

る複眼変性を実体顕微鏡観察により評価した。また FLAG-Q92 の凝集体形成については3 齢幼虫の複眼原基の抗 FLAG 抗体を用いた免疫染色により評価した。

神経系での発現実験では神経系特異的プロモーター *eav* により MJDtr-Q78 と QBP1-CFP を共発現させ、その時の生存曲線から MJDtr-Q78 による寿命短縮を評価した。

## (2) 異常伸長 Po yQ 鎖の病的コンフォメーションに対する QBP1 結合による影響の検討

*in vitro* で経時的、濃度依存性的かつ Po yQ 鎖長依存的な凝集体形成を示す Th oredox n-Po yQ 融合蛋白質 (Th o-Po yQ) を大腸菌で発現させ、アフィニティーカラムおよびイオン交換クロマトグラフィーにより精製した。QBP1 の結合が Th o-Po yQ の二次構造に与える影響を明らかにするために、Th o-Po yQ 単独、あるいは Th o-Po yQ+QBP1 について円偏光二色性分散 (CD) 測定を行った。また Th o-Po yQ 凝集体の構造についてはフーリエ変換赤外分光光度 (FT-IR) と電子顕微鏡観察により検討した。

(倫理面への配慮)

本研究ではヒトを直接対象とした研究および動物実験は行っておらず、特記すべきことはない。

## C. 研究結果

### (1) Po yQ 病ショウジョウバエモデルでの QBP1 共発現による治療効果の検討

複眼での発現実験において FLAG-Q92 と共に QBP1-CFP を共発現する Q92/QBP1 Fy では、対照として用いた SCR (QBP1 の配列を無作為に並び換えたもの) -CFP を共発現する Q92/SCR Fy に比し、複眼変性が明らかに軽減した。特に表現型の弱い Q92 Fy 系統に対しては QBP1-CFP の共発現により光学顕微鏡下では野生型と区別ができない程度にまで複眼変性を救済した。複眼原基の免疫染色では Q92/SCR Fy に比し Q92/QBP1 Fy では FLAG-Q92 凝集体形成が著明に抑制された。

一方、神経系での発現実験において対照の SCR-CFP と MJDtr-Q78 とを共発現する MJDtr-Q78/SCR Fy の寿命中央値 5.5 日に比べ、QBP1-CFP を共発現する MJDtr-Q78/QBP1 Fy では寿命中央値 52 日と寿命が著明に延長した。これらの結果は 2 系統以上の独立した QBP1 Fy 系統で確認された。また複眼、神経系での QBP1-CFP 単独の発現では明らかな表現型は認めなかった。

### (2) 異常伸長 Po yQ 鎖の病的コンフォメーション

### に対する QBP1 結合による影響の検討

Th o-Po yQ 蛋白質の CD を測定した結果、溶液状態では Po yQ 鎖長依存的に  $\alpha$ -helix の増大を認めた。QBP1 の添加は Th o-Po yQ の二次構造に変化を与えなかった。一方、Th o-Q62 凝集体の FT-IR 測定では溶液状態に比べ、 $\beta$ -sheet 含有率の増大を認めた。さらに電子顕微鏡観察ではアミロイド様の繊維状構造物を見出した。

## D. 考察

本研究では Po yQ 病ショウジョウバエモデルを用いた遺伝学的交配により、異常伸長 Po yQ 鎖特異的結合ペプチド QBP1 が *in vivo* においても異常伸長 Po yQ 蛋白質の凝集体形成を阻害し、神経変性を抑制し、さらに寿命短縮を著明に改善した。これらのことから QBP1 は現時点で有効な治療法に乏しい Po yQ 病に対する新しい治療分子候補と考えられる。QBP1 は 11 アミノ酸のペプチドであるため細胞内移行効率が低いと考えられるが、我々はこれまでに細胞膜透過シグナルである PTD を付加したペプチド PTD-QBP1 が、高効率で細胞内に移行し、異常伸長 Po yQ 蛋白質による凝集体形成・細胞死を抑制することを明らかにした (Biochem. Biophys. Res. Commun. 288: 703-710, 2001)。さらに我々は PTD-QBP1 がマウス脳においても高効率で神経細胞内に導入されることを見出し、今後 PTD-QBP1 による Po yQ 病マウスモデルに対する治療効果が期待される。

一方、CD の結果から QBP1 は異常伸長 Po yQ 蛋白質の二次構造に変化を与えないことより、単純に Po yQ 鎖同士の会合を阻害することで凝集体形成を阻害している可能性が考えられた。しかし、溶液状態では異常伸長 Po yQ 蛋白質の病的コンフォメーション獲得が確認できておらず、QBP1 の結合が病的コンフォメーション獲得を阻害するかどうかは明らかではないため、結果の解釈には慎重を要する。FT-IR の結果から凝集状態の異常伸長 Po yQ 蛋白質は溶液状態とは異なる二次構造を持つことが示されており、 $\beta$ -sheet に富んだアミロイド様の繊維状構造物を形成する。今後、このような異常伸長 Po yQ 蛋白質の病的コンフォメーション獲得に対して、QBP1 の結合が与える影響を検討する必要がある。

## E. 結論

(1) Po yQ 病ショウジョウバエモデルを用いて

異常伸長 PolyQ 鎖特異的結合ペプチド QBP1 の *in vivo* での治療効果を明らかにした。

(2) QBP1 の結合は異常伸長 PolyQ 蛋白質の二次構造に変化を与えないことから、単純に PolyQ 鎖同士の会合を阻害することで PolyQ 凝集体形成を阻害している可能性が考えられた。

(3) 異常伸長 PolyQ 蛋白質は凝集体中では  $\beta$ -sheet 優位な構造をとり、アミロイド様の繊維状構造物を形成する。

(4) 本研究は現時点で有効な治療法のないポリグルタミン病に対して、治療法開発へ向けた基礎を確立するものである。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1) M. Tachikawa, Y. Naga, K. Nakamura, K. Kobayashi, T. Fujiwara, H.-J. Han, Y. Nakabayashi, Y. Ichikawa, J. Goto, I. Kanazawa, Y. Nakamura, T. Toda

Identification of CAG repeat-containing genes expressed in human brain as candidate genes for autosomal dominant spinocerebellar ataxias and other neurodegenerative diseases.

J. Hum. Genet. 47, 275-278 (2002)

2) T. Azuma, T. Uemichi, M. Funahashi, Y. Naga, T. Matsubara

Ambulatory blood pressure monitoring in patients with spinocerebellar degeneration. Acta Neuro. Scand. 106, 213-217 (2002)

### 2. 学会発表

1) Y. Naga, N. Fu kake, H. A. Pope, K. Ohno, H. Hgashiyama, M. Yamaguchi, W. J. Strittmatter, J. R. Burke, T. Toda

Polyglutamine Binding Peptide 1 (QBP1) inhibits polyglutamine aggregation and cytotoxicity *in vitro* and in *Drosophila* polyglutamine disease models.

The Hereditary Disease Foundation Meeting (Aug, 2002, Cambridge, MA, USA)

2) Y. Naga, H. A. Pope, N. Fu kake, K. Ohno, H. Hgashiyama, M. Yamaguchi, W. J. Strittmatter, J. R. Burke, T. Toda

Toward establishment of a molecular therapy for polyglutamine diseases; Polyglutamine Binding Peptide 1 (QBP1) inhibits polyglutamine aggregation and cytotoxicity *in vitro* and in *Drosophila* disease models.

