

## FMT-PET によるパーキンソン病の画像診断

村松慎一<sup>1)</sup>、中野今治<sup>1)</sup>、浅利さやか<sup>1)</sup>、藤本健一<sup>1)</sup>、大西理文<sup>2)</sup>、永嶋聖治<sup>2)</sup>、佐藤俊彦<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>自治医科大学神経内科 <sup>2)</sup>宇都宮セントラルクリニック

### 研究要旨

パーキンソン病とその関連疾患を対象として、芳香族アミノ酸脱炭酸酵素(AADC)に対するリガンドである 6-<sup>[18F]</sup> fluoro-*m*-tyrosine (FMT)を使用した PET を実施した。パーキンソン病では、軽症でも被殻背外側部の FMT の集積の低下を認め、進行例では被殻全体の集積が低下していた。進行性核上性麻痺では、被殻の萎縮と同時に集積の低下が見られた。FMT は、6-<sup>[18F]</sup> fluoro-L-dopa より S/N 比が優れており、3T MRI 画像と組み合わせることにより詳細にドパミン神経終末の脱落状態を評価し得る有用な画像診断法と考えられる。

### A.研究目的

パーキンソン病の画像診断として、ドパミントランスポーターに対する 2β-carboxymethoxy-3β-(4<sup>[123I]</sup>iodophenyl) tropane [<sup>123I</sup>]β-CIT や、心筋に対する myocardial meta-<sup>[123I]</sup>iodobenzylguanidine [<sup>123I</sup>]MIBG を使用した single photon emission tomography (SPECT)があるが、解像度の優れた positron emission tomography (PET)による解析が望まれる。パーキンソン病に対する遺伝子治療の臨床研究を開始するにあたり、その適応および治療効果の判定を客観的に行うため、芳香族アミノ酸脱炭酸酵素(AADC)に対するリガンドである 6-<sup>[18F]</sup> fluoro-*m*-tyrosine (FMT)を使用した PET を開発した。

### B.研究方法

1. <sup>18F</sup> ガス製造および回収装置とその後の標識反応に必要な合成装置を製作した。合成後の FMT の安全性を評価するために、放射化学的純度試験（ラジオ液体クロマトグラフ法）、エンドトキシン試験（比濁法）、無菌試験（血液培養法）、比放射能評価試験（高速液体クロマトグラフ法）、不純物分析(ICP-MS 法による Sn の測定)を実施した。また、マウスを使用して急性毒性試験を実施した。

2. 静止時振戦・動作緩慢・筋強剛・姿勢反射障害などの臨床症状および L-dopa への反応性から、臨床的にパーキンソン病と診断されている 50 例、および少

数例の進行性核上麻痺、本態性振戦、薬剤性パーキンソニズムについて、FMT-PET を実施した。

### (倫理面への配慮)

FMT-PET の実施にあたっては、あらかじめ施設内倫理委員会の承認を得た。被験者には、検査の目的・危険性などについて十分な説明を行い、時間をかけて文書による同意を得た。

### C.研究結果

1. 合成した FMT の分析結果は、  
性状：無色透明の液体、pH：5-6  
放射化学的純度：95%以上  
エンドトキシン試験：0.25 EU/ml 以下  
無菌試験：7 日間培養で陰性  
比放射能：250-320 GBq/mmol  
不純物分析(Sn) 0.1ppm 以下  
マウスにおいて人体投与量の 100 倍量の FMT を静脈投与した際の急性毒性は認められなかった。

2. パーキンソン病では、軽症(Hohen & Yahr II)でも被殻背外側部の FMT の集積の低下を認め、進行例(Hohen & Yahr III または IV)では被殻全体の集積が低下していた。尾状核の集積は相対的に保たれていた。進行性核上麻痺では、被殻の萎縮と同時に集積の低下が見られた。本態性振戦と薬剤性パーキンソニズムでは、被殻全体に集積が認められた。

図1:パーキンソン病(Yahr II)のMRI(左)と FMT-PET (右) 画像

左上肢振戦を主訴とする 70 歳女性。FMT 集積は、右側 (図では左側) の被殻背外側部で低下している。左側被殻でも背外側部の軽度低下が認められる。

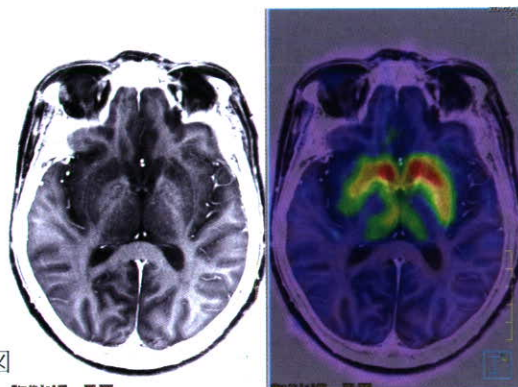


図 2: 罹病 10 年の 57 歳男性。両側被殻の広範な領域で FMT の集積が低下している。尾状核の集積は比較的保たれている。

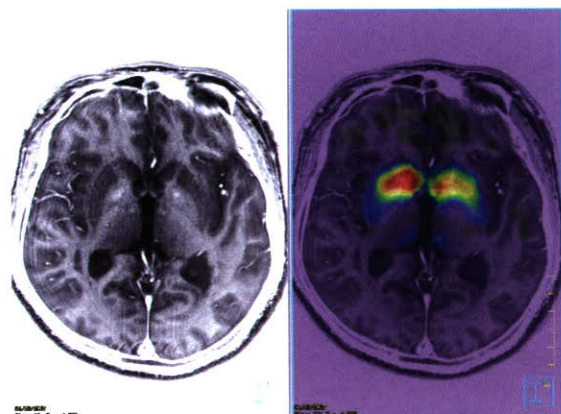


図 3: 本態性振戦の画像  
両上肢と頭部の静止時振戦を主訴とする 81 歳女性。両側の尾状核・被殻の全領域に明らかな FMT の集積を認める。

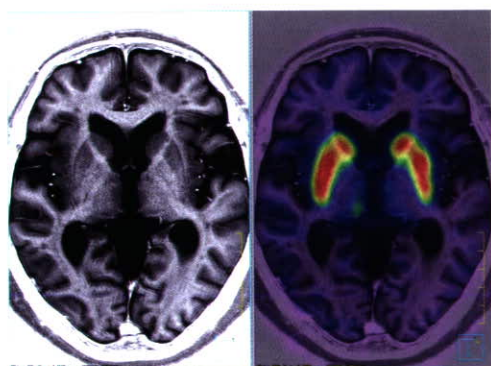
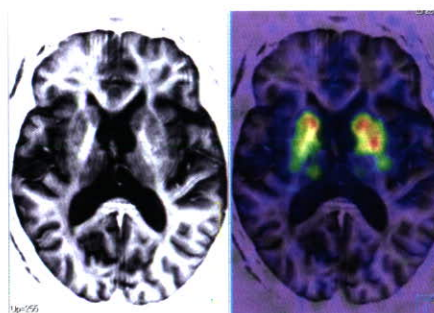


図 4: 進行性核上性麻痺の画像  
易転倒性を主訴とする 62 歳男性。  
両側の被殻で不規則な FMT の集積低下を認める。MRI でも被殻の信号変化が見られる。



#### D. 考察

自治医科大学では、進行したパーキンソン病患者を対象として、アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを応用し AADC 遺伝子を両側の被殻に導入する遺伝子治療の臨床研究を平成 19 年 5 月から開始した。この遺伝子治療の適応の判定、および導入した遺伝子の発現を客観的に評価するため、AADC の基質である FMT をリガンドとした PET 計測法を開発した。FMT は、AADC により fluoro-*m*-tyramine (FMTA) に変換され、続いて monoamine oxidase (MAO) により fluoro-*m*-hydroxyphenylacetic acid (FHPAA) となり、脳内に蓄積する。FMT は、従来の F-dopa と比べて、1) ラットの線条体において AADC に対する結合性が 10 倍高い<sup>1)</sup>、2) catechol-O-methyl-transferase (COMT) による代謝を受けにくい<sup>2)</sup>ため、F-dopa の場合にみられるような脳外で産生された 3-O-methyl-F-dopa のような代謝物が脳内に入り background を上げてしまうことがない<sup>2)</sup>、3) FMTA はシナプス小胞に取り込まれにくく MAO により容易に FHPAA に変換される<sup>3)</sup>、などの特徴を持つ。

