

D. 結 語

正常ボランティアによる詳細な脳脊髄液運動を、Phase Contrast法を用いた計測データより抽出解析を行った。1心拍内での脳脊髄液の運動を理解する事で、非侵襲的な頭蓋内環境計測法を用いた正常圧水頭症の病態解明に役立てたい。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

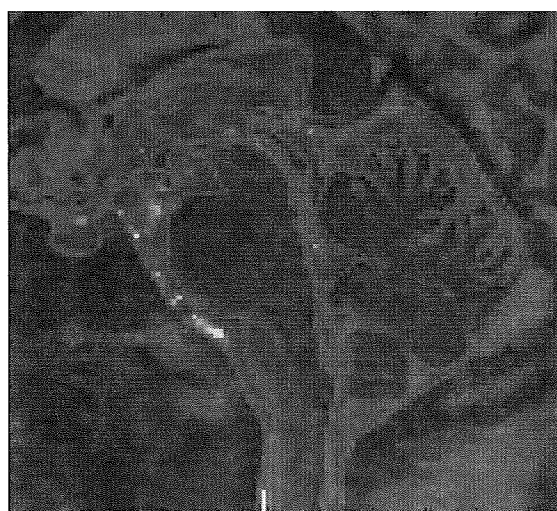
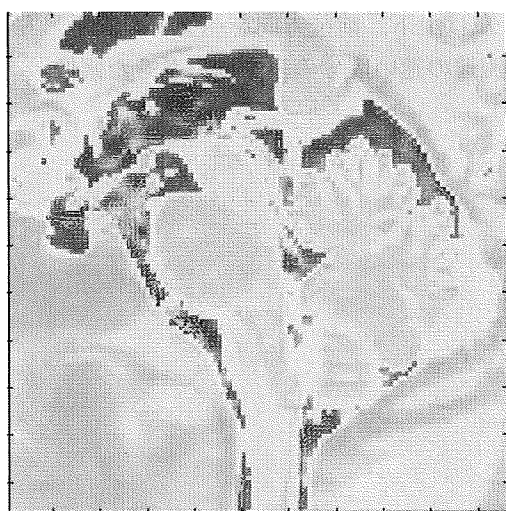
2. 学会発表

厚見秀樹, 松前光紀, 大屋 萌, 比留川英彦, 黒田 輝, 本田真俊 Phase Contrast 法を用いた頭蓋内脳脊髄液循環の可視化に関する検討. 第68回日本脳神経外科学会総会(2009.9.東京)

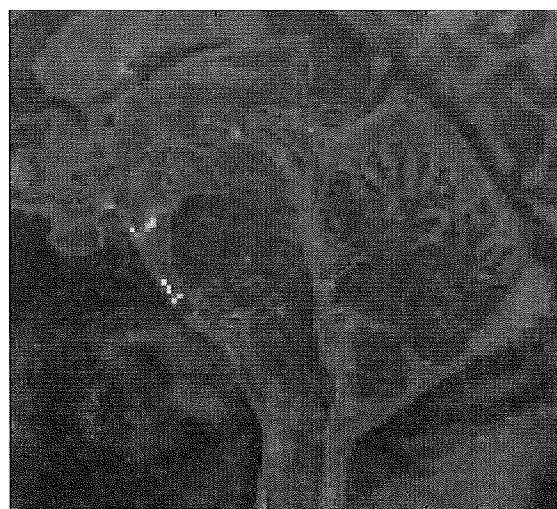
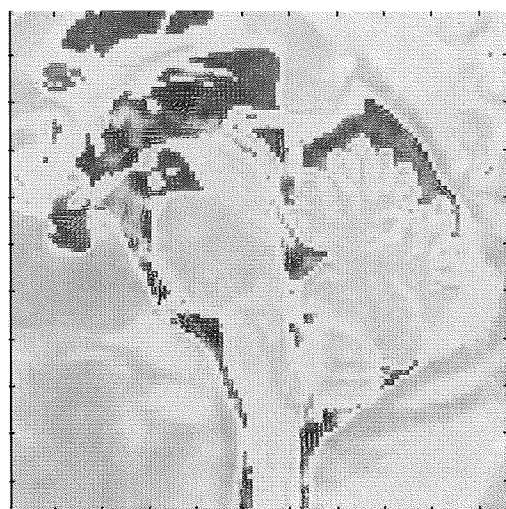
G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1)



2)



3)

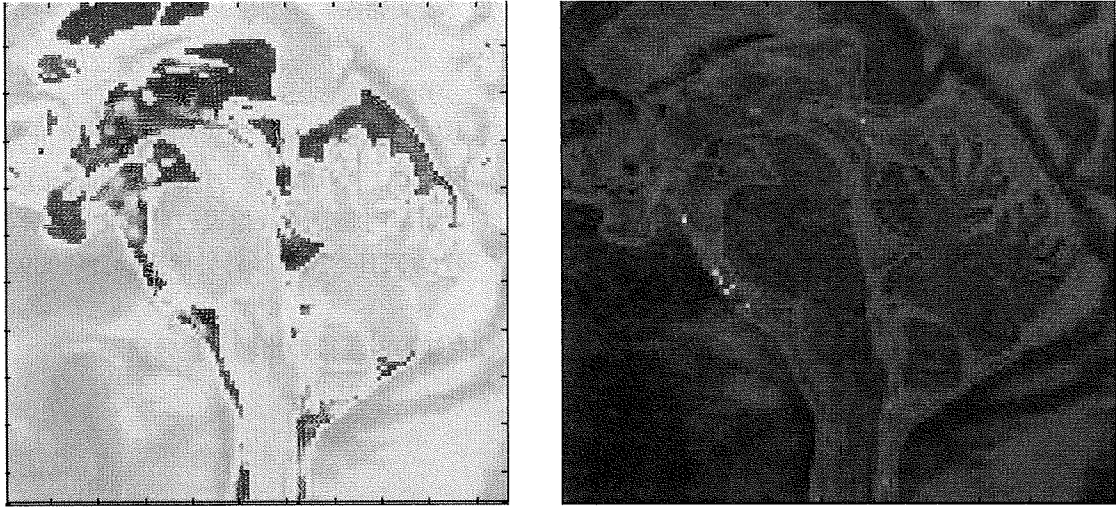


図1 正中部における1心拍内髄液運動経時的変化：左は上下，前後方向をベクトル表示，左右方向を色調変化表示として描出させた画像，右は流速の速い成分のみを抽出させた画像。

糖タンパク質の糖鎖をマーカーとする正常圧水頭症の診断法の開発

研究分担者 橋本康弘 福島県立医科大学

研究協力者 城谷圭朗, 奈良清光, 二川了次, 本多たかし, 阿部正文,

星 京香, 遠山ゆり子 福島県立医科大学

久野 敦, 平林 淳, 伊藤浩美, 成松 久 産業技術総合研究所

萩原良明, 木下憲明 株式会社 免疫生物研究所

新井 一, 宮嶋雅一 順天堂大学脳神経外科

湯浅龍彦 鎌ヶ谷総合病院

研究要旨 我々は、脈絡叢上皮細胞から分泌される糖タンパク質が「髄液型糖鎖」を持つことを見出した。この糖タンパク質は特発性正常圧水頭症で低値となることから、新たな診断マーカーとなることが示された。

