

タウイメージング

工藤 幸司¹⁾, 岡村 信行²⁾, 古本 祥三²⁾,
古川 勝敏³⁾, 谷内 一彦²⁾, 荒井 啓行³⁾

はじめに

アルツハイマー病 (AD) においては患者の周辺または臨床家がこの疾患特有の臨床症状に気付いた時には、アミロイドβ蛋白 (Aβ) を主構成成分とする老人斑 (以下これらをまとめてAβ) および過剰リン酸化タウ蛋白を主構成成分とする神経原線維変化 (以下これらをまとめてタウ) はもはや手の施しようのない状態まで進んでいることが知られている。また、ADの一部前駆状態と考えられているMCI (Mild Cognitive Impairment; 軽度認知障害) に相当するVery Mild ADという極めて早期の症例であっても、その剖検例ではすでに両病理像が多数出

現し、病理学的にはすでに立派なAD状態であることが明らかにされている (Gómez-Isla et al., 1996; Price et al., 1999) ことから、ADは物忘れ症状が発現するかなり以前からその病理像がスタートしていることになる。つまりADの病理像と臨床像との間には極めて大きな乖離が存在していることになる (いわゆるPathological ADとClinical ADとの乖離)。AD脳における両病理像の蓄積のスタートはAβ蓄積の方が10年以上先行していると考えられていることから、ADを超早期ないしは発症前に診断するためにはAβを追跡することが最も妥当と考えられた。このことから、20世紀から21世紀にかけて開発されたAD診断用PET (Positron Emission Tomography; 陽電子断層撮影装置) プローブの殆どすべてがAβを追跡する、いわゆるアミロイドイメージング用プローブであった。当初は^[11C]標識プローブが主であったが、その後、半減期が長く、臨床で使用しやすい^[18F]標識プローブの開発が試みられている。

AD診断とレーガン研究所

ADの診断法について論ずるなら、レーガン研究所に触れなくてはならない。2004年6月5日 (現

Tau imaging

Yukitsuka Kudo¹⁾, Nobuyuki Okamura²⁾, Shozo Furumoto²⁾, Katsutoshi Furukawa³⁾, Kazuhiko Yanai²⁾, Hiroyuki Arai³⁾

¹⁾ 東北大学未来医工学治療開発センター [〒980-8574 仙台市青葉区星陵町 1-1]

Innovation of New Biomedical Engineering Center, Tohoku University (1-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai 980-8574, Japan)

²⁾ 東北大学医学部機能薬理学 [〒980-8575 仙台市青葉区星陵町 2-1]

Department of Pharmacology, Tohoku University School of Medicine (2-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai 980-8575, Japan)

³⁾ 東北大学加齢医学研究所 [〒980-8575 仙台市青葉区星陵町 4-1]

Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University (4-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai 980-8575, Japan)

地時間), ロナルドレーガン第40代アメリカ大統領が93歳の生涯を閉じた。彼がADの初期段階であることを公表したのは1994年であるが, これをきっかけに, いわゆるレーガン研究所が設立された。同研究所の大きな業績の1つがAD診断に関する合同レビューである。すなわちThe Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's association と The National Institute on Aging がスポンサーとなり, The Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's disease なるワーキンググループがつけられ, 世界中の最前線に立つAD診断法研究者から論文が集められ, それらがNeurobiology of Aging, 19巻, 第2号(1998年)に報告された(文献3)。

このレビューにはAD診断における診断基準ないしは目標とする感度, 特異度, 陽性的中率, さらにRecommended steps 等が載っており, 現時点においてもAD診断法開発のバイブルないしはガイドライン的資料となっている。

まずマーカーとして求められる条件としては以下が挙げられている。

Proposed markers for AD should include as many features of ideal diagnostic test as possible. Ideally, the markers should be :

1. able to detect a fundamental feature of Alzheimer's neuropathology ;
2. validated in neuropathologically confirmed AD cases ;
3. precise (able to detect AD early in its course and distinguish it from other dementias) ;
4. reliable ;
5. non-invasive ;
6. simple to perform ; and
7. inexpensive.

Neurobiology of Aging (1998) 19 : 109-116

また, 同誌ではAD診断法を開発していく上でのRecommended steps についても述べている。

Recommended steps in the process of establishing a Biomarker.

1. There should be at least two independent studies that specify the biomarker's sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values.
2. Sensitivity and specificity should be no less than 80% ; positive predictive value should approach 90%.
3. The studies should be well powered, conducted by investigators with expertise to conduct such studies, and the results published in peer-reviewed journals.
4. The studies should specify type of control subjects, including normal subjects and those with a dementing illness but not AD.
5. Once a marker is accepted, follow-up data should be collected and disseminated to monitor its accuracy and diagnostic value.

Neurobiology of Aging (1998) 19 : 109-116

これらの中で最も高いハードルはAD診断の感度および特異度80%以上, 陽性的中率90%にあると思われる。

アミロイドイメーシングとタウイメーシング

この10年以内に新たに登場した優れたAD診断技術としてまず挙げなくてはならないのは前述したアミロイドイメーシングであろう。2002年初頭, 世界で初めてAD患者にアミロイドイメーシング用PETプローブが投与された画像が紹介された。この栄誉に浴したのはUCLA Barrioらのチーム, プローブは ^{18}F FDDNPであった(Shoghi-Jadid et al., 2002)。しかし, その後, アミロイドイメーシングプローブの主流となったのは, 今や臨床例1000例をはるかに超すであろうピッツバーグ大学・General Electricの ^{11}C PIBである(Klunk et al., 2004)。

AD診断におけるアミロイドイメーシングは高い

感度および特異度をもって同病を診断できると共に、早期診断、鑑別診断、重症度（ないしは進行度）診断、さらに発症前診断（いわゆる発症前高リスク者の検出）をも可能にする、いわゆる万能的診断法であろうと多くの研究者が想定していたことは確実であり、著者らもそう考えていた。

しかし臨床研究が進むにつれて、我々がこのイメージング法に抱いていた期待のすべてを必ずしもこの診断法が満足させてくれるものではなかったことが明らかにされた。それらを $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ を例に説明すると、以下のとおりである。

まず第1に重症度（ないしは進行度）診断が不可能であること、言い換えるとMMSEなどの臨床的認知症尺度との間に相関関係がみられないことが挙げられる。すなわち $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ によってADと診断

された患者の2年後においては、臨床症状の進行の早遅に関係なく同プローブの集積に増減が全く見られなかった（Engler et al., 2006）（但し、現在では若干の増加を示すと考えられている）。これはAD発症をさかのぼるMCI以前にすでに $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ と結合するタイプのA β 蓄積はほぼプラトー状態に達しているためと考えられている。したがって $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ ではアルツハイマー病の重症度ないしは進行度は診断不可能である。

次にプローブによって差はあるがかなりの偽陽性者が見られるという問題である。2008年7月シカゴでの国際アルツハイマー病学会に先駆けて開催されたADNI（Alzheimer’s Disease imaging Initiative）meetingにおいて健常高齢者の53%が $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ 陽性であったという驚くべき報告がなされた。AD発

