

平成 14 年度にはゲノムワイドに microsatellite marker を用いた検討結果, この家系の原因遺伝子の locus を特定し, 原因遺伝子を Park 8(12p11.2-q13.1) として登録した¹⁾. 今回は原因遺伝子同定について個別の遺伝子について検索を開始したので中間報告を行う。

方法

図 1 に本家系の家系図を示す。

遺伝子検索の対象者は相模原家系患者 15 名, 家系内非/未発症者 12 名, 配偶者 4 名であった。対照としては 48 名の健常者, 合計 79 名について検討を行った。採血はインフォームドコンセント後に行い, 実際に採血した症例は図 1 星印で示す。

前年度までに 2 点解析, LINKMAP program で行った多点解析より得られた 12p11.23-q13.11 に相模原家系の遺伝子座が存在することが明らかとなった。ヒトゲノムプロジェクトにより 12p11.2-q13.1 には, 機能・発現部位等が既知あるいは未知の遺伝子が約 60 個マップされており, さらにこの領域内のいずれかの場所と相同配列を持つ Expressed Sequence Tag (EST) が無数報告されている (図 2)。Park 8 の遺伝子本体を特定するために, こ

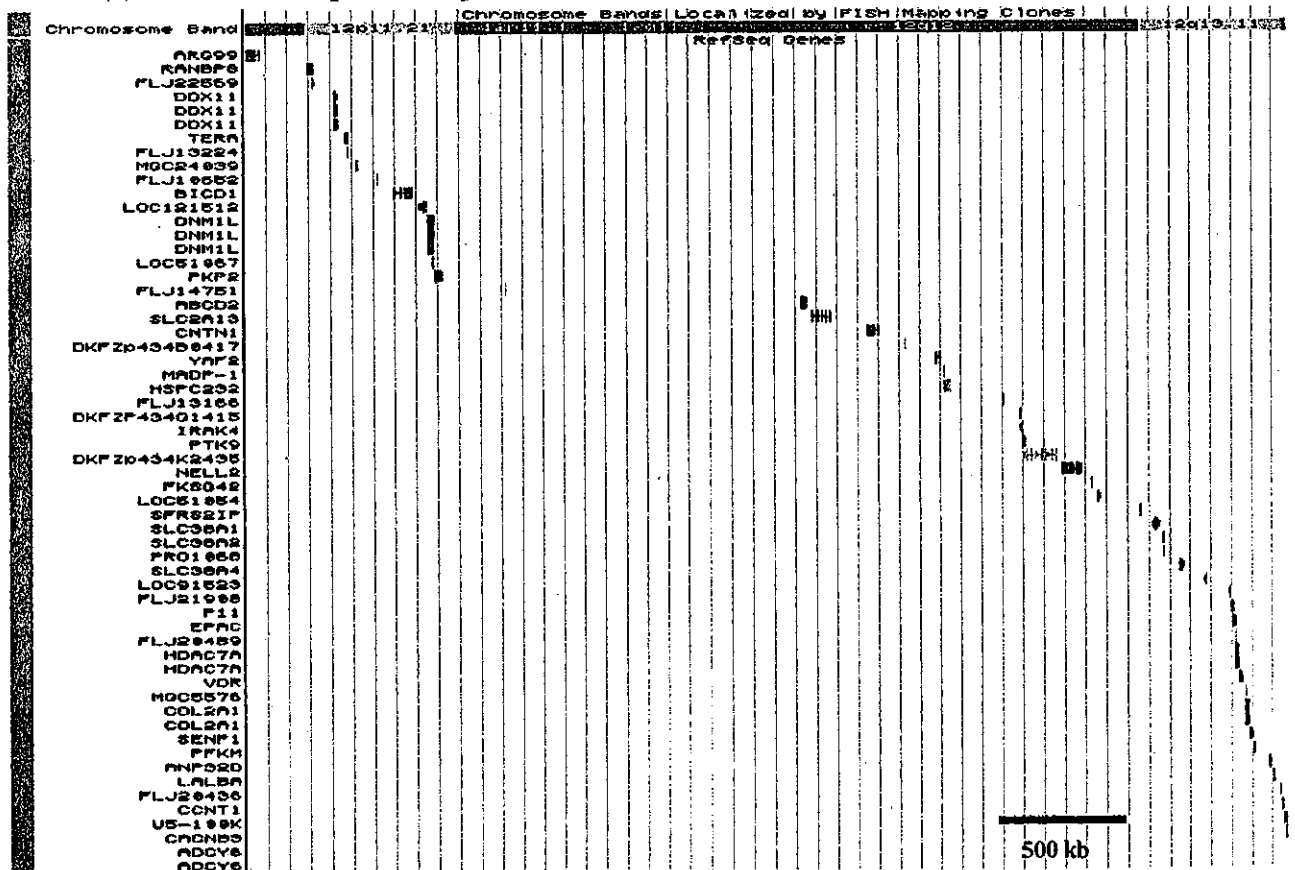
れらの遺伝子や EST について, 家系内患者/健常者のゲノム塩基配列を比較を開始した。まず, 遺伝子の各エクソン部分について塩基配列の比較を開始した。

結果

相模原家系における原因遺伝子を昨年までに第 12 番染色体 12p11.2-q13.1 の約 13 CM の領域内にマップした。この位置は既報のいずれのパーキンソンズ病遺伝子座とも異なっており, 新規の遺伝子座 Park 8 として登録した。12p11.2-q13.1 には約 60 の遺伝子の存在が知られており, 現在, これらの遺伝子のエクソンについて, 家系内患者/健常者のゲノム塩基配列を比較し, 疾患と関連する変異を網羅的に探索することにより, 原因遺伝子同定の作業を行っている。

現在, 解析予定遺伝子数 71 のうち 43 遺伝子について解析を終了した。内訳は 693 エクソン中, 556 エクソンが終了である。すなわち, ほぼ 90% のエクソンについて作業を終了しているが, 疾患に関係した遺伝子異常はまだ同定されていない。今後さらに残りのエクソン, さらに Expressed Sequence Tag (EST) についても検討を進めていく予定である。

図 2 Transcript map of human chromosome



また、最近神経病理学的に Lewy 小体を認めない父娘例を見出すことができ、ハプロタイプ解析より若干ではあったが、解析対象遺伝子距離を縮めることができた。今後さらに、類似の家系を見出し、検索対象範囲を狭めることも懸案としている。

D. 考察

Park 8 (12p11.2-q13.1) の遺伝子本体を特定するために、この領域内の遺伝子のエクソンを中心に検討を行っている。今後、EST についても検討を広げていくが、これらの遺伝子や EST について、患者一家系内健常者—正常コントロールの比較により、正常多型でないことの確認などが必要である。

E. 結論

相模原パーキンソニズムの原因遺伝子同定について、現在検索中である。

F. 参考文献

1) M Funayama, K Hasegawa, H Kowa, M Saito, S Tsuji, F Obata: A new locus for Parkinson's disease (Park8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. Ann Neurol 51:296-301,2002.

パーキンソン病におけるマイクロサテライト多型を基盤としたゲノムワイド関連解析

戸田達史¹⁾、百瀬義雄^{1),2)}、村田美穂³⁾、田宮元⁴⁾、小林千浩¹⁾、
服部信孝⁵⁾、山本光利⁶⁾、金澤一郎⁷⁾、水野美邦⁵⁾、猪子英俊⁴⁾

1) 大阪大学大学院医学系研究科未来医療開発専攻ポスト疾患解析学講座ゲノム機能分野、2) 東京大学大学院医学系研究科クリニカルバイオインフォマティクス研究ユニット、3) 東京大学大学院医学系研究科神経内科、4) 東海大学医学部分子生命科学2、5) 順天堂大学医学部神経内科、6) 香川県立中央病院神経内科、7) 国立精神・神経センター神経研究所

研究要旨 我々はパーキンソン病 (PD) の疾患感受性遺伝子同定を目指し、平均 100kb 間隔に相当する約 30,000 個のマイクロサテライト多型を基盤としたゲノムワイド関連解析を行っている。現在までに第 1, 2, 3, 10, 17 番染色体における約 6,000 個のマイクロサテライト多型の解析が終了し、約 480 個のマイクロサテライト多型で有意 ($p < 0.05$) な関連が見られた。第 1 番染色体は他施設の報告でも PD 連鎖の報告があり、PD の疾患感受性遺伝子が存在する可能性を示唆されているが、今回我々が第 1 番染色体において関連を見出したマイクロサテライト多型の中には $P < 10^{-5}$ のものも存在し、これらと連鎖不平衡にある遺伝子が PD 発症に関与している可能性がある。引き続き全ゲノムを対象に関連解析を継続していく。

はじめに

PD は振戦、固縮、無動、姿勢反射障害を四主徴とする神経変性疾患であり、病理学的には主に中脳黒質緻密層のドパミンニューロン変性、脱落及び Lewy 小体の出現を特徴とする。有病率は人口 10 万人あたり約 100 人であり、発症年齢のピークは 60 歳前後であることから、人口の高齢化に伴い患者数の増加が予測されている。

発症における遺伝要因の有無については議論があったが、1) 約 10% の PD 患者の近親者に PD 患者が存在する、2) 一卵性双生児の疾

患一致率が約 60% あり、二卵性の約 3 倍である (subclinical な症例も含んだ PET study の結果)、3) 2000 年アイスランド国民を対象とした大規模な疫学的調査により同胞罹患危険率が 6.7 と高値であった¹⁾、ことより、最近では遺伝要因と環境要因により発症する多因子性疾患と考えられつつある。少数のメンデル遺伝性を示す家族性パーキンソニズムにおいては α -synuclein²⁾ や parkin³⁾、UCH-L1⁴⁾、そして最近では DJ-1⁵⁾、NR4A2⁶⁾ が同定され、いくつかの連鎖領域の報告もあるが、大多数 (90~95%) の孤発性 PD ではいくつかの候補

遺伝子多型との関連解析はあるが、例えばアルツハイマー型老年痴呆における APOE 遺伝子のような確実な疾患感受性遺伝子は PD においては現時点でも不明である。

我々は孤発性 PD における疾患感受性遺伝子の同定を目標に研究を行っており、同時に SNPs と抗パーキンソン病薬への反応性、副作用との関連を明らかにし、パーキンソン病におけるオーダーメイド治療法を確立することをめざしている。

まず我々は候補遺伝子上の主にアミノ酸の変化を伴う 21 個の SNPs において関連解析を行い、神経栄養因子 BDNF の G196A

(Val66Met) 多型の AA ホモが PD 患者で有意に多いことを初めて指摘した⁷⁾。さらに家族性パーキンソニズムの原因遺伝子 UCH-L1 上に存在する C53A(Ser18Tyr)多型が発症に対して保護的に働いているか否かについては論争的であったが、我々の検討でも有意差が確認された⁷⁾ (図 1)。この結果については現在国際的な多施設共同のメタアナリシスに参加している。

< BDNF > (G196A, Val66Met) (新規)

	Allele			Genotype		
	A	G	total	AA	AG or GG	total
PD	213	249	462	48	183	231
Control	190	282	472	30	206	236

($\chi^2=3.26, df=1, P=0.071$) ($\chi^2=5.46, df=1, P=0.019$)

< UCH-L1 > (C53A, Ser18Tyr) (既報告と一致)

	Allele			Genotype		
	A	C	total	AA	AC or CC	total
PD	199	261	460	40	190	230
Control	252	244	496	65	183	248

($\chi^2=5.45, df=1, P=0.020$) ($\chi^2=5.87, df=1, P=0.020$)

図 1 BDNF と UCH-L1 における関連解析の結果

一方、2001 年秋より PD における連鎖領域がいくつか報告され、また他の多因子疾患で

ある 2 型糖尿病や Crohn 病において従来の発症機序からは全く予測されなかった遺伝子が疾患感受性遺伝子であることが証明された。このため我々は検索の対象を全ゲノムに拡大する必要性を痛感し、東海大学医学部分子生命科学 2 教室が所有するカタログ化された約 30,000 個のマイクロサテライト多型 (図 2) を用いてゲノムワイド関連解析を開始した。

Distribution of New 30,000 Microsatellite Markers

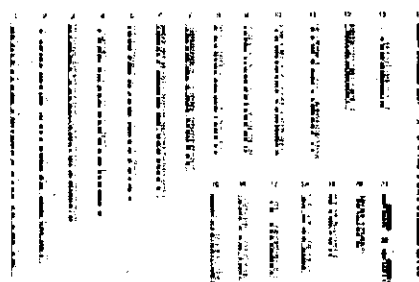


図 2 約 30,000 個のマイクロサテライト多型

方法

タイピングの手法としては pooled DNA 法を用いた(図 3)。まず一次スクリーニングとして患者 124 名と対照 124 名の DNA 検体を厳密に定量した後、それぞれ pooled DNA を作成した。さらに平均 100kb 間隔に相当する約 30,000 個のマイクロサテライト多型による関連解析を行っている。それぞれの pooled DNA の PCR 産物を GeneScan™により解析し、その波形パターンを PD 患者と正常対照と比較し、統計学的検討 (2×2 Fisher's exact probability test) を加えた。

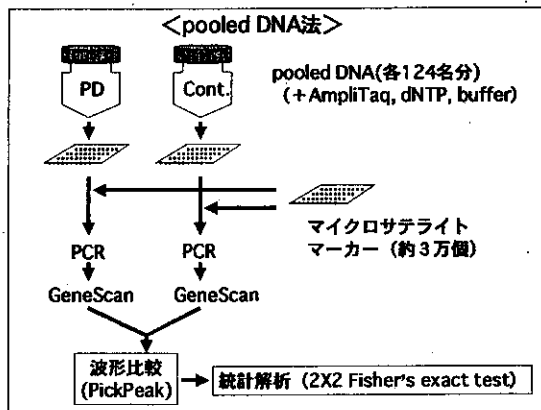


図3 pooled DNA法の作業過程

結果および考察

現在までに第1,2,3,10,17番染色体における約6,000個のマイクロサテライト多型の解析が終了し、約480個のマイクロサテライト多型で有意 ($p < 0.05$) な関連が見られた。これらのマーカーはさらに他の集団により作成した pooled DNA によって二次スクリーニングを行う予定である。

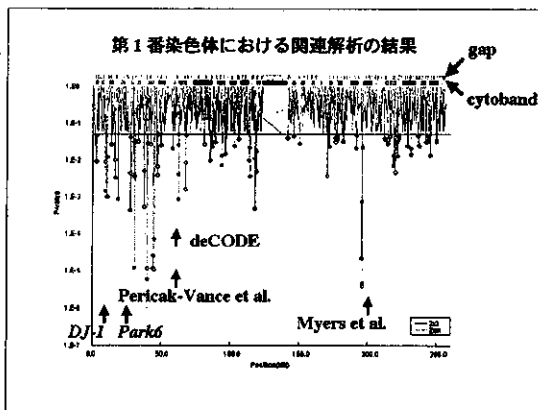


図4 第1番染色体の結果

図4に第1番染色体の結果1を示す。第1番染色体は他施設の報告でもPD連鎖の報告があり、PDの疾患感受性遺伝子が存在する可能性を示唆されているが、今回我々が関連を見出したマイクロサテライト多型の中には

$P < 10^{-5}$ のものも存在し、これらと連鎖不平衡にある遺伝子がPD発症に関与している可能性がある。

引き続き連鎖領域の報告のある染色体を優先してゲノムワイドに解析を進め、統計学的有意差のあったマーカーは別の集団により作成した pooled DNA によって2次、続いて3次スクリーニングを行う予定である。そして関心領域を絞り込んだ後にSNPsを用いた連鎖不平衡マッピングによりPDの疾患感受性遺伝子の同定を目指す。

結論

- 1) 第1,2,3,10,17番染色体における約6,000個のマイクロサテライト多型ゲノムワイド関連解析が終了し、約480個のマーカーで有意 ($p < 0.05$) な関連が見られた。
- 2) 第1番染色体において関連を見出したマイクロサテライト多型の中には $P < 10^{-5}$ のものも存在し、これらと連鎖不平衡にある遺伝子がPD発症に関与している可能性がある。

文献

- 1) Sveinbjornsdottir S. et al. N Engl J Med. 343: 1765-1770, 2000.
- 2) Polymeropoulos, MH. et al. Science. 276: 2045-2047. 1997.
- 3) Kitada T. et al. Nature. 392: 605-608, 1998.
- 4) Leroy E. et al. Nature. 396: 451-452, 1998.
- 5) Bonifati V. et al. Science. 299: 256-259. 2003.
- 6) Le W. et al. Nat Genet. 33: 85-89, 2003.
- 7) Momose et al. Ann Neurol, 51:133-136, 2002.

ハンチントン病マウスモデル脳における遺伝子発現変化の検討

貫名 信行¹⁾, 小山 文隆¹⁾, Kotliarova S.E.¹⁾
Jana N.R.¹⁾, 坂本 尚昭¹⁾, 宮崎 晴子¹⁾

1) 理化学研究所脳科学総合研究センター病因遺伝子研究グループ

研究要旨 ハンチントン病(HD)は原因遺伝子産物ハンチンチンのグルタミン(Q)鎖の伸長が発症に強く関与している。伸長 poly Q が引き起こす神経細胞死のメカニズムを明らかにするため、ハンチンチンプロモーター制御下で 150 Q を含む exon 1-EGFP 融合タンパク質を発現するトランスジェニックマウスラインを確立した。このマウス脳では神経症状が認められ、線条体および海馬などに 150 Q を含む exon 1-EGFP の凝集物が認められた。神経細胞の機能障害に関係する遺伝子発現変化を同定するため DNA チップを用いて遺伝子を検索した。この解析で多くの遺伝子発現が変化していることが示され、その大部分は発現が低下していた。神経機能に関係する遺伝子についてさらに TaqMan および in situ ハイブリダイゼーション解析を行ったところ、vasopressin、oxytocin、enkephalin がトランスジェニックマウス脳で低下していた。以上の遺伝子発現解析から、視床下部と線条体の機能障害が示唆された。

はじめに

ハンチントン病(HD)は CAG リピート病の一種で、典型的な常染色体優性遺伝の形質を示す遺伝病である。この病気の原因は病因遺伝子であるハンチンチンの exon 1 領域に存在する CAG トリプレットリピートの伸長であり、翻訳産物のハンチンチンの伸長 polyglutamine (poly Q) が原因となり HD が発症する。

これまで HD の発症メカニズムに関しさまざまな研究がなされており、伸長 polyQ 断片が核内封入体を作りその過程で転写因子などを取り込むことで遺伝子発現が変化し発症にいたる、などの仮説が提唱されている。

著者らは伸長 poly Q が引き起こす神経細胞死のメカニズムを明らかにするため、伸長ポリQを発現するマウスモデルを作成しその遺伝子発現変化を網羅的に調べることを試みた。

方法

トランスジェニックマウスの作成

ヒトハンチンチンプロモーターの下流に 150 CAG トリプレットリピートを含む exon1 断片と翻訳産物の可視化のために EGFP cDNA を結合した 2.9 kb のトランスジーンを構築

した(図1)。これをマウス受精卵に注入しトランスジェニックマウスを作成した。

DNA チップ解析

トランスジェニックマウス、同腹コントロールマウスの 大脳小脳それぞれから mRNA を調整し、Affymetrix 社のプロトコールにしたがって 11000 遺伝子を対象にトランスジェニックマウス脳で発現に変化のある遺伝子を検索した。

結果と考察

トランスジェニックマウスの作成と 150 Q を含む exon 1-EGFP の凝集物形成

トランスジーンを発現するトランスジェニックマウス 2 ラインを確立できた。それぞれ HD-150-1、HD-150-2 と名づけた。図1はそのマウスゲノムの exon 1 領域の PCR 産物の電気泳動図である。HD150-1 ラインでは 170、180 CAG リピートのバンドが認められ、HD150-2 では 140、130、50 リピートのバンドが認められた。

神経症状として、HD150-1 では 5 週くらいから小刻みな震えが始まり、8 週以降で顕著になった。HD150-2 のラインでは症状の出現にはほぼ倍の日数を要した。各ラインのトラン

スジェニックマウスの生存率を調べたところ、HD150-1では23週、HD150-2では41週で半分のマウスが死亡した。

ここで確立したトランスジェニックマウスの脳内には凝集物の形成が認められた。GFPで可視化した細胞質、核内における凝集物の蓄積を経時的に調べると海馬、線条体共に週齢依存的に150Qを含む exon 1-EGFP の凝集物が認められた。線条体では先ず細胞質に凝集物が形成され、10週ではユビキチン抗体陽性となり、その後核内に蓄積が認められるようになった。

以上の結果から伸長 polyQ を発現するトランスジェニックマウスを確立できたものと考えた。

トランスジェニックマウス脳で発現が変化する遺伝子の検索

神経細胞の機能障害に関する遺伝子発現変化を同定するため DNA チップを用いて遺伝子を検索した。検索した 11000 遺伝子のなかで約 350 種類の遺伝子に発現変化が認められた。ここでは結果を示さないが大部分は発現がトランスジェニックマウスで減少していた。次にトランスジェニックマウス脳において発現低下が示唆され、神経機能に関する遺伝子についてさらに TaqMan および in situ ハイブリダイゼーションで解析を行ったところ、vasopressin、oxytocin、enkephalin がトランスジェニックマウス脳で低下していた。DNA チップには expression sequence tags (ESTs) をもとにしたオリゴヌクレオチドも搭載されている。表 1 はトランスジェニックマウス脳で発現変化が認められ、TaqMan 解析でもその変化が確認できた EST である。18 種の EST に発現の変化が認められ、ほとんどがトランスジェニックマウス脳で発現が低下していた。いくつかの EST を in situ hybridization で解析したところ同腹コントロールに比べトランスジェニックマウスで発現が低下していることが確認できた。

今回作成したトランスジェニックマウスを DNA チップで解析したところ、350 遺伝子に遺伝子発現変化がある可能性を示された。現在 TaqMan などを用いて遺伝子発現変化を確認している。発現に変化のあった遺伝子の中には EST も多数含まれている。EST は cDNA 断片なのでどのようなタンパク質をコードするかは不明である。現在 Race 法などでコード

領域を決定しタンパクの同定をすすめている。タンパク質のコード領域が分かったものから培養細胞等で過剰発現あるいはノックダウンを行いその病気発症における役割を明らかにしてゆきたいと考えている。

結論

ハンチンチンプロモーター制御下で 150 Q を含む exon 1-EGFP 融合タンパク質を発現するトランスジェニックマウスラインを確立した。このマウスでは神経症状が認められ、線条体および海馬などに 150 Q を含む exon 1-EGFP の凝集物が認められた。神経細胞の機能障害に関する遺伝子発現変化を同定するため DNA チップを用いて遺伝子を検索した。この解析で多くの遺伝子発現が変化していることが示され、その大部分は発現が低下していた。神経機能に関する遺伝子についてさらに TaqMan および in situ ハイブリダイゼーション解析を行ったところ、vasopressin、oxytocin、enkephalin がトランスジェニックマウス脳で低下していた。以上の遺伝子発現解析から、視床下部と線条体の機能障害が示唆された。

文献

1. Harper, P. S. Huntington's Disease (London: W. B. Saunders) (1991).
2. Huntington's Disease Collaborative Research Group. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. *Cell*, 72, 971-983 (1993).
3. Mitsui, K., Nakayama, H., Akagi, T., Nekooki, M., Ohtawa, K., Takio, K., Hashikawa, T., Nukina, N. Purification of polyglutamine aggregates and identification of elongation factor-1a and heat shock protein 84 as aggregate-interacting proteins. *J. Neurosci.* 22, 9267-9277 (2002).

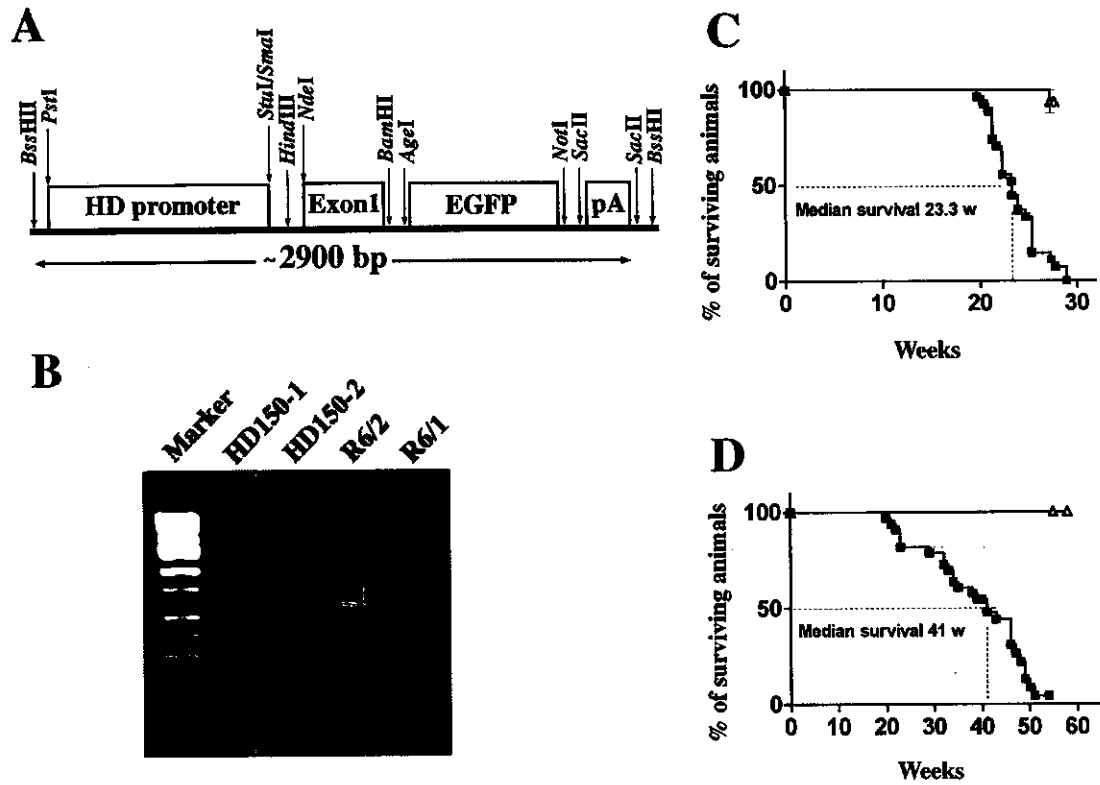


図1. ハンチンチンプロモーター制御下で 150 Q を含む exon 1-EGFP 融合タンパク質を発現するトランスジェニックマウスラインの確立および分析 A) トランスジの構造。ヒトハンチンチンプロモーターの下流に 150 CAG トリプレットリピートを含む exon1 断片と翻訳産物の可視化のために EGFP cDNA を結合した 2.9 k b のトランスジーンを構築した。これをマウス受精卵に顕微注射した。B) トランスジェニックマウスの PCR による Genotyping。C), D). トランスジェニックマウス生存率曲線。白三角は同腹コントロールマウス、黒四角はトランスジェニックマウス。C は HD-150-1 を、D は HD-150-2 を示す。

表1. 8週齢 HD-150-1 トランスジェニックマウス脳で発現変化のあった EST の in situ hybridization および TaqMan 解析のまとめ

EST name	in situ Hybridization				TaqMan
	layer of cortex	striatum	cerebellum	others	
F	V	○	○	red nu	<50%
K	I, II, III, V, VI	○	○		<50%
B	III	○	○		50%
L	II	○		substantia nigra	50%
A	III			hypothalamus	50%
				olfactory bulb	
				accumbens nu	
				hypoglossal nu	
E	III (II?)				<50%
D	II, III, V, VI			red nu	<50%
				infer colliculus	
O	V		○	red nu	<75%
				substantia nigra	
Q	I, III?, V, VI	○			<70%
C				olfactory bulb ?	<50%
I			no signal		50%
R			no signal		50%
N			non specific		>150%
HL			non specific		150%
J			no signal		0%
M			no signal		75%
P			no signal		75%

マクロライド系抗生物質クラリスロマイシンの カベルゴリン血中濃度への影響

中塚 晶子¹⁾，野村 拓夫¹⁾，張 捷¹⁾，野元 正弘¹⁾

1) 愛媛大学医学部臨床薬理学

研究要旨 カベルゴリン血中濃度に対して，CYP3A4 に阻害作用を有し，臨床における使用頻度の高いマクロライド系抗生物質クラリスロマイシンとの併用がどのような影響を及ぼすのか *in vivo* において検討した。その結果，併用により，カベルゴリン血中濃度は上昇し，CYP3A4 抑制薬の併用時にはドパミン受容体刺激薬の効果が高まることを明らかにした。

はじめに

現在，我々の使用する薬物の約半数は肝ミクロゾーム酵素 CYP3A4 で代謝されることが明らかになっている。パーキンソン病の治療薬であるドパミン受容体刺激薬においても，麦角系製剤の多くは CYP3A4 により代謝されることが知られており，CYP3A4 は最も働きの多い代謝酵素であるということが言える¹⁾。

パーキンソン病の患者には薬物治療が基本となるが，臨床において汎用されているカベルゴリンも CYP3A4 によって代謝されることが知られている。一方，併用される機会の多い，マクロライド系抗生物質のクラリスロマイシンの代謝にも CYP3A4 が関与している。

このように同じ代謝構造を持つ薬物との併用により，パーキンソン病治療薬の血中濃度上昇の可能性が指摘されており，効果・副作用の変化を明らかにすることは重要な課題である。そこで，本研究では，臨床の場で汎用され，併用される機会の多い，カベルゴリンとクラリスロマイシンについて，クラリスロマイシンがカベルゴリンの血中濃度に及ぼす影響を *in vivo* において検討した。

方法

本研究は，愛媛大学医学部倫理委員会の承認を得た上で実施した。十分な説明を実施した上で文書による同意を得ることのできた健康男性 10 名を被験者とした。10 名を 5 名ず

つの 2 群に分け，カベルゴリン (1mg/day) のみの単独服用群とカベルゴリン (1mg/day) とクラリスロマイシン (400mg/day) の併用群を設けた。また，ウォッシュアウトとして 40 日間の休薬期間を経た後，単独服用群と併用群とを入れ替え，同一条件の試験を施行した (クロスオーバー)。カベルゴリンは朝食後の一日一回投与，クラリスロマイシンは朝食後 200mg，夕食後 200mg の一日二回投与とした。またカベルゴリンの副作用である悪心を予防するため，カベルゴリンと同時にドンペリドン 10mg を服用することとした。

単独服用群，併用群ともに 6 日間連続して服用した後，カベルゴリン血中濃度を測定した。採血当日の朝は絶食とし，カベルゴリン，クラリスロマイシンを内服する直前の午前 8 時から採血を施行した。その後，1，2，3，4，6，8，10 時間後の合計 8 ポイントにて採血を行った。内服から 4 時間後の 12 時の昼食時には，採血の後，全員同じ内容の 1100kcal の食事を摂取した。水分摂取については，採血当日の朝よりミネラルウォーターのみ摂取可能とした。血液検体はヘパリン入り採血管にて採取し，ただちに 4℃ で保存した後，3,000r.p.m.，10 分間の遠心分離を行い，測定まで -80℃ で冷凍保存した。なお，カベルゴリン血中濃度は，HPLC (LC/MS/MS) 法に基づいて測定した。

結果

クラリスロマイシンの 6 日間の併用によ

り、カベルゴリン血中濃度はすべての被験者で上昇した。また、採血時の血中濃度の日内変動はカベルゴリンのみの単独服用群では 34.5 - 53.5pg/ml, クラリスロマイシンとの併用群では 88.0 - 142.1pg/ml であり、一日一回投与としては、変動の幅が大きくなかった。(Fig.1)。

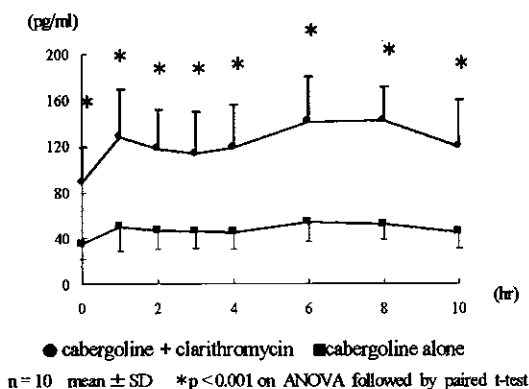


Fig.1 Cabergoline血中濃度の内服後経時的変化

カベルゴリンの最高血中濃度 (Cmax) と血中濃度下面積 (AUC) については、単独服用群で各々 55.4 ± 16.1pg/ml (mean ± SD), 484.2 ± 144.5pg/ml·h, 併用群で 152.9 ± 33.7pg/ml, 1268.0 ± 331.2pg/ml·h と Cmax, AUC とともに併用によって 2.6 倍以上の上昇を認めた。また、全ての測定点を平均した血中濃度においても、単独服用群で 46.6 ± 15.4pg/ml·hr, 併用群で 121.0 ± 36.0pg/ml·hr を示し、AUC と同様に併用によって 2.6 倍の上昇を示した。(Table.1)。

Table.1 Cabergoline単独服用時とClarithromycin併用時における薬物動態のまとめ

内服薬	Cmax (pg/ml)	AUC (pg/ml·h)	平均血中濃度 (pg/ml ± SD)
単独群	55.4 (23.8-83.6)	484.2 (237.6-594)	46.6 (± 15.4)
併用群	152.9 (105.7-203.9)	1268.0 (796.5-1738)	121.0 (± 36.0)
差(倍)	2.8*	2.6*	2.6*

*P < 0.001

また、個々のケースにおける単独服用群と併用群の AUC と Cmax の変化について調査

した結果、AUC では併用により、最も変化の小さい例で 594 から 1076 と 1.8 倍、最も変化の大きかった例では 355 から 1679 と 4.7 倍に上昇していた。Cmax については、最も変化の小さい例で 56.2pg/ml から 118pg/ml で 2.1 倍、最も変化の大きかった例で 41.1pg/ml から 199pg/ml と 4.8 倍の上昇を示し、AUC の変化と殆ど同様と考えられた (Fig.2)。

投与期間中の副作用は、ふらつき(浮遊感)、眠気、悪心、便秘などが主なものであったがいずれも軽度で、単独群、併用投与群間における差はなかった。

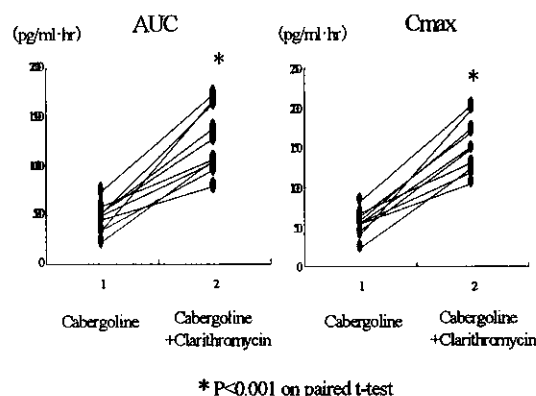


Fig.2 個々の例におけるAUCとCmax の変化

考察

ドパミン受容体作用薬には麦角製剤と非麦角製剤があるが、麦角製剤のほとんどが CYP3A4 により代謝される (Table.2)。

Table.2 各種ドパミン受容体作用薬の代謝に関するシクロームP450分子種

薬剤名	CYP
Cabergoline	CYP3A4, CYP2D6, CYP2C18
Pergolide mesilate	CYP2D6, CYP3A4
Bromocriptine mesilate	CYP3A4
Talipexole hydrochloride	なし

しかし、マクロライド系抗生物質、抗真菌剤など、臨床で汎用されている他の多くの薬剤が同じ CYP3A4 で代謝されることも分かっている (Table.3)。そのため、これらの薬物との併用により、パーキンソン病治療薬の

血中濃度の上昇やそれに伴う作用増強の可能性が指摘されている。

特に、パーキンソン病患者は、高齢者が大多数を占め、パーキンソン病以外の健康問題を抱える患者も多い。そのような患者は数種類の薬物を併用するため、同じ代謝構造を持つ薬物同士が相互作用を引き起こし、薬物動態の変化を来しやすいことが予想される。そのため、併用時には効果の増強や有害作用の出現に注意を要する。

本研究は、ドパミン受容体刺激薬であるカベルゴリンとマクロライド系抗生物質クラリスロマイシンを併用した場合のカベルゴリンの血中濃度について調査したが、その他のパーキンソン病治療薬についても、他の薬剤との併用による薬物血中濃度の変化を明らかにすることが急務となっている。

カベルゴリンと同様に麦角アルカロイドで、CYP3A4 が関与するドパミン受容体刺激薬の薬物相互作用については、Nelson ら²⁾もプロモクリプチンに対するマクロライド系抗生物質であるエリスロマイシンの影響を調査している。その結果、併用によりプロモクリプチン血中濃度は C_{max} で平均 4.6 倍、AUC でも平均 3.7 倍に上昇することを報告しており、本研究の結果とも一致していた。従って、麦角アルカロイドの薬剤については、マクロライド系抗生物質により血中濃度の上昇を示すことが予想される。

結論

以上のことから、パーキンソン病治療において、CYP3A4 を阻害する薬剤の併用時には、ドパミン受容体刺激薬の治療効果がより高まることが期待される。

文献

- 1) 野元正弘：エムディエス，東京，P99，2001
- 2) Nelson MV, et al.: Clinical Pharmacology and Therapeutics.,47:694-697, 1990
- 3) 日本臨床薬理学会編：臨床薬理学，東京，P188-199, 1999
- 4) Nomoto M, et al.: Pharmacology Biochemistry and Behavior.,59:717-721,1998

Table.3 CYP3A4を抑制する主な薬物

マクロライド系抗生剤	Erythromycin (エリスロマイシン®) Clarithromycin (クラリス®)
抗真菌剤	Itaconazole (イトリゾール®) Clotrimazole (エンペシド®) Fluconazole (ジフルカン®) Miconazole (フロリード®)
抗 HIV 剤	Saquinavir mesilate (インビラーゼ®) Indinavir sulfate (クリキシバン®) Ritonavir (ノービア®)
H ₂ 受容体遮断薬	Cimetidine (タガメット®)
その他	Grapefruit juice Etoposide, Glibenclamide, Cyclosporin, Tacrolimus (FK 506), Tamoxifen, Telfenadine, Hydrocortisone

パーキンソン病モデルラットの運動機能と脳内ドーパミン濃度に及ぼす内因性 MAO 阻害物質イサチンと合成 MAO 阻害薬セレギリンの比較研究

森若文雄¹⁾, 緒方昭彦²⁾, 浜上尚也³⁾, 寺戸睦子³⁾,
南 勝³⁾, 長嶋和郎⁴⁾, 菊地誠志²⁾, 田代邦雄²⁾

はじめに

内因性モノアミンオキシダーゼ(MAO)阻害物質であるイサチンは、MAO-Aと-Bをほぼ同等に阻害し、ストレスや不安などに反応し生体内でのモノアミン濃度の調節に深く関与している¹⁾。また、MAO阻害作用以外にも種々の機能と関連する生理活性物質であり、多くの機能を発揮する内因性神経活性物質であることが明らかにされつつある。これまでにラットにイサチンを外因的に投与すると線条体のドーパミン(DA)濃度やアセチルコリン(ACh)濃度を変動させることを明らかにした²⁾。イサチンと脳内DAおよびACh濃度の変動が関係する病態を持つパーキンソン病との関連性を疑い、パーキンソン病患者の尿中イサチン濃度を測定したところ、パーキンソン病患者では重症度に伴い尿中イサチン濃度が増加した³⁾。重症度が増し治療期間が長期になると、脳内のDA代謝とともにタンパク代謝も障害を受けているので、治療上DA代謝を賦活するレボドパなどは無効になってくる。ついで、DAの合成代謝に関わらないD₂レセプター作動薬などが使われるが、副作用が現れやすい。このような場合には、内因性MAO阻害物質であるイサチンが理論的にはパーキンソン病の治療薬ともなりうると考え、日本脳炎ウイルス(JEV)により作製したモデルを用い有効性について本学会で報告してきた。今回はさらなるイサチンの治療効果を探るために、イサチンの抗パーキンソン病治療薬としての作用についてすでに臨床で用いられている選択的MAO-B阻害薬であるセレギリンと比較検討を行った。

方法

(1) JEVによるパーキンソン病モデルラットの作成：Ogataらの方法⁴⁾に準じて、JEVを生後13日目のFischerラットの大脳皮質に投与することにより作成し、JEV投与90日後にパーキンソン病モデルラットとして実験に用いた。

- 1) 国立療養所札幌南病院神経内科
- 2) 北海道大学大学院医学研究科神経内科
- 3) 北海道医療大学薬学部薬理学
- 4) 北海道大学大学院医学研究科分子細胞病理

(2) Pole-testによる運動機能の測定：

Ogawaらの方法⁵⁾を改良し、長さ100cm、直径2.5cmの棒の上端から床まで到達する時間を、薬物投与前および投与後に測定した。

(3) 脳内カテコールアミンおよび代謝物濃度の測定：モデルラットにイサチン(100 mg/kg/day)およびセレギリン(0.2 mg/kg/day)を1週間投与した後に脳を摘出し7分割後、電気化学検出器付き高速液体クロマトグラフィーを用いて測定した。

(4) 免疫組織化学的検討：

Tyrosine hydroxylase (TH)抗体を用いて健常対照ラット、JEVモデルラット、イサチンおよびセレギリン投与ラットの黒質・線条体のTH陽性細胞を染色した。

結果

(1) JEVモデルラットのpole-testは健常対照群と比較しておよそ2倍に延長していたが、イサチン投与により有意な動作緩慢の改善がみられた。イサチン投与前後で動作緩慢の改善を比較すると、イサチン投与によって全例が短縮した(Fig. 1)。一方、セレギリン投与によっても全てのラットにおいてpole-testの有意な短縮が認められ、健常対照ラットと同レベルまで動作緩慢さの改善が認められた(Fig. 2)。

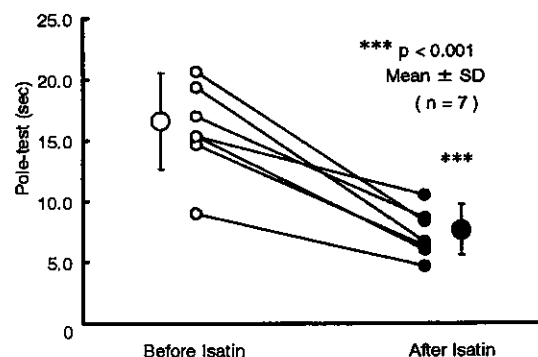


Fig. 1. Effects of isatin on motor activity in JEV-treated rat after isatin treatment.

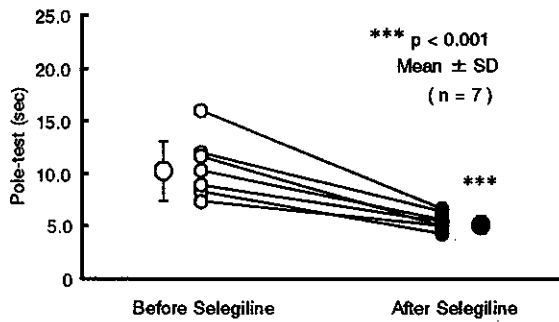


Fig. 2. Effects of isatin on motor activity in JEV-treated rat after selegiline treatment.

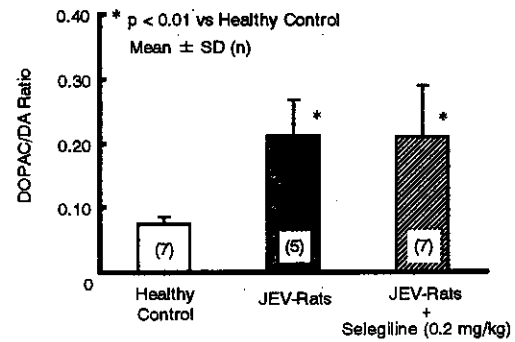


Fig. 4. Effects of selegiline on striatal DOPAC/DA ratio in JEV-rats after 90 days.

(2) 健常対照ラットに比較して低値を示した JEV モデルラットの線条体 DA 濃度は、イサチン投与により有意に高値を示した。また、セレギリン投与により JEV モデルラットの線条体 DA 濃度はイサチンと同様に有意に上昇した。このイサチンおよびセレギリンによる DA 濃度の変化は線条体のみに見られた。

(3) JEV モデルラットの脳 7 部位における 3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸(DOPAC)濃度は、健常対照ラットと比較して有意な変化は見られなかった。JEV モデルラットの線条体 DOPAC/DA 比は、健常対照ラットに比し有意に高値を示し、イサチン投与により健常対照ラットのレベルにまで回復した(Fig. 3)。しかしながら、セレギリン投与によりこの回復は見られなかった(Fig. 4)。

(4) 黒質・線条体での TH 陽性細胞数の減少が観察された JEV モデルラットに 1 週間イサチンまたは、セレギリンを投与したが神経細胞の破壊および TH 陽性細胞の回復は認められなかった。

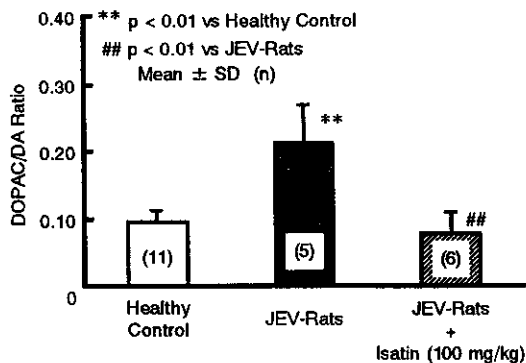


Fig. 3. Effects of isatin on striatal DOPAC/DA ratio in JEV-rats after 90 days.

考 察

現在 MAO 阻害薬は、MAO-A 阻害薬が抗うつ薬として臨床応用され、MAO-B 阻害薬は MAO-B が線条体に多いことから線条体の DA が減少するパーキンソン病に用いられている。臨床で使用されている MAO-B 選択的阻害薬のセレギリン投与による JEV モデルラットを用いた検討では、酵素活性阻害様式に差はあるもののイサチンと同様にパーキンソン病モデルラットの線条体 DA 濃度を上昇させ、運動の緩慢さを改善させる結果が示された^{6, 7)}。イサチンの構造活性相関についてはまだ不明であるが、その作用は競合的拮抗作用で濃度依存的に MAO 活性を阻害する。セレギリンはそれ自身が MAO-B 酵素と結合してその作用を阻害する自殺基質である。いずれの薬物も MAO-B 活性を阻害するが、本研究の結果においてイサチンとセレギリン投与による線条体 DOPAC/DA 比の改善に違いが見られた。これは DA が DOPAC に代謝される際に働く MAO の選択性の違いによるものであると考えられる。イサチンは MAO-A および B の両方の酵素活性阻害作用を有しており、その選択性は肝ミトコンドリアのホモジネートで比較すると 5 倍程 B の方が高い程度にすぎない⁸⁾。しかしながら、ラット脳のホモジネートで MAO 阻害作用を IC₅₀ で比較するとセレギリンの MAO-B 阻害の選択性は MAO-A の約 1000 倍である⁹⁾。そのためセレギリンは B の作用を抑制するが、A の作用はほとんど抑制しない。DA は MAO-A および B により代謝を受ける。セレギリンの MAO-B 阻害により上昇した DA は MAO-A によって代謝され DOPAC が上昇したのと考えられる。この現象は、非選択性のイサチンにはみられなかったことである。この差異の意義は大きいと思われる。これは抗パーキンソン病薬の理想として DA が増加し DOPAC が低下するものが望ましいと考えられるためである。セレギリンは内因性

MAO 阻害物質イサチンと異なり DOPAC/DA 比を低下させなかった。すなわちイサチンは DA 濃度を上昇させ、DOPAC を上昇させず、DOPAC/DA 比を正常に戻す作用があることが示された。免疫組織化学的検討においては JEV モデルラットの神経細胞および TH 陽性細胞の回復は、イサチンまたはセレギリンによって認められなかった。セレギリンは慢性投与で神経保護作用を有する¹⁰⁾。今回用いた投与量と期間では、病理学的改善はみられなかった。長期間投与して観察すべきであるが、運動機能を回復させるためには十分な治療効果を示す用量であった。

以上より、イサチンはセレギリンに比較し、パーキンソン病治療薬として脳内 DA 濃度を維持、調節する上においても合目的であると考えられた。

結 論

内因性 MAO 阻害物質イサチンは、パーキンソン病に対して DA の代謝回転 (DOPAC/DA) を抑制する新しい治療薬としての可能性が示唆された。

文 献

- 1) Oxenkrug G. et al.: Life Sci 37, 1743-1746, 1985.
- 2) Hamaue N. et al.: Biog Amines 15, 367-377, 1999.
- 3) Hamaue N. et al.: Res Commun Mol Pathol Pharmacol 1-2, 63-73, 2000.
- 4) Ogata A. et al.: J Neurovirol 3, 141-147, 1997.
- 5) Ogawa N. et al.: Res Commun Chem Pathol Pharmacol 50, 435-441, 1985.
- 6) Hamaue N. et al.: Biog Amines 8, 401-412, 1992.
- 7) Ogata A. et al.: J Neuro Sci 206, 79-83, 2003.
- 8) Hamaue N. et al.: Biog Amines 16, 523-530, 2001.
- 9) Yang H.Y.T. et al.: J Pharmacol Exp Ther 187, 365-371, 1973.
- 10) Tatton W.G. et al.: J Neural Transm (Suppl) 48, 45-49, 1996.

深部脳刺激療法実施中のパーキンソン病患者における 刺激オンおよびオフ時の病態の解析

尾方克久¹⁾，山本敏之¹⁾，大矢 寧¹⁾，小川雅文¹⁾，川井 充¹⁾

1) 国立精神・神経センター 武蔵病院 神経内科

研究要旨 深部脳刺激療法実施中のパーキンソン病患者 4 例で，刺激中と刺激停止時との病態の変化を検討した。パーキンソン病の薬物療法で生じるオンオフ現象の病態解析を目的とし，それを擬した変化と考えて本研究を行なった。症状は刺激停止後に振戦，無動，筋強剛の順で悪化し，その変化の速さは個人差が大きく，深部脳刺激の効果機序は多様と考えられた。刺激入と刺激切とでフローボリウム曲線には軽微な変化を認めたが，脳波の基礎律動に変化はなく，PET での脳血流所見の変化には一定の傾向を見出せなかった。深部脳刺激により保続が生じたり，KWCST や Stroop test の成績が悪化した症例があった。臨床所見や神経心理学的検査の所見の変化は，薬物療法でのオンオフ現象を反映したものとは考えにくく，深部脳刺激とオンオフ現象の機序は異なると考えられた。深部脳刺激により神経心理学的影響が生じる症例があり，注意を要することが示唆された。

はじめに

オンオフ現象はパーキンソン病の長期薬物療法における最大の問題点のひとつである。従来オンオフ現象は運動障害の変動ととらえられる傾向があった。しかし，オフ状態には呼吸や嚥下，睡眠時の寝返り，排泄機能など患者の生活の多方面に障害がみられ，この疾患に罹患する患者の苦痛の原因となっている。またオフ状態では患者は精神的に不活発で，うつ傾向が強まると観察されることが多い。オンオフ現象におけるオンおよびオフのそれぞれの病態について，運動機能のみならず呼吸機能，大脳高次機能，睡眠を含め正確に把握し，病態にあった薬物療法と生活指導を行なうことは，パーキンソン病の治療と医学的管理の課題のひとつである。

パーキンソン病患者におけるオンオフ現象の病態を理解し，その治療と医学的管理に役立てることを本研究の目的としたが，薬物療法におけるオフ状態は，同じように服薬して

いても毎回その程度が異なり，出現する時刻も持続時間も異なるため，薬物効果がオフの状態を直接に観察する研究が行ないにくい。そこで深部脳刺激療法を実施中のパーキンソン病患者の刺激装置を操作し，オンオフ現象に擬した変化として，刺激中と刺激停止時との病態の変化を解析することとした。

対象および方法

当科受診中で深部脳刺激療法中の患者 4 例を対象とした（表 1）。4 例とも研究参加時には，深部脳刺激療法により運動機能に安定した効果が得られており，発熱や感染などの内科的合併症および譫妄や妄想といった精神症状を認めなかった。パーキンソン病の症状が安定していたので，内服薬の服薬量は研究期間中を通じて変更しなかった。なお症例 2 と症例 4 には wearing-off 現象を認めた。また症例 2 には peak-dose で顔面と頸部にジストニアを，症例 4 には薬効オンと薬効オフの境目の時間帯に二相性に左下肢のジストニアを

認めた。

被験者の深部脳刺激中と刺激停止時に、以下の評価を行った。

- 1) 統一パーキンソン病評価尺度 (UPDRS) によるパーキンソン症状の評価
刺激中および刺激停止 30 分後に評価した。刺激停止後 30 分間は、パーキンソン症状の変動を観察した。症例 2 および 4 は薬効オンおよびオフのそれぞれで評価した。評価はすべて同じ神経内科医により実施された。
- 2) 呼吸機能検査
チェスト製肺機能測定システム CHESTAC-11 を用いて、肺活量とフローボリューム曲線を測定した。刺激中および刺激停止 30 分後に実施した。
- 3) 脳波
日本光電製脳波計 Neurofax EEG-1524 を用いて、国際脳波学会連合標準電極配置法に基づく単極誘導脳波を記録した。刺激中より記録を開始し、記録中に刺激を停止して 30 分間記録を続けたのち被験者に知らせることなく刺激を再開した。4 例とも刺激停止中に入眠したため、刺激再開後 5 分間睡眠脳波を記録したのちに呼名により覚醒させた。症例 2 および 4 は薬効オンのときに記録した。
- 4) ¹⁵O-水を用いたポジトロン CT (PET)
当院放射線診療部の PET 装置を用いて行なった。¹⁵O-水トレーサは、当センター短寿命放射性薬剤臨床利用委員会の承認に基づき投与した。刺激停止 20 分後より 15

分おきに 4 回の撮影を行ない、その後刺激をオンとして 15 分後より 15 分おきに 4 回の撮影を行なった。各回の撮影の 20 秒前に 7mCi の放射能を有する ¹⁵O-水を静注した。各回の静注前には検出される放射線が 1 万 cpm 以下に低下していることを確認した。刺激停止中および刺激再開後それぞれ 4 回の記録を平均し、2 つの状態での大脳平均血流量および局所脳血流の変化を解析した。症例 2 および 4 は薬効オフのときに検査した。

- 5) 神経心理学的検査
刺激中および刺激停止 30 分後に、改訂長谷川式簡易痴呆スケール (HDS-R), minimal status examination (MMSE), Raven 色彩マトリシス検査, ウィスコンシン・カードソーティング検査慶應版 (KWCST), 修正 Stroop test (mST) を行なった。検査はすべて同じ検査者により実施された。薬物療法による症状の日内変動の影響を排除するために、刺激中の検査と刺激停止 30 分後の検査は、異なる日の同じ時刻に実施した。HDS-R と MMSE は、症例 2 および 4 は薬効オンおよびオフのそれぞれで評価した。その他の検査は症例 2 は薬効オンのときに検査したが、症例 4 は検査できなかった。
なお、本研究の計画は当センター倫理委員会に承認され、対象症例には同委員会承認の書面を用いた説明を行ない、文書で参加の同意を得た。

症例番号	年齢性別	発症から手術まで	深部脳刺激療法導入の理由	刺激部位	手術から検査まで	内服薬と 1 日服薬量
1	65,男	13 年	振戦が強い	両側 STN	1 年	レボドパ 300mg
2	68,女	19 年	Wearing-off 現象 ジスキネジア 幻覚・妄想	両側 STN	2 年	レボドパ 350mg カベルゴリン 3mg セレギリン 5mg
3	74,女	8 年	幻覚・妄想	左 STN	1 年	レボドパ 150mg カベルゴリン 2mg
4	56,男	11 年	Wearing-off 現象 ジスキネジア 幻覚・妄想	右 GPi 左 Vim	3 年	レボドパ 350mg カベルゴリン 450μg セレギリン 7.5mg

表 1. 症例の概略。STN：視床下核，GPi：淡蒼球内節，Vim：視床中間腹側核。

症例	Part II		Part III		振戦		変化した時間	無動		変化した時間	筋強剛		変化した時間		
	入	切	入	切	入	切		入	切		入	切			
1	8	9	21	35	8	15	30分	6	11	30分	0	2	30分		
2	薬効オン		27	32	32	44	0	4	10分	20	26	30分	0	0	変化なし
	薬効オフ		29	38	41	65	5	15	10分	21	31	30分	3	3	変化なし
3	20	26	35	49	7	13	即時	20	25	即時	0	3	10分		
4	薬効オン		6	7	5	5	0	0	変化なし	2	2	変化なし	1	1	変化なし
	薬効オフ		14	24	9	33	1	22	即時	4	7	即時	2	2	変化なし

表 2. UPDRS 評価の結果. Part II は日常生活動作 (最高 52 点), Part III は運動機能 (最高 108 点) を評価する. 振戦は Part III の項目 20,21 の計 (最高 28 点), 無動は項目 18,19,23-26,31 の計 (最高 44 点), 筋強剛は項目 22 (最高 20 点). いずれも点数が高いほど症状が重い. 「入」は刺激中, 「切」は刺激停止 30 分後の評価点. 振戦, 無動, 筋強剛は, 刺激停止から症状の変化が生じるまでに要した時間を記した.

結果

UPDRS 評価 (表 2)

日常生活動作を表わす Part II と, 運動機能を表わす Part III の点数は, 刺激停止により不変ないし増加した. Part III を Temperli et al.(2003)と同様に振戦, 無動, 筋強剛に分けて評価したところ, 変化が速く大きかったのは振戦であり, 次に無動であった. 筋強剛の点数は変化がないか, あっても小さく遅い傾向であった.

呼吸機能検査

肺活量, 努力性肺活量, ピークフロー値, 1 秒量, 1 秒率には有意な変化を認めなかった. フローボリューム曲線は 4 例とも刺激中では刺激停止時よりも低排気量位の曲線が下に凸となる傾向を認めた.

脳波

脳波の基礎律動は, 刺激中と刺激停止中とで有意な変化を認めなかった.

¹⁵O-水 PET

刺激停止中と刺激中との脳血流分布を比較したが, 4 例を通じて血流変化を認めた部位は指摘できなかった.

神経心理学的検査

HDS-R と MMSE は, 症例 1, 2 および 4 では刺激中と刺激停止時に変化を認めなかった. 症例 3 では刺激中の成績が刺激停止時より悪く, 刺激中には返答に保続を認めたが刺激停止時には認めなかった. その他の結果を表 3 に示す. Raven 色彩マトリシスは刺激による変化が症例により異なった. KWCST の達成カテゴリー数は症例 2 と 3 が, mST の part I と part II の所要時間の差は症例 1 と 3 が, 刺激中よりも刺激停止中の成績が良かった.

考察

刺激停止後の臨床症状の変化が振戦, 無動, 筋強剛の順に生じたという結果は, Temperli et al.(2003)と一致した. しかしその程度と速さには個人差が大きく, 深部脳刺激の効果機序が多様であることが考えられた. 臨床所見や神経心理学的検査の所見の変化は, 薬物療法でのオンオフ現象を反映したものとは考えにくく, 深部脳刺激とオンオフ現象の機序は異なると考えられた.

深部脳刺激中に保続が生じたり, KWCST や mST の成績が刺激停止中より悪い症例があったことは, 興味深い. 深部脳刺激療法の導入により, 言葉の流暢性が障害された症例の報告は多いが (Ardouin et al., 1999; Pillon et al., 2000; Saint-Cyr et al., 2000; Dujardin et al., 2001; Daniele et al., 2003), 注意のシフトや遂

症 例	刺 激	検査 Raven	KWCST						mST (秒)		
			第1段階			第2段階			I	II	II-I
			CA	PEN	DMS	CA	PEN	DMS			
1	入	28	1	8	4	0	15	3	22	53	31
	切	28	1	4	5	0	13	2	17	24	7
2	入	19	1	17	0	1	14	3	50	59	9
	切	21	2	17	1	施行できず			50	68	18
3	入	31	3	9	2	1	16	0	19	139	120
	切	27	4	12	0	(第1段階で検査終了)			21	83	62

表 3. 神経心理学的検査. 症例 4 は検査できなかった. mST は part I (色のみの課題) と part II (色と漢字の課題) の所要時間の差 (II-I) で評価した. VIQ: 言語性 IQ, PIQ: 動作性 IQ, FIQ: 全 IQ, CA: 達成カテゴリー, PEN: ネルソン型保続, DMS: セットの維持困難.

行機能に関する検査の変化については, 報告によって結果が一定しない (Jahanshahi et al., 2000; Saint-Cyr et al., 2000; Perozzo et al., 2001). 本研究では, 症例 3 に刺激中の所見の悪化が目立ったが, 症例 1 と 2 では検査によって変化が一定しなかった. 深部脳刺激による神経心理学的影響に注意を要することは示唆されたが, 今後症例を蓄積し, 影響を詳細に検討するとともに, どのような背景の症例に同様の影響が生じやすいのかを明らかにすることが, 深部脳刺激療法の適応選択に当たり重要となろう.

結論

深部脳刺激療法の効果機序は多様で, オン

オフ現象を擬するものではないと考えられた. 深部脳刺激療法により神経心理学的影響が生じる症例があり, 注意を要することが示唆された.

文献

- Ardouin C et al. *Ann Neurol*, 46:217-223, 1999.
 Daniele A et al. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 74:175-182, 2003.
 Dujardin K et al. *J Neurol*, 248:603-611, 2001.
 Jahanshahi M et al. *Brain*, 123:1142-1154, 2000.
 Perozzo P et al. *J Neurol Sci*, 192:9-15, 2001.
 Pillon B et al. *Neurology*, 55:411-418, 2000.
 Saint-Cyr JA et al. *Brain*, 123:2091-2108, 2000.
 Temperli P et al. *Neurology*, 60:78-81, 2003.

「パーキンソン病における視索記録 flash VEP」に関する研究

橋本 隆男¹⁾，多田 剛²⁾，片井 聡³⁾，山田 隆三⁴⁾

1) 信州大学医学部第三内科，2) 信州大学医学部脳神経外

3) 鹿教湯病院神経内科，4) 鹿教湯病院脳神経外科

研究要旨 パーキンソン病では VEP と網膜電位の異常が報告されており，網膜のドパミン低下と関連すると考えられる。我々は、定位脳手術の基本的手術手技として視索から記録する flash light による VEP (OT-VEP) 潜時がパーキンソン病で異常があるかを調べた。対象は PD22 例 (女 11、男 11、38-78 歳)。OT-VEP 潜時と手術時年齢，罹病期間，重症度との相関を調べた。OT-VEP 潜時は 42-74 ms であり手術時年齢とは正の相関があった ($r=0.70, P<0.001$)。手術時年齢で補正した OT-VEP 潜時と罹病期間，OFF の UPDRS 運動スコア総点，OFF の Yahr 重症度とは相関がなかった。以上より，パーキンソン病の黒質線条体ドパミン低下は今回の方法による flash light 視索記録 VEP の潜時には反映されなかった。

はじめに

ヒトの網膜にはドパミン含有細胞とドパミン受容体が存在し，視覚の感受性や伝達にドパミンが作用していることが示唆されている¹⁾。パーキンソン病では黒質線条体ニューロンのドパミン減少だけでなく，網膜のドパミンの含有量も正常者と比べて減少している²⁾。これに関連して，視覚機能検査においてフラッシュ刺激やパターン刺激で誘発される網膜電位の潜時の遅延や振幅の減少が報告されている³⁻⁷⁾。パーキンソン病における網膜のドパミン減少が黒質線条体のドパミン減少と平行している可能性があるがまだ明らかにされていない。我々は、この問題を明らかにするために，定位脳手術中に視索から記録する視覚誘発電位 (visual evoked potential, VEP) の潜時とパーキンソン病の罹病期間，重症度との相関について調べた。

方法

表 1. 対象患者の年齢，罹病期間，重症度

n	age at op	duration of illness	UPDRS		
	(years)	(months)	Motor Score	Yahr (off)	Yahr (on)
22 (F11/M11)	62.9±9.2 (38-78)	113±50 (24-204)	34.7±10.6 (10.5-54)	3.6±0.7 (1.5-5)	2.7±0.9 (1-4)

対象はパーキンソン患者 22 例 (女 11、男 11、38-78 歳)。対象患者の年齢，罹病期間，重症度を表 1 に示す。微小電極ガイドによる淡蒼球破壊術では，ターゲットである淡蒼球内節の直下に隣接する視索を同定することが視索の誤凝固を防ぐために必要である。そのため，微小電極を用いた視索からの flash light による VEP 記録 (OT-VEP) を手術手順として行う。本研究では，OT-VEP 潜時と手術時年齢，重症度との相関を調べた。

淡蒼球内節破壊術と視索からの VEP 記録患者は，前夜から 14 時間以上すべての抗パーキンソン病薬を中止した状態で手術を行った。手術時に用いた麻酔薬は，頭皮に局所麻酔薬を局注しただけだった。ガラスコート・エル

ジロイ微小電極（抵抗 0.2 - 0.5 MΩ）を用いて視索の神経線維活動を記録した（周波数帯域 300 - 10 kHz）。記録は複数の神経線維の活動電位であり、時により単一活動電位が記録される。VEP は、室内を消灯し、患者の正面下方 8 - 10 cm の距離から懐中電灯で目を照らして誘発した。照度は約 5000 Lux であるが輝度は未計測である。懐中電灯のスイッチは手動で操作し、2-5 秒間隔で持続 0.5-1 秒の光を当てた。VEP が誘発されるかどうかの判定は、視索の活動電位をアンプを介してスピーカに接続し、音の変化を聞くことにより判定した。懐中電灯は、スイッチの on で定電圧が出力されるように作られており、その出力と視索の活動電位をデータレコーダに記録した。

OT-VEP の潜時の計測

Off-line 処理により、再生した電位を A/D 変換器を介して 2000 Hz でコンピュータに取り込み、懐中電灯のスイッチ on でトリガし、トリガの前 200ms から 800ms の視索電位について解析した。光照射 5-12 回の視索電位を全波整流して平均加算し移動平均により平滑化した。スイッチ on 前 50ms と on の 5ms ずつについて Wilcoxon signed rank test で $P < 0.0001$ の有意な変化を示す領域を求め、その領域の開始点と照射開始点との潜時を OT-VEP の潜時とした。

結果

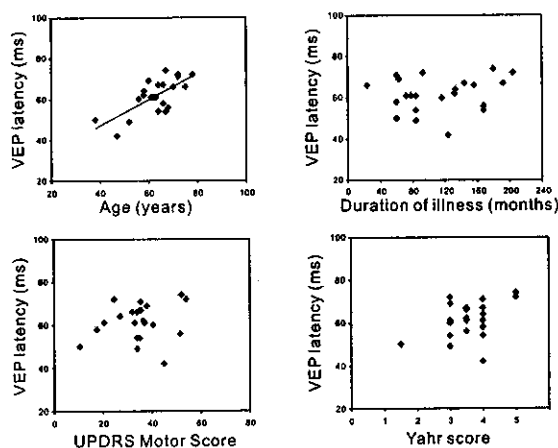


図 1. OT-VEP 潜時と手術時年齢、罹病期間、off 状態の UPDRS 運動スコア総点、off 状態の Yahr 重症度との相関

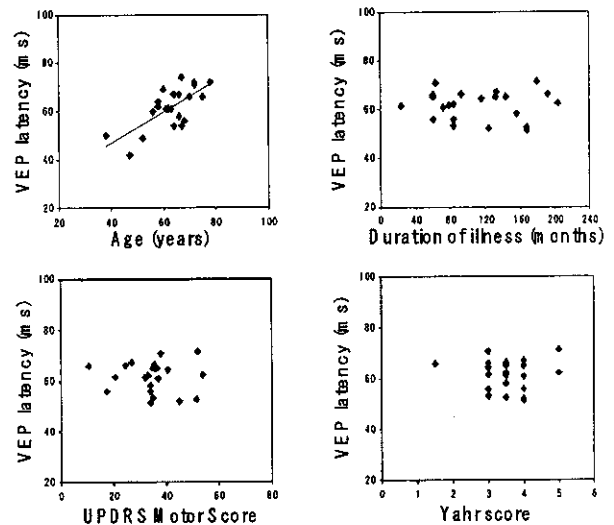


図 2. 手術時年齢で補正した OT-VEP 潜時と、罹病期間、off 状態の UPDRS 運動スコア総点、off 状態の Yahr 重症度との相関

OT-VEP 潜時と手術時年齢、罹病期間、off 状態の UPDRS 運動スコア総点、off 状態の Yahr 重症度との相関を図 2 に示す。OT-VEP 潜時は 42 - 74 ms であり手術時年齢とは有意な正の相関があった ($r = 0.70$, $P < 0.001$)。OT-VEP 潜時と罹病期間、UPDRS 運動スコア、Yahr の重症度とは、正の相関傾向があったが有意ではなかった。OT-VEP 潜時が手術時年齢と強い相関を認めたことから、手術時年齢で補正した VEP 潜時と罹病期間、UPDRS 運動スコア、Yahr 重症度との相関を調べたところ、全く相関がなかった (図 3)。

考察

今回の結果では、OT-VEP の潜時と罹病期間、重症度とは相関は全くなかった。これまで VEP とパーキンソン病の臨床症状との相関がないことが報告されている^{8,9)}。このことは、パーキンソン病において、網膜のドパミン減少と黒質線条体系のドパミン減少とは相関が小さい可能性が示唆される。一方、Harnois ら²⁾は、網膜のドパミン量が未治療のパーキンソン病では正常者と比べて減少していたの