

## 軸索修復の血漿バイオマーカーの研究

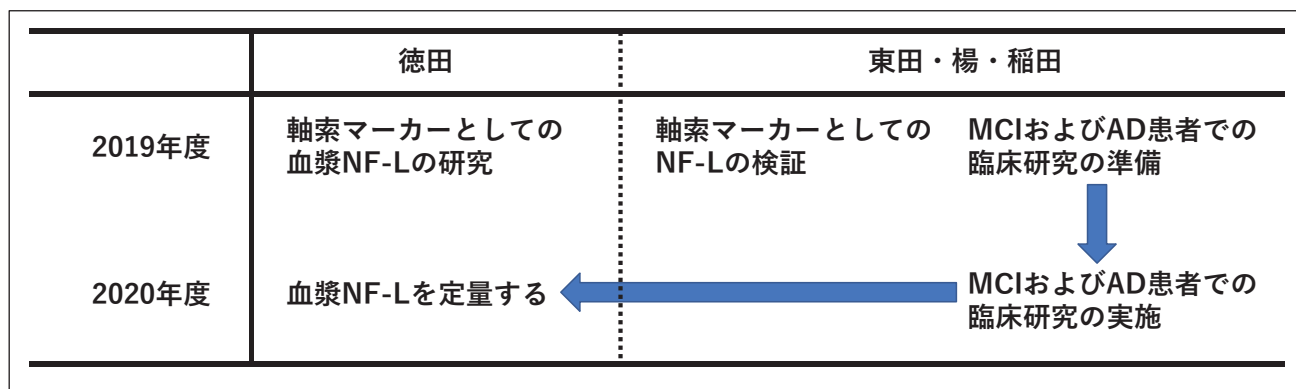
申請代表者	徳田 隆彦	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 量子生命・医学部門 量子医科学研究所 脳機能イメージング研究部	医長
所外共同研究者	建部 陽嗣	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 量子生命・医学部門 量子医科学研究所 脳機能イメージング研究部	研究員
研究統括者	東田 千尋	研究開発部門病態制御分野神経機能学領域	教授
所内共同研究者	楊 熙蒙	研究開発部門病態制御分野神経機能学領域	助教
所内共同研究者	稲田 祐奈	研究開発部門病態制御分野神経機能学領域 (2020, 11～)	助教

### ■背景・目的

【現状】現在開発中の、アルツハイマー病(AD)の原因物質である Aβ や tau を標的にした治験薬では、認知機能改善効果が明確には認められずまだ承認に至ったものはない。病因物質をターゲットにした治療薬開発だけでは AD の克服は難しい。研究統括者・東田は、これまでの研究において、AD の機能を回復する本質的な戦略として神経回路網の破綻を修復により記憶障害を回復させることを目標年、軸索の修復・再伸展活性を有する非常に有望な化合物として Diosgenin を同定し、動物モデルにおける記憶改善効果も確認してきた。

【課題】しかしヒトでの証拠、すなわち Diosgenin が軸索伸展によって AD 患者の認知機能障害を改善させるかについては未検討であった。

【目的】そこで本研究は、以下の2項目を目的とする。(1) 脳内の軸索変性の程度と相関することがヒトで実証されている neurofilament light(NF-L)量をマウスでも定量する。(2) 軸索を修復する神経回路再構築型の薬物(Diosgenin)が、アルツハイマー病の記憶障害を回復させられることをヒトで実証し、新しいAD根本的治療薬の開発につなげる。以上の取り組みによって、脳機能回復に本質的に必要な、変性軸索の修復と回路再構築の分子メカニズムを解明し、新しいコンセプトの根本的AD治療薬を提示する。



