

厚生省厚生科学研究費補助金

脳科学研究事業

**^{13}C -MRS を用いた痴呆性疾患に対する新しい
診断技術と治療薬の開発に関する基礎的研究**

平成 1 2 年度 研究報告書

**^{13}C -MRS study for the development of new diagnostic and therapeutic
methods for neurological disorders associated with dementia**

主任研究者 大槻泰介
国立精神・神経センター武蔵病院

平成 1 3 年 3 月

目 次

1 . 総括研究報告

主任研究者 国立精神・神経センター武蔵病院 大槻泰介

^{13}C -MRS を用いた痴呆性疾患の評価 (総括)

2 . 分担研究報告

・ ^{13}C -MRS を用いた痴呆性疾患の評価

^{13}C -MRS を用いた痴呆性疾患の評価

国立精神・神経センター武蔵病院 大槻泰介

・ 実験動物 (ラット、ウサギ、サル) を用いた ^{13}C -MRS の基礎神経科学研究

^{13}C -MRS によるサル脳のグルタミン酸、グルタミン代謝速度の測定: 片側性パーキンソンモデルサルによる左右側の比較

創価大学生命科学研究所 金松知幸

・ PET を用いた痴呆性疾患の評価

Functional MRI (fMRI) を用いた記憶機能評価

国立精神・神経センター武蔵病院 大西隆

・ 痴呆性疾患の脳代謝障害に関する評価

薬物・非薬物療法によるアルツハイマー病脳の局所脳血流への影響

国立精神・神経センター武蔵病院 朝田隆

・ ^{13}C 標識薬物を用いた脳内薬物動態の研究

反復電気痙攣刺激が脳内ブドウ糖—アミノ酸代謝の与える影響について

国立精神・神経センター国府台病院 湯浅龍彦

・ ^{13}C 標識神経伝達物質の作成

^{13}C 標識神経伝達物質の作成

明治薬科大学薬品化学 梶原正宏

¹³C-MRS を用いた痴呆性疾患に対する新しい診断技術と治療薬の開発 に関する基礎的研究 —平成12年度研究総括報告—

主任研究者 大槻 泰介

国立精神・神経センター武蔵病院部長

研究要旨：¹³C は、自然界に約1%の割合で存在する炭素（¹²C）の非放射性安定同位体で、¹²C とは異なり核磁気共鳴スペクトルが観測できるため、生体に¹³C 標識物質を投与することにより、¹³C をいわば非放射性のトレーサーとして、物質の生体内における代謝動態を定量的に測定することができる。本研究は、¹³C 標識ブドウ糖の経口投与により、痴呆性疾患における脳物質代謝動態を、¹³C-MRS を用いて、非侵襲的に測定することを目的としている。本研究は、痴呆性疾患患者における臨床研究、動物を用いた基礎実験、¹³C 安定同位体開発の3つ研究チームより構成され、過去2年間の研究期間において、主に、1) 若年・老年ボランティアでの測定、2) 痴呆性疾患患者での測定、3) 動物モデルでの測定、が行われた。平成12年度の主な成果としては、1) ¹³C 標識ブドウ糖の経口投与により、ブドウ糖の脳内における代謝産物である、グルタミン酸、グルタミン、アスパラギン酸、乳酸が、投与後約30分—180分の間に経時的に標識され、さらにこれらの物質の標識量の定量と TCA 回路代謝速度の算定が可能であること、2) 老年健常者の TCA 回路代謝速度は 0.33 μmol/g/分と、若年ボランティアと同等の値を示すこと、また、3) 痴呆症患者においては、未だ統計的有意差はないものの、TCA 回路代謝速度が低下する傾向にあることが示された。今回我々は、¹³C 標識ブドウ糖の経口投与での、脳内グルタミン酸・グルタミンの代謝速度を定量することに成功しているが、これはこれまでの持続静注法では困難であった検診等への臨床応用の可能性を広げるものであり、画期的な成果と言える。また、痴呆性疾患患者における後頭頭頂葉における TCA 回路代謝速度の低下については、引き続き検討中である。

分担研究者氏名：

大槻泰介 国立精神・神経センター武蔵病院部長
金松知幸 創価大学生命科学研究所教授
朝田 隆 国立精神・神経センター武蔵病院部長
大西 隆 国立精神・神経センター武蔵病院医長
湯浅龍彦 国立精神・神経センター国府台病院部長
梶原正宏 明治薬科大学薬学部薬品化学教授

A. 研究目的

高齢化社会をむかえ、痴呆の早期診断と治療法の開発が現在の課題となっている。痴呆症の病態を知り治療法を開発する上で、これまでポジトロンエミッショントモグラフィ（PET）を用いた研究が主に行われてきたが、PET は、放射性物質を用いること、投与薬物の合成にサイクロトロンが必要であることなど、広く行われるには制限がある。一方、¹³C-MRS は、自然界にも微量に存在する非放射性同位元素 ¹³C を用い、核磁気スペクトロスコピー（MRS）にて生体に取り込まれ

た ¹³C を検出する新しい方法であり、その非侵襲性が大きな特徴とされる。又、生体に取り込まれた ¹³C は、自然の代謝経路に従って、様々な代謝産物に姿を変え消費されてゆくが、MRS はこの過程を経時的に測定することが可能であり、脳内の代謝経路及び代謝速度に関する様々な情報を in vivo で得ることができる画期的な方法である。本研究は、この ¹³C-MRS を用い、これまで測定不能であったヒトの脳代謝過程を in vivo に解析し、痴呆性疾患に対する ¹³C-MRS を用いた新しい診断技術と治療法の開発に結びつけることを目的としている。

B. 研究方法

本研究プロジェクトは、1) 痴呆性疾患患者における臨床研究、II) 動物を用いた基礎実験、III) ¹³C 安定同位体開発、の3つ研究チームより構成され、臨床研究チーム（国立精神・神経センター）は、1) 痴呆性疾患の臨床的神経放射線的評価、2) 健常ボランティアでの検討、及び3) 痴呆性

疾患患者での検討を行い、また、基礎実験チーム（創価大学生命科学研究所）は、健常及び疾患モデル動物での検討、¹³C 安定同位体開発チーム（明治薬科大学）は、新しい ¹³C-化合物の合成を行う。

