

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

**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、加藤重典、中村亮一  
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 MSA10 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、2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、前頭葉から側頭葉にかけて広範囲に異常を示した。さらに、MSA における半年後、1年後、2年後と経時的な変化では、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、前頭葉を中心に広範な変性の広がり認められた。ROI 法を用いた検討では、中小脳脚と錐体路において半年後、1年後、2年後ともに経時的に変性の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、MD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 MSA10 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、2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、2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ー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

follow up 中に1名死亡したため、9名で解析を行った。

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広範な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、頭頂葉へ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、中小脳脚と錐体路で半年後、1年後、2年後と経時的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 NeurolSci*, 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 NeurolNeurosurg 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(第3報)

日本神経学会総会 5月 2010 東京

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(第2報)

日本神経学会総会 5月 2009 仙台

### 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。

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

運動失調症のバイオマーカーとしての高磁場磁気共鳴スペクトロスコピー

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	五十嵐 博中	新潟大学脳研究所	統合脳機能研究センター
	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
	眞島 卓弥	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

研究要旨

運動失調症において、プロトン高磁場磁気共鳴スペクトロスコピー(1H-MRS、以下 MRS と略す)により脳内代謝物濃度を測定し、これらの定量値がバイオマーカーとして用いられ得るかを検討した。まず、早期診断法としての MRS の有用性を検討する目的で、未発症副腎皮質ジストロフィー(ALD)症例の経時的な大脳白質の MRS 測定を行い、神経細胞の viability marker と考えられる N-アセチルアスパルテート(NAA)の局在パターンの変化が極早期発症の判定に有用であることを示した。さらに、局所病態の評価を目的として、Multiple System Atrophy of Cerebellar Type (MSA-C)の橋の MRS を測定し、組織グリオーシスの指標になると考えられるミオ・イノシトール(mI)のクレアチン(Cr)に対する比(mI/Cr)が UMSARS(I+II+IV)に相関し、かつ NAA/Cr 比が罹病期間に逆相関することを示した。

A. 研究目的

運動失調症において、ALD など早期治療により病態進展の阻止が期待される病態については早期診断が可能なバイオマーカーの開発が望まれる。一方、MSA-C などの変性疾患においては、脳の局所病態の推移を客観的に評価するバイオマーカーの開発が、病態評価、治療介入効果の客観的評価に際し必須である。われわれは、無侵襲に脳の代謝物を測定可能な方法である MRS を用いて前述の2つの

疾患における病理変化を最も来しやすい領域の代謝物の変化を測定することにより、MRS のバイオマーカーとしての可能性を検討した。

B. 研究方法および結果

I. 小児大脳型副腎白質ジストロフィー患者脳の経時的評価  
(対象および方法) 神経学的に明らかな退行を認めない小児大脳型副腎白質ジストロフィー

一(CCALD)患者 2 名(8才-骨髄移植施行、10才)に MRS を経時的に施行し、左右大脳白質の各々連続する前後6カ所において NAA/Cr 比を測定した。対照は健常成人 5 名、小児 5 名との比較を行った。

(結果)経過早期には両症例とも SI では前後の tNAA/Cre 勾配パターン(Grad、図参照)が保たれていた。しかし移植症例では、経過中 SI にて Grad が平坦化した。Grad の経時的変化は、発症極早期における大脳白質の神経機能異常を反映している可能性がある。

## II. 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

(対象)MSA-C 患者 15 名(男性 9 名, 女性 6 名, 年齢 65.4±7.8 歳, Gilman 分類: probable 10 名, possible 5 名)について橋および延髄の MRS を施行し、得られた各代謝物の対 Cr 比を、正常対象(15 名、年齢 65.7±7.5 歳)と比較すると共に、臨床症状(UMSARS)および罹病期間との関係を検討した。更に 5 名(男性 3 名, 女性 2 名, 年齢 64.4±8.7 歳(初回 study 時の平均年齢±SD))を対象とし、17.4±1.3 ヶ月(平均±SD)の間隔において経時的測定を行い各代謝物の Cr 比を比較した。

(結果) 橋および延髄の NAA/Cr および変性疾患においては細胞密度を表すと考えられるコリン(Cho)の Cr に対する比(Cr)はいずれも有意に正常対象より低値を示し、一方 ml/Cr は有意に高値を示した。橋における ml/Cr 比は UMSARS(I+II+IV)と正の相関を示し、NAA/Cr は罹病期間と逆相関を示した。一方、経時変化を追った症例では、NAA/Cr の低下傾向は認められるものの、統計学的な有意には届かなかった。

## C. 総括

MRS を用いることにより、CCALD 患者の早期変化を検出することが可能であり、MSA-C においては臨床症状、罹病期間と測定可能な代謝物比が相関した。このことは MRS が運動失調症のバイオマーカーとして用いることが出来る可能性を示していると考えられた。一方、個々の症例の経時変化については症例数が 5 例と少なかったこともあり、現時点では評価が困難であったが、今後、個々の代謝物濃度の定量方法の検討、実用化を行い、測定感度を上昇させる手技の実用化が必要であり、可及的に着手する予定である。

## D. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Takado Y, Igarashi H, Terajima K, Shimohata T, Ozawa T, Okamoto K, Nishizawa M, Nakada T. Brainstem metabolites in multiple system atrophy of cerebellar type: 3.0-T magnetic resonance spectroscopy study. *MovDisord*. 2011 In Press.

2) 高堂 裕平, 3.0 T H1-Magnetic Resonance Spectroscopy を用いた多系統萎縮症における脳幹部 myo-inositol の解析、新潟医学会雑誌. 2010. 124(7) . 377-85

### 2. 学会発表

1) 第52回日本小児神経学会総会  
小児大脳型副腎白質ジストロフィー患者の発症の極早期からの経時的評価—3.0テスラMR装置による拡散テンソル画像法と1H-MRSI解析—(2010.5.20-22,福岡)

