

図2 MPP⁺を中脳腹側に microinjection した *in vivo* モデルの抗 tyrosine hydroxylase 抗体を用いた免疫染色。Vehicle を用いた対照実験では多数のドーパミンニューロンが観察され、MPP⁺を投与した場合（右上）はドーパミンニューロンが脱落した。これに対し、MPP⁺と lactacystin（左下）または MG-132 を同時に投与した場合、ドーパミンニューロンの脱落は抑制された。SNr: 黒質網状叢、SNc: 黒質緻密叢

考察

methylphenyltetrahydropyridine(MPTP) は、ヒトで中脳ドーパミンニューロン死を引き起こし、進行性のパーキンソン病様症候を呈することが示されている唯一の神経毒である^{5,6)}。MPTPの活性型であるMPP⁺は時間依存的にドーパミンニューロン死を引き起こしたが、その際、プロテアソーム活性が増大することが示された。プロテアソーム活性を抑制するとドーパミンニューロン死が拮抗されること、このプロテアソーム活性阻害によるドーパミンニューロン保護作用は *in vivo* モデルでも確認できた。これらの点からは、

MPP⁺誘発ドーパミンニューロン死はプロテアソーム活性の増大が重要な役割を果たしていると考えられる。この機序として、p42/p44-MAPKのリン酸化・脱リン酸化が関与していると考えられた。すなわち、MPP⁺処置によりプロテアソーム活性の増大とともにMAPKの脱リン酸化が生じ、プロテアソーム活性を抑制した場合はMAPKのリン酸化が促進されること、さらに、MAPKの上流に位置するMEKを阻害した場合プロテアソーム阻害薬による神経保護作用が拮抗されることから、プロテアソームによるp-42/p-44-MAPKのリン酸化・脱リン酸化の調整がドーパミンニューロン死を制御している可

能性がある。

一方、プロテアソーム活性を抑制した場合、ドーパミンニューロン死は拮抗されるが、ドーパミンニューロン内に α シヌクレイン陽性の封入体が形成された。この封入体がLewy小体と共通の性質を有しているか否かについてはさらなる解析を必要とするが、MPP⁺誘発ドーパミンニューロン死のモデルでは細胞死と封入体形成がプロテアソーム活性の点からは、むしろ対極に位置している可能性を示唆する。パーキンソン病の脳内でプロテアソーム活性については、黒質では低下、線状体では正常と報告されている^{7,8)}が、今後、詳細な検討が必要であろう。パーキンソン病の脳内ではドーパミンニューロン死のみられる部位とLewy小体の出現頻度の高い部位とは必ずしも一致していない。ヒトの脳での病変の進行過程で、Lewy小体形成にはプロテアソーム活性の低下が、ドーパミンニューロン死には活性の増大が関与しているとすれば、こうした違いがプロテアソーム活性の違いで説明できる可能性があり、今後の解析が重要である⁹⁾。

文献

- 1) Mori H et al. Neurology 51: 890-892, 1998
- 2) Van de Warrenburg B et al. Neurology 56: 555-557, 2001
- 3) Hattori N et al. Ann Neurol 30: 563-571, 1991
- 4) Schapira AH et al. J Neurochem 54: 823-827, 1990
- 5) Burns et al. Proc Natl Acad Sci USA 80: 4546-4550, 1983
- 6) Langston JW et al. Science 219: 979-980, 1983
- 7) Furukawa et al. Ann Neurol 51: 779-782, 2002
- 8) McNaught KS et al. Neurosci Lett 297: 191-194, 2001
- 9) Sawada et al., J Biol Chem (in press)

パーキンソン病（Park7）の発症機序：DJ-1は酸化ストレスや小胞体ストレスによる細胞死を抑制する。

（分担）研究者 水澤英洋¹⁾

研究協力者 横田隆徳¹⁾、有賀寛芳²⁾

1) 東京医科歯科大学大学院脳神経機能病態 2) 北海道大学大学院薬学研究科分子生物

研究要旨 Park7の原因遺伝子として発見されたDJ-1は、培養細胞では強力な抗酸化作用、小胞体ストレスあるいはプロテアソーム抑制による細胞死を抑制する作用があり、変異DJ-1(L166P)にはこれらの作用が失われていることを明らかにした。パーキンソン病(Park7)の発症機序にDJ-1の機能障害による酸化ストレス、小胞体ストレスの亢進やプロテアソーム抑制の障害が関与することが示唆された。

はじめに

近年、常染色体劣性遺伝性パーキンソン病の原因遺伝子として、Park2のParkin遺伝子に引き続いて、Park7においてDJ-1遺伝子が同定された。その変異にはlarge deletionのhomozygoteが含まれ、変異によってDJ-1タンパクが発現されないと考えられることから、DJ-1が本来もっている機能の喪失がPark7の発症の原因になっていることが想定されている¹⁾。DJ-1はrasに関連したoncogeneとして発見され²⁾、その後過酸化水素に反応して発現することから抗酸化作用があることが示唆された³⁾。さらにprotease機能、SUMO化との関連など⁴⁾多彩な機能をもことが示されている。今回、神経系の培養細胞で、内因性のDJ-1の発現を抑制したり、野生型および変異型のDJ-1を過剰発現させることによって、細胞死における野生型DJ-1の役割と変異型DJ-1の病的意義について明らかにする。

方法

- 1) Mouse および humanDJ-1 mRNA に対する short interference RNA (siRNA) を複数設計し、培養細胞の内因性DJ-1の発現を最も効率よく抑制するものを Western blot 法で選択する。
- 2) 神経系培養細胞 Neuro2a 細胞や HEK293T 細胞に、過酸化水素による酸化ストレス、tunicamycin による小胞体ストレス、lactacystin

によるプロテアソーム抑制、staurosporin によるアポトーシス刺激によって細胞死を誘導する。この細胞死に対するDJ-1の関与を明らかにするために、細胞死の誘導に先行して、lipofection 法を用いて siRNA を導入して内因性DJ-1の発現を抑制したり、野生型および変異型(L166P)DJ-1を過剰発現する。これらの細胞死に対する影響をヘキストによる核の濃縮、LDH アッセイ、トリパンブルーアッセイで検討する。

- 3) さらに、Park2の原因遺伝子のParkinの基質と考えられているPael受容体を過剰発現させることによって誘導される細胞死に対して、DJ-1を過剰発現させて、その影響も合わせて検討する。

なお、変異DJ-1 cDNAはmutagenesisによって作製し、患者さんの材料は使っておらず動物愛護、人権擁護上問題ない。

結果

作製した siRNA は培養細胞の内因性 SOD1 タンパクを配列特異的に認識して、有効にタンパクの発現を抑制した (図1)。

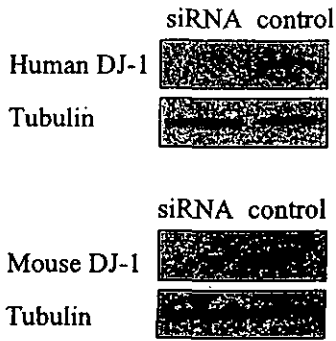


図1 N2a細胞(上)、HEK293T細胞(下)を用いた抗DJ-1抗体によるWestern blot

過酸化水素を用いた酸化ストレスによる細胞死は siRNA により内因性 DJ-1 発現を抑制すると増強した(図 2A)。この細胞死はアポトーシスの形態を示したが、staurosporin によって誘導されるアポトーシスは DJ-1 の発現抑制の影響を受けなかった(図 2B)。

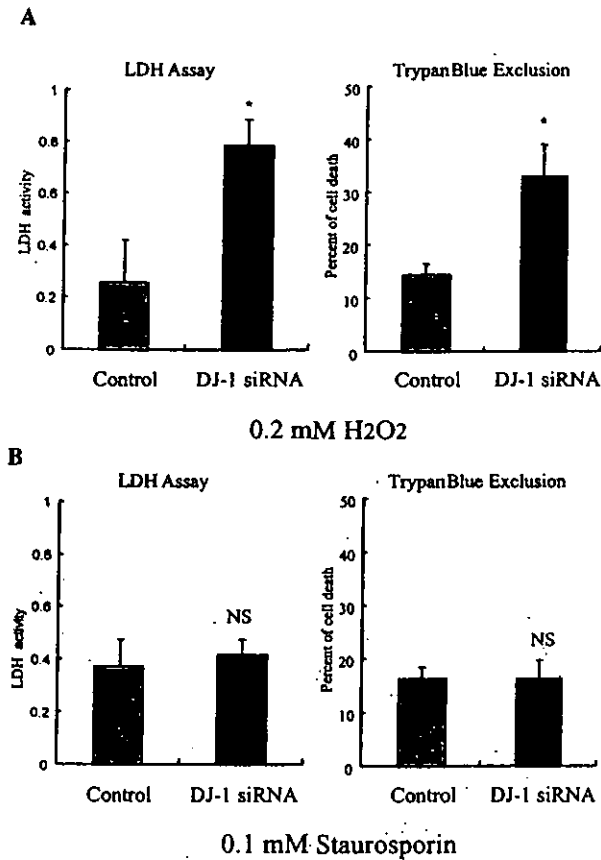


図2 過酸化水素を用いた酸化ストレスによる細胞死(A)と staurosporin によるアポトーシス(B)に対する siRNA を用いた DJ-1 発現抑制の効果

