

200821068A

厚生労働科学研究費補助金
長寿科学総合研究事業

血液、尿等、生体への侵襲の少ないバイオマーカーを用いた
診断方法に関する研究

平成 20 年度

総括・分担研究報告書

研究代表者 松原 悦朗

平成 21 (2009) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

血液、尿等、生体への侵襲の少ないバイオマーカーを用いた
診断方法に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 松原 悦朗

平成21(2009)年 3月

目 次

I. 総括研究報告	
血液、尿等、生体への侵襲の少ないバイオマーカーを用いた診断方法に関する研究	—1
松原 悦朗 (弘前大学大学院医学研究科)	
II. 分担研究報告	
1. 発症予測診断バイオマーカーとしての血液中リポ蛋白非結合型 $A\beta$ に関する研究	— 9
松原悦朗	
2. もの忘れ外来におけるamnesic MCIの長期経過に関する研究	—12
鷲見幸彦	
3. 物忘れ外来と精神科外来での症例集積と臨床症状の検討	—14
服部英幸	
4. 高齢者総合診療科外来での症例集積と臨床症状の検討	—16
遠藤英俊	
5. 血液中のタウ蛋白質解析に関する研究	—18
渡邊淳	
6. アルツハイマー病のトリプトファン代謝異常に関する研究	—20
滝川 修	
7. ヒト体液中ATBF1蛋白解析に関する研究	—22
鄭 且均	
8. ヒト体液中ApoE-A β 複合体解析に関する研究	—25
道川誠	
9. 血液での嚮鑑別マーカー開発に関する研究	—27
関山敦生	
10. バイオマーカーを用いたアルツハイマー病診断に関する研究に向けた [C-11]PIB PET, [F-18]FDG PET 検査実施の準備	—29
加藤 隆司	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	—33
IV. 研究成果の刊行物・別刷	—37

1. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
総括研究報告書
血液、尿等、生体への侵襲の少ないバイオマーカーを用いた
診断方法に関する研究
研究代表者 松原 悦朗 弘前大学大学院医学研究科

研究要旨

アルツハイマー病(AD)は、少子超高齢化社会が目前に迫った本邦において、根本治療が切望される代表的疾患である。しかしながら客観的証拠に基づいたその診断指標はなく、早期治療介入や新規治療法開発への大きな障害となっている。可及的速やかに軽度認知障害(MCI)やADに移行する前段階で患者を抽出し、根本治療導入までの期間短縮と介護予防推進を図る必要があり、本研究ではその目的達成目的に、血液・尿超早期バイオマーカー取得を目指す。本年度は研究遂行のため倫理委員会・利益相反委員会での承認を得た後、臨床研究コアは、集団探索研究での個々のバイオマーカー候補の標的疾患診断における感度・特異性の検証のため臨床基盤整備と症例集積を開始した。また健常者からMCI、MCIからADへのコンバートを予測するバイオマーカー確立に向け、MCI前向きコホート研究・多施設連携認知症検診の基盤整備を図った。バイオマーカー担当の生化学コアはその血液中測定法確立の基盤整備を行った。画像コアはアミロイドPETの高度先進医療での施行に向けその準備・調査を行った。

分担研究者

鷺見幸彦
服部英幸
関山敦生
滝川 修
渡邊 淳
鄭 且均
加藤 隆司
遠藤 英俊
道川 誠

(国立長寿医療センター)

A. 研究目的：

臨床コア：

鷺見・服部・遠藤・関山・松原らは、集団

探索研究・MCI前向きコホート研究対象症例蓄積・経過観察を目的とする。

生化学コア：

AD 特異的分子

松原らは本研究のバイオマーカーのなかで、核心的位置づけにあるアルツハイマー病病態惹起分子であるリポ蛋白非結合型A β (Ann Neurol, 1999; Neurobiol Aging, 2004)の軽度認知障害・アルツハイマー病発症予測バイオマーカーとしての有用性の検証を目的とする。

渡邊らは脳脊髄液バイオマーカーとして実績のあるタウでの血液診断法を開発する。また脳蓄積タウの血液中検出・診断法を新規開発する。

AD 発症病態危険分子

滝川らはミクログリアの活性化状態を診断する非侵襲性マーカーとして有力な候補である尿あるいは血液中のトリプトファン代謝酵素 (IDO) が発症予測バイオマーカーとしての有用性の検証を目的とする。鄭らは新規バイオマーカー候補として神経細胞傷害分子である ATBF-1 の血液診断方法を確立する。

道川らはアルツハイマー病発症の最大の危険因子である ApoE4 に着目し、A β との相互作用 (ApoE \cdot A β 複合体) の血液診断方法を確立する。

