

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。同時に髄液・末梢血中タンパク・炎症系細胞の変化と、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)

研究期間 2019年4月1日～2022年3月31日

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 患者および認知機能健常 (Cognitively Normal : CN) 被験者を対象として、^[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。同時に髄液・末梢血中タンパク・炎症系細胞の変化と、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患者およびCN被験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、同時に髄液・末梢血中タンパク・炎症系細胞の変化と、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) 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)

・ CH 3 L1 (chitinase-3-like protein 1) , Clusterin, (アストロサイト活性化マーカー)

b) 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. 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、個人の特定期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最終年度までの計画は、AD および CN 対照被験者において、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

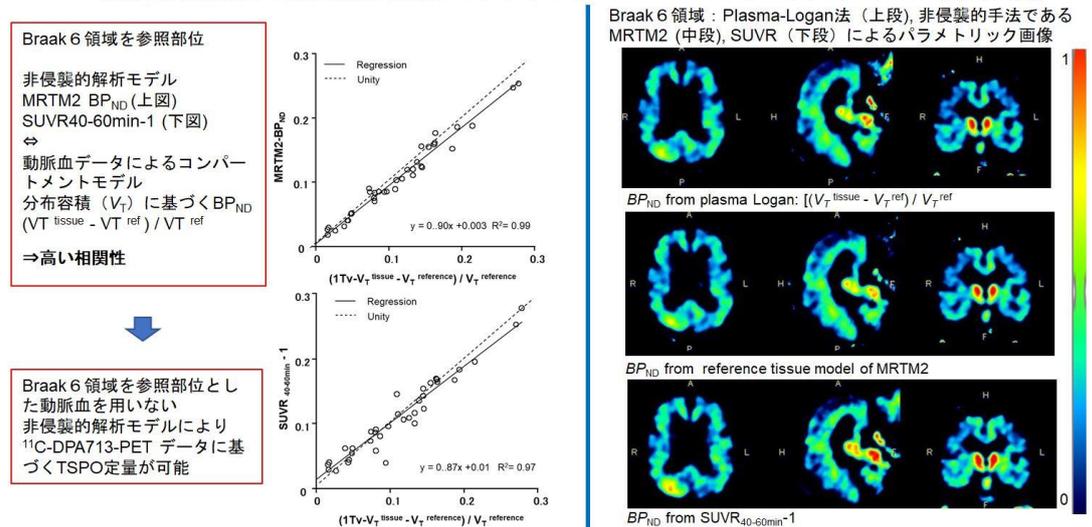
年8月の倫理・利益相反委員会における申請を行った。その結果、2019年9月12日に、倫理・利益相反委員会の承認を得た。同年10月に研究保険加入を完了し、同年11月28日に被験者に対するPET検査を実際に開始した。初年度か最終年度にわたり、新規患者のエントリーを継続し、2021年度末の時点で、未治療のAD病理を有する被験者15名、CN被験者10名に対して、PET、血液髄液採取および認知症病態評価を終了した。

最終年度までに、分担研究者の木村泰之室長により、トランスロケーター蛋白に特異的に結合する放射性薬剤： ^{11}C -DPA-713を用いたPET分子イメージングの適切性を確認した。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、実際に解析を行った。最終年度までに得られた結果を以下に報告する。

1. ^{11}C -DPA-713を用いた脳内炎症病態の定量解析方法についての検証

動脈血データを用いた定量解析において1コンパートメントモデルが最適であり、また神経原線維の脳内進展に基づくブラークステージにおける最も進展の遅い領域：ブラーク6領域を参照部位とすることで、動脈血を用いることなく炎症に関連する特異的結合の評価が可能であることを示した（図1）（Nucl Med Biol. 2022;108-109:76-84. doi: 10.1016/j.nucmedbio. 2022. 02. 005.）

Braak 6 領域を参照領域とした非侵襲的な解析モデルによって ^{11}C -DPA713-PET データに基づくTSPO定量が可能



2. 脳内炎症病態とADの精神行動面の臨床症状との関連を検証。

18人のアミロイド陽性被験者（AD15名、CN3名）において、認知症における行動・心理症状評価尺度であるNeuropsychiatric Inventory Questionnaire (NPI-Q)の総得点と4つの

