

## 1. 日米におけるアルツハイマー病（AD）の臨床研究の状況の違い

前述の科学的な研究テーマを掲げての留学だが、副次的な目標として留学先のワシントン大学の Knight Alzheimer's Disease Research Center (Knight ADRC) における臨床研究体制作りや多施設共同研究のコーディネーションを学ぶことを掲げており、本センターの歩んできた道に触れ、実際のコーディネーションに関与するにつれ、日米の臨床研究体制の違いを痛感させられたため、成果の一つとして最初に共有したい。

Knight ADRC では 1979 年より Memory and Aging Project (MAP) という認知機能健常者を含む高齢者の認知機能に焦点をあてた縦断的観察研究を行っており、現時点で 30 年を超える追跡を経験している被験者もいる。本センターで重視してきたのは、MAP 開始当初から一貫して追跡した臨床像の答えとして剖検の取得を奨励していること、またバイオマーカーへの関心の高まりとともに、徹底的な認知機能評価に加えて脳脊髄液採取や MRI, PET を取り入れ、多角的な評価を行うことである。日本にも優れた地域コホート研究が存在するが、このように剖検と多角的な評価を取り入れた単施設のコホート研究は存在しない。現在 3 つのプロジェクトで単施設にて計 900 人のコホートを抱えており、日本からは考えられない規模だが、医師に頼らず、トレーニングされた看護師やパートタイム勤務医師により臨床評価を行う、画像や脳脊髄液採取は 3 年に 1 度に限る（プロジェクトにより異なる）、重症例では認知機能評価を行わないといった予算削減や被験者の負担軽減の工夫によりそれが可能となっている。後述する CDR を含め、他の評価から独立した形で臨床評価を行うことを重視しており、そのために認知症専門外来とは全く切り離し、完全に研究目的として被験者をリクルートし、臨床評価や他の検査が行われる点も特筆すべき点である。

Knight ADRC は 1985 年に NIH が助成する Alzheimer's Disease Center (ADC) の一つに選定され、その後継続して助成を得ている。administration・clinical・education・pathology・genetics といったコアは、この助成が要求する最小限のコア組織であり、このグラントによって運営されている。米国ではトランスレーショナルリサーチの推進を目的に、プロジェクトに対する助成とは別にこのようなセンターグラントがあり、30 前後の優れた施設を ADC として助成する意義は非常に大きい。センターグラントこそ AD の臨床研究施設の基盤を支え、プロジェクトに左右されない持続可能なものにすると考えられる。education が必須コアの一つと位置付けられている点は興味深く、education はスタッフや学生・フェローに対する教育のみならず、被験者候補である地域住民に対する啓蒙活動も含む。米国において痛感するのは、知識の共有を大きな推進力を生む原動力としていかに重視しているかということである。地域住民に対して講演や教育コースを実施することによって被験者のリクルートにつなげ、年 1 回のブレックファストミーティングにてスタッフ同席の場で被験者へ謝意を表し研究の進捗報告を行い、Knight ADRC から新しい情報を含む定期的な刊行物を送ることによって被験者のモチベーションを維持する取り組みを行っている。

本センターは、MAP により科学的な知見を蓄積するのと並行して、ADC グラントによりコホート研究実施体制を固めてきた。1980～90 年代に作成・改訂され、現在 AD を対象とする他の臨床研究や治験でも必ず取り入れられる臨床重症度評価の Clinical Disease Rating (CDR)、数多くの認知機能正常高齢者の剖検例に裏付けられた、AD 病理はあるが臨床的には未発症の病期 “preclinical AD” の提唱など、Knight ADRC の残した功績は非常に大きい。このような体制下で、2005 年より AD を親に持つ子供の縦断的観察研究 Adult Children's Study が開始され、その一部として常染色体優性遺伝性 AD (ADAD) の未発症保因者を対象にした単施設での観察研究が始まり、2008 年にそれが Dominantly Inherited Alzheimer Network (DIAN) という多施設共同縦断的観察研究として開始されたのは、確固たる実施体制と preclinical AD への関心の高まりが一致した結果の産物と言えよう。DIAN はさらに未発症保因者を対象とした疾患修飾薬治験 (DIAN trial unit) へと枝分かれ