精神・神経病態鑑別分子

関山らは臨床診断では鑑別困難な鬱病と認知症などに合併する鬱状態を鑑別する血液バイオマーカーを開発する。

B. 研究方法

研究代表者で臨床・生化学コアである松原と臨床コアの鷺見、画像コアである加藤で当該研究計画の利益相反・倫理委員会で実施承認を得るためその立案を図り、その遂行を他の臨床コアメンバー (服部・遠藤) に周知するとともに、症例収集も開始する。

画像コアの加藤は、PiB-PET を高度先進医療で施行するための調査・準備を行い、可及的速やかに本研究での施行を図る。PiB の合成使用の薬事審議会承認を可及的速やかに得る。生化学コアメンバーの：

渡邊らは体液中に存在する微量タウを検出するため、至適な濃縮サンプル準備方法を確立し、血液中でタウを検出する。

滝川らは、すでに尿あるいは血液中のトリプトファン代謝酵素 (IDO) 検出方法を確立しているため、バイオマーカーとしての意義

付けを培養細胞系で明らかとする。被験サンプル調整法として容易でしかも多検体処理も可能鄭らは、ATBF-1 のバイオマーカーとしての意義付けを培養細胞系で明らかとする。またヒト体液中の ATBF-1 の存在を免疫沈降法で確認する。

道川らは、ApoE \cdot A β 複合体測定のため構築した ELISA 系で、ヒト体液中の複合体量検出を試みる。

関山らは、これまで自身が収集した血液サンプルにて、鬱病・鬱状態を鑑別するバイオマーカーとして血液中リンホカイン分子濃度パターンプロファイルが有用かを検証する。松原らは、血液サンプル前処理・調整法として PHML-Liposorb chromatography in Batch 法をの有用性を検証する。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立長寿医療センターと弘前大学の倫理委員会、また国立長寿医療センターの利益相反委員会の承認を受けて行った。現時点で弘前大学には利益相反委員会が存在しないが、来年度の設置に向け鋭意準備中である。

C. 研究結果 と D. 考察

臨床コア：

松原らは国立長寿医療センターでの倫理委員会審議方式が変更となり、その開催が大幅に遅れ研究遂行に遅延を生じる結果になったため、研究代表者として研究実施計画に見直し変更を加えた上で、新規稼動した厳格な利益相反・倫理委員会で当該研究計画の実施承認を得た。主な変更点は研究対象群の明確化である。本研究では3群の研究対象群 (I 群：集団探索研究群；II 群：個別長期経過観察

研究で多施設連携認知症検診群と MCI 前向きコホート研究群)を設定した。本年度は、NC 群や non-AD 変性認知症患者と差別化でき、MCI もしくは軽症 AD に特異的なバイオマーカーを集団比較のなかから見いだす目的で、NC(n=2)と MCI(n=8)、軽症 AD(n=23)、non-AD 認知症患者(n=27)の血液採取を行った。一方、島根県邑南町認知症健診は倫理委員会承認の遅れのため本年度の施行が困難であったため、来年度実施を睨み、実施時期などその詳細を新潟大学脳研究所と緊密な連絡を取りながら、邑南町保健所との間で交渉を進めた。また、研究代表者の松原が11月1日付けで弘前大学へ異動となり、研究に加え臨床も担当することとなった。引き続き国立長寿医療センターでは客員研究員として留まり、両者の総力を結集して本研究推進を進めている。MCI 前向きコホート研究対象者選択はまだ現時点ではなされていないが、弘前大学神経内科外来で候補者選定作業を進め4症例を経過観察中である。

鷺見らは、MCI 前向きコホート研究に備え、国立長寿医療センター物忘れ外来での患者解析を行った。

服部らは、物忘れ外来・精神科外来での集団探索研究群・MCI 前向きコホート研究の症例蓄積の基盤整備を行った。

遠藤らは、高齢者総合外来での集団探索研究群・MCI 前向きコホート研究の症例蓄積の基盤整備を行った。

生化学コア：

松原らは、一方、生化学コアとして本年度はアルツハイマー病病態惹起分子であるリポ蛋白非結合型 A β 測定前処理法の時間的・手技的煩雑さ克服を行い、簡便・迅速・体積補正不要で再現性に優れ、従来の超遠心