下位項目（興奮/焦燥、幻覚妄想、情動障害、アパシー）と、皮質 DPA-713-BP_{ND}との相関について評価を行った。

NPI-Q における興奮/焦燥得点と BS におけるブランク 1 – 3 領域（扁桃体、海馬/海馬傍回、紡錘状回、舌状回）における ¹¹C-DPA-713 特異結合値において有意な正相関を認めた（下表）。また興奮/焦燥を呈する群で有意なブランク 1 – 3 領域の特異結合の増加を認めた。

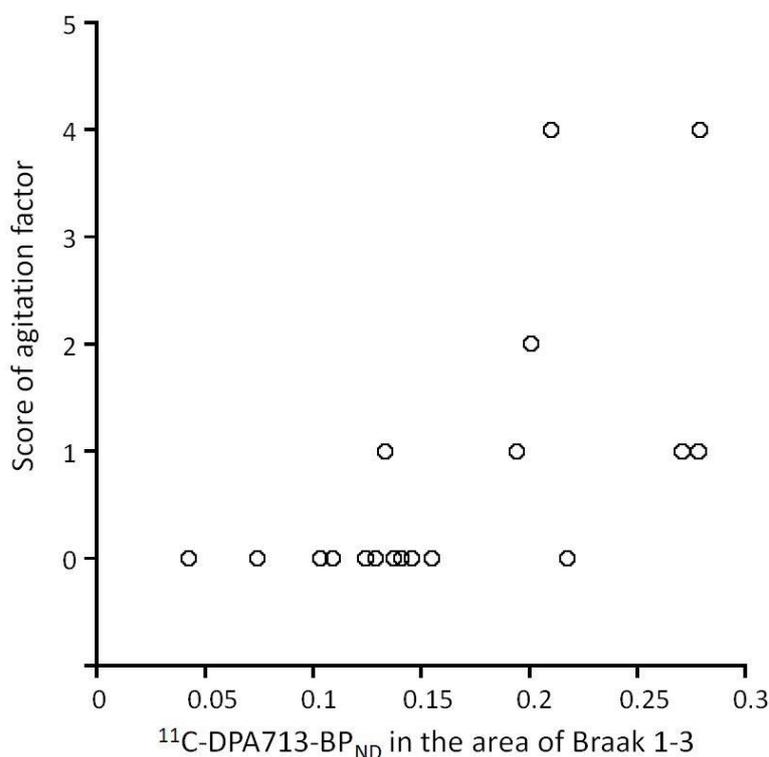
表. ¹¹C-DPA713-BP_{ND}とNPI得点(総得点および4つの下位項目得点)のスペアマン相関解析結果 [ρ(p)].

	総NPI	興奮/焦燥	幻覚妄想	情動障害	アパシー
Braak 1-3 area	0.35 (0.16)	0.69 (0.002) ^a	0.20 (0.43)	0.01 (0.99)	0.29 (0.24)
Braak 4 area	0.36 (0.14)	0.55 (0.02)	0.18 (0.47)	0.03 (0.91)	0.35 (0.15)

^a P<0.005 (0.05/10) was regarded as significant under the consideration of multiple comparisons.

Abbreviations: BP_{ND}, binding potential; NPI, neuropsychiatric inventory

下図は、興奮/焦燥(縦軸)と ¹¹C-DPA-713 特異結合値 (横軸) の関係を示した図である。



扁桃体を含む側頭葉内側領域とその近傍部における神経炎症の程度が AD 病理を有する被験者において、興奮/焦燥の程度と有意な関係を有することが示された。

3. 脳内炎症を反映する血液バイオマーカーの同定

血清中のグリア細胞関連因子の変化が、神経炎症/グリア細胞活性化に関連した中枢内のグリア関連因子の変動と有意な関係性を有することを前提とし、血液中の炎症関連物質データを用いた脳内の PET 炎症定量値の推定可能性について変数減少法に基づく重回帰分析を用いた検討を行った。

