

2009 36 (27A)

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

脳アミロイドアンギオパチーの
生体試料収集に関する研究

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山 田 正 仁

平成 22 (2010) 年 3 月

目 次

〔Ⅰ〕 総括・分担研究報告

研究代表者 山 田 正 仁 -----	1
---------------------	---

〔Ⅱ〕 参考資料

1 次アンケート -----	5
2 次アンケート -----	8
3 次アンケート（倫理委員会有り施設） -----	9
3 次アンケート（倫理委員会無し施設） -----	10

〔Ⅲ〕 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 11

[I] 総括・分担研究報告

脳アミロイドアンギオパチーの生体試料収集に関する研究

研究代表者 山田正仁 金沢大学医薬保健研究域医学系脳老化・神経病態学（神経内科）教授

研究要旨 全国規模で CAA 患者の生体試料収集のためのプロトコールを作成し、研究代表者所属施設の倫理委員会の承認を得た。第一次アンケートにて、CAA 関連脳内出血の患者が現在通院中の施設は、123 施設（436 人）で、検体保存が有りとの返答があった施設は 18 施設（38 人）であった。これらの施設に対して第二次アンケートにて検体提供の可能性を調査したところ、16 施設から検体提供可能との返答を得た。今後、これらの当該施設の倫理審査の後、検体を収集し、試料保存・提供を行っていく予定である。

研究分担者

小野賢二郎 金沢大学附属病院 神経内科 助教

A. 研究目的

脳アミロイドアンギオパチー（CAA）の確実な診断法は病理検査以外にはなく、画像検査にも限界があるため、血液や脳脊髄液等の臨床検体による簡便かつ有用な診断法や病態評価法の確立が期待される。しかし、「アミロイドーシスに関する調査研究班」による疫学調査が示すように、CAA と診断されている患者数は全国的にみても少なく（CAA 関連脳内出血 755 例／5 年間）、大規模な生体試料収集体制が必要である。本研究は CAA 生体試料（血液、脳脊髄液、脳組織等）を全国規模で収集し、CAA 研究を一層推進し、革新的な診断法開発等に資することを目的とした。

B. 研究方法

以下の計画に基づき生体試料収集研究を行った。

①生体試料収集のためのプロトコールと説明同意文書等の作成及び倫理審査：CAA 患者から血漿、血清、DNA、脳脊髄液、脳組織等の生体試料を、臨床情報と共に収集するためのプロトコールを作成する。プロトコールや説明同意文書は、臨床研究およびヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針等に基づき作成し、研究代表者所属施設

の倫理審査委員会の承認を得る。

②全国多施設に対する CAA についてのアンケート調査：全国の主要施設（脳外科および神経内科）に第一次アンケートを送り、現在の CAA 関連脳内出血の患者の通院の有無、および過去 5 年間の同疾患患者の検体保存の有無を問い合わせる。

③CAA 生体試料提供可能施設の調査と当該施設における倫理審査：第一次アンケートにて現在、患者が通院中、あるいは検体保存ありと返答した施設に第二次アンケートで、検体提供可能性の有無および倫理委員会の有無を問い合わせる。その結果、試料提供可能施設に本研究に関する倫理審査を依頼し、承認を得る。

④全国多施設からの生体試料収集：倫理審査後の説明同意文書で同意を得た後、血液（血漿、血清、DNA）、脳脊髄液、脳組織の収集を行う。

⑤試料の整理・保管：研究代表者所属施設にて、血清、血漿、髄液、脳組織等は冷凍保存、遺伝子は研究代表者所属施設にて DNA 分離後、冷蔵保存する。

⑥収集試料の提供、情報公開：本研究によって収集された生体試料は、「アミロイドーシスに関する調査研究班」と連携をとりながら、研究班における CAA 研究、あるいは研究班以外の CAA 研究プロジェクトに提供する。本研究の情報は広く公開する。

(倫理面への配慮)