この酸化ストレスによる細胞死は野生型 DJ-1 の過剰発現により劇的に救済され、変異型 (L166P) DJ-1 では変化しなかった(図 3)。

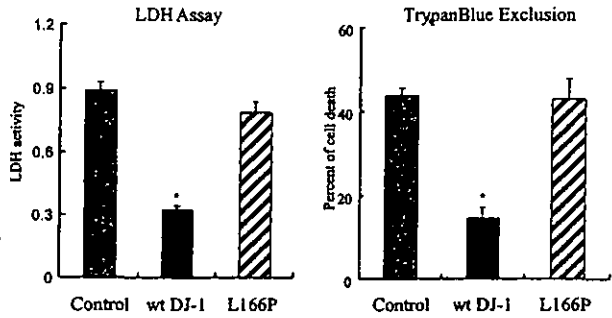


図3 過酸化水素を用いた酸化ストレスによる細胞死に対する野生型 DJ-1 および変異型 (L166P) DJ-1 の過剰発現の効果

Tunicamycin を用いた小胞体ストレスは内因性 DJ-1 発現を抑制すると増強し(図 4A)、野生型 DJ-1 の過剰発現により軽度減少したが、変異型 DJ-1 (L166P) では変化しなかった(図 4B)。

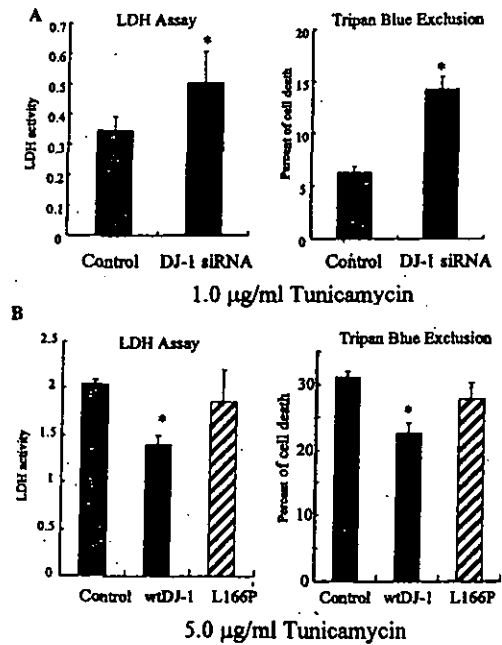


図4 小胞体ストレスによる細胞死に対する siRNA を用いた DJ-1 発現抑制 (A) と野生型 DJ-1 および変異型 (L166P) DJ-1 過剰発現 (B) の効果

また、lactacystin を用いたプロテアソーム抑制による細胞死も内因性 DJ-1 発現を抑制すると増強し、野生型 DJ-1 の過剰発現により軽度減少したが、変異型 DJ-1 (L166P) では変化しなかった(図 4A)。

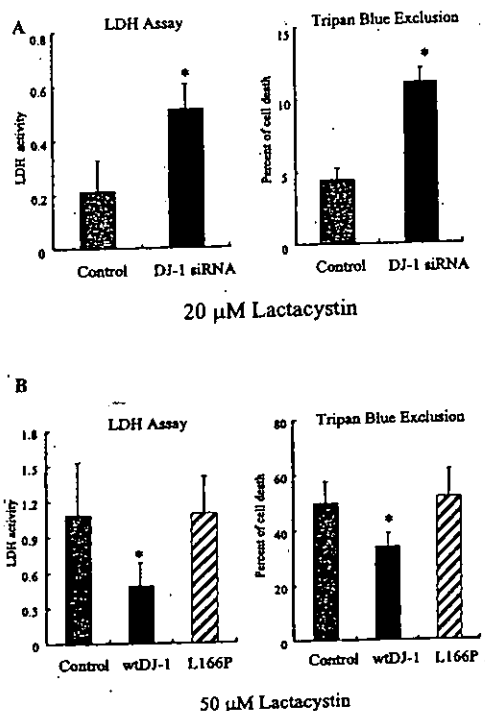


図5 プロテアソーム抑制による細胞死に対する siRNA を用いた DJ-1 発現抑制 (A) と野生型 DJ-1 および変異型 (L166P) DJ-1 過剰発現 (B) の効果

さらに Pael 受容体の過剰発現によって誘導される細胞死も野生型 DJ-1 の共発現によって抑制された(図 6)。

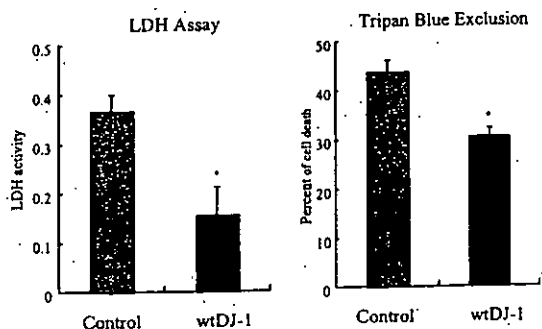


図6 Pael 受容体による細胞死に対する野生型 DJ-1 の過剰発現の効果

考察

従来、DJ-1 には抗酸化作用があることが示唆されていたが、今回、細胞死との関連において DJ-1 が酸化ストレスを防ぐ作用があることが明らかになった。

さらに加えて、DJ-1 には小胞体ストレスやプロテアソーム抑制による細胞死を抑制する作用も初めて示された。これは、小胞体ストレスやプロテアソーム抑制による細胞死の機序に酸化ストレスが一部関与しているためかもしれない⁶⁾。

DJ-1 は常染色体劣性遺伝性パーキンソン病の原因遺伝子であり、さらに最近ミスセンス点変異である L166P 変異はそのタンパク安定性が著しく悪いことが示された⁶⁾。これらのことより、DJ-1 遺伝子変異により DJ-1 タンパクの機能障害が生じ、これが Park7 の原因である可能性が高い。

パーキンソン病にみられる黒質神経細胞の細胞死の機序はよくわかっていないが、酸化ストレス⁷⁾や小胞体ストレス⁸⁾の関与の可能性がいわれていた。

今回、培養細胞で示された DJ-1 の強力な抗酸化作用、小胞体ストレスあるいはプロテアソーム抑制による細胞死を抑制する作用は、Parkinson 病一般の発症機序にこれらのストレスが関与することを示唆した。

結論

DJ-1 変異により DJ-1 のもつ強力な抗酸化作用や小胞体ストレスやプロテアソーム抑制による細胞死を抑制する作用の障害が Park7 の細胞死の機序に関係する可能性が示唆された。

文献

- 1) Bonifati V, et al: Science 299, 256-259, 2003
- 2) Nagakubo D, et al: Biochem. Biophys. Res. Commun. 231, 509-513, 1997
- 3) Mitsumoto A, et al: Free Radic Res 35, 885-893, 2001
- 4) Takahashi K, et al: J Biol Chem 276, 37556-37563, 2001
- 5) Petrucelli L, et al: Neuron 36, 1007-1019, 2002
- 6) Miller DW, et al: J Biol Chem 278, 36588-36595, 2003
- 7) Jenner P, et al: Ann Neurol 53, s26-s36, 2003
- 8) Imai Y, et al: J Biol Chem 275, 35661-35664, 2000

パーキンソン病における視覚認知機能 —脳磁図を用いて—

加知 輝彦¹⁾, 山田 孝子¹⁾, 中村 昭範²⁾, 鷺見 幸彦¹⁾, 文堂 昌彦¹⁾
加藤 隆司⁴⁾, 伊藤 健吾⁴⁾, 金桶吉起⁵⁾, 柿木隆介⁵⁾

- 1) 国立療養所中部病院 神経内科・脳神経外科
- 2) Max Planck Institute of Cognitive Neuroscience
- 3) 国立長寿医療研究センター 生体機能研究部
- 4) 国立生理学研究所