A. 研究目的

髄液は中枢神経系に由来する成分を含んでおり、iNPHのバイオマーカー検索の優れた研究対象であると考えられる。本研究では、髄液中の糖タンパク質の糖鎖に着目して、新たなiNPHの診断マーカーの開発を試みた。

B. 研究方法

糖タンパク質は髄液よりカラムクロマトグラフィーにて精製した。糖鎖はレクチンアレイ法及び質量分析機で解析した。タンパク質部分は質量分析機で解析した。

ヒト材料を用いる実験では本人の同意書をとっている。また実験計画は研究所の倫理委員会による承認を受けている。

C. 研究結果

バイオマーカー候補分子のスクリーニング：

我々は、糖タンパク質のタンパク部分に対する抗体を使って糖鎖部分が異なる（と推測される）糖タンパクのスクリーニングを行った。その結果、候補分子としてGPX-1を髄液に見出した。髄液よりGPX-1を完全精製し、その糖鎖構造を決定したところ、髄液に特徴的なものであることが

判明した。このGPX-1をiNPH患者の髄液で測定したところ、コントロール群に比べて1/3に低下していた。すなわちGPX-1は新たなバイオマーカーになることが示された。

髄液型糖鎖は中枢神経系で産生されていると考えられたことから、この糖鎖構造に着目して髄液型糖タンパク質をエンリッチした。これらのコアタンパク質を質量分析記にて網羅的に解析した。複数のマーカー候補についてiNPHでの測定を行ったところ、新たにGPYタンパク質がiNPHマーカーとなることが明らかとなった。

D. 考察

従来は疾患マーカーの検索手段としてプロテオミクスが盛んに行われてきた。これによって数多くのマーカーが見出されたが、全世界で激しい研究競争が行われているため、この手法で見出されるマーカーはほぼ限界点に達したと考えられる。一方、我々は殆どのタンパク質が糖鎖修飾を受けていることに着目して、糖鎖部分も含めて解析を行った。髄液の糖タンパク質糖鎖の中には血清には殆ど見られない特徴的なものがあり、この糖鎖を持つ一群の糖タンパク質を網羅的に解析することにより、新たな中枢神経疾患マーカーを見出

すことが出来た。iNPHに関しては、現時点で2種類のマーカーが得られたことになる。特定の疾患に対して複数のマーカーをモニターすることにより、感度と特異性を高めることが可能になる。

E. 結論

本研究より、髄液の糖タンパク質糖鎖の中には血清には見られない特徴的なものがあり、iNPHの診断マーカー候補になりうることが示された（具体例：GPX-1及びGPY）。

G. 研究発表

1. Kitazume, Hashimoto, et al. “ α 2, 6-Sialic acid on Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule (PECAM) regulates its homophilic interactions and downstream antiapoptotic signaling” , *J. Biol. Chem.*, in press
2. Mitsuki, Hashimoto, et al. “Siglec-7 mediates non-apoptotic cell death independently of its immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs in monocytic cell line U937” ,

Glycobiology, in press

3. Takashima, Hashimoto, et al. “Analysis of CMP-sialic acid transporter-like proteins in plants” , *Phytochemistry*, 2009, 70, 1973-1981
4. Kitazume, Hashimoto, et al. “Molecular insights into β -galactoside α 2, 6-sialyltransferase secretion in vivo” , *Glycobiology*, 2009, 19 (5) : 479-487
5. Futakawa, Hashimoto, et al. “Development of sandwich enzyme-linked immunosorbent assay systems for plasma β -galactoside α 2, 6-sialyltransferase, a possible hepatic disease biomarker” , *Analytica Chimica Acta*, 2009, 631, 116-120
6. 橋本康弘, 北爪しのぶ, “アルツハイマー病の原因酵素が糖鎖を変えていた” in press

H. 知的財産権の出願（特許）

- ① 特許番号：4385149 「血清糖蛋白質をバイオマーカーとするアルツハイマー病の診断薬」

Leucine-rich $\alpha 2$ glycoproteinの脳局在および役割の解明

研究代表者 新井 一 順天堂大学脳神経外科学講座

研究協力者 宮嶋雅一, 中島 円 順天堂大学脳神経外科学講座

研究要旨 特発性正常圧水頭症患者の髄液に特異的な濃度上昇が認められるleucine-rich $\alpha 2$ glycoproteinの脳内局在をヒト剖検脳, アストロサイト培養細胞にて検討した. 抗ヒトLRG抗体, GFAP, CD31などの免疫染色および培養細胞のRT-PCRの結果より, LRGは皮質深部の一部の星細胞および毛細血管周囲に突起を伸展させるように発現が認められた.

またその発現は加齢とともに増加した.

A. 研究目的

我々は髄液のプロテオーム解析により, 特発性正常圧水頭症 (iNPH) において髄液中leucine-rich $\alpha 2$ glycoprotein (LRG) 濃度が特異的に上昇することを論文報告してきた¹⁾. このことから髄液中のLRGは, iNPHの病態生理と密接な関係があると考えられるが, 脳内におけるLRGの機能に関してはいまだ不明であり, 脳内局在も明らかにされていない. 本研究ではLRGの脳局在, およびその役割を明らかにし, iNPHの病態生理解明の一助としたい.

B. 研究方法

I. 加齢による脳内LRGの発現量の変化を生後4週, 8週, 24週のHTxラット脳にてreverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) 法により解析する.

II-1. 脳内のLRG発現部位を同定するため, ヒト剖検例を用いて脳の各部位の組織切片を作成し, 抗ヒトLRG抗体とmyelin basic protein (MBP) を染色し比較検討をおこなう.

II-2. human astrocyte (Scien Cell Catalog Number: 1800) において, GFAPとLRGの染色の比較検討をおこない, 星細胞におけるLRGの発現を確認する. さらにRT-PCRによるhuman astrocyteのLRGの遺伝子発現を確認する.

II-3. 年齢別ヒト剖検脳に対し, LRGと血管内

皮に対する抗体CD31との二重染色を施行し, LRGの発現部位, 加齢による発現量の違いについて検討する.

C. 研究結果

I. RT-PCRの結果, ラット脳においてLRGは, 生後4週, 8週, 24週と加齢とともに遺伝子発現が徐々に増加した. LRGは加齢とともに脳内で発現が増加する蛋白であると考えられた.

II-1. 高齢者検体脳 (73歳男性, 病名不詳) に対するMBP染色, LRG染色の比較検討の結果, LRGの発現部位は, 特に大脳皮質, 皮質深部に多く認められた.

II-2. 同検体脳にLRG染色, GFAP染色をそれぞれ行い検討したところ, LRGが発現する細胞は星細胞と同形態であった. LRGが星細胞に発現されているかを検討するため, Human Astrocyte culture においてLRG抗体の染色をおこなったところ, 星細胞にはLRG発現が認められた. RT-PCR法においても星細胞にLRGの遺伝子発現が確認された.