法に比し、圧倒的な多検体処理能を有す PHML-Liposorb chromatography in Batch 法を開発し、次年度への検証へと備えた。

渡邊らは、微量の血液中タウ蛋白の濃縮・検出法を確立した。健常者血漿の検証ではタウ蛋白は検出されず、次年度は AD 患者血漿で検討予定である。

滝川らは、老人斑に集積した活性化ミクログリアによるトリプトファン代謝異常が老人斑による慢性的な刺激と炎症性サイトカイン IFN- γ による相乗作用によって惹起することを解明し、尿あるいは血液中のトリプトファン代謝産物がアルツハイマー病、特に、ミクログリアの活性化状態を診断する非侵襲性マーカーとして有力な候補であることを明らかにした。

鄭らは、AD 脳において ATBF1 の発現上昇は A β により引き起こされた DNA ダメージに対する反応であることを明らかにした。さらに、ATBF1 は神経細胞死を誘導する因子である ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated) と p53 のシグナルを促進することによって神経細胞死を誘導することが分かった。しかしこうした ATBF1 の髄液・血液中検出には現行のポリクローナル抗体では困難であることが判明し、より特異性の高いモノクローナル抗体を作製予定である。

道川らは、アルツハイマー病の発症危険因子 ApoE4 と A β の相互作用に着目し、その複合体測定がアルツハイマー病の病態把握バイオマーカーとしての有用性を検証し、新規に構築した脳脊髄液中の両複合体測定系で、ApoE4 陽性アルツハイマー病患者群で ApoE4:A β 複合体量が増加していることを明らかとした。

関山らは、専門医でも誤判定を起こすこ

とが知られる最大の課題、老年性うつ病に注目、老年性うつ病と老年性認知症とを判別するための血液中マーカーを探索した。結果、老年性うつ病は、老年性認知症はもちろん、中年のうつ病とも異なった血液中リンホカイン濃度パターン分子プロファイルを示すことが明らかになった。

画像コア：

加藤は FDG-PET と PiB-PET 施行の立案作製と施行準備を行った。特に後者は高度先進医療での施行を目指し準備中であり、また薬物合成への薬事審議会承認準備を行った。

E. 結論

臨床コアメンバー（松原・鷺見・服部・遠藤ら）は、倫理委員会より臨床研究遂行の承認を得た後、急ピッチで臨床研究基盤整備を行った。

生化学コアメンバー（松原・渡邊・滝川・鄭・道川ら）は、次年度に向けての血液中測定法の開発を行った。

画像コア（加藤）は、本研究における PiB-PET を高度先進医療の範疇での施行に向け、調査・準備を行った。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Ikeda M, Kawarabayashi T, Harigaya Y, Sasaki A, Yamada S, Matsubara E, Murakami T, Tanaka Y, Kurata T, Wuhua X, Ueda K, Kuribara H, Ikarashi Y, Nakazato Y, Okamoto K, Abe K, Shoji M. Motor impairment and aberrant

production of neurochemicals in human alpha-synuclein A30P+A53T transgenic mice with alpha-synuclein pathology. **Brain Res.** 2009 Jan 23;1250:232-41.

Xu W, Kawarabayashi T, Matsubara E, Deguchi K, Murakami T, Harigaya Y, Ikeda M, Amari M, Kuwano R, Abe K, Shoji M. **Brain Res** 2008 1219:169-179.

Minagawa H, Gong JS, Jung CG, Watanabe A, Lund-Katz S, Phillips M, Saito H, Michikawa M. Mechanism Underlying Apolipoprotein E (ApoE) Isoform-Dependent Lipid Efflux from Neural Cells in Culture.

J. Neurosci. Res. 2009, in press.

Popov A, Driesen J, Abdullah Z, Wickenhauser C, Beyer M, Debey-Pascher S, Saric T, Kummer S, Takikawa O, Domann E, Chakraborty T, Krönke M, Utermöhlen O, Schultze JL. Infection of myeloid dendritic cells with *Listeria monocytogenes* leads to the suppression of T cell function by multiple inhibitory mechanisms. **J Immunol.** 181: 4976-4988, 2008

Ino K, Yamamoto E, Shibata K, Kajiyama H, Yoshida N, Terauchi M, Nawa A, Nagasaka T, Takikawa O, Kikkawa F. Inverse correlation between tumoral indoleamine 2,3-dioxygenase expression and tumor-infiltrating lymphocytes in endometrial cancer: its association with disease progression and survival.

Clin Cancer Res. 14:2310-2317, 2008

Hara T, Ogasawara N, Akimoto H, Takikawa O, Hiramatsu R, Kawabe T, Isobe K, Nagase F. High-affinity uptake of kynurenine and nitric oxide-mediated inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase in bone marrow-derived myeloid dendritic cells. **Immunol Lett.** 116:95-102, 2008

Hara T, Yamakura F, Takikawa O, Hiramatsu R, Kawabe T, Isobe K, Nagase F. Diazotization of kynurenine by acidified nitrite secreted from indoleamine 2,3-dioxygenase-expressing myeloid dendritic cells. **J Immunol Methods.** 332:162-169, 2008

Kim HJ*, Jung CG*, Jensen MA, Dukala D, Soliven B. Targeting of myelin protein zero in a spontaneous autoimmune polyneuropathy. * contributed equally.

