

された脳梗塞モデルがなく、全く脳梗塞の病態を反映しないような一過性脳虚血モデルを使って治療効果の評価をしていたことが挙げられています。こうしたことへの反省から、いつでも全く同じ大きさの脳梗塞ができるモデルを確立し、このモデルを使って、細胞治療が本当に効くのかどうかについて検証しました。モデルマウスを使い、脳梗塞の作成48時間後に骨髄単核球を静脈に投与し、細胞を投与すると脳血管や脳神経細胞が再生するのかどうか、もしこれらが再生するのであれば、神経機能がよくなるか否かに関し、評価を行いました。

その結果、血管に関しては非常によく再生することがわかりました。コントロール群では脳梗塞境界領域には、ほとんど毛細血管網はありません。単核球投与群においては脳梗塞境界領域に毛細血管網が非常によく再生しているのが観察されました。

さらに、SPECTでの血流評価では、単核球投与群では脳梗塞周囲領域においてかなり血流が保たれていることがわかりました。

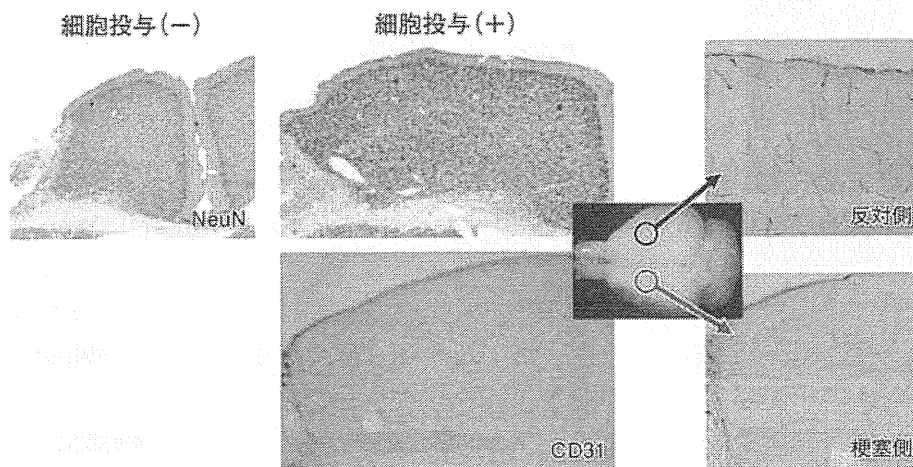
さらに、Spring-8を用いて血管造影を行いました。コントロール群のperforating arteryと言われる大脳皮質を灌流している血管網はほとんど消失しますが、単核球投与群は大脳皮質を灌流しているperforating arteryがほとんど残存している

ことがわかりました。これらの結果は、骨髄単核球を移植すると、血管再生に対して非常に効果的であることがわかりました。

4. 血管新生から神経再生が促進

次に骨髄細胞移植が神経再生に対してどのような効果があるのかという点に関して検討を行いました。コントロール群でも神経再生が誘導されますが、誘導される神経幹細胞数はそれほど多くない。ところが単核球を投与し血管を再生することによって神経幹細胞の誘導が促進されるとともに、コントロール群では30日後はほとんど誘導された神経幹細胞は死んでいるのに対し、単核球投与群では30日後も非常によく残っている。さらに、こうした神経幹細胞がどんどん出てきて、それが生着していくので脳組織がどんどん再生し、組織学的にも脳が膨れてくるのがネズミレベルで観察されています。それを組織で詳細に見ると、再生された大脳皮質においては毛細血管が全部横方向を向いて血管構築されています。大脳皮質のperforating arteryは縦方向に走行していますが、再生された脳組織では血管が横方向に走行していることにより、脳が膨れてくる領域では脳梗塞後に再生している部分であると我々は結論づけています (Fig. 3)。神経学的な機能解析におい

Fig. 3 血管再生による神経再生 (細胞投与90日後)



Taguchi, et al. JCI. 2004.

でも、正常マウスと脳梗塞のコントロールマウス、骨髄単核球を投入した脳梗塞マウスを比較すると、単核球投与群の神経機能は、正常マウスほどよくなることはありませんが、コントロールマウスよりは有意に改善しており、どのようなテストをしても大体正常マウスとコントロールマウスの中間に来ることがわかりました。

このような結果は、少なくとも動物実験レベルでは、脳梗塞後に骨髄単核球移植などの細胞治療を行うと、血管再生が促進され、血管再生が促進されると神経再生が促進される。さらに神経再生が促進されると機能的回復が促進される、ということがわかりました。

それでは、ネズミに起こっているような神経再生がヒトでも本当に起こっているのか、あるいはネズミとヒトでは全く違うのではないかとこのことを考えて、脳梗塞患者における病理学的検討を行いました。

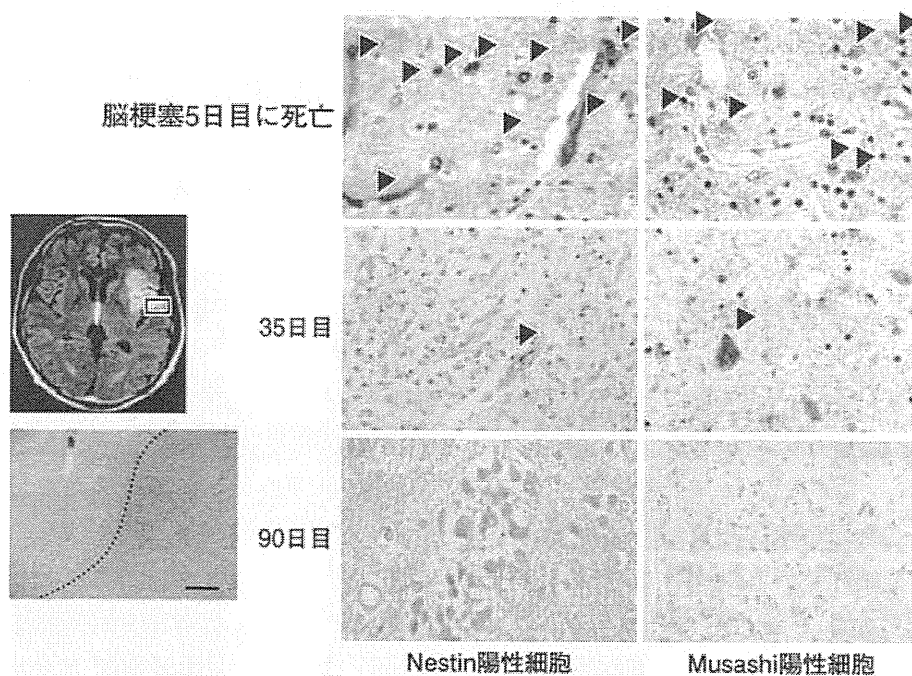
Fig. 4は、上から心原性脳梗塞5日目に死亡された方、35日目に死亡された方、90日目に死亡された方の脳切片です。5日目に死亡された方の

脳切片は、Nestin陽性やMusashi陽性など神経幹細胞のマーカ陽性細胞が非常に多く見られます。しかし、35日目、90日目になると、ほとんどそのような細胞も残っていません。さらにその継時的なタイムコースを見ると、Nestin陽性細胞というのは大体脳梗塞発症4日後、あるいは1週間後ぐらいにピークになります。また、Musashi陽性細胞は2週間後、3週間後にピークになりますが、これはマウスとほとんど同じようなタイムコースを辿っていることがわかってきました。

5. 骨髄細胞採取は少量で十分な効力

治療の方法に関しては、骨髄幹細胞移植以外にも薬剤を用いた骨髄からの動員も可能ではないかと考えました。G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) を用いて骨髄から幹細胞を動員する手法で実験をしましたが、G-CSFで動員すると明らかに脳の萎縮が起こります。脳の萎縮が起こるだけでなく、脳機能が阻害されます。この現象に関しては、後から考えると、この結果は当然

Fig. 4 脳梗塞患者における組織修復機構の病理学的検討



Nakayama, et al. *Eur J Neurosci.* 2010.