今回の結果、パーキンソン病では早期から被殻背外側部における FMT の集積低下が認められること、尾状核での集積は、進行例でも比較的保たれていることなど、剖検例や MPTP モデルサルにおける脳組織の AADC の免疫染色の結果と一致する所見が得られている。今後さらに、罹病期間、重傷度などと FMT/MRI 所見の関連について詳細に解析予定である。

## E. 結論

FMT-PET は、3T MRI 画像と組み合わせることにより詳細にドパミン神経終末の脱落状態を評価し得る有用な画像診断法と考えられる。

## F. 文献

1. DeJesus O., et al.: J Nucl Med, 38:630-636, 1997
2. DeJesus O., et al.: J Label Comp Radiopharm, 37:147-149, 1995
3. Barrio JR., et al.: J Cerebral Blood Flow Metab, 15:S652, 1995

## G. 健康危険情報

特になし

## H. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Sawada H, Hishida R, Hirata Y, Ono K, Suzuki H, Muramatsu S, Nakano I, Nagatsu T, Sawada M: Activated microglia affect the nigro-striatal dopamine neurons differently in neonatal and aged mice treated with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. J Neurosci Res, 85(8):1752-1761, 2007.

### 2. 学会発表

1. 村松慎一, 古寺美加, 奈良優子, 滝野直美, 西田紘子, 中野今治, 奥野剛, 小西奈依, 道端英雄, 鈴木豊, 近藤靖, 仁藤新治: 自殺遺伝子を導入したより安全な移植用 ES 細胞の開発. 第 48 回日本神経学会総会, 名古屋, 2007 年 5 月 17 日. (プログラム p111)

2. Muramatsu S, Nishida H, Nara Y, Takino N, Asari S, Kodera M, Xiao W-Z, Sasaki Y, Kikuchi S, Matsushita T, Okada T, Hoshi M, Nakano I and Ozawa K: AAV8 vectors transduce oligodendrocytes efficiently, 10th annual meeting of the American Society of Gene Therapy, Seattle, June 2, 2007. (Mol Ther Vol.5, Sup1, S319)

3. Muramatsu S, Ono F, Takino N, Nishida H, Asari S, Ikeguchi K, Fujimoto K, Tsukada H, Terao K, Ozawa K and Nakano I. Long-term behavioral recovery in a primate model of parkinson's disease after gene transfer of

dopamine-synthesizing enzymes. The Japan society of gene therapy's 13<sup>th</sup> annual meeting. Nagoya, June 29, 2007.

4. Muramatsu S, Ono F, Takino N, Nishida H, Asari S, Ikeguchi K, Fujimoto K, Tsukada H, Terao K, Ozawa K and Nakano I: Long-term recovery in a primate model of Parkinson disease after gene transfer of dopamine-synthesizing enzymes. Neurosci Res, 58(1): S58, Yokohama, Sept 11, 2007.

5. 村松慎一, 小野文子, 滝野直美, 西田紘子, 浅利さやか, 池口邦彦, 藤本健一, 塚田秀夫, 寺尾恵治, 小澤敬也, 中野今治: パーキンソン病モデルサルにおけるドパミン合成系酵素遺伝子導入の長期効果. 第 30 回日本神経科学大会, 横浜, 2007 年 9 月 11 日. (プログラム p114)

6. Muramatsu S, and Nakano I: Gene therapy for Parkinson's disease. JMU 21st Century COE Program The 4<sup>th</sup> Nikko International Symposium, Nikko, September 29, 2007. (abstract p29)

## I. 知的所有権の取得状況

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

## 高齢パーキンソン病患者の L-dopa 血中濃度パターン

村田美穂, 塚本 忠, 林 幼偉, 岡本智子, 斉藤勇二, 古澤嘉彦, 久野貞子  
国立精神・神経センター武蔵病院

### 研究要旨

高齢発症パーキンソン病患者でより適切に L-dopa 治療を行うために、L-dopa 血中動態の特徴を明らかにした。L-dopa 治療 7 年未満のパーキンソン病患者の L-dopa test の結果を 65 歳以上発症の高齢発症群と 65 歳未満発症の中年発症群に分けて比較した。高齢発症患者では中年発症者に比較して T1/2（高齢発症群； $89.7 \pm 13.4$  分、中年発症群； $50.8 \pm 5.3$  分）、Tmax が長く、Cmax が低い緩徐な L-dopa 動態を示し、食後服用では効果閾値に達しないと推定される Cmax が非常に低い 1 群も含まれていた。高齢発症群では中年発症群と異なり脱炭酸酵素阻害薬に種類による L-dopa 動態の差異も認められた。高齢者の効果不十分例では積極的に L-dopa 増量や benserazide 合剤への変更などを試みるべきと考えられた。

### A. 研究目的

人口の高齢化に伴い高齢発症パーキンソン病患者は増え続けている。一般に高齢者では代謝の低下などを考慮して薬量をやや低めに設定されることが多い。しかしパーキンソン病においては必要量の L-dopa を投与することで ADL, QOL の一層の改善が期待できることから、適切な L-dopa の使用法を確立する必要がある。高齢発症パーキンソン病患者でより適切に L-dopa を使用するために、L-dopa 血中動態の特徴を明らかにする。

### B. 研究方法

平成 19 年 1 月より 10 月までに当院で診療のために行った L-dopa test の結果のうち、治療歴 7 年未満のパーキンソン病患者 25 名の結果について、発症年齢により 2 群に分け（65 歳未満発症の中年発症群：14 名；平均発症年齢 48.1 歳、検査時平均年齢 54.8 歳と 65 歳以上発症の高齢発症群：11 名；平均発症年齢 70.6 歳、検査時平均年

齢 74.6 歳）それぞれの L-dopa 血中動態について検討した。

L-dopa test：前夜より絶食の状態で検査当日午前 8 時に L-dopa+DCI 合剤 100mg を服用し、服用前、服用 15 分、30 分、1, 2, 3, 4 時間後に採血を行った。L-dopa 及びその代謝産物は HPLC-ECD (Coulochem) を用いて定量した。

なお、先行研究で L-dopa 服用歴 7 年以上では若年発症群では高齢発症群に比較してより血中濃度変動の急峻化が起こりやすいことを明らかにしているため、今回は 7 年未満に限定した。（倫理面への配慮）

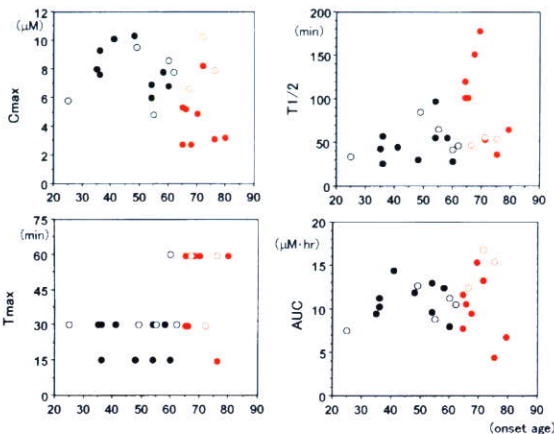
### C. 研究結果

高齢発症群では中年発症群に比較して L-dopa 血中動態の個体差がより大きく、より、Cmax が低く、T1/2, Tmax が長く、緩徐なパターンを示した。特に T1/2 は高齢発症群は  $89.7 \pm 13.4$  分、中年発症群は  $50.8 \pm 5.3$  分（mean $\pm$ SEM）と有意