研究要旨 仮現運動の視覚刺激による脳磁場反応を測定し、パーキンソン病における視覚認知機能の異常を検討した。痴呆のないパーキンソン病患者(PD)8名及び年齢をマッチさせた健常対照者8名を対象に、2本の垂線が交互に表示され、あたかも動いているように見える視覚刺激による誘発脳磁場反応を記録した。刺激後、頂点潜時が約190msの成分160mFが記録された。PDと健常者との間で160mFの頂点潜時に有意差は認められなかった。160mF 電源は運動視と関連があるMT/V5野およびその近傍に推定された。一方、昨年結果から顔刺激により得られた160mFの頂点潜時はPDで有意に延長し、160mFは紡錘状回近傍から電源が推定された。従って、PDでは未知の顔の認知障害の基盤として一次視覚野から紡錘状回までの異常が示唆される一方、MT/V5野に至る視覚系路には明らかな異常が認められなかった。

はじめに

視覚情報は、後頭葉の1次視覚野に伝わった後、大きく2つの視覚経路に伝達される¹⁾。側頭葉下面の紡錘状回から側頭連合野に向かう腹側経路は形態視に関連し²⁾⁻⁴⁾、視覚前野のMTまたはV5野から頭頂連合野に向かう背側経路は空間的な位置や動きを知覚する空間視のシステムと考えられている⁵⁾⁻⁷⁾。昨年度の研究でわれわれは、腹側経路の中で顔認知に関わる紡錘状回から電源が推定される160mF成分がパーキンソン病(PD)で延長することを報告した。

Kaneokeらは、仮現運動の視覚刺激に対し約160msの頂点潜時で脳磁場反応が誘発され、その電源が、運動視に関わるMT/V5野から推定されることを報告した⁵⁾。

これまで、PDにおいて視空間認知障害が報告されている一方、運動視についての報告は乏しい⁸⁾⁹⁾。そこで今年度われわれは、脳磁図を用い、PD患者に対し仮現運動に対する視覚誘発脳磁場反応を記録し、一次視覚野以後の視覚認知機能について検討した。

方法

対象は、PD患者8名(平均年齢±SD: 65.4

±8.8歳, 男4:女4)であり、年齢をマッチさせた健常者8名(66.0±9.9歳, 男2:女6)を対照とした。PDは全例、MMSEで27点以上であり、痴呆はなく、Hoehn and Yahrの重症度はstage IIIであった。8例とも治療としてL-DOPAなどの抗パーキンソン病薬を服用しており、wearing-offのある例では、薬が奏効しているon-periodの時間帯に検査を施行した。PD、対照とも全例右利きで、検査前に視力検査を施行し、裸眼視力または矯正視力を1.0以上とした。検査は病院の倫理委員会の承認を得た上でを行い、検査の前にその内容、安全性について被検者に説明し、文書で承諾を得た。

視覚刺激は視角2.0°の長さの垂線が2本、眼前約140cmのスクリーン上に、固視点の左1.0°と1.5°の部位に交互に表示されるものである。刺激の提示時間は2000-3000ms、刺激間の間隔は10msで300回加算刺激を行った。検査中、被検者が覚醒していることをカメラで確認した。記録の収集は4D Neuroimaging社製74チャンネル脳磁図を用い、センサーの中心を両側後頭側頭部に置いた。サンプリング周波数は520.8Hz、分析時間はトリガー前100msから後500msとした。

電源位置は single ECD (等価電流双極子) model もしくは Leaner estimation を用いて計算し、得られた ECD の座標をそれぞれの被検者の頭部 MRI に重ね合わせて電源の局在を推定した。

得られた結果は Mann-Whitney の U-test を用いて統計を行った。

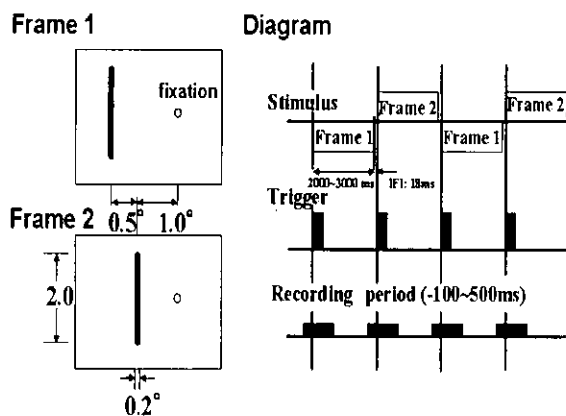


図 1. 視覚刺激の diagram

結果

PD、対照とも仮現運動の視覚刺激後、160 ~ 217 ms の頂点潜時で脳磁場反応が得られ、160mM とした(図 2)。図 2 は PD と対照における代表波形である。振幅は個人差が大きかったため、検討は行わなかった。

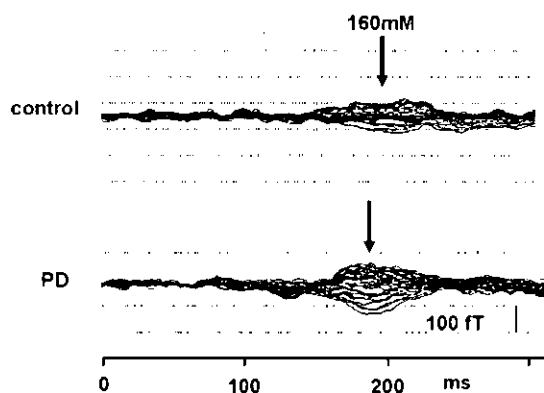


図 2. PD と対照(control)における仮現運動刺激に対する脳磁場反応 160mM

昨年の検討から、顔の視覚刺激後、175-185 ms の頂点潜時で 160mF 成分が得られた。PD では、対照に比べ、有意に潜時の延長が認められた(図 3)。

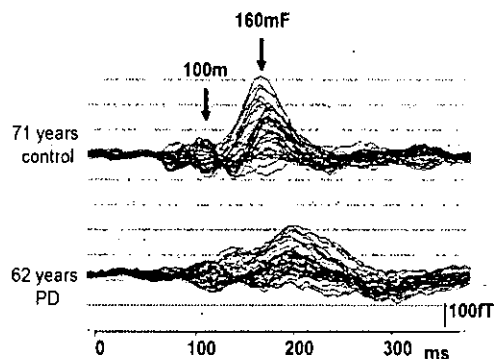


図 3. PD と対照における顔刺激に対する脳磁場反応 100m, 160mF

160mM の電源は MT/V5 野およびその近傍に推定された。160mF の電源は紡錘状回もしくはその近傍に推定された(図 4)。

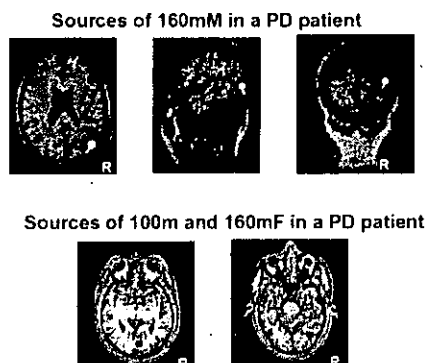


図 4. PD における 160mM, 100m, 160mF の推定電源

160mM の頂点潜時は PD、対照でそれぞれ 192.0 ± 10.6 ms、 189.2 ± 18.1 ms であり、両群間で有意差は認められなかった(図 5)。

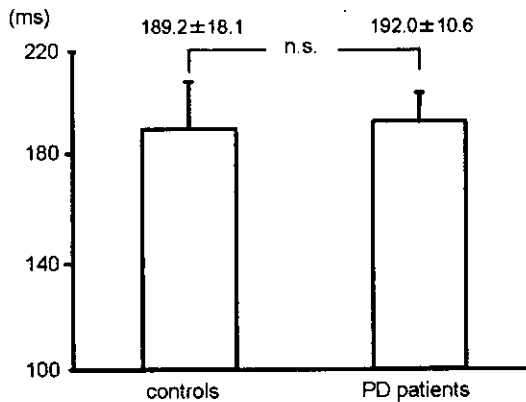


図5. 160mMの平均頂点潜時は、PD、対照間で有意差は得られなかった。

考 察

MT/V5野に電源が推定された160mMの頂点潜時は、PDでは対照と比べ有意差が得られなかった。昨年度の検討で、顔刺激に対して紡錘状回から電源が推定された160mFの頂点潜時はPDにおいて対照に比べ有意に延長していた。これらの結果からPDでは顔の認知障害の基盤として一次視覚野から紡錘状回までの異常が示唆された。一方、MT/V5野に至る視覚系の異常は示唆されなかった。

Bundoらは仮現運動の視覚刺激を健常人に施行し、発生電源は個人差はあるもののMT/V5もしくはその近傍に推定され、いずれも運動視の視覚処理過程に関連した脳部位であることを報告した⁷⁾。今回の検討でもBundo, Kaneokeらと同じ課題を行い、PD、対照ともに160mMの電源はMT/V5野およびその近傍に推定された。