だったと思います。G-CSFを入れると、幹細胞は骨髄から動員されますが、同時に顆粒球も多く動員されます。多量の顆粒球が末梢血中に出ることによって脳の障害が起こることがわかったので、G-CSFで簡単に治療することはできないだろうという結論になりました。

次に臨床研究をする上で大事になるのは、どれだけの細胞数を投与するか、あるいはいつ投与するかということになります。これについても脳梗塞動物モデルでの実験を行ってきました。その結果、投与細胞数に関しては、 2.5×10^4 / マウス、あるいは 1×10^5 / マウスなど、かなり少ない数の骨髄単核球であっても治療効果がありました。しかし、投与量をどんどん上げていっても治療効果がどんどん上がるわけではありませんでした。また、投与時期に関しては、脳梗塞の直後に投与してもほとんど効きませんし、24時間後に投与してもあまり効かない。脳梗塞の48時間後から、大体2週間以内で一番よく効き、この時期を過ぎしてしまうと、また効かなくなってくるということがわかりました。

今回の治療法は、動員された神経幹細胞をうまく生かしてやるという治療法なので、脳梗塞2日から14日以内の神経幹細胞が動員されてくる時期に、うまく血管をコントロールすることによって治療が成り立つと我々は考えてきました。そこで、骨髄単核球の投与時期は脳梗塞の4日目から10日目ぐらい、必要細胞数は体重1kgあたり 10^6 個あれば十分であろうということで、臨床試験の申請を行いました。厚生労働省や倫理委員会からは霊長類を用いた検討を行ってほしいという要望がありました。

そこでカニクイザルを用いた前臨床試験を行いました。その結果、投与した自己骨髄単核球細胞は肺塞栓などを起こさないことを示しました。また、末梢血中の幹細胞の濃度も測定し、細胞治療後には末梢血中の幹細胞数も増加することがわかりました。

自己骨髄細胞移植に関しては、心筋梗塞患者に対しても大規模な臨床試験がすでにヨーロッパで

行われており、二重盲検試験においても骨髄単核球治療群はプラセボに比べて機能予後が良いことが報告されています。さらに、脳梗塞患者で、末梢血中に幹細胞が動員されてくる患者と動員されてこない患者がいますが、脳梗塞の後に末梢血中に幹細胞が動員されてくる患者は予後が良いことがわかっています。

治療のメカニズムとしては、非常にいろいろなことが言われていますが、基本的に3つあるだろうと我々は思っています。1つはmultiple cytokineの産生です。2つ目は細胞—細胞間のクロストークです。骨髄単核球が作用するような血管というのは、微小血管レベルですが、微小血管レベルの内径と骨髄単核球の直径はほとんど一緒ですから、通るときに非常にごつごつしながら通りますので、細胞—細胞間のクロストークが起こっていると考えています。

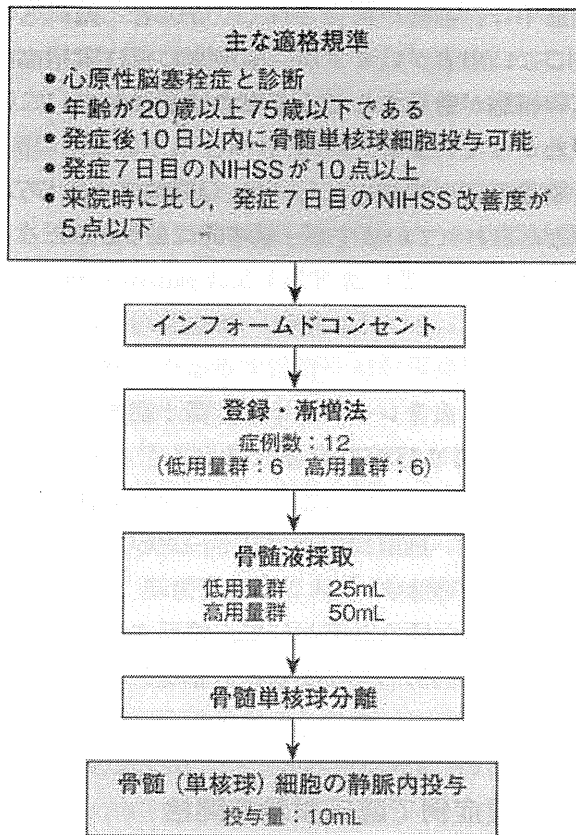
さらに3つ目の因子として、脾臓や肝臓など全身の臓器に再分布する造血系肝細胞の効果も重要であると考えています。

6. 重症例で臨床試験を開始

以上のような実験結果に基づいて、現在、臨床試験を始めています (Fig. 5)。主な患者選択基準は、心原性脳塞栓症で年齢が20歳以上75歳以下、発症後10日以内に骨髄単核球細胞投与が可能であり、発症7日目のNIHSS (NIH Stroke Scale) が10点以上、来院時に比し発症7日目のNIHSSの改善度が5点以下の患者です。重症の心原性脳塞栓症患者で1週間たってもほとんどよくなっていない患者が対象になります。計画では、低用量群を6症例、高用量群で6症例実施する予定です。低用量群は骨髄採取量が25cc、高用量群は骨髄採取量50ccで、骨髄単核球を分離して静注するプロトコルになっています。エンドポイントに関しては、安全性としてNIHSSの悪化症例の頻度、有効性に関してはNIHSSの改善度です。参照データは、国立循環器病研究センターの過去のデータベースを使用します。

Fig. 5 プロトコルの概略

試験の相：第 I / IIa 相
用量漸増法



第一症例は67歳の男性です。洞不全症候群で中大脳動脈閉塞脳梗塞の患者でした。インフォームドコンセントを得たのち、局所麻酔下で25ccの骨髓細胞を採取し、国立循環器病研究センターのCPC (Cell Processing Center) で単核球の分離をし、病棟で静注する、という非常に簡潔なプロトコルです。副作用に関しては、出血性梗塞に注意を払ってきましたが、治療後30日間でも出血性梗塞の拡大はありませんでした。この方のNIHSSの改善度は、治療前が11点、退院時は6点でした。さらに90日後には3点まで改善されています。また、180日後のMRIでも、特に問題点はありませんでした。第二症例目の方は、右の内頸動脈の閉塞の方で非常に大きな脳梗塞を起こされています。第三症例の方は左内頸動脈閉塞で、非常に大きな脳梗塞ですし、第四症例の方は

左中大脳動脈起始部閉塞、第五症例の方も右中大脳動脈起始部閉塞、第六症例は左中大脳動脈閉塞の患者です。こういう方々の治療効果に関しては、ヒストリカルコントロールと比し、良好である印象を持っています。

評価に関しては神経所見の継時的評価だけでなく、脳循環動態の変化に関しても解析を始めています。過去の報告では、大きな脳梗塞の患者は、1カ月後から6カ月後にかけて脳の血流や代謝が徐々に減少することが知られていますが、治療群の患者では、患側および健側とも改善している患者が多くみられ、脳梗塞動物モデルでの結果とも一致していると考えています。

7. 細胞移植治療の今後

現状はフェーズ I / IIa の臨床試験を行っており、低用量群の6症例で終了しています。次症例から高用量群を開始する予定ですが、低用量群では、少なくとも安全性に問題はなかったことはわかっています。それで12症例終了時にもう一度安全性の検証を行い、プラスアルファで有効性に関する統計解析を行いたいと思っています。

我々が次に準備しているのはフェーズ II b の臨床試験です。これに関しても多施設共同研究ですることになりました。評価方法も、今はNIHSSのような機能評価とともにfunctional MRI, C11Met-PETといった別の評価方法も新しく取り入れ、病態や治療機序に合わせたような治療効果の検討ができないかということを考えています。また、患者選択基準に関しても、作用機序から考えても、もう少し軽症例のほうが効くだろうと我々は考えており、そのような要素を取り入れたプロトコル作りを始めています。また、我々が非常に力を入れていることとして、CPCの不要な簡易幹細胞デバイス作りを行っています。再生医療はCPCがないとできないとなると、施設が限られてしまっていますが、そうではなく、どこの施設でも、少なくとも市民病院レベルで安全に行える技術ができないのかということもやっていこうと思いま

す。そのイメージは、例えば昔は大型コンピューターは多くの専門技術者が使ってやっていたのですが、それが小型になることにより、普及するようになりました。再生医療もそれと同様に、遠心機と簡単なデバイスで幹細胞が精製できるようになると、全国の病院に普及するとともに、治療のターゲットも脳梗塞、心不全、慢性腎炎と、ありとあらゆる病気に広がっていくのではないかと我々は考えています。

<質疑応答>

Q 単核球の移植、大変貴重な症例を見せていただきました。いくつかご質問したいのですが、先生の実験で、細胞投与1日後から血管が再生されたという話がありました。1日後にもう簡単にできてしまうのでしょうか。

田口 そうですね。血管ができていくというよりも、我々は微小血管の反応性が変わった、あるいは休止していた血管が血流を再開通させたと思っています。おっしゃるように確かに血管構築がなされるのは時間がかかりますが、微小血管レベルというのは、血管構造はあっても血液が流れていない状態であることが結構あります。だから、そういうところに再び血が流れ始めたとい々は考えています。

Q では、早期では、以前あったものが効いていくということですね。

田口 そうですね。

Q もう少し時間がたつと、再生もされてくるだろうと考えられるわけですね。それから、骨髄の単核球細胞は、神経細胞の再生といったことではなく、ニューロトロフィックファクターの分泌などによって、ペナンブラ領域といいますが、今にもダメージを受けて死んでしまいそうなものが活性化されたり維持されたために、よくなっていくのではないかと考えられます。すると、先生が今回対象にされた心原性脳塞栓症は、ペナンブラ領域が比較的少ないのではないかと思います。むしろアテローム血栓性脳梗塞 (ATBI) のものが、

ペナンブラが多くて有効ではないかと思うのですが、先生が心原性脳塞栓症を選ばれた理由と、今後のATBIについての可能性については、いかがでしょうか。

田口 このエントリークライテリアを決めるときに、議論がありました。我々は確かにアテローム血栓性梗塞やラクナ梗塞といった、もう少し小さな脳梗塞患者を対象に行いたいと考えていたのですが、レギュレーション側からは絶対よくならない患者だけをまず選んで実施してほしいとのことでした。

今回の臨床試験では、最も重症な患者群で、しかも出血のリスクが一番高い患者群で安全性の検討を行い、それで安全が確認されたら、アテローム血栓性梗塞やラクナ梗塞の患者もできるだろうということで、今回はあえて心原性を選びました。おっしゃるとおり、治療機序から考えるとアテローム血栓性梗塞やラクナ梗塞がもっとよく効くと思います。

