健常対照者は 20 名 (平均年齢 69.4 ± 8.4 歳) で、対象症例と年齢、性別、教育歴が合致する対象である。あきらかな認知機能障害を認めず、社会生活、日常生活が自立しており、なおかつ Mini-Mental State Examination (MMSE) が 24 点以上で全般的認知機能の低下を認めず、WMS-R (logical memory- /-) にて論理性記憶の低下を認めず、Clinical Dementia Rating (CDR) が 0 で認知症を認めない対象に限定した。

AD 症例は 20 名 (平均年齢 69.4 ± 8.3 歳、男性 7 名、女性 13 名) で、AD の診断基準である NINCDS-ADRDA (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke, Alzheimer and Related Disorders Association) で probable AD に該当する症例、遺伝歴を有さない孤初性 AD 症例、経口摂取が可能で、栄養摂取に胃ろうを必要としない症例に限定した。また、頭部 MRI 画像にて、明らかな脳血管障害、水頭症、脱髄性疾患、外傷、脳腫瘍、脊髄小脳変性症、進行性核上性麻痺、多系統萎縮症、大脳皮質基底核変性症などの認知機能障害をきたしうる疾患を合併する症例や精神疾患の既往を有する症例は除外した。認知機能を主体とした臨床評価は認知症専門医である同一評価者が行い、神経心理学的検査は、以下の項目を施行し、包括的な認知機能障害の評価を行った。各種認知機

能検査は、Mini-Mental State Examination (MMSE) (全般的認知機能の評価)、WMS-R (logical memory- /-) (論理性記憶を評価)、Frontal Assessment Battery (FAB) (前頭葉機能の評価)、Apathy Evaluation Scale (AES) (アパシーの行動観察評価)、Clinical Dementia Rating (CDR) (認知症の包括的重症度の評価)を行った。

PET 検査は 2 日間に分けて 3 種類の放射性薬剤を使用した検査を概ね 2 カ月以内に施行した。1 日目は、AD の確定診断も兼ねて β アミロイドイメージング用放射性薬剤である $[^{11}\text{C}]$ PIB を用いた PET 検査を行う。2 日目は、タウ蛋白イメージング用放射性薬剤である $[^{11}\text{C}]$ PBB3 および $[^{11}\text{C}]$ DPA713 を用いたミクログリア活性の PET 検査を行った。

PET 検査の前に、3-dimensional MRI を撮像する。MRI の撮像には、浜松ホトニクス中央研究所 PET 診断センターに設置されている 1.5 もしくは 3 テスラ MRI を用いた。撮像された情報をもとに、PET 及び MRI ガントリーを ACPC ラインを中心に平行になるようセッティングした。これにより、MRI と PET を superimpose する際に image reslicing が不要となる。したがって、より厳密かつ正確な関心領域の設定が可能となる。

PET の撮像には、浜松ホトニクス中央研究所 PET 診断センターに設置されている浜松ホトニクス社製頭部専用 PET スキャナー SHR12000 を使い、全脳をスキャンした。撮像時の頭部の動きを最小限にする為に、放射線治療時に用いる熱可塑性プラスチックによるフェイスマスクを各被験者毎に作成して使用した。 $[^{11}\text{C}]$ PIB -PET は、オートブランクおよび約 10 分間の吸収補正のためのトランスミッションを撮像後、 $[^{11}\text{C}]$ PBB3 約 15mCi (555MBq) を緩徐に 1 分間で静脈注射し、エミッションを開始し、70 分のダイナミックスキャンを行った。その後 3 時間以上間隔をあけて、約 10 分間のトランスミッションスキャンを撮像後に、 $[^{11}\text{C}]$ DPA713 約 10mCi (370MBq) を同様に静脈内投与し、投与開始と同時に合計 62 分間の脳部位のダイナミック画像の撮像を行った。 $[^{11}\text{C}]$ PIB 検査では、約 10 分間のトランスミッションスキャンを撮像後に $[^{11}\text{C}]$ PIB 約 10mCi (370MBq) を同様に静脈内投与し、投与開始と同時に合計 70 分間の脳部位のダイナミックスキャンを行った。