J Immunol, 15;181(12):8753-60, 2008

Misumi S, Kim TS, Jung CG, Masuda T, Urakawa S, Isobe Y, Furuyama F, Nishino H and Hida H. Enhanced neurogenesis from neural progenitor cells with G1/S-phase cell cycle arrest is mediated by transforming growth factor beta1.

Eur J Neurosci., 28(6):1049-1059, 2008

Kim TS, Misumi S, Jung CG, Masuda T, Isobe Y, Furuyama F, Nishino H and Hida H. Increase in dopaminergic neurons from mouse embryonic stem cell-derived neural progenitor/stem cells is mediated by hypoxia

inducible factor-1alpha.

J Neurosci Res., 86(11):2353-2362, 2008

Miron VE, Jung CG, Kim HJ, Kennedy TE, Soliven B, Antel JP. FTY720 modulates human oligodendrocyte progenitor process extension and survival.

Ann Neurol., 63(1):61-71, 2008

Minagawa K, Gong J-S, Jung C-G, Watanabe A, Lund-Katz S, Phillips M C, Saito H, Michikawa M. Mechanism underlying apolipoprotein E isoform-dependent lipid efflux from neural cells in culture. **J Neurosci Res**, in press.

Zou K, Maeda T, Michikawa M, Komano H. New amyloid plaques or a game of hide-and- seek ? **Int J Biol Sci**, 4:200-201, 2008.

Zou K, Hosono T, Nakamura T, Shiraishi H, Maeda T, Komano H, Yanagisawa K, Michikawa M. Novel role of presenilins in maturation and transport of integrin $\beta 1$. **Biochemistry** 47(11): 3370-3378, 2008.

Zou K and Michikawa M

Angiotensin-converting enzyme as a potential target for treatment of Alzheimer's disease: Inhibition or activation? **Rev Neurosci**, 19: 203-212, 2008.

道川 誠

アルツハイマー病とスタチン

BioClinica 23 巻: 52-57, 2008 年

道川 誠、柳澤勝彦

アルツハイマー病—病態・治療と脂質—

BioClinica 23 巻: 33-29, 2008 年

道川 誠

Alzheimer 病研究の進歩と治療戦略

別冊・医学のあゆみ「老化と疾患」—病

態の理解と診断・治療の進歩

pp39-46, 2008 年

道川 誠

アポリポ蛋白 E

日本臨床 66 巻増刊号 1: 156-1162, 2008

年

道川 誠

コレステロール代謝とアルツハイマー病

臨床検査 52 巻 3 号: 325-329, 2008

加藤隆司ほか. 認知症診療における核医

学のシンポと課題 -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

2. 学会発表

松原悦朗, 瓦林毅, 東海林幹夫. アルツ

ハイマー病の超早期バイオマーカー開

発. 第 49 回日本神経学会総会. パシフ

ィコ横浜. 2008 年 5 月 17 日

松原悦朗. アルツハイマー病の画期的創

薬. アルツハイマー病における A β オリゴ

マー特異的受動免疫療法. 日本薬学会第

128 会: 2008 年 3 月 28 日: 横浜

松原悦朗. アルツハイマー病

治療の進歩. 2008 老年医学サマ

ーセミナー. 軽井沢プリンス

ホテル. 2008, 7 月 31 日

松原悦朗. 神経毒性 A β オリゴマ

ーはアルツハイマー病発症の分

子基盤である. 文部科学省科学

研究費補助金・特定領域研究「病

態脳」5 領域 夏のワークショップ

、札幌. 2008, 8 月 9 日

松原悦朗. A β 蓄積とアルツハイ

マー病. アミロイド夏のワーク

ショップ, 金沢, 2008, 8 月 21 日

松原悦朗. A β ワクチン療法 overview

と複合作用機序支持派からみた A β

ワクチン療法の展望: 第 27 回日本認

知症学会 シンポジウム I, 前橋.

2008, 10 月 10 日

渡邊 淳, 國本正子, 田平 武, R.N.Kalaria,

高橋慶吉. 家族性脳血管性認知症

CADASIL における血管変性メカニズムの

解析. 第 27 回日本認知症学会, 前橋, 10

月, 2009.

Miura Y, Kawaguchi M, Kim TS, Shibamoto Y,

Jung CG, Khanna KK, Asai K.

