



# 認知症診療が変わる!認知症の血液診断法の開発

量子科学技術研究開発機構

量子生命·医学部門

量子医科学研究所脳機能イメージング研究部

(併任:量子医学·医療部門QST病院治療診断部)

医長 徳田 隆彦



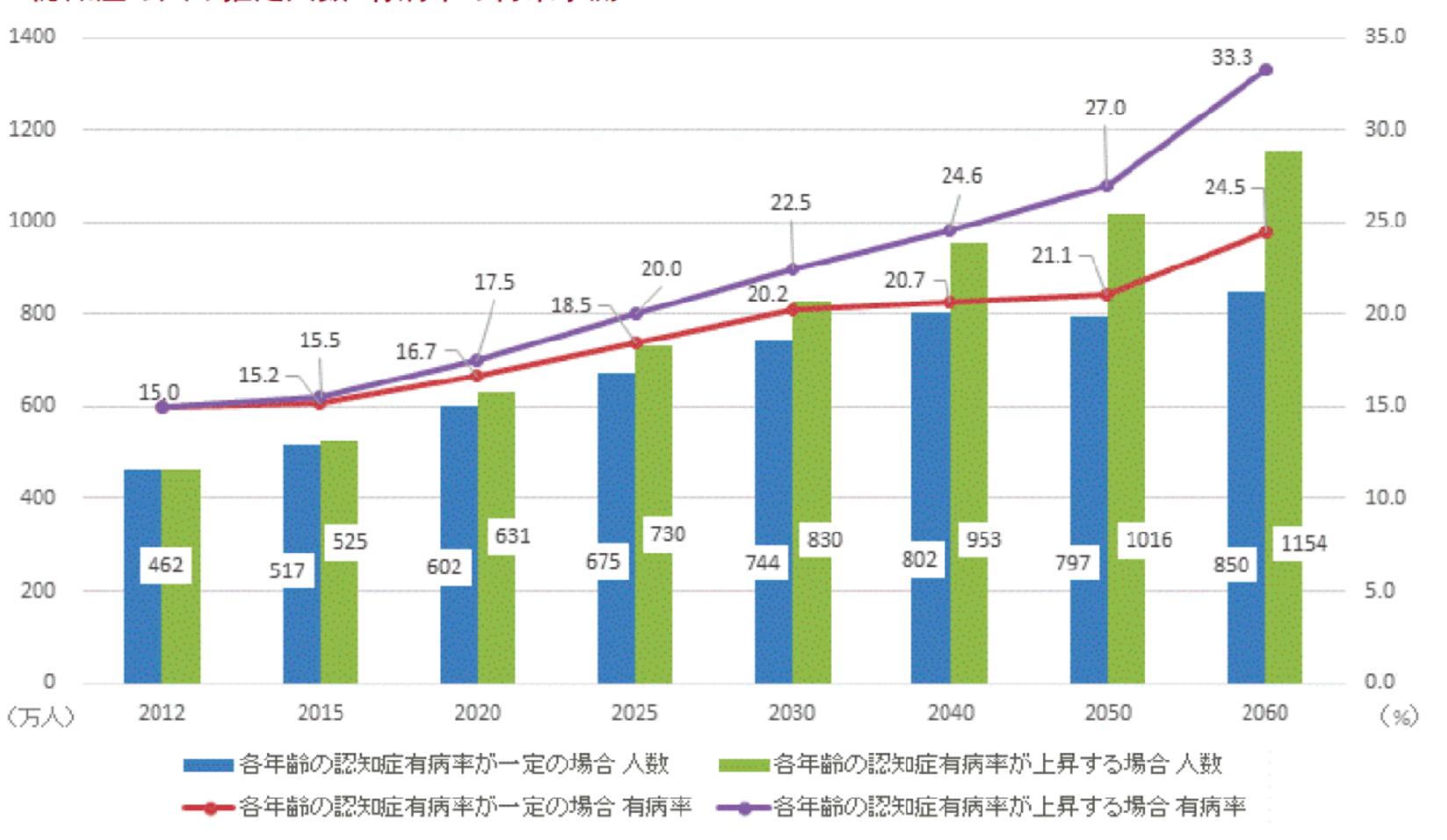


#### 65歳以上の6人に1人が認知症患者



高齢化の進展とともに、認知症患者数も増加しています。「日本における認知症の高齢者人口の将来推計に関する研究」の推計では、2020年の65歳以上の高齢者の認知症有病率は16.7%、約602万人となっており、6人に1人程度が認知症有病者と言えます。

#### ■ 認知症の人の推定人数・有病率の将来予測



「各年齢の認知症有病率が上昇する場合」は、糖尿病(認知症の危険因子)有病率が、2012年から2060年までに20%上昇すると仮定したものです。

〈内閣府「平成29年度版高齢社会白書」〉 2017

1.0%\_

4.3%\_

### 認知症の種類(主なもの)

認知症にはその原因などにより、いくつか種類があります。

#### ■前頭側頭葉型認知症

◆脳の前頭葉や側頭葉で、神経細胞が 減少して脳が萎縮する病気です。

#### 【症状】

感情の抑制がきかなくなったり、 社会のルールを守れなくなるといっ たことが起こります。

#### ■レビー小体型認知症

◆脳内にたまったレビー小体という特殊 なたんぱく質により脳の神経細胞が破 壊されおこる病気です。

#### 【症状】

現実にはないものが見える幻視や、 手足が震えたり筋肉が固くなるといっ た症状が現れます。歩幅が小刻みにな り、転びやすくなります。



67.6%

◆脳内にたまった異常なたんぱ く質により神経細胞が破壊さ れ、脳に萎縮がおこります。

■アルツハイマー型

#### 【症状】

昔のことはよく覚えていま すが、最近のことは忘れてし まいます。軽度の物忘れから 徐々に進行し、やがて時間や 場所の感覚がなくなっていき ます。

(その他の凡例)

- ■アルコール性
- ■混合型
- ■その他

#### ■脳血管性認知症

0.4% 3.3% 3.9%

19.5%

◆脳梗塞や脳出血によって脳細胞に十分な血液が送られずに、脳細 胞が死んでしまう病気です。高血圧や糖尿病などの生活習慣病が 主な原因です。

#### 【症状】

脳血管障害が起こるたびに段階的に進行します。また障害を受 けた部位によって症状が異なります。

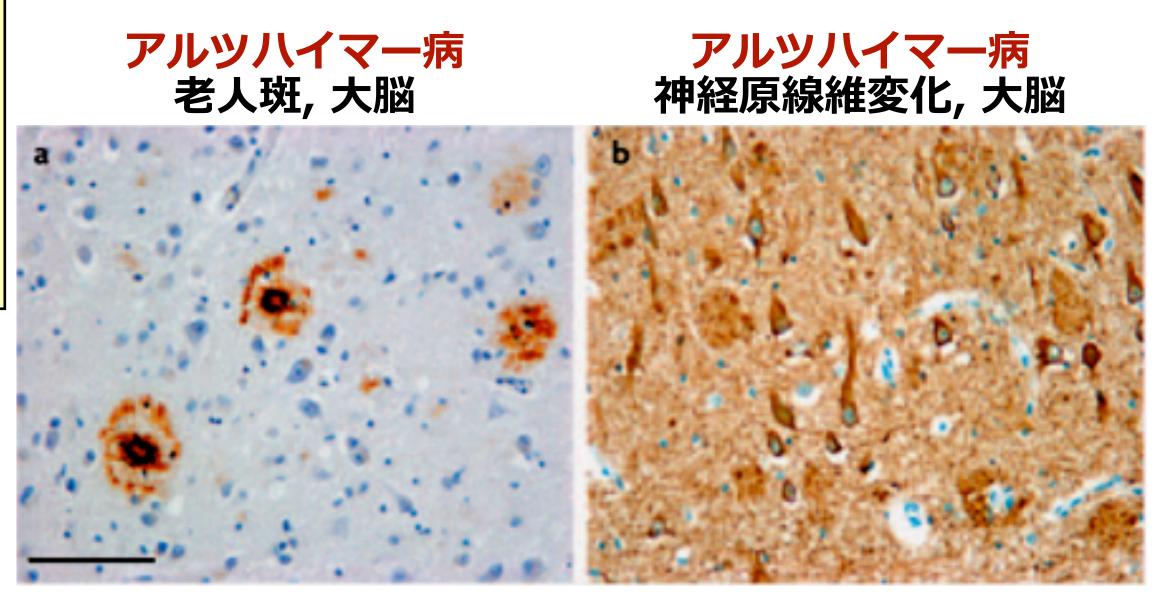
各説明は、全国国民健康保険診療施設協議会「認知症サポーターガイドブック」を元に作成 データは、「都市部における認知症有病率と認知症の生活機能障害への対応」(H25.5報告)を引用