本研究は全国多施設から生体試料を収集するものであり、試料には血液(血清、血漿、DNA)、脳脊髄液、脳組織などが含まれ、さらに患者情報(年齢などの匿名化された基本情報や臨床情報)が付随している。また、収集された試料はバンク化され、申請者施設から他施設研究者に提供することができるようにする必要がある。その際、臨床研究に関する倫理指針、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針等の関連倫理指針を遵守し、患者のプライバシー及び人権上の配慮、適切なインフォームド・コンセントが前提となる。それらを十分配慮した研究プロトコル、説明同意文書を作成し、研究代表者及び試料提供施設の倫理審査委員会での承認を得て、それに基づき患者の同意を得て研究を実施する。

C. 研究結果

①生体試料収集のためのプロトコルと説明同意文書等の作成及び倫理審査: CAAの生体試料収集のためのプロトコルと説明同意文書等を作成し、研究代表者所属施設において医学倫理委員会およびヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会にそれぞれ、2009年8月28日および同月31日付けで承認を得た。

②全国多施設に対するCAAについてのアンケート調査: CAA関連脳内出血患者の通院の有無、および検体保存の有無の情報を得るために、全国1875施設(脳外科A施設387、C施設754、神経内科施設734)に第一次アンケートを2009年10月5日に送付したところ、2010年2月23日までに474施設から返答を得た(回答率25.3%)。このうち、現在、CAA関連脳内出血の患者が通院中の施設は、123施設(436人)であった。また、検体保存が有りとの返答があった施設は18施設(38人)であった。

③CAA生体試料提供可能施設の調査と当該施設における倫理審査: 第一次アンケートにてCAA関連脳内出血の患者が通院中、あるいは検体保存有りとの返答を得た計119施設に対し、検体提供の有無および倫理委員会の有無を調査するために2009年11月27日に第二次アンケートを送付したところ、2010年2月23日までに66施設か

ら返答を得た(回答率55.5%)。このうち、現在、CAA関連脳内出血の患者が通院中で検体提供の見込み有りとの返答があったのは6施設(内4施設は倫理委員会あり)、保存検体のみ提供可能との返答があった施設は3施設(内2施設は倫理委員会あり)、両方有りとの返答があったのは7施設(内6施設は倫理委員会あり)であった。

④全国多施設からの生体試料収集: 検体提供可能と返答が有った上記16施設に対して倫理審査から検体提供までの手順を記載した参考資料および患者調査票を作成して検体収集を行う準備をすすめている。

⑤試料の整理・保管: 2010年2月23日現在、実際の検体収集の段階には至っていない。検体提供可能と返答があった施設に対して、検体提供を依頼した後、試料を円滑に整理・保管していく予定である。

⑥収集試料の提供、情報公開: 2009年12月7日に、本研究班のホームページを立ち上げた。
(<http://web.kanazawa-u.ac.jp/~med19/menu1/pages/caa.html>)

D. 考察

2010年2月23日現在、実際の検体収集までには至っていないが、CAA関連脳内出血の患者が通院中、あるいは検体保存ありで検体提供可能との返答があった16施設に対しては当該施設の倫理委員会申請のサポートを行いながら、検体収集および保存の準備を整えていく予定である。

脳生検以外のCAA診断法として、MRI T2*画像による脳出血の検出、アミロイドPETによる後頭優位パターン(Johnson KA, et al. *Ann Neurol*, 2007)などの画像検査が報告されているが、MRIでは出血前のCAAを検出できず、アミロイドPETでは検査施設に制約があり多数例の検索は困難である。本研究による、生体試料を用いた簡便な診断マーカーの開発の意義は大きい。

今後は、全国規模での生体試料収集が進行することにより、CAA診断マーカー開発や病態解明の研究が一層推進されることが期待される。

E. 結論

全国規模でCAA患者の生体試料収集のための

プロトコルを作成し、研究代表者所属施設の倫理委員会の承認を得た。

第一次アンケートにて現在、CAA 関連脳内出血の患者が通院中なのは、123 施設 (436 人) で、検体保存が有りとの返答があった施設は 18 施設 (38 人) であった。これらの施設に対して第二次アンケートにて検体提供の可能性を調査したところ、16 施設から検体提供可能との返答があった。今後、これらの当該施設の倫理審査の後、検体を収集し、試料保存・提供を行う。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hamaguchi T, Morinaga A, Tsukie T, Kuwano R, Yamada M: A novel presenilin 1 mutation (L282F) in familial Alzheimer's disease. *J Neurol* 256: 1575-1577, 2009.
- 2) Hamaguchi T, Ono K, Murase A, Yamada M: Phenolic compounds prevent Alzheimer's pathology through different effects on the amyloid- β aggregation pathway. *Am J Pathol* 175:2557-2565, 2009.
- 3) Morinaga A, Ono K, Yamada M: New therapeutic strategy for amyloidosis. *Future Neurol* 4:287-289, 2009.
- 4) Hirohata M, Ono K, Morinaga A, Ikeda T, Yamada M: Anti-aggregation and fibril-destabilizing effects of sex hormones on α -synuclein fibrils in vitro. *Exp Neurol* 217:434-439, 2009.
- 5) Ono K, Condrón MM, Teplow DB: Structure-neurotoxicity relationships of amyloid β -protein oligomers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 14745-14750, 2009.
- 6) Zhao W, Wang J, Ho L, Ono K, Teplow DB, Pasinetti GM: Identification of antihypertensive drugs which inhibit amyloid- β protein oligomerization. *J Alzheimers Dis* 16:49-57, 2009.
- 7) Ho L, Chen LH, Wang J, Zhao W, Talcott ST, Ono K, Teplow D, Humala N, Cheng A, Percival SS, Ferruzzi M, Janle E, Dickstein DL, Pasinetti GM:

Heterogeneity in red wine polyphenolic contents differentially influences Alzheimer's disease-type neuropathology and cognitive deterioration. *J Alzheimers Dis* 16:59-72, 2009.

8) Hirohata M, Yoshita M, Ishida C, Ikeda S, Tamaoka A, Kuzuhara S, Shoji M, Ando Y, Tokuda T, Yamada M: Clinical features of non-hypertensive lobar intracerebral hemorrhage related to cerebral amyloid angiopathy. *Eur J Neurol*, in press.

9) 山田正仁：脳アミロイドアンギオパチー. *Psychiatry Today* 21:23-25, 2009.

10) 山田正仁, 石田千穂：脳アミロイドアンギオパチー. 篠原幸人, 小川彰, 鈴木則宏, 片山泰朗, 木村彰男 (編) *脳卒中治療ガイドライン 2009*, 261-262, 2009.

11) 小野賢二郎, 山田正仁：限局性アミロイドーシスー特に脳アミロイドーシスについて. *血液フロンティア* 19:51-55, 2009.

12) 廣畑美枝, 山田正仁：脳アミロイドアンギオパチーの疫学と病態. *医学のあゆみ* 229:409-414, 2009.

13) 吉田光宏, 山田正仁：脳アミロイドアンギオパチー：病態と診断の進歩. *医学のあゆみ* 231: 445-451, 2009.

2. 学会発表

- 1) Chalmers K, Love S, Ince P, Esiri M, Attems J, Jellinger K, Yamada M, McCarron M, Joachim C, Frosch M, Mann D, Nicoll J, Thal D, Kehoe P: Validation of international consensus for the assessment of cerebral amyloid angiopathy in post-mortem brain. Sixth International Congress on Vascular Dementia, Barcelona, 11. 19-22, 2009.
- 2) Ono K, Teplow DB, Condrón MM: The English (H6R) and Tottori (D7N) familial Alzheimer disease mutations accelerate amyloid β -protein oligomerization and cytotoxicity. Neuroscience, Nanosymposium, Chicago, USA, 10. 17-21, 2009.
- 3) Teplow DB, Ono K, Condrón MM: Structure-neurotoxicity relationships of amyloid β -protein oligomers. Neuroscience, Nanosymposium, Chicago, USA, 10. 17-21, 2009.
- 4) 小野賢二郎, Margaret M Condrón, Lap Ho,

Giulio M Pasinetti, David B Teplow, 山田正仁 : Grape seed polyphenolic extract の A β 凝集及び細胞毒性における効果. 第 50 回日本神経学会総会, 仙台, 5. 20-22, 2009.

5) 小野賢二郎, Margaret Condron, Lap Ho, Giulio M Pasinetti, David B Teplow, 山田正仁 : Grape seed polyphenolic extract の A β 凝集抑制効果. 第 28 回日本認知症学会学術集会, 仙台, 11. 20-22, 2009.

6) 廣畑美枝, 小野賢二郎, 森永章義, 池田篤平, 山田正仁 : 女性ホルモンの α -シヌクレイン蛋白凝集抑制作用. 第 50 回日本神経学会総会, 仙台, 5. 20-22, 2009.

7) 廣畑美枝, 小野賢二郎, 森永章義, 池田篤平, 山田正仁 : 女性ホルモンは α -シヌクレイン蛋白凝集抑制作用および不安定化作用を有する. 第 28 回日本認知症学会学術集会, 仙台, 11. 20-22, 2009.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得（申請中を含む）

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

[Ⅱ] 参 考 資 料

脳アミロイドアンギオパチーについてのアンケート

(恐れ入りますが、2009年10月末日までに御投函、或はFAX (076-234-4253)をお願いします。)

御協力、誠にありがとうございます。御多忙中大変恐縮ですが、診療された患者様について以下の質問にお答えくださるようお願いします。参考資料として脳アミロイドアンギオパチーに関連する脳内出血の Boston 診断基準を添付しました。

(1) 脳アミロイドアンギオパチー関連脳内出血のご経験について

(a) 現在、脳アミロイドアンギオパチー関連脳内出血と考えられる病歴を有する患者さんを診療していらっしゃいますか？

はい いいえ → 『はい』の場合： 人

患者様がいらっしゃる場合、可能でしたら診断基準のどこに当てはまるか、御記入ください。

1. 確実（剖検） 人、2. ほぼ確実（生検） 人、3. 臨床的ほぼ確実 人、4. 疑い 人

(b) 過去5年間（2004年（平成16年）以降）に、脳アミロイドアンギオパチー関連脳内出血と考えられる病歴を有する患者さんを診療していらっしゃったことがありますか？

はい いいえ → 『はい』の場合： 人

患者様がいらっしゃる場合、可能でしたら診断基準のどこに当てはまるか、御記入ください。

1. 確実（剖検） 人、2. ほぼ確実（生検） 人、3. 臨床的ほぼ確実 人、4. 疑い 人

(c) 上記患者さんの検体（血液、脳脊髄液、白血球／DNA、脳組織）を保存していらっしゃいますか？

はい いいえ → 『はい』の場合： 人

(2) 上記以外の脳アミロイドアンギオパチー関連病態 [血管炎（炎症）、白質脳症など]のご経験があればご記入下さい。（過去5年間）

_____ : 人
_____ : 人

御記入年月日： 年 月 日

御住所：

御施設名：

御担当者氏名：

e-mail： @

TEL：（ ） —

FAX：（ ） —

この用紙は新たに患者さんをご経験された場合にお使い下さい

脳アミロイドアンギオパチーについての連絡票

(恐れ入りますが、FAX (076-234-4253)をお願いします。)

御協力、誠にありがとうございます。御多忙中大変恐縮ですが、診療された患者様について以下の質問にお答えくださるようお願いいたします。参考資料として脳アミロイドアンギオパチーに関連する脳内出血の Boston 診断基準を添付しました。

(1)この度、ご経験された脳アミロイドアンギオパチー関連脳内出血の患者様について：

☐ (該当あり)

(a) 診断基準のどこに当てはまるか、御記入ください

1. 確實（剖検） 人、2. ほぼ確實（生検） 人、3. 臨床的ほぼ確實 人、4. 疑い 人

(b) 上記患者さんの検体（血液、脳脊髄液、白血球／DNA、脳組織）を保存していっていますか？

はい いいえ → 『はい』の場合： 人

(2)この度、ご経験された出血以外の脳アミロイドアンギオパチー関連病態 [血管炎(炎症)、白質脳症など] の患者様について：☐ (該当あり)

_____ : 人
_____ : 人

御記入年月日： 年 月 日

御住所：

御施設名：

御担当者氏名： e-mail： @

TEL : () — FAX : () —

脳アミロイドアンギオパチー関連脳出血の診断基準 (Boston グループによる) *

①確実 (definite CAA)

剖検による完全な脳の検索により以下の3点が証明される：(1)脳葉型、皮質あるいは皮質皮質下出血、(2)CAA 関連血管変化**を伴う高度な CAA、(3)他の原因病変の欠除。

②ほぼ確実(生検組織の陽性所見を伴う) (probable CAA with supporting pathology)

臨床データおよび病理組織（血腫吸引標本あるいは皮質生検）が以下の3点を示す：(1)脳葉型、皮質あるいは皮質皮質下出血、(2)標本内に CAA、(3)他の原因病変の欠除。

③臨床的にほぼ確実 (probable CAA)

臨床データおよび MRI/CT が以下の3点を示す：(1)脳葉型、皮質あるいは皮質皮質下に限局する多発性出血（小脳出血を含む）、(2)年齢 55 歳以上、(3)他の出血の原因***の欠除。

④疑い (possible CAA)

臨床データおよび MRI/CT が以下の3点を示す：(1)脳葉型、皮質あるいは皮質皮質下の単発性出血、(2)年齢 55 歳以上、(3)他の出血の原因***の欠除。

*Knudsen *et al. Neurology* 56:537, 2001 より記載

**CAA 関連血管変化：フィブリノイド壊死を伴う微小動脈瘤形成など

***他の脳出血の原因：ワーファリン過量 (INR>3.0)、頭部外傷、虚血性脳血管障害、脳腫瘍、血管奇形、血管炎、血液凝固障害

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
脳アミロイドアンギオパチーの生体試料収集に関する研究班

ご返答用紙

FAX 返信先：研究班事務局（金沢大学神経内科 076-234-4253）

1. 現在の貴院通院されている CAA 患者様で、検体提供の同意をいただける見込みのある患者様はおられますでしょうか。

いる

いいえ

2. 過去に診療された CAA 患者様の検体で、提供可能な保存検体がありますでしょうか。

ある

ない

3. 貴施設に倫理委員会が設置されていますでしょうか。

設置されている

設置されていない

お手数ですが、**2010 年 1 月 15 日**までに、郵送もしくは FAX にてご返信いただけますようお願い申し上げます。なお、患者様のご都合等で遅くなる場合であっても対応させていただきますので、遅くなくても構いません。

連絡事項（何かご連絡事項があればお願いいたします。）

--

ご芳名：_____

ご所属施設名：_____

E-mail address：_____

ご住所：_____

電話番号：_____ - (_____) - _____ FAX 番号：_____ - (_____) - _____

脳アミロイドアンギオパチー検体送付に関して

御協力、誠にありがとうございます。御多忙中大変恐縮ですが、お答えいただき、郵送もしくはFax（076-234-4253）でご連絡いただけますようお願い申し上げます。