## ■結果・考察

### (1) アルツハイマー病モデルマウスでの研究

NF-L は、ミエリン化軸索に発現している中間径フィラメントで、軸索が断裂・変性すると、脳脊髄液や血中に増加し比較的長時間安定に検出される。AD の軸索変性に伴って血漿中 NF-L が増加すること、しかも発症 10 年前から増加が始まることが示され(Nature Med. (2019) 25; 277-283)、血漿 NF-L は、ヒトでの軸索変性の程度を非侵襲で追跡できる優れたバイオマーカーと位置付けられている。このように、血漿 NF-L が AD の発症と進行に伴って増加することは多くのグループが示しているが、何らかの抗 AD 候補薬投与によって血漿 NF-L が減少することが示された例は未だない。

そこで、まずアルツハイマー病態の進行と血漿 NF-L 量の関係を調べるため、生後 3, 6, 11 か月齢のアルツハイマー病モデル 5XFAD マウスから血漿を採取し、NF-L 量を超高感度 ELISA である Simoa で定量した (図 1)。野生型マウスでは生後 11 か月齢、5XFAD マウスでは生後 6 か月齢から血漿 NF-L が増加することが示された (図 2)。

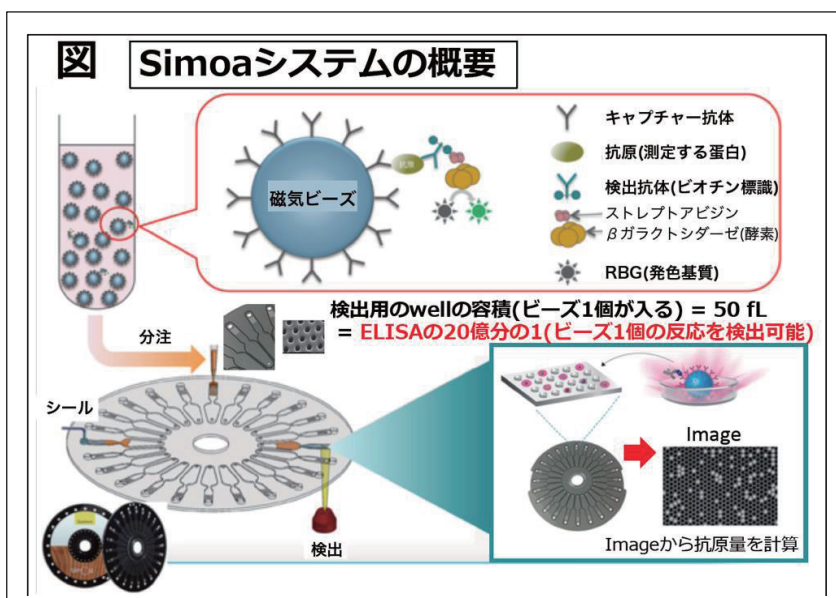


図 1 Simoa システムによる超高感度 ELISA

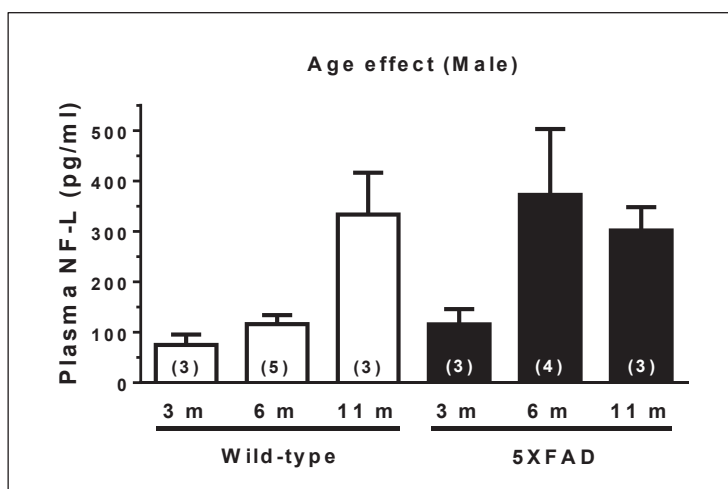


図 2 野生型マウスおよび 5XFAD マウスの月齢と血漿 NF-L

種目 (特定研究)

