

200718035 A

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

老化に伴う認知症に有効な神経保護薬の臨床応用と

その評価法の確立

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 丸山 和佳子

平成20（2008）年3月

## 目 次

I. 総括研究報告	
老化に伴う認知症に有効な神経保護薬の臨床応用とその評価法の確立	1
丸山和佳子	
II. 分担研究報告	
1. 神経保護薬の臨床バイオマーカーの探索	4
丸山和佳子	
2. アルツハイマー病とパーキンソン病のMMSE失点の差と 脳ブドウ糖代謝に関する検討	9
新畑豊	
3. ニホンザルにおける rasagiline 投与が代謝に及ぼす影響の検討	14
鈴木樹理	
4. 神経栄養因子産生促進物質 Leu-Ile の抗うつ作用について	19
新田淳美	
5. 神経保護薬による細胞死の制御：ミトコンドリアにおける propargylamine-結合タンパクの同定と酸化還元状態の 調節を介した作用機序	30
直井信	
6. 神経保護薬の作用点(ターゲットプロテイン)の解明に関する研究	38
辻本賀英	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	45
IV. 研究成果の刊行物・別刷	51

## 厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

### 総括研究報告書

#### 老化に伴う認知症に有効な神経保護薬の臨床応用とその評価法の確立

主任研究者 丸山和佳子 国立長寿医療センター 研究所 老年病研究部長

研究要旨：老化に伴う認知症であるアルツハイマー病(AD)およびパーキンソン病(PD)に対する治療は神経伝達物質を補うことにより症状を緩和する対症療法であり、神経細胞の変性を抑制するものではない。そのため治療効果は一過性であり患者の症状は確実に進行する。これら神経変性疾患の原因療法として、脳内に蓄積した異常蛋白、特に A beta protein を除去する免疫療法を始めとして脳内への遺伝子導入療法、神経栄養因子注入療法、異常蛋白合成酵素阻害剤等が世界的な規模で研究されている。これらの治療法は細胞あるいは動物実験レベルでは良好な結果が得られているものの、安全性、侵襲性の問題を解決するために未だ臨床応用に時間を要すると考えられる。また、医療経済的にも、多くの患者に安価で安全な治療を提供することが求められており、患者に対する安全性が既に確立している薬剤による神経保護は保険財政面にとって有望なものである。

propargylamine 化合物は申請者らが中心となって研究を進めてきた神経保護薬候補である。現在その一部は B 型モノアミン酸化酵素阻害剤として欧米で認可されている。しかし、申請者らは本薬剤には酵素阻害とは独立した神経保護作用をもつことを報告した。propargylamine 化合物である rasagiline は、脳脊髄液中の神経栄養因子が持続的に増加させた。さらに、新たな marker として酸化ストレス関連タンパク質の測定法を開発した。今後、日本における rasagiline の臨床治験のシステム確立を行っていく。

丸山和佳子・国立長寿医療センター研究  
所 老年病研究部 部長

新畑 豊・国立長寿医療センター 先端  
医療部 第二アルツハイマー型痴呆科 医  
長

鈴木樹理・京都大学霊長類研究所 人類  
進化モデル研究センター 助教授

新田淳美・名古屋大学大学院 医学研究  
科 医療薬学・医学部 附属病院薬剤部  
助教授

直井信・財団法人国際岐阜バイオ研究所  
客員研究部門 (脳神経研究分野) 部長

辻本賀英・大阪大学大学院 医学研究科  
細胞死制御研究部門 教授

#### A. 研究目的

急速に超高齢化社会を迎えつつあるわが国において、要介護高齢者を支えるための人的、社会的負担は増大の一途をたどっている。わが国の要介護者の中でも認知障害をもつ高齢者については200万人に達するとの試算がなされており、早急に治療あるいは予防法の確立が望まれる。本研究課題では所謂“団塊の世代”が高齢化する2025年までに神経保護薬を実用化することを目標として研究を行った。本研究課題の神経保護薬候補としては既にtype B monoamine oxidase 阻害薬としてパーキンソン病患者に海外(米国およびEU)で認可されているrasagiline および食品中に存在すること

が報告されているLeu-Ileをリーディング化合物として研究を行った。

前年度までの研究で、rasagiline、Leu-Ileともに転写活性化を介して神経栄養因子などの神経保護に働くタンパク質を増加させることがin vitro、in vivoで示されている。本年度はrasagiline、Leu-Ileの効果をより詳細に動物モデルで検討するとともに、治験開始に向けてsurrogate markerの検索を行った。

#### B. 研究方法および結果

国立長寿医療センター神経内科物忘れ外来に通院中のアルツハイマー病(AD)28例、パーキンソン病(PD)について心理テスト(MMSE)およびFDG-PETを行い、早期診断および鑑別診断としての有用性を検討した。MMSEおよびFDG-PETはADとPDの鑑別には有用であるが、進行評価のためのsurrogate markerとしては感度が十分ではなかった(新畑)。