C、平成12年度研究結果

1、¹³C-MRS を用いた痴呆性疾患の評価

本年度は、基礎データ収集を目的にした正常老年ボランティア試験、および痴呆症等の患者ボランティア試験を実施した。試験では、被験者に1位標識 ¹³C グルコースを経口にて服用してもらったのち、全3時間（[30分休憩-1時間測定]×2）にわたり後頭部の2箇所から ¹³C グルコース代謝物の信号をMRスペクトルとして観測し、得られた ¹³C グルタミン酸やグルタミン信号の時系列データから、脳細胞機能を知る上で重要な TCA 回路代謝速度などを算出した。その結果、正常老年ボランティア5例の平均は $0.33 \mu\text{mol/g/分}$ であり、若年ボランティアと同等の値を示した。また痴呆症患者4例の計測結果では、統計的有意差はないものの平均 $0.26 \mu\text{mol/g/分}$ という値を得ており、痴呆症患者では健常人に比べ脳代謝が低下する傾向にあることを示した。今後、さらに計測精度の検討/患者データの蓄積を進めるとともに、前頭葉など後頭部以外での代謝計測を試み有用性を見極めていく。

2、実験動物を用いた ¹³C-MRS の基礎神経科学研究

本年度は、¹³C-MRS によるサル脳のグルタミン酸、グルタミン代謝速度の測定を行った。カニクイザルの左内頸動脈より 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydro-pyridine (MPTP) を投与し、3日、6、9、10週後に、非侵襲的 ¹³C-MRS マルチボクセル法により、左右大脳のグルタミン酸合成速度 (V_{glu}) を同時に求め、左右を比較検討した。MPTP 投与後10週目は測定時に L-DOPA を投与した。その結果、MPTP 投与前の V_{glu} は左右大脳半球で差はなく、投与後3、6、9週目には MPTP 投与側の V_{glu} が非投与側に比し減少することが分かった。また10週目に L-DOPA を静脈投与した上で測定した V_{glu} では左右差が消失していることも示された。

3、PET を用いた痴呆性疾患の評価

本年度は、機能的 MRI を用いて視覚性エピソード記憶のエンコード時の脳機能活動を計測した。健常成人9人を対象に complex visual scene encoding task を課題として fMRI を施行し解析した。健常者のグループとしての腑活は、右側優位の海馬から海馬傍回後部、紡錘回、両側視覚連合野に賦活を認めた。また個人レベルでの解析では9人中8人で同様のパターンを示した。これら

の結果は右後部海馬、海馬傍回が視覚性エピソード記憶のエンコードに重要な働きを行っていることを示している。9例中1例では、言語的なストラテジーを用い、異なった腑活パターンを示した。機能的 MRI は信頼性の高いマッピングが可能であると共に、従来の心理テストでは検出不能なストラテジーの違いを明瞭に描出可能である。痴呆の中核症状である記憶のメカニズムの解明と、記憶障害の定量的な生理学的なパラメータとして利用可能であると考えられる

4、痴呆性疾患の脳代謝障害に関する評価

本年度は、薬物、非薬物療法によるアルツハイマー病脳の局所脳血流への影響を検討した。SPECT による局所の脳血流に注目することで、アルツハイマー病に対する薬物、非薬物療法が脳のどの部位に働きかけるのかを検討した。すなわち2つの治療法を施行する前後で、静止状態において SPECT 検査を施行した。同時に神経心理学的な検査も行った。その結果、治療が有効と判断されたものでは前頭前部を中心とする大脳構造で血流が維持する傾向が認められた。前頭前部は本来、意欲・集中といった機能と深く関わっている。またアルツハイマー病脳の前頭前部では神経細胞が比較的保たれることがわかっている。2つの治療は前頭前部に影響することで、注意・集中を高め、そのことが間接的に認知機能改善に寄与すると考えた。

5、¹³C 標識薬物を用いた脳内薬物動態の研究

本年度は、反復電気痙攣刺激が脳内ブドウ糖-アミノ酸代謝に与える影響について検討を行った。一日一回の電気痙攣刺激を6日間続け、最後の刺激後24時間目に [1-¹³C]-ブドウ糖を尾静脈より投与し、7.5、15、30分後に経時的に脳内遊離アミノ酸への ¹³C の取り込み量を測定し、反復電気痙攣刺激 (rECS) が脳内ブドウ糖-アミノ酸代謝に与える影響についてラットを用いて検討を行った。ブドウ糖投与後、15、30分では rECS 群で脳内の ¹³C-ブドウ糖量が増加 (1.4、1.3倍) していたが、乳酸への ¹³C の組込量は減少傾向を示した。このことは、rECS によりブドウ糖の取込が増加しているか、解糖系が抑制されていることを示している。また、各アミノ酸のそれぞれの位置の炭素への ¹³C の組込量を測定し、rECS 群の対照群 (sham) に対する比率 (rECS/Sham; E/S 値) を求め、rECS の影響を調べたところ、グルタミン酸の2位、3位は経時変化のどの時点でも E/S=0.90 であり、また GABA の3、4位では7.5、15分で E/S 値がそれぞれ 0.70、0.78 を示し、rECS によりグルタミン酸、GABA の合成が低下していることが認められた。グルタミンの2、3、4位の E/S は経時変化のどの時点でも

も、0.83 から 0.87 を示し、グルタミン合成が抑制されていることが認められた

6、¹³C 標識神経伝達物質の作成

本年度は、脳研究に際し安全性が高く脳幹を通過する光学活性アミノ酸を同一方法で効率良く、安価に ¹³C 標識合成出来る高立体選択的合成法を検討した。脳内の ¹³C 標識神経伝達物質を効率よく、安価に生成することが、本研究課題達成に必須であり、¹³C 標識アミノ酸の同一合成方法によるアスパラギン酸の位置選択的 ¹³C 標識アミノ酸合成法の開発を行った。また、酵素法による ¹³C 標識アミノ酸を開発し、立体選択的 ¹³C 標識アミノ酸生成法を開発する。酵素的に短時間に立体選択的に ¹³C 標識各種アミノ酸を生成する過程を ¹³C-NMR で追跡し、生成過程を経時的に詳細に無侵襲的に検討する。中枢神経抑制薬として知られる ¹³C 標識フェニトイン等、マイナートランキザイラザーとしてジアゼパム類の合成を行う。