Regulatory mechanism of the subcellular

localization of ATBF1 as a target of

ATM/ATR.

The International Ataxia-Telangiectasia
Workshop 2008, April 25, 2008, Kyoto

阪本崇彰, 鄭 且均, ソウケン, 道川 誠
Effect of Angiotensin Converting Enzyme
(ACE) on Amyloid-beta ($A\beta$) metabolism.
文部科学省科学研究費補助金・特定領域研
究「統合脳」5領域 夏のワークショップ, 2008
年8月9日, 札幌

Jung CG, Kawaguchi M, Miura Y, Akatsu H,
Yamaguchi T, Horike H, Kim TS, Michikawa
M.

$A\beta$ enhance the ATBF1 expression
responsible for the neuronal cell death.

第 51 回日本神経化学会総会, 2008 年 9 月
12 日、富山

Jung CG.

The role of ATBF1 in neurogenesis, cancer
and Alzheimer's disease.

Asia-Korea Conference on Advanced Science
and Technology. 2008 年 10 月 25 日, 東京.

Miura Y, Kim TS, Suzuki M, Kawaguchi M,
Jung CG, Asai K.

Target genes of the transcription factor
ATBF1 responsible for the
cell-to-extracellular matrix molecules during
neuronal differentiation of P19 cells. 第 31 回
日本分子生物学会年会 BMB2008, 2008 年
12 月 12 日、神戸

道川 誠

アルツハイマー病の制圧を目指して—そ
の臨床から予防・治療法開発の最前線ま

で
名市大薬友会 特別講演

2008 年 4 月 19 日、名古屋市立大学薬学部
水野会館

伊藤健吾, 千田道雄, 石井一成, 石井賢
二, 加藤隆司, 福山秀直, 尾内康臣, 目
黒兼一. MCI を対象とするアルツハイマ
ー病の早期診断に関する多施設共同研究
(SEAD-J) —登録データの初期解析結果
— 第 48 回日本核医学会学術総会 2008
年 10 月 24-26 (25)日 幕張メッセ 千葉
県美浜区中瀬 2-1

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 年 10 月
24-26 (25)日 幕張メッセ 千葉県美浜区
中瀬 2-1

清水敬二, 千田道雄, 石井一成, 石井賢
二, 加藤隆司, 松本圭一, 伊藤健吾. MCI
を対象とする早期診断に関する多施設共
同研究(SEAD-J)における PET 画像の中央
読影. 第 48 回日本核医学会学術総会
2008 年 10 月 24-26 (25)日 幕張メッセ
千葉県美浜区中瀬 2-1.

加藤隆司, 伊藤健吾, 旗野健太郎. 長寿
医療センターにおける BF-227 臨床試験.
厚生労働科学研究費補助金・萌芽の先端
医療技術推進研究事業「PET を用いた多
施設共同臨床試験によるアルツハイマー
病の超早期診断法の確立と普及」班会議

2009年1月24日 仙台駅前 JAL CITY
Hotel 宮城県仙台市

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年2月7
日 名古屋国際ホテル 名古屋市

伊藤健吾，加藤隆司 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年2月23日 名古屋大学医学部 名
古屋市

H. 知的財産権の出願・登録状況

発明者：滝川 修、香川正太
発明の名称：アルツハイマー病モデル動
物及びその作成方法
国内特許出願番号：特願 2008-333385
出願日：2008年12月26日

II. 分担研究報告

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

発症予測診断バイオマーカーとしての血液中リポ蛋白非結合型 A β に関する研究
研究代表者 松原 悦朗 弘前大学大学院医学研究科

研究要旨

アルツハイマー病病態惹起分子であるリポ蛋白非結合型 A β のバイオマーカー測定普及の障壁はその前処理の時間的・手技的煩雑さであった。本年度の研究で、PHML-Liposorb chromatography in Batch 法がこの欠点を見事に克服し、簡便・迅速・体積補正不要で再現性に優れ、従来の超遠心法に比し、圧倒的な多検体処理能の確保が可能とすることができた。

A. 研究目的：本研究のバイオマーカーのなかで、核心的位置づけにあるアルツハイマー病病態惹起分子であるリポ蛋白非結合型 A β (Ann Neurol, 1999; Neurobiol Aging, 2004)の軽度認知障害・アルツハイマー病発症予測バイオマーカーとしての有用性の検証を目的とする。しかしこの A β 分子種測定に際し、前処理としてリポ蛋白除去血漿の取得が不可欠であり、その際、超遠心処理 8 時間に加え目的サンプル分画調整分離に 1 検体あたり約 5 分を要す煩雑さ(10 検体で 9 時間、96 検体で最短で 4 日間)が臨床的なバイオマーカーへの展開を特殊な研究室レベルに制限する主たる要因となっていた。本年度は、より容易なサンプル調整・多検体処理法を確立した。