$[^{11}\text{C}]$ PBB3、 $[^{11}\text{C}]$ DPA713、 $[^{11}\text{C}]$ PIB において、動脈採血が不要で侵襲性を抑えた解析方法である Simplified reference tissue model: SRTM を用いて、Binding potential (BP) 画像を作成する。画像解析は PMOD ソフトウェアを使用する。MRI 上で関心領域(小脳、前頭葉、前部・後部帯状回、側頭

葉、頭頂葉、後頭葉、線条体、海馬、海馬傍回、扁桃体)を設定し、PET 画像に投影する。 $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ では各個人の橋、 $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ では各個人の小脳を参照領域として入力関数を導出し、 $[^{11}\text{C}]\text{DPA713}$ では健常者群の時間放射能曲線を入力関数として、 BP_{ND} パラメトリック画像を作成した。統計画像解析ソフト statistical parametric mapping (SPM)を用いて BP_{ND} パラメトリック画像を標準脳に変換し、AD 症例においてタウ蛋白の沈着に有意な変化を認める部位を two-sample test にて同定した。統計学的有意差は、uncorrected、 $p < 0.0001$ に設定した。同定されたタウ蛋白沈着の程度と部位、活性化ミクログリアとアミロイド沈着の程度、神経心理検査、臨床症状と有意な相関のある脳部位を SPM の correlation analysis にて同定した。得られた画像は PMOD ソフトウェアを用いて MRI 画像と融合させ脳部位の同定を容易にさせる。また、関心領域法を用いて、設定した関心領域ごとに $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ の結合能を求め、同様に β アミロイド沈着、ミクログリア活性の程度、糖代謝、神経心理検査、臨床症状等との関連を SPM の correlation analysis を用いて、検討した。

4. 研究成果

対象の臨床データを table1 に示す。

Table 1. Demographic and clinical characteristics of the Alzheimer's disease (AD) patient group and control groups

	AD patient group (N=20)	Control group for $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ -PET (N=20)	Control group for $[^{11}\text{C}]\text{DPA}$ -PET (N=16)	Normal range	P value
Age (years)	69.4±8.3 (57-81)	69.4±8.4 (48-87)	69.6±6.4 (48-79)		n.s.
Men/women (number)	7/13	9/11	6/10		n.s.
Disease duration (years)					
Clinical Dementia Rating (0/0.5/1)	0/9/11	20/0/0	16/0/0	0	
Mini-Mental State Examination (30)	22.3±4.3 (14-30)	28.1±2.1 (24-30)	27.8±2.2 (24-30)	>23	
Wechsler Memory Scale-Revised	4.3±5.4 (0-16)	24.0±10.0 (-17)	25.5±10.5 (-45)	>13	
Logical memory					
Frontal Assessment Battery (/18)	9.5±2.6 (6-15)	14.3±2.3 (10-17)	14.3±2.0 (11-17)		

Data are presented as mean ± SD (range). *, $P < 0.05$

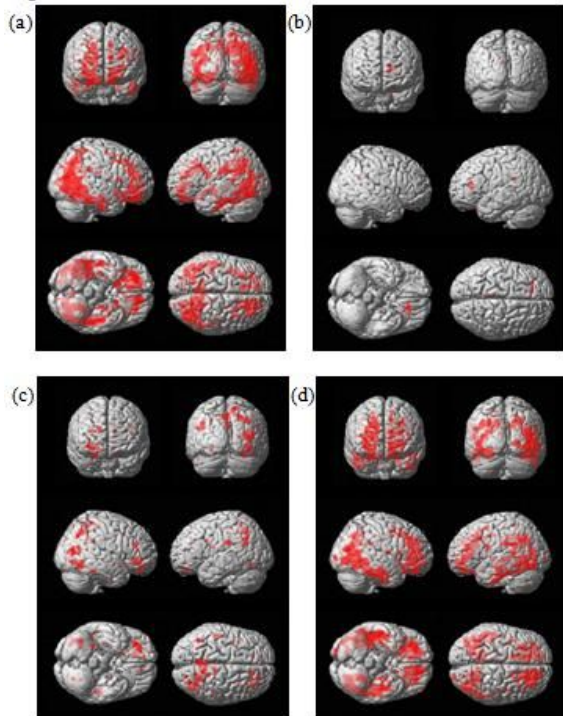
AD 群において健常群と比較して $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ の BP_{ND} が上昇している部位の同定