Q もう一点、実験で投与時期を示されていますが、直後があまり効きませんでした。ここで言う単位は「2時間」といった「時間」ですか。

田口 単位は全て日です。直後と、1日、2日といった「日」です。

Q 今までの経験ですと、治療は早ければ早いほどいいと思っていましたが、少し時間がたったほうがいいとされる理由を教えてください。

田口 今回の治療法の目的は、内因性に誘導された神経幹細胞をうまくサポートしてやろうということでした。そういう神経幹細胞というのは、大体1週間、2週間、3週間というときに出てきます。その出てきた幹細胞をサポートしてやるのが目的ですから、やはりもう少し後のほうが良いということを確認しました。

もう一点は、脳梗塞の直後は、毛細血管網は非常に拡張しています。その後、梗塞によって炎症系のサイトカインがどんどん出てきますから、そうなるにつれて血管がどんどん閉じ始めます。その閉じ始める時期が、やはり2日ぐらいになるのだと思っています。

Q 二点お伺いしたいと思います。ヒトの場合でも内因性の神経幹細胞が誘導されたと考えるべきなのか、あるいは数%でも移植したものが神経を動かしたということがあるのか、ということが1つです。

もう1つ、先ほどATBIの話が出ましたが、アテローム血栓性の場合、ほかの臓器の血管にとられてしまうことがあったりして、心原性のときのように効果が見えにくいのではないかと思うのですが、いかがでしょうか。

田口 まず1つ目のご質問ですが、移植した細胞が神経になるかどうかを、我々はマウスで散々検討してきましたが、全くなりませんでした。もちろん論文等では報告がありますから、切片を何枚も何枚も切ってずっと探せばあるのかもしれませんが、我々の見た範囲では全くありません。今回の治療効果は、そういう機序ではなく、血管を介したコントロール、あるいは組織修復機構のコントロールで効いているのだと思います。

次のATBIに効くのかどうかというご質問についてですが、心原性の脳塞栓症の有利な点は、細胞を投与していくと大体再開通はしているので、投与した細胞が脳梗塞巣、あるいは脳梗塞周囲に行きやすいことだと思います。また、心臓のモデル、心筋梗塞の患者に対しても散々行われてきたわけですが、それでATBIやアテローム血栓性の動脈硬化症を悪くしたという報告はほとんどありません。だから、ATBIで行って何かリスクがある可能性はありますが、そんなに高くないのかなと思います。

Q ただ、全身にちらばってしまいそうな感じがします。投与したかなりの数が心臓のほうに行ったり、大腿動脈にとられたりしないかなと思うのですが。

田口 そうですね、とられるというよりも、大体2時間後の時点で末梢血中にとどまっているのは投与した幹細胞の1/5程度です。そのほかの幹細胞は脾臓に行ったり、肝臓に行ったりしているのですが、そういうところに行くことによって、炎症を抑えているのではないかと我々は思ってい

ます。だから、脳をメインとして効いているのか、それとも実は脾臓に行く方がいいのかということについては、よくわかりません。脾臓には炎症系の細胞がたくさんいますから、そういうところで炎症系に効いているのであれば、無理に脳に行く必要もないのかなとは思っています。

Q 私は骨髄移植ばかり行っていますので、まず最初に驚いたのは、非常に細胞数が少ないことです。骨髄移植に比べて1/100以下の量を使って、本当に再生するのかが非常に疑問に思われたのですが、先生のお考えでは、入れた細胞が再生するのではなく、入れた細胞がサポートするだけだということなのですね。

田口 そうですね。確かに低用量で25ccですから、たぶん1/10か1/30程度だと思いますが、骨髄中の幹細胞の数というのは、末梢血の大体1,000倍ぐらいあります。だから25cc、あるいは高用量でも50ccというその中には、末梢血中の25L、あるいは50L分の幹細胞が含まれています。それを静注で入れてやることによって、血管系に大きな変化が起こるのだと思っています。実際、マウスの実験でも非常に大きな変化が起こりますので、量としてはこのぐらいでいいと私は考えています。

Q 量的にはもちろん末梢血に比べて高い濃度で入るのですが、お話にありましたように、ほとんどの細胞が肝臓、脾臓でブロックされることはよくあることで、実際役に立つのは1/10程度だと言われていると思います。そして局所で働かせようとする、ただでさえ少ない細胞がさらに1/10、1/100に減っていき、果たして本当に局所で働いているのかということが疑問です。もう1つ、患者は発症年齢が高いと思いますが、こうした方のbone marrowを採ってもほとんど未熟細胞はなく、若い人の1/10以下ですので、通常役に立たないことがほとんどです。そうなるとやはり、サイトカインのようなものの働きなのではないかと思うのですが、何かお調べになったことはありますか。

田口 多様なサイトカインの濃度も測っていま

すが、その解析に関してはまだ行っていない段階なのでわかりません。また、今回の臨床試験では全員、心原性脳塞栓症の方ですが、エントリーされた患者たちの大半は、倒れる前日までバリバリ働いていた方です。だから、高齢者ではありますが、骨髄細胞自身はそんなにも少ない患者ばかりではなかったです。

福島 幹細胞という言葉をきちんと理解していないといけませんね。先生が調整細胞を入れたときに、それぞれの患者さんで幹細胞といわれる細

胞が何%あるかなどのクオリティコントロールをしておかないと、あとで解析、解釈に困ります。とりあえず今回は crude で mononuclear cell のプレパレーションで細胞数をどれだけ入れました、というデータを一部でも取っておられるのであれば、レトロスペクティブにでもそれらのデータはとっておく必要がある。それによって次のトライアルがデザインできると思います。

田口 CD34とCD133は全員測っていますので、今後解析していきたいと思っています。

* * *

脳卒中*

田口明彦¹⁾

Key Words : 再生医療, 血管再生, 神経再生

はじめに

わが国は高齢化社会を迎えており、それに伴う身体障害者の急激な増加は深刻な社会問題となっている。平成20年度の厚生労働白書によると、ほぼ全介助が必要な要介護3以上の患者数は全国に169万人おり、そのうちの約1/3に相当する55万人は脳血管障害が原因疾患とされている。しかし、脳梗塞に対する確立された治療法は、現状では発症3時間以内における血栓溶解療法のみであり、治療可能期間 (therapeutic time window) の長い新規治療法の開発が切望されている。

このような状況に対処するため、国立循環器病研究センターでは、①骨髄血管系幹細胞による脳梗塞治療の臨床試験、②骨髄血管系幹細胞による脳梗塞予防法の開発、を行っており、本稿ではそれらの現状および今後の展望について概説する。

骨髄血管系幹細胞を用いた脳梗塞に対する臨床試験

骨髄中に存在する血管系幹細胞を用いた微小血管再生、組織修復促進を目的とした治療法は、わが国における四肢虚血性疾患患者に対する臨床試験においてその有効性が示されてきた^{1,2)}。筆者の自験例¹⁾においても、骨髄単核球移植による著明な血管新生効果が確認されており (図1)、他の虚血性循環器疾患患者における骨髄血管系幹細胞治

療の可能性が示唆されてきた。これらの成果に基づき、心筋梗塞患者に対しても同様の治療法の開発が進められ、動物モデルにおける治療効果および安全性の確認を経て、心筋梗塞患者に対する自己骨髄単核球投与の臨床試験が多数実施されている。すでにヨーロッパでの二重盲検試験においては、その有効性が報告されている³⁾。

われわれはこれらの知見を脳卒中患者に応用するため、脳梗塞動物モデルを用いて骨髄単核球移植の治療効果および安全性の検討を行ってきた。その結果、①脳梗塞後の骨髄単核球移植が脳梗塞周囲での血管再生を促進すること⁴⁾、②脳梗塞周囲の血管再生が内因性神経幹細胞誘導を促進すること⁵⁾、③脳梗塞後の血管再生が神経再生・神経機能回復には必要不可欠であること^{4,5)}、④顆粒球コロニー刺激因子 (医薬品名: グラン®) による骨髄からの幹細胞の動員は顆粒球の増加を介して脳障害を増悪させること⁶⁾、⑤骨髄血管系幹細胞移植の治療効果は比較的少量の細胞投与でも効果があること、⑥脳梗塞後14日以内の細胞投与において治療効果がみられること、を示してきた。また、脳梗塞患者における病理標本を用いた検討においても、脳梗塞の亜急性期に神経幹細胞が誘導されるものの、そのほとんどは生着しないこと⁷⁾など、脳梗塞後の神経再生において、脳梗塞患者と脳梗塞モデル動物に共通する部分が多いことを示してきた。

* Cell based therapy for stroke patients.