## E. 知的財産権の出願・登録状況

なし

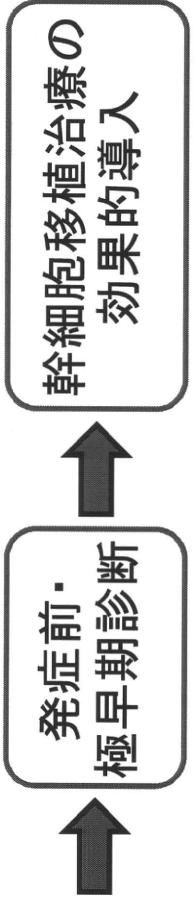
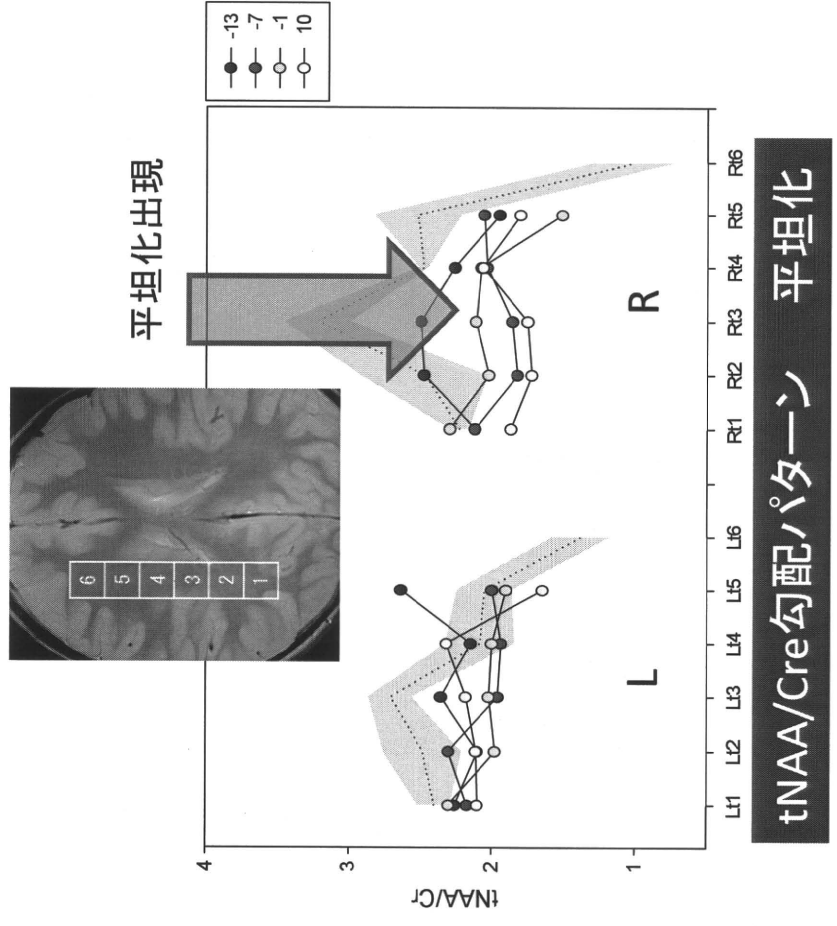
## F. 健康危険情報

なし

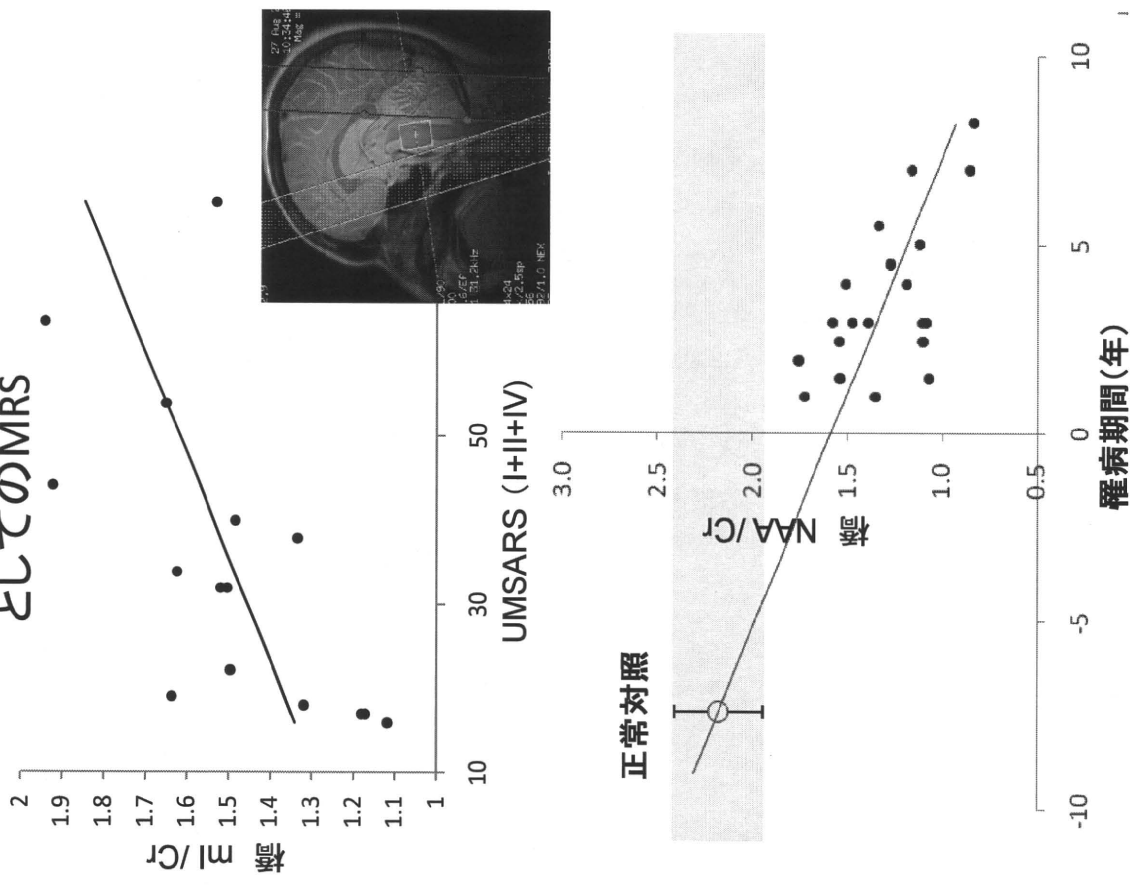


# 1H-MRSによる運動失調症 の無侵襲な病態評価

## I. 小児大脳型副腎白質ジストロフィー 発症早期変化の描出



## II. MSA-CにおけるバイオマーカーとしてのMRS



運動障害のみならず、病状の進行を推測するバイオマーカーとして有効

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

平成20～22年度分担研究報告書

運動失調症に関する調査研究

小脳失調症に対する短期集中リハビリテーションの効果に関する無作為比較研究

Trial for Cerebellar Ataxia Rehabilitation (CAR trial) 試験 ID/公開日 UMIN000000824 2007/09/12

