

- Petric A, Huang SC, Barrio JR (2002) Localization of neurofibrillary tangles and beta-amyloid plaques in the brains of living patients with Alzheimer disease. *Am. J. Geriatr. Psychiatry.*, 10, 24-35.
21. Small GW, Kepe V, Ercoli LM, Prabha S, Vinters HV, Bookheimer SY, Cole GM, Thompson PM, Huang SC, Barrio JR (2006) Cerebral FDDNP-PET binding increases in MCI and aging as neurodegeneration progresses. *J. Alz. Assoc.*, 2, S652.
22. Verhoeff NP, Wilson AA, Takeshita S, Trop L, Hussey D, Singh K, Kung HF, Kung MP, Houle S (2004) In-vivo imaging of Alzheimer disease beta-amyloid with [¹¹C]SB-13 PET. *Am. J. Geriatr. Psychiatry.*, 12, 584-595.
23. 坪井義夫, 山田達夫 (2006) CJD治療の試み Pentosan polysulphate (PPS). *CLINICAL NEUROSCIENCE* 24 : 336-339.
-

Progress in imaging amyloid

Nobuyuki Okamura¹, Kazuhiko Yanai¹, Yukitsuka Kudo²

¹Department of Pharmacology, Tohoku University Graduate School of Medicine

²Tohoku University Biomedical Engineering Research Organization (TUBERO)

Progressive deposition of amyloid plaques is a critical event for the pathogenesis of Alzheimer's disease. In vivo detection of brain amyloid would be useful for preclinical diagnosis of Alzheimer's disease and for clinical evaluation of anti-amyloid therapy. For in vivo detection of brain amyloid using positron emission tomography, tracer compounds must have high binding affinity for amyloid fibrils and adequate permeability of blood-brain barrier. Low nonspecific binding and appropriate clearance characteristics are also required to obtain optimal signal-to-noise ratios that allow detection of amyloid deposits. Several imaging probes have been developed and applied to human PET studies.

Address correspondence to Dr. Nobuyuki Okamura, Department of Pharmacology, Tohoku University Graduate School of Medicine (2-1, Seiryō-machi, Aobaku, Sendai 980-8575, Japan)



アルツハイマー病におけるシナプス障害

古川 勝敏¹⁾, 温 世栄¹⁾, 岡村 信行²⁾
工藤 幸司³⁾, 荒井 啓行¹⁾

はじめに

2006年はDr. Alois Alzheimerがアルツハイマー病を報告してから100周年にあたるということでScienceやNature Medicineといった超一流科学雑誌でもアルツハイマー病に関する特集が組まれている。1906年に彼がこの認知症疾患についてその臨床像と病理所見を提示して以来(Alzheimer 1906), これまでこの忌まわしき病について何千の科学論文が紙上をにぎわしてきたであろうか。それらの科学論文の中で本疾患の診断, 治療等に関するものももちろん数多く存在するが, 最も多くの研究の時間とエネ

ルギーはその病因解明に費やされてきたのではなかろうか。アミロイド, タウ, プレシニリン, apoEといった本疾患に重要な役割を担っている「役者」達は世界各地から集められ舞台に上っているが, 彼らが演じる「ドラマ」の詳細なストーリーはまだ誰にも明かされていない。またアルツハイマー病の病因であるが100人研究者がいれば, 100通りの病因が存在すると言っているほど多数の病因論が存在し混乱しているのが現状ではないだろうか。アミロイド β ペプチド(A β)がミトコンドリアの毒性を引き起こすと主張する研究者が東にいれば, リン酸化されたタウによって生ずる微小管タンパク質の構造異常が病気の主因であるとのデータも西から報告されてくる。このようにアルツハイマー病の病因論は未だ集束に至ってはいないのかも知れないが, 本号の各総説ではこれらのセオリーについて各方面のエキスパートが解説されているはずである。筆者は本総説で神経細胞, 神経ネットワークにおける最も特徴的なファンクションであろうシナプス機能について, これまで世界で報告されている知見についてまとめてみたい。

シナプスとは「神経細胞間あるいは神経細胞

Synaptic dysfunctions in Alzheimer's disease
Katsutoshi Furukawa

¹⁾ 東北大学大学院医学系研究科 先進漢方治療医学講座 [〒980-8575 仙台市青葉区星陵町2-1]

Center for Asian Traditional Medicine, Tohoku University Graduate School of Medicine (2-1, Seiryō-machi, Aobaku, Sendai 980-8575, Japan)

²⁾ 同 機能薬理学分野 [同]

Department of Pharmacology, Tohoku University Graduate School of Medicine

³⁾ 東北大学先進医工学研究機構 高度情報通信分野 [同]
Tohoku University Biomedical Engineering Research Organization

と筋細胞もしくは他細胞との間に形成される活動を伝達させる接合部位およびその構造」と定義される。シナプスはまた化学シナプスと電気シナプスに分類される。今回の総説はアルツハイマー病の病態についてのものである。神経細胞間の化学シナプスについての考察となる。またアルツハイマー病の病態の基本は「記憶障害」であろうかと思われる。この記憶のメカニズムについてもこれまで諸説が入り乱れており、それらについて論ずるのも容易ではない。しかしながら記憶の主体はシナプスに存在するであろう、というのが現在の多くの神経、脳科学者の信ずる見解だと思われる。またシナプス障害そのものがアルツハイマー病発症における本当の最初のトリガーになっているのか、という問いには異議を唱える研究者が多いかもしれない。やはりなんらかの特殊な分子レベルでのトリガーが引かれて、その結果に近いところにシナプス障害が存在していると考えるのがよりリーズナブルであろうか。いずれにせよアルツハイマー病におけるシナプスの障害については、いろいろな方法論を用いて報告されているのは事実である。

形態学的検討

これまでにヒトの剖検脳、生検脳を用いて形態学的にアルツハイマー病におけるシナプス障害は確認されている。米国カリフォルニア大学サンディエゴ校のTerryらはアルツハイマー病の症例の認知機能を詳細に検討し、その後それらの症例の死後の剖検脳を免疫組織染色法を用いて各種タンパク質の局在、発現量について考察を行った(Terry et al., 1991)。本論文では神経心理検査の結果と病理学の結果の相関について詳細に述べられている。彼らは神経終末に特異的に発現する synaptophysin について免疫組織染色法を用いて検討したところ、老人斑、神経原線維変化、神経細胞脱落といった病理所見に比べて synaptophysin の発現の低下=

synaptic loss が認知機能障害にはるかに強い相関があることを報告している。

また英国マンチェスター大学のDaviesらはアルツハイマー病症例の前側頭葉から生検をおこない、電子顕微鏡にて脳組織の形態、神経細胞の脱落、グリオシス、シナプスの性状等について検討をおこなった(Davies et al., 1987)。生検脳における研究なので彼ら検索した症例には早期のアルツハイマー病のものも多く含まれている。彼らの電顕による検討によるとアルツハイマー病の脳においては神経細胞脱落よりシナプス脱落の方が顕著であり、シナプス/神経細胞の比はアルツハイマー病の脳において劇的に低下していると結論づけている。

