

islet transplantation
XXIII International Congress Of
The Transplantation Society,
Vancouver (Canada)、2010, Aug 15-19

(4) 後藤昌史、山形洋平、渡邊君子、村山和隆、猪村武弘、稲垣明子、山谷英之、小川則彦、藤盛啓成、黒川良望、里見 進
現状における臨床グレードの膵島分離用酵素剤の検証
第46回日本移植学会、京都、
2010, Oct 20-22

(5) 後藤昌史、山形洋平、渡邊君子、村山和隆、猪村武弘、稲垣明子、山谷英之、小川則彦、藤盛啓成、黒川良望、里見 進
安全で高性能な新規膵島分離用酵素剤の開発
第46回日本移植学会、京都、
2010, Oct 20-22

(6) 山谷英之、後藤昌史、Feng Qiang、猪村武弘、末田輝子、里見 進
イソフルランが膵島移植におけるグラフト生着へ及ぼす影響に関する検討
第46回日本移植学会、京都、
2010, Oct 20-22

(7) 後藤昌史、山形洋平、渡邊君子、

村山和隆、猪村武弘、稲垣明子、山谷英之、黒川良望、里見 進
膵島分離におけるTLA活性の意義に関する検討

第37回日本臓器保存生物医学会定期学術集会、新潟、2010, Nov 19-20

(8) 猪村武弘、後藤昌史、藤井和博、大和田哲男、黒川良望、里見 進
過冷却状態が膵組織保存へ及ぼす影響に関する検討

第37回日本臓器保存生物医学会定期学術集会、新潟、2010, Nov 19-20

(9) Feng Zhaoqiang, Masafumi Goto, Takehiro Imura, Akiko Inagaki, Hideyuki Yamaya, Yoshimochi Kurokawa, Junji Yodoi, Susumu Satomi

Impact of ischemic stress on the quality of isolated islets
第37回日本臓器保存生物医学会定期学術集会、新潟、2010, Nov 19-20

(10) 後藤昌史
膵島移植の現状と今後の展望
第13回近畿膵移植検討会(招待講演)、新潟、2010, Nov 19-20

(11) 稲垣明子、後藤昌史、大橋一夫、里見 進
膵島を含有するシート作製方法の検

討

第 10 回日本再生医療学会、東京、
2011, March 1-2

(12) 後藤昌史、坂田直昭、山谷
英之、元井冬彦、山口 賢、猪村武
弘、稲垣明子、伊藤経夫、林 洋毅、
石垣 泰、片桐秀樹、長谷川 豊、
澤田正二郎、廣田衛久、下瀬川 徹、
関口 悟、藤盛啓成、江川新一、海
野倫明、里見 進
膵動静脈奇形に起因する急性腹膜炎
に対しグラフト保護プロトコールの
導入により良好な結果を得た自家膵
島移植症例の報告

第 38 回膵膵島移植研究会、奈良、
2011, March 4-5

(13) Feng Zhaoqiang, Masafumi
Goto, Takehiro Imura, Akiko
Inagaki, Hideyuki Yamaya,
Yoshimochi Kurokawa, Satoshi
Sekiguchi, Keisei Fujimori, Junji
Yodoi, Susumu Satomi
A Study on the Influence and
Control of Ischemic Stress during
Pancreas Preservation on Isolated
Islets

第 38 回膵膵島移植研究会、奈良、
2011, March 4-5

(14) 山谷英之、後藤昌史、Feng

Qiang、猪村武弘、末田輝子、小林英
司、関口 悟、藤盛啓成、里見 進
イソフルランが膵島移植に及ぼす影
響

第 38 回膵膵島移植研究会、奈良、
2011, March 4-5

(15) 阿佐美健吾、後藤昌史、猪
村武弘、稲垣明子、関口 悟、藤盛
啓成、淀井淳司、里見 進
Thioredoxin-1 による移植後早期膵
島障害の抑制

第 38 回膵膵島移植研究会、奈良、
2011, March 4-5

(16) 神保琢也、後藤昌史、猪村
武弘、関口 悟、藤盛啓成、里見 進
インスリン及び中心静脈栄養による
resting が膵島移植後のグラフト生
着へ及ぼす影響

第 38 回膵膵島移植研究会、奈良、
2011, March 4-5

(17) 坂田直昭、小玉哲也、陳 鋭、
吉松軍平、後藤昌史、江川新一、海
野倫明

超音波検査による移植膵島の機能評
価

第 38 回膵膵島移植研究会、奈良、
2011, March 4-5

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

1 件国際特許出願済み

体組織分析用プローブ及びその利用法

特許出願番号 特願 2011-58080

出 願 日 2011- 0316

発 明 者 後藤昌史、山形洋平、渡
邊君子

出 願 者 国立大学法人東北大学

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（医療機器開発推進研究事業）

平成 22 年度 分担研究報告書

脳アミロイドおよびタウイメージングプローブの開発と若手研究者の教育

研究分担者 工藤幸司 東北大学未来医工学治療開発センター・教授

研究要旨：2010年7月、アメリカのNIAおよびAlzheimer's Associationからアルツハイマー病（AD）特有の臨床症状が見られなくとも病理像が検出されたら preclinical ADとして病気に組み入れるとの提案がなされた。Preclinical AD患者数は日本では600万人から1500万人と見積もられているが、これだけの膨大な受診者を診断できる方法としての光イメージングを可能とする近赤外線蛍光プローブを研究分担者らは開発中である。同プローブのプロトタイプ THK-265 は AD 患者脳切片において A β に結合し、インビボにおいて A β 脳内蓄積 Tg マウス脳に選択的に取り込まれることが確かめられた。また、脳内過剰リン酸化タウ蛋白を追跡しアルツハイマー病を診断する、いわゆるタウイメージング用 PET プローブを開発することを目的に基礎試験を実施した。プロトタイププローブ [^{18}F]THK-523 を用いたオートラジオグラフィ、Tg マウスのインビボ タウイメージングにおいてタウ特異的選択的な特性が確かめられた。若手研究者の教育に関しては、医学部5年生に対する第3次修練において「アルツハイマー病の発症前診断」として「アルツハイマー病研究および最新の同病診断法の現状」につき隔週で2時間の講義を実施した。

A. 研究目的

実学的医工学教育・研究拠点育成における研究分担者 工藤幸司の分担研究項目は「脳アミロイドおよびタウイメージングプローブの開発と若手研究者の教育」である。当分担項目は2003-2007年度に実施された科学技術振興調整費科学技術拠点育成「先進医工学研究機構（TUBERO）」における1研究テーマ「イメージング用プローブの開発」を継承している。

AD においては患者を取り巻く家族または臨床家が、特有の臨床症状に気づいた時を遡ること10年以上前から、同病特徴的なアミロイド β 蛋白（A β ）および過剰リン酸化タウ蛋白（タウ）の脳内蓄積が始まって

いることが知られている。ADはこれら病理像とは関係なく、臨床症状がみられてこそ AD という概念で捉えられてきたと思われるが、2010年7月、ハワイで開催された国際アルツハイマー病学会（International Conference on Alzheimer's Disease 2010）においてアメリカの認知症研究支援および広報機関として有名な National Institute on Aging（NIA）および Alzheimer's Association によってこれまでの概念を覆す AD の診断基準が提案された。