D、考察

ヒトでの *in vivo* ¹³C-MRS 測定は、Beckmann らが 1991 年に健常成人ボランティアで、¹³C 標識ブドウ糖を静脈投与し、1.5 T の磁場でサーフェスコイルを用いて、脳よりスペクトルを観測したのが最初で、ついで Shulmann らが、¹³C 標識ブドウ糖の静脈内持続注入により、脳内グルタミン酸およびグルタミンの代謝速度を定量することに成功している。今回我々は、¹³C 標識ブドウ糖の経口投与での、脳内グルタミン酸・グルタミンの代謝速度を定量することに成功したが、これは今後本検査法を広く臨床応用するにあたり画期的な成果と言える。また、痴呆性疾患患者における ¹³C-MRS 測定については、これまでに報告はなく、今回の研究結果は貴重な成果となるものと考えられる。我々のこれまでの研究では、未だ統計学的な有意差を得るには至らないが、痴呆性疾患患者群では健常者にくらべ後頭頭頂葉における脳 TCA 回路代謝速度の低下傾向が示されており、ひき続き検討を重ねる必要がある。

分担研究課題名「 ^{13}C -MRS を用いた痴呆性疾患の評価」
 ^{13}C -MRS を用いた痴呆性疾患に対する新しい診断技術と治療薬
の開発に関する基礎的研究

分担研究者 大槻泰介 国立精神・神経センター武蔵病院

^{13}C -MRS 装置は非侵襲的に脳代謝を計測できる唯一の手法である。本研究は、NEDO プロジェクトで開発された装置を用いて、これを痴呆症疾患に対する診断や治療法開発に結び付けようとするものである。本年は、基礎データ収集を目的にした正常老年ボランティア試験、および痴呆症等の患者ボランティア試験を実施した。試験では、被験者に 1 位標識 ^{13}C グルコースを経口にて服用してもらったのち、全 3 時間（[30 分休憩-1 時間測定] × 2）にわたり後頭部の 2 箇所から ^{13}C グルコース代謝物の信号を MR スペクトルとして観測し、得られた ^{13}C グルタミン酸やグルタミン信号の時系列データから、脳細胞機能を知る上で重要な TCA 回路代謝速度などを算出した。その結果、正常老年ボランティア 5 例の平均は $0.33 \mu\text{mol/g/分}$ であり、若年ボランティアと同等の値を示した。また痴呆症患者 4 例の計測結果では、統計的有意差はないものの平均 $0.26 \mu\text{mol/g/分}$ という値を得ており、痴呆症患者では健常人に比べ脳代謝が低下する傾向にあることを示した。今後、さらに計測精度の検討/患者データの蓄積を進めるとともに、前頭葉など後頭部以外での代謝計測を試み有用性を見極めていく。

研究目的

本研究は、NEDO プロジェクトで開発された ^{13}C -MRS 装置を用い、これまで不可能であったヒトの脳代謝過程を *In vivo* に解析し、痴呆症疾患に対する ^{13}C -MRS を用いた新しい診断技術と治療法の開発に結びつけることを目的としている。本研究で得られる知見は極めて新しく、ヒトの脳における神経伝達物質の合成・代謝過程を明らかにする上で、きわめて重要な成果をもたらすと考えられ、また、この検査の非侵襲性と簡便性から、痴呆症の早期診断と早期治療を行う上で、今後広く普及する検査となる可能性が予想される。

初年度は、若年正常ボランティアでの脳代謝計測と疾患患者のパイロットスタディを実施したが、次年度はこれを受けて、老年の正常ボランティアで基礎データを収集するとともに、痴呆症患者などを対象とした患者試験を本格的に開始した。

研究方法

<対象>

正常ボランティア(60 歳以上)および痴呆症患者で、耐糖異常症などの合併症を有さない者を対象とした。試験前日までに、全身状態の検査として、問診/一般血液生化学検査/尿糖/空腹時血糖値/耐糖能検査(GTT)/血圧測定/心電図、高次脳機能検査として、WAIS-R/WMS-R/Mini-mental Test 等を実施し、最終的に正常老年ボランティア 5 例、痴呆症患者 4 例を選定した。

<システム>

ヒト用 ^{13}C -MRS 装置は、東芝製 2T ^{13}C スペクトロスコーピー研究用装置に NEDO プロジェクトで開発されたパルスシーケンス、高周波コイル、傾斜磁場コイルおよび電源、システムコントローラを組み込んだものである。パルスシーケンスとして組み込まれているマルチスライス HSQC 法は、

高感度/良好な化合物の分離/同時複数個所からのデータ収集を可能にしている。高周波コイルは、複数の表面コイルを関心領域周辺に配置するマルチ表面コイル方式を用い、関心領域から高感度に信号を検出できるようにした。傾斜磁場コイルに関しては、強力かつ時間幅の狭い傾斜磁場パルスを発生できるようにしたことでパルスシーケンスの更なる高感度化に役立っている。

今回関心領域を後頭部とした。マルチスライス HSQC 法では、左右の後頭部 2 箇所 (64 ml or 48 ml) を計測領域として設定し、左右一組の ^{13}C スペクトルデータを 5 分で収集できるように調整した。また表面コイルとしては、後頭部支持用のヘッドレストに矩形表面コイル (110 mm * 130 mm) を 3 個配置した。頭部不動化のため後頭部および頸部にマットを置き、さらに額をカバーで固定した。

<試験>

被験者には、前夜 9 時までには食事を済ませ、当日は糖分を含まない飲み物を除き飲食を控えてもらった。試験では、まず被験者に耳栓をしてもらった後装置に入ってもらい、磁場均一性調整などのシステム調整を行った。その後、右上腕静脈に採血ラインを確保し、1 位標識 ^{13}C グルコースを体重 1 kg あたり 0.75 g (水および炭酸水にて 30% 溶液に調整) を服用してもらった。約 5 分後、仰臥姿勢で装置に入ってもらい、磁場均一性の微調整、MRI 撮像などを行い、投与約 30 分後より 1 時間、30 分の休憩をはさんでさらに 1 時間、安静閉眼状態で ^{13}C スペクトルデータ収集を行った。採血は、服用後 30 分までは 5 分おき、30-60 分の間は 15 分おき、さらに 60-180 分の間は 30 分おきで行い、グルコース濃度、 ^{13}C グルコース比 (^{13}C -Glc F.E.)、インシュリン値等を計測した。