オス成獣ニホンザル5頭に対し

rasagiline 0.25 mg/dayを4か月間皮下注射し、経時的に脳脊髄液(CSF)および血漿を採取した。CSF、血漿中の神経栄養因子(BDNF、GDNF、NT-3、NGF)、血漿中の代謝関連ホルモン(insulin、IGF-1)、血糖、脂質(中性脂質、総コレステロール、LDL、HDL)を測定した。

Rasagiline投与後CSF中のBDNF、GDNFは増加し、血漿中insulinは低下した。血漿中

BDNF、GDNFはCSFと相関は認められなかった(丸山、鈴木)。末梢サンプル(血漿あるいは尿)で測定可能なsurrogate markerとして酸化ストレスの指標として酸化脂質の特異抗体を用いた定量系を立ち上げた(特許準備中)(丸山)。

一方、Leu-Ileをマウスに投与したところ海馬歯状回におけるBDNFの産生促進と細胞新生を示すBrdU陽性細胞数の増加が認められた(新田)。

神経保護薬のターゲットとして、細胞内酸化ストレスセンサーとミトコンドリアにおける細胞死シグナルについて検討を行った。glutathionylated proteinからのGSHの遊離が細胞内 redox signal の制御を行っていること、ミトコンドリアの膜透過性制御因子であるcyclophilin D が記憶、情動に関与することが明らかとなった(直井、辻本)。

(倫理面への配慮)

動物を使った研究については各施設の動物実験委員会の許可の基に動物愛護上の配慮をもって実験を行った。本年度ヒト認知症患者に関するデータ収集は医療行為の枠内で行われており、倫理上の問題は無い。しかしながら患者データの取り扱いについては細心の注意を払い、個人情報の漏えい等が起こらないようにした。

### C. 考察

上述の通り、rasagiline は既に欧米では

酵素阻害剤としてPDに認可されており、日本での治験は来年度(2008年)IsraelのTEVA社によって海外在住日本人に対し、phase I studyが行われる予定である。また、Leu-Ileについてはサケなどの食品成分として既に報告があり、構造的にも毒性をもつ可能性は低い。現在臨床応用に向けて計画が進行している。

神経保護薬を実際に患者に対し投与するに際して、最も重要な点は適切なsurrogate markerを設定することである。RasagilineはニホンザルのCSF中、そしておそらくは脳内の神経栄養因子を増加させることから、少数のphase I studyであればこれが臨床的に使用可能であると考えられる。しかしながら、多数の外来患者に対するsurrogate markerとしてはより汎用性が高いmarkerが必要である。酸化ストレスは神経変性疾患の病因および進行に密接に関わる分子であり、血漿あるいは尿のサンプル中の酸化ストレスマーカーをスクリーニングできるprotein chipの開発を現在進めている。

### D. 結論

経口投与可能な神経保護薬について、臨床的な研究を発展させるため、その作用メカニズムの解明とsurrogate markerを確立していく。

### E. 健康危険情報

なし

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

神経保護薬の臨床バイオマーカーの探索

主任研究者 丸山和佳子 国立長寿医療センター 研究所 老年病研究部長

研究協力者：永井雅代、大田久美子

国立長寿医療センター 研究所 老年病研究部 リサーチレジデント

研究要旨：

経口投与可能な神経保護薬のリーディング化合物として既にB型モノアミン酸化酵素の阻害剤としてヒトへの安全性が確認されている propargylamine 化合物 (PA) について研究を行った。霊長類(ニホンザル)に対し種々の量の rasagiline を投与した結果、0.25 mg/day を24週間皮下投与することにより脳脊髄液中(CSF)の神経栄養因子の顕著な増加が引き起こされること、栄養因子の増加は持続的であり、rasagiline 中止により4週間で投与前レベルに回復することが確認された。一方、ヒト臨床試験では、外来診察でCSFを採取することは困難であるため、血清において神経栄養因子を測定したが、CSFとの相関は明らかでなかった。rasagiline は神経栄養因子以外にも種々の神経保護蛋白質を増加させることが確かめられており、その一つは抗酸化酵素(SOD, catalase など)である。現在血清1 microl で測定可能なプロテインチップを共同開発しており、脂質、蛋白質、核酸などの過酸化物を測定している。Rasagiline の試験に向け、の神経保護効果をより客観的に評価するシステムを構築する。

## A. 研究目的

老化に伴う認知症に対し、経口投与可能な神経保護薬を臨床応用するためにはその効果を定量的に判定する方法論の確立が必須である。従来の randomized control study (RCT) においては、臨床症状と画像診断を用いて薬剤の効果を判定するものが殆どであった。神経保護薬の効果をこのような評価基準で判定するためには数百人規模の患者に対し5年以上の薬剤投与が必要であり、それにかかるコスト、時間は膨大である。また、個人個人に対し最適な薬量を決定することはできない。主任研究者らが中心となり研究を行ってきた propargylamine 化合物である rasagiline の治験開始に向け、神経保護効果の surrogate marker を開発するため研究を行った。