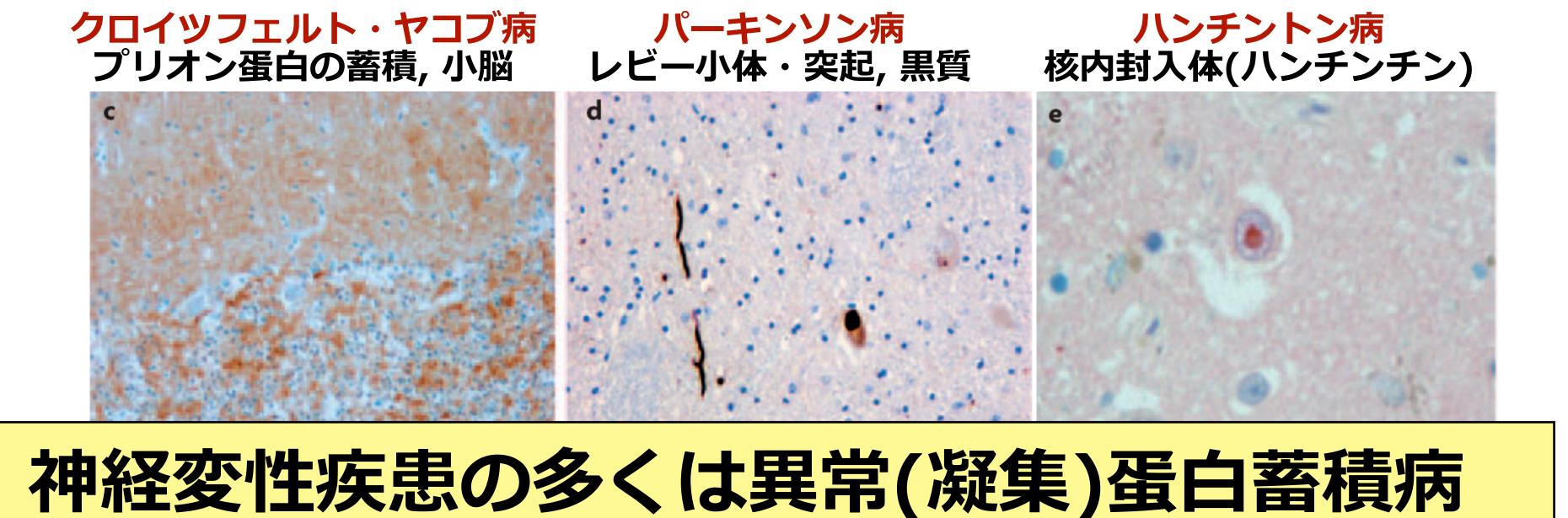
新技術説明会 New Technology Presentation Meetings

バイオマーカーの最重要条件は神経病理(病態)の本質的な特徴を検出すること(Neurobiol Aging, 1998)

アミロイドβ (Aβ)蛋白



タウ(tau)蛋白



Haass C, Selkoe DJ. Nat Rev Mol Cell Biol. 2007; 8: 101-12.



## バイオマーカー(BM)のmodality: 定義・目的 & 方法



定義: 正常の生物学的過程, 病的過程, あるいは治療的な介入に対する薬理学的反応の指標として客観的に測定され, 評価される"特性".

## <目的>

## 1)診断バイオマーカー

- > 疾患の診断(発症後)
- > 発症前診断 / 発症リスクの診断 Prodromal (Premotor) biomarker
- > 新規の分子マーカー(網羅的解析など)
  - →未知の病態発現機序の解明

## 2) Surrogate biomarker

- > 重症度・進行度の評価 Progression biomarker
- >治療効果の判定
- > 予後の判定・予測 Prognostic biomarker

## <方法>

### 1) 生理学的検查/感覚検查

- (1) 嗅覚検査 など
- (2) 電気生理学的検査

### 2) 画像検査

- (1) MRI (structural MRI)
- (2) PET/ SPECT
- (3) 機能画像(DaT scan, MIBGシンチ)
- (4) Amyloid- & Tau imaging (病理診断の代用)
- 3) 遺伝子検査

### 4) 生化学的バイオマーカー

- (1) <u>候補分子(蛋白)</u>: CSF, blood
  - ① Aβ, tau; ② α-synuclein, etc.
- (2) 網羅的解析
- 1 metabolomics; 2 proteomics