<データ処理>

3 個の表面コイルから得られた ^{13}C スペクトルは重み付け加算処理し、最終的に 2 個所の ^{13}C スペクトルの時系列データを得た。得られたスペクトルすべてから、グルタミン酸の 4 位と 3 位、グルタミンの 4 位の ^{13}C の信号値をデータ処理 (カーブフィ

ッティング) により算出する一方、血中 ^{13}C グルコースの F.E. からそれぞれの ^{13}C F.E. の最大値を決定し、最終的に各 ^{13}C 化合物の F.E. の時系列データを得た。

次に、上記時系列データと血中グルコース量および血中 ^{13}C グルコース F.E. のデータを “1 位標識 ^{13}C グルコースの代謝モデル” に代入し、TCA 回路の代謝速度を算出した。代謝モデルは Mason らの方法 (J. Cereb. Blood Flow Metab., 15:12-25, 1995) に基づいている。まず、グルコースの ^{13}C がグルタミン酸やグルタミンに取り込まれていくまでの過程を、比較的脳内に高濃度に存在するグルコース、乳酸 (ピルビン酸含む)、グルタミン酸、グルタミン、アスパラギン酸の各コンパートメントに分けて、各コンパートメント間の ^{13}C のやり取りを微分方程式で表す。血中グルコース量やグルコースの ^{13}C F.E. を入力として上記微分方程式をとき、グルタミン酸の 4 位や 3 位、グルタミンの 4 位の ^{13}C F.E. の時間変化を計算する。計測値との差を求め、これが最小になるように方程式中のパラメータである “TCA 回転速度 (V_{TCA})” や “グルタミン合成速度 (V_{gln})” の値を調整する (シンプレックス法)。最終的に計測値と計算値が合うように調整された時の TCA 回転速度が求めたい値となる。上記方程式中で用いる脳内グルタミン酸やグルタミン濃度、乳酸濃度やその脳と血液間の交換速度などは、現段階で計測できないため文献値を用いた。

研究結果

<正常老年ボランティア>

平均 V_{TCA} は $0.33 \mu\text{mol/g/分}$ (SD:0.10)、 V_{gln} は $0.031 \mu\text{mol/g/分}$ (SD:0.023) であった。これは、前年に行った正常若年ボランティアでの結果 ($0.31 \mu\text{mol/g/分}$ (SD:0.10)) とほとんど同じである。

<患者ボランティア>

痴呆症患者では、平均 V_{TCA} は $0.26 \mu\text{mol/g/分}$ (SD:0.073)、 V_{gln} は $0.049 \mu\text{mol/g/分}$ (SD:0.035) であった。データのばらつきが大きいため正常老年ボランティアに比べ統計的有意差はなかったが、平均値に差がみられ、痴呆脳において TCA 回路の

代謝速度の低下を示唆する結果となった。一方、前年度に引き続き、てんかん患者 1 例について患側と健側での代謝速度比較を行った結果、 V_{TCA} は健側： $0.48 \mu\text{mol/g/分}$ 、患側： $0.22 \mu\text{mol/g/分}$ であった。これにより全 4 例となった V_{TCA} データの平均を取ると、健側： $0.32 \mu\text{mol/g/分}$ 、患側： $0.21 \mu\text{mol/g/分}$ で統計的にも有意に患側の脳代謝低下を示す結果となった。

結論

^{13}C -MRS 装置を用いることにより、1 位標識 ^{13}C グルコースを経口投与して TCA 回路の代謝速度などの脳代謝に関する重要な知見を得られることを確認した。痴呆症患者では、統計的には有意でないが、患者で脳代謝の低下を示唆するデータが得られ、てんかん患者では、患側で有意に脳代謝が低下していることを計測できた。今後、さらに計測精度の検討/患者データの蓄積を進めるとともに、前頭葉など後頭部以外での代謝計測を試み有用性を見極めていく。

研究発表

<学会発表>

・第 28 回日本磁気共鳴医学会大会
10/2-10/4

「 ^{13}C -MRS による脳内代謝の定量化に関する基礎的検討(1)」

・第 39 回 NMR 討論会 11/8-11/11

「in vivo ^{13}C -MRS による脳内代謝の定量化に関する基礎的検討(1)」

・第 49 回日本神経化学学会大会 10/18-10/20

「 ^{13}C -NMR スペクトロスコピーによる非侵襲的ヒト脳内グルコース代謝動態の解析」

・International Society of Magnetic Resonance in Medicine 9th meeting
4/2001 (投稿、accept)

「multivoxel metabolic rate measurement in human brain following oral administration of $[1-^{13}\text{C}]$ glucose with 2T highly sensitive ^{13}C -MRS」

・国際脳循環代謝学会 6/2001 (投

稿、accept) 「Non-invasive measurement of cerebral metabolic rates of glucose in human with ^{13}C -MRS: Comparison with a PET study」

分担研究課題名 ^{13}C -MRS によるサル脳のグルタミン酸、グルタミン代謝速度の測定：片側性パーキンソン病モデルサルによる左右側の比較

分担研究者 金松知幸 創価大学生命科学研究所

研究要旨 カニクイザルの左側内頸動脈より 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydro-pyridine (MPTP) を投与し、3 日、6、9、10 週後に、非侵襲的 ^{13}C -MRS マルチボクセル法により、左右大脳のグルタミン酸合成速度(Vglu)を同時に求め、左右を比較検討した。MPTP 投与後 10 週目は測定時に L-DOPA を投与した。MPTP 投与前の Vglu は大脳左側(0.489, 0.478 $\mu\text{mole}/\text{min}/\text{g}$, n=2)、右側(0.475, 0.505 $\mu\text{mole}/\text{min}/\text{g}$, n=2)間に差はなく(左側/右側; L/R=1.03, 0.95, n=2)、投与後 3 日目、6、9 週目には MPTP 投与側の Vglu が非投与側に比して減少していた(L/R; 3 日後=0.89, 6 週後=0.52, 9 週後=0.77)。10 週後に測定時に L-DOPA を静脈内投与したところ、左右側の Vglu はほぼ等しい値(L/R=0.96)を示した。MPTP 投与後 11 週目に剖検を行い、thyrosine hydroxylase(TH)に対する免疫組織染色を行ったところ、線条体(被殻と尾状核)の TH が、MPTP 投与側で著しく減少していることが示された。

A. 研究目的

我々は、非侵襲的 ^{13}C -MRS マルチボクセル法により、脳の複数領域の Vglu を同時に測定する技術を東芝と共同開発してきた。一方、サルに MPTP を片側性内頸動脈投与することによって反側性にパーキンソン病(PD)症状である筋固縮、無動、振戦等を示すことが知られており、大脳(特に運動野を含む前頭葉)の神経細胞の活動に変化が生じていることが考えられる。そこで、今回、我々が開発した ^{13}C -MRS マルチボクセル法の有用性を評価すると共に、神経変性疾患に伴う代謝変化を捉えることを目的として実験を行った。

B. 研究方法

^{13}C -MRS 測定条件：東芝製 2T ^{13}C -スペクトロスコピー磁気共鳴装置を用い、マルチスライス HSQC シーケンスにて、時間分解能 5 分、測定領域左右脳各 10.2 ml (17 x 20 x 30 mm) で測定。パーキンソン病モデルサルの作成：カニクイザル(体重 4~5 kg、雌)の左側内頸動脈よりネブタール麻酔下で MPTP (0.5 mg/kg) を投与した。MPTP 投与後 3 日目、6、9、週目に ^{13}C -MRS 測定を行い、また、10 週目に L-DOPA を測定開始 15 分前と測定中に投与し続けた。測定時のサル処置法：ケタラールとキシラジンの混合麻酔液を皮下に 1 時間間隔で投与。頭部を MRI 用サル頭部固

定器で固定した後、両側性に小伏在静脈にカニューレションを行い、片側より、[1-¹³C]-ブドウ糖を可變量的に連続投与し、反対側より経時的に採血を行い、血糖値とその¹³C濃度を測定した。血糖値の¹³C濃度(¹³C-fractional enrichment)は分析用NMR(¹H-MRS)で測定した。MPTP投与後11週目に剖検を行い、脳組織を用いTHに対する免疫組織染色を行った。

C. 研究結果

今回の¹³C-MRS測定の間心領域は、その約75%が大脳皮質と白質であり、約25%が視床の全域と被殻と淡蒼球の上半部であった。[1-¹³C]-ブドウ糖を一定量のボラス投与後に可變速的に連続投与することにより、血糖の¹³C-F.E.は測定中にほぼ一定の値を示した。本測定はサーフェイスコイルを利用していることから、観測されるシグナルは主に大脳皮質と白質由来と考えられる。MPTP投与前に2度、¹³C-MRS測定を行い、左右両ボクセルのVgluを比較したところ、両者は等しい値を示した(表-1)。本実験以外で異なった健常個体を用いた場合も左右両ボクセルのVgluは等しく(data were not shown)、本測定によりサル脳10ml領域のVglu測定が可能であり、また、左右脳の比較が可能で有ることが示された。

左側内頸動脈よりMPTPを投与した後、3日目、6、9週目に¹³C-MRS測定を行ったところ、左側(投与側)ボクセルのVgluが右側(健側)に比べ低値を示した(表-1)。MPTP投与後10週目に、¹³C-MRS測定開始15分前にL-DOPA(レボドパ)2.5mg(1ml)を投与し、また、[1-¹³C]-ブドウ糖溶液中に2.5mgのレボドパを加え、¹³C-MRS測定を行ったところ、左右脳の差は認められなかった。MPTP投与後11週目の剖検脳

をTHに対する抗血清で免疫組織染色を行ったところ、MPTP投与側(左側)の被殻と尾状核からなる線条体で、著しいTHの減少が認められた(図-1)。

本実験に於いては、MPTP投与後のサルに、顕著なパーキンソン病症状(筋固縮、無動、振戦)は認められなかったが、線条体のTHが著しく減少していたことから、MPTP投与によって、線条体のドーパミン作動性ニューロンの機能が低下していたものと思われる。ドーパミン作動性ニューロンの変性、脱落により大脳皮質特に前頭葉の神経活動が抑制されることが示唆されていることから、今回の我々の¹³C-MRS測定の結果は、ドーパミン作動性ニューロンの変性により皮質部のグルタミン酸作動性ニューロンの活動低下が引き起こされていることを示している。

D. 結論

今回の実験結果より、MPTP投与による線条体ドーパミン神経細胞の変性・脱落により観測領域のVgluが低下する事が明らかとなった。

E. 研究発表

論文発表:

- 1) H. Watanabe, Y. Ishihara, K. Okamoto, K. Oshio, T. Kanamatsu, Y. Tsukada: 3D localized ¹H-¹³C Heteronuclear Single-Quantum Coherence correlation spectroscopy in vivo; Mag. Reson. Med., 43, 200-210, 2000.
- 2) H. Watanabe, M. Umeda, Y. Ishihara, K. Okamoto, T. Kanamatsu, Y.

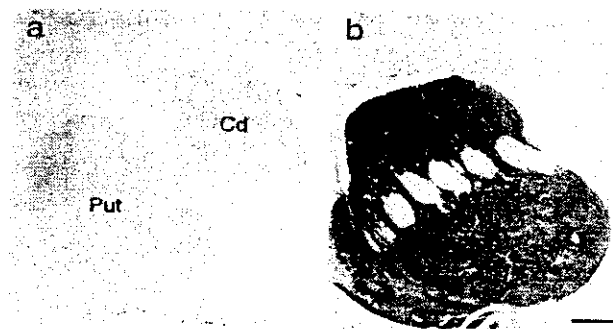
- Tsukada: Human brain glucose metabolism mapping using multi-slice 2D ^1H - ^{13}C correlation HSQC spectroscopy; *Mag. Reson. Med.*, 43, 525-233, 2000.
- 3) Y. Ishihara, H. Watanabe, K. Okamoto, T. Kanamatsu, and Y. Tsukada: Temperature monitoring of internal body heating induced by decoupling pulses in animal ^{13}C -MRS experiments; *Magn. Reson. Med.* 43, 796-803, 2000.
 - 4) 金松知幸、A.B. Patel, J.Wall, D.L.Tothman, K.B.Behar, R.G. Shulman: Bicuculline によって誘発されたてんかん発作中のブドウ糖-アミノ酸代謝の変化; ^{13}C 医学, 10, 34-35, 2000.
 - 5) 渡邊英宏、梅田匡朗、石原康利、岡本和也、小田正記、金松知幸、塚田裕三: ^{13}C 代謝物イメージング法の高感度化第二報; ^{13}C 医学, 10, 36-37, 2000.
- 学会発表
- 1) 金松知幸、高原ひろみ: ラット脳 GABA, aspartate 代謝と anaplerotic pathway, glutamine との関連性: [2- ^{13}C]-glucose を用いた ^{13}C -NMR spectroscopy による研究; 第 77 回日本生理学会大会, 3/27-29, 東京, 2000.
 - 2) K. Okamoto, M. Umeda, Y. Ishihara, H. Watanabe, M. Oda, T. Kanamatsu, Y. Tsukada: High-resolution human brain ^{13}C -MRS and MRSI; *Proc. of ISMRM, 8th Annual Meeting*, p1850, 4/1-7, Colorado, 2000.
 - 3) H. Watanabe, M. Umeda, Y. Ishihara, K. Okamoto, M. Oda, T. Kanamatsu, Y. Tsukada: Quantitative Analysis of in vivo 2D ^1H - ^{13}C HSQC spectra using a complex nonlinear least-squares curve-fitting; *Proc. of ISMRM, 8th Annual Meeting*, p1949, 4/1-7, Colorado, 2000.
 - 4) 大槻泰介、松本暁子、金松知幸、塚田裕三、岡本和也、渡邊英宏、梅田匡朗: ^{13}C -MRS を用いたヒト脳グルタミン酸代謝動態の検討 - [1- ^{13}C]-glucose 経口投与による測定 - ; 第 23 回日本神経科学学会大会, 第 10 回日本神経回路学会大会合同大会, 9/4-6, 横浜, 2000.
 - 5) 金松知幸、大槻泰介、塚田裕三、岡本和也、渡邊英宏、梅田匡朗: ^{13}C -MRS を用いた in vivo サル脳グルタミン酸代謝速度の測定 - [1- ^{13}C] glucose 持続静脈投与による検討 - ; 第 23 回日本神経科学学会大会, 第 10 回日本神経回路学会大会合同大会, 9/4-6, 横浜, 2000.
 - 6) 金松知幸、小田正記、塚田裕三、大槻泰介、岡本和也、渡邊英宏、梅田匡朗: 非侵襲的 ^{13}C -MRS マルチボクセル法によるサル脳 TCA 回路速度の測定 - [1- ^{13}C] glucose 持続静脈投与による検討 - ; 第 28 回日本磁気共鳴医学会大会, 10/2-4, 京都, 2000.
 - 7) 岡本和也、渡邊英宏、梅田匡朗、大槻泰介、小田正記、金松知幸、塚田裕三: ^{13}C -MRS による脳内代謝の定量化に関する基礎的検討(1); 第 28 回日本磁気共鳴医学会大会, 10/2-4, 京都, 2000.
 - 8) 渡邊英宏、梅田匡朗、岡本和也、小田正記、金松知幸、塚田裕三、大槻泰介: ^1H MRS による GABA 観測法の開発; 第 28 回日本磁気共鳴医学会大会, 10/2-4, 京都, 2000.
 - 9) 金松知幸、南部 篤、大槻泰介、小田正

- 記、高田昌彦、徳野博信、渡邊英宏、岡本和也、梅田匡朗、塚田裕三；片側性内頸動脈 MPTP 投与によるサル脳グルタミン酸代謝の変化 —非侵襲的 ^{13}C -MRS による研究—；第 43 回日本神経化学学会大会, 10/18-20, 金沢, 2000.
- 10) 松本暁子、大槻泰介、金松知幸、岡本和也、渡邊英宏、梅田匡朗、塚田裕三： ^{13}C -NMR スペクトロスコピーによる非侵襲的ヒト脳内グルコース代謝動態の解析 — $[1-^{13}\text{C}]$ -glucose 経口投与による測定—；第 43 回日本神経化学学会大会, 10/18-20, 金沢, 2000.
- 11) T. Otsuki, T. Kanamatus, Y. Tsukada, K. Okamoto, H. Watanabe, M. Umeda: Measurement of cerebral glutamate metabolism by oral administration of $[1-^{13}\text{C}]$ -glucose using a newly developed ^{13}C -MRS system; 30th Annual Meeting, Society for Neuroscience, 11/4-9, New Orleans, 2000.
- 12) 岡本和也、渡邊英宏、梅田匡朗、大槻泰介、小田正記、金松知幸、塚田裕三：*In vivo* ^{13}C -MRS による脳内代謝の定量化に関する基礎的検討(1)；第 39 回 NMR 討論会, 11/8-10, 東京, 200.
- 13) 渡邊英宏、梅田匡朗、岡本和也、小田正記、金松知幸、塚田裕三、松本暁子、大槻泰介： ^1H MRS による GABA 観測法の開発；第 16 回 ^{13}C 医学応用研究会, 11/11, 新潟, 2000.
- 14) 大槻泰介、松本暁子、金松知幸、塚田裕三、岡本和也、渡邊英宏、梅田匡朗： ^{13}C -MRS による成人ヒト後頭葉グルタミン酸代謝動態の検討；第 16 回 ^{13}C 医学応用研究会, 11/11, 新潟, 2000.
- 15) 金松知幸、南部 篤、大槻泰介、渡邊英宏、岡本和也、梅田匡朗、塚田裕三：片側性内頸動脈 MPTP 投与によるサル脳 Vtca の変化 —非侵襲的 ^{13}C -MRS マルチボクセル法による研究—；第 16 回 ^{13}C 医学応用研究会, 11/11, 新潟, 2000.
- 16) H. Watanabe, M. Umeda, K. Okamoto, T. Kanamtsu, Y. Tsukada, A. Matsumoto, T. Otsuki: ^1H MRS for *in vivo* detection of GABA using double quantum filtering with coherence selection gradients; 3rd JSMRM International Symposium, 1/20-21, 東京, 2001.

表-1	Vtca (μ mole/min/g)		
	Left	Right	Left/Right
MPTP 投与前 1回目	0.489	0.475	1.03
MPTP 投与前 2回目	0.478	0.505	0.95
	(投与側)	(健側)	(投与側/健側)
MPTP 投与後 3日目	0.580	0.655	0.89
MPTP 投与後 45日目	0.682	1.322	0.52
MPTP 投与後 63日目	0.702	0.908	0.77
MPTP 投与後 70日目 + L-DOPA	0.583	0.605	0.96

図-1

Rabbit anti-tyrosine hydroxylase 抗体による免疫染色



a: MPTP 投与側

b: MPTP 非投与側

Put: 被殻、Cd: 尾状核 : MPTP 投与後 77日目にサンプリング

「分担研究課題 PETを用いた痴呆性疾患の評価」

Functional MRI(fMRI)を用いた記憶機能評価

国立精神・神経センター武蔵病院放射線診療部 大西 隆

研究要旨：機能的MRIを用いて視覚性エピソード記憶のエンコード時の脳機能活動を計測した。健常成人9人を対象にcomplex visual scene encoding taskを課題としてfMRIを施行し解析した。健常者のグループとしての腑活は、右側優位の海馬から海馬傍回後部、紡錘回、両側視覚連合野に賦活を認めた。また個人レベルでの解析では9人中8人で同様のパターンを示した。これらの結果は右後部海馬、海馬傍回が視覚性エピソード記憶のエンコードに重要な働きを行っていることを示している。9例中1例では、言語的なストラテジーを用い、異なった腑活パターンを示した。機能的MRIは信頼性の高いマッピングが可能であると共に、従来の心理テストでは検出不能なストラテジーの違いを明瞭に描出可能である。痴呆の中核症状である記憶のメカニズムの解明と、記憶障害の定量的な生理学的なパラメータとして利用可能であると考えられる。

A.研究目的

機能的MRI(functional magnetic resonance imaging: fMRI)は、1990年代より始まった比較的新しい脳機能マッピングの手法である。当初は運動、視覚などの一次領域の報告が多かったが、ハードウェア、ソフトウェアの発達に伴い、言語等の高次機能のマッピングも数多く報告されている。

本研究ではfMRIを用いて記憶機能に関与する脳領域をマッピングし、痴呆性疾患の早期診断、記憶に関与する脳活動の定量化、およびその技術を用いた治療効果

の判定を目的とする。記憶機能は大きく短期記憶(Working memory)と長期記憶に分類され、さらに長期記憶はエピソード記憶、セマンティック記憶に分かれ、各々モダリティー(視覚、言語等)により異なった脳領域が関与するとされている。更に、記憶の取り込み、再生と広い範囲を含んでいる。このため、細分化された評価が必要であるが、これらの全てを痴呆の患者を対象にfMRIを施行するのは困難である。

アルツハイマー病をはじめ、痴呆性疾患

の中核障害は長期記憶の障害であり、特に病初期ではエピソード記憶の障害が特徴的である。そこで今回は視覚性エピソード記憶のencoding時の脳活動を測定する方法を考案した。

B. 研究方法

1) 対象

対象はインフォームドコンセントを得られた右利き健常者9名(男性5名、女性4名：平均年齢27歳)である。本研究は国立精神・神経センター武蔵地区の倫理委員会の承認を得て行った。

2) fMRI検査

fMRIは1.5T装置(MAGNETOM Vision plus, Siemens, Erlangen, Germany)を用いsingle shot EPIにて全脳を撮影した(TR = 3000 msec, TE = 60 msec, Flip angle = 90 degree, in-plane resolution 3.44 x 3.44 mm, FOV = 22 cm, contiguous 4-mm slices to cover the entire brain)。安静時と課題時を交互に各5scanからなる16ブロック、1つの課題につき85scanずつ収集した。収集直後の5スキャンはMR信号が不安定なため、ダミースキャンとし、残りの80スキャンを解析に用いた。

3) 課題

記憶課題としてcomplex visual scene encoding taskを用いた。この課題では課題のブロックの間、3秒に1つ種々の風景写真が提示され被験者は、それら(合計40種類)を記憶しておくように指示し、コントロール状態では、課題時に用いた写真をリタイ尔し、視覚入力を課題条件とそろえたものを提示して、それらを眺めるよう指示した。fMRI測定後に再認テストを行ない正答率が80%以下の場合は再検査とした。

4) 画像統計解析

データ解析はSPM99を用いた。各EPI画像は収集時間補正(slice timing)、頭位の動きの補正(realignment)、解剖学的標準化(spatial normalization)を行った後、8mmのガウスフィルターによる平滑化を行ない一般線形モデルを用いた統計処理を行った。統計モデルとしては、被験者個々のマッピングにおいてはfixed effect model、グループとしてのマッピングでは、random effect modelを用いた。有意水準は $p < 0.005$ とし、多重比較の補正は行なわなかった。

C. 研究結果

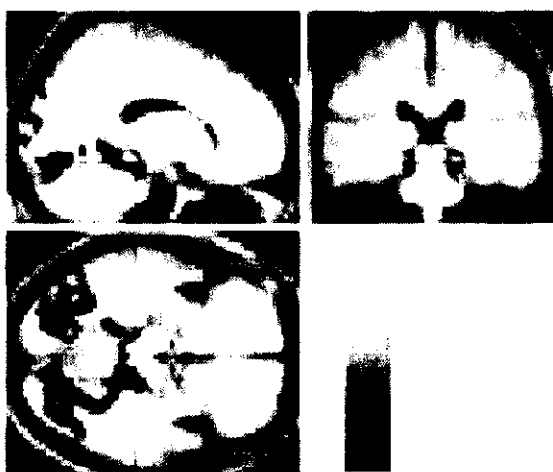
1. Behavioral data

fMRI計測後に再認テストを行った。20枚

の写真（内10枚はencoding時に提示、10枚は未提示）を3秒毎に提示し、fMRI測定時に提示されたものかテストした。9人中7人で正答率は90%、2人で100%であった。