分担研究者 宮井一郎 社会医療法人大道会森之宮病院院長代理

祖父江元 名古屋大学神経内科教授

研究協力者 服部憲明、三原雅史、畠中めぐみ、矢倉一（森之宮病院神経リハ研）

伊藤瑞規 名古屋大学神経内科

研究要旨 変性疾患により小脳失調を呈する患者に対する短期集中型の入院リハビリテーション(リハ)が、小脳失調や日常生活動作(ADL)の改善に有効であるかを検証するために多施設無作為比較研究をH20~22年度にかけて行った。対象は小脳失調を徴候とする脊髄小脳変性症患者42例。一日に60分の理学療法および60分の作業療法による基本動作、ADL練習を4週間行い、短期効果はクロスオーバーRCT。その後は両群で介入終了後6カ月までのキャリーオーバーを検証する観察研究とした。短期効果では、小脳失調,ADL,歩行で有意に改善が見られた。長期効果として12週まで改善が有意だったのは小脳失調と歩行速度のみで、24週ではベースラインとの差はなくなった。しかし、41例中22例において、24週後のいずれかの転帰項目がベースラインより良好であった。介入に関連した有害事象はみられなかった。

A. 研究目的

課題指向型練習の繰り返しが運動機能回復や運動学習成立に寄与すること、脳卒中などの単相性の脳損傷後の機能回復がリハビリテーション(リハ)介入量に依存することが明らかになってきた。一方、運動学習の首座である小脳が障害された脊髄小脳変性症(SCD)では、このような原則が成立するかは不明で、介入による機能改善と病変の拡大や病状の進行による機能低下とのトレードの上に成立することにも留意する必要がある。そこでSCDに対する短期集中型の入院リハが、小脳失調や日常生活動作(ADL)の改善に有効であるかを検証する多施設無作為比較研究を計画し、H20~22年度で無事終了することができた。

B. 研究方法

対象は小脳失調を主徴候とするSCD(SCA6,16qADCAおよびLCCA)のうち、介助

者が1人以下で歩行可能で、認知機能障害がない患者。リハ介入として一日に60分の理学療法および60分の作業療法による基本動作、ADL練習を4週間入院しておこなった。①4週間の経過観察後、4週間のリハを行う群と4週間のリハ後、経過観察をおこなう群に無作為に割り付けをして短期効果を検証し、②その後は両群で介入終了後6カ月までのキャリーオーバーを検証するデザインとした。

主要アウトカムとしてSARA (Scale for the Assessment and Rating of Ataxia),FIM (Functional Independence Measure)、副次項目として歩行速度、ケーデンス、Functional Ambulation Category (FAC)、転倒回数を評価した。

(倫理面への配慮)

近畿,中部,中国18施設の倫理委員会で承認後、患者に介入・評価方法や安全性について説明し、書面でInformed consentを得た。

### C. 研究結果

神経学会認定施設から42例(名古屋大4、京都大1、京都府立医大1、近畿大1、近畿大堺6、関西医大5、兵庫中央病院8、兵庫医大2、天理よろづ相談所病院2、奈良医大2、和歌山医大2、岡山大4、南岡山医療センター2、鳥取大2、順不同)の登録をいただいた。内訳はSCA620例、16qADCA6例、LCCA16例、男22女20例である。登録時の平均年齢±SDは62.5±8.0才、罹病期間9.8±6.2年、ベースラインのSARA11.3±3.8、FIM119.8±5.2(運動85.6±4.5、認知34.2±1.7)、歩行速度15.4±15.0秒/10m、ケーデンス108.3±26.7歩/分、FAC3.9±1.0、転倒1.6±3.2回/4週であった。1例がリハ終了後19週に脳出血で死亡した。

短期効果については、IGでは対照に比しケーデンスとFIM認知項目を除くすべての項目で有意に改善が見られた。長期効果についても、同様にケーデンスとFIM認知項目を除くすべての項目で有意に改善が見られた(p<.05)が、posthoc testでは、12週まで改善が有意だったのはSARAと歩行速度のみで、24週ではベースラインとの差はなくなった(図1, 2)。なお41例中22例において、24週後のいずれかの転帰項目がベースラインより良好であった。介入に関連した有害事象発生はなかった。今後の方向性としては機能維持のためには間歇的な集中リハ介入が有効かどうか検証する必要があることが示唆された。

### D. 研究発表

#### 1. 論文発表(英文のみ)

- Miyai I, Sonoda S, Nagai S, Takayama Y, Inoue Y, Kakehi A, Kurihara M, Ishikawa M. Results of new policies for inpatient rehabilitation coverage in Japan. *Neurorehab Neural Rep*, in press.
- Dobkin BH, Plummer-D'Amato P, Elashoff R, Lee J; SIRROWS Group. International Randomized Clinical Trial, Stroke Inpatient Rehabilitation With Reinforcement of Walking Speed (SIRROWS), Improves Outcomes.

*Neurorehab and Neural Repair*, 2010; 24(3), 235-24

- Harada T, Miyai I, Suzuki M, Kubota K. Gait capacity affects cortical activation patterns related to speed control in the elderly. *Exp Brain Res* 2009;193:445-454
  - Miyai I. Longitudinal optical imaging study for locomotor recovery after ischemic stroke. State-of-the-art-imaging in stroke. The present state and implication on future. Schaller B ed., Nova Science Publisher, NY, 2008, 41-74
  - Suzuki M, Miyai I, Ono T, Kubota K. Activities in the frontal cortex and gait performance are modulated by preparation. An fNIRS study. *NeuroImage* 2008;39:600-607.
  - Mihara M, Miyai I, Hatakenaka M, Kubota K. Role of the prefrontal cortex in human balance control. *NeuroImage*, 2008;43:329-336
- E. 知的財産権の出願・登録状況  
なし
- F. 健康危険情報  
なし