II-3. ヒト剖検脳組織成人例 (41歳男性, 多発性硬化症) に対するCD31とLRGの二重染色では, LRGは一部の星細胞に発現が見られる他, 毛細血管周囲 (pericapillary) に発現していた. 脳組織高齢者例 (73歳男性, パーキンソン病) では, 脳内に発現するLRGが成人例と比較し顕著に増加がみられ, LRGの発現する星細胞数および星細胞の突

起を伸ばす毛細血管のみならず，細胞外マトリックスにも顕著な発現増加が認められた。

D. 考 察

LRGにバインディングする物質としてコラーゲンやフィブロネクチンなどがあり，またコラーゲンを介してTGF- β とバインディングすると報告されている。一方，大浜らによるiNPHの病理学的所見ではpericapillary sclerosisが認められるとの報告がある。本研究の結果から，LRGは大脳皮質，皮質深部の星細胞，星細胞から突起が伸展した毛細血管に多くの発現が認められていた。これらの事実からLRGがコラーゲンやフィブロネクチンなどとバインディングし，毛細血管の動脈硬化性変化に関与している可能性が示唆される。Pericapillary sclerosisが髄液吸収障害の原因の一つとして考慮されるならば，本研究の結果よりiNPHではLRGの発現増加によって，大脳皮質での毛細血管からの髄液吸収が阻害されている可能性があるのではと考えられる。

E. 結 論

LRGの脳内局在部位は，大脳皮質深部に発現が認められた。そのなかでもLRGは，星細胞また星細胞から突起を伸ばす血管周囲にも多く発現していた。LRGは脳内で加齢とともに発現が増加し，高齢者になると細胞外間質まで発現が認められた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nakajima M, Miyajima M, Bando K, Arai H :
Lumboperitoneal shunting using computed tomography and fluoroscopy in conscious patients. J Neurosurg 111 : 618-622, 2009

中島 円, 宮嶋雅一, 野中康臣, 荻野郁子, 渡邊麻季, 新井 一, 萩原良明, 小林恭子, 田中絵美 : 特発性正常圧水頭症の髄液補助診断法 ; Leucine-rich α -2-glycoprotein (LRG) の有用性について. Geriatric Neurosurgery Vol.21 : 99-105

2. 学会発表

Nakajima M, Miyajima M, Ogino I, Arai H :
Leucine-rich-alpha-2-glycoprotein is a marker for idiopathic normal pressure hydrocephalus. Hydrocephalus 2009, Baltimore, Maryland, USA, Sep. 15-19, 2009

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

脳脊髄液流の障害による神経再生機構の変化の解析

研究分担者 澤本和延 名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野 教授

研究要旨 側脳室内の脳脊髄液の流動は、側脳室外側壁の脳室下帯で産生されるニューロンの移動方向の制御に関与している。我々は、脳梗塞後の神経再生過程における脳脊髄液の役割について、脳脊髄液内に分泌されているガイダンス分子Slitに着目し解析を行った。Slitの受容体であるRoboは、非侵襲時の線条体においては発現が見られないが、脳梗塞後に出現する反応性アストロサイトで強く発現していた。またSlit遺伝子のノックアウトマウスでは、再生過程に見られる脳室下帯から線条体に向けた新生ニューロンの移動が減少し、アストロサイトとの相互関係にも異常が認められた。これらの結果から、正常圧水頭症の病態における脳脊髄液流の障害は、脳室下帯神経幹細胞からの神経再生メカニズムにも影響を及ぼす可能性が示唆された。

A. 研究目的

側脳室外側壁に存在する脳室下帯は、成体においてもニューロンを産生し続け、脳損傷後の修復・再生を担う特殊な領域である。側脳室壁の繊毛の協調運動が作り出す脳脊髄液の流動は、側脳室内に分泌される様々な蛋白質の脳内分布に影響を与える。我々は、正常脳において、この流動が新生ニューロンの前方への移動方向の決定に関与していることを見出したが、神経再生過程における役割は不明である。そこで、線条体梗塞・側脳室拡大を惹起する中大脳動脈閉塞（MCAO）モデルを用い、脳脊髄液内に分泌されるSlit蛋白質の神経再生過程における機能を解析し、脳梗塞後の再生・修復過程と脳脊髄液流の役割、および正常圧水頭症の病態との関係を検討した。

B. 研究方法

前年度の研究によって、脳脊髄液内に分泌される蛋白質Slitをコードする遺伝子の欠損マウス（Slit KO）では、線条体梗塞・側脳室拡大を惹起する中大脳動脈閉塞（MCAO）術後に障害部に移動する新生ニューロンが減少することが明らかになった。そこで本年度は、MCAO18日後の脳固定切片を作製し、Slitの受容体であるRoboの発現パターンおよび、移動する新生ニューロンと周囲組織の相互作用におけるRoboシグナルの役割を

解析した。本研究の全ての動物実験は、名古屋市立大学大学院医学研究科動物実験委員会の承認のもと、日本実験動物学会の「動物実験に関する指針」に則して行った。

C. 研究結果

MCAO18日後の障害線条体には、移動中の新生ニューロンの周囲に反応性アストロサイトと新生血管が多数分布していた。免疫染色法により、反応性アストロサイトにおいてRobo2及びRobo3の強いシグナルが検出された。同個体の健常側線条体や正常個体では、このような発現は認められなかった。またRobo1については、MCAO後の同部位では発現は確認されなかった。

前年度に、Slit KOマウスではMCAO後の線条体を移動する新生ニューロンが異常な凝集塊を形成することを報告したが、これに近接する反応性アストロサイトの形態・新生ニューロンとの接触にも異常が見られた。

D. 考察

Slitは、脳の発生過程においてニューロンの移動や軸索伸長の方向を制御するガイダンス分子として知られるが、成体においても脈絡叢で産生されて脳脊髄液中に分泌されている。これらの役割は不明であるが、我々は、正常な成体脳において新

生ニューロンが産生される脳室下帯とその移動経路を取り囲むアストロサイトに受容体であるRoboが存在することを見いだした。本研究により、傷害後活性化されて再生過程に関与する反応性アストロサイトにおいてRobo2とRobo3の発現が亢進することが明らかになり、脳脊髄液中の蛋白質がニューロンの再生過程に直接的に関与している可能性が示唆された。一方、発生過程に発現していることが知られているRobo1については、脳梗塞後の反応性アストロサイトには発現が見られなかった。本研究で使用している脳梗塞モデルでは、線条体および隣接する大脳皮質に梗塞巣が形成され、同側の側脳室が拡大する。その結果、脳室の容積と形態が大きく変化し、脳脊髄液の流動も多大な影響を受けるため、Slitの分布にも変化が生じていることが推測される。正常圧水頭症に伴う脳脊髄液流の障害においても同様に、脳室下帯神経幹細胞からの神経再生メカニズムが抑制される可能性が考えられる。

