

厚生労働科学研究研究費補助金

こころの健康科学研究事業

定量的神経画像法による線条体疾患の病態把握と治療法開発

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 飯田秀博

平成20（2008）年 4月

目 次

I.	総括研究報告	
	定量的神経画像による線条体疾患の病態解明と治療法開発 -----	1
	飯田秀博	
II.	分担研究報告	
	拡散テンソル画像を用いた統合失調症における白質、基底核微細構造異常の検討 -----	11
	大西 隆	
	定量的脳機能画像法による線条体構造と機能病態の把握 -----	15
	林 拓也	
	ドーパミン機能の多面的評価と線条体機能病態の把握 -----	20
	渡部浩司	
	MRIを用いた脳機能の解明 -----	24
	佐藤博司	
II.	研究成果の刊行に関する一覧表	30
III.	研究成果の刊行物・別刷	33

厚生労働科学研究費補助金(こころの健康科学研究事業)

総括研究報告書

定量的神経画像による線条体疾患の病態解明と治療法開発に関する研究

主任研究者

飯田秀博

国立循環器病センター研究所放射線医学部・部長

研究要旨:多くの精神・神経疾患の病態に関与する線条体の機能・構造は動物脳での知見にもとづいておりヒト脳での解明は進んでいない。本研究は、精度高い非侵襲的定量的神経画像法の開発を切り口として、線条体の機能・線条体疾患の病態解明、新規治療開発の研究を進めた。具体的には、MRI 拡散強調画像法による線条体線維連絡性の解明と病態解明、PET や機能的 MRI 画像法による線条体機能の解明、定量的画像法を用いた新規治療法開発、を行った。19 年度の成果として①MRI の撮像法・解析法の高精度化に成功し、サル脳での侵襲的方法との比較により精度の確認・最適化が進み、正常ヒト脳での線条体線維連絡性の特徴がわかった。②従来 in vivo でしか行えなかったドーパミン受容体の最大密度と親和性の評価を一回の PET 撮影により in vivo で定量評価する方法を開発し、パーキンソン病モデル動物やパーキンソン病患者での検討を行える状況となった。③機能的 MRI 画像により、薬物依存症において、背側前頭前野が薬物欲求の制御に中心的役割をもつことを明らかにした。④機能的 MRI 画像法により音楽のメロディ認知に関わる脳機能部位を明らかにした。従来、メロディの認知は一次聴覚野レベルで処理されていると考えられてきたが視空間認知にも関わっている連合野・右頭頂葉で処理されていることを発見した。⑤統合失調症において微細神経線維構築の異常と、遺伝学的特性の違いとの関連性を明らかにした。③定量的神経画像法により新規治療法を開発するための安定したサル病態モデル作成法・病態評価法を確立し、ES 細胞や骨髄間質細胞由来神経細胞移植の有効性を精度高く評価できる状況とした。これらの成果から従来動物脳や侵襲的手法でしか行えなかった神経解剖・機能の評価が、非侵襲的な画像法によってかなり高い精度で評価できることがわかってきた。従来動物でしか調べられていない線条体の解剖と機能を、ヒトにおいて解明することは重要な課題で今後画像法による継続した線条体の病態の解明研究を進める必要がある。

分担研究者

林 拓也 (国立循環器病センター研究所放射線医学部・室長)、渡部浩司 (国立循環器病センター研究所放射線医学部・室長)、大西 隆 (国立精神神経センター精神保健研究所心身医学研究部・協力研究員)、佐藤博司 (国立循環器病センター研究所・先進診断機器開発室・室長)

A. 研究目的

線条体は前頭葉とともに、意欲・認知に基づく行動や運動制御に関わり、多くの神経難病、精神疾患の発症機構にも関与する。しかし線条体の構造・機能の詳細はサルなど動物脳における侵襲的手法による知見を基にしておりヒト脳の機能・病態解明は進んでいない。線条体は神経伝達物質ドーパミンが豊富であり多くの精神神経疾患においてドーパミン作動薬が使用されることからヒトの線条体の機能・解剖を定量的に評価することで詳細な病態把握や診断・治療法の開発に貢献すると考えられる。

本研究事業は、非侵襲的定量的神経画像法を道具として、線条体の機能・解剖・病態解明を進め新しい診断・治療法開発を進める。非侵襲性検査はしばしば精度保証なく臨床検査で使われてきたが精度高い定量的評価なくして正確な診断や治療評価はできないと考えられる。そこで本研究では、精度高い非侵襲的定量的な脳解剖・機能(脳内線維連絡性、脳活動、ドーパミン機能)評価法の開発という方法論的アプローチを進め従来知られていない線条体の解剖・機能を明らかにし、と同時にこれらの方法を病態診断・治療法の開発に応用する研究も行う。具体的には表1にあるように、おおきく方法論的アプローチとして画像法の開発(I)およびその応用研究(II)から構成される。

本年度における成果について各項目について総括報告書で概要を述べた上、項目毎の詳細を分担研究報告書にて記載する。

表1

本研究事業内容

I. 定量的画像法の開発研究

1. MRIを用いた定量的線条体線維連絡性解明法の開発
2. PETを用いた線条体ドーパミン機能評価法の開発
3. 機能的MRIや経頭蓋磁気刺激を組み合わせることで因果的脳機能・病態解明を行う

II. 定量的画像法による応用研究

1. 線条体疾患(パーキンソン病、統合失調症、薬物依存症等)・損傷脳における脳機能、脳内線維連絡性の評価、ドーパミン機能の病態評価
2. 新しい線条体疾患の治療法(とくにES細胞移植法と骨髄間質細胞移植法による)の評価・開発

B. 研究方法

I-1. MRIを用いた定量的・線条体線維連絡性解明法の開発研究(分担:佐藤、林、大西)。MRIを用いた拡散強調画像は撮像技術開発によって高速・高画質化が進んでいるが臨床神経学、神経科学的ツールとして拡散強調画像神経線維追跡法がどの程度応用性があるのかはわかっていない。そのためにはその精度や再現性、定量性についての十分な評価が必要である。特に線条体の線維連絡性を見る上では交差性線維の多い部位(灰白質など)においての線維連絡能を高める必要がありそのための高解像度化、高画質化が必須である。

本研究項目では、MRI 画像収集・解析技術開発により高画質・高解像度の拡散強調画像収集法と神経線維連絡解析法を平行して開発し、特に線条体の線維連絡性に特化した高精度かつ再現性の高い撮像条件に最適化することとした。

そのための方法として、まずヒト用の撮像のために8チャンネルの多受信コイルを使用して高解像度のEPI撮像法を開発した。従来装置による撮像では5mm厚の撮像がほとんどで最高でも2.5mm程度の空間解像度が精一杯であった。3テスラの装置を使うことで解像度2mmの空間解像度収集を目標として撮像法を開発を進めた。また拡散強調磁場の角度方向数は既存の装置

では10数方向までしか対応できず角度情報が不十分なため81方向まで増やすことを目標とした。また拡散強調画像を用いて神経線維連絡性解析には、従来不可能だった線維交差部の追跡を行うモデルを応用した解析法を応用した。このために直接英国オックスフォード大学脳機能MRI研究センターの協力を得てサル脳、ヒト脳での解析検証を行った。

また本法で調べる神経線維連絡性が実際の神経線維連絡をどの程度反映しているかについてサル脳での検討が必要と考え、サル脳でのMRIによる線維連絡性の評価と、神経線維トレーサーによる線維連絡性の関係性を比較検討した。そのためにサル脳の画像収集もヒト脳と同じ81方向、高解像度の画像収集を行った。また神経線維トレーサーにはマンガンを用い(神経細胞に取り込まれたうえ軸索に沿って広がるトレーサー)線維連絡性の評価を行った。

動物の実験は全て麻酔下にて行う。ヒトの研究は正常者を対象として行い当該施設の倫理委員会の承認を受けて行った。動物実験は実験動物委員会の承認を受けて行った。

I-2. PETを用いた線条体ドーパミン機能評価法の開発(渡部、林)

PETの時間解像度・空間解像度はMRI等と比べると劣っておりその改善により新たな応用研究や病態評価が可能になる。従来2つの点で時間に関わる技術的制約があった。一つ目は、PETの撮像時間が薬剤の血液・組織内の動態速度(O-15標識水による血流評価で1.5~2分程度、F-18標識FDGによるブドウ糖代謝は約40-60分、脳受容体評価においては約1時間)に見合った撮像時間で定量画像を得る必要があった。二つ目は、ドーパミン機能のようにシナプス前、後の複数の評価項目を観察したい場合や、生理条件を変化させた(脳賦活課題時等)時の内因性ドーパミン放出を評価したい場合には(放射能の減衰を待つために)別日にそれぞれ別のトレーサー、もしくは、別の生理状態(賦活時と安静時など)を変えることでしか評価できなかった。

本研究項目では従来まで別日に行う必要があった複数の機能評価を同日に一回の検査で行う解析手法の開発することでPETによるドーパミン機能評価を短時間かつ多面的に評価することを目標とした。

そのため今年度は、ドーパミンD2受容体トレー

サーである ^{11}C -raclopride を2回にわけて30分間隔で投与し2回の投与後30分間隔が別の生理状態であると想定し、それぞれの状態における raclopride 結合能 (1^{st} BP, 2^{nd} BP) を別に算出する動態モデリング (Dual Reference Tissue Model, DRTM) を行った。BP の算出に ^{11}C の放射能半減期 (約20分) を考慮に入れ参照法による2組織コンパートメントモデルを応用して解法を得た。また応用するにあたって ^{11}C -raclopride の質量としての投与量に依存し2回の結合能の推定能にバイアス (差) が出てくることが想定されるため、投与質量と推定結合能の関係をシミュレーションおよび実験的に明らかにした。

I-3. 経頭蓋磁気刺激法と機能的 MRI 法の組み合わせによる脳機能の解明: 薬物依存症における前頭前野の役割について (林)。機能的 MRI 法では、ある課題遂行時における脳部位の活動を捉えることでその課題遂行と脳部位の関連性を調べることができる。しかし多くの課題遂行において単一ではなく複数の脳部位が活動するため、脳機能を局在化 (脳機能マッピング) するためには、その複数の脳部位 (ネットワーク) 間の連絡性および因果関係を明らかにする必要がある。

本分担項目では、薬物依存症において薬物欲求の脳内処理部位として知られる背側前頭前野の役割を特定するため、同部位に経頭蓋磁気刺激を行い一時的に機能抑制させ他の機能部位がどのように変化するかを観察した。

既に先行研究から、薬物欲求時の脳内反応が、薬物使用可能性に関する文脈依存性に背側前頭前野や前頭葉内側面が活動することが知られてきた。このことは背側前頭前野が前頭葉内側面と共同して薬物使用可能性を評価し欲求反応を制御していることを示唆するが、背側前頭前野がその脳内ネットワークのなかでどのように機能し役割を果たすか分かっていなかった。

そこで経頭蓋磁気刺激を背側前頭前野に行い機能的に抑制することで (経頭蓋磁気刺激は従来の検討から刺激部位の機能的抑制を最低30分程度生じる条件に設定)、どのように薬物欲求やそれに関わる前頭葉内側面の活動が変化するか、を調べ脳内ネットワーク内での背側前頭前野の役割を特定した。仮説として①背側前頭前野がネットワーク内で上位中枢として機能する、②下位の部位をフィードフォワード的に制御している、と考えこれを検証した。

若年喫煙者8人に、喫煙ビデオを呈示し薬物欲求を起こさせる課題を機能的 MRI 中におこなった。ビデオ呈示後には毎回喫煙欲求度を答えてもらった。この課題+機能的 MRI による先行研究では、喫煙使用欲求時に背側前頭前野や前頭葉内側面が活動することが分かっている。今回の実験ではこの fMRI 実験直前に反復磁気刺激を背外側前頭前野に行うことで (コントロールに比べ) 薬物欲求時の脳活動がどうか変わるかを観察した。本研究は経頭蓋磁気刺激と機能画像の組み合わせ研究で経験の深い、カナダ・マギール大学モントリオール神経研究所で実施した (2005年12月~2006年6月)。研究にあたっては予め同施設の倫理委員会で審査をうけた。

II-1A. 線条体疾患における機能・解剖の病態評価: パーキンソン病、統合失調症など線条体関連疾患や運動野などの損傷脳において、どのような可塑的变化が生じるのかわかっていない。パーキンソン病では中脳黒質ドーパミン含有神経細胞の選択的変性が生じるがその後の脳内の可塑的变化や機能代償の変化がどのように生じるかの理解は、病態理解と新規治療法の開発、2次的合併症 (パーキンソン病におけるジスキネジアなど) の発生予防にも重要である。

仮説として①脳内可塑性・学習システムとしてのドーパミン受容体・トランスポーターの変化、②ドーパミン神経の終末部である皮質線条体下行性線維の線条体内配置の分散性 (もしくは集束性) の変化による可塑性、③大脳皮質レベルの機能的・線維連絡性の変化による可塑性が考えられる。

そこで本研究課題では、パーキンソン病モデル動物、脳損傷モデル動物、パーキンソン病患者、統合失調症、において PET, MRI を行い特に線維連絡性、ドーパミン受容体・トランスポーターについて定量評価することで上記仮説を検証できると考えた。

今年度においてはパーキンソン病モデル動物 (片側 MPTP モデル) の作成を行い、ドーパミン受容体、トランスポーターの変化を観察し症状との関連性を評価した。動物実験にあたっては当施設の実験動物委員会の承認を経ておこなった。

II-1B 線条体疾患補助療法としての音楽療法の作用機序解明: 音楽の脳内認知処理機構
パーキンソン病では聴覚や音楽刺激による運動

開始の誘発・機能改善が見られる。これを利用してしばしば補助理学療法として音楽療法が行われる。しかしこの作用メカニズムは特定されていない。音楽は脳内で認知され、感情を引きおこし、運動機能への影響を及ぼすと考えられるがその脳内処理過程を明らかにすることで音楽療法の作用機序に示唆が得られると考える。

本年度、音楽の認知、そのなかでもメロディの認知がどう脳内で処理されているかについての研究を行った。従来まで音楽聴取時の脳活動という観察がされてきたが、音楽のなかにはメロディ、リズム、音色といった多要素が含まれ特定の認知処理と脳部位局在化はされていない。我々はメロディ認知において最大の特徴である音高線の「形」の認知能力が脳のどこで処理されるかを調べた。この音高線の「形」の認知力とは、ある楽曲を移調し全体の音の高さがかわったとしてもメロディとしては同じと感じる能力のことである。これはカラオケで、キーを変えて歌を歌いやすくする操作をしても同じ曲として歌い、聞ける能力にも相当する。

実際に 8 音の異なる音の高さの人工音から構成される短いメロディ(シーケンス)を作成し、全く同じシーケンスか、一部の音の高さを変化させたシーケンスを直後に聴取させて同じメロディの曲かどうかを判断させる課題(メロディ同異判断課題)を作成した。その際に2曲目のシーケンス全体の音の高さを変える操作(移調)を行い、メロディの同異判断をしてもらった。2曲目のシーケンスの種類によって正答率が変化するかどうかも確認した。これら課題遂行中に機能的 MRI に行つて脳活動部位を調べた。正答率とメロディ同異認知部位との関係も調べた。

II-2 定量的神経画像法による治療法開発

治療法開発において、その有効性判定に行動評価だけでなく、病態に関わる蛋白・遺伝子発現や神経伝達物質量、などの機能を定量的に繰り返し観察することが重要である。

本研究課題ではパーキンソン病モデル動物(MPTP 処置カニクイザル)において、ES 細胞移植、遺伝子治療、骨髄間質細胞由来神経細胞移植等を行い、それらの有効性をPETによるドーパミン機能定量を行うことで判定する。

本年度は、パーキンソン病モデル動物の安定した作成法について定量的 PET 画像による評価・解析による検討を行った。両側 MPTP 処置モ

デルおよび片側 MPTP 処理モデルにおいてトランスポーター、ラクロブライド PET を行うことで、それらの個体内および個体間の再現性を評価した。動物実験にあたっては当施設の実験動物委員会の承認を経ておこなった。

(倫理面への配慮)

ヒト対象の研究計画はヘルシンキ宣言に基づく倫理面に配慮し国立循環器病センター(他施設研究においては当該施設の)の倫理委員会による承認を受け、文書による同意が得られた被験者について研究を行った。動物実験計画は Guidelines for Animal Research on Human Care and Use of Laboratory Animals (Rockville, National Institute of Health/Office for Protection from Research Risks, 1996)に基づき国立循環器病センター実験動物委員会の承認を経て行った。

C,D. 研究結果と考察

I-1: MRI による定量的線維連絡性解析法の開発:

撮像技術の開発により国立循環器病センター研究所先進医工学センター3テスラ MRI 装置においてヒト脳の全脳を 2mm の解像度で収集することが可能になった。また拡散強調の傾斜磁場角度を81方向にて行うことが可能になった(従来は数十方向しかできなかった)。オックスフォード大学脳機能 MRI 研究センターから線維交差部の線維追跡能を向上させた最新プログラムの提供を受けて実際にサル脳、ヒト脳で解析した。その結果、従来の方法にくらべ格段に線維追跡能が向上した。実際にヒト脳にかかる撮影必要時間は25分程度で臨床にも応用可能なものになった。

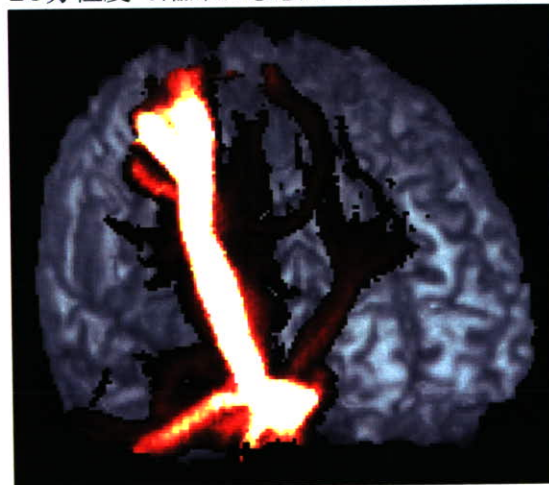


図1. 右運動野上肢領域からの線維連絡性の評

価。錐体路、小脳路や左右の交連線維が観察される。

サル脳におけるマンガン神経線維追跡法との比較では、複数の皮質部位の線維連絡性を検討した。そのうち多くの部位でマンガンによる神経線維連絡と拡散強調画像による線維追跡法の間によく一致した観察が得られた(図2)。

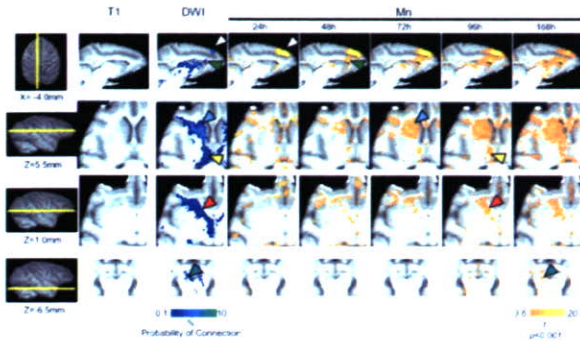


図2. 前頭前野皮質の神経線維連絡比較。高解像度拡散強調画像による線維連絡性(左から2列目、青色)、Mnによる神経線維追跡(右側の5列)。それぞれの行で同じ脳断面を示す。両者ともによく一致した結果を示した。

これらの結果から、拡散強調画像による神経線維追跡法結果に大きな偏りがないことが示唆されこの方法をヒト脳に応用する価値があると考えられた。実際サル脳とヒト脳で皮質連絡性にもとづいて視床を分節化したところ、両種でほぼ一致した結果を得た。

またヒト脳がサル脳やラット脳と線条体-皮質間線維連絡にどのような違いがあるかを検討した。それによりヒト脳では著明に線条体・前頭前野の連絡網が発達しており、ラット脳での線条体内の前頭前野投射領域は非常に小さく辺縁系・眼窩前頭皮質などの旧皮質の投射が非常に拡大して分布していた。相対的な前頭前野の大きさ以上に線条体内に占める前頭前野投射領域がヒトでは拡大していることがわかり、線維連絡性という観点から動物種を越えた解剖学的特徴の把握が必要であると考えられる。

I-2 一回の C-11 ラクロプライド PET 撮像中の二状態のドーパミン機能定量化(DRTM法)の解析理論・解法を構築し、1回60分のPET撮像、PET開始後0分と30分におけるラクロプライド投与により前半と後半の状態におけるラクロプライド結合能が計算できることがわかった(詳細は分担研究課題参照)。また実際に microPET によりラット脳、サル脳の収集を行って2回の結合能画像がほぼ

同じ値で算出できた。

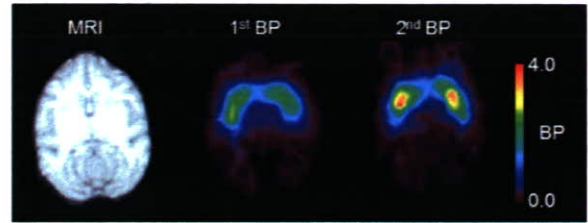


図5. DRTM法による安静状態麻酔下サル脳のラクロプライド結合能(BP)評価。左:T1-MRI画像、中:1回目BP画像、右:2回目BP画像。1時間のPET収集の間に同じ質量の11Cラクロプライドを0分、30分時に投与してそれぞれの投与後のBPを計算した。2回の生理状態は同じ条件で撮影。2回ともほぼ同じ結合能の値を再現したが2回目の方が少ない放射能(一回目の1/3程度)のためやや画質が劣化している。

またシミュレーションによって1回目と2回目に投与したラクロプライドの質量に依存して結合能が変化することが予想され、ラット脳において質量を変えて投与することで実験的にも確認した。

これらのことから現在の技術により30分の間隔でラクロプライドを投与することでそれぞれの状態における結合能が算出可能であることまで確認したが、2回の投与の間で、同じ質量を入れた場合にBP計算画像の画質が異なること、同じ放射能を入れた場合にはBP値に差が出てくる可能性が示唆された。シミュレーション上は投与するラクロプライドの放射能標識率(比放射能)が高い場合には、質量依存性の結合能の偏りが生じないことが確認されたので、今後の課題として比放射能を上げる技術開発を進めることによって、画質と結合能の値ともに再現性のある定量画像が算出できると考えられる。

I-3 反復経頭蓋磁気刺激(rTMS)と機能的MRI法による薬物依存症の脳機能解明

喫煙キューにより誘発される薬物欲求の変化量はrTMSを受けた条件にて低下する傾向を示した。シャム刺激時には通常喫煙指示の場合のみ左背外側前頭前野、前帯状回でキューに反応してMRI信号が上昇し、左背外側前頭前野ではこの反応性が欲求度と相関し、先行研究とほぼ同じ結果を得た。一方rTMS刺激時において通常喫煙を指示した場合に両者のキュー反応性は見られず左背外側前頭前野の欲求度との相関も見られなかった。また機能的連絡性(effective connectivity)の解析によりrTMS刺激により背側

前頭前野の反応性が対側の前頭前野や側頭葉内側部からの入力に対し低下したが前帯状回からの入力に対して変化なかった。これら結果は背側前頭前野が外的に規定される喫煙使用可能性に基づいてフィードフォワード式の制御により内的な欲求(の意識化)を促進させていると考えられる(図6)。

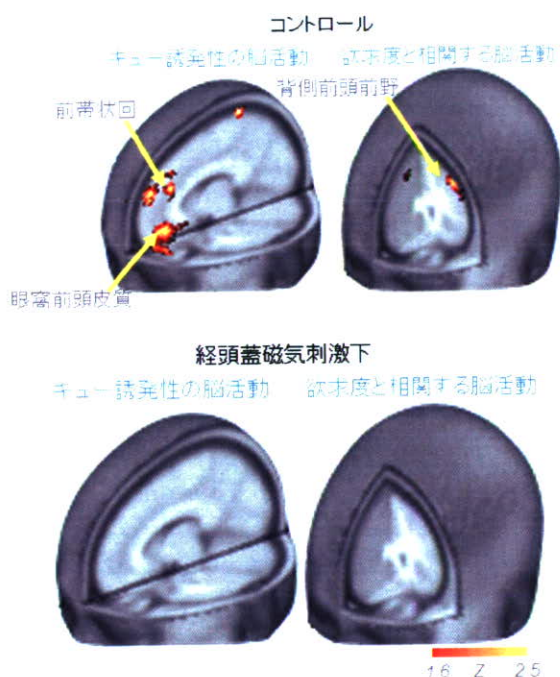


図6. 薬物使用可能性と薬物欲求に依存した背側前頭前野・前帯状回・眼窩前頭皮質の活動(上段)。背側前頭前野に反復磁気刺激を行うことで同部を抑制した場合(下段)、前帯状回、眼窩前頭皮質の活動も抑制された。このことから背側前頭前野が後二者の部位に対し上位に位置し、興奮性に作用することを示唆する。

II-1A 病態能における定量的画像による病態評価

片側パーキンソン病モデル(経内頸動脈 MPTP 注入モデル)サルにおいてドーパミントレーサである C-11 CFT および D2 受容体トレーサである C-11 ラクロプライドを用いて結合能を定量的に評価した。同時に対側の運動機能の重症度を5段階で評価しPETによる機能評価と比較した。その結果、MPTP 注入側では CFT 結合能の低下、ラクロプライド結合能の軽度上昇が見られた。また CFT 結合能と運動機能重症度の間に良好な相関関係が見られた。

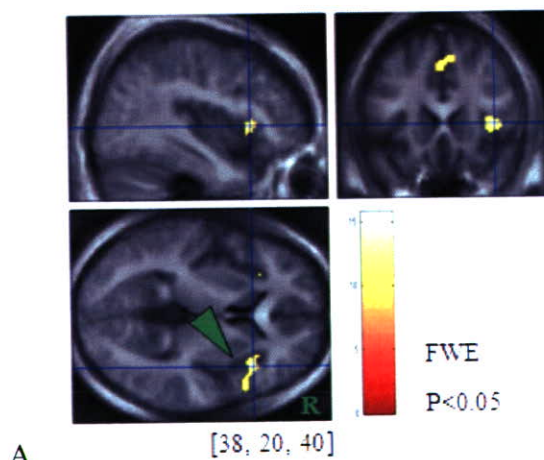
II-1B

メロディ認知を相対的な音の高さの関係性の認知と捉え、その認知課題(同異判断課題)を作成し課題遂行中の脳活動部位を調べることで認知に関わる部位を検索した(図7)。

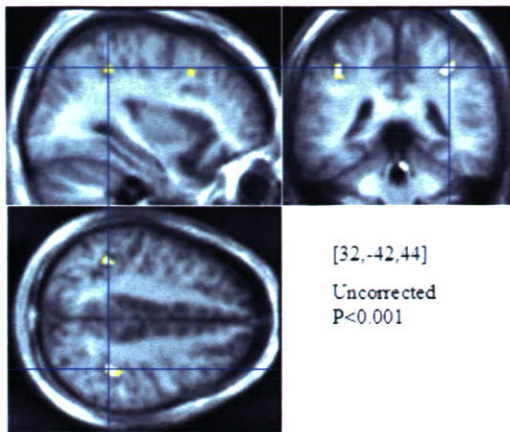


図7. メロディ同異判別課題。標的シーケンス(左)と判別シーケンス(右)。判別シーケンスは、標的シーケンスの全ての音を全音変化(高くもしくは低く)させる(全体変化条件)、または標的シーケンスの第6音を半音変化させることにより作成した。また両者の条件を組み合わせた判別シーケンスも作成した。被験者に部分的な変化が有るか無いか(全体変化の有無に関わらず)を判断させることをメロディ同異判断とした。

その結果、右前頭葉下部が最もこのメロディの判別に関与していることが分かった(図8)。さらに課題の特性を変えて難易度を変動させながらも、常に同じ相対的な音の高さの認知を指示することでこの認知にもっとも関わる脳部位を同定した。fMRI 実験は MRI 装置の騒音により音刺激課題は困難であるが、専用のヘッドフォンと適切な対照課題を作成することで騒音による脳活動への影響を最小限にした観察ができたと考えられる。



A



B

図11. A. メロディ判別に関わる脳賦活部位: 判別vs.標的メロディ聴取時の信号差分。右前頭弁蓋部(x=38, y=20, z=4)に最大賦活を認めた。FEW-corrected $P < 0.05$ B. 課題正答率と脳賦活との回帰分析結果: 課題条件別の正答率と判別一標的コントラストとの間の回帰分析結果を示す。右頭頂小葉(x=32, y=-42, z=44)で最大の有意性が見られた(Uncorrected $P = 0.000$)。右頭頂葉はメロディ輪郭の抽出と認知に、右前頭葉下部は既知のメロディとの比較と対照に関わっていることが示唆された。

我々はメロディ認知のなかでも相対的音高変化の認知に右上側頭回・下前頭回が関与することを示したが、この部位は過去のメロディ認知の研究でも示唆されている。Zatorreらは音響学的に一致するノイズバーストと比較して、メロディ聴取において右上側頭回が賦活することを示している。またひとつのメロディタスク内で最初の音と最後の音の同異判断を行なったときには右下前頭回が賦活することを示した。さらにHydeらは先天的失音楽症者(音痴者)、すなわち相対的な音の高さを正しく認知もしくは表現が困難な人を対照にした白質密度の比較検討により、右下前頭回の白質が音痴でない人と比べて減少していると報告しており、右下前頭回皮質が相対的な音の高さの関心の認知判断に関わる重要な部分であると考えられる。

今回の結果は、相対的な音の高さの認知に右下前頭回と右上側頭回が深く関与することを示し、メロディライン(音高線)の「形」としての認知が脳内の限局した部位で行われていることを示唆する。

II-2

行動評価では、現在までに得た5頭のデータの解析により、MPTP投与前においては全前肢において 4.3 ± 0.7 点(n=10, mean±SD)であったものがMPTP注入後3ヶ月には注入側線条体機能に相当する左側前肢で 1.8 ± 1.6 点(n=5)、対側の右前肢 3.6 ± 0.9 点(n=5)で、注入反対側の前肢に強い運動速度低下が生じることが確認された。

PETに関しては5頭のデータを解析したところ(左右あわせて線条体 n=10) ^{11}C -CFTの線条体結合能は 0.58 ± 0.05 (変動係数 9%)であった。今回の検討に合わせPET画像をMRI画像による解剖情報と併せて解析するプログラムを整備し標準化・最適化することで ^{11}C -CFT測定値が従来法の場合(変動係数 15%, n=8)よりも個体間・測定間変動が減少した(同 9%)。正常時サルの測定変動が9%と比較的小さいことから測定間変動も少ない良好な定量測定システムであることがわかった(図9)。

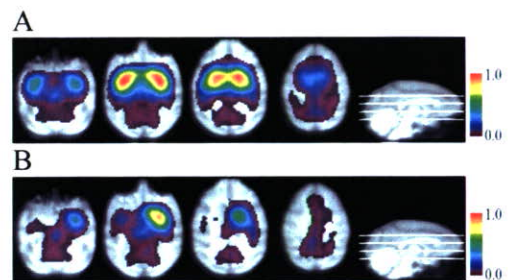


図9. 5頭のサル正常時の平均 ^{11}C -CFT結合能画像(A)とパーキンソン病モデル作成後(MPTP右内頸動脈内注入3ヶ月後)の平均 ^{11}C -CFT結合能画像。正常時に比べパーキンソン病モデル作成後に右側線条体(MPTP注入側)全体の結合能が著明に低下している。また反対側の非注入側も低下している傾向にある。解剖学的に標準化した平均MRI画像上に平均CFT結合能画像を重ねて表示した。

さらにMPTP投与3ヶ月後にPETを行い、 ^{11}C -CFT結合能はMPTP注入側線条体で 0.10 ± 0.09 (変動係数 89%)、MPTP非注入側線条体で 0.47 ± 0.15 (変動係数 33%)であった。注入側で顕著な結合能の著明な低下が見られ非注入側もモデル作成前に比すると軽度の低下が見られた(図9)。これは初回循環で取り込まれないMPTPが再循環したためか、サルの脳血管系がヒトと異なり前交通動脈が一本のみで左右のシヤントが多いためMPTPが対側に流入したため、

と考えられる。

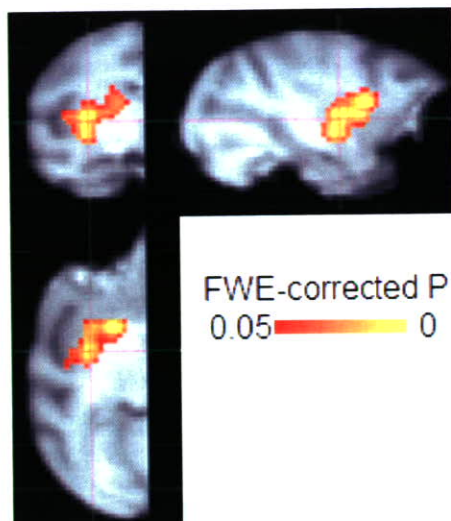


図10. 線条体CFT結合能と対側前肢餌取り運動速度との間の正の相関性(画素毎検討)。運動速度が低下するほど結合能低下が線条体の尾側部に見られた。FWE-corrected $P < 0.05$

その上で運動課題より得た餌取り個数と餌取り運動速度、PET ドーパミン機能測定より得たマーカーの結合能との関連性を調査したところ、MPTP 投与前・後(投与後 3 ヶ月)の餌取り運動速度と同時点での前シナプス神経機能(線条体 ^{11}C -CFT 結合能)との間に良好な相関関係を認め(図10)、特に線条体尾部の結合能と正の相関が見られた(図4)。一方で餌取り個数とPET 測定値との間に有意な関連性は見られず、残存ドーパミン機能が行動の目的達成度とは関係なかった。

E. 結論

新しい画像評価法とくに定量的MRI線維連絡性評価やPET受容体結合能の2回同時評価法によって病態解明、診断法開発の基盤が整った。今後病態モデル動物やヒトの疾病患者においてデータ収集をすすめ、病態評価、治療評価の結果が整える必要がある。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文、総説

1. Kudomi N, Watabe H, Hayashi T, Iida H. Separation of input function for rapid

measurement of quantitative CMRO2 and CBF in a single PET scan with a dual tracer administration method. *Phys Med Biol* 52(7):1893-1908, 2007

2. Shimamura M, Sato N, Sata M, Kurinami H, Takeuchi D, Wakayama K, Hayashi T, Iida H, Morishita R. Delayed Postischemic Treatment With Fluvastatin Improved Cognitive Impairment After Stroke in Rats. *Stroke* 38(12):3251-3258, 2007
3. 佐藤 博司, 稲垣 正司, 林 拓也, 飯田 秀博. 目でみるページ・検査-diffusion MRI-. *CARDIAC PRACTICE*:201-204, 2007
4. 飯田 秀博, 渡部 浩司, 赤松 哲哉, 中澤 真弓, 松原 圭亮, 竹内 朝子, 岩田 倫明, 林 拓也, 横田 千晶, 福島 和人, 福本 真司. SPECTを使った脳機能画像の定量化と標準化. *脳神経外科ジャーナル* 16 (10):742-752, 2007
5. 林 拓也. ヒトの大脳皮質基底核連絡線維. *Clinical Neuroscience* 25 (1):28-33, 2007
6. 林 拓也 大脳基底核と皮質の神経線維結合—拡散強調画像による検討 *臨床神経学* 47(11), 838-840, 2007
7. 生駒 洋子 PETを用いた脳内神経受容体の定量評価. *Medical Imaging Technology*, 26 (1). pp. 26-31, 2007
8. 圓見 純一郎 MR Perfusion 解析の進歩. *Medical Imaging Technology*, 26 (1). pp. 32-38, 2007
9. Saito N, Kudo K, Sasaki T, Uesugi M, Koshino K, Miyamoto M, Suzuki S. Realization of reliable cerebral-blood-flow maps from low-dose CT perfusion images by statistical noise reduction using nonlinear diffusion filtering. *Radiological Physics and Technology*, 1 (1). pp. 62-74, 2007
10. Yokoyama I, Inoue Y, Kinoshita T, Itoh H, Kanno I, Iida H. Heart and Brain Circulation and CO2 in Healthy Men. *Acta Physiol (Oxf)*, Feb.12 [Epub ahead of Print] . ISSN 1748-1716, 2008
11. Sato H, Enmi J, Teramoto N, Hayashi T, Yamamoto A, Tsuji T, Naito H, Iida H. Comparison of Gd-DTPA-induced signal enhancements in rat brain C6 glioma among different pulse sequences in 3-Tesla magnetic resonance imaging. *Acta Radiol*, 49 (2). pp. 172-9. ISSN 1600-0455, 2008

12. Iida H, Eberl S, Kim KM, Tamura Y, Ono Y, Nakazawa M, S Antti, Zeniya T, Hayashi T, Watabe H. Absolute quantitation of myocardial blood flow with 201Tl and dynamic SPECT in canine: optimisation and validation of kinetic modelling. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008
 13. Mori T, Ohnishi T, Hashimoto R, Nemoto K, Moriguchi Y, Noguchi H, Nakabayashi T, Hori H, Harada S, Saitoh O, Matsuda H, Kunugi H. Progressive changes of white matter integrity in schizophrenia revealed by diffusion tensor imaging, *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 2007 154(2):133-45.
 14. Moriguchi Y, Ohnishi T, Mori T, Matsuda H, Komaki G. Changes of brain activity in the neural substrates for theory of mind during childhood and adolescence. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2007;61(4):355-63.
 15. Hashimoto R, Hashimoto H, Shintani N, Chiba S, Hattori S, Okada T, Nakajima M, Tanaka K, Kawagishi N, Nemoto K, Mori T, Ohnishi T, Noguchi H, Hori H, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Nakabayashi T, Saitoh O, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Weinberger DR, Kunugi H, Baba A. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is associated with schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2007;12(11):1026-32.
 16. Moriguchi Y, Decety J, Ohnishi T, Maeda M, Mori T, Nemoto K, Matsuda H, Komaki G. Empathy and judging other's pain: an fMRI study of alexithymia. *Cereb Cortex*. 2007;17(9):2223-34.
 - 17.
2. 書籍
なし
 3. 学会発表
 1. 林 拓也. 大脳皮質・基底核間の線維連絡拡散テンソル・拡散神経束追跡法(DT法)による解明. 日本神経学会, 名古屋, 2007 16-May
 2. Iida H, Kudomi N, Hayashi T, Inomata T, Miyake Y, Ohota Y, Teramoto N, Koshino K, Piao R. Adequacy of dual administration of 15O2 and H215O for rapid and accurate assessment of CBF and CMRO2. Brain07/BrainPET07, Osaka, Japan, 2007 20-24 May
 3. Koshino K, Watabe H, Yamamoto A, Sato H, Ose T, Hikake M, Teramoto N, Hayashi T, Iida H. APPLICATION OF HARDWARE-BASED MULTIMODAL REGISTRATION SYSTEM TO FUSION OF PET AND MRI IMAGES. Brain07/BrainPET07, Osaka, Japan., 2007 20-24 May
 4. Watabe H, Hayashi T, Ohta Y, Teramoto N, Miyake Y, Kurokawa M, Yamamoto A, Ose Y, Ikoma Y, Iida H. DEVELOPMENT OF REFERENCE TISSUE METHOD FOR MULTIPLE INJECTIONS OF [C-11]RACLOPRIDE. Brain and BrainPET'07, Osaka., 2007
 5. Zeniya T, Watabe H, Ose T, Hayashi T, Teramoto N, Myojin K, Taguchi A, Sato H, Yamamoto A, Sohlberg A, Inomata T, Iida H. Absolute quantitation of regional cerebral blood flow in mouse using 123I-iodoamphetamine and pinhole SPECT. Brain'07 & BrainPET'07, Osaka., 2007 20-24 May
 6. 林 拓也. 線条体と大脳皮質の線維連絡—サルとヒトの対応. 第31回関東臨床神経生理研究会, 東京, 2007 26 May
 7. Hayashi T, Ko Ji Hyum, Strafella A, Pike B, Dagher A. A role of dorsolateral prefrontal cortex in durg-cue induced neural response - Acombined fMRI/rTMS study. 13th Annual Meeting of Human Brain Mapping, Chicago, USA, 2007 10-14 Jun
 8. Yamauchi M, Hayashi T, Yamamoto A, Sato H, Iida H. Neural mechanism of melody perception: An fMRI study. 13th Annual Meeting of Human Brain Mapping, Chicago, USA, 2007 10-14 Jun
 9. 銭谷 勉, 渡部 浩司, 猪股 亨, 青井 利行, キム キョンミン, 寺本 昇, 合瀬 恭幸, Sohlberg Antti, 久保 敦子, 林 拓也, 工藤 博幸, 増野 博幸, 山本 誠一, 中澤 真弓, 山道 芳彦, 飯田 秀博. ピンホールSPECTを用いた小動物イメージング. ジョイントセミナー, 国立循環器病センター 研究所新館講堂, 2007 10 July
 10. 飯田 秀博, 林 拓也, 渡部 浩司, 三宅 義徳, 寺本 昇, 永沼 雅基, 横田 千晶, 上原 敏志, 森脇 博, 武信 洋平, 成富

- 博章, 峰松 一夫. 15Oガスをを用いた迅速PET定量法. 第23回BFIC, 神戸ポートピアホテル, 2007 22 Sep
11. 佐藤 博司, 林 拓也, 川畑 義彦, 中島 巖, 圓見 純一郎, 山本 明秀, 飯田 秀博. 小型高信号雑音化8ch Phased Array Coilの開発. 第35回日本磁気共鳴医学大会, 神戸ポートピアホテル, 2007 27-29 Sep 2007
 12. 越野 一博, 渡部 浩司, 寺本 昇, 合瀬 恭幸, 山本 明秀, 樋掛 正明, 福田 肇, 大田 洋一郎, 佐藤 博司, 林 拓也, 飯田 秀博. 光学式マルチモダリティ画像位置合わせシステムの動物実験における有効性. 第47回日本核医学会学術総会, 仙台国際センター, 2007 4-6 Nov
 13. 岩西 雄大, 渡部 浩司, 林 拓也, 湊 小太郎, 飯田 秀博. DARG法における残存15O-CO放射能の影響評価と検査時間短縮に関する研究. 第47回日本核医学会学術総会, 仙台国際センター, 2007 4-6 Nov
 14. 銭谷 勉, 渡部 浩司, 林 拓也, 合瀬 恭幸, 明神 和紀, 田口 明彦, 寺本 昇, 猪股 亨, 山道 芳弘, 飯田 秀博. ピンホールSPECTと123I-IMPを用いたマウス局所脳血流定量測定. 第47回日本核医学会学術総会, 仙台国際センター, 2007 4-6 Nov
 15. 林 拓也. PET研究の実際-神経科学・病態把握から治療開発まで. 理研分子イメージングセミナー, 神戸, 2007 19-Dec
 16. 岩西 雄大, 渡部 浩司, 林 拓也, 湊 小太郎, 飯田 秀博. 15O-ガスPET とdual tracer administration 法を用いた count-based OEFの非対称性指数の評価. 第3回日本分子イメージング学会総会・学術大会, 22-23 May 2008, 大宮
- H. 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(こころの健康科学研究事業)
分担研究報告書
拡散テンソル画像を用いた統合失調症における白質、基底核微細構造異常の検討
分担研究者
大西 隆
国立精神・神経センター精神保健研究所心身医学研究部、協力研究員

要旨:統合失調症は行動レベルでの異常により規定される多因子性の症候群であり、その原因、発症機序には脆弱性遺伝子に代表される生物学的要因と環境要因が関与する。統合失調症の脳の異常としては、灰白質の細胞構築の異常が報告されているが、白質の異常による disconnection, misconnection もその病態に関わる可能性が指摘されている。本研究は健常者と統合失調症を対象としMRIによる拡散テンソル画像計測を行い、統合失調症における白質微細構造、基底核微細構造の異常を明らかにすることを目的として行われた。統合失調症群42例と年齢、性の合致した健常コントロール群42例を対象として1.5T MRIを用いて拡散テンソル画像計測を施行し拡散異方性の指標として fractional anisotropy (FA)計算画像を作成した。得られたFA画像の群間比較、年齢との相関解析を行った。統合失調症群内では、罹病期間、発症年齢、抗精神病薬の投与量との相関関係も検討した。また108例の健常者を対象として統合失調症脆弱性遺伝子のDISC1の遺伝子多型が白質微細構造に及ぼす影響を検討した。白質微細構造異常:統合失調症群ではコントロール群と比較して、前頭葉-側頭葉、脳梁など白質領域の広範囲にわたるFA値の低下を示し、統合失調症での白質微細構造の存在が示された。コントロール群では年齢とFAの負の相関は側脳室後角の一部に認められたのに対し、統合失調症群では年齢依存性のFA値の低下を白質領域広範囲に認めた。統合失調症群でのFAの低下は罹病期間と相関したが、発症年齢、抗精神病薬の投与量との有意な相関は認めなかった。基底核微細構造異常:基底核内では淡蒼球および左視床の一部に統合失調症でのFA低下を認めた。基底核-視床でのFAは白質でのFAの変化と異なり、罹病期間との相関を認めなかった。さらにDISC1の遺伝子多型のひとつであるSer704Cys多型は前頭葉の白質微細構造に影響を与えることを明らかにした。拡散テンソル画像解析を用いることで統合失調症での白質、基底核-視床の微細構造異常の存在を明らかにした。相関解析の結果より白質微細構造は統合失調症における進行性の病理学的変化が起こっている可能性が示唆された。一方、基底核-視床の微細構造異常は罹病期間とは関係なく、統合失調症におけるtrait markerとなる可能性が示唆された。また健常者においても脆弱性遺伝子の1つであるDISC1のgenotype effectを前頭葉白質に認め、統合失調症におけるFA値の変化は病前より存在し、脆弱性の基盤となる変化と、発症後の進行性病理変化の両者を反映している可能性が示された。(Key words: 統合失調症、白質、MRI,拡散テンソル)

A 研究目的

統合失調症は行動レベルでの異常により規定される多因子性の症候群であり、その原因、発症機序には脆弱性遺伝子に代表される生物学的要因と環境要因が関与する。統合失調症の脳構造異常としてはCT,MRIによる計測で辺縁系、側頭葉、前頭葉皮質での灰白質容積減少の報告が数多くあり、これらの変化は初回エピソード、発症前high risk群においても認められるとの報告もあり、統合失調症のneurodevelopmental disorder hypothesisを支持するものである。しかし画像研究での一貫性に対して神経病理学的研究においては灰白質の細胞構築の異常等が報告されているが、結果の一貫性に欠けている。統合失調症においては灰白質だけでなく、白質の異常による(abnormalities in axonal integrity and

organization) disconnection, misconnectionもその病態に深く関わっているとの仮説がある。多発性硬化症をはじめとした白質病変を主体とした神経疾患において精神症状を呈することはよく知られている。近年、拡散テンソル画像を用いた白質微細構造の評価が可能となった。本研究は健常者と統合失調症を対象としMRIによる拡散テンソル画像計測を行い、統合失調症における白質微細構造、基底核微細構造の異常を明らかにすることを目的として行った。

B 研究方法

(1) MRI 計測

統合失調症群42例と年齢、性の合致した健常コントロール群を対象として1.5T MRIを用いて拡

散テンソル画像計測を施行した (TR/TE=4000/100 ms, 256 x 256 matrix, FOV 240 mm, b =1000 s/mm², NEX=4, 20 slices, 5 mm slice thickness, 1.5 mm gap. 6 non-collinear directions). 拡散異方性の指標として fractional anisotropy (FA)計算画像を作成した。得られたFA画像は high dimensional warping を用いて解剖学的標準化を行い voxel-by voxel 法、regions of interest 法による群間比較、年齢との相関解析を行った。統合失調症群内では、罹病期間、発症年齢、抗精神病薬の投与量との相関関係も検討した。

DISC1 遺伝子の遺伝子多型(Ser704Cys)に関しては年齢、性、背景因子(教育歴、IQ 等)の合致した、22 例の cys-DISC1 carriers と 86 例の ser/ser-DISC1 を比較した。

(2)分子遺伝学的研究

健常者の研究参加に関しては、武蔵病院や神経研究所のスタッフや近隣のボランティアの協力を得て行った。さらに既存の DNA サンプル(統合失調症、双極性障害、うつ病、健常者)を精神疾患に関連する遺伝子の探索に用いた。遺伝子多型の判定を行うに当たって、Applied Biosystems の TaqMAN 法を用いた。本研究は、国立精神・神経センター武蔵地区倫理審査委員会において承認を受けており、それに基づいて、試料提供者への説明とインフォームド・コンセント、個人情報の厳重な管理(匿名化)などを徹底させた。

(倫理面への配慮)

研究計画は、国立精神・神経センター武蔵地区による承認のもと施行した。統合失調症群、健常対照群を対象に倫理面には十分な考慮を払い、同意能力があることを確認したうえで文書によるインフォームド・コンセントが得られた例について検査を行った。遺伝子解析においてはゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針に従い、試料提供者の姓名、生年月日、カルテ番号等の個人情報を匿名化して、研究を行った。MRI、神経心理検査については、日本神経科学会・ヒト脳機能の非侵襲的研究の倫理問題等に関する指針に基づいて行った。

B. 研究結果

白質微細構造異常:コントロール群との比較において、統合失調症群ではコントロール群と比較して、前頭葉-側頭葉、脳梁など白質領域の広範囲にわたるFA値の低下を示し、統合失調症での白

質微細構造の存在が示された(図1)。

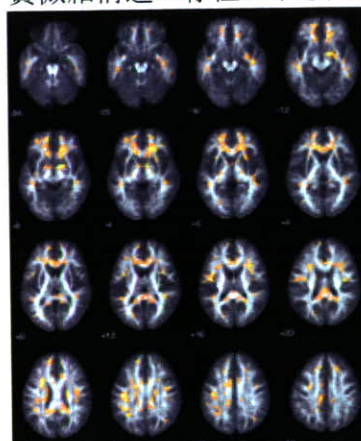


図1

コントロール群では年齢とFAの負の相関は側脳室後角の一部に認められたのに対し、統合失調症群では年齢依存性のFA値の低下を白質領域広範囲に認めた(図2)。統合失調症群でのFAの低下は罹病期間と相関したが、発症年齢、抗精神病薬の投与量との有意な相関は認めなかった。

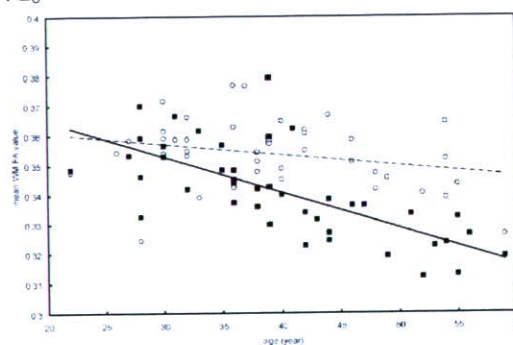


図2

基底核微細構造異常:基底核内では淡蒼球および左視床の一部に統合失調症でのFA低下を認めた(図3)

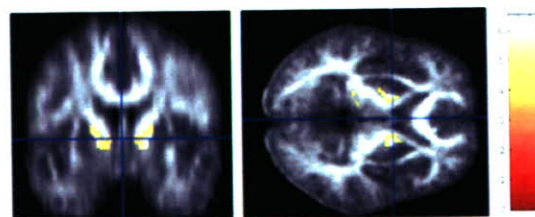


図3

基底核-視床でのFAは白質でのFAの変化と異なり、罹病期間との相関を認めなかった。

健常者における DISC1 の genotype effect:

DISC1 は統合失調症、双極性障害との関連が報告されている遺伝子である。我々の大規模サンプルによる検討では、Ser704Cys 多型と統合失調症、うつ病との関連を認め、cys-DISC1 は統合失

調症、うつ病のリスクファクターであることが示された。拡散テンソル画像解析では、*cys-DISC1* carrier 群での有意な FA の低下を前頭葉白質内に認め(図 4)、白質微細構造の異常が、精神疾患に対する脆弱性に寄与している可能性が示唆された。

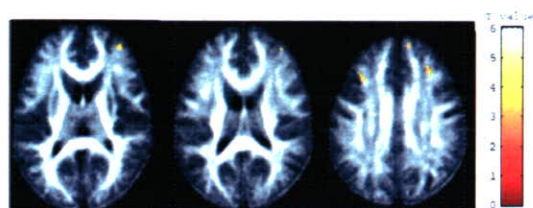


図 4

C. 考察

統合失調症における白質の異常を基盤とする *disconnection, misconnection* が精神症状に関与するとの仮説は古くからある。臨床的には、白質病変を示す MS などの神経疾患の存在、最近の Davis らによる統合失調症死後脳でのミエリン関連遺伝子の発現の低下などは、統合失調症における白質異常の関与を支持するものである。近年の MRI の発達により、拡散テンソル画像を用いることで、生体内白質微細構造異常が高い感度で検出可能となった。Crossing fiber の関与など技術的な問題の他、観測された異常が、変性的なのか *neurodevelopmental* な異常なのか、質的な違いがわからないという根源的な問題を含んでいるが、従来行えなかった定量的に白質異常を評価できる点で優れた方法である。拡散テンソル画像の登場と同時に、*disconnection/misconnection* 仮説のある疾患として統合失調症はその研究対象となってきた。多くの報告では統合失調症における、前頭葉、側頭葉、脳梁などでの FA の低下に示される白質微細構造の異常が報告されている。しかしながら、発症初期の症例では、慢性期の症例と比較して FA の変化は比較的狭い領域に局限するとの報告もあり、FA の変化が進行性的変化である可能性も指摘されている。我々の検討では、従来の報告同様、広範囲の白質の微細構造異常を認めた。またこの変化は罹病期間と相関を認め、統合失調症における進行性の病理変化を反映したものと考えられた。統合失調症において、進行性の脳構造変化を示すことは灰白質容積の減少においても多くの報告があり、その要因のひとつとして抗精神病薬の投与、特に定型抗精神病薬の影響が示唆されている。我々の検討では白質病変

と罹病期間との相関は認めたが、抗精神病薬の投与量との関連は認めず、白質病変の進行は抗精神病薬投与に伴う変化ではないと考える。

一方、基底核領域においては、非進行性的変化を淡蒼球、及び視床の一部で認めた。淡蒼球は灰白質成分のなかではミエリンの豊富な組織であり、拡散テンソル画像計測においても組織学的所見を反映して高い FA を示す領域である。所見であると考えられる。統合失調症においては、カトニアをはじめとした基底核—視床ネットワークの障害に起因すると考えられる障害がしばしば観察される。今回の結果は基底核領域における異常を反映したものと考えられる。これらの変化の病理学的変化としては、Uranova らにより報告された、統合失調症患者脳における *myelin sheath lamellae* の損傷、*oligodendroglia* のミトコンドリア密度の減少などが関与していると推測される。

DISC1 多型での検討では、統合失調症、うつ病のリスクファクターである *cys-DISC1* carrier 群での有意な FA の低下を前頭葉白質内に認め(図 4)、白質微細構造の異常が、精神疾患に対する脆弱性に寄与している可能性が示唆された。この結果は、先に述べた統合失調症における白質微細構造の変化が進行性変化であることと一見矛盾するようであるが、我々は、統合失調症における白質微細構造異常は病前より存在し、脆弱性の基盤となる変化と、発症後の進行性病理変化の両者があり、拡散テンソル画像においては両者の変化を反映していると考えている。

E 結論

本研究ではサンプル収集と画像解析、遺伝子解析を行った。その結果、拡散テンソル画像解析が統合失調症をはじめとした精神疾患の病態機序の解明に有用であることが示された。

F. 健康危険情報

特記事項はない。

G. 発表

1. 論文発表

平成19年度分

Mori T, **Ohnishi T**, Hashimoto R, Nemoto K, Moriguchi Y, Noguchi H, Nakabayashi T, Hori H, Harada S, Saitoh O, Matsuda H, Kunugi H. Progressive changes of white matter integrity in

schizophrenia revealed by diffusion tensor imaging, *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 2007 Feb 28;154(2):133-45.

Moriguchi Y, **Ohnishi T**, Mori T, Matsuda H, Komaki G. Changes of brain activity in the neural substrates for theory of mind during childhood and adolescence. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2007 Aug;61(4):355-63.

Hashimoto R, Hashimoto H, Shintani N, Chiba S, Hattori S, Okada T, Nakajima M, Tanaka K, Kawagishi N, Nemoto K, Mori T, **Ohnishi T**, Noguchi H, Hori H, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Nakabayashi T, Saitoh O, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Weinberger DR, Kunugi H, Baba A. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is associated with schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2007 Nov;12(11):1026-32.

Moriguchi Y, Decety J, **Ohnishi T**, Maeda M, Mori T, Nemoto K, Matsuda H, Komaki G. Empathy and judging other's pain: an fMRI study of alexithymia. *Cereb Cortex*. 2007 Sep;17(9):2223-34.

2.学会発表

平成 19 年度分

なし

H. 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(こころの健康科学研究事業)
分担研究報告書

定量的脳機能画像法による線条体構造と機能病態の把握

分担研究者

林 拓也

国立循環器病センター研究所放射線医学部・室長

要旨:霊長類動物においてパーキンソン病モデルサルを作成し(細胞移植による)ドーパミン補充療法の有効性判定法を策定した。パーキンソン病は1)ドーパミン神経細胞死に基づくドーパミン欠乏、2)それに伴う可塑的反応、の結果として脳機能障害が発現するが、どのように両者が機能障害に関与するか明確な関係性は知られていない。特に後者は薬剤誘発性ジスキネジアや on and off, wearing off 現象など合併症にも関与している。動物実験で定量的な運動機能評価法は確立しておらず脳内ドーパミン機能との関連性の調査も不十分である。我々は、右内頸動脈より神経毒 MPTP を投与し片側性パーキンソン病モデルを作成し、PET による脳内ドーパミン機能(プレシナプス、ポストシナプス)と餌取り課題による運動機能評価を行った。行動評価で見ると前肢運動速度は対側線条体のドーパミンプレシナプスのトランスポーター結合能と良く相関し、特に尾側線条体の結合能が最も強く関連した。一方、自発的な餌の摂取数とトランスポーター結合能は関連しなかった。PET で見るドーパミンプレシナプス機能は測定・個体間変動併せて10%以下と非常に精度が高く、経時的变化の観察にも適していることを確認した。トランスポーターはドーパミン神経細胞に豊富に存在すると考えられていることから、細胞補充による機能改善をみるためにトランスポーター結合能と前肢運動速度により評価することが適切と考えられた。また移植の最適部位が線条体尾部であると考えられた。(Keywords: 霊長類動物、線条体、パーキンソン病、PET)

研究協力者:

渡部浩司(国立循環器病センター研究所放射線医学部、室長)、生駒洋子(国立循環器病センター研究所放射線医学部・研究員)、寺本昇(国立循環器病センター研究所放射線医学部・室員)、崔洪海(国立循環器病センター研究所放射線医学部・研究員)

A. 研究目的

霊長類動物で再現性の高いパーキンソン病モデルサルを作成し(細胞移植による)ドーパミン細胞補充療法の有効性判定のためのエンドポイントを策定する。

B. 研究方法

8頭のカニクイザルを用いて片側パーキンソン病モデルを作成し、運動課題による運動機能障害度の測定や、ポジトロンエミッショントモグラフィ(PET)によるドーパミン機能障害度の測定を行い本研究最終目標(骨髄間質細胞由来神経細胞移植)のプライマリーエンドポイントの策定を行った。

パーキンソン病モデルザルの作成は Bankiewicz ら(Life Sci, 1986)の方法に基づき脳血管撮影下において右内頸動脈より

0.4-0.8mg/kg

の

1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)を投与し作成した。本病態モデルは古典的ではあるが MPTP により発現する症状(主に無動や寡動などの運動機能障害)と脳ドーパミン機能障害度や神経細胞の変性の程度との関連性は十分調査されていない。

我々は、1)運動機能障害度を、片側前肢毎の餌取り課題を行いその遂行速度や餌取り個数を測定、2)ドーパミン機能を、PET を使いドーパミン細胞のプレおよびポストシナプスのマーカーを用いて評価した。餌取り運動課題は、MPTP 投与前、投与1週間、1ヶ月後、2ヶ月後、3ヶ月後に繰り返し測定し各タイムポイントにて3日間連続測定(一日につき片側前肢 25 回試行、3日間で 75 回の試行)することで測定精度を向上させた(図 1)。餌取り運動テストの解析には、前肢餌取り運動時の餌取り速度を、PET の結果を知らない第 3 者によるビデオ観察により 6 段階(0 点:非常に遅いか無動、~5 点:非常に速い動き)で評価した。

また PET のドーパミン機能測定にはプレシナプスの機能評価にドーパミントランスポータのマーカー(^{11}C -CFT)、ポストシナプスの評価に D1 受容体(^{11}C -SCH23390)および D2 受容体(^{11}C -raclopride)を用いた。このうち特に ^{11}C -CFT

はプレシナプスに存在することから残存するドーパミン細胞数を反映すると考えられる。PET 撮像データを参照領域法により定量解析することで各線条体の結合能を計算した。PET による測定再現性と個体間変動を評価するために正常時(MPTP 投与前)の PET 測定も行った。

C. 研究成果

行動評価では、現在までに得た 5 頭のデータの解析により、MPTP 投与前においては全前肢において 4.3 ± 0.7 点($n=10$, $\text{mean} \pm \text{SD}$)であったものが MPTP 注入後 3 ヶ月には注入側線条体機能に相当する左側前肢で 1.8 ± 1.6 点($n=5$)、対側の右前肢 3.6 ± 0.9 点($n=5$)で、注入反対側の前肢に強い運動速度低下が生じることが確認された。

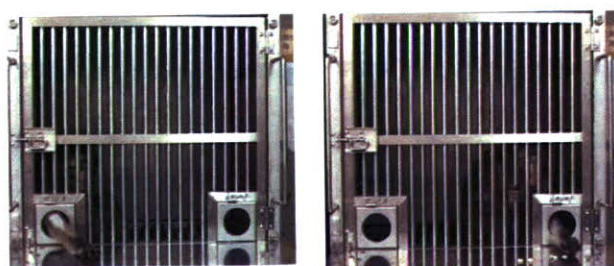
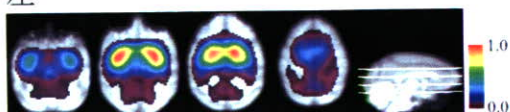


図1.前肢餌取り課題。左:右前肢の餌取り運動、右:左前肢の餌取り運動を行っているところ。一回の課題につき5個の餌(リンゴ)を並べておき、餌を取らせ(5試行)これを5回繰り返し(計25試行)、3日間連続で課題を行った(計75試行)。右・左前肢毎に全餌取り個数と餌取り運動速度の平均値を評価した。

PET に関しては 5 頭のデータを解析したところ(左右あわせて線条体 $n=10$) $^{11}\text{C-CFT}$ の線条体結合能は 0.58 ± 0.05 (変動係数 9%)であった。今回の検討に合わせ PET 画像を MRI 画像による解剖情報と併せて解析するプログラムを整備し標準化・最適化することで $^{11}\text{C-CFT}$ 測定値が従来法の場合(変動係数 15%, $n=8$)よりも個体間・測定間変動が減少した(同 9%)。正常時サルの測定変動が 9%と比較的小さいことから測定間変動も少ない良好な測定システムであることがわかった(図 2A)。

A)
左



B)
左

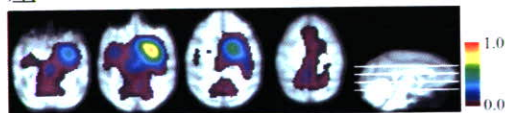


図2. 5頭のサル正常時の平均 $^{11}\text{C-CFT}$ 結合能画像(A)とパーキンソン病モデル作成後(MPTP右内頸動脈内注入3ヶ月後)の平均 $^{11}\text{C-CFT}$ 結合能画像。正常時に比べパーキンソン病モデル作成後に右側線条体(MPTP注入側)全体の結合能が著明に低下している。また反対側の非注入側も低下している傾向にある。解剖学的に標準化した平均MRI画像上に平均CFT結合能画像を重ねて表示した。

さらに MPTP 投与 3 ヶ月後に PET を行い、 $^{11}\text{C-CFT}$ 結合能は MPTP 注入側線条体で 0.10 ± 0.09 (変動係数 89%)、MPTP 非注入側線条体で 0.47 ± 0.15 (変動係数 33%)であった。注入側で顕著な結合能の著明な低下が見られ非注入側もモデル作成前に比すると軽度の低下が見られた(図 2B)。これは初回循環で取り込まれない MPTP が再循環したためか、サルの脳血管系がヒトと異なり前交通動脈が一本のみで左右のシャントが多いため MPTP が対側に流入したため、と考えられる。

その上で運動課題より得た餌取り個数と餌取り運動速度、PET ドーパミン機能測定より得たマーカーの結合能との関連性を調査したところ、MPTP 投与前・後(投与後 3 ヶ月)の餌取り運動速度と同時点での前シナプス神経機能(線条体 $^{11}\text{C-CFT}$ 結合能)との間に良好な相関関係を認め(図 3)、特に線条体尾部の結合能と正の相関が見られた(図4)。一方で餌取り個数とPET測定値との間に有意な関連性は見られず、残存ドーパミン機能が行動の目的達成度とは関係なかった。

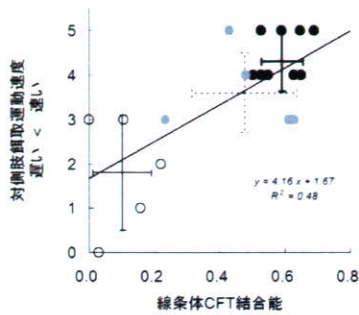


図3. PETにおける¹¹C-CFT線条体結合能と対側前肢餌取り運動速度との関係。対側肢の運動速度は、PET解析結果を知らない観察者により6段階で評価した(5:最も速い、0:無動か非常に遅い動き)。結合能が低い場合ほど運動速度が低下し両者に相関が見られた。
●: 正常時線条体の結合能とその対側運動速度(n=10), ●: MPTP投与対側の線条体(n=5), ○: MPTP投与側(右側)の線条体(n=5)、各群の平均値と標準偏差を十字で示す。

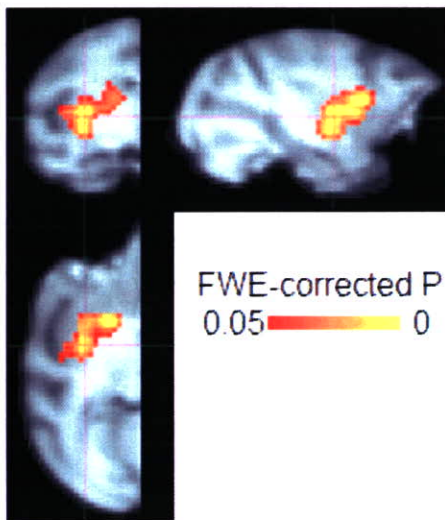


図4. 線条体CFT結合能と対側前肢餌取り運動速度との間の正の相関性(画素毎検討)。運動速度が低下するほど結合能低下が線条体の尾側部に見られた。FWE-corrected $P < 0.05$

D. 考察

以上の結果より、ドーパミン細胞死による機能障害発現度の指標として、餌取り課題での運動速度およびPETにおける¹¹C-CFT結合能の両者

が適すると考えられた。今後ドーパミン神経細胞補充療法を行う際にこれら両者をプライマリーエンドポイントとすることが望ましいと思われる。今後さらに上記データを詳細に解析し(ビデオ解析による運動速度定量化)、ポストシナプス機能(受容体機能)との関連性も合わせて多変量解析することでエンドポイントの最適項目を設定した上、骨髄間質細胞由来神経細胞の線条体への移植および移植後の運動機能、PETによる結合能を繰り返し評価することで細胞移植効果を判定する予定である。

細胞移植を行う際の最適な条件(細胞数や移植部位等)は確立していない(Hagell et al 2005, Brain Res Bull)。ヒトでの細胞移植治療では移植後に不随意運動(Graft-induced dyskinesia, GID)を発症する例が報告されているが機序は不明でドーパミン細胞移植数の過多(ドーパミン欠乏部位でない場所への細胞移植や、後腹側線条体への移植(Ma et al Ann Neurol 2002))、ドーパミン受容体機能亢進(Hagell et al 2005, Brain Res Bull)等が示唆されており動物実験での確証が必要とされている。本研究にて移植後にジスキネジアを発症した場合にはPET測定にてドーパミンプレシナプスおよびポストシナプス(受容体)の空間的分布・時間的変化を観察することでジスキネジアの機序、ドーパミン補充以外による治療機序(可塑性)、移植条件の最適化に関する知見が得られると考えている。またこのためこうした反応が見られた個体においてはセカンダリーエンドポイントとして受容体機能測定を行うこととした。

E. 結論

パーキンソン病モデルの行動評価(餌取り課題)、PETによる脳内ドーパミン機能の再現性高い機能評価が可能になった。今後骨髄間質細胞由来神経細胞の移植を行い有効性・安全性を評価する予定である。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文、総説

1. Kudomi N, Watabe H, Hayashi T, Iida H. Separation of input function for rapid measurement of quantitative CMRO2 and

- CBF in a single PET scan with a dual tracer administration method. *Phys Med Biol* 52(7):1893-1908, 2007
2. Shimamura M, Sato N, Sata M, Kurinami H, Takeuchi D, Wakayama K, Hayashi T, Iida H, Morishita R. Delayed Postischemic Treatment With Fluvastatin Improved Cognitive Impairment After Stroke in Rats. *Stroke* 38(12):3251-3258, 2007
 3. 佐藤 博司, 稲垣 正司, 林 拓也, 飯田 秀博. 目でみるページ・検査-diffusion MRI-. *CARDIAC PRACTICE*:201-204, 2007
 4. 飯田 秀博, 渡部 浩司, 赤松 哲哉, 中澤 真弓, 松原 圭亮, 竹内 朝子, 岩田 倫明, 林 拓也, 横田 千晶, 福島 和人, 福本 真司. SPECTを使った脳機能画像の定量化と標準化. *脳神経外科ジャーナル* 16 (10):742-752, 2007
 5. 林 拓也. ヒトの大脳皮質基底核連絡線維. *Clinical Neuroscience* 25 (1):28-33, 2007
 6. 林 拓也. 大脳基底核と皮質の神経線維結合—拡散強調画像による検討. *臨床神経学* 47(11), 838-840
 7. Iida Hidehiro, Eberl Stefan, Kim Kyeong-Min, Tamura Yoshikazu, Ono Yukihiko, Nakazawa Mayumi, Sohlberg Antti, Zeniya Tsutomu, Hayashi Takuya, Watabe Hiroshi. Absolute quantitation of myocardial blood flow with 201Tl and dynamic SPECT in canine: optimisation and validation of kinetic modelling. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.*, 2007
2. 書籍
なし
3. 学会発表
1. 林 拓也. 大脳皮質・基底核間の線維連絡拡散テンソル・拡散神経束追跡法(DT法)による解明. *日本神経学会*, 名古屋, 2007 16-May
 2. Iida H, Kudomi N, Hayashi T, Inomata T, Miyake Y, Ohta Y, Teramoto N, Koshino K, Piao R. Adequacy of dual administration of 15O2 and H215O for rapid and accurate assessment of CBF and CMRO2. *Brain07/BrainPET07*, Osaka, Japan, 2007 20-24 May
 3. Koshino K, Watabe H, Yamamoto A, Sato H, Ose T, Hikake M, Teramoto N, Hayashi T, Iida H. APPLICATION OF HARDWARE-BASED MULTIMODAL REGISTRATION SYSTEM TO FUSION OF PET AND MRI IMAGES. *Brain07/BrainPET07*, Osaka, Japan., 2007 20-24 May
 4. Watabe H, Hayashi T, Ohta Y, Teramoto N, Miyake Y, Kurokawa M, Yamamoto A, Ose Y, Ikoma Y, Iida H. Development of reference tissue method for multiple injections of [C-11] raclopride. *Brain and BrainPET'07*, Osaka., 2007
 5. Zeniya T, Watabe H, Ose T, Hayashi T, Teramoto N, Myojin K, Taguchi A, Sato H, Yamamoto A, Sohlberg A, Inomata T, Iida H. Absolute quantitation of regional cerebral blood flow in mouse using 123I-iodoamphetamine and pinhole SPECT. *Brain'07 & BrainPET'07*, Osaka., 2007 20-24 May
 6. 林 拓也. 線条体と大脳皮質の線維連絡—サルとヒトの対応. *第31回関東臨床神経生理研究会*, 東京, 2007 26 May
 7. Hayashi T, Ko Ji Hyum, Strafella A, Pike B, Dagher A. A role of dorsolateral prefrontal cortex in drug-cue induced neural response - A combined fMRI/rTMS study. *13th Annual Meeting of Human Brain Mapping*, Chicago, USA, 2007 10-14 Jun
 8. Yamauchi M, Hayashi T, Yamamoto A, Sato H, Iida H. Neural mechanism of melody perception: An fMRI study. *13th Annual Meeting of Human Brain Mapping*, Chicago, USA, 2007 10-14 Jun
 9. 銭谷 勉, 渡部 浩司, 猪股 亨, 青井 利行, キム キョンミン, 寺本 昇, 合瀬 恭幸, Sohlberg Antti, 久保 敦子, 林 拓也, 工藤 博幸, 増野 博幸, 山本 誠一, 中澤 真弓, 山道 芳彦, 飯田 秀博. ピンホールSPECTを用いた小動物イメージング. *ジョイントセミナー*, 国立循環器病センター研究所新館講堂, 2007 10 July
 10. 飯田 秀博, 林 拓也, 渡部 浩司, 三宅 義徳, 寺本 昇, 永沼 雅基, 横田 千晶, 上原 敏志, 森脇 博, 武信 洋平, 成富 博章, 峰松 一夫. 15Oガスをを用いた迅速PET定量法. *第23回BFIC*, 神戸ポートピアホテル, 2007 22 Sep
 11. 佐藤 博司, 林 拓也, 川畑 義彦, 中島