し、現在最も注目を集める AD に対する二次的予防試験の一つとなっている。また、DIAN は、疾患の自然経過を知るために常染色体優性遺伝性のものにまず着目し、特定可能な未発症保因者を追跡していくというアイデアを広め、これまで困難だった他の神経変性疾患の縦断的な観察研究の手本となっている。

私は留学前から Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (J-ADNI) の後継プロジェクトのコーディネーションと DIAN の日本の臨床施設の立ち上げに関わってきた。米国 ADNI と DIAN はいずれも現在は無期限の追跡を前提とした縦断的研究であり、対象はそれぞれ孤発性（正常～AD）と遺伝性（正常～軽度 AD）と違いはあるものの、基本プロトコルは似ているように見受けられる。ただし、成り立ちが異なることに気づかされた。ADNI は ADC を中心に、経験の少ない施設も含む 50 施設前後の参加する多施設共同設定であり、この研究の主要目的であるバイオマーカーデータを数多い症例で集めるためにとにかく多施設で一気に被験者をリクルートしようというコンセプトから成り立っている。一方、DIAN はバイオマーカーの収集以上に緻密な臨床・認知機能データに重きを置いており、本来であればトレーニングが徹底され評価者によるぶれの少ないワシントン大学単施設のみで行いたいが、被験者数や遺伝子変異の種類をできるだけ多く研究に組み入れるために、被験者候補を多く抱え同様の研究の経験豊富な他の施設（海外を含む）へ徐々に門戸を開いたという成り立ちである。DIAN は ADNI と比して、単施設のコホート研究を多施設に拡大したという経緯が特にはっきり見てとれる。多施設研究の成り立ちとしては、単施設でコホート研究を潤滑に遂行できる体制が複数存在しているところに、最も成熟した施設を中心にネットワークとしてつないで多施設共同研究に拡大するという戦略は、最も失敗の可能性の少ないやり方であろう。

表 1 ADNI と DIAN の主な相違点

	ADNI	DIAN
対象	孤発性、正常～AD	ADAD, preclinical AD～軽度ADまで
臨床情報	ADNIオリジナルのCRF	NACC uniform data setを使用
コンピューター・バッテリー	ADNI3からCogstateバッテリーを導入予定	Cogstateと独自のcomputerized batteryを使用
病理(剖検)	途中から剖検を集積	剖検を重視し、開始時から集積
企業の助成	あり	observational studyではない
研究コア	コアは複数の施設に点在	すべてのコアがワシントン大学に存在
コーディネーション	ADCSがコーディネーションとデータマネジメントを行う	ワシントン大学のコーディネーティングセンターがオペレーション、EDCのみADCSが提供
海外臨床施設	独自のプロトコルを用いる	共通プロトコルを用い、EDC/DBも共通
データシェアリング	ほぼ無条件に全データを公開	変異情報への配慮から、リクエスト承認制。リクエストしたデータのみ配布される
治験との関係	同一コホートの治験への移行は考慮せず	同一コホートの治験への移行を考慮（特に認知機能検査のrun-in data）

さて、以下では、留学前に多施設共同研究のコーディネーションに携わり、また一臨床施設の医師としても関わってきた身から、日本の AD の臨床研究を取り巻く状況との違いを、(1) 実施臨床施設、(2) コラボレーションと研究ネットワーク、(3) 臨床オペレーションとデータセンター、(4) 被験者の 4 点に分けて述べたい。

### (1) 実施臨床施設に関する問題

日本には Knight ADRC の MAP のような多角的な評価を、健常者を含むコホートに対して縦断的に実行する研究を実施している施設は存在しない。臨床医は CDR のような国際標準の臨床評価や認知機能検査にも不慣れであり、また常勤の CRC や臨床心理士がいない臨床施設もある。評価を大学院生に担うなどのため、研究に関わるスタッフの入れ替わりも多い。2008 年から行われた J-ADNI や治療薬治験を受託した経験により、この状況は少し改善しているように見受けられるが、持続的に多角的なコホート研究を行える体制はまだない。将来的にスムーズなトランスレーショナルリサーチの

