

医療分野研究成果展開事業/研究成果最適展開支援プログラム (AMED・A-STEP)

平成 27 年度成果報告書 (公開)

研究開発担当者(企業)	株式会社MCBI 代表取締役 内田 和彦
研究代表者	国立大学法人筑波大学大学院 医学医療系 准教授 内田和彦
研究開発課題	軽度認知障害及びアルツハイマー病の血液診断システム

1. 研究開発の目的

軽度認知障害 (MCI) ならびにアルツハイマー病 (AD) の診断において臨床有効性のある血液検査試薬ならびに検査システムを開発し、認知症の超早期診断を実現する。

2. 研究開発の概要

本開発では、「アルツハイマー病など認知症の血液診断システム」を実用化し、AD など認知症の前駆段階 (前臨床段階 pre-clinical stage) にある認知機能障害 (MCI) の診断による「認知症の超早期診断」とその予防の実現に資する。臨床検査・自由診療で新規市場を創出するため、アッセイ試薬キットならびに検査装置からなる認知症の血液診断のための ELISA (イムノ) アッセイならびに LC-MS 検査システムの実用化開発を行う。これらのアッセイを用いて AD ならびに MCI の診断における血液マーカーの臨床有効性の基礎的な検証について、4 施設以上の医療機関の参加する多施設臨床研究によって検討する。AD vs. NDC (non-demented control; 非認知症対照) においては、AD 200 例と NDC 300 例を用いた臨床研究を、MCI vs. NDC では、MCI 150 例と NDC 300 例を用いた臨床研究を実施する。認知症は MCI という認知機能障害の早期に発見されればその進行を予防でき、また治療、介入による改善が期待できる。

3. 研究開発の成果 (平成 27 年度)

(1) イムノアッセイ法を用いた臨床研究 【株式会社 MCBI】

2 つの AD バイオマーカー ADPEP1315, AD1048 および MCI バイオマーカー AD1089 の間接競合 ELISA 法を用いたアッセイ法を確立した。

健常 (NDC) 20 例、MCI 45 例、AD 45 例の臨床サンプルを用いた ADPEP1315 の間接競合 ELISA アッセイを実施した。NDC に対して、MCI、AD で有意に減少した (図 1)。

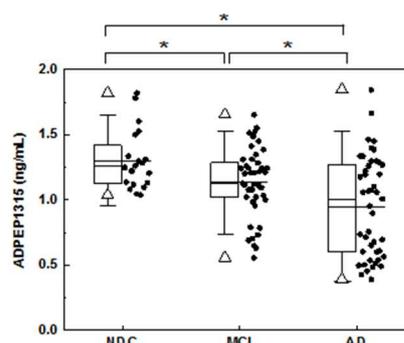


図 1 ADPEP1315 の間接 ELISA アッセイ
*: 有意差があることを示している。

(2) LC-MS アッセイの構築と自動化・高速化 【株式会社 MCBI】

バイオマーカーの定量で用いる検量線サンプルの再検討を行った。標準血清を検量線サンプルに用いると、バイオマーカーペプチドと似た m/z のマトリクス成分が検出され定量の精度に影響を及ぼしていた。そこで、BSA トリプシン消化物を含む溶媒で標準物質を調整し検量線サンプルとすることでマトリクス成分の検出を排除し、精度の高い検量線が作成できた。

(3) LC-MS アッセイを用いた臨床研究 【株式会社 MCBI、筑波大学】

4ヶ所の医療施設において目標登録数 200 例を上回る 240 例の精度の高い臨床サンプルが収集された (表 1)。

表 1 登録症例数 (2016/3/31現在)

	登録症例数	採血症例数	心理テスト	MRI	SPECT	脱落
総計	251	251	194	164	53	11
総計 (脱落を除く)	240	240				

このうち、診断が確定された臨床サンプル NDC 96 例、MCI 29 例 AD 55 例について LC-MS アッセイを実施した。Lasso 回帰分析を用いたマルチマー解析の結果、6つのペプチドバイオマーカが MCI と NDC を区別する MCI マルチマーとして見出され、感度 82%、特異度 97%、診断精度が 86%であった (図 2)。また、AD と NDC を区別する AD マルチマーは 4つのペプチドバイオマーカとして見出され、感度 86%、特異度 100%で診断精度が 91%であった。

