

令和 3 年 5 月 17 日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15461

研究課題名(和文) 高感度デジタルELISA法によるアルツハイマー病血液バイオマーカーの開発

研究課題名(英文) Development of blood biomarkers for Alzheimer's disease using high sensitivity digital ELISA method

研究代表者

建部 陽嗣 (Tatebe, Harutsugu)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 脳機能イメージング研究部・研究員(任常)

研究者番号：00637027

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)：超高感度デジタルアッセイ技術であるSimoa(Single molecular array; 米国 Quanterix社)を導入し、世界で初めて、ヒトの血液中でアルツハイマー病(AD)バイオマーカーの1つであるp-tau(リン酸化タウ蛋白)をfg/mLのオーダーで検出できる定量系を開発してきた。p-tauに加えて、ADの他のコア・バイオマーカーである、A₄₀、A₄₂、t-Tau(タウ蛋白)、NF-L(ニューロフィラメント軽鎖)に関して多施設の血液・髄液サンプル測定を行った。その結果、全ての物質をSimoaにて安定して測定できることを確認することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は、超高感度デジタルアッセイ技術であるSimoaを用いて、ヒトの血液中でアルツハイマー病(AD)バイオマーカーを測定する方法の開発をおこなってきた。血液検査でAD特異的な物質を測定することに成功している。今後、認知症診断において簡便で安価な検査方法として、この血液バイオマーカーを利用できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We have introduced Simoa (Single molecular array), an ultrasensitive digital assay technology, to introduce phosphorylated tau (p-tau), one of the Alzheimer's disease (AD) biomarkers, in human blood for the first time in the world. We have developed a quantitative system that can be detected on the order of fg/mL.

In addition to p-tau, we have multicenter blood and cerebrospinal fluid for other core biomarkers of AD, A₄₀, A₄₂, t-Tau (total tau protein), NF-L (neurofilament light chain). Sample measurements were taken. As a result, it was confirmed that all substances can be stably measured with Simoa.

研究分野：神経内科学

キーワード：血液バイオマーカー 認知症 リン酸化タウ 高感度ELISA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

わが国の認知症高齢者数は 500 万人を超え、アルツハイマー病 (AD) はその 5~7 割とされる。

認知症の治療法開発が進むなかで、早期診断や病態評価のための簡便なバイオマーカーの必要性が高まっている。これまでの研究により、髄液中の Aβ42、タウ、リン酸化タウ (p-tau) が、国際的に確立されたアルツハイマー病 (AD) の髄液バイオマーカー (コア・バイオマーカー) と位置付けられている。その診断価値は確立されているものの、その侵襲性、検査の専門性、非効率性といった観点から普及するには至っていない。

わが国では、PET や MRI を用いた画像バイオマーカーの進歩が著しいものの、その高コスト、非効率性が問題となる。その短所を補うことのできる生化学バイオマーカーとして血液バイオマーカーが注目されている。

髄液に比べて血液中に存在するコア・バイオマーカーの濃度は非常に低く、検出することが困難であった。

我々は、超高感度デジタルアッセイ技術である Simoa (Single molecular array; 米国 Quanterix 社) をいち早く導入し、世界で初めて、ヒトの血液中で p-tau を fg/mL のオーダーで検出できる定量系を開発することに成功した。

2. 研究の目的

本研究では、より AD 特異的な血液バイオマーカーを特定し、臨床応用するための研究基盤を確立する。

- 1) より多くの AD 患者血液サンプルの血液バイオマーカーを測定し、有用性を確認する。
- 2) より高感度・特異性を持った血液バイオマーカーを探索する。
- 3) 他の神経変性疾患への応用を検討する。

3. 研究の方法

- 1) 多施設から血液サンプルを提供してもらい、Simoa システムを使って、AD バイオマーカーを測定する。測定の正確性、安定性を評価する。
- 2) より感度・特異度の高い p-tau 測定系を開発するため、タウ PET を撮像した患者の血液サンプルを用いて p-tau を測定し、その関連について調べる。
- 3) その他、神経変性疾患に対する抗体を用い、Simoa 測定系を作成する。

4. 研究成果

1) 透析を受けている患者の血中 t-tau を測定すると、血液透析を受けたかどうかに関係なく腎不全の患者でより高く、タウの分解と排泄への腎臓の関与が示唆された (図 1)。血液透析器では血中 A は効率よく除去されたが、血中タウは除去することはなかった。