¹⁾ 国立循環器病研究センター再生医療部 (脳血管内科) : ☎565-8656 大阪府吹田市藤白台 5-7-1
Akihiko Taguchi, MD : Department of Regenerative Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center

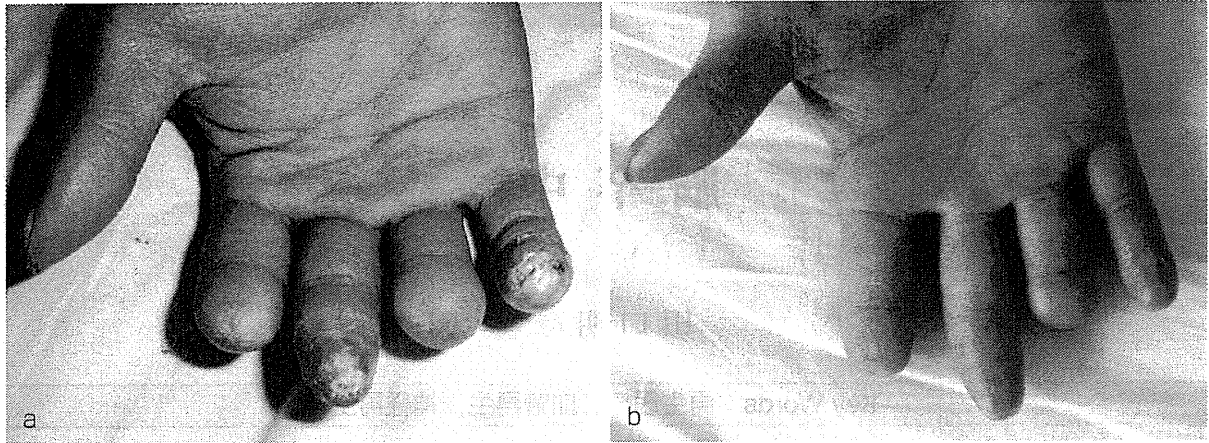
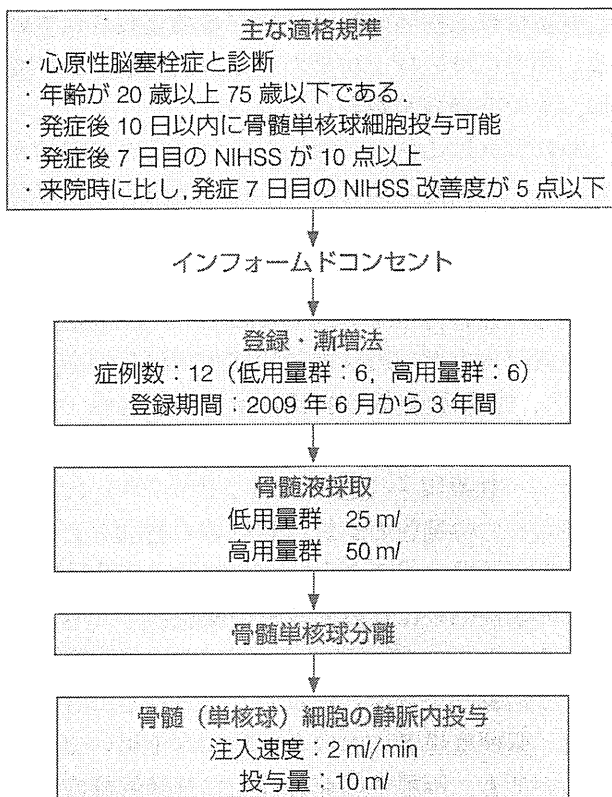


図 1 四肢虚血患者に対する骨髓単核球移植による細胞治療
自己骨髓単核球を用いた細胞治療により、難治性の虚血性潰瘍 (a) が完全に消失した (b: 治療 3 か月後).
(文献¹⁾改変)



試験デザインの概略

- ・試験の相: 第 I-IIa 相
- ・用量漸増法

図 2 脳梗塞患者に対する細胞治療の概略

われわれの研究グループでは、これらの知見をもとに臨床試験プロトコルを作成した。そして、霊長類脳梗塞モデルにおける前臨床試験での検証を経て、厚生労働省「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」による認可を受けた後、国立循環器病研究センターにおいて自己骨髓細胞を用いた脳梗塞治療に関する臨床試験 (第 I-IIa 相) を 2009 年より開始している。プロトコルの概略を図 2 に示す。

1. 選択基準および除外基準

1) 選択規準

- ① 心原性脳塞栓症と診断されている。
- ② 年齢が 20 歳以上 75 歳以下である。
- ③ 発症後 7 日目の時点で National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) が 10 点以上である。
- ④ 来院時に比し、発症 7 日後の NIHSS 改善度が 5 点以下である。
- ⑤ 発症後 10 日以内に骨髓単核球細胞採取が可能である。

⑥ 本人または代諾者から文書による同意が得られている。

2) 除外規準

- ① CT にて脳内出血、くも膜下出血あるいは神経症状の悪化を伴う出血性梗塞が認められる。
- ② 開頭減圧術を予定している。
- ③ 急性心筋梗塞を併発している。
- ④ 出血性素因あるいは血液凝固異常を合併し

ている。

⑤ 血小板減少症を有する。(発症後の検査で血小板数 ≤ 10 万/mm³)

⑥ 腎機能障害を合併している。(発症後の検査で血清クレアチニン ≥ 2.0 mg/dl)

⑦ 治療を要する悪性腫瘍を有する。

腹部 CT 検査, 胸部 X 検査, 便潜血検査, 腫瘍マーカー (CEA, Ca19-9) 検査を行う。

⑧ コントロールされていない糖尿病性増殖性網膜症がある。

⑨ 感染性心内膜炎が疑われる。

⑩ HBV, HCV, HIV, HTLV 陽性である。

⑪ 他の臨床試験に参加している。

⑫ 担当医師の判断により, 当試験への参入が不適切と考えられる。

本臨床試験では, 重症の心原性脳塞栓症症例で, かつ脳梗塞後 1 週間後においても神経機能回復が十分でなく, きわめて不良な予後が予測される患者群のみを対象としており, 今回の臨床試験においてはその安全性に関する検討を中心に行っている。

2. プロトコル治療の概略

① 脳梗塞発症 7~10 日目に, 局所麻酔下で骨髄液を採取 (低用量群 25 ml : 6 症例, 高用量群 50 ml : 6 症例)

② 国立循環器病研究センターセルプロセッシングセンターにて, 比重遠心法を用いて単核球分画 (血管系幹細胞が含まれる分画) の分離

③ 静脈内に 10 分間で全量投与

本プロトコルは全体的に単純な手技で構成されており, 本臨床試験において安全性および有効性を示すことにより, 日本全国の多くの病院・施設に本治療方法を普及させていくことが可能であると考えている。

3. プライマリエンドポイント (主要評価項目)

① 脳梗塞 7 日後と比し, 投与 1 か月後における NIHSS 悪化症例の頻度 (安全性)

② 脳梗塞 7 日後と細胞投与 1 か月後における NIHSS の改善度 (有効性)

今回の臨床試験においては対照としてコントロール群を設定せず, 国立循環器病研究センター脳卒中内科データベースに含まれる症例で, 本臨

床試験の適格基準に合致する患者群 (合計 59 症例) を対照データとして用いる。

4. 臨床試験の現況

2010 年 8 月に 6 症例の低用量治療群が終了したが, 第 1 症例, 第 2 症例および低用量群終了後に独立症例委員会 (委員長: 大阪大学医学部附属病院臨床試験部, 山本洋一准教授) を開催し, それぞれの症例における問題の検討を行った。その結果, 細胞治療プロトコルや細胞治療に伴う有害事象に関して, 特に問題となるものがないとの判断で, 現在, 高用量群のエントリー患者の募集を開始している。細胞治療の治療効果に関しては, 入院時における神経機能予後の予想よりかなり良好な経過をたどった症例や, 細胞治療後に明らかに脳循環・脳代謝が改善した症例などがあるが, 統計学的な治療効果の検討に関しては, 全 12 症例終了時に外部の臨床統計家 (兵庫医科大学医学部, 大門貴志講師) により解析を進めていく予定である。

細胞治療による脳梗塞・微小循環障害 予防法の開発

脳血管を構成する血管内皮細胞の寿命は約 3 年であるが, 脳血管網の維持には, 末梢血中に存在する骨髄血管系幹細胞の重要性が明らかにされている。われわれは国立循環器病研究センターなどにおいて, 末梢血中血管系幹細胞の動態と, 患者病態の関連についてさまざまな患者群を対象に検討を行ってきた。

その結果, ① 脳梗塞慢性期患者における末梢血中血管系幹細胞の減少が脳循環代謝機能の低下と関連していること⁸⁾, ② 血管系幹細胞の減少が認知機能異常およびその経時的な悪化と関連していること^{9,10)}, ③ 脳血管障害の関与が弱いアルツハイマー型認知症においては末梢血中血管系幹細胞の減少はみられないこと¹¹⁾, さらに④ 脳血管再生が促進されている病態では末梢血中血管系幹細胞の増加がみられること, また脳血管障害以外の病態においても⑤ 糖尿病性心筋障害と末梢血中血管系幹細胞の減少が関連していること¹²⁾, ⑥ 末梢血中血管系幹細胞の減少が糖尿病性腎症の進行と関連していること¹³⁾, さらに⑦ 透析患者や循環器

疾患患者における末梢血中血管系幹細胞の減少が死亡率の上昇や血管イベントの増加と関連していること^{14,15)}など、末梢血中血管系幹細胞の枯渇・疲弊と微小循環障害・臓器機能障害に関する重要な臨床的知見を次々に発見、報告してきた。

われわれは上記の成果をもとに、血管系幹細胞が枯渇・疲弊していると考えられる高齢脳梗塞自然発症高血圧ラットを用いた研究を愛媛大学と共同で推進しており、造血系幹細胞の若返りが死亡率の抑制、脳梗塞巣の縮小、微小血管網の増加や神経症状の改善促進などの著明な治療効果をもつことを明らかにしている¹⁶⁾。これらの結果は、コントロール可能な因子である末梢血中血管系幹細胞を介した治療法が、脳血管障害や心不全、腎不全、透析患者など、微小循環障害に伴う幅広い循環器疾病群に対する根治的・普遍的な予防法として発展することを示唆している。現在、これを現実的な予防法として発展・確立させるための研究を継続して行っている。