## 私のバイオマーカー研究: 脳脊髄液 & 血液

#### 新技術説明会 New Technology Presentation Meetings!

- ✓ 2020年4月からは共同研究 者の建部, Simoaマシンと ともに量子研(QST, 千葉) に異動
- ✓ 2020年9月1日にTTB社を 設立

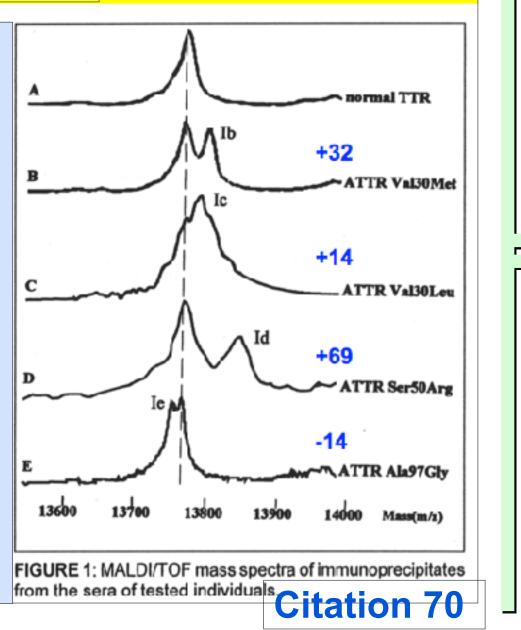
#### IP-MS

血清 TTR

**Amyloid 1999** 

血液中の 変異TTRを 免疫沈降/ 質量分析法 (IP-MS)で 検出

田中耕一氏 のNobel賞 (2002) より前



京都府立医科大学

### **ELISA**

## 脳脊髄液バイオマーカー

SAS-ELISA

パーキンソン病患者では<mark>髄液中の</mark>α-シヌクレインが減少

BBRC 2006; 349: 162-166

←世界で初めて CSF a-Synを 定量

筋萎縮性側索硬化症患者では<mark>髄液中のTDP-43</mark>が増加

-t

←世界で初めて CSF TDP43を 定量

Citation = 130

Citation = 299

**Acta Neuropathol 2009**; 117: 55-62

アルツハイマー病患者では<mark>髄液中のAβオリゴマー</mark>が増加

◆2018に和光 純薬からKit化

Citation = 177

**FASEB J 2010**; 24: 2716-26

パーキンソン病患者では<mark>髄液中のg-シヌクレインオリゴマー</mark>が増加

Citation = 308

Neurology 2010; 75: 1766-72

**\*** 

世界で初めて CSF a-Syn ←oligomerを 定量

## Simoa 血液バイオマーカー

アルツハイマー病患者では血液中のリン酸化タウ(p-tau)が増加

Citation = 88

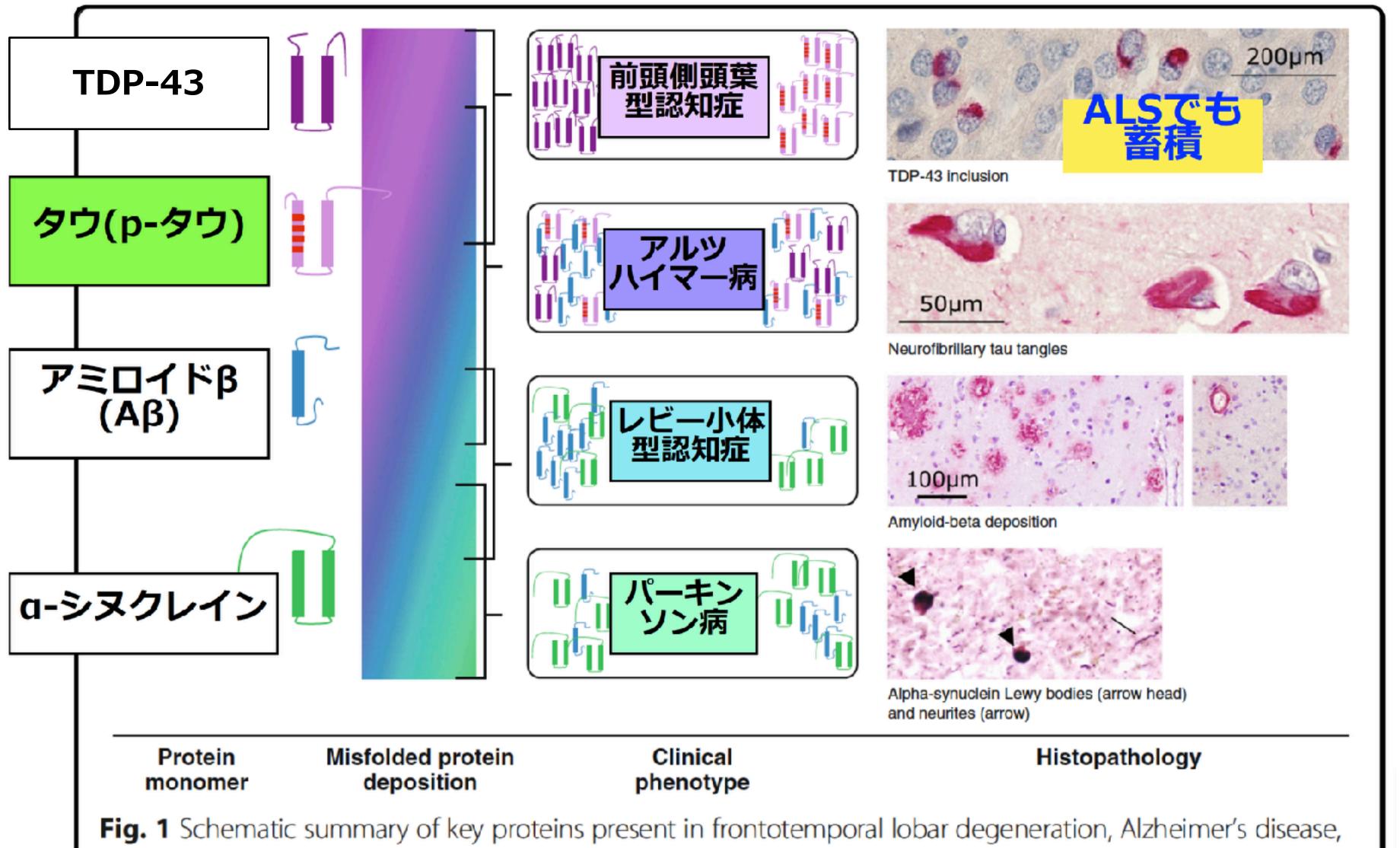
Mol Neurodegener 2017.Sep.4; 12: 63

世界で初めて ┣血中p-tauを 定量



### 認知症・神経変性疾患の生化学的バイオマーカー





**Fig. 1** Schematic summary of key proteins present in frontotemporal lobar degeneration, Alzheimer's disease, diffuse Lewy body disease and Parkinson disease. Protein monomers and their distribution for different clinical phenotypes are illustrated with symbolic drawings.

### QSTでの目標:

それぞれの認知症 性疾患·神経変性 疾患に特異的な異 常凝集・蓄積蛋白 を画像・血液バイ オマーカー(BM)に よって、 生体中から(死後の 病理組織ではなく) 検出・定量する





## アルツハイマー病(AD)バイオマーカー(画像・体液BM)の現状と課題

### 現状>

### 課題>

1)画像BM(アミロイド/タウ-PET)は臨床応用も開始→効率性(throughput), コスト, 病理診断に代わりうる確定診断ツール 汎用性, 簡便性 が問題 ADは頻度の多い病気(6,000/10万; cf. ALS 5-10/10万; PD 150/10万)

### 2)生化学BM

- ①髄液BMは多くの研究により確立されたBMが存在 → 侵襲性, 簡便性, 汎用性 が問題 Aβ, t-タウ, p-タウの有用性(高い感度・特異度) (効率性: 健診には不向き) が確立・検証済み
- ②血液BMは近年, 急速に報告が増加している  $\rightarrow \rightarrow \rightarrow$  信頼性が現状では不十分 ⇒脳病理が診断されている患者 & 大規模コホートでの検証が必要

## 現在求められているBM⇒髄液BMから, 血液BMへ

- ✓安価, 非侵襲的, 簡便(医師以外も採取可能)・効率的(健診でも実施可能)
- ✓画像診断と補完的な体液BMは, 髄液ではなく, 血液BM!





## アルツハイマー病(AD)バイオマーカー(画像・体液BM)の現状と課題

### 現状>

課題>

1)**画像BM(アミロイド/タウ-PET)**は臨床応用も開始**→効率性**(throughput), **コスト**, 病理診断に代わりうる**確定診断**ツール 汎用性, 簡便性 が問題

ADは頻度の多い病気(6,000/10万;

血液BMの課題: ①脳由来のBM分子は血中では極微量⇒測定が可能か?

②血中で測定したBMは本当に脳由来なのか?

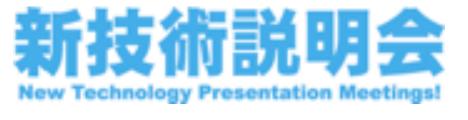
②血液BMは近年, 急速に報告が増加している →→→ 信頼性が現状では不十分⇒脳病理が診断されている患者 & 大規模コホートでの検証が必要