皮質[¹¹C]DPA-713-BP_{ND}：(脳内グリア細胞活性化を反映) を従属変数、独立変数として年齢、性別、診断とともに血清内のグリア細胞活性化に特異性の高い物質：monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1), fractalkine, chitinase 3-like protein-1 (CHI3L1), soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 2 (sTREM2) および clusterin の血清中濃度を用いた。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。

表. Braak 1-3 -TSPO-BP_{ND} の予測モデルに関する回帰分析(変数減少法)の結果

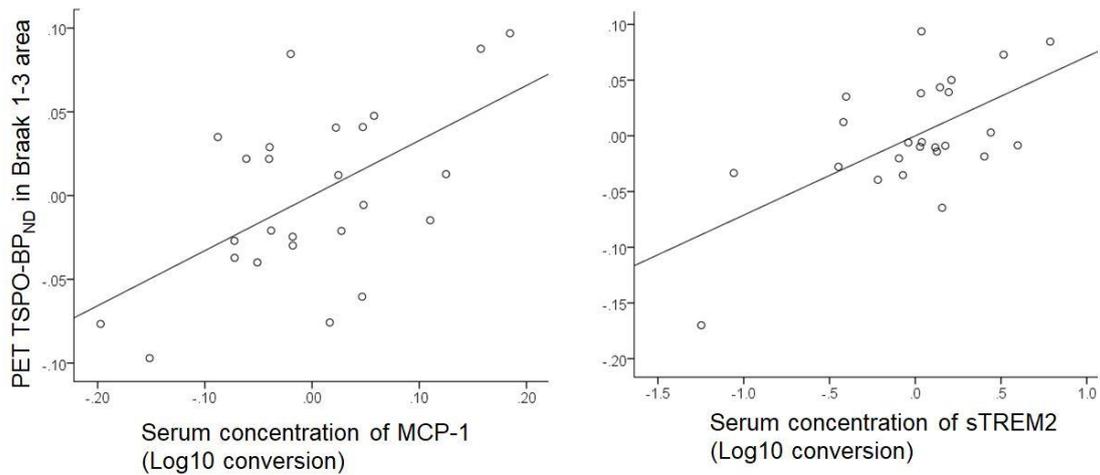
Step	t	β	P	F	df	p	Adjusted R ²
Model 1							
				3.85	8, 16	0.011	0.49
Age	0.37	0.06	0.72				
Gender	1.75	0.34	0.10				
Diagnosis (CN vs AD)	3.49	0.64	0.003				
CHI3L1 (ng/ml)	-0.58	-0.10	0.57				
MCP-1 (pg/ml)	2.55	0.48	0.02				
Clusterin (μg/ml)	0.21	0.04	0.83				
Fractalkine (pg/ml)	-0.48	-0.10	0.63				
sTREM2 (pg/ml)	3.05	0.52	0.008				
Model 2							
				4.65	7, 17	0.005	0.52
Age	0.36	0.06	0.72				
Gender	2.06	0.31	0.06				
Diagnosis (CN vs AD)	3.59	0.64	0.002				
CHI3L1 (ng/ml)	-0.57	-0.10	0.580				
MCP-1 (pg/ml)	2.62	0.48	0.018				
Fractalkine (pg/ml)	-0.49	-0.10	0.63				
sTREM2 (pg/ml)	3.20	0.52	0.005				
Model 3							
				5.68	6, 18	0.002	0.54
Gender	2.26	0.33	0.04				
Diagnosis (CN vs AD)	3.66	0.64	0.002				
CHI3L1 (ng/ml)	-0.52	-0.08	0.61				
MCP-1 (pg/ml)	2.86	0.49	0.010				
Fractalkine (pg/ml)	-0.55	-0.11	0.59				
sTREM2 (pg/ml)	3.28	0.52	0.004				
Model 4							
				7.03	5, 19	0.001	0.56
Gender	2.26	0.32	0.04				
Diagnosis (CN vs AD)	3.81	0.60	0.001				
MCP-1 (pg/ml)	2.88	0.47	0.010				
Fractalkine (pg/ml)	-0.35	-0.06	0.73				
sTREM2 (pg/ml)	3.32	0.50	0.004				
Model 5							
				9.15	4, 20	<0.001	0.58
Gender	2.28	0.31	0.03				
Diagnosis (CN vs AD)	4.23	0.58	<0.001				
MCP-1 (pg/ml)	3.08	0.44	0.006				
sTREM2 (pg/ml)	3.43	0.49	0.003				