Arakawaらは、PDでは色・輪郭の情報処理を主に行うparvocellular visual processingをみる課題で誘発された電位成分は正常で、その機能は保たれていると示唆した¹⁰⁾。昨年度、PDで異常が認められた顔認知はparvocellular visual processingに含まれる脳内過程である。しかし、Arakawaらの課題ではドットを用いており、顔画像とは課題の内容が全く異なっている。顔刺激から得

られた結果は第一次視覚野後から紡錘状回までの異常を示唆しており、Arakawaらの課題で誘発される情報処理過程とは異なるものと推察される。一方、magnocellular pathwayの課題で誘発されたN400(m)は異常、N160(m)は正常であった。今回の仮現運動刺激で誘発された160mMは正常であり、課題の内容は異なるが、得られた反応の頂点潜時はN160(m)と同様な範囲であり、仮現運動の結果とArakawaらの報告で矛盾はなかった。

今回検討したPDは痴呆や視覚障害がなく、160mF異常は全般的な知的機能障害や視覚異常を反映したものではない。PDでは、臨床的に視症状が大きな問題となることは少なく、subclinicalな異常の検出方法として敏感であると考えられる。

結 論

パーキンソン病では未知の顔の認知障害の基盤として一次視覚野から紡錘状回までの異常が示唆される一方、MT/V5野に至る視覚系の明らかな異常は認められなかった。

文 献

- 1) Livingstone M et al: Science, 240: 740-749, 1988
- 2) Allison T et al: J Neurophysiol, 71: 821-825, 1994
- 3) Allison T et al: Cerebral Cortex, 415-430, 1994
- 4) Nakamura A et al: Neurosci Lett, 13-16, 2001
- 5) Kaneoke Y et al: NeuroReport, 8: 677-682, 1997
- 6) Kawakami O et al: Neurosci Lett, 285: 135-138, 2000
- 7) Bundo M et al: Human Brain Mapping, 11: 33-45, 2000
- 8) Rodnitzky RL: Clin Neurosci, 5: 102-106, 1998
- 9) Antal A et al: Clin Neurosci, 5: 147-152, 1998
- 10) Arakawa K et al: Clin Neurophysiol 110: 1048-1057, 1999

大脳皮質基底核変性症・進行性核上性麻痺患者での 脳血流分布の比較 —3D-SSP を用いて—

小笠原淳¹⁾、森松光紀¹⁾、根来 清¹⁾、三隅俊吾¹⁾、川井元晴¹⁾

1) 山口大学医学部脳神経病態学

研究要旨 大脳皮質基底核変性症と進行性核上性麻痺との鑑別診断は困難なことも多い。皮質血流障害の差異の検出は鑑別診断の一助となると考えられ、3D-SSP による皮質血流障害検出を試みた。3D-SSP を用いることで SPECT にて CBD・PSP 群の脳血流分布の差異を明らかにすることが可能であった。従来の PET などの定量画像を用いた報告と同様の結果が得られ、3D-SSP は SPECT を用いた大脳皮質血流の解析方法として有用であった。

背景と目的

大脳皮質基底核変性症 (CBD) と進行性核上性麻痺 (PSP) はともに臨床的に鑑別が困難な症例も多いが、大脳皮質血流低下分布が鑑別の一助となるとの報告がある¹⁾²⁾。また一方、萎縮脳に対する SPECT を用いた脳血流分布解析法として 3D-SSP (three dimensional surface stereotactic projection) の有用性が報告されている。皮質萎縮の標準化を優先した画像補正アルゴリズムにより脳幹・基底核の血流評価に制限があるものの、大脳皮質の血流評価では PET などの定量画像に劣らないとされる³⁾。3D-SSP では個人差のある脳血流分布データを標準脳座標上に変換し、その後に機能的情報を標準化した脳表に抽出して Control Database と比較し、結果を Z score で表示する。その後に各種疾患群の群間比較が可能である。今回我々は CBD・PSP 群での脳血流分布を 3D-SSP を用いて解析したので報告する。

対象及び方法

臨床的に診断した classical type の probable CBD 9 例 (男性 6 名、女性 3 名、年齢 54 ~ 82 歳)、probable PSP 10 例・possible PSP 3 例 (男性 7 名、女性 6 名、年齢 58 ~ 79 歳)、また disease control 群としてパーキンソン病 (PD) 11 例 (男性 4 名、女性 7 名、年齢 51 ~ 74 歳) を対象とした。CBD の診断は森松らの診断基準⁴⁾ に従い、PSP は NINDS-SPSP の診断基準⁵⁾ を用いた。SPECT 撮像には、東芝社製 GCA-9300A (コリメーターは東芝社製 5500A の低エネルギー用ファンビームコリメーター) を用いた。核種は ^{99m}Tc-HMPAO 740 Mbq を使用した。データ収集はアイソトープ静注後 5 分後に開始し、エネルギーウィンドウは 140 KeV ± 24%、補正は TW 法による散乱補正、4 度ステップ・360 度・収集時間は 16 分、マトリクスは 128 × 128 とした。3D-SSP を用い CBD・PSP・PD とも症例ごとに正常テンプレートとの脳血流分布差異を解析した。その際に CBD 群では症状優位側を SPECT 画像の左側に統一し解析

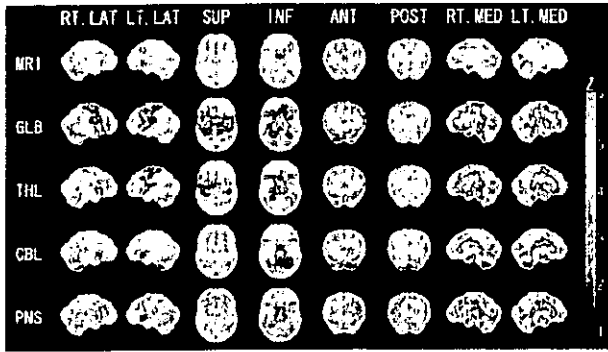


図1 CBDvs. PDにおけるCBDの脳血流低下部位

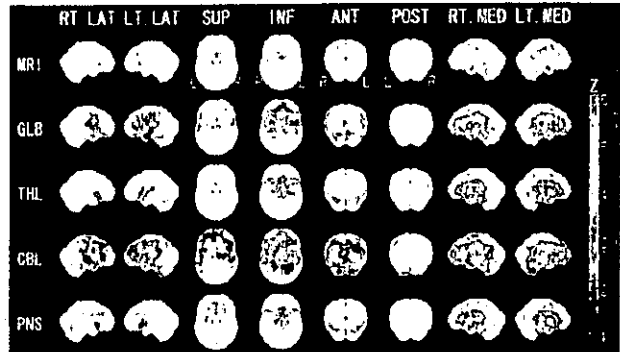


図2 PSP vs. PDにおけるPSPの脳血流低下部位

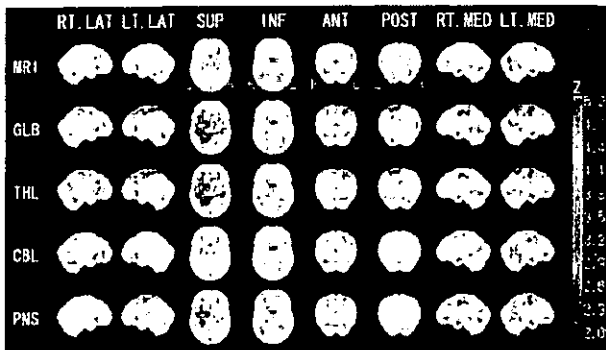


図3 CBD vs. PSPにおけるCBDの脳血流低下部位

GLB; 全脳基準, THL; 視床基準
 CBL; 小脳基準, PNS; 橋基準
 LAT; 外側面, SUP; 上面, INF; 下面
 ANT; 前面, POS; 後面, MED; 内側面
 RT; 右側, LT; 左側
 黒色部位が脳血流低下を示す

を行った。その後、CBD群・PSP群それぞれの血流分布について、PD群をdisease controlとして血流分布をt検定で群間比較した。またCBD群とPSP群の直接の血流分布もt検定で群間比較した。

結果

CBD群ではPD群に比べ両側中心溝前後で最も血流が低下していた。低下は症状優位側で有意に認められた。血流低下は頭頂葉の一部・補足運動野・小脳にも及んでいた。血流低下は大脳全体を基準点にした場合に血流分布異常が最も明確であり、視床・小脳・脳幹を基準点とした場合は血流低下部位が明らかではなかった(図1)。PSP群ではPD群に比べ両側中・下前頭回付近での血流分布低下を認め、前頭葉内側面での血流低下を認めた。補足運動野には低下はなかった。分布差は全脳・小脳を基準点とした場合により明確であり、視床・橋

を基準点とすると血流低下部位は明らかでなかった(図2)。CBD群とPSP群の比較では、CBDでは一次感覚運動野・頭頂葉・補足運動野で血流低下を認めた(図3)。

考察

従来CBD・PSPともPETを中心に特徴的な脳血流・糖代謝異常が報告されている。若干の差異があるもののCBDで障害側のlateral primary sensorimotor area, SMA, medial premotor area, parietal lobe, striatum, thalamusで脳血流・糖代謝低下が報告されている¹⁾²⁾⁶⁾⁷⁾。またPSPではbilateral dorsolateral premotor area, bilateral dorsolateral prefrontal area, bilateral anterior cingulate area, thalamus, ponsで脳血流・糖代謝が報告されている¹⁾²⁾⁶⁾⁷⁾。本検討でもCBDではprimary sensorimotor area, SMA, medial premotor area, parietal lobeの血流低下を認め、PSPではbilateral dorsolateral premotor area, bilateral dor-

solateral prefrontal area の血流低下を認めた。CBD 群・PSP 群とも大脳皮質の血流低下は従来の PET を用いた報告と同様の結果であり、3D-SSP を用いることで SPECT でも十分に両疾患の大脳皮質脳血流低下部位の評価が可能と考えられた。CBD 群では PD 群に比較し小脳血流が低下していたが、CBD における SPECT・PET での小脳血流低下の報告はない。対照群とした PD では小脳での血流増加が報告されており⁸⁾、CBD 群での血流低下が存在する可能性と、対照群とした PD 群の小脳血流増加により相対的に CBD 群で小脳血流低下が強調された可能性が考えられた。また CBD 群で視床・小脳・橋を基準点とした場合に大脳皮質の血流低下が明らかではなく、PSP 群では視床・橋を基準点とした場合に血流分布低下の画像化が明らかではなかった。全脳基準とした場合、CBD・PSP でのこれらの部位は PD 群に比較して血流低下を示しており、血流低下部位を基準点とすると他の血流低下部位を画像化することが出来ず、基準点として不適當であった。

また現在のバージョン3.5の3D-SSPでは疾患群と健常者群の直接群間比較がソフトウェアのシステム上不可能なため、比較しやすい PD を disease control とし群間比較を行った。今後群間比較が疾患群・健常者群で行えるようソフトウェアの改良が望まれる。

結論

3D-SSP を用いることで SPECT にて CBD・PSP 群の脳血流分布の差異を明らかにすることが可能であった。従来の PET などの定量画像を用いた報告と同様の結果が得られ、3D-SSP は SPECT を用いた大脳皮質血流の解析方法として有用であった。今後は正常群を対照とした検討が必要である。

文献

- 1) 長濱泰弘ほか: 神経内科 43: 22-29, 1995
- 2) Hosaka K, et al: J Neurol Sci 199: 67-71, 2002
- 3) 松田博史: 画像診断 23: 1296-1309, 2003
- 4) 森松光紀ほか: 厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業「神経変性疾患に関する研究班」1999年度研究報告書: 117-119, 2000
- 5) Litvan I, et al: Neurology 47: 1-9, 1996
- 6) Garraux G, et al: Mov Disord 15: 894-904, 2000
- 7) Nagahama Y, et al: Mov Disord 12: 691-696, 1997
- 8) Imon Y, et al: J Nucl Med 40: 1583-1589, 1999

「進行期に痴呆症状を呈したパーキンソン病患者の脳血流：非進展例との対比」 に関する研究

中川正法¹⁾、森 敏²⁾、牛嶋 陽³⁾、奥山智緒³⁾

1) 京都府立医科大学神経内科、 2) 松下記念病院神経内科、 3) 京都府立医大放射線科

研究要旨

パーキンソン病における痴呆発症の予測因子を明らかにする目的で、進行期に痴呆症状を呈したパーキンソン病病例の脳血流の経時変化を追究し、非進展例と対比した。対象はパーキンソン病患者9例で、進行期にprobable DLB(Dementia with Lewy bodies)の臨床症状を示した進展例3例、DLB症状を呈さなかった非進展例6例である。脳血流SPECTは、¹²³I-IMP ARG法と3D-SSP法で評価した。進展例は、パーキンソン病を発症してから7年目にDLB症状を発現していた。進展例では、病期の進行とともに脳血流の定量値がびまん性に低下し、とりわけ頭頂・後頭領域において低下の程度が著しかった。進展例と非進展例の脳血流を比較すると、進展例ではDLB症状発現前から頭頂・後頭領域においてすでに血流低下が認められた。将来痴呆を合併するパーキンソン病病例では、DLB症状の出現前から頭頂・後頭領域の血流低下を示すことから、脳血流SPECTにより病態の進展が予測されると考えられた。

はじめに

変性疾患の診療において、脳血流 SPECT は、i) 病型診断、ii) 早期診断、iii) 薬効評価、iv) 病期診断などに用いられている。これら以外にも、脳血流 SPECT を経時的に撮ることにより、病態の変化をとらえることができる。今回、進行期に痴呆症状を呈したパーキンソン病患者の脳血流の経時変化を解析することにより、本症における痴呆発症の予測因子を明らかにしようと試みた。

方 法

対象はパーキンソン病患者9例である。内訳は、進行期に痴呆症状を呈し、probable DLB(Dementia with Lewy bodies)の臨床診断基準¹⁾を満たした進展例3例、痴呆症状を呈さなかった非進展例6例である。

脳血流 SPECT は、定量は¹²³I-IMP ARG法で、統計処理画像は3D-SSP法²⁾で評価した。また、大脳の外側面に関心領域を14ヵ所設定し、z-scoreが高値の2領域を、進展群と非進展群と比較した。本研究は、倫理委員会での研究実施の承認を受けた上で実施し、対象者全員からインフォームドコンセントを文書で得ている。

結 果

症例報告

症例1. 発症時66歳の男性で、主訴は、字を書く時に手がふるえる。66歳頃から右手がふるえるようになり、70歳頃には動作緩慢と歩行障害を生じた。73歳には物忘れが起こり、その頃から「人の姿が見える」などの幻視が起こるようになった。73歳時のMini-mental State Examination (MMS)は17/30点で、時間と場所に対する見当識- 4点、計算- 5点、想起- 1点、口頭命令- 1点、書字- 1点、図形模写- 1点であった。脳血流SPECTは、70歳、73歳、74歳、75歳時に実施された(図1、2)。

症例2. 50歳発症の男性で、主訴は字が書きにくい。50歳頃から字が書きにくくなり、57歳頃には転倒傾向を生じた。59歳から頭が廻らなくなり、60歳には幻覚と日中の居眠りが著しくなった。60歳時のMMSは25/30点で、時間に対する見当識- 1点、計算- 3点、想起- 1点であった。脳血流は、55歳、60歳、62歳時に検査された(図3)。

症例3. 75歳発症の男性で、ふらつく、気が晴れない、手がふるえるなどで発症した。82歳頃には幻覚を生じ、84歳頃には日中の居眠りなど、認知機能の変動が見られるようになった。84歳時のMMSは28/30点で、計算- 1点、想起- 1点であった。脳血流は、83歳、

84歳時に撮影された(図4)。3症例はいずれも、パーキンソン病を発症してから7年目に痴呆症状を発現していた。

脳血流解析

上記3例ともに、病期の進行とともに定量値はびまん性に低下し、とりわけ頭頂・後頭領域において低下が著しかった。進展例と非進展例の脳血流を比較したところ、進展例ではすでに痴呆症状出現前から、頭頂・後頭領域において血流低下が認められた。

z-score 高値領域

非進展例と痴呆を呈した進展例それぞれにおいて、左右大脳半球の14ヵ所の関心領域のうち、2つのz-score 高値領域、すなわち血流低下の著しい部位を比較した。非進展例では、運動前野5、前頭前野4、上頭頂小葉、後頭葉内側、小脳がそれぞれ1であった。一方進展例では、ただしこれは痴呆発現前を解析対象としたが、上頭頂小葉2、後頭葉外側面2、後頭葉内側面2であった。

考察

進行期に痴呆を伴ったパーキンソン病患者の脳血流を、痴呆を伴わない例と比較した。進展例では、脳血流の定量値が徐々に低下し、とりわけ頭頂葉と後頭葉で著しかった。これらの例では、痴呆症状を示す前から、これらの領域で低下が認められた。このことは、

脳血流 SPECT が、パーキンソン病患者が進行期に痴呆を合併することの予測因子になると考えられた。

レビー小体型痴呆の臨床診断基準では、パーキンソン症状を発症してから1年以内に痴呆症状を呈したものを、レビー小体型痴呆と呼ぶことになっている。今回の3症例は、いずれも発症7年目に痴呆症状を呈しており、先の基準からはレビー小体型痴呆とはいえ、「痴呆をともなうパーキンソン病」ということになる。しかし、びまん性の血流低下と後頭領域に及ぶ後部型の血流低下パターンは、レビー小体型痴呆痴呆の低下パターンと同様である。そこで、脳血流の視点からみると、痴呆を呈する時期はあまり問題とはならず、「痴呆をともなうパーキンソン病」はレビー小体型痴呆と同様の病態であると推測される。

結論

脳血流 SPECT における頭頂・後頭領域の血流低下は、パーキンソン病患者が将来痴呆を合併する予測因子と考えられた。

文献

- 1) McKeith IG et al.: Neurology, 1113-1124, 1996
- 2) Minoshima S et al.: J Nucl Med, 1238-1248, 1995

表1. Z-score高値領域(左右各々14領域のなかでz-score高値2領域)

PD (n=6) 症例*		痴呆合併例(n=3)	
運動前野	5	上頭頂小葉	2
前頭前野	4	後頭葉外側	2
上頭頂小葉、後頭葉内側、小脳	各1	後頭葉内側	2

PD: 発症から1年以上経過しており、その後1-3年以内に痴呆症状なし。

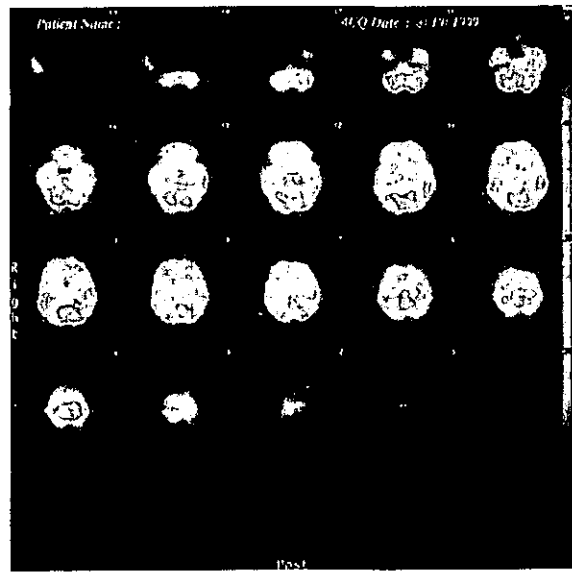
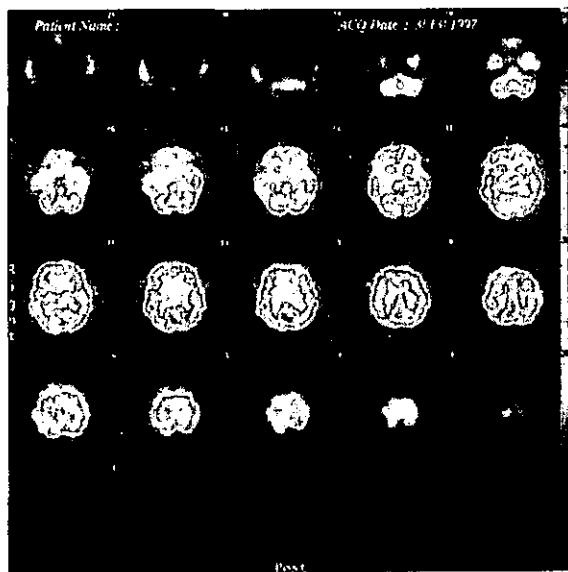


図1. 進行期に痴呆症状を呈したパーキンソン病患者の脳血流SPECT (症例1. 左:70歳時、右:73歳時) ;70歳時の脳血流は全般に低値だが、後頭葉は比較的高い集積を示している。73歳時には血流低下が進行し、後頭葉にも血流低下が認められる。

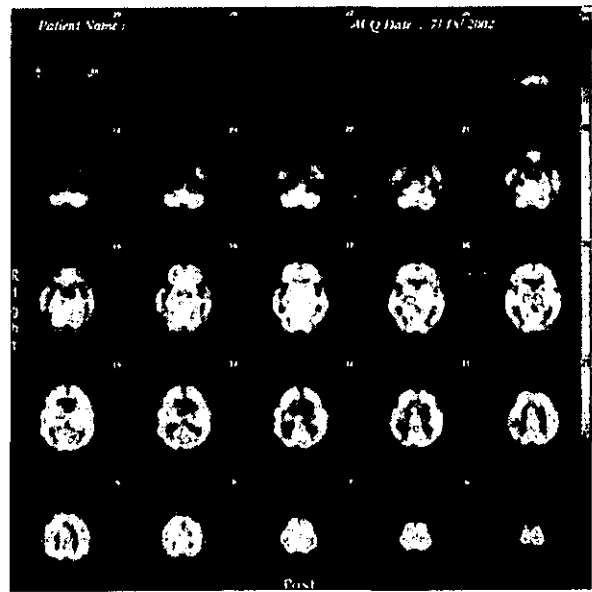
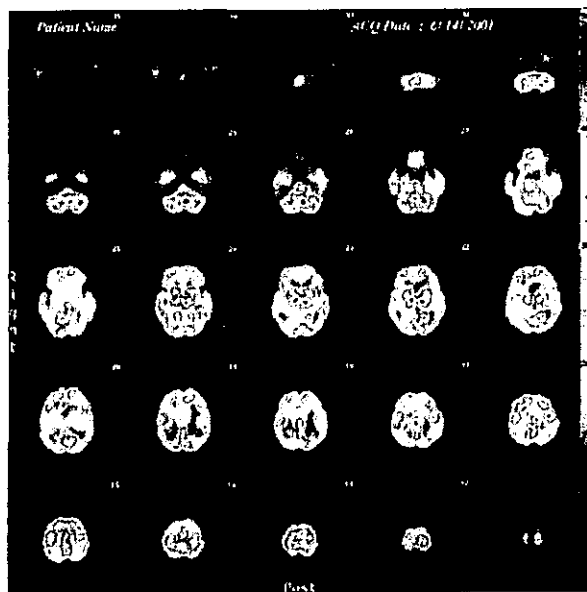


図2. 進行期に痴呆症状を呈したパーキンソン病患者の脳血流SPECT (症例1. 左:74歳時、右:75歳時) ;病期の進行とともに、後頭葉も含めた全般的な血流低下が進行している。視床の集積は比較的高い。

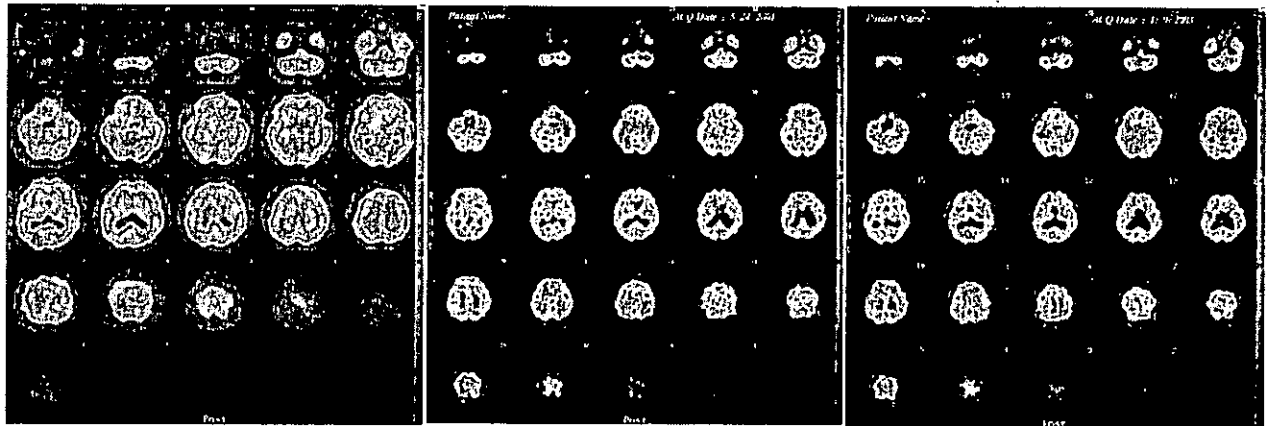


図3. 進行期に痴呆症状を呈したパーキンソン病患者の脳血流SPECT (症例2. 左: 55歳時、中: 60歳時、右: 62歳時) ; 55歳時に、すでに後頭葉を含めた全般的な血流低下が認められる。60歳および62歳の脳血流に著しい違いは見られない。いずれも後部型の血流低下パターンを示しており、低下域は後頭葉にまで及んでいる。

