

(3) 総括研究報告

長寿医療研究開発費 2020年度 総括研究報告

脳内炎症イメージングによるアルツハイマー型認知症患者の脳内炎症動態の解明

(19-11)

主任研究者 安野 史彦 国立長寿医療研究センター 精神科部 (部長)

研究要旨

Positron emission tomography (PET)は、糖代謝、脳血流、神経伝達物質およびその受容体のマーカーを用いることで、これらを生体内で非侵襲的に定量することのできる神経画像的手法である。アルツハイマー病の特徴的病理である老人斑や神経原線維変化周囲に、アストロサイトやミクログリアの浸潤を認め、従来から神経炎症が神経障害に関わると考えられてきた。近年、脳神経系の炎症イメージングマーカーとして、生体内のグリア上に存在するトランスロケーター蛋白(TSPO)に特異的に結合する放射性薬剤：TSPOリガンドが臨床研究に用いられてきている。TSPOはミトコンドリア外膜に存在し、コレステロールの膜輸送に関連する受容体で、脳内では活性化したミクログリアやアストロサイトに高発現している。神経細胞の損傷もしくは変性による炎症反応に伴うグリア活性化で、そこに存在するTSPO結合が増大することから、その定量によりグリア活性化を介した炎症の生体内評価が可能である。

本研究において、AD患者を対象として、すぐれた感度と定量性を有する $[^{11}\text{C}]$ DPA-713を用いたPETにより、変性過程において生じる脳内炎症反応について生体内での定量を行い。同時に炎症によって引き起こされる神経組織・神経回路網および髄液・末梢血中タンパク・サイトカイン・炎症系細胞のダイナミックな変化と、認知症の認知・精神行動面を中心とした臨床症状との関連について定量的に解析を行った。

主任研究者

安野 史彦 国立長寿医療研究センター 精神科部 部長

分担研究者

木村 泰之 国立長寿医療研究センター 脳機能画像診断開発部 (副部長)

渡邊 淳 国立長寿医療研究センター 共同利用推進室 (室長)

加藤 隆司 国立長寿医療研究センター 放射線診療部 (部長)

A. 研究目的

アルツハイマー病 (AD) において神経炎症が神経障害に関わると考えられてきた。近年、脳神経系の炎症イメージングマーカーとして、生体内のグリア上に存在するトランスロケーター蛋白(TSPO)に特異的に結合する放射性薬剤：TSPO リガンドが臨床研究に用いられてきている。神経細胞の損傷もしくは変性による炎症反応に伴うグリア活性化で、そこに存在する TSPO 結合が増大することから、その定量によりグリア活性化を介した炎症の生体内評価が可能である。

TSPO を標的とした PET イメージングによって、AD やその前段階の軽度認知機能障害の患者で TSPO の上昇を認め、神経炎症の病態への関与が臨床的に明らかにされてきた (Yasuno et al. *Biol Psychiatry* 2008 & *Psychiatry Res, Neuroimaging* 2012)。しかしながら、これまでの AD 患者における脳内炎症についての生体内での評価は感度と定量性に劣る旧来の TSPO リガンドを用いた検討が中心であり、症状の進展に伴う脳内炎症と、その臨床症状、脳構造・機能および髄液・末梢血中の炎症系物質との関連は十分に明らかでない。

本研究の目的は、これまで十分に検討がなされていない AD の症状と進行における炎症の動態と役割を、生体内において脳から全身まで多面的に明らかにすることである。近年、TSPO リガンドの改良が進み、なかでも^[11C]DPA-713 は、シグナル・ノイズ比が著しく改善されている。本研究では、AD 患者を対象として、^[11C]DPA-713 を用いた PET により、変性過程において生じる脳内炎症反応について生体内での定量を行い。同時に炎症によって引き起こされる神経組織・神経回路網および髄液・末梢血中タンパク・サイトカイン・炎症系細胞のダイナミックな変化と、認知症の認知・精神行動面を中心とした臨床症状との関連について定量的に解析を行う。