に高齢発症群で長かった。また、 $C_{max}$  については非常に低く、100mg 食後服用では効果出現閾値に達しない可能性の高い 1 群が含まれていた。

$C_{max}$  の低い 1 群は  $T_{1/2}$ ,  $T_{max}$  がより長い、 $AUC$  は必ずしも小さくなかった。

L-dopa 合剤はドパ脱炭酸酵素阻害薬により *carbidopa* 製剤と *benserazyde* 製剤がある。*benserazyde* 製剤服用者は高齢発症群では 3 例、中年発症群では 4 例とやや少なめではあったが、中年発症群ではどちらの製剤でも L-dopa 動態に差はないが、高齢発症群では *benserazyde* 製剤のほうが有意に  $C_{max}$ 、 $AUC$  が高く、 $T_{1/2}$  が短かった。



#### D. 発症年齢と L-dopa 血中動態

- : 65 歳未満発症, *carbidopa* 製剤
- : 65 歳未満発症, *benserazyde* 製剤
- : 65 歳以上発症, *carbidopa* 製剤
- : 65 歳以上発症, *benserazyde* 製剤

#### D. 考察

高齢発症群の L-dopa 血中動態は中年発症群と比較して明らかに緩徐なパターンをとっており、これは高齢発症者で *wearing-off* 現象の出現しにくい原因の一つと考えられる。

高齢発症群では  $AUC$  は必ずしも低くなく、 $C_{max}$  の低さは L-dopa 吸収障害ではなく、緩徐な吸収に起因すると考えられた。

パーキンソン病における L-dopa の効果発現には閾値があり、血中濃度が閾値に達しなければ効

果は出現しない。高齢発症群の中には非常に  $C_{max}$  が低い 1 群が存在し、彼らは通常量の L-dopa では十分効果が出現せず、増量することで明らかな効果を得ることが可能であった。高齢発症パーキンソン病患者で L-dopa の効果が不十分な場合には増量を試してみるべきである。また、高齢発症群で、効果が不十分である場合には、DCI 剤の L-dopa に対する比率が *carbidopa* の 10% に対して 25% の *benserazyde* 製剤に変更してみる価値はあると考えられた。

#### E. 結論

高齢発症パーキンソン病患者では L-dopa の吸収が遅く、血中動態は緩徐なパターンで、 $C_{max}$  が非常に低い 1 群も含まれていた。高齢者では腎機能の低下などを考慮して薬物量を少なく設定しがちであるが、パーキンソン病の L-dopa 治療においては効果不十分な場合はむしろ積極的に増量を試す価値がある。また、高齢発症者のほうが脱炭酸酵素阻害剤の種類による影響を受けやすく、効果不十分な場合には *benserazyde* 製剤に変更してみる価値はある。

#### F. 文献

- 1) Murata M, et al. J Neural Transm. 103 :1177-1185, 1996
- 2) Murata M, et al. Eur Neurol. 38(suppl2) :50-55, 1997.
- 3) 村田美穂 内科 83 :491-493, 1999
- 4) 村田美穂 Geriatr Med 40 :1213-1217, 2002

#### G. 健康危険情報

なし

#### H. 研究発表

なし

#### I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

## パーキンソン病の上部消化管機能の検討

（分担）研究者 野元正弘<sup>1)</sup>

研究協力者 永井将弘<sup>1)</sup>、西川典子<sup>1)</sup>、久保円<sup>1)</sup>

所属 <sup>1)</sup>愛媛大学大学院医学系研究科病態治療内科学

### 研究要旨

パーキンソン病では振戦、筋固縮、無動、姿勢保持障害等の運動症状とともに、起立性低血圧、便秘、浮腫、脂顔、神経因性膀胱等の自律神経症状がみられる。もっとも頻度の高い症状は消化管の運動機能の障害にともなう便秘である。消化管の機能の低下は薬物の血中動態に影響することから、薬効に影響の大きい上部消化管機能について検討した。パーキンソン病において<sup>13</sup>Cを服用し、呼気への排出を測定する呼気試験を検討したところ、パーキンソン病では排泄の遅延が見られた。このことからパーキンソン病における上部消化管機能の低下を確認することができた。この結果はパーキンソン病の病態研究とともに、薬物動態と薬効の改善に資することができると考えられる。

### A.研究目的

パーキンソン病では振戦、筋固縮、無動、姿勢保持障害等の運動症状とともに、起立性低血圧、便秘、浮腫、脂顔、神経因性膀胱等の自律神経症状がみられる。もっとも頻度の高い症状は便秘であり、便秘は消化管の運動機能の自律神経障害と考えられる。消化管の機能は薬物の吸収にも作用することから、薬効に影響の大きい上部消化管機能について検討した。

### B.研究方法

<sup>13</sup>Cの呼気試験を用いた。<sup>13</sup>Cは経口摂取した後に胃から十二指腸を経て空腸へ送られて吸収される。吸収された<sup>13</sup>Cは門脈を経て右心から肺動脈へ送られ、肺からCO<sub>2</sub>として呼気へ排出される。大気中にも<sup>13</sup>Cが存在するが、大部分は<sup>12</sup>Cであることから呼気中の<sup>13</sup>Cを測定することにより、

体内での動態が明らかとなり、上部消化管の機能を評価することができる。このことからパーキンソン病の症例、および健常成人において<sup>13</sup>Cによる呼気試験を行なった。また、一般に固形物の胃での滞留時間は長いことから、<sup>13</sup>Cの消化管での移動は水で服用するときと、固形物等に含ませて投与するときでは異なることが予想される。このことから<sup>13</sup>Cを水で服用するときと、経腸栄養食で服用するときを比較した。

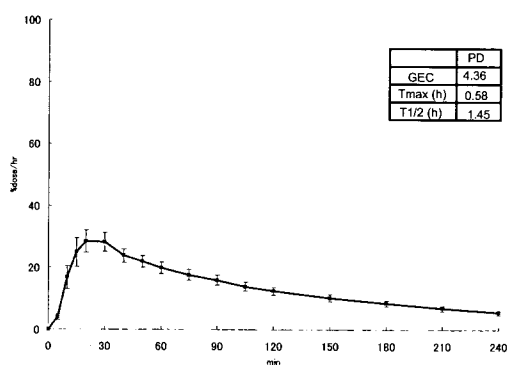
なお、この研究は愛媛大学医学部附属病院臨床研究倫理審査委員会に申請し承認を受けて行なった。

### C.研究結果

パーキンソン病症例6例において水で<sup>13</sup>Cを服用したところ、排泄速度が最高となる時間T<sub>max</sub>は

0.58 時間、半分が排泄される時間 T1/2 は 1.45 時間、排泄速度は 4.36 であった (Fig 1)。健常人においては排泄速度の Tmax は 0.52 時間であり、T1/2 は 1.23 時間、排泄速度は 4.67 であり (Fig 2)、排泄に要する時間はパーキンソン病において延長していた (Fig 3)。また、年齢における検討を行なうために健常人 9 人において、20 歳代 3 人、30 歳代 4 人、40 歳代 1 人、50 歳代 1 人を検討したところ、今回の検討では年齢差による排出速度の変化は確認できなかった (Fig 4)。<sup>13</sup>C の呼気試験を、水と経腸栄養食による服用とで比較検討したところ、T1/2 は水で 1.23 時間、経腸栄養食で 1.61 時間であり、排泄速度は水で 4.67、経腸栄養食で 4.04、また排泄速度が最高となる時間 Tmax では水で 0.52、経腸栄養食では 0.87 であり、経腸栄養食による服用では <sup>13</sup>C はゆっくりと時間をかけて吸収・排泄されており (P<0.05)、水と経腸栄養食による服用では、<sup>13</sup>C の呼気への排泄には明らかな差がみられた (Fig 5, Fig 6, Fig 7)。