その内容を紹介すると、彼らの提案はまず AD を preclinical AD、MCI due to AD、および AD dementia の3つの時期に分け¹⁻³⁾、そのなかでも特に preclinical AD¹⁾ に

については「あらゆるバイオマーカーデータ、例えば PET によるアミロイドイメージング、脳脊髄液中のタウおよび A β 、^[18F]FDG-PET、fMRI、volumetric MRI などを駆使して、AD 特有の臨床症状がみられなくとも病理像を検出することができたら病気 (preclinical AD) に組み入れるという驚くべき内容であった。

臨床症状のまったく見られない preclinical AD を拾い上げるためには現時点では脳内 A β に親和性を示すポジロン標識プローブの集積を PET で画像化する方法、いわゆるアミロイドイメージングが最も適していると考えられている。アミロイドイメージングでは健常高齢者における AD 偽陽性者の割合が 20-50%であることが知られていたが、まさにこの健常高齢者における偽陽性者が preclinical AD 患者とほぼイコールであると想定されている。

それではどれほどの患者数が存在するかというと、高齢者を 65 歳以上とすると、わが国および先進国ではそれぞれ現時点で約 3,000 万人および約 2 億人の 65 歳以上人口が存在し、またこれをもとに算出される preclinical AD 患者数はわが国および先進国ではそれぞれ現時点で約 590 ~ 1,470 万人および約 3,900 ~ 9,770 万人と推測され、今後これらの患者数はますます増加することは確実である。

両機関が preclinical AD という概念を導入することに至った経緯は以下のように推察されている。

2008年6月以降、セクレターゼ阻害薬類、ワクチン、抗体をはじめとするいわゆる根本治療薬の治験成績が次々と公表された。多くの研究者、臨床家はこれらの介入によって少なくとも臨床症状の進行はストップする、と予測していたものと思われるが、それらの結果は我々の期待を大きく裏切るものであった。その中でも特に落胆させられたのは A β ワクチンによって脳内 A β がクリアされた患者においても、認知症の進行は食い止めることができなかつたという報告であった。これらの成績をどのように解釈するかであるが、まずこれらの薬物は AD の治療薬とはなりえないとする立場

をとるのが普通と考えられるが、一方では A β の蓄積が始まる極めて早期にこれらの薬物を処方したならば AD の一連の病理像の連鎖をスタート時点(=A β 蓄積スタート時点)付近で断つことができ、その後の AD 発症を抑制できる可能性があるとして推測することもできる。NIA と Alzheimer's Association は後者の立場に立ったのであろう。

両機関の提案は広く意見を聴取して再度改訂版が発表されるとのことであったが、2011年4月、最初の提案とほぼ同様な内容を持つそれらが改めて公表された⁴⁾。

preclinical AD という概念が導入されたなら、前述した高齢者達、すなわち日本において最大 3000 万人、先進国において最大 2 億人が preclinical AD であるか否かの診断を受ける時代となろう (実際に診断を受ける人口はこれらの数値の 2 から 3 割と想定されるが)。

さて、現時点で preclinical AD 患者を拾い上げる最も適切な方法は PET を用いたアミロイドイメージングであることは前述したが、この診断法でこれだけの膨大な受信者数をさばけないことは明らかである。

そこで申請者らは簡便、廉価、短時間で診断を可能とする光イメージング用プローブ (実際は A β またはタウに親和性をもつ近赤外線蛍光プローブ) の開発に取り組み一定の成果を得たので報告する。

また、AD 診断でいまだ達成されていないものに、A β 以外の代表的病理像であるタウを追跡するタウイメージングがある。タウイメージングとアミロイドイメージングとを比較すると、両イメージングはともに発症前診断を可能とするが、前者は後者では不可能であった重症度 (進行度) 診断を可能とし、また真の発症前高リスク者を正確に抽出することを可能にすると著者らは考えている。その理由としては、タウ蓄積量と健常高齢者、MCI または AD 発症との間には、アミロイドイメージングでは認められなかつたある程度の相関がみられるのではないかと推測している。すなわち「アミロイド(ないしは A β) には閾値はないがタウには閾値がある」が申請者らの提唱である。

申請者らは 1990 年代後半からタウイメージング用 PET プローブの開発に励んできたが、最近ようやくヒトに応用できるレベルのそれらに辿りつくことができたと考えており、それらの成果の一部を報告する。

一方、研究分担者個人の若手研究者の教育に関しては、医学部 5 年生に対する第 3 次修練において「AD の発症前診断」として「AD 研究および最新の同病診断法の現状」につき隔週で 2 時間の講義を行っているが、報告書の最後にその内容につき概説した。

B. 研究方法

1. 近赤外線蛍光プローブの開発

これまでに約 1100 化合物をスクリーニングした。本報告書ではその中から専門誌に投稿し受理・掲載された 1 化合物 (THK-265)⁵⁾ につき報告する

AD 患者脳切片における化合物の染色は、切片を脱パラフィン後、50%エチルアルコールに溶解した THK-265 で 10 分間染色し、蛍光顕微鏡で観察し長波長撮影用デジタルカメラ (Cool SNAP ES、ROPER SCIENTIFIC) で撮影した。

A β が脳内に蓄積する Tg マウスに THK-265 を静脈内投与し、小動物用蛍光イメージング装置 (IVIS-100、XENOVEN 社) で観察した。

2. タウに結合する PET プローブの開発

これまでに約 4300 化合物をスクリーニングした。本報告書ではその中から専門誌に投稿し受理・掲載された 1 化合物 ([¹⁸F]THK-523)⁶⁾ につき報告する

オートラジオグラフィは、[¹⁸F]THK523 を AD 患者脳切片に滴下したのち、VAS500 (富士フィルム) を用いて解析した。

タウが脳内に蓄積するタウ Tg マウスに [¹⁸F]THK-523 を静脈内投与し、小動物用 PET を用いて画像を撮影した。

(倫理面への配慮)

AD 患者脳標本を使用する場合、ヘルシンキ宣言を基準として倫理面に配慮し、東北大学医学部倫理委員会の承認を得た上で使用する。新規標識プローブを用いた探索的 PET 臨床研究では「東北大学における新規 PET 薬剤の臨床開発の指針」に従って、東北大学放射性薬剤品質管理委員会、同放射性核種を用いる臨床研究委員会、同医学部倫理委員会の承認を得るとともに東北大学利益相反マネジメント委員会の承認を得た上で実施する。

また臨床研究においてはヘルシンキ宣言を基準として倫理面に十分配慮し、研究の目的、ご協力いただきたい内容、PET 検査の概要、予想される危険性・副作用、健康被害が生じた場合の補償、プライバシー (秘密) の保護、検査内容・結果の説明、研究結果の公表、利害関係 (利益相反)、問い合わせ・苦情の窓口等について患者様および家族に十分なる説明を行うとともに「患者様とご家族へのご協力の同意文書」、または「被験者の方への協力の同意文書」に同意・署名 (インフォームド・コンセント) をいただいた上で実施する。