B. 研究方法

a) 研究デザイン：観察研究

AD患者における臨床症状、神経画像および炎症反応の定量的解析

臨床診断により鑑別され、髄液中のリン酸化タウ蛋白の存在によって診断確定された、適格基準を満たす未治療のアルツハイマー型認知症(AD)患者で脳内炎症病態を定量し、同時に臨床症状評価、MRIによる脳構造・機能検査および髄液・血液中の炎症系サイトカインを中心とした網羅的プロテオミクス解析を実施し検討を行う。

b) 評価項目

主要評価項目

1) ポジトロンCTによる分子イメージング評価：

脳内炎症機序に関連したグリア細胞の活性化を評価しえる^[11C]DPA-713を用いた撮像を行い、PETデータ収集時間に対応した動脈採血データを入力関数として、コンパーメ

ントモデル解析に基づき、患者脳内の炎症に範囲と程度について定量的に評価を行う。

2) 髄液・末梢血評価：

・血液/髄液：

a) グリア活性化関連物質：

・ sTREM2 (soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 2) (ミクログリア活性化マーカー)

・ Fractalkine (神経細胞-ミクログリア相互コミュニケーションマーカー)

・ YKL-40 (chitinase-3-like protein 1), Clusterin, および GFAP (glial fibrillary acidic protein) (アストロサイト活性化マーカー)

b) 炎症系サイトカインと神経炎症関連蛋白：

IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, NF- α , BDNF, CRP, NFL 等

c) 髄液：アミロイド β 42、リン酸化タウ蛋白、総タウ蛋白、

副次評価項目

A. MRIによる画像評価

a) T1強調画像：脳形態的評価、

b) T2強調画像：脳虚血性変化評価

B. 認知症病態および行動評価：

- 1) MMSE, 2) ADAS, 3) CDR, 4) WMS-R 論理記憶I,II, 5) RCPM, 6) FAB
- 7) NPI, 8) GDS, 9) フレイル関連指標 (歩行速度、Up&GOスコア、転倒スコア)

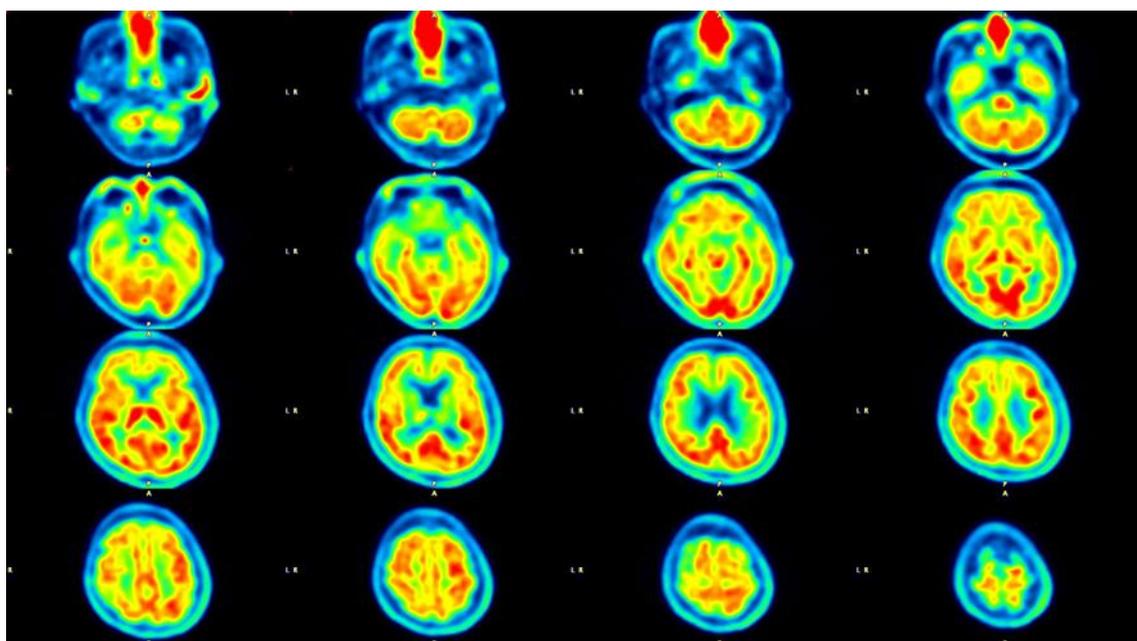
(倫理面への配慮)