The 15th Nato Conference (Oct, 2002,

Kanagawa, Japan)

3) Y. Naga, N. Fu kake, K. Ohno, H. Hgashiyama, T. Inu, H. A. Pope, Y. Urade, M. Yamaguchi, W. J. Strittmatter, J. R. Burke, T. Toda

Polyglutamine Binding Peptide 1 (QBP1) inhibits polyglutamine aggregation and rescues neurodegeneration phenotypes in *Drosophila* polyglutamine disease models.

52nd Annual Meeting of American Society of Human Genetics (Oct, 2002, Baltimore, MD, USA)

4) 永井義隆、ポピエルヘレナ明子、Ju a Rahad an, James R. Burke, Warren J. Strittmatter, 藤掛伸宏、東山浩之、山口政光、戸田達史

Polyglutamine Binding Peptide 1 によるポリグルタミン凝集阻害と神経細胞死救済

第43回日本神経学会総会 (H14. 5、北海道)

5) 永井義隆、藤掛伸宏、ポピエルヘレナ明子、大野勝人、山口政光、Warren J. Strittmatter, James R. Burke, 戸田達史

ポリグルタミン病の分子治療の試み—ショウジョウバエモデルを用いたペプチド QBP1 によるポリグルタミン凝集阻害と神経細胞死救済

第25回日本分子生物学会 (H14. 12、横浜)

6) ポピエルヘレナ明子、永井義隆、小野寺理、Warren J. Strittmatter, James R. Burke, 市川厚、戸田達史

異常伸長ポリグルタミン鎖へのプロリン残基挿入による凝集体形成・細胞毒性の抑制

第25回日本分子生物学会 (H14. 12、横浜)

7) 大野勝人、菅野稚奈、永井義隆、加藤規子、加藤順也、田中利明、田口修、垣塚彰、山口政光

アポトーシス抑制活性を持つショウジョウバエ MLF 遺伝子産物は polyglutamine による神経細胞死をも抑制する

第25回日本分子生物学会 (H14. 12、横浜)

## G. 知的所有権の取得状況

特になし。

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

Ataxin-3 蛋白質の機能解析

分担研究者 西澤正豊 国際医療福祉大学臨床医学センター

ataxin-3 の機能ドメイン、局在及び相互作用蛋白を解析することにより、系統変性の特異性と MJD の発症機序を解明することを目的とした。免疫沈降法により ataxin-3 の multi-coiled-coil 領域は self-association 領域であること、ataxin-3 の各部位を認識するポリクローナル抗体の作成により、ataxin-3 はヒト神経細胞内で cleavage されていること、ataxin-3 の C 末領域と相互作用する蛋白として単離された  $\gamma$ -synergin は、その C 末 67 アミノ酸により、ataxin-3 と相互作用すること等を見いだした。

A. 研究目的

Machado-Joseph 病 (MJD) は世界的にも本邦でも最も頻度の高い優性遺伝性脊髄小脳変性症であり、ポリグルタミン病と総称される他の 8 疾患と同様に原因遺伝子の翻訳領域内に伸長した CAG リピートが存在する。これらの疾患では変性部位が異なっており、このような部位特異的な系統変性の詳細は不明である。MJD の発症機序を明らかにするためにはポリグルタミン病に共通する発症機構の解明と、MJD に選択的な系統変性を生じる機構の解明が必要である。我々は MJD 病変の選択的な系統変性の解明を目的として、MJD1 遺伝子の産物 ataxin-3 の局在と機能解析を行った。

B. 研究方法

我々は ataxin-3 における機能領域について検討し、ataxin-3 にはポリ Q の N 末側に multi-coiled-coil 領域と核内移行配列 (NLS) が、C 末側には核外移行配列 (NES) が存在しており、これらが ataxin-3 の細胞内局在、および蛋白質間の相互作用に関与して

いることを、各領域の deletion mutant を用いた発現解析および bacterial two-hybrid 法によって明らかにしてきた。

まず、細胞内においても multi-coiled-coil 領域はそれ自身と相互作用していることを確認するため、この領域を GFP および DsRed との融合蛋白として COS 細胞に共発現させ、免疫沈降により確認した。

ataxin-3 の N 末、中央部、C 末各部位の配列から 11-12 個のペプチドを合成し、ポリクローナル抗体を作成した。affinity 精製後、抗体の特異性は、ataxin-3 の各 deletion mutant を発現した COS 細胞、HeLa 細胞およびヒト白血球の各 lysate を用いた western blot により検討した。さらにこれらの抗体を用いて MJD 患者の凍結小脳皮質の免疫組織染色を行った。

E.coli を用いた two-hybrid 法を用いて、ataxin-3 と相互作用する蛋白遺伝子の単離を行った。C 末 (319-360 残基) 領域を bait vector に組み込み pBT-C42 を作成し、fetal brain cDNA library をスクリーニングする

ことにより、これまでに、 $\gamma$ -synergin をはじめとして、いくつかの遺伝子を単離した。このうち単離された $\gamma$ -synergin の 1116 から 1312 アミノ酸領域を DsRed との融合タンパク(DsRed- $\gamma$ -synergin2)として C 末領域 (GFP-C42) との共局在を検討した。さらに、ataxin-3 の C 末領域との相互作用部位を特定するために、 $\gamma$ -synergin の C 末 67 アミノ酸のみを発現する construct(DsRed- $\gamma$ -synergin3)を作成し、bacterial two-hybrid 法による確認と GFP-C42 との共局在を検討した。

#### 倫理面での配慮

本研究の遂行にあたり、科学技術会議生命倫理委員会「ヒトゲノム研究に関する基本原則について」、文部科学省・厚生労働省・経済産業省「遺伝子解析に関わる倫理問題」並びに本学「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する取扱規程」を遵守し、ヒト白血球の提供者、その家族・血縁者その他関係者には、インフォームドコンセントを受ける手続きとして、十分な理解を得られるように文章を用いて説明し、人権および利益の保護の取扱についても十分に配慮した。

#### C. 研究結果

Ataxin-3 のコンフォメーションおよび蛋白-蛋白の相互作用に関与することが示唆されていた multi-coiled-coil 領域は、COS 細胞において免疫沈降の結果から、それ自身と相互作用する self-association 領域であることが示された。

作成した各ポリクローナル抗体は、COS 細胞に一過性に発現させた normal および

mutant ataxin-3 のそれぞれの construct を特異的に認識し、ataxin-3 の各部位を特異的に認識する抗体と考えられた。また、western blot の結果から、full-length の ataxin-3 はポリグルタミンの N 末側で cleavage されている可能性が示唆された。MJD 患者小脳における免疫組織染色の結果、N 末、中央部を認識する抗体では、プルキンエ細胞全体が diffuse に染色され、特に核が濃く染色された。これに対して、C 末領域を認識する抗体では、細胞全体又は細胞質が diffuse に染色され、プルキンエ細胞抗体により異なった染色パターンを示した。

Ataxin-3 の C 末領域と相互作用する蛋白遺伝子として単離された $\gamma$ -synergin は、その C 末領域の 67 アミノ酸により ataxin-3 の C 末領域と相互作用することが bacterial two-hybrid 法により確認された。また、 $\gamma$ -synergin 67 アミノ酸および ataxin-3 の C 末領域を DsRed、GFP との fusion 蛋白として COS 細胞に導入した結果、Trans-Golgi Network(TGN)の部位に共局在した。

#### D. 考察

これまでに正常 ataxin-3 は、伸長したポリグルタミンを持つ変異 ataxin-3 が形成する不溶画分(凝集体)に巻き込まれることが報告されている。今回 multi-coiled-coil 領域は、self-association することが示され、この領域は、ataxin-3 蛋白のコンフォメーション及び、核内外への移行シグナルの機能に影響を及ぼすのみならず、分子間相互作用により、正常 ataxin-3 の変異 ataxin-3 への巻き込みに関与することが示唆された。

