

A. 研究目的

Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI)の組織が世界の4極で運営されている。この組織では、健常高齢者、MCIの高齢者、アルツハイマー病(AD)の高齢者の脳を1.5テスラのMRIで継続的に6ヶ月毎に撮像する。3.0テスラのMRIも一部で撮像する。そしてこの結果を今後のADに対する根治療法薬の治験における基準値として用いる。本研究では、MRIを用いた多施設共同研究のために、撮像法および画像処理法の標準化を行った上で、個々の画像データの品質管理を行う。さらに、その後の画像解析のための前処理として信号値の不均一性補正および幾何学的歪み補正を行い高精度の画像解析を行うことを目的とする。本年度は、信号値の不均一性補正および幾何学的歪み補正の妥当性を引き続き検討するとともに、健常高齢者、軽度認知機能障害患者、およびアルツハイマー型認知症患者の縦断的画像解析においてFreeSurferおよびVoxel-based Specific Regional Analysis System(VSRAD)によるVoxel-based morphometry (VBM)を行い、内側側頭部の用手的な容積測定との比較を行った。

B. 研究方法

1) 信号値の不均一性補正および幾何学的歪み補正の妥当性の検証

本研究では数社の1.5テスラのMRI装置が用いられている。MRIによる体積測定のための撮像シーケンスはMagnetization Prepared Rapid Acquisition with Gradient Echo

(MPRAGE)に統一されている。また、撮像断面は矢状段とし、スライス厚は1.2mm、マトリクスサイズも256X256に統一されている。MPRAGEシーケンスは、高い信号対雑音比で、灰白質と白質の高いコントラストを得ることができる。昨年度、信号値不均一性補正のために、頭部コイルとしてphase array coilを用いる場合には、頭部コイルと躯幹部コイルのB1キャリブレーション撮像を行い。この2つのコイルを用いた画像の除算から不均一性補正マップを作製する方法を開発した。さらに、モントリオール神経学研究所の開発した信号値不均一性補正プログラムであるN3ソフトウェアを併用することにより信号値不均一性補正の高精度化を図った。また、画像歪み補正のために、ADNIファントムの160個の球の設計図から歪みのないデジタルデータを作成し、歪みの存在するファントムのMRI撮像データとの変位を計算し、多項式近似を用いて補正を行うソフトウェアを開発した。

この補正法の妥当性を検証するために、ファントム画像を用いて、US-ADNIで用いられた補正法と比較し検討した。US-ADNIでの補正法は装置ごとのコイルデザインから傾斜磁場を推定し非線形成分を補正する方法と、ファントムよりScaling Driftを求めた線形成分の補正を組み合わせたものである。さらに、施設認定時に得られた37施設40人のボランティア脳とADNIファントムの1週間間隔のMPRAGE撮像データにおいて、容積測定の再現性を補正前後で比較した。

2) 用手的な内側側頭部の容積測定

訓練された4人の測定者が、MPRAGE画像を画像解析ソフトウェアであるPMODを用いて、両側の海馬と嗅内皮質を数十スライスにわたってトレースし、容積測定を行った。この結果を、コンピュータによる自動容積測定ソフトウェアであるFreesurferと比較した。

3) FreeSurfer による自動容積測定

Linux上で作動する脳容積自動測定ソフトウェアであるFreeSurferを用いて、健常高齢者、軽度認知機能障害患者、およびアルツハイマー型認知症患者のBaselineから1年後までの脳局所容積および皮質厚を測定し、縦断的に検討した。

4) VSRAD による Voxel-based morphometry

Windows上で作動するVBMソフトウェアであるVSRADを用いて、健常高齢者、軽度認知機能障害患者、およびアルツハイマー型認知症患者のBaselineから1年後までの縦断的解析を行った。なお、VSRADはSPM8のunified segmentationとDARTEL手法を応用した最新バージョンを用いた。

C. 研究結果

1) 信号値の不均一性補正および幾何学的歪み補正の妥当性の検証

ファントムの設計図における基準点と、得られたファントム画像での位置の平均二乗平方根誤差(Root Mean Square: RMS)を各施設で用いられているMRI装置で検討した。補正前はRMSが平均0.903mmであったが、J-ADNI補正法により平均0.261mmとなった。US-ADNI補正法では平均0.439mmであった。各方向における真円度は、補正前が0.969~0.991、J-ADNI

補正法では0.994~0.995、US-ADNI補正法では、0.991~0.994であった。このように、ファントムデータにおいてJ-ADNI補正法はUS-ADNI補正法に優る精度を有していた。

40人のボランティア脳における一週間間隔での再現性の変動率を計測したところ、補正前では、内側側頭部で平均4.0%、全脳灰白質で5.3%、J-ADNI補正を行った後は、それぞれ平均3.8%、平均3.8%となった。再現性の改善率は、内側側頭部で4.3%、全脳灰白質で29.3%であった。

2) 用手的な内側側頭部の容積測定

健常高齢者10人、軽度認知機能障害患者10人、アルツハイマー型認知症初期患者10人の計30人の海馬と嗅内皮質容積測定の結果をFreeSurferの結果と比較した。用手的測定では、左海馬容積、右海馬容積、左嗅内皮質容積、右嗅内皮質容積がそれぞれ、平均2,331ml, 2,407ml, 479ml, 440mlであったが、FreeSurferでは、それぞれ平均3,045ml, 3,108ml, 966ml, 885mlとなった。両方の測定値の相関係数は左海馬容積、右海馬容積、左嗅内皮質容積、右嗅内皮質容積でそれぞれ、0.937, 0.945, 0.765, 0.626であった。

3) FreeSurfer による自動容積測定

健常高齢者106人、1年間で認知症に移行しなかった軽度認知機能障害患者77人、1年間で認知症に移行した軽度認知機能障害患者38人、アルツハイマー型認知症初期患者53人のbaselineと1年後の脳容積をFreeSurferで測定した。海馬容積、嗅内皮質容積、全脳灰白質容積を全頭蓋容積で補正した値および嗅内皮質厚は、健常高齢者、1年間で認知症に移

行しなかった軽度認知機能障害患者、1年間で認知症に移行した軽度認知機能障害患者、アルツハイマー型認知症初期患者の baseline でそれぞれ、左海馬容積で平均 2.5ml, 2.1ml, 1.9ml, 1.9ml, 右海馬容積で平均 2.5ml, 2.1ml, 2.0ml, 1.9ml, 左嗅内皮質容積で平均 0.80ml, 0.66ml, 0.58ml, 0.57ml, 右嗅内皮質容積で平均 0.66ml, 0.59ml, 0.57ml, 0.52ml、左嗅内皮質厚で平均 3.5mm, 3.1mm, 2.8mm, 2.8mm、右嗅内皮質厚で平均 3.7mm, 3.3mm, 3.1mm, 3.0mm、全脳灰白質容積で平均 372ml, 360ml, 352ml, 351ml となった。1年間の萎縮率は、健常高齢者、1年間で認知症に移行しなかった軽度認知機能障害患者、1年間で認知症に移行した軽度認知機能障害患者、アルツハイマー型認知症初期患者でそれぞれ、左海馬容積で平均 0.7%, 2.7%, 4.8%, 5.7%、右海馬容積で平均 0.8%, 3.7%, 6.2%, 4.5%、左嗅内皮質容積で平均 0.6%, 4.2%, 8.9%, 4.3%、右嗅内皮質容積で平均 0.4%, 0.3%, 10.8%, 8.8%、左嗅内皮質厚で平均 0.3%, 2.6%, 6.2%, 4.9%、右嗅内皮質厚で平均 0.7%, 2.0%, 7.5%, 5.1%、全脳灰白質容積で平均 0.5%, 0.9%, 2.5%, 1.9%となった。

4) VSRAD による Voxel-based morphometry

VSRAD による内側側頭部容積の健常者データベースと比較した Z スコアは、FreeSurfer および用手的測定による内側側頭部容積とそれぞれ相関係数で 0.914、0.909 と高い相関を示した。

健常高齢者、1年間で認知症に移行し

なかった軽度認知機能障害患者、1年間で認知症に移行した軽度認知機能障害患者、アルツハイマー型認知症初期患者の baseline での Z スコアはそれぞれ左内側側頭部で、平均 0.69, 1.34, 1.61, 1.91、右内側側頭部で平均 0.88, 1.70, 2.19, 2.44 であった。1年間の Z スコアの増加はこれらの群でそれぞれ、左内側側頭部で、平均 0.04, 0.12, 0.28, 0.31、右内側側頭部で平均 0.03, 0.18, 0.31, 0.30 であった。

D. 考察

今回の J-ADNI 研究で用いられている MRI 撮像プロトコールは、患者脳撮像の他に、毎回ファントム撮像が必要である。毎回のファントム撮像データは、信号対雑音比、コントラスト比、信号値均一性測定、幾何学的歪みなどの測定による MRI 装置の画像品質検定に用いられる他に、得られた脳画像の幾何学的歪み補正に用いられることになる。米国の ADNI 研究では、歪み補正は、各 MRI 装置メーカーから提供される傾斜磁場の歪み情報を用いて行われているが、同一メーカーの同一機種が用いられたとしても、必ずしも同一の歪みがすべての装置で存在するとは限らない。さらに、各メーカーの傾斜磁場の歪み情報に関しては、原則的に非公開となっており、データの取扱が困難である。今回の検討では、毎回得られるファントムデータを用いた J-ADNI の補正法が US-ADNI 法よりも歪み補正において優れていることが確認された。

MRI における幾何学的歪みは、傾斜磁場によるもの、静磁場によるもの、およ

び被験者脳に起因するものがある。今回の ADNI ファントムによる歪み補正では、傾斜磁場によるものの他に静磁場によるものも補正可能である。このように、各施設で標準化された撮像法と高精度の信号値不均一性および幾何学的歪み補正プログラムを用いた前処理が、容積測定の実現性を向上させることが今回確認された。その効果は内側側頭部の容積測定よりも全脳の容積測定でより顕著であった。このことは、幾何学的歪みが頭頂部や頸部で強いことと合致する。

アルツハイマー病では、内側側頭部構造の中でも海馬傍回の最前部である嗅内皮質の萎縮が最も早期にみられることがわかっている。しかし、この嗅内皮質の容積は両側合わせても正常で 2cc に満たない。また、この部位の境界を決定する側副溝などの解剖学的ランドマークに変異が多いことから、用手的な関心領域の設定による嗅内皮質容積の絶対値測定は以前より試みられてきたものの、その測定誤差が大きな問題となっている。嗅内皮質に比べて、海馬は両側合わせると正常者で 7cc 近くあり、境界も嗅内皮質に比べれば明確であるので、数多くの報告がみられる。ただし、アルツハイマー病以外の疾患でも海馬萎縮は高頻度でみられるため、嗅内皮質萎縮よりも特異性に乏しい。アルツハイマー病では、正常加齢に比べ、今回の結果でも明らかなように、内側側頭部の萎縮の進行が特に嗅内皮質においては数倍早いことが知られており、縦断的に測定することが重要である。今回の検討でも、1 年以内にアルツハイマー型認知症に移行した軽度認知機能障害患者はアルツハイマー型認知症よりも高い年間萎縮率を示している。しかし、1 年における萎縮率は 10% 以下のことが多く、海馬においても 0.5cc 未満の

測定精度が要求されることになる。3 次元的に関心領域を精度良く設定できる PMOD などのソフトウェアも開発されてきたが、1mm 前後の数十スライスに関心領域を設定しなければならないことも考え合わせると、内側側頭部容積の用手的測定が今後、普及するとは考えがたい。

この用手的測定に代わって、最近、コンピュータによる脳領域容積の絶対値測定が数多く発表されるようになってきた。最も汎用されているソフトウェアに、今回用いた FreeSurfer がある。このソフトウェアを用いれば自動的に嗅内皮質や海馬容積が算出されるのに加え、全脳領域の詳細な測定値を得ることができる。さらに、今回測定したよう嗅内皮質厚の測定も可能である。今回検討したごとく海馬においては用手的な測定結果と 0.9 を超える相関係数が得られており、用手的な測定に代わりつつある。ただし、問題は 1 症例の測定結果を得るためには通常のコンピュータでは 16 時間ぐらい要すること、脳実質の抽出が不良の場合には測定値の信頼性が落ちるので用手的な修正を加えなければならないこと、Linux ベースのソフトウェアでありハンドリングが難解なことなど、日常臨床で用いられていくためには未だ多くのハードルがある。

VSRAD は脳容積の絶対値を得るソフトウェアではないが、健常者データベースと比較して得られる Z スコアと用手的または FreeSurfer による測定値と 0.9 を超える高い相関が得られ、解析時間も 10 分程度であることから今後、横断的検討ばかりでなく縦断的検討にも用いられていくものと思われる。

E. 結論

ADNI ファントムを用いた幾何学的歪み補正と信号値不均一補正の組み合わせ

は、MRI による容積測定 of 再現性を向上させる。補正後データを FreeSurfer および VSRAD を用いて縦断的に解析することにより軽度認知機能障害およびアルツハイマー型認知症患者において健常者よりも高い年間萎縮率を内側側頭部を中心に検出し得た。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsuda H, Mizumura S, Nemoto K, Yamashita F, Imabayashi E, Sato N, Asada K. Automatic voxel-based morphometry of structural MRI by SPM8 plus DARTEL improves the diagnosis of probable Alzheimer's disease. Am J Neuroradiol AJNR (in press)
- 2) Matsuda H, Imabayashi E. Molecular neuroimaging in Alzheimer's disease. Neuroimag Clin N Am 2012;22:57-65.
- 3) Goto M, Abe O, Kabasawa H, Takao H, Miyati T, Hayashi N, Kurosu T, Iwatsubo T, Yamashita F, Matsuda H, Inano S, Mori H, Kunitatsu A, Aoki S, Ino K, Yano K, Ohtomo K; Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Effects of Image Distortion Correction on Voxel-based Morphometry. Magn Reson Med Sci. 2012;11:27-34.
- 4) Samuraki M, Matsunari I, Chen WP, Shima K, Yanase D, Takeda N, Matsuda H, Yamada M. Glucose metabolism and gray-matter concentration in apolipoprotein E ε4 positive normal subjects. Neurobiol Aging. 2011 Dec 19. [Epub ahead of print]
- 5) Shima K, Matsunari I, Samuraki M, Chen WP, Yanase D, Noguchi-Shinohara M, Takeda N, Ono K, Yoshita M, Miyazaki Y, Matsuda H, Yamada M. Posterior cingulate atrophy and metabolic decline in early stage Alzheimer's disease. Neurobiol Aging. 2011 Aug 18. [Epub ahead of print]
- 6) Takano H, Motohashi N, Uema T, Ogawa K, Ohnishi T, Nishikawa M, Matsuda H. Differences in cerebral blood flow between missed and generalized seizures with electroconvulsive therapy: A positron emission tomographic study. Epilepsy Res 2011;97:225-228.
- 7) Imabayashi E, Matsuda H, Yoshimaru K, Kuji I, Seto A, Shimano Y, Ito K, Kikuta D, Shimazu T, Araki N. Pilot data on telmisartan short-term effects on glucose metabolism in the olfactory tract in Alzheimer's disease. Brain and Behavior 2011;1:63-69.
- 8) Adachi Y, Sato N, Okamoto T, Sasaki M, Komaki H, Yamashita F, Kida J, Takahashi T, Matsuda H. Brachial and lumbar plexuses in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: MRI assessment including apparent diffusion coefficient. Neuroradiology 2011;53:3-11.
- 9) 松田博史. 認知症の診断(2)—認知症の画像診断、高齢者糖尿病と認知症—糖尿病における問題点—. PRACTICE 2012;29:47-53.
- 10) 松田博史. VSRAD-DARTEL を含む 高次脳機能障害の画像診断：特に認知症、AD の早期発見に向けて III. 画像統計ソフトを知る—入手方法、特徴、有用性、課題. INNERVISION 2011;26:29 -32.
- 11) 松田博史. アルツハイマー病の MRI 診断支援ソフトウェア VSRAD®. JAMIT News Letter 2011 ; 4:11-12.
- 12) 松田博史. アルツハイマー病の MRI 診断、特集 パーキンソン病とアルツハイマー病の画像診断. Rad F an 2011;9:50 -52.
- 13) 松田博史. Voxel-based Specific Regional analysis system for

- Alzheimer's Disease (VSRAD)の臨床的有用性 Dementia Japan 2011;25:40 -46.
- 14) 松田博史. 新しい脳血流測定法: Arterial spin labeling 法. 循環器内科 2011;89:475-479.
- 15) 松田博史. 認知症の CT/MRI-VSRAD を中心に. MEDICAL REHABILITATION 2011;132:116-122.
- 16) 松田博史. 認知症の画像診断、臨床と研究 2011;88:674-680.
- 17) 松田博史. 認知症診断における統計画像 (前編)、MRI の VSRAD 解析、PET journal 2011;14:29-31.
- 18) 松田博史. 認知症の MRI 診断. 総合臨床 2011;60:1878-1882.
- 19) 松田博史. MRI を用いた脳萎縮の定量法. 日本臨床増刊号, 認知症学 (上). 2011, 509-514.
- 20) 今林悦子、松田博史. PET/MRI の動向. RadFan 2011;9:70 -72.
- 21) 松田博史. Imaging Medicine Innovation. 認知症画像. CLINICIAN 2011;58:10 -15.

2. 学会発表

- 1) Nakata Y, Matsuda H, Yamazawa J, Kozono J, Maikusa N. MR-based morphometry of medial temporal regions in patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: Japanese Alzheimer's Disease Neurimaging Initiative Study. The 97th Scientific Assembly and Annual Meeting of Radiological Society of North America (RSNA), Chicago, 2011
- 2) Imabayashi E, Matsuda H, Tabira T, Arima K, Araki N, Ishii K, Iwatsubo T Development of voxel-based morphometry using brain CT and application to a comparative study between [11C]PiB positive Alzheimer's disease and PiB negative cognitively normal subjects: Japanese Alzheimer's Disease Neurimaging Initiative Study. The 97th Scientific Assembly and Annual Meeting of RSNA, Chicago, 2011
- 3) Matsuda H, Yamashita F, Maikusa N, Yuasa T, Tanaka K, Iwatsubo T. A new simultaneous geometric and intensity correction method for MRI improves reproducibility in volumetry of brain structures: Japanese Alzheimer's Disease Neurimaging Initiative Study. The 97th Scientific Assembly and Annual Meeting of RSNA, Chicago, 2011
- 4) Imabayashi E, Matsuda H, Kuji I, Seto A, Shimano Y, Ito K. Telmisartan inhibits decline of glucose metabolism in olfactory tract in Alzheimer's disease. The 58th Society of Nuclear Medicine (SNM) Annual Meeting, San Antonio, 2011
- 5) Matsuda H, Imabayashi E, Kuji I, Shimano Y. A new technique for the evaluation of both glucose metabolism and atrophy using brain FDG-PET alone. The 58th SNM Annual Meeting, San Antonio, 2011
- 6) 今林悦子、松田博史、久慈一英、瀬戸 陽、島野靖正、藤島基宣、菊田大介、伊藤邦泰 アルツハイマー病におけるテルミサルタンによる脳糖代謝の変化の検討. 第 51 回日本核医学会学術集会、平成 23 年 10 月 28 日、つくば市
- 7) 瀬戸 陽、松田博史、久慈一英、今林悦子、島野靖正、藤島基宣、菊田大介、伊藤邦泰
頸動脈狭窄患者における認知機能障害と脳血管反応性. 第 51 回日本核医学会学術集会、平成 23 年 10 月 28 日、つくば市
- 8) 松田博史、今林悦子、久慈一英、瀬戸 陽、島野靖正、藤島基宣. FDG-PET のみによる脳グルコース代謝と萎縮の同時評価. 第 51 回日本核医学会学術集会、平成 23 年 10 月 28 日、つくば市
- 9) 松田博史. 認知症画像診断の現状と未来. 認知症の病態理解から診断・治療法へ、第

21 回日本臨床精神神経薬理学会、第 41 回
日本神経精神薬理学会、合同年会、シンポ
ジウム、平成 23 年 10 月 29 日、東京

9) 松田博史、田中健一郎、中田安浩、山下
典生、舞草伯秀、山澤真紀、小園実子、岩
坪 威

海馬および嗅内皮質容積測定における用手的
方法と Free-surfer の比較-J-ADNI 研究.
第 30 回日本認知症学会学術集会、平成 23
年 11 月 11 日、東京

10) 藤島基宣、千田哲子、舞草伯秀、山下典
生、田中健一郎、松田博史、岩坪 威. MRI
の歪み補正および N3 による信号不均一補
正が脳萎縮の経時的変化に与える効果につ
いての検討. 第 30 回日本認知症学会学術
集会、平成 23 年 11 月 11 日、東京

11) 松田博史、中田安浩、山澤真紀、小園
実子、舞草伯秀、田中健一郎、山下典生、
岩坪 威

健常高齢者、軽度認知機能障害、アルツハ
イマー病患者における海馬および嗅内皮質
容積の縦断的測定. 第 30 回日本認知症学
会学術集会、平成 23 年 11 月 11 日、東京

12) 藤島基宣、山下典生、松田博史、桑野
良三、岩坪 威. 髄液バイオマーカーと
APOE ε 4 が脳萎縮に及ぼす影響の解析;
J-ADNI 研究. 第 41 回日本神経放射線学会、
平成 24 年 2 月 2 日、志摩

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

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（認知症対策総合研究事業）
分担研究報告書

J-ADNI コアスタディ：画像・バイオマーカーの解析・活用と臨床研究体制の確立
PET コア活動

研究分担者 伊藤健吾 （独）国立長寿医療研究センター部長

PET コア活動の目的は PET の規範的な研究体制を構築し、J-ADNI PET 研究を遂行することである。本年度は PET コア活動の研究 5 年目として、1) FDG-PET コア、2) PET QC コア、3) アミロイドコアがそれぞれの担当領域を分担して J-ADNI PET 研究を推進した。その結果、FDG およびアミロイド PET 検査のデータが着実に集積されるとともに、検査実施数の増加（2011 年 3 月 30 日現在、ベースライン検査として FDG-PET330 例、アミロイド PET195 例）に対応して PET データの画像解析および関連解析などが着実に進捗した。

A. 研究目的

PET コア活動の目的は J-ADNI で行われる PET 検査 (FDG-PET とアミロイド PET) についてその研究実施体制を整備して、多施設共同研究における PET 検査の標準化と厳密な品質管理を実現し、AD 発症と進行評価の客観指標として PET データの取得を可能にするとともに、得られた PET データの解析を MRI、神経心理検査、生化学マーカーなど他のサロゲートマーカー (surrogate marker) と関連付けて解析し、画像・生化学診断を融合した総合診断体系を世界に先駆けて実用化することである。

B. 研究方法

PET コアとしては伊藤（国立長寿医療研究センター）が PET コア全体と FDG-PET、石井（都立老人研）がアミロイドコアをそれぞれ担当し、千田（先端医療センター）が PET QC コアとして PET 検査の品質管理と標準化、データ解析を実施している。

今年度は PET コアとして以下のような活動を行った。

1) FDG-PET コア

①画像解析における複数の解析法の適用
前年まで使用した AD t-sum 値を log 変換した PET score をあらたに導入して、被験者のカテ

ゴリー別の群間解析を実施した。

②PET を用いた治験における必要最小被験者数の試算

治療薬の治験におけるサロゲートマーカーとしての使用を想定し、1 年間の前後 2 回の測定で、治療効果を検出する場合の必要被験者数を試算した。

③FDG と PiB の組み合わせによる MCI の進行予測

MCI から AD への進行リスクを FDG と PiB の所見から分類されるサブカテゴリーとの関連から検討した。

2) PET-QC コア

①画像の品質管理と PET 画像の品質保証

各施設から提出される PET 画像データと撮像記録をダウンロードして照合しプロトコル逸脱や撮像の失敗をチェックし、PET 画像の品質管理を実施する。

②中央読影の実施

登録時および追跡時の FDG-PET とアミロイド PET の中央読影を実施し、読影結果を各施設にフィードバックする。

3) アミロイド PET コア

①アミロイド PET 画像の解析法、診断法、施設間差の補正法の検討と確立

BF227 の読影指針を定め中央読影を開始する。

アミロイド PET の解析方法についての検討を進める。米欧豪の ADNI データにも適用互換性のある定性・定量診断法を確立し、ベースラインデータの解析を行うと共に、US-ADNI データとの比較を行う。

②アミロイドPET画像とADバイオマーカーとの関連性の検討と意義の明確化

アミロイド PET の結果と遺伝子情報、髄液検査、心理検査、MRI および FDG-PET との比較検討を進める。

C. 結果

今年の PET コア活動の結果は以下のとおりである。

1) FDG-PET コア

①画像解析における複数の解析法の適用

被験者のカテゴリー別の群間解析を PET score を用いて実施し、ベースラインにおいて各カテゴリー間に有意な差があることを確認した。また、MCI で 1 年間の追跡調査データが利用可能であった症例のうち AD に進行した症例は、ベースラインの PET score が有意に高値であった。

②PET を用いた治験における必要最小被験者数の試算

一般線形モデル(t検定)を仮定して検討した結果では、FDG-PET は神経心理検査(MMSE、ADAS)に比べて被験者数を一桁以上減らすことができるという結果であった。

③FDG と PiB の組み合わせによる MCI の進行予測

予備的に ADNI のデータを利用して検討した結果で、MCI においては、PiB と FDG がともに陽性、どちらか陽性、どちらも陰性の順に AD への進行割合が高いことがわかり、J-ADNI のデータでも同様の傾向が確認できた。

2) PET-QC コア

①画像の品質管理方法の開発とPET画像の品質保証

2011 年 3 月 30 日の時点で FDG-PET 検査実施数はのべ 1,119 件、アミロイド PET 検査実施数は同 459 件に達した。このうちベースライン検査としては FDG-PET 検査実施数 330 例、アミ

ロイド PET 検査実施数 195 例である。データクリーニングにおける 問い合わせ件数も順調に減少している。また、「J-ADNI PET QC 手法 (version 1.0) 説明文書」を作成した。

②中央読影の実施

今年度は FDG-PET とアミロイド PET の中央読影を引き続き実施し、読影結果を各施設にフィードバックした。2011 年 12 月 7 日までにベースラインの FDG-PET319 例、PiB-PET157 例の読影が終了した。また、追跡検査については施設からのリクエストに応じて中央読影を実施した。

3)アミロイド PET コア

①アミロイド PET 画像の解析法、診断法、施設間差の補正法の検討と確立

ベースラインデータの解析を行い、PiB の定量評価法 (SUVR) が、中央読影の評価とよく一致していることを確認した。ApoE ε4 の有無と PiB の陽性、陰性との関連では、どのカテゴリーでも ApoE ε4 (+) の方が、PiB 陽性率が高かった。とくに MCI、AD で顕著で ApoE ε4 (+) の場合には PiB 陽性率は 100%であった。また、日米豪の PiB データを統合して解析した結果でも ApoE ε4 のアミロイド蓄積効果が詳細かつ明瞭に示された。

②アミロイドPET画像とADバイオマーカーとの関連性の検討と意義の明確化

PiB 集積と髄液バイオマーカー、CSF Aβ1-42、CSF tau、CSF ptau との関係についての検討では、それぞれで程度の差はあるものの、PiB の陽性・陰性と髄液バイオマーカーの異常・正常は高率に一致していた。

D. 考察

FDG-PET コアの画像の検討は、初期データを対象として予定通り進んでいる。PET score の導入により、縦断的な解析や PiB との対比が容易になるだけでなく、PET データを J-ADNI 全体で利用していく上でも、データベース化とデータの利用に有効と思われる。

治療薬治験の必要被験者数の検討では FDG-PET が被験者数の減少に有効であること

が示唆されたが、今後は多数例での検討、MRI との対比などを進めていく必要がある。

MCI を FDG と PiB の所見で区分すると、PiB と FDG がともに陽性のグループは他のグループに比して AD のリスクが高いことが予想され、今後治療薬治験において被験者選択を行う場合、あるいは効果判定をする際に考慮すべき要素と考えられる。

PET-QC コアによる画像の品質管理方法による PET 画像の品質保証は、多施設共同研究において、標準化され、品質保証された均質なレベルの PET 画像データの取得を可能にするものであり、「J-ADNI PET QC 手法(version 1.0) 説明文書」は J-ADNI 以外の研究でも広く活用できる。また、FDG-PET とアミロイド PET の中央読影も順調に進んでいる。

アミロイドコアでは、ベースラインデータの解析から、ApoE ε4 のアミロイド蓄積に与える効果が明瞭に示された。AD という一つのカテゴリ内でも ApoE ε4 のアミロイド蓄積効果が示されたのは興味深い。日米豪の PiB データに共通の評価法を適用できることを利用して、日米豪のデータを統合して多数の症例で検討が可能になった。世界標準の評価系の策定という ADNI 本来の目的に照らして意義が大きいと考える。

E. 結論

PET コア活動の研究 5 年目として、1) FDG-PET コア、2) PET QC コア、3) アミロイドコアがそれぞれの担当領域を分担して J-ADNI PET 研究を推進した。その結果、FDG およびアミロイド PET 検査のデータが着実に集積されるとともに、検査実施数の増加に対応して PET データの画像解析および関連解析などが着実に進捗した。

共同研究者、研究協力者

先端医療センター：千田道雄 (PET QC コア責任者)、山根登茂彦、清水敬二、井狩彌彦、西尾知之、長井英仁

東京都老人総合研究所：石井賢二 (アミロイドコア

責任者)、石渡喜一

近畿大学：石井一成

西播磨リハビリテーション病院：高橋竜一

先端医学薬学研究センター：松成一朗

筑波大学：根本清貴

国立長寿医療研究センター：加藤隆司、中村昭範、藤原 謙

㈱マイクロン：能勢直子、吉岡由里子、真喜志瑤子

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 論文

1. 加藤隆司, 山田貴史, 藤原 謙, 伊藤健吾
FDG-PET による認知症診断: 3D-SSP と AD t-sum. 特集 2: 認知症診断における統計画像. PET ジャーナル 2011, Summer(14), 23-25, 2011
2. 伊藤健吾 認知症の未病に迫る—アルツハイマー病画像診断の進歩— 未病と抗老化, 20:34-38, 2011
3. 伊藤健吾, 川嶋将司, 加藤隆司 アミロイドイメージングの最近の知見と将来展望 Rad Fan, 9(11):59-61, 2011.

2) 学会発表

1. Fujiwara K, Kato T, Ito K, Hatano K, Okamura N, Yanai K, NCGG Memory Clinic. Spatial normalization using BF-227 template and MRI template. 58th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine (SNM2011), San Antonio, Texas, June 4-8, 2011
2. Fujiwara K, Kato T, Ito K, Hatano K, Okamura N, Yanai K, NCGG Memory Clinic. A newly proposed method to define cerebellar reference region optimized for individual BF-227 PET. 58th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine (SNM2011), San Antonio, Texas, June 4-8, 2011
3. Fujiwara K, Kato T, Ito K, Hatano K, Okamura N, Yanai K, NCGG Memory Clinic, J-ADNI study group.

- A newly proposed method to define cerebellar reference region optimized for individual BF-227 PET: Clinical validation in a multi-center study. Alzheimer's Association International Conference 2011, Paris Porte de Versailles Convention and Exhibition Center, Paris, Republic of France, July 16-21, 2011
4. Ito K. The Role of PET Imaging in Early Diagnosis of Alzheimer's Disease. 5th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2012), Nagoya University ES Hall, Nagoya, March 15-17, 2012
 5. Kato T, Ito K, Hatano K, Fujiwara K, Nakamura A, Washimi Y, Arahata Y, Hattori H, Miura H, Okamura N, Yanai K. Relationship between cerebral glucose metabolism and [C-11] BF-227 accumulation in the stages from cognitively normal to amnesic MCI. Alzheimer's Association International Conference 2011, Paris Porte de Versailles Convention and Exhibition Center, Paris, Republic of France, July 16-21, 2011
 6. Maeno N, Kato T, Fujiwara K, Hatano K, Okamura N, Yanai K, Ito K, NCGG Memory Clinic. An examination of relationship between brain atrophy with VBM-MR images and β -amyloid deposits with BF-227 PET images. 58th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine (SNM2011), San Antonio, TEXAS, June 4-8, 2011
 7. 伊藤健吾, 藤原謙, 加藤隆司. FDG PET の現況と展望. J-ADNI における PET 研究の進歩. 第 12 回日本脳神経核医学研究会, 10 月 27 日, つくば市, 2011
 8. 加藤隆司, 伊藤健吾, 旗野健太郎, 藤原謙, 中村昭範, 三浦久幸, 服部英幸, 新畑 豊, 鷺見幸彦, 岡村信行, 谷内一彦. もの忘れ外来グループ [C-11]BF-227 集積と脳糖代謝変動の関係: 認知機能正常から健忘型 MCI まで. 第 30 回認知症学会学術集会 11 月 11-13 日, 東京, 2011
 9. 伊藤健吾 シンポジウム 2 J-ADNI の現況 5. PET コアー FDG-PET を中心に. 第 30 回認知症学会学術集会, 11 月 11-13 日, 東京, 2011
 10. 藤原謙, 加藤隆司, 伊藤健吾, 旗野健太郎, 岡村信行, 谷内一彦, NCGG memory clinic, J-ADNI BF-227 PET における参照領域設定法の検討. 第 30 回認知症学会学術集会, 11 月 11-13 日, 東京, 2011
 11. 高橋竜一, 石井一成, 石井賢二, 加藤隆司, 千田道雄, 伊藤健吾, 杉下守弘, 岩坪 威. PiB 陽性, 陰性 aMCI における局所糖代謝の検討. 第 30 回認知症学会学術集会, 11 月 11-13 日, 東京, 2011
 12. 高橋竜一, 石井一成, 石井賢二, 加藤隆司, 千田道雄, 伊藤健吾, 杉下守弘, 岩坪 威. PiB 陽性 aMCI における ApoE e4 の PiB 集積や局所糖代謝への効果. 第 30 回認知症学会学術集会, 11 月 11-13 日, 東京, 2011
 13. 伊藤健吾 認知症の診断における核医学診断の有用性と今後の展望. 第 20 回宮城県核医学研究会, 7 月 1 日, 仙台, 2011
 14. 伊藤健吾 認知症の診断における核医学診断の有用性と今後の展望. 第 40 回ライラックカンファレンス, 7 月 8 日, 札幌, 2011
 15. 伊藤健吾 AD 診断基準改定と 認知症 PET の今後. 臨床シンポジウム 1「どう変わる? 認知症 PET」. PET サマーセミナー 2011 in つきじ 8 月 27 日, 東京, 2011
 16. 伊藤健吾 PET によるアルツハイマー病の診断. 喫煙科学研究振興財団研究集会, 2 月 24 日, 東京, 2012
 17. 伊藤健吾 認知症の診断における核医学診断の有用性と今後の展望. 第 5 回中国・四国臨床神経機能解析懇話会 1 月 14 日, 岡山, 2012
 18. 伊藤健吾 認知症の診療における核医学診断の有用性と今後の展望. 第 22 回山陰デジタル画像研究会, 2 月 25 日, 松江, 2012
- H. 知的財産権の出願・登録状

PETデータの解析と標準化

研究分担者 千田道雄 先端医療センター映像医療研究開発部門長

研究要旨

J-ADNI プロジェクトの PET QC コアでは、普遍的な PET データを得るために、施設による差や PET カメラの機種による差が最小となるように検査法と撮像法を標準化し、さらにデータ収集開始後は J-ADNI PET データを逐一チェックして、体動などを補正している。さらにブラインド中央読影を行って、その所見と合わせてデータベース化し、解析研究者に供している。今回は、FDG 画像の体動補正に関して、その有効性を検討した。その結果、脳の PET 撮像における頭部の体動は不可避であり、アルツハイマー病患者のみならず健常者でも補正が必要となる例があることがわかった。われわれが開発した体動補正法によって、体動による脳の放射能値のばらつきが減少し、PET データの品質向上に役立っていると考えられた。

A. 研究目的

アルツハイマー病総合診断体系実用化プロジェクト (J-ADNI) では、全国の参加研究機関にて健常者 (NC)、軽度認知障害 (MCI) 患者および軽度アルツハイマー病患者 (AD) を登録し、6 か月～1 年毎に 2～3 年間、PET (FDG による糖代謝画像と、PiB または BF227 によるアミロイド画像)、MRI、髄液検査、認知機能検査等で追跡することによって、アルツハイマー病におけるバイオマーカーの意義を評価しその基準を構築する。

われわれ PET QC コアは、本年度は PET の検査方法を標準化して品質管理された PET データを蓄積しつつ、PET 画像の体動を評価し、体動補正の効果を検証した。

B. 研究方法

(1) PET データの収集法標準化と QC 作業

PET は撮像施設によって機種が異なり、機種や撮像条件が異なる画像に影響を与えるため、普遍的なデータにするためには標準化が必要である。われわれ PET-QC コアでは、被験者の安静や絶食、

放射能投与量と撮像時間、撮像方法を標準化し、機種毎に画像再構成方法を定めほぼ同等の画像が得られるようにした。次に、各 PET 施設を訪問して、機器の点検校正、検査室の安静環境、検査体制などを確認するとともに、ファントム実験によって PET カメラの性能を確認した。被験者の登録開始後は、各施設にて収集されデータセンターにアップロードされた PET データと撮像記録を逐一チェックした。さらに、フレーム間の体動補正 (次項に詳述) の後、画像の位置を AC-PC に合わせかつ画素サイズを統一して、PET カメラや被験者によらず同様の位置と大きさで表示されるようにした。QC 後の PET 画像は脳の PET のエキスパート 3 名が、ブラインドで視覚的読影評価し、FDG は Silverman の 7 分類 (N1, N2, N3, P1, P1+, P2, P3) (P1 が AD パターン) を用いて集積パターンを分類し、PiB は 3 分類 (陽性、陰性、疑陽性) をおこなった。

(2) 体動の評価と補正

FDG 画像は投与 30 分後から 5 分×6 フレーム＝30 分間収集する。また、PiB (および BF227)

は投与時から撮像するが、50 分後（BF227 は 40 分後）から 5 分×4 フレーム＝20 分間の画像を評価の対象とする。そこで、5 分毎に収集された 6 フレーム（PiB と BF227 は 4 フレーム）の画像間の位置のずれを Neurostat プログラムにて評価し、各フレームの基準フレームに対する体動パラメータ（平行移動 3 つ、回転移動 3 つ、計 6 つ）を抽出した。それを用いて各フレームを剛体変換して体動補正を行ったのち、6 フレーム（PiB と BF227 は 4 フレーム）を加算して 30 分の画像としたが、あまりに体動が大きいフレームは誤差を避けるため加算する際に除外した。

体動を評価するため、FDG の体動パラメータ（6 つ）の大きさを評価し、体動の程度を無から重度の 6 段階に分類した。また、大脳皮質の代表的な部位に関心領域（ROI）を設定し、体動補正によって、フレーム間の値のばらつきがどのように変わったかを調べた。

(倫理面への配慮)

J-ADNI プロジェクトは主任研究者および参加各施設の倫理委員会の承認を得て研究を開始し、被験者からは、本研究のような解析にデータが利用されることも含めて、インフォームドコンセントを得ている。また、データは匿名化後に解析を行っている。

C.研究結果

(1) PET データの収集法標準化と QC 作業

平成 24 年 3 月末までに、340 人の被験者に対して、ベースライン PET 検査が行われた。内訳は NC 108、MCI 143、AD 89 で、このうち 198 人（NC 69、MCI 74、AD 55）にはアミロイド PET 検査（PiB 167、BF227 31）も行われた。また、これらのうち、192 人は 2 年の追跡、43 人は 3 年の追跡検査を終了した。

これらの PET データはプロトコル違反の有無などに関して QC チェックされ、問題がないデータは体動等の補正が行われ、ブラインド中央読

影を経て、結果はデータベースに格納された。

(2) 体動の評価と補正

体動補正の効果を見るために、172 例（NC 81、MCI 55、AD 36）のベースライン FDG 画像に対して、体動の大きさを調べたところ、表 1 のように、NC 群は体動無か軽度の例が多く、AD 群は中等度ないし重度の例が相対的に多かったが、NC 群でも中等度以上の体動を示した例があった。

表 1：体動の程度と例数

体動レベル	NC	MCI	AD	計	
A（無）		13	12	4	29
B（軽度）	45	26	13	84	
C（軽中等度）	16	9	5	30	
D（中等度）	3	5	5	13	
E（重中等度）	4	2	5	11	
F（重度）	0	1	4	5	

次に、フレーム間の ROI 値のばらつきが体動補正によってどのように変わるかを検討した。図 1 のように、体動が重度の例ではフレーム間変動係数（SD/mean）が大きかったが、体動補正によって変動が低下し、体動無の例と同等になり、体動補正の効果が確かめられた。

D.考察

脳の PET 撮像における頭部の体動は不可避免であり、アルツハイマー病の患者のみならず健常者でも補正が必要となる例がある。われわれが開発して J-ADNI にて用いている体動補正法は、体動による脳の放射能値のばらつきを抑制する効果があり、PET データの品質向上に役立っていると考えられる。

E.結論

われわれの構築した J-ADNI での PET の標準化と品質管理の仕組みは有効に機能し、データが着実に集積されている。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

・Ikari et al: Head motion evaluation and correction for PET scans with ¹⁸F-FDG in the Japanese Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative (J-ADNI) multi-center study. Society of Nuclear Medicine 2011 Annual Meeting (米国

核医学会年次大会) San Antonio 2011/6/4-8

・西尾知之他：J-ADNI FDG-PET検査における被験者の体動評価。第51回日本核医学会学術総会。

つくば、2011/10/27-29。

・井狩彌彦他：多施設共同研究 J-ADNI における頭部¹⁸F-FDG PET撮像画像への体動補正処理効果。第51回日本核医学会学術総会。つくば、2011/10/27-29。

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

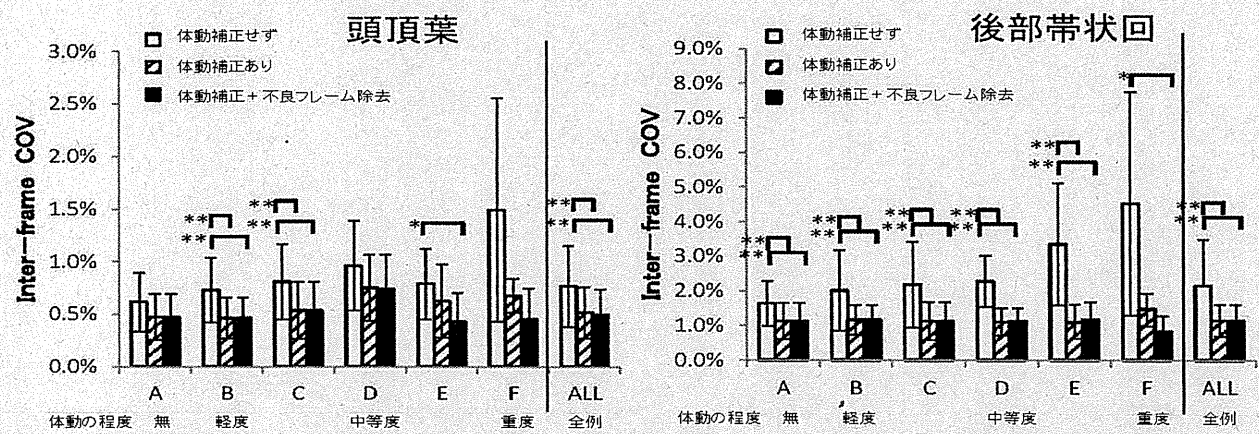


図1：体動補正によるFDG集積のばらつきの減少効果。5分×6フレームのFDG-PET画像にて頭頂葉（左）および後部帯状回（右）に設定したROI値のフレーム間ばらつき（SD/Mean）。棒グラフとバーは平均とSDを示す。体動補正によって、放射能集積測定値のフレーム間のばらつきが減少し、かつ体動の程度に依存しなくなった。 * p<0.05、 ** p<0.01。

分担研究報告書

アルツハイマー病発症と進展の客観的評価法確立のための 多施設縦断臨床研究：J-ADNI コアスタディ

分担研究者 桑野 良三 新潟大学脳研究所 教授

研究要旨

アルツハイマー病の早期診断と病気進行の客観的国際評価基準策定を目標としたバイオマーカー測定法を確立する。脳脊髄液アミロイド β 、タウ、リン酸化タウの測定値が US-ADNI と異なる点を解決するために、測定に影響を与える様々な条件を検討した。

A. 研究目的

認知症は世界全体で4秒に一人が発症し、現在3560万人の患者がいる。我が国においても、団塊世代がもうすぐ後期高齢者の75歳を迎え、罹病率、有病率共に急激に増加することは明白である。アルツハイマー病(AD)をはじめとする認知症の増加は、患者本人のみならず家族を巻き込み、若い世代の労働力を非生産労働に向けざるをえない事態となっている。少子高齢化の時代にあって、医療経済的にも大きな課題である。

ADは、無症候期に脳病変が不可逆的に進行し、病気に気づいた時には、健康な脳に戻れない。従ってAD予備軍を発症前に診断し健康な脳を保つこと、発症した場合は個人ごとに異なる薬の効果や副作用等の薬剤応答性や臨床経過を客観的に反映するバイオマーカーによる評価が重要となって

いる。臨床診断、心理テスト、脳画像データ、生化学検査、ゲノム情報を統合して軽度認知障害(MCI)からAD発症並びに病状進展を客観的に評価する多施設共同の大規模臨床研究 Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (J-ADNI)が進められている。

本研究は、J-ADNI 生化学コアとして6ヶ月ごとに収集する生体試料の保管、脳脊髄液バイオマーカーの測定並びにゲノム情報の取得を行う。J-ADNI 研究に協力された健康高齢者(NL)、軽度認知障害(MCI)、早期ADを対象として脳脊髄液アミロイド β ペプチド($A\beta$)、タウ(tau)、リン酸化タウ(P-tau)を測定し、US-ADNI との比較を行ったところ、測定値は高い相関係数を示すにもかかわらず絶対値が異なっていた。本年度は、国際標準化にむけて脳脊髄液 $A\beta$ 42、tau、P-tau の測定条件の検討を中心に行った。

B. 研究方法

1) 脳脊髄液 Aβ 42、tau、P-tau の測定。

Aβ 42、tau、p-tau の測定は、Luminex システムの多項目同時解析手法（xMAP：Multiple Analyte Profiling）を採用した。Luminex ビーズには 1 次抗体として 4D7A3（Aβ 42）、AT120（総タウ）、AT270（181P-タウ）が固定され、2 次抗体はビオチンラベルされた 3D6（Aβ 42）、HT7（総タウ）、HT7（181P-タウ）を用いた測定キット（INNO-BIA AlzBio3, Innogenetics 社）を使用した。

一次抗体及び二次抗体の反応は 25℃で一晩行い、翌日洗浄・発色して Luminex200 にて計測した。Innogenetics 社の手順に忠実に従って行ったが、米国とわずかに異なる表 1 の parameter 4, 10、解析ソフトウェアおよびシェーカーについて比較検討した。

CSF 測定条件の比較

Parameter	US-ADNI (U-Penn)		J-ADNI (Niigata Univ.)	
	Time or details	Temp	Time or details	Temp
1. CSF Samples outside the freezer	40 - 45 min	23 - 24	30 - 40 min	25 - 27
2. Vortexing (every single sample and Corjugate 1)	10 sec	23 - 24	5 sec	25 - 27
2-2. Spin down the CSF samples	-	-	3000 rpm, 1 min	25 - 27
3. Vortexing just before plating	2 - 3 sec	23 - 24	5 sec (Standard & Control)	25 - 27
4. Vacuum pressure/ time	9 - 10 in-Hg/5 sec	23 - 24	1-2 in-Hg/ 5 sec	25 - 27
5. overnight incubation (covered by aluminum foil) time	17 - 17.5 H	23 - 24	16 - 18 H	25
6. Detection Corjugate incubation time	60 min	23 - 24	60 min	25
7. Reading solution incubation time	2 min	23 - 24	2 - 5 min	25 - 27
8. Coated Beads vortexing and sonification	10 sec + 3 min + 10 sec	23 - 24	10 sec + 3 min + 10 sec	25 - 27
9. Reagents outside until preparation	at least 30min	23 - 24	at least 30 min	25 - 27
10. Incubation before dilution of the wash solution 25x in H ₂ O	30 min incubation of stock in water bath	37	leave at room temperature at least 30min	25 - 27
11. Standards preparation	7th standard preparation using 6th std (1/3 dilution)		7th standard preparation using 6th std (1/3 dilution)	25 - 27
Instrument	Luminex 200		Luminex 200	
Software	IS 2.3		xPONENT 3.1	
Plate shaker	Orbital shaker (600rpm)		Reciprocal shaker (37strokes/min)	

表 1

2) 倫理面への配慮

本研究は新潟大学医学部の臨床倫理委員会及び遺伝子倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

1) J-ADNI 検体

NL (54)、MCI (92)、AD (43) の脳脊髄液を使用して Aβ 42、tau、P-tau の quadruplicate 測定の結果、Aβ 42 は NL で高く MCI から AD になると低値を示した。逆に、tau、P-tau は NL で低く MCI から AD で高くなった。これらの測定値は、NL、MCI、AD の状態を反映し統計的に有意（p < 0.0001）であった（図 1）。

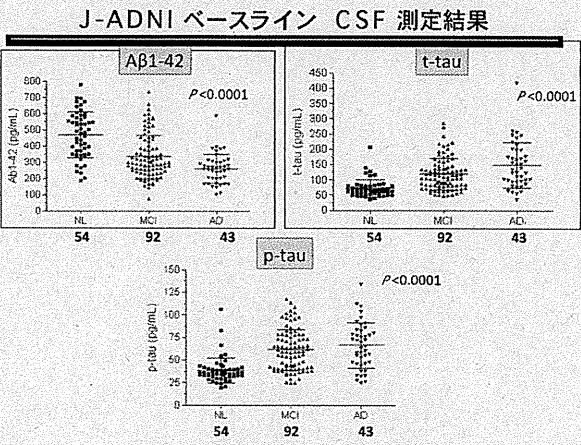


図 1

NL と AD を区別するカットオフ値を算出するために ROC 解析を行った結果、Aβ 42: 333pg/ml, tau:93 pg/ml p-tau;45pg/ml が得られ、いずれも高い感度、特異度を示した。NL、MCI、AD

ROC curve parameters

Cut off values between Normal and AD					
	Aβ 1-42	t-tau	p-tau	t-tau/ Aβ 1-42	p-tau/ Aβ 1-42
ROC AUC	0.906	0.843	0.831	0.961	0.943
Cut off	333	93	45	0.22-0.24	0.13-0.15
Sensitivity (%)	89	74	80	97	94
Specificity (%)	87	89	89	91	89

Cut off values were not clearly determined between MCI and normal or AD

表 2

につれて低下する Aβ 42 に対して、上昇する tau, P-tau の比はさらに明確に病態を区別し、感度、特異度共に 90%を超えた（表 2）。ROC 解析で MCI と AD を明瞭にわけ

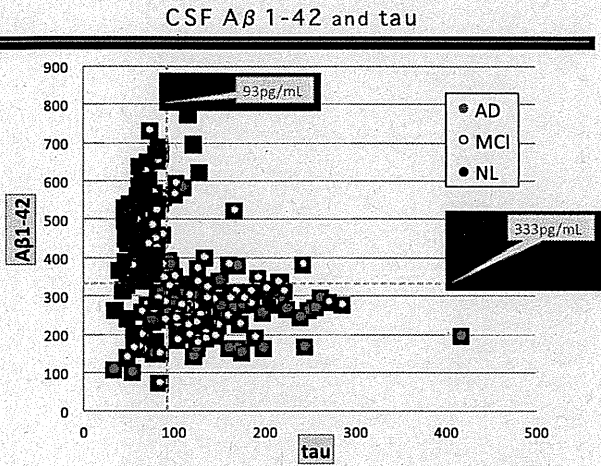


図 2

は、各検体の Aβ 42、tau、P-tau 値をプロットした図 2 に示すように、NL、AD 群は、Aβ 42、tau のカットオフ値（図 2 点線）で NL ゾーンと AD ゾーンに分けられたが、MCI 群は両ゾーンに存在することからも理解できる。

2) J-ADNI 検体測定と US-ADNI 測定値の比較。

J-ADNI でベースライン採取した脳脊髄液、NL、MCI、AD について、Aβ 42、tau、P-tau を測定した。US-ADNI と比較するために、J-ADNI で採取した 20 検体を US-ADNI バイオマーカーコアのペンシルベニア大学の L. Shaw 教授にも測定を依頼した。

その結果、J-ADNI の測定値は Aβ 42 に関しては 2.2～2.5 倍、tau は 1.4～1.6 倍、P-tau は 1.1～1.4 倍の US-ADNI と比較して高かった（表 3）が、両者は非常に高い相関係数を示した。そこで US-ADNI と J-ADNI でアッセイ操作が異なる箇所および測定絶

対値に影響を与える可能性のあるステップを一つ一つ検討した。

Comparison between J-ADNI and US-ADNI

	J-ADNI mean±SD	Cut off	US-ADNI mean±SD	Cut off	J-ADNI/US-ADNI ratio
Aβ 1-42 (pg/mL)					
NL (n=7)	467±126		194±47		2.4
MCI (n=6)	283±91	333pg/mL	112±35	192pg/mL	2.5
AD (n=7)	212±77		93±23		2.2
t-tau (pg/mL)					
NL (n=7)	67±30		44±26		1.6
MCI (n=6)	120±48	93pg/mL	83±33	93pg/mL	1.4
AD (n=7)	119±73		76±44		1.5
p-tau (pg/mL)					
NL (n=7)	34±10		26±8		1.4
MCI (n=6)	66±25	45pg/mL	55±23	23pg/mL	1.2
AD (n=7)	59±25		54±21		1.1

表 3

3) バキューム圧の検討

サンプルをプレートに入れる前処理と反応後の洗浄に陰圧にして溶液を吸引する。我々は 1-2 inHG で十分余分な溶液を除くことができたが US-ADNI は 9-10inHG にしていた（表 1-4）。吸引圧をかえてみたが顕著な差はなかった（図 3）。

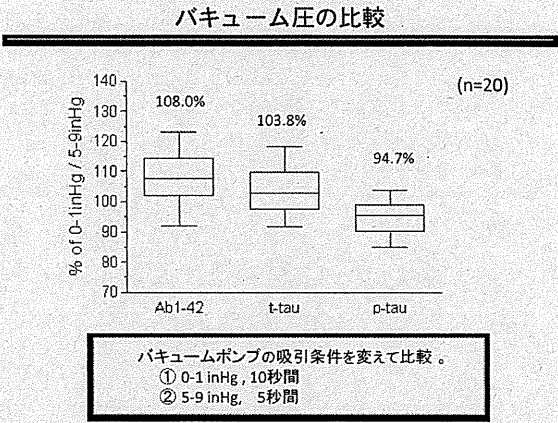


図 3

4) シェーカーの検討

抗体反応を行う間は、抗体ビーズが脳脊髄液と均一に混ざる必要がある。われわれは、横揺れのレシプロローカルシェーカーを使用していたが、US-ADNI では渦巻き型のオービタルシェーカーを使用している。そこ

で、2 つのシェーカーの比較を行った。2 つのシェーカーによる差はレシプロカルシェーカーの方が若干高い値であった(図 4)。

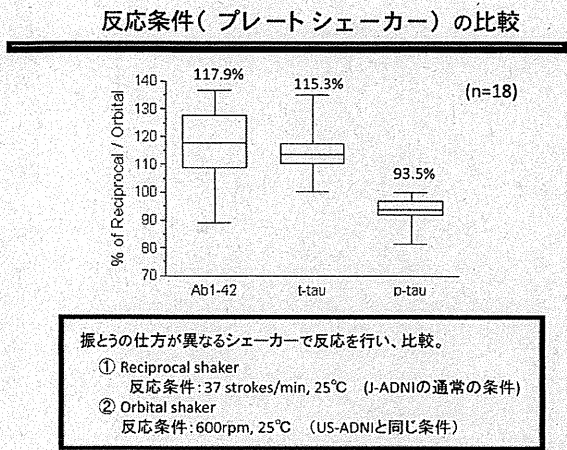


図 4

また反応温度は、単なる室温では季節や節電等による空調温度がばらつくので、低温チャンバーにシェイカー付きインキュベータを入れて厳密に 25°C にした。

5) 装置の比較

反応液の流路、レーザーの角度、フローセルの位置・・・測定装置 Luminex の“くせ”は無いかを検討した。同じ検体で同時に抗体反応を行

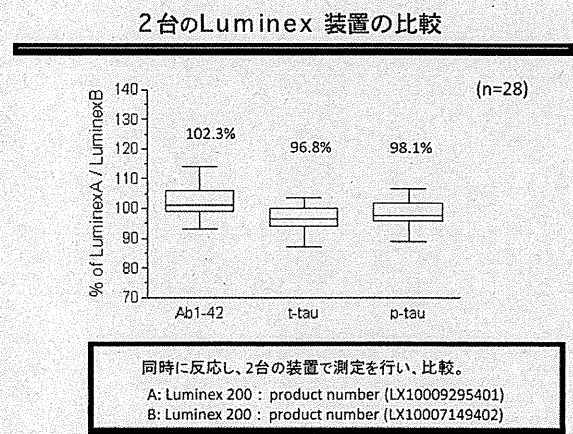


図 5

い、Luminex 製造 Lot 番号の異なる 2 台を同じ部屋に置いて測定した。測定装置によ

る差は殆どなかった (図 5)。

6) 試薬ロットの比較

US-ADNI と J-ADNI で 2 倍以上の差を説明できる測定機器や条件が見いだせなかったので、アッセイキットのロットを比較してみた(図 6)。検討した 3 キットの内で最大の差は 21% であった。

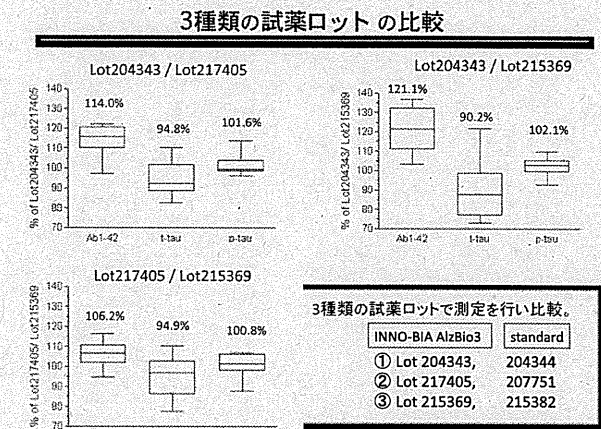


図 6

プレート洗浄に使用する“水”について、市販 DW (Invitrogen) とミリ Q 水 (新潟ラボ調製) の比較を行った。ミリ Q 水が市販の水より高い値であった (表 4)。

7) 解析ソフトの比較

US-ADNI との比較において、両者の相関係数が $r=0.967$ 以上であること、ラボ内の測定値の再現性は非常に高いことから、実測した値を変換する検量曲線作成ソフトのバージョンが異なる点について検討した。L. Shaw 教授らが測定した生データを、我々が使用しているソフト xPONENT3.1 と同等で外部データが処理できるソフト MILLIPLEX で計算させた結果、US-ADNI で使用ソフト (IS2.3) の値となった。

8) 国際 QC プログラム

脳脊髄液中の Aβ 42、tau、P-tau 測定プラットフォームが ELISA と xMAP Luminex では測定値は当然異なると思われるが、同じ測定法によってもラボ間による差は、国際標準作成を進めるにあたって大きな問題となる。そこで、世界の複数のラボで、QC プログラムを実施している。我々は Lab65 である (図 7)。QC プログラム推進本部から提供される検体を指定された期間内に測定して報告し世界全体のデータが集計される。これによると、我々だけが特別に高い測定値ではない。

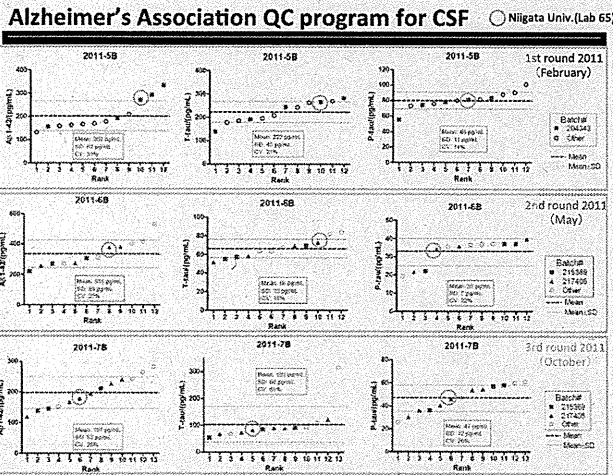


図 7

D. 考察

脳脊髄液中の Aβ 42、tau、P-tau 測定値は、NL、MCI、AD 群間をよく反映するバイオマーカーとなることが解った。NL、AD を判定するカットオフ値を設定することができた。NL から AD へ移行する段階の MCI は、NL あるいは AD との間に明確なカットオフ値を設定できなかった。

しかし、この測定の絶対値を使用するカットオフ値が US-ADNI と 1.5~2.5 倍も異なる点について、可能性のあるアッセイ手

技、条件、測定機器の検討を行った。それぞれについて、相関解析を行った (図 8)。最も低い相関係数でも r=0.97 以上であったので、測定の手技、実験誤差、個人誤差では説明できない。一つ一つは、

測定手技の相関解析

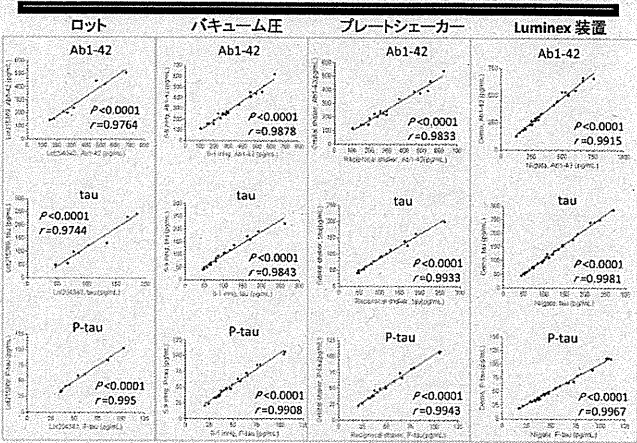


図 8

20%以内の差であるが、水以外の増加を掛け合わせると Aβ 42、tau、P-tau 測定値がそれぞれ 1.79、1.02、0.92 倍となる。水に関しては、US-ADNI は何を使用しているか不明なので、確認

測定条件の影響

検討を行った測定条件

条件	ロット	バキューム圧	シェーカー	装置	ボルテックス	水
①	Lot204343	0-1 inHg	Reciprocal	Niigata	vortex(-)	DW
②	Lot215369	5-9 inHg	Orbital	Demo	vortex(+)	MilliQ
サンプル数	8	20	20	28	2	4

※条件①がJ-ADNIの測定条件

まどめ①	条件①/②	条件①/②	条件①/②	条件①/②	条件①/②	条件①/②	全ての値	水以外の値
	ロット	バキューム圧	シェーカー	装置	ボルテックス	水		
Aβ 42	1.21	1.08	1.18	1.02	1.14	0.88	1.54	1.79
tau	0.9	1.04	1.15	0.97	1.04	0.74	0.80	1.09
P-tau	1.02	0.94	0.94	0.98	1.04	0.95	0.87	0.92

まどめ②	条件①/②	条件①/②	条件①/②	条件①/②	条件①/②	条件②/①	全ての値
	ロット	バキューム圧	シェーカー	装置	ボルテックス	水	
Aβ 42	1.21	1.08	1.18	1.02	1.14	1.16	2.08
tau	0.9	1.04	1.15	0.97	1.04	1.37	1.49
P-tau	1.02	0.94	0.94	0.98	1.04	1.05	0.96

表 4

をする必要がある。US-ADNI と同じ検体、同じアッセイキット、同じ条件、で測定するプログラムが現在進行中である。また、脳脊髄液バイオマーカー測定の国際 QC プログラムに参加しているので、必ず科学的な答えが得られるであろう。

E. 結論

健常者からMCIをへてADに移行する客観的な診断基準を策定するに当って、生化学コアのバイオマーカーとして、脳脊髄液中のA β 42、タウ、リン酸化タウ濃度測定は非常に有効であることが示された。しかし、国際的なインターラボ間における測定の絶対値を統一して評価する課題が明確になった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ikeuchi T, Imamura T, Kawase Y, Kitade Y, Tsuchiya M, Tokutake T, Kasuga K, Yajima R, Tsukie T, Miyashita A, Sugishita M, Kuwano R, Nishizawa M. Evidence for a Common Founder and Clinical Characteristics of Japanese Families with the MAPT R406W Mutation. *Dement Geriatr Cogn Disord Extra*. 1:267-275. (2011)
- 2) Komatsu J, Ono K, Yanase D, Samuraki M, Shima K, Kuwano R, Matsunari I, Yamada M. Imaging Findings of Familial Dementia with a Tau R406W Mutation. *Acta Neurol. Belg*. 111:374 -375(2011)
- 3) Kakuda N, Shoji M, Arai H, Furukawa K, Ikeuchi T, Akazawa K, Takami M, Hatsuta H, Murayama S, Hashimoto Y, Miyajima M, Arai H, Nagashima Y, Yamaguchi H, Kuwano R, Nagaike K, Ihara Y; the Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Altered γ -secretase activity in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *EMBO Mol Med*. 4:344-352. (2012)

- 4) 久徳 弓子, 宮崎 裕子, 山下 陽三, 桑野良三, 村上 龍文, 砂田 芳秀. 健忘症状で気づかれた 17 番染色体に連鎖したタウ遺伝子変異による家族性前頭側頭型認知症パーキンソニズムの 1 家系. *臨床神経学* 52(2):73-78 (2012)

2. 学会発表, シンポジウム

- 1) Miyashita A, Saito Y, Hatsuta H, Tsukie T, Murayama S, Ihara Y, Kuwano R. Gene expression profiling in the postmortem brains classified by Braak neurofibrillary tangle staging. AAIC 2011, Paris, 2011/7/16 -21
- 2) Ishii K, Sakata M, Oda K, Toyohara J, Ishiwata K, Senda M, Ito K, Kuwano R, Iwatsubo T, Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, AIBL Research Group. Age, APOE e4 and ethnic effect on [C-11]PIB in multinational ADNI studies: direct comparison of J-ADNI, US-ADNI and AIBL data. AAIC 2011, Paris, 2011/7/16-21
- 3) 月江珠緒, 宮下哲典, 池内健, 高橋智, 桑野良三. 脳脊髄液中のアミロイド β 、総タウ、リン酸化タウ測定条件の検討. 第 41 回新潟神経学夏期セミナー, 新潟, 2011/7/29 -31
- 4) 桑野良三, 宮下哲典, 小池麻子, 西田奈央, 徳永勝士, 山本健, 辻省次, 井原康夫. 第 34 回日本神経科学大会, 横浜. 日本人における晩期発症型アルツハイマー病の GWAS (Genome-wide association study of late-onset Alzheimer's disease in Japanese), 2011/9/14 -17
- 5) 桑野良三. 脳脊髄液中の生化学マーカーの変動, BioJapan2011, 横浜, 2011/10/5 -7
- 6) 月江珠緒, 宮下哲典, 池内健, 中谷明弘, 桑野良三, 岩坪威, J-ADNI, 脳脊髄液中のアミロイド β 、総タウ、リン酸化タウの測定 BioJapan2011, 横浜, 2011/10/5 -7