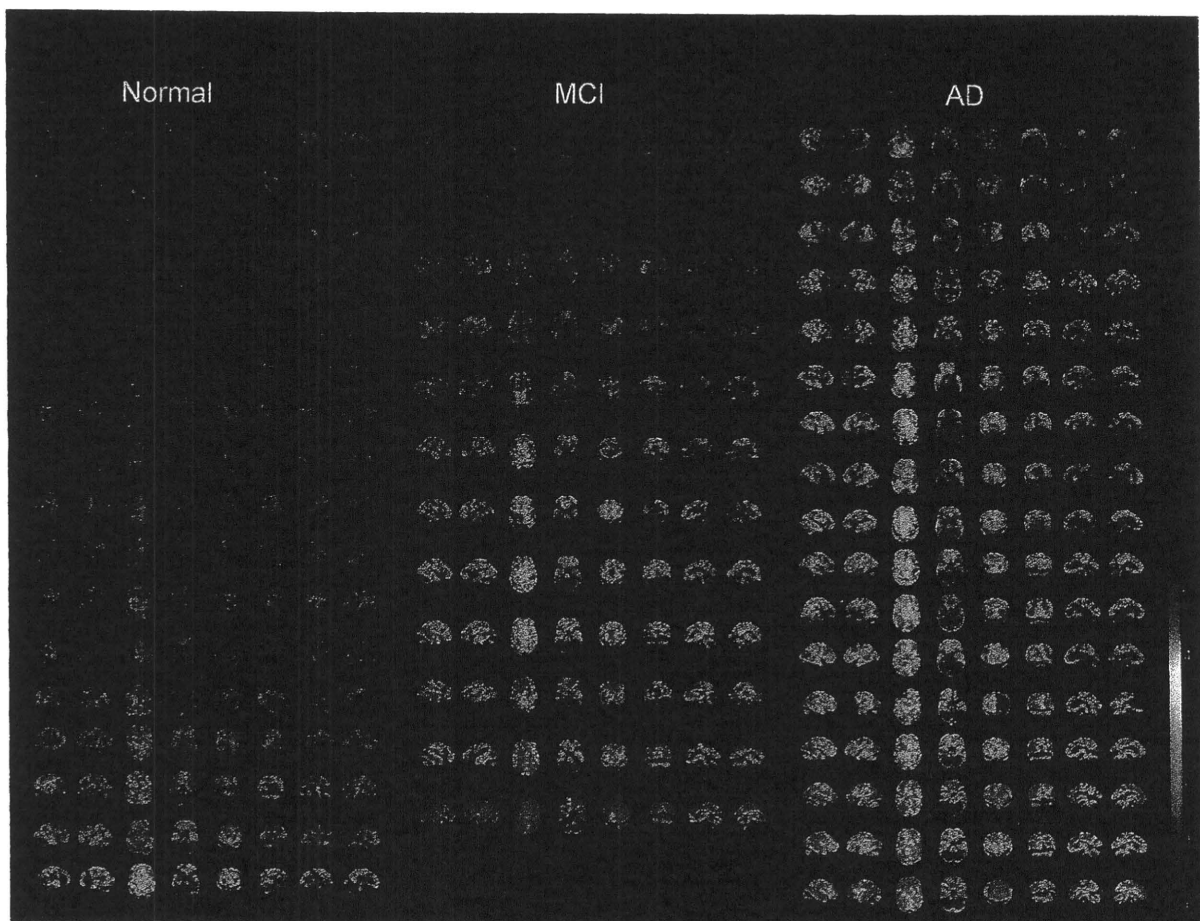


図1. 著者らによって開発されたアミロイド イメージングプローブ $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ のヒトにおけるPET画像. 3D SSP (3 Dimensional Stereotactic Surface Projection) 解析
 Normal: 健常高齢者, MCI: 軽度認知障害患者, AD: アルツハイマー病患者

症率は65歳以上人口の4から6%と考えられているが、ADNIの報告はADおよびMCI患者を除いた高齢者の53%が ^{11}C PIB陽性であったということである。また2009年11月、仙台での第28回日本認知症学会に引き続き開催された「World Wide ADNIの展望」においても、特にアメリカでの健常高齢者の約40%が ^{11}C PIB陽性とのことであった。これらの数値は多少over estimateと著者らは考えるが、 ^{11}C PIBの開発者自身、かなりの偽陽性が現れることを認めている (Aizenstein et al., 2008)。

なぜこれほどの偽陽性が見られるかについては以下のように説明できると著者らは考えている。図1に著者らによって開発されたアミロイドイメージングプローブ ^{11}C BF-227のヒトにおけるPET画像を示したが、図1からでも明らかのように、脳内 $\text{A}\beta$ の蓄積量とMMSE、HDS-Rなどの臨床的認知症尺度との間の相関はそれほど高くないことが示唆される。すなわち健常高齢者、MCIおよびADのいずれにおいても $\text{A}\beta$ 蓄積にはかなりのばらつきが存在する。 ^{11}C BF-227は ^{11}C PIBに比較して健常高齢者における偽陽性者が極めて少ないプローブであることが判明している (Furukawa et al., 2009) が、そのプローブ ^{11}C BF-227においてでさえ図1の結果である。 ^{11}C PIBを用いて図1を描いたならばおそらくNormal (健常高齢者)の約半数に高集積が見られるのであろう。

さらに2008年6月から7月にかけて、それまでAD病因の主流を占めていたAD・アミロイド(ないしは $\text{A}\beta$)仮説に基づく根本治療薬として大きな期待をかけられていた治療薬群(生物学的製剤およびセクレターゼ阻害薬類)の効果は、いずれもはるかに期待を下回ったことが次々と報告された。その中でも最も衝撃を受けたのは $\text{A}\beta$ ワクチンにより脳内から $\text{A}\beta$ がほぼ完全に除去された症例においても臨床症状の進行は全く食い止めることができなかった、というLancetのHolmesらの報告であった (Holmes et al., 2008)。

しかしこのLancetの報告にはもう1つの重要な情報が記載されていた。即ちLancetの患者のタウ蓄積度はすべて最終Stage (Braak Tau Stage VI,

Braak & Braak, 1991)まで進行していたことであった(但し、ワクチン処置4ヶ月後に死亡した1例ではStage V)。

これらのことは $\text{A}\beta$ の蓄積度は必ずしもADの重症度を反映していないことを強く示唆するとともに、ADの重症度診断は $\text{A}\beta$ を追跡するよりも、タウを追跡する方がより妥当性が高いことをも強く示唆している。

1990年代初頭以降、ADの臨床症状に相関する病理像は $\text{A}\beta$ よりもタウであるとする幾つかの報告がある (Arriagada et al., 1992; Gómez-Isla et al., 1997) が、Holmesらの報告によって図らずもこれが再認識される結果となった。

ワクチン類、その他の治療薬およびアミロイドイメージングの臨床成績、さらにこれまでの関連研究

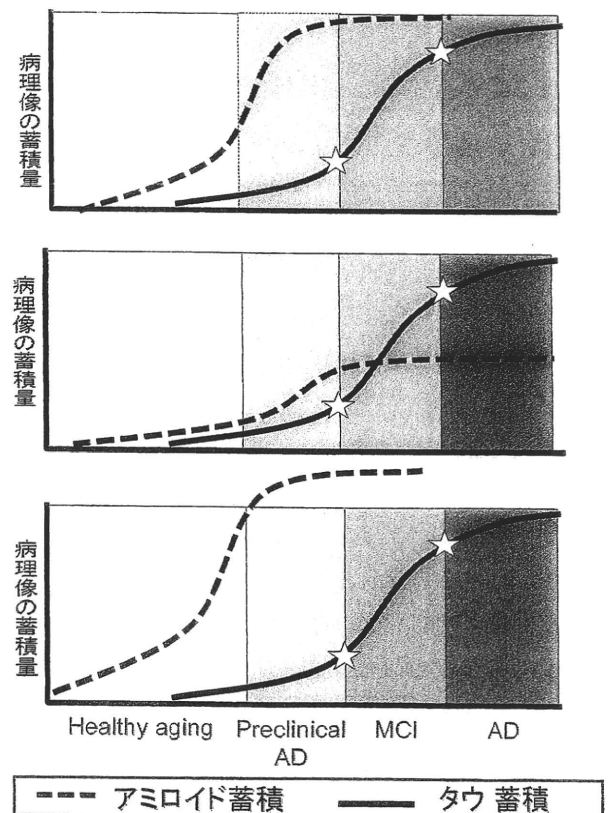


図2. アルツハイマー病におけるアミロイド(ないしは $\text{A}\beta$)とタウの関係(著者らの提唱) 上、中および下段に示すように、アミロイド蓄積がそれほど多くない場合でも、タウ蓄積が閾値に達するとMCI、ADが発症し、またアミロイド蓄積が極めて多くても、タウ蓄積が閾値に達しない場合、MCI、ADは発症しない。

