

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07900

研究課題名（和文）酸化ストレス・タウの包括的PETイメージングによるアルツハイマー病進展機序の解明

研究課題名（英文）Comprehensive PET imaging for oxidative stress and tau to clarify the pathogenesis of Alzheimer's disease

研究代表者

井川 正道（Ikawa, Masamichi）

福井大学・学術研究院医学系部門・講師

研究者番号：60444212

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、アルツハイマー（AD）患者および健常者に対し、 $^{64}\text{Cu}$ -ATSM（酸化ストレス）および $^{11}\text{C}$ -PiB（アミロイド）によるPET/MRI撮影と詳細な心理検査による評価を実施した。PETによる脳内 $^{64}\text{Cu}$ -ATSMの集積に対し動態解析を行うことで、早期AD患者における海馬や後部帯状回での有意な酸化ストレスの増加を見出した。さらに、倫理審査委員会の承認を受け、 $^{18}\text{F}$ -MK6240によるタウPET検査を導入し、脳内タウ病変の評価を実施した。また、 $^{11}\text{C}$ -PiB集積の非侵襲的な定量測定法の開発を行い、マルチモーダルPET/MRIによる多彩な神経生理学的パラメータ変化を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究での $^{64}\text{Cu}$ -ATSM PET/MRIによる酸化ストレスイメージングによって、アルツハイマー病（AD）患者脳内における酸化ストレスの増加が示され、AD病態への酸化ストレスの関与を明らかにすることができた。本研究によって、酸化ストレスとアミロイド・タウ病変、神経生理学的変化を含めたAD病態のPET/MRIイメージングによる包括的な可視化という新たな評価法を確立することができた。本研究の成果から、ADにおけるアミロイド・タウ病変や病態の進展に対する“神経変性因子”としての酸化ストレスの役割の解明につながり、さらに酸化ストレスを標的とした新規治療薬の開発に貢献できることが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, PET/MRI imaging with  $^{64}\text{Cu}$ -ATSM for oxidative stress and  $^{11}\text{C}$ -PiB for amyloid- were performed in patients with Alzheimer's disease (AD) and healthy subjects. We found a significant increase in cerebral oxidative stress in the hippocampus and posterior cingulate gyrus in patients with early-stage AD using kinetic analysis of  $^{64}\text{Cu}$ -ATSM accumulation. After approval by the Institutional Ethics Review Board, we launched tau PET imaging using  $^{18}\text{F}$ -MK6240 to evaluate tau accumulation in the brain. Furthermore, we developed a noninvasive quantitative method to measure  $^{11}\text{C}$ -PiB accumulation. In addition, we revealed various neurophysiological changes using multimodal PET/MRI.

研究分野：脳神経内科学

キーワード：アルツハイマー病 酸化ストレス タウ PETイメージング 認知症

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD) は、本邦の認知症患者の 6 割 (約 150 万人) を占める代表的な認知症である。超高齢社会の到来に伴い患者数はさらに増加することが予想され、病態の解明および有効な治療法の開発は急務である。AD 患者脳では、アミロイド 蛋白 (A $\beta$ ) およびタウ蛋白の凝集・沈着が認められ、病態の中核を成すと考えられているが、蛋白の沈着を開始・促進させ、症状の発現・悪化をもたらす機序は依然として不明である。近年、酸化ストレス (フリーラジカル増加による酸化的損傷) の病態への関与が、患者剖検脳や血液、モデル動物脳における酸化物の増加から示唆されている。AD の前段階である軽度認知障害 (MCI) の時点ですでに酸化物は増加し、*in vitro* でも酸化ストレスが A $\beta$  の凝集を促進することが報告されている。したがって、酸化ストレスは、AD における病理変化の早期の段階から関与し、発症・悪化に関わる重要な因子 (“神経変性因子”) であると考えられている (Querfurth HW, et al. N Engl J Med 2010)。しかし、これまで AD 患者生体脳において、病理変化・神経変性への酸化ストレスの関与を確認できた報告はなく、イメージングによる直接的な証明が望まれている。