Fig 1  
パーキンソン病症例における呼気試験  
— 水での服用 —



PD 6 例 (平均年齢 67 歳, H-Y2.5-3,) m±SD n=6

Fig 2  
健常人における呼気試験  
— 水での服用 —  
健常人 6 例 平均年齢 28 歳  
m±SD n=6

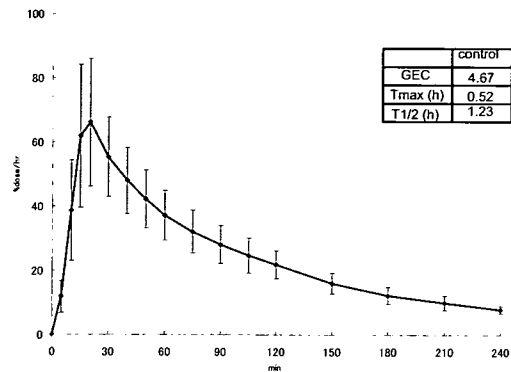
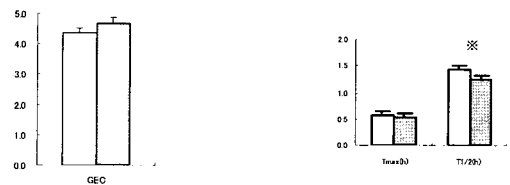


Fig 3  
PD 症例と健常人における患者呼気試験の比較  
— 水による服用 —



■ パーキンソン病症例 □ 健常人  
Mann-Whitney U-test ※P < 0.05 n = 6

Fig 4  
 健常人における呼気試験  
 — 年代別の比較 —

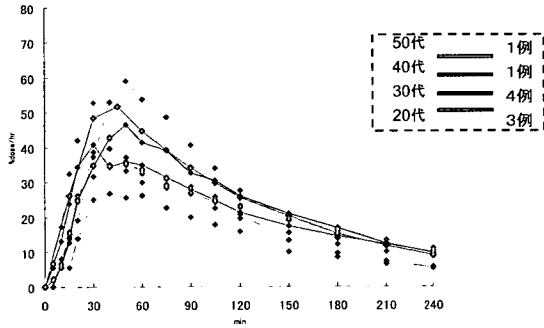


Fig 6  
 健常人における呼気試験  
 — 経腸栄養食による服用 —

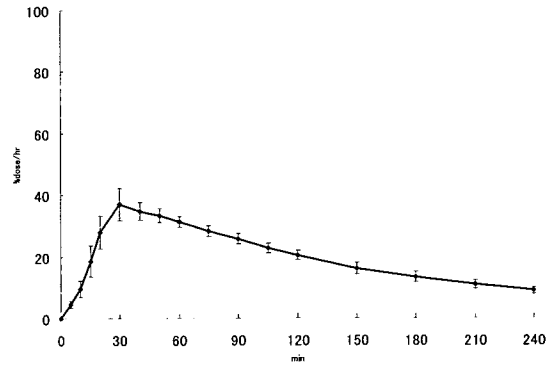
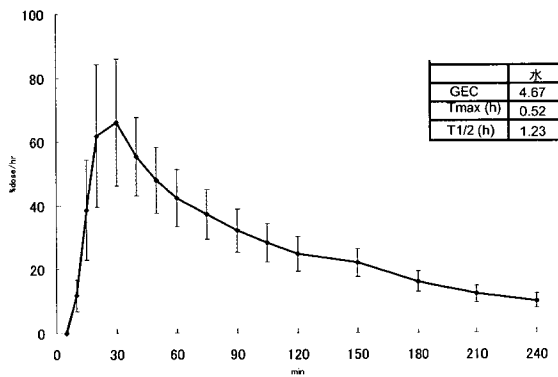
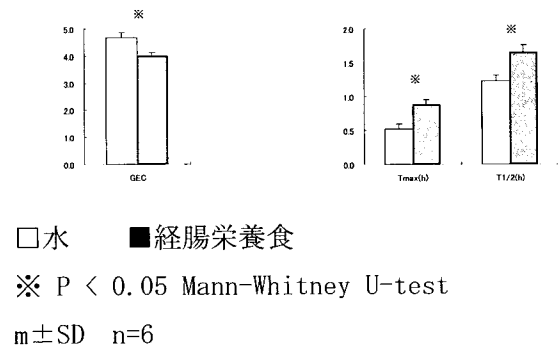


Fig 5  
 健常人における呼気試験  
 — 水での服用 —



m±SD n=6

Fig 7  
 健常人における呼気試験  
 — 水と経腸栄養食の比較 —



#### D. 考察

<sup>13</sup>C を用いてパーキンソン病症例における上部消化管機能を検討したところ、健常人では<sup>13</sup>Cの半分が排泄されるT1/2が1.23時間（1時間14分）であるのに対してパーキンソン病においては1.45時間（1時間27分）と0.22時間（14分）、18%延長しており（Fig 6）、パーキンソン病では上部消化管機能の低下が示唆された。食物による<sup>13</sup>Cの排泄の差も



明らかであり、排泄速度は経腸栄養食では水に比べて0.63時間(分)、13.5%(経腸栄養食4.67時間/水4.04時間)遅くなっており、半分が排泄される時間を表すT1/2は水においては1.23時間(73.8分)であったのに対して、経腸栄養食では1.61時間(96.6分)と延長し、経腸栄養食では水に比較して0.38時間(22.8分)排泄に時間を要していた(Fig 7)。

### E.結論

パーキンソン病において上部消化管機能を<sup>13</sup>Cによる呼気試験を用いて評価した。その結果パーキンソン病においては服用した<sup>13</sup>Cの半分が排泄されるT1/2が延長しており、排泄速度は低下していた。また、食物により排泄速度は変化し、経腸栄養食では水に比べて排泄速度も排泄時間も延長していた。薬物の動態は上部消化管機能に影響を受けることから、<sup>13</sup>C呼気試験はパーキンソン病の消化管機能の評価とともに、今後は治療薬の動態の検討にも有用と考えられる。

### F.文献

Cardoso-Júnior A, et al. : *Obes Surg.* 236-41, 2007

Bluck LJ, et al. : *Physiol Meas.* 279-89, 2006

### G.健康危険情報

なし

### H.研究発表

#### 1. 論文発表

Shimizu T, Iwata S, Miyata A, Fukuda T, Nomoto M. Delayed L-DOPA-induced hyperalgesia. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 85 : 643-647, 2006.

Fabbrini G, Brotchie JM, Grandas F, Nomoto M, Goetz CG. Levodopa-Induced Dyskinesias. *Movement Disorders* 22(10) : 1379-1389, 2007.

西川典子, 永井将弘, 矢部勇人, 森豊浩代子, 森豊隆志, 野元正弘 Parkinson 病の運動合併症状に対する apomorphine の治療効果 *神経治療学* 24(4) : 503-508, 2007.

野元正弘 神経疾患治療薬の現況と展望

*Clinical Neuroscience* 25(11) : 1204-1206, 2007.