の積み重ねから、ADにおけるアミロイド（ないしはAβ）とタウとの関連は図2に改められるべきであろう、と著者らは考えている。図2に示すようにアミロイド蓄積がそれほど多くない場合でも、タウ蓄積が閾値に達するとMCI, ADが発症し、またアミロイドが蓄積が極めて多い例でも、タウ蓄積が閾値に達しない場合、MCI, ADは発症しない。つまり、アミロイド蓄積の多寡は、MCI, AD発症には直接関係せず、タウ蓄積がこれを規定する。言い換えると「アミロイド（ないしはAβ）には閾値がない、タウには閾値がある」、が著者らの提唱である。

以上述べてきたようにADの重症度（ないしは進行度）診断、また真のADの発症前高リスク者の正確な抽出、さらにレーガン研究所の提言をより忠実に履行するには、タウイメージングの方が優れていることが強く示唆される。「将来のAD診断はタウイメージングが主役であり、これを補うのがアミロイドイメージング」であることは確実であろう。

タウイメージングプローブ

さて、開発に成功すればAD診断に画期的な進歩をもたらすことが確実であろうタウイメージング用PETプローブであるが、その開発には解決することが難しいいくつかの問題がある。

その第1はAD患者脳におけるタウをインビトロで再現できにくいことである。ADのもう1つの代表的な病理像であるβシート構造をとったAβを主構成成分とする老人斑（ないしはAβ）は、市販のAβを購入して比較的容易にβシート構造をとったAD患者様のAβをインビトロにおいて作り出すことができる。これに対してタウは正常または変異をもったタウのいずれにおいても、AD患者に見られるβシート構造をとったAD型-, 成熟型-, または過剰リン酸化型-タウをインビトロにおいて再現することが極めて難しいことが知られている。

第2に前述の状態はインビボ、特にTgマウスにおいても同様である。Aβが蓄積するTgマウスでは20カ月ほどの飼育が必要ではある（代表的なTg2576マウスの場合）がAD型にかなり類似した

Aβを再現させることができる。これに対してタウが蓄積するTgマウスにおいては正常なタウが主として蓄積するのみでβシート構造をとる割合が不十分であり、AD型-, 成熟型-, または過剰リン酸化型-タウを再現できにくいのが現状である。

第3にはタウ特異的選択的プローブ開発の難しさが挙げられる。Aβとタウの両者に結合するプローブまでは到達できても、このプローブからAβに対する親和性を失わせた（またはタウのみに親和性を持たせた）プローブまでにはなかなか辿り着きにくい。化合物の最適化を繰り返してもタウ特異的選択的な特性を持たせることができずに行き詰った末、その基本骨格を持つ一連の化合物群そのものを放棄してしまったことを著者らは何度も経験している。

著者らがそうであるように、タウイメージングプローブの開発者達はこれらの問題の克服に苦闘の日々を送っているのであろう。

次にタウイメージングプローブの現状であるが、いくつかのタウ選択的プローブの報告は見られるものの、臨床研究に用いられたプローブは未だ報告されていない。AD診断用タウイメージングプローブは神経原線維変化に対する選択性が高いことが求められる反面、他のタウオパチーのタウには低親和性であることが求められる。

図3にこれまで報告されているタウイメージングプローブを示した（Okamura et al., 2005; Ojita et al., 2009）。BFプローブ群はAD型-, 成熟型-, 過剰リン酸化型-タウに親和性を有する（図4）。いわゆる

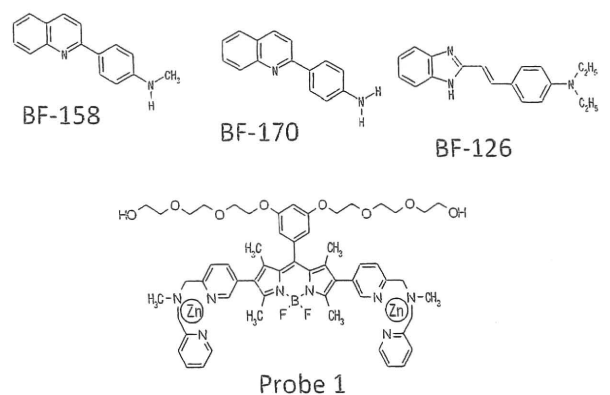


図3. これまでに報告されているタウイメージングプローブ

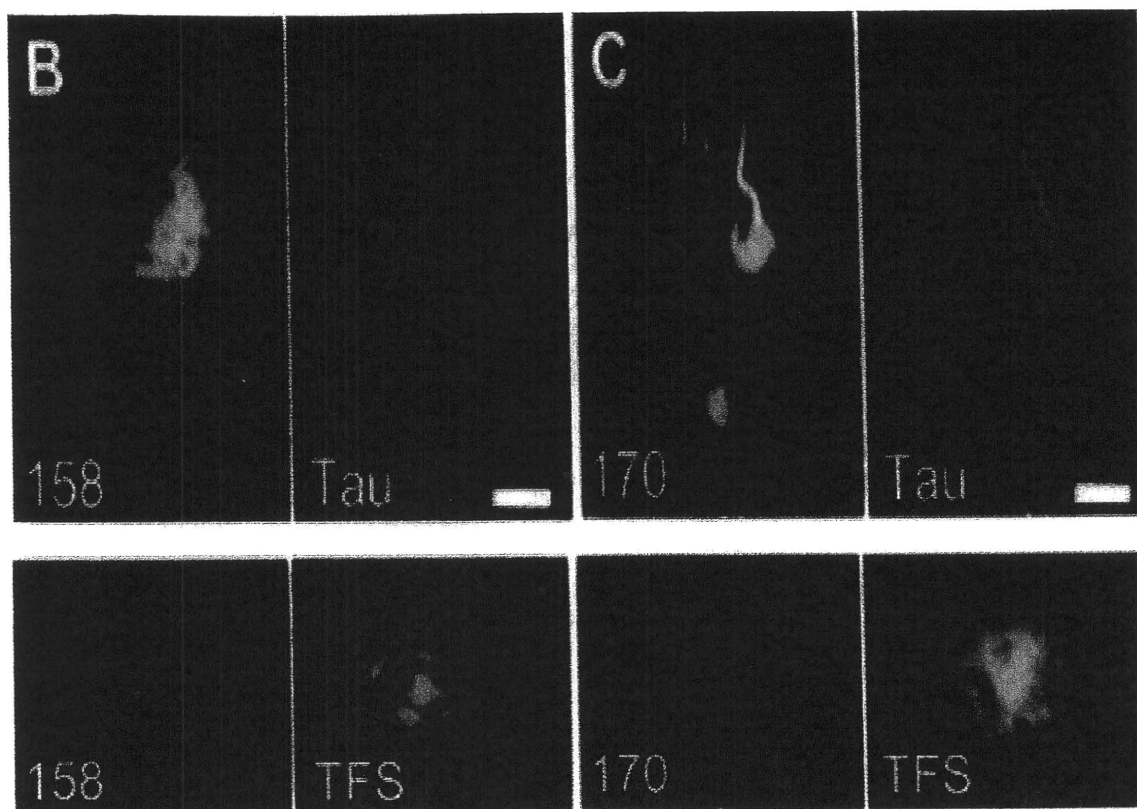


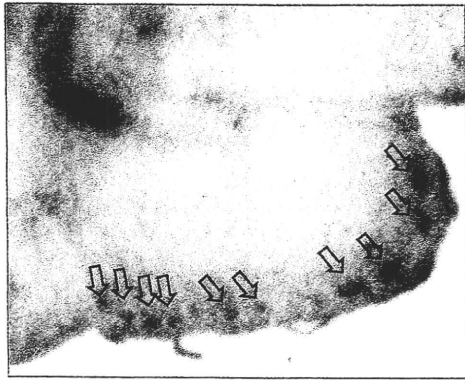
図4. アルツハイマー病患者脳標本における BF-158 および BF-170 の染色像 (Okamura et al., 2005)
 上段の左から順に, BF-158 染色 (B), 隣接切片における抗タウ抗体 (AT8) 染色, BF-170 染色 (C), 隣接切片における抗タウ抗体 (AT8)
 下段の左から順に, BF-158 染色, 隣接切片におけるチオフラビン S (TFS) 染色, BF-170 染色, 隣接切片におけるチオフラビン S 染色
 BF-158 および BF-170 は神経原線維変化および neuropil thread を明瞭に染色したが, チオフラビン S によって染色される老人斑に対する染色性は明らかに弱かった。