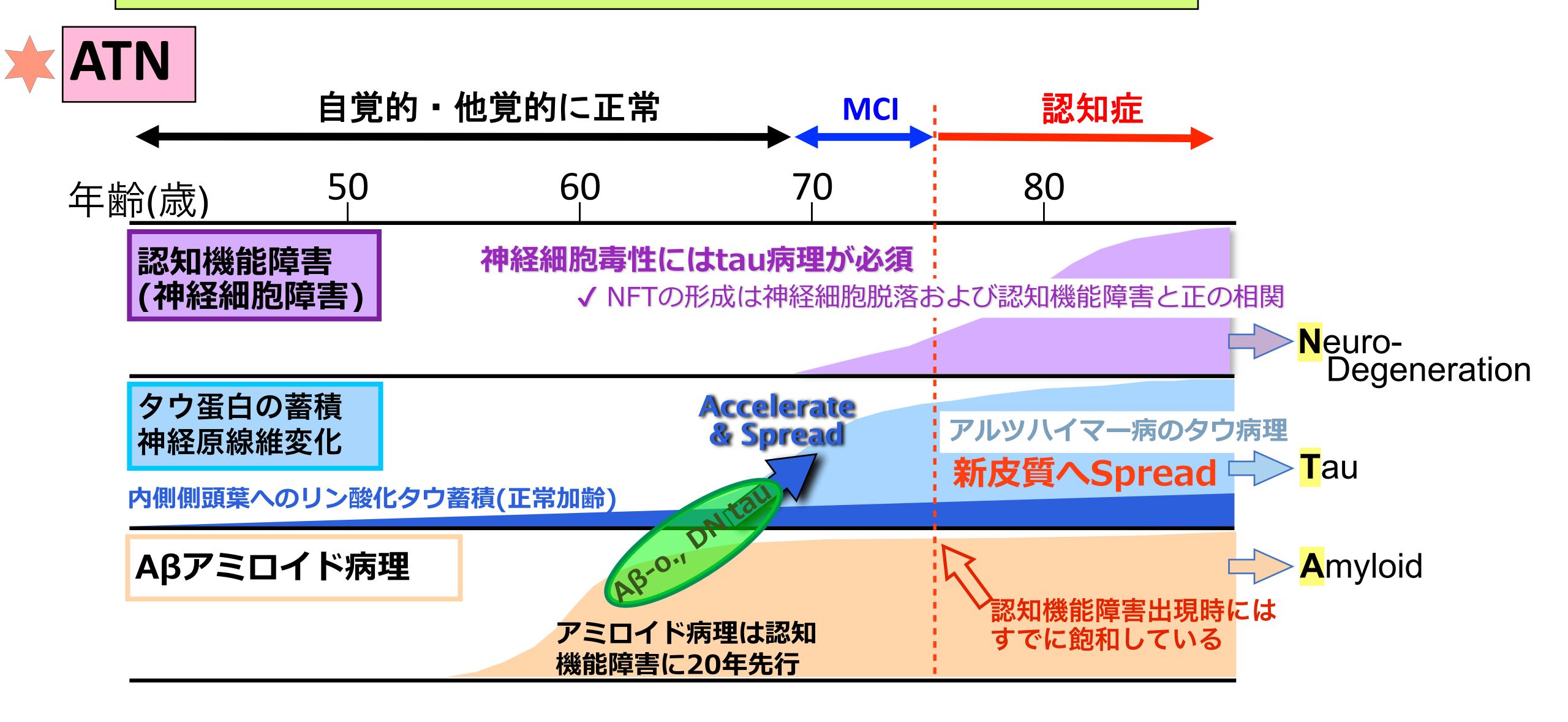
## 現在求められているBM⇒髄液BMから, 血液BMへ

- ✓安価, 非侵襲的, 簡便(医師以外も採取可能)・効率的(健診でも実施可能)
- ✓画像診断と補完的な体液BMは, 髄液ではなく, 血液BM!



## アルツハイマー病: 脳病態の時間的経過と体液BM

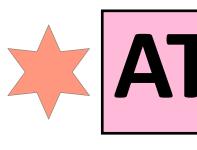






# アルツハイマー病: 脳病態の時間的経過と体液BM





年齡(歲)

## 自

### ATN biomarker classification system

2018 National Institute on Aging—Alzheimer's Association (NIA-AA) Research Framework

NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease

C.R. Jack Jr. et al. Alzheimer's & Dementia 14 (2018) 535-562

# 認知機能障害(神経細胞障害

#### AT(N) biomarker grouping

A: Aggregated  $A\beta$  or associated pathologic state

CSF  $A\beta_{42}$ , or  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  ratio

Amyloid PET

T: Aggregated tau (neurofibrillary tangles) or associated pathologic state

CSF phosphorylated tau

Tau PET

Aβアミロイド

タウ蛋白の蓄積

神経原線維変化

内側側頭葉へのリン

(N): Neurodegeneration or neuronal injury

Anatomic MRI

FDG PET

CSF total tau

Abbreviations: A $\beta$ ,  $\beta$  amyloid; CSF, cerebrospinal fluid.

NOTE. See section 9.4 for explanation of (N) notation.

ATN-BM⇒体液BM (髄液)

NfL (t-tau)

Neuro-Degeneration

Tau p-tau

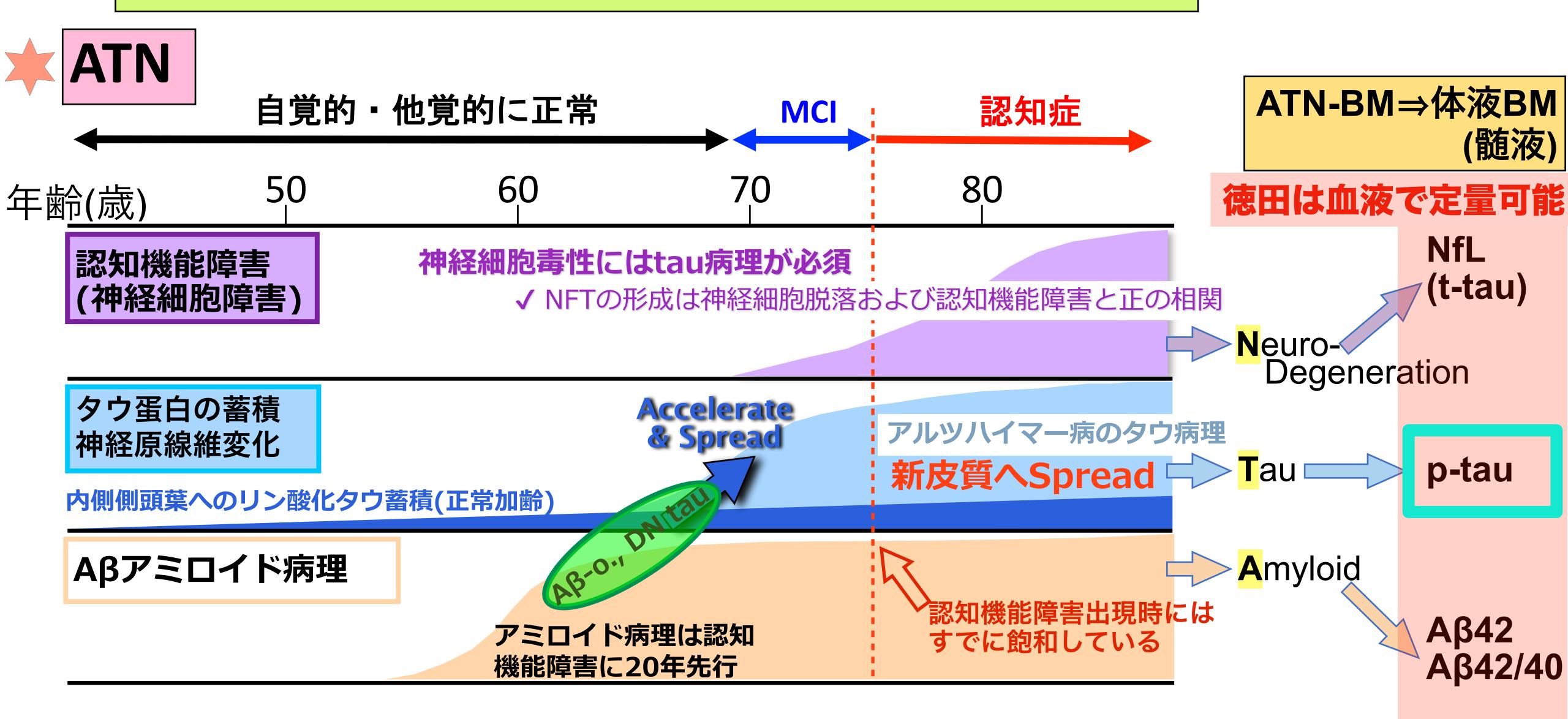
**A**myloid

**Αβ42 Αβ42/40** 



## アルツハイマー病: 脳病態の時間的経過と体液BM







## 従来技術とその問題点



く既に治験などで用いられているバイオマーカー(BM)には,

画像BMおよび髄液BMがあるが、

画像BM: 効率性(スループット), コスト, 汎用性, 簡便性が課題

髓液BM: 侵襲性, 効率性, 汎用性(手技が専門的), 簡便性が問題

✓ 血液BM: 簡便, 非侵襲的, 安価, 汎用性・効率性に優れる 近年, 報告が急速に増えているが, 未だ臨床的な有用性が十分 検証されたものはない

→**信頼性が現状では不十分**:開発・検証には脳病理の診断が担保されている患者 & 大規模サンプルでの検証が必要

→課題: 超高感度測定が必要, 血液BMが脳由来であることの担保



## 従来技術とその問題点



く既に治験などで用いられているバイオマーカー(BM)には,

画像BMおよび髄液BMがあるが、

画像BM: 効率性(スループット), コスト, 汎用性, 簡便性が課題

髓液BM: 侵襲性, 効率性, 汎用性(手技が専門的), 簡便性が問題

✓ 血液BM: 簡便, 非侵襲的, 安価, 汎用性・効率性に優れる 近年, 報告が急速に増えているが, 未だ臨床的な有用性が十分 検証されたものはない

⇒**信頼性**が現状では不十分:開発・検証には脳病理の診断が担保されている患者 & 大規模サンプルでの検証が必要

→課題: 超高感度測定が必要, 血液BMが脳由来であることの担保

血液BMは期待度は非常に高いが、現状では臨床的には利用されていない。



# 新技術の特徴・従来技術との比較



## 従来の血液BMの課題は,量研機構(QST)では解決が可能。

- 1)<mark>極微量の血中BMの超高感度測定技術 ⇒ 超高感度マシン "Simoa"</mark> (国内で最初に導入)
- 2)血液BMが脳由来であることの確認 → PET, 髄液BMとの相関で確認

