

# 血液を用いた MCIスクリーニング検査の実際

内田和彦\*

## abstract

最近、認知症の予備群である軽度認知障害 (mild cognitive impairment : MCI) が注目されている。MCIは、治療的介入をせずにそのまま放置しておくとも4年後に約40%がアルツハイマー病 (Alzheimer's disease : AD) などの認知症を発症するといわれている。MCIの段階で治療的介入を行うことで、認知機能の改善がみられることから、MCIの早期発見と介入によって認知症予防が期待できる。認知症の60~80%を占めるADは、加齢に伴うアミロイドβペプチド (amyloid β : Aβ) の脳内蓄積とその過程で起こるAβによるシナプス毒性が主たる要因のひとつと考えられている。Aβの脳からの排出とシナプス毒性防御にかかわるタンパク質はAβシークエスタータンパク質と呼ばれ、アポリポタンパク質、補体系タンパク質、トランスサイレチンなどがある。本稿で紹介するMCIスクリーニング検査は、これらのシークエスタータンパク質のうち、apoA1, TTR, 非活性型C3の血中レベルを測定することで、MCIのリスクを示すもので、今後の認知症予防の有用なツールと考えられる。

## I はじめに

認知症のなかで最も多いアルツハイマー病 (Alzheimer's disease : AD) については、世界で多くの研究プロジェクトが進行しており、その研究成果が注目されている。この背景には、認知症患者の増加に対する危機感がある。2015年の世界の認知症患者数は、約4,680万人で、2050年には約1億3,200万人と現在の3倍になると予想されている (World Alzheimer Report 2015)。わが国では、2013年の厚生労働省の調査で認知症有病率は15%と推定され、認知症有病者数は462万人、その前段階にある予備群の全国有病率推定値は13%、有病者数は400万人である<sup>1)</sup>。米国では、AD患者数は520万人、これが2050年には3倍

の約1,600万人になると予想されている<sup>2)</sup>。高齢者人口 (2011年) は2,980万人で、総人口に占める割合は23%である。10年後には高齢者人口は3,500万人、30%になり、さらに2060年には、全人口の40%が高齢者で、総人口が8,674万人に減少するといわれている (総務省)。このように、わが国は世界で類をみない速さで少子高齢化が進んでおり、認知症は患者本人ばかりでなく、家族や介護にかかわるすべての人の問題であり、社会コストとしても認知症予防はさけて通れない課題となっている。このような背景の下、2014年に日本で「新しいケアと予防のモデル」をテーマにG8 Dementia Summitが開催された。

認知症は本当に予防できるのか。最近多くの研究で、病態の進行の早い段階で適切な介入を行えば認知症は予防できるといわれている。では、予防が可能

\* 株式会社MCBI代表取締役・基礎研究所長

だとすると、いつから予防すればいいか、どのような人が予防するのが必要かということが課題となる。そのためには、認知機能の低下や認知症の進行をモニタできるようなバイオマーカーを用いた早期発見が必要である。

早期の認知症やMCIを早期発見・介入するためのスクリーニング法としては、侵襲性が低く、簡易な方法で、かつハイスループットで実施できることが求められており、健康診断などで利用されている血液検査が最も望ましい。通常の健診や血液の生化学検査での採血のタイミングを利用すれば、広くひろまる可能性も高い。しかし現状は、煩雑な検査方法、患者の受診への抵抗により、認知症の早期発見が遅れている。現在の認知症の主な検査方法は、computed tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI), single photon emission computed tomography (SPECT) などの画像検査、そのほかに神経心理検査などがある。CTやMRIは検査費用が高く、実施できる施設は比較的大きな病院に限られる。また、診断を行うのは、内科、神経内科、精神科が主な診療科になっている。内科を除き、神経内科、精神科など特殊な診療科が多く、患者から見ると少なからず気軽に受診を行おうと思える診療科ではない。実際に、各診療科も認知症診断を行う外来を「物忘れ外来」など患者が受診に際して抵抗がないよう配慮をしており、東京都の認知症専門医のいる病医院のうち約40%がそれに該当する。しかしながら、認知症や物忘れに対し不安がある患者にとっては、いまだ最初にどの診療科を受診したらよいか分かりづらく、認知症の早期発見の機会が遅れる原因となっている。このため、認知症を早期に発見するために、患者が受診しやすい環境作りと、簡易的な検査方法が求められている。

本稿で紹介するMCIスクリーニング検査は、認知症やMCIのリスク検査として、すでに国内で1,000以上の医療機関で導入されている。最初にADの病態とバイオマーカーについて述べた後に、本検査で計測するタンパク質について解説する。