放射性化合物を扱う PET プローブの合成は、同センターの RI 管理者の指導のもとに「電離放射線障害防止規則」等の関連規則を遵守し、適切な防護、遮蔽等の安全対策を行い実施する。PET 薬剤については、日本核医学会の指針「分子イメージング臨床研究に用いる PET 薬剤についての基準」に従い、製造法の標準化、安全性及び被曝線量の評価済みであり、その内容について、当センターに設置された短寿命放射性薬剤臨床利用委員会の客観的な評価を受け、その臨床利用について承認されている。臨床研究の実施においては、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」にもとづき、同センターの人を対象とする医学系研究等倫理規程を遵守する。すなわち、当センターの倫理・利益相反委員会において研究計画書、同意説明文書の審査を受け、承認を受けた方法でのみ検査を実施する。被験者には検査内容や予想される副作用(放射線被曝を含む)、謝金等について口頭および文書にて十分に説明して文書にて同意を得る。また、被験者の個人情報、画像情報は直接研究に関与する医師、診療放射線技師、看護師などにのみ開示され、守秘義務が課せられる。研究データとして解析・発表する際には、個人の特

定に結びつく情報は隠され、順に割り振った被験者番号のみで解析・発表

C. 研究結果

本研究における研究初年度から次年度までの計画は、AD 病理を有する被験者において、PET 分子イメージングにより、脳内炎症病態を定量し、同時に臨床症状評価、MRI による脳構造・機能検査および髄液・血液中の炎症関連物質の解析を実施することである。その実施にあたり、2019 年 8 月の倫理・利益相反委員会における申請を行った。その結果、2019 年 9 月 12 日に、倫理・利益相反委員会の承認を得た。同年 10 月に研究保険加入を完了し、同年 11 月 28 日に被験者に対する PET 検査を実際に開始した。初年度から次年度にわたり、新規患者のエントリーを継続し、2021 年 5 月の時点で、未治療の AD 病理を有する被験者 22 名(男性 11 名、女性 11 名、平均年齢 74.8 ± 7.9 歳、体重 58.5 ± 10.6 kg、MMSE 22.7 ± 3.0) に対して、PET および MRI 撮像、血液髄液採取および認知症病態評価を終了した。下図に患者の PET 加算画像の一例を示した。



現時点までに、分担研究者の木村泰之室長による PET リガンド合成/定量的解析に関する検討において、脳と血液のデータから得られた時間放射能曲線を用いて、モデル解析を行い、分布容積 (V_T) を算出することが可能であることを確認した。同じく、分担研究者の加藤隆司部長による 60 分間のスキャン中の適切な頭部固定法の検討により、大きな頭部の動きを抑制できることを確認した。さらに、血液・髄液中のプロテオミクス解析に関する検討において、分担研究者の渡邊淳室長により、解析を行うための ELISA kit の入手を通じ、解析のための準備を完了した。

当センターの設備、人員、環境下で新規に TSPO リガンドを合成し、実際に被験者に

対して炎症イメージングの撮像を行い、安定的に定量的な画像データを得ることができていることが確認できた。また、被験者中、8名で試験的に血液中のプロテオミクス解析を行い、その結果を検証できた。現時点で得られた暫定的な結果について以下に報告する。