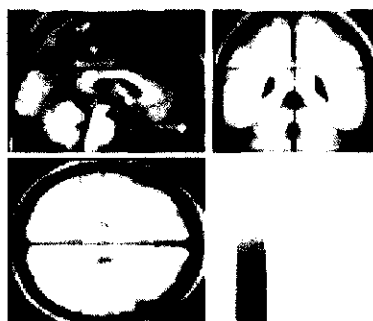
2. 健常者での賦活パターン

健常被験者においては、右側優位の海馬から海馬傍回後部、紡錘回、両側視覚連合野に賦活を認めた(下図)。



最近のfMRIを用いた検討では、海馬の後部は記憶のencodingに前方部は記憶の引き出しに重要な働きをしていると報告しており、我々の結果もencoding時の後部海馬領域の重要性を示している。個人レベルのマッピングでは9例中、8例で同様の結果を得たが、1例では再認テストで100%の正答率にもかかわらず、海馬から海馬傍回後部に賦活を認めず、後部帯状回、楔前

部の賦活を認めた（下図）。



この被験者では、写真を記憶する際に言語的なストラテジーを用いており、健常者においても記憶のストラテジーが異なることを示唆するとともに、従来の心理テストでは、検出困難なストラテジーの違いをfMRIが検出可能であることを示している。今年度は個人レベルでの記憶機能のマッピングが可能なパラダイムの確立を目標としたため、対象の平均年齢は27歳と若くなっている。今後、痴呆疾患を対象とするために、広い年齢層を対象にfMRIを施行し、正常加齢に伴う記憶機能の変化を検討すると共に、ノーマルデータベースを構築し、痴呆疾患の早期診断と記憶機能の定量化を行う予定である。

D. 結論

fMRIによる機能局在診断は記憶のような高次機能においても信頼性の高い方法であ

る。今後、コントロール群としての健常
老年者にfMRIを行い、痴呆超早期診断、
発症前診断を目標とする。

「分担研究課題 痴呆性疾患の脳代謝障害に対する評価」

薬物、非薬物療法によるアルツハイマー病脳の局所脳血流への影響

分担研究者 朝田隆 国立精神・神経センター武蔵病院

研究要旨

SPECT による局所の脳血流に注目することで、アルツハイマー病に対する薬物、非薬物療法が脳のどの部位に働きかけるのかを検討した。すなわち2つの治療法を施行する前後で、静止状態において SPECT 検査を施行した。同時に神経心理学的な検査も行った。その結果、治療が有効と判断されたものでは前頭前部を中心とする大脳構造で血流が維持する傾向が認められた。前頭前部は本来、意欲・集中といった機能と深く関わっている。またアルツハイマー病脳の前頭前部では神経細胞が比較的保たれることがわかっている。2つの治療は前頭前部に影響することで、注意・集中を高め、そのことが間接的に認知機能改善に寄与すると考えた。

A.研究目的

アルツハイマー病に対して、薬物療法ならびに非薬物療法に効果があるとすれば、大脳血流パターンにも何らかの変化が生じるはずである。そこで静止状態における SPECT による血流所見の変化を検討することで、各種の治療は脳のどの部位に働きかけて効果をもたらすのかを明らかにすることを目的とした。

B.研究方法

軽度から中等度のアルツハイマー病患者を対象とした。1)薬物療法と

しては塩酸ドネペジル(5mg/日)を1年間服用、2)非薬物療法としては芸術療法(造形と音楽活動)(原則それぞれを週1回施行)を半年間用施行した。

薬物療法の作用部位については服用群(N=15)と非服用群(N=20)に分けて検討した。また非薬物療法の作用部位についても介入群(N=13)と非介入群(N=15)に分けて検討した。それぞれによる治療介入の前後で 99mTc-ECD を用いた SPECT 検査を施行して、両者の所見の差異を SPM により検討した。SPECT 施行と同時期に、対象

ならびにコントロールの認知機能を評価する目的で各種の神経心理学検査を行った。

C. 研究結果

1) 薬物療法

塩酸ドネペジルを服用した群では、非服用群で認められた帯状回前部と前頭前野における血流低下が認められなかった。この点に有意な差異があった。けれども各種の認知機能については両グループ間で有意差はみられなかった。

2) 非薬物療法

介入群と非介入群との間で、局所脳血流のパターンに有意な相違はみられなかった。しかし認知機能が多少とも改善した対象においては、前頭前部付近で脳血流量が増加する傾向がみられた。また認知機能については、両群間に有意差を認めなかった。

D. 結論

前頭前野、帯状回前部はアルツハイマー病脳のなかでは比較的神経細胞が保たれる部位である。またこうした部位の機能としては、意欲や集中力などが注目されている。

薬物、非薬物のいずれであっても、前頭前野や帯状回前部などアルツハイマー病脳では比較的温存される部

位における脳血流を改善する。そのことが直接的に意欲や集中力を高められると思われる。これらの治療が認知機能の改善をもたらした例では、意欲・集中力の改善を介して検査成績の向上がもたらされたと考えられる。

E. 研究発表

論文発表

Nakano S, Asada T, Matsuda H, Uno M, Takasaki M. Donepezil hydrochloride preserves regional cerebral blood flow in patients with Alzheimer's disease. J Nucl Med (in press)

学会発表

朝田隆。アルツハイマー病の治療最前線：Neurocognitive Rehabilitation。第19回日本痴呆学会シンポジウム（木更津、2000,9,27）

大槻班

研究費における消耗品購入についての説明

「痴呆性疾患の脳代謝障害に対する評価」

われわれは痴呆性疾患のなかでもとくにアルツハイマー病に注目した。脳代謝障害を評価する手段として、SPECT を用いて脳血流を測定している。アルツハイマー病における脳血流の低下は一般的な脳血管障害とは異なり、神経細胞の機能低下・喪失やその死に起因すると考えられる。神経細胞死に至れば治療は望めないが、機能低下に留まっている状態では多少とも可逆性がみられるのではないかと考えた。

さて現在わが国で流通しているアルツハイマー病に対する薬剤は唯一ドネペジルである。われわれは既に本剤を服用することで前頭前野領域の血流低下を遅くすることができるという報告をしている。またこれと同主旨の報告がイギリスからなされている。こうした所見は脳の可逆性を意味するとも考えられる。

そこで薬物のみならず非薬物についてもこうした治療効果すなわち脳の可逆性を評価したいと考えた。そこでドネペジル服用とともに認知機能面への効果が期待される芸術療法を用いたアプローチを行った。ここで用いた造形に関わる技法はゲシュタルト心理学など神経心理学的な知見に立脚するものである。消耗品の細目がこうした造形関係の物品で占められているのはそのような理由による。