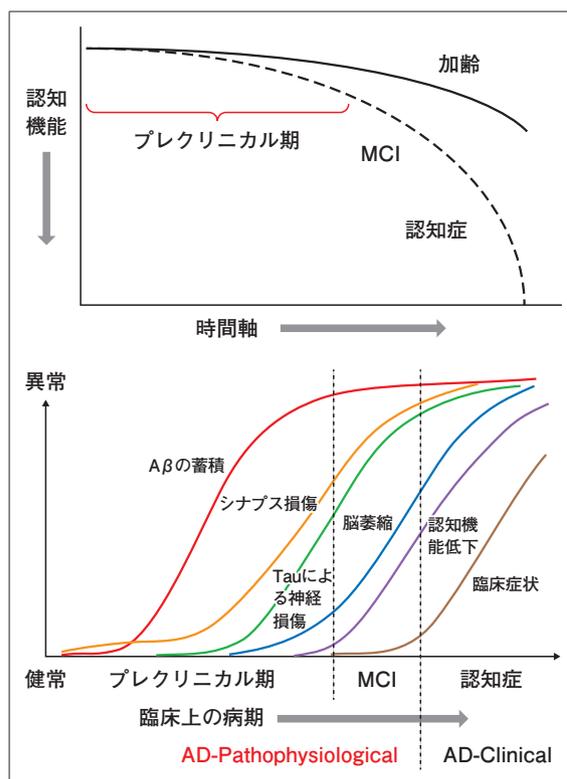


図1 ADなどの認知症の病期についての新しい概念

ADはContinuum(連続性)のある病態である。従来、臨床症状によって、日常生活の支障の有無によりADなどの認知症の診断がなされてきた。最近の多くの研究をもとに、AD発症の最も早期ステージが再定義され、プレクリニカル期という概念が提案された。これはADの主たる要因と考えられるAβが脳内に蓄積し、その過程におけるシナプス損傷が起こり、さらに脳萎縮、認知機能低下と臨床症状に進む時間的にも病態としても連続した過程である。この仮説に基づき、従来の臨床診断によるADをAD-clinicalと、臨床症状がなくとも病態として存在する時期をAD-pathophysiologicalと定義した。早期診断・介入はこのプレクリニカル期から行われる必要があるといわれている。

## II アルツハイマー病の病態と予防についての最近の研究

ADの発症機序にはアミロイドβ (amyloid β : Aβ) が深く関与している (アミロイドカスケード仮説)。ADの発症する20年近く前から原因物質であるAβが凝集体を形成し、脳のなかに少しずつ蓄積する。可溶性のAβオリゴマーはシナプス毒性があり、神経細胞にダメージを与え、記憶や認知機能を担うシナプスを障害する<sup>3),4)</sup>。Aβによって障害を受けたシナプスの状態が病態の進行に関係すると考えられる。最近で

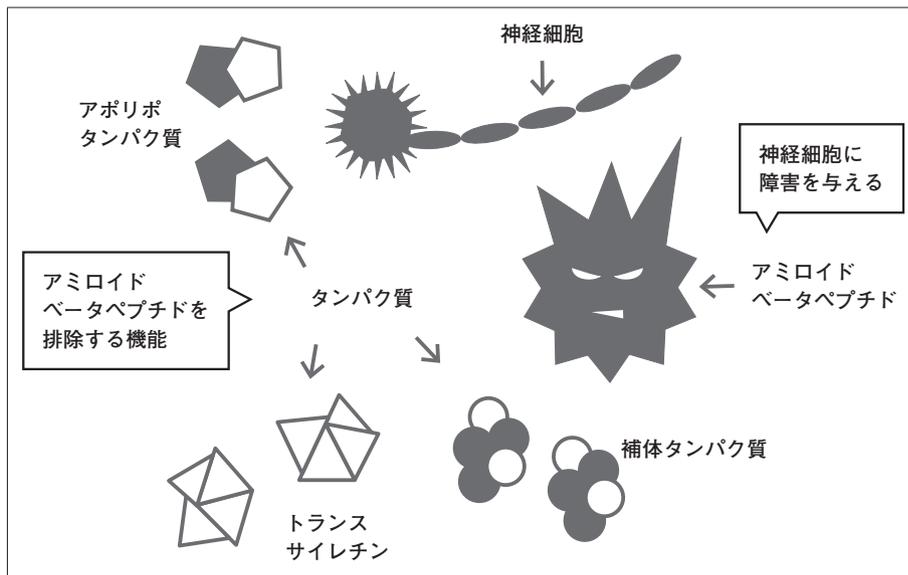


図2  
Aβシークエスタータンパク質の働き

ADの発症機序にはAβが深く関与している（アミロイドカスケード仮説）。Aβはシナプス毒性があり、神経細胞にダメージを与え、記憶や認知機能を担うシナプスを障害する。MCIやADに至る過程における認知機能の低下は、Aβの産生と排出（クリアランス）のバランスの異常とAβのシナプス毒性防御の低下の結果と考えられ、それを担っているタンパク質をAβシークエスタータンパク質という。MCIスクリーニング検査では、Aβシークエスタータンパク質apoA1、TTR、非活性型C3の血液中の濃度を測定している。