動物実験においては、東北大学における動物実験に関する指針 (S63.3.24) に従い、十分なる愛護精神をもってできるだけ動物に苦痛を与えぬように配慮する。放射性同位元素を取り扱う試験においては東北大学放射線障害予防規定 (H14.6.18) を遵守し、被曝および汚染の防護に努める。

C. 研究結果

1. 近赤外線蛍光プローブの開発

AD 患者脳切片における THK-265 染色の結果、THK-265 は A β に結合していることが、隣接切片の抗 A β 抗体の免疫染色により確かめられた (図 1)。

脳内に A β が蓄積する (A β PP) Tg マウスに静脈内投与された THK-265 の蛍光強度は、投与 3 分後ですでにワイルドタイプ (Wt) マウスにおけるそれよりも明らかに強かった (図 2、3)。

2. タウに結合する PET プローブの開発

AD 患者脳切片におけるオートラジオグラフィにおける $[^{18}\text{F}]\text{THK523}$ の集積像は、近接切片の抗タウおよび $\text{A}\beta$ 抗体の免疫染色から、タウ特異的・選択的な親和性を有することが確かめられた (図 4)。

またタウが脳内に蓄積するタウ Tg マウスに $[^{18}\text{F}]\text{THK523}$ を静脈内投与し、小動物用 PET を用いて試験では、 $[^{18}\text{F}]\text{THK523}$ はワイルドタイプマウス脳に比し、より選択的にタウ Tg マウス脳に集積することが確認された (図 5)。

D. 考察

AD を生体を透過する光と $\text{A}\beta$ またはタウに結合する近赤外線蛍光プローブによって診断しようとする試み (研究) は、世界的に見ても、まだ端緒についたばかりである。その戦略は

1. AD の病理学的主徴、 $\text{A}\beta$ またはタウは β シート構造をとっている。
2. 同シート構造をとった $\text{A}\beta$ またはタウに特異的選択的に結合し、かつ容易に血液-脳関門を通過するとともに、生体を透過する領域の光を照射することにより同領域の蛍光を発する低分子有機化合物を見いだす。
3. これをプローブとして生体に静脈内投与する。
5. プローブは血液-脳関門を越えて脳内の $\text{A}\beta$ またはタウに結合する。一定時間後には非結合プローブは洗い流され、 $\text{A}\beta$ またはタウに結合したプローブのみが脳内に残る
6. 頭皮上から、生体を透過する領域の光を照射することにより誘発される同領域の蛍光 (蛍光プローブと $\text{A}\beta$ またはタウの結合体) を蛍光イメージング画像として取り込み、脳内 $\text{A}\beta$ またはタウの蓄積量の定量およびその空間的分布から AD を診断する。

今回用いた Tg マウスは月齢依存的に脳内 $\text{A}\beta$ の蓄積が増加することが知られているが、THK-265 の蛍光強度も月齢依

存的であり、また投与 3 分後にはすでにワイルドタイプマウスとの間に明らかな蛍光強度に差がみられた。光技術を用いたアミロイドイメージングはベッドサイド、外来、集団検診、人間ドッグなどにおいて、放射線を用いずに、簡便、廉価、短時間でデータを得ることができる。将来のアミロイドイメージング (特に preclinical AD 患者のスクリーニング) にはこのようなストラテジーが最適と考えている。

タウイメージングプローブ開発のノウハウは世界的に見ても研究分担者らのみが有している。今後さらなる化合物の最適化を実施し、数年以内に日本初、世界初の AD タウイメージングプローブを開発したいと考えている。タウイメージングは必ずや preclinical AD から始まる一連の診断基準の 1 つに組み入れられるものと予想している。

E. 結論

光イメージング用プローブおよびタウイメージング用 PET プローブ開発を目的に基礎試験を実施し、いくつかの成果を得た。

なお、若手研究者の教育に関しては、医学部 5 年生に対する第 3 次修練において「AD の発症前診断」として「AD 研究および最新の同病診断法の現状」につき隔週で 2 時間の講義を実施した。

[参考文献]

1. http://www.alz.org/research/diagnostic_criteria/preclinical_recommendations.pdf
2. http://www.alz.org/research/diagnostic_criteria/mci_reccomendations.pdf
3. http://www.alz.org/research/diagnostic_criteria/dementia_recommendations.pdf
4. <http://www.alzheimersanddementia.org/content/ncg>
5. Okamura N, Mori M, Furumoto S, Yoshikawa T, Harada R, Ito S, Fujikawa Y, Arai H, Yanai K, Kudo Y : In vivo De-

tection of Amyloid Plaques in the Mouse Brain using the Near-Infrared Fluorescence Probe THK-265. *Journal of Alzheimer's Disease* 23 : 37-48, 2011.

6. Fodero-Tavoletti MT, Okamura N, Furumoto S, Mulligan RS, Connor AR, McLean CA, Cao D, Rigopoulos A, Cartwright GA, O'Keefe G, Gong S, Adlard PA, Barnham KJ, Rowe CC, Masters CL, Kudo Y, Cappai R, Yanai K, Villemagne VL.: 18F-THK523: a novel in vivo tau imaging ligand for Alzheimer's disease. *Brain*. 134:1089-100.2011

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Okamura N, Shiga Y, Furumoto S, Tashiro M, Tsuboi Y, Furukawa K, Yanai K, Iwata R, Arai H, Kudo Y, Itoyama Y, Doh-ura K. : In vivo detection of prion amyloid plaques using [11C]BF-227 PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 37 : 934-941, 2010.
- 2) Arai H, Okamura N, Furukawa K, Kudo Y : Geriatric medicine, Japanese Alzheimer's disease Neuroimaging initiative and biomarker development. *Tohoku J Exp Med* 221 : 87-95, 2010.
- 3) Shao H, Okamura N, Sugi K, Furumoto S, Furukawa K, Tashiro M, Iwata R, Matusda H, Kudo Y, Arai H, Fukuda H, Yanai K : Voxel-based analysis of amyloid positron emission tomography probe [11C]BF-227 uptake in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease.

Dementia and Geriatric Cognitive Disorders 30 : 101-111, 2010.

- 4) Kikuchi A, Takeda A, Okamura N, Tashiro M, Hasegawa T, Furumoto S, Kobayashi M, Sugeno N, Baba T, Miki Y, Mori F, Wakabayashi K, Funaki Y, Fukuda H, Arai H, Kudo Y, Yanai K, Itoyama Y. : In vivo visualization of α -synuclein deposition by [11C]-BF-227 PET in multiple system atrophy. *Brain* 133 : 1772-1778, 2010.
- 5) Furukawa K, Okamura N, Tashiro M, Waragai M, Furumoto S, Iwata R, Yanai K, Kudo Y, Arai H. : Amyloid PET in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease with BF-227: Comparison to FDG-PET. *J Neurol* 257 : 721-727, 2010.
- 6) Okamura N, Mori M, Furumoto S, Yoshikawa T, Harada R, Ito S, Fujikawa Y, Arai H, Yanai K, Kudo Y : In vivo Detection of Amyloid Plaques in the Mouse Brain using the Near-Infrared Fluorescence Probe THK-265. *Journal of Alzheimer's Disease* 23 : 37-48, 2011.
- 7) Arai H, Okamura N, Furukawa K, Kudo Y. : Geriatric medicine, Japanese Alzheimer's disease neuroimaging initiative and biomarker development. *Tohoku J Exp Med*. 221: 87-95, 2010.
- 8) Fodero-Tavoletti MT, Okamura N, Furumoto S, Mulligan RS, Connor AR, McLean CA, Cao D, Rigopoulos A, Cartwright GA, O'Keefe G, Gong S, Adlard PA, Barnham KJ, Rowe CC, Masters CL, Kudo Y, Cappai R, Yanai K, Villemagne VL.: 18F-THK523: a novel in vivo tau imaging ligand for Alzheimer's disease. *Brain*. 134:1089-100.2011
- 9) 荒井啓行、岡村信行、藁谷正明、古川勝敏、谷内一彦、工藤幸司：アルツハ

イマー病の病態とバイオマーカー開発.
日薬理誌 135 : 3-7, 2010.