推進のためにはそのような体制が不可欠である。

#### (2) コラボレーションと研究ネットワークに関する問題

日本では J-ADNI 開始前には全国レベルの AD 臨床研究ネットワークはなかった。米国では 1999 年に、ADC のコラボレーションを促進するために、NIA の助成により共通データセットとデータベースを提供する National Alzheimer's Coordinating Center (NACC) が設立されたのとは対照的である。J-ADNI は、参加臨床施設に対して標準的な評価を習得する機会となり、J-ADNI 参加臨床施設間でのコラボレーションを容易にした。また、多施設共同研究の研究コアとなる imaging · biomarker · genetics · pathology の各専門家は、各々が国際的共同研究や国際的標準化プロジェクトに参加し、高いレベルにある。プロジェクトの垣根を超えた共通データセットやデータシェアリングに関しては近い将来解決されるべき課題である。

#### (3) 臨床オペレーションとデータセンターに関する問題

米国には AD 領域に特化し多施設共同研究を支援する Academic Research Organization (ARO) である Alzheimer's Disease Cooperative Study (ADCS) が存在するが、日本にはそのような組織がないまま J-ADNI が実施され、データマネジメントにおける混乱につながった。開始時に臨床オペレーションやデータマネジメントの重要性が見過ごされていた。J-ADNI 後継プロジェクトには組織だったオペレーションセンターと標準的なデータマネジメントを取り入れたデータセンターが構築された。今後、この組織が、プロジェクトから独立して複数の多施設共同研究を支援しうる ADCS のような組織となることが期待される。

#### (4) 被験者に関する問題

日米では医療保険制度が異なり、日本では、検査を遂行する正当な理由がある限り、医療保険を用いれば少ない自己負担額で MRI 等の高額検査を受けることができる。これは臨床研究における個人の検査データの開示を前提としても、臨床研究への自発的参加のメリットを狭めることになり、参加の障壁となっている。また日米の違いとして、よくキリスト教に根差すボランティア精神の違いが挙げられるが、それよりはむしろ一般大衆への教育（啓蒙）の機会が圧倒的に少ないと想定される。個人の検査データの開示を参加に対する最大の利益に据えるとともに、臨床研究そのものについて教育することが重要と考える。一方、現在はアミロイド PET や脳脊髄液バイオマーカーのように臨床発症前にある程度の病理診断を行うことが可能であり、“発症前診断”にあたる。そのようなデータの結果の開示に際して倫理面に細心の注意を払う必要がある。

J-ADNI や同様の多施設共同研究の経験により、(2) と (3) は比較的課題が明確化し、解決までの期間はそれほど多くを要さないと考えられる。しかし、(1) と (4) は医療保険制度の違いに深く根付いた問題であり、日本ではどのように多角的なコホート研究を設定し、被験者のリクルートを行うか、被験者となりうる高齢者の生の声をベースにして、実現可能性を模索していく必要がある。

## 2. DIAN における自己の変異状態の知識の有無が認知機能と研究参加に及ぼす影響

DIAN は ADAD の遺伝子変異の未発症保因者を対象として、臨床情報・認知機能検査やバイオマーカーデータおよびサンプルの縦断的な集積を目的とする観察研究だが、被験者自身が自身の遺伝子変異状態を知りたくない場合でも参加できるよう、変異状態を知らないまま参加できる設定になっている。変異を保持していない場合は、同胞対照として研究に組み入れられる。過去に AD のリス