1) 脳内炎症を反映する血液バイオマーカの同定

血清/血漿のグリア細胞関連因子の変化を反映する中枢のグリア関連因子が脳内のグリア細胞活性化に影響することを前提として、全皮質^[11C]DPA-713-BP (=k3/k4) : (脳内グリア細胞活性化を反映) を従属変数、血清/血漿のグリア細胞関連因子を独立変数とした回帰分析(変数減少法)を実施して、脳内炎症を反映する血液バイオマーカの同定を試みた。

以下の図は変数減少法に基づくモデル1-5を示したものである。

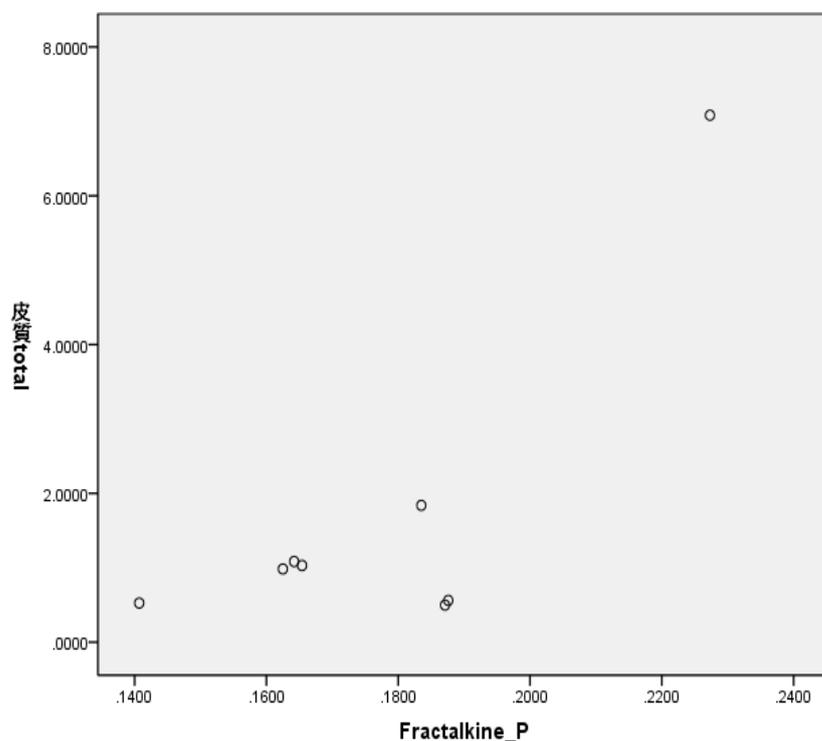
モデル集計

モデル	R	R2乗	調整済みR2乗	推定値の標準誤差
1	.869 ^a	.756	.145	1.8440487
2	.869 ^b	.754	.427	1.5100475
3	.861 ^c	.741	.547	1.3419118
4	.838 ^d	.702	.583	1.2875365
5	.792 ^e	.627	.564	1.3165851

係数^a

モデル		標準化されていない係数		標準化係数	t値	有意確率
		B	標準誤差	ベータ		
1	(定数)	-14.513	11.136		-1.303	.322
	CH3L1_P	-.322	.942	-.125	-.341	.765
	Clusterin_P	-1.167	2.264	-.185	-.516	.658
	Fractalkine_P	67.326	30.801	.866	2.186	.160
	GFAP_P	55.773	80.305	.265	.695	.559
	TREM2_P	1.202	11.123	.046	.108	.924
2	(定数)	-14.415	9.089		-1.586	.211
	CH3L1_P	-.301	.756	-.117	-.399	.717
	Clusterin_P	-1.143	1.844	-.181	-.619	.579
	Fractalkine_P	65.932	22.902	.849	2.879	.064
	GFAP_P	58.096	63.360	.276	.917	.427
3	(定数)	-14.396	8.077		-1.782	.149
	Clusterin_P	-1.257	1.619	-.199	-.777	.481
	Fractalkine_P	65.949	20.352	.849	3.240	.032
	GFAP_P	54.002	55.561	.257	.972	.386
4	(定数)	-16.551	7.278		-2.274	.072
	Fractalkine_P	66.683	19.506	.858	3.419	.019
	GFAP_P	59.648	52.851	.283	1.129	.310
5	(定数)	-9.284	3.468		-2.677	.037
	Fractalkine_P	61.503	19.386	.792	3.173	.019