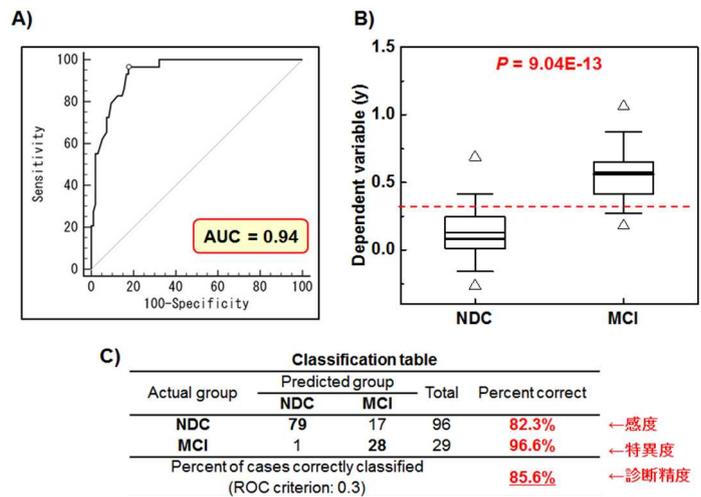


図 2 MCI マルチマー解析
A) ROC 曲線、B) Lasso プロット、C) 診断精度

また、血中の代謝物マーカの探索を行ったところ、NDC vs. MCI で 7 種、NDC vs. AD で 8 種類の代謝物マルチマー候補が同定された。MCI および AD の判別精度は ROC = 0.88、および 0.98 であった。

バイオマーカペプチドの生理的意義を明らかにするために、免疫組織化学的手法により大脑海馬組織の解析を行った。Neurexin 由来ペプチドマーカ ADPEP1315、Prothrombin 由来ペプチドマーカ、ADPEP1250・AD1048、補体由来ペプチドマーカ AD1008、AD1049 について、海馬組織内で発現が認められ、NDC に対し AD 患者海馬組織で有意に高い発現が認められた (図 3, ADPEP1315)。

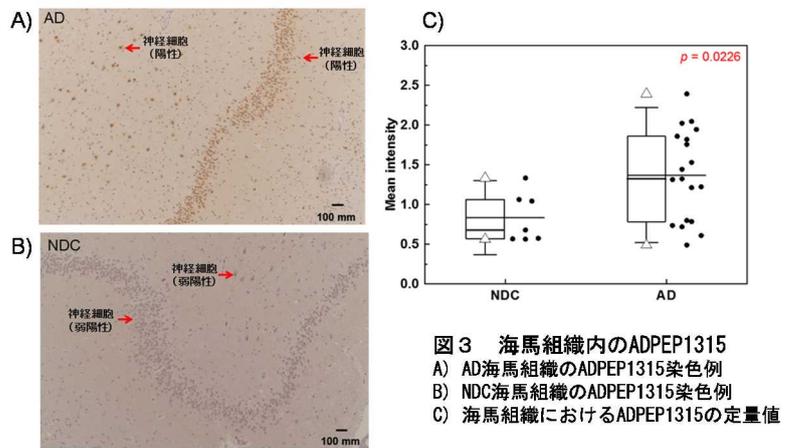


図 3 海馬組織内の ADPEP1315
A) AD 海馬組織の ADPEP1315 染色例
B) NDC 海馬組織の ADPEP1315 染色例
C) 海馬組織における ADPEP1315 の定量値

(4) 介護施設での認知症アセスメントシステムの構築 【株式会社 MCBI】

Windows Server によるクライアント-サーバーシステムを構築し、SQL Server でデータベース (DB) を運用する認知症早期検査システムのプロトタイプ構築を完了する事が出来た。DB に SQL Server を使用することで、10 万件規模の測定データを安定して認知症早期検査システムに取り込めることが可能となった。