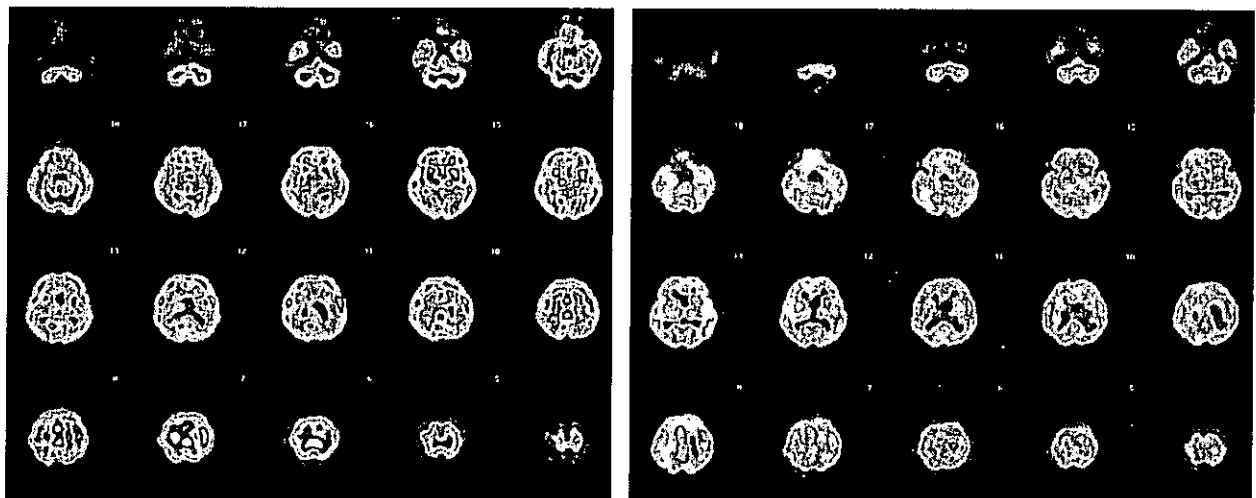


図4. 進行期に痴呆症状を呈したパーキンソン病患者の脳血流SPECT (症例3. 左: 83歳時、右: 84歳時) ; 後頭葉を含めた後部型の血流低下が見られ、それが進行している。

AAV-AAADC によるパーキンソン病の遺伝子治療

中野今治¹⁾、村松慎一¹⁾、池口邦彦¹⁾、藤本健一¹⁾、小澤敬也²⁾

1) 治医科大学神経内科

2) 自治医科大学

研究要旨 パーキンソン病（パ病）の遺伝子治療臨床研究の前臨床研究として、MPTP で作成したパ病モデルサルの一側線条体に芳香族Lアミノ酸脱炭酸酵素（AADC）遺伝子を搭載したアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターを注入した。その結果、L-DOPA 投与前には症状の軽快は見られなかったが、投与後には対側肢の運動障害が軽減し、血中濃度を反映して 3~4 時間効果が持続した。L-DOPA 非投与時の不随意運動は見られず、本手技は安全で有効な治療法と考えられる。

【はじめに】

パーキンソン病に対する遺伝子治療の戦略の一つとして、ドパミン合成に必要な酵素遺伝子を線条体で発現させる方法がある。脳内のドパミンは、チロシン→L-DOPA→dopamine の経路で合成される。前者の反応にはチロシン水酸化酵素（TH）とその補酵素テトラヒドロピオブテリンが関与し、後者の反応には芳香族アミノ酸脱炭酸酵素（AADC）によって触媒される。テトラヒドロピオブテリンの合成にはその律速段階酵素である GTP cyclohydrolase I（GCH）が重要な役割を果たす。私たちは、これまで TH、AADC、GCH の遺伝子を別々にアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターに搭載し、この三者の混合液をパーキンソン病モデルサルの線条体細胞に定位脳手術的に導入する臨床前実験を行い、運動障害の改善が得られることを報告してきた¹⁾。

一方、近年アメリカに於いて、パーキンソン病患者に対する胎児中脳黒質細胞移植の二重盲検試験が行われた²⁾³⁾。治療効果は無く、逆に移植群の半数以上で強い off-medication dyskinesia が認められた³⁾。細胞移植では、移植されたドパミン産生細胞を除去することが出来ない。

我々は、現在パ病の遺伝子治療を計画中である。今回は、臨床応用への第1段階として AAV-AAADC 注入の有効性と安全性をパ病モデルサルで検証した。

【方法】カニクイサルに選択的神経毒 MPTP を慢性投与してパーキンソン病モデルを作製した。カニクイサル 3 頭に MPTP を 0.25 mg/kg を週1回の頻度で約 6 ヶ月静脈投与した。その後、2 ヶ月間の安定期を経た後、レボドパとベンセラジドの合剤を（レボドパ 5 mg + ベンセラジド 1.25 mg）/ kg の量で経口投与しても運動機能に改善が見られないことを確認した。ついで AADC 遺伝子を搭載した AAV ベクター（AAV-AAADC）を 1×10^{13} genome copies / ml 含む液 45 μ l を一側の被殻に定位脳手術により注入した。L-dopa 投与前後の運動症状についてビデオ解析した。

【結果】我々のモデルサルでは、高用量の L-dopa 合剤経口投与によって、血中の L-dopa 濃度は上昇しても運動障害の改善が認められなかった（図 1）。

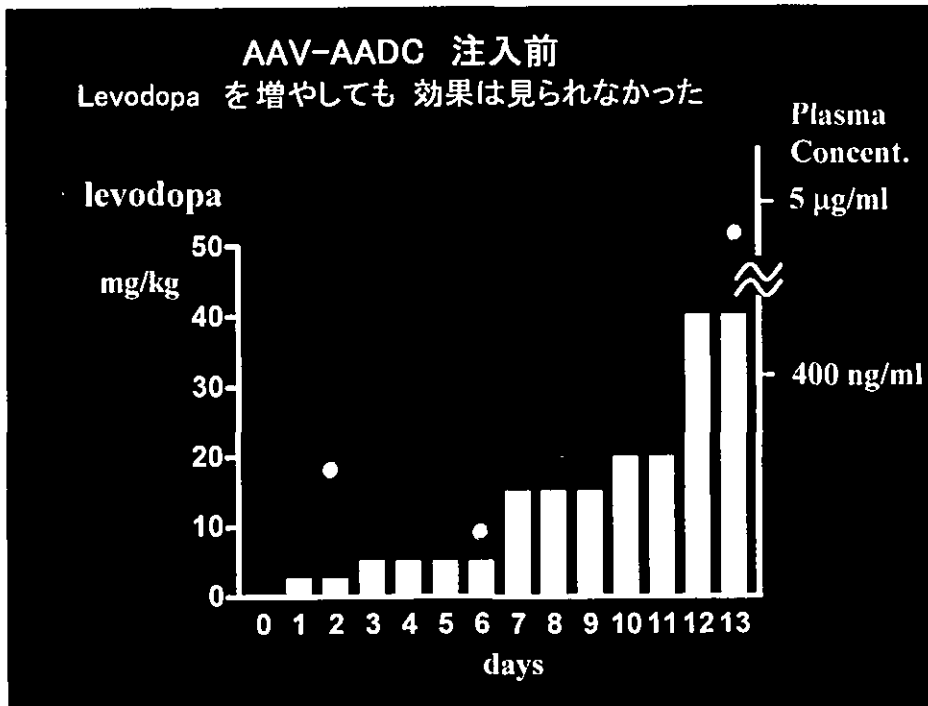


図 1: AAV-AADC 注入前のパ病モデルサル

その後、MPTP モデルサルの一側の被殻に AAV-AADC を注入したが、そのみでは注入後 2 週間経っても症状に改善は見られなかった。

2 週間後に L-dopa 合剤を投与後したところ、注入と対側の上下肢の運動障害が改善した (図 2)