E. 結論

脳梗塞モデルの神経再生過程において、側脳室周囲の神経幹細胞により産生された新生ニューロンの移動過程に、脳脊髄液中に分泌されるSlit蛋白質と、アストロサイトに存在する受容体Roboの相互作用が関与している可能性が示唆された。この詳細なメカニズムについて、今後検討を行う。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Kojima, T., Hirota, Y., Ema M., Takahashi, S., Miyoshi, I., Okano, H., Sawamoto, K. Subventricular zone-derived neural progenitor cells migrate along a blood vessel scaffold toward the post-stroke striatum. *Stem Cells* in press
- Oki, K., Kaneko, N., Kanki, H., Imai, T., Suzuki, N., Sawamoto, K., Okano, H. Musashi1 as a marker of reactive astrocytes after transient focal brain ischemia. *Neurosci Res* in press
- Tamase A., Muraguchi, T., Naka, K., Tanaka, S., Kinoshita, M., Hoshii, T., Ohmura, M., Shugo, H., Ooshio, T., Nakada, M., Sawamoto, K., Onodera, M., Matsumoto, K., Oshima, M., Asano, M., Saya, H., Okano, H., Suda, T.,

Hamada, J., Hirao, A. Identification of tumor-initiating cells in a highly aggressive brain tumor using promoter activity of nucleostemin. *Proc Natl Acad Sci USA* 105 (46) : 18012-18017, 2009.

Huang, S., Hirota, Y., Sawamoto K. Various facets of vertebrate cilia : motility, signaling, and role in adult neurogenesis. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* .85 (8) : 324-36, 2009.

Kaneko, N., Sawamoto, K. Adult neurogenesis and its alteration under pathological conditions. *Neurosci Res* 63 (3) : 155-64, 2009.

Enomoto, A., Asai, N., Namba, T., Wang, Y., Kato, T., Tanaka, M. Tatsumi, H., Taya, S., Tsuboi, D., Kuroda, K., Kaneko, N., Sawamoto, K., Miyamoto, R., Jijiwa, M., Murakumo, Y., Sokabe, M., Seki, T., Kaibuchi, K., Takahashi, M. Roles of Disrupted-In-Schizophrenia-Interacting Protein Girdin in Postnatal Development of the Dentate Gyrus. *Neuron* 63 (6) : 774-787, 2009.

Suzuki, T., Miyamoto, H., Nakahari, T., Inoue, I., Suemoto, T., Jiang, b., Hirota, Y., Itohara, S., Saido, T.C., Tsumoto, T., Sawamoto, K., Hensch, T.K., Delgado-Escueta, A.V., Yamakawa, K. Efhc1 deficiency causes spontaneous myoclonus and increased seizure susceptibility. *Hum Mol Genet* 18 (6) : 1099-1109, 2009.

金子奈穂子, 澤本和延. 海馬ニューロンの新生と精神神経疾患. *総合リハビリテーション* 38 (2) (印刷中)

匹田貴夫, 澤本和延. 成体の脳組織における神経幹細胞と再生医療. *医学のあゆみ* 231 (11) : 1112-1116, 2009.

黄 詩恵, 廣田ゆき, 澤本和延. 神経組織における繊毛の役割. *細胞工学* 28 (10) : 1016-1020, 2009.

澤本和延. 脳に内在する神経再生機構. *臨床神経学* 49 (11) : 830-833, 2009.

小島拓郎, 廣田ゆき, 澤本和延. 成体脳におけるニューロン新生. *慶應医学* 85 (2) : 169-177, 2009.

2. 学会発表

Sawamoto, K. Neuronal migration in the adult brain 中国科学院生物物理学研究所 (北京) .2009.

澤本和延. 成体脳のニューロン新生 : 脳に内在す

る神経再生機構. 第14回静岡健康・長寿学術
フォーラム. 2009.

Sawamoto, K. Adult neurogenesis : a conserved
mechanism for brain maintenance and repair.
Kumamoto University G-COE Summer Retreat.
2009.

澤本和延. 脳室上衣絨毛の発生と機能. 第61回日
本細胞生物学会大会 ミニシンポジウム「絨
毛研究の新展開」. 2009.

澤本和延. 脳に内在する神経再生機構. 第50回日
本神経学会総会シンポジウム「中枢神経系の
再生・次なる半世紀」. 2009.

澤本和延. 虚血性脳疾患の再生医療を目指した幹
細胞生物学. 第8回再生医療学会 シンポジ
ウム1「幹細胞生物学」. 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

正常圧水頭症の疫学・病態と治療に関する研究

研究分担者 橋本卓雄 聖マリアンナ医科大学脳神経外科学教室

研究要旨 「自然発症II型糖尿病ラット40週齢における脳細小動脈レベルにおける動脈硬化性変化の病理学的検討」－特発性正常圧水頭症の危険因子“糖尿病”による脳細動脈病変をととした病因の検討と今後の計画－

A. 研究目的

iNPHの病因として考えられている、脳組織の細動脈病変が起こす病態生理の変化がどのようなものであるかを基礎的に検討する。特に脳のコンプライアンスへの影響を評価する。

B. 研究方法

脳の「細動脈硬化病変」がどのような状況で発生し、かつどのような生理学的変化を呈するかを検討するため、iNPHの危険因子であり、全身の細動脈病変を呈する糖尿病と加齢に伴う組織変化を、自然発症II型糖尿病ラット（SDTラット）を採用し、40週齢の段階での糖尿病性腎症を評価の上、脳の細動脈での硬化性変化について、光頭的、電頭的病理組織学的評価を加える方針とした。また、同週齢における頭部MRIにつき評価を行った。

（倫理面への配慮）

動物実験の適正な実施に向けたガイドラインに基づき、動物愛護上の配慮を行っている。

C. 研究結果

40週齢の自然発症II型糖尿病ラット群は全個体糖尿病を発症しており、尿中微量アルブミンはコントロール群に対し有意に増加していたが、病理学的変化は腎臓においても軽度であり、光頭上脳組織変化は認められなかった。また頭部MRI上も明らかな変化を示さなかった。

D. 考察

40週齢のII型糖尿病ラットは、顕著な病理学的

変化を呈しておらず、細動脈硬化モデルとして不十分であり、糖尿病性腎症が進行すると目される60週齢以降に組織学変化が起こってくる可能性が高いと目される。現在プロセスしている電顕組織学的評価を早期に行う必要がある。

E. 結論

40週齢II型糖尿病ラットは細動脈硬化を評価する週齢として不十分であった。今後60週齢以降のラットの病理組織学的検討ならびにMRI検査を評価し、脳コンプライアンス評価の実験につなげていく予定である。

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
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

（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

特発性正常圧水頭症の症候形成：MRIを用いた研究

研究分担者 森 悦朗 東北大学医学系研究科高次機能障害学分野

研究要旨 MRI体積計測法と拡散テンソル画像を用いて特発性正常圧水頭症の症候と関連する因子を検討し、症候発現の機序を探った。大脳半球とテント下脳の体積は術後に変化しなかったが、脳室は縮小し、腹側のクモ膜下腔の体積は減少し、背側のクモ膜下腔の体積は増加した。臨床症状の改善は脳室体積の減少と有意な相関していたが、脳実質の体積変化とは相関していなかった。一方、拡散テンソル画像では、INPH患者群ではAD、PD患者群と比較し、テント上白質の平均FA値が有意に低く、平均MD値が有意に高かった。FABの総スコアは、両側脳室前角周囲の白質、脳梁膝部、上頭頂小葉の皮質下白質のFA値と有意に相関し、TUGの歩数は左補足運動野の皮質下白質、左内包前脚のFA値と有意に相関していた。INPHの症候は、白質の変化によってもたらされている可能性が示唆された。

