

日本医療研究開発機構
次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業
(患者層別化マーカー探索技術の開発)
事後成果報告書

I 基本情報

研究開発課題名： (日本語) 血液バイオマーカーによる認知症の統合的層別化システムの開発
(英語) Development of an integrated stratification system for dementia using blood-based biomarkers

研究開発実施期間：令和元年 10 月 30 日～令和 6 年 3 月 31 日(予定)

研究開発代表者 氏名： (日本語) 中村 昭範
(英語) Akinori Nakamura

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：
(日本語) 国立研究開発法人 国立長寿医療研究センター 研究所・バイオマーカー開発研究部・部長
(英語) National Center for Geriatrics and Gerontology・Department of Biomarker Research

II 研究開発の概要

認知症の効果的な治療法や予防法を開発するためには、背景にある脳の病理・病態を捉え、発症や進行のリスクに基づいて対象者を適切に層別化するマーカーが必須である。特に PET 検査や髄液検査といった、高コスト、あるいは侵襲性の高い方法に比べ、低侵襲で大人数にも適用可能な血液検査をベースとした方法に世界的なニーズが高まっている。そこで本研究は、我々が開発に成功したアルツハイマー病(AD)のアミロイド β (A β)蓄積を捉えるバイオマーカーを中心に、複数の血液バイオマーカーを組み合わせ、認知症、及び認知症リスクを有する高齢者の統合的層別化システムを開発することを目的とし、次の課題に取り組んだ。

1)血液 A β バイオマーカーの実用化に必要な前向き研究を行い、薬機承認や保険収載を目指す。

薬機承認、及び保険収載を目指し、GCP 準拠の特定臨床研究 (CUPAB 試験：Clinical utility of plasma Amyloid beta biomarker: a multicenter validation study) を、国立長寿医療研究センター、東京都健康長寿医療センター、近畿大学医学部の 3 施設共同で推進した。対象は、認知症 (AD 及び非 AD 型認知症)、軽度認知障害 (MCI)、及び認知機能正常高齢者 (CN) で、A β -PET 検査、MRI 検査、及び採血・検体保存を必須項目とした。前向き研究は、新型コロナウイルスのパンデミックの影響で当初の計画よりも約半年遅れたが、2022 年 9 月に目標登録数を達成し、最終的に 194 例の正式登録データが得られた。しかしその後、島津社での血液バイオマーカー測定システムに関連した複数のトラブルが発生し、測定が延期されてい

る。従って本研究期間終了後も共同研究を継続し、2025 年度中の測定完了、2026 年度の PMDA 申請完了を予定している。

2)その他の認知症関連の血液バイオマーカー（タウ病理、神経変性、その他の病理等）のシーズについても開発を進め、臨床的有用性を検証する。

認知症に関連した血液バイオマーカーの検証を行うためには、Standard of Truth (SOT)として利用可能な信頼のおけるバイオマーカー情報が必須である。そのため、A β -PET, Tau-PET, FDG-PET, MRI 等の画像検査データや心理検査データと血液サンプルを取得可能な前向き研究を CUPAB 試験と並行して実施し、3施設併せて 530 例以上の登録を達成した。このリソースを用いて AD の病態研究の frame work として知られる ATX(I)N (A: Amyloid, T: Tau, X: others (I: Neuroinflammation), N: Neurodegeneration) システムに対応した血液バイオマーカーとして、A β , pTau181/217, GFAP, NfL について、その臨床的有用性を検討した。

解析の結果、血液 A β と pTau217 は共に脳内 A β 病理の有無を非常に高い精度で推定する能力を有すること、pTau181, pTau217, GFAP, NfL は病態の進行を反映するバイオマーカーとして有用で、pTau181 と pTau217 はタウ病理の進行とも相関があること、GFAP は炎症（グリオシス）やタウ病変、局所ブドウ糖代謝の低下等と関連があること、NfL は AD 病理の有無とは関係なく、認知機能の低下や脳萎縮と関連があること等が明らかとなった。