血漿中の NF-L が増加することは、脳内の NF-L 減少と関連すると考えられている。動物実験では安楽死後に脳を摘出し NF-L 発現量を調べることができる。そこで、Diosgenin ではないが、5XFAD マウスの記憶障害を改善する薬物を用いて脳内 NF-L 量の変化を調べた<sup>1)</sup>。Trigonelline を 9-11 か月齢の 5XFAD マウスに 14 日間経口投与すると、物体認知記憶障害、空間記憶障害が有意に改善された (図 3)。このマウスの大脳皮質および海馬の NF-L 発現量をウェスタンブロットにより定量したところ、野生型マウスに比べて 5XFAD マウス脳内で NF-L が減少すること、Trigonelline 投与群では NF-L が増加することが示された (図 4)。この結果は記憶障害改善と脳内 NF-L 増加が関連する可能性を示すものである。

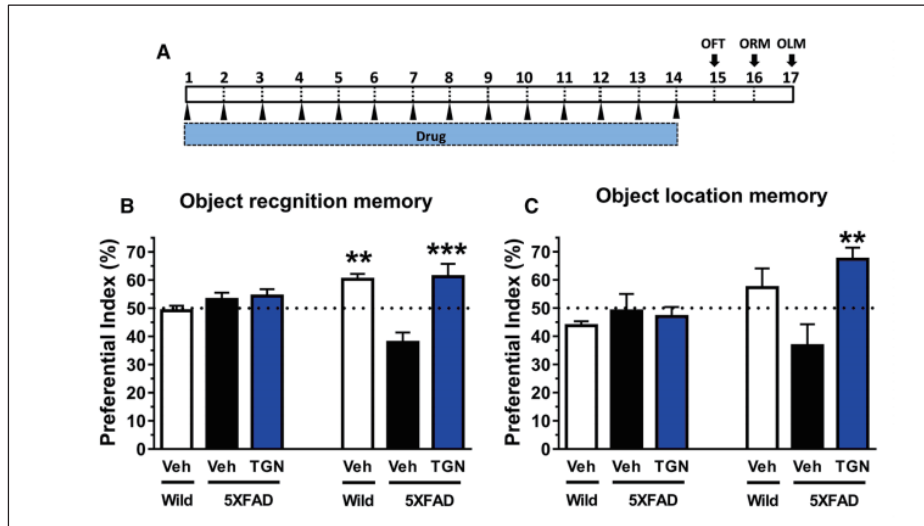


図 3 Trigonelline 経口投与による 5XFAD マウスの記憶障害改善 (論文 1 より引用)

