

---

---

# 認知症と神経変性疾患の バイオマーカー

## Biomarkers for dementia and neurodegenerative diseases

国立研究開発法人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／医長

徳田隆彦\*

---

---

### 1. 序論

バイオマーカー (BM) は、「病的過程あるいは薬理的な反応などを客観的に測定して評価される特性」と定義される<sup>1)</sup>。これまで脳神経疾患の生化学的 BM は、主に髄液 BM が開発の主体であったが、侵襲性・普及性に問題があり臨床にはあまり応用されていない。現在、脳神経疾患の血液 BM が強く希求されており、最近のイノベーションによって血液 BM の臨床応用が夢ではなくなっている。また、近年、BM については、その“Context of Use”を明確にすることが求められている。すなわち、その BM をどういう目的で使うのか、例えば予後判定に使う、レジリエンスの判定に使う、遺伝的な危険因子としての判定に使う、などの BM の用途を明確して、その context に基づいた Level of Evidence を集積することで、その BM の Qualification を行っていく。

### 2. アルツハイマー病 (AD) の BM: ATN-BM

AD では近年の画像 BM の進歩が著しく、死後の脳病理ではなく患者のご存命中に脳内のアミロイドやタウの集積を特異的な PET 検査によって画像化できるようになっており、これらの画像 BM は病理診断に代わりうる BM となりつつある。しかし、PET 検査は効率性が低い・コストがかかる、などの問題があり、頻度の多い AD のような病気ではそれらが克服すべき課題となる。それらの克服ためには、よりスクリーニングに適した体液 BM が必要であり、体液 BM の中でもとくに血液 BM が、画像 BM を補

完しうるものとしての有用性が高い。しかしこれまで、血液 BM については、血液中に存在する脳由来の AD 関連分子が極微量であるために、それが検出できなかった。しかし、超高感度 digital ELISA システムである Simoa の実用化という最近のイノベーションがあり、この課題は克服できる。また、血液 BM が本当に脳由来なのかどうかに関しては、髄液中の同じバイオマーカーの値と相関していれば、それが脳由来だと言えるのではないかと考えられる。

AD の脳病理には stage があり、近年の国際的な BM の枠組みでは、ATN (Amyloid/Tau/Neurodegeneration) -BM でこれを分類することが提唱されている<sup>2)</sup> (図1)。すなわち、75 歳ぐらいで認知症になる患者は、その 20 年ぐらい前からアミロイド (ATN の A) がたまってきて、認知症を発症する頃には既に飽和している。アミロイドだけではあまりひどい認知症にはならないのであるが、タウ病理 (ATN の T) が新皮質へ広がると神経細胞障害が生じる。タウは正常加齢でも、限局性に内側側頭葉などにはたまってくるが、そこにアミロイドが加わってくると、アミロイドがタウを新皮質へ spread してしまう。この新皮質へ広がったタウ病理が神経細胞障害を惹起して Neurodegeneration を生ずる (ATN の N)。2018 年に提唱された体液 BM はすべて髄液 BM だったが、最近のイノベーションにより、我々を含めた多くの研究室で、それらを血液で測定できるようになっている。ATN-BM の Context of Use の例を挙げると、予後予測という用途がある。例えば、A+T-N- (アミロイド BM のみ陽

---

\* Takahiko Tokuda, M.D., Ph.D; Medical Director, Department of Functional Brain Imaging, Institute for Quantum Medical Science, National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology

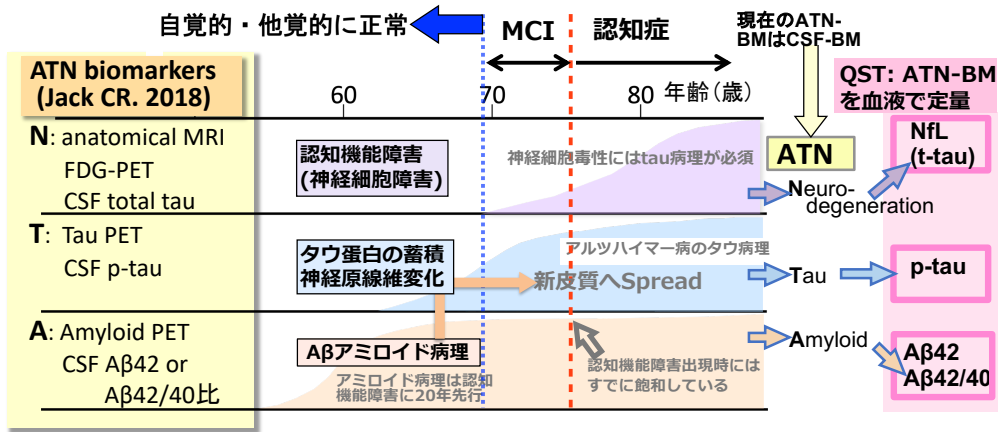


図1 ADの脳病理の進展段階とATN-BMシステム

AD患者の脳内で進行している病態を客観的に捉えるために、国際的にはJackらによってATN-BMシステムという標準的な画像BMおよび髄液BMによる診断・層別化システムが提唱されている<sup>2)</sup>。筆者(徳田)が所属する量子科学技術研究開発機構(QST)ではこれらのATN-BMを血液で定量することが、すでに可能になっている。

性)の場合、65歳でAPOE ε4のノンキャリアの場合だと、次の4.8年間で認知機能に変化はない事がわかっている。すなわちATN-BMの結果(A+T-N-)から、「あなたは5年間安心ですよ」と患者に言えるわけである。

### 3. 血液中リン酸化タウ(p-tau)のBMとしての有用性

我々はSimoaを用いて、世界で最初にヒト血液中p-tau181を定量できるSimoa系を報告した<sup>3)</sup>。この系の感度がほぼ0.01pg/mLであり、これは同じ抗体のセットを使った従来のELISAの約1000倍の感度である。我々のSimoa系で測定した血液p-tau181は対照群と比較してADで上昇しており、認知機能と負の相関を示した。また、我々の系で測った髄液中と血漿中のp-tau181が有意な正の相関を示し、髄液中のp-tau181の診断的価値はこれまでの多くの研究で認められているので、三段論法的に、血液でもp-tau181は脳病理を反映すると考えられた。我々の最初の報告から約3年が経過して、2020年に血液p-tau研究の爆発的な進展があり、Meso Scale Discoveryプラットフォームのp-tau181測定系およびSimoaによるp-tau181測定系を用いた大規模研究の結果が複数のグループから報告された<sup>4-6)</sup>。スウェーデン・イエテボリ大学のKaj Blennow先生のチームによるSimoa系の報告では、血液中p-tau181によって、脳のAD病理が進展するに従って血中p-tau181は増加し、ROCカーブでは100%のAUCでADとFTDとの鑑別が可能であった<sup>6)</sup>。彼らのp-tau181定量Simoa系は既にQuanterix社から市販されている

(筆者も使っている)。また、彼らの結果では、血漿中のp-tau181がTau PETの結果と一致するだけでなく、アミロイドPETの陽性と陰性でも有意に差があった。すなわち、彼らの系で測定した血漿中p-tau181を見れば、アミロイドのPositive/Negativeも比較的良好な診断能力(AUC=88%)で診断できることが分かったわけである。p-tauはAD以外の他のTauオパチーでは、髄液でも血液でも上昇しない。現在、p-tauというのはアミロイドに反応して上昇するのではないかと、特にp-tau181、217などのアーリーマーカーはそうではないかと考えられている。

正常人の脳でもTau蛋白はある程度リン酸化されているが、ADではそれが過剰になっている。ADの髄液では、量的にはp-tau181が多いが、他にもリン酸化部位がたくさんあり、205、217、231も代表的なリン酸化部位である。従来は、p-tau181以外のリン酸化Tau蛋白は、ヒトの体液中では微量で定量が困難であったが、現在はいろいろな測定法により定量できるようになってきている。最近、Tau蛋白の181番ではなく217番のthreonineがリン酸化されたp-tau217の有用性が相次いで報告されている<sup>7,8)</sup>。これはイーライリリー社で開発された系であるが、p-tau181よりもADの診断能力がやや高く、より早期のAD病変を検出できるという報告がなされている。Washington大学のBarthelemyらの論文では、DIAN研究で得られた体液サンプルでBMの認知症発症前の経時的な変化を検討しており、髄液中のp-tau217は発症の21年前から上昇し始め、p-tau181は19年前から上がってくる<sup>9)</sup>。このように、両者は