- 10) 工藤幸司、岡村信行、古本祥三、古川勝敏、谷内一彦、荒井啓行 : タウ イメージング. *Dementia Japan* 24 : 146-154, 2010.
 - 11) 工藤 幸司 : アルツハイマー病脳のアミロイド蓄積の生体画像化研究. 老年期認知症研究会誌 17:85~87, 2010.
 - 12) 岡村信行、古本祥三、杉健太郎、邵和、谷内一彦、田代学、岩田錬、荒井啓行、古川勝敏、工藤幸司 : アミロイドイメージングプローブ[18F]FACTのアルツハイマー病早期診断における有用性の検討. 東北脳循環カンファレンス 16 : 13-15, 2010
 - 13) 岡村信行、古本祥三、谷内一彦、工藤幸司 : 新しいPET製剤の開発—アミロイド・タウイメージングプローブ開発の現状—. *INNERVISION* (医療と画像の総合情報誌) 6-1 : 50-53, 2010
 - 14) 荒井啓行、工藤幸司、古川勝敏、富田尚希 : MCI の概念と preclinical AD の提唱. *Cognition and Dementia* 10 : 8-12, 2011
 - 15) 工藤幸司 : アミロイドイメージング—脳や全身のアミロイドを検出する. アミロイド—シス診療のすべて. 第1版 第1号、p 149~156, 2011.
2. 学会発表
(国内学会)
- 1) 菊池昭夫、岡村信行、工藤幸司、他 17 名 : 多系統委縮症における脳内 α -シヌクレイン蛋白凝集体のPETによる画像化. 第51回日本神経学会総会. 東京国際フォーラム. 2010年5月20日-22日.
 - 2) Okamura N, Mori M, Furumoto S, Yanai K, Kudo Y. : Noninvasive detection of amyloid deposits using near-infrared fluorescence probe X50 in mice. 2010 World Molecular Imaging Congress. Kyoto. September 8-11, 2010,
 - 3) 岡村信行、古川勝敏、富田尚希、藁谷正明、古本祥三、田代学、岩田錬、工藤幸司、荒井啓行、谷内一彦 : 18F 標識アミロイドイメージング用 PET プローブ FACT の臨床評価. 第29回日本認知症学会学術集会 (病態を踏まえ、予防へ、治療へ). ウイングあいち (愛知県産業労働センター). 2010年11月5日(金)~7日(日)
 - 4) 古川勝敏、岡村信行、富田尚希、田代学、工藤幸司、谷内一彦、荒井啓行 : BF-227 を用いたアミロイドPET と Biofluid バイオマーカー. 第29回日本認知症学会学術集会 (病態を踏まえ、予防へ、治療へ). ウイングあいち (愛知県産業労働センター). 2010年11月5日(金)~7日(日)
 - 5) 工藤幸司 : 特異的プローブによるタウおよびA β 蓄積メカニズムの解明. キックオフシンポジウム2010 (分子イメージング研究戦略推進プログラム (J-AMP)). 東京 オリンピック記念青少年総合センター カルチャー棟大ホール. 2010年11月24日
 - 6) 古本祥三、岡村信行、石川洋一、岩田錬、谷内一彦、工藤幸司 : M. Foderò-Tavoletti, V. Villemagne. フッ素 18 標識タウ画像化プローブの開発. 第50回日本核医学会学術総会. さいたま市. 2010年11月11~13日
 - 7) 岡村信行、菊池昭夫、武田篤、古本祥三、田代学、船木善仁、工藤幸司、岩田錬、谷内一彦 : α シヌクレイノパチーにおける[11C]BF-227PET 画像所見. 第50回日本核医学会学術総会. 大宮. 2010年11月12日
 - 8) 岡村信行、古川勝敏、藁谷正明、富田尚希、田代学、工藤幸司、荒井啓行、谷内一彦 : 軽度認知障害の進行予後予測のための画像バイオマーカーの比較検討. 第31回日本臨床薬理学会年会. 京都. 2010年12月1日
- (国際学会)

- 1) Okamura N, Furumoto S, Furukawa K, Arai H, Yanai K, Kudo Y. : Binding and pharmacokinetic properties of novel 18F-labeled agents for in vivo imaging of tau pathology in Alzheimer's disease. International Conference on Alzheimer's Disease 2010. ハワイコンベンションセンター. 2010年7月10日～15日.
 - 2) Fodero-Tavoletti MT, Okamura N, Mulligan R, Furumoto S, Connor AR, Kudo Y, Cao DX, Rigopoulos A, O'Keefe G, Gong S, Adlard PA, Masters CL, Cappai R, Yanai K, Villemagne VL. : Characterisation of [18F]-THK523, a novel in vivo tau imaging ligand. International Conference on Alzheimer's Disease 2010. ハワイコンベンションセンター. 2010年7月10日～15日.
 - 3) Furukawa K, Okamura N, Tashiro M, Waragai M, Yanai K, Kudo Y, Arai H. PET with beta-amyloid tracer, 11C-BF-227 in MCI and Alzheimer's disease: Comparison to biofluid biomarkers. International Conference on Alzheimer's Disease 2010. ハワイコンベンションセンター. 2010年7月10日～15日.
 - 4) Waragai M, Okamura N, Furukawa K, Shao H, Tashiro M, Furumoto S, Sugi K, Yanai K, Kudo Y, Arai H. Amyloid PET in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease with [11C]BF-227: comparison to voxel-based morphometric MRI. International Conference on Alzheimer's Disease 2010. ハワイコンベンションセンター. 2010年7月10日～15日.
 - 5) Shao H, Okamura N, Furumoto S, Furukawa K, Waragai M, Arai H, Kudo Y, Ynamai K. PET amyloid Imaging in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease using novel amyloid ligand [18F]FACT-the hydroxylated BF-227 derivative. International Conference on Alzheimer's Disease 2010. ハワイコンベンションセンター. 2010年7月10日～15日.
- G. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