コンフォメーション病における病理像としての蛋白質群はそれぞれ β シート構造をとった $A\beta$, タウ, 異常型プリオン蛋白質等を主構成成分としているが, 著者らはこれまでの研究の結果からそれぞれの高次構造は微妙に異なると推測している. 化合物によっては広範な β シート蛋白質群を認識する一方, 狭い範囲の蛋白質群を認識する化合物もある. 前者の代表がチオフラビン S, コンゴ レッドであり, 後者のそれらは 前述した BF-158 関連化合物群であろう. Probe 1 は Ojita らによって報告されたリン酸化タウを認識する蛍光プローブである (Ojida et al., 2009).

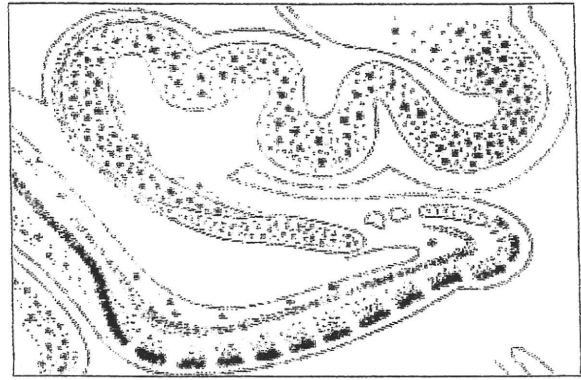
図5に著者らによって最適化された $[^{18}F]$ 標識プローブのオートラジオグラフィ画像を示した. AD 患者嗅内野皮質においてタウはクラスター状に分布

することが知られている (Braak & Braak, 1991) が, 同部位において最適化 $[^{18}F]$ 標識プローブは同様(クラスター状)の集積像を示した. 同最適化 $[^{18}F]$ 標識プローブは $[^{18}F]$ BF-227 結合部位 ($A\beta$ 集積部位) および抗 $A\beta$ 抗体染色陽性部位には結合せずに, チオフラビン S 染色でのタウ特有の構築物および抗タウ抗体染色陽性部位に結合しており, また同最適化非標識プローブそのものの染色ではタウ特有の形態像がみられた (データ示さず).

最近, より簡便な AD 診断法として近赤外線蛍光プローブ・蛍光イメージング診断装置が注目されている. その診断原理は $A\beta$ またはタウに親和性を持ち, しかも血液-脳関門を越え, さらに生体を透過する光 (波長約 600-1,000 nm, 生体の分光学的窓



**[¹⁸F]Cpd.C
autoradiography**



**Neurofibrillary changes in the
entorhinal region
(Braak & Braak, 1991)**

図5. アルツハイマー病患者嗅内野皮質における [¹⁸F]Compound C のオートラジオグラフィ [¹⁸F]Compound C の嗅内野皮質における分布は、同部位においてクラスター状の分布を示すことが知られている神経原線維変化のそれ (Braak and Braak., 1991) と一致していた。

領域)を照射することによって同領域波長の蛍光を発するプローブをAD診断に応用しようとするものである。この診断に用いるアミロイド用プローブについてはAOI-987 (Hintersteiner et al., 2005), NIAD-16 (Raymond et al., 2008) などいくつかの化合物が公にされ、またタウ用プローブの開発も試みられているようであり、著者らもそれらの開発に取り組んでいる。

終わりに

近い将来実施されるタウイメージング用PETプローブの臨床研究においてはタウ蓄積の定量化とともに、空間的分布も判断材料になることは確実であろう。この観点で注目しているのは「海馬、海馬傍回、後頭側頭回の内、前2部位までのタウは認知症に関連しないが、副側溝を越えて後頭側頭回まで達するとADに陥る」、とする葛原、井原先生らの提唱 (葛原ら, 1989) がタウイメージングで検証できるのか、またBraak Tau StageにおけるDistribution Pattern (Braak & Braak, 1991) とタウイメージングの空間的分布が一致するのか等である。

以上、タウイメージングにつき論じてきた。著者

らのタウイメージングプローブ研究は探索的臨床研究を目指して着々と進んでいるが、その結果が得られたならばできるだけ早い時期にその内容を報告することを約束して稿を閉じたい。

文 献

Aizenstein HJ, Nebes RD, Saxton JA, Price JC, Mathis CA, Tsopoulos ND, Ziolk SK, James JA, Snitz BE, Houck PR, Bi W, Cohen AD, Lopresti BJ, DeKosky ST, Halligan EM, Klunk WE (2008) Frequent amyloid deposition without significant cognitive impairment among the elderly. *Arch Neurol* 65: 1509-1517

Arriagada PV, Growdon JH, Hedley-Whyte ET, Hyman BT (1992) Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. *Neurology* 42: 631-639

Braak H, Braak E (1991) Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82: 239-259

Engler H, Forsberg A, Almkvist O, Blomquist G, Larsson E, Savitcheva I, Wall A, Ringheim A, Långström B, Nordberg A (2006) Two-year follow-up of amyloid deposition in patients with Alzheimer's disease. *Brain* 129: 2856-2866

Furukawa K, Okamura N, Tashiro M, Waragai M, Furumoto S, Iwata R, Yanai K, Kudo Y, Arai H (2009) Amyloid PET in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease with BF-