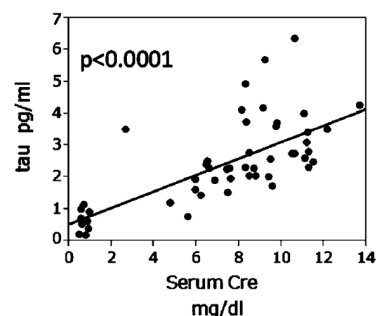


図1. 透析患者の腎機能と血中タウ濃度

2) ダウン症 (DS) の人は、加齢とともに AD を発症するリスクが高くなる。血漿ニューロフィラメント軽鎖 (NF-L) は、AD の確立されたバイオマーカーの 1 つであり、DS 患者の認知症の指標として有用である可能性がある。対照群と比較して、DS では血漿 NF-L 量の有意な増加が観察された。また、年齢と血漿 NF-L 量との間に有意な相関があるのだが、この年齢依存性の濃度上昇は、対照群と比較して DS 患者で急激に増えることが分かった。

3) 慢性外傷性脳症 (CTE) は、アメリカンフットボール選手など、軽度の外傷性脳損傷を繰り返した経験のある人に発症するタウ蓄積病である。細胞外小胞 (EV) によって、神経病理性分子、特に p-tau が運ばれることが分かっている。髄液 (CSF) 由来 EV の t-tau および p-tau 量を調べると、元 NFL プレーヤーの CSF の t-tau および p-tau 量とそれぞれ正の相関が認められたが、対照群では相関はみられなかった。これらのデータは、EV を介した疾患の広がり、CTE および関連する障害の新しい血液バイオマーカーの開発につながる可能性がある。

4) 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 患者の CSF および血漿中の NF-L、TAR DNA 結合タンパク質 43 (TDP-43) および t-tau を測定し、その診断的および予後的な重要性を決定した。対照群と比較して、ALS 患者における CSF NF-L、血漿 NF-L、および CSFTDP-43 のレベルの増加が認められ、CSF および血漿 NF-L 量の増加が生存期間と関連があることがわかった。