は、認知機能健常からADに至るまで、20年以上かけてプレクリナル期（preclinical AD）、MCI due to AD、ADという臨床病理上のプロセスを経ると考えられている（図1）<sup>9)</sup>。そこで、プレクリナル期やMCIで、早期に介入することの重要性が示唆されている。したがって目立った臨床症状がない時期に介入する必要があり、認知機能の低下やシナプスの損傷などが定量的に評価できるバイオマーカーと、予防効果のある介入方法の確立と提供が必要となる。

近年、認知症予防の研究は進んでいる。有酸素運動が健常高齢者ならびにMCIの認知機能低下を防ぐことは、観察研究と介入研究で多くの研究成果が報告されている。ボードゲーム、読書、楽器の演奏、ダンスは認知症予防に効果があるといわれている。最近では2015年にフィンランドのグループがprevent cognitive decline in at-risk elderly people (FINGER) という研究プロジェクトで、2年間の大規模な複合的介入（食事・運動・認知力トレーニング・血管リスクモニタリング）によって、認知機能の低下予防ができることを示している。また、認知症の危険因子も明らかになっており、糖尿病ならびに耐糖能異常、中年期の高血圧症、喫煙などが知られている。認知症の予防には、まず危険因子を排除したうえで予防効果のある介入に取り組むのが効果的といえる。

### III アルツハイマー病のバイオマーカーとAβシークエスタータンパク質

早期のADやMCIの段階で見出し、治療・介入すれば、認知機能の改善と認知症の予防が期待されるが、その診断には詳細な問診・心理テスト、さらには脳画像検査を要する。したがって、血液中のバイオマーカーを用いた検査が必要となってくる。脊髄液（cerebrospinal fluid：CSF）中のAβやリン酸化tauタンパク質の測定は、ADの検査として有効であるが、髄液の採取は侵襲的であり、日常的な検査や健診に用いることは現実的ではない。

MCIやADに至る認知機能の低下は、Aβの産生と排出（クリアランス）のバランスの異常の結果と考えるもよい。アミロイドプレカーサープロテイン（amyloid precursor protein：APP）から産生されたAβは、脳内からCSFに排出される。私たちの体にはAβが脳内に蓄積しないよう排除する仕組みやその毒性を弱める仕組みが備わっている。脂質代謝に関連するアポリポタンパク質や免疫機能の補体タンパク質やトランスサイレチンなどが関係している（図2）。MCIスクリーニング検査では、これらのタンパク質の血中量を調べている。

アポリポタンパク質のapoE、apoA1およびapoJは、

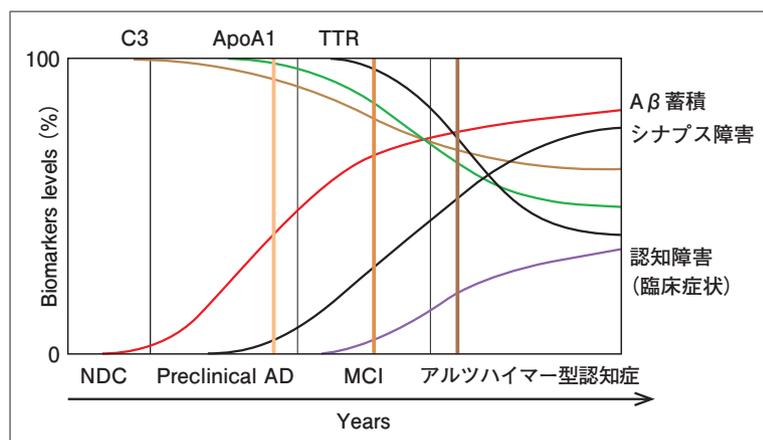


図3  
ADの病期進行とAβシークエスタータンパク質の変化

ADの最大のリスクは加齢であり、加齢とともにAβの脳内蓄積、シナプス損傷が起り、さらに脳萎縮、認知機能低下へと進む。その程度によって、年相応の認知機能の低下、ないしは病的な脳の老化すなわち認知症となる。Aβシークエスタータンパク質は加齢とともにその血中濃度が低下する傾向が見られるが、MCIや認知症に至った症例においては、その低下が顕著である。縦断研究の結果から、病期の進行とともに非活性型C3、apoA1、TTRの順に低下すると考えている。中央にある3つの縦ラインは、プレクリニカル期から早期MCIでは非活性型C3、apoA1の変化が、MCIから早期ADではapoA1、TTRの変化がより有意に見られることを示す。