Ataxin-3 の各抗体による western blot、さらに、組織染色において染色パターンの違いが見られたことから、ataxin-3 は cleavage されていることが示唆された。しかしながら、組織における ataxin-3 の局在解析は、cleavage、variant の発現、抗体認識部位等を考慮すること、併せて伸長したポリグルタミンの局在との関連も検討する必要があると思われた。

Ataxin-3 の C 末領域は NES が存在することからも細胞質への局在に必要な領域であると考えられる。我々は ataxin-3 の C 末領域と相互作用する蛋白の単離を試み、 $\gamma$ -synergin を単離した。この蛋白は TGN に局在し、 $\gamma$ -adaptin と相互作用する。一昨年 ataxin-3 の C 末領域が  $\gamma$ -adaptin と co-localize することを報告したが、さらに

ataxin-3 との相互作用には  $\gamma$ -synergin の C 末 67 アミノ酸配列が関与していることが確認され、このような相互作用が ataxin-3 の局在に影響を及ぼしていると考えられた。

#### E. 結論

以上の結果は MJD の疾患特異性を決める因子としてポリグルタミン配列以外の配列が関与する可能性を示唆しており、coiled-coil 領域、局在シグナル等の配列、相互作用蛋白の存在と ataxin-3 の局在、cleavage などの要因を今後さらに詳細に検討し、ataxin-3 蛋白の機能を解析することによって MJD 発症機序の解明から治療法の開発へ展開できると考えられる。

## ポリグルタミンが引き起こす神経細胞死の分子解析

分担研究者 垣塚 彰 京都大学大学院生命科学研究科 教授

**研究要旨** 近年、種々の神経変性疾患において、変性しつつある神経細胞内に異常蛋白の凝集物や形態的に類似する空胞がかなり普遍的に存在することが判明し、神経が変性・消失する過程には、似通った分子機構が存在するという考えが広まってきた。我々は、Machado-Joseph 病 (MJD) をモデルに分子解析を行い、MJD 蛋白質の特異的なプロセッシングを行う候補酵素を同定するに至った。また、ポリグルタミン病の発症に関与する因子として同定した VCP 蛋白質 (AAA ATPase ファミリーメンバー) の ATPase 活性の低下によって、小胞体からの異常蛋白質の搬出・分解 (ERAD : ER associated protein degradation) に障害がおこり、小胞体の異常膨潤および小胞体ストレスが励起されること、そしてこのストレスシグナルを ASK1 蛋白質が仲介することを明らかにした。さらに、VCP からの細胞死シグナルは、Hsp70 蛋白質の過剰発現によって阻害されることをショウジョウバエを用いた遺伝学的な実験で明らかにした。

### A. 研究目的

我々は、これまでに神経難病 Machado-Joseph 病 (MJD) の原因遺伝子を同定し、この疾患が、球脊髄性筋萎縮症やハンチントン舞踏病と同じく、原因遺伝子内の CAG の繰り返し配列の異常な伸長によって引き起こされることを明らかにした。これらの原因遺伝子は、それぞれがコードする蛋白質は全く異なっていたが、原因遺伝子内の CAG の繰り返しが共通にポリグルタミンリピートに翻訳される。我々はこのことに着目し、伸長したポリグルタミンリピートを培養細胞に発現させると細胞がアポトーシスに陥ることを見だし、また、マウスの小脳の神経細胞に発現させると小脳の神

経細胞が変性・萎縮し小脳失調を示すことを明らかにしてきた。この結果は、ポリグルタミンが神経変性を引き起こす起因物質であることを示すとともに、全長蛋白から、伸長したポリグルタミンを含む部分蛋白質が切り出されることが、神経変性の第1ステップになることを示唆しており、我々は、この考えを「プロセッシングモデル」として提唱してきた。

本研究では、ポリグルタミンが引き起こす上記表現型をポリグルタミン病の病態を表す本体と位置づけ、その分子メカニズムを解析することを目的とした。

本研究は、培養細胞を用いた研究であり、

倫理的な問題点は極めて低い。

## B. 研究方法

本研究では、以下のアプローチによって研究を遂行した。

- 1) Machado-Joseph 病の原因遺伝子産物を特異的に切断する高いプロセッシング活性を持つ細胞と持たない細胞株で発現の異なる遺伝子を分離する。
- 2) Machado-Joseph 病の原因遺伝子産物と特異的に相互作用する分子として同定した VCP 蛋白質の機能解析を行う。
- 3) ショウジョウバエの遺伝学的手法をもちいて、ポリグルタミンや VCP が引き起こす目の変性に係わる遺伝子を同定・解析する。

## C. D. 研究結果と考察

前述のアプローチにより、それぞれ以下の結果を得た。

- 1) MJD 蛋白質の高いプロセッシング活性を有する細胞株で発現上昇が見られた遺伝子と発現減少が見られた遺伝子をそれぞれ数個同定した。発現上昇が見られた遺伝子の中にプロセアーゼの構造を持つものが一個あり、現在その分子の解析を行っている。
- 2) MJD79 蛋白質と相互作用する分子として同定した VCP 内の二つの ATPase ドメイン(D1, D2)の各変異体を一過的に細胞に発現させたところ、D2 ドメインの変異体 p97[K524A]が空胞化を伴う細胞死を誘導したため、p97[K524A]を安定に発現する神経細胞株(PC12)を樹立して表現型を詳しく調べた。その結果、D2 ドメインが p97

の主要な ATPase であること、p97 の ATPase 活性の低下は小胞体の品質管理機構を乱し、結果として小胞体ストレスと小胞体の異常な膨潤を伴う細胞死を引き起こすことを見いだした。さらに核・膜面分にポリユビキチン化したタンパク質が異常に蓄積することを明らかにした。また、このストレスシグナルは、ASK1 ノックアウト細胞で、大幅に減弱することを見いだした。

- 3) ショウジョウバエを用いた遺伝学的手法によってポリグルタミンによる神経細胞死の実行因子として VCP のショウジョウバエホモログである ter94 を同定した。Ter94 の過剰発現のみでショウジョウバエの複眼の変性を認め、この変性はポリグルタミンと同様、caspase 阻害因子では抑制されなかった。一方、両者の変性は、Hsp70 によって阻害された。

## E. 結語

上記の解析結果から、MJD 発症の分子モデルとして、以下のモデルが考えられた。

Machado-Joseph 病(MJD)では、原因遺伝子から MJD 蛋白質が作られたのち、MJD 蛋白質は特異的にプロセッシングを受け、伸長したポリグルタミンを含む C 末部分が切り出され蓄積する。このような異常蛋白質の蓄積は、VCP 蛋白質によって認識され、その結果、VCP 蛋白質の ATP 活性の低下を引き起こし、それが神経変性の誘因となって、Hsp70 によって阻害される神経細胞の変性・死を引き起こしていると考えられた。

## F. 研究発表

### 1. 発表論文

- 1) Nishitoh, H., Matsuzawa, A., Tobiume, K., Saegusa, K., Takeda, K., Inoue, K., Hori, S., Kakizuka, A., & Ichijo, H. ASK1 is essential for endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death triggered by expanded polyglutamine repeats. *Genes & Dev.* 16:1345-1355, 2002
- 2) Higashiyama, H., Hirose, F., Yamaguchi, M., Inoue, Y., Fujikake, N., Matsukage, A., & Kakizuka, A. Identification of ter94, *Drosophila* VCP, as a modulator of polyglutamine-induced neurodegenerations in *Drosophila*. *Cell Death Differ.* 9: 264-273, 2002.
- 3) Kobayashi, T., Tanaka, K., Inoue, K. & Kakizuka, A. Functional ATPase activity of p97/VCP is required for the quality control of endoplasmic reticulum in neuronally differentiated mammalian PC12 cells. *J. Biol. Chem.* 277: 47358-47365, 2002.
- 4) Kimura, Y., Koitabashi, S., Kakizuka, A., & Fujita, T. Circumvention of chaperone requirement for aggregate formation of a short polyglutamine tract by the co-expression of a long polyglutamine tract. *J. Biol. Chem.* 277:37536-37541, 2002.