- 3)血液BMの信頼性
  - ①脳病理診断の担保 ⇒ QSTでは**疾患特異的なPETで脳病理を確認した 患者 & 健常者の血液検体**で開発・検証が可能
  - ②大規模コホートでの検証  $\Rightarrow$  QSTが中心となって"MABB"を設立

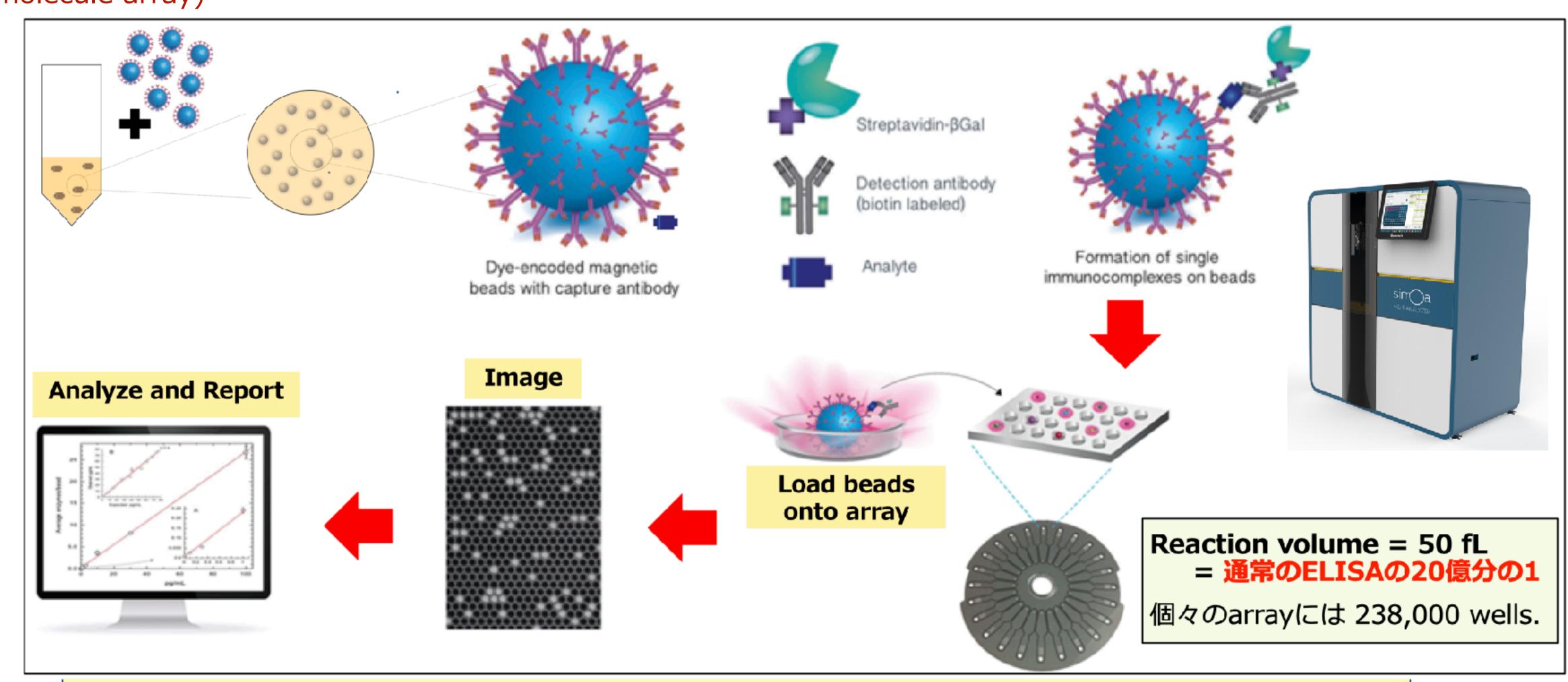


# ③QST 1)極微量の血中BMの超高感度測定技術 ⇒ "Simoa"



Simoa → 測定の高感度化→変性疾患の血液BMの開発が可能に!(日本に約20台)

(single molecule array)



従来のELISA法の1000倍の感度でBMの測定が可能!