図1 SARAの経時的変化

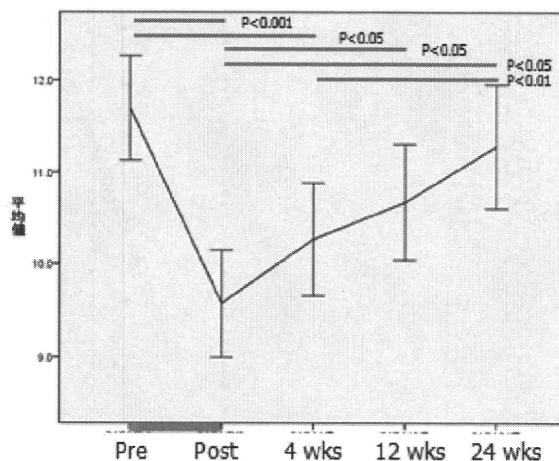
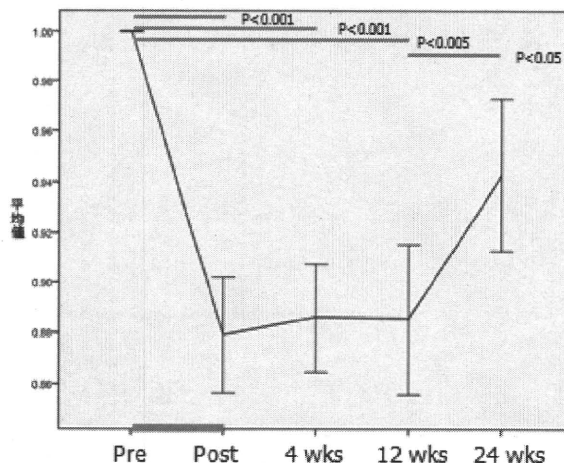
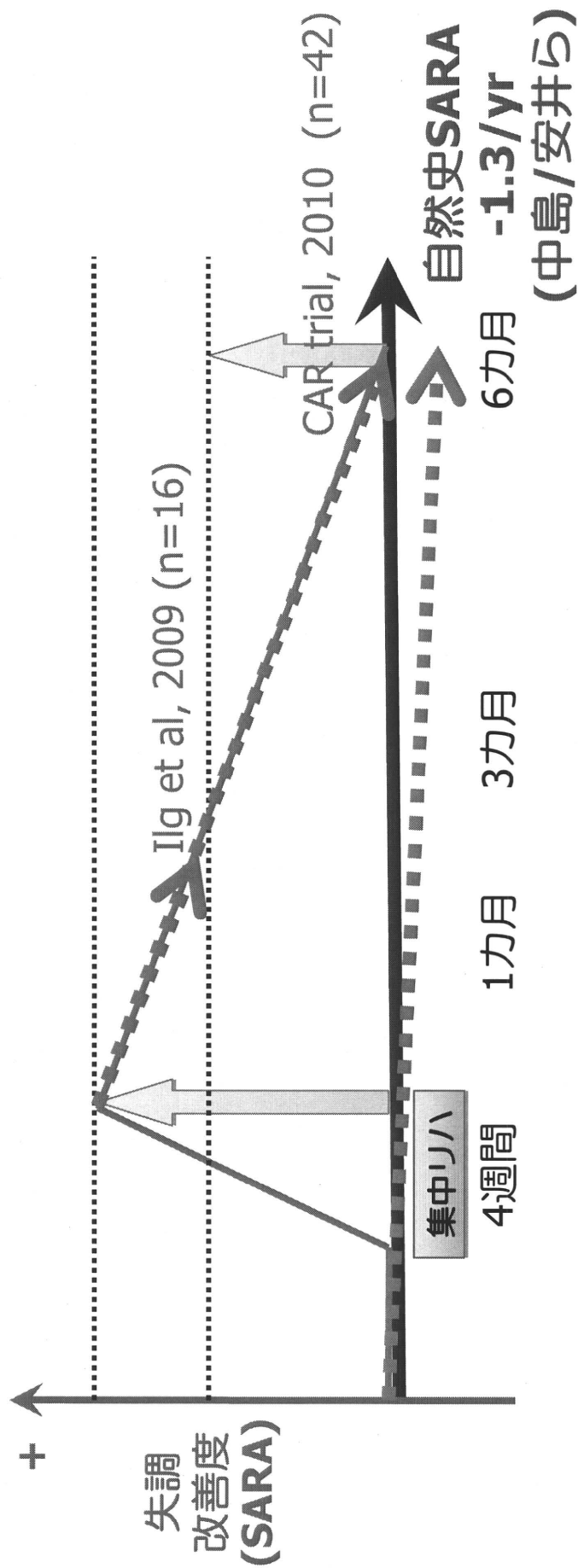


図2 歩行速度の経時変化



小脳失調症に対する短期集中リハビリテーションの効果に関する無作為比較研究  
 Trial for Cerebellar Ataxia Rehabilitation (CAR trial)  
 試験ID/公開日 UMIN00000824 2007/09/12



- 一日2時間、4週間の集中リハは小脳失調を主体とした脊髄小脳変性症の小脳失調、歩行機能を改善し、その効果は少なくとも3ヶ月持続する
- 疾患が進行性である点を加味すると、6カ月後の機能がリハ前と同等であったとしても機能維持に貢献している可能性が高い。
- リハ後の機能改善の保持は小脳失調が軽度な患者で良好であった。

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

(総合)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

運動失調症に対する Cybernics の応用

分担研究者 山海嘉之 筑波大学大学院システム情報工学研究科

研究要旨

人間・機械・情報系を融合複合した新技術領域「サイバニクス」を駆使してロボットスーツ HAL の研究開発を行ってきた。世界に先駆けて人間の意思通りに身体運動機能を拡張し増幅する「ロボットスーツ HAL」の研究開発・実用化に成功し、福祉/医療分野への展開のための研究開発を推進している。本研究では運動失調症に対するサイバニクス技術の展開について研究することを目的としている。

A. 研究目的

人間・機械・情報系を融合複合した新技術領域「サイバニクス」を駆使してロボットスーツ HAL の研究開発を行ってきた。世界に先駆けて人間の意思通りに身体運動機能を拡張し増幅する「ロボットスーツ HAL」の研究開発・実用化に成功し、福祉/医療分野への展開のための研究開発を推進している。運動失調/運動機能障害のような難病を抱える方々へ HAL を中心としたサイバニクス技術がどのように活用できるか、課題抽出、及び課題解決を行うため、医学系、工学系、人文社会学系等が一体となって当該研究開拓に注力することが重要である。本研究では運動失調症に対するサイバニクス技術の展開について研究することを目的としている。

B. 研究方法

サイバニクスの研究成果として、全身型ロボットスーツ HAL-5 の基盤技術(大別すると、電子制御システム、機構構造システム、統合システム、及び、各種コア技術、運用・運営技術など)について、運動失調 / 運動機能障害への展開のための技術更新をすすめ、次世代技術へと発展させること、ならびに、当該分野の症状を有する方々へ適用することを試みた。下肢バージョンについては量産化を推進している(Fig.1)が、基本技術を活用しながら運動機能障害/運動失調に焦点をあて、当該分野で活用可能なモニタリング/解析機能を強化

することで、サイバニクス技術を更に展開した。当該研究では、ロボットスーツ HAL による歩行支援中の運動失調による立位・歩行時のふらつきを防止する機能に焦点を当て研究開発を行った(Fig.2)。また、倫理面への配慮として、人支援技術の研究開発の推進には、被験者

