

旭川

3) 平野雅弥、渡部進一、市川隆史、和田幸人、田中淳司、瀧澤 修、山下典生、山田 実、松田博史、岩坪 威. AD 臨床評価の標準化研究 (J-ADNI 臨床研究)における MRI 撮像プロトコールの検討. 第 36 回日本磁気共鳴医学大会、平成 20 年 9 月 12 日、旭川

4) 松田博史

シンポジウムⅡ「アルツハイマー病早期診断：画像診断を中心に」MRI, 第 27 回日本認知症学会、10 月 10 日、前橋

5) 松田博史. MRIを中心とした認知症の画像診断の進歩. 第32回脳神経C I 学会総会、平成21年3月7日、京都

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

分担研究報告書

アルツハイマー病バイオマーカーとしての血漿 A $\beta$  測定法に関する検討

分担研究者 桑野 良三 新潟大学脳研究所 教授

研究要旨

アルツハイマー病予備軍の早期診断と病勢をモニターする血液中バイオマーカー測定法を確立する。アルツハイマー病と臨床診断された症例と複数の地域をベースとした健常高齢者の血漿を研究材料として、市販のアミロイド $\beta$  40/42 ELISA 測定キット及び特注の ELISA 測定キット条件を検討した。抗体を代えることによって、検出感度に差が出たが、正常とアルツハイマー病を反映する統計学的有意差は得られなかった。

A. 研究目的

団塊世代がもうすぐ 65 歳を迎え、我が国始まって以来の高齢社会の到来は目前に迫っている。感染症や治療可能な病気の治療法が発達し、これまで医療の前面に出なかった高齢になって発症する疾患対策が緊急の課題となってきた。アルツハイマー病（AD）をはじめとする認知症の増加は、患者本人のみならず家族を巻き込み、若い世代の労働力を非生産労働に注入せざるを得ない事態となっている。少子高齢化の時代にあつて、医療経済的にも大きな課題となっている。

ADは、年齢と共に有病率／罹病率は増加し加齢が最大のリスクである。本人の自覚がない間に不可逆的な脳病変が進行し、病気に気づいた時には、健康であった脳に戻れない。従つてAD予備軍を発症前に診断し、健康な脳を保つて予防につとめることが重要である。発症した後は、薬剤応答、医療介入の効果や生物学的病理の進展を客観的に反映できるバイオマーカーによる治療経過の的確な評価が求められる。

前向き大規模臨床研究である Japanese Alzheimer Disease Neuroimaging Initiative (J-ADNI) では、臨床診断、心理テスト、脳画像データ、ゲノム情報

を統合してADの発症と進展を客観的に評価する多施設共同研究が推進されている。本研究は、J-ADNIで経時的に収集する血液、脳脊髄液でアミロイド $\beta$  ペプチド（A $\beta$ ）、タウなど病勢をモニターするバイオマーカーを測定するための基礎研究を行う。バイオマーカーとして A $\beta$  濃度が脳脊髄液では病勢によって有意に変動している。本年度の研究目的は、血液中においても超微量に存在する A $\beta$  が、病態を反映するかどうか、効率のよい測定方法を確立することである。

B. 研究方法

1) 血漿 A $\beta$  の測定条件の検討

A $\beta$  40 及び A $\beta$  42 に対する特異抗体を用いた ELISA 測定系が、血漿 A $\beta$  を効率よく再現性よく測定できるか、(a) 分注操作の改善、(b) 発色時間の検討、(c) 抗体反応の特異性、について検討する。

2) 測定試料の検討

測定試料の状態を一定にするために、(a) 採血時間の検討、(b) 血漿の 4 倍希釈と原液の測定値を比較、(c) 「先端脳」検体の A $\beta$  40 および A $\beta$  42 測定の再現性、について検討する。

(倫理面への配慮)

本研究は新潟大学医学部の臨床倫理委員会の承認を得て行った。

### C. 研究結果

#### 1) 血漿 A $\beta$ の測定条件の検討。

##### (a) 分注操作の変更。

同一検体にもかかわらず、測定毎またはウェル毎に測定値がバラツキ、再現性が得られなかった。反応試薬を底に集めるプレートのスピンドウン、同一の検体ウェルの位置、完全な暗室での反応、洗浄液の温度、洗浄液の量、洗浄ウオッシャーの時間と回数、等を変えても測定値は一定しなかった。そこで、分注操作自体を検討した。ELISA プレートに検体や二次抗体を分注する際、プレート内壁のやや上に接触させて反応試薬をつたわせていた。プレートを逆さにして反応すると極端に高い値が出た。これらのことから、抗体とは無関係にプレートそのものに検体や二次抗体が非特異的に吸着する可能性が疑われた。そこで、ELISA プレートの素材、抗体固定部位やブロッキング部位と範囲について製造元に確認した。抗体の固定化部位やブロッキング部位より上のプレート内壁に接触させないように操作法を変更したところ、バラツキが改善した。バラツキは、プレートのプラスチックに抗体が非特異的に結合することが原因であった。

##### (b) 発色時間の検討。

検体数：96 (A $\beta$  スタンダードを含む)

使用キット：Human  $\beta$  Amyloid (1-40) ELISA Kit Wako II (Lot 7005)

測定値の再現性を上げるためには、反応停止後は測定値が安定していることは大切である。二次抗体 (HRP 標識) 反応後、TMB 溶液で発色反応を 30 分間行い、発色反応を停止してから OD を測定するまでの時間を検討した。反応停止後 5 分から 60 分まで、5 分おきに OD450nm を測定した。OD450nm の変化 (CV%) は、5~15 分では最小 0.1、最大 4.69。35 分~60 分では最小 0.45、最大 4.92 で、停止後から測定までの時間による誤差は少なかった。

##### (c) 抗体反応の特異性の検討。

検体数：4 (健康者)

使用キット：Human/Rat  $\beta$  Amyloid (40) ELISA Kit Wako II (Lot 8009)、Human/Rat  $\beta$  Amyloid (42) ELISA Kit Wako High-Sensitive (Lot 6010)  
大量のタンパクが存在する血漿を対象とするため、非特異的な反応があるかかもしれない。抗体の特異性を確認するため、合成 A $\beta$  ペプチドを添加し阻害効率を調べた。