今後の展望

現在、われわれが推進している臨床試験の主眼は、重症脳梗塞患者群における安全性の検証であるが、今回の研究（第Ⅰ-Ⅱa相試験）によりそれを実証することができると考えている。また、本治療法は脳梗塞周辺領域における内因性神経機能修復機構の活性化を目的としているため、その治療機序から神経障害がより軽度の患者群において、さらに強い治療効果が期待できると考えている。現在、治療対象群を拡大した多施設共同臨床試験（第Ⅱb相試験）に向けたプロトコールを作成中である。

さらに国立循環器病研究センターでは、セルプロセッシングセンターが不要で、かつ操作が非常に簡単な細胞治療用骨髄単核球精製デバイスを作成している（特願 2010-175056）。このようなデバイスの臨床試験も並行して行っていくことにより、脳梗塞・循環器疾患に対する骨髄単核球細胞を用いた治療法を、より効果的で、より普遍的な細胞治療として全国・世界に普及させていくことができると考えている。

また、細胞治療による循環器疾患の予防に関し

ては、骨髄の一部を若返らせるだけで、全身の微小循環障害が著明に改善することを明らかにした。今後、これらの知見を iPS 技術などと組み合わせることにより、人類の古来からの夢であった“若返り”に向けた挑戦を続けていきたいと考えている。

文 献

- 1) Taguchi A, Ohtani M, et al : Therapeutic angiogenesis by autologous bone-marrow transplantation in a general hospital setting. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **25** : 276-278, 2003
- 2) Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, et al : Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells : a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* **360** : 427-435, 2002
- 3) Schächinger V, Erbs S, et al : Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction : final 1-year results of the REPAIR-AMI trial. *Eur Heart J* **27** : 2775-2783, 2006
- 4) Nakano-Doi A, Nakagomi T, et al : Bone marrow mononuclear cells promote proliferation of endogenous neural stem cells through vascular niches after cerebral infarction. *Stem Cells* **28** : 1292-1302, 2010
- 5) Taguchi A, Soma T, et al : Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *J Clin Invest* **114** : 330-338, 2004
- 6) Taguchi A, Wen Z, et al : Granulocyte colony-stimulating factor has a negative effect on stroke outcome in a murine model. *Eur J Neurosci* **26** : 126-133, 2007
- 7) Nakayama D, Matsuyama T, et al : Injury-induced neural stem/progenitor cells in post-stroke human cerebral cortex. *Eur J Neurosci* **31** : 90-98, 2010
- 8) Taguchi A, Matsuyama T, et al : Circulating CD34-positive cells provide an index of cerebrovascular function. *Circulation* **109** : 2972-2975, 2004
- 9) Taguchi A, Matsuyama T, et al : Circulating CD34-positive cells provide a marker of vascular risk associated with cognitive impairment. *J Cereb Blood Flow Metab* **28** : 445-449, 2008
- 10) Taguchi A, Nakagomi N, et al : Circulating CD34-positive cells have prognostic value for neurologic function in patients with past cerebral infarction. *J Cereb Blood Flow Metab* **29** : 34-35, 2009
- 11) Taguchi A : Vascular factors in diabetes and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* **16** : 859-864, 2009
- 12) Okada S, Makino H, et al : Circulating CD34-positive cell number is associated with brain natriuretic peptide level in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* **31** : 157-158, 2008
- 13) Makino H, Okada S, et al : Decreased circulating CD34

- positive cells are associated with the progression of diabetic nephropathy. *Diabetic Medicine* 26 : 171-173, 2008
- 14) Maruyama S, Taguchi A, et al : Low circulating CD34-positive cells is associated with poor prognosis in chronic hemodialysis patients. *Kidney International* 74 : 1603-1609, 2008

- 15) Fadini GP, Maruyama S, et al : Circulating progenitor cell count for cardiovascular risk stratification : a pooled analysis. *PLoS ONE* 5 : e11488, 2010
- 16) Taguchi A, Pengxiang Z, et al : Reduced ischemic brain injury by partial rejuvenation of bone marrow cells in aged rats. *J Cereb Blood Flow Metab*, In press

ニュース News

求むリハビリテーション・救急医 医師 1 万 8,000 人不足、偏る医療

厚生労働省は 9 月 29 日、全国の病院に勤務する医師数が約 1 万 8 千人足りないとの調査結果を発表した。お産にかかわる医師も約 800 人足りないことがわかった。同省が医師不足の現状を全国調査したのは初めてだ。(月館彩子, 辻外記子, 編集委員・浅井文和)

今回の全国調査では地方と都市部、診療科別の深刻さの違いが浮かび上がった。

都道府県別の必要医師数倍率で医師不足の度合いが大きかったのは島根 (1.24), 岩手 (1.23), 青森 (1.22) の順で地方が目立った。

「数年前から独自で対策を進めてきた。少しずつ不足数を減らすしかない」と島根県の担当者。さらに県内には医師の充足に格差もある。

一方、都市部をみると東京 (1.05), 福岡 (1.07), 埼玉, 神奈川, 大阪 (1.08) と低い。ただ現場の勤務医にはとまどいもある。

庄和中央病院 (埼玉県春日部市) の洞ノ口佳充副院長は「今回の結果は実感と違う」という。同県は

人口 10 万人あたりの医師数が全国最下位の県だ。「埼玉南部は東京の病院に通う人が多いが、今後、高齢化で通えなくなる人が増えてさらに医師不足が深刻になる」と警告する。

診療科別でみると、リハビリテーション科 (1.29) や救急科 (1.28) などで人員不足が目立った。リハビリテーション科は病気や障害がある患者を総合的に診て日常生活に戻す役割を担う。高齢化が進む今、加速的に需要が増えている。

だが日本リハビリテーション医学会理事長の里宇明元・慶応大学教授によると、国内の大学医学部でリハビリテーションの講座をもつのは 4 分の 1 ほどで育成は進まない。現在 1,800 人の専門医に対し学会が必要と試算するのは 4,000 人だ。

埼玉医科大学総合医療センター高度救命救急センター長の堤晴彦医師は「救急医は忙しく、労働時間も長く、訴訟リスクもあり敬遠される傾向にある」という。

(朝日新聞・東京 2010 年 9 月 30 日)

ニュース News

「ノーマライゼーション・障害者の福祉」2010 年 11 月号特集目次

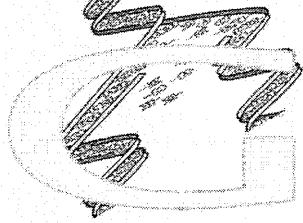
特集・地域生活と防災

- 総論・障害のある人の地域生活と防災(水村容子)
練馬区における災害時要援護者支援の取り組み
— 区民の方々との協働をとおして (練馬区危機管理室防災課)
大阪・城東区地域自立支援協議会の防災の取り組み (八幡隆司)
地域と一緒に作り上げる防災の取り組み (永山昌

彦)

- グループホーム火災にどう対応するか(大西一嘉)
災害に対する私の備え (慎 英弘)
IL センターで避難訓練 (篠原由美)
聴覚障害者の防火・防災対策について(栗野達人)
生活支援センターと地域生活者の防災の取り組み (本田隆光)

No.8



連載：認知症臨床に役立つ生物学的精神医学

脳機能画像と認知症

国立循環器病研究センター病院精神神経科 安野史彦

老年精神医学雑誌 22 : 613-620, 2011

はじめに

脳機能画像は、神経活動を直接に視覚化し、組織レベルでの特定の生物学的過程を定量化できる特性がある。機能画像手法のなかでもポジトロン断層撮影法 (positron emission tomography ; PET) は生体機能画像化技術として、その高い感度と定量性、そして、低い侵襲性により、疾患臨床研究に広く用いられている。多様な PET トレーサにより、さまざまな分子を小動物からヒトまで生体で画像化することができることもその有用性を高めている³⁰⁾。

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease ; AD) をはじめとする認知症においても、神経機能画像によって、神経活動を直接に視覚化し、組織における特定の生物学的過程を定量化することができる。グルコースは、脳活動に必要なかつ主要なエネルギー源であるが、2-[18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG) を用いた PET は、脳糖代謝 (cerebral metabolic rate of glucose ; CMRglc) の定量により神経機能活動を評価することで、AD に関連した脳神経機能の病的変化の検討に使用され、AD の鑑別および診断に有用であることが示されてきた²¹⁾。

また、AD の特徴的病理変化として、アミロイド β ペプチド (amyloid β -peptide ; $A\beta$) の凝集体蓄積が知られている。 $A\beta$ の過剰蓄積による沈

着・凝集が AD の発端であるというアミロイド仮説は AD の病因仮説として提唱されており、治療戦略の理論的基礎ともなっている⁹⁾。近年、生体アミロイドイメージングによる $A\beta$ の定量が可能になり、臨床および基礎的研究に大きな影響を与えている²⁷⁾。また、AD は炎症性疾患の側面ももっており、神経炎症の評価は AD の病態診断および治療評価に重要な役割を果たすことが期待されているが、PET を用いた神経炎症イメージングの手法により、この方面の知見も集積されつつある³³⁾。