AD 群では、正常群と比較して、側頭葉を中心に、前頭葉、後頭葉、頭頂葉にて、 $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ の BP_{ND} が上昇していた (figure1a)。AD-CDR0.5 群では、正常群と比較して、側頭葉を中心に、 $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ の BP_{ND} が上昇していたが (figure1c)、CDR1 群では、さらに前頭葉、後頭葉、頭頂葉におよんでいた (figure1d)。また、AD-CDR0.5 と AD-CDR1 とを比較すると、前頭葉にて有意差を示し、同部位の進展が有意であった (figure1b)。

AD 群において健常群と比較して $[^{11}\text{C}]\text{DPA}$ の BP_{ND} が上昇している部位の同定

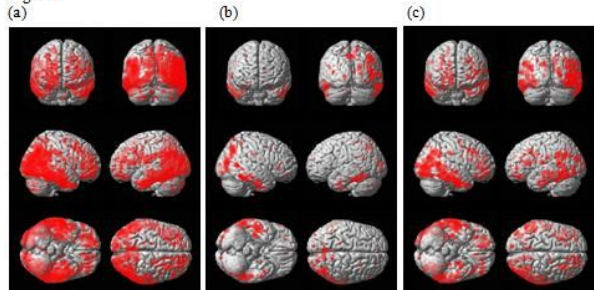
AD 群では、正常群と比較して、後頭葉、側頭葉を中心に、前頭葉にまで、 $[^{11}\text{C}]\text{DPA}$ の BP_{ND} が上昇していた (figure2a)。D-CDR0.5 群では、正常群と比較して、側頭

Figure 1



A 葉、後頭葉を中心に (figure2b)、 $[^{11}\text{C}]\text{DPA}$ の BP_{ND} が上昇していたが、CDR1 群では、さらに前頭葉、頭頂葉におよんでいた (figure2c)。

Figure 2



AD 群における、 $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ の BP_{ND} と各種臨床データとの相関解析

AD 群では、MMSE の点数の低下と、側頭葉から前頭葉にかけての $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ の BP_{ND} の上昇とに有意な相関を示した (figure3)。

内側側頭葉の $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ BP_{ND} と正の相関関係を示した $[^{11}\text{C}]\text{DPA}$ BP_{ND} の脳部位

AD 群では、内側側頭葉の $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ BP_{ND} が上昇するほど、左上側頭回の $[^{11}\text{C}]\text{DPA}$ BP_{ND} が上昇する傾向にあった (figure4a)。P 値を緩くすると、その領域は側頭葉全体に広がっていた (figure4b、c)。

側頭葉の $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ BP_{ND} と負の相関関係を示した $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ SUVR 画像の脳部位の同定

AD 群では、側頭葉の $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ BP_{ND} が上昇するほど、precuneus の $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ SUVR 値が低下する傾向にあった (figure5)。