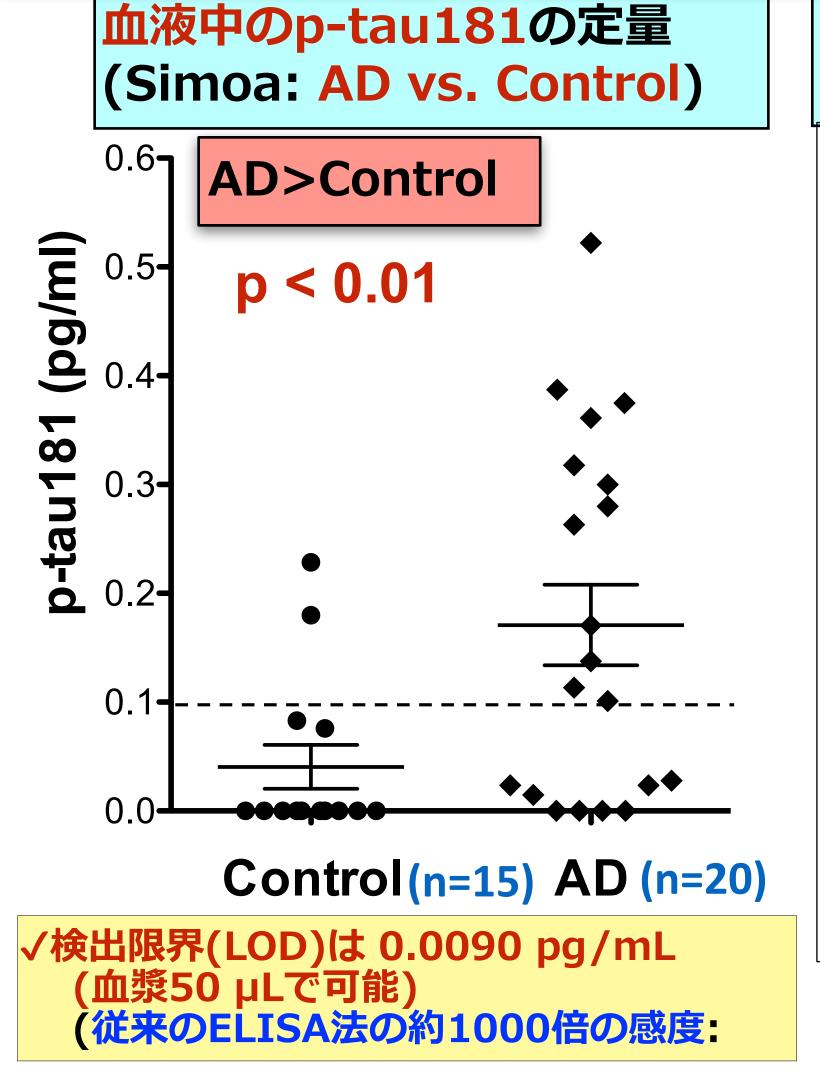


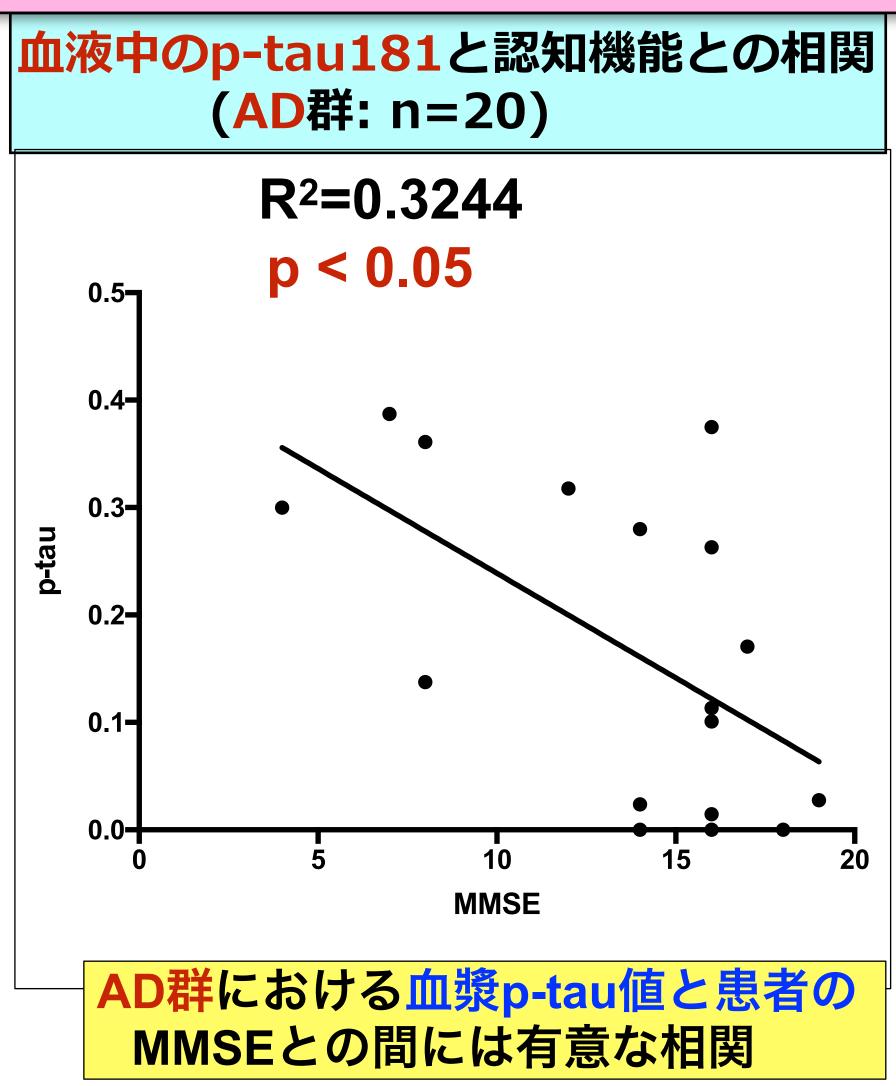
## ③QST 1)極微量の血中BMの超高感度測定技術 ⇒ "Simoa"

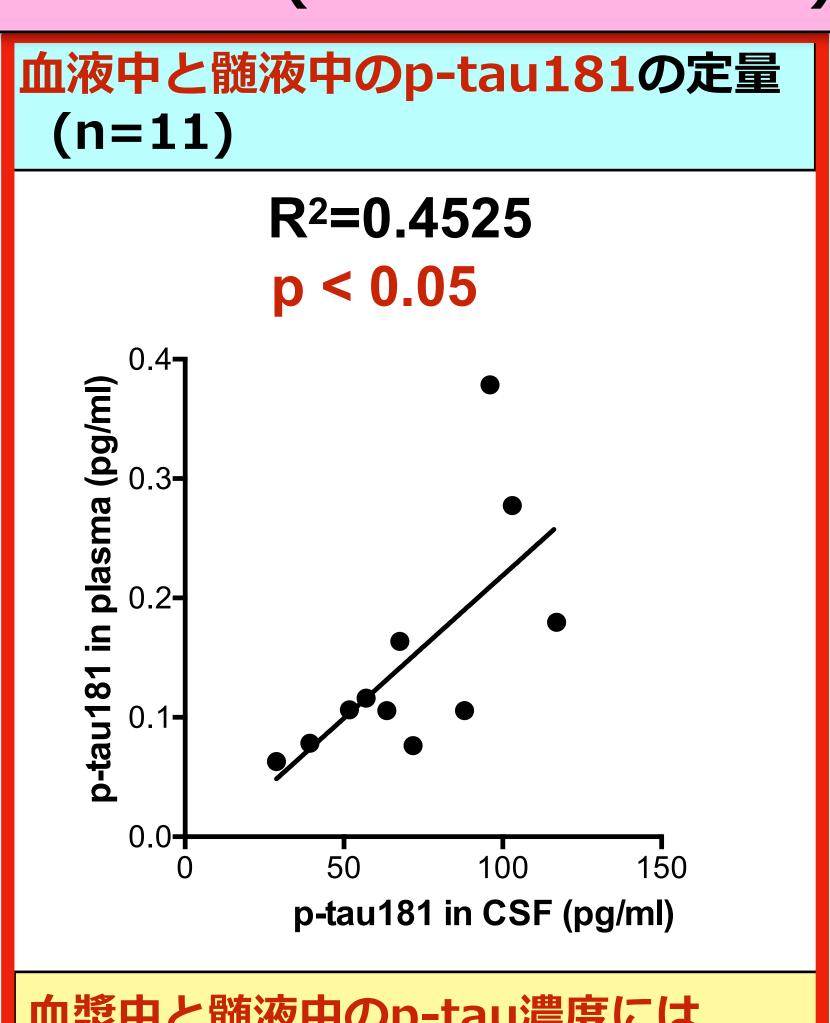


## 2)血液BMが脳由来であることの確認 → 髄液BMとの相関

## 徳田・建部: 世界で初めてヒト血液中のリン酸化タウ(p-tau)を定量: 2017(特願2017-14827)







血漿中と髄液中のp-tau濃度には 有意な正の相関が認められた



## ③QST 3) 血液BMの信頼性 ①脳病理診断の担保 (特異的PET検査)



### QSTで開発中のPET画像と血液BMを統合した包括的な認知症診断・層別化システム

### 血液BM

### 現在保有(自己開発)

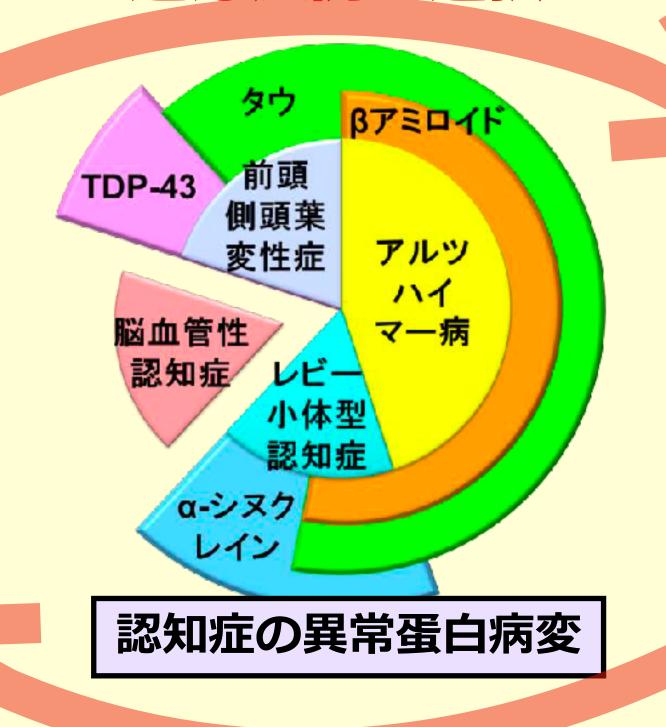
p-Tau181 **TDP-43 p-Tau231** Αβ40, Αβ42 a-Synモノマー a-Synオリゴマー