## G. 知的所有権の取得状況

特になし



厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）  
分担研究報告書

運動失調に関する調査及び病態機序に関する研究  
(Machado-Joseph 病の脳糖代謝所見-3D-SSP を用いた検討)  
分担研究者 加知 輝彦 国立療養所中部病院神経内科

Machado-Joseph 病 (MJD) の脳糖代謝変化を抽出し、脳の機能障害部位を調べる。遺伝子診断された MJD17 名と健常成人 29 名を対象とした。閉眼・安静仰臥位の状態で、 $^{18}\text{F}$ -FDG 370MBq を静注し、36 分後から 24 分間撮像した。得られた脳糖代謝分布画像を 3D-Stereotactic Surface Projections (3D-SSP) を用いて統計解析を行った。MJD において小脳虫部、小脳半球、橋、一次視覚野で著明な糖代謝の低下を認めた。一次視覚野の糖代謝と小脳・脳幹の糖代謝との間に相関関係はなく、各々独立した病態の関与が示唆された。小脳での糖代謝は失調症状の強い患者ほど低く、また、罹病期間が伸びるにつれて低下していく傾向がみられた。一方、一次視覚野の糖代謝は CAG repeat が長く、また年齢が若いほどより低下していることが示された。

**A. 研究目的**

Machado-Joseph 病 (MJD) の脳糖代謝変化を抽出し、脳の機能障害部位を調べる。

**B. 研究方法**

対象は遺伝子診断された MJD17 名で、年齢は平均  $52.7 \pm 15.5$  歳。男性 5 名、女性 12 名。罹病期間は 2 年～20 年。異常増大した CAG repeat 数は 61～78 である。年齢をマッチさせた健常成人 29 名を比較対照とした。

PET は Siemens 社製で高分解能型の ECAT EXACT HR 47 を用いた。Full-width half-maximum (FWHM) は axial resolution 4.8 mm, inplane resolution 3.9 mm である。被検者の左肘正中皮静脈から、閉眼・安静仰臥位の状態で、 $^{18}\text{F}$ -FDG 370MBq を静注し、36 分後から 24 分間撮像した。得られた脳糖代謝分布画像を、3D-Stereotactic Surface Projections (3D-SSP) <sup>1)</sup>により標準脳に変換した後、pixel-by-pixel による統計計算を行った。また、

Cortical and subcortical volumes of interest (VOIs) の手法 <sup>2)</sup>を用い、脳の各領域における  $^{18}\text{F}$ -FDG の集積度を数値化して解析した。なお、個人間のばらつきを軽減するため、大脳皮質全体における  $^{18}\text{F}$ -FDG 集積カウントの平均値で正規化した。

(倫理面での配慮)

国立療養所中部病院の倫理委員会の規定に従い、研究目的、DNA 診断、PET 検査につき被験者に詳細に説明し、文書で同意を得た。

**C. 研究結果**

MJD 群と健常群とを比較すると、MJD 群において小脳虫部 (-6.6%)、小脳半球皮質 (-9.0%)、橋 (-8.7%)、さらに後頭葉一次視覚野 (-4.8%) で有意な糖代謝分布の低下を認めた。臨床症候に関しては眼球運動障害が患者の 47% にみられ、眼振、構音障害、四肢・体幹の運動失調は 100%、腱反射亢進が 76%、パピンスキー徴候が 53%、筋萎縮が 18%、ジストニアが 35%、感覚障害が 53%、自律神

経障害が41%みられた。臨床症候と脳局所糖代謝との関連性についてMann-WhitneyのU検定とKruskal-Wallisの検定を用いて検討したところ、失調症状の強い患者で小脳虫部、小脳半球の糖代謝が低下していることがわかった。しかし、他の臨床症候との関連性はみられなかった。

MJDで糖代謝の低下がみられた小脳・脳幹・一次視覚野の部位間において、糖代謝の相関関係を調べたところ、小脳虫部、小脳半球皮質、橋における糖代謝率はそれぞれの部位間で正の相関関係を認めしたが、後頭葉一次視覚野の糖代謝率は小脳虫部、小脳半球皮質、橋のどの部位の糖代謝率とも相関を示さなかった。

小脳虫部、小脳半球皮質においては糖代謝率と罹病期間との間に有意な逆の相関関係がみられた。一方、後頭葉一次視覚野では糖代謝率とCAG repeat数との間に逆の相関関係がみられ、年齢、発症年齢との間に正の相関関係が認められた。

#### D. 考 察

MJD において小脳虫部、橋は病理学的に神経変性の強い場所であり、糖代謝の低下はその変性所見を直接反映しているものと考えられた。しかし、小脳半球皮質は病理学的に神経変性が軽いとされており、この部位での糖代謝の低下は神経細胞脱落そのものを反映するというよりも、脳幹との神経線維連絡を介しての機能的な低下と考えられる。後頭葉での糖代謝低下は若干の報告例がある<sup>23)</sup>が、病理学的には神経変性がないとされており、現時点では糖代謝低下の理由は明らかでない。これまでの報告では後頭葉全体としての評価に留まり、後頭葉の中のどの領域が低下しているかは不明であったが、今回3D-SSP を用い、pixel-by-pixelで評価することにより、糖代謝の低下部位が一次視覚野にほぼ限局していることが判明した。このことから後頭葉における

糖代謝低下は視神経障害との関連も示唆される。これまでに同じトリプレット病である Friedreich's ataxia において、視覚誘発電位である P100 潜時の延長がみられ、その原因は視神経細胞の変性脱落によるといわれている<sup>4)</sup>。MJD においてもパターン反転刺激による視覚誘発電位の P100 潜時の延長が MJD患者 5人中 2人にみられたとの報告があり<sup>9)</sup>、これも視神経障害との関連性を示唆するものである。しかし、視神経に関して病理学的に検討した報告は無く、後頭葉での機能低下に関しては今後検討すべき課題と思われる。

今回の検討で、小脳虫部、小脳半球、橋においてそれぞれの部位間で正の相関を認めた。小脳虫部、小脳半球、橋の間には極めて密な神経線維連絡が存在しており、これらの領域の機能障害は平行して進むものと考えられる。一方、一次視覚野の糖代謝と小脳・脳幹の糖代謝との間には相関関係はみられなかった。従って、一次視覚野の機能低下は小脳、脳幹の障害とは関連性が乏しく、異なった病態の関与が示唆される。

小脳虫部、小脳半球皮質では罹病期間が伸びるにつれて糖代謝が低下していく傾向がみられた。このことは、罹病期間が長くなるほど失調症状が強くなり、ADLが低下していくという臨床経過と矛盾しないと思われる。

最後に、一次視覚野の糖代謝は発症年齢と間にかなり強い正の相関関係があり、また、PET撮影時年齢とも相関し、さらに異常増大したCAG repeat数と逆相関することがわかった。このことは、CAG repeat数が大きいほど発症年齢が早くなる、という関係と考えあわせると、CAG repeat 数が大きいほど一次視覚野が障害されやすいということがいえる。