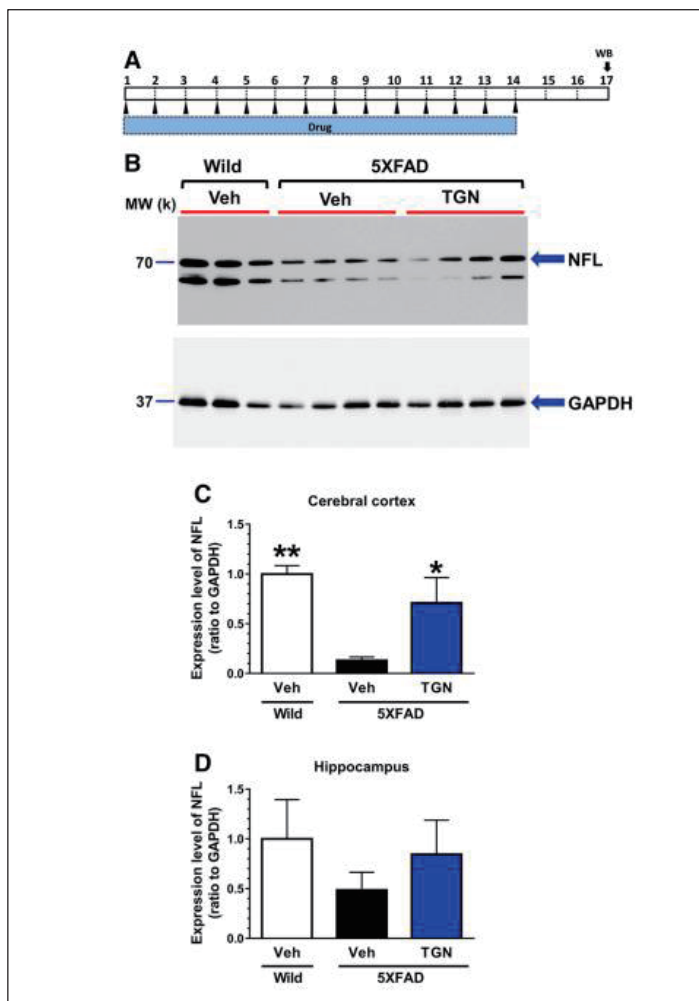


図 4 Trigonelline 投与による大脳皮質と海馬の NF-L 発現量 (論文 1 より引用)

## 種目（特定研究）

### （2）臨床研究

高濃度 Diosgenin 含有ヤマモエキスを試験薬とした、特定臨床研究「軽度認知障害および軽度アルツハイマー型認知症における山芋エキスの有効性を検討するランダム化二重盲検群間比較試験」の申請を行い、富山大学倫理委員会の承認を受けた（2020年7月3日）。jRCTに登録の上、被験者リクルートを開始し、2021年3月31日現在、症例登録者数は4人、この後の初回スクリーニング予定者は約30人となっている（目標登録者数40人）。

#### 主要評価項目：

1) Mini Mental State Examination (MMSE)の質問項目の得点の合計を算出し、投与前後の得点の変化量を算出して群間比較する。

2) Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale (ADAS-cog)を用い、記憶、言語、行為の3領域12項目（単語再生、単語遅延再生、口頭言語能力、言語の聴覚的理解、自発話における喚語困難、口頭命令に従う、手指及び物品呼称、構成行為、観念運動、見当識、単語再認、テスト教示の再生能力）の機能評価を行なう。これに加えて、前頭葉機能をより詳細に評価するため、Verbal Fluency Test (VFT) による「言語流暢性」の評価を行う。それぞれについて、投与前後の得点の変化量を算出し、群間比較する。

#### 副次評価項目：

1) 血漿 NF-L の定量を行う。NF-L は軸索を構成する中間系線維の一つであり、軸索変性に伴って血中に増えかつ安定的に検出され、しかもアルツハイマー病発症前から徐々に血漿中に増加し始めることが知られているバイオマーカーである。被験者脳内の神経軸索が器質的に修復されるかどうかを判断するものである。

#### 安全性の評価項目：

- 1) 一般血液検査を行う（検査項目：総タンパク、LDL-コレステロール、HDL-コレステロール、直接ビリルビン、間接ビリルビン、グルコース、総コレステロール、中性脂肪、尿素窒素、クレアチニン、尿酸、ナトリウム、カリウム、カルシウム、アミラーゼ、CK、ロイシンアミノペプチダーゼ、 $\gamma$ -GTP、コリンエステラーゼ、AST、ALT、LDH、アルカリフォスファターゼ、白血球数、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット、MCV、MCH、MCHC、血小板数、アルブミン、タンパク分画（ALB、A1-G、A2-G、B-G、G-G、A/G）。採血量は14 ml（5 ml、2 ml、7 ml の3本）とする。
- 2) その他有害事象

#### 試験薬の概要

研究薬名（一般名）：ヤマモ抽出物含有加工食品

剤形：ソフトカプセル

成分・含量：1日摂取目安量（6粒）あたり、機能性関与成分：ジオスゲニン 16.7 mg、添加物：オリーブ油、ゼラチン、グリセリン、ミツロウ、グリセリン脂肪酸エステル、カラメル色素、ビタミンE