NfL

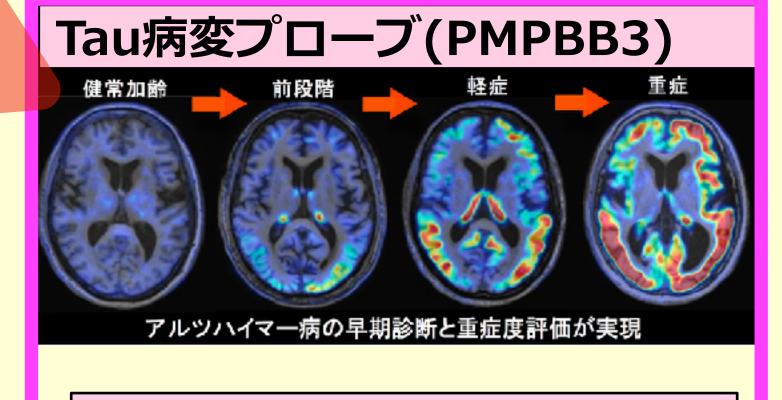
**GFAP** 

など

### 血液BMによるPET 適応症例の選択



### 画像BM (PET画像)



α-シヌクレイン病変プローブ

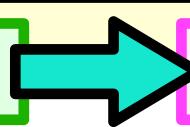
TDP-43病変プローブ

その他のPETプローブ

### PET画像は血液BMのSOT

画像・血液BMの相互促進的開発

血液BMによるスクリーニング/初期診断



PET画像による確定診断・病変分布の診断



## 3) 血液BMの信頼性 ②大規模コホートでの検証

#### 新技術説明会 New Technology Presentation Meeting

#### MABB: Multicenter Alliance for Brain Biomarkers

- A
- 1) 近畿大学·放射線医学:
- 2) 浜松医科大学・光尖端医学教育センター: 尾内康臣 教授
- 3) 日本医科大学・精神医学:
- 4) 筑波大学・医学医療系:
- 5) 大分大学・脳神経内科学:
- 11)福祉村病院・脳神経内科:
- 14)東京医科歯科大学・脳神経内科:
- 15)東京慈恵会医科大学・精神医学:
- B
- 6) 藤田医科大学・脳神経内科学:
- 7) 新潟大学・脳研究所:
- 8) 京都大学・医学部人間健康科学科:
- 9) 順天堂大学・脳神経内科学:
- 10)千葉大学・脳神経内科:
- 12)京都認知症センターC:
- 13)昭和大学・脳神経内科:

(ソター: 尾内康臣 教授 舘野周 准教授 新井哲明 教授 松原悦朗 教授 赤津裕康 先生

平田浩聖 先生

石井一成 教授

品川俊一郎 先生

渡辺宏久 教授 宮下哲典 准教授 澤本伸克 教授 港田野琢 准教授 平野成樹 講師 川崎照晃 先生





MABB施設A: PET・血液検体を 収集

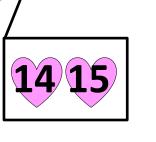
MABB施設®: 血液給体を

血液検体を 主体に収集 MABB研究の参加施設 (QST, MABB A & B) 2021.2

**QSTでの包括的な倫理審査は 2020.8に完了** 

第1回MABB全体会議(QST+10施設) 2020.8.5.開催





山形

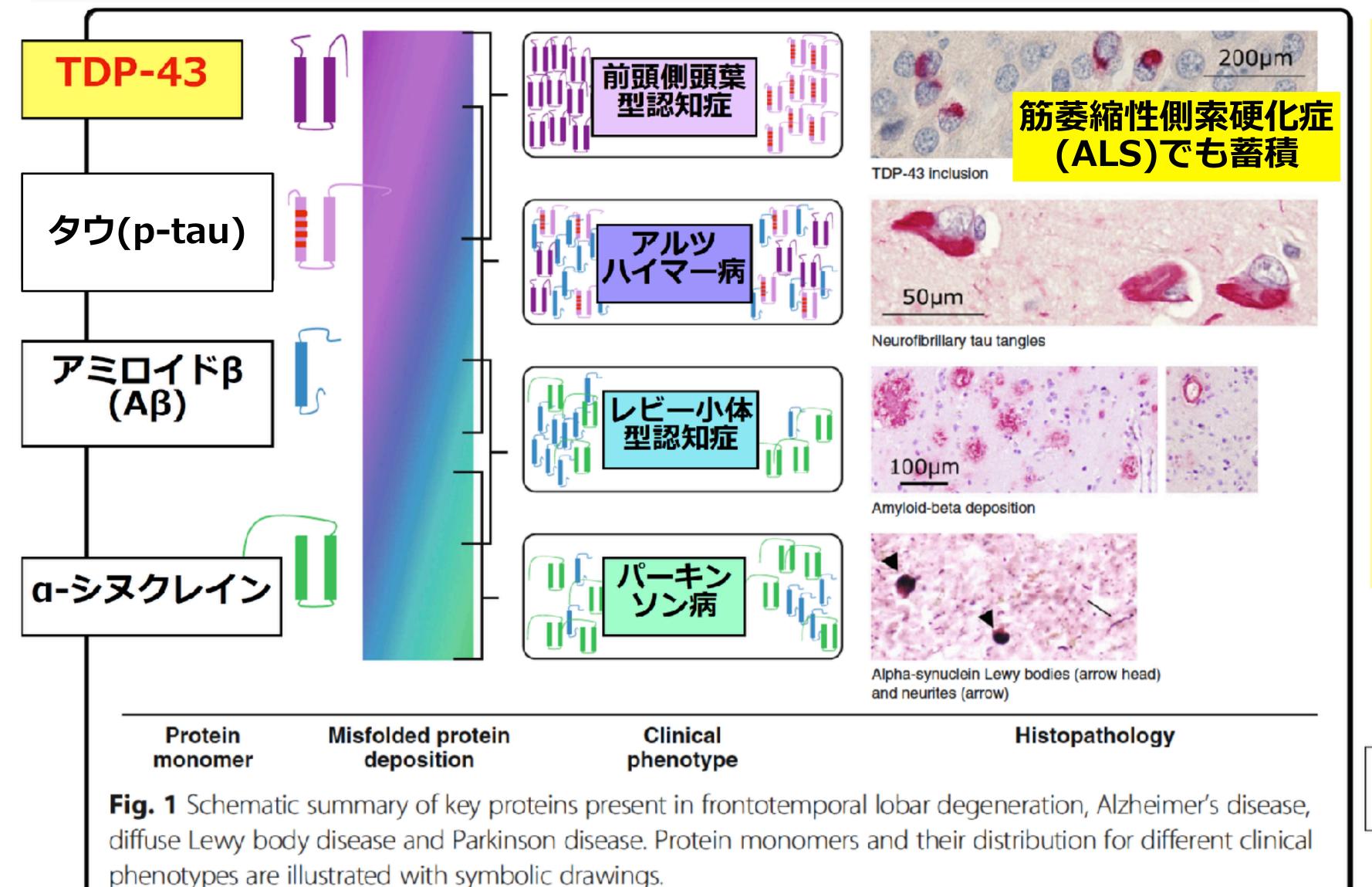
BMの開発・検証には大規模サンプルが必要 → "MABB"研究チームで収集

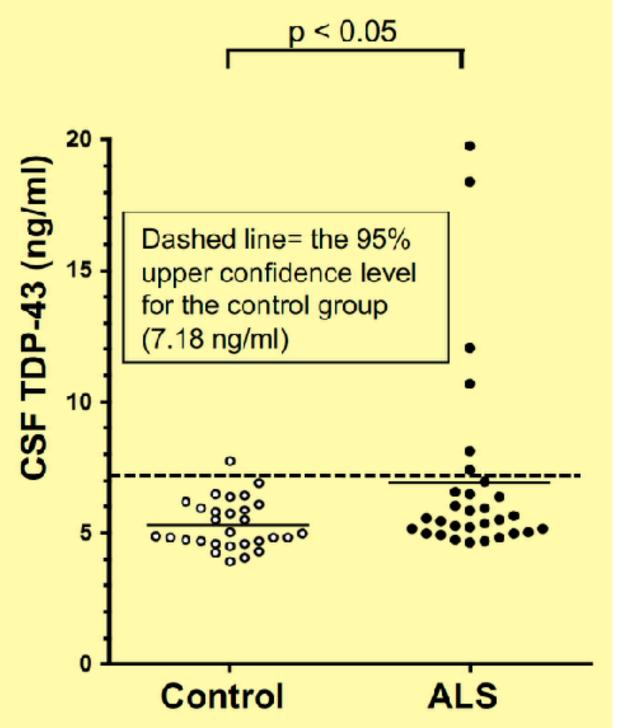


## TDP-43の定量 ⇒ 世界でも徳田Groupのみが可能

#### 新技術説明会 New Technology Presentation Meetings!

### 認知症・神経変性疾患の生化学的バイオマーカー





髄液(CSF)中のTDP-43濃度は 筋萎縮性側索硬化症(ALS)患者 で有意に上昇

Kasai T, Tokuda T, et al.