5) ヘルペス脳炎患者において、CSF p-tau 濃度が上昇していることを発見した。p-tau の上昇

はAD 特異的とされてきたが、ヘルペス感染によっても観察されたことになる。これは、感染によって誘発された APP の代謝異常によっておこるものと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Tozawa Takenori, Kasai Takashi, Tatebe Harutsugu, Shiomi Kozue, Nishio Hisahide, Tokuda Takahiko, Chiyonobu Tomohiro	4. 巻 42
2. 論文標題 Intrathecal nusinersen treatment after ventriculo-peritoneal shunt placement: A case report focusing on the neurofilament light chain in cerebrospinal fluid	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain and Development	6. 最初と最後の頁 311 ~ 314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.braindev.2019.12.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kasai Takashi, Kojima Yuta, Ohmichi Takuma, Tatebe Harutsugu, Tsuji Yukiko, Noto Yu ichi, Kitani Morii Fukiko, Shinomoto Makiko, Allsop David, Mizuno Toshiaki, Tokuda Takahiko	4. 巻 6
2. 論文標題 Combined use of CSF NfL and CSF TDP 43 improves diagnostic performance in ALS	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Clinical and Translational Neurology	6. 最初と最後の頁 2489 ~ 2502
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/acn3.50943	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Muraoka Satoshi, Jedrychowski Mark P., Tatebe Harutsugu, DeLeo Annina M., Ikezu Seiko, Tokuda Takahiko, Gygi Steven P., Stern Robert A., Ikezu Tsuneya	4. 巻 13
2. 論文標題 Proteomic Profiling of Extracellular Vesicles Isolated From Cerebrospinal Fluid of Former National Football League Players at Risk for Chronic Traumatic Encephalopathy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1059
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2019.01059	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Kitaguchi Nobuya, Tatebe Harutsugu, Sakai Kazuyoshi, Kawaguchi Kazunori, Matsunaga Shinji, Kitajima Tomoko, Tomizawa Hiroshi, Kato Masao, Sugiyama Satoshi, Suzuki Nobuo, Mizuno Masao, Takechi Hajime, Nakai Shigeru, Hiki Yoshiyuki, Kushimoto Hiroko, Hasegawa Midori, Yuzawa Yukio, Tokuda Takahiko	4. 巻 69
2. 論文標題 Influx of Tau and Amyloid- Proteins into the Blood During Hemodialysis as a Therapeutic Extracorporeal Blood Amyloid- Removal System for Alzheimer ' s Disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Alzheimer's Disease	6. 最初と最後の頁 687 ~ 707
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-190087	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shinomoto Makiko, Kasai Takashi, Tatebe Harutsugu, Kondo Masaki, Ohmichi Takuma, Morimoto Masafumi, Chiyonobu Tomohiro, Terada Naoto, Allsop David, Yokota Isao, Mizuno Toshiki, Tokuda Takahiko	4. 巻 14
2. 論文標題 Plasma neurofilament light chain: A potential prognostic biomarker of dementia in adult Down syndrome patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0211575
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0211575	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ohmichi Takuma, Mitsuhashi Masato, Tatebe Harutsugu, Kasai Takashi, Ali El-Agnaf Omar M., Tokuda Takahiko	4. 巻 61
2. 論文標題 Quantification of brain-derived extracellular vesicles in plasma as a biomarker to diagnose Parkinson's and related diseases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Parkinsonism & Related Disorders	6. 最初と最後の頁 82 ~ 87
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parkreldis.2018.11.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Shinomoto Makiko, Kasai Takashi, Tatebe Harutsugu, Kondo Masaki, Ohmichi Takuma, Morimoto Masafumi, Chiyonobu Tomohiro, Terada Naoto, Allsop David, Yokota Isao, Mizuno Toshiki, Tokuda Takahiko	4. 巻 14
2. 論文標題 Plasma neurofilament light chain: A potential prognostic biomarker of dementia in adult Down syndrome patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0211575
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0211575	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ohmichi Takuma, Mitsuhashi Masato, Tatebe Harutsugu, Kasai Takashi, Ali El-Agnaf Omar M., Tokuda Takahiko	4. 巻 61
2. 論文標題 Quantification of brain-derived extracellular vesicles in plasma as a biomarker to diagnose Parkinson's and related diseases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Parkinsonism & Related Disorders	6. 最初と最後の頁 82 ~ 87
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parkreldis.2018.11.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohmichi Takuma, Kasai Takashi, Kosaka Tadashi, Shikata Keisuke, Tatebe Harutsugu, Ishii Ryotaro, Shinomoto Makiko, Mizuno Toshiki, Tokuda Takahiko	4. 巻 13
2. 論文標題 Biomarker repurposing: Therapeutic drug monitoring of serum theophylline offers a potential diagnostic biomarker of Parkinson's disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0201260
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0201260	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計7件(うち招待講演 1件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 笠井 高士, 篠本 真紀子, 建部 陽嗣, 近藤 正樹, 大道 卓摩, 水野 敏樹, 徳田 隆彦
2. 発表標題 成人ダウン症候群の認知症診断と認知機能予後予測における血液バイオマーカーの有効性
3. 学会等名 第39回日本認知症学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 徳田 隆彦, 建部 陽嗣, 笠井 高士
2. 発表標題 超高感度ELISA (Simoa) による認知症の血液バイオマーカーの開発: リン酸化タウを中心に
3. 学会等名 第37回日本神経治療学会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大道 卓摩, 三橋 将人, 建部 陽嗣, 笠井 高士, 水野 敏樹, 徳田 隆彦
2. 発表標題 パーキンソン病と関連疾患に関する有望なバイオマーカーとしての血漿中の脳由来エクソソーム
3. 学会等名 第13回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 建部 陽嗣, 大道 卓摩, 笠井 高士, 近藤 正樹, 藁谷 正明, David Allsop, 徳田 隆彦
2. 発表標題 ヒト血漿中リン酸化タウ蛋白の新規定量系の開発とアルツハイマー病の血液診断への応用
3. 学会等名 第59回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大道 卓摩, 三橋 将人, 建部 陽嗣, 笠井 高士, 水野 敏樹, 徳田 隆彦
2. 発表標題 Brain-derived exosomes as potential blood biomarkers for Parkinson's disease and parkinsonism
3. 学会等名 第59回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 笠井 高士, 徳田 隆彦, 建部 陽嗣, 近藤 正樹, 石井 亮太郎, 大道 卓摩, 中川 正法, 水野 敏樹
2. 発表標題 ダウン症候群における血漿中総タウ濃度およびリン酸化タウ濃度は年齢依存性に増加する
3. 学会等名 第59回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 笠井 高士, 徳田 隆彦, 建部 陽嗣, 近藤 正樹, 石井 亮太郎, 大道 卓摩, 中川 正法, 水野 敏樹
2. 発表標題 成人期ダウン症候群における血漿中リン酸化タウ濃度上昇は認知症発症を予測する
3. 学会等名 第37回日本認知症学会学術大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	徳田 隆彦 (Tokuda Takahiko) (80242692)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・脳機能イメージング研究部・医長 (82502)	
研究協力者	笠井 高士 (Kasai Takashi) (70516062)	京都府立医科大学・脳神経内科学・講師 (24303)	
研究協力者	大道 卓摩 (Ohmichi Takuma) (60869288)	京都府立医科大学・脳神経内科学・特任助教 (24303)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------