#### E. 結 論

MJDでは病理学的変性がないとされる後頭葉一

次視覚野においても機能低下が示唆された。後頭葉一次視覚野の糖代謝低下と小脳、脳幹の糖代謝低下との間に相関関係はなく、両者は各々独立した病態が関与している可能性が示唆された。小脳での糖代謝は罹病期間が伸びるにつれて低下していく傾向がみられた。一方、CAG repeat が長く、年齢が若いほど一次視覚野の糖代謝はより低下しているという新しい知見が得られた。今後は、一次視覚野の糖代謝低下の臨床的意味付けとその病態について詳細に検討していく必要があると考えられる。

## 文 献

- 1) Minoshima S et al: A diagnostic approach in Alzheimer's disease using three-dimensional stereotactic surface projections of fluorine-18-FDG PET. *J Nucl Med* 36: 1238-1248, 1995
- 2) Soong B et al: Machado-Joseph disease: clinical, molecular, and metabolic characterization in Chinese kindreds. *Ann Neurol* 41: 446-452, 1997
- 3) Soong B et al: Positron emission tomography in asymptomatic gene carriers of Machado-Joseph disease. *J Neurol, Neurosurg Psychiatry* 64: 499-504, 1998
- 4) Pedersen L et al: Visual, auditory and somatosensory pathway involvement in hereditary cerebella ataxia, Friedreich's ataxia and familiar spastic paraplegia. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 52: 283-297, 1980
- 5) Colding-Jorgensen E et al: Electrophysiological findings in a Danish family with Machado-Joseph disease. *Muscle Nerve* 19: 743-750, 1996

## F. 研究発表

1. 論文発表

1. Ito K, Nagano AS, Kato T, Arahata Y, Nakamura A, Kawasumi Y, Hatano K, Abe Y, Yamada T, Kachi T, Brooks DJ: Striatal and extrastriatal dysfunction in Parkinson's disease with dementia: a 6-[18F]fluoro-L-dopa PET study. *Brain* 2002; 125: 1358-1365

2. Watanabe H, Saito Y, Terao S, Ando T, Kachi T, Mukai E, Aiba I, Abe Y, Tamakoshi A, Doyu M, Hirayama M, Sobue G: Progression and prognosis in multiple system atrophy; an analysis of 230 Japanese patients. *Brain* 2002; 125: 1070-1083

3. 好永順二, 川村純一郎, 山下順章, 山田孝子, 加知輝彦, 柳澤信夫: Parkinson病における bromocriptine, pergolide から cabergoline への切替え - 切替え方法と用量について -. *神経内科治療* 2002; 19: 167-175

## 2. 学会発表

阿部祐士, 加藤隆司, 新畑 豊, 田中章景, 鷺見幸彦, 加知輝彦, 蓑島 聡, 伊藤健吾, 柳澤信夫, 祖父江元: Machado-Joseph病の脳糖代謝所見\_3D-SSPを用いた検討.  
第40回日本神経学会総会, 1999年5月30日, 札幌.

## G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 脊髄小脳変性症の臨床評価法の開発研究 —統計学的脳血流SPECTの利用

分担研究者 中島孝 国立療養所犀潟病院神経内科医長、臨床研究部病態生理研究室室長

### 要旨

脊髄小脳変性症の治療法の開発のためには、病気が進行する前に開始する臨床試験が必要で、臨床的評価研究と早期診断技術が必要である。多系統萎縮症（MSA）は早期診断、病因の解明は遅れている。今年度は統計学的脳血流SPECTと受容体SPECTを用いてSCD特に、MSAの診断アルゴリズムを検討した。Cit-SPECTではパーキンソニズムの鑑別は可能だが、その中での診断確定はできない。3D-SSP脳血流SPECTではSND（MSA・P）群は明らかに、PD群、PSP群と異なったパターンを示し一例ごとで鑑別診断可能だった。一方、MSA-C群の3D-SSP SPECT所見はMJDやDRPLAと相互に異なるが量的な差異であり、鑑別が困難な例もあった。MSA-CでもCit-SPECTの異常があり、併用すると診断能が向上すると思われた。

共同研究者：、亀井啓史<sup>1</sup>、林恒美<sup>3</sup>、福原信義<sup>1</sup>、  
1.国立療養所犀潟病院神経内科、2.水原郷病院神経内科、

### A. 緒言

現在、脊髄小脳変性症一般（SCD）には特効薬は無いため、対症療法、緩和医療やリハビリテーションによるアプローチが主体である。今後、治療法などを開発研究するためには、基礎的な研究のほかに、臨床的な研究として症状の変化・経過を客観的に評価する方法が必要である。いままでCAGrepeat数、ICARS、音声波形解析などの方法を検討してきた。患者対症研究、prospective study, cohort studyなどの臨床試験の精度をあげるためにはSCDの早期の詳細な確定診断が必要である。SCDの遺伝性のものはおおくはtriplet repeat病として遺伝子検査にて診断確定可能であり、現在治療薬剤などの研究もおこなわれている。一方、多系統萎縮症（MSA）は依然として原因不明であり、早期診断、病因の解明、治療薬の開発などが遅れている。MSAについて早期確定診断や病態解明を行う際の方法論について検討する必要がある。

今年度は統計学的脳血流SPECTと受容体SPECTを用いてMSAの診断アルゴリズムについて検討し、各種SCDにおける脳血流SPECTの特徴を検討した。Striatonigral degeneration（SND）はパーキンソン病（PD）や進行性核上性麻痺（PSP）と病早期には鑑

別できない症例があり同時に統計学的SPECTにて鑑別できるかどうか検討した。

### B. 方法

対象はPD Total: n=23, mean age=66±9.8, H&Y=2.8（Hoehn&Yahr I-II: n=9, mean age=60.3, H&Y III-V: n=14, mean age=69.9）PSP: n=8, mean age=71.3, SND: n=4, mean age=67.5, MJD(SCA3)12例、DRPLA5例、MSA17例（OPCA8例、SDS4例、SNDは4例再掲）。定性画像：SPECT装置はリング型SET080、123I-IMP投与量は167MBqまたは222MBqを静注、収集時間は20分とした。定量画像（ARG法）：入力関数は静注10分後反対側の上腕又は橈骨動脈血を採血し、 $\gamma$ カウンタで測定、クロスキャリブレーションファクターにより算出した。吸収補正はRPC補正、 $V_d$ 値=30ml/ml（10例より算出）としrCBF算出した。ROIは橋・小脳虫部・小脳半球・大脳半球（前頭葉・側頭葉・頭頂葉・後頭葉）の計26ポイントを採取した。ARGについては当院の正常コントロール群（n=9, 平均年齢61.7歳）と比較した。統計学的画像解析：症例の画像を、当院の正常コントロール群（n=16, 平均年齢67歳, SD=12.9歳）を対照にして3-Dimensional stereotaxic surface projection（3D-SSP）法やStatistical parametric mapping99（SPM99）を用いて解析した。3D-SSP、SPM99では正常群と各疾患群とで群間比較と疾患一例ずつと正常コントロールとのJack-knife like検

定を行った。

### C. 結果および考察

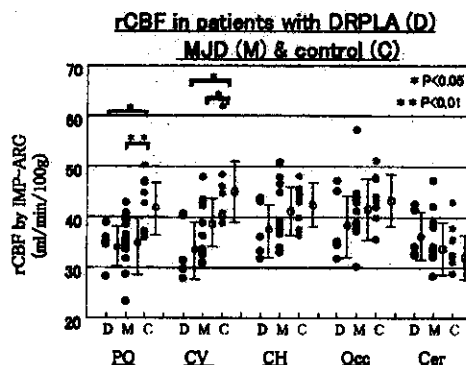
SNDの鑑別を行う目的で、PD群、PSP群、SND群について3D-SSPにより脳血流SPECTを群間比較した。全脳でnormalizationを行った場合はPD群では後頭葉を中心にprecuneus, parietal lobeのhypoperfusionが特徴的で、PSPがfrontal lobeのhypoperfusionが中心であり鑑別が可能だった。また、PD群、PSP群では小脳は相対的にhyperperfusionになり、SND群ではhypoperfusionとなるため鑑別が可能だった。個別症例でも同様の所見がえられた。MSA-C(OPCA)ではSND群よりもさらに小脳、橋のhypoperfusionが明瞭だった。MJD, DRPLAではARG法の定量画像(グラフ)では橋、小脳虫部(CV)ではDRPLA群<MJD群<コントロール群の順に血流が低下するが統計学的画像では全脳でnormalizationを行うためにMJD群<DRPLA群の順に小脳虫部などでの血流低下が認められた。

