

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名 : 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
Medical Research and Development Programs Focused on Technology Transfer: Adaptable and Seamless Technology Transfer Program through Target-Driven Research and Development

研究開発課題名 : 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
Blood-based diagnostics of MCI and Alzheimer's disease

研究開発担当者 株式会社 MCBI 代表取締役 内田和彦
所属 役職 氏名 : Kazuhiko Uchida, CEO, MCBI Inc.

実施期間 : 平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 イムノアッセイと LC-MS アッセイによる MCI およびアルツハイマー病の血液バイオマーカーの臨床有効性の検証

開発課題名 : Verification of clinical efficacy of blood biomarkers of MCI and Alzheimer's disease using immunoassay and LC-MS assay

研究開発分担者 福祉村病院 長寿医学研究所 研究員 赤津 裕康
所属 役職 氏名 : Hiroyasu Akatsu, Deputy director, Fukushima Hospital, Chochu Medical Institute

分担研究 AD および MCI バイオマーカーの臨床有効性の基礎的な検証

開発課題名 : Basic verification of clinical efficacy of AD and MCI biomarkers

研究開発分担者 名古屋市立大学医学部 教授 松川 則之
所属 役職 氏名 : Noriyuki Matsukawa, Professor, Medical school, Public University Corporation Nagoya City University

分担研究 AD および MCI バイオマーカーの臨床有効性の検証

開発課題名 : Verification of clinical efficacy of AD and MCI biomarkers

研究開発分担者 筑波大学医学医療系 教授 新井 哲明

所属 役職 氏名： Tetsuaki Arai, Professor, Faculty of Medicine, University of Tsukuba

分担研究 AD および MCI バイオマーカーの臨床有効性の検証と認知症予防介入によるバイオマーカーの変動の検証

開発課題名： Validation of clinical efficacy of AD and MCI biomarkers and verification of biomarker fluctuation by dementia prevention intervention

研究開発分担者 メモリークリニックお茶の水 院長 朝田 隆

所属 役職 氏名： Takashi Asada, Hospital director, Memory Clinic Ochanomizu

分担研究 バイオマーカーの生理的意義についての研究

開発課題名： Study on physiological significance of biomarkers

研究開発分担者 筑波大学医学医療系 准教授 内田 和彦

所属 役職 氏名： Kazuhiko Uchida, Associate professor, Faculty of Medicine, University of Tsukuba

II. 成果の概要（総括研究報告）

アルツハイマー病（AD）などの認知症は、前駆段階である認知機能障害（MCI）や、より前駆段階（pre-clinical stage）において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。株式会社MCBI（代表研究者、内田和彦）は、AD並びにMCIを早期に診断するためのペプチドバイオマーカーを血清中より見出し、これらのペプチドバイオマーカーを検出するためのアッセイ試薬キット並びに検査装置からなるLC-MS血液検査システムの実用化開発を行ってきた。福祉村病院（赤津裕康研究員）、名古屋市立大学医学部（松川則之教授）、メモリークリニックお茶の水（朝田隆院長）、筑波大学医学医療系（新井哲明教授）の4施設の医療機関と共同で多施設臨床研究を行い、LC-MS/MS（SRM/MRM）法によるアッセイ方法（LC-MS/MSアッセイ）を用いたADならびにMCIの診断における血液バイオマーカーの臨床有効性の基礎的な検証を行った。

平成28年度は、4医療施設で合計374例の臨床サンプルを収集した。さらに平成27年度までに収集した臨床サンプルを併せて、NDC（non-demented control; 非認知症対照）359例、MCI178例、AD177例、さらにその他の認知症（レビー小体型認知症：DLB、前頭側頭葉型認知症：FTD、血管性認知症：VaD）91例、その他の精神神経疾患（統合失調症：SCH、うつ病、パーキンソン病：PD）85例の合計890例について、LC-MS/MSアッセイを行った（株式会社MCBIグループ）。

LASSO回帰分析を用いたマルチマーカー解析により、3つのペプチドバイオマーカーがNDCとMCIを区別し、感度75%、特異度62%、診断精度は69%であった。また、2つのペプチドバイオマーカーがNDCとADを区別し、感度97%、特異度67%、診断精度は81%であった。さらに、その他の認知症とNDCは7つのペプチドバイオマーカーで区別し、感度67%、特異度91%、診断精度は84%であった。その他の認知症とADを区別するバイオマーカーペプチドの組み合わせは6つであり、感度67%、特異度88%、診断精度は81%であった。マルチマーカーを用いることにより、AD並びにMCIを精度良く見つけ、さらには、認知症のうち6割を占めるアルツハイマー病とその他の認知症を区別することが可能であることを示した。