For serum concentration of blood-based biomarkers the log10 conversion were performed

R²=Multiple regression value squared

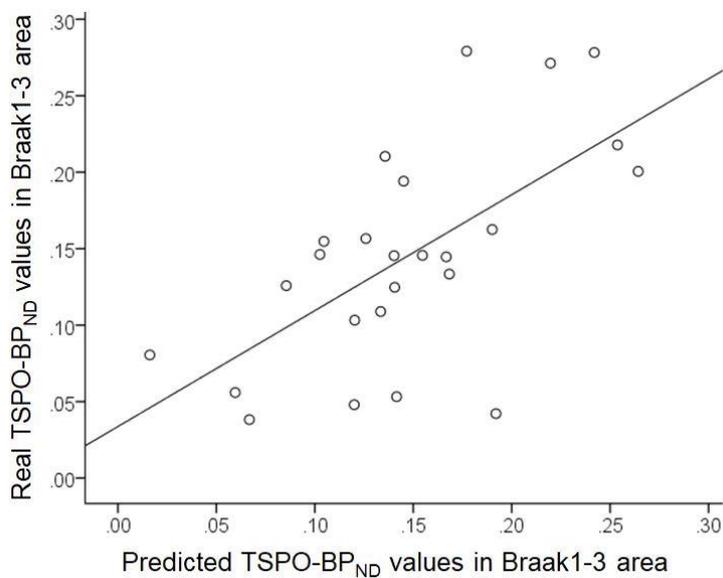
結果は、モデル 5：性別と診断を共変量とした血清中 MCP-1 および sTREM2 の血清中濃度を用いたモデルにより脳内の PET 炎症定量値が推定可能であることを示した。

下図は、[¹¹C]DPA-713-BP_{ND} (縦軸) と血清中 MCP-1 および sTREM2 の血清中濃度の関係を示した散布図である。



血清中 MCP-1 および sTREM2 の血清中濃度は、皮質 DPA-713-BP_{ND} と正の関係性を認めることが示された。

Leave one out (LOO) 法に基づくクロスバリデーション[cross validation (CV)] 解析において決定係数 LOO CV R² は 0.04 であり、このモデルが皮質 DPA-713-BP_{ND} の変動の 40% 説明しえるものと考えられた。下図は皮質 DPA-713-BP_{ND} の実測値（縦軸）と予測値（横軸）の関係を示したものである。



D. 考察と結論

最終年度までに 15 名の AD 患者および 10 名の CN 被験者に対して、生体内のグリア上に存在するトランスロケーター蛋白(TSP0)に特異的に結合する放射性薬剤：¹¹C-DPA-713 を用い

た 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および髄液・血液中の炎症関連物質の解析を実施した。そこで以下の結果を得た。

1) ^{11}C -DPA-713 を用いた脳内炎症病態の定量解析方法について検証した。動脈血データを用いた定量解析において 1 コンパートメントモデルが最適であり、また NFT の脳内進展に基づくブランク ステージ(BS) における最も進展の遅い領域：ブランク 6 領域を参照部位とすることで、動脈血を用いることなく炎症に関連する特異的結合の評価が可能であることを示した (Nucl Med Biol. 2022;108-109:76-84. doi: 10.1016/j.nucmedbio. 2022. 02. 005.)