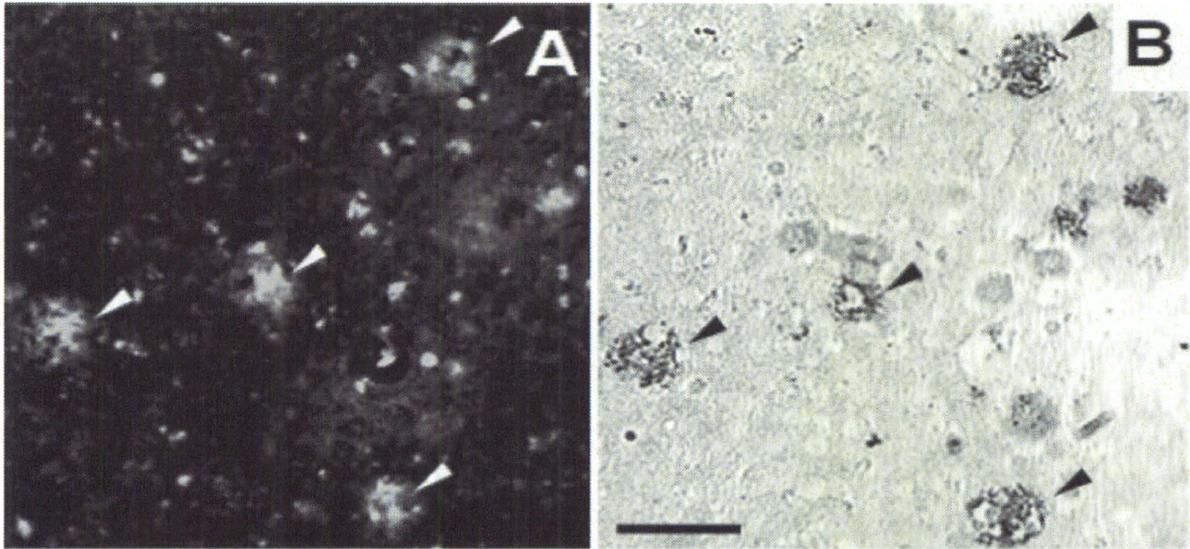


図1.アルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-265の染色像 (A:左) と隣接切片における抗A β 抗体免疫染色像 (B:右)
アローヘッドはA β を示す

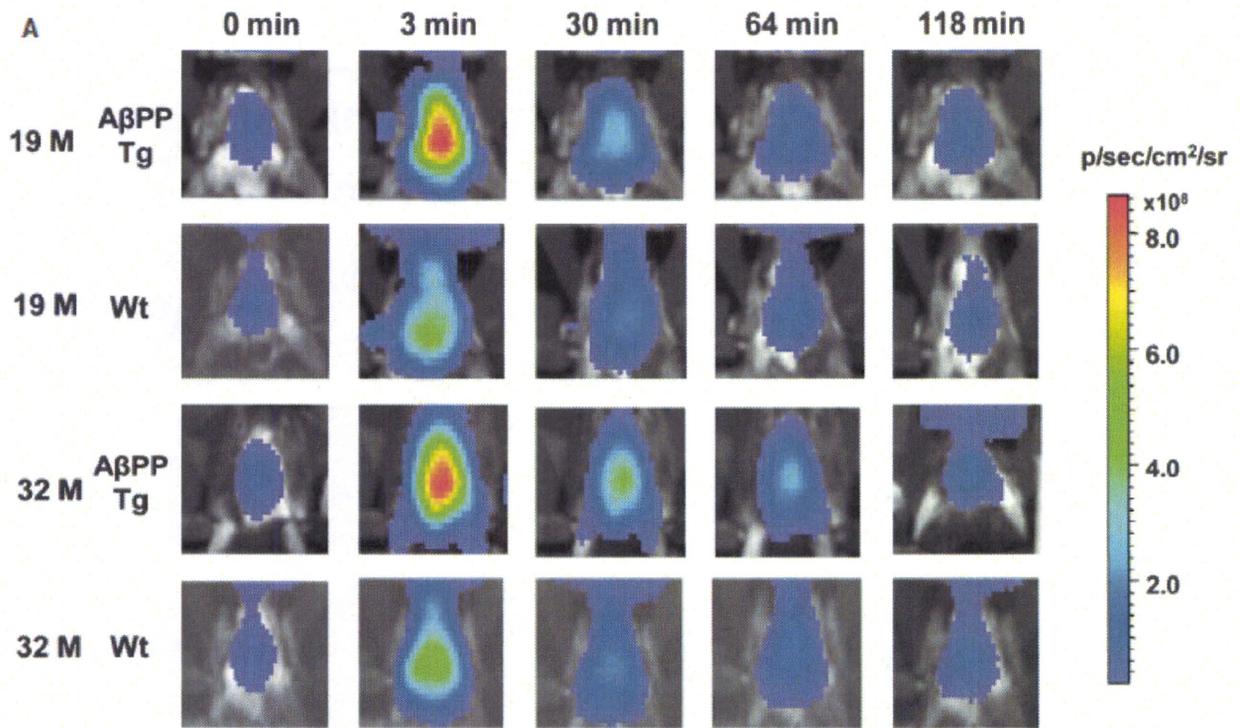


図2.脳内にA β が蓄積するTgマウスにTHK-265を静脈内投与し、少動物用蛍光イメージング装置 (IVIS-100) でマウス頭部皮膚表面を撮影した画像。

このA β PP Tgマウスでは月齢依存的にA β の蓄積量が増加することが知られているが、THK-265の蛍光強度も月齢依存的であり、また投与3分後にはすでにワイルドタイプ (Wt) マウスとの間に明らかな蛍光強度に差がみられた。

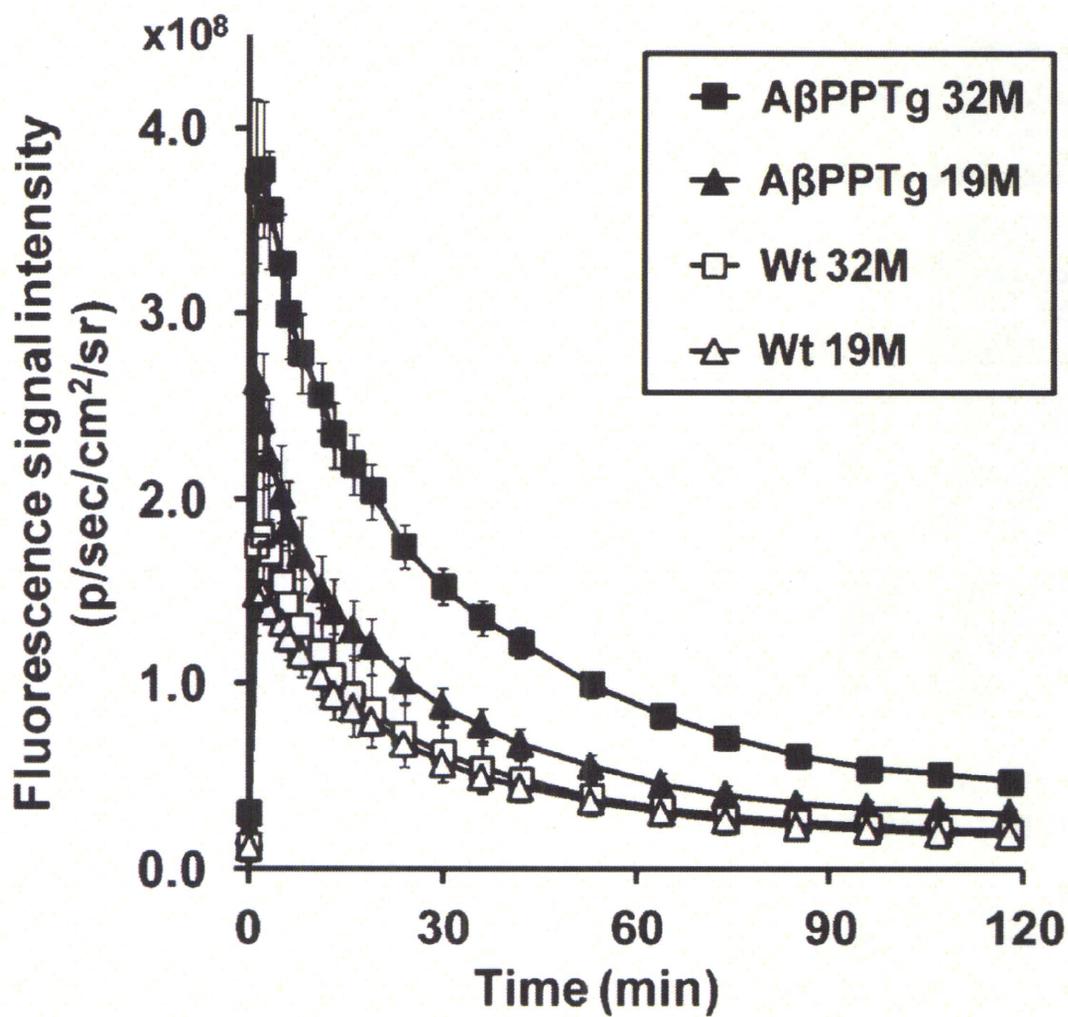


図3. 図2のタイムコース

説明文は図2参照 (脳内AβのTgマウスにおける月齢依存性、THK-265投与3分後にTgおよびWtマウス間ですでに明らかな差がみられることに注目)

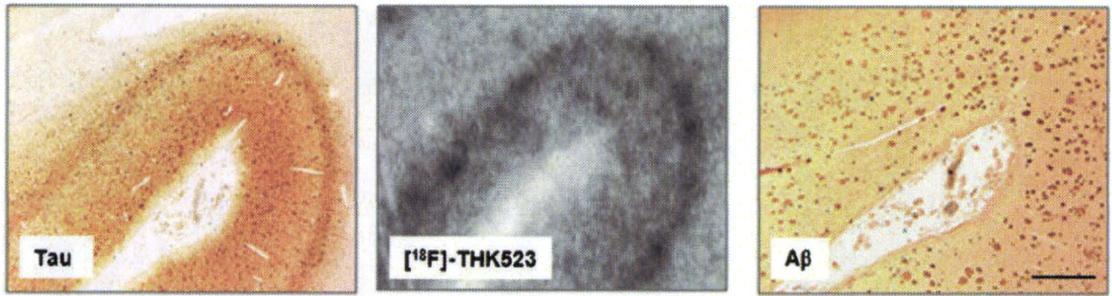


図 4.アルツハイマー病患者脳切片における $[^{18}\text{F}]\text{THK-523}$ のオートラジオグラフ像(中央)、近接切片における抗タウ抗体染色像(左)、および抗 $\text{A}\beta$ 抗体免疫染色像(右)

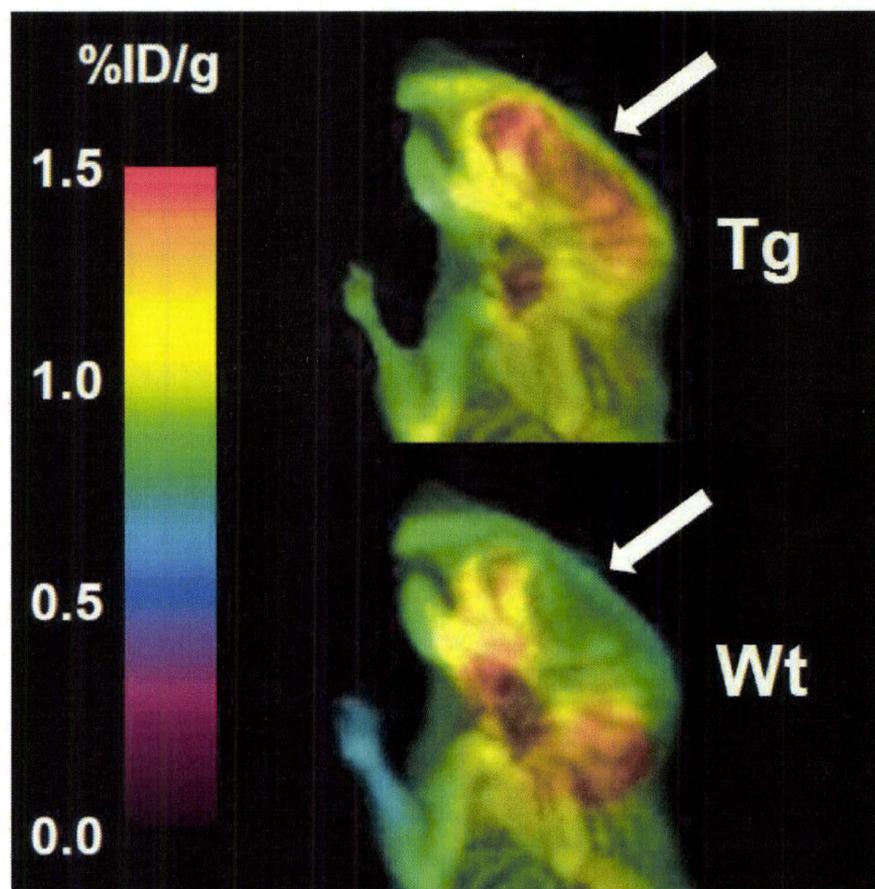


図 5. 脳内にタウが蓄積するタウ Tg マウス (上段) およびワイルドタイプマウス (下段) に $[^{18}\text{F}]\text{THK-523}$ を静脈内投与した際の小動物用 PET 画像
矢印 : 脳

添付表 1

若手研究者の教育について

医学部5年生に対する第3次修練において「ADの発症前診断」として「AD研究および最新の同病診断法の現状」につき隔週で2時間の講義を行っている。平成23年1月26日の第3次修練スケジュールを添付表1に示した。

添付表1. 第3次修練スケジュール

老年科・第3次臨床修練週間スケジュール

平成23年1月 担当教員：小坂（内線 7182, FHS 5653）

	24日 月	25日 火	26日 水	27日 木	28日 金
8:30					新患プレゼン（外）
9:00	オリエンテーション および患者様紹介 小坂（西）	「加齢と老年医学」 荒井（加齢-カン）	新患患者診察 古川・他（外）	高齢者総合機能評価実習 吉田（西）	病棟回診総括 山崎（西）
10:00	担当患者回診 （西）	担当患者回診 （西）		重症認知症患者の医療と介護実習 実践編 藤井（富沢）	レポート作成 （西）
11:00					
12:00		製薬企業共催昼食会 （加齢-カン）			
13:00	呼吸器病学 「気管支鏡実習」 大類（西）	病棟カンファランス （西）	誤嚥性肺炎の診断実習 海老原幸枝（西）		症例報告会 大類（加齢-カン）
14:00			アルツハイマー病の発症前 診断 工藤 （加齢-カン）		
15:00					
16:00	診療実習 宇根（加齢-カン）	高齢者の補完代替医療 山崎（西）	認知症診断実習 富田（加齢-カン）		

厚生労働科学研究補助費（医療機器開発推進研究事業）

平成 22 年度 分担研究報告書

胎児心電図の研究開発と若手研究者の教育

分担研究者 木村芳孝 東北大学国際高等融合領域研究所・教授

研究要旨：胎児心電図機器開発を通し得られたシーズ 5 つのシーズの内、胎児心電図用専用シート型ディスプレイ電極の開発および臨床データを裏付ける動物実験を進め創薬に結びつくシーズの開発を行った。専用電極の最適化特性を決定した。これにより、 $5\mu\text{V}$ の体表電位のフィールド計測が可能になった。これらのシーズを通し若手育成の拠点として大学院医学研究科融合医工学分野を設立した。

A. 研究目的

1. 研究の背景

現在日本では、年間約 100 万人の分娩有る。日本の医療水準が上がりお産は安全なものと考えが一般的である。しかし、このうち 30 万人の胎児が何らかの異常を起こし、母体子宮内で具合が悪くなる状態（胎児機能不全）になり、そのうち 3000 人の赤ちゃんが重症化している。この重症化した赤ちゃんは、不幸にして亡くなったり、後に脳性まひや新生児腸管壊死などの大変重い障害を残したりすることになる。10 人の内 3 人に何らかのトラブルが起きていることになる。後遺症の内もっとも重い脳性まひの発症頻度は、50 年前と比べ改善しておらず、むしろ未熟児出産の増加にともない増加傾向にある。超音波の発達は産科の医療を大きく変えました。しかし、それにもかかわらず、お産の安全性は砂上の楼閣のように危うい。新しい胎児診断装置の開発は、産科医療にとって急務の課題と考えられる。

しかし、機能診断は難しく循環系の基本的なモニタリング技術である心電図すら、胎児期での計測は不可能とされてきた。

実学的医工学教育・研究拠点育成における研究分担者 木村芳孝の分担研究項目は「胎児心電図の研究開発と若手研究者の教育」である。

2. 本研究の目的

本分担研究の目的は臨床で使えるより実用的な胎児心電図装置の開発を通し研究拠点の構成、教育の問題点を明らかにし、また、この解決を通じて、新しい実学的医工学教育・研究拠点育成を行うことである。

初年度は、世界で初めて実時間計測の可能な胎児心電図装置を完成させ、また、本開発に必要な研究組織を作り上げた（ハコ作り）。

研究組織は、①機械のアルゴリズムを担当す

る生体情報工学部門、②機械の製作にかかわる企業の研究部門、③ベッドサイドからの機械開発を支える臨床医学部門、④動物実験で安全性、有効性を調べる基礎研究部門から構成し、①は東北大学工学部生体情報工学中尾研究室の協力を、また、企業からは日本の周産期分野の最大の企業であるアトムメディカルの開発チームの協力を、③の臨床医学では東北大学周母子センターの全面協力を得て、基礎実験を併用し開発を進める体制を作った。

本年度では、昨年度に引き続き、これらの組織に基づき、月 2 回の問題発見型開発ミーティングをすべての構成員で行い、①筋電図の位置情報時間経過を調べるため一電極から信号分離を行う方法の開発（1 信号独立成分分析法の開発）。②生体体表から $5\mu\text{V}$ の生体活動電位をシールドルーム以外（外来、病棟）で計測出来る技術の開発（高精度生体電位フィールド計測技術）。③だれでも計測可能なシート型ディスプレイ電極の開発、および、臨床治験データ収集に必要な組織作り。④臨床データを裏付ける動物実験。という 4 シーズの開発を通じてベットサイド開発を通し開発に必要なヒト作りとその体制の充実を押し進めた。

B. 研究方法

（1）具体的な本研究の人員構成

- ① 工学部大学院生（1 名）
東北大学大学院工学研究科生体情報科学修士課程（鍋島）
- ② 企業技術者（4 名）アトムメディカル株式会社開発センター（大和田、須藤、千田、小田桐）
- ③ 大学研究者（2 名）
国際高等融合領域研究所（木村、伊藤）

（2）教育目標

教育目標は、昨年同様、全体目標、個別目標に分けて設定した。

全体目標：異分野の相互理解と製品開発における協力関係の樹立、発展。

個別目標：①工学研究科修士課程学生：臨床データ収集と病院における臨床研究の一般的な心得の取得、技術開発の基礎、修士論文作成。

②企業研究者：大学における研究開発と会社組織との融和、新規技術法と最新知識の学習、スタディーデザインからビジネスデザインへの橋渡しと世界戦略。新規技術開発。

③基礎研究。動物実験モデルの作成、病態解明法の開発、有効性、安全性の検証。

(3) 研究方法

研究開発で3年間の全体の長期目標、1年ごとの全体短期目標を設定、評価ミーティングを2週間に1度行う。ミーティングでは、各自が成果と問題点、次回までの課題をプレゼンテーションし、構成員によるディスカッションを行う。開発で得られたアルゴリズムや電極をベツトサイドで実際に計測に使用し機能を確認し問題を抽出。この成果と問題点を次回のミーティングに提出する問題解決型開発法を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は臨床研究に関する倫理指針および動物実験に関する倫理指針に基づき、東北大学医学部倫理委員会の承諾を受け、研究対象者に対し人権保護、個人情報保護を配慮し、不利益・危険性を排除し十分な説明とインフォームド・コンセントを行い厳正に行われた。

具体的には計測に協力して頂く研究対象者の個人情報とは全て匿名化したのちに取り扱う。さらに計測された情報をサーバーへ転送する際のサーバー間での情報流出を防止するために専用回線を用意し、多重機構で情報の流出を防止するようなシステムを設計する。

胎児心電図計測時に用いる電極は母体腹壁に貼り付けるだけの非侵襲的な電極である。そのため、元々母体への危険性は限りなくゼロであるが、さらに危険性を排除するように配慮した上で十分なインフォームド・コンセントを実施して行う。

本研究は組み替え DNA 実験、遺伝子治療臨床研究、特定胚やヒト ES 細胞、ヒトゲノム・遺伝子解析研究、疫学研究を実施する企画ではなく、これらに該当する問題は生じない。

C. 研究結果

(1) 研究成果

① 1 信号独立成分分析法の開発

本年度は、アクティブノイズキャンセリン

グやアクティブシグナルエンハンスメントの論理構造が 1 信号独立成分分析法の論理的構造で書く表されることを突き止めた。これにより、自己回帰法や能動制御解析が独立成分分析法の枠組みに組み込まれることが分かった。これは、1 信号独立成分分析法が独立なスペクトルサポートをもつ成分を分離する事を論理的に明らかにすると同時に、スペクトル解析などの周波数解析が独立成分分析法の枠内で論じられる事を意味する。この内容は第 24 回生体・生理工学シンポジウムに発表した。

今後、論理をされに進め信号解析技術の拡張と基底つき無限次元幾何学としての参照系独立成分分析法の意味を明らかにしていきたい。

② シート型ディスプレイ電極の開発

本年度は、昨年度に引き続き電極の開発を進めた。電極の形や大きさを変えることにより電極がフィルタリング効果を示すことが分かった。胎児心電図での最適なゲル電極の大きさを決定できた。

③ 動物実験

昨年に引き続き胎児不全モデルを作成するために、母体がジャンクフードを摂取した場合における胎児への影響をマウス胎仔モデルで研究した。

母獣低タンパク食飼育の胎仔は、低酸素下で脳出血しやすい事が判明した。低栄養では脳や心筋細胞に低酸素センサー遺伝子 HIF1a の活性がみられ、低酸素被曝で酸化ストレスに陥りやすくなるためと考えられた。

(第 63 回日本産科婦人科学会にて発表)

D. 考察

昨年同様、研究開発に関しては、いくつかの課題を解決し順調に進めることが出来た。しかし、病院内での安定した計測場所の確保の問題や、協力して頂ける医師や看護師の配置換えによる研究の中断など忙しい医療現場でのベツトサイド開発のむずかしさを痛感した。

また、開発が学生の卒業などにより断続的になりシーズを橋渡し研究につなげる困難さや、日本における橋渡し研究の限界など痛烈に任意させられた。橋渡し研究までに各シーズを持って行くには最低 5 年以上の長い期間の継続的な経済的サポートが必要であり、現実的に今の競争的資金による研究費の調達だけでは難しいことを痛感した。また、理論面に重心がある工学的な研究と実務的な医学研究の重点の違いで研究の進め方を合わせる事が難しいこと、橋渡し研究が論文になりやすく、研究評価が低いことなど橋渡し研究に関する課題が

明らかになった。今後、橋渡し研究の真価を正
当に評価し日本に根付かせる行政的配慮が必要
であると考えられた。

E. 結論

実学的医工学の研究・教育拠点育成には、橋
渡し研究が正當に評価される基盤とベツトサ
イド研究を継続的に運営できるさらなる安定
した仕組み作りが必要である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 論文・学会発表

- 1) Clarissa Velayo, Takuya Ito, Hiroshi
Chisaka, Nobuo Yaegashi, Kunihiro
Okamura, Yoshitaka Kimura. “Effects of
antenatal steroid therapy on neurode-
velopment in an IUGR mouse model”, Fetal
Diagn Ther. 2010;28(2):76-86. (査読有)
母獣低栄養飼育の胎仔の薬剂感受性の変化
を調べた。

学会発表 (国内)

- 1) 口頭発表
木村芳孝, 幡谷速昭, 伊藤拓哉, 千坂泰, 八重
樫伸生, 中尾光之、「1 信号からの独立成分抽
出の問題点」、第 24 回生体・生理工学シンポ
ジュウム、仙台、東北大工学部キャンパス、9
月 26 日

(発表の概要)

1 信号独立性分析法が自己回帰法をふくむ
ことおよびその問題点を検討した。

- 2) ポスター発表

A. Aoyagi, Y. Kimura, T. Ito, C. Chisaka,
K. Tanabe, K. Funamoto, K. Okamura, N.
Yaegashi. ” Case reports of fetal brady-
cardia diagnosed by fetal electrocardiogram
via maternal abdomen”, The 15th World
Congress on Heart Disease 2010, Vancouver,
Canada, July 26th,

(発表の概要)

胎児心電図の臨床症例を検討した。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願
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（医療器機開発推進研究事業）

分担研究報告書

分子生物学を基盤とした人工感覚器の研究開発と教育

研究分担者 富田 浩史 国際高等研究教育機構 准教授

研究要旨

一旦失明に至ると、その視機能を再建する方法はない。我々は、高い解像度を持つ視機能を作り出すことを目指して、緑藻類クラミドモナスの遺伝子(ChR2)を用いた視覚再生のための遺伝子治療を検討している。これまでに、ChR2を遺伝子導入することによって視機能を回復できることを明らかにしているが、緑藻類由来タンパク質を恒常的に網膜で発現させることによって、どのような副作用が引き起こされるか定かではない。本研究課題開始当初から、ラットを用いて血液学的、組織学的観点から長期的な安全性評価を行い、今回、ChR2遺伝子の恒常的発現によって、重篤な副作用が観察されないこと、並びに、回復した視機能が生涯維持されていることを確認した。本年度、臨床研究に向けて、患者選定基準を作成し、海外の共同研究機関を通じて、臨床研究の申請を行った。また、神経細胞に特異的に遺伝子の発現を誘導するための神経細胞特異的プロモーターを含むAAVベクターを新たに構築した。

A. 研究目的

網膜色素変性症の遺伝子異常保因者は日本人4000~8000人に一人、人口で4~5万人はいると推定されている。網膜色素変性症と同様に視細胞変性により失明を来す疾患である加齢黄斑変性症は、アメリカでは中途失明原因の1位に位置し、日本でも高齢化社会の進行に伴い、増加の一途を辿っている。これらの疾患に対して、薬剤や遺伝子治療によって、変性を遅延させる方法が研究されているが、現時点では、有効な治療法は確立されていない。また、一旦失明に至ると、その視機能を再建する方法はない。

視機能を再建する方法として、世界的に機器によって光受容を代用する人工網膜が研究されている。すでに、アメリカ、ドイツでは臨床研究が行われ、形やものの動きを判別できることが示され、人工網膜の有用性が示されている。一方、眼内に多数の電極を配置できないなどの理由により、高い解像度が期待できないことも明らかになりつつある。

我々は、緑藻類クラミドモナスが持つ光受容イオンチャネル遺伝子(ChR2)を利用した「遺伝子治療による視覚再生法」を検討している。これまでの研究で、ChR2の遺伝子導入によって、ChR2の感受波長である青色に限定すると、高度な視機能が作られることが明らかになっている。しかしながら、緑藻類由来ChR2タンパク質は、元来ヒトが持たないタンパク質であり、臨床応用に至るには、

詳細な安全性研究が必要である。

本年度は、本研究課題開始当初より行ってきた、ラットを用いた安全性研究の最終評価を行い海外での臨床研究申請のための患者選定基準を作成した。また、ChR2を網膜神経細胞に特異的に発現させるために、神経細胞特異的プロモーターを含むアデノ随伴ウイルスベクターを作製した。

B. 研究方法

安全性評価

遺伝盲ラットにChR2遺伝子を含むアデノ随伴ウイルスベクター(AAV-ChR2V)投与し、継時的に採血を行い、種々のリンパ球サブセットマーカータンパク質の抗体を用いて染色を行い、各リンパ球サブセットの変動を約2年間観察した。また、機能評価として、定期的に視覚誘発電位を記録し、遺伝子導入によって回復した視機能が維持されるかどうかを調べた。

神経細胞特異的 AAV ベクターの構築

ChR2 遺伝子を神経細胞に特異的に発現させるために、2種のプロモーター、シナプシンプロモーターとC0プロモーター(仮称)を含むAAVを作製した。C0プロモーターはラット網膜ゲノムよりPCRによって増幅し、pGL3ルシフェラーゼプラスミドベクターに挿入した。挿入後、C0プロモーターによって誘導されるルシフェラーゼ活性を測定し、挿入したC0プロモーターの転写活性を測定した。また、C0プロモーターの転写活性を高めるために、C0プロモーターの一