

Figure 1. (A) The LS1 fraction was layered on top of a linear sucrose density gradient ranging from 0.2-2.0M sucrose dissolved in HEPES buffer. Fractions were collected and 15 µl of each fraction were subjected to SDS-PAGE followed by immunoblotting using various markers. (B) Using the results from panel A, immunoreactivity (IR) of each fraction was quantified and graphed as a percentage of each IR to the total immunoreactivities in each markers. DJ-1 had a biphasic profile of the immunoreactivities in fractions 1-8 and fractions 12-14, which indicated that there was some cytosolic fraction and some vesicle fractions. The peak of DJ-1 IR was in agreement with the latter peak of synaptophysin and Rab3A. (C) Primary cortical neurons from the mouse brain were fixed, permeabilized, and immunostained with DJ-1 antibody, and double-stained for synaptophysin and Rab3A. DJ-1 overlapped with synaptophysin and Rab3A. Scale bars = 10µl.

Immunoisolation 法及び Immunoprecipitation 法で検討を行った。 Immunoisolation 法は LS1 画分を等張バッファーで処理して膜器官を保持した状態で、標的蛋白質を pull-down する方法で、同一小胞上に局在するかどうかを検討することができる。DJ-1 は synaptophysin 及び VAMP2 と直接的な結合はないが、同一小胞上に存在する

ことが示された(Figure2A)。また, In vivo での相互作用を検討するため FRET assay を行った。VAMP2 と synaptophysin は FRET を強く検出し, DJ-1 も一部ではあるが synaptophysin との FRET 現象が検出された (Figure 2B)。

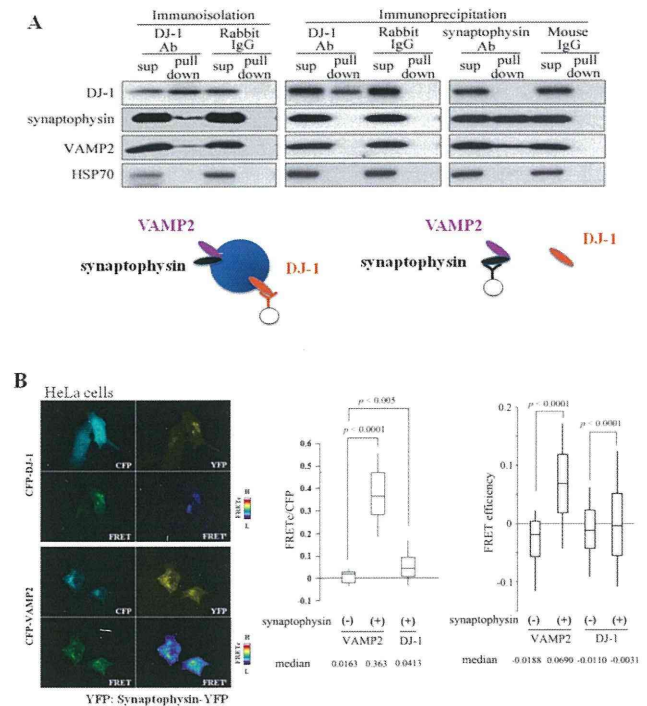


Figure 2. (A) Sucrose buffer or RIPA buffer extracts of the mouse brain synaptic vesicle fractions were immunoisolated or immunoprecipitated using Dyna-beads coated with each antibody. Immunisolates, immunoprecipitates and their corresponding supernatants were subjected to SDS-PAGE followed by immunoblotting using antibodies against the indicated proteins. Synaptophysin and VAMP2 were immunoisolated using Dyna-beads coated with the DJ-1 antibody, but they were not immunoprecipitated with the same bead slurry. Sup, supernatant. (B) HeLa cells expressing CFP-DJ-1 or CFP-VAMP2, and synaptophysin-YFP were subjected to microscopic analysis. FRET was detected in HeLa cells expressing CFP-VAMP2 and synaptophysin-YFP. FRET occurred in small proportion of HeLa cells expressing CFP-DJ-1 and synaptophysin-YFP. Center graph: FRET values calculated for each cell were plotted in the box and whisker plot. Representative data from three-independent experiments are shown. The highest and lowest boundaries of the box represent the 25th and 75th percentiles, respectively, and whiskers above and below the box designate the 10th and 90th percentiles, respectively; the line within the box indicates the median value. Right graph: 293F cells expressing CFP-DJ1 or CFP-VAMP2 and synaptophysin-YFP were subjected to fluorescence lifetime flow cytometry. Fluorescence lifetimes of more than 10,000 cells in every sample were plotted in the box and whisker plot, where the highest and lowest boundaries of the box represent the 25th and 75th percentiles, respectively, and whiskers above and below the box designate the 10th and 90th percentiles, respectively; the line within the box indicates the median value.

免疫染色による検討から、DJ-1 は細胞膜に局在している可能性が考えられたため、培養細胞（PC12 細胞）から膜成分を抽出し検討を行ったところ、DJ-1 は膜に局在していることを明らかにした。そこで、DJ-1 が膜成分に直接結合しているのか、介在蛋白を介して結合しているかを検討するために、protease K 処理で膜表面に局在する蛋白を分解した膜成分と処理していない膜成分に対して、GST-DJ-1 リコンビナント蛋白を反応させた。結果はどちらの膜成分にも GST-DJ-1 リコンビナント蛋白を示す免疫活性を認めた (Figure 3)。