Figure 3

(a)MMSE

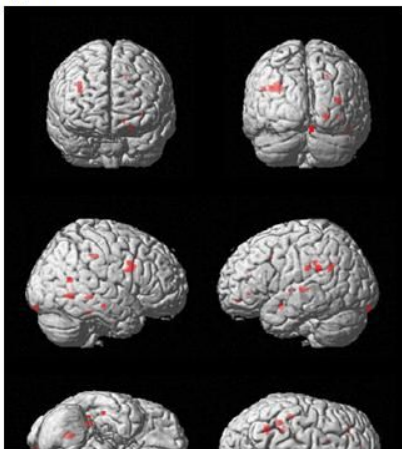
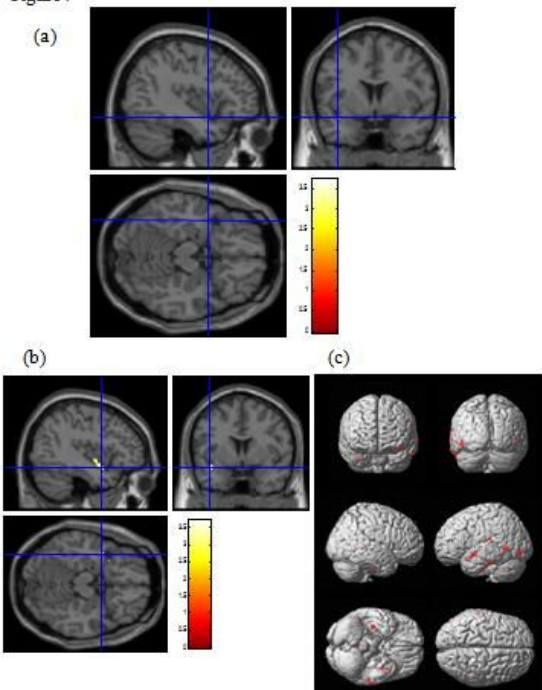


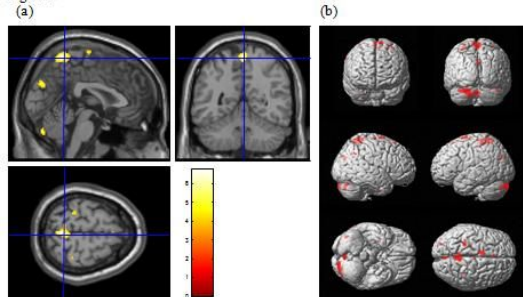
Figure4



外側側頭葉の $[^{11}\text{C}]$ PBB3 BP_{ND} と正の相関関係を示した $[^{11}\text{C}]$ PIB SUVR 画像の脳部位の同定

AD 群では、外側側頭葉の $[^{11}\text{C}]$ PBB3 BP_{ND} の上昇と前頭葉から側頭葉にかけての $[^{11}\text{C}]$ PIB SUVR 値の上昇との間に有意な相関関係を認めた (figure6)。

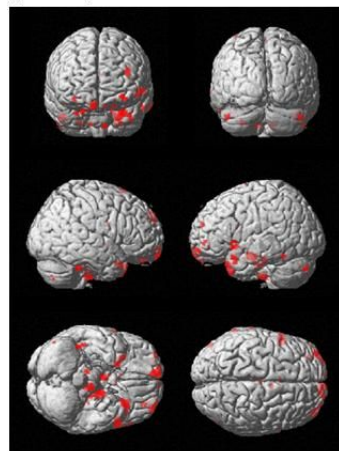
Figure 5



同一脳部位(ROI)における $[^{11}\text{C}]$ PBB3 BP_{ND} と $[^{11}\text{C}]$ DPA BP_{ND} との相関

Figure 6

(a)PBB in temporal-PIB



同一 ROI において、AD 症例のみでは、 $[^{11}\text{C}]$ PBB3 BP_{ND} と $[^{11}\text{C}]$ DPA BP_{ND} の間に有意な相関関係を認めなかった。

しかし、正常群と AD 群をあわせた集団では、右海馬において、 $[^{11}\text{C}]$ PBB3 BP_{ND} と $[^{11}\text{C}]$ DPA BP_{ND} の間に有意な正の相関関係を認めた (figure7a)。さらに、正常群と AD-CDR0.5 群をあわせた集団では、その傾向がさらに強まっていた (figure7b)。

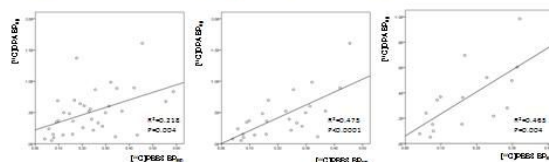
一方、正常群のみでも、 $[^{11}\text{C}]$ PBB3 BP_{ND} と $[^{11}\text{C}]$ DPA BP_{ND} の間に相関関係を認めた (figure7c)。

Figure 6: PBB-DPA in right hippocampus

(a)AD+NP

(b)CDR0.5+NP

(c)NP



結論

CDR0.5 では、タウ病変は側頭葉主体に認められたが、CDR1 では、前頭葉、後頭葉、頭頂葉へと広がっており、Braak の提唱するタウの進展様式と一致した。以上から、 $[^{11}\text{C}]$ PBB3-PET で、早期 AD のタウ病変を把握できていると考えられる。