貯法 直射日光：高温多湿を避けて、冷暗所にて保存してください。

用法・用量：1回3カプセルを朝食後と夕食後の1日に2回、計1日6カプセルを水または白湯で飲む。

ヒトにおける血漿 NF-L の測定に関して、種々の疾患で検証を積んだ。ダウン症候群の認知症はアルツハイマー病と類似した病理変化を示した年齢に伴い増加することが知られている。ダウン症候群患者の血漿 NF-L を定量した結果、年齢に伴い増加することを明らかにした<sup>2)</sup>（図5）。また、筋萎縮性側索硬化症

種目 (特定研究)

(ALS) 患者において、血漿 NF-L と脳脊髄液 NF-L が有意に増加し、血漿 NF-L 量により生命予後の判定も可能であることが示唆された<sup>3)</sup>(図6)。

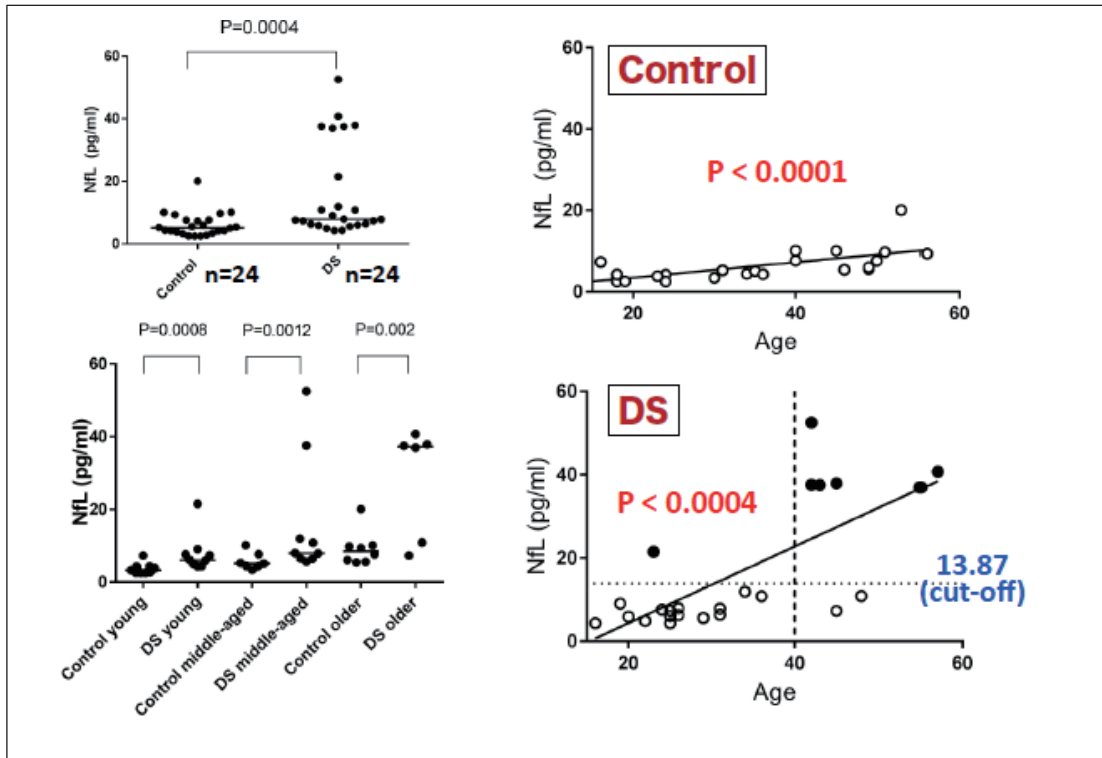


図5 ダウン症患者における血漿 NF-L (論文2 より改変)