Aβペプチドと結合してその凝集や毒性を防ぐ。apoEタンパク質は299アミノ酸残基の糖タンパク質で、その遺伝子型がADの発症リスクと関係している<sup>6)</sup>。ε2、ε3、ε4の3つのアイソフォームがあり(APOE2, APOE3, APOE4)、ε4アレルをもたないものと比較してε4アレルを1つもつものは、ADの発症のリスクが2~3倍、ε4アレルを2つもつものは発症のリスクが12倍といわれている。ADのリスクに対するapoEアイソフォームの主な効果は、Aβ凝集および排除における違いと考えられている。ApoEは肝臓と脳で発現が高く、脳ではアストロサイトとミクログリアに認められる。ApoEはリポタンパク質のエンドサイトーシスのリガンドとして機能している。アストロサイトとミクログリアで産生されたapoEは、アイソフォームに依存してすなわちE2>E3>E4のようにAβと結合し、受容体を介してエンドサイトーシスされる。さらに脳血流関門を介した血流への移行に関与する。CSFや血液におけるapoEのレベルは、ADと健常人の間で有意な違いはないが、われわれも検討でも血液中のapoEはε4アレルに依存して低下することがわかっている。

ApoA1は、血液中ではHDLの構成成分として細胞から肝臓へのコレステロールの輸送に働いている。apoA1はHDLとは独立して心血管疾患のリスクを下げるといわれている。また抗炎症作用と抗酸化作用によって血管障害を防ぐといわれている。ADではapoA1は脳組織とCSFでAβならびにアミロイド前

駆体タンパク質と結合しており、Aβの凝集とAβによる毒性を抑制することが示されている<sup>7),8)</sup>。臨床サンプルを用いた研究でADではapoA1の血漿レベルが低下していること、疫学研究によりapoA1はAD発症のリスクを下げる事が明らかになっている。

ADなど神経変性疾患は脳における炎症がその発症に関与しているといわれている。補体は20以上のタンパク質からなり、主に肝臓で産生され、自然免疫においてマクロファージによる異物の排除に必要なタンパク質である。補体タンパク質は通常は非活性化された血漿タンパク質である。補体の活性化に3つの経路があるが、いずれの経路でも最も量の多い補体タンパク質であるC3の分解が起こり、C3aとC3bに分解される。C3bは貪食細胞のレセプターCR1と結合することによりオプソニンとして作用する。中枢神経系でも補体が産生され、補体系の活性化に必要なコンポーネントも備わっている。補体は脳組織においてもミクログリアやアストロサイトによるエンドサイトーシスに重要であり、Aβオリゴマーは補体の働きに依存した貪食作用によって排除される<sup>9)</sup>。この過程には補体C3、C4の活性化が必要といわれている<sup>10),11)</sup>。

トランスサイレチン(transthyretin:TTR)はブレイアルブミンとも呼ばれ、ホモ4量体の64kDaのタンパク質で主に肝臓と脈絡叢で産生されている。血液中のTTRは低栄養や肝硬変などで低下することから、臨床検査では栄養状態の評価に使われている。TTRは以前からADのバイオマーカーとしても注目されて

きた。TTRがニューロンで産生されているという報告もある1994年にTTRはA $\beta$ オリゴマーと結合してその凝集を阻害することが報告され、さらにADのマウスモデルでTTRがA $\beta$ のシナプス毒性を抑制することが示されている<sup>12),13)</sup>。

このように、アポリポタンパク質やTTRはA $\beta$ と結合してその毒性を抑制し、また脳内からA $\beta$ を排出するいわゆるシークエスタンパク質であり、その量や機能が低下することがADの発症の背景にあると考えられる。