一方米国マウントサイナイ医科大学のMorrisonとHofは多数のアルツハイマー病の剖検脳を用いて老人斑、神経原線維変化、神経細胞脱落、等を詳細に検索したところ、進行したアルツハイマー病においては神経細胞脱落は顕著であったが、初期のアルツハイマー病においては大脳新皮質で明らかな神経細胞脱落は認めなかった(Morrison & Hof, 1997)。この事象はアルツハイマー病の進行において神経細胞脱落に先だってシナプス障害が生じていることを示唆した。

米国 National Institute on Aging の Yao と筆者らは免疫電顕法を用いてアルツハイマー病の病理をシナプスに局在するタンパク質を中心に検討を重ねてきた。Yaoらは synaptotagmin, AP2, AP180, dynamin といったシナプス小胞を形成する分子の mRNA とタンパク質のレベルがアルツハイマー病の脳において著明に減少していることを確認した(Yao, 1994)。すなわちアルツハイマー病におけるこれらのタンパク質の減少がシナプス小胞の形成と代謝の低下をまねき、その結果としてシナプス機能の障害をもたらされることを示唆した。

ここで紹介した形態学的な研究は実際のアルツハイマー病の脳における病変を確認している点で、後に述べるモデル動物や培養細胞を用

いた実験よりも病気で生じている事象をより確実に捉えている可能性は高い。これらの報告ではアルツハイマー病においてはシナプスの障害は病気のかなり初期より生じており、かつその障害は病気の重症度に相関が高いと思われる。

生理学的検討

他方、生きたアルツハイマー病患者の脳においてシナプス機能を評価する検査法は、やはり電気生理学的な手法になるだろうか。まず脳波においてはパワースペクトラムの低周波数へのシフトや速いリズム群の減少がアルツハイマー病にて報告されている (Jeong, 2004)。さらに事象関連電位 p300 においては, odd ball 等のタスク負荷時, 振幅の低電位化と潜時の延長が著明である (Polich & Corey-Bloom, 2005)。脳磁図においては脳頂・側頭葉の δ および θ バンドからなるスローウェーブの密度がアルツハイマー病にて増加していることが証明されている (Fernandez et al., 2002, Babiloni et al., 2005)。これらアルツハイマー病の症例で電気生理学的に捉えられた機能変化はシナプスの機能障害を反映していると多くの研究者は考えている。

放射線学的検討

各種の放射線学的手法を用いた「neuro-imaging」の研究は現在最も日進月歩の目覚ましいフィールドではなかろうか。我々のグループも現在 BF-227 という $A\beta$ に特異的に結合する PET プローブを用いてアミロイドのイメージングの研究を遂行中である。このアミロイドのイメージングに先駆けて, IMP-SPECT による脳血流や FDG-PET によるブドウ糖代謝がアルツハイマー病の病態の評価のため様々な施設で施行されてきた。これら SPECT, PET は放射性同位元素でラベルしたトレーサーを体内に導入し, その放射性プローブの脳内動態を放射能を捉えることにより脳血流やブドウ糖代謝

を測定する。また近年 functional MRI (fMRI) 法を用いての脳機能の解析も盛んである。神経細胞が活動すると, ブドウ糖と酸素の代謝要求は増加し, 血流量や酸素を失った還元ヘモグロビンも増加する。このように脳活動を間接的に反映している生理現象を MR 信号変化に結びつけることが fMRI の原理である。これらの放射線学的検査であるが, いずれも脳内の組織における脳血流量, ブドウ糖消費量, または酸化 (あるいは還元) ヘモグロビンのいずれかを測定しているにすぎず, これらのデータの低下, 減少が純粋にシナプス機能の低下を意味しているかの判別は難しいのかもしれない。しかしながらアルツハイマー病において X 線 CT や MRI で観察される脳の形態学的な萎縮に比べてこれら SPECT, PET などの機能イメージングで計測される脳血流量, ブドウ糖代謝量の低下が優位であることが証明できれば, これら機能画像で得られた結果がアルツハイマー病脳内のシナプス障害または減少によるものである可能性が高いのではないだろうか。Kawachi らは軽度のアルツハイマー病において FDG-PET による脳のブドウ糖代謝のデータと Voxel-based morphometry-MRI (VBM-MRI) による脳の萎縮度を詳細に比較検討した (Kawachi et al., 2006)。彼らの報告によるとアルツハイマー病の診断において FDG-PET の方が VBM-MRI より正確性が高く有用であると結論づけている。このように MRI に対し PET の有用性を支持する報告は彼らのもの以外にもいくつか存在する (Mosconi 2005)。したがって放射線学的にみるとその感度, 病態の反映という点で “PET is better than MRI” と考える研究者は少なくない。言い換えればいかにシナプス障害を正確に計測するかがアルツハイマー病の診断にとって最も重要であるのかもしれない。

動物モデル

1980 年代初頭にトランスジェニックマウス

(TG マウス) の作成が可能となって以来、アルツハイマー病研究の分野のみならず生物学、基礎医学の分野はこの「TG マウス」の嵐に飲み込まれた感が否めない。我々は今アミロイド前駆体タンパク質 (amyloid precursor protein: APP), プレシニリン 1 (PS1), プレシニリン 2 (PS2), apoE といったアルツハイマー病の原因遺伝子を導入して作成したネズミを手にし、これらをもって「アルツハイマー病のモデル」であると論じて研究をおこなっているが、病気の発見者である Alois Alzheimer はこの状況をどう思っているだろうか？

APP, PS1, PS2 のヒト野生株, または家族性アルツハイマー病の原因となるそれらの変異遺伝子を導入し過剰発現させたトランスジェニックマウスはこれまで数多く開発されて、それらのフェノタイプが大いに論ぜられ科学雑誌を賑わせてきた。神経病理を見てみるとなるほどこれらのマウスにおいてアルツハイマー病に特徴とされる老人斑は数多く形成される。しかしながら現在のところ、これらのアルツハイマー病モデルとされるトランスジェニックマウスの抱える最大のジレンマは、これらのマウスの多くに有意な神経細胞脱落が認められないことである。しかしながらこれらのトランスジェニックマウスの多くにおいて水迷路試験などの行動学習試験で記憶の障害が確かめられており、認知機能の低下は確かに存在する。行動学習検査に加えて、これら多くのトランスジェニックマウスにおいて記憶のメカニズムのモデルでありかつシナプス可塑性の代表的現象である海馬長期増強 (Long Term Potentiation: LTP) が検討されている。いくつかの例外はあるものの、APP, PS1, PS2 の野生株, 変異体いずれにおいても、それらを過剰発現させると LTP の障害, 低下がもたらされると報告されている。