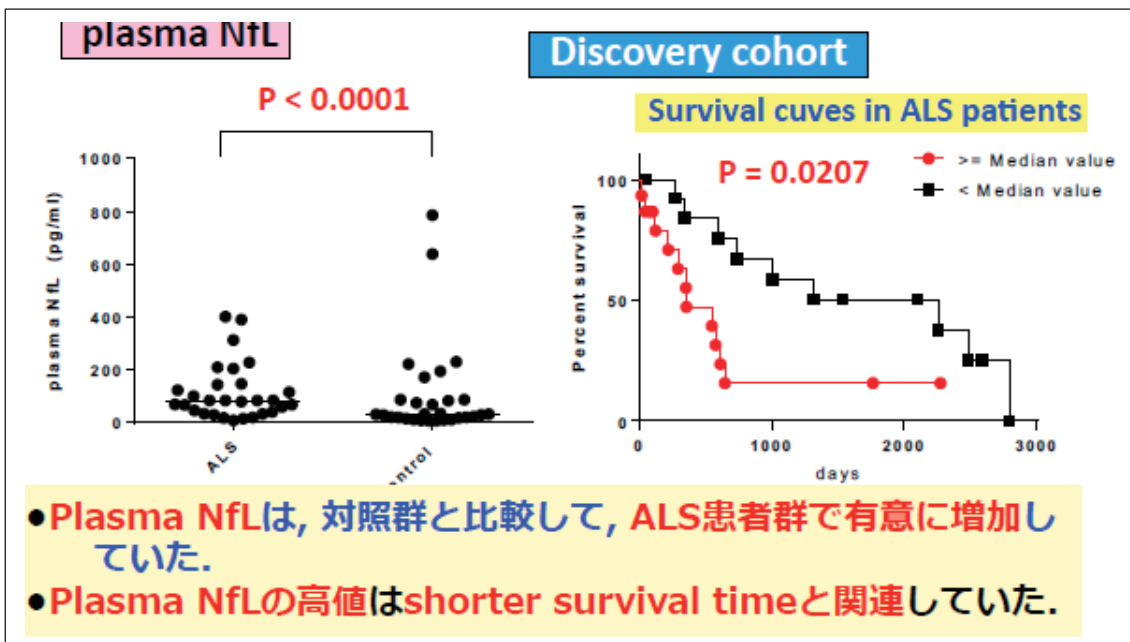


図6 ALS患者における血漿 NF-L (論文3 より改変)

## ■結論

神経変性疾患における軸索減少に伴い、脳内で減少し血漿中で増加することが示されている NF-L について検討した。血漿 NF-L が AD の進行に伴って増加する可能性が 5XFAD マウスでも示された。また、ヒト血漿を用いた NF-L 定量により、神経機能の低下と血漿 NF-L 増加が相関していることが示唆された。

高濃度 Diosgenin 含有ヤマモエキスによる軽度認知障害および軽度アルツハイマー病患者に対する特定臨床研究の実施を進め症例登録数を増やした。全試験が終了するまで、認知機能や血漿 NF-L 濃度の評価結果は得られないため、現状では結果を考察できないものの、今後 1 年程度のうちに試験が終了する見込みである。

- 1) Farid M.M., Yang X., Kuboyama T., Tohda C. Trigonelline recovers memory function in Alzheimer's disease model mice: Evidence of brain penetration and target molecule. *Scientific Reports* (2020) 10, 16424.
- 2) Shinomoto M, Kasai T, Tatebe H, Kondo M, Ohmichi T, Morimoto M, Chiyonobu T, Terada N, Allsop D, Yokota I, Mizuno T, Tokuda T. Plasma neurofilament light chain: A potential prognostic biomarker of dementia in adult Down syndrome patients. *PLoS One*. (2019) 14(4):e0211575.
- 3) Kasai T, Kojima Y, Ohmichi T, Tatebe H, Tsuji Y, Noto YI, Kitani-Morii F, Shinomoto M, Allsop D, Mizuno T, Tokuda T. Combined use of CSF NfL and CSF TDP-43 improves diagnostic performance in ALS. *Ann Clin Transl Neurol*. (2019) 6(12):2489-2502.