SND群のPD, PSP群からの鑑別には、3D-SSP脳血流SPECTが有用で、vascular parkinsonismの可能性を否定するため、 $\beta$ -CIT SPECTを併用すると精度が上がると考えられた。MSA-C(OPCA)群の早期の鑑別には3D-SSP脳血流SPECT所見はMJDやDRPLAと異なるが量的な差異であり、鑑別が困難な例もあった。これについても $\beta$ -CIT SPECTを併用すると精度が上がると思われた。

### D. 結論

脊髄小脳変性症の臨床評価法の研究は治療の基礎的研究と対をなすもので、薬剤の臨床試験の際にも有効な緩和医療の方法を検討する場合にも必要である。さらに、臨床試験を精度よくおこなうためには病初期の臨床試験開始が必要であり、脊髄小脳変性症の鑑別診断において統計学的脳血流SPECT解析が鑑別診断に有用であることがわかった。特にMSAでは早期診断に統計学的脳血流SPECTが有用な可能性が高く、さらに $\beta$ -CIT SPECTを併用することで精度を向上できる可能性がある。この所見は

MRIで特徴的な萎縮が起きる前に描出されると考えられるため、既存のDNA検査で診断できないSCDの鑑別診断にもきわめて有用である。



### (倫理面での配慮)

院内の臨床研究としておこなった。疫学研究の倫理指針などの各種倫理指針にしたがった。

D.健康危険情報 なし

### E.論文発表

1. 中島孝、亀井啓史、統計学的脳血流 SPECT を用い、鑑別診断の有用性を検討したパーキンソニズムの 2 例、薬物と薬物治療、20: 740-744, 2001
2. 亀井啓史、中島孝、福原信義、錐体外路系疾患における脳血流 SPECT の統計学的解析による検討、脳と神経、54:667-672,2002
3. 林恒美、中島孝、福原信義マンヤド・ジョセフ病における臨床症状と123I-IMP SPECT所見の評価について、臨床神経、41:574-581,2001
4. Koide T, Ohtake H, Nakajima T, Furukawa H, Sakai K, Kamei H, Makifuchi T, Nobuyoshi F, A patient with dementia with Lewy bodies and codon 232 mutation of PRNP, Neurology 59:1619-1621,2002
5. Hayakawa Y, Nakajima T, Takagi M, Fukuhara N, Abe H, Human cerebellar activation in relation to saccadic eye movements: an fMRI study, Ophthalmologica 216:399-405,2002

## Machado-Joseph病のMRI画像で内包後脚の外側部にみとめられる線状の高信号域について（続報）

分担研究者 湯浅龍彦 国立国府台病院 神経内科

共同研究者： 山田滋雄(1)、西宮 仁(1)、中島 孝(2)、  
沖山亮一(3)、横地房子(3)

- (1) 国立国府台病院 神経内科
- (2) 国立療養所犀潟病院 神経内科
- (3) 東京都立神経病院 神経内科

### 研究要旨

レンズ束変性のMRI所見を明らかにする目的でMachado-Joseph病剖検例におけるレンズ束の線維性グリオーシスを病理学的に検索し、生前のMRI画像と比較した。次に淡蒼球破壊術を施行したParkinson病26例において類似所見の有無を検討した。MJD例の剖検例ではレンズ束の解剖学的分布に一致してGPIと内包の間に線状に分布する密な線維性グリオーシスがみとめられたが、これは生前のMRIT2強調画像でGPIと内包の間の線状の高信号域として描出されていた。同様の高信号域は淡蒼球破壊術後のParkinson病26例中16例でも手術側に一致してみとめられた。以上から、レンズ束変性はMRI T2強調画像においてGPIと内包の境界部に線状の高信号域として描出されるものと考えられる。

### A. 研究目的

淡蒼球内節(GPI)の線維連絡に関するヒト脳での知見は乏しい。GPIの主な出力系は二つあり、一つはレンズ束、他の一つはレンズ束である。

Machado-Joseph病(MJD)では、病理学的にGPIに高度の神経細胞脱落と線維性グリオーシスをみとめ、レンズ束も高度に変性していることが報告されている(Iwabuchi and Yagishita, 1991; Takiyama, *et al.*, 1994)。しかしながら、レンズ束変性のMRI所見に関する報告はまだない。そこで我々は、レンズ束変性のMRI所見を明らかにするために今回の検討を行った。

### B. 研究方法

1. MJD剖検例の病理所見で、レンズ束の解剖学的分布に一致する線維性グリオーシスを検索し、生前のMRI画像と比較した、2. 類似所見の有無を淡蒼球破壊術を施行したParkinson病26例において検討した。

### C. 研究結果

1. MJD例の剖検例ではGPIと内包の間に線状に分布する密な線維性グリオーシスがみとめられた。この線維性グリオーシスは、内包を視床にむかって横断するような分布を示し、レンズ束の解剖学的分布に一致していた。
2. 同一症例の生前のMRIT2強調画像においても、病理学的な線維性グリオーシスの分布に一致して、GPIと内包の間に線状の高信号域をみとめた。

3. 同様の高信号域はParkinson病で淡蒼球破壊術を施行したParkinson病26例中16例で手術側に一致してみとめられた。

#### D. 考察

今回の検討結果から、(1) MJD症例の剖検例でGPIと内包の境界部に認められた線維性グリオーシスはレンズ束の分布(Kuo and Carpenter, 1973)に一致する、(2)同一症例の生前のMRI T2強調画像において、上記の線維性グリオーシスに対応した線状の高信号域がみとめられ、レンズ束変性を反映していると考えられる、(3) 同様の高信号域はGPIの破壊術を行ったParkinson病の患者でも認められる。以上から、レンズ束変性はMRI T2強調画像においてGPIと内包の境界部に線状の高信号域として描出されるもの考えられる。

#### 文献

Iwabuchi K, Yagishita S. A neuropathological study on autosomal dominant forms of spinocerebellar degeneration. *Neuropathology* 1991; 11: 155-77. (In Japanese with English abstract)

Kuo J, Carpenter MB. Organization of pallidothalamic projections in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 1973; 151: 201-236.

Takiyama Y, Oyanagi S, Kawashima S, Sakamoto H, Saito K, Yoshida M, et al. A clinical and pathologic study of a large Japanese family with Machado-Joseph disease tightly linked to the DNA markers on chromosome 14q. *Neurology* 1994; 44: 1302-1308.

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）  
分担研究報告書

多系統萎縮症のMRIと<sup>1</sup>H-MRS；その診断的意義

分担研究者 祖父江 元 名古屋大学神経内科教授

研究要旨

多系統萎縮症 (MSA) におけるMRIと<sup>1</sup>H-MRSの診断的意義を検討した。MRIは、1.5Tと0.5 T装置を用いてMSA 139例に、<sup>1</sup>H-MRSは、3.0Tを用いてMSA 20例、PD 10例、正常18例に施行した。MRIでは、MSA-Cの80%に橋のhot cross bun signを認め、これは発症2年以内でも64%と高率であったが、MSA-Pのhyperintense putaminal rim signの出現率は60%で、特に発症2年以内は38.5%と低率であった。<sup>1</sup>H-MRSでは、MRI正常例でも、橋と被殻のNAA/Cr比は、対象に比べ有意に低下し(橋;  $p < 0.001$ . 被殻;  $p = 0.03$ )、特に橋では病型や小脳失調の有無によらず低下していた。また、MSA-PとPDの鑑別でも、被殻に加え橋の測定により鑑別可能な例が増えた。<sup>1</sup>H-MRS、特に橋の測定はMSAの早期診断に有用であると思われた。

A. 目的

多系統萎縮症 (MSA) の診断では、黒質線条体系、小脳系、自律神経系、錐体路系といった複数の系統の異常の有無を確認することが必要であるが、病初期には限られた系統の異常しか認められない例が少なくない。MR装置を用いた検査は非侵襲的で、MSAに特異性の高いMRI所見も報告され、診断に有用と考えられている。しかし、MRIでは罹病期間に着目し、多数例で検討した報告はない。また、proton MR spectroscopy (<sup>1</sup>H-MRS) では、線条体における検討がほとんどで、橋の検討はなされていない。そこで今回我々は、MSAにおけるMRIと<sup>1</sup>H-MRSの診断的意義につき、特に早期診断に着目し検討する。

B. 研究方法

1. MRI 所見の検討

対象は、probable MSA 139例。平均撮影年齢は56.9±8.1歳であり、96例

(MSA-C 59例、MSA-P 37例)は1.5T装置、43例(MSA-C 26例、MSA-P 17例)は0.5T装置で撮像した。橋のhot cross bun (HCB) signと被殻背外側のhyperintense putaminal rim (HPR) signの有無を評価し、罹病期間に応じたそれぞれの出現率を検討した。

2. <sup>1</sup>H-MRS 所見の検討

対象は、probable MSA 20例(平均撮像年齢61±7歳、平均罹病期間3.7±2.3年、MSA-C 11例、MSA-P 9例)、年齢、性と罹病期間を一致させたパーキンソン病 (PD) 10例(平均63±9歳)、年齢、性を一致させたコントロール 18例(平均59±7歳)。3.0 T MR装置 (Bruker, Germany) を用い、頭部MRIと<sup>1</sup>H-MRSを施行した。MRIでは、HCB signとHPR signの有無をそれぞれ検討した。<sup>1</sup>H-MRSでは、single voxel法を用い、被殻に1 cm<sup>3</sup>、橋底部と半卵円中心に3.4 cm<sup>3</sup>の関心領域をそれぞれ設定し、N-



acetylaspartate (NAA), creatine (Cr), choline (Cho) を測定した後, NAA/Cr 比と Cho/Cr 比を測定した. NAA/Cr と Cho/Cr の値は, 中央値とその範囲を表記した. 統計学的解析は, Mann-Whitney *U* 試験, Kruskal-Wallis 試験, Scheffe 試験, Pearson の相関を用い,  $p < 0.05$  を有意とした.

(倫理面での配慮)

3.0 T MRI と  $^1\text{H}$ -MRS は, 名古屋大学倫理委員会で承認されたプロトコルに準じて十分なインフォームドコンセントを行い, 書面にて同意を得た後, 施行した.

## C. 研究結果

### 1. 139 例の MRI 所見

MSA 全体で, HPR は 1.5 T で 32.2%, 0.5 T で 39.5% に認められた. HCB は 1.5 T で 64.5%, 0.5 T で 60.4% に認められた. 臨床病型では, HPR は, MSA-P で 60% に認め, 磁場強度によらず, MSA-C より高頻度 (MSA-P, 1.5 T 56.8%, 0.5 T 64.7%; MSA-C, 1.5 T 16.9%, 0.5 T 23.1%) であった. HCB は MSA-C で 80% に認め, やはり磁場強度によらず MSA-P に比べて高頻度であった (MSA-P, 1.5 T 37.8%, 0.5 T 35.3%; MSA-C, 1.5 T 81.4%, 0.5 T 76.9%). 罹病期間と出現率の関係に着目すると, MSA-C では, HCB を運動機能異常出現 2 年以内で 64.0%, 5 年以上では 100% 認めたのに対し, MSA-P における HPR 出現率は, 2 年以内で 38.5%, 4 年以内で 72.2% と MSA-C の HCB 出現率より低く, また, 5 年以上でも 80.0% と, HPR 陰性例も認められた.

### 2. $^1\text{H}$ -MRS 所見

MSA 全体では, 橋と被殻の NAA/Cr は, 早期から有意に低下していた (橋; MSA 群 1.17 [0.68 - 2.32], 対象群 2.04 [1.62 - 3.34],  $p < 0.001$ . 被殻; MSA 群 1.17 [0.51 - 1.97], 対象群 1.62 [1.19 - 2.68],  $p = 0.03$ ). 半卵円中心では,

低下傾向で (MSA 群 1.53 [0.75 - 2.42], 対象群 1.72 [1.24 - 2.55],  $p = 0.12$ ), 罹病期間と負の相関を示す傾向があった ( $r = -0.40$ ,  $p = 0.08$ ). Cho/Cr に有意差はなかった. 病型との検討では, MSA の橋 NAA/Cr は, MSA-C 群, MSA-P とも有意に低下しており ( $p < 0.01$ ), 被殻 NAA/Cr は, MSA-P 群で有意に低下していた ( $p < 0.05$ ). 臨床・画像所見との検討では, 橋 NAA/Cr は, 小脳失調や HCB を認める群, 認めない群とも有意に低下していたが, 被殻では, parkinsonism を認める群のみで有意に低下していた ( $p < 0.01$ ). また, MSA-P 群では, PD 群に比べ, 橋 ( $p < 0.01$ ) と被殻 ( $p < 0.05$ ) の NAA/Cr は有意に低下しており, 両部位を同時に測定することが診断に有用であった.

## D. 考察

MSA の MRI で, HCB と HPR は, 疾患特異性の比較的高い所見とされ, 有力な補助的診断法として広く用いられている. 今回の検討でも, HCB は MSA-C に, HPR は MSA-P に多く, 病態を良く反映した所見であった. 罹病期間に着目すると, MSA-C における HCB は発症 2 年以内で 60% 以上, また, 5 年以上では 100% に認め, 早期診断にも有用であると思われた. 一方, MSA-P における HPR の出現率は低く, 特に発症 2 年以内は 38.5% と低率であり, 早期診断には, 必ずしも有用ではなかった. また, HPR 陰性の場合が, 長期経過例でもあることに留意する必要がある.

MSA の  $^1\text{H}$ -MRS は, 従来, 基底核の検討がほとんどであり, 橋に注目した報告はない. 橋における NAA/Cr は, 病初期より低下しており, また小脳失調や MRI 上 HCB を欠く群においても有意に低下していた. さらに, PD と鑑別を行う上でも, きわめて有用であった. NAA は, 神経細胞とその軸索に特異的に存在し, 神経細胞や軸索の消失・機能不全で低下する.