近年 APP から $A\beta$ を切り出し遊離させる酵素の一つである γ セクレターゼの基質となっている Notch がアルツハイマー病研究者の注

目を集めている。Notch1 のノックアウトマウスは embryonic lethal であり PS1 のノックアウトマウスとそのフェノタイプが類似している。さらにはプレシニリンが γ セクレターゼを有していると議論されてから久しいが、プレシニリンは γ セクレターゼ活性を介して Notch シグナリングを制御している可能性が高い。また γ セクレターゼ阻害剤がアルツハイマー病の治療薬の候補と考えられてはいるが、あまりに強力かつ非特異的な γ セクレターゼ抑制剤の使用は Notch シグナリングを抑制してしまい各種の副作用, 有害作用を引き起こすことが報告されている。このような背景のもと我々のグループは Notch のシナプス機能及び神経可塑性におけるファンクションを調べる目的で Notch のアンチセンスをマウスのゲノムに導入し、Notch の発現量が約半分になるトランスジェニックマウスを作成し実験を行なった (Wang et al., 2004)。Notch アンチセンスのトランスジェニックマウスの海馬 CA1 においては LTP の形成および維持が有意に低下していた (図 1)。このことより Notch シグナリングは神経可塑性, 記憶の形成・維持に重要な役割を

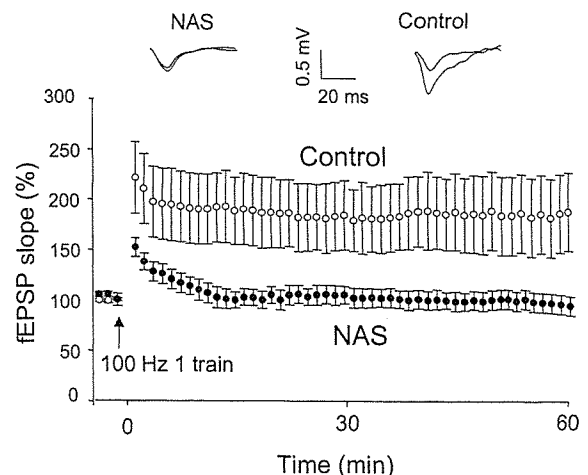


図 1. Notch アンチセンスを導入したトランスジェニックマウスにおいて LTP は低下している
Control マウスと Notch アンチセンス導入トランスジェニックマウス (NAS) での LTP の比較。(Wang et al., 2004 を改変)

もっていることが示唆された。この結果によりさきほど述べたように不用意な γ セクレターゼ阻害剤の使用は学習・記憶の障害を引き起こすことも予想されるわけである。

細胞実験

培養細胞等を用いてアルツハイマー病の病因にせまるという *in vitro* の実験系を用いた研究ももちろんこの 100 年のアルツハイマー病の研究史の中で重要な役割を担ってきた。ここでは筆者の得た知見も含めてアミロイドやタウがシナプス機能においてどのような function を有しているかを考察してみたい。

まず APP から遊離される $A\beta$ であるが、パッチクランプ法を用いて $A\beta$ の神経細胞の影響についてはいくつかの報告がなされている。筆者等はラットの大脳皮質から急性単離した神経細胞を用いて $A\beta$ を細胞外にアプリケーションし、細胞膜の性質、興奮性がいかに変化するかを検討した (Furukawa et al., 1994)。筆者らの実験結果は $A\beta$ は何か特定のイオンチャンネルに影響を与えるという訳ではなく、細胞膜に $A\beta$ が結合し新たな channel または pore を形成する可能性を示唆した。すなわち $A\beta$ によって形成された channel/pore によって過剰の陽イオンが細胞内に流入し、細胞内イオンホメオスターシスが破壊されて細胞・シナプスの情報伝達機能が破綻するものと考察される。

また $A\beta$ は β と γ セクレターゼによって切り出させるペプチドであるが、正常の脳では β 、 γ セクレターゼに対して α セクレターゼが優位であり、 $A\beta$ の中心で α セクレターゼがこのペプチドを分断し $A\beta$ が産生されてこないと考えられている。それでは α セクレターゼによって分断されて細胞外に遊離される secreted APP α (sAPP α) はシナプス機能にどんなファンクションをもっているだろうか？ そこで筆者らのグループは sAPP α の培養神経細胞への影響をパッチクランプ法を用いて検討した

ところ、sAPP α は cGMP 依存性 K チャンネルを活性化し神経細胞を過分極させることが確認された (Furukawa et al., 1996)。神経細胞は過分極すると興奮性は低下し、興奮性アミノ酸等による神経細胞毒性刺激から保護されやすい状態になる。したがって sAPP α は正常脳において K チャンネルの活性化を介して神経細胞を過分極させることにより種々の興奮毒性より神経細胞を保護する働きを担っている可能性が高い。

さて $A\beta$ は細胞膜に結合し細胞膜上に channel/pore を形成するとすれば、はたしてもうひとつのアルツハイマー病のキープレイヤーであるタウはどうだろうか。タウは分泌タンパク質ではないので、精製したタウタンパク質を細胞外に投与するというストラテジーではその生理学的機能を正確に把握する目的に到達するのは難しい。もちろんリン酸化タウが神経原線維変化を介してアルツハイマー病の発症に重要な役割を果たしていることは間違いないだろうが、遺伝学的にみると残念ながら孤発性、家族性いずれにおいてもタウがアルツハイマー病の原因遺伝子、危険遺伝子である、という報告は存在しなかった。しかしながら前側頭型認知症 (Frontotemporal dementia: FTD)、その中でも特に染色体 17 番にリンクしパーキンソン症を伴う FTD としていくつかの家系が報告されていた Frontotemporal dementia and parkinsonism linked chromosome 17: FTDP17 の原因遺伝子がタウであると 1998 年に報告されたのは全世界の tauists にとって 20 世紀の最後に送られた最大級の福音であったかもしれない (Poorkaj et al., 1998)。筆者は発見当時、この変異タウの最初の報告グループである米国シアトルのワシントン大学の Gerard Schellenberg の教室に在籍し、その発見の瞬間に立ち会うことができた。そして筆者らはこの FTDP17 において発見された変異タウと野生株のタウを培養細胞に過剰発現させてパッチクランプ法を用いて電気生理学的実験をおこなった (Furuka-

wa et al., 2003). 神経細胞のシナプス機能において非常に重要な役割を担っている膜電位依存性カルシウムチャンネルに注目して実験をみると、図2に示すとおり変異タウを発現させた細胞においては膜電位依存性カルシウム電流のrundownが著明に低下していることを確認した。rundownが低下するというのは何らかの刺激によってカルシウムチャンネルが開くとその後そのチャンネルが開きっぱなしに近い状況に陥る、ということである。これにより過剰のカルシウムイオンが細胞内に導入されて、細胞内カルシウムイオンのホメオスタシスが破綻し神経細胞死が惹起されることが示唆された。実際細胞培地から血清を除去してアポトーシスを誘導すると、変異タウを過剰発現させた細胞はアポトーシスをより起こしやすいことが確認された。