I. FDG-PET イメージング

1. アルツハイマー病における FDG-PET 画像

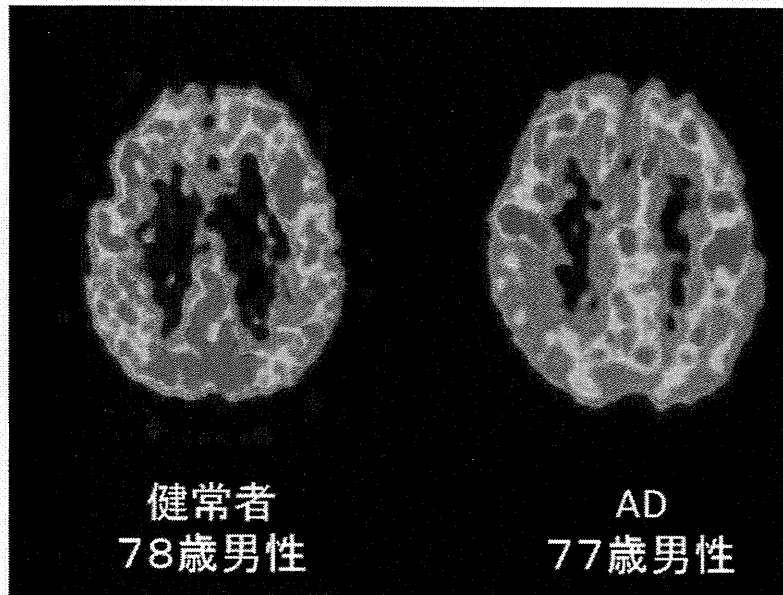
AD の特徴のひとつは、特定の脳領域の CMRglc の明瞭な減少である。AD 患者では、高齢健常者と比較して、脳全体の糖代謝低下とともに、頭頂-側頭葉と後部帯状回において明瞭な局所糖代謝の低下を示すことが報告されている¹⁸⁾ (図 1)。高齢健常者でも、若年健常者に比較して糖代謝低下がみられるが、AD でみられる局所糖代謝低下パターンとは異なり、前頭葉と前部帯状回を中心とした軽度な糖代謝低下にとどまる¹⁰⁾。

糖代謝低下の程度と分布は、AD の発症年齢によっても異なる。後期発症 AD 患者は傍辺縁系領域の代謝機能低下を示すのに対し、早期発症 AD では頭頂-側頭葉を含む皮質領域で顕著な代謝機能低下がみられる³²⁾。

また、AD の縦断的な検討において、持続的で

Fumihiko Yasuno

〒565-8565 大阪府吹田市藤白台 5-7-1



高齢健常者（左）、アルツハイマー病患者（右）。アルツハイマー病患者で頭頂-側頭葉と後部帯状回を中心に局所糖代謝の低下が認められる。

図1 FDG-PET 画像

進行性の CMRglc の減少が示され、減少の程度と分布は症状の大きさと相関することが明らかとなっている。CMRglc の低下は、疾患の進行とともに、脳の後方から前方に広がり前頭葉でも明らかとなる。小脳、視床、基底核領域は、糖代謝低下の少ない領域であり、1次運動野と視覚領野の CMRglc は症状が進展しても、相対的に保持される²⁸⁾。

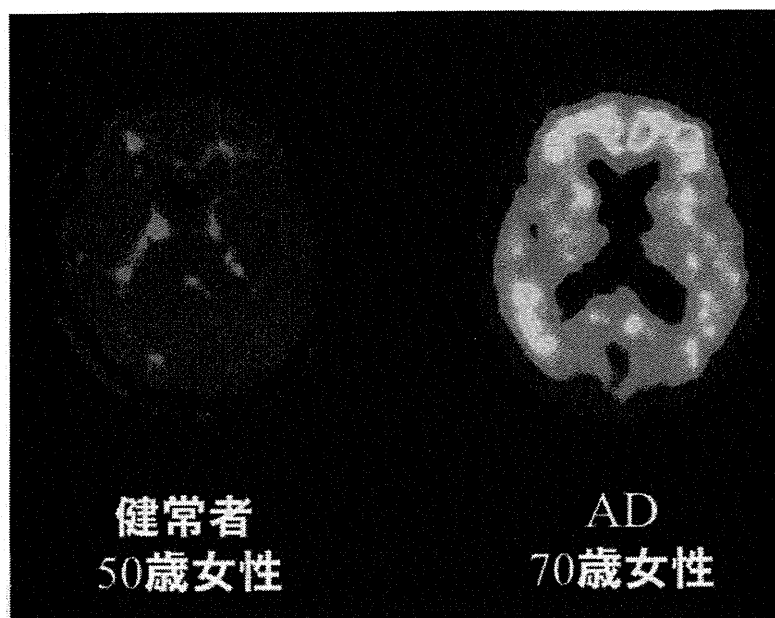
FDG-PET を用いた AD に関する所見は、1980 年代の初めごろより報告が始まり、長期に及ぶ多くの研究の積み重ねにより正確性と再現性については十分なレベルに達しており、糖代謝低下パターンは AD の信頼できる生体内所見として受け入れられている。とくに後部帯状回と頭頂-側頭葉の CMRglc 異常は AD と高齢健常者を鑑別するうえで、高い感度を有する。また、特徴的な CMRglc 低下は AD を他の認知症と鑑別するのに有用である²⁹⁾。

2. FDG-PET と正常加齢から、軽度認知障害、アルツハイマー病への移行
正常加齢から AD への進行を FDG-PET でモニ

ターした研究は少ない。年間 1~3% という低い発症率と、認知機能の進行が長期に及ぶことから、健常者を認知症発症まで追跡するのは、多くの被験者、長期の観察期間、多くの費用を必要とするためである²⁰⁾。

de Leon ら⁴⁾は 48 人の健常者において FDG-PET を受けたのちに 3 年間、経過観察を行い、11 人が軽度認知障害 (mild cognitive impairment; MCI)、1 人が AD に移行したことを報告した。FDG-PET でみられた CMRglc の減少が、83% の感度と 85% の特異度をもって MCI の発症を予測できたという。MCI に移行した群では、その過程で、CMRglc の低下が側頭葉の内側と外側でみられたことを報告している。

Jagust ら¹⁶⁾は健常者において CMRglc の変化を長期間、観察した。60 人の健常者が FDG-PET を受けたのちに 4 年間経過観察され、その間、毎年認知機能について Mini-Mental State Examination (MMSE) で評価を行った。結果は、6 人が認知機能低下を示した。FDG-PET でみられた皮質と海馬領域の CMRglc の低下が早期の認知機能



PIB 陰性の高齢健常者 (左), アルツハイマー病患者 (右). アルツハイマー病患者で, 広範な領域で PIB 集積に反映される $A\beta$ の蓄積が認められる.

図2 PIB-PET 画像

低下と関連していたという。

Mosconi ら²²⁾は 77 人の健常者を 6~14 年間フォローし, 複数回の FDG-PET を行った. 11 人が認知症を発症し, そのうち 6 人が AD と診断され, また 19 人が MCI を発症した. 平均発症期間は 8 年であった. この研究において海馬 CMRglc 低下が将来の認知機能低下と関連することが示され, これにより AD への移行を 81% の精度で予測し得たと報告されている. これらの FDG-PET による検討を総合すると, AD に至る CMRglc の低下は, 発症以前に海馬を含む側頭葉内側に始まり, MCI から認知症に移行する過程で後部帯状回および頭頂-側頭葉を中心とする皮質領域に広がるといえそうである.

II. アミロイドイメージング

1. Pittsburgh Compound-B (PIB)

FDG-PET は AD の診断と鑑別において有用であるが, 疾患特異的な病理過程の検出を可能にする生物学的マーカーをさらに利用することで, AD の診断精度が高まることは明らかである. ア

ミロイドイメージングは, $A\beta$ の過剰蓄積による沈着・凝集が AD の発端であるというアミロイド仮説が AD の中心的な病因仮説のひとつであり, 治療戦略の理論的基礎でもあることから, とくに期待されている生物学的マーカーのひとつである⁹⁾. アミロイドの可視化に使われるトレーサは $A\beta$ 凝集体の β シート構造を認識する化合物で, なかでもピッツバーグ大学の研究者らが開発した Pittsburgh Compound-B (PIB) は現在最も広く用いられており, 剖検脳で示されてきた老人斑が多い部位に顕著な集積が認められる¹⁷⁾(図2).

高い PIB の集積が, 前頭前野, 前楔部, 後部帯状回にみられ, 次いで, 側頭-頭頂皮質と線条体で中等度の集積がある. 1 次感覚運動野や視覚領野, 視床および側頭葉内側部ではあまり集積がみられない. 小脳ではほとんど集積がみられず, 定量解析の際の参照部位として小脳を使用できる根拠になっている²⁶⁾. 臨床診断基準をもとに AD と診断された患者の PIB の陽性率は 80~100%, MCI 患者では約 50% で PIB の集積が認められると報告されている^{20,28)}.