更に、シナプス機能異常を反映するバイオマーカー候補として Neurogranin (Ng)に関連した多数の分子種を詳細に解析した結果、Ng 断片化ペプチドの比（Ng ratio）が認知症の病態進行を反映するバイオマーカーとして有用であることが示された。また、血液脳関門異常等を反映するバイオマーカーについても検討を進め、LOX-1、MMP-9、TIMP4 等が有望な候補として抽出された。しかし、これらについては更なる検証が必要である。

一方、AD 以外の認知症の鑑別に有用なバイオマーカー候補の検証も進めた。レビー小体型認知症（DLB）やパーキンソン病（PD）の原因である α シヌクレインは赤血球中に多量に含まれるため、これまで血液での測定が困難とされていたが、ヘモグロビンとの比を取るによりバイオマーカーとして利用できる可能性が示された。また、特定のマイクロ RNA 発現プロファイルが DLB のバイオマーカーとして有望であることが、独立したデータセットで検証された。更に、DLB や PD の病態進行を複数の血液や尿中バイオマーカーで総合的に評価できることや、DLB では血清カフェインの動態が変化すること等も詳細な解析により明らかとなった。

また、FTLD の一部や、LATE（大脳辺縁系優位型老年期 TDP-43 脳症）の病因である TDP-43 を血液で測定するシステムのバリデーションが行われ、臨床的有用性も示された。更に、マルチオミックス解析（プロテオーム、リポドーム、メタボローム）による認知症の病態解析や進行予測に有用なバイオマーカーの探索を行い、いくつかの候補が挙げられているが、十分な検証結果を得るには更なる解析が必要である。

3)これらの血液バイオマーカーを組み合わせ、認知症のリスクや進行予測、認知症タイプ等を推定できる、統合的層別化システムを開発する。

4 種の血液バイオマーカーによる ATXN (A = A β , T = pTau181 or pTau217, X = GFAP, N = NfL) を用いて層別化を試み、A β -PET, Tau-PET, MRI, FDG-PET の半定量代表値を用いた画像バイオマーカーによる層別化と比較したところ、血液バイオマーカーによる画像バイオマーカーを用いた層別化と類似のパターンを示すことを示した。機械学習モデルを構築し検証した結果、この血液バイオマーカー 4 種の組み合わせで、AD continuum (A β 陽性認知機能正常=CNp, AD に伴う軽度認知障害=MCIp, AD) と A β 陰性の正常高齢者(CNn) の 4 群の臨床病系を約 65%の精度で層別化できることが明らかとなった。更に、A β -PET, Tau-PET, FDG-PET で ATN それぞれを +/- の八群に層別化した場合、チャンスレベルが 12.5%であるのに対し、58%の精度で層

別化できることが示された。加えて、レカネマブの治療効果に影響を与えられとされる Tau 病理の有無について層別化するため、A T を+/-の4群で層別化した場合の推定精度は69%と高く、有用な情報となる可能性が示された。

本研究の成果は、認知症の早期診断、病態把握、診療や予防に資するものであり、医療分野の進展に重要な役割を果たすと考えられる。また、本成果は、低侵襲の血液検査により認知症のリスク推定や診断に役立てるものであり、新技術の創出に繋がると考えられる。更に、レカネマブのような AD の新薬が登場し、また、効果的な予防法も明らかになりつつある現在、低侵襲の検査で対象となる人を抽出する層別化技術は大いに社会的ニーズに対応するものである。

Summary

To develop effective treatments and prevention methods for dementia, it is crucial to identify biomarkers that capture the underlying neuropathology and pathophysiology, enabling appropriate stratification of individuals based on the risk of onset and progression. There is a growing global demand for blood-based methods that are less invasive and applicable to large populations, compared to high-cost or invasive techniques such as PET scans and cerebrospinal fluid tests. Our study focuses on a biomarker we successfully developed for detecting amyloid-beta (A β) accumulation in Alzheimer's disease (AD), aiming to develop an integrated stratification system for dementia and at-risk elderly individuals by combining multiple blood biomarkers. We addressed the following tasks:

We conducted a prospective study necessary for the practical application of the blood A β biomarker, aiming for regulatory approval and inclusion in health insurance coverage. We pursued a GCP-compliant specific clinical study (CUPAB trial: Clinical utility of plasma Amyloid beta biomarker: a multicenter validation study) in collaboration with the National Center for Geriatrics and Gerontology, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, and Kindai University Faculty of Medicine. The study included individuals with dementia (AD and non-AD types), mild cognitive impairment (MCI), and cognitively normal elderly (CN), requiring A β -PET scans, MRI scans, and blood sample collection as essential components. Despite delays due to the COVID-19 pandemic, we reached our target enrollment by September 2022, obtaining data from 194 registered cases. However, subsequent issues related to the blood biomarker measurement system at Shimadzu Corporation have postponed measurements. The collaboration will continue beyond the end of the research period, with measurement completion expected by FY 2025 and PMDA application completion by FY 2026.

We also advanced the development of other dementia-related blood biomarkers (tau pathology, neurodegeneration, and other pathologies) and evaluated their clinical utility. Verification of these biomarkers requires reliable Standard of Truth (SOT) biomarker information. Therefore, we conducted a prospective study alongside the CUPAB trial, achieving over 530 registrations across three facilities. Using these resources, we examined A β , pTau181/217, GFAP, and NfL as blood biomarkers corresponding to the ATX(I)N system (A: Amyloid, T: Tau, X: others, I: Neuroinflammation, N: Neurodegeneration) known as a framework in AD pathology research. Results indicated that blood A β and pTau217 accurately estimate the presence of cerebral A β pathology, while pTau181, pTau217, GFAP, and NfL are useful markers reflecting disease progression, with pTau181 and pTau217 correlating with tau pathology progression. GFAP is related to inflammation (gliosis), tau lesions, and local glucose metabolism decline, while NfL correlates with cognitive decline and brain atrophy, independent of AD pathology. Furthermore, analysis of Neurogranin (Ng) and its fragments (Ng ratio) as markers reflecting synaptic dysfunction demonstrated their utility in indicating disease progression. Biomarkers reflecting blood-brain barrier abnormalities, such as LOX-1, MMP-9, and TIMP4, were identified as potential candidates, though further validation is required. Additionally, biomarkers useful for differentiating non-AD dementias were investigated, including α -synuclein in red blood cells for distinguishing Lewy body dementia (DLB) and Parkinson's disease (PD), and specific microRNA expression profiles as potential biomarkers for DLB. Comprehensive evaluation of DLB and PD progression using various blood and urine biomarkers, and changes in serum caffeine metabolism in DLB, were clarified through detailed analysis. Validation of a system for measuring TDP-43, involved in FTL and LATE (limbic-predominant age-related TDP-43 encephalopathy), demonstrated its clinical utility. Exploration for biomarkers useful in dementia pathology analysis and progression prediction through multi-omics analysis (proteome, lipidome, metabolome) identified several candidates, requiring further analysis for conclusive validation.

By combining these blood biomarkers, we aimed to develop an integrated stratification system capable of estimating dementia risk, progression, and types. Utilizing four blood biomarkers (A β , pTau181 or pTau217, GFAP, NfL) for

stratification in the ATXN framework and comparing with imaging biomarkers (A β -PET, Tau-PET, MRI, FDG-PET), we demonstrated similar patterns of stratification. Machine learning models validated that combining these four biomarkers could stratify clinical spectra into four groups (CNp, MCIp with AD, AD continuum, and CNn) with approximately 65% accuracy. Further, stratification into eight groups based on ATN (+/-) through A β -PET, Tau-PET, FDG-PET showed 58% accuracy, surpassing the chance level of 12.5%. Moreover, stratifying based on tau pathology's presence for assessing lecanemab treatment effects showed a 69% estimation accuracy, indicating its potential utility.

The outcomes of this research are significant for early diagnosis, understanding pathology, and contributing to treatment and prevention in the medical field, marking a critical advancement in medical science. Furthermore, these results pave the way for the creation of new technologies through minimally invasive blood tests, aiding in dementia risk estimation and diagnosis. The development of stratification technologies to identify individuals for low-invasive tests meets a significant societal need, especially with the emergence of new AD drugs like lecanemab and the increasing clarity of effective prevention methods.