アルツハイマー病とは少し離れた話題になるが、パーキンソン病、レビー小体病の脳に形成されるレビー小体の主成分として α シヌクレインについても近年多くの神経科学者が研究を

おこなっている。 α シヌクレインはレビー小体を構成する主成分であるだけでなく、そのミスセンス変異が家族性パーキンソン病の原因であることに加え (Polymeropoulos et al., 1997, Kruger et al., 1998), α シヌクレインを含む染色体4番のある部分が3重体を形成していることがパーキンソン病の家系で報告され (Singleton et al., 2003), この α シヌクレインがパーキンソン病とレビー小体病の病因に深く関わっているという学説が不動のものとなった。筆者らもこの α シヌクレインについてその野生株と家族性パーキンソン病をおこすその変異体を培養細胞に導入して電気生理学的研究をおこなった (Furukawa et al., 2006)。家族性パーキンソン病の原因となる α シヌクレインの変異体 (A30P, A53T) を発現した細胞は静止膜電位がベクターのみを発現させた細胞や野生株を発現させた細胞に比べ有意に脱分極側にあり、かつその細胞膜のイオン透過性も有意に亢進していた (=細胞膜抵抗が有意に低かった) (図3a)。さらにはKClにて細胞膜を脱分極させてカルシ

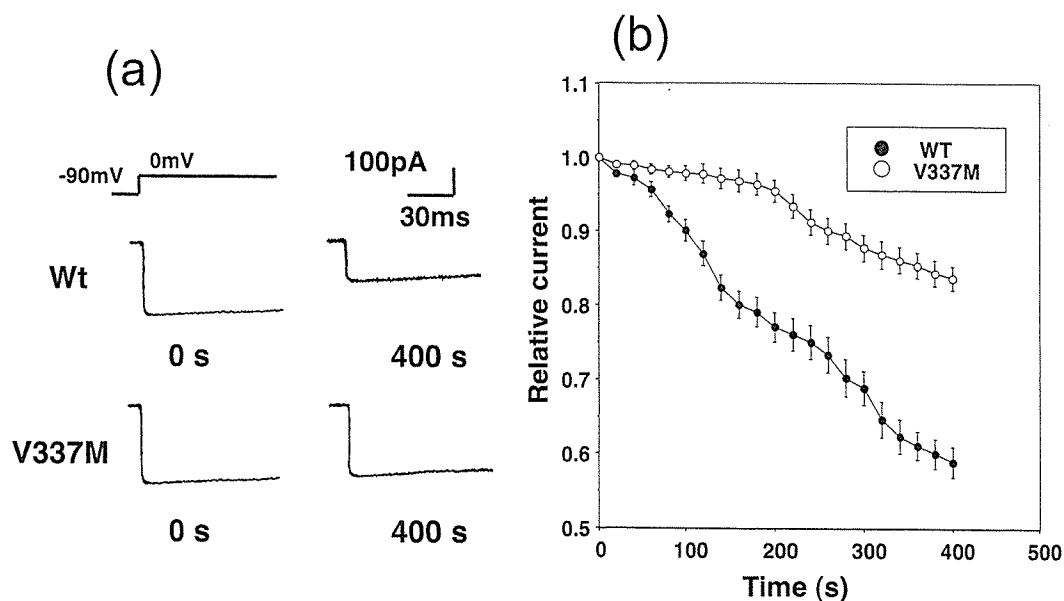


図2. 変異タウは膜電位依存性 Ca 電流のrundownを抑制する (a) Ca 電流の記録例. 上段は野生株のタウ, 下段は変異タウ (V337M) を発現させた細胞より記録された Ca 電流. (b) 経時的に記録した膜電位依存性 Ca 電流のrundownの経過. Ca 電流のrundownは変異タウによって著明に抑制されている. (Furukawa et al., 2003を改変)

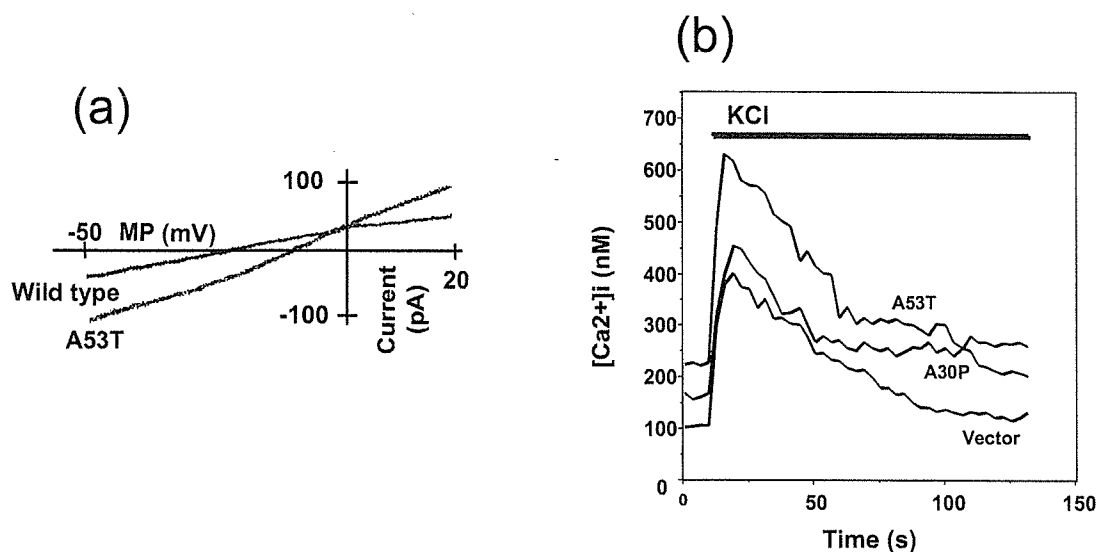


図3. 変異 α シヌクレインを発現した細胞では細胞膜のイオン透過性が高まり、細胞膜の脱分極による細胞内 Ca 濃度の上昇が亢進している

(a) ランプ波による電流-電圧曲線を野生株および変異 α シヌクレイン (A53T) を発現させた細胞にて記録した。変異 α シヌクレインを発現した細胞では細胞膜のイオン透過性が亢進している。(b) ベクターのみ、変異 α シヌクレイン A53T または A30P を発現させた細胞における細胞膜の脱分極による Ca 上昇。Ca 上昇は A53T または A30P を発現させた細胞で亢進している。(Furukawa et al., 2006 を改変)

ウムイオンの細胞内への流入を測定したところ、変異体を導入した細胞においては有意に細胞内カルシウム濃度の上昇が亢進されていた(図3b)。このことより α シヌクレインの変異体は細胞膜に結合した後なんらかの形で細胞膜のイオン透過性を増大させ細胞死を誘導するのではと推測される。実際米国ハーバード大学の Lansbury は脂質で作成した人工膜上に α シヌクレインを結合させたところ、膜上に円形の pore 様の構造物が形成されたことを電子顕微鏡を用いて確認している。

まとめ

以上、アルツハイマー病とそのシナプス機能・障害について我々の知見もふまえて総説を展開した。アルツハイマー病は健忘を初めとして脳の「機能」の疾患であるので、脳機能の根本を形成する「シナプス」の障害がその病態の中心であろう、という仮説が本総説で少しでも真実味を増したであろうか。ご存知のとおり現

在アルツハイマー病の治療薬として日本国内で使用されているのはアセチルコリンエステラーゼ阻害剤のみである。この薬剤はまぎれもなく、脳内におけるアセチルコリンの分解を抑えてその濃度を上昇させる、という「シナプス」仮説に基づいた薬剤であろう。一方今後 β および γ セクレターゼ阻害剤、ワクチン療法、幹細胞といった他の戦略に立脚した治療薬・治療法がアルツハイマー病診療の舞台に登場してくるかもしれない。しかしながらそれらの最終目標がシナプス機能の維持・保護・再生であることを信じてたい。

文献

1. Alzheimer A (1906) Uber einen eigenartigen schweren erkrankungsprozess der Hirnrinde. Neurologisches Centralblatt 23: 1129-1136.
2. Babiloni C, Cassetta E, Chioyenda P, Del Percio C, Ercolani M, Moretti DV, Moffa F, Pasqualetti P, Pizzella V, Romani GL, Tecchio F, Zappasodi F, Rossini PM (2005) Alpha rhythms in mild de-

- ments during visual delayed choice reaction time tasks: a MEG study. *Brain Res Bull* 65: 457-470.
3. Davies CA, Mann DM, Sumpter PQ, Yates PO (1987) A quantitative morphometric analysis of the neuronal and synaptic content of the frontal and temporal cortex in patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 78: 151-164.
 4. Fernandez A, Maestu F, Amo C, Gil P, Fehr T, Wienbruch C, Rockstroh B, Elbert T, Ortis T (2002) Focal temporoparietal slow activity in Alzheimer's disease revealed by magnetoencephalography. *Biol Psychiatry* 52: 764-770.
 5. Furukawa K, Abe Y, Akaike N (1994) Amyloid beta protein-induced irreversible current in rat cortical neurones. *Neuroreport* 5: 2016-2018.
 6. Furukawa K, Barger SW, Blalock EM, Mattson MP (1996) Activation of K⁺ channels and suppression of neuronal activity by secreted beta-amyloid-precursor protein. *Nature* 379: 74-78.
 7. Furukawa K, Wang Y, Yao PJ, Fu W, Mattson MP, Itoyama Y, Onodera H, D'Souza I, Poorkaj PH, Bird TD, Schellenberg GD (2003) Alteration in calcium channel properties is responsible for the neurotoxic action of a familial frontotemporal dementia tau mutation. *J Neurochem* 87: 427-436.
 8. Furukawa K, Matsuzaki-Kobayashi M, Hasegawa T, Kikuchi A, Sugeno N, Itoyama Y, Wang Y, Yao PJ, Bushlin I, Takeda A (2006) Plasma membrane ion permeability induced by mutant alpha-synuclein contributes to the degeneration of neural cells. *J Neurochem* 97: 1071-1077.
 9. Jeong J (2004) EEG dynamics in patients with Alzheimer's disease. *Clin Neurophysiol* 115: 1490-1505.
 10. Kawachi T, Ishii K, Sakamoto S, Sasaki M, Mori T, Yamashita F, Matsuda H, Mori E (2006) Comparison of the diagnostic performance of FDG-PET and VBM-MRI in very mild Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 33: 801-809.
 11. Kruger R, Kuhn W, Muller T, Woitalla D, Graeber M, Kosel S, Przuntek H, Epplen JT, Schols L, Riess O (1998) Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Nat Genet* 18: 106-108.
 12. Morrison JH, Hof PR (1997) Life and death of neurons in the aging brain. *Science* 278: 412-419.
 13. Mosconi L (2005) Brain glucose metabolism in the early and specific diagnosis of Alzheimer's disease. FDG-PET studies in MCI and AD. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 32: 486-510.
 14. Polish J, Corey-Bloom J (2005) Alzheimer's disease and P300: review and evaluation of task and modality. *Curr Alzheimer Res* 2: 515-525.
 15. Poorkaj P, Bird TD, Wijsman E, Nemens E, Garruto RM, Anderson L, Andreadis A, Wiederholt WC, Raskind M, Schellenberg GD (1998) Tau is a candidate gene for chromosome 17 frontotemporal dementia. *Ann Neurol* 43: 815-825.
 16. Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, Root H, Rubenstein J, Boyer R, Stenroos ES, Chandrasekharappa S, Athanassiadou A, Papapetropoulos T, Johnson WG, Lazzarini AM, Duvoisin RC, Di Iorio G, Golbe LI, Nussbaum RL (1997) Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 276: 2045-2047.
 17. Singleton AB, Farrer M, Johnson J, Singleton A, Hague S, Kachergus J, Hulihan M, Peuralinna T, Dutra A, Nussbaum R, Lincoln S, Crawley A, Hanson M, Maraganore D, Adler C, Cookson MR, Muentner M, Baptista M, Miller D, Blancato J, Hardy J, Gwinn-Hardy K (2003) alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science* 302: 841.
 18. Terry RD, Masliah E, Salmon DP, Butters N, DeTeresa R, Hill R, Hansen LA, Katzman R (1991) Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: Synaptic loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol* 30: 572-580.
 19. Wang Y, Chan SL, Miele L, Yao PJ, Mackes J, Ingram DK, Mattson MP, Furukawa K (2004) Involvement of Notch signaling in hippocampal synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 9458-9462.
 20. Yao PJ (2004) Synaptic frailty and clathrin-mediated synaptic vesicle trafficking in Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 27: 24-29.