ともに tau 病態のアーリーマーカーであり、タウ PET の結果とはあまり相関しない。実際、この2つは、タウの凝集体が脳に盛んに蓄積してきて認知機能が低下する頃になると、髄液中ではむしろ低下してくる。タウ PET と相関するのは total tau あるいは 205 ではないかと彼らは報告している。また、最近話題の p-tau231 については、全てのタウオパチーでこの部位はリン酸化されていて、p-tau231 は正常加齢でも Braak I/II に相当する脳部位に蓄積してくることが分かってきている<sup>10)</sup>。以上のように、p-tau181/217/231/205 などのようにいろいろなリン酸化タウの分子種を見ることにより、AD の脳病理のより詳細な病期を判定できるのではないかとということが期待されている。

#### 4. ATN-BM の A,N-BM

アミロイド BM である血液中の A $\beta$  については、A $\beta$ 42 だけを測定すると、個人個人の脳から血液に出てくる A $\beta$  の量や腎臓での代謝などが変わってくるので、AD の診断精度は良くなかったが、A $\beta$ 42/40 の比をとることにより、アミロイド PET で脳にアミロイドがどれだけたまっているかを予測できる、という報告が 2017 年頃から集積されている<sup>11,12)</sup>。質量分析 (MS)、サンドイッチ ELISA、Luminex (bead-based の ELISA)、Simoa を使った検討などが次々と報告されたが、これらの中でアミロイド PET での脳アミロイド陽性を予測する精度が一番高いのは質量分析を使ったものというのが、今のところ国際的なコンセンサスになっている。その中でも、国立長寿医療研究センターの中村昭範先生とノーベル賞受賞の田中耕一先生がタッグを組まれた「免疫沈降+島津の MALDI/TOF MS」による定量システムが、今のところ世界で精度が一番高いとされている<sup>12)</sup>。また、Simoa による A $\beta$ 42/40 比の定量も、質量分析による定量よりも簡便で scale-up も容易であることから、今後の精度の改善が期待されている。「質量分析法を用いた A $\beta$ 42/40 比の定量とそれによる脳アミロイドの診断」については、その臨床応用に向けて、Washington 大学から起業された C2N Diagnostics というベンチャー企業がつくった「PrecivityAD test」が、FDA の CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) Certification を 2020 年 11 月に取得した。CLIA は research use ではない laboratory test、つまり臨床検査室のテストに用いるための必要条件である。この「PrecivityAD test」は LC-MS を用いて血中 A $\beta$ 42/40 比を定量してそれに基づいて脳アミロイドの有無を判定するものである。先に述べた島津製作所の「免

疫沈降+MALDI/TOF MS による血中 A $\beta$ 42/40 比定量およびそれによる脳アミロイドの有無の判定」も 2020 年 12 月に、「診断の参考情報となりうる生理学的パラメータを測定する診断機器」の医療機器承認を取得している。このように脳アミロイド BM については、急速に、臨床応用に向けた検討が始まっており、それは Aducanumab のような根本治療薬の承認を受けてより加速されると考えられる。

ATN-BM の N については、オリジナルの 2018 年の論文では total tau が挙がっていたが、現在までに、世界的には neurofilament light chain (NfL) の有用性を報告した論文が数多く報告されている。NfL はいろいろな神経細胞傷害、特に large myelinated fiber の傷害を反映するという一方で、neurodegenerative disease、boxer brain、neuronal injury、TBI、それからアメフト選手の脳損傷などでもその有用性が報告されている。DIAN 研究の検体を用いた検討において、横断研究では、認知症発症の 6.8 年前から、血中 NfL が上昇し始めることが分かっている<sup>13)</sup>。同じ患者を縦断的に検討すると、NfL 上昇の変曲点は、じつに認知症発症の 16.2 年前であることも報告されている。血中 NfL は Simoa で測定できるので、我々もすでに測定を実施しており、例えばダウン症患者で plasma NfL が増加することを報告している<sup>14)</sup>。また、神経難病である SMA 患者でヌシネルセンという核酸医薬がすでに臨床でも使用されており、それが患児の症状を改善するのであるが、我々が経験した症例では、患児の症状が改善するとともに、髄液中 NfL が下がってくる<sup>15)</sup>。したがって、NfL は神経疾患の治療のモニターに使用できる。これは最近 ALS や多発性硬化症などの領域でも注目されていて、我々のところにも、NfL を測ってくれないかという依頼が来ている。