- 227 : comparison to FDG-PET. *J Neurol* Doi 10.1007/s00415-009-5396-8
- Gómez-Isla T, Hollister R, West H, Mui S, Growdon JH, Petersen RC, Parisi JE, Hyman BT (1997) Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 41 : 17-24
- Gómez-Isla T, Price JL, McKeel DW Jr, Morris JC, Growdon JH, Hyman BT (1996) Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J Neurosci* 16 : 4491-4500
- Hintersteiner M, Enz A, Frey P, Jatón AL, Kinzy W, Kneuer R, Neumann U, Rudin M, Staufienbiel M, Stoeckli M, Wiederhold KH, Gremlich HU (2005) In vivo detection of amyloid-beta deposits by near-infrared imaging using an oxazine-derivative probe. *Nature Biotechnol* 23 : 577-583
- Holmes C, Boche D, Wilkinson D, Yadegarfar G, Hopkins V, Bayer A, Jones RW, Bullock R, Love S, Neal JW, Zotova E, Nicoll JA (2008) Long-term effects of Abeta42 immunisation in Alzheimer's disease : follow-up of a randomised, placebo-controlled phase I trial. *Lancet* 372 : 2132-2142
- Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt DP, Bergstrom M, Savitcheva I, Huang GF, Estrada S, Ausen B, Debnath ML, Barletta J, Price JC, Sandell J, Lopresti BJ, Wall A, Koivisto P, Antoni G, Mathis CA, Langstrom B (2004) Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol* 55 : 306-319
- 葛原茂樹, 井原康夫, 島田裕之 (1989) 生理的老化脳と痴呆脳におけるアルツハイマー神経原線維変化の頻度と分布. *脳神経* 41 : 465-470
- Ojida A, Sakamoto T, Inoue MA, Fujishima SH, Lippens G, Hamachi I (2009) Fluorescent BODIPY-based Zn (II) complex as a molecular probe for selective detection of neurofibrillary tangles in the brains of Alzheimer's disease patients. *J Am Chem Soc* 131 : 6543-6548
- Okamura N, Suemoto T, Furumoto S, Suzuki M, Shimadzu H, Akatsu H, Yamamoto T, Fujiwara H, Nemoto M, Maruyama M, Arai H, Yanai K, Sawada T, Kudo Y (2005) Quinoline and Benzimidazole Derivatives : Candidate Probes for In Vivo Imaging of Tau Pathology in Alzheimer's Disease. *J Neurosci* 25 : 10857-10862
- Price JL, Morris JC (1999) Tangles and plaques in nondemented aging and "preclinical" Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 45 : 358-368
- Raymond SB, Skoch J, Hills ID, Evgueni E, Nesterov EE, Timothy M, Swager TM, Bacskai BJ (2008) Smart optical probes for near-infrared fluorescence imaging of Alzheimer's disease pathology. *Eur J Nucl Med Mol Imaging Supplement* 35 : 93-98
- Shoghi-Jadid K, Small GW, Agdeppa ED, Kepe V, Ercoli LM, Sidarth P, Read S, Satyamurthy N, 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
- The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and National Institute on Aging Working Group (1998) Consensus Report on : "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". *Neurobiol Aging* 19 : 109-116

Tau imaging

Yukitsuka Kudo¹⁾, Nobuyuki Okamura²⁾, Shozo Furumoto²⁾, Katsutoshi Furukawa³⁾,
Kazuhiko Yanai²⁾, Hiroyuki Arai³⁾

¹⁾Innovation of New Biomedical Engineering Center, Tohoku University,

²⁾Department of Pharmacology, Tohoku University School of Medicine,

³⁾Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University

Neurofibrillary tangles predominantly comprise hyperphosphorylated tau protein (tau) and represent a pathological hallmark of Alzheimer's disease. Tau imaging so far has been thought possible to diagnose the severity of dementia, but recently also believed to allow an accurate extraction of presymptomatic high-risk subjects. We discuss the current status of tau imaging probe and its clinical usefulness.

Address correspondence to Dr. Yukitsuka Kudo, Innovation of New Biomedical Engineering Center, Tohoku University (1-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai 980-8574, Japan)

総説

アルツハイマー病の病態とバイオマーカー開発

荒井 啓行¹⁾, 岡村 信行²⁾, 藁谷 正明¹⁾,
古川 勝敏³⁾, 谷内 一彦²⁾, 工藤 幸司⁴⁾

要約: アルツハイマー病 (AD) の根本治療薬の登場を目前にして, AD の診断と薬効評価パラダイムが, 従来の認知機能検査ベースからバイオマーカーベースへと大きくシフトしようとしている。また, 蓄積物質 (病理像) を画像化する新しい分子イメージング技術が日米両国で開発されている。このような考えに立って米国で 2005 年から発案・開始されたプロジェクトが, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) である。ADNI は米国, 欧州, オーストラリアと本邦の世界 4 極で同一プロトコルを用いて実施される長期観察研究である。ADNI 研究の目的は, ① AD, 軽度認知機能障害, 正常高齢者において, MRI や PET などの画像データの長期的変化に関する一定の基準値を作るための方法論を確立すること; ② 画像サロゲートマーカーの妥当性を証明するために臨床指標, 心理検査, 血液・脳脊髄液バイオマーカーを並行して収集すること; ③ AD 根本治療薬の治療効果を評価するための最良の方法を確立すること, の 3 点である。2008 年 7 月 Japanese-ADNI で患者登録が開始された。蓄積物質をイメージングすることは究極の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知れない。製薬企業による根本治療薬開発との連動が不可欠である。

はじめに

高齢者は一見健康に見えても種々の潜在的な臓器機能低下が潜んでいる。老年医療では, 臓器機能の決定的な破局を回避し, 病状の平穏な管理と生活の自立をサポートすることにまず目を向けなければならない。高齢者の自立を支える基盤となる生体機能は, 1) 食べること; 2) 判断すること; 3) 移動することの 3 点である。食べる機能の障害は嚥下性肺炎として, 移動することの失敗は転倒・骨折として, そして判断する能力の喪失が認知症としてどれも老年医療にとって最重要課題とされる。Alzheimer's Disease (以下 AD と略

称) は, 人生の収穫期とも言うべき晩年において人間らしく生きるための様々な生活機能を奪い取り, AD の発症は実社会との決別を意味し, 介護にあたる家族は自らの生活の質を犠牲にしながらその精神的・肉体的負担は計り知れない。外見は同じでありながら脳だけが変貌し人格が形骸化していく姿は恐しく, 惨めとしか言いようのないものである。また, AD は国民医療費を高騰させる大きな要因ともなっている。何とかして AD を制圧しなければならない思いは世界共通であろう。米国は AD 患者の急増とそれによる国家財政への圧迫を National Crisis とまで呼んで危機感を強めている (1)。本邦で現在 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, 認知症はごくありふれた疾患としてかかりつけ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 AD など認知症の病態の理解には著しい進歩が見られ, 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。その最も大きな流れが, 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, アミロイド前駆体タンパク質から切り出されたアミロイド断片は凝集の過程で毒性を獲得しその結果タウタンパク質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, アミロイド蓄積がコントロールされれば, AD そのものも制圧可能であろうと考えられている。70 歳から物忘れが目立つようになり 5 年ほどは日常生活が自立していたが, 75 歳時には問題行動が出現しアルツハイマー病との診断を受けた患者を想定すると, この患者では, アミロイドタンパク質の脳への蓄積 (老人斑の形成) が始まったのは 50 歳前後, タウタンパク質のリン酸化 (神経原線維変化の形成) とそれに伴う神経細胞死を生じ始めたのが 60 歳 - 65 歳と予想される。年齢には多少の前後はあるにしても, アルツハイマー病ではア

キーワード: アルツハイマー病, アミロイド, タウ, 分子イメージング, J-ADNI

¹⁾ 東北大学加齢医学研究所 脳科学研究部門 老年医学研究分野, ²⁾ 東北大学医学系研究科 機能薬理学分野,

³⁾ 東北大学病院老年科, ⁴⁾ 東北大学 未来医工学治療開発センター (〒980-8575 仙台市青葉区星陵町)

E-mail: harai@idac.tohoku.ac.jp 原稿受領日: 2009 年 9 月 17 日, 依頼原稿

Title: Pathobiology of Alzheimer's disease and biomarker development.