最終的にモデル5 : 血漿中フラクタクリンが、皮質^[11C]DPA-713-BP (=k3/k4) : (脳内グリア細胞活性化を反映) を予測しえることが示された。下図は、^[11C]DPA-713-BP (=k3/k4) (縦軸) と血漿中フラクタクリン(横軸)の関係を示した散布図である。



血漿中フラクタクリンは、皮質 DPA-713-BP(脳内グリア細胞活性化を反映) と正の関係性を認めることが示された。

2) AD 患者の脳内グリア活性化とフレイルとの関係

AD 患者のフレイルと脳内炎症：グリア細胞活性化との関係について検討を行った。

局所¹¹C]DPA-713-BP (=k3/k4)：(脳内グリア細胞活性化を反映) とフレイルを反映する指標：歩行速度、Up&GO スコア、転倒スコアの間での相関分析を行った。以下の表は、その結果を示したものである。

		[¹¹ C]DPA-713-BP (=k3/k4)				
		Braak1-3	Braak4	Braak5	Braak6	全皮質
歩行速度	相関係数	-0.96	-0.95	-0.93	-0.94	-0.94
	有意確率	0.002	0.003	0.007	0.006	0.005
Up&Go	相関係数	0.67	0.62	0.57	0.39	0.59
	有意確率	0.15	0.19	0.24	0.44	0.22
転倒スコア	相関係数	0.85	0.85	0.81	0.81	0.83
	有意確率	0.02	0.02	0.03	0.03	0.02

各領域および全皮質領域における¹¹C]DPA-713-BP と歩行速度で有意な負相関が、転倒スコアとの間で有意な正相関が見出された。また、Up&GO スコアの間では有意ではな

いが、比較的大きな値の相関係数が示された。このことはすなわち、脳内炎症に関連するグリア活性化が活発であるほど、歩行速度は低下し、転倒の可能性は高まることを示すものと考えられ、ADに伴う脳内炎症がフレイルを促進することが示唆された。

D. 考察と結論

現時点では血液データの解析まで終了した患者数は8例にとどまり、これらのデータから確定的な結果を導くことは難しい。しかしながら、当センターの設備、人員、環境下でTSPOリガンドを合成し、実際に患者に対して炎症イメージングの撮像を行い、さらに血液中のグリア活性化関連物質や神経炎症関連タンパクを評価したうえでそれらの関係性を評価することが可能であることを実証できたことは、今後の研究において大きな意義があったと考えている。

少数の被験者データに基づく結果ではあるが、血漿中フラクタクリンは皮質DPA-713-BP(脳内グリア細胞活性化を反映)と正の関係性を認めることが示された。フラクタクリンは脳内ミクログリアの制御因子の一つであり、ミクログリアの活性化と遊走に関係するサイトカインのひとつである。末梢血中のフラクタクリンはミクログリア活性化の程度に影響する脳内フラクタクリンを反映し、ミクログリア活性化を推定できる指標として有望と考えられる。

また、皮質DPA-713-BP(脳内グリア細胞活性化を反映)と行動系指標との関係については、脳内炎症に関連するグリア活性化が活発であるほど、歩行速度は低下し、転倒の可能性は高まることを示すものと考えられ、ADに伴う脳内炎症がフレイルを促進することが示唆された。脳内炎症が全身的な老化の促進につながることは、脳内炎症を抑制することでフレイルの進行を阻害できる可能性を示すものかもしれない。