B. 研究方法

被験サンプル調整法として容易でしかも多検体処理も可能な PHML-Liposorb chromatography in Batch 法を考案した。

(倫理面への配慮)

本研究は、当該施設の倫理委員会や利益相反委員会の承認を受けて行った。

C. 研究結果 と D. 考察

【容易なサンプル調整法の確立】
PHML-Liposorb(Carbiochem)は市販されており、比較的安価でその取得は容易でバッチ間変動の心配も無用である利点を有していた。操作法自体もきわめて容易で、1g あたり 50mg の血漿リポ蛋白結合能を有す PHML-Liposorb を被験血漿に 1:1.5(V/V)の割合で加え、60sec の vortex 後、3,000rpm で 10min の遠心処理にてリポ蛋白除去血漿(上清)準備が可能であった。AD 病態惹起分子の定量は体積補正をすることなく直接測定に供与することが可能で、従来の超遠心法から調整したリポ蛋白除去血漿では体積補正を必要とした点と比較しても、本法はバイオマーカーの精度向上の観点からも超遠心法より優れた前処理法と考えられた。従来の超遠心法と比較したリポ蛋白除去精度の検証は、Paragon Agarose-electrophoresis (Beckman)にて行った。処理前血漿と分離リ

ポ蛋白には FAT-RED 7A 陽性リポ蛋白染色バンドを検出したが、両方法で調整したリポ蛋白除去血漿には存在しないことを確認し、本法がリポ蛋白除去精度上も遜色ないことを証明できた。以上の検証から本法は簡便・迅速・体積補正不要で再現性に優れていることを明らかとすることができた。

【多検体処理法の確立】もう一つの重要な達成を求められたミッションは多検体処理法の確立であったが、本法は96検体遠心分離可能な遠心器と24検体Vortex可能な震盪器を併用することで長くても30分でリポ蛋白除去血漿の取得が可能である。同量のサンプル準備に最短でも4日間を有する超遠心法に比し、圧倒的な多検体処理能の確保が可能とすることができた。

E. 結論

被験サンプル調整法として容易でしかも多検体処理も可能な PHML-Liposorb chromatography in Batch 法を確立した。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Ikeda M, Kawarabayashi T, Harigaya Y, Sasaki A, Yamada S, Matsubara E, Murakami T, Tanaka Y, Kurata T, Wuhua X, Ueda K, Kuribara H, Ikarashi Y, Nakazato Y, Okamoto K, Abe K, Shoji M. Motor impairment and aberrant production of neurochemicals in human alpha-synuclein A30P+A53T transgenic mice with alpha-synuclein pathology. **Brain Res.** 2009 Jan 23;1250:232-41.

Xu W, Kawarabayashi T, Matsubara E, Deguchi K, Murakami T, Harigaya Y, Ikeda M, Amari M, Kuwano R, Abe K, Shoji M. **Brain Res** 2008 1219:169-179.

2. 学会発表

松原悦朗, 瓦林毅, 東海林幹夫. アルツハイマー病の超早期バイオマーカー開発. 第49回日本神経学会総会. パシフィコ横浜. 2008年5月17日

松原悦朗. アルツハイマー病の画期的創薬. アルツハイマー病における A β オリゴマー特異的受動免疫療法. 日本薬学会第128会: 2008年3月28日: 横浜

松原悦朗. アルツハイマー病治療の進歩. 2008 老年医学サマーセミナー. 軽井沢プリンスホテル. 2008, 7月31日

松原悦朗. 神経毒性 A β オリゴマーはアルツハイマー病発症の分子基盤である. 文部科学省科学研究費補助金・特定領域研究「病態脳」5 領域 夏のワークショップ, 札幌. 2008, 8月9日

松原悦朗. A β 蓄積とアルツハイマー病. アミロイド夏のワークショップ, 金沢, 2008, 8月21日

松原悦朗. A β ワクチン療法 overview と複合作用機序支持派からみた A β ワクチン療法の展望: 第27回日本

認知症学会 シンポジウム I, 前橋.
2008, 10 月 10 日

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

分担研究報告書

もの忘れ外来におけるamnesic MCIの長期経過
国立長寿医療センター 外来診療部 鷺見幸彦

研究要旨：健忘型軽度認知機能障害(amnesic mild cognitive impairment: aMCI)は、アルツハイマー型認知症(AD)に移行しやすい病態として知られている。国立長寿医療センターもの忘れ外来に通院しており、少なくとも2年以上経過を観察したaMCI患者17例(男性2例、女性15例。年齢は60~80歳 平均72.1歳)の経過について検討した。aMCIの診断基準はPetersenの基準に、さらに操作的な基準を加えより厳密なものとした。エンドポイントをCDR(clinical dementia rating)が1かつNINCDS-ADRDAのADの診断基準を満たした場合としたところ3年目までにADにコンバートした症例は9例(52.9%)であり3年目までaMCIの状態を維持できた症例は3例のみであった。心理検査のなかでADへのコンバートを確実に予測できる項目はないが、MMSEの3単語再生の得点が比較的有用であった。