内田グループ（筑波大学）は免疫組織学的手法によりバイオマーカーペプチドまたはその前駆タンパク質が海馬組織中で発現していることを明らかにした（平成 27 年度）。バイオマーカーペプチドが脳から血中に放出される機構を明らかにするため、exosome を介したバイオマーカーの血中へ排出する仮説を構築し、中枢神経細胞由来 exosome を血清中から抽出し、LC-MS/MS アッセイで分析を行った。その結果、一部のバイオマーカーは exosome を介して血中に放出している可能性が示された。

Dementia such as Alzheimer's disease (AD) can prevent progression if it is found in the precursor stage, mild cognitive impairment (MCI) and furthermore in the pre-clinical stage than MCI. We found in the serum peptide biomarkers for early diagnosis of AD and MCI. And we have put into practical use development of LC-MS blood test system consisting of assay reagent kit and inspection equipment for detecting these peptide biomarkers.

We performed multicenter clinical research in collaboration with 4 medical institutions, and we conducted basic verification of the clinical efficacy of blood biomarkers in the diagnosis of AD and MCI by LC-MS/MS assay using LC-MS/MS.

In 2016, we collected 374 clinical samples at 4 medical institutions. Furthermore we measured total 890 clinical samples by LC-MS/MS assay.

By multimarker analysis using LASSO regression analysis, the 3 peptide biomarkers distinguished between NDC and MCI. The sensitivity was 75%, the specificity was 62%, and the diagnostic accuracy was 69%. In addition, the 2 peptide biomarkers distinguished between NDC and AD. The sensitivity was 97%, the specificity was 67%, and the diagnostic accuracy was 81%. Furthermore, other dementia and NDC were distinguished by 7 peptide biomarkers. The sensitivity was 67%, the specificity was 91%, and the diagnostic accuracy was 84%. Other dementia and AD were distinguished by 6 biomarker peptides. The sensitivity was 67%, the specificity was 88%, and the diagnostic accuracy was 81%. By using multimarkers, it was shown that AD and MCI can be found with high accuracy, and further it is possible to distinguish between Alzheimer's disease accounting for 60% of dementia and other dementia.

We revealed that the biomarker peptide or its precursor protein was expressed in the hippocampal tissue by immunohistological techniques.

In order to clarify the mechanism by which biomarker peptides are released from the brain into the blood, we constructed a hypothesis that exosome mediates the release of biomarkers into the blood. The exosome derived from central nerve cells was extracted from the serum, and the exosome was measured by LC-MS/MS assay. As a result, it was shown that some biomarkers may have been released into the blood via exosomes.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 2 件、国際誌 0 件）

1. 内田和彦, 鈴木秀昭. MCI およびプレクリニカル AD の血液バイオマーカーへの期待. 臨床検査, 60: 1530-1536, 2016.
2. 内田和彦. MCI とプレクリニカル AD の血液・髄液バイオマーカーとその病態生理学的背景. 老年精神医学雑誌, 27: 631-639, 2016

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Association of Amyloid- β Sequester Proteins in Serum with Cognitive Decline, Brain Atrophy, and Cerebral Blood Flow. (血清アミロイドベータ(A β)シークエスタタンパク質のレベルと認知機能低下、脳萎縮ならびに脳血流の変化との関連について), 口頭発表, 内田和彦, 劉珊, 鈴木秀昭, 西村吉典, 赤津裕康, 目野浩二, 朝田隆, Alzheimer's Association International Conference 2016, 2016/7/24-7/25, Toronto, CANADA.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 平成 28 年 7 月 16 日 行田総合病院 (埼玉) 認知症と軽度認知障害 (MCI) について 講演
2. 平成 29 年 1 月 28 日 東住吉区医師会 (大阪) アルツハイマー病と軽度認知障害 (MCI) 講演

(4) 特許出願

1. 日本国特許番号: 第 6012923 号 / 登録日: 2016.9.30 / 発明の名称: 認知機能障害疾患のバイオマーカーおよび該バイオマーカーを用いる認知機能障害疾患の検出方法