

### C. 研究結果

1) Nhtt は Hsc70bm が存在するとライソゾームにおける分解が促進した。2) Neuro2A 細胞において HQ は Nhtt をライソゾームに移動させ、分解を促進した。Hsc70 および Lamp2a を抑制するとこの効果は消失した。このことは分解促進が CMA によるものであることを示唆する。3) AAV によって、ハンチントンモデルマウス R6/2 の線条体に R/Q, Q, H/Q, R/HQ の組み合わせでそれぞれを発現した。この発現により、Q に比べて HQ でより強く、Nhtt の発現量、凝集体が減少し、核内封入体も減少した。Rotarod test, clasping score, life span においてもその凝集体減少効果に応じた改善を認めた。

以上の結果から以下の点が確認された。

1) HQ を発現することにより CMA を利用して異常蛋白質の分解を促進することが可能である。2) 凝集抑制に働く Q のみの効果より効果が増強することから、凝集抑制のみでなく、分解を促進することの重要性が確認された。3) 原理的には異常蛋白質と結合する Intrabody 等に Hsc70bm を融合することでそのターゲット分子の分解を促進することが可能であると推測された。

### D. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Doi, H., Koyano, S., Suzuki, Y., Nukina, N. & Kuroiwa, Y. The RNA-binding protein FUS/TLS is a common aggregate-interacting protein in polyglutamine diseases. *Neurosci. Res.* **66**, 131-133 (2010).
- 2) Dumanis, J., Wada, K., Kino, Y., Moore, A.W. & Nukina, N. RNAi screening in Drosophila cells identifies new modifiers of mutant huntingtin aggregation. *PLoS One* **4**, e7275 (2009).
- 3) Bauer, P.O. & Nukina, N. The pathogenic mechanisms of polyglutamine diseases and current therapeutic strategies. *J. Neurochem.* **110**, 1737-1765 (2009).
- 4) Nekooki-Machida, Y., Kurosawa, M., Nukina, N., Ito, K., Oda, T. & Tanaka, M. Distinct conformations of in vitro and in vivo amyloids of huntingtin-exon1 show different cytotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106**, 9679-9684 (2009).

5) Chang, W.H., Tien, C.L., Chen, T.J., Nukina, N. & Hsieh, M. Decreased protein synthesis of Hsp27 associated with cellular toxicity in a cell model of Machado-Joseph disease. *Neurosci. Lett.* **454**, 152-156 (2009).

6) Furukawa, Y., Kaneko, K., Matsumoto, G., Kurosawa, M. & Nukina, N. Cross-seeding fibrillation of Q/N-rich proteins offers new pathomechanism of polyglutamine diseases. *J. Neurosci.* **29**, 5153-5162 (2009).

7) Bauer, P.O., Wong, H.K., Oyama, F., Goswami, A., Okuno, M., Kino, Y., Miyazaki, H. & Nukina, N. Inhibition of rho kinases enhances the degradation of mutant huntingtin. *J. Biol. Chem.* **284**, 13153-13164 (2009).

#### 2. 学会発表

1) Nukina, N. New strategy for the treatment of polyglutamine diseases. *Global COE Program The Second International Symposium: Novel Approaches for Neurological and Psychiatric Disorders*, Nagoya, Japan (November 26-27, 2009).

2) Nukina, N. New strategy for the treatment of polyglutamine diseases. *International Conference "Protein folding and neurodegenerative disease"*, Kyoto, Japan (April 6-7, 2009).

### E. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)

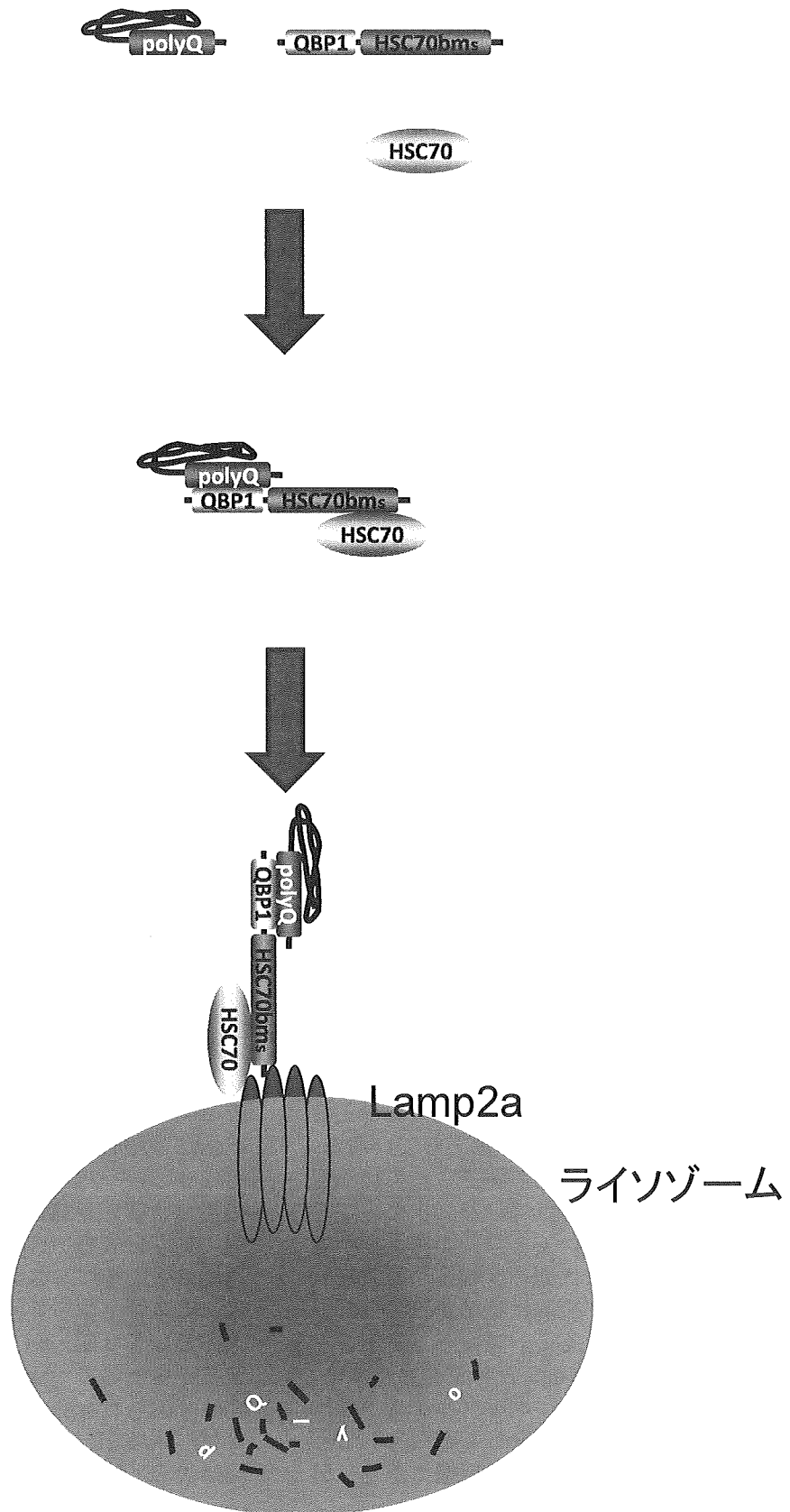
(特許取得・実用新案登録・その他)

該当なし

### F. 健康危険情報

特になし

# 異常伸長ポリグルタミンをシャペロン介在オートファジーによって分解する遺伝子治療の開発



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究年度報告書

ポリグルタミン病における筋エネルギー代謝測定の試み

分担研究者	佐々木秀直	北海道大医学研究科神経内科学分野
共同研究者	矢部 一郎	北海道大学医学研究科神経内科学分野
	佐藤 和則	北海道大学医学研究科神経内科学分野
	相馬 広幸	北海道大学医学研究科神経内科学分野
	寺江 聡	北海道大学附属病院放射線科
	沖田 孝一	北翔大学健康プランニング学科

研究要旨：汎用機である 1.5T MRI を用いた  $^{31}\text{P}$ -MRS による筋エネルギー代謝測定を安定して行う方法を確立した。それを用いて、昨年度に引き続き、ポリグルタミン病である Machado-Joseph 病 (MJD) の筋エネルギー代謝測定を行った。対象は患者群 ( $n=8$ ) と健常者群 ( $n=11$ ) であり、安静時  $\text{PCr}/(\text{PCr}+\text{Pi})$  および  $V_{\text{max}}$  を測定して比較検討した。その結果、両者とも有意に患者群で低値であった ( $V_{\text{max}}$ :  $P=0.001$ ,  $\text{PCr}/(\text{PCr}+\text{Pi})$ :  $p=0.033$ )。また  $V_{\text{max}}$  値は運動失調の重症度 SARA 総点数と逆相関していた ( $r=0.34$ ,  $p=0.035$ )。  $V_{\text{max}}$  値の経時的変化については、2 年間に亘り経過観察可能であった患者 5 名と健常者 5 名を比較すると、患者群で有意に経時的に減少する傾向を示した ( $p=0.049$ )。今回の結果は、 $V_{\text{max}}$  が MJD において有効性判定の生化学的指標になり得ることを示唆している。今後、症例数の蓄積や測定値と病態との関連も含め、検討が必要である。

#### A. 研究目的と背景

ポリグルタミン病の病態機序は未だ十分に解明されていないが、ユビキチン-プロテアソーム系の障害や蛋白相互作用の異常により発症すると推定されている。発症に関連する分子機構の解明により、近い将来、新規薬物療法の開発も期待されている。しかしながら新規薬剤が開発されたとしても、疾病の性質上、症候と重症度による効果の判定には年単位の時間がかかることが予想される。そのため、短期間で効果を評価できる指標の開発が急務である。こうした現状において、ポリグルタミン病であるハンチントン病や歯状核赤核ルイ体萎縮症などでは、骨格筋での安静時および運動負荷時におけるミトコンドリアでの ATP 産生能が低下していること、即ち筋エネルギー代謝が障害されている可能性があることが報告されている。また、フリードライヒ失調症においても同様の所見が示され、その筋エネルギー代謝を有効性判定の生化学的指標として用いて抗酸化療法が試みられ、その薬物治療効果としてミトコンドリアでの ATP 産生能が増加していることが確認されている。我々は昨年度までに、ポリグルタミン病における生化学的指標の候補として MRS を用いた筋エネルギー代謝を検討し、汎用機である 1.5T

MRI を用いた  $^{31}\text{P}$ -MRS による筋エネルギー代謝測定を安定して行う方法を見出した。今回、本方法を用い、ポリグルタミン病、特に Machado-Joseph 病 (MJD) における筋エネルギー代謝を検討した。

本研究の目的は、ポリグルタミン病の筋エネルギー代謝を MRS にて測定し、治療の有効性判定において指標としての可能性を検証することにある。

#### B. 研究方法および対象

測定は磁気共鳴装置 (MRI シーメンス社製、1.5T) を用い  $^{31}\text{P}$ -MRS にて行った。測定は仰臥位で右腓腹筋を対象とした。測定は安静時と足関節屈曲運動時および運動後に行った。まず安静時に 64 スキャンを行った。次に体重の 10% 程度の重り負荷を足底加えて、足関節屈曲運動を動的に約 5 分間行い、その運動中に 16 スキャンと運動終了間際に 8 スキャン測定した。運動終了後、8 スキャンを 4 回、16 スキャンを 4 回、32 スキャンを 3 回、64 スキャンを 2 回行った。測定データとして inorganic phosphate (Pi), phosphodiester, phospho-creatin (PCr), ATP,  $\alpha$ ATP + NAD(H) と NADP(H),  $\beta$ ATP を得た後、安静時の  $\text{PCr}/(\text{PCr}+\text{Pi})$  比や、ミトコンドリアにお

ける最大ATP産生能を示すVmaxを指標として評価した。Vmaxの算出にはソフトIGOR pro®(HULINKS)にて推定される時定数を用いた。患者データと対照データについて、統計学的手法を用いて比較検討した。今回は、健常男性11名(30~72歳)、MJD男性患者8名(30~65歳)を対象に測定した。

#### (倫理面での配慮)

本研究については、北海道大学医学研究科医の倫理委員会の承認を得た。対象者には研究の趣旨を文書で説明し、文書にて同意を得た。

#### C. 研究結果及び考察

患者群と健常者群で安静時PCr/(PCr+Pi)およびVmaxを比較検討した結果、両者とも有意に患者群で低値であった(Vmax;  $p = 0.001$ , PCr/(PCr+Pi);  $p = 0.033$ )。Vmax値の経時的変化については、2年間に渡り経過観察可能であった患者5名と健常者5名を比較すると、患者群において有意に経時的に減少する傾向にあった( $p=0.049$ 、図1)。

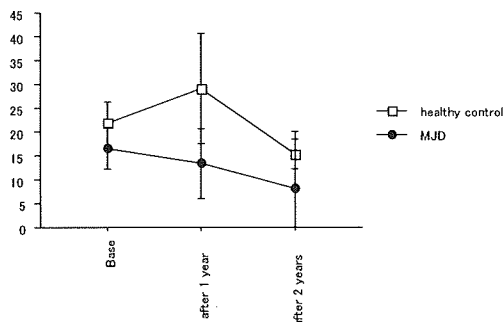


図1. 一年間のVmaxの推移(MJD 5名、対照 5名)

Vmax値はSARA総点数と逆相関していた( $r = 0.34$ ,  $p = 0.035$  図2)。今後症例数の蓄積や測定値と病態の関連性も含め、更なる検討が必要であるが、これらの結果は、VmaxがMJDにおいて有効性判定の生化学的指標になり得ることを示唆している。

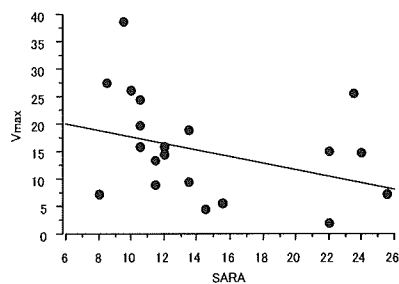


図2. VmaxとSARAの相関

#### D. 研究発表

##### 1. 論文発表

Sato, K., Yabe, I., Fukuda, Y., Soma, H., Nakahara, Y., Tsuji, S., Sasaki, H.: Autosomal dominant cerebellar ataxia without pathogenic *PPP2R2B* mutation maps to SCA12 locus. Arch Neurol (in press)

##### 2. 学会発表

- 1) 相馬広幸、佐藤和則、武井麻子、矢部一郎、松浦 徹、佐々木秀直；本邦の優性遺伝性痙性対麻痺における大欠失に敗因するSPG4の比率の検討、第50回日本神経学会総会、仙台、2009
- 2) 佐藤和則、相馬広幸、矢部一郎、佐々木秀直；日本語版SARAを用いた多系統萎縮症の経時的評価、第50回日本神経学会総会、仙台、2009
- 3) 矢部一郎、タキンキン、寺江 聡、沖田孝一、佐々木秀直；ポリグルタミン病の筋エネルギー代謝、第50回日本神経学会総会、仙台、2009

#### E. 知的所有権の取得状況

該当なし

#### F. 健康危険情報

該当無し

# ポリグルタミン病における筋エネルギー代謝測定の試み

佐々木秀直1)、矢部一郎1)、佐藤和則1)、相馬広幸1)、寺江 聡2)、沖田孝一3)

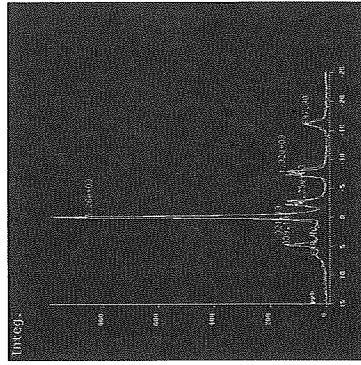
- 1) 北海道大学神経内科
- 2) 北海道大学放射線科
- 3) 北翔大学健康プランニング学科

ポリグルタミン病研究の進歩により新規薬剤が開発される可能性

症状の評価のみでは、治療効果判定に時間がかかる

簡便な判定指標の開発が必要

例；<sup>31</sup>P-MRSによる筋エネルギー代謝測定



測定法の継続的改良により、 $PCr/(Pi+PCr)$ 比と $V_{max}$ が安定して測定可能

ポリグルタミン病であるMJD患者にて測定

$PCr/(Pi+PCr)$ 比と $V_{max}$ はMJD群で低値、 $V_{max}$ は経時的に低下、かつSARAと逆相関

$V_{max}$ が有効性判定の生化学的指標になり得る可能性あり

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

分担研究年度終了報告書

運動失調症に関する調査研究

多系統萎縮症における脳内 $\alpha$ -シヌクレイン蛋白凝集体の PET による画像化

<b>分担研究者 研究協力者</b>	糸山泰人	東北大学大学院医学系研究科 神経感覚器病態学講座 神経内科学分野
	武田 篤	東北大学大学院医学系研究科 神経感覚器病態学講座 神経内科学分野
	菊池昭夫	東北大学大学院医学系研究科 神経感覚器病態学講座 神経内科学分野
	岡村信行	東北大学大学院医学系研究科 生体機能学講座 機能薬理学分野
	谷内一彦	東北大学大学院医学系研究科 生体機能学講座 機能薬理学分野
	工藤幸司	東北大学未来医工学治療開発センター
	古本祥三	東北大学サイクロトロン核医学研究部
	田代 学	東北大学サイクロトロン核医学研究部
	三木康生	弘前大学大学院医学研究科 脳神経病理学講座
	森 文秋	弘前大学大学院医学研究科 脳神経病理学講座
	若林孝一	弘前大学大学院医学研究科 脳神経病理学講座

**研究要旨**

多系統萎縮症においてグリア細胞質内封入体の構成成分である $\alpha$ -シヌクレイン蛋白凝集体は病態を理解する上で重要なマーカーのひとつであるが、今までに生体内での存在を可視化・画像化することはできていない。我々は $\beta$ シート構造を認識する BF-227 に着目し、剖検脳と live cell を用いて $\alpha$ -シヌクレイン蛋白凝集体への結合性と細胞内移行性を確認した。さらに、 $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  を用いて 8 名の多系統萎縮症患者と 8 名の正常健常者に PET を施行し群間比較をしたところ、大脳白質、被殻、黒質などで $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  の高い結合能を検出した。 $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  PET は $\alpha$ -シヌクレイン蛋白凝集体の可視化・画像化を可能とし、多系統萎縮症の早期診断（発症前診断）や治療効果の判定に応用できる可能性がある。

**A. 研究目的**

多系統萎縮症においてグリア細胞質内封入体の主たる構成成分である $\alpha$ -シヌクレイン蛋白凝集体は病態を理解する上で重要なマーカーであるが、これまでに生体内での存在を可視化・画像化することはできていない。本研究は、 $\beta$ シート構造を認識する BF-227 に着目し  $\alpha$ -シヌクレイン蛋白凝集体への結合性と細胞内移行性について剖検脳と live cell を用いて確認するとともに、多系統萎縮症患者に $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  PET を施行し正常健常者と比較することにより  $\alpha$ -シヌクレイン蛋白凝集体の in vivo イメージング技術の確立を目指すものである。

**B. 研究方法**

最初に BF-227 による $\alpha$ -シヌクレイン蛋白凝集体への結合性を多系統萎縮症患者の剖検脳と live cell を用いて検討した。次に、多系統萎縮症患者 8 名と年齢一致させた正常健常者 8 名に $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  投与後 60 分間の PET ダイナミック撮像を行った。スキャン中に動脈採血、血中代謝物の解析を行い、代謝物補正された採血データを入力関数とした。Logan らの graphical 解析により、 $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  の分布容積を算出した。各個人の MRI 画像を参照して小脳（皮質、白質）、尾状核、被殻、淡蒼球、視床、橋、中脳、海馬、大脳皮質運動野に関心領域を設定し、各領域の平均カウントを算出した。解析には PMOD Version 2.9 を使用した。

**(倫理面への配慮)**

本研究はヘルシンキ宣言及び臨床研究に関する倫理指針（厚生労働省）に従って実施された。本研究は東北大学医学部・医学系研究科倫理委員会にて承認されている。

**C. 研究結果**

剖検脳を用いた病理学的検討では、グリア細胞質内封入体がBF-227によって染色された。また、 $\alpha$ -シヌクレインを過剰発現した live cell においても $\alpha$ -シヌクレイン蛋白凝集体が BF-227 によって染色され、BF-227 の細胞内移行性を証明できた。 $[^{11}\text{C}]$ BF-227 PET 検査では正常健常者群と比較して有意差 ( $p < 0.05$ ) をもって、大脳白質、被殻、黒質などで $[^{11}\text{C}]$ BF-227 の高い結合能を検出することに成功した。

$\alpha$ -シヌクレイン蛋白凝集体の生体内での可視化・画像化は多系統萎縮症を始めとするシヌクレインパチーの病態解明の一助となり、早期診断（発症前診断）や治療効果の判定に応用できる可能性がある。

**D. 研究発表**

1. 論文発表

1. Nishiyama S, Ito T, Misu T, Takahashi T, Kikuchi A, Suzuki N, Jin K, Aoki M, Fujihara K, Itoyama Y. A case of NMO seropositive for aquaporin-4 antibody more than 10 years before onset. *Neurology*. 72: 1960-1, 2009.
2. Nakamura M, Misu T, Fujihara K, Miyazawa I, Nakashima I, Takahashi T, Watanabe S, Itoyama Y. Occurrence of acute large and edematous callosal lesions in neuromyelitis optica. *Mult Scler*. 15: 695-700, 2009.
3. Misu T, Takano R, Fujihara K, Takahashi T, Sato S, Itoyama Y. Marked increase in cerebrospinal fluid glial fibrillar acidic protein in neuromyelitis optica: an astrocytic damage marker. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 80: 575-7, 2009.
4. Abe N, Fujii T, Hirayama K, Takeda A, Hosokai Y, Ishioka T, Nishio Y, Suzuki K,

Itoyama Y, Takahashi S, Fukuda H, Mori E. Do parkinsonian patients have trouble telling lies? The neurobiological basis of deceptive behaviour. *Brain*. 132: 1386-95, 2009.

5. Suzuki N, Mizuno H, Nezu M, Takai Y, Misu T, Kuroda H, Aoki M, Nakashima I, Itoyama Y. Procalcitonin might help in discrimination between meningeal neuro-Behçet disease and bacterial meningitis. *Neurology*. 72: 762-3, 2009.
6. Hosokai Y, Nishio Y, Hirayama K, Takeda A, Ishioka T, Sawada Y, Suzuki K, Itoyama Y, Takahashi S, Fukuda H, Mori E. Distinct patterns of regional cerebral glucose metabolism in Parkinson's disease with and without mild cognitive impairment. *Mov Disord*. 24: 854-62, 2009.
7. Tateyama M, Fujihara K, Misu T, Itoyama Y. CCR7+ myeloid dendritic cells together with CCR7+ T cells and CCR7+ macrophages invade CCL19+ nonnecrotic muscle fibers in inclusion body myositis. *J Neurol Sci*. 279: 47-52, 2009.

2. 学会発表

1. Sugeno N, Kobayashi M, Hasegawa T, Takeda A, Kikuchi A, Baba T, Itoyama Y. Cytoprotective effects of extracellular dopamine under the dopamine overproduction. The Movement Disorder Society's Thirteenth International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Paris, Jun 7-11, 2009

(発表誌名・巻号・頁・発行年等も記入)

**E. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)**

(特許取得・実用新案登録・その他)

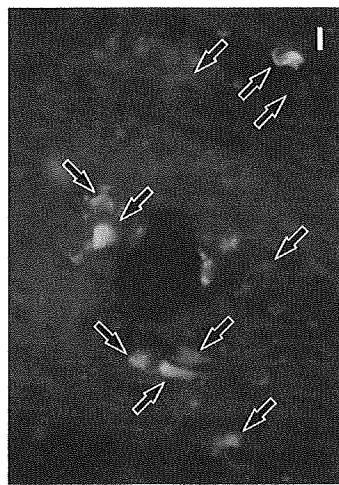
なし

**F. 健康危険情報**

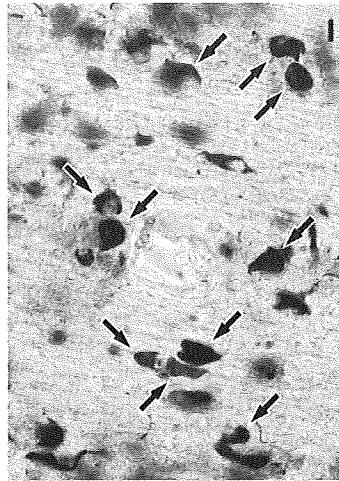
(国民の生命・健康に重大な影響を及ぼす情報として厚生労働省に報告すべきものについて把握した過程、内容、理由を記載する。またその情報源の詳細。)

なし

## グリア細胞質内封入体のBF-227染色



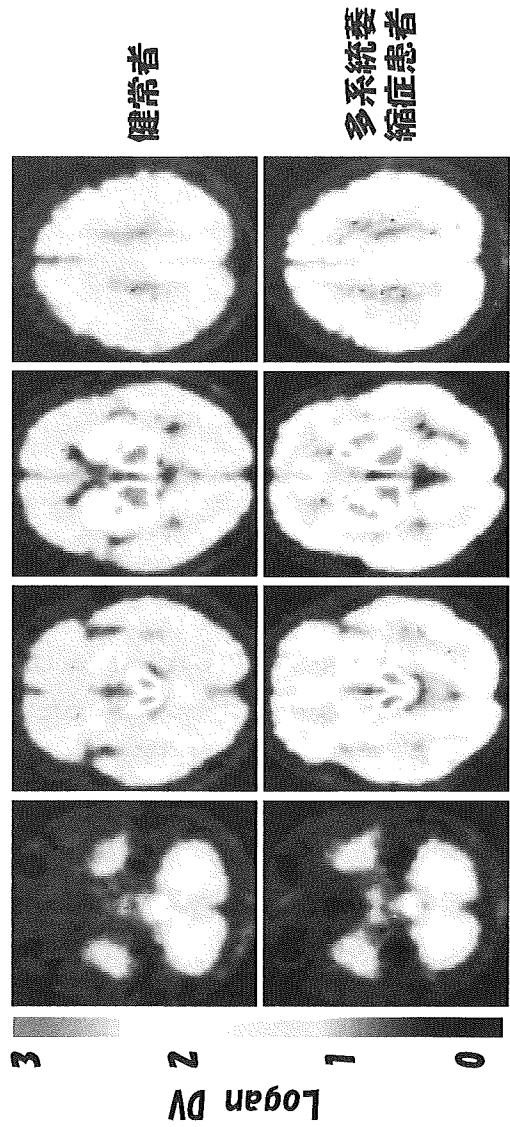
BF-227染色



抗リン酸化α-シヌクレイン抗体染色

多系統萎縮症患者のグリア細胞質内封入体において、抗リン酸化α-シヌクレイン抗体染色部位に一致してBF-227で染色される

## [<sup>11</sup>C]BF-227 PET



正常者と比較して多系統萎縮症患者において、大脳白質、被殻、黒質などでBF-227の結合能が高かった



厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

分担研究年度終了報告書

運動失調症に関する調査研究

MSA-C における 3 T 磁気共鳴スペクトロスコピーを用いた脳幹代謝物評価

分担研究者	中田 力	新潟大学脳研究所	統合脳機能研究センター
研究協力者	鈴木 雄治	新潟大学脳研究所	統合脳機能研究センター
	山田 謙一	新潟大学脳研究所	統合脳機能研究センター
	高堂 裕平	新潟大学脳研究所	神経内科
	大久保 真樹	新潟大学医学部	保健学科
	五十嵐 博中	新潟大学脳研究所	統合脳機能研究センター

研究要旨

多系統萎縮症 (Multiple System Atrophy; MSA)は、病状の進行に伴いグリオーシスの程度が増大し、神経細胞障害が悪化することが知られており、病状の進行に対する客観的な評価方法が、臨床の現場で大いに求められている。神経細胞の障害やグリオーシスといった病理変化を反映する N-Acetylaspartate(NAA), Choline-containing compounds(Cho), Myoinositol(MI)は、優れたバイオマーカーに成りうるものが、今回我々の研究で示唆され、臨床応用に向け更なる検討が必要と考えられる。

A.研究目的

磁気共鳴スペクトロスコピー(MRS)は、神経細胞の障害やグリオーシスといった病理変化を、非侵襲的に検討のできる手段であり、NAA, Cho, MI は、神経細胞及び軸索、細胞膜の turnover, グリオーシスのマーカーとそれぞれ考えられている。MSA における病理組織の検討により、病状の進行に伴いグリオーシスの程度が増大し、神経細胞障害が悪化することが知られている。病理組織での検討は厳密な評価手段であるが、進行期の病理組織が大半であるため、バイオマーカーの検討には適していない。MRS によ

りグリオーシスの程度を推測することができれば、病状進行の優れたバイオマーカーになることが予測される。今回我々は、MRS を用いて、MSA-C の橋・延髄における MI を含めた脳内代謝物を評価することで、病状進行のバイオマーカーを検討することを目的とした。

B.研究方法

(対象)

MSA-C 患者 15 名(男性 9 名, 女性 6 名, 平均年齢 65.4 歳±7.8 歳(平均±SD))と神経疾患の既往のない正常対照 15 名(男性 8

名, 女性 7 名, 平均年齢 65.7 歳 ± 7.5 歳) を対象とした。MSA-C 患者は, Gilman らの分類により probable 10 名, possible 5 名を対象とした。

#### (方法)

MSA-C 及び正常対照において, 橋及び延髄におけるシングルボクセル MRS を撮像した。撮像により得られた代謝物 MI, NAA, Cho の Cr 比を, 代謝物解析ソフト LCModel を用いて解析した。また, MSA-C 患者においては, UMSAR を用いて運動障害を評価した。

#### C. 研究結果

MSA-C 患者における橋及び延髄の MI/Cr は, 正常対照に比して有意に上昇していた ( $p < 0.05$ )。MSA-C における橋及び延髄の NAA/Cr, Cho/Cr は正常対照に比して有意に低下していた ( $p < 0.05$ )。

MSA-C における橋の MI/Cr は UMSARS I および II とそれぞれ正の相関を認め (UMSARS I  $r = 0.70$ , II  $r = 0.64$ , いずれも  $p < 0.05$ )、MSA-C における橋の NAA/Cr は, UMSARS I および II とそれぞれ負の相関を認めた (UMSARS I  $r = -0.56$ , II  $r = -0.55$ , いずれも  $p < 0.05$ )。

本研究により, MSA-C 患者群の橋における MI/Cr 比が, 病状進行のバイオマーカーとして有用であることが示された。MSA-C 患者の橋及び延髄には, グリオースが高度に出現することが病理学的検討から知られていることと, MI は主に astrocyte に存在すると考えられていることを考慮すると, 本研究における MSA-C 患者の橋及び延髄における MI/Cr 比の上昇は, グリオースを反映した結果と考えられる。

また, MSA-C の橋における NAA/Cr も UMSARS と負の相関を示し, バイオマーカーとして有効である可能性が示された。

#### D. 研究発表

##### 1、論文発表

なし

##### 2、学会発表

第 11 回日本ヒト脳機能マッピング学会  
(2009.5.28-29, 新潟)

「3T 1H-MRS を用いた MSA-C における  
脳内代謝物の評価」

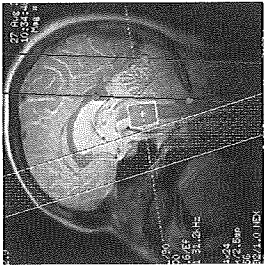
#### E. 知的財産権の出願・登録状況

なし

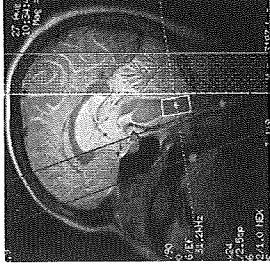
#### F. 健康危険情報

なし

# MSA-C



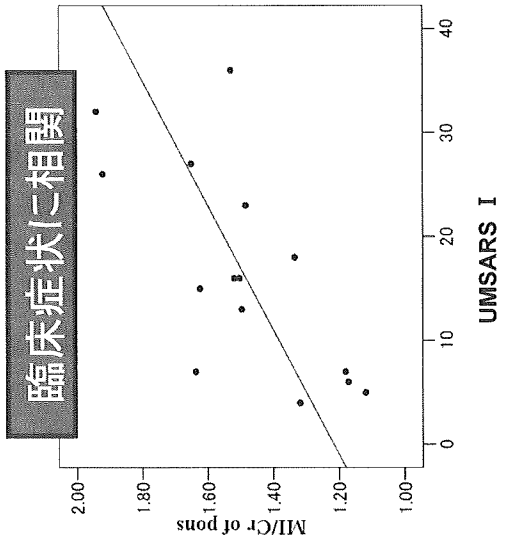
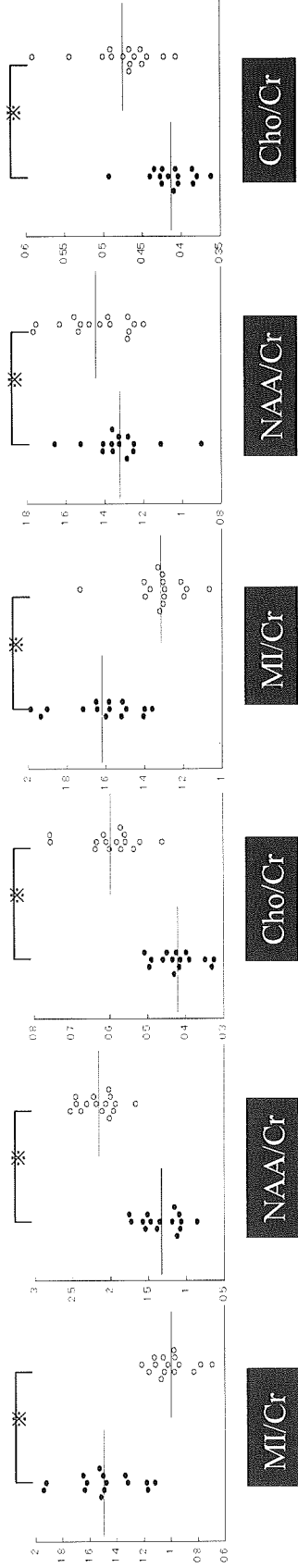
橋



延髄

橋・延髄ともに有意差あり

- MSA-C
- Normal



臨床症状に相関

橋におけるMRS所見



MI/Cr ↑ NAA/Cr ↓ Cho/Cr ↓  
重症例ほど, MI/Cr ↑ NAA/Cr ↓



MSA-Cにおける運動障害のBiomarker  
として有効

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

分担研究年度終了報告書

運動失調症に関する調査研究

パソコンソフトを用いた小脳性運動失調の評価(第5報)

分担研究者 黒岩 義之(横浜市立大学大学院医学研究科・医学部神経内科学講座主任教授)  
研究協力者 上田 直久(同医学部神経内科), 波木井 靖人(済生会横浜南部病院神経内科)

研究要旨

- 1) これまで我々は運動失調を有する患者に渦巻きをなぞらせたり打点をさせ線や点のずれを定量的に評価し, 正常コントロールや対照疾患との有意差があることを報告してきた。
- 2) 今回は脊髄小脳変性症にて渦巻きのずれ面積, 渦巻きの長さのずれ, 打点のずれでどれが最も失調重症度と相関するか検討した。また小脳萎縮の度合いの関連の有無についても検討した。
- 3) 渦巻きのずれ面積が最も SARA と相関した。小脳の萎縮度も渦巻きのずれ面積と最も逆相関を示した。
- 4) これまでの SARA, ICARS に加え, 渦巻きのずれ面積で運動失調の評価が出来ると考える。

A. 研究目的

これまで我々は運動失調を有する患者に渦巻きをなぞらせたり打点をさせ線や点のずれを定量的に評価し, 正常コントロールや対照疾患との有意差があることを報告してきた。今回は脊髄小脳変性症(MSA-C, 孤発性小脳萎縮症, 遺伝性小脳萎縮症)にて渦巻きのずれ面積, 渦巻きの長さのずれ, 打点のずれでどれが最も失調重症度と相関するか検討した。また小脳萎縮の度合いの関連の有無についても検討した。

B. 研究方法

対象は脊髄小脳変性症(SCD)33例(MSA-C8例, MSA-P6例, 孤発性小脳萎縮症7例, 遺伝性小脳萎縮症12例)。

a) 線軌跡: 渦巻き(全長 82.15cm)が印刷された検査紙上をサインペンで線をなぞる。b) 打点: 10個の点が印刷された検査紙上をサインペンで打点

する。我々が開発ソフトでデータ処理した。a)では渦巻きの基準線からのずれ面積と線軌跡の長さのずれを, b)では打点のずれの合計を計算した。上記の検査前後6ヶ月以内に脳MRIを施行した患者については正中矢状断における後頭蓋窩における小脳の占める面積の割合を計算し, 小脳萎縮の度合いとした(小脳/後頭蓋窩% = 小脳面積比)。小脳面積比と検査で得られた各パラメーターや SARA との相関関係を検討した。

C. 研究結果

まず、MSA-Pでは渦巻きのずれ面積, 渦巻きの長さのずれ, 打点のずれのいずれも SARA と全く相関しないため、今回の対象から除外した。渦巻きでのずれ面積は SCD 全体、MSA-C、孤発性小脳萎縮症、遺伝性小脳萎縮症のいずれでも SARA と正の相関がみられた(相関係数はそれぞれ 0.639, 0.583, 0.581, 0.685)。渦巻き線軌跡長のずれは MSA-C のみで SARA 上肢 3 項目と正の相関

## 様式 I

をみた(相関係数 0.643). 打点のずれは SCD 全体, MSA-C, 遺伝性小脳萎縮症で SARA と正の相関をみた(相関係数はそれぞれ 0.605, 0.662, 0.649).

脳 MRI を施行したのは 16 例であった. 小脳面積比と各パラメーターの関係は, 渦巻きずれ面積と最も逆相関があり(相関係数 0.637), 渦巻き長さのずれ, 打点のずれ, SARA と弱い逆相関(それぞれ相関係数 0.356, 0.488, 0.460)がみられた.

以上をまとめると, 渦巻きのずれ面積がもっとも安定し, 信頼できる運動失調の客観的・定量的評価法として優れていることがわかった. また, 小脳萎縮の予測因子のひとつにもなる可能性もあることがわかった. 今後も症例数を蓄積し, 短期的な経過での評価に用いることができるか(例:タルチレリンでの治療評価)などを検討していきたい.

### D. 研究発表

パソコンソフトを用いた運動失調症状の定量的評価(第 47 回・第 48 回・第 49 回・第 50 回日本神経学会総会)

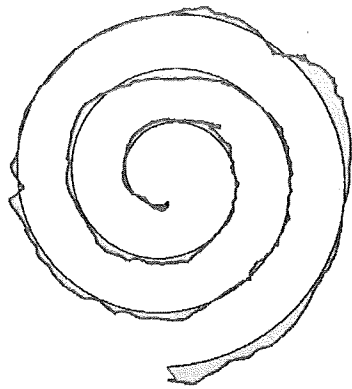
### E. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)

なし

### F. 健康危険情報

なし

# パソコンソフトを用いた小脳性運動失調の評価



渦巻きを赤のサインペンでなぞる

10個の点の指標を赤のサインペンで打点

スキャナーで取り込み、開発したソフトでデータ処理  
(渦巻きのずれ面積, 軌跡線長のずれ, 打点のずれ)



小脳面積比(小脳/後頭蓋窩)を測定

SCD33例での結果  
1) SARAともっとも相関したのは渦巻きずれ面積であった。  
2) 小脳面積比ともっとも逆相関したのも渦巻きずれ面積であった。

渦巻きずれ面積がもっとも運動失調を客観的・定量的に評価できる  
小脳の萎縮度を予測できる可能性もある

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

分担研究年度終了報告書

運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究

多系統萎縮症とパーキンソン病に共通して見られる腸音発生頻度の低下に関する研究

分担研究者	小澤鉄太郎	新潟大学脳研究所神経内科
研究協力者	佐治越爾	新潟大学脳研究所神経内科
	矢島隆二	新潟大学脳研究所神経内科
	小野寺 理	新潟大学脳研究所生命科学リソースセンター
	西澤正豊	新潟大学脳研究所神経内科

研究要旨

臨床的に便秘障害が問題となる多系統萎縮症(MSA)とパーキンソン病(PD)での腸音発生頻度を評価した。MSAとPDでの分時腸音数はALSと対照よりも有意に低下していた。%腸音時間についてもMSAはALSと対照よりも有意に低下しており、PDではALSよりも有意に低下していた。この結果から、腸音発生頻度の低下はアルファシヌクレイン異常症であるMSAとPDに共通して見られ、これら2疾患には類似した消化管の病態が存在する可能性が示唆された。

A. 研究目的

臨床的に便秘障害が問題となる多系統萎縮症(MSA)とパーキンソン病(PD)での腸音発生頻度を評価する。

当てる部位は臍の右約5cm外側とした。測定は静粛な個室内で安静仰臥位にて行った。パーキンソン症状を有するMSA症例、PDおよびPSP・CBD症例においては、抗パーキンソン病薬の開始前に評価を行った。統計学的処理は分散分析とBonferroniの多重比較にて行った。

B. 研究方法

MSA12例、PD9例、疾患対照として年齢を合わせた進行性核上性麻痺と皮質基底核変性症(PSP・CBD)8例、筋萎縮性側索硬化症(ALS)11例、対照16例(健康人8例、非変性疾患8例)において、電子聴診器とデジタルレコーダーを用いた腸音解析システム(EnteroTachogram Analysis System, Western Research Company, Inc., USA.)を用いた定量的腸音解析を行った。評価に用いた指標は1分間に発生する腸音数(分時腸音数)と全評価時間に占める腸音時間の割合(%腸音時間)であり、これらを午前中の食間の時間帯(午前10時~11時)において10分間連続測定した。これは腹部聴診と同様の非侵襲的検査であり、電子聴診器を

(倫理面への配慮)

この研究は新潟大学医学部倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

MSAとPDでの分時腸音数はALSと対照よりも有意に低下していた。%腸音時間についてもMSAはALSと対照よりも有意に低下しており、PDではALSよりも有意に低下していた。これらのマーカーはPSP・CBDと他の群との間に有意差はなかった。アルファシヌクレイン異常症であるMSAとPDでは、腸音発生頻度の低下が共通して見られた。

**D. 研究発表**

1. 論文発表

未発表.

2. 学会発表

未発表.

**E. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)**

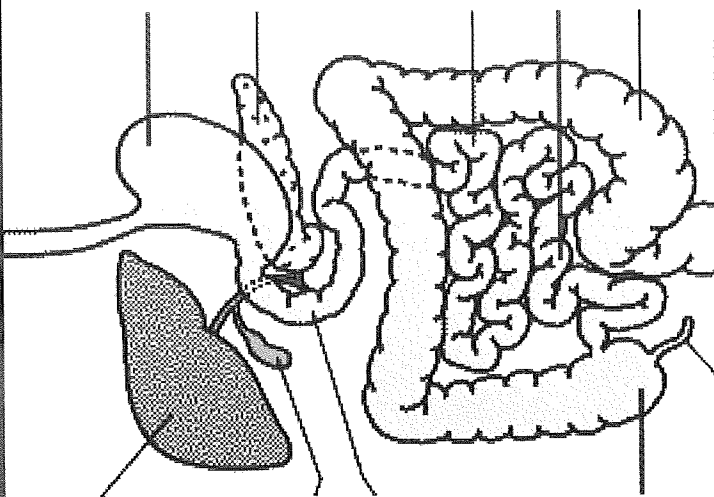
(特許取得・実用新案登録・その他)

特記事項無し.

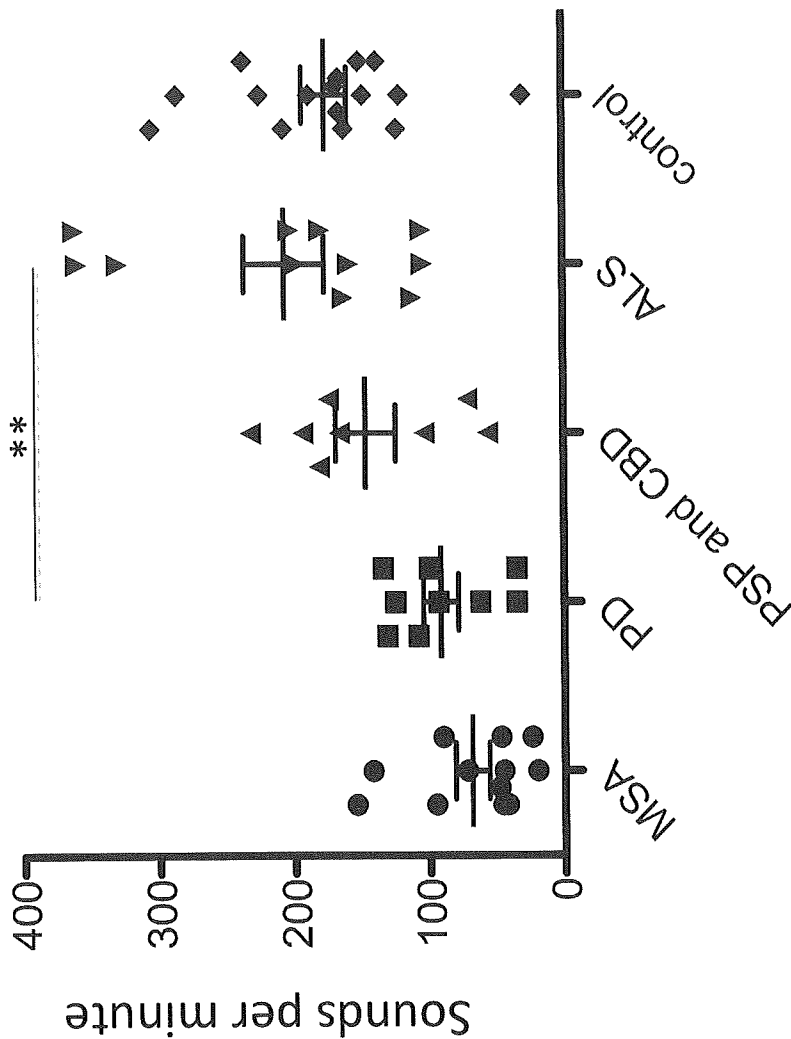
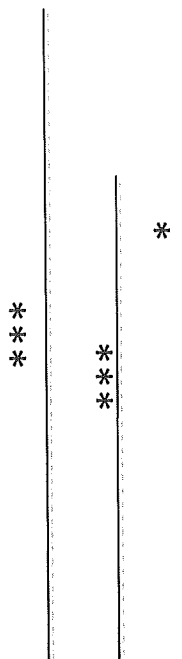
**F. 健康危険情報**

特記事項無し.





多系統萎縮症とパーキンソン病に共通して見られる腸音発生頻度の低下: 消化管のシヌクレイン異常症か?



厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服事業)

分担研究年度終了報告書

運動失調症に関する調査研究

## 多系統萎縮症における経時的な volumetry・拡散テンソル像の検討(第2報)

分担研究者 祖父江元 名古屋大学大学院医学系研究科 神経内科 教授

研究協力者 伊藤瑞規、渡辺宏久、熱田直樹、千田 譲、加賀友継、加藤重典

名古屋大学大学院医学系研究科 神経内科

長縄慎二

名古屋大学大学院医学系研究科 放射線科

### 研究要旨

多系統萎縮症(MSA)において volumetry、拡散テンソル像を経時的に検討した。対象は MSA 10 例、コントロール 10 例。コントロールでは登録時、MSA では登録時、半年後、1年後に頭部 MRI を撮影し、SPM5/VBM5 を用い、それぞれを比較した。また、ROI 法を用い、錐体路および中小脳脚を関心領域として Fractional Anisotropy (FA)および Mean Diffusivity (MD)を測定した。MSA ではコントロールと比較し、すべての方法で小脳、脳幹を中心とした異常を認めしたが、前頭葉から側頭葉にかけて広範囲に異常を示すものも見られた。さらに、MSA における半年後、1年後の変化では、登録時から変性が強く認められる小脳、脳幹での変化は乏しく、前頭葉、側頭葉などに広範な変性の増悪を認めた。ROI 法を用いた検討では、中小脳脚に半年間で変化は認められなかったが、1年後には有意に増悪し、錐体路では、半年後、1年後ともに経時的に有意な増悪をきたしていた。Volumetry、MD、FA はいずれも MSA における病変を明確にとらえることができた。特に錐体路 FA は経時的な変化を認め、MSA のバイオマーカーになりうる可能性があると考えられた。

### A. 研究目的

多系統萎縮症(MSA)において、現在病期を正確に、客観的に評価できる指標(バイオマーカー)は存在しない。しかしながら、今後の診療方針の決定や生活設計、治験などに際し、正確な病期、進行の程度を把握することは、極めて重要である。

頭部 MRI を用いた、volumetry、MD、FA は、新しく開発された頭部 MRI の指標で、数値で表示される客観的な指標であり、これらを経時的に評価することで、MSA 診断の補助、病

期の進行に関するバイオマーカーになりうる可能性がある。

そこで、MSA における上記指標を経時的に評価することを計画した。

### B. 研究方法

対象は MSA 10 例、コントロール 10 例。

全例 3.0T MRI (Siemens、Germany) を用い、T1 強調画像 (TR/TE: 1570/2.15)、拡散強調画像 (EPI、TR/TE: 7700/75、b 値: 1000s/mm<sup>2</sup>、MPG: 12 方向) を撮影した。

Volumetry の解析には SPM5/VBM5 を用い、

標準化を行い、灰白質・白質を分離、平滑化を行い、コントロール、MSA の登録時、半年後、1年後を比較した。FA、MD の解析はSPM5を用い、標準化、平滑化を行いコントロール、MSA の登録時、半年後、1年後を比較した。

ROI 法による、FA と MD の測定には dTV II (東京大学放射線科開発フリーウェア)を用い中小脳脚と、錐体路として内包後脚、放線冠、錐体路全体に関心領域を設定した。

(倫理面への配慮)

3.0T MRI は、名古屋大学倫理委員会で承認されたプロトコルに準拠して施行した。全例文書による十分な説明を行い、文書による同意を得た。

### C. 研究結果

Volumetry の白質レベルでは、コントロールと登録時の比較で、脳幹、小脳の一部に萎縮を認め、経時的に前頭葉を中心に萎縮の広がりを認めた。

Volumetry の灰白質レベルでは、コントロールと登録時の比較で、脳幹および小脳に萎縮を認め、経時的に前頭葉から側頭葉に萎縮の広がりを認めた。

MD では、コントロールと登録時の比較で、脳幹、小脳および前頭葉の一部に変性を認め、経時的に前頭葉から側頭葉、頭頂葉にかけて広範な変性の広がりを認めた。

FA では、コントロールと登録時の比較で、脳幹および小脳に変性を認め、経時的に前頭葉から側頭葉、頭頂葉にかけて広範な変性の広がりを認めた。

ROI 法を用いた FA と MD は、中小脳脚では、半年間で変化をきたしていなかったが、1年後には有意な増悪を認め、錐体路では半年後、1年後と経時的に有意な増悪をきたしていた。

今回の検討で volumetry、MD、FA は、いず

れも MSA における変性を鋭敏にとらえることが可能であった。特筆すべきは小脳や脳幹など MSA において当初から強く変性をきたしている部位では、短期間での変化が乏しいことであり、この部位をバイオマーカーとして用いるには不向きであると考えられる。そこで、錐体路の FA と MD を測定したところ、いずれも経時的に有意な変化をきたしていた。

以上より、短期間に MSA の変性をとらえるためには、適切な部位と方法を選択する必要があり、錐体路 FA は MSA のバイオマーカーの1つとなりうる可能性があると考えられた。

### D. 研究発表

#### 1. 論文発表

Ito M, et al. Fractional anisotropy values detect pyramidal tract involvement in multiple system atrophy. *J Neurol Sci*, 271: 40-46, 2008.

Ito M, et al. Usefulness of combined fractional anisotropy and apparent diffusion coefficient values for detection of involvement in multiple system atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 78: 722-728, 2007

#### 2. 学会発表

伊藤瑞規、渡邊宏久、熱田直樹他：  
多系統萎縮症における経時的な volumetry・  
拡散テンソル像の検討

日本神経学会総会 5月 2009 仙台

伊藤瑞規、熱田直樹、渡邊宏久他：

FA 値を用いた多系統萎縮症における白質変性の評価

日本神経学会総会 5月 2008 横浜

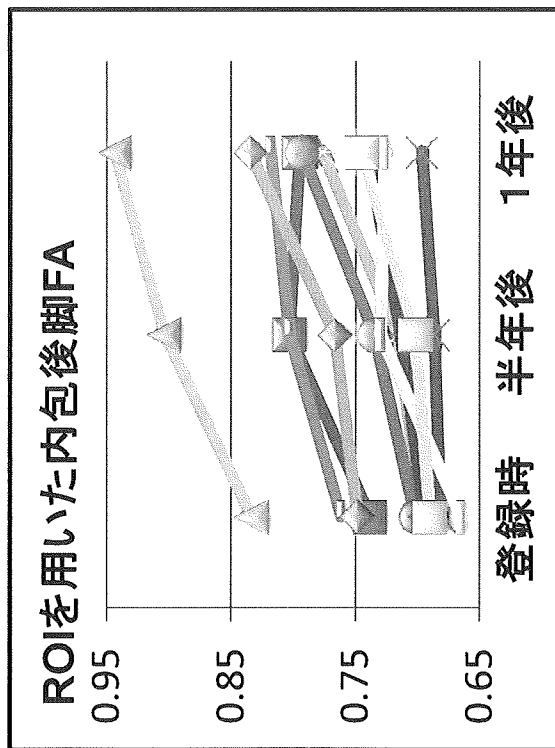
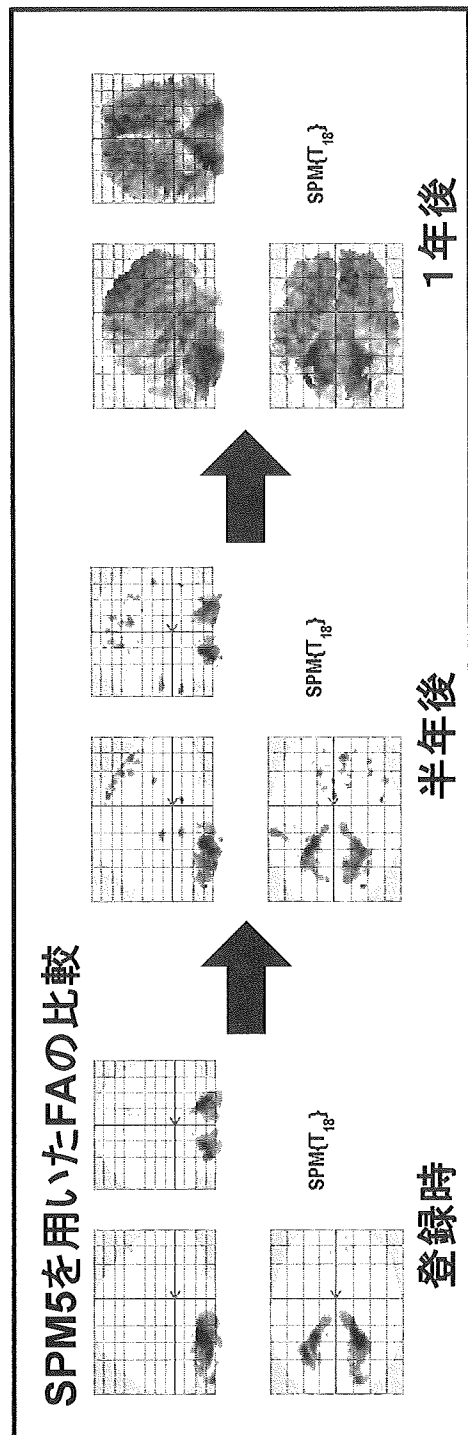
### E. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

### F. 健康危険情報

特になし。

多系統萎縮症(MSA)は病期の進行を客観的に捉えにくい  
 →今後の治療などのために客観的指標(バイオマーカー)が必要



MSA患者では、小脳・脳幹に強い変性が認められるが、短期間ではこれら変性の強い部位での変化は乏しく、前頭葉・側頭葉に変性の広がりを認める

錐体路は、短期間でも病期の進行とともに変性が強くなる

錐体路FAは短期間でも変化をきたしており、バイオマーカーとなり得る可能性がある