A. 研究目的

健忘型軽度認知機能障害(amnesic mild cognitive impairment:aMCI)は、アルツハイマー型認知症(AD)に移行しやすい病態として知られている。この病態のADへの移行率を検討するとともに、移行の指標となるような心理検査の有無について検討した。

B. 研究方法

対象は国立長寿医療センターもの忘れ外来に通院しており、少なくとも2年以上経過を観察したaMCI患者17例。男性2例、女性15例。年齢は60~80歳(平均72.1歳)教育歴は6~16年(平均10.2年)の経過について検討した。本研究におけるMCIの定義は1.) amnesic MCI 2.) 明らかな神経疾患、精神疾患を認めない。3.) 神経学的症候(例えば、片麻痺、錐体外路徴候、球麻

痺、運動失調、眼球運動害、失語、失行、失認、半側空間無視、痙攣発作など)を認めない。4.) 精神医学的症候(例えば、うつ、幻覚、妄想など)を認めないこととした。aMCIの診断基準はPetersenの基準に、以下のような操作的な基準を加えた。1.) 記憶障害の自覚、または情報提供者の証言がある事の裏づけとして数井らが日本語版を作成した生活健忘チェックリストを用いた。2.) 全般的な認知機能は正常であることの裏づけとしてMMSEが24点以上であることとした。3.) 日常生活活動は正常であることの裏づけとしてCDRを用い、記憶の項目が0.5でありかつその他の下位項目はすべて0.5以下とした。4.) 認知症ではないこと条件として、NINCDS-ADRDAのprobableADの基準を満たさないこととした。5.) 記憶障害が年齢を考慮しても客観

的に示されるために、WMS-R 論理的記憶 I が 13 点以下という操作的基準を設けた。エンドポイントは CDR(clinical dementia rating)が 1 かつ NINCDS-ADRDA の AD の診断基準を満たした場合とした。

C. 結果

3 年目までに上記のクライテリアを満たし AD にコンバートした症例は 9 例 (52.9%) であった。1 年目に評価のできていない症例が 6 例あるが 11 例は 1 年めにはコンバートしていない。また CDR は 0.5 であるが、NINCDS-ADRDA の診断基準を満たさない症例を 0.5 AD とすると 3 年目まで aMCI の状態を維持できた症例は 3 例のみであった。1 年目に 0.5 AD となった症例は全例 AD へ移行していた。初回検査時の CDR の 0.5 のついた box 数、MMSE の総得点と 3 単語再生の得点、ADAS の総得点、WMS の得点とその後の AD へ移行との関連をみると、3 単語再生の得点が 0 点であった場合には全例 AD に移行しており、一方 MCI にとどまった例には 0 点の症例はなかった。

D. 考察

従来報告されている MCI の年間コンバート

率は 12-15%といわれ、15%とすると 3 年間で約 40%がコンバートすることになる、今回の aMCI では 52.9%がコンバートしており従来の報告よりも高い。今回採用したクライテリアではより AD に移行しやすい症例が対象となっていると考えられた。心理検査のなかで AD へのコンバートを確実に予測できる項目はないが、MMSE の 3 単語再生の得点が比較的有用であった。

E. 結論

厳密な診断基準に基づいて診断された健忘型軽度認知機能障害に患者は AD へ高率に移行する。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1) 論文発表

なし

2) 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

厚生労働科学研究費補助金（長寿医療科学総合研究事業）
平成 20 年度 分担研究報告書

物忘れ外来と精神科外来での症例集積と臨床症状の検討

分担研究者 服部 英幸 国立長寿医療センター行動・心理療法科医長

研究要旨

アルツハイマー病（AD）は、客観的証拠に基づいた診断指標はなく、早期治療介入や新規治療法開発への大きな障害となっている。いかにADに移行する前段階で患者を抽出し、根本治療導入までの期間短縮と介護予防推進を図るかが研究の焦点である。本研究における血液超早期バイオマーカーの取得は、軽度認知障害（MCI）や早期 AD の段階で客観的な根拠に基づいた診断を可能とし、治療介入の導入期間を著しく短縮するばかりでなく、治療効果判定の客観的指標ともなりうる事が予想される。本研究では健常高齢者群、MCI 群、AD 群、非 AD 型認知症群の比較から、MCI や AD 特異的で、健常高齢者や非 AD 型認知症を感度よく差別化できる血液・尿マーカーを探索する。初年度である平成 20 年度は研究組織の立ち上げ、準備の段階で終了した。来年度以降症例集積を行っていく予定である。