PIBを用いたAD患者の経時的PET研究では、アミロイドの蓄積は数年の観察期間内でわずかな変化しかみられないことが報告されている^{7,15)}。すなわち、AD患者におけるアミロイドの集積は、検査時点までにほぼプラトーに達していると考えることができる。AD剖検脳の所見では、認知機能の低下が軽度の症例でもすでに大量の老人斑が蓄積しており、健忘などの臨床症状が顕在化するかなりの以前からA β の凝集・沈着が始まるものと考えられており、PIB-PETの所見はこの推測によく一致する^{1,10)}。

認知機能低下が明らかになった時点ではアミロイド蓄積がほぼ頭打ちになっていることが示されているが、アミロイド蓄積が、何歳の時点からどのような経過でプラトーに達するかについては明らかではない。Jackら¹⁵⁾は、健常者、MCI患者およびAD患者で経過観察中に、わずかではあるが、一定の比率でPIBの集積増加がみられることから、アミロイドの蓄積および老人斑形成は40歳代くらいに始まり、認知機能障害が顕在化するまで長い年月をかけて緩徐に形成されることを想定している。一方で、AD患者の剖検脳をもとにした研究において、老人斑は発症以前の初期段階で急速に成長し、その後横ばいになるとする意見もあり一致をみない¹³⁾。今後、発症以前のPIBデータの集積によって、明らかにされると思われる。

PIBは半減期が20分の¹¹C標識体であることから、その合成はサイクロトロンを有しているPET施設に限られる。しかし現在開発が進められているアミロイドイメージング剤は製薬会社が合成し配送可能な半減期が110分の¹⁸F標識体で、PETカメラさえあればどこでも検査が行うことができる。とくにアメリカでは¹⁸F]AV-45が治験第Ⅲ相を終了し、近くアメリカ食品医薬品局(FDA)の承認がおりる見込みである³¹⁾。日本においても¹⁸F標識のアミロイドイメージング剤の使用が可能になることが待たれている。

2. 認知機能とPIB結合の関連

PIBと認知機能低下との関連については、一貫した結論がない。ある研究においては、健常者とMCI、ADをすべてまとめて検討すると認知機能はPIB結合と相関するが、個々のグループ内で検討すると関連を認めないとしている²⁸⁾。他の研究では、健常者、MCIで認知機能とPIB結合の間に関連を認めるが、ADでは認めず、認知症者と非認知症者でA β と認知機能の関係が異なることを報告している²⁵⁾。さらに、AD患者での縦断的研究において、疾患初期のPIB-PETにおいて認知機能低下とPIB結合に関連があるのに、症状の進行とともに関係が見いだせなくなることを報告している。また経過中のPIB集積増加もみられないことが報告されている⁷⁾。

総じてアミロイドと認知機能の関係は、ADが進行した段階では比較的弱く、疾患の最初の段階ほど強いといえる。前述したように、A β の集積は早期の段階でプラトーに達したあとは、アミロイド蓄積がほぼ頭打ちとなり数年の観察期間内でほとんど変化しない。このプラトー状態以降は、症状の進行とPIB結合の間の関連が失われるものと思われる。ADにおける認知機能との関連は、アミロイドイメージングよりもFDGイメージングやMRIによる脳萎縮に基づく指標のほうが強く、A β の症状進行への効果は神経病理やシナプスの機能不全を介した脳の構造(MRI)と機能(FDG-PET)の変化によって生ずることが示唆される。

しかしながら、AD患者におけるPIB集積と局所脳構造および機能変化の関係は単純ではない^{6,14)}。側頭-頭頂葉と後部帯状回におけるPIB集積は脳機能低下と萎縮と相関を有するが、前頭葉と線条体におけるPIB集積では関連がみられない。また、PIB集積のみられない海馬と側頭葉内側部で、明らかな機能低下と萎縮がみられる。これらの領域間の差異が、なぜ生ずるのかは十分に明らかではない。仮説としては、前頭葉におけるシナプス予備能が大きいこと、代謝活動量や遺

伝発現パターンの違いによる後部脳領域のアミロイド毒性に対する脆弱性、PIBで評価できない可溶性A β と神経原線維変化による病理の影響などが想定されている。少なくとも、ADの症状と進行は、PIBで評価可能なアミロイド集積のみで説明できない、複合的な要因の結果であることを認識のうえで、個々の患者データを解釈する必要がある。

Ⅲ. 活性型ミクログリアイメージング

死後脳の所見より老人斑や神経原線維変化の周囲では、中枢免疫機能の賦活化やそれに伴う炎症反応と関連したミクログリア細胞の活性化がみられることが明らかになっている²⁾。この活性化ミクログリア細胞のマーカーとして現在注目されているのが末梢性ベンゾジアゼピン受容体(peripheral benzodiazepine receptor; PBR)である。PBRは末梢臓器に分布するベンゾジアゼピン結合部位として発見されたが、脳内ミクログリア細胞のミトコンドリア外膜上にも存在し、ミトコンドリア内へコレステロールやプロトポルフィリンを輸送するキャリアーとしての機能を有し、最近ではtranslocator protein (TSPO)と呼ばれることが多い²³⁾。正常脳内におけるPBRは低密度であるものの、脳外傷や脳炎による活性化ミクログリア細胞においてPBR発現量が著しく増加する²⁾。AD発症や進行に関する分子機構の解明、そして治療のメカニズム検証や副作用のモニタリングにおいて、神経炎症イメージングが有用となりうる。AD患者の臨床PET研究では、PBRを指標としたミクログリアの活性化が生体脳で確認された^{3,33)}。とくに筆者らの結果は、AD患者の脳内グリア細胞の活性化が、発症早期の段階で、脳萎縮や機能低下から予想される範囲を超えて、広範な領域でみられることを明らかにした。AD患者における神経免疫炎症反応は、A β と同様に早い段階でプラトーに達している可能性を見いだしている(図3)。

Ⅳ. イメージングバイオマーカーのアルツハイマー病診断基準への取り込み

2005年からアメリカで始まったAlzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI)などの多施設共同研究によって、髄液のA β 42の低下やアミロイドイメージングといったバイオマーカーの検証が進んだことにより、現在の症状を中心としたADの診断基準にバイオマーカーの所見を取り入れていこうという動きが盛んになってきている。アメリカAlzheimer's Associationによる診断基準の草案では、①AD dementia, ②MCI due to AD, ③preclinical ADに関して検討が進められている¹³⁾。

AD dementiaの診断に関しては、pathologically proved AD dementia, probable AD dementiaとpossible dementiaに分類されるのはこれまでのNINCDS-ADRDA基準と同様であるが、probable ADと診断されるためにはバイオマーカーによる裏づけが必要とされる点で異なっている。Probable ADの診断をサポートするバイオマーカーについては、病態の基礎となる変化を反映したもの(アミロイドイメージング, CSF-A β 42)およびADの病態進行を反映したもの(MRIによる海馬等の容積変化, FDG-PET)が候補として挙げられており、症状が揃っていてもバイオマーカーで診断がサポートされないとpossible ADにとどまるとされる。

MCI due to ADの診断においては、MCI自体の診断はこれまでとおおむね同様であるが、ADを支持するバイオマーカーの有無により、MCI of neurodegenerative etiology, MCI of Alzheimer type, prodromal ADに分類される点で新規である。バイオマーカーがなければMCI of neurodegenerative etiology, ADの病態進行を反映するバイオマーカー(MRIによる海馬等の容積変化, FDG-PET)が陽性であれば、MCI of Alzheimer type, 病態の基礎となる変化を反映したもの(アミロイドイメージング, CSF-A β 42)でサポートされ

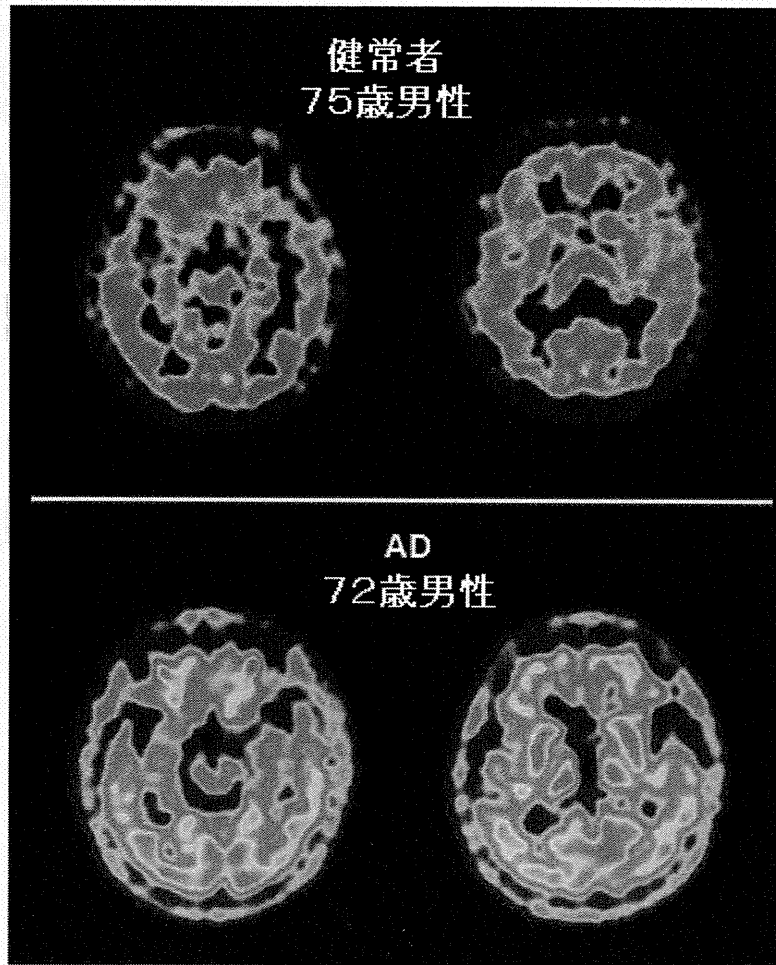


図3 PBR-PET 画像
PBR 発現のみられない高齢健常者（上）と、発現のみられるアルツハイマー病患者（下）。アルツハイマー病患者で、広範な領域で、PBR 発現に反映されるミクログリアの活性化、すなわち中枢免疫炎症反応の賦活が認められる。