Author: Hiroyuki Arai, Nobuyuki Okamura, Masaaki Waragai, Katsutoshi Furukawa, Kazuhiko Yanai, Yukitsuka Kudo

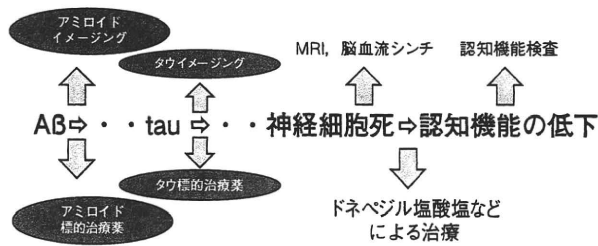


図1 アミロイド仮説に立った新規のアルツハイマー病診断・治療機軸

最も上流側にあるアミロイドをターゲットとした診断を可能にするバイオマーカーと注目されるのがアミロイドイメージングである。同様にタウイメージングが可能となれば、タウ標的治療も夢ではない。

ミロイドタンパク質の蓄積開始から臨床的に認知症初期症状が出現するまでにおよそ20年ものタイムラグがあり、その間自らの脳にどのような変化が起こっているか自覚されることはないが、この期間こそが発症前診断や予防対策を考える上で大変重要である。そこで、アミロイドやタウが蓄積した状態を簡便にしかも感度よく検出する方法論を開発することがどうしても必要になってくる。その1つがアミロイドイメージングと呼ばれる新しい分子イメージング技術である。

1. ADの診断・治療のパラダイムシフト(図1)

図1は上述のアミロイド仮説の上に診断・治療の枠組みを重ねてみたものである。今日に至るまでADの診断は「日常生活の自立性を失う程度にまで進んだ認知機能障害」を証明することが診断のすべてと言っても過言ではない。しかし、この認知機能障害の発症は予備能を上回るような広範な神経細胞死をベースにして生じていることや失われた神経細胞の再生は今日でも困難であることを考えると、認知機能評価にのみ依拠するような診断法は、20世紀の旧式パラダイムとしていつか葬り去られるべきものである。それに対して今日最も汎用されているのがMRIや脳血流シンチであり、これらは直接的あるいは間接的に神経細胞死のMassを反映すると考えられる。ドネペジル塩酸塩などの治療薬が処方されるのはこのタイミングであるが、当然のことながらエピソード記憶の障害も海馬や嗅内皮質神経細胞死に基づいている以上、回復は期待できない。そこで、神経細胞死のさらに上流にあるアミロイドやタウの蓄積に目を向けることは当然と言えよう。アミロイド蓄積を捕捉する方法論が開発されれば、アミロイドを標的とする分子治療が可能となることが期待でき、またタウ蓄積を捕捉する方法論が開発されれば、タウを標的とする分子治療が可能となろう。ADの診断・治療のパラダイムが大きく変わろうとしている。実際にこのパラダイムシフトをもたらす橋渡しの役割を担うのがバイオマーカーである。

2. バイオマーカーが必要とされる理由

バイオマーカーには多様な有用性が期待されている(2, 3)。

(1) 鑑別診断のサポート

レビー小体病や前頭側頭型認知症などアルツハイマー病に似て非なるものとの鑑別はしばしば問題となる。レビー小体病では、起立性低血圧(失神)や病初期からの幻視などアルツハイマー病にはあまりない特徴が見られ、前頭側頭型認知症では、行動の脱抑制や意味性記憶障害(言葉と物との対応関係を失うことで、これを家族は物忘れと訴えてくることもある)が目立つ。病理学上も前者は α -シヌクレインの沈着を主とし、後者はタウやユビキチンが蓄積する疾患で、アミロイド β の沈着を本質的な病理像とするアルツハイマー病とは区別されるべきである。

(2) 早期診断と近未来の発症前診断

アルツハイマー病が発症していても、物忘れだけで日常生活が自立している場合は、認知症という判断を留保せざるを得ない。しかし、アルツハイマー病では早期診断が重要であることが、最近ドネペジル塩酸塩の長期効果を検討した我々の研究からも明らかにされた(4)。この研究はドネペジル塩酸塩が市場化された2000年の前後を比較し、2年間にわたって認知機能が維持された患者では、ドネペジル塩酸塩を服用していることに加えて早期にドネペジル塩酸塩治療を開始したことが重要な要因であることが明らかにされた。早期診断と関連して、採取における侵襲性が低く安価なバイオマーカーが確立されれば、あるコミュニティや集団においてヘルスケアの一環として認知症の発症前診断のスクリーニングが可能になるかも知れない。国民は認知症を発症してからの自分ではなく、いかに認知症を予防し健康長寿を実現するかに本当の関心と願いがあるはずである。予防は各個人にとっての大きな課題であるのみならず、介護経費の削減など医療経済的効果も大きいとされている。

(3) 病気の重症度の評価

アルツハイマー病の重症度の評価や進み具合は神経心理検査とMRIによる脳萎縮の程度によって行なわれている。しかし、この神経心理検査は被検者のその日の体調や疲労度あるいは検者の経験の差によって結果のばらつきが生じやすいとされている。実際162名のADを用いたJackらの研究では、Mild to moderate ADにおいては、ADAS-Cogの経年変化は 4.25 ± 7.2 (Mean \pm SD) ポイントであった。それに対して、全くの同一集団を用いた海馬萎縮の経年変化は、 -234 ± 144 (Mean \pm SD) mmであった(5)。つまり、海馬萎縮の指標では、結果のバラツキを示すSDがMeanの0.6倍に留まるのに対して、ADAS-Cogを用いるとSDがMeanの1.7倍になってしまう。画像処理は機械が行なう画一的な作業であるため、画像バイオマーカーの方が集団としてのバラツキが小さいことを示す結

果であった。病変の推移をより客観的に鋭敏に反映するマーカーは僅かな effect size であっても検出可能となることが期待されている。炎症性疾患におけるC反応性タンパク質 (CRP)、肝臓疾患におけるトランスアミナーゼ、筋疾患におけるクレアチニンキナーゼ、肺線維症におけるKL-6等、実地臨床の現場において重症度の評価や治療効果の判定に汎用されている臨床検査指標と同じである。

(4) 治療効果の評価

治療効果を簡便に感度良く示すバイオマーカーの開発は今後のアルツハイマー病診療において不可欠であろう。γセクレターゼ阻害薬やアミロイドワクチン療法などアルツハイマー病根本治療薬の登場が近未来に迫っているからである。これらの治療薬の開発においては、「アミロイド除去効果」を客観的に判定するための方法論の確立が必要となる。例えば、ある新規治療によりアミロイド蓄積量が軽減された結果、そのバイオマーカー値が正常域に近づくということが期待されよう。さらに、治療の開始時期の決定および中止の是非、治療薬変更などを判断する上でもバイオマーカーは重要な情報をもたらす可能性がある。

3. 理想的なバイオマーカーとは

それでは優れたバイオマーカーとはどんなものであろうか？1998年米国のRegan Institute & National Institute on Aging 合同レビューには理想的なバイオマーカーの条件を以下のように記載している(3)。

- ①アルツハイマー病の病理像の本質的な側面を反映していること；
- ②アルツハイマー病の検出感度>80%、他の認知症との鑑別の特異度>80%；
- ③信頼性、再現性、非侵襲性、簡便性、低価格性を有する；
- ④少なくとも2カ所以上の信頼できる研究グループによって研究が遂行されその結果がPeer-reviewed journalに報告されていることが挙げられている。

しかし1つのバイオマーカーですべての目的を叶えられる可能性は高くはないと思われるので、いくつかのバイオマーカーの組み合わせ (Panel) を用意することが現実的かも知れない。

4. アミロイドイメージング用プローブの開発およびそれらの臨床応用

先に述べた理想的なバイオマーカーの持つべき条件を満たし現在最も有力な候補とみなされているのがアミロイドイメージングである。しかし、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凝集Aβに選択的に結合し、且つ血液-脳関門を容易に透過し、標的がなければ脳から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微妙な匙加減を見ながらの創薬であり、なかなか理想とするプロ

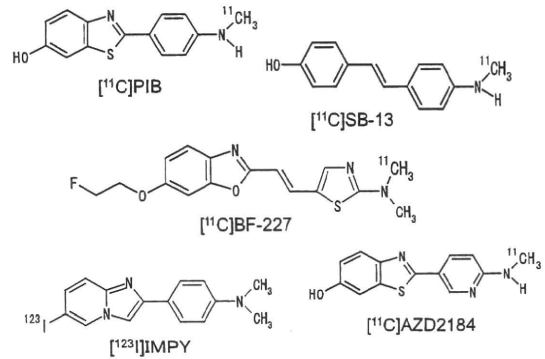


図2 世界で開発されたアミロイドイメージング用 $[^{11}\text{C}]$ プローブ (IMPYのみ $[^{123}\text{I}]$) の化学構造式

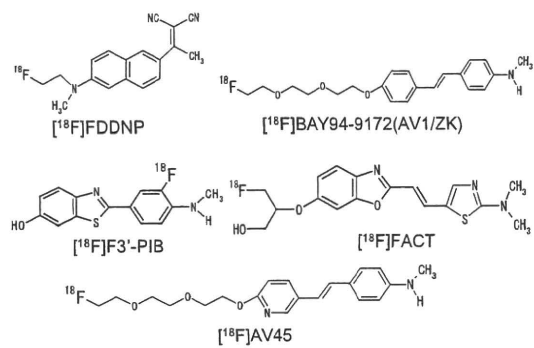


図3 世界で開発されたアミロイドイメージング用 $[^{18}\text{F}]$ プローブの化学構造式

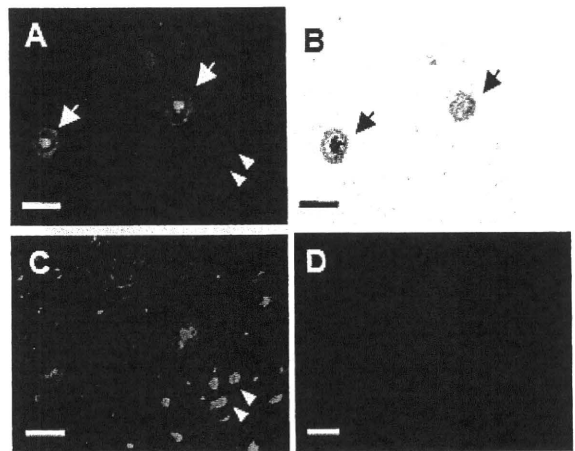


図4 東北大学で開発されたBF-227プローブを用いたアルツハイマー病剖検脳染色像
BF-227は比較的成熟した老人斑 (neurotic plaquesあるいはCored plaquesなどと呼ばれる)へ強く結合する特性を有するが(Aの矢頭と連続切片のBの矢の比較)、老人斑生成過程の初期段階とされ健常者にもしばしば見られるびまん性老人斑への結合は強くない。また、FDDNPに見られるような神経原線維変化とは結合しない(C)。Dは正常脳切片の染色。

ープへ到達することは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の $[^{18}\text{F}]$ FDDNP(6)、ピッツバーグ大学の $[^{11}\text{C}]$ PIB(7) および $[^{18}\text{F}]$ PIB、ペンシルベニア大学の $[^{11}\text{C}]$

SB-13, Avid 社の $[^{18}\text{F}]$ AV-45, 本邦においては著者ら東北大学チームの $[^{11}\text{C}]$ BF-227(8) と $[^{18}\text{F}]$ FACT がある。さらに, Bayer 社 ($[^{18}\text{F}]$ BAY94-9172 (AV1/ZK)) と AstraZeneca 社 ($[^{11}\text{C}]$ AZD2184) でもプローブ開発が進められている。SPECT 用のプローブとしては, $[^{123}\text{I}]$ IMPY がある (図 2, 3)。 $[^{11}\text{C}]$ PIB は現時点で最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 10 数施設でその評価が行われている。詳細は最近の Nordberg の総説を参照いただきたい(9)。 $[^{11}\text{C}]$ BF-227 は東北大学チームによって開発され, 2005 年 7 月から探索的臨床試験が開始された。図 4 のように, BF-227 は比較的成熟した老人斑 (neuritic plaques あるいは Cored plaques などと呼ばれる) へ強く結合する特性を有するが, 老人斑生成過程の初期段階とされ健常者にもしばしば見られるびまん性老人斑への結合は強くない。また, FDDNP に見られるような神経原線維変化とは結合しない。平成 21 年 7 月までにのべ 100 名の被験者を対象として撮像を行なったが, AD 患者での検討では, 投与直後は健常者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活性の集積が観察され, 健常者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用プローブとしてのポテンシャルを有することが示された(8)。

図 5 に示すように, $[^{11}\text{C}]$ BF-227-PET と MRI による Voxel-based morphometry (VBM-MRI) の AD 早期診断法としての有用性を比較検討した(10)。健常者 12 例, MCI 13 例 (AD 進展例: 6 例, 非進展例: 7 例) および AD 15 例を対象に $[^{11}\text{C}]$ BF-227-PET と VBM-MRI を施行した。AD および MCI の AD 進展例では, BF-227 の有意な集積と海馬傍回萎縮を認めた。さらに MCI の AD 進展例と非進展例の鑑別には $[^{11}\text{C}]$ BF-227-PET が VBM-MRI よりも有用であった。MMSE スコアは VBM-MRI による大脳灰白質萎縮の程度に有意な相関を認めたが, BF-227 集積程度とは有意な相関は認めなかった。以上から $[^{11}\text{C}]$ BF-227-PET は MCI から AD への進展予測に有用である一方, VBM-MRI は AD の重症度追跡に有用であると思われる。また, FDG-PET によるブドウ糖代謝は BF-227 のそれと負の相関を示したことから, 細胞外に蓄積したアミロイドは, シナプスを取り囲みシナプス機能を障害することが考えられた(11)。平成 21 年 7 月にウィーンで行われた ICAD 2009 において, Washington 大学の Mintun らは, 健常者 240 名を対象に PIB - PET を施行し, 全脳の SUVR 値 1.5 をカットオフに設定すると, 40 歳代での陽性率は 0%, 50 歳代になると数名が陽性所見を示すようになることを示した。この PIB 陽性率は 60 歳代以降ではさらに高まる。PIB 陽性を示した

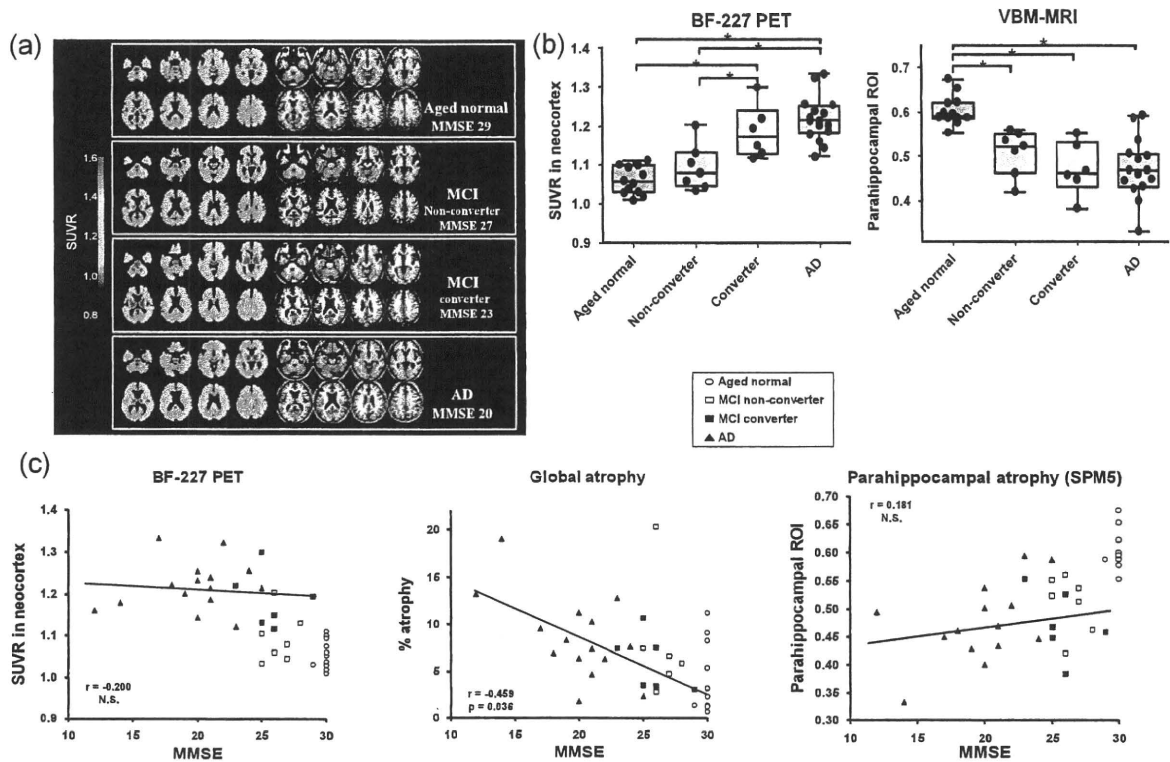


図5 BF-227アミロイドイメージと脳萎縮の関連

(a) : 正常高齢者, ADへ進行しなかったMCI, ADへと進行したMCIおよびADでの $[^{11}\text{C}]$ BF-227集積像を示す。(文献10より転載)。(b) : (a)における $[^{11}\text{C}]$ BF-227全脳集積の対小脳比の値をSUVR (Substrate Uptake Volume Ratio)で示す(左)。右は同じ被験者のMRIによるVoxel-based morphometryによる海馬傍回の容積を示す。(c) : Mini-Mental Examinationによって評価した認知機能とアミロイド蓄積(左), 全脳萎縮(中央), 海馬傍回の容積(右)の関連。正常では $[^{11}\text{C}]$ BF-227集積は一概に低いが, MCIからADに至る過程では一定で蓄積の増加は見られなかった。

被験者は、認知機能は正常でありながら ApoE4 遺伝子保有率が高く、かつ海馬容積が小さかった。アミロイドイメージングによって AD 発症の超早期が捉えられる可能性が出てきた。アミロイドイメージングの最大の利用価値は発症予備群を明らかにできることかもしれない。[¹¹C]ラベル体は半減期が 20 分と短く、サイクロトロンでのラジオアイソトープ合成が可能な施設でしか用いられない半面、[¹⁸F]ラベル体は半減期が 180 分と長く、そのため各サイトへのデリバリーシステムが可能である。将来は [¹⁸F]ラベル体を中心になって評価が進められると考えられる。

5. 今後の展望—Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (J-ADNI) に臨んで—

現在 AD の根本的分子標的治療の開発が米国企業を中心に飛躍的に進んでいる。今日市場化されている symptomatic treatment の臨床試験は概ね 6 カ月程度で終了できるものであったが、今後開発が予定されている AD の進行を遅らせるための Disease-modifying drugs の臨床試験では、十分な薬効を確認するには少なくとも 1 年あるいはそれ以上の試験期間が必要になると予想される。疾患の病理像を反映し、その進行を追えるようなサロゲートバイオマーカーを開発しておくことは、長期に及ぶ臨床試験では大きな意義を持つことが期待される。このような考えに立って米国で 2005 年から発案・開始された観察式臨床試験が、Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) である(12, 13)。ADNI は米国、欧州、オーストラリアと本邦の世界 4 極で同一プロトコルを用いて実施される非ランダム化長期観察研究である。日本の ADNI (J-ADNI) では、認知症医療に実績を持つ全国の 30 以上の施設の協力を得て、300 名の MCI を 3 年間、150 名の早期 AD を 2 年間、150 名の正常者を 3 年間追跡することが計画されている。研究の統括責任者は、東京大学の岩坪威教授である。研究の目的は、① AD, MCI, 正常高齢者において、MRI や PET などの画像データの長期的変化に関する一定の基準値を作るための方法論を確立すること；②画像サロゲートマーカーの妥当性を証明するために臨床指標、心理検査、血液・脳脊髄液バイオマーカーを並行して収集すること；③ AD 根本治療薬 (Disease-modifying drug) の治療効果を評価するための最良の方法を確立すること、の 3 点である。そのための観察項目として、① MCI から AD への Rate of Conversion；②全脳、海馬などの MRI measures の Rate of volume change；③血液・脳脊髄液バイオマーカーの Rate of change；④ FDG-PET におけるブドウ糖代謝の Rate of change を優先的に解析することになる(14-16)。また、J-ADNI では希望者にはアミロイド PET をベースラインから撮像することになっている(17)。J-ADNI によって遅れに遅れた本邦の認知症医療のインフラの整備がやっと手に届くところに来たことの意義は極めて大きい。一方で、

ADNI は平成の黒船 (外圧) だという意見もある。しかし、米国が試験効率やコスト削減の面からの熟慮と議論を重ねた結果「認知機能ベースからバイオマーカーベースへ」と大きくパラダイムシフトを図った以上、これを無視することは今後日本の医療にとって決して得策とは思えない。なぜなら、根本的治療薬の多くは米国の製薬メーカーの手によって開発が進んでいる一方で、今後の新薬臨床試験は国際共同試験 (Global Clinical Trial) の形をとって効率化を図ろうとしているからである。J-ADNI ではまず、杉下らによって認知機能検査日本語版の改訂がなされた。これは World Wide ADNI やその後の新薬国際共同試験において認知機能検査の相対的難易度の統一を図るためである。2008 年 7 月、国立精神神経センターにおいて最初の患者登録がなされた。2009 年 8 月の時点で約 200 名の患者が登録されている。その 80% の被験者から FDG-PET に、44% からアミロイド PET に、また 40% から脳脊髄液採取に同意を得ている。今後さらに登録者数の増加とこれらバイオマーカー採取の同意率の向上を目指し、J-ADNI および World Wide ADNI に実効的成果をもたらしたいと考えている(18)。

文 献

- 1) A National Alzheimer's Strategic Plan. The Report of the Alzheimer's Study Group. 2009.
- 2) Frank RA, et al. *Neurobiol Aging*. 2003;24:521-536.
- 3) The Ronald and Nancy Reagan Institute of the Alzheimer's association and the National Institute on Aging working group. *Neurobiol Aging*. 1998;19:109-116.
- 4) Tomita N, et al. *Geriatrics & Gerontology International*. 2007;7:41-47.
- 5) Jack CR Jr, et al. *Neurology*. 2004;62:591-600.
- 6) Shoghi-Jadid K, et al. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2002;10:24-35.
- 7) Klunk WE, et al. *Ann Neurol*. 2004;55:306-319.
- 8) Kudo Y, et al. *J Nucl Med*. 2007;48:553-561.
- 9) Nordberg A. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009;35 Suppl 1:S46-S50.
- 10) Waragai M, et al. *J Neurol Sci*. 2009;June 22:Epub.
- 11) Furukawa K. *J Neurol*. 2010;in press.
- 12) Mueller SG, et al. *Neuroimaging Clin N Am*. 2007;15:869-877.
- 13) Shaw LM, et al. *Nat Rev Drug Discov*. 2007;6:295-303.
- 14) <http://www.adni-info.org/>
- 15) <http://www.alz.washington.edu/NONMEMBER/SPR05/walter.pdf>
- 16) <http://www.loni.ucla.edu/ADNI/>
- 17) <http://www.j-adni.org/>
- 18) http://app3.infoc.nedo.go.jp/informations/koubo/press/EK/nedopr_essplace.2009-01-21.8698110208/nedopr.2009-04-17.3480285888/

著者プロフィール

荒井 啓行 (あらい ひろゆき)

東北大学加齢医学研究所 加齢老年医学研究分野、教授、医学博士。

◇ 1980 年東北大学医学部卒業。◇ 研究テーマ：老年医学、アルツハイマー病、脳血管障害、漢方生薬。◇ 趣味：スポーツ、ウォーキング、歴史散策。◇ 著書：アルツハイマー病にならない (朝日選書、井原康夫共著)。