A. 研究目的

アルツハイマー病（AD）は、少子超高齢化社会が目前に迫った本邦において、根本治療が切望される代表的疾患である。しかしながら客観的証拠に基づいたその診断指標はなく、早期治療介入や新規治療法開発への大きな障害となっている。いかにADに移行する前段階で患者を抽出し、根本治療導入までの期間短縮と介護予防推進を図るかが研究の焦点である。本研究における血液超早期バイオマーカーの取得は、軽度認知障害（MCI）や早期 AD の段階で客観的な根拠に基づいた診断を可能とし、治療介入の導入期間を著しく短縮するばかりでなく、治療効果判定の客観的指標ともなりうる事が予想される。驚見・服部は物忘れ外来を、遠藤は高齢者総合診療外来を開設し、ADや高齢者診療に取り組むと同時に地域連携による在宅介護システム構築に尽力し、本研究遂行上不可欠な臨床的診療システムを構築してきた。本研究ではこ

のシステムの全国展開と、患者追跡・神経心理検査を行う。

B. 研究方法

健常高齢者群、MCI 群、AD 群、非 AD 型認知症群の比較から、MCI や AD 特異的で、健常高齢者や非 AD 型認知症を感度よく差別化できる血液・尿マーカーを探索する。

1. 対象

物忘れ外来にて、健常高齢者(50 例)、MCI(20 例)、軽症 AD(30 例)の診断を行ったのち、データベースを作製する。このなかで MCI と AD (各 5 症例の計 10 症例)に関しては臨床研究登録を行う。健常高齢者の場合は MCI 移行した時点で臨床研究登録をする。3 ヶ月毎の採血・検尿は連結可能匿名化する。神経心理学的検査(MMS, WMS-R/Logical Memory II, ADAS-Jcog, CDR 等)を行う。診断時 MRI(海馬萎縮)を

行い、MCI と AD 登録症例では半年おきに追跡検査を行う。

(倫理面への配慮) 身体精神機能評価、生活機能評価や老年医学的総合評価を含む本研究の実施は、本人及びその家族にたいして十分な説明をし、インフォームドコンセントに基づき同意が得られた場合にのみ行うこととした。患者のプライバシーを尊重し、結果については秘密を厳守し、研究の結果得られるいかなる情報も、研究以外の目的には使用されることはない。研究結果は専門の学会あるいは科学的雑誌に発表される場合があるが、その場合も患者のプライバシーは守秘する。本人及び家族には文書および口頭で説明し、研究の目的や内容を理解した上で同意が得られた場合にのみ実施し、その旨を著した同意書に署名してもらった。研究に参加する、参加しないの判断は完全に患者及び家族の自由意志に基づいておこなわれ、拒否することによって本人及び家族がいかなる不利益も被らないことを予め明らかにした。

C. 研究結果

本年度は研究組織の立ち上げ、準備の段階で終了した。外来レベルでのデータ取得を円滑に行なうためのプロセス作成、情報共有を行なった。来年度以降、症例集積を行っていく予定である。

D. 考察

本研究における血液超早期バイオマーカーの取得は、MCI や早期 AD の段階で客観的な根拠に基づいた診断を可能とし、治療介入の導入期間を著しく短縮するばかりでなく、治療効果判定の客観的指標ともなりうる事が予想される。従来の脳脊髄液検査に比し、血液・尿検査という非侵襲的側面は臨床医・患者の両サイドからの検査不安を解消し、在宅介護など長期的視野に立った場合の検体採取法としてこれに勝る方法はない。本研究の遂行は、国立高度医療専門センターの二本柱である病院・研究所が総力を結集し介護予防に立ち向かい、その成果を直接国民の保健・医療・福祉に還元しようとする初の試みであり、厚生労働行政を積極的に牽引しようとする我々センターの強い意思表示でもある。また現行の3大学等の研究協力のもと施行される本研究体制モデルを基礎として、将来的に当センターが中核拠点となるADの全国的なネットワークを構築することで、介護予防を目指したADの診断・治療の一層の推進を図りたい。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表 今年度はなし