図3 PBR-PET 画像

ば prodromal AD とすることが提案されている。

Preclinical AD の診断は、症状が MCI の基準を満たさないレベルであり、かつアミロイドイメージング等でアミロイドの異常集積が証明されることとされている。この基準は、臨床的有用性を目指すものではなく、アミロイド仮説を前提とした AD の病態研究やこれら薬剤の臨床試験を目的としており、診断においてアミロイドイメージングが最も重要なバイオマーカーのひとつとなっている。このように、NINCDS-ADRDA に代わる新たな AD の診断基準において、アミロイドイメージングをはじめとするバイオマーカーによる診断の裏づけが必須となる可能性が高い。また DSM-V

の草案においても AD の診断にはバイオマーカーの活用が強調されており¹²⁾、今後認知症の診断においては分子イメージングが欠かせないものとなっていくと予想される。

おわりに

特異的な病理過程の検出を可能にする生物学的マーカーとしてのアミロイドイメージングが、加齢と認知症の評価において主要な位置を占めつつある。とくに PIB-PET は $A\beta$ 集積に対する感度の高い特異的な診断マーカーであり、発症前から AD の発症可能性を予測できる手法である。現在開発が進められているアミロイドイメージング剤

は製薬会社が合成し配送可能な半減期が110分の¹⁸F標識体で、PETカメラさえあればどこでも検査が行うことができるため、アミロイドイメージングの有用性がより高まることが期待される。将来的には、A β イメージングは、抗アミロイド療法が実用化された際、この療法に適応のある患者の選択に重要な意味をもつことになるだろう。また、ADの診断基準にバイオマーカーの所見を取り入れる動きが盛んになってきており、認知症診断において分子イメージングが欠かせないものとなっていくと考えられる。同時に、FDG-PETやMRIは症状の進行の背景にある脳の機能および器質的变化について評価するうえで、その重要性はさらに高まるものと思われる。現在、免疫炎症反応、可溶性A β 、タウタンパク、アセチルコリンなど、AD病理にかかわる他の側面の生体内バイオマーカーの開発も行われつつあり、ADの病態解明および治療と予防法の確立にさまざまなアプローチを行うことが可能になるだろう。

文 献

- 1) Aizenstein HJ, Nebes RD, Saxton JA, Price JC, et al.: Frequent amyloid deposition without significant cognitive impairment among the elderly. *Arch Neurol*, **65**: 1509-1517 (2008).
- 2) Banati RB: Visualising microglial activation in vivo. *Glia*, **40**: 206-217 (2002).
- 3) Cagnin A, Brooks DJ, Kennedy AM, Gunn RN, et al.: In-vivo measurement of activated microglia in dementia. *Lancet*, **358**: 461-467 (2001).
- 4) de Leon MJ, Convit A, Wolf OT, Tarshish CY, et al.: Prediction of cognitive decline in normal elderly subjects with 2-[¹⁸F]fluoro-2-deoxy-D-glucose/positron-emission tomography (FDG/PET). *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98**: 10966-10971 (2001).
- 5) Dickson DW, Farlo J, Davies P, Crystal H, et al.: Alzheimer's disease; A double-labeling immunohistochemical study of senile plaques. *Am J Pathol*, **132**: 86-101 (1988).
- 6) Edison P, Archer HA, Hinz R, Hammers A, et al.: Amyloid, hypometabolism, and cognition in Alzheimer disease; An [¹¹C]PIB and [¹⁸F]FDG PET study. *Neurology*, **68**: 501-508 (2007).
- 7) Engler H, Forsberg A, Almkvist O, Blomquist G, et al.: Two-year follow-up of amyloid deposition in patients with Alzheimer's disease. *Brain*, **129**: 2856-2866 (2006).
- 8) Foster NL, Chase TN, Mansi L, Brooks R, et al.: Cortical abnormalities in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, **16**: 649-654 (1984).
- 9) Hardy J, Selkoe DJ: The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease; Progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, **297**: 353-356 (2002).
- 10) Herholz K, Salmon E, Perani D, Baron JC, et al.: Discrimination between Alzheimer dementia and controls by automated analysis of multicenter FDG PET. *Neuroimage*, **17**: 302-316 (2002).
- 11) http://www.alz.org/research/diagnostic_criteria/
- 12) <http://www.dsm5.org/ProposedRevisions/Pages/proposedrevision.aspx?rid=421>
- 13) Ingelsson M, Fukumoto H, Newell KL, Growdon JH, et al.: Early Abeta accumulation and progressive synaptic loss, gliosis, and tangle formation in AD brain. *Neurology*, **62**: 925-931 (2004).
- 14) Jack CR Jr, Lowe VJ, Senjem ML, Weigand SD, et al.: ¹¹C PiB and structural MRI provide complementary information in imaging of Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Brain*, **131**: 665-680 (2008).
- 15) Jack CR Jr, Lowe VJ, Weigand SD, Wiste HJ, et al.: Serial PIB and MRI in normal, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease; Implications for sequence of pathological events in Alzheimer's disease. *Brain*, **132**: 1355-1365 (2009).
- 16) Jagust W, Gitcho A, Sun F, Kuczynski B, et al.: Brain imaging evidence of preclinical Alzheimer's disease in normal aging. *Ann Neurol*, **59**: 673-681 (2006).
- 17) Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Wang Y, et al.: Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol*, **55**: 306-319 (2004).
- 18) Minoshima S, Giordani B, Berent S, Frey KA, et al.: Metabolic reduction in the posterior cingulate cortex in very early Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, **42**: 85-94 (1997).
- 19) Mintun MA, Larossa GN, Sheline YI, Dence CS, et al.: [¹¹C]PIB in a nondemented population; Potential antecedent marker of Alzheimer disease. *Neurology*, **67**: 446-452 (2006).

-
- 20) Mormino EC, Kluth JT, Madison CM, Rabinovici GD, et al.: Episodic memory loss is related to hippocampal-mediated beta-amyloid deposition in elderly subjects. *Brain*, **132** : 1310-1323 (2009).
- 21) Mosconi L : Brain glucose metabolism in the early and specific diagnosis of Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med*, **32** : 486-510 (2005).
- 22) Mosconi L, De Santi S, Li J, Tsui WH, et al.: Hippocampal hypometabolism predicts cognitive decline from normal aging. *Neurobiol Aging*, **29** : 676-692 (2008).
- 23) Papadopoulos V, Baraldi M, Guilarte TR, Knudsen TB, et al.: Translocator protein (18kDa) ; New nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function. *Trends Pharmacol Sci*, **27** : 402-409 (2006).
- 24) Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, et al.: Mild cognitive impairment ; Clinical characterization and outcome. *Arch Neurol*, **56** : 302-308 (1999).
- 25) Pike KE, Savage G, Villemagne VL, Ng S, et al.: Beta-amyloid imaging and memory in non-demented individuals ; Evidence for preclinical Alzheimer's disease. *Brain*, **130** : 2837-2844 (2007).
- 26) Price JC, Klunk WE, Lopresti BJ, Lu X, et al.: Kinetic modeling of amyloid binding in humans using PET imaging and Pittsburgh Compound-B. *J Cereb Blood Flow Metab*, **25** : 1528-1547 (2005).
- 27) Rabinovici GD, Jagust WJ : Amyloid imaging in aging and dementia ; Testing the amyloid hypothesis in vivo. *Behav Neurol*, **21** : 117-128 (2009).
- 28) Rowe CC, Ng S, Ackermann U, Gong SJ, et al.: Imaging beta-amyloid burden in aging and dementia. *Neurology*, **68** : 1718-1725 (2007).
- 29) Silverman DH, Small GW, Chang CY, Lu CS, et al.: Positron emission tomography in evaluation of dementia ; Regional brain metabolism and long-term outcome. *JAMA*, **286** : 2120-2127 (2001).
- 30) 須原哲也, 樋口真人, 前田 純, 季 文武: 認知症の分子イメージング. 日本生物学的精神医学会誌, **21** : 261-266 (2010).
- 31) Wong DF, Rosenberg PB, Zhou Y, Kumar A, et al.: In vivo imaging of amyloid deposition in Alzheimer disease using the radioligand 18F-AV-45. *J Nucl Med*, **51** : 913-920 (2010).
- 32) Yasuno F, Imamura T, Hirono N, Ishii K, et al.: Age at onset and regional cerebral glucose metabolism in Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*, **9** : 63-67 (1998).
- 33) Yasuno F, Ota M, Kosaka J, Ito H, et al.: Increased binding of peripheral benzodiazepine receptor in Alzheimer's disease measured by positron emission tomography with [11C]DAA1106. *Biol Psychiatry*, **64** : 835-841 (2008).