昨年までの研究で、rasagiline は脳内の神経栄養因子を増加させることが示唆されたため薬剤投与前後でのニホンザル脳脊髄液 (CSF) 中の神経栄養因子について検討を行った。

他方、脳の老化、あるいは神経変性には酸化ストレスが重要な役割を果たしている。特に脳は好氣的リン酸化によるエネルギー産生に対する依存度が高く、不飽和脂肪酸の含有量が多いという特性をもつ。加齢に伴い不飽和/飽和脂肪酸比が増加することは、シナプス形成による可塑性の低下を引き起こしたり、レセプターやチャンネルの機能の変化を引き起こす。また、パーキンソン病 (PD) やアルツハイマー病 (AD) の脳で酸化ストレスが増大していることについては多くの報告がある。そこで、酸化脂質、あるいは酸化脂質による修飾タンパク質を定量的に測定する方法論の確立を試みた。

## B. 研究方法

平成 17 年度に引き続き、ニホンザルに対する rasagiline の神経栄養因子、特に brain-derived neurotrophic factor (BDNF)、glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) の増加作用について慢性 (4 か月) 投与実験を行った。具体的にはオス成熟ニホンザル 5 頭に対し、0.25 mg/day の rasagiline を皮下注射し、0、1、2、4、8、12、16 週後にケタミン/キシラジン麻酔下に CSF および血漿を採取した。

得られた CSF と血漿中の神経栄養因子である brain-derived neurotrophic factor (BDNF)、glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF)、neurotrophic factor (NGF)、NT-3 については既報のごとく ELISA 法で測定した。

さらに、本年度は酸化ストレスマーカーを検討した。脳内の膜構成成分である n-3 系の不飽和脂肪酸には docosahexaenoic acid (DHA)、arachidonic acid (ARA) などがあるが、これらの脂肪酸は二重結合の部位で酸化を受け、自らヒドロペルオキシド等の脂質ラジカルを生成する。

生成された脂質ラジカルはタンパク質のリジン残基と結合し、それぞれ特異的な反応生成物を形成する。抗過酸化脂質抗体の中で DHA 由来、ARA 由来脂質ペルオキシドに対する特異抗体が得られたため、F334 ラット (28 および 96 週齢) の脳組織染色および immunoblotting、尿の ELISA 法を行った。

これらに対する特異抗体とそれを利用したアッセイ系の作製を試み、基礎的なデータが得られたため特許準備中である。

(倫理面への配慮)

ニホンザルを用いた実験は事前に京都大学霊長類研究所および国立長寿医療センター研究所の実験倫理委員会で審

査され許可を受けた。ラットおよびマウスを用いた実験は国立長寿医療センター研究所の実験倫理委員会で審査され許可を受けた。

#### C. 研究結果

ニホンザルの CSF 中の神経栄養因子は 0.25 mg/day の rasagiline 投与後全般に増加したが、特に BDNF、GDNF は顕著に増加し、投与後 8 週後には有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。NGF、NT-3 に関しては個体間のばらつきが大きく、有意差は得られなかった。CSF 中と血漿中の神経栄養因子には相関が認められなかった。酸化脂質ペルオキシドの染色像が老齡 (96 週齡) ラット海馬 CA3 領域に認められ、尿中の酸化脂質ペルオキシドも老齡ラットで増加していた。

#### D. 考察

本年までの研究により rasagiline はミトコンドリアシグナルを制御すると同時に、NF-kappa B を中心とした転写因子の活性化を介して抗アポトーシス分子である bcl-2、神経栄養因子である BDNF と GDNF、抗酸化分子である superoxide dismutase (SOD) や catalase、などを誘導することを見いだしている。

本年度の研究で、昨年引き続き rasagiline がニホンザルの CSF 中、そしておそらくは脳内の神経栄養因子を増加させることが確かめられた。しかしながら CSF と血漿中の神経栄養因子には相関が認められなかったことから血漿あるいは尿中の酸化脂質ペルオキシドの定量を行うための予備実験を行った。ラットに対する rasagiline 投与では、脳内だけでなく副腎や心臓の SOD、catalase の活性と蛋白量が増加することが確かめられているため、今後ニホンザルおよびヒトサンプルで分析を行う予定である。

#### E. 結論

来年度、rasagiline による phase I の治験が日本人に対し開始される。CSF 中の神経栄養因子 (BDNF および GDNF) および血漿および尿中の酸化脂質が rasagiline による神経保護作用のマーカーとして有用であるか否か、研究を進展させていく。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし



## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Shamoto-Nagai M., Maruyama W., Kato Y., Osawa T (2008) Oxidation of polyunsaturated fatty acids induces protein oligomerization and may initiate neuronal death process in Parkinson disease. *J. Clin. Biochem. Nutr.* In press.

Naoi M, Maruyama W, Yi H, Yamaoka Y, Akao Y, Shamoto-Nagai M, Tribl F, Tanaka M, Riederer P (2008) Neuromelanin selectively induces apoptosis in dopaminergic SH-SY5Y cells by S-glutathionylation: Involvement of the protein and melanin components. *J Neurochem* in press.