我々は  $^{62}\text{Cu}/^{64}\text{Cu}$ -ATSM PET による酸化ストレスイメージング法を世界に先駆けて開発し、これまでミトコンドリア病 (MELAS)、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) といった、様々な脳神経疾患患者での脳病態関連領域における酸化ストレス増加を明らかにした (Ikawa M, et al. Mitochondrion 2009; Ikawa M, et al. Nucl Med Biol 2011; Okazawa H, Q J Nucl Med Mol Imaging 2014; Ikawa M, et al. Neurology 2015; Neishi H, et al. Eur Neurol 2017)。 $^{64}\text{Cu}$ -ATSM は、ミトコンドリア機能不全のため電子過剰状態に陥り、フリーラジカル発生が増加している障害呼吸鎖に集積する。実際に *in vitro* においても、cybrid 技術によってミトコンドリア遺伝子変異を導入した培養細胞において、呼吸鎖不全による過還元状態に応じ  $^{64}\text{Cu}$ -ATSM の集積が著明に増加することを明らかにしている (Yoshii Y, et al. Nucl Med Biol 2012)。

AD においても、 $^{64}\text{Cu}$ -ATSM PET は患者生体脳における酸化ストレスを直接的に評価できる手法として有用であると考えられる。これまでに我々は AD 患者において  $^{64}\text{Cu}$ -ATSM PET を用いた酸化ストレスイメージングによる検討を試み、少数例での preliminary な結果として、AD 患者群における脳内の酸化ストレス増強を見出した。この結果から、酸化ストレスが A $\beta$  およびタウ病理の進展に関与し、AD 病態の進行をもたらす可能性が推定された。しかし、これまでの検討では A $\beta$  やタウ病変の評価や比較はできていなかったため、本研究によって酸化ストレスおよびアミロイド・タウ PET による包括的なイメージング評価を実施し、AD 病態における酸化ストレスの影響を解明することを着想した。

### 2. 研究の目的

本研究では、AD 患者および認知機能正常な健常者に対し、 $^{64}\text{Cu}$ -ATSM (酸化ストレス)・ $^{18}\text{F}$ -MK-6240 (タウ)・ $^{11}\text{C}$ -PiB (A $\beta$ ) PET と機能的 MRI (萎縮・神経変性) による包括的イメージング、心理検査 (重症度)、電子スピン共鳴装置 (ESR) による血清中の各種フリーラジカル測定を実施し、個々の被験者および群間での比較・相関を検討する。これらの検討によって、酸化ストレスの AD 病態の進展への関与を明らかにすることを目的とする。

本研究で実施する  $^{64}\text{Cu}$ -ATSM PET は、患者生体脳における酸化ストレスを直接的・非侵襲的に評価できる唯一の方法である。また、本研究で行うタウ PET イメージングには次世代型薬剤の  $^{18}\text{F}$ -MK-6240 を用いる。 $^{18}\text{F}$ -MK-6240 では、従来型薬剤での精度や off-target 結合などの問題を克服しており、正確なタウ病変分布の画像化が期待できる (Pascoal TA, Alzheimers Res Ther 2018)。撮影は本学設置の最新鋭 PET/MRI 一体型スキャナで行うため、PET 画像と同時に多彩な MRI 情報も得られる利点もある。酸化ストレスと A $\beta$ ・タウの包括的なイメージング研究が可能な施設は国内外を通じて限られているが、本学ではすべてを同一施設・同一被験者で実施できる。本研究によって、AD 病態の新たな包括的イメージング評価法を確立し、A $\beta$ ・タウ病変進展および病態進行に対する “神経変性因子” としての酸化ストレスの役割を解明する。

### 3. 研究の方法

本研究では、PET/MRI イメージングによって AD 患者脳内の酸化ストレス・A $\beta$ ・タウ・神経変性を包括的に可視化し、酸化ストレスが AD 病態に与える影響を検討する。

#### (1) $^{18}\text{F}$ -MK-6240 によるタウ PET の導入

マウスによる前臨床試験を実施して  $^{18}\text{F}$ -MK-6240 (タウ PET 薬剤) に毒性がないことを確認する。その上で臨床における  $^{18}\text{F}$ -MK-6240 PET 検査に関し本学医学系研究倫理審査委員会への申請を行い、承認が得られ次第  $^{18}\text{F}$ -MK-6240 によるタウ PET 検査を実施する。