質問. 脳アミロイドアンギオパチー関連脳内出血の患者検体について

A.倫理委員会で審査が行われる時期をお教えてください。

____年____月____日 頃

B. 検体をご送付いただけます時期の見込みをがわかればご記入ください。

____年____月____日 頃

C. ご送付いただけることが見込まれる検体の種類に○をお願いします。

（血液、遺伝子、髄液、 組織（組織名： _____））

御記入年月日： _____ 年 _____ 月 _____ 日

御住所： _____

御施設名： _____

御担当者氏名： _____ e-mail： _____ @ _____

TEL: (_____) _____ — FAX: (_____) _____ —

脳アミロイドアンギオパチー検体送付に関して

御協力、誠にありがとうございます。御多忙中大変恐縮ですが、診療された患者様について以下の質問にお答え下さり、御投函もしくはFAX(076-234-4253)下さいますようお願いいたします。

質問. 脳アミロイドアンギオパチー関連脳内出血の患者検体について

A. 当施設の倫理委員会承認書類に基づいて検体をご送付していただくことでよろしいでしょうか。

可 ・ 不可

B. 検体をご送付いただけます時期の見込みがわかればご記入ください。

____年____月____日 頃

C. ご送付いただけることが見込まれる検体の種類に○をお願いします。

(血液、遺伝子、髄液、 組織(組織名: _____))

御記入年月日: _____ 年 _____ 月 _____ 日

御住所:

御施設名:

御担当者氏名:

e-mail: _____ @ _____

TEL: (_____) _____

FAX: (_____) _____

[Ⅲ] 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

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
Hamaguchi T, Morinaga A, Tsukie T, Kuwano R, Yamada M	A novel presenilin 1 mutation (L282F) in familial Alzheimer's disease.	J Neurol	256	1575-1577	2009
Hamaguchi T, Ono K, Murase A, Yamada M	Phenolic compounds prevent Alzheimer's pathology through different effects on the amyloid β -aggregation pathway.	Am J Pathol	175	2557-2565	2009
Hirohata M, Ono K, Morinaga A, Ikeda T, Yamada M	Anti-aggregation and fibril-destabilizing effects of sex hormones on α -synuclein fibrils in vitro.	Exp Neurol	217	434-439	2009
Hirohata M, Yoshita M, Ishida C, Ikeda S, Tamaoka A, Kuzuhara S, Shoji M, Ando Y, Tokuda T, Yamada M	Clinical features of non-hypertensive lobar intracerebral hemorrhage related to cerebral amyloid angiopathy.	Eur J Neurol			In Press
Ho L, Chen LH, Wang J, Zhao W, Talcott ST, Ono K, Teplow DB, Humala N, Cheng A, Percival SS, Ferruzzi M, Janle E, Weaver C, Dickstein DL, Pasinetti GM	Heterogeneity in red wine polyphenolic contents differentially influences Alzheimer's disease-type neuropathology and cognitive deterioration.	J Alzheimers Dis	16	59-72	2009
Morinaga A, Ono K, Yamada M	New therapeutic strategy for amyloidosis.	Future Neurol	4	287-289	2009
Ono K, Condron MM, Teplow DB	Structure-neurotoxicity relationships of amyloid β -protein oligomers.	Proc Natl Acad Sci USA	106	14745-14750	2009
Zhao W, Wang J, Ho L, Ono K, Teplow DB, Pasinetti GM	Identification of antihypertensive drugs which inhibit amyloid β -protein oligomerization.	J Alzheimers Dis	16	49-57	2009
小野賢二郎、山田正仁	限局性アミロイドーシス—特に脳アミロイドーシスについて	血液フロンティア	19	1375-1379	2009

研究成果の刊行に関する一覧表

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
廣畑美枝、山田正仁	脳アミロイドアンギオパチーの疫学と病態	医学のあゆみ	229	409-414	2009
山田正仁	脳アミロイドアンギオパチー	Psychiatry Today	21	23-25	2009
吉田光宏、山田正仁	脳アミロイドアンギオパチー：病態と診断の進歩	医学のあゆみ	231	445-451	2009

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
山田正仁、 石田千穂	脳アミロイド アンギオパチー	篠原幸人、 小川 彰、 鈴木則宏、 片山泰朗、 木村彰男	脳卒中治療 ガイドライン2009	協和企画	東京	2009	261-262