Synaptic dysfunctions in Alzheimer's disease

Katsutoshi Furukawa, Shirong Wen, Nobuyuki Okamura,
Yukitsuka Kudo, Hiroyuki Arai
Center for Asian Traditional Medicine,
Tohoku University Graduate School of Medicine

It has been reported that synapses play a key role in learning and memory in human brains. Numerous investigations have been performed since Alois Alzheimer reported clinical courses and pathology of a dementing disorder, which is now called “Alzheimer's disease”. In this manuscript I review several reports, including ours, that investigate synaptic changes and dysfunction in Alzheimer's disease. It was reported that synaptic dysfunction and loss is well correlated with cognitive impairment in addition to that the loss and impairment in synapses occurs in an advance to neuronal loss or formations of senile plaques and neurofibrillary tangles. We conclude that synaptic dysfunction is one of the most important events in the pathomechanism of Alzheimer's disease.

Address correspondence to Dr. Katsutoshi Furukawa, Center for Asian Traditional Medicine, Tohoku University Graduate School of Medicine (2-1 Seiryō-machi Aobaku, Sendai 980-8575, Japan)

病理像を画像化する分子神経イメージング法による Alzheimer病の早期診断

— 日本でのBF-227の開発と臨床応用

Early detection of Alzheimer's disease by molecular imaging of amyloid pathology



荒井啓行(写真) 工藤幸司

Hiroyuki Arai¹ and Yukitsuka Kubo²

東北大学大学院医学系研究科先進漢方治療医学¹, 東北大学先進医工学研究機構²

©Alzheimer 病(AD)の診断と薬物治療効果の評価法が臨床症状ベースから画像バイオマーカーへと変わろうとしている。蓄積物質(病理像)を画像化する新しい分子神経イメージング法が日米で開発されている。アメリカの [¹¹C] PIB や [¹⁸F] FDDNP など、日本の [¹¹C] BF-227 である。これらの画像診断技術は、サロゲートバイオマーカーとして将来は発症前診断を可能にするかもしれない。AD に対する根本治療薬開発との連動が不可欠である。



Alzheimer病, アミロイド, 分子イメージング, 早期診断, 発症前診断

現在 170 万人と見込まれる認知症高齢者は 2015 年には 250 万人になると予想され、それに伴い厚生労働省は 2005 年から“認知症を知り地域をつくる 10 年構想”を掲げた。認知症はごくありふれた疾患として一般家庭医が診断から介護までを扱う時代が訪れようとしている。この 10 年の間に Alzheimer 病(AD)など認知症の病態の理解には著しい進歩がみられ、脳内蓄積物質を基本的な出発点として疾患の本質が論じられるようになったことは特記すべきことである。そのもっとも大きな流れが今日のアミロイド仮説である。

アミロイド仮説では上流側にアミロイド、下流側にタウと神経変性が位置するものである。つまりアミロイドの蓄積はタウ蛋白の異常リン酸化や神経細胞死などすべてのイベントを引き起こすものであり、アミロイドの蓄積がコントロールされれば、AD そのものも制圧可能と考える。そのため、アミロイドが蓄積した状態を簡便にしかも感度よく検出する技術開発がどうしても不可欠となってくる。それがアミロイドイメージングである。分子イメージング技術は日本の威信をかけ

た国家プロジェクトとして 21 世紀の技術立国日本のあり方を左右する重要な開発で、PET あるいは MRI を用いた発症前診断をめざすことになると思われる。

同時に車の両輪のように開発を進めるべきなのが一次予防であろう。すなわち、発症はしていないがアミロイドの蓄積が見つかった個人に対してなにができるかということである。疫学研究に目を転じると、昨今の生活習慣病やメタボリック症候群という概念の浸透を反映して生活習慣と認知症の関連が精力的に研究され、AD のような変性疾患においても多くの生活習慣(の偏り)がかかわることはほぼ間違いのない事実とされ、disease-modifying drug の開発と並んで予防薬の探索的研究にも大きな影響を与えている。

いま、世界の認知症医療と治験開発のあり方は Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiatives (ADNI) というアメリカの巨大なプロジェクトによって統一されようとしている。ADNI では AD の進行をもっとも的確に反映するバイオマーカーはなにかということが問われることになる。この

ADNI はヨーロッパやオーストラリアにおいても独自のスタートが予定されており 2007 年から本格的に起動することになるが、いまこそ Japan-ADNI をどのように起動させ実りある成果を得るか、真剣に考えるべき節目のときであろうと思われる。

🍷 アミロイドイメージングのAD診断における意義および原理

AD は現状では臨床症状を指標に、MMSE (mini mental state examination) や長谷川式などの神経心理学的テストを補助的に用いて診断されている。しかし、患者を取り巻く家族、または臨床家が AD 特有の臨床症状に気づいたときには、アミロイドおよび過剰リン酸化タウ蛋白を主構成成分とする老人斑および神経原線維変化、さらに神経細胞脱落(脳萎縮)などの病理像はもはや取り返しのつかないほど進行していることが知られている。すなわち、現状の AD 診断を癌のそれにとえるなら、末期状態に達した時点でしか検出されていないことになる。

近年、一部 AD の前駆状態と考えられている軽度認知障害 (mild cognitive impairment : MCI) という概念が提唱され^{1,2)}、AD に進行する MCI においても病理学的にはすでに立派な AD 状態である^{3,4)} ことが明らかにされている。AD の病理像は老人斑、神経原線維変化、神経細胞脱落の順に現れ、最初の病理像である老人斑蓄積は臨床症状が顕在化する数十年前からはじまると考えられている。これらの事実は、AD の臨床像と病理像、言い換えると clinical AD と pathological AD との間には大きな乖離が存在することを示唆している。この乖離にはいわゆる代償機能が関与しているものと考えられる。AD 病理像が進行してもかなりの部分代償機能がこれを補い続け症状発現を抑えているが、病理像が代償機能を上まわり症状が表に現れたときにはすでに手遅れの病理像を呈することになるのであろう。アミロイドの蓄積と臨床的な発症との関連を図 1 に示す。

しかし、臨床像と病理像とが乖離しているという AD におけるこの現象は、もし的確に生体の病理像をとらえることができるならば、AD の発症

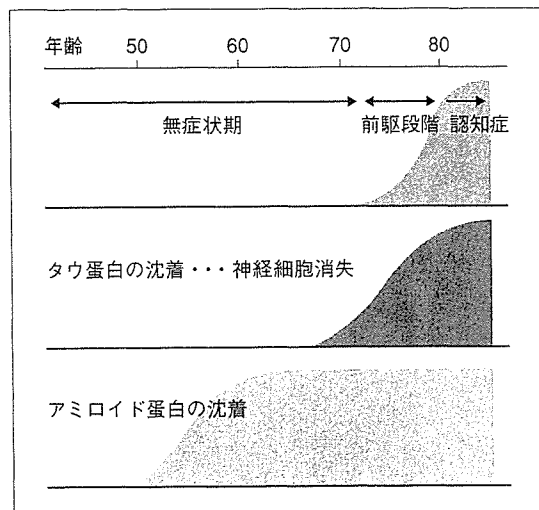


図 1 脳病理の進行と臨床症状の関連

物忘れがはじめて現れる 10~20 年前からアミロイドが脳に蓄積しはじめる。しかし、この段階ではまったくの無症状である。その後、タウのリン酸化と神経細胞死が進み、“臨床的な発症”となつてはじめて水面上に顔を出す。アミロイド蓄積の早期検出と発症予防が期待される。

前診断(予知)が可能となること、また診断時点においてたとえ高リスク者であっても、診断時点で発症前、すなわち十分に代償機能が働いている時点でありさえすれば、これに根本治療を加えることにより、その後 AD に陥らずに一生を過ごせることが可能になることを示唆させる。

アミロイドイメージングは AD の病理像を追跡し、その病理像から AD を診断しようとする技術である。それではこの診断法はいかなるストラテジーに基づく技術であるかについて解説すると、概念は以下のとおりである。

- ① AD の病理学的主徴のひとつ、老人斑のほとんどは、 β シート構造をとった $A\beta$ によって形成されている。
- ② 同シート構造をとった $A\beta$ に特異的選択的に結合し、かつ容易に血液-脳関門を透過する低分子有機化合物を見出す。
- ③ この化合物を陽電子断層撮影装置 (positron emission tomography : PET) で扱うことが可能な核種で標識する。
- ④ これをプローブとして生体に静脈内投与する。

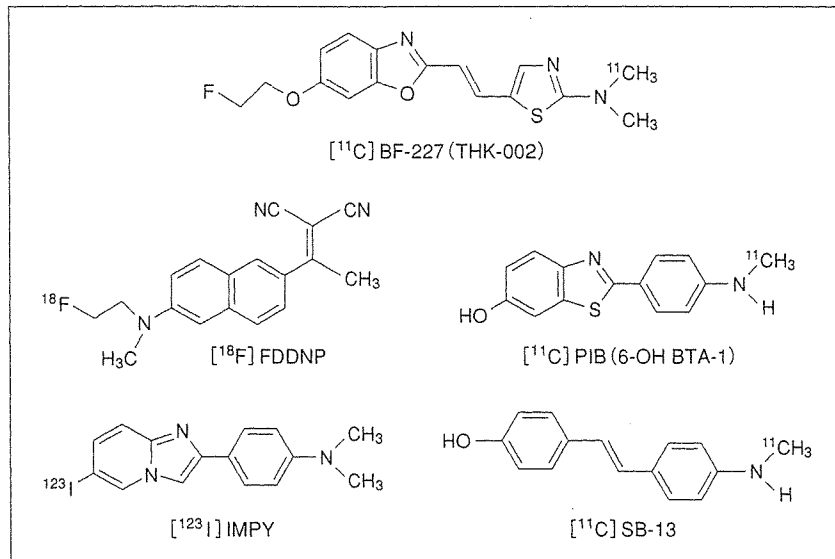


図 2 わが国のBF-227やアメリカでアミロイドイメージング用に開発されたプローブの名称とその化学構造式
 化合物の構造の違いはアミロイドとの結合特性に微妙な差異を生む。たとえば、PIBはより diffuse plaques を認識し、BF-227 はより凝集した compact plaques を認識する傾向がある。また、FDDNP は Plaques と Tangles の両者を検出するとされている。

- ⑤ プローブは血液-脳関門を越えて脳内の老人斑を形成している Aβ に結合する。一定時間後には非結合プローブは洗い流され、Aβ に結合したプローブのみが脳内に残る。
- ⑥ これを PET を用い、イメージング画像として取り込み、βシート構造をとった脳内 Aβ (=老人斑)蓄積量の定量およびその空間的分布から AD を診断する。

🍵 アミロイドイメージング用プローブおよびそれらの臨床応用の現状

この技術が臨床で応用されるための最大のハードルは、βシート構造をとった Aβ に特異的選択的に結合し、かつ血液-脳関門を容易に透過し、標的βシート構造をとった Aβ 以外からは速やかにクリアランスされる、さらに標識体は母化合物の特性を損なわない、などの優れた特性を有するプローブを見出すことにある。著者らの経験では、プローブとして必要とされるいくつかの特性のうち一方の特性を上げると別の特性が下がるといったまさに匙加減をみながらの創薬であり、なかなか理想とするプローブへ到達することが難しいのが現実である。

現時点で探索的臨床試験が実施されたことが確認されているアミロイドイメージング用プローブは、UCLA・Barrio らの [¹⁸F] FDDNP、ピッツバーグ大・Klunk らの [¹¹C] PIB、ペンシルベニア大・Kung 夫妻らの [¹¹C] SB-13、わが国においては BF 研究所-東北大チーム(著者ら)の [¹¹C] BF-227 である(図 2)。

[¹¹C] BF-227 は東北大学チームによって 2005 年 7 月から探索的臨床試験が開始された。AD 患者での検討では投与直後は健康人と同様の集積分布を示したが、30 分以降においては老人斑の好発部位である前頭葉、側頭葉、頭頂葉などの大脳皮質領域で放射能の集積が観察され、健康人とは異なる集積像を示し、十分にアミロイドイメージングプローブとしてのポテンシャルを有することが示唆されている⁵⁾(図 3)。今後、定量解析法の検討や [¹¹C] PIB などとの比較を行い、その詳しい臨床試験結果は追って報告したい。

[¹⁸F] FDDNP は世界で最初にヒトに供されたアミロイドイメージング用プローブである⁶⁾。AD 患者における [¹⁸F] FDDNP の集積は [¹⁸F] FDG 代謝の低下している部位にみられ、また側頭葉部位における集積は Aβ および神経原線維変化を反映

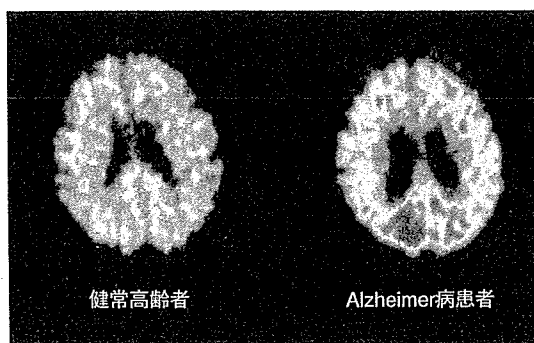


図 3 ヒトでの臨床試験成績

左は高齢者健常人, 右は Alzheimer 病と臨床診断されている, 重症度は中等度レベルの患者でのアミロイド画像. 黄色や赤で示されている皮質部位はアミロイドの蓄積を示すものと考えられる.