#### 2. 学会発表

第48回日本神経学会総会, 名古屋市, 5.17, 2007.  
伊藤晶子, 米田誠, 永井将弘, 井川正道, 伊藤万美子, 山村修, 濱野忠則, 野元正弘, 栗山勝 L-Dopa 血中濃度測定を指標とした進行期パーキンソン病の治療

### I.知的所有権の取得状況

なし

## 嗅球はレビー小体が最初に出現する場所のひとつである

報告者氏名：村山 繁雄<sup>1)</sup>

仙石 鎌平<sup>1) 2)</sup>、齊藤 祐子<sup>1) 3)</sup>、望月 秀樹<sup>4)</sup>、

1) 東京都老人総合研究所 高齢者ブレインバンク

2) 東京慈恵会医科大学 神経内科

3) 東京都老人医療センター 剖検病理科

4) 順天堂大学 脳神経内科

### 研究要旨

在宅高齢者支援総合救急病院の連続開頭剖検例よりなる、高齢者ブレインバンク登録例 320 例の嗅球を含む脳、脊髄、副腎を対象に、抗リン酸化 $\alpha$ シヌクレイン、抗チロシン水酸化酵素抗体等の免疫染色を全例に実施し検討した。その結果、ヒト老化において、嗅球はレビー小体が最初に出現する部位の一つであること、嗅球におけるレビー小体病変は二次嗅覚構造から三次嗅覚構造へ進展する傾向を示すこと、AD 病変が合併すると三次嗅覚構造の病変が強調されること、TH 陽性細胞との関連はあっても少ないことが明らかとなった。

### A. 研究目的

嗅球は特にパーキンソン病（PD）において、ごく初期に病変が出現する部位である可能性と、抗チロシン水酸化酵素（TH）陽性細胞が増加しており、神経再生の可能性があるとする二点で注目を集めている。しかし、ヒト老化において、PD 病変が、嗅球でどのように進展していくかについて、高齢者全体を網羅的に検索した研究はない。我々は、在宅高齢者支援総合救急病院の連続開頭剖検例よりなる、高齢者ブレインバンク登録例を免疫組織学的に検索することで、この問題への解答を試みた。

### B. 研究方法

東京都老人医療センターで 2003 年 3 月から 2006 年 12 月までに得られた高齢者連続開頭剖検 337 例中、嗅球が前嗅核を含め完全な状態で

検索可能だった 320 例（95.0%）を対象とした。

男性 180 例、女性 140 例、平均  $81.5 \pm 8.5$  歳（年齢幅 52~104 歳）。死後時間は、平均 12 時間 33 分（52 分~70 時間 10 分）であった。

**検索部位：**嗅球は剖検時採取し、4%パラホルムアルデヒドで 48 時間固定後、正中矢状断で 2 分（Figure 1.）シパラフィン包埋後、6 $\mu$ m 厚連続切片を作成した。

嗅球採取後、脳を矢状断で 2 分し、神経病理学的所見により乏しい半脳（原則として右半球）を肉眼観察後 7mm でスライスし、前頭・側頭・後頭極、扁桃核後方・嗅内野・前方海馬、後方海馬、中脳尾側を 4%パラホルムに採取、残りを生化学的・遺伝子学的検索のために迅速凍結した。対側の半脳は、20%中性緩衝ホルマリンで 7-13 日固定後、既報告通り 1)、高齢者ブレインバンク

プロトコールに従いパラフィン包埋し、6 $\mu$ m厚連続切片を作成した。また、末梢自律神経系を代表する副腎 2) を検索に加えた。

**神経病理：**切り出し全部位に、H&E、KB 染色を施した。改良型メセナミン鍍銀染色、Gallyas-Braak 鍍銀染色を前方海馬・扁桃核に、コンゴレッド染色を後頭葉に、elastica Masson trichrome 染色を基底核に加えた。

免疫組織学的には、一次抗体として、抗リン酸化  $\alpha$  シヌクレイン(PSyn)[monoclonal, PSyn#64 and polyclonal, PSer129]、抗リン酸化タウ (ptau) (AT8)、抗  $\beta$  アミロイド蛋白 (A $\beta$ ) 11-28 (12B2)、抗ユビキチン (polyclonal)、抗 tyrosine hydroxylase (anti-TH, monoclonal) 抗体を採用し、Ventana 20 NX autostainer で可視化した。

#### レビー小体病理の評価：

**1. 検索法：**一次スクリーニングとして、嗅球に加え、両側副腎 2)、延髄、青斑核レベルでの橋上部、中脳、扁桃核を、抗リン酸化  $\alpha$  シヌクレイン抗体免疫染色で評価した。上記検索部位のいずれかで陽性所見が得られた場合には、第 1 回 DLB コンセンサスガイドライン (CGDLB) によるレビー小体スコア決定の必須部位である、前帯状回、嗅内野皮質、第 2 前頭回、第 2 側頭回、頭頂間溝を含む頭頂葉を、抗ユビキチン、抗 PSyn 抗体免疫染色で評価した。さらに第 3 回 CGDLB におけるレビー小体ステージのため、Meynert 基底核を評価した。さらに認知症との関係が注目されている海馬 CA2、3 についても同様に評価した。交感神経節前線維として、胸髄中間外側核を検索に加えた。また、Braak のレビー小体ステージ分類ステージ VI の評価のために必要な中心前回を含めた。

**2. 嗅球以外の中枢神経系ステージ分類：**レビー小体のステージ分類としては、高齢者ブレインバンク (BBAR) 中枢神経系レビー小体ステージ分類 1) を、一部改良し 2) 用いた。ステージ 0：明らかな PSyn 抗体免疫染色陰性、0.5：中枢神経系のいずれかの部位に PSyn#64 免疫染色陽性レビー

neurites 又は dots を認めるか、細胞質内びまん性弱陽性所見を認めるが、細胞質内局所凝集の所見を認めない、ステージ I：レビー小体ないし PSyn#64 陽性細胞内凝集所見をみるが、黒質・青斑核の脱色素を認めない(偶発性レビー小体病)、ステージ II：レビー小体の出現と黒質・青斑核の脱色素を認める。黒質が他病変で侵されている場合、レビー小体のみが出現している部位(一般には迷走神経背側核)に、明らかな細胞脱落の所見を認めるが、レビー小体病理に起因したと考えられるパーキンソン症状ないし認知症の症状記載を認めない(発症前レビー小体病)、ステージ III：認知症を伴わない PD、ステージ IV：認知症を伴う PD (PDD) と DLB で、レビースコア・レビーステージが移行型(辺縁系)のもの、ステージ V：PDD と DLB で、レビースコア・レビーステージが新皮質型を満たすものとした。PDD と DLB の区別は、いわゆる「1 年ルール」に基づいた。ステージ II、III の例は、レビー小体スコア、レビー小体ステージにより、脳幹型 (B)、移行型 (T)、新皮質型 (N) に分類した。ステージ 0.5 と I の早期例は、レビー小体病理の出現が軽度であるので、レビー小体スコアでの数による評価ではなく、レビー小体病変の拡がりにより、脳幹型 (B)、移行型 (T)、新皮質型 (N) に分類した。また、これらの進展パターンにあてはまらず、扁桃核に強調される陽性所見を認める型を、扁桃核垂型 (A) と分類した。

**3. 嗅球のステージ分類：**“辺縁部”(主たる PSyn 陽性構造は 2 次嗅覚構造である房飾細胞・顆粒細胞・僧帽細胞及び傍系球体神経細胞)と、三次嗅覚構造である“前嗅核 (AON)”とを区別して検索した。第 3 回 CGDLB の評価基準に従い、以下のステージ分類を採用した。0: PSyn#64 免疫染色陰性；1: PSyn#64 抗体免疫染色陽性の dot、neurite を認めるが、明らかなレビー小体、神経細胞質内  $\alpha$  シヌクレイン凝集を認めないもの、2: 低倍率 (x10) で明らかなレビー小体、神経細胞質内  $\alpha$  シヌクレイン凝集を 1 個以上認めるもの；

3: 高倍率 (x20) で神経細胞質内  $\alpha$  シヌクレイン凝集または明らかなレビー小体を 4 個以上認めるもの; 4: 無数の dot、neurite を認め、多数の神経細胞質内  $\alpha$  シヌクレイン凝集やレビー小体により瀰漫性陽性所見を呈するもの。ステージ 4 は AON にのみ認められたので、統計的検討では“**AON**”は、3+4 を合わせるかたちとした。

**4. レビー小体病理以外の他の老年性変化:** 神経原線維変化 (NFT)、老人斑 (SP) は Braak 分類を用いてそれぞれ 7 段階、4 段階に、嗜銀顆粒は高齢者ブレインバンク (BBAR) 分類 3) を用い、4 段階で評価した。AD の診断には、臨床的に認知症の記載と Braak NFT ステージ IV 以上と SP Stage C 4) に従った。

**臨床情報の収集:** 病歴 (医師記録・看護記録) より、パーキンソン症状・認知症の有無を抽出した。後方視的に Clinical Dementia Rating (CDR) を、二人の神経内科専門医が独立に決定した。評価の異なる際は、主治医ないしは主たる介護者より情報を得ることで、評価を一致させた。パーキンソン症状に関しては、寡動、(安静時) 振戦、筋固縮、姿勢反射障害の主要 4 徴のうち 2 つ以上を認めたものを「パーキンソン症状あり」として抽出した。

**統計学的解析:** 同一症例での嗅球における陽性部位の比較に対して、Wilcoxon の順位和検定を、対象症例全例における嗅球の陽性部位の比較については、Yates の補正による  $\chi^2$  乗検定、McNemar 検定を行った。平均死亡時年齢の比較には、Mann-Whitney 検定を行った。有意差は  $p < 0.05$  で有意とした。

### C. 研究結果

**臨床情報:** 320 連続剖検例において、臨床的にパーキンソン症状が捉えられていたのは 47 例であった。また、CDR を後方視的に評価可能だったのは、320 連続剖検例中、251 例であった。CDR 0 95 例、CDR 0.5 41 例、CDR 1 31 例、CDR 2 15 例、CDR 3 69 例。評価可能であった症例中 CDR 0.5 以上の占める割合は、62.2%にも

及んだ。

**中枢神経系でのレビー小体病理の評価:** 対象 320 例を BBAR レビー小体ステージ 7, 8) を用いて嗅球を加えずに分類すると、ステージ 0 が 218 例、ステージ 0.5 が 30 例、ステージ I が 37 例、ステージ II は 8 例、ステージ III は 2 例、ステージ IV は 11 例、ステージ V は 14 例であった。亜型分類別では、0.5B 8 例、0.5T 8 例、0.5A 14 例、IB 16 例、IT 14 例、IA 7 例、IIB 3 例、IIT 4 例、IIA 1 例であった。

### 嗅球のレビー小体病理の評価:

**1. 嗅球のレビー小体病理出現部位:** 嗅球にレビー小体病理を認めた症例は 320 例中、85 例 (26.6%) であった。レビー小体病理が陽性となる症例中、3 次嗅覚構造である AON に高度に陽性所見を呈する例 (Figure 2A) と、AON のレビー小体病理は極軽度で、むしろ 2 次嗅覚構造である房飾細胞、僧帽細胞、顆粒細胞層に強く陽性所見を認める“**辺縁部**”優位症例 (Figure 2B) が存在することが明らかとなった。嗅球のレビー小体病理出現症例数を辺縁部、AON 別に検討すると、辺縁部のみに陽性所見を認める症例が 14 例、AON に陽性所見を認める例は 2 例のみで、これらは AON 神経細胞質内に極軽度の顆粒状の陽性所見を認めるのみで、両例とも AD を合併していた。統計学的に辺縁部と AON とでは、有意差 ( $p = 0.004$ ) を認めた。

### 2. 嗅球のレビー小体病理と中枢神経系レビー小体ステージ (BBAR レビー小体ステージ) との比較

嗅球のレビー小体病理と嗅球を除いた BBAR レビー小体ステージとの比較を Figure 3 に示す。亜型を含めた中枢神経系レビー小体各ステージにおける嗅球のレビー小体病理陽性率は、ステージ 0 では 0 例 (0%)、ステージ 0.5 では 17 例 (56.7%) (0.5B 3 例 (37.5%)、0.5T 5 例 (62.5%)、0.5A 9 例 (64.3%))。ステージ I では 33 例 (89.2%) (IB 13 例 (81.3%)、IT 13 例 (92.9%)、IA 7 例 (100%))。ステージ II

以上では全例に嗅球にレビー小体病理の出現を認めた (Figure 3)。

### 3.全身において嗅球にのみレビー小体を認めた症例群

BBAR レビー小体ステージ (嗅球を除く) 0.5 の症例中、レビー小体を全身において嗅球にのみ認める例を、5例 (1.6%) 認めた。その中でも、神経病理学的には他の老年性変化を伴わないレビー小体病理純粋例の病理所見を Figure 4 に提示する。青斑核、扁桃核、海馬等でやっとな psyn 陽性の dot、neurite、神経細胞内の顆粒状の陽性を認めたのに対して、嗅球では、明らかなレビー小体、psyn 陽性構造物を多数認める。辺縁部に強く陽性を認め、AON では極わずかな陽性所見のみを認めた。これら 5 例の Demography を Table 1 に示す。男性 3 例、女性 2 例であり、平均死亡年齢は、79 歳であった。5 例全例において、自律神経系を代表とする副腎にはレビー小体病理を全く認めなかった。これら 5 例中、3 例には、明らかなアルツハイマー病理変化を伴っており、残りの 2 例は純粋レビー小体病理症例であった。

### 4.抗 Tyrosine hydroxylase 抗体 (TH) 陽性細胞と抗リン酸化 $\alpha$ シヌクレイン抗体陽性細胞の比較: 抗 TH 免疫染色での陽性細胞出現部位は、糸球体の周囲に存在する傍糸球体細胞がほとんどであり、極少数ながら、顆粒細胞や stratum album にも認められた。抗 psyn 免疫染色での陽性細胞は、これら TH 陽性細胞よりも内側に存在する細胞であり、TH 陽性細胞と psyn 陽性細胞とでは、病期によらず出現部位が異なっていた。

### D.考察

本研究において、1. 嗅球は全身の中でレビー小体病理が最初に出現する部位であり、嗅球にのみレビー小体が存在する例が存在すること。2. レビー小体関連神経細胞脱落を認める例では、嗅球に必ずレビー小体病理を認めること。3. 嗅球内で、レビー小体病理は、二次嗅覚構造から三次嗅覚構造へ進展していく傾向を示すこと。4. AD

病理が存在すると、三次嗅覚構造でのレビー小体病理が強調されること、が明らかとなった。

Braak らは、レビー小体病理の進展として、脳幹の延髄迷走神経背側運動核が最も早い初期沈着を示す部位として挙げ、脳幹を上行する伸展仮説を提唱したが、最近嗅球・扁桃核進展型が別に存在することを発表している。我々の検討において、全身の中でレビー小体が嗅球に初めて出現する症例が存在することは、中枢神経系におけるレビー小体の出現が、一定の傾向をとるわけではないことを示している。さらに、我々の以前の副腎を用いた検討 2) で、末梢自律神経系のみにはレビー小体が出現する例が存在する点を含めると、レビー小体病理の出現は、症例毎に部位特異性が異なる可能性に充分留意が必要である。

本研究によって、レビー小体病理出現部位は 3 次嗅核構造である AON ではなく辺縁部であることが示唆されたが、一次嗅覚構造軸索には陽性所見をほとんど認めなかった。これは、嗅覚系より PD 原因物質が由来するとする、Braak の外因説を支持する結果ではかならずしもない。嗅上皮の検索については、篩板を採取し脱灰する手法では、psyn 免疫組織化学が有効ではなかったため、別の方法を検討する必要がある。

### E.結論

本研究によりヒト老化において、嗅球はレビー小体が最初に出現する部位の一つであること、嗅球におけるレビー小体病変は二次嗅覚構造から三次嗅覚構造へ進展する傾向を示すこと、AD 病変が合併すると三次嗅覚構造の病変が強調されること、TH 陽性細胞との関連はあっても少ないことが、明らかとなった。

### F.文献

- 1) Saito Y, et al: JNEN, 742-9, 2004
- 2) Fumimura Y, et al: JNEN, 354-62, 2006
- 3) Saito Y, et al: JNEN, 911-8, 2004
- 4) Murayama S, et al: Neuropath, 254-60, 2004

G.健康危険情報なし

H.研究発表

1.論文発表 なし

2.学会発表

- ・第48回日本神経学会総会（名古屋、2007）
- ・第48回日本神経病理学会（東京、2007）

I.知的所有権の取得状況

1.特許取得、実用新案登録、その他：なし

FIGURE 1. ヒト嗅球の模式図 (A) と KB 染色標本 (B)

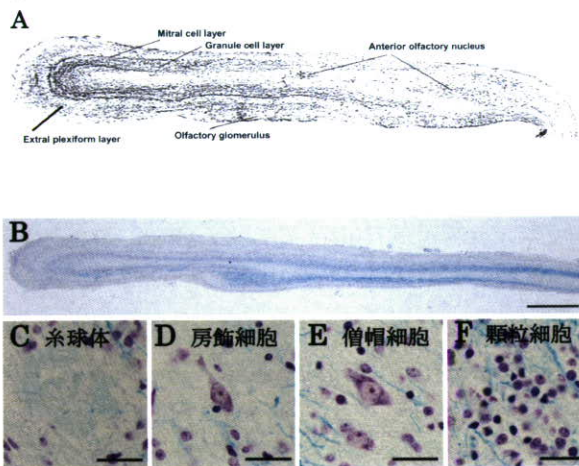
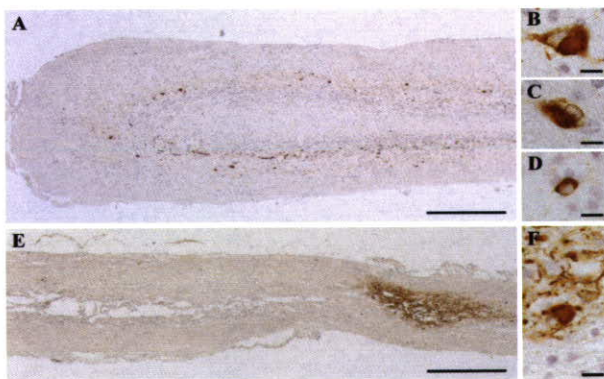


FIGURE 2. 嗅球における抗リン酸化αシヌクレイン免疫染色



A-D：辺縁部優位症例、E-F：前嗅核優位症例  
B:僧帽細胞、C:房飾細胞、D:顆粒細胞、F:前嗅核神経細胞

FIGURE 3. レビー小体病理：高齢者ブレインバンクステージ vs 嗅球ステージ

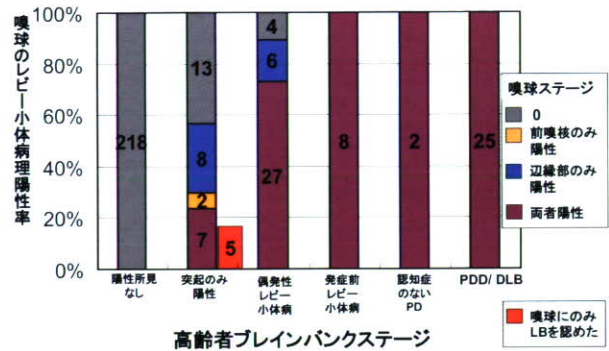


FIGURE 4. 嗅球にのみレビー小体を認めた純粋例(TABLE 1 の症例 1)

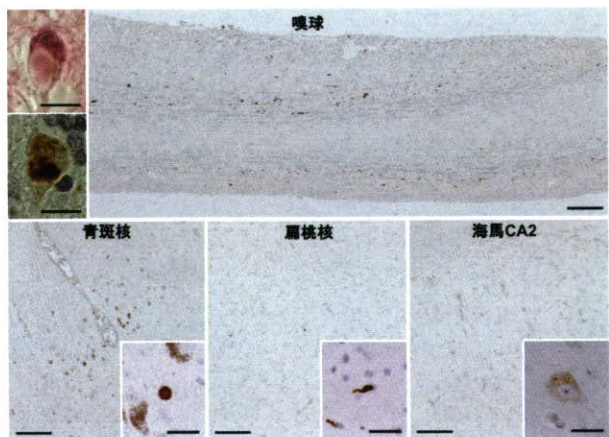


TABLE 1. 嗅球にのみ、レビー小体を認めた症例

症例	年齢 / 性別	CDR	臨床神経病理診断	NFT	SP	レビー小体病理			副腎
						嗅球 辺縁部 Stage	嗅球 前嗅核 Stage	BBAR Stage	
1	72 / M	0.5	Unremarkable	I	A	2	1	0.5T 脳幹・扁桃核・嗅球	0
2	78 / F	2	CVD	II	A	3	3	0.5B 遠近背側・青斑核・扁桃核	0
3	89 / M	1	AD	IV	C	2	1	0.5A 扁桃核	0
4	74 / M	0.5	Amnesic MCI early AD	V	C	3	2	0.5T 脳幹・扁桃核・嗅球	0
5	82 / F	3	AD	V	C	2	1	0.5A 扁桃核	0

## 紀伊 ALS/PDC の MIBG 心筋シンチグラフィと心臓交感神経の病理学的検討

小久保康昌<sup>1)</sup>、野村新之<sup>2)</sup>、村山繁雄<sup>3)</sup>、葛原茂樹<sup>4)</sup>

三重大学神経内科<sup>1)</sup>、三重県立志摩病院放射線科<sup>2)</sup>、都立老人総合研究所<sup>3)</sup>、

国立精神・神経センター 武蔵病院<sup>4)</sup>

**研究要旨** 昨年度の本学会議で、紀伊半島の筋萎縮性側索硬化症／パーキンソン認知症複合（Kii ALS/PDC）における MIBG 心筋シンチグラフィの集積低下について報告した。今回、心臓交感神経終末の病変を明らかにするために、紀伊 ALS/PDC 症例の心筋組織について病理学的に検索した。対象は、紀伊半島多発地区出身の ALS 1 例、ALS with dementia 1 例と PDC 4 例。内訳は、男性 2 例、女性 4 例、平均死亡年齢は、71.3 歳。各症例の心臓左室前壁の切片を用いて免疫組織化学的に検討した。結果は、PDC 4 例中 1 例の心臓交感神経終末において、抗リン酸化  $\alpha$ -synuclein 抗体に対する陽性所見を認めた。以上の結果から、紀伊 PDC における心臓交感神経節後線維の障害が確認された。

### A. 研究目的

近年、パーキンソン病を初めとしたレヴィ小体病の診断マーカーとして MIBG 心筋シンチグラフィの有用性が報告されている。<sup>1,2</sup> 昨年度の本学会議で、紀伊半島の筋萎縮性側索硬化症（Kii ALS）とパーキンソン認知症複合（Kii PDC）において MIBG 心筋シンチグラフィの集積低下を認め、心臓交感神経障害が示唆されることを報告した。今年度は、心臓交感神経終末の病変を明らかにするために心筋組織について病理学的に検討したので報告する。

### B. 研究方法

対象：紀伊半島の多発地区出身の ALS 1 例、ALS with dementia 1 例と PDC 4 例。内訳は、男性 2 例、女性 4 例、平均年齢は、71.3 歳。今回の対象症例の中で生前に MIBG を行ったのは ALS 1 例のみで、H/M 比は、early 2.68/delay 2.68 と正常であった。各症例の心筋左室前壁の切片を用いて、脂肪組織内に含まれる心臓交感神経無髄線維軸索に抗リン酸化  $\alpha$ -synuclein 抗体（psyn#64）、抗 tyrosin hydroxylase (TH) 抗体、抗リン酸化 neurofilament (NF) 抗体 (SMI 31) を用いて免疫組織化学的に検討した。なお、研究対象者は匿名化し、人権擁護上十分配慮した。

C. 研究結果 (表 1) (図 1A, B, C)

6 例中 1 例 (PDC #2) の心臓交感神経終末にリン酸化  $\alpha$ -synuclein 陽性構造物を認めた。この症例では、抗 NF 抗体および抗 TH 抗体に対する染色性が高度に低下していた。(図 1A, B, C) その他の 5 例の結果を表 1 に示す。抗 pSyn 抗体陰性の 5 症例においても、抗 NF 抗体の染色性に対して抗 TH 抗体に対する染色性の低下が認められた。