## IV MCIスクリーニング検査

MCIスクリーニング検査では、血中のTTR, apoA1, 非活性型C3とAPOEの遺伝子型を調べている<sup>14)</sup>。正常の中樞神経系においては、シークエスタンパク質による神経保護作用がもともと備わっており、A $\beta$ のシナプス毒性によるADの発症を抑制していること、加齢によるこれらの神経保護タンパク質の量や機能の低下が、ADの発症のリスクを高めると考え、われわれは、臨床研究を行った。その結果、縦断研究においてアポリポタンパク質をはじめとして、これらのシークエスタンパク質はMCIの進行とともに減少することがわかった(図3)。横断研究においてもMCIで有意に減少するもの、ADで有意に減少するものが認められた。TTR, apoA1, 非活性型C3の臨床有効性については、認知機能健常 vs. ADにおいて、receiver operating characteristic (ROC) 曲線におけるarea under curve (AUC) 値がそれぞれ0.73, 0.67, 0.83, 認知機能健常者 vs. MCIにおいて、0.68, 0.65, 0.66であった。そのほかのタンパク質についても減少ないしは増加が認められた。さらにこれらTTR, apoA1, 非活性型C3を用いて多重ロジスティック回帰法を用いたマルチマーカーによる判別解析を行ったところ、認知機能健常者 vs. ADにおいて感度92%, 特異度68%, 認知機能健常者 vs. MCIにおいて感度90%, 特異度50%の結果が得られた。これにMMSEの結果を加えると、認知機能健常者 vs. ADにおいて感度100%, 特異度96%, 認知機能健常者 vs. MCIに

おいて感度87%, 特異度82%となった。以上のように、MCIおよびADのスクリーニング検査として、A $\beta$ と結合してその毒性の抑制や排出にかかわるシークエスタンパク質の量の変動を調べることは臨床的にも有用であり、その減少が間接的に認知機能の低下につながる。これらのタンパク質の血中量に影響を与える因子として、栄養状態、慢性炎症、免疫機能の異常などが挙げられる。なおプレリミナリーな研究では、認知症予防介入による検査値の改善が認められている(未発表データ)。

## V おわりに

国内外で認知症予防の取り組みが行われつつあるなか、早期介入のきっかけとなる検査、予防効果を定量化できる検査としては初めてのものであり、今後の認知症の予防に資することが期待される。本検査の精度を上げるとともに、本検査が介入効果の指標となるよう今後も研究を進めたい。

### 参考文献

- 1) 朝田 隆：都市部における認知症有病率と認知症の生活機能障害への対応。厚生労働科学研究費補助金（認知症対策総合研究事業）総合研究報告書, 2013
- 2) Alzheimer's Association : Alzheimer's Association Report : 2014 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement* 10 : e47-e92, 2014
- 3) Shankar GM, Li S, Mehta TH, et al : Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med* 14 : 837-842, 2008
- 4) Palop JJ, Mucke L : Amyloid-beta-induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease : from synapses toward neural networks. *Nat Neurosci* 13 : 812-818, 2010
- 5) Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, et al : Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease : recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 7 : 280-292, 2011
- 6) Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, et al : Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261 : 921-923, 1993
- 7) Koldamova RP, Lefterov IM, Lefterova MI, et al : Apolipoprotein A-I directly interacts with amyloid precursor protein and inhibits A beta aggregation and toxicity. *Biochemistry* 40 : 3553-3560, 2001
- 8) Paula-Lima AC, Tricerri MA, Brito-Moreira J, et al : Human apolipoprotein A-I binds amyloid-beta and prevents Abeta-induced neurotoxicity. *Int J Biochem Cell Biol* 41 : 1361-1370,

- doi : 10.1016/j.biocel.2008.12.003, 2009
- 9) Maier M, Peng Y, Jiang L, et al. Complement C3 deficiency leads to accelerated amyloid beta plaque deposition and neurodegeneration and modulation of the microglia/macrophage phenotype in amyloid precursor protein transgenic mice. *J Neurosci* **28** : 6333-6341, 2008
  - 10) Emmerling MR, Watson MD, Raby CA, et al : The role of complement in Alzheimer's disease pathology. *Biochim Biophys Acta* **1502** : 158-171, 2000
  - 11) Li X, Buxbaum JN : Transthyretin and the brain re-visited : is neuronal synthesis of transthyretin protective in Alzheimer's disease? *Mol Neurodegener* **6** : 79, 2011
  - 12) Li X, Masliah E, Reixach N, et al : Neuronal production of transthyretin in human and murine Alzheimer's disease : is it protective? *J Neurosci* **31** : 12483-12490, 2011
  - 13) Velayudhan L, Killick R, Hye A, et al : Plasma transthyretin as a candidate marker for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* **28** : 369-375, 2012
  - 14) Uchida K, Liu S, Suzuki H, et al : Amyloid- $\beta$  sequester proteins as blood-based biomarkers of cognitive decline. *Alzheimer Dement : Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring* **1** : 270-280, 2015