一次抗体 BNT77 (A $\beta$  11-28 特異的)、二次抗体 BA27 (A $\beta$  40C 末端特異的) または BC05 (A $\beta$  42C 末端特異的) の ELISA 系で、一次抗体認識配列を含

む A $\beta$  1-28 ペプチドを血漿に添加して測定した。A $\beta$  x-40 (BNT77—BA27 サンドイッチ) は、600nM 以上のペプチド添加で検出されなくなった。A $\beta$  x-42 (BNT77—BC05 サンドイッチ) は、120nM 以上のペプチド添加で検出されなくなった。このことから非特異的な反応は起きていないことがわかった。

#### 2) 測定試料の検討。

##### (a) 採血時間の検討。

検体数：24 人

使用キット：Human/Rat  $\beta$  Amyloid (40) ELISA Kit Wako II (Lot 8009)、Human/Rat  $\beta$  Amyloid (42) ELISA Kit Wako High-Sensitive (Lot 6010)  
空腹時または食後の採血による影響、安静時と運動後の影響、早朝に低く日中に高くまたはその逆の日内変動、はないか? 採血時間による血中 A $\beta$  濃度の変化を調べた。入院中の 24 人の、協力を得て、4 回の採血を行い (寝起きの安静時、朝食後 1 時間、2 時間、4 時間=昼食前)、血漿 A $\beta$  濃度を測定した。フリードマン検定で採血時 4 点を比較すると、A $\beta$  x-42 は、食後 4 時間でわずかに上昇する傾向がみられた (P=0.0004) が、A $\beta$  x-40 と A $\beta$  42/40 比には変化がみられなかった (P=0.0735, P=0.3840)。検体数が少ないので決定はできないが、今回の測定では採血時間による大きな変化はなさそうであった。

##### (b) 血漿の 4 倍希釈と原液の測定値を比較。

検体数：AD84 人、健康高齢者 26 人

使用キット：Human/Rat  $\beta$  Amyloid (42) ELISA Kit Wako High-Sensitive (Lot 6010)

A $\beta$  x-42 について、血漿を 4 倍希釈して測定した場合と原液で測定したときで、結果に違いがあるかどうかを検討した。ミレニアムプロジェクト「先端脳」で収集した AD84 人、健康高齢者 26 人の血漿を用いた。4 倍希釈測定結果の平均 $\pm$ SD は、AD 群 5.22  $\pm$  2.48 pM、対照群 4.32  $\pm$  1.22 pM であった。原液測定の結果は、AD 群 3.35  $\pm$  2.47 pM、対照群 2.68  $\pm$  1.57 pM で、4 倍希釈測定のほうが原液測定より濃度が高く出る傾向があることがわかった。4 倍希釈測定濃度/原液測定濃度比は、AD 群と対照群で差がなかった。原液測定濃度が低い (1pM 以下) 検体は、4 倍希釈測定濃度/原液測定濃度比が高い傾向がみられた。

##### (c) 「先端脳」検体の A $\beta$ 40 および A $\beta$ 42 測定再現性。

検体数：AD94 人、健康高齢者 50 人

使用キット：Human/Rat  $\beta$  Amyloid (40) ELISA Kit Wako II (Lot 8009)、Human/Rat  $\beta$  Amyloid (42) ELISA Kit Wako High-Sensitive (Lot 6010)  
ミレニアムプロジェクト「先端脳」で収集した AD94 人、健康高齢者 50 人の血漿中の A $\beta$  x-40、A $\beta$  x-42 を測定した。AD 群と対照群の A $\beta$  濃度をマンホイ

ットニー検定で比較した。A $\beta$ x40はAD群が対照群に比べて少し高い傾向があった(P=0.0394)が大きな差はなく、A $\beta$ x42、A $\beta$ 42/40比には有意差はなかった(P=0.1099, P=0.2837)。

#### D. 考察

今年度の測定操作の改善によって、同一検体の測定誤差は著しく減少した。より精度の高い測定と統計学的な意義を上げるために、検体はAD用プレートと対照用プレートに分けずに、AD検体と対照検体をランダムに1枚のプレートに配置し、プレート間の差を反映しないようにした。H19年度の結果から、検体の保存条件と凍結融解、同一検体の異なる日での測定であっても大きな変化が無かった。本年度は空腹-食事、安静-運動、並びに日常生活などの日内変動を考慮して採血時間を検討したが、当初予想したほどの影響が認められなかった。しかし検体数が24人、4回採血とすくないので、疾患、年齢、男女、罹病期間、による影響がないと結論はできない。

ADのA $\beta$ 42は対象群と比較して有意に低値であった過去の測定結果が再現できなかった。その理由として、1)測定プレートの誤差、2)抗体の性質、が考えられる。1)に関して、測定プレート作製ロットの差または検体をランダムに配置しなかった可能性がある。2)に関して、使用したA $\beta$ 40、A $\beta$ 42抗体の特異性と力価は定評があり、我々のペプチドの添加阻害実験からも確認している。過去の測定がFab化抗体かIgG抗体であったか明確でなかった。そこで両抗体を固定化したプレートを購入し比較したところ、IgG抗体が若干高い測定値であったが、Fab化抗体と基本的には同じ結果が得られた。残された検討課題は、数年に渡る-80℃保存期間の影響は否定できないが、数ヶ月の凍結期間で変化がないので、凍結保存期間の可能性はほとんど無いと思われる。A $\beta$ は凝集しやすい性質があるので、標準液のA $\beta$ が以前測定した時と同じ状態では無いかもしれない。今回は、ADと対照をランダムに配置した測定系なので、プレートに添付された標準A $\beta$ の影響はない。血漿内の脂質との結合が微妙に測定に影響しているか、A $\beta$ ペプチドのコンフォーメーションが変化しているかもしれないが、改善した操作法で繰り返し測定した限りその影響は無いと思われる。

H21年度は、脳脊髄液中のA $\beta$ およびタウのs測定系を確立する。J-ADNIで収集される検体のAPOE遺伝子型決定を行い、バイオマーカー測定結果と遺伝子型との関連性について検討を行う。