表 1

	年齢	性別	罹病期間	H/M比	Cardiac pathology		
					pSyn	TH	pNF
ALS	63歳	女性	5年	2.86/2.86	N	+++	+++
ALS-D	77歳	男性	7年	-	N	±~++	+++
PDC #1	70歳	女性	11年	-	N		
PDC #2	78歳	男性	8年	-	P	-	+
PDC #3	70歳	女性	12年	-	N	+	++
PDC #4	70歳	女性	8年	-	N	±~+	++

表 1. Kii ALS/PDC 6 例の臨床像と H/M 比、心臓交感神経の病理学的検討のまとめ。

図 1A

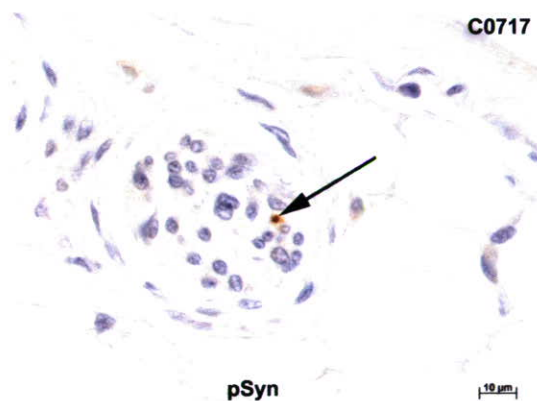


図 1B

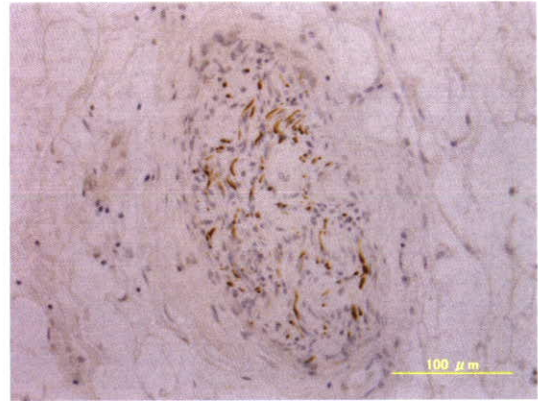


図 1C

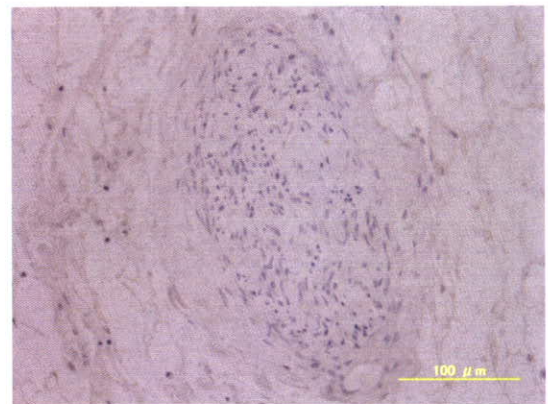


図 1. PDC #2 における心臓交感神経終末の免疫組織化学染色。A. 抗リン酸化  $\alpha$ -synuclein 抗体。陽性構造物を認めた。B. 抗リン酸化 neurofilament (NF) 抗体 (SMI 31)。染色性の低下を認めた。C. 抗 tyrosin hydroxylase (TH) 抗体。染色されなかった。

D. 考察

MIBG の取り込みは、中枢神経系に Lewy body pathology をともなう疾患で低下すると報告されている。我々はこれまでに、抗リン酸化  $\alpha$ -シヌクレイン抗体を用いた検討で、紀伊 PDC



6 例中 5 例の脳幹と 4 例の扁桃核に Lewy body pathology を認めている。昨年度に引き続き今年度の研究から、紀伊 PDC では、心臓交感神経節後線維の障害が存在することが明らかとなった。

#### E. 結論

紀伊 PDC では、心臓交感神経節後線維の障害が存在する。

#### F. 文献

- 1)Yoshita M, et al: Neurology 66:1850-1854, 2006.
- 2) Orimo S, et al: Parkinsonism Relat Disord. 12 (suppl 2):S99-S105, 2006.

#### G. 健康危険情報

なし

#### H. 研究発表

##### 1. 論文発表

Mimuro M, Kokubo Y, et al: Acta Neuropathol 113:653, 2007

##### 2. 学会発表

小久保康昌, 他: 第 48 回 日本神経学会総会, 2007.

#### I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

### Ⅲ. 研究成果に関する一覧表

英文単行本

著者名	題名	書名	(編集者名)	発行社名	(発行地名)	出版西暦年	頁
Kanagawa M, Toda T	Fukutin and Fukuyama congenital muscular dystrophy	Glycoscience Lab Manual	in press				

英文原著・症例報告

著者名	論文題名	雑誌名	巻	頁	出版西暦年
Mimuro M, Kokubo Y, <u>Kuzuhara S</u>	Similar topographical distribution of neurofibrillary tangles in amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex in people living in the Kii peninsula of Japan suggests a single tauopathy	Acta Neuropathol	113	653-658	2007
Shibata N, Kawaguchi M, Uchida K, Kakita A, Takahashi H, Nakano R, Fujimura H, Sakoda S, Ihara Y, Nobukuni K, Takehisa Y, Kuroda S, Kokubo Y, <u>Kuzuhara S</u> , Honma T, Mochizuki Y, Mizutani T, Yamada S, Toi S, Sasaki S, Iwata M, Hirano A, Yamamoto T, Kato Y, Sawada T, Kobayashi M	Protein-bound crotonaldehyde accumulates in the spinal cord of superoxide dismutase-1 mutation-associated familial amyotrophic lateral sclerosis and its transgenic mouse model	Neuropathology	27	49-61	2007
Satoh M, Kokubo Y, <u>Kuzuhara S</u>	A case of idiopathic musical hallucination with increasing repertoire	J Neurol Neurosurg Psychiatry	78	203-204	2007
Hayashi T, Narita Y, Okugawa N, Hamaguchi E, Shibahara M, <u>Kuzuhara S</u>	Pressure ulcers in ALS patients on admission at a university hospital in Japan	Amyotrophic Lateral Sclerosis	8	310-313	2007
Shimazaki H, Sakoe K, Nijima K, <u>Nakano I</u> , Takiyama Y.	An unusual case of a spasticity-lacking phenotype with a novel <i>SACS</i> mutation.	J Neurol Sci	255	87-89	2007
Ishikawa T, Morita M. <u>Nakano I</u> .	Constant blood flow reduction in premotor frontal lobe regions in ALS with dementia—a SPECT study with 3D-SSP.	Acta Neurol Scand	116	340-344	2007
Shimazaki H, Ando Y, <u>Nakano I</u> , Dalmau J	Reversible limbic encephalitis with antibodies against the membranes of neurons of the hippocampus.	J Neurol Neurosurg Psychiatry	78	324-325	2007
Suzuiki K, Katsuno M, Banno H, Takeuchi Y, Atsuta N, Ito M, Watanabe H, Yamashita H, Hori N, Nakamura T, Hirayama M, Fumiaki T, <u>Sobue G</u>	CAG repeat size correlates to electrophysiological motor and sensory phenotypes in SBMA.	Brain	131	229-239	2007
Adachi H, Waza M, Tokui K, Katsuno M, Minamiyama M, Tanaka F, Doyu M, <u>Sobue G</u>	CHIP overexpression reduces mutant androgen receptor protein and ameliorates phenotypes of the spinal and bulbar muscular atrophy transgenic mouse model.	J Neurosci	27	5115-5126	2007
Niwa J, Yamada S, Ishigaki S, Sone J, Takahashi M, Katsuno M, Tanaka F, Doyu M, <u>Sobue G</u>	Disulfide bond mediates aggregation, toxicity, and ubiquitylation of familial amyotrophic lateral sclerosis-linked mutant SOD1.	J Biol Chem	282	28087-28095	2007