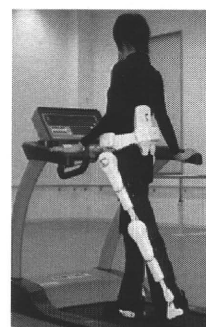


Fig. 1 量産型ロボットスーツ HAL

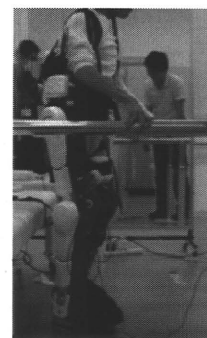


Fig. 2 ロボットスーツによる姿勢訓練

に対する適切な対応が求められるため、当該研究では、厚生労働省の臨床研究に関する倫理指針を遵守した。

**C. 研究結果**

運動失調による立位・歩行時のふらつきを HA で防止する機能として、装着者の重心位置のモニタリング機能及び、立位姿勢保持を促進する視覚フィードバックシステムを開発した。Fig.3、及び Fig.4 に開発した重心位置モニタリング機能、視覚フィードバックシステムを示す。重心位置モニタリング機能では、HALに備えられている床反力センサから重心を計算し、平面方向へ投影した位置と共に足元の位置をモニタすることによって、自らの重心位置を把握

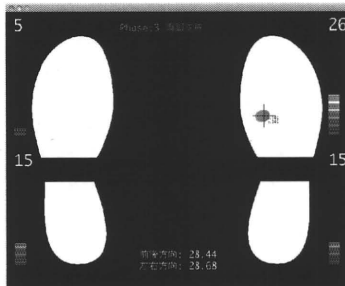


Fig. 3 重心位置モニター機能

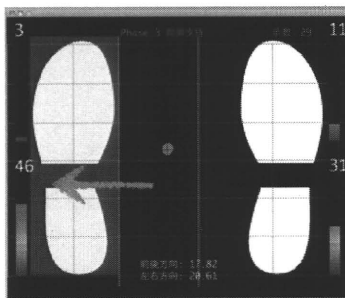


Fig. 4 視覚フィードバックシステム

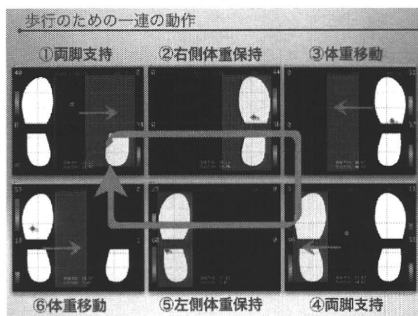


Fig. 5 視覚フィードバックシステム

することができることが可能となった(Fig.3)。さらに、視覚フィードバックシステムにより、より安定な重心位置に誘導することができるため(Fig.4)、姿勢保持が容易となった。また、一連の歩行動作における重心移動をガイドする視覚フィードバックシステムを構築した(Fig.5)。各歩行フェイズに対して、次のフェイズへ移行するための体重移動方向をフィードバックすることで、スムーズな体重移動を可能にした。

**D. 研究発表**

1. 論文発表

- [1] 佐藤帆紡, 川畑共良, 田中文英, 山海嘉之, ロボットスーツ HAL による移乗介助動作の支援, 日本機械学会誌(C 編), 76 巻 762 号, pp.227-235, 2010
- [2] Atsushi Tsukahara, Ryota Kawanishi, Yasuhisa Hasegawa and Yoshiyuki Sankai, Sit-To-Stand and Stand-To-Sit Transfer Support for Complete Paraplegic Patients with Robot Suit HAL, Advanced Robotics, Vol. 24, No. 11, pp. 1615-1638, 2010

2. 学会発表

- [1] 塚原 淳, 長谷川 泰久, 山海 嘉之, 意思推定機能を有する HAL による完全脊髄損傷患者のための歩行支援 -マネキンによる歩行実験-, 第 11 回 計測自動制御学会 システムインテグレーション部門講演会 (SI2010), pp. 291-294, 2010.12.2
- [2] 山海嘉之, サイバニクスを駆使したロボットスーツ HAL 最前線, 第 40 回日本臨床神経生理学会学術大会, 2010. 11. 2
- [3] 山海嘉之, ロボットスーツ HAL の開発と運動器リハビリテーションへの挑戦, 第 22 回日本運動器リハビリテーション学会大会, 2010. 7. 10
- [4] 山海嘉之, 「ロボットスーツ HAL」 ~脊髄外科患者への展開~, 第 25 回日本脊髄外科学会, 2010. 6. 10

**E. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)**

該当無し

**F. 健康危険情報**

該当無し



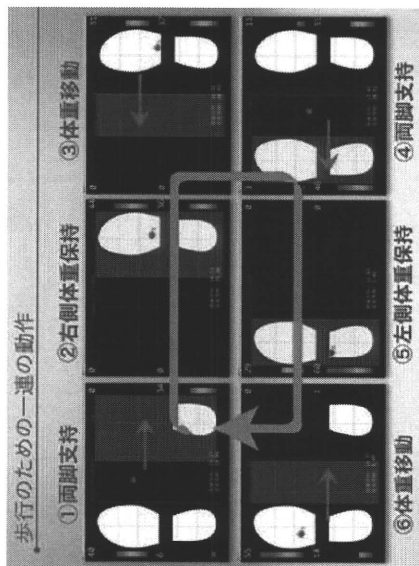
# 運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究

分担当当者： 山海 嘉之 筑波大学院システム情報工学研究科

人間・機械・情報系を融合複合した新技術領域「サイバニクス」を駆使して「ロボットスーツHAL」の研究開発を行ってきた。当該研究では運動機能障害/運動失調に焦点をあてたロボットスーツの開発、及び、歩行支援中の運動失調による立位・歩行時のふらつきを防止に活用可能なモニタリング/解析機能を強化を行った。



ロボットスーツHAL



HALによる姿勢訓練

重心位置モニターによる視覚  
フィードバックシステム

ロボットスーツHALによる姿勢訓練において「視覚フィードバックシステム」を活用することで、スムーズな体重移動が可能とし、姿勢保持が容易とした。



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

運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究

運動失調症の重症度評価、サロゲートマーカー、発病素因解明に関する研究

分担研究者 佐々木 秀直 北海道大学大学院医学研究科神経内科学分野

研究要旨

運動失調症の重症度評価スケール SARA の病型間比較と経時的変化、1.5TMRI による  $^{31}\text{P}$ -MRS を用いた ジョセフ病患者筋エネルギー代謝の経時的変化、網羅的発現解析による多系統萎縮症患者での *neureglin-1* 発現亢進、*spastin* ゲノム遺伝子の部分欠失に起因する痙性対麻痺の頻度、染色体 5q31-q33.1 上の SCA12 に連鎖するが起因変異が SCA12 とは異なる新規 SCA、及び全ゲノム網羅的コピー数多型 (CNV) 解析により多系統萎縮症患者におけるコピー数欠失頻度、などを検討した。