Acta Neuropathol 117(1): 55-62, 2009



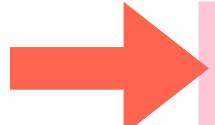
## **TDP-43の定量** ⇒ 世界でも徳田Groupのみが可能 (特願2021-38665)



## ヒト体液でのTDP-43(ALS, FTLD-TDPの原因蛋白)の定量

## √従来技術とその問題点

- 1)2000年代(2000-2010)に、TDP-43を**、ELISA法**によってヒト体液で測定した 報告はあるが、**その後の追試・商品化はなされていない**。
- 2)既に実用化されているものには、Quanterix社によるSimoa™法(TDP-43測定 キットver.1 & 2)があるが、ver.1は発売中止、ver.2も実際のヒトの血液・ 髄液では測定ができておらず、論文による報告もなされていない。 実際に、ver.2も現在行われている研究及び臨床で利用されていない。
- 3)上記1)2)の現状のために、**従来の技術ではその被検者が「体内にTDP-43病理を有しているか否か、すなわち筋萎縮性側索硬化症(ALS)あるいは前頭側頭葉変性症(FTLD)の可能性があるか否か」の客観的な診断はできなかった**。



徳田Gは,世界で唯一,血液・髄液中での定量が可能 🔷 生化学的診断が可能



## 想定される用途

ング検査として切望されている。



## 徳田らが保有している血液BMおよびそれを用いた脳疾患診断の用途:

- 1) 認知症疾患・精神神経疾患の客観的で正確な診断・重症度評価(層別化): これらの疾患に対して、①その研究を行っている研究施設、②治療薬開発 (治験)を行っている製薬企業、③診断・治療を行っている医療機関、ではそれらの疾患の客観的で正確な診断および重症度評価(層別化)が必要となる。そのような診断・層別化には客観的なバイオマーカーが必要であり、高効率・非侵襲的・安価な血液BMが、第一段階の検査あるいはスクリーニ
- 2) 一般高齢者の健康診断:

将来的には, 非侵襲的で繰り返しの検査が可能な血液BMは, 例えば高齢者の認知症健診・ヘルススクリーニングにも応用可能である。

### 3) 保険事業:

認知症に対する対策を医療保険・入院保険等の自らの商品・サービスに取り入れようと考えている保険会社が「疾病リスクの推定サービス」として提供することも可能性として考えられる。



## 実用化に向けた課題



- ✓現在、徳田らが保有している血液BM定量技術は、現時点での成熟度としては、すでにヒトの血液検体でリン酸化タウおよびTDP-43を定量できることおよび診断・重症度評価に有用であることをすでに論文や学会発表で報告しており、具体的な製品すなわち測定キットとしての概要は確立している。しかし、日本人の大規模サンプルでの検証および測定キットとしてのカットオフ値の設定や安定性の検証などが未実施である。
- ✓ 今後は、Proof of Concept (POC) の確保に向けて、大規模サンプルによる POC臨床試験などが必要である。現在、徳田・建部(共同研究者)は、認知症疾患・精神神経疾患のバイオマーカー開発・検証のための複数のAMED研究に、代表者あるいは分担者として参加しており、そのようなPOC臨床試験に相当する臨床研究を実施していくことになっている。



## 企業への期待



- ✓血液BMなどの生化学BMは,血液検体の採取・処理・保存などのpre-analytical な要因に大きく影響される。また,全く同じ測定キット・測定機器を用いたとしても,使用する施設ごとにある程度異なった結果が得られてしまうことがこれまでにも報告されている。
- ✓ したがって, 徳田は, 生化学BMに関しては, 「個々の医療機関や検査会社などが個別に・必要に応じて・小規模サンプルを・それぞれのプロトコールで」測定するのではなく, 測定の精度管理が可能な「大規模センターに一定の地域の(ex.関東地区など)まとまった数のサンプルを集約して・常時継続的・大規模に・確定したSOPに則って」測定すべきである, と考えている。
- ✓ 将来的(near future)に, 徳田は, QST内あるいはその近隣に, 画像BMと体液 BMを相互促進的に開発・検証して確立した脳疾患の包括的BMシステムを実 臨床に応用する「大規模BM開発・測定センター」を設立したい。このBM開発・測定センターの設立に向けて, その共同研究者あるいはユーザーとなる企業の支援を期待している。



# 本技術に関する知的財産権



#### 1. 特許情報

_	T. INHITE	
	発明の名称	リン酸化タウタンパク質の測定方法
	発明者	徳田隆彦、建部陽嗣
	出願人	シスメックス株式会社、京都府公立大学法人
	出願番号	特願2017-14827、JP 特願2017-148274(アメリカ合衆国)
	公開番号	
	登録番号	

2. 発表技術の特許について 該当する出願状況の口にチェックください。

レ A 特許出願済である
単独出願:特許出願人(大学知財本部等)は公開する情報について承認済である。
レ 共同出願:特許出願人(大学知財本部等)は公開する情報について承認済である。 また共同出願人に実施許諾について了解を得ている。共同研究者がいる場合、発表および 企業との連携の可能性について了解を得ている。

1. 特許情報

1. 13 ET 10 TK	
発明の名称	生体試料中のTDP-43を測定する方法及び装置
発明者	徳田隆彦、建部陽嗣
出願人	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構
出願番号	特願2021-38665
公開番号	
登録番号	

2. 発表技術の特許について 該当する出願状況の口にチェックください。

レ	A 特許出願済である
レ	単独出願:特許出願人(大学知財本部等)は公開する情報について承認済である。
	共同出願:特許出願人(大学知財本部等)は公開する情報について承認済である。 また共同出願人に実施許諾について了解を得ている。共同研究者がいる場合、発表および 企業との連携の可能性について了解を得ている。



## 本技術に関する知的財産権



1. 特許情報

אדמוומניו יי	
発明の名称	リン酸化タウタンパク質の測定方法
発明者	徳田隆彦、建部陽嗣
出願人	シスメックス株式会社、京都府公立大学法人
出願番号	特願2017-14827、JP 特願2017-148274(アメリカ合衆国)
公開番号	
登録番号	

1. 特許情報

1. 行計1月報	
発明の名称	生体試料中のTDP-43を測定する方法及び装置
発明者	徳田隆彦、建部陽嗣
出願人	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構
出願番号	特願2021-38665
公開番号	
登録番号	

2. 発表技術の特許について 該当する出願状況の口にチェックください。

レ A 特許出願済である
単独出願:特許出願人(大学知財本部等)は公開する情報について承認済である。
レ 共同出願:特許出願人(大学知財本部等)は公開する情報について承認済である。 また共同出願人に実施許諾について了解を得ている。共同研究者がいる場合、発表および 企業との連携の可能性について了解を得ている。

2. 発表技術の特許について 該当する出願状況の口にチェックください。

レ	A 特許出願済である
レ	単独出願:特許出願人(大学知財本部等)は公開する情報について承認済である。
	共同出願:特許出願人(大学知財本部等)は公開する情報について承認済である。 また共同出願人に実施許諾について了解を得ている。共同研究者がいる場合、発表および 企業との連携の可能性について了解を得ている。

上記以外にも、徳田Groupは複数の脳疾患BMのシーズを有しており、QSTで、樋口Groupが実施している脳疾患の画像BM(疾患特異的異常蛋白のPET検査)をSOTとして、それらのBMシーズおよび新規BM候補の開発・検証を行っている。このような、画像BMをSOTとした血液BMの開発・検証研究は国内ではQSTのみが実施可能であり、国際的にも可能な施設は限られている。



## お問い合わせ先



量子科学技術研究開発機構

イノベーションセンターまでお願いいたします。

TEL: 043-206-3146 (共同研究)

043-206-3027 (ライセンス)

FAX: 043 - 206 - 4061

e-mail: innov-prom1@qst.go.jp (共同研究)

chizai@qst.go.jp (ライセンス)