ク遺伝子である APOE の遺伝子型を開示後の変化を追跡した REVEAL study など、自身の発症リスクを知った上で短期・中期的な認知機能変化と心理反応を見た研究はあるが、ADAD という浸透率 100% のリスクで長期間を追跡した研究はない。DIAN の Data Freeze9 時点での 417 被験者のデータを、変異を有するが変異状態を知らない群、変異を有し変異状態を知っている群、変異のない群に分け、特に preclinical～臨床発症早期について、(1) 縦断的な臨床重症度・認知機能検査の変化・うつ尺度の変化、(2) 追跡ビジットにおける各検査の施行率（すなわち研究参加モチベーション）について、比較する。現在解析中である。

孤発例では、preclinical AD 期にアミロイド陽性（疾患修飾薬のない現時点ではその後に AD に進行する可能性が 100%と考えられている）であることを知っているか否かはその後の認知機能障害出現までの期間や進行速度に影響を及ぼす可能性があり、DIAN における解析は孤発例にも拡大することができると考えている。

### 3. 海馬硬化症の病理組織学的特徴と AD の経過に及ぼす影響

高齢者には脳病理の合併例が多いことが知られており、合併する病理として、海馬硬化症 (Hippocampal Sclerosis, HS)，嗜銀顆粒性認知症，Primary Age-Related Tauopathy など、AD と同様に海馬に変化が生じ記憶障害を呈する神経変性疾患がある。このうち HS に注目し、過去 Knight ADRC で一定の手順でプロセスされた剖検例について、HS 症例を抽出し、病理組織学的な検討を行うとともに、AD に合併した際の臨床症状・認知機能障害に及ぼす影響を明らかにすることを目的として解析を開始した。しかし、データベースから抽出した症例の標本を実際観察した際に、“海馬硬化症”の診断が、時代や病理評価者によって異なることに気づくこととなった。古くからてんかんに関連する変化として記載されていたが、明確な診断基準が存在しなかったことに起因する。2012 年に発表され現在 gold standard として用いられている NIA-AA の AD の病理診断基準における記載では、HS は、(1) 海馬構造の CA1 と支脚の錐体細胞の脱落とグリオーシスと、(2) その変化が同構造における AD 神経病理学的变化で説明できない程度に大きいことと定義される。この定義に従って、(1) H&E 染色切片において海馬 CA 領域と支脚における高度の錐体細胞脱落とグリオーシスを認めること、(2) H&E 染色切片においてその変化的程度が海馬傍回と比較して高度であること、(3) 同一切片の H&E 染色、銀染色、AD 病理における神経原線維変化を染色する PHF1 抗体による免疫組織化学によって、その変化的程度が同部位の AD 神経病理学的变化では説明できない程度に高度であること、以上を満たすものを HS として診断し直した。過去の誤診断例として最もよく見られるものは、AD 病理による二次的な HS 様の海馬の変化であり、この場合は高度の錐体細胞脱落とグリオーシスを認める領域に、H&E 染色では観察が困難でも PHF1 抗体による免疫組織化学では錐体細胞が死んで細胞外に神経原線維変化が出た状態 (ghost tangle) が観察され、また海馬傍回でも同様に高度の病理変化が見られることが多い。Knight ADRC の剖検 1405 例のうち、海馬切片または海馬のパラフィンブロックが入手可能であった 1369 例を観察し直し、この一定の基準に則って 100 例の HS (+1 例の診断未確定例) を得た。有病率は 7.1% (~7.4%) であり、他施設の報告 7.9% (Nag et al, 2015), 6.2% (Rauramaa et al, 2013), 90 歳以上の 17% (Kawas et al, 2015) と比して比較可能な値であった。

今後、このように一貫した基準を用いて得た HS に対して、(1) 病理学的解析（海馬 CA 領域と支脚と海馬傍回の錐体細胞の stereological counting による定量、HS で合併が報告されている TDP-43 陽性封入体の半定量、抗 GFAP 抗体によるグリオーシスの半定量）、(2) 純粹な AD と AD+HS 症例における臨床・認知機能的特徴の比較を行っていく方針である。特に(1)はこれまでに具体的に明確な基準のなかった海馬硬化症に対する診断基準の提唱につながると考えられる。