橋底部は、橋核や橋横走線維の他、小脳からの入力および出力線維、錐体路といったMSAで特異的に障害される神経細胞や軸索から構成されており、MSAのsubclinicalな病変をNAA/Cr比の低下として鋭敏に検出しようものと考えられた。

今後は、possible例も含めた前向きな検討を行い、陽性的中率を明らかにしていく必要があると考えられる。

#### E. 結論

MSAの診断において、MRIの信号異常、特にHPR signは、罹病早期には出現率の低いことに留意する必要がある。一方、<sup>1</sup>H-MRSでは、MRIでは明らかではない時期から広範な神経細胞や軸索の障害を認め、特に橋では病型、罹病期間、小脳失調の有無に関わらずNAA/Cr比の低下を認めた。また、MSA-PとPDとの鑑別では、橋と被殻を測定することが鑑別に有用であった。MSAの早期診断とその病態の把握において<sup>1</sup>H-MRSは有用であると思われた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Progression and prognosis in multiple system atrophy: an analysis of 230 Japanese patients. Watanabe H, Saito Y, Terao S, Ando T, Kachi T, Mukai E, Aiba I, Abe Y, Tamakoshi A, Doyu M, Hirayama M, Sobue G. Brain. 2002; 125: 1070-83.

##### 2. 学会発表

多系統萎縮症の橋病変の3テスラMRI, MRSによる解析：病態発現機序の検討。渡辺宏久, 阿部祐士, 平山正昭, 祖父江元, 深津博, 石垣武男. 第42回日本神経学会総会, 東京, 2001. 5. 臨床神経 41: 928, 2001

多系統萎縮症における3.0 Tesla MR spectroscopy. 渡辺宏久, 阿部祐士, 平山正昭, 道勇学, 祖父江元, 深津博, 石垣武男. 第99回日本内科学会総会, 東京, 2001. 4.

#### G. 知的所有権の獲得状況

##### 1. 特許取得

特になし。

##### 2. 実用新案登録

特になし。

##### 3. その他

特になし。

脊髄小脳失調症 7 型 (spinocerebellar ataxia type 7) の 1 家系

分担研究者 久野 貞子 国立療養所宇多野病院臨床研究部部長

共同研究者：小牟禮 修<sup>1)</sup>，吉田 園代<sup>1)</sup>，森野 豊之<sup>2)</sup>，川上 秀史<sup>2)</sup>

所属：<sup>1)</sup> 国立療養所宇多野病院神経内科，<sup>2)</sup> 広島大学大学院脳神経内科

研究要旨：脊髄小脳失調症 7 型 (SCA7) の 1 家系における臨床遺伝学的特徴を報告した。症例 1 の発端者は 54 歳・女性。31 歳時視力低下で発症。神経学的には構音障害，嚥下障害，失明，緩徐眼球運動，眼球運動制限，頸部・上肢の不随意運動，体幹・下肢の痙性およびジストニア，深部腱反射亢進，Babinski 徴候，小脳失調を認めた。症例 2 は発端者の三女で，18 歳時視力低下で発症。神経学的には構音障害，視力低下，下肢痙性，深部腱反射亢進，小脳失調を認めた。両症例とも，頭部 MRI にて小脳・脳幹萎縮を，脳血流シンチにて同部での血流低下を，眼底検査では黄斑変性を認めた。SCA7 遺伝子の CAG リピート数は各々 39，40 と伸長していた。本家系の特異な臨床症状としては，頸部・上肢の不随意運動と体幹・下肢のジストニアが挙げられ，分子遺伝学的には，親子間で CAG リピート数では 1 リピートの伸長を，発症年齢では 13 歳の若年化を認めた。

A. 研究目的

脊髄小脳失調症 7 型 (spinocerebellar ataxia type 7 : SCA7) は黄斑変性を伴う常染色体優性遺伝性の脊髄小脳変性症であり，欧米での頻度は比較的高いが，本邦では稀な病型と考えられている。

今回我々は，SCA7 の 1 家系を経験したので，その臨床遺伝学的特徴について報告する。

B. 症例報告

症例 1 の発端者は 54 歳・女性。31 歳時に視力低下で発症。33 歳より構音障害，歩行障害が出現。46 歳時失明，歩行不能。48 歳より頸部・上肢の不随意運動，体幹・下肢の硬直が出現。家族歴にて母親にも同様の症状を認め，45 歳頃より視力低下，歩行障害が出現。63 歳時失明，歩

行不能となり，70 歳で死亡した。

神経学的には，構音障害，嚥下障害，両眼失明，緩徐眼球運動，眼球運動制限，頸部・上肢のヒョレア様不随意運動，体幹・下肢の痙性およびジストニア，深部腱反射亢進，両側 Babinski 徴候，四肢・体幹の小脳性運動失調を認めた。

一般検血，生化学，血清，免疫，内分泌，髄液検査では異常なし。聴性脳幹反応では両側第 III - V 波誘発不能。頭部 MRI にて小脳・脳幹萎縮，第 4 脳室拡大，前頭・側頭葉萎縮を，脳血流シンチにて小脳・脳幹での血流低下を認めた。さらに，眼底検査にて黄斑変性を認めた。SCA7 遺伝子の CAG リピート数は 39 と異常伸長していた。

体幹・下肢の痙性およびジストニアに対して，ダントロレンおよびトリヘキシ

フェニジルを内服投与したところ、症状の軽減が見られ、車いす坐位が可能になった。一方、小脳性運動失調については、タルチレリンを内服投与したが、症状の改善は得られなかった。

症例2は発端者の三女で、25歳・女性。18歳時に視力低下で発症。25歳より構音障害、歩行障害が出現。神経学的には、構音障害、視力低下、下肢痙性、深部腱反射亢進、四肢・体幹の小脳性運動失調を認めた。

一般検血、生化学、血清、免疫、内分泌検査では異常なし。聴性脳幹反応では両側第III-V波の振幅低下あり。頭部MRIにて小脳・脳幹萎縮を、脳血流シンチにて同部での血流低下を認めた。眼底検査では軽度の黄斑変性を認めた。SCA7遺伝子のCAGリピート数は40と異常伸長していた。

小脳性運動失調に対して、タルチレリンを内服投与したが、症状の改善は得られなかった。

### C. 考察

SCA7の臨床症状は黄斑変性による視力障害と小脳性運動失調が二大症状であり、緩徐眼球運動、眼球運動制限、深部腱反射亢進を高頻度に認める。その臨床経過はやや黄斑変性が先行して発症し、緩徐に進行する。臨床画像所見では小脳・脳幹萎縮が見られ、同部での脳血流低下を認める。SCA7におけるこれらの臨床的特徴は、本家系でも共通して認められた。

本家系（症例1）の特異な臨床症状として、頸部・上肢のヒョレア様不随意運

動と体幹・下肢のジストニアが挙げられる。後者については、ダントロレンおよびトリヘキシフェニジル内服により、症状の軽減が見られた。SCA7では、基底核は神経病理学的には異常所見に乏しいとされているが、Davidら（1997, 1998）によれば、約20%の症例で姿勢時振戦、ジストニアを認めたとしている。症例1で見られたこれらの症状がSCA7自体によるものか、単なる合併かについては、症例2の臨床経過の観察が重要である。

SCA7遺伝子の正常CAGリピート数は7~18であり、異常伸長CAGリピート数は37~70程度である。他のCAGリピート病同様に、SCA7においても世代間の表現促進現象が見られ、とくに父から子に遺伝した場合に著しい。本家系は母から子への遺伝であり、世代間の表現促進は軽度であったが、CAGリピート数で1リピートの伸長を認め、発症年齢については13歳の若年化が見られた。

### D. 結論

SCA7の1家系を報告した。本家系の特異な臨床症状として、頸部・上肢のヒョレア様不随意運動と体幹・下肢のジストニアが見られた。分子遺伝学的には、親子間でCAGリピート数では1リピートの伸長を、発症年齢では13歳の若年化を認めた。

### E. 研究発表

#### 1. 論文発表

Nishimura M, Kawakami H, Komure O, Maruyama H, Morino H, Izumi Y, Nakamura S, Kaji R, Kuno S. Contribution of the