2) ^{11}C -DPA-713 を用いた PET 分子イメージングにおける脳内炎症病態と臨床症状との関連を検証した。認知症における行動・心理症状評価尺度である Neuropsychiatric Inventory Questionnaire (NPI-Q) における興奮/易刺激性得点と BS におけるブランク 1 - 3 領域 (扁桃核、海馬/海馬傍回、紡錘状回、舌状回) における ^{11}C -DPA-713 特異結合値において有意な正相関を認めた。また興奮/易刺激性を呈する群で有意なブランク 1 - 3 領域の特異結合の増加を認めた。扁桃核および内側側頭葉周辺領域の炎症病態が興奮/易刺激性に関連することが示された。この結果は、興奮/焦燥に対する神経炎症/免疫に対する介入が、認知症における新たな治療手段になりえる可能性を示すと思われた (投稿準備中)

3) 血液中の炎症関連物質データを用いた脳内の PET 炎症定量値の推定可能性について変数減少法に基づく重回帰分析を用いた検討を行った。従属変数として炎症を反映する ^{11}C -DPA-713 特異結合値を用いた。独立変数として年齢、性別、診断とともに血清内のグリア細胞活性化に特異性の高い物質：monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1), fractalkine, chitinase 3-like protein-1 (CHI3L1), soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 2 (sTREM2) および clusterin の血清中濃度を用いた。結果は性別と診断を共変量とした MCP-1 と sTREM2 濃度によるモデルにより脳内の PET 炎症定量値が推定可能であることを示した。血液バイオマーカーを用いた脳内炎症の評価は、認知症疾患の早期発見、進行のモニタリング、治療介入効果の判断などに有益であると思われた (投稿準備中)

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)

2022 年度以降

1) Yasuno F, Watanabe A, Kimura Y, Yamauchi Y, Ogata A, Ikenuma H, Abe J, Minami

H, Nihashi T, Yokoi K, Hattori S, Shimoda N, Ichise M, Takeda A, Sakurai T, Ito K, Kato T. Estimation of blood-based biomarkers of glial activation related to neuroinflammation (投稿準備中)

2) Yasuno F, Kimura Y, Ogata A, Ikenuma H, Abe J, Minami H, Nihashi T, Yokoi K, Hattori S, Shimoda N, Ichise M, Sakurai T, Ito K, Kato T. An involvement of the inflammation in the medial temporal regions in the generation of agitation in Alzheimer's disease: An in vivo positron emission tomography study (投稿準備中)

3) Yasuno F, Kimura Y, Ogata A, Ikenuma H, Abe J, Minami H, Nihashi T, Yokoi K, Hattori S, Shimoda N, Ichise M, Sakurai T, Ito K, Kato T. Kinetic modeling and non-invasive approach for translocator protein quantification with ¹¹C-DPA-713. *Nucl Med Biol.* 2022;108-109:76-84.doi:10.1016/j.nucmedbio.2022.02.005.

4) Yasuno F, Minami H; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Season of birth and vulnerability to the pathology of Alzheimer's disease: an in vivo positron emission tomography study. *Psychogeriatrics.* 2022. doi:10.1111/psyg.12838.

2021 年度

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;36(8):1274-1283. doi:10.1002/gps.5522.

6) Yasuno F, Minami H, Hattori H; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. 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. doi: 10.1002/gps.5459.

7) 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. doi: 10.1111/psyg.12589.

2020 年度

8) Yasuno F, Minami H, Hattori H; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. 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.doi: 10.1111/psyg.12552.

2019 年度

9) Yasuno F, Kajimoto K, Ihara M, Taguchi A, Yamamoto A, Fukuda T, Kazui H, Iida H, Nagatsuka K. Amyloid β deposition in subcortical stroke patients and effects of educational achievement: A pilot study. Int J Geriatr Psychiatry. 2019;34(11):1651-1657. doi: 10.1002/gps.5178.

学会発表(主任研究者)

2021 年度

- 1) Fumihiko Yasuno PET inflammatory imaging of glial activation in Alzheimer's disease The 16th International Symposium on Geriatrics and Gerontology 2021/12/18
- 2) 安野史彦 脳内炎症、グリア細胞と認知機能障害：PET イメージングによる研究と考察 第 45 回日本神経心理学会 2021/9/17
- 3) 安野史彦 アルツハイマー型認知症における脳内炎症イメージング 第 36 回日本老年精神医学会 2021/9/17

2020 年度

- 4) 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

2019 年度

- 5) 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
- 6) 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
- 7) 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
- 8) 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
- 9) 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

(4) 分担研究報告