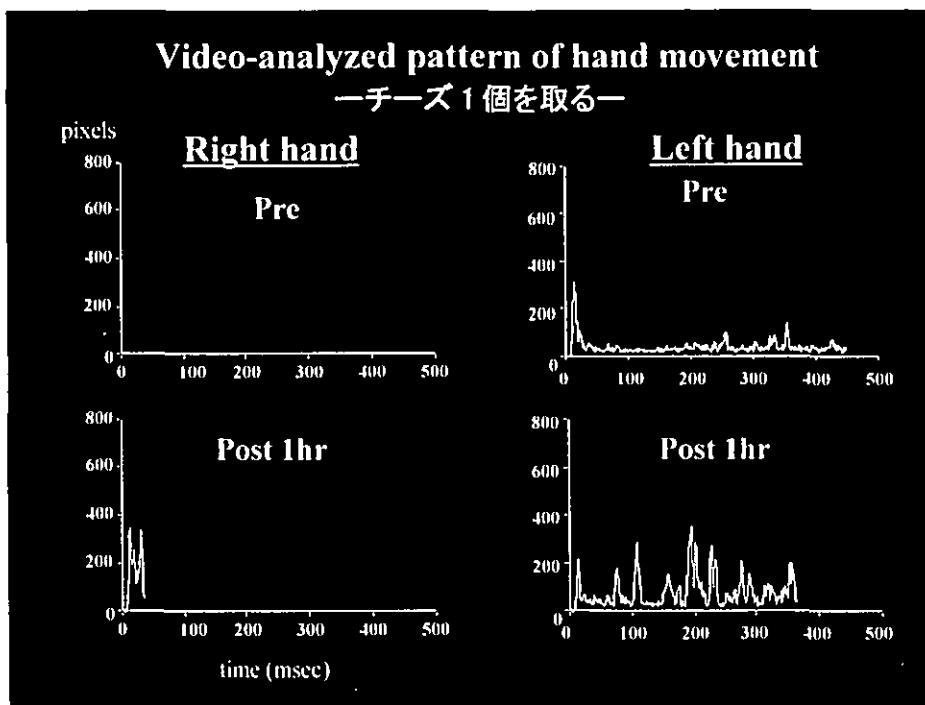


図 2: 右被殻に AAV-AADC を注入し、レボドパ合剤を投与したときの左手の運動改善。左手の pre の波形はノイズである。右手は post であってもほとんど餌に伸ばさない。

この効果は L-dopa の血中濃度を反映して経口投与後3~4時間持続した(図 3).細胞移植で問題となっているL-dopa合剤off時の不随意運動は認めなかつ

た.遺伝子導入 10 か月後の時点でも、L-dopa 合剤に対する反応性が保たれていた.

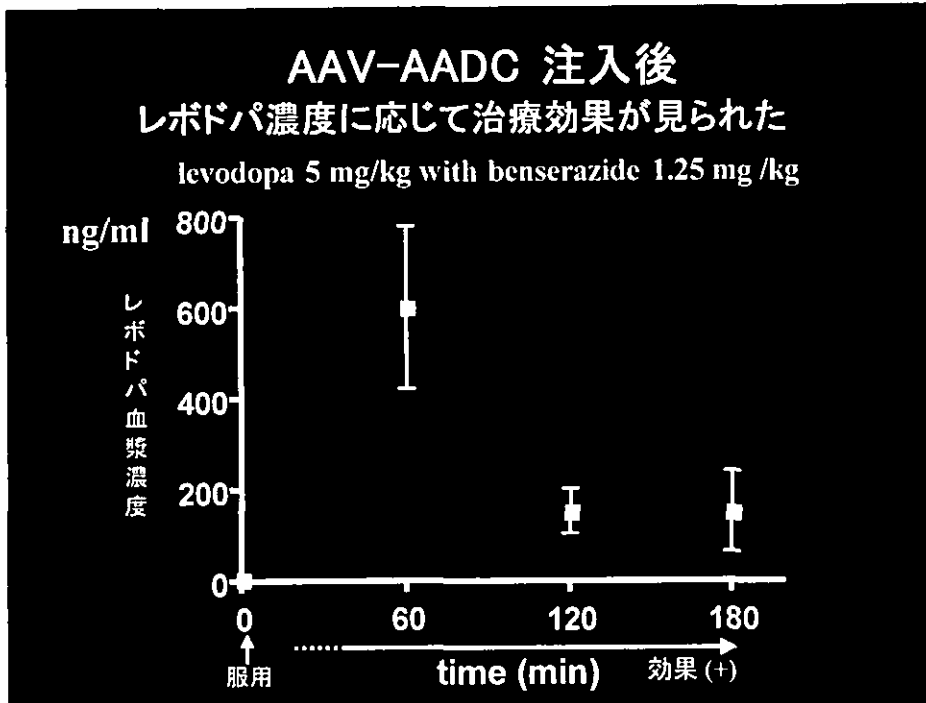


図 3:AAV-AADC 注入後には L-dopa の血中濃度に応じて治療効果が見られた.

【考察】

パ病患者に遺伝子治療を施す場合、有効性と安全性の両者を確保する必要がある.そのために、まず 1 種類のベクター AAV-AADC のみを被殻に注入する計画を立てている.これによって、AADC が線条体で発現されれば、経口投与したレボドパがそこでドパミンに変換され、効果を発揮することが予想される.実際、今回の実験では AAV-AADC の一側線条体注入後に対側手の運動に改善が見られた.しかも、投与したレボドパの血中濃度に応じて効果が持続した.

病的な線条体に於いて、ドパミンが過剰に産生されれば dopa-induced dyskinesia が生じることが予想される.実際、ヒト胎児黒質細胞の移植では off medication の状態に於いても高率にこれが出現している²⁾³⁾.われわれの今回の手法では、投与する L-dopa の量を調整することにより、線条体でのドパミンの過剰産生を防ぐことができる.実際、off-medication では dyskinesia は認められなかった.

さらに、本方法では、遺伝子導入 10 ヶ月以上経た時点でも、L-dopa 投与の効果が認められており、AADC の発現が維持されていると考えられた.

つまり、本方法は有効かつ安全であり、パ病遺伝子治療臨床研究の第一段階の治療法として有望な手法と考えられる.

【まとめ】

パ病の遺伝子治療として、AAV-AADC の線条体注入と L-dopa の経口投与の併用は有力で安全な手法と考えられる.

文献

1. Muramatsu S, Fujimoto K, Ikeguchi K, et al.: Behavioral recovery in a primate model of Parkinson's disease by triple transduction of striatal cells with adeno-associated viral vectors expressing dopamine-synthesizing

enzymes. Hum Gene Ther. 13:345-54,2002

2. Freed CR, Green PE, Brnze RE, et al.:
Transplantation of embryonic doamine neurons
for severe Parkinson's disease. N Engl J Med
344: 710-719, 2001
3. Olanow CW, Goetz CG, Kordower JH, et al: A
double-blind controlled trial of bilateral fetal
nigral transplantation in Parkinson's disease.
Ann Neurol 54: 403-414, 2003

パーキンソン病に対する機能的外科治療の適応時期 — アンケート調査結果 —

橋本隆男¹⁾、多田 剛²⁾

1) 信州大学第三内科、2) 信州大学脳神経外

研究要旨 パーキンソン病に対する定位脳手術の適応時期を検討するために、患者の満足度を中心としたアンケート調査を行った。信州大学の手術チームが手術を行った全患者を対象として46名の回答を解析した結果、要求される活動度（家庭や社会の中で必要とされる活動度）が高い患者ほど高い満足度が得られる傾向があり、術前のOnでHoehn & Yahr重症度4以上、Offで重症度5の患者は、高い満足度が得られなかった。手術適応の検討はこれらの因子を十分考慮すべきである。

はじめに

パーキンソン病に対する定位脳手術は、パーキンソン症状のみならずL-DOPAの副作用として生じる運動症状をも改善するためにQOLを上げる点で有用性が高い。しかし、侵襲的な治療のために、いつ定位脳手術を検討すべきか簡単な基準を作ることは困難である。手術適応に関与する因子は数多い。これまで検討されてきた因子は他覚的な運動症状の改善に関するものがほとんどであり、患者の側に立った検討は少なかった。我々は、過去5年間に定位脳手術を行ったパーキンソン病患者に対して、自分の受けた手術効果や時期についての満足度についてアンケート調査を行い、満足度に影響を与える因子を解析し定位脳手術の適応を検討した。

方法

信州大学と鹿教湯病院で定位脳手術を行ったパーキンソン病患者で術後1-5年経過した患者47名にアンケート調査を行い46名から回答を得た。うちわけは女性24名男性22名、Hoehn & Yahr重症度On 2.9 ± 0.8、Off 3.6 ± 0.8（表1）。術式は一側淡蒼球破壊術39名、一側淡蒼球刺激術3名、一側視床下核刺激術3名、両側視床下核刺激術1名であった（表2）。これら46名の患者の術後6ヶ月と現在のUPDRS Part II、術前の「要求される活動度（労働絶対必要4—労働不要0）」（表3）を調べた。アンケート項目は、

手術の有効性、満足度（大変満足5—大変不満足1）（表4）、時期が適切だったかどうか他、とした。

表1 症例の概略

sex	F 24 : M 22	
duration after surgery	patient number	
1 - 2 years	11	
2 - 3 years	13	
3 - 4 years	9	
4 - 5 years	13	
	mean	range
age at surgery (yrs)	63 ± 9	38 - 78
age at onset (yrs)	54 ± 9	27 - 72
duration of illness (yrs)	9 ± 4	2 - 19
Hoehn & Yahr stage		
on	2.9 ± 0.8	1 - 4.5
off	3.6 ± 0.8	2 - 5
UPDRS part II (ADL)(0 - 52)		
on	11.8 ± 7.3	1 - 27.5
off	16.4 ± 7.8	1.5 - 35.5