Shamoto-Nagai M, Maruyama W, Hashizume Y, Yoshida M, Osawa T, Riederer P, Naoi M. (2007) In parkinsonian substantia nigra, alpha-synuclein is modified by acrolein, a lipid-peroxidation product, and accumulates in the dopamine neurons with inhibition of proteasome activity. *J Neural Transm.* 14:1559-1567

Naoi M, Maruyama W, Yi H, Akao Y, Yamaoka Y, Shamoto-Nagai (2007) Neuroprotection by propargylamines in Parkinson's disease: intracellular mechanism underlying the anti-apoptotic function and search for clinical markers. *J Neural Transm Suppl.* 72:121-131.

Mizoguchi K, Sun N, Jin XL, Kase Y, Takeda S, Maruyama W, Tabira T (2007) Saikokaryukotsuboreito, a herbal medicine, prevents chronic stress-induced dysfunction of glucocorticoid negative feedback

system in rat brain. *Pharmacol Biochem Behav.* 86(1):55-61.

丸山和佳子 野菜 (植物性食品) 摂取の効果 臨床栄養 (2008) 112(2) 156-159

### 2. 学会発表

丸山和佳子、直井信：B型モノアミン酸化酵素阻害剤、ラサジリンによる神経保護作用の分子メカニズム 第48回 日本神経学総会 2007年5月16-18日、名古屋

直井信、丸山和佳子：ニューロメラニンによる神経細胞死 第48回 日本神経学総会 2007年5月16-18日、名古屋

丸山和佳子、永井雅代、大澤俊彦：多価不飽和脂肪酸：その光と影 第7回抗加齢学会 2007年7月20-21日、京都 (シンポジウム)

丸山和佳子：脂質過酸化が脳の老化と神経変性疾患に及ぼす影響 第3回アスタキサンチン研究会 2007年9月7日、名古屋 (基調講演)

永井雅代、丸山和佳子、橋詰良夫、Peter Riederer、直井信：B老化に伴う脂質過酸化はパーキンソン病の発症に関与するか 第80回 日本生化学大会 2007年12月11-15日、横浜

向蘭、松浦彰、津田玲生、丸山和佳子、大澤俊彦：Anti-ageing effect of food-derived polyphenols 第80回 日本生化学大会 2007年12月11-15日、横浜

Maruyama W. Role of oxidative stress in the pathogenesis of Parkinson's disease. 5<sup>th</sup> International Parkinson's disease Symposium in Takamatsu. Apr. 12-14, 2007 Takamatsu, Kagawa, Japan (Symposium)

Maruyama W., Ando F., Nagai M., Naoi M., Osawa T. Oxidation of fish oil-derived polyunsaturated fatty acid may initiate abnormal protein oligomerization and neuronal death in Parkinson's disease. International Conference on Food Factors for Health Promotion. 2007 Nov. 27-Dec. 1 Kyoto, Japan (Symposium)

なし

Shamoto-Nagai M., Maruyama W., Osawa T. Oxidation of polyunsaturated fatty acids induces protein oligomerization and may initiate neuronal death process in Parkinson's disease. International Conference on Food Factors for Health Promotion. 2007 Nov. 27-Dec. 1 Kyoto, Japan

Xiang L., Matsuura A., Tsuda L., Maruyama W, Osawa T. Anti-ageing effects of food-derived polyphenols. International Conference on Food Factors for Health Promotion. 2007 Nov. 27-Dec. 1 Kyoto, Japan

Naoi M, Maruyama W. "Mitochondria and survival and death of dopamine neurons" In: Dopamine 50 Year. May 30-June 2, 2007, Göteborg, Sweden

Naoi M. "Neuromelanin, a black box in Parkinson's disease" In "3/4 Phase-in-one's-life symposium for Peter Riederer: a life dedicated to Neuropsychiatry and its Pharmacotherapy" 27<sup>th</sup> April 2007, Würzburg, Germany

## 2. 実用新案登録

なし

## 3. その他

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

アルツハイマー病とパーキンソン病の MMSE 失点の差と脳ブドウ糖代謝に関する検討

分担研究者 長寿医療センター神経内科 新畑豊  
研究協力者 鷺見幸彦\*<sup>1</sup>、武田章敬\*<sup>1</sup>、岩井克成\*<sup>1</sup>、山岡朗子\*<sup>1</sup>、  
加藤隆司\*<sup>2</sup>、伊藤健吾\*<sup>2</sup>

\*<sup>1</sup>長寿医療センター神経内科、\*<sup>2</sup>同長寿脳科学研究部

研究要旨：

MMSEは認知症のスクリーニングテストとして汎用されている簡易高次脳機能検査である。パーキンソン病（PD）とアルツハイマー病（AD）のMMSE得点の失点内容を比較すると、3単語の想起はADでより早期より失点を認めやすいが、PDではMMSE総得点21以下では作図問題が不良の例が増え、計算課題の低下が総得点が同程度のADより見られやすい傾向が見られた。MMSE 総得点が24以上の早期ADと15-23点の中度AD、およびMMSE総得点がこれに一致する2群のPDのPETで示されるブドウ糖代謝低下パターンを検討した結果、ADではMMSEが一般にいわれる認知症診断のカットオフ値以上の時点でも健常者に比し後部帯状回、海馬のブドウ糖代謝の低下がみられ、MMSE得点がさらに悪化した例では、頭頂、前頭葉外側面に低下の広がりがみられた。PDではMMSE得点が良い群でもADより明らかな大脳皮質のブドウ糖代謝低下がみられ、後頭葉の低下が顕著であった。後部帯状回の低下はADより後方に目立ち海馬は保たれていた。MMSEがより低下した例では前頭葉内外側面の低下が目立った。これらの機能低下部位は、ADでの即時記憶低下、PDでの視覚認知低下、working memory関連課題の得点低下に関連するものと推察された。

## A. 研究目的

Mini - Mental State Examination (MMSE) はFolsteinら (1975) により開発された簡易高次脳機能検査であり、認知症のスクリーニングテストとして広く用いられている。MMSEは、言語性テスト7項目と動作性テスト4項目の計11問で構成されている。最高得点は30点であるが23点以下が認知症の疑いがあるとされる。しかしながら、総得点が同様でもその失点内容により病態が異なる可能性が考えられる。老年期の認知機能低下を伴う疾患であるアルツハイマー病 (AD) とパーキンソン病 (PD) についてその失点内容の違いを検討した。一方、脳血流SPECT、脳糖代謝PETなどの脳機能画像診断法は認知症性疾患の客観的脳機能低下の評価のツールとして有用である。これら2疾患における脳機能画像上の差異を明らかとするため<sup>18</sup>F-FDG PETによるブドウ糖代謝分布の検討を加えた。

## B 対象 および 方法

MMSE得点内容の評価については総得点が14-28点のAD28例(当初Mild Cognitive Impairmentと診断した例を含む)、およびPD44例を対象とした。さらに各々の疾患群をMMSE22点以上の軽度認知機能低下群 (ADe 17例, PDe 24例) と14-21点の中度認知機能低下群 (ADa 11例, PDa 20例) に分け検討を加

えた。MMSE得点の群間比較は分散分析を行いFisherのPLSD法を用いて多重比較を行った。

PET画像の検討では一般的な認知症診断のカットオフ得点である23/24を境とし、軽度群 (ADe 8例, PDe 17例) , 中度群 (ADa 17例, PDa 15例) に分け解析を行った。両群の対照群として、認知機能障害が明らかでない健常生活高齢者13名 (平均68.5±5.3歳) の画像を用いた。PET装置はシーメンス社製ECAT EXACT HR47を用いた。装置の分解能は水平方向が半値幅 (FWHM) 4.5mmで、垂直方向3.125mm間隔の47スライスの画像を収集した。外部線源を用いたトランスミッションスキヤンをあらかじめ実施し吸収補正を行なった。FDG-PETは、FDG静脈注射後36分より60分の3フレームの加算画像を作成し検討に用いた。画像の評価は統計画像解析ソフトウェアSPM2を用い、全脳を3次元的に解析した。

## (倫理面への配慮)

PET 検査は当施設倫理委員会の承認の下実施された。PET 検査前に、全ての対象者及びその家族に対し、検査の目的と内容の説明を行い、書面にて同意を得た。

## C 結果

MMSE総得点を高得点順に配列すると

PDでは21点を境に2つの五角形の模写の作図問題不良例がめだつた。一方ADでは総得点が高い者でも3つの語の遅延再生の低下が目立った(図1)。

MMSE22/21点を境とし、AD、PDの両者を各々2群に分け以下の検討を行った。ADe群とPDe群の間にMMSE総得点の有意な差はみられなかった(各々平均±標準偏差、23.7±1.8点、24.5±1.6点)。同様にADa群とPDa群の間にもMMSE総得点の差はみられなかった(18.5±2.4点、18.3±2.0点)。日時の見当識は軽度群、中度群ともに両疾患での得点の有意差はみられなかった。場所の見当識は軽度群ではADに低下の傾向が見られるが、統計学的有意水準以下であった。中度群ではADでPDより低下の傾向が見られた。(満点5点、2.6±0.9、3.6±1.2点、 $p<0.05$ )。文の復唱、作文、図形模写は中度群でADとPDの間に差がみられ、PDaで不良であった( $p<0.01$ )。7の引き算を繰り返す計算では軽度群でPDにより低下がみられ( $p<0.01$ )、中度群はAD、PDともに低下しており両者に差はみられなかった。3単語の復唱(直後再生)は4群の間に差を認めず、すべてに良好な結果であったが、3単語の想起(遅延再生)はADでは軽度群、中度群ともにPDより低下がみられた(満点3点: ADe, 0.9±0.7; PDe 1.6±1.1点;  $p<0.05$ : ADa, 0.4±0.7; PDa 0.7±1.1点;  $p<0.05$ )。

PET画像の検討では、C群との比較においてADでは早期群では帯状回後部に最も強く頭頂後頭溝に向け広がる糖代謝低下が特徴的であり海馬の低下もみられた。後頭葉は保たれていた。中度群ではさらに頭頂葉、中前頭回付近の低下がみられた。一方PDでは後頭極より後頭葉内外側面にかけての糖代謝低下が目立ち、側頭、前頭部の糖代謝低下がADより広範にみられた。海馬の低下は明らかではなかった。ADとPDの比較ではADでは軽度群同士の比較においても帯状回後部、海馬の低下が強く前頭葉の低下もみられた。一方PDでは後頭極付近の低下が強くみられた。中度群ではこの所見がさらに強くみられた。(図2)

#### D 考察

ADとPDではMMSE総得点と同様でもその失点の内容が異なり、ADでは早期より3語の遅延再生の低下が目立つ事が特徴であり、また、日時の見当識がPDよりおかされやすい傾向が明らかとなった。7の引き算を繰り返す計算の低下が総得点低下が軽度の段階においてはPDにおいてADより目立ちやすい。この問題の提示は100をスタートとして7をひく計算を繰り返し行った答えをいうようにのみ提示しており、前回の計算の結果と引く数字が7である事を同時に記憶にとどめ実行する必要がある

ためworking memoryを含んだ課題でもある。文の復唱、作文、図形模写は軽度群ではAD、PDともに比較的保たれやすい項目であるが、MMSE総得点が21点程度以下となるとPDにおいてより障害が出やすい。このようにPDでは動作性課題、working memoryの要素を持つ課題がより障害されやすく、ADの記銘力障害が目立つ点と内容が異なる。脳糖代謝低下はPDでは視覚系に關与する後頭葉より側頭葉の低下、working memoryに關連するとされる前頭葉の低下がADより早期からみられ、一方ADではPapez回路に属する帯状回後部と海馬に比較的限局した低下が早期よりみられる点は、これらのMMSE得点内容分布の違いを反映しているものと考えられる

## E. 結論

MMSE 総得点が同程度でも AD と PD では得点内容が異なり、AD では3単語の想起の失点が早期よりみられやすく、PD ではworking memoryを含む課題の失点が多い。また両疾患では初期より異なる脳糖代謝分布を呈する。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

○Nihashi T, Yatsuya H, Hayasaka K, Kato R, Kawatsu S, Arahata Y, Iwai K, Takeda A, Washimi Y, Yoshimura K, Mizuno K, Kato T, Naganawa S, Ito K.

Direct comparison study between FDG-PET and IMP-SPECT for diagnosing Alzheimer's disease using 3D-SSP analysis in the same patients.

Radiat Med. 2007 Jul;25(6):255-62.  
Epub 2007 Jul 27.

○新畑豊, 加藤隆司, 伊藤健吾  
分子イメージング -パーキンソン病-  
日本臨牀, 65(2) : 327-331, 2007

○加藤隆司, 伊藤健吾, 新畑豊  
高齢者にみられる画像診断—高齢者にみられる画像変化を中心に—核医学  
日独医報52(4);22-31, 2007. 12.

### 2. 学会発表

○Kato T, Ito K, Arahata Y, Washimi Y, Iwai K, Yamada T, Abe Y, Nakamura A, Hatano K, Nagano-Saito A, Kawatsu S, Nihashi T.

Artifacts in a statistical image analysis caused by the mismatch in spatial resolution of images.

BrainPET' 07 May 22,  
2007, Osaka International Convention Center, Osaka, Japan.

○Kato T, Arahata Y, Ito K, Hatano K, Nakamura A, Washimi Y, Iwai K, Takeda A, Nihashi T, Kato R.

Artifacts on statistical comparisons of image data sets having mismatched spatial resolution: A PET and MRI simulation study.

The 54th annual meeting of Society of Nuclear Medicine.

June 5, 2007. Washington D.C. Convention Center, Washington D.C. USA.

○加藤隆司, 伊藤健吾, 篠野健太郎, 新畑豊, 二橋尚志, 岩井克成

アルツハイマー病診断において参照領域変更がZスコア画像におよぼす効果の検討

第47回日本核医学会学術総会 2007. 10. 仙台. 核医学44(3):302. (2007. 10)

○武田章敬, 山岡朗子, 岩井克成, 新畑豊, 鷺見幸彦, 加知輝彦, 伊藤俊英, 坂田慶太, 小林麗, 向井榮一郎, 横澤敏也, 川頭祐一, 小池春樹, 祖父江元

多発脳神経障害と多発神経根障害を示した悪性リンパ腫の一例  
臨床神経学47(9): 610(2007. 09)

○文堂昌彦, 中坪大輔, 加藤隆司, 篠野健太郎, 中村昭範, 鷺見幸彦, 新畑豊, 武田章敬, 岩井克成, 山岡朗子, 早坂和正, 二橋尚志, 伊藤健吾

F[18]-DOPA PETによる正常圧水頭症の鑑別診断の試み.

第66回日本脳神経外科学会総会, 2007. 10. 4, 東京.

○二橋尚志, 早坂和正, 長縄慎二, 新畑豊, 岩井克成, 武田章敬, 山岡朗子, 小長谷陽子, 鷺見幸彦, 吉山頭次, 服部英幸, 佐竹昭介, 三浦久幸, 遠藤英俊, 八谷寛

認知症患者における後部帯状回の機能異常に関する脳血流シンチとMRスペクトロスコピーの相関関係に関して  
第20回 臨床MR脳機能研究会, 2008. 2. 15. 東京

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

ニホンザルにおける rasagiline 投与が代謝に及ぼす影響の検討

分担研究者 京都大学霊長類研究所准教授 鈴木樹理

A. 研究目的

今までの研究によってニホンザルへの rasagiline 投与実験により体内の神経栄養因子およびアミロイドベータタンパク濃度が変化し、それに季節性のある可能性を季節変動が著しい性ステロイド（テストステロン）動態との比較によって示した。性ステロイドが rasagiline 投与効果に影響を与えるという確証は得られなかったが、rasagiline 投与は性ステロイド分泌動態に悪影響を及ぼさず、むしろ健康維持に役立つことが示唆された。

今年度は、健康状態の指標となり且つ実験動物での寿命延長実験時に変化が認められた血液中の代謝関連ホルモン及び生化学的指標物質について rasagiline 長期投与における変動を明らかにし、rasagiline 投与による健康維持及び寿命延長効果の確認を行った。

B. 研究方法

2005 年および 2006 年に rasagiline 投与実験を行った血液試料を用いた。対象とした個体は兩年とも同じ個体を用いた。具体的には、2005 年は、ニホンザル成獣オス（年齢は 8 歳から 10 歳）を用い、3 回実験を行った。

実験 1

6 月 22 日～7 月 20 日  
(day 0                      day 29)  
Rasagiline 0.25 mg/頭  
28 日間皮下投与  
投与群 4 頭

実験 2

8 月 17 日～9 月 13 日  
(day 0                      day 28)  
Rasagiline 0.125 mg/頭  
27 日間皮下投与  
投与群 5 頭

実験 3

10 月 19 日～12 月 13 日  
(day 0                      day 55)  
Rasagiline 0 mg/頭  
投与群 オス 5 頭



2006 年は、100 日間の長期投与実験を行った。

6 月 16 日～9 月 24 日

(day 0            day 100)

Rasagiline 0.25 mg/頭

投与群 オス 5 頭

それぞれ実験開始日、終了日、終了後 30 日を含め、ケタミン、キシラジン混合麻酔下で適宜 CSF と血液を採材した。それらの血液中の代謝関連ホルモン（インスリン、インスリン様成長因子 1 型 (IGF-1)) および生化学的指標（血糖値、中性脂肪、総コレステロール量、低比重リポタンパク (LDL)、高比重リポタンパク (HDL)、アミラーゼについて測定し、経時変化を明らかにした。更に今までの研究によって明らかになった季節変動の有無についても昨年度明らかにした性ステロイド（テストステロン）濃度変化を指標として検討を行った。

(倫理面への配慮)

実験は事前に京都大学霊長類研究所の実験倫理委員会で審査され許可を受けた。

### C. 研究結果

インシュリン：2005 年及び 2006 年の実験共に同じ傾向を示した。即ち、投与実験開始後やや減少して安定し投与終了後上昇した。各実験間の血中濃度の差異は認められなかった。

IGF-1：2005 年と 2006 年の実験で傾向が異なっていた。2005 年の実験では、実験開始後時間経過と共に濃度が緩やかに下降し、投与を行わなかった実験 3 期間中もその傾向は一貫していた。一方 2006 年の実験では、実験開始後濃度上昇が見られ、投与 38 日目に一時的に濃度の低下が見られたものの、その後は緩やかに上昇し、投与終了後も持続した。

2005 年の実験 1 開始時および 2006 年の実験開始時の血中濃度に差異は認められなかった。

血糖：ニホンザルの血糖値は、通常 100 mg/ml 以下であるが、2005 年および 2006 年の実験時の血中濃度は 100 から 200 mg/ml の範囲で変動しており、高血糖状態であった。実験による経時変化は認められなかった。投与終了後および無投与実験期間中も血糖値は低下しなかった。

中性脂肪：2005 年実験では開始後下降し続け、次の実験開始時には回復した。これは rasagiline 投与がなかった実験 3 でも同じ変化であった。2006 年実験では、投与 38 日目に一時的に濃度の低下が見られたものの、その後は緩やかに上昇し、投与終了後も同じ濃度を持続した。2005 年の実験 1 開始時および 2006 年の実験開始時の血中濃度に差異は認められなかった。

総コレステロール：2005 年の実験 1 及

び2では、投与に伴い徐々に濃度が低下した。投与を伴わない実験3では、投与12日目以降上昇し最終投与後もその傾向が続いた。2006年の実験では、実験期間中はほとんど変動が見られず、終了後にやや上昇した。2005年の実験1開始時および2006年の実験開始時の血中濃度に差異は認められなかった。