A. 研究目的

以下の目標について検討した。すなわち、1) 運動失調症の重症度を反映する臨床的尺度、2) 重症度を反映する生化学的指標、3) 重症度の相関するサロゲートマーカー、4) 起因遺伝子変異が未定の遺伝性運動失調症の遺伝子異常を探索すること、5) 多系統萎縮症の発病素因を解析するの四点である。

B. 研究方法

1) 運動失調の重症度については、新しい評価基準である Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA) について、多系統萎縮症 8 例(全例 MSA-C)、SCA6 患者 12 例を対象に、7~13ヶ月の間隔を置いて前後 2 回評価して、両群の比較、経時的変化を検討した。

2) 汎用機 1.5T MRI を用いて  $^{31}\text{P}$ -MRS により Machado-Joseph 病(MJD)の筋エネルギー代謝機能を検討し、重症度との相関性、啓示的变化を検討した。

3) 片方のみ MSA に罹患した discordant monozygotic twin 1 組と、MSA 患者 3 名、対照群 3 名の白血球により網羅的発現解析を行い、MSA に発現の多い遺伝子を検討した。

4) 遺伝性痙性対麻痺 SPG4 の当該遺伝子である *spastin* のゲノム欠失を MLPA 法で検討した。

5) 原因遺伝子未定の優性遺伝性脊髄小脳変性症 1 家系について、マイクロアレイによる SNP タイピングを行い、連鎖解析を行った。

6) 先の双子 1 組で CNV の *de novo* 変異を検討した。また、非血縁の MSA 患者 33 名、年齢性別別をマッチした対照群 100 例で全ゲノム網羅的 CNV スクリーニングを行った。候補領域については高密度カスタムアレイを作製して検討した。

(倫理面への配慮)

研究は医の倫理委員会の承認を得て行った。試料提供者には、予め研究の主旨を説明し、文書で同意を得た。

C. 研究結果

1) MSA-C 群では SCA6 群に比較し、坐位を除き SARA 各項目にてより大きな経時的増悪傾向が認められた。日本語版 SARA は比較的短期間でも重症度の変化を反映する鋭敏な指標と考えられる。

2) 1.5T MRI 装置を用いた  $^{31}\text{P}$ -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。患者 8 例と健常者 11 例を対象に、安静時  $\text{PCr}/(\text{PCr}+\text{Pi})$  および  $V_{\text{max}}$  を測定して比較した。その結果、両者とも有意に患者群で低値であつ

た ( $V_{max}$ ;  $P=0.001$ ,  $PCr/(PCr+Pi)$ ;  $p=0.033$ )。また  $V_{max}$  値は SARA 総点数と逆相関していた ( $r=0.34$ ,  $p=0.035$ )。 $V_{max}$  値の経時的変化については、2年間に亘り患者5名と健常者5名について検討した。両者の比較では、患者群で有意に経時的に減少する傾向を示した ( $p=0.049$ )。

3) 患者群で有意差に発現亢進していた mRNA に Neuregulin-1 (NRG1)があり、今回、その血中濃度をサンドイッチ ELISA により、MSA、健常対照者、パーキンソン病患者の三群間で比較検討したが、有意差を示さなかった。

4) Large deletion により発症した SPG4 は AD-HSP31 家系中に1家系のみであり、その割合は5%未満であった。

5) 連鎖解析により、5q31-q33.1 上、4.0Mb 領域に連鎖を認め、本家系で理論的に得られる最大の LOD 値 2.408 を得た。この候補領域には、SCA12 の原因遺伝子である *PPP2R2B* 遺伝子が含まれているが、SCA12 の原因変異とされるプロモーター領域の CAG リピート異常伸長は認められず、また同遺伝子各エクソンにも変異を認めなかった。

6) 片方のみ MSA に罹患している一卵性双生児で、発症者にゲノムコピー数の欠失領域を同定した。この欠失領域には、今回解析した MSA 群の 30% に認められたが、対照群では欠失例は認められなかった。この領域において神経系に発現している遺伝子の CNV が MSA の発病素因の1つである可能性が考えられた。

#### D. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Yabe I, Tha KK, Yokota T, et al : Estimation of skeletal muscle energy metabolism in Machado-Joseph disease using  $^{31}P$ -MR spectroscopy. *Mov Disord* 2010 (in press)

2) Tha KK, Terae S, Yabe I, et al: Microstructural white matter abnormalities of multiple system atrophy: in vivo topographic illustration by using diffusion-tensor MR imaging. *Radiology* 2010; 255: 563-9

3) Sato K, Yabe I, Fukuda Y, et al: Mapping of autosomal dominant cerebellar ataxia without the

pathogenic *PPP2R2B* mutation to the locus for spinocerebellar ataxia 12. *Arch Neurol* 2010;67: 1257-1262

4) Inaba H, Yabe I, Yashima M, et al: Unusual retinal phenotypes in an SCA7 family. *Intern Med*. 2009; 48: 1461-4.

5) 佐藤和則、矢部一郎、相馬広幸、他: 新しい小脳性運動失調症の重症度評価スケール Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA)日本語版の信頼性に関する検討. *脳神経* 2009 ; 61: 591-5.

6) Yabe I, Kitagawa M, Suzuki Y, et al: Downbeat positioning nystagmus is a common clinical feature despite variable phenotypes in an FHM1 family. *J Neurol*. 2008; 255: 1541-4.

7) 矢部一郎、佐藤和則、相馬広幸、他: 甲状腺機能正常な橋本病にともなう進行性小脳失調症の臨床的検討 - 小脳性運動失調における橋本病の自己抗体の関わりについて - . *臨床神経* 2008; 48: 640-5.

8) Soma H, Yabe I, Takei A, et al: Associations between multiple system atrophy and polymorphisms of SLC1A4, SQSTM1, and EIF4EBP1 genes. *Mov Disord*. 2008; 23: 1161-7.

9) Nakamura M, Yabe I, Sato K, et al: Transient subacute cerebellar ataxia in a patient with Lambert-Eaton myasthenic syndrome after intracranial aneurysm surgery. *Clin Neurol Neurosurg*. 2008; 110 :480-3.

10) Yabe I, Matsushima M, Soma H, et al: Usefulness of the Scale for Assessment and Rating of Ataxia (SARA). *J Neurol Sci*. 2008; 266:164-6.

##### 2. 学会発表

省略

#### E. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)

該当無し

#### F. 健康危険情報

該当無し

## 平成20-22年間で検討したこと

### 運動失調の重症度評価法の検討

- SARAは小脳性運動失調の重症度評価に有用.
- 1.5T MRIによる<sup>31</sup>P-MRSで筋エネギー代謝の計測法を確立.  
ジヨセフ病ではPCr/(PCr+Pi)とVmaxが低値、経時的検査でも進行性に低下。
- 白血球の網羅的発現解析.  
MSAでNRG1発現量が対照の1.5倍に亢進. Oligodendrogliaに特異的に発現するNRG1 type IIIの定量を検討中.

### 運動失調症の遺伝子解析

- 優性遺伝性痙性対麻痺31家系中1家系にSpastinゲノム遺伝子の部分欠失を検出. その頻度は3%.
- SCA12遺伝子座に連鎖し、かつCAGリピート伸長を伴わない新規の運動失調症を同定.
- MSAの素因遺伝子探索を目的として、全ゲノム網羅的CNV解析を行い、MSA群に頻度の高いコピー数欠失領域を同定.



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>	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
	若林孝一	弘前大学大学院医学研究科 脳神経病理学講座
	糸山泰人	国立精神・神経医療研究センター病院

**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、 $[^{11}\text{C}]$ 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 $[^{11}\text{C}]$ BF-227の高い結合能を検出した。さらに、4名の多系統萎縮症患者について約2年の期間において $[^{11}\text{C}]$ BF-227 PETを再度施行し経時的変化について検討をしたところ、被殻や前頭葉白質などで劇的に $\alpha$ -シヌクレイン蛋白凝集体量が増加していることが示唆された。 $[^{11}\text{C}]$ 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(MSA)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( $\alpha\text{S}$ )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 $\alpha\text{S}$ 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 $[^{11}\text{C}]$ BF-227 PETを施行し正常健常者と比較することにより $\alpha\text{S}$ 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 $\alpha\text{S}$ 蛋白凝集体への結合性をMSA患者の剖検脳とlive cellを用いて検討した。次に、MSA患者8名と年齢一致させた正常健常者8名に $[^{11}\text{C}]$ 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、 $[^{11}\text{C}]$ 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。

次に上記のMSA患者8名のうち4名に

約 2 年の間隔において<sup>[14C]</sup>BF-227 の PET を再度施行した。前回と同様に<sup>[14C]</sup>BF-227 投与後 60 分間の PET ダイナミック撮像を行った。各個人の MRI 画像を参照して被殻、尾状核、淡蒼球、視床、橋、黒質、前帯状回、後帯状回、前頭葉皮質、側頭葉皮質、頭頂葉皮質、後頭葉皮質、大脳白質、後頭葉白質に関心領域を設定後に各領域の平均カウントを算出し、後頭葉白質を参照領域として各領域との比を算出した。

#### (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、 $\alpha$ S を過剰発現した live cell においても  $\alpha$ S 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。<sup>[14C]</sup>BF-227 PET 検査では正常健康者群と比較して有意差 ( $p < 0.05$ ) をもって、MSA 患者群において大脳白質、被殻、黒質などで<sup>[14C]</sup>BF-227 の高い結合能を検出することに成功した。

約 2 年間の経時的変化では、4 例の結果のまとめから、橋で発症約 15 ヶ月目をピークに上に凸を示していた。同様な傾向が被殻・尾状核・前帯状回・大脳白質（発症約 30 ヶ月目にピーク）と視床・前頭葉皮質・頭頂葉皮質（発症約 40 ヶ月目にピーク）にもみられていた。このことは各領域においてピークの違いがあるものの、劇的に  $\alpha$ S 蛋白の蓄積量が増減している可能性が考えられた。すなわち、各領域において神経細胞死とそれを取り巻くグリア細胞死が比較的急速に生じていることが示唆された。

$\alpha$ S 蛋白凝集体の生体内での可視化・画像化は MSA を始めとするシヌクレイノ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

- Hasegawa T, Baba T, Kobayashi M, Konno M, Sugeno N, Kikuchi A, Itoyama Y, Takeda A. Role of TPPP/p25 on  $\alpha$ -synuclein-mediated oligodendroglial degeneration and the protective effect of SIRT2 inhibition in a cellular model of multiple system atrophy. *Neurochem Int.* 57: 857-66, 2010.
- Kikuchi A, Takeda A, Okamura N, Tashiro M, Hasegawa T, Furumoto S, Kobayashi M, Sugeno N, Baba T, Miki Y, Mori F, Wakabayashi K, Funaki Y, Iwata R, Takahashi S, Fukuda H, Arai H, Kudo Y, Yanai K, Itoyama Y. In vivo visualization of alpha-synuclein deposition by carbon-11-labelled 2-[2-(2-dimethylaminothiazol-5-yl)ethenyl]-6-[2-(fluoro)ethoxy]benzoxazole positron emission tomography in multiple system atrophy. *Brain.* 133: 1772-8, 2010.
- Sugeno N, Takeda A, Hasegawa T, Kobayashi M, Kikuchi A, Mori F, Wakabayashi K, Itoyama Y. Serine 129 phosphorylation of alpha-synuclein induces unfolded protein response-mediated cell death. *J Biol Chem.* 283: 23179-88, 2008.

#### 2. 学会発表

- 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)

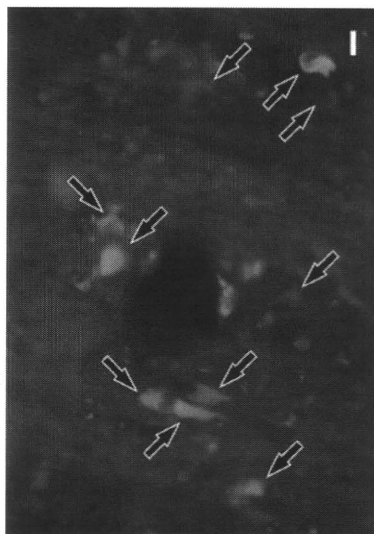
なし

#### F. 健康危険情報

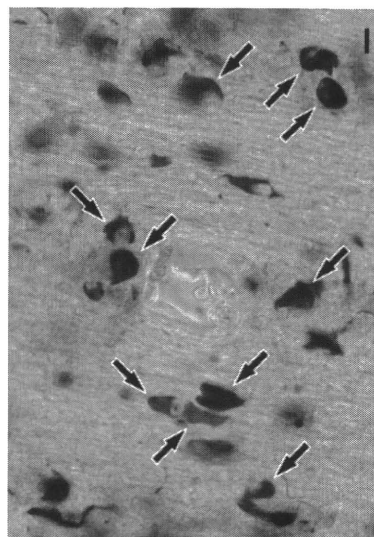
(国民の生命・健康に重大な影響を及ぼす情報として厚生労働省に報告すべきものについて把握した過程、内容、理由を記載する。またその情報源の詳細。)

なし

# グリア細胞質内封入体のBF-227染色



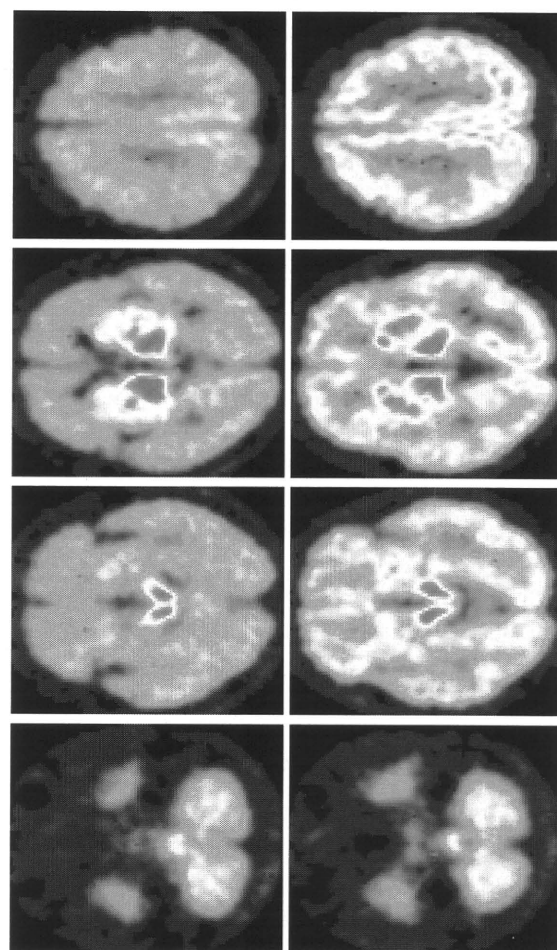
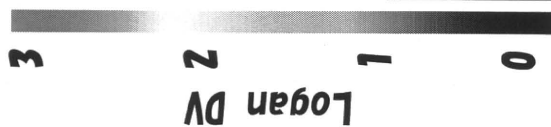
BF-227染色



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(2008-2010 年度)

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

**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) サインペンとA4検査用紙を用い, 手の運動失調を客観的・定量的に評価するソフトの開発を試みた.
- 2) 対象患者にサインペンで渦巻きをなぞらせたり, 10 個の目標に向かい打点をさせ, ソフトを用いてそれぞれ渦巻のずれ面積, 長さのずれ, 打点のずれの長さを計測した.
- 3) SCD, パーキンソン病, 正常コントロールで行った結果, 上記パラメーターは SCD のみで正常コントロールとの有意差がみられた. よって SCD 患者での運動機能評価に用いる事ができる可能性が考えられた.
- 3) SCD で上記パラメーターと SARA, 小脳萎縮度の関係を検討した結果, 渦巻きのずれ面積が最も関連していた.
- 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ようになる.

**A. 研究目的**

従来の運動失調症の評価は, 患者に渦巻きをなぞらせたり打点をさせて, そのずれを観察したり, SARA・ICARS などのスケールを利用するが, いずれも観察者の主観的判断が入り込む. 運動失調症患者で手の運動障害を, 1) 定量的・客観的に評価, 2) 臨床経過を客観的に追跡, 3) 疾患による相違点の有無を評価できる方法を検討した.

**B. 研究方法, 研究結果**

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.

(2008 年度)

脊髄小脳変性症(SCD)23 例(MSA7 例, 遺伝性小脳萎縮症 11 例, 孤発性小脳萎縮症 5 例), パーキンソン病(PD)29 例, 正常対照(NC)22 例で上記 a), b)を行った. 渦巻きでのずれ面積・渦巻き線軌跡長のずれ・打点のずれの平均値は, 統計的に SCD 群と正常群では有意差がみられたが, PD 群と正常群とでは有意差はなかった. 以上より, これらのずれの大きさは SCD における運動障害の評価に有用であると考えられた

(2009 年, 2010 年度)

2009 年度は脊髄小脳変性症(SCD)27 例(MSA-C8 例, 孤発性小脳萎縮症 7 例, 遺伝性小脳萎縮症 12 例), 2010 年度は脊髄小脳変性症



(SCD)36 例(MSA-C11 例、孤発性小脳萎縮症 10 例、遺伝性小脳萎縮症 15 例)に症例を増やし a), b)を行った。a), b)の検査を行うのと同じ日に SARA (Scale for assessment and rating of ataxia)による評価も行った。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。SCD 患者全体では渦巻きでのずれ面積と打点のずれが SARA と有意に相関していた(相関係数はそれぞれ 0.616、0.581)。疾患別にみても、MSA-C では渦巻きの長さのずれで SARA と相関していた。孤発性小脳萎縮症では渦巻きのずれ面積と SARA が相関しており、遺伝性小脳萎縮症では渦巻きのずれ面積と打点のずれで SARA と相関していた。総合的には渦巻きのずれ面積が最も SARA と相関していると考えられた。

脳 MRI を施行したのは 24 例であった。小脳面積比と各パラメーターの関係は、渦巻きずれ面積とのみ有意な逆相関がみられた(相関係数 0.439)。

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・第 51 回本神経学会総会)

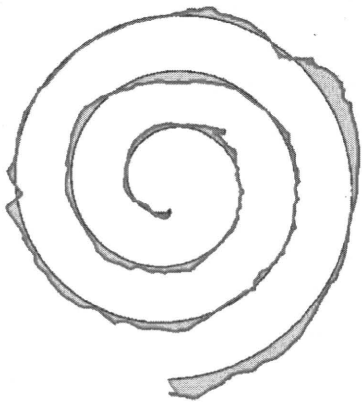
#### E. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)

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）

→  
平成20年度：SCD、パーキンソン病、正常者で比較→渦巻きのずれ面積、長さのずれ、打点のずれはいずれもSCDで正常と有意差がみられた → SCDでの運動障害の評価に有用である可能性



→  
平成21年度、平成22年度：SCD患者の症例を増やし、疾患別に上記パラメータとSARA、小脳萎縮度（小脳/後頭蓋高面積比を利用）の関係を分析

→  
SCD36例（MSA-C11例、孤発性小脳萎縮症11例、遺伝性小脳萎縮症15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。

小脳面積比（小脳/後頭蓋窩）を測定

この簡便な方法で運動失調を客観的・定量的に評価できる