MMSE の低下と、側頭葉から前頭葉にかけてのタウ病変の広がりとの相関関係をしめしたことは、タウ病変の広がり認知機能の低下に直接かかわっていることを示していると思われる。

$[^{11}\text{C}]$ DPA-PET による検討では、側頭、後頭、前頭葉を中心に活性化ミクログリアの進展を示し、これらの結果は過去の報告に合致した。AD では、早期から脳内炎症が広範に広がっていることが示唆された。

活性化ミクログリアの進展様式は、タウ病変の広がりとは重なり合う傾向にあったが、タ

ウの沈着とミクログリアの活性の同一部位による直接効果は右海馬に認めただけであった。この傾向は、AD群と正常群を合わせた集団よりも、CDRO.5と正常群を合わせた集団、および正常群のみの集団でより強く示された。

活性化ミクログリアの進展には、タウ病変が直接関与しているものと考えられた。その関連が一部でしか示されなかったことは、活性化ミクログリアの進展が、早期のADにおいても、すでに広範に広がっており、一部はプラトーに達している事が要因と考えられる。

内側側頭葉のタウ病変が上昇するにしたがって、その近傍である上側頭回における活性化ミクログリアが上昇する傾向にあった。以上から、活性化ミクログリアの進展には、内側側頭葉のタウ病変における遠隔効果も関与していると考えられた。

側頭葉のタウ病変が上昇するにしたがって、ADの糖代謝の低下の特徴と考えられている precuneus の¹⁸F]FDG-PETの低下が強くなる傾向にあった。以上から、タウ病変の広がりが認知機能の低下に直接かかわっていることを示していると思われる。

外側側頭葉のタウ病変が上昇と、前頭葉から側頭葉にかけてのアミロイド病変の広がりとの相関関係を示したことは、アミロイド仮説を支持する結果と考えられた。

5. 主な発表論文等

(分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

Tatsuhiko Terada, Tomokazu Obi, Jun Miyata, Manabu Kubota, Miho Yoshizumi, Toshiya Murai, Kinya Yamazaki and Kouichi Mizoguchi: Correlation of frontal atrophy with behavioral changes in amyotrophic lateral sclerosis, Neurology and Clinical Neuroscience. 2016; 4(3): 85-92.

Tatsuhiko Terada, Masamichi Yokokura, Etsuji Yoshikawa, Masami Futatsubashi, Satoshi Kono, Takashi Konishi, Hiroaki Miyajima, Takanori Hashizume, Yasuomi Ouchi. Extrastriatal spreading of microglial activation in Parkinson's disease: a positron emission tomography study. Ann Nucl Med. 2016;30(8):579-87.

[学会発表](計3件)

Tatsuhiko Terada, Tomoyasu Bunai, Etsuji Yoshikawa, Masami Futatsubashi, Yoshio Omote, Matsudaira Takashi, Yasukiyo Araki, Akira Sugiura² Tomokazu Obi, Yasuomi Ouchi. Tau deposition and cognitive decline in early stage

Alzheimer disease, 第39回日本神経科学大会. 2016年7月20-22日. 横浜

Tatsuhiko Terada, Masamichi Yokokura, Tomoyasu Bunai, Etsuji Yoshikawa, Masami Futatsubashi, Yoshio Omote, Matsudaira Takashi, Yasukiyo Araki, Akira Sugiura, Tomokazu Obi, Yasuomi Ouchi. Tau deposition and microglial activation in early stage Alzheimer disease. Neuroscience 2016. San Diego, 2016

寺田達弘. Cortical thickness and frontal dysfunction in Parkinson's disease. 第57回日本神経学会学術大会 2016年5月18-20日. 神戸

[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 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

寺田達弘 (Tatsuhiko Terada)

静岡てんかん神経医療センター 医師

浜松医科大学 生体機能イメージング研究室 特任研究員

研究者番号: 80550178

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4) 研究協力者

()