LDL：LDLの経時変化は、総じて総コレステロール量のそれと同様であった。即ち、2005年における実験1及び2では、投与に伴い徐々に濃度が低下し、投与を伴わない実験3では、投与12日目以降上昇し最終投与後もその傾向が続いた。2006年の実験では、実験期間中はほとんど変動が見られず、終了後にやや上昇した。2005年の実験1開始時および2006年の実験開始時の血中濃度に差異は認められなかった。

HDL：2005年の実験1及び2においては濃度の経時変化は見られなかった。実験2終了後徐々に濃度が上昇し、実験3終了後までその傾向が続いた。2006年実験では濃度の経時変化は認められなかった。2005年の実験1開始時および2006年の実験開始時の血中濃度に差異は認められなかった。

アミラーゼ：2005年の実験による経時変化は認められなかった。投与終了後および無投与実験期間中も血中濃度は低下しなかった。2006年の実験では、投与期間中は濃度変化が見られなかつ

たが、投与終了後やや濃度が低下した。アミラーゼの血中濃度は、ニホンザルでも変動が大きく50~150 U/L程度であるが、2005年の実験時では300 U/L前後、2006年の実験時には100 U/L程度を示した。

#### D. 考察

rasagiline 投与実験時の血中濃度の経時変化パターンを全体で分類すると、変動のないもの、上昇するもの、下降するものになる。変動のないものは、血糖、HDL およびアミラーゼであった。これらは、2005年及び2006年の実験共に同様の傾向を示し、rasagiline 投与によって影響されないことが示唆される。また、2006年実験時の総コレステロール、同年実験時のLDLでも同様であった。上昇するものは、rasagiline 投与による促進効果であることが期待されるが、2006年実験時のIGF-1、同年実験時の中性脂肪であった。しかしながら、両物質共に2005年実験時には下降しており、rasagiline の影響（効果）を確認することができなかった。他に下降するものには、2005年実験時の総コレステロール及び同年実験時のLDLであった。総コレステロール及びLDLでも、2006年実験時には変化を認めず、rasagiline による抑制効果を確認することができなかった。また、インス

リンは、全ての投与実験で濃度が下降し、更に2005年のrasagiline無投与実験時及び2006年実験時の投与終了後に濃度が上昇しているため、rasagilineによる抑制効果が示唆される。

昨年度報告したように、体重及びテストステロン濃度の変化および日常観察から判断されるサル健康状態は、2005年より2006年の方が良好であった。2005年に濃度の経時的変化が減少し、一方2006年には上昇または変化が認められなかった物質(IGF-1、中性脂肪、総コレステロール、LDL)は、個体の健康状態を如実に反映していることが示唆される。

中性脂肪は、rasagiline投与がなかった2005年実験3でも下降傾向を示したが、これは実験によるストレスの影響が考えられる。2006年実験時には上昇傾向を示したことから、2006年実験時には実験個体が実験手技に馴化し、ストレスの影響がかなり小さくなったと判断することができる。同様に2005年で下降傾向を示した物質のうち2006年で異なる反応を示した物質については、2006年における反応の方がストレスの影響が最小化されたrasagiline投与の純粋な影響であると考えられる。

以上のことから、ニホンザルの成獣オスにおけるrasagiline投与による

代謝への影響を見ると、rasagilineが促進効果を持つものがIGF-1及び中性脂肪であり、血糖、総コレステロール、LDL、HDL及びアミラーゼには影響を与えず、インスリンに対して抑制効果を持つことが示唆される。

全個体全ての実験に於いて、インスリン濃度が増加しているにもかかわらず、高血糖値を維持した現象については、原因が不明である。前述のように2005年より2006年の方が良好な健康状態であったが、血糖値に関しては両年共に同じであった。通常、測定するサンプルは凍結保存することはなく、直ぐに用いることが前提とされている。今回の場合には、 $-80^{\circ}\text{C}$ で凍結保存したサンプルを用いており、アーティファクトである可能性も否定できない。

今回、ニホンザルにおけるrasagiline投与が代謝に及ぼす影響の検討したが、2005年と2006年では異なる結果を得られたものがあり、今回の成果を確認するために同一個体を用いて研究を継続する必要がある。

## E. 結論

ニホンザルの成獣オスにおけるrasagiline投与による代謝への影響を見ると、rasagilineが促進効果を持つものがIGF-1及び中性脂肪であり、血糖、総コレステロール、LDL、HDL及びアミラーゼには影響を与えず、イン

スリンに対して抑制効果を持つことが示唆される。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Spontaneous smile and spontaneous laugh: An intensive longitudinal case study. *Infant Behavior and Development* 30: 146-152, 2007.

Development of the laryngeal air sac in chimpanzees. *International Journal of Primatology* 28: 483-492, 2007

##### 2. 学会発表

Three decades' collected cases of bloat in the macaques. The 2<sup>nd</sup> Asian Conservation Medicine/Wildlife Pathology Workshop. Abstracts, 2007.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし