

はパーキンを過剰発現させてもそれを回復させることはできなかった。パーキン KO マウスではコントロールマウスに比べ、脳および骨格近組織における Kloklin 1/ChPF ファミリーの発現は著明に増加して

いた。

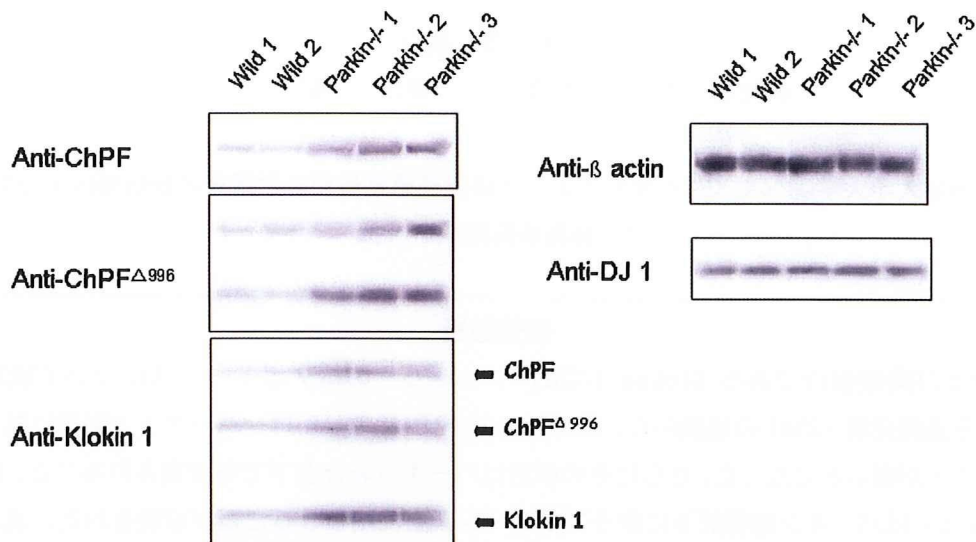


図1 パーキンノックアウトマウスにおける CHPF、CHPF^{Δ996} および Kloklin 1 のイムノブロット。野生型(Wild 1, 2)に比べパーキンノックアウトマウス(Parkin^{-/-} 1, 2, 3)では内因性の CHPF、CHPF^{Δ996} および Kloklin 1 の発現はいずれも著明に増加していた。

D. 考察

培養細胞系における過剰発現・RNAi の成績から、Kloklin 1/ChPF ファミリーは、パーキンと同様に抗アポトーシス作用を有することが明らかになった。さらにその作用はパーキン非存在下でも発揮されること、および Kloklin 1/ChPF ファミリーはパーキン発現低下に伴うアポトーシスを抑制しうることが示唆された。また、パーキン KO マウス黒質で Kloklin 1/ChPF ファミリーの発現が著明に増加していたことから、Kloklin 1/ChPF ファミリーはパーキンの機能を代償しているものと考えられた。

E. 結論

Kloklin 1/ChPF ファミリーはパーキンをミトコンドリアに運搬するのみならずミトコンドリア内で独自の抗アポトーシス作用を発揮し、その作用はパーキンの作用を代償しうることを示唆された。

F. 健康危険情報

本研究は組換え DNA 実験を含んでいるが、これに対する安全対策として、「大学等における組み換え DNA 実験指針」および「徳島大学遺伝子組換え DNA 実験安全管理規則」に基づき、承認を受けた後に専用施設内にて研究を実施した。

G. 研究発表

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

1. 論文発表

1. Kuroda Y et al. Parkin enhances mitochondrial biogenesis in proliferating cells. *Hum Mol Genet.* 15(6):883-95, 2006.
2. Kuroda Y et al. Parkin affects mitochondrial function and apoptosis in neuronal and myogenic cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 348(3):787-93, 2006.

2. 学会発表

1. 黒田由紀子, 三ツ井貴夫, 梶 龍兒: パーキン蛋白の糖化修飾機構、第 50 回日本神経学会総会、2009 年 5 月

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得 (出願中)

- ① 新規なパーキン結合タンパクとその用途 (平成 16 年 9 月 22 日出願、整理番号 P04015)
- ② パーキン蛋白の新規糖化因子。発明者: 三ツ井貴夫、黒田 由紀子。(平成 20 年 3 月 28 日出願、出願番号: 特願 2008-087534。)

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

家族性パーキンソン病の原因遺伝子 *PINK1* の mitophagy 調節機構について

研究分担者 服部信孝¹⁾

研究協力者 河尻澄宏¹⁾， 齊木臣二¹⁾， 佐藤栄人¹⁾， 波田野琢¹⁾， 里史明²⁾， 江口博人¹⁾

1) 順天堂大学医学部脳神経内科，

2) 順天堂大学医学部老人性疾患病態・治療研究センター

研究要旨

PINK1 は parkin 存在下でミトコンドリアに移行し autophagy によるミトコンドリアの品質管理に関与していることが示唆された。さらに *PINK1* と LC3-II との interaction が確認できたことから、*PINK1* が autophagy の誘導に関与していることも示唆された。このミトコンドリア品質管理機構は家族性のみならず孤発性パーキンソン病の発症機序に関与している可能性があり、根本治療への新たなターゲットとなることが期待される。

A.研究目的

常染色体劣性若年性パーキンソニズムの原因遺伝子産物である *PINK1* はミトコンドリア保護機能があり、また同原因遺伝子産物 parkin と同一の pathway に存在することが報告されている。また神経変性の病態として autophagy の機能障害が指摘されている。今回、我々は *PINK1* のミトコンドリアにおける autophagy (mitophagy) 誘導に関する分子機構について検討した。

B.研究方法

HeLa 細胞に *PINK1*-3xFLAG（野生型もしくは変異型）と GFP-parkin を共発現させて、FLAG、GFP、Tom20 (mitochondrial marker)、LC3 (autophagosomal marker) で染色し、各蛋白の発現と局在を 3 重免疫蛍光染色法および Western blot 法で解析した。そして Atg7+/+ および Atg7-/- mouse embryonic fibroblasts (MEFs) に同 plasmid を共発現させ、Tom20 の発現レベルを western blot 法で検討した。Loading control

は actin を用いた。さらに HeLa 細胞に *PINK1*-3xFLAG と GFP-parkin を共発現させて、anti-LC-3 antibodies もしくは anti-FLAG antibodies で免疫沈降を行い *PINK1* と LC3 の結合の有無を western blot 法で確認した。

C.研究結果

HeLa 細胞に *PINK1*-3xFLAG と GFP-parkin を一過性に共発現させると、24 時間後には Tom20 は aggregation を起こし核周囲に移行した。そして細胞内に diffuse に局在していた *PINK1* と parkin も核周囲に移行し共局在を示した (Fig. 1A)。さらに 48 時間後には *PINK1* と parkin の局在は diffuse に戻り、Tom20 は消失していた (Fig. 1B)。これらことから、*PINK1* と parkin がミトコンドリアを除去している可能性があると考えた。

Figure.1A

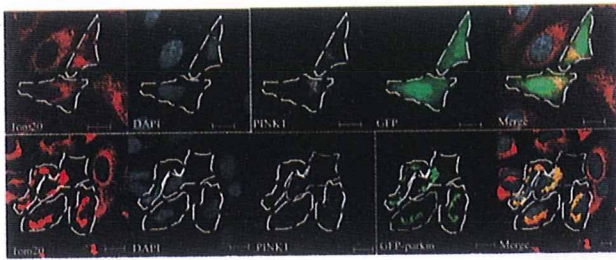
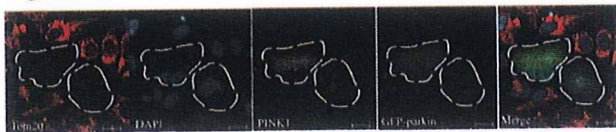
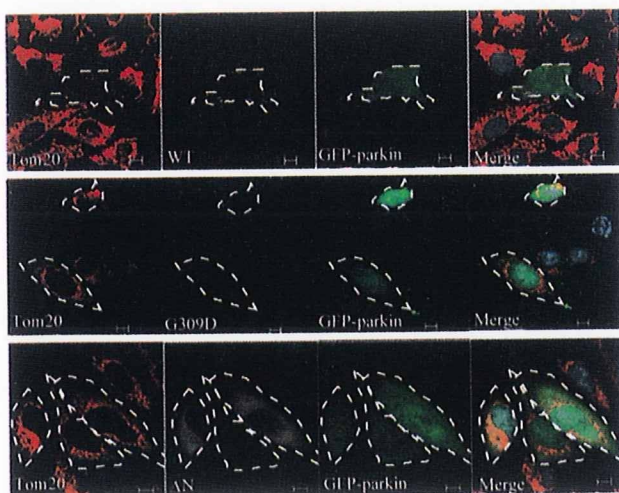


Figure. 1B



次に、同様の実験を PINK1 mutants [キナーゼ活性が低下している報告のある point mutation (G309D 他)とミトコンドリア移行シグナルを欠く deletion (ΔN 他)] を用いて行った。Wild-type PINK1 と parkin とで見られる Tom20 の消失は PINK1 mutations では見られなかった (Fig.2)。このことから、このミトコンドリア除去・消失機構には PINK1 のキナーゼ活性とミトコンドリア移行シグナルが重要であることが示唆された。

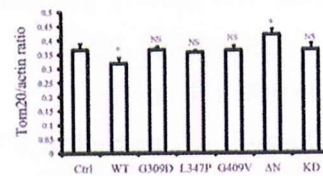
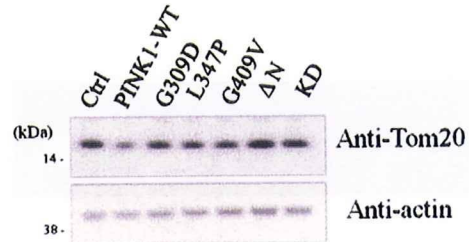
Figure.2



さらに wild-type 及び mutant の PINK1 と wild-type parkin を共発現させた HeLa 細胞の Tom20 の発現レベルを Western Blot 法で解析した。

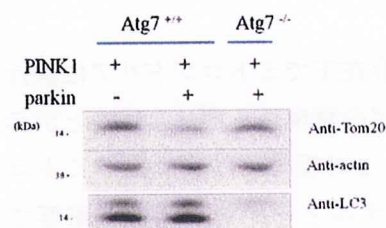
Wild-type PINK1 と parkin の共発現では Tom20 の発現レベルの低下がみられたが、PINK1 mutants とでは低下が見られなかった (Fig. 3)。この結果は、免疫蛍光染色法との結果と矛盾しなかった。

Figure.3



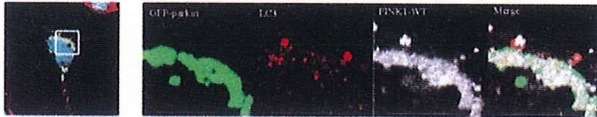
ミトコンドリアの homeostasis 維持機構に autophagy が重要であることが以前から報告されており、この PINK1 と parkin によるミトコンドリア除去機構も autophagy によって行われていることが想定された。そのため、autophagy の key protein である Atg7^{+/+}及び^{-/-}の MEFs を用いて、この機構が autophagy dependent であるかを検討した。PINK1 と parkin を共発現すると、HeLa 細胞と同様に Atg7^{+/+} MEFs では Tom20 の発現レベルは低下したが、Atg7^{-/-}では低下が見られなかった (Fig. 4)。よって PINK1 と parkin によるミトコンドリア除去は autophagy により行われていることが確認できた。

Figure.4



PINK1 と autophagy との関連をさらに調べるために、PINK1 と parkin を共発現させた HeLa 細胞で、PINK1 と LC3 との共局在の有無を免疫蛍光染色法で確認した。LC3 は PINK1 及び parkin と共局在していたが、特に PINK1 との共局在のほうが顕著であった (Fig. 5)。

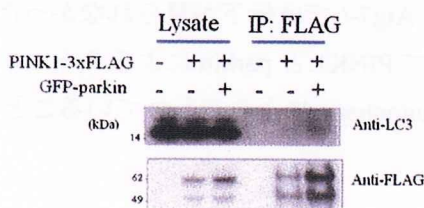
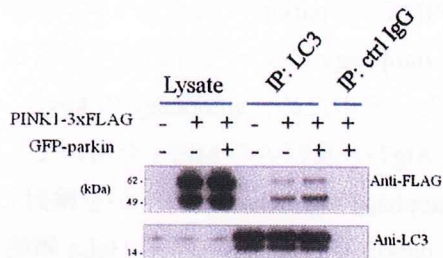
Figure.5



さらに PINK1 と LC3-II との direct な interaction の有無の検討のために、HeLa 細胞に PINK1 と parkin を共発現して免疫沈降法を行った。

Anti-LC3 antibodies 及び anti-FLAG antibodies どちらで免疫沈降しても PINK1-3xFLAG と LC3-II との interaction が確認できた (Fig. 6)。

Figure.6



D. 考察

PINK1 は parkin 存在下でミトコンドリアに移行し、ミトコンドリアの発現量を調節することが示唆された。そして、この現象には PINK1 のミトコンドリア移行シグナルとキナーゼ活性が重要であることも示唆された。autophagy 機能を喪失し

た MEFs で、ミトコンドリアの発現量低下が見られないことから、このミトコンドリア調節は autophagy により行われていることが想定された。さらに PINK1 と LC3-II は interaction があることから、PINK1 が autophagy を誘導している可能性があると考えられた。

E. 結論

PINK1 は parkin 存在下でミトコンドリアに移行し、mitochondrial autophagy (mitophagy) によりミトコンドリアの品質管理を行っている。この機能喪失が PD の発症機序に大きく関与している可能性があり、今後の根本治療開発への新たなターゲットとなることが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

1. 論文発表

現在投稿中

2. 学会発表

日本ミトコンドリア学会 (東京、2009)

H. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

常染色体劣性遺伝性パーキンソン病の新規原因遺伝子探索

研究分担者 服部 信孝^{1,2)}

研究協力者 船山 学^{1,2)}, 李元 哲²⁾, 富山弘幸¹⁾, 吉野浩代²⁾, 今道洋子¹⁾,
高嶋博³⁾, 松浦英治³⁾, 有村公良³⁾, 水野美邦²⁾

- 1) 順天堂大学医学部神経学, 2) 順天堂大学大学院医学系研究科老人性疾患病態・治療研究センター,
3) 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科神経内科・老年病学

研究要旨

〔目的〕家族性パーキンソン病の原因遺伝子は 11 種報告されているが、本邦ではこれらの遺伝子に変異が見つかる患者は 2 割強である。遺伝的背景が強く影響すると予想される若年性劣性遺伝性パーキンソン病に限っても変異陽性率は約 5 割と低い。そこで我々は新たな家族性パーキンソン病の原因遺伝子を単離する目的で、遺伝子変異未同定の常染色体劣性遺伝性パーキンソン病患者を対象に分子遺伝学的解析を行った。〔方法〕比較的大きな家系についてはマイクロサテライトをもちいたポジショナルクローニングを行った。さらに SNP アレイをもちいた再検を行った。同胞発症例等の小さな家系については SNP アレイをもちいてジェノタイプングを行った後、オート接合性領域を IBDfinder program で見いだした後、領域内に存在するマイクロサテライトのジェノタイプデータを基にハプロタイプ解析を行い、候補領域の同定を行った。〔結果〕2 家系のポジショナルクローニングの結果、候補領域を 1 カ所見いだした。さらに SNP アレイの再検から新たに候補領域を 1 カ所見いだした。オート接合性領域探索の結果、6 家系で共通の候補領域を見いだした。〔結論〕これらの候補領域には合計 200 以上の遺伝子が存在すると推定され、この中から複数の新規パーキンソン病原因遺伝子が単離出来る可能性が高い。

A.研究目的

パーキンソン病 (PD) は振戦・筋固縮・無動・姿勢反射障害などの臨床症状を呈する進行性の神経変性疾患である。患者数は平成 17 年度厚生労働省患者調査によると約 14 万 5000 人と推計されており、その数は増加の一途を辿っている。しかしながらその治療法は薬物補充療法を主とした対症療法がほとんどであり、根治治療を目指した治療は未だ研究段階にある。したがって、PD の病態機序の解明と根治療法の開発は、超高齢化社会を迎えた本邦において早急に克服しなくてはならない課題の一つである。

PD の病態を理解する上で重要な要素の一つとして家族性 PD の原因遺伝子が挙げられる。PD のほとんどは孤発性であるが、単一遺伝子変異によって PD を発症する家族性 PD 家系も稀ではあるが存在する。家族性 PD の原因遺伝子を単離しその機能を明らかにすることで、これまで注目されていなかった遺伝子やその遺伝

子産物の機能にスポットライトを当て、PD 研究を大きく前進させることが出来る。実際、これまでに PD の神経病理学的特徴であるレビー小体の主要構成成分である α -synuclein (Science, 1997) やユビキチンリガーゼである parkin (Nature, 1998) などが単離され、PD の病態機序解明に向けて大きなインパクトを与えている。しかしながら、現在単離されている原因遺伝子とその関連分子のみでは PD の病態機序の全容を解明することは難しい。これはまで我々は 10 年以上に渡り世界中の家族性 PD 患者 2000 例以上の DNA を採取し、家族性 PD 関連遺伝子の変異解析を行ってきたが、その変異陽性率は 20%程度であり、比較的遺伝的影響が強いと考えられる常染色体劣性遺伝性 PD に限っても変異陽性率は 50%程度であった。

このような背景の中、我々は既報の家族性 PD 関連遺伝子に変異が無い常染色体劣性遺伝性家族性 PD 家系に着目し、新規家族性 PD 原因遺伝子を単離する事

を目的として、分子遺伝学的研究を行った。

B. 研究方法

本研究を行うにあたり、我々は2つの戦略で研究を推進した。1つ目は発症者および非発症健常兄弟が複数人確認され、且つゲノムDNA採取可能な比較的大きな家系についてマイクロサテライト (ABI PRISM Linkage Mapping Set v2.5 HD5) をもちいたゲノムワイド・ポジショナルクローニングを行った。

この解析における対象は、九州地方の同一地域に居住する2家系の常染色体劣性遺伝性家族性PD家系で、合計で発症者6名および健常兄弟5名について解析を行った。

2つ目は発症者が2名以下の小さな家系について、Affymetrix Genome Wide Human SNP Array 6.0 をもちいてゲノムワイドホモ接合性マッピングを行った。この解析における対象は、血族婚があり且つ同胞発症者が確認されている14家系であった。

さらにホモ接合性マッピングの結果、候補座位が同定された場合は上記14家系に加えて、血族婚があるが発症者が1名しかいない36家系について、マイクロサテライトをもちいたハプロタイプ解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は順天堂大学医学部倫理委員会の承認を得ており、解析対象者へは医師による十分なインフォームドコンセントを行い、書面での同意書を得ている。

C. 研究結果

マイクロサテライトをもちいたゲノムワイド・ポジショナルクローニングの結果、2つの遺伝子に患者特異的変異を見いだした。しかしながらこの遺伝子変異は対象の2家系のうち1家系の患者のみに存在した。また、これまで対象家系以外の100家系以上の常染色体劣性遺伝性家族性パーキンソン病患者について変異解析を行ったが、病的遺伝子変異は見つかっていない。

ゲノムワイドホモ接合性マッピングの結果、50家系中6家系で共通してホモ接合性である遺伝子領域を見いだした。

D. 考察

マイクロサテライトをもちいたゲノムワイド・ポジショナルクローニングの結果見いだされた2つの候補遺伝子のうち、どちらかが真の原因遺伝子である可能性が高い。しかしながら変異が同定されたのは1家系のみであることから、他の遺伝子領域に真の原因遺伝子が存在する可能性もある。この可能性を検討するため、SNPチップをもちいたゲノムワイド・ポジショナルクローニングを行い、現在検証を行っている。

ゲノムワイドホモ接合性マッピング結果同定された候補領域には200種以上の遺伝子が存在している。この遺伝子の中から新しい常染色体劣性遺伝性家族性PDの原因遺伝子が単離出来る可能性が高い。現在この遺伝子について、次世代シーケンサーをもちいた高速シーケンスを行い、変異解析を行っている。

E. 結論

既知家族性PD原因遺伝子変異陰性の家系に関して様々な手法をもちいて解析することで、新しい原因遺伝子が複数単離出来る可能性が高く、近い将来これらの研究の結果、PDの病態機序ならびに新たな治療法の開発に寄与することが期待される。

F. 健康危険情報

本年度は特に健康危険情報として報告すべきものはなかった。

G. 研究発表

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

1. 論文発表

- 1) Pirkevi C, et al. A LRRK2 G2019S mutation carrier from Turkey shares the Japanese haplotype. *Neurogenetics* 10:271-3, 2009.
- 2) Kanai K, et al. Preserved cardiac 123I-MIBG uptake and lack of severe autonomic dysfunction in a PARK9 patient. *Mov Disord* 24:1403-4, 2009.
- 3) Tomiyama H, et al. Mutation analysis for DJ-1 in sporadic and familial parkinsonism: Screening

strategy in parkinsonism. *Neurosci Lett* 455:159-61, 2009.

- 4) Evangelou E, et al. Non-replication of association for six polymorphisms from meta-analysis of genome-wide association studies of Parkinson's disease: Large-scale collaborative study. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 153B(1):220-228, 2009.
- 5) Mellick GD, et al. Screening PARK genes for mutations in early-onset Parkinson's disease patients from Queensland, Australia. *Parkinsonism & Related Disorders*. 15 (2):105-109, 2009.
- 6) Momma K, et al. A new mutation in the GCH1 gene presents as early-onset Parkinsonism. *Parkinsonism & Related Disorders* 15(2):160-1 2009.
- 7) 齊木臣二ら. 成人発症の PANK2 および PLA2G6 に変異を認めない idiopathic neurodegeneration with brain iron accumulation の 1 例. *臨床神経学*, 49(8):474-478, 2009.
- 8) Satake W, et al. Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nature Genet* 41(12):1303-7, 2009.
- 9) Krüger R, et al. Evaluation of the genetic contribution of Omi/HtrA2 to Parkinson disease in a large collaborative study. *Neurobiol Aging* 2009 (in press) .

2. 学会発表

- 1) 塩屋敬一ら. FTDP-17 の一症例. (2009 日本神経学会九州地方会, 九州).
- 2) 富山弘幸ら. 孤発性パーキンソン病における LRRK2 P755L 変異. (2009 日本神経学会総会, 仙台).
- 3) 吉野浩代ら. パーキンソン病における PARK2, 6, 7, 9 変異解析. (2009 日本神経学会総会, 仙台).

- 4) 李元哲ら. 血族婚のあるパーキンソン病家系におけるオート接合性マッピングの検討. (2009 日本神経学会総会, 仙台).
- 5) 船山 学ら. SNP chipによる家族性パーキンソン病のlinkage解析. (2009 日本神経学会総会, 仙台).
- 6) 三井純ら. Park2, DMD の欠失・重複は特定の領域に独立してランダムに集中する. (2009 日本神経学会総会, 仙台).
- 7) 野倉一也ら. Parkin 遺伝子と PINK1 遺伝子の変異を持ち MIBG 心筋シンチが正常の家族性パーキンソン病. (2009 日本神経学会東海北陸地方会).
- 8) 富山弘幸ら. パーキンソン病における LRRK2 P755L variant (2009 順天堂大学老人性疾患病態治療研究センター研究成果発表会, 東京).
- 9) Lesage S, et al. Different origins and demographic histories of the LRRK2 G2019S mutation in Parkinson's disease. (2009 Movement Disorders, Paris) .
- 10) Sekine T, et al. Glucocerebrosidase (GBA) mutations and familial Parkinson's disease in Japan. (2009 Movement Disorders, Paris).
- 11) Tomiyama H, et al. LRR2 P755L variant in Parkinson's disease. (2009 Movement Disorders, Paris) .
- 12) Kanai K, et al. Preserved cardiac 123I-MIBG uptake and lack of severe autonomic dysfunction in a PARK9 patient. (2009 Movement Disorders, Paris) .
- 13) Tomiyama H, et al. Mutation analysis for DJ-1 in parkinsonism: Screening strategy in autosomal recessive parkinsonism. (2009, 4th GEO-PD meeting. Germany, Tubingen) .
Funayama M, et al. Rapid screening of ATP13A2 variant with high-resolution melting analysis. Genetic Epidemiology of Parkinson's Disease 4th annual meeting. (2009, 4th GEO-PD meeting. Germany, Tubingen) .
- 14) 富山弘幸ら. パーキンソン病における DJ-1 変異解析: 常染色体劣性遺伝性パーキンソンニズムにおけるス

クリーニング法について。(2009 MDSJ, 東京).

15) 吉野浩代ら. パーキンソン病における *PARK2*, 6, 7, 9 変異解析.(2009 MDSJ, 東京).

16) 李元哲ら. 血族婚のあるパーキンソン病家系におけるオート接合性マッピングの検討(続報).(2009 MDSJ, 東京).

17) 船山学ら. 高分解能融解曲線分析法をもちいた *ATP13A2* A746T多型の大規模解析.(2009 MDSJ, 東京).

18) 富山弘幸ら. パーキンソン病における *LRRK2* P755L 変異.(2009 日本人類遺伝学会, 東京).

19) 吉野浩代ら. パーキンソン病原因遺伝子の大規模変異解析.(2009 日本人類遺伝学会, 東京).

20) 李元哲ら. 血族婚のあるパーキンソン病家系におけるオート接合性マッピングの検討(続報).(2009 日本人類遺伝学会, 東京).

21) 船山学ら. Hi-Res Melting法をもちいた *ATP13A2* A746T多型の高速度解析.(2009 日本人類遺伝学会, 東京).

22) 富山弘幸, 服部信孝. パーキンソン病にどこまで遺伝的要因が関与しているか?(2009 パーキンソン病シンポジウム高松 2009, 香川).

H.知的所有権の取得状況(予定を含む)

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

ゲノムワイド関連解析は、4つのパーキンソン病感受性遺伝子座を同定した

研究分担者 戸田達史¹⁾

研究協力者 佐竹 渉^{1),2)}, 水田依久子¹⁾, 渡邊雅彦³⁾, 武田 篤⁴⁾, 富山弘幸⁵⁾, 中島健二⁶⁾, 長谷川一子⁷⁾,
小幡文弥⁸⁾, 川上秀史⁹⁾, 佐古田三郎²⁾, 山本光利¹⁰⁾, 服部信孝⁵⁾, 村田美穂¹¹⁾, 中村祐輔¹²⁾

- 1) 神戸大学神経内科/分子脳科学, 2) 大阪大学神経内科, 3) 筑波大学神経内科, 4) 東北大学神経内科,
5) 順天堂大学脳神経内科, 6) 鳥取大学脳神経内科, 7) 国立病院機構相模原病院神経内科,
8) 北里大学臨床免疫学, 9) 広島大学放射線分子疫学, 10) 香川県立中央病院神経内科,
11) 国立精神・神経センター病院神経内科, 12) 東京大学医科学研究所

研究要旨

パーキンソン病 (PD) の感受性遺伝子を同定するため、日本人のPD 2,011検体、対照18,381検体を用いて、ゲノムワイド関連解析と2つの再現研究を行った。我々は、1q32に、新しいPD感受性遺伝子座を同定し ($P = 1.52 \times 10^{-12}$)、この領域を、*PARK16*と命名した。また、第2の、新しいPD感受性座として、4p15に位置する*BST1*を同定した ($P = 3.94 \times 10^{-9}$)。さらに、疾患との強い関連を、常染色体優性遺伝性PDの原因遺伝子である、 *α -synuclein* (4q22, $P = 7.35 \times 10^{-17}$) と*LRRK2* (12q12, $P = 2.72 \times 10^{-8}$) の領域に検出した。ヨーロッパ起源の集団の関連解析の結果と比較することにより、我々は、人種間で共通したPDリスク遺伝子座として、*PARK16*、*SNCA*、*LRRK2*、人種差を示す遺伝子座として、*BST1*と*MAPT*を見出した。我々の結果は、PD発症に関わる、2つの新しい遺伝子座を同定した。また、常染色体優性遺伝性PDの原因遺伝子の、典型的PDへの関与を証明した。さらに、人種差が、PDの遺伝的不均一性に、寄与していることを示唆した。

A. 研究目的・B. 研究方法

パーキンソン病 (PD) の感受性遺伝子を発見するため、ここ10年間、多くの研究がなされてきたが、ゲノムワイド有意水準 ($P < 5 \times 10^{-7}$) を満たす確実なものは、 *α -synuclein* とゴーシェ病遺伝子 *GBA* の2つの遺伝子座のみであった。

そこで、我々は、世界最大規模の患者対照集団を用いて、56万個の一塩基多型 (SNP) による、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) と、2つの独立な再現研究を行い、PDの遺伝リスク因子を明示しようとした。患者検体は、国立精神神経センター (村田)、順天堂大 (服部)、香川県立中央病院 (山本) を中心とする11施設より提供され、総数としては、患者2,011検体、対照18,381検体を用いた (図1)。検体収集に

際しては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、文章によるインフォームドコンセントを得た。

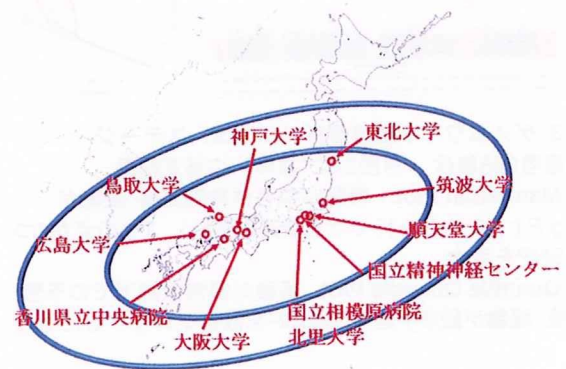


図1. パーキンソン病DNAを収集している国内の11施設

C. 研究結果

まず、GWAS stageとして、患者1,078検体、対照2,628検体について、それぞれ56万個のSNPをジェノタイピングした(図2)。



図2. 研究デザイン

検体およびSNPについて、厳格な品質管理(IBS検定による非日本人・かくれた血縁者の抽出、SNPや検体のジェノタイプ成功率・マイナーアレル頻度・ハーディーワインバーク平衡の検討)を行った。これらの品質管理フィルターを通過した、高品質な、患者988検体、対照2,521検体の、435,470SNPのジェノタイプをもちいて、自由度1のCochran-Armitage trend検定を行った。GWAS stageの検定では、 $P < 5 \times 10^{-7}$ のゲノムワイド有意水準を超える遺伝子は α -synucleinのみであった(図3a)ものの、その一方で、Quantile-Quantile解析からは、 α -synuclein以外の領域のSNPにおいても、帰無仮説のもとで予想される χ^2 統計量分布からの、有意、かつ強力なインフレーションを観察した(図3b)。このことは、これらインフレートしたSNPの中に、真なる感受性座が存在していること意味している。

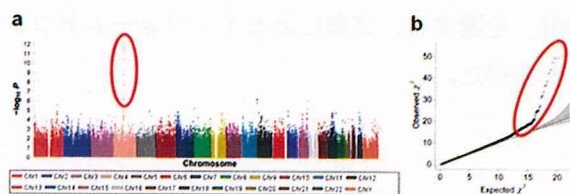


図3. ゲノムワイド関連解析(GWAS)ステージ.

患者988検体・対照2,521検体の検定結果.

a) Manhattan Plot. 横軸が染色体物理距離、縦軸が $-\log P$ (つまり上へ行くほど関連が強い). 1つの点が1つのSNPを示す.

b) Quantile Quantile Plot. 横軸が帰無仮説下での予想 χ^2 値、縦軸が観察 χ^2 値で、各SNPを散布プロットしたもの.

そこで、GWAS stageのtop hit 337SNPを、2つの独立した患者・対照検体セットをもちいて、再現研究を行った(図2)。さらに、全検体(PD 2,011

検体、対照18,381検体)のジェノタイプデータを用いて、Cochran-Mantel-Haenszel検定によるメタ解析を行ったところ、絶対的な有意水準 $P < 5 \times 10^{-8}$ をクリアする4つのPD感受性遺伝子座がハイライトされた(図4a-d)。

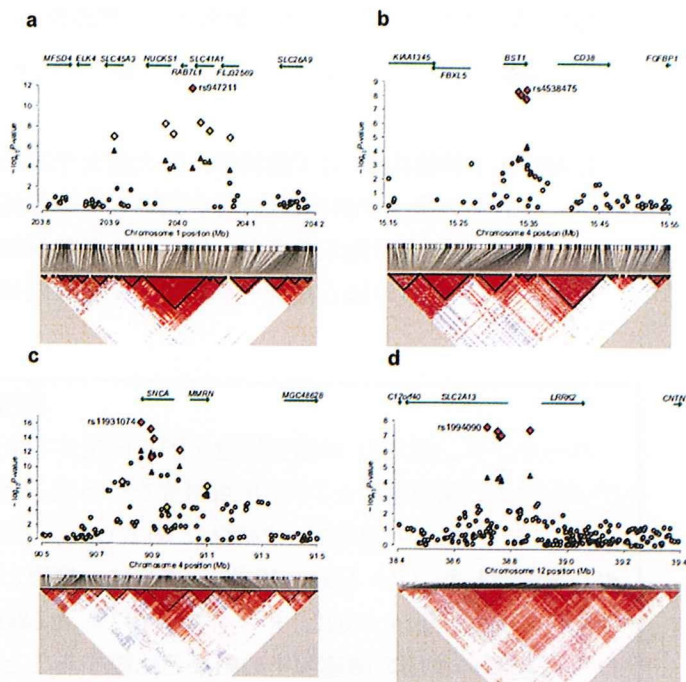


図4 日本人パーキンソン病患者2,011検体、対照18,381検体を解析し、同定された4つのパーキンソン病遺伝子座。このうち2つ(a,b)は、全くの新規の領域であった。特に(a)は、非常に強い関連を示し、白人集団でも関連が再現されたことから、*PARK16*と名付けた。また、残り2つは、常染色体優性遺伝性パーキンソンニズムの原因遺伝子 α -synuclein(c)と*LRRK2*(d)を含む領域が同定された。

我々は、2つの新しいPD感受性座を、1q32(*PARK16*と命名、 $P = 1.52 \times 10^{-12}$, 図4a)と4p15($P = 3.94 \times 10^{-9}$, 図4b)に発見した。1q32領域は、3つの遺伝子(*NUCKS1*, *RAB7L1*, *SLC41A1*)を含む連鎖不平衡ブロックであるが、発現量の形質座(eQTL)解析から、*NUCKS1*が、最も有力な責任遺伝子であると考えた。また、4p15領域は、*BST1*のみを含んでいた。さらに、常染色体優性遺伝性PDの原因遺伝子である、 α -synuclein(4q22, $P = 7.35 \times 10^{-17}$, 図4c)と*LRRK2*(12q12, $P = 2.72 \times 10^{-8}$, 図4d)の領域を同定した。 α -synucleinは、我々も以前報告した確実なPD感受性遺伝子である。また、本研究で初めて、*LRRK2*領域のありふれた多型が、ゲノムワイド水準でPDと関

連することが示された。

これら4座位(1q32, 4p15, 4q22, 12q12)の、人口リスク寄与度は、それぞれ13%, 8%, 18%, 3%と見積もられた。

次に、我々は、我々と併行して、ヨーロッパ起源の集団のPDのGWAS研究を行っていたグループと、データを交換した。彼らの研究では、*α-synuclein*領域、*Tau*領域のみに、強い関連が検出されていた。そこで、我々の発見した*PARK16*・*BST1*・*LRRK2*の再現研究を依頼したところ、*PARK16*と*LRRK2*の関連は強く再現されたが、*BST1*は再現されなかった。逆に、我々は、彼らの検出した*Tau*の関連の再現を試みたが、我々の検体セットでは、再現されなかった。よって、*α-synuclein*・*PARK16*・*LRRK2*は2人種に共通のPDリスクであり、*Tau*・*BST1*はのリスク多型の影響は人種特異的であると考えた。

D. 考察

*PARK16*領域には、3つの遺伝子が存在するが、発現量的形質座解析から、*NUCKS1*が、最も有力な責任遺伝子であると考えた。*NUCKS1*は、コンセンサスリン酸化サイトをふくむ核タンパクであるが、神経系における機能は、未知であり、新たなPD発症のパスウェイを開拓する可能性がある。

*BST1*は、細胞内Ca²⁺貯蔵からのCa²⁺放出を誘発するサイクリックADPリボースの形成を触媒する酵素であり、最近提唱されている、ドパミン細胞死のCa²⁺ストレス説を想起させ、興味深い。

*LRRK2*の関連のピークは、上流領域であるので、プロモーター活性に影響を及ぼしているかもしれない。これらは、新たな治療ターゲットとしても注目される。

*Tau*領域で観察されたPDリスクの人種差は、ヨーロッパで、ほぼ選択的に拮がった、H2ハプロタイプに起因する。H2は、PD保護ハプロタイプと考えられるが、我々日本人は、H2をもたない(つまり、リスクしかない)。

我々のデータは、孤発性PDの発症に、常染色体優性遺伝性PDの原因遺伝子が、密に関係していること

を明示した。原因変異により常染色体優性遺伝性PDを引き起こす遺伝子は、そのありふれた多型を通して、典型的PDの遺伝リスクとなったことは興味深い。このような関係は、PDを超えて、ほかの疾患に対しても、あてはまるのかもしれない。

E. 結論

PD発症に関わる、2つの新しい遺伝子座を発見した。また、常染色体優性遺伝性PDの原因遺伝子の、典型的PDへの関与を証明した。さらに、人種差が、PDの遺伝的不均一性に、寄与していることを示唆した。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. Satake W, Nakabayashi Y, Mizuta I, Hirota Y, Ito C, Kubo M, Kawaguchi T, Tsunoda T, Watanabe M, Takeda A, Tomiyama H, Nakashima K, Hasegawa K, Obata F, Yoshikawa T, Kawakami H, Sakoda S, Yamamoto M, Hattori N, Murata M, Nakamura Y, Toda T. *Nature Genetics*. 2009;41(12):1303-7.
2. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, Aharon-Peretz J, Annesi G, Barbosa ER, Bar-Shira A, Berg D, Bras J, Brice A, Chen CM, Clark LN, Condroyer C, De Marco EV, Durr A, Eblan MJ, Fahn S, Farrer MJ, Fung HC, Gan-Or Z, Gasser T, Gershoni-Baruch R, Giladi N, Griffith A, Gurevich T, Januario C, Kropp P, Lang AE, Lee-Chen GJ, Lesage S, Marder K, Mata IF, Mirelman A, Mitsui J, Mizuta I, Nicoletti G, Oliveira C, Ottman R, Orr-Urtreger A, Pereira LV, Quattrone A, Rogaeva E, Rolfs A,

Rosenbaum H, Rozenberg R, Samii A, Samaddar T, Schulte C, Sharma M, Singleton A, Spitz M, Tan EK, Tayebi N, Toda T, Troiano AR, Tsuji S, Wittstock M, Wolfsberg TG, Wu YR, Zabetian CP, Zhao Y, Ziegler SG. *New England Journal of Medicine*. 2009;361(17):1651-61.

3. A large-scale genetic association study to evaluate the contribution of Omi/HtrA2 (PARK13) to Parkinson's disease. Krüger R, Sharma M, Riess O, Gasser T, Van Broeckhoven C, Theuns J, Aasly J, Annesi G, Bentivoglio AR, Brice A, Djarmati A, Elbaz A, Farrer M, Ferrarese C, Gibson JM, Hadjigeorgiou GM, Hattori N, Ioannidis JP, Jasinska-Myga B, Klein C, Lambert JC, Lesage S, Lin JJ, Lynch T, Mellick GD, de Nigris F, Opala G, Prigione A, Quattrone A, Ross OA, Satake W, Silburn PA, Tan EK, Toda T, Tomiyama H, Wirdefeldt K, Wszolek Z, Xiromerisiou G, Maraganore DM; for the Genetic Epidemiology of Parkinson's disease consortium. *Neurobiol Aging*. in press.
4. Mutations for Gaucher disease confer high susceptibility to Parkinson disease. Mitsui J, Mizuta I, Toyoda A, Ashida R, Takahashi Y, Goto J, Fukuda Y, Date H, Iwata A, Yamamoto M, Hattori N, Murata M, Toda T, Tsuji S. *Arch Neurol*. 2009;66(5):571-6
5. Mutation analysis for DJ-1 in sporadic and familial parkinsonism: screening strategy in parkinsonism. Tomiyama H, Li Y, Yoshino H, Mizuno Y, Kubo S, Toda T, Hattori N. *Neurosci Lett*. 2009;455(3):159-61.

2. 学会発表

1. Genome-wide association study identifies common variants on two novel loci, α -synuclein, and upstream LRRK2 as genetic risks for Parkinson's disease. Satake W et

al, *The American society of human genetics*, Honolulu, USA, October, 2009

2. Genome-wide association study for sporadic Parkinson's disease. Toda T et al, *Movement Disorder Society*, Paris, France, June, 2009

H. 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

地域におけるパーキンソン病および軽度パーキンソン徴候の疫学的検討

研究分担者 中島健二

研究協力者 植村佑介, 和田健二, 田頭秀悟, 今村恵子, 周藤豊, 北山通朗,
鳥取大学医学部脳神経内科

研究要旨

軽度パーキンソン徴候(mild parkinsonian sign: MPS)は、パーキンソン病(PD)、アルツハイマー病など神経変性疾患の前駆段階である可能性が示唆されているが、その有病率や客観的指標については不明である。地域における PD および MPS の有病率や活動量を明らかにするため地域基盤研究を行った。

A 町(人口 2,427 名)内の 60 歳以上の住民 1,129 名(74.6±9.1 歳, 男性 479 名, 女性 650 名)を対象に、アンケート調査および神経学的診察を行った。MPS の診断基準は、Unified Parkinson's disease rating scale (UPDRS) 運動スコアの 1 点が少なくとも 1 つ以上ある場合(MPS-mild)と、2 点が少なくとも 1 つ以上ある場合(MPS-severe)の 2 段階を用いた。対象者のうち町内 5 地区の住民 423 名(74.9±9.0 歳, 男性 177 名, 女性 246 名)に対してはアクチグラフィを用いて日常生活における活動量を評価した。それぞれの疾患について、粗有病率(粗)と、60 歳以上の日本人口(2009 年 5 月)を基準とした訂正有病率(訂)を算出した。

アンケートは 978 名から返送があった(回収率 86.6%)。神経診察は同意が得られた 672 名(受診率 56.7%)に行い、PD は 13 名(粗 1.2%, 訂 0.9%)、MPS-mild は 177 名(粗 15.7%, 訂 14.3%)、MPS-severe は 45 名(粗 4.0%, 訂 3.2%)であった。アクチグラフィで計測した活動量は MPS-mild 群は対照群と有意差を認めず、正常加齢現象との区別が困難であった。MPS-severe 群では対照群、MPS-mild 群、PD 群に比べて活動量が有意に低下していた。MPS-severe のスクリーニングには、自覚的うつが存在とアクチグラフィの組み合わせが有用で感度は 100%であった。

A. 研究目的

軽度の筋強剛、運動緩慢、振戦、姿勢反射障害について、Louis らは軽度パーキンソン徴候(mild parkinsonian sign: MPS)という概念を提唱している(Louis et al. 2007)。MPS は、パーキンソン病(PD)やアルツハイマー病など神経変性疾患の前駆段階である可能性や、軽度認知機能障害との関連が示唆されているが、MPS のみで医療機関を受診することは少なく、その有病率や客観的指標については不明である。疫学調査には地域研究が重要と考えられるが、本邦では MPS についての疫学研究が行われていない。今回地域における PD および MPS の有病率を明らかにすること、MPS の臨床的特徴やスクリーニング方法を検討するため地域基盤研究を行った。

B. 研究方法

1) アンケート調査

人口 2,427 名の A 町内に在住する 60 歳以上の住民

1,129 名(74.6±9.1 歳, 男性 479 名, 女性 650 名)を対象に、PD スクリーニングに用いられる Tanner 質問票(Tanner et al. 1990)、非運動症状に関する質問紙(nonmotor symptoms screening questionnaire; NMS Quest)から便秘、幻覚、匂いの障害、立ちくらみについて抜粋した質問(Martinez-Martin et al. 2007)、不眠症のスクリーニングである Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) (Buysse et al. 1989)、REM 睡眠行動異常症(RBD)のスクリーニングである RBD Screening Questionnaire (RBDSQ) (Stiasny-Kolster et al. 2007)、自覚的うつのスクリーニングである Geriatric Depression Scale (GDS) (Almeida et al. 1999)を用いてアンケート調査を行った。

2) 神経学的診察

神経内科専門医が同町に赴き、神経学的診察を行い、Unified Parkinson's disease rating scale (UPDRS) から 10 項目を抜粋した modified UPDRS (Louis et al. Neurology 2003)を採点した。MPS の診断基準は、

UPDRS 運動スコアの1点が少なくとも1つ以上ある場合を MPS-mild とし、2点が少なくとも1つ以上ある場合を MPS-severe とした(Louis et al. 2003, Louis et al. 2004). 2点以上の項目が2項目以上ある場合は Parkinsonism とし、UKPD Brain Bank 診断基準(Hughes et al. 1992)を満たす場合は PD とした. スコアが0点の場合を健常対照者(Normal)とした.

3) アクチグラフィー検査

対象者のうち町内5地区の住民423名(74.9±9.0歳, 男性177名, 女性246名)に対しては, アクチウォッチ®を1週間装着して日常生活における活動量を測定し, 総活動量 AC(/日), 平均活動量 Avg(/分), 最大活動量 Max(/日)を解析した.

4) 統計学的検討

それぞれの疾患の有病率は, 粗有病率と, 60歳以上の日本人口(2009年5月)を基準とした訂正有病率を算出した. 2群間の比較には Mann-Whitney U 検定とカイ 2 乗検定, 多重比較には ANOVA post hoc Bonferroni 検定を行った. 予測因子の検定には二項ロジスティック解析を行った. 統計学的検討には, Statistical Package for the Social Sciences 17.0 Software (SPSS17.0, 2008, Tokyo, Japan) を用いた.

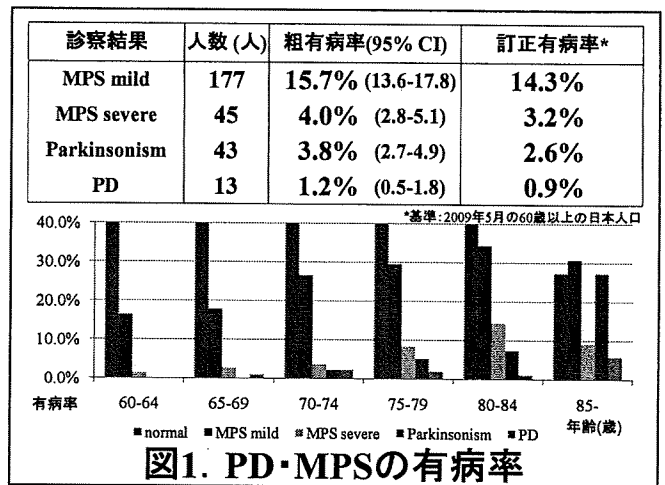
5) 倫理面への配慮

本研究を開始するにあたって鳥取大学医学部倫理委員会の承認を得た. また個人情報については匿名化して, 年齢, 性別, 疾患名のみでの検討とし, 個人を特定できるような項目は除外して検討を行った.

C. 研究結果

1) アンケートと神経診察の結果

アンケートは978名から返送があり, 回収率は86.6%であった. 同意が得られた672名(受診率59.5%)に神経診察を行った結果, MPS-mild は177名, MPS-severe は45名, PD は13名であった. 年代別では MPS-severe は60歳代前半から認められ, 70歳代後半から80歳代前半にピークが認められた. 高齢になるに従って Parkinsonism や PD の割合は増加した(図1).



2) 各疾患の背景因子

MPS-severe 群は, Normal 群に比較して有意に高齢で, 飲酒者が少なかった(表1). 喫煙者には有意差は認めないものの, MPS-severe 群や PD 群で少ない傾向があった. アクチグラフィーで計測した活動量は MPS-mild 群は Normal 群と有意差を認めなかった. MPS-severe 群では Normal 群, MPS-mild 群, さらに PD 群に比べても活動量が有意に低下していた.

表1. 背景因子の比較

	Normal	MPS mild	MPS severe	Parkinsonism	PD	p-value
人数(人)	390	177	45	43	13	
年齢(歳)	72.3±7.3	76.7±8.0	79.3±7.3**	84.6±6.4	79.8±7.8	0.000 ^P
男性:女性	163:227	71:103	14:31	13:29	4:9	0.413 ^{PP}
男性比	41.8%	40.8%	31.1%	31.0%	30.8%	
就学年数	10.2±2.3	9.5±2.1	9.2±1.8**	9.1±2.2	9.2±1.4	0.001 ^P
喫煙者割合	8.5%	3.0%	7.1%	0.0%	7.7%	0.072 ^{PP}
飲酒者割合	27.8%	19.3%	9.3%**	10.3%	0.0%	0.001 ^{PP}
AC(×10 ⁴)	31.2±11.2	31.6±12.0	20.8±10.9**	21.4±12.8	26.6±97.2	0.001 ^P
Avg(×10 ³)	3.5±1.1	3.6±1.4	2.4±1.1**	2.8±1.7	3.2±8.7	0.003 ^P
Max(×10 ³)	2.3±7.5	2.3±7.3	1.9±6.8**	1.7±5.7	2.4±8.5	0.030 ^P
tremor あり	0.0%	4.4%	7.5%**	2.5%	30.8%	0.000 ^{PP}

PD: Parkinson's disease, AC: 総活動量(/日), Avg: 平均活動量(/分), Max: 最大活動量(/日).
*p<0.05, **p<0.01; Normal vs MPS severe, p-value, ^PANOVA, ^{PP}χ² 2乗検定

3) 各疾患の自覚症状の比較

自覚的運動症状である Tanner の質問票得点, および非運動症状4つについての得点は, Normal に比較して MPS-mild 群, MPS-severe 群, Parkinsonism 群, PD 群の順に高くなっていった(表2). GDS 得点, および GDS が6点以上で『自覚的うつ状態』と判断される者の割合とも, Normal 群に比べて MPS-severe 群で有意に多く, MPS-severe と自覚的うつとの強い関連が示唆された. PSQI や RBDSQ といった睡眠の指標については明らかな関連は認めなかった.

表2. 自覚症状の比較

	Normal	MPS		Parkinsonism	PD	p
		mild	severe			
Tanner	1.1±1.8	2.2±2.3	3.3±2.9**	4.5±2.8	5.7±2.5	0.000 ^P
NMS	0.5±0.8	0.7±0.8	1.0±1.0**	1.1±1.2	1.5±1.2	0.000 ^P
便秘あり	22.1%	33.3%	38.5%**	40.5%	63.6%	0.000 ^{PP}
幻覚あり	6.8%	8.3%	17.1%**	29.7%	41.7%	0.000 ^{PP}
匂い障害あり	9.7%	18.5%	17.5%**	25.0%	8.3%	0.011 ^{PP}
立ちくらみあり	18.7%	21.0%	32.6%**	31.6%	50.0%	0.012 ^{PP}
GDS	3.0±2.9	4.1±3.3	4.8±3.9**	5.3±3.3	4.2±3.3	0.000 ^P
GDS≥6	26.1%	38.0%	39.5%**	61.0%	38.5%	0.000 ^{PP}
PSQI	3.8±2.4	3.6±2.2	3.5±2.3	3.3±1.9	3.4±2.3	0.659 ^P
PSQI≥6	23.5%	20.5%	18.6%	14.6%	23.1%	0.675 ^{PP}
RBDSQ	1.9±1.8	2.2±1.8	1.7±1.8	2.6±2.2	2.5±1.6	0.653 ^P
RBDSQ≥5	8.4%	12.9%	11.6%	19.5%	7.7%	0.157 ^{PP}
認知症あり	3.1%	3.5%	6.8%**	14.6%	53.8%	0.000 ^{PP}

NMS: 便秘, 幻覚, 匂い障害, 立ちくらみの合計点数. GDS: Geriatric Depression Scale, PSQI: Pittsburgh Sleep Quality Index, RBDSQ: REM sleep Behavior Disorder Screening Questionnaire. *p<0.05, **p<0.01; Normal vs MPS severe, p-value; *ANOVA, **χ² 2乗検定

4) MPS-severe のスクリーニング

多項ロジスティック解析で MPS-severe の予測因子を検討すると、非運動症状の幻覚、GDS、AC が独立した予測因子であった(表 3)。

表3. MPS severeの予測因子

因子	Spearman's rank correlation	Single Logistic regression analysis	Multiple logistic regression analysis	
		オッズ比(95% CI)	オッズ比(95% CI)	p-value
年齢	0.267**	1.129** (1.081-1.181)	-	-
就学年数	-0.153**	0.793* (0.665-0.946)	-	-
Tanner	0.264**	1.435** (1.274-1.616)	-	-
便秘	0.114**	2.203* (1.104-4.398)	-	-
幻覚	0.115*	2.816* (1.135-6.991)	28.5(1.67-485.7)	0.021
匂い	0.075	-	-	-
立ちくらみ	0.106*	2.099* (1.053-4.182)	-	-
MMSE	0.011	-	-	-
GDS	0.156**	1.172** (1.074-1.279)	1.4(1.1-1.8)	0.013
PSQI	-0.033	-	-	-
RBDSQ	-0.034	-	-	-
AC	-0.314**	0.694** (0.553-0.870)	0.5(0.3-0.8)	0.008

GDS: Geriatric Depression Scale, PSQI: Pittsburgh Sleep Quality Index, RBDSQ: REM sleep Behavior Disorder Screening Questionnaire. *p<0.05, **p<0.01.

この結果を基にスクリーニング方法としての有用性を検討すると、『GDS が 6 点以上または AC40 以下』の場合に感度 100%、特異度 75.7%と最も有用な指標となった。

D. 考察

1) PD の有病率

大規模な door-to-door 調査で、55 歳以上の一般住民における PD の粗有病率が 1.7% (95% CI 1.5-1.9) との報告(Zhang ZX, et al 2005)や、50 歳以上の集団における PD の有病率が 522/10 万人との報告 (Zhang L, et al. 2005) がある。本研究における PD 有病率は 1.2% (訂正有病率 0.9%) であり、欧米の報告に比べてやや少

ない傾向であった。

2) MPS の有病率

既報告では、Parkinsonian signs が、65-74 歳で 14.9%、75-84 歳で 29.5%、85 歳以上で 52.5%と、加齢によって増加すること(Bennett et al. 1996)や、MPS-mild は 40.1%、MPS severe は 27.1%と定義によって異なること(Louis et al. 2003)、さらに同じ対象集団でも MCI(Louis et al. 2005)や、認知症(Louis et al. 2006)の有無によって有病率が異なることが報告されている。本研究において、MPS の有病率は欧米からの報告に比較してやや少なく、本邦では高齢者の残存生活機能が高い可能性などが考えられた。

3) MPS の活動量

MPS-mild 群の活動量は正常加齢現象との区別が困難であり、MPS-severe 群では活動量の低下が特徴的であった。運動機能低下という側面からは、MPS-mild よりも MPS-severe が重要な徴候であると考へた。MPS-severe 群において、PD 群に比べても活動量が少なかったのは、MPS-severe 群は振戦を呈する例が少なく運動緩慢症例が多かったことや、PD 群は薬物治療により症状が改善していることなどが影響している可能性がある。

4) MPS-severe のスクリーニング

MPS-severe のスクリーニングは PD の早期発見につながる可能性がある。このスクリーニングには、振戦などの自覚できる運動症状だけでは不十分であり、幻覚、うつなどの非運動症状や、本人が自覚されない無動症状である活動量低下の客観的評価が重要である。

5) 今後の課題

MPS-severe が将来 PD や認知症に移行するかどうかは、今後の縦断研究の課題である。

E. 結論

地域における MPS-severe の訂正有病率は 3.2%で欧米からの報告よりもやや少なかった。MPS のスクリーニングには、自覚的うつの存在(GDS)とアクチグラフィが有用である可能性が示唆された。

F.健康危険情報 なし

G.研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表

第51回日本神経学会総会 (臨床神経 2009; 49: 1076)

第3回MDSJ

H.知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1.特許取得 なし

2.実用新案登録 なし

3.その他 なし

ドパミンアゴニストと心臓弁膜症

研究分担者 山本光利¹⁾
研究協力者 上杉忠久¹⁾，中山健夫²⁾

1) 香川県立中央病院神経内科，2) 京都大学大学院健康情報学科

研究要旨

麦角形ドパミンアゴニストによる心臓弁膜症による逆流は一日用量と累積用量に関連していることを明らかにした。我が国と EU で行われているペルゴリド、カベルゴリンの 1 日最高用量 3mg では心臓弁膜症を起こすリスクはまだ高いと考えられた。

A.研究目的

麦角型ドパミンアゴニストにおける心臓弁膜症が 2002 年に報告されて以来、その使用に際しての制限が行われてきた。我が国でも EMEA の規制に準じて 1 日最高投与量は、カベルゴリンでは 3mg までとされた。この規制の根拠は明らかにされていないため、カベルゴリン服用中のパーキンソン病患者で 1 日服薬量と心エコー検査での逆流頻度との関連を検索した。3mg の制限が適切であるか否かを検討した。

B.研究方法

当院通院中のパーキンソン病患者でドパミンアゴニストはカベルゴリンのみを服用中の 50 例、対照群患者はドパミンアゴニストの服薬歴のないパーキンソン病患者 85 例である。本調査は当院倫理委員会の承認を受けて実施した。カベルゴリンの規制最高投与量は 1 日 3mg であるがカットオフ値を 4, 3, 2mg 以下の 3 群に分けて逆流頻度を比較した。（倫理面への配慮）

院内 IRB での研究承認済み

C.研究結果

逆流頻度はカベルゴリンの 1 日投与量が多いほど増加し、OR 値も高くなった。

D.考察

1 日用	弁逆流患者数/患者数	弁逆流頻度	Odds Ratio (OR)	95%CI 値
4mg 以上	7/10	70%	10.89	2.52 - 47.03
3m	10/24	42%	3.33	1.25 - 8.92
2mg 以下	5/16	31%	2.12	0.64 - 7.01
対照群	15/85	17.6%		
〈2mg を上限値（カットオフ値）とした場合〉				
2mg>	17/34	50%	4.67	1.95 - 11.18
≥2mg	5/16	36%	2.12	0.64 - 7.01

E.結論

カベルゴリンの 1 日 3mg は今回の検討では弁逆流頻度と OR は高く安全性は低い。1 日投与量 2mg 以下では頻度は低く安全性はより高いといえる。

F.健康危険情報

麦角ドパミンアゴニストの 1 日最高用量 3mg の規制では心臓弁膜症のリスクはまだ高いと考えられる

G.研究発表

1. 論文発表

Antonini A, Tolosa E, Mizuno Y, Yamamoto M, Poewe W. A reassessment of risks and benefits of dopamine agonists in Parkinson's disease Lancet Neurology 2008; 8;929-937

Satake H, et al. Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease Nature Genetics 2009;41:1303-1307

2. 学会発表

Yamamoto M, et al cardiac MIBG scintigraphy in essential tremor. 13th International Congress of parkinson's disease and movement disorders. Paris June 7, 2009

H.知的所有権の取得状況（予定を含む）

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

パーキンソン病患者における四肢冷感の原因について

研究協力者 瀧山嘉久¹⁾

新藤和雅¹⁾，長坂高村¹⁾

1)山梨大学医学部神経内科学講座

研究要旨

パーキンソン病(PD)でみられる四肢末梢の冷感の原因病態を明らかにする為に、PD患者10例（年齢42～72歳）を対象とし、下肢の皮膚交感神経活動(SSNA)と皮膚血流量を記録した。皮膚血流減少反応直前のSSNAバーストの振幅、皮膚血流の減少量と基礎血流量に対する百分率、皮膚血流が基礎血流まで回復するまでの時間について定量化し、健常成人12人（年齢38～72歳）の値と比較した。結果は、SSNAバーストの振幅、皮膚血流の減少量及びその百分率では、両群に有意差はなかったが、皮膚血流が基礎血流まで回復する時間はPD患者で有意に延長する傾向が認められた($p < 0.05$)。PDでは血流減少反応には量的な異常はなく、その持続時間が延長することが、四肢末梢の冷感と関連があるものと考えられた。

A.研究目的

パーキンソン病(PD)では、様々な自律神経症状がみられ、四肢末梢の冷感を訴える患者は、日本では24%、欧米では40～52%の頻度で認められるとされている。しかし、その病態生理については不明の点が多い。これまで著者らは、その神経性機序を明らかにする為に、PD患者において微小神経電図法を用いて、血圧を調節する主な神経活動である筋交感神経活動、及び、体温調節に重要な神経活動である皮膚交感神経活動(SSNA)の記録を行ってきた。しかしながら、その結果は血管収縮性活動である2つの交感神経活動は健常者と比較して低下する傾向が認められ、末梢血管が拡張し四肢末梢の血流が増加する可能性を示唆するものであった。この臨床的な観察との矛盾を解決する為に、PD患者においてSSNAと皮膚血流減少反応との量的及び時間的な関連について詳細な分析を行うこととした。

B.研究方法

対象は、PD患者10例であり、年齢は42～72(58.7±9.5)歳、男性7例女性3例、修正Yahr重症度2.0～4.0(3.1±0.6)であった。罹病期間は6～20(11.3±5.

0)年であった。自律神経症状としては、全例に四肢冷感を認め、便秘(7例)、立ちくらみ(6例)、頻尿(4例)もみられた。また、全例でレボドパ合剤とドパミン受容体刺激薬を服用しており、以下の検査は通常の抗パーキンソン病薬は服用中止せずに行った。

方法は、室温24～26℃の検査室において、患者を仰臥位安静とし、これまで報告してきたものと同様の検査機器及び記録同定方法を用いて、微小神経電図法(MNG)により右側腓骨神経から皮膚交感神経活動(SSNA)を導出・記録した。MNGの測定方法及び基本的な手技については、日本ニューログラム学会倫理指針に従って行い、全ての対象者について文書にて同意を得て行った。皮膚血流量は、右足からレーザードップラー法によって記録し、MNGとともに同時記録した。プロトコールは、右足関節部で電気刺激(30～50mA、0.1msec)を30秒以上の間隔をおいて行い、反射性バースト活動と皮膚血流減少反応(SVR)が認められることを確認した後に、連続記録を行いながら20回以上の電気刺激を実施した。計測は、電気刺激を行った10～15ヶ所の記録から、SVR直前のSSNAバースト活動の