A. 研究目的

iNPHの症候、すなわち歩行障害、認知障害、排尿障害がどのような機序で出現するかについては、脳室拡大による神経組織の圧迫・変形、脳循環障害、白質障害などが考えられているが、未だ確立されていない。iNPHの症候形成の機序を明らかにするために、今回我々は、iNPHにおける症候を評価し、研究1) 脳および脳脊髄液体積を3次元MRI (Spoiled gradient echo : SPGR) を用いて計測、研究2) 大脳白質の障害を拡散テンソル画像 (DTI) を用いて評価し、それぞれの指標と症候の重症度との関連について検討した。

B. 研究方法

研究1.

東北大学病院高次機能障害リハビリテーション科に入院後、髄液シャント術が施行され、日本正常圧水頭症研究会による診療ガイドラインの診断基準のDefinite iNPHに合致する患者21例 (76.2 ± 3.6歳；教育歴9.7 ± 2.9年；女性13名、男性8名；VPシャント15名、LPシャント6名)、を対象として、左大脳半球、脳幹・小脳、脳室、シルビウス裂より背側および腹側のくも膜下腔の体積を、術前および術後1年後に3次元SPGR上で計測した。画像解析ソフトはImageJを用い、各部位の抽出は用

手的トレース法と信号強度を用いた分節法の併用で行った。臨床症状の評価にはiNPH Grading Scale (iNPHGS)、Modified Rankin Scale (mRS)、Timed Up and Go test (TUG) とMini-Mental State Examination (MMSE) を含む認知機能検査を用いた。

研究2.

東北大学病院高次機能障害リハビリテーション科に入院後、髄液シャント術が施行され、日本正常圧水頭症研究会による診療ガイドラインの診断基準のDefinite iNPHに合致する患者20例のINPH患者 (75.7 ± 4.7歳、女性8名、男性12名、教育歴11.1 ± 4.1年、MMSE21.9 ± 5.2)、および対照として年齢、性、教育年数を合致させたNINDS-ADRDA probable Alzheimer Disease (AD) の診断基準に合致する患者20例 (75.0 ± 4.6歳、女性9名、男性11名、教育歴10.8 ± 2.8年、MMSE22.1 ± 4.2)、UK Parkinson's Disease Society Brain Bankの診断基準に合致したParkinson病 (PD) 患者20例 (73.4 ± 2.0歳、女性11名、男性9名、教育歴11.8 ± 2.7年、MMSE27.4 ± 2.4) が対象である。INPH患者群とAD患者群ではMMSEの成績に有意差がない。全例に拡散テンソル画像とSPGRを撮像し (INPH患者は術前に撮像)、前者から水分子の自由拡散の程度を表すMean diffusivity (MD) と拡散

異方性の指標であるFractional anisotropy (FA), 後者から脳室サイズを求め、群間で比較した。またiNPH患者群ではiNPHGS (the iNPH Grading Scale), Frontal Assessment Battery (FAB), TUGなどを用いて臨床症候を評価し、MD値とFA値、脳室サイズ、臨床症候の重症度との関係について検討した。

C. 研究結果

研究1.

術前後で臨床症候は有意に改善した(表1)。表2に各部位の体積の変化を示す。大脳半球とテント下脳の体積は術後有意な変化はみられなかった($p=0.231, 0.586$)。脳室とシルビウス裂以下のクモ膜下腔の体積は有意に減少し($p=0.001, 0.024$)、変化率は各々-26.1%と-4.5%であった。シルビウス裂より上位のクモ膜下腔の体積は有意に増加し($p<0.001$)、変化率は43.5%であった。臨床症状の改善は脳室体積の減少と有意な相関していたが脳実質の体積変化とは相関していなかった(表3)。

表 1. Results of clinical assessment at baseline and 1 year after surgery

		baseline		post-op		p value
		mean	SD	mean	SD	
TUG test	time (sec)	20.8	11.0	14.3	6.8	0.001
	steps	27.5	12.9	22.3	8.6	0.030
MMSE	(/30)	20.5	5.3	23.0	6.2	0.022
FAB	(/18)	8.9	2.9	11.5	3.7	0.002
iNPHGS	gait (/4)	2.5	0.6	1.7	0.9	< 0.001
	cognition (/4)	2.6	0.8	1.8	1.0	< 0.001
	urination (/4)	1.9	1.1	0.8	0.9	< 0.001
	total (/12)	6.9	1.9	4.1	2.2	< 0.001
mRS	(/6)	3.0	0.9	2.0	0.9	< 0.001
modified NPI	(/144)	9.1	6.6	4.3	3.9	< 0.001

post-op, postoperative results; SD, standard deviation; TUG test, Timed Up and Go test; MMSE, Mini-Mental State Examination; iNPHGS, iNPH Grading Scale; FAB, Frontal Assessment Battery; mRS, modified Rankin Scale; NPI, Neuropsychiatric Inventory.

表 2 Volumetric results for the patients (n=21)

		baseline		post-op		p value	change rate (%)	
		mean	SD	mean	SD		mean	SD
cerebral hemisphere		446.3	54.4	443.8	57.0	0.231	-0.6	2.2
infratentorial brain		129.1	10.5	133.2	13.4	0.586	1.3	3.5
ventricles		128.6	21.8	93.9	19.9	0.001	-26.1	19.7
subarachnoid CSF	suprasylvian	33.5	11.8	44.8	9.5	<0.001	43.5	38.8
	infrasyllian	103.1	18.2	97.5	13.6	0.024	-4.5	9.7

unit: cm³

SD, standard deviation; post-op, postoperative results; CSF, cerebrospinal fluid.

表 3. Correlation matrix contrasting volumetric change rates against clinical changes and change rate

	TUG		MMSE	FAB	iNPHGS			mRS		
	time	steps			gait	cognition	urination	total		
cerebral hemisphere	-0.04	-0.12	-0.10	0.24	-0.02	-0.20	0.25	0.02	-0.09	
infratentorial brain	-0.12	0.00	-0.11	0.13	-0.03	0.12	0.08	0.01	-0.05	
Ventricles	0.45*	0.47	-0.49*	-0.68*	0.48*	0.35	0.32	0.50*	0.46*	
subarachnoid CSF	suprasylvian	0.03	0.25	0.02	0.10	-0.16	0.20	-0.13	-0.05	0.02
	infrasyllian	-0.03	-0.15	-0.04	0.31	0.01	0.16	-0.15	0.02	-0.18

*p<0.05

研究2.

INPH患者群ではAD, PD患者群と比較し、テント上白質の平均FA値が有意に低く(図1)、平均MD値が有意に高かった(図2)。またテント上白質の平均FA値は、FABの総スコア、TUGにおける歩数と有意に相関した。Voxel-based DTI analysisの結果、INPH患者群ではAD, PD患者群と比較して、脳室周囲白質のFAが有意に低く(図3)、MD値が有意に高かった(図4)。またINPH患者群におけるFABの総スコアは、両側脳室前角周囲の白質、脳梁膝部、上頭頂小葉の皮質下白質のFA値と有意に相関し、TUGの歩数は左補足運動野の皮質下白質、左内包前脚のFA値と有意に相関した(図5)。しかしINPH患者群において、脳室サイズは大脳白質のFA値、MD値、臨床徴候データと有意な相関が認められなかった。

図 2. Hemispheric FA in patients with INPH, AD, and IPD.

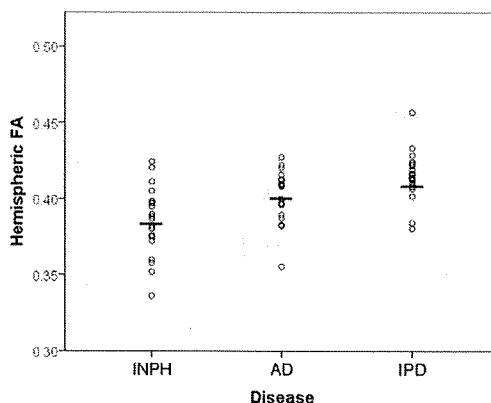


図 1. Hemispheric MD in patients with INPH, AD, and IPD.

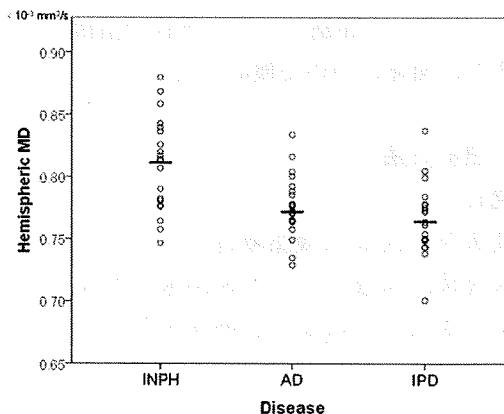
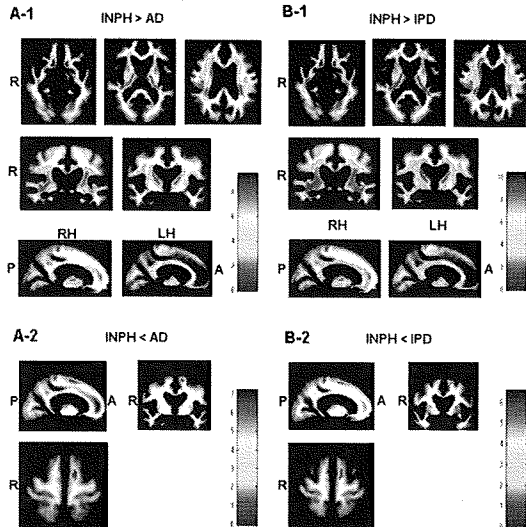


図3. White matter regions with significantly higher MD in the INPH groups than in the AD group (A-1) and with significantly lower MD in the INPH group than in the AD group (A-2).



White matter regions with significantly higher MD in the INPH groups than in the IPD group (B-1) and lower MD than in the IPD group (B-2). Color bars indicate t values.

図4. White matter regions with significantly lower FA in the INPH group than in the AD group (A) and than in the IPD group (B).

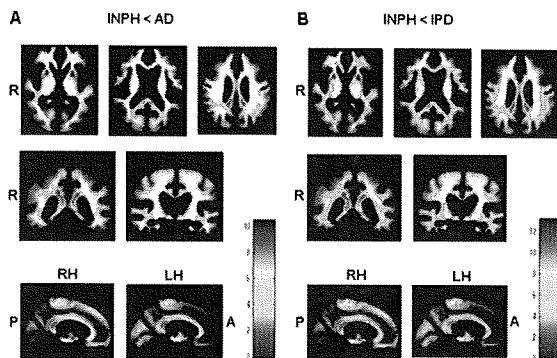
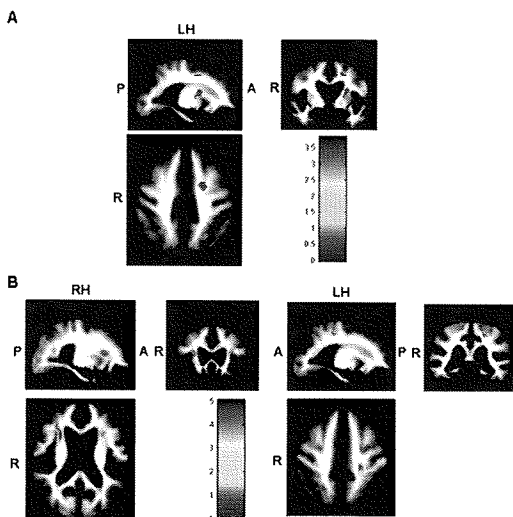


図5. White matter regions with FA were significantly negatively correlated with TUG number of steps (A) and significantly positively correlated with FAB total scores (B).



研究1は、術前後で脳体積が変化しなかったことから髄液貯留によって脳実質を圧迫されていたと

いう仮説を支持していない。むしろも膜下腔の形態変化から大脳半球が頭蓋に向けて脳室内の髄液より圧を受けて押し広げられることにより症状が発展し、それが改善されることで症候も改善することを示唆している。

一方、DTIの結果はINPHにおける大脳白質の広範な障害を示唆している。INPHの認知機能、運動機能障害は大脳白質の障害と関連している。INPHにおいて、脳室拡大は大脳白質の障害、臨床徴候と明らかな関連が認められなかった。

E. 結論

INPHの症候は、白質の変化によってもたらされている可能性が示唆された。しかし白質変化をもたらす機序については未だ不明である。白質変化の意義については今後術前後の縦断的研究で検討する必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

森 悦朗. 特発性正常圧水頭症の臨床. 臨床放射線 54 : 713-721, 2009

Iseki C, Kawanami T, Nagasawa H, Wada M, Koyama S, Kikuchi K, Arawaka S, Kurita K, Daimon M, Mori E, Kato T Asymptomatic ventriculomegaly with features of idiopathic normal pressure hydrocephalus on MRI (AVIM) in the elderly : A prospective study in a Japanese population. J Neurol Sci 277 : 54-57, 2009

2. 学会発表

1) Saito M, Nishio Y, Kanno S, Uchiyama M, Hayashi A, Takagi M, Kikuchi H, Iizuka O, Yamasaki H, Shimomura T, Mori E. Cognitive profile of idiopathic normal pressure hydrocephalus. European Journal of Neurology. 2009. 16 Suppl 3, 361.

2) Saito M, Nishio Y, Kanno S, Takagi M, Kikuchi H, Hiraoka K, Iizuka O, Yamasaki H, Shimomura T, Mori E. Neuropsychiatric profiles of idiopathic normal pressure hydrocephalus. Annals of Neurology. 2009. 66 Suppl 13, S49.

3) Mori E, Hashimoto M, Ishikawa M, SINPHONI group. Risk factors for white matter changes and impacts of them on clinical presentation and outcome in idiopathic normal pressure

hydrocephalus. Hydrocephalus 2009, Baltimore, MA, USA, Sep 16-19, 2009,
Kanno S, Abe N, Saito M, Hayashi A, Uchiyama M, Hanaki R, Kikuchi H, Takagi M, Hiraoka K, Yamasaki H, Iizuka O, Nishio Y, Hirayama K,

Mori E, The utility of the count-backward test in evaluating attentional/executive dysfunction in iNPH. Hydrocephalus 2009, Baltimore, MA, USA, Sep 16-19, 2009,

特発性正常圧水頭症の拡散テンソルtractographyを用いた視覚的・定量的解析

研究分担者 湯浅龍彦 鎌ヶ谷総合病院千葉神経難病医療センター・センター長

研究協力者 服部高明, 澤浦宏明, 水澤英洋, 青木茂樹

A. 研究目的

特発性正常圧水頭症患者（iNPH）の皮質脊髄路を拡散テンソルにて評価する。

B. 研究方法

iNPHの患者10人，健常人12人に対して，1.5T MRI（Signa EXCITE，GE）を用いて拡散テンソル解析を行った。13軸のmotion probing gradients（MPG）を印加し，EPI法（TR：1400ms，TE：90.3ms，b値：1000sec/mm²）にて拡散テンソルを撮像した。東京大学放射線科において開発されたVOLUME-ONEとdTVIIを使用して，iNPH患者，健常者の皮質脊髄路のTractographyを描出した。描出された皮質脊髄路の形態的特徴を2群において視覚的に比較した。また，描出された皮質脊髄路を，側脳室上縁より上方の領域（A），側脳室上縁から大脳脚までの領域のうち高さ方向に3等分割した，上1/3領域（B），中1/3領域（C），下1/3領域（D）の合計4領域に区分して，Tract specific analysisにて，Fractional Anisotropy（FA），Apparent Diffusion Coefficient（ADC），固有ベクトル（ $\lambda_1, 2, 3$ ）などの拡散パラメーターを算出した。iNPH患者群，健常人群において，皮質脊髄路の4領域それぞれにおける拡散パラメーターについて群間比較を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は，Institutional Review Board（IRB）の承認を得て，被験者全員からの書面にてInformed Consentを得た。

C. 研究結果

Tractographyによって描かれた皮質脊髄路の形態的な特徴としてはiNPH患者の皮質脊髄路は，側

脳室の拡大を受けて，健常人の皮質脊髄路よりも大きく屈曲していた。また，Bの領域では健常人では皮質脊髄路に軽度の蛇行を認めるが，iNPH患者では蛇行がほとんど消失していた。Tract Specific AnalysisにてNPH患者では，BとCの領域においてFA値， λ_1 値が有意に上昇していた。

D. 考察

iNPH患者のBとCの領域においてFA値が上昇しているのは，側脳室の拡大によって伸展，屈曲，圧迫を受けて，神経線維の微小構造が変化している可能性がある。また，交叉線維である上縦束などが減少することで，交叉部であるBの領域でFA値が上昇している可能性がある。

E. 結論

iNPH患者では，皮質脊髄路の微小構造が変化している可能性がある。この微小構造の変化が，皮質脊髄路の機能障害を起し，iNPHの歩行障害に寄与している可能性がある。

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

正常圧水頭症の拡散テンソル tractography を用いた
視覚的・定量的解析

服部高明¹，湯浅龍彦²，澤浦宏明³，小林華栄⁴，
鈴木淑能⁵，水澤英洋¹，青木茂樹⁵

（¹東京医科歯科大学医学部附属病院 神経内科，²鎌ヶ谷総合病院 神経内科，³鎌ヶ谷総

合病院 脳外科, ⁴日本女子大学, ⁵順天堂大
学放射線科)
核磁気共鳴学会 (2009年10月2日 横浜)

H. 知的財産権の出願・登録状況
(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

3DAC imageを用いたNPHにおける脳実質の拡散特性解析 および治療評価に関する研究

研究分担者 藤井幸彦 新潟大学脳研究所脳神経外科 教授

研究要旨 高磁場MR画像から3DAC imageを用いてNPHにおける脳実質の拡散特性を視覚的に解析し、その病態および治療評価に関して検討する。

A. 研究目的

高磁場MR画像解析によりNPHの病態を視覚的に解析し、治療評価方法としての意義を探求する。

B. 研究方法

下垂体腺腫により惹起された高齢者のNPH症例の治療前後で3T-MR装置を用い覚醒下で撮影を行い、拡散テンソル解析を施行する。解析のパラメーターとしてmean diffusivityの指標となるADC値、および不等方性拡散の指標となるFA値に加えて、3DAC imageを術前後で比較検討する。

C. 研究結果

64歳女性で下垂体腺腫を伴い症候学的にも画像所見的にもNPHに相同する水頭症症例に対してV-P shuntを施行し、術前後で覚醒下に3T-MRIを施行した。

手術後、臨床症状、画像所見ともに著大な改善を確認した。3T-MRIによる拡散テンソル解析では、ADC値が低下した一方FA値の増加を認めた。また3DAC imageでは、この変化は輝度（ADC値）の低下と色調（FA値）の明瞭化として、特に脳室周囲の神経線維で視覚的に確認が可能であった。

D. 考察

今回3DAC imageでも確認し得た、ADC値の低下とFA値の増加は諸家の報告に合致している。

3DAC imageはADCおよびFA情報を内在しており、また撮像データからそれぞれの抽出が可能な特徴がある。また、本法は複雑な定量評価ではな

い。

解剖学的情報を保全したまま、治療効果判定に有用なADCおよびFA情報の提供が可能であり、臨床家が扱い易い点が優れていると思われる。更に定性評価としての視認性を提供するので、周術期評価には極めて有用と考えられる。

E. 結論

正常圧水頭症例において脳内微細構造の手術前後における変化が拡散テンソル解析を用いた3DAC imageで視覚的に確認し得た。

3DAC imageは、解剖学的情報を保全したままADC値、およびFA値の情報を提供し臨床評価法として極めて有用と思われ、未解明の部分が多いiNPHの病態解析および治療評価への応用が期待される。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(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

正常圧水頭症に伴う機能障害の病態と治療に関する研究

研究分担者 堀 智勝 森山記念病院

研究要旨 機能MRIとtractographyを用いてiNPH, シヤント術前後の上肢・下肢機能障害を客観的に証明した。

A. 研究目的

正常圧水頭症に伴う機能障害の病態と治療の解明を目的とする。

B. 研究方法

機能MRI（上肢，下肢）とtractographyを用いて上肢・下肢の皮質機能，皮質下機能をLPシヤント前後で比較検討し，iNPHの病態生理の解明の一助とする。

（倫理面への配慮）

両検査とも患者には非侵襲的であり倫理的問題は無い。

C. 研究結果

機能MRIの結果では下肢機能のiNPHによる低下は予想されていたが，上肢機能にも障害が有ることが判明した。またtractographyでも錐体路の機能低下が認められ，FA値の低下が明らかになり，これらの低下はシヤント後改善する事が判明した。

D. 考察

従来iNPHの3徴として知られている歩行障害は両検査で明らかにされ，今後FA値などによる定量的検討が，診断の一助となることが予想される。今回の検討で上肢機能にも異常があることが有る程度客観的に証明されたと考えている。今後他疾患との鑑別や病態生理の解明の一助となる有益な所見が得られたと考え，現在英文誌に投稿の準備

をしているが，今後班全体で研究課題として是非取り上げていただきたい。

E. 結論

今回iNPH症例の皮質機能皮質下機能を客観的手法によって明らかにすることができたと考えており，今後症例の集積により，さらなる検討が必要と思われる。

F. 健康危険情報

（分担研究報告書には記入せずに，総括研究報告書にまとめて記入）

G. 研究発表

1. 論文発表

現在 Neurosurgery 誌に投稿準備中

2. 学会発表

第43回日本リハビリテーション医学会関東地方会，
2009年9月12日（土）東京慈恵会医科大学1号館3階講堂演題番号15. 特発性正常圧水頭症に対して第三脳室終板開窓術が有効であった一症例 森山記念病院 脳神経外科 堀 智勝，村山浩通，善本晴子，松尾成吾

H. 知的財産権の出願・登録状況

（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 |

特発性正常圧水頭症におけるMRI所見の画像統計解析に関する研究

研究分担者 佐々木真理 岩手医科大学 教授

研究要旨 特発性正常圧水頭症（iNPH）の診断には画像統計解析が有効と思われるが、本症では脳実質の変形や信号変化が強いため、解析に失敗することが多かった。そこで、本研究では信号の安定している脳脊髄液に着目し、脳脊髄液オブジェクトを用いた画像統計解析法を考案した。脳室・Sylvius裂と高位円蓋部の関心領域における脳脊髄液ボクセル比を指標とすることで、iNPHとAlzheimer病・健常者を高い精度で識別することが可能であった。本手法はiNPHの診断や治療選択の精度向上に寄与すると考えられた。

A. 研究目的

高位円蓋部・正中部の脳槽・脳溝の狭小化（tight high convexity/midline areas）と側脳室・Sylvius裂の拡大の共存は特発性正常圧水頭症（iNPH）の特徴的画像所見であり、ガイドラインにも取り上げられている。これらの所見は単独では非特異的で、時に軽度であり、視覚的判定が容易ではないことも多い。従って、本所見の検出には客観的判定法であるvoxel-based morphometry（VBM）などの画像統計解析が有効と考えられるが、本症では脳の変形や信号変化が強いため、脳実質の抽出といった前処理で重大なエラーが高頻度に発生し、従来の手法では解析が困難なことがしばしばであった。

そこで今回、脳脊髄液（CSF）オブジェクトを用いたVBMによる自動解析法を考案し、その妥当性と診断精度について検討した。

B. 研究方法

対象はiNPH12例（probable 10例，definite 2例）とage matchingを行ったAlzheimer病（probable AD）14例，健常高齢者17例で，1.5T MRI装置（Signa HD, GE Healthcare）を用い，3D-GRE法（3D-FSPGR）による矢状断T1強調画像を取得した。撮像条件はTR/TE/FA 10.3/2/15, FOV 22cm, matrix 256x256, 1.5mm厚128枚とした。

SPM5（statistical parametric mapping 5）とMATLABを用いてCSFオブジェクトを自動抽

出し，DARTEL（diffeomorphic anatomical registration through an exponentiated lie algebra）による解剖学的標準化を行った後，三群間比較を行い，有意差領域（ $P < 0.05$, FDR correction；100 voxel以上）をCSF拡大域と縮小域に分けて抽出した。

上記解析結果からMarsBar ROI analysis toolを用いて作成した側脳室・Sylvius裂ROI（LV），高位円蓋部ROI（HC）内のCSFボクセル数を自動取得し，両者の比であるLV/HC ratioを算出した後，3群間で比較検討した。

（倫理面への配慮）

読影実験の際には患者情報を匿名化し，患者情報保護に十分な配慮を行った。

C. 研究結果

3群間でCSFオブジェクトに関する両側検定VBMを行った結果，iNPH群において，AD群・健常群に比し，高位円蓋部のCSF領域の有意な縮小，および側脳室・Sylvius裂部のCSF領域の有意な拡大を認めた。

上記結果より取得した側脳室・Sylvius裂ROI（LV），高位円蓋部ROI（HC）から算出したLV/HC ratioはiNPH群2.2-6.2，AD群0.7-1.6，健常群0.4-1.6であり，閾値を1.9とすることで，iNPH群を感度・特異度100%で，識別することが可能であった（図1）。

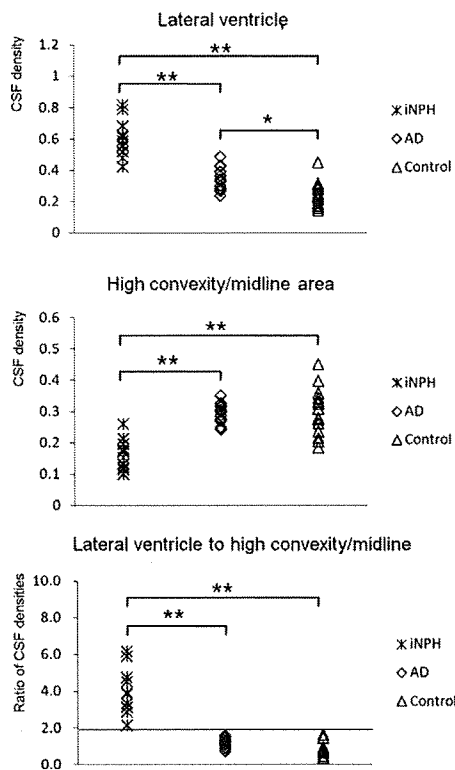


図1 iNPH, AD, 健常者におけるLV・HC ROI

D. 考察

CSFオブジェクトを対象としたVBMによった得られたROIを用いることで、脳実質の抽出の難しい本症においても安定した画像統計解析が可能であった。我々の考案したLV/HC ratioは本症の視覚的特徴を正確に反映し、他群と高い感度・特異度で識別することが可能であり、iNPHの画像診断法

として有効と考えられた。

E. 結論

CSFオブジェクトを用いたVBMを行うことで、iNPHに特徴的な画像所見を高い精度で自動検出することが可能となった。本手法はiNPHの診断や治療方針決定に有望と考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

Yamashita F, Sasaki M, et al. Detection of changes in cerebrospinal fluid space in idiopathic normal pressure hydrocephalus using voxel-based morphometry. *Neuroradiology* Epub ahead of print, 2009

佐々木真理. 特発性正常圧水頭症の画像診断. 臨床放射線 54 : 722-725, 2009

2. 学会発表

特に無し

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特に無し

2. 実用新案登録

特に無し

3. その他

特に無し