#### E. 結論

血漿中のA $\beta$ 測定は、大量のタンパク、脂質、その他の成分の中に存在し、現在の方法だけで超微量のA $\beta$ を測定するには限界がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kasuga K, Ohno T, Ishihara T, Miyashita A, Kuwano R, Onodera O, Nishizawa M, and Ikeuchi T.: Depression and psychiatric symptoms preceding onset of dementia in a family with early-onset Alzheimer disease with a novel PSEN1 mutation. *J Neurol*. 2009 in press
- 2) Takei N, Miyashita A, Tsukie T, Arai H, Asada T, Imagawa M, Shoji M, Higuchi S, Urakami K, Kimura H, Kakita A, Takahashi H, Tsuji S, Kanazawa I, Ihara Y, Odani S, and Kuwano R.: Genetic association study on and around the APOE in late-onset Alzheimer disease in Japanese. *Genomics*, 2009 in press
- 3) Kasuga K, Shimohata T, Nishimura A, Shiga A, Mizuguchi T, Tokunaga J, Ohno T, Miyashita A, Kuwano R, Matsymoto N, Onodera O, Nishizawa M, and Ikeuchi T.: Identification of Independent APP Locus Duplication in Japanese Patients with Early-Onset Alzheimer's Disease. *J Neurol, Neurosurg & Psychia* 2008 inpress
- 4) Miyashita A, Arai H, Asada T, Imagawa M, Shoji M, Higuchi S, Urakami K, Toyabe S, Akazawa K, Kanazawa I, Ihara Y, and Kuwano R.: GAB2 is not associated with late-onset Alzheimer's disease in Japanese. *Eur J Hum Genet*. 2008 in press

##### 2. 学会発表

- 1) Miyashita A, Saito Y, Kakita A, Ogishima S, Tanaka H, Takahashi H, Murayama S, Ihara Y, Kuwano R.: "Gene expression profiling of postmortem brain tissues affected by Alzheimer's disease" The 11th International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disorders in Chicago, USA. 2008. July 26-31
- 2) Tomiyama T, Nagata T, Takuma H, Shimada H, Teraoka R, Fukushima A, Kanemitsu H, Kuwano R, Imagawa M, Ataka S, Wada Y, Yoshioka E, Nishizaki T, Watanabe Y, Mori H.: "Identification and characterization of a novel APP mutation (E693 $\Delta$ ) in familiar Alzheimer's disease" The 11th International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disorders in Chicago, USA. 2008. July 26-31
- 3) 月江珠緒、松田敬子、井原康夫、桑野良三: 「ヒト血漿中のアミロイド $\beta$ 40および42定量法の確立」第27回日本認知症学会、2008年10.10(10~12)、前橋
- 4) 宮下哲典、斎藤祐子、柿田明美、荻島創一、田中博、村山繁雄、高橋均、井原康夫、桑野良三: 「死後脳を用いた晩期発症型アルツハイマー病の網羅的遺伝子発現解析」第27回日本認知症学会、2008年10.11(10~12)、前橋

(予定を含む。)

5) 富山貴美、永田徹、嶋田裕之、寺岡理恵、福島章子、金光兵衛、詫間浩、桑野良三、今川正樹、安宅鈴香、和田康弘、吉岡英斗、西崎知之、渡辺恭良、森啓：「A $\beta$ のオリゴマー化を促進するAPP変異E693 $\Delta$ の同定」第27回日本認知症学会，2008年10.11(10~12)、前橋

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）  
分担研究報告書

J-ADNI における PET 研究、データ品質管理体制の確立

分担研究者 伊藤健吾 国立長寿医療センター部長

PET コア活動の目的は PET の規範的な研究体制を構築し、J-ADNI PET 研究を遂行することである。本年度は研究 2 年目として、1) PET 研究体制の整備、2) PET 検査の支援と品質管理、3) 画像データの解析の各項目について引き続き検討、あるいは具体的活動を行い、J-ADNI PET 研究を推進した。その結果、本年度末までに 17 施設で PET 検査が実施され、PET 実施症例数：62 症例 (FDG 29 例、PIB or BF227 5 例、FDG+PIB or FDG+BF227 28 例)、PET 検査実施数：90 件となった(2009/03/25 現在)。

A. 研究目的

PET コア活動の目的は J-ADNI で行われる PET 検査 (FDG-PET とアミロイド PET) についてその研究実施体制を整備して、多施設共同研究における PET 検査の厳密な品質管理と標準化を実現し、AD 発症と進行評価の客観指標として PET データの取得を可能にするとともに得られた PET データの解析を MRI、神経心理検査、生化学マーカーなど他のサロゲートマーカー (surrogate marker) とも関連付けて解析し、画像・生化学診断を融合した総合診断体系を世界に先駆けて実用化することである。

B. 研究方法

PET コアとしては伊藤 (国立長寿医療センター) が PET コア全体と FDG-PET、石井 (都立老人研) がアミロイドコアをそれぞれ担当し、千田 (先端医療センター) が PET QC コアとして PET 検査の品質管理と標準化を推進している。

今年度は PET コアとして以下のような活動を行った。

1) PET 研究体制の整備

J-ADNI 手順書の PET 部分の作成、J-ADNI PET 技術マニュアルなど各種マニュアルの改訂を行うと共に、FDG およびアミロイド PET の検査結果の開示指針を策定した。また、PET 画像の中央読影システムの開発に着手した。

2) PET 検査の実施支援と品質管理

施設認定作業を継続し、各施設の PET 検査の実施を支援するとともに、各施設で得られた画像データの QC を実施した。また、画像の機種間差の補正法を検討した。

3) 画像データの解析

画像データの解析の検討として US-ADNI の PET データを利用して予備的検討を行った。また、アミロイド PET 評価法の標準化を検討した。

C. 結果

今年の PET コア活動の結果は以下のとおりである。

1) PET 研究体制の整備

J-ADNI 手順書の PET 部分を J-ADNI PET 技術マニュアルに準拠して作成するとともに、J-ADNI PET

技術マニュアルを改訂した(添付)。FDG およびアミロイド PET の検査結果開示指針については FDG およびアミロイド PET とともに希望者には中央読影による統一した見解を開示することを基本とし、画像所見の定型的な説明を定めた。とくにアミロイドに関しては開示の条件として、①被験者のカウンセリングに対応する担当者を置く、②被験者の希望があった場合、長期的にフォローできる態勢をとるの 2 条件を満たすことを求めた。また、PET 画像の中央読影システムの開発については中央読影用画像サーバーを含めたデータ集積・管理システムを構築した。

## 2) PET 検査の実施支援と品質管理

PET 施設認定については全 24 施設のうち 21 施設で認定が終了し、実際に 17 施設で PET 検査が開始され、PET 実施症例数: 62 症例 (FDG 29 例, PIB or BF227 5 例, FDG+PIB or FDG+BF227 28 例)、PET 検査実施数: 90 件となった(2009/03/25 現在)。画像データの QC 関連では QC 前のデータのアップロードに比較的問題が多く、データの不足等が見られた。また、QC に関しては撮像プロトコルの遵守状況、体動のチェック後に処理画像の作成を行ったが、再撮像の必要を認めた例はなかった。画像の機種間差を補正するために分解能補正ソフトを開発した。

## 3) 画像データの解析

US-ADNI の PET データを利用して行った予備的検討では登録時に加えて一部 2 年目までの画像データを用いて群間比較を行った。その結果 US-ADNI で登録されている被験者の FDG-PET 上の特徴が明らかになった。また、アミロイド PET 評価法の標準化については製剤の特徴から PIB、BF-227 それぞれで異なる評価法が必要と判断され、引き続き検討することになった。

## D. 考察

PET 研究体制の整備では一部未整備であったマニュアル類の作成、改訂が行われた。FDG およびアミロイド PET の検査結果の開示については検査結果の開示が被験者に及ぼす心理的な影響を中心に倫理上の課題を含んでおり、慎重に取り扱う観点からあらためて指針を策定した。この中で検査結果については中央読影での判定結果を用いることにしており、早急な中央読影の開始が必要である。

PET 検査の実施支援と品質管理では大半の施設の施設認定が終了したが、一部未了の施設があり、施設認定を急ぐ必要がある。PET 検査の実施については FDG、アミロイドとも順調に実施数が増加しているが、検査終了後のデータのアップロードは円滑とはいえず、システム上の問題点を含めて解決する必要がある。

画像データの解析については US-ADNI の PET データを利用して行った予備的検討では US-ADNI で登録されている被験者の FDG-PET 上の特徴が明らかになり、この後の J-ADNI PET データの解析に参考となった。また、新規解析法を適用する場合はあらかじめ US-ADNI の PET データで検証作業を行うことがよいと考えられる。

## E. 結論

PET コア活動の研究 2 年目として、1) PET 研究体制の整備、2) PET 検査の支援と品質管理、3) 画像データの解析の各項目について引き続き検討、あるいは具体的活動を行い、J-ADNI PET 研究を推進した。その結果、本年度末までに PET 検査実施数は計 90 件となった。

共同研究者、研究協力者

先端医療センター: 千田道雄 (PET QC コア責任者)、山根登茂彦、清水敬二、井狩彌彦、西尾知之  
東京都老人総合研究所: 石井賢二 (アミロイドコ

ア責任者)、石渡喜一

姫路循環器病センター；石井一成

国立長寿医療センター；加藤隆司、藤原 謙

㈱マイクロン；高石勝、吉岡由里子、山道直子

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1) 論文

1. 伊藤健吾：PET/SPCET によるアルツハイマー病の診断を目的とした臨床試験. 臨床放射線 53 : 885-892, 2008

2. 伊藤健吾, 加藤隆司, 新畑豊, 鷺見幸彦: アルツハイマー病の早期画像診断. BIO Clinica 2008; 23(8): 714-720

3. 加藤隆司, 旗野健太郎, 伊藤健吾: 認知症診療における核医学の進歩と課題 - アミロイドイメージング- 特集 核医学の最前線, 映像情報 Medical 40(11): 976-979, 2008

4. 伊藤健吾: アルツハイマー病と脳核医学—最近の話題— 東北脳循環カンファレンス 14 : 5-9, 2008

### 2) 学会発表

1. 伊藤健吾: オーガナイズドセッション1 認知症予防に関する BME、認知症を画像で診る. 第 47 回生体医工学会大会, 2008/5/8, 神戸国際会議場, 神戸市

2. 伊藤健吾: イブニングセミナー-ES-9 脳機能画像の最前線, 認知症の早期診断における PET の有用性—SEAD-J, J-ADNI を中心に. 第 49 回日本神経学会総会, 2008/5/16, 横浜市

3. 伊藤健吾: アルツハイマー病の早期診断と根本治療薬の開発促進を目的とする臨床研究. 第 29

回宮城総合画像研究会, 2008/9/5, 仙台

4. 河津省司, 右代谷昇, 加藤隆司, 伊藤健吾: 認知症画像の因子分析による解析の試み. 第 14 回東海脳神経核医学研究会, 2008/9/6, 名古屋

5. 伊藤健吾: FDG-PET によるアルツハイマー病の早期診断 シンポジウム II 「アルツハイマー病早期診断: 画像診断を中心に」. 第 27 回日本認知症学会, 2008/10/11, 前橋

6. 加藤隆司, 伊藤健吾, 旗野健太郎, 新畑 豊, 加藤力雄, 岡村信行, 谷内一彦: [C-11] BF-227 PET アミロイドイメージングの長寿医療センターにおける初期検討. 第 48 回日本核医学会学術総会, 2008/10/25, 千葉

7. 伊藤健吾: 認知症の診断と根本治療薬の開発に貢献する PET イメージング, 第 1 回名古屋分子標的イメージングセミナー, 2008/10/31, 名古屋

8. 伊藤健吾: 日本での PET を用いたアルツハイマー病に関する多施設臨床研究の意義、及び SEAD-Japan と J-ADNI プロジェクトについて.

「PET を用いたアルツハイマー病診断プロジェクトの現状と今後の展望」講演会, 2008/11/4, 東京

9. 伊藤健吾: 軽度認知障害と脳核医学 シンポジウム 21 「軽度認知障害」. 第 38 回日本臨床神経生理学学会, 2008/11/14, 神戸

10. 加藤隆司, 伊藤健吾, 旗野健太郎: [C-11] BF-227 PET によるアミロイドイメージング: アルツハイマー病, 軽度認知障害における検討. 第 13 回ニューロイメージングカンファレンス, 2009/2/7, 名古屋

11. 伊藤健吾: 認知症の診断と根本治療薬の開発に貢献する PET イメージング. 第 46 回脳の医学・生物学研究会, 2009/2/28, 名古屋

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし



厚生労働科学研究費補助金（長寿科学研究事業）

分担研究報告書

アルツハイマー病発症と進展の客観的評価法確立のための多施設縦断臨床研究

J-ADNI コアスタディ

研究分担者 国立精神・神経センター病院放射線診療 部長 佐藤 典子

研究要旨

アルツハイマー病発症と進展の客観的評価法確立のための大規模臨床・画像データベースの構築及び継続的運用のための情報基盤作成の検討

A. 研究目的

アルツハイマー病の多施設脳画像に必要な情報基盤（ハードウェア・ソフトウェア）作成のための検討を行い大規模臨床・画像データベースの構築及び継続的運用に繋げる。加えて、施設間の画像比較のためのソフトウェアの基礎検討を行う。

B. 研究方法

平成 19 年度の成果として報告した米国 ADNI のデータベースの検討から作成した J-ADNI データベースを元に、被験者の組み入れ開始に伴い発生する必要な全データを保存するための継続的改良を行う。また、多施設脳画像研究に欠かせない MRI 画像の信号むらと歪みの補正ソフトウェアの基礎的検討を、米国 ADNI で使用されているソフトウェアを用いた検証や独自プログラムの開発により行う。

（倫理面への配慮）

全てのデータは匿名化されているため個人情報にはならない。またネットワークは閉鎖系のため高いセキュリティが確保されている。

C. 研究結果

被験者のデータ収集が開始し、新たに必要ことが明らかになった記録項目についてデータベー

スの改良を行った。また、米国のデータとの比較を可能にするためのデータ項目の対応付け作業を行った。

MRI 画像の信号むら補正について、US-ADNI でも使われている N3 ソフトウェアをインストールしプログラムの動作環境を作り、動作検証を行った。

歪み補正については日本独自のものを作成し歪みの激しい 3 テスラ MRI 装置においての 3 ミリ以上の歪みを全て 1 ミリ以下にするなどの良好な結果を得た。

D. 考察

データ収集の情報基盤作りに加えて国際的なデータ比較のための基盤を作成し今後の研究のための基礎部分を作った。また、施設間の画像比較を可能とするための各種補正ソフトウェアの検討も進みさらなる検証を経て実用化を狙う。

E. 結論

本研究成果により米国 ADNI との比較を見据えた大規模臨床・画像データ収集のための情報基盤はほぼ整ったと言える。これに信号むら・歪み補正のソフトウェアのさらなる開発・検証を経て多施設縦断脳画像研究の礎を作ることを次年度の

目標とする。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学芸発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

# 厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合 研究事業）

## 分担研究報告書

### 認知症テスト日本語版の開発とその適用

分担研究者 杉下守弘 新潟リハビリテーション大学院大学 教授

#### 研究要旨

昨年度、米国で基準にされている認知症テストである MMSE, CDR ADAS-COG, GDS, FAQ, NPI-Q など6つのテストについて原版に厳密に対応する日本語版テストを作成することができた。本年度はさらに以下の3点について研究を推進した。

#### 1. 認知症テストの改訂

日本の ADNI で使用される認知症テスト-日本語版について改訂を行い、原版との等価性を高め、米国と日本の検査データが同じになるように試みた。また、本年度になり、地球規模の治験がはじまった。日本語版テストが ADONI という国際プロジェクトだけでなく、地球規模治験にも対応できることが望ましいと考え、地球規模治験のテストを参考にした改訂を行った。改訂は症例の導入に間に合うように8月までに改訂した。

#### 2. 認知症テストの検査者の認定

認知症検査をはじめ心理テストでは、検査実施者の検査能力が低いと、テスト得点が低くなったり、高くなったりすることが知られている。このため、米国の ADNI では、CDR と ADAS-COG について、検査実施者の認定試験を行い、この試験に合格した者のみに認知症テストの検査を行わせている。日本の ADNI では当初、米国のような認定制度を日本で作ることは難しいと考え、実施する計画はなかった。ところが、8月になって、内外から、認定制度を作り、検査実施者の能力を一定以上におかないと、テストデータの質が保障されず、国際プロジェクトが成功しないという声があがったので、急遽、認定制度を日本でも作ることにした。米国の認定制度と同じ認定ができるように、日本語版のビデオと試験問題を作成した。そして、10月から本年2月までに4回の認定会を開き、105名を認定した。この企ては検査の領域における画期的なことといっても言い過ぎでないと思われる。

#### 3. 知能とエピソード記憶の比較によるMCIおよびアルツハイマー病の症状基準の検討

ADNIをはじめ、国際的プロジェクトにおいて、MCIやアルツハイマー病の診断基準は、教育年数から推定されるエピソード記憶にくらべ実際のエピソード記憶がどのくらい低下しているかに基づいている。この方法に問題があることは、「教育年数が低くても、エピソード記憶能力が高い者が存在する」ことから知られていた。とくに、我が国では戦争前後の混乱期に教育を受けにくい事態があったのでなおさら問題があった。このため、我が国のADNIでは教育年数とエピソード記憶を対比させる方法以外に知能と記憶を対比させるという新しい視点を盛り込んでいる。後者の方法はMCIやアルツハイマー病の診断基準に日本独自の貢献が期待出来るので、この方法に重点をおいて、パイロット研究を行った。この方法は実施上の簡便さがあり、国際的に使用できるという長所がある。強いて、欠点をあげれば、ADの重度の症例には適用が難しい点である。

## A. 研究目的

アルツハイマー病の客観的評価法の確立を目指すためには、「健常者」、「MCI」（軽度認知障害）、「アルツハイマー病発症者」の3群の臨床症状を正確にとらえる必要がある。このため、本年度は次の3点を研究の目的とした。

### 1) J-ADNIの認知症テストの改訂

症例の検査が大規模に始まるのは9月なので、それまで、認知症テストの改訂をおこない、より良いテストになるよう努力した。また、本年度になり、地球規模の治験がはじまった。本研究の日本語版テストがADNという国際プロジェクトだけでなく、地球規模治験でも使用できるようにすることが必要と考え、地球規模治験のテストを参考にして、昨年度の日本語版テストの改訂を行った。

### 2) 認知症テスト検査者の認定

認知症検査をはじめ心理テストでは、検査実施者の検査能力が低いと、テスト得点が低くなったり、高くなってしまふことが知られている。このため、米国のADNIでは、CDRとADAS-COGについては、検査実施者の認定試験を行い、この試験に合格した者のみに認知症テストの検査を行わせている。日本のADNIでは当初、米国のような認定制度を日本で作ることは難しいと考え、実施する計画はなかった。ところが、8月になって、内外から、認定制度を作り、

検査実施者の能力を一定以上におかないと、テストデータの質が保障されず、国際プロジェクトが成功しないという声があがり、急遽、認定制度を日本でも作ることにした。

### 3) 知能とエピソード記憶の比較によるMCIおよびアルツハイマー病の症状基準の検討

ADNIをはじめ、国際的プロジェクトにおいて、MCIやアルツハイマー病の診断基準は、教育年数から推定されるエピソード記憶にくらべ実際のエピソード記憶がどのくらい低下しているかに基づいている。この方法に問題があることは、「教育年数が低くても、エピソード記憶能力が高い者が存在する」ことから知られていた。とくに、我が国では戦争前後の混乱期に教育を受けにくい事態があったのでなおさら問題があった。このため、我が国のADNIでは教育年数とエピソード記憶を対比させる方法以外に知能と記憶を対比させるという新しい視点を盛り込んでいる。後者の方法はMCIやアルツハイマー病の診断基準に日本独自の貢献が期待出来るので、この方法に重点をおいて、パイロット研究を行うことにした。

## B. 研究方法

### 1) J-ADNIの認知症テストの改訂

認知症テストを20例の症例に試み、分かりにくいところ、不都合な点を改訂した。また、昨年度の終わり、すなわち、2008年2月ごろから、外資系製薬会社数社が地球規模の治験を計画し始めた。日本のADNIプロジェクトの日本語版認知症テストと、地球規模治験の認知症テストとを比較検討し改訂を加えることにした。検討を加えた認知症テストは、CDR、およびGDS-S-Jの2つである。MMSEとADAS-COGが別に杉下が作成した改訂版を採用することにした。

## 2) 認知症テスト検査者の認定

米国のADNIではADAS-COGとCDRについて認定をしているので、日本のADNIでもこの2つのテストについて、米国とほぼ同じ認定を行うことにした。ADAS-COGの認定については、以前に杉下が作成したものにに基づき認定し、CDRの認定については新たに作成することにした。

## 3) 知能とエピソード記憶の比較によるMCIおよびアルツハイマー病の症状基準の検討

エピソード記憶を測定しているLogical Memory II (A)の得点を知能指数と比較し、低い場合は、MCIあるいはADとするという方針で、まず、知能指数の測定の問題を検討した。知能指数を測定するには、知能テストを実施する必要がある。ところが、知能テストを行うには、1.5時間から2時間がかかる。このため、米国ADNIでは、知能指数を用いることをやめて、代わりに、教育年数を用いたと思われる。知能指数を測定するのに時間がかかるという問題を解決するために、知能テスト(WAIS III)の14下位検査のうち4つを用いて知能指数を推定することとした。4つの下位テストは、知識、積木問題、数唱、符号問題である。4つの検査のみを使って、90%に近い信頼性と妥当性で知能指数が推定しうるからである。これらの下位テストを採用した理由

は、WAIS IIIの4指標に対応しており、しかも、米国のWAIS IIIでも同じ下位テストが使われているからである。

## C. 研究結果

### 1) J-ADNIの認知症テストの改訂

#### (1) CDR-Jについて

情報提供者用の地域社会の業務、家庭および趣味、身の回りの世話、被験者用の記憶、見当識、判断力と問題解決の6項目について、質問を分かりやすくしたり、語句を変更したりした。たとえば、地域社会の業務項目では、「必要な品物を買おうと一人で店を見て回ることが出来ますか？」を「必要な品物を自分で買うことが出来ますか？」に直した。

また、家庭および趣味項目では、「多くの指導のもとでのみ」というのを、「たくさんの指図を受けられる時のみ」に直したなどの改訂をおこなった。

#### (2) GDS-S-Jについて

GDS-S-Jの15項目のうち、第3, 8, 9, 11, 12, 14項目の6項目について改訂した。たとえば、第8項目では、「・・・無力感を感じますか？」を「・・・無力であると感じますか？」に直した。第11および12項目では、「今」を「現在」に直した。GDS-S-Jについては、検査の内容および作成について論文として発表した(杉下、朝田 高齢者用うつ尺度短縮版—日本版 (Geriatric Depression Scale-Short Version-Japanese, GDS-S-J)の作成について 2009、認知神経科学、11 (1) 印刷中)。

#### (3) MMSE-Jについて

地球規模治験のMMSEは2001年の改訂版を用いている。日本のADNIでは1975年版を用いていたが2001年の改訂版を用いることにした。このため、2001年版を用いた杉下によるMMSE-J-日本版を採用した。改訂の主なものは以下の通りである。

見当識の課題10題のうち、3題を改訂した。

日付けを聞く問題を「今日は何日ですか」に直し、病院の名前を聞く問題を「この建物の名前あるいは種類は何ですか」、ここは「何という国ですか」という問題を、「ここは何地方ですか」に直した。

記銘課題では3つの単語のうち「草」を「桜」に変えた。「草」は分かりにくいからである。

注意・計算課題では「カタツムリ」を用いていたが、難しいので、「セカイチズ」に改めた。

「100-7課題」を地球規模治験では使用しているので、これを採用した。ただし、「100-7課題」を採点に入れる場合と入れない場合の採点ができるようにした。

#### (4) ADAS-COG-Jについて

日本のADNIでは、ADAS-COG-日本版(杉下一本問版)を使用予定であった。しかし、地球規模治験では、新しいマニュアルを用い、検査としても、迷路課題と数字消去課題が加わっている、杉下の新版が使われることになった。そこで、日本のJ-ADNIでも杉下の新版のADAS-COGを用いることにした。

### 2) 認知症テストの検査者の認定

#### (1) CDRの認定について

症例の面接(約30分)のビデオをみて、その症例が6つの側面についてどの程度の障害があるか回答させ、その正答率が一定以上である場合、認定するというのが米国のADNIの方法である。この方法を日本に導入するため、米国の9症例のビデオの日本語版を作成した。3例は練習に用い、6例は試験として使用した。

#### (2) ADAS-COGの認定について

テストの仕方、どのような回答を正答にするかなどに関する60題の試験を米国ではおこない、75%以上の正答のばあい、認定している。

日本では、59題の問題を作り、75%以上の正答の場合に認定をした。

この2つの認定をする認定会を4回おこない、医師あるいは臨床心理士105人を認定した。成績が一定レベルに達しない場合は再度試験を実施した。

### 3) 知能とエピソード記憶の比較によるMCIおよびアルツハイマー病の症状基準の検討

論理的記憶、知能検査の4つの下位検査、ADAS-COGの記憶課題などを健常者、MCI、ADの患者30名に試みてみた。

わかったことは、難しい心理検査ができるのは、ADの軽度の症例までであり、ADの中等度のものには少し難しく、ADの重度のものにはかなり難しいというのが現実である。

### D. 考察と結論

#### 1) J-ADNIの認知症テストの改訂

米国で基準にされているMMSE、CDR、ADAS-COGおよびGDS-Sについては、十分な改訂をおこなうことができた。

日本のADNIの認知症テストが地球規模治験の認知症テストとしても使用できるようにした意義は大きいと思われる。

#### 2) 認知症テストの検査者の認定

CDRとADAS-COGについて、検査所の認定が米国と同様にできるようにした。この企ては検査の領域における画期的なことといっても言い過ぎでないと思われる。

### 3) 知能とエピソード記憶の比較によるMCIおよびアルツハイマー病の症状基準の検討

ADNIをはじめ、国際的プロジェクトにおいて、MCIやアルツハイマー病の診断基準は、教育年数から推定されるエピソード記憶にくらべ実際のエピソード記憶がどのくらい低下しているかに基づいている。この方法に問題があることは、「教育年数が低くても、エピソード記憶能力が高い者が存在する」ことから知られていた。とくに、我が国では戦争前後の混乱期に教育を受けにくい事態があったのでなおさら問題があった。このため、我が国のADNIでは教育年数とエピソード記憶を対比させる方法以外に知能と記

憶を対比させるという新しい視点を盛り込んでいる。後者の方法について、パイロット研究を行った。実施上の簡便さがあり、国際的にも使用可能な方法である。強いて欠点をあげれば、

ADの重度のものには使用しにくいことである。

#### G. 研究発表

杉下 守弘 認知症に関する神経心理学テスト(認知症テスト)の現状 認知神経科学 10:239-243, 2008

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
石田千穂、 山田正仁	脳アミロイド・ア ンギオパチー。	田中耕太郎、 高嶋修太郎	必携 脳卒中ハ ンドブック	診断と治療 社	東京	2008	128-131
浜口 毅、 山田正仁	クロイツフェル ト・ヤコブ病。	永井良三	看護に役立つ疾 患・症候事典。	メジカルフ レンド社	東京	2008	572-574
浜口 毅、 山田正仁	亜急性に認知機 能が低下した6 5歳女性(クロイ ツフェルト・ヤコ ブ病)。	鈴木則宏	専門医を目指す ケース・メソッ ド・アプローチ 6 神経疾患。	日本医事新 報社	東京	2008	136-145
吉田光宏、 山田正仁	レビー小体型認知 症:5.臨床症状と経 過、6.検査所見、7. 診断、8.治療。	日本認知症 学会	認知症テキスト ブック	中外医学社	東京	2008	268-281、 284-289
山田正仁	その他の変性型認 知症 3.その他の 認知症を主症状と するタウオパチ ー。	日本認知症 学会	認知症テキスト ブック	中外医学社	東京	2008	326-333、 337-338

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Chen WP, Samuraki M, Yanase D, Shima K, Takeda N, Ono K, Yoshita M, Nishimura S, Yamada M, Matsunari I	Effect of sample size for normal database on diagnostic performance of brain FDG PET for the detection of Alzheimer's disease using automated image analysis.	Nucl Med Commun	29	270-276	2008
Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Yamada M	Medical procedures and risk for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease, Japan, 1999-2008.	Emerg Infect Dis	15	265-271	2009
Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Yamada M	The risk of iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease through medical and surgical procedures.	Neuropatholo gy			In Press
Hirohata M, Ono K, Morinaga A, Yamada M	Non-steroidal anti-inflammatory drugs have potent anti-fibrillogenic and fibril-destabilizing effects for $\alpha$ -synuclein	Neuropharma cology	54	620-627	2008



	fibrils in vitro.				
Hirohata M, Ono K, Morinaga A, Ikeda T, Yamada M	Anti-aggregation and fibril-destabilizing effects of sex hormones on $\alpha$ -synuclein fibrils in vitro.	Exp Neurol			In press
Kato-Motozaki Y, Ono K, Shima K, Morinaga A, Machiya T, Nozaki I, Shibata-Hamaguchi A, Furukawa Y, Yanase D, Ishida C, Sakajiri K, Yamada M	Epidemiology of familial amyloid polyneuropathy in Japan: Identification of a novel endemic focus.	J Neurol Sci	270	133-140	2008
Matsumoto Y, Yanase D, Noguchi-Shinohara M, Ono K, Yoshita M, Yamada M	Cerebrospinal fluid/serum IgG index is correlated with medial temporal lobe atrophy in Alzheimer's disease.	Dement Geriatr Cogn Disord	25	144-147	2008

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakamura Y, Uehara R, Watanabe M, Sadakane A, Yamada M, Mizusawa H, Maddox R, Sejvar J, Belay E, Schonberger L	Update: Creutzfeldt-Jakob disease associated with cadaveric dura mater grafts—Japan, 1979 – 2008.	MMWR	57	1152-1154	2008
Noguchi-Shinohara M, Tokuda T, Yoshita M, Kasai T, Ono K, Nakagawa M, El-Agnaf OMA, Yamada M	CSF $\alpha$ -synuclein levels in dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease.	Brain Res	1251	1-6	2009
Yamada M, Noguchi-Shinohara M, Hamaguchi T, Nozaki I, Kitamoto T, Sato T, Nakamura Y, Mizusawa H	Dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease in Japan: Clinicopathological and molecular characterization of the two distinct subtypes.	Neuropathology			In press
Yamada M	Editorial: Anti-amyloidogenic/protein-misfolding therapies in amyloidosis and other protein-misfolding disorders.	Curr Pharm Design	14	3203-3204	2008
Ono K, Hirohata M, Yamada M	$\alpha$ -synuclein assembly as a therapeutic target of Parkinson's disease and related disorders.	Curr Pharm Design	14	3247-3266	2008
Hirohata M, Ono K, Yamada M	Non-steroidal anti-inflammatory drugs as anti-amyloidogenic compounds.	Curr Pharm Design	14	3280-3294	
佐村木美晴、森永章義、野崎一朗、篠原もえ子、浜口 毅、石田千穂、	硬膜移植後クロイツフェルト・ヤコブ病の1剖検例：二次感染予防の観点から。	治療学	42	726-728	2008

山田正仁					
篠原もえ子、小野賢二郎、山田正仁	アルツハイマー病：脳脊髄液検査（A $\beta$ 、タウ以外）。	日本臨床	66 Suppl 1	237-240	2008
野崎一朗、山田正仁	2.アルツハイマー病の病態、治療から予防まで 4)鑑別診断。	Current Therapy	26	308-312	2008
浜口 毅、山田正仁	アミロイドーシス。	総合臨床（増刊：処方計画法）	57	1238-1241	2008

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ
Nishimiya M, Matsuda H, Imabayashi E, Kuji I, Sato N.	Comparison of SPM and NEUROSTAT in voxelwise statistical analysis of brain SPECT and MRI at the early stage of Alzheimer's disease	Ann Nucl Med	22(10)	921-927
山田 実、松田博史	アルツハイマー病対策プロジェクト（J-ADNI）におけるMRIの役割	INNERVISION	23(9)	60-61
松田博史	アルツハイマー病の画像診断	神経心理学	24(3)	235-241
松田博史	MCI の画像診断を考えるー画像統計解析の観点から	老年精神医学雑誌	20(増刊号)	47-54

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Miyashita A. et al.	GAB2 is not associated with late-onset Alzheimer's disease in Japanese	<i>Eur J Hum Genet.</i>			2008 in press
Kasuga K., et al.	Depression and psychiatric symptoms preceding onset of dementia in a family with early-onset Alzheimer disease with a novel PSEN1 mutation	<i>J Neurol.</i>			2009 in press
Takei N, et al.	Genetic association study on and around the APOE in late-onset Alzheimer disease in Japanese.	<i>Genomics</i>			2009 in press

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
浜口 毅、山田正仁	アルツハイマー病にみる遺伝子異常。	診断と治療	96	2265-2268	2008
浜口 毅、山田正仁	脳アミロイドアンギオパチーとアルツハイマー病。	臨床検査	52	266-272	2008
浜口 毅、山田正仁	脳卒中と遺伝子：アミロイドアンギオパチー。	Brain & Nerve	60	1275-1283	2008
浜口 毅、野崎一朗、	クロイツフェルト・ヤコブ病。	臨床精神医	37	573-579	2008

篠原もえ子、山田正仁		学			
浜口 毅、野崎一朗、 篠原もえ子、山田正仁	医原性プリオン病。	神経内科	68	17-22	2008
浜口 毅、野崎一朗、 篠原もえ子、山田正仁	孤発性 CJD MM2 皮質型と視床型。	神経内科	69	323-328	2008
森永章義、篠原もえ子、 山田正仁	軽度認知障害。	神経内科	68 Suppl 5	103-108	2008
森永章義、山田正仁	かかりつけ医が認知症を診るとき：認知症 の治療と今後の展望。	日本医事新報	4410	69-73	2008
山田正仁	ヒトプリオン病の最近の動向。	日内会誌	97	575-579	2008
山田正仁	認知症早期診断の課題を再考する。	老年精神医学	19	82-86	2008
柳瀬大亮、山田正仁	アルツハイマー病の危険因子としての common diseases。	Geriat Med	47	59-63	2009
岩坪 威	J-ADNI：現状と将来	Dementia Japan	21	68-72	2008
岩坪 威	長期多施設縦断研究：ADNI と J-ADNI	治療学	42	683-686	2008

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
杉下 守弘	認知症に関する神経心理 学テスト(認知症テ スト)の現状	認知神経科学	Vol10 Num3,4	239 - 243	2008
岩坪 威 朝田 隆 杉下 守弘 鳥羽 研二	アルツハイマー病研究 の進歩	Geriatric Me dicine(老年医 学)	Vol47 Num1	91 - 101	2009
杉下 守弘	認知機能テストの現状 と展望	Dementia Ja pan	Vol23 Num1	ページ未定 (印刷中)	2009
杉下 守弘 朝田 隆	高齢者用うつ尺度短縮 版 - 日本版(Geriatric Depression Scale - S hort Version - Jap anese, GDS - S - J)の作 成について	認知神経科学	Vol11 Num1	ページ未定 (印刷中)	2009

J-ADNI PET 技術マニュアル ver.2.0



# J-ADNI PET 技術マニュアル

## 第 2.0 版

2008 年 7 月 28 日