今年度は、これまでの経験に基づき検査を継続し、アルツハイマー型認知症患者の被験者数を拡大する(目標30症例)。そのうえで髄液・血液中の髄液・末梢血中タンパク・サイトカイン・炎症系細胞の解析を実施する。PETデータに基づき、変性過程において生じる脳内炎症反応について生体内での定量を行い、同時に炎症によって引き起こされる髄液・末梢血中タンパク・サイトカイン・炎症系細胞のダイナミックな変化と、認知症の認知・精神行動面を中心とした臨床症状との関連について最終的な解析検討を行う。

生体内における疾患に伴う脳内炎症と、髄液・末梢血中の炎症系物質との関連を総合的に検討した報告はこれまでになく、本研究を継続発展させることで、非常に特色のある結果が期待できる。また、結果をもとに a) 脳内炎症バイオマーカの同定による新たな病態評価法の開発、b) 抗炎症作用に基づく治療方法の開発へ向けた新たな基盤的情報の獲得も期待できると考えている。

E. 健康危険情報

該当なし

F. 研究発表

論文発表（主任研究者）

- 1) Yasuno F, Kajimoto K, Ihara M, et al. Amyloid β deposition in subcortical stroke patients and effects of educational achievement: A pilot study. Int J Geriatr Psychiatry. 2019 ;34:1651-1657.
- 2) Yasuno F, Minami H, Hattori H; Interaction effect of Alzheimer's disease pathology and education, occupation, and socioeconomic status as a proxy for cognitive reserve on cognitive performance: in vivo positron emission tomography study. Psychogeriatrics. 2020;20(5):585-593.
- 3) Yasuno F, Nakamura A, Kato T, Iwata K, Sakurai T, Arahata Y, Washimi Y, Hattori H, Ito K. An evaluation of the amyloid cascade model using in vivo positron emission tomographic imaging. Psychogeriatrics. 2021;21(1):14-23
- 4) Yasuno F, Minami H, Hattori H. Relationship between neuropsychiatric symptoms and Alzheimer's disease pathology: an in vivo positron emission tomography study. Int J Geriatr Psychiatry. 2021;36(4):598-605.
- 5) Yasuno F, Minami H. Significant effects of cholinesterase inhibitors on tau pathology in the Alzheimer's disease continuum: An in vivo positron emission tomography study. Int J Geriatr Psychiatry. 2021 Feb 16. doi: 10.1002/gps.5522. Epub ahead of print.
- 6) Yasuno F. PET/CT for Inflammatory Diseases, PET/CT for Neuroinflammation, Alzheimer's Disease/MCI. Springer: Singapore 2020 pp219-221
- 7) 安野史彦 認知症・神経変性疾患 Alzheimer 病におけるグリア細胞の PET イメージング 医学のあゆみ 270 巻 9 号 p 725-758 (2019 年 8 月)
- 8) 安野史彦 老年精神医学分野における MRI を中心とした技術の発展 老年精神医学雑誌 31 巻 3 号 p 219-226 (2020 年 3 月)

学会発表(主任研究者)

- 1) 安野史彦 環境と認知症:アミロイド/タウイメージングからの視点 第 35 回日本老年精神医学会 2020/12/21
- 2) 安野史彦 環境と認知症:アミロイド/タウイメージングからの視点 第 41 回日本生物学的精神医学会 2019/6/23
- 3) 安野史彦 後部帯状回の神経樹状突起の可塑性と脳梗塞後のうつ状態からの回復との関連について 第 41 回日本生物学的精神医学会 仙台 2019/6/23
- 4) 南ひかる 安野史彦 脳梗塞患者のアミロイド β 集積と、その抑制因子に関する検討 第 34 回老年精神医学会 新潟 2019/6/7
- 5) 南博之 安野史彦 後部帯状回の神経樹状突起の可塑性と脳梗塞後のうつ状態か

らの回復との関連について 第34回老年精神医学会 新潟 2019/6/7

- 6) Ando D, Yokota C, Sato T, Yasuno F, et al. Diffusion tensor imaging study of early gait training using Hybrid Assistive Limb in patients with acute stroke
Brain and PET 2019 Yokohama 2019/7/5

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし