

J-ADNI2プレクリニカルAD研究

プロジェクトリーダー・岩坪威  
東京大学大学院医学系研究科 神経病理学・医学部附属病院 早期・探索開発推進室 教授  
バイオテクノロジー開発技術研究組合

### 研究要旨

本邦における認知症患者数は462万人を超え、その半数以上はアルツハイマー病（AD）によるものと目されており、ADに対する根本治療法（disease-modifying therapy; DMT）の開発は急務となっている。ADのDMTの薬効評価基準の最適化を行うために、ADの病態を忠実に反映するバイオマーカーが求められているが、最近のDMTの第III相試験の結果はいずれも症候エンドポイントを満たさず、不成功に終わっており、より早期の介入が求められている。そのため、バイオマーカーとしてもより早期の病態に即したものが必要となっている。

早期の病態としてはMCI以前に「アミロイドPET陽性もしくは脳脊髄液Aβ(1-42)により検出可能な、ADの病理変化はあるが認知機能は正常な時期（プレクリニカルAD）」が提唱されているため、本研究でもプレクリニカルADの実態を把握し、超早期のバイオマーカー確立のために研究を開始した。

今年度、プレクリニカルADを対象とした本邦における初めての縦断的研究の位置づけとして実現可能性を重視したプロトコルを立案し、手順書やワークシート策定を行った。また、データの精度の向上のためにデータマネジメントの人員配備・指揮体制を練った上で、データセンターを東京大学医学部附属病院臨床研究支援センター内に設け、データマネジメントに関わる手順書・チェックリスト等の文書化を行い、プレクリニカルADスタディ内の2段階のスクリーニングに備え、遅滞ないデータQCの流れを作り上げた。また、MRI検査においては、3テスラの高磁場MRIを用いて病理学的変化を忠実に反映する構造的撮像法のみならず、MRIによる機能的撮像法の多施設共同研究のための標準プロトコルおよび品質管理体制を確立した。PET検査では、アミロイドPETをプレクリニカルADのスクリーニングに用いるため、<sup>11</sup>C-PiB, <sup>18</sup>F-Florbetapir, <sup>18</sup>F-Flutemetamolの3薬剤を用い、結果を迅速に報告する仕組みを構築した。また、ファントムを用いてPETカメラ毎に撮像条件を決定する基準を決め、PET画像の読影判定方法も定めた。アミロイド試薬の合成環境を整備し、PET画像の中央読影支援のための遠隔読影システムの導入、PET施設の施設認定も推進した。

さらに、生化学コアでは、被検者に対し血液・生化学検査、尿検査、脳脊髄液検査、ゲノムDNA解析、末梢血由来RNA解析、リンパ芽球セルライン作製を実施する。また、末梢血由来のRNAの採取、プレクリニカルADにおける網羅的な遺伝子発現解析も追加実施することとした。生体試料のロジスティックはJ-ADNIから継続した体制を維持し、新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センターにおいて生体試料の管理・維持を適切に行う体制を整えた。

加えて、全国共同研究の環境整備の一環として、J-ADNI1で構築したVPN専用回線網を拡張し、新たに参画した施設とのネットワークを構築した。

### A. 研究目的

ADに対する根本治療法（disease-modifying therapy; DMT）の開発は急務となっており、ADのDMTの薬効評価基準の最適化を行うために、

ADの病態を忠実に反映するバイオマーカーが求められているが、最近のDMTの第III相試験の結果はいずれも症候エンドポイントを満たさず、不成功に終わっているため、より疾患早期の介入が求めら

れている。そのため、バイオマーカーとしてもより早期の病態に即したものが必要となっている。2011年に米国NIAにより制定された新しいADの診断ガイドラインにおいて、MCI due to ADに先行する時期としてpreclinical(プレクリニカル)ADが定義された。プレクリニカルADとは、アミロイドPET陽性、あるいは脳脊髄液Aβ(1-42)の低値から、AD病理が示唆されるが、無症候な段階をさす研究的診断区分であり、AD、MCI due to ADの発症前期を表す可能性が想定される。しかし、どのような特徴を有するプレクリニカルAD例が進行のリスクが高いかなどの重要な問題は未解決である。

このような理由から、J-ADNI2研究において、AD発症最初期過程と仮想されるプレクリニカルADの実態把握、ADの早期バイオマーカー探索等を目的としてプレクリニカルADの長期縦断観察研究を実行する。

## B. 研究方法

### (1) 臨床コア

プロトコルの策定並びに手順書、症例報告書、認知機能検査ワークシート等を作成する。また、東京大学医学部附属病院臨床研究支援センターにデータセンターを立上げ、関係各機能との連携体制を整備する。

### (2) MRIコア

標準撮像法プロトコルおよび品質管理体制および幾何学的歪み及び信号値不均一性の画像補正法等を確立する。

### (3) PETコア

アミロイドPET薬剤並びにPET撮像施設を選定し、院内製造のセットアップを実施する。また、アミロイドPET薬剤毎に読影の基準を設定し、読影体制を構築する。

### (4) 生化学コア

プロトコルの策定並びに手順書作成、生体試料採取資材の準備を行う。また、生体試料の保管・管理体制の整備を実施する。

### (倫理面への配慮)

J-ADNI2プロジェクトはまず主任研究者の機関(東京大学)にて倫理審査を受け、ついで参加

各施設にて倫理委員会の承認を得たところから研究を開始している。被験者からは、スクリーニング検査の前にインフォームドコンセントを得ている。また、データは匿名化されて扱われる。

## C. 研究結果

### (1) 臨床コア

#### プロトコルの策定

プレクリニカルADスタディにて最も重要なのは対象とする被験者の選択である。対象年齢は65~84歳とし、2割程度の終了前中止・脱落を見込んだ場合に統計的に意義のある研究とするためには、アミロイド陽性・陰性群とも150名程度の組み入れが望まれる。追跡期間は3年とし、1年毎の来院評価とした。

新規の認知機能検査として、プレクリニカルADで見られる可能性がある軽微な認知機能障害の検出のためにFree and Cued Selective Recall Testを、主観的な認知機能障害を測るために注目されている自己認知機能評価Everyday Cognitionを取り入れた。

J-ADNIの被験者への結果開示については、APOE遺伝子型を除く特殊な解析を必要としない全ての検査結果については希望者に開示する方針とした。

#### 手順書、症例報告書、認知機能検査ワークシートの作成

手順書は臨床施設における各ビジットの実際の流れを重視して作成した。

認知機能検査はJ-ADNI内で使用されたものを含め、既に出版されているWAIS、WMS-Rを除き翻訳の精度を高め、ワークシートを作成した。

#### データセンターの体制・連携体制の整備

東京大学医学部附属病院臨床研究支援センターと契約を締結し、データセンターを立ち上げた。データセンターではデータのQCに関する手順書やマニュアルを作成し、記録の保管を徹底するようにした。また、重篤な有害事象の取扱いや例外申請など主任研究者との速やかな連携も必要であり、臨床コア幹事がITコアPI補佐を兼任してデータセンターを監督することで、情報共有しやすい体制を整えた。

## (2) MRIコア

### 標準撮像法プロトコルおよび品質管理体制の確立

構造的撮像法に関しては、GEがIRSPGR, その他のベンダーはMPRAGEシーケンスを用いることで標準化した。機能的撮像法に関しては、SiemensがResting state functional MRI(rs-fMRI), GEがArterial Spin Labeling (ASL), PhilipsがDiffusion Tensor Imaging (DTI)とし、それぞれに撮像法を標準化した。また、全国12施設で施設認定を実施した。

### 幾何学的歪み及び信号値不均一性の画像補正法等の確立

1.5Tesla MRIよりも幾何学的歪み及び信号値不均一性が強い3 Tesla MRI装置により得られた画像に対して、既に確立したファントムを用いた補正を行い、測定精度の再現性を検証した。その結果、補正により1.5T MRIと同程度の再現性を確保できた。ファントムによる歪み補正法は世界に先駆けて開発したものであり、論文発表を行った。

根治治療薬の効果によりアルツハイマー病において海馬萎縮を1年間で25%改善する場合の最低限のサンプルサイズを求めた場合、幾何学的歪み補正により255人から148人に減らせることを確認した。歪み補正がサンプルサイズの縮小に貢献することを世界に先駆けて証明した。

rs-fMRIにはField Map撮像の追加を行い、Echo Planar Imagingによる歪みを補正することとした。

ASLに関しては、Post Label Delay時間を2種類設定し、高齢者での通過時間の遅延に対処することとした。

DTIに関しては、2mmスライス厚での30から32軸撮像とし、テンソル測定精度を向上させることとした。

## (3) PETコア

### アミロイドPET薬剤の選定

J-ADNI2で用いるPET薬剤として、 $^{11}\text{C}$ -PiB(半減期20分),  $^{18}\text{F}$ -Florbetapir(半減期110分),  $^{18}\text{F}$ -Flutemetamol(半減期110分)の3薬剤を用いる方針を決めた。

### PET撮像施設の選定とセットアップ

全国のJ-ADNI2被験者登録臨床機関の被験者

すべてに対して実施できる体制の構築を図った。そのために、「アミロイドPET空白地域」であった北海道、中国、九州地方にアミロイド実施可能PET施設を整備し、沖縄を除くすべての地方に最低1つのアミロイドPET実施施設を整備できる見通しとなった。

GEヘルスケア・ジャパン社製のPET検査用薬剤合成装置「FAST lab」を全国6医療施設に導入し、検査機器を必要とする施設には検査機器も導入し、 $^{18}\text{F}$ -Flutemetamol合成の基盤を構築した。

PETマニュアルを作成した。また、PET施設の施設認定を全国の8施設において実施した。

### 撮像方法と読影方法の決定

各薬剤に関して、放射能投与量、待機時間、撮像時間を決めた： $^{11}\text{C}$ -PiBは555MBq投与後50分から20分間撮像、 $^{18}\text{F}$ -Florbetapirは370MBq投与後50分から20分間撮像、 $^{18}\text{F}$ -Flutemetamolは185MBq投与後90分から30分間撮像とした。

画像再構成条件は、Hoffman 3D脳ファントムを用いて分解能がFWHM 8mm相当以上かつ灰白質と白質の%コントラストが55%以上になるように、撮像条件をカメラ毎に決めることにした。

またアミロイドPET薬剤毎に読影の方法と判定(陽性が陰性)の基準を決めた。

### 読影システムの構築

プレクリニカルAD被験者のスクリーニングに必要なため、撮像されたPET画像をアップロードし、素早くQCチェックを行った後、読影委員2名が独立に読影判定して、責任者(アミロイドPETコア)が確認し(2名の判定が分かれた場合は最終判定を行い)結果を返す仕組みを構築した。

## (4) 生化学コア

### プロトコルの策定

血液検査は、スクリーニング、ベースライン、12ヶ月、24ヶ月、36ヶ月に実施する。脳脊髄液検査はベースライン、12ヶ月、36ヶ月で実施する。ゲノムDNA採取および不死化細胞株作製のための採血はベースラインに実施する。末梢血RNAの採取はベースライン、12ヶ月、24ヶ月、36ヶ月に実施する。

脳脊髄液を用いたバイオマーカー解析はLuminex technologyによるAβ42, 総タウ, リン

酸化タウの測定を新潟大学において実施する。

ゲノムDNA解析については、APOE多型および公開データベース(ALZGene)に登録されている遺伝子のタイピングを実施する。必要に応じて新規一塩基置換(SNP)による網羅的解析(GWAS)または次世代シーケンサーを用いた全ゲノム網羅的遺伝子配列解析を行う体制を整えた。

末梢血RNA採取に用いる採血管はPAXgene RNA用採血管を用いることとした。

#### 手順書および生体試料採取資材の準備

プロトコルの従い各臨床施設で適切に生体試料の採取が行えるように手順書を作成した。

#### 生体試料の保管・管理体制の整備

J-ADNI2プレクリニカル研究で採取された生体試料を保管・管理する体制を整えた。

#### (5) 環境整備

##### 専用回線網等の拡充

研究施設のデータはVPN専用回線にてクラウド上のサーバに送られる。送信にはJ-ADNI1で構築した専用回線を引き続き使用するがJ-ADNI2で新たに参加する施設には追加して専用回線を施設する。今期、施設側の準備が進んでいる下記新規施設へ専用回線を施設した。

- ・医療法人 仁泉会 MIクリニック
- ・大分大学医学部
- ・白山石川医療企業団 公立松任石川中央病院
- ・近畿大学高度先端総合医療センター
- ・慶応義塾大学病院

#### **考察**

超早期発見・予防的治療介入に向けて、プレクリニカルADを対象とした全国共同の縦断的観察研究を施行する準備が整ったことは非常に大きな前進である。特にプレクリニカルADのスクリーニングにアミロイドPETを用いることから、PETの実施体制を構築することが非常に重要となっている。データセンターも立ち上がり、MRI、PETの検査体制も順調に稼働している。生化学検査においてもプロトコル作成等準備が整っており、今後、被験者のスクリーニング・組入れを進めていく。

#### **結論**

プレクリニカルADを対象とした縦断的観察研究における研究基盤を構築することができた。

#### **D.健康危惧情報**

なし

#### **E.研究発表**

1. 論文発表  
別添4 参照
2. 学会発表  
別添3の各分担研究者の報告書参照

#### **F.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