していると考えられる^{6,7)}. しかし, その高い脂溶性に基づくと思われる非特異的結合が問題となっている.

[¹¹C] PIB は現時点でもっとも臨床評価の進んでいるプローブであり, 国内においても数施設でその評価が行われている. AD 患者における評価では [¹⁸F] FDG を用いた際の PET 画像よりも明らかに診断精度に優れていることが示唆されており, AD とコントロールとを明確に峻別できると報告されている^{8,9)}.

Mintun らは 41 例の nondemented subjects の [¹¹C] PIB・PET 画像を撮影し, 4 例(61~77 歳)の脳皮質における binding potential values と AD 患者のそれらとの間で有意差がなかったことを報告している¹⁰⁾. また, MCI 患者の結果では AD 患者とほぼ同等の集積を示す例と, コントロールとほぼ同様の結果が得られる例とが報告されている⁹⁾が, 2006 年 7 月 15~20 日, スペイン・マドリッドにおいて開催された第 10 回国際 Alzheimer 病学会(The 10th International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disorders)においても, MCI 患者においては AD 患者とほぼ同等の集積を示す例とコントロールと同じ集積を示す例とがあること, また前者群の一部からは AD に進行する例がみられるが, 後者群からは進行例がみられないことが複数の研究施設から報告された.

最近, [¹¹C] PIB のヒトデータを最初に学会報

告したスウェーデン・ウプサラグループによって, AD 患者における 2 年間の追跡データが発表された¹¹⁾. それによると脳皮質における [¹¹C] PIB retention は 2 年前とほとんど変わらなかったが, 一方, [¹⁸F] FDG の代謝率はこの間, 約 20% の低下を示したと報告されている. また, マドリッドにおける国際 Alzheimer 病学会においても, AD 患者における AD 評価スケールと [¹¹C] PIB 集積との関連はそれほど高くなく, むしろ [¹⁸F] FDG の代謝率との関連のほうが高いことが複数の施設から示されていた.

以上, プローブ [¹¹C] PIB のこれらの結果は, 以下のようにまとめて考察することができるものと思われる. MCI において AD 並みの集積を示す群のなかのみから AD に進行する例がみられることから, これらは AD コンバート群または AD 高リスク群であり, コントロールと同じ集積を示す例は AD へコンバートしない MCI である可能性が高いと思われる. Mintun らの観察した 4 例は, 臨床症状はみられないものの AD 高リスク者である可能性が高い. AD 患者の 2 年間の追跡で [¹¹C] PIB 集積がほとんど変わらなかった事実, 前述した MCI での事実, さらに Mintun らの 4 例の事実は病理像としての Aβ の蓄積は AD 発症時点や MCI 時点よりもさらに遡った時点ですでにほぼプラトー状態に達していることを示唆させる. このことはまた, [¹¹C] PIB は MCI およびそれ以前(発症前)の高リスク者を検出できるとともに, AD 患者の重症度または進行度診断についてはこのプローブは不得意であることをも示唆させる. しかし, これらは現時点での考察であり, これらを検証するためにはさらなる追跡試験が必要であろう.

残念ながら [¹¹C] PIB 以外は広範な臨床試験が実施されていないのが現状である. [¹¹C] PIB 以外のプローブが MCI およびそれ以前においてどのような挙動を示すかは今後のデータを待ちたい.

アミロイドイメージングのさらなる発展

現時点で臨床試験が実施されているプローブは, [¹⁸F] FDDNP を除いてすべて [¹¹C] 標識体

である。臨床有用性は、半減期の長い ^{18}F 標識体のほうが圧倒的に優れていることから、世界中でその開発が行われており、著者らもこれに取り組んでいる。

現状のアミロイドイメージングは PET 用プローブ・PET が主流を占めているが、原理的にはそれぞれに対応した診断装置を用いることにより、SPECT 用、MRI 用、さらに近赤外線蛍光プローブもアミロイドイメージング用プローブになりうると考えられ、事実、前二者については ^{123}I IMPY がすでに臨床試験に供され¹²⁾、後二者についてはプロトタイププローブが報告されている (MRI 用プローブ ; FSB¹³⁾、近赤外線蛍光プローブ ; AOI-987¹⁴⁾).

文献

- 1) Petersen, R. C. et al. : Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch. Neurol.*, **273** : 1985-1992, 2001.
- 2) Winblad, B. et al. : Mild cognitive impairment-beyond controversies, towards a consensus : report of the international working group on mild cognitive impairment. *J. Internal Med.*, **256** : 240-246, 2004.
- 3) Gomez-Isla, T. et al. : Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J. Neurosci.*, **16** : 4491-4500, 1996.
- 4) Price, J. L. and Morris, J. C. : Tangles and plaques in nondemented aging and preclinical Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.*, **45** : 358-368, 1999.
- 5) Arai, H. et al. : ^{11}C -BF-227 and PET to visualize amyloid in Alzheimer's disease patients. *Alzheimer's Dementia*, **2**(3) (Suppl. 2) : S312, 2006.
- 6) Shoghi-Jadid, K. et al. : Localization of neurofibrillary tangles and β -amyloid plaques in the brains of living patients with Alzheimer disease. *Am. J. Geriatr. Psychiatry*, **10** : 24-35, 2002.
- 7) Kepe, V. et al. : Serotonin 1A receptors in the living brain of Alzheimer's disease patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103** : 702-707, 2006.
- 8) Klunk, W. E. et al. : Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann. Neurol.*, **55** : 306-319, 2004.
- 9) Lopresti, B. J. et al. : Simplified quantification of Pittsburgh compound B amyloid imaging PET studies : A comparative analysis. *J. Nucl. Med.*, **46** : 1959-1972, 2005.
- 10) Mintun, M. A. et al. : ^{11}C PIB in a nondemented population Potential antecedent marker of Alzheimer disease. *Neurology*, **67** : 446-452, 2006.
- 11) Engler, H. et al. : Two-year follow-up of amyloid deposition in patients with Alzheimer's disease. *Brain*, **129** : 2856-2866, 2006.
- 12) Clark, C. M. et al. : Imaging amyloid with ^{123}I IMPY SPECT. *Alzheimer's Dementia*, **2**(3) (Suppl. 2) : S342, 2006.
- 13) Higuchi, M. et al. : ^{19}F and ^1H MRI detection of amyloid β plaques *in vivo*. *Nat. Neurosci.*, **8** : 527-533, 2005.
- 14) Hintersteiner, M. et al. : *In vivo* detection of amyloid- β deposits by near-infrared imaging using an oxazine-derivative probe. *Nat. Biotech.*, **23** : 577-583, 2005.

* * *