#### (2) 被験者の選定、病期・重症度の評価

臨床的診断基準に合致する AD 患者および認知機能正常の健常者に対し、十分な説明と同意の上、病歴・診察・心理検査 (MMSE, WMS-R, ADAS-Jcog, CDR) による病期・重症度の評価を行う。

#### (3) PET/MRI 画像検査

被験者に対し、本学設置の PET/MRI スキャナによって、 $^{64}\text{Cu}$ -ATSM (酸化ストレス)・ $^{11}\text{C}$ -PiB

(A)・ $^{18}\text{F}$ -MK-6240 (タウ) の PET および MRI 撮影を行う。本学内でこれら PET 薬剤の合成から撮影まで一貫して行う。PET 検査では最大 90 分間の連続(ダイナミック)撮影を PET/MRI 一体型スキャナによって行い、この間に 3D-T1 強調(容積), ASL (Arterial Spin Labeling: 血流), rs-fMRI (安静時機能的 MRI: デフォルトモードネットワーク)などの各種 MRI 撮影を併せて行う。

(4) 血液中フリーラジカル測定

PET 検査の薬剤静注時に被験者から採血を行い、得られた末梢血血清を電子スピン共鳴装置 (ESR) につけ、全身の酸化ストレス状態を測定する。ESR スピントラップ法では、各フリーラジカルに特異的に反応する抗酸化物質の消去活性を測定することで、複数のフリーラジカル動態を同時に計測し得る。

(5) 画像解析

得られた画像データに対し、画像解析ソフトウェア (PMOD, SPM) を用いて、画像の重ね合わせ・脳領域ごとの関心領域の設定・動態解析を行い、各 PET の集積や各種 MRI 情報を機能画像化・数値化する。

(6) 統計学的検討

得られたデータをもとに、 $^{64}\text{Cu}$ -ATSM の動態解析や  $^{18}\text{F}$ -MK-6240・ $^{11}\text{C}$ -PiB 集積、重症度、萎縮などの各種 MRI 情報、血液中フリーラジカル量との比較・相関、群間での比較、経時的変化を検討する。

#### 4. 研究成果

(1)  $^{18}\text{F}$ -MK-6240 によるタウ PET イメージングの導入

マウスによる前臨床試験を実施し、 $^{18}\text{F}$ -MK6240 (タウ PET 薬剤) に毒性がないことを確認した。その上で  $^{18}\text{F}$ -MK-6240 PET 検査に関し本学医学系研究倫理審査委員会にて承認を受け、臨床(ヒト)における  $^{18}\text{F}$ -MK-6240 によるタウ PET 検査を開始し、脳内タウ病変の評価が可能となった。

(2) AD 患者における  $^{64}\text{Cu}$ -ATSM PET による酸化ストレスの検討

早期 AD (eAD) 患者と健常者に対して  $^{64}\text{Cu}$ -ATSM PET による酸化ストレスイメージングを実施し、動態解析による  $^{64}\text{Cu}$ -ATSM 集積を検討したところ、2-tissue compartment 3-parameter model における  $K_{in}$  (influx rate) による評価では、eAD 群での後部帯状回における有意な増加が認められた。また  $k_3$  による評価では、eAD 群での海馬における有意な増加が認められた。以上より、 $^{64}\text{Cu}$ -ATSM 動態解析によって正確な酸化ストレスが評価でき、AD 病態への酸化ストレスの関与を示唆する結果が得られた。本研究によって、酸化ストレスを中心とした AD 病態の包括的な可視化という新たな評価法を確立することができた。さらに今後、この成果によって、AD における A $\beta$ ・タウ病変および病態進展に対する“神経変性因子”としての酸化ストレスの役割の解明につながることを期待できる (Ikawa M, et al. Antioxidants. 2020;9:861, Ikawa M, et al. Biochim Biophys Acta Gen Subj. 2021;1865:129832, Okazawa H, Ikawa M, et al. Antioxidants. 2022;11:1022)。

(3)  $^{11}\text{C}$ -PiB PET によるアミロイド蓄積の評価

PET/MRI による画像由来入力関数 (IDIF) 法を用い、 $^{11}\text{C}$ -PiB 集積の非侵襲的な定量測定法を開発した。本方法によって、小脳を参照領域とした  $^{11}\text{C}$ -PiB の分布容積 (DV) 比 (DVR) 画像を作成し、早期 AD (eAD) 患者群と健常者群で比較したところ明確な DVR の群間差がみられ、定量的な診断に有用であり、新たな非侵襲的な診断法を確立できた (Okazawa H, Ikawa M, et al. Diagnostics. 2020;10:993)。

(4) AD 患者におけるマルチモーダル PET/MRI による評価

AD 患者および健常者に  $^{11}\text{C}$ -PiB によるダイナミック PET/MRI を実施し、PET による  $^{11}\text{C}$ -PiB 集積に加え、MRI による 3D-T1WI, 安静時機能 MRI (RS-fMRI), 拡散テンソル画像 (DTI), 灌流 MRI (ASL) による様々な脳機能を評価した。その結果、 $^{11}\text{C}$ -PiB PET で診断した AD 患者群と健常者群の間で、ASL および RS-fMRI にて一部の脳領域で有意差がみられた。VBM 解析では AD 群において両側海馬に萎縮が認められたが、DTI データから算出したフラクショナルアニソトロピーの解析では両群間に差は見られなかった。以上より、マルチモーダル PET/MRI によって、AD 患者における領域ごとの CBF, 皮質体積, 神経細胞ネットワークを評価でき、神経生理学的パラメータの様々な側面から AD 脳の病態生理・機能変化を観察することができた (Okazawa H, Ikawa M, et al. EJNMMI Res. 2020;10:30)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kitazaki Yuki, Ikawa Masamichi, Yamaguchi Tomohisa, Enomoto Soichi, Shirafuji Norimichi, Yamamura Osamu, Tsujikawa Tetsuya, Okazawa Hidehiko, Kimura Hirohiko, Nakamoto Yasunari, Hamano Tadanori	4. 巻 65
2. 論文標題 Regional cortical hypoperfusion and atrophy correlate with striatal dopaminergic loss in Parkinson's disease: a study using arterial spin labeling MR perfusion	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroradiology	6. 最初と最後の頁 569 ~ 577
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00234-022-03085-7	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 Yamaguchi Tomohisa, Ikawa Masamichi, Enomoto Souichi, Shirafuji Norimichi, Yamamura Osamu, Tsujikawa Tetsuya, Okazawa Hidehiko, Kimura Hirohiko, Nakamoto Yasunari, Hamano Tadanori	4. 巻 64
2. 論文標題 Arterial spin labeling imaging for the detection of cerebral blood flow asymmetry in patients with corticobasal syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroradiology	6. 最初と最後の頁 1829 ~ 1837
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00234-022-02942-9	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 Okazawa Hidehiko, Ikawa Masamichi, Tsujikawa Tetsuya, Mori Tetsuya, Makino Akira, Kiyono Yasushi, Nakamoto Yasunari, Kosaka Hirotaka, Yoneda Makoto	4. 巻 11
2. 論文標題 Cerebral Oxidative Stress in Early Alzheimer's Disease Evaluated by 64Cu-ATSM PET/MRI: A Preliminary Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Antioxidants	6. 最初と最後の頁 1022 ~ 1022
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/antiox11051022	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 Ikawa Masamichi, Okazawa Hidehiko, Yoneda Makoto	4. 巻 1865
2. 論文標題 Molecular imaging for mitochondrial metabolism and oxidative stress in mitochondrial diseases and neurodegenerative disorders	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 129832 ~ 129832
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2020.129832	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 Matsuda H, Ito K, Ishii K, Shimosegawa E, Okazawa H, Mishina M, Mizumura S, Ishii K, Okita K, Shigemoto Y, Kato T, Takenaka A, Kaida H, Hanaoka K, Matsunaga K, Hatazawa J, Ikawa M, Tsujikawa T, Morooka M, Ishibashi K, Kameyama M, Yamao T, Miwa K, Ogawa M, Sato N	4. 巻 11
2. 論文標題 Quantitative Evaluation of 18F-Flutemetamol PET in Patients With Cognitive Impairment and Suspected Alzheimer's Disease: A Multicenter Study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Neurology	6. 最初と最後の頁 578753 ~ 578753
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fneur.2020.578753	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 Okazawa Hidehiko, Ikawa Masamichi, Tsujikawa Tetsuya, Makino Akira, Mori Tetsuya, Kiyono Yasushi, Kosaka Hirotaka	4. 巻 10
2. 論文標題 Noninvasive Measurement of [11C]PiB Distribution Volume Using Integrated PET/MRI	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diagnostics	6. 最初と最後の頁 993 ~ 993
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/diagnostics10120993	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 Ikawa Masamichi, Okazawa Hidehiko, Nakamoto Yasunari, Yoneda Makoto	4. 巻 9
2. 論文標題 PET Imaging for Oxidative Stress in Neurodegenerative Disorders Associated with Mitochondrial Dysfunction	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Antioxidants	6. 最初と最後の頁 861 ~ 861
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/antiox9090861	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 Okazawa Hidehiko, Ikawa Masamichi, Jung Minyoung, Maruyama Rikiya, Tsujikawa Tetsuya, Mori Tetsuya, Rahman Mahmudur G. M., Makino Akira, Kiyono Yasushi, Kosaka Hirotaka	4. 巻 10
2. 論文標題 Multimodal analysis using [11C]PiB-PET/MRI for functional evaluation of patients with Alzheimer's disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 EJNMMI Research	6. 最初と最後の頁 30 ~ 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13550-020-00619-z	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 井川 正道、米田 誠	4. 巻 45
2. 論文標題 ミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様発作症候群 (MELAS)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 救急医学	6. 最初と最後の頁 461 ~ 467
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 山口 智久、井川 正道、白藤 法道、山村 修、木村 浩彦、濱野 忠則
2. 発表標題 MRI ASLによる大脳皮質基底核症候群での脳血流の左右差の評価
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井川 正道
2. 発表標題 酸化ストレスのイメージング
3. 学会等名 第61回日本神経学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井川 正道、岡沢 秀彦、米田 誠
2. 発表標題 神経変性疾患における酸化ストレス：イメージングによる病態評価
3. 学会等名 第63回日本脳循環代謝学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井川 正道、岡沢 秀彦、辻川 哲也、森 哲也、牧野 顕、清野 泰、中本 安成、小坂 浩隆、米田 誠
2. 発表標題 アルツハイマー病患者における酸化ストレスPETイメージング
3. 学会等名 第21回日本ミトコンドリア学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ikawa M, Kitazaki Y, Yamaguchi T, Enomoto S, Shirafuji N, Yamamura O, Tsujikawa T, Okazawa H, Kimura H, Nakamoto Y, Hamano T
2. 発表標題 Regional cortical hypoperfusion and atrophy correlated with dopaminergic loss in Parkinson's disease
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 井川 正道
2. 発表標題 診療におけるIRUD - 自験例を通して考える
3. 学会等名 第61回日本臨床検査医学会 東海・北陸支部総会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 井川 正道	4. 発行年 2022年
2. 出版社 総合医学社	5. 総ページ数 6
3. 書名 最新主要文献とガイドラインでみる 脳神経内科学レビュー 2022-' 23	

1. 著者名 井川 正道	4. 発行年 2023年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 1
3. 書名 今日の治療指針 2023年版 [ デスク判 ]	

〔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
研究分担者	岡沢 秀彦  (Okazawa Hidehiko)  (50360813)	福井大学・高エネルギー医学研究センター・教授   (13401)	
研究分担者	米田 誠  (Yoneda Makoto)  (70270551)	福井県立大学・看護福祉学部・教授   (23401)	
研究分担者	平山 暁  (Hirayama Aki)  (20323298)	筑波技術大学・保健科学部・教授   (12103)	

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
---------	---------