#### 5. 他の神経変性疾患の生化学バイオマーカー：

##### とくに $\alpha$ -シヌクレイン、TDP-43

我々は既に 2010 年に、 $\alpha$ -シヌクレインオリゴマーを測定する系を El-Agnaf 先生とともに開発した<sup>16)</sup>。その系はサンドイッチ ELISA だが、single antibody sandwich ELISA (SAS-ELISA) という原理で、単一の同じモノクローナル抗体で抗原の捕捉と検出を行う。すなわち、「捕捉抗体が抗原モノマーの抗原認識部位を occupy しているので、SAS-ELISA はモノマー分子は認識しないが、2 分子以上が会合している可溶性の分子 (オリゴマー) ならば抗原認識部位が複数存在するので、検出抗体も抗原にアクセス可能であり、それを検出することができる」、という原理である。この系で

測定した髄液中の  $\alpha$ -シヌクレインオリゴマーはパーキンソン病 (PD) 患者で有意に増加しており、オリゴマー/モノマー比をとると弁別がよく、AUC が 0.9 を超えていた<sup>16)</sup>。ただ、血液中  $\alpha$ -シヌクレインを脳疾患 BM として使用することは難しい。それは、 $\alpha$ -シヌクレインは赤血球中に大量に存在しているため、血液中のほうが髄液中より濃度が高値で、かつ溶血によってその測定値が大きく変動する。したがって、単純に血液中  $\alpha$ -シヌクレインを測るのでは BM にならないのではないかと筆者は考えている。

TDP-43 に関しては、我々のグループでは血液でも髄液でも TDP-43 を測定できる。我々は、ALS 患者の血液と髄液で、NfL、TDP-43、total tau を測定した結果を報告している<sup>17)</sup>。髄液中の NfL と TDP を測定して、それらの測定値を掛け算した値を指標にすると、ALS とコントロールが AUC 0.9 以上で鑑別できた。AUC が 0.9 を超えていたので、髄液中 NfL と TDP-43 は ALS 診断のための生化学 BM として有望である。この論文は Quanterix の Simoa 系で TDP-43 を測定したが、これが発売中止になったので、我々はオリジナルの系を作成済みであり、特許出願も済ませている。

## 6. 今後の展望

まず、今後の脳神経疾患の BM には、多項目化が必要である。従来は、体液 BM の研究者は体液だけでこれだけできるぞと報告し、画像 BM の研究者は

画像だけでできることを報告することが多かった。そうではなく、画像 BM と体液 BM は、お互いに補完し合って、開発・検証していく必要がある。さらに、これまでの ATN の枠を超えて、他の凝集性蛋白や細胞障害を反映する NfL、シナプス機能やミクログリアを反映する BM など、脳全体で生じている病理変化を網羅的に評価するためには、様々な病理変化の客観的な診断・重症度評価を行う多項目 BM が必要になってくる。また、脳病理のステージを正確に判定するには、ATN-BM のような 2 値化した判定 (+ or -) ではなく、定量的なバイオマーカーが必要であると、筆者は考えている。国際的にも Next ATN ということで、Cummings 先生や Petersen 先生が 2020 年頃から「AT (X) N」という ATN を拡張したシステムを提唱している。ただ、筆者はこの naming はあまりよくないと思う。それは、例えば TDP-43 にしろ  $\alpha$ -シヌクレインにしろ、X には多くの異常凝集蛋白の種類があり、単に「X」ではそれらをカバーできない。

われわれ量研機構 (QST) では、画像 BM と体液 (主に血液) BM を相互促進的に開発・検証して、最終的には、これらを一体化した多項目バイオマーカーシステム、「ProVEN」システムを目指している (図 2)。「ProVEN」とは何か。これは、先ほどの ATN の改定バージョンだが、「異常凝集蛋白」を ATN ではなく Protein (「Pro») でまとめておけば、リン酸化タウ、 $\alpha$ -シヌクレイン、TDP、など測定・画像化できる

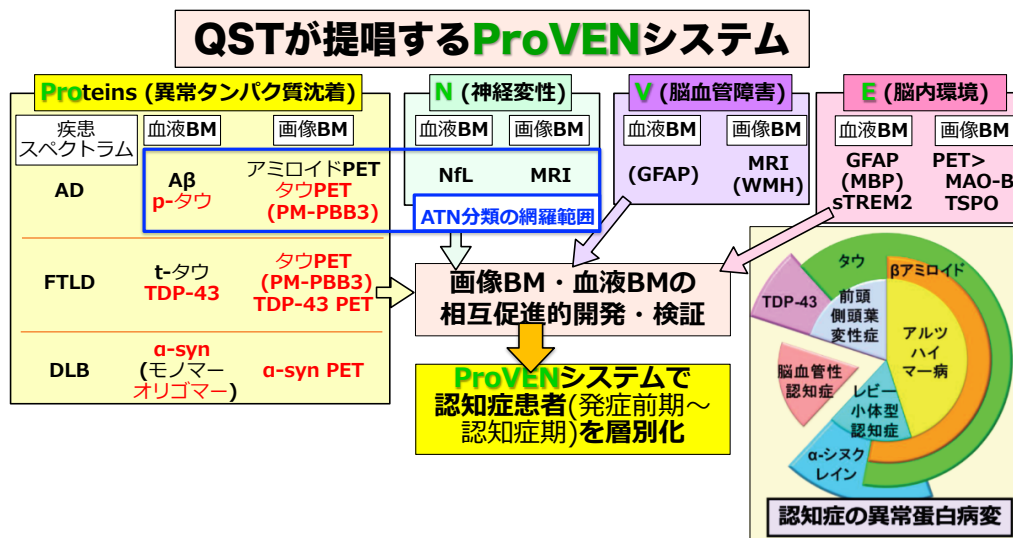


図 2 QST が提唱する ProVEN システム

現在の ATN-BM システムは、主に AD の診断・層別化を目的としている (青枠)。筆者 (徳田) が所属する QST では、認知症の種々の疾患スペクトラムに対して、赤字で示したオリジナルの血液 BM と PET 画像 BM のシーズをすでに保有している。それらの BM シーズは、現在の世界標準である「ATN 分類」がカバーする範囲を凌駕している。これら多項目の血液 BM と画像 BM を相互促進的に開発・検証して、「多項目の血液・画像 BM を統合した、多様な認知症性疾患に対する日本発の包括的な診断・層別化システム (ProVEN システム)」を確立することが、筆者らの BM 研究の目標である。

BM が次々と増えてもそれらを包括できる。V (Vascular) は併存する血管性病変を示す。Vascular lesion は異常凝集蛋白の沈着を増悪させ病理変化を促進するとともに認知機能を悪化させる。さらに、“E”は脳内環境 (environment) を示しており、これはミクログリアやアストロサイトの病態を反映する。このような“E”病態の程度も PET と血液で評価できる時代になってきている。そして、これらの異常凝集蛋白蓄積 (“Pro”)、併存血管病変 (“V”)、脳内環境の変化 (“E”) の総和的な結果として生じるのが神経変性 (Neurodegeneration) “N”であり、これも画像・血液 BM で評価できる。我々はこの ProVEN システムを画像と体液で相互促進的に開発・検証して、このシステムで AD だけでなく様々な認知症患者を発症前期から認知症期まで、診断・層別化したいと考えている。従来の ATN と比較して、われわれの ProVEN システムは、はるかに網羅的に様々な認知症病態を広くカバーしている。

次に、BM の定量的評価の必要性を述べる。抗 A $\beta$  抗体薬である Donanemab が、Phase II 試験では初めて有意に認知機能の改善を示したことが、2021 年になって報告された<sup>18)</sup>。そこには重要なイノベーションがあった。それは、治験の inclusion criteria を画像 BM であるタウ PET を用いて定量的に規定したのである。すなわち、タウ PET の SUVR が 1.1 未満の患者 (タウ蓄積が陰性の患者) は除外するとともに、逆に SUVR が 1.46 以上でタウがたまり過ぎている患者も除外して、脳のタウ病理の重症度を均一化することによって、正確に抗アミロイド薬の薬効 (認知機能障害の増悪抑制効果) を評価したのである。というのは、タウがあまりたまっていない患者 (A+T-) は脳病理が約 5 年進まないわけで、いくら治験をやっても実薬とプラセボで有意差は出ない。また、タウ病理が進み過ぎている患者も抗アミロイド薬では手遅れなのである。これまでの ATN-BM は二値化した binarized (+ or -) のステージングであった。そうではなく、個々の患者の様々な脳病態を反映する BM を定量的に評価して、患者の層別化すなわち定量的 staging (quantitative staging: QS) を行うことが必要である。われわれ QST では QS を目指して、それを ProVEN システムで行っていかうと考えている。

## 文献

1) Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Clin

Pharmacol Ther. 2001; **69**(3): 89-95  
 2) Jack CR Jr, et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2018; **14**(4): 535-562.  
 3) Tatebe H, et al. Quantification of plasma phosphorylated tau to use as a biomarker for brain Alzheimer pathology: pilot case-control studies including patients with Alzheimer's disease and down syndrome. *Mol Neurodegener.* 2017; **12**(1): 63.  
 4) Janelidze S, et al. Plasma P-tau181 in Alzheimer's disease: relationship to other biomarkers, differential diagnosis, neuropathology and longitudinal progression to Alzheimer's dementia. *Nat Med.* 2020; **26**(3): 379-386.  
 5) Thijssen EH, et al. Diagnostic value of plasma phosphorylated tau181 in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. *Nat Med.* 2020; **26**(3): 387-397.  
 6) Karikari TK, et al. Blood phosphorylated tau 181 as a biomarker for Alzheimer's disease: a diagnostic performance and prediction modelling study using data from four prospective cohorts. *Lancet Neurol.* 2020; **19**(5): 422-433.  
 7) Palmqvist S, et al. Discriminative Accuracy of Plasma Phospho-tau217 for Alzheimer Disease vs Other Neurodegenerative Disorders. *JAMA.* 2020; **324**(8): 772-781.  
 8) Janelidze S, et al. Associations of Plasma Phospho-Tau217 Levels With Tau Positron Emission Tomography in Early Alzheimer Disease. *JAMA Neurol.* 2021; **78**(2): 149-156.  
 9) Barthélemy NR, et al. A soluble phosphorylated tau signature links tau, amyloid and the evolution of stages of dominantly inherited Alzheimer's disease. *Nat Med.* 2020; **26**(3): 398-407.  
 10) Ashton NJ, et al. Plasma p-tau231: a new biomarker for incipient Alzheimer's disease pathology. *Acta Neuropathol.* 2021; **141**(5): 709-724.  
 11) Ovod V, et al. Amyloid  $\beta$  concentrations and stable isotope labeling kinetics of human plasma specific to central nervous system amyloidosis. *Alzheimers Dement.* 2017; **13**(8): 841-849.  
 12) Nakamura A, et al. High performance plasma amyloid- $\beta$  biomarkers for Alzheimer's disease. *Nature* 2018; **554**(7691): 249-254.

- 13) Preische O, et al. Serum neurofilament dynamics predicts neurodegeneration and clinical progression in presymptomatic Alzheimer's disease. *Nat Med.* 2019; **25**(2): 277-283.
  - 14) Shinomoto M, et al. Plasma neurofilament light chain: A potential prognostic biomarker of dementia in adult Down syndrome patients. *PLoS One.* 2019; 14(4): e0211575.
  - 15) Tozawa T, et al. Intrathecal nusinersen treatment after ventriculo-peritoneal shunt placement: A case report focusing on the neurofilament light chain in cerebrospinal fluid. *Brain Dev.* 2020; **42**(3): 311-314.
  - 16) Tokuda T, et al. Detection of elevated levels of alpha-synuclein oligomers in CSF from patients with Parkinson disease. *Neurology* 2010; **75**(20): 1766-1772.
  - 17) Kasai T, et al. Combined use of CSF NfL and CSF TDP-43 improves diagnostic performance in ALS. *Ann Clin Transl Neurol.* 2019; **6**(12): 2489-2502.
  - 18) Mintun MA, et al. Donanemab in Early Alzheimer's Disease. *N Engl J Med.* 2021; **384**(18): 1691-1704.
- この論文は、2021年6月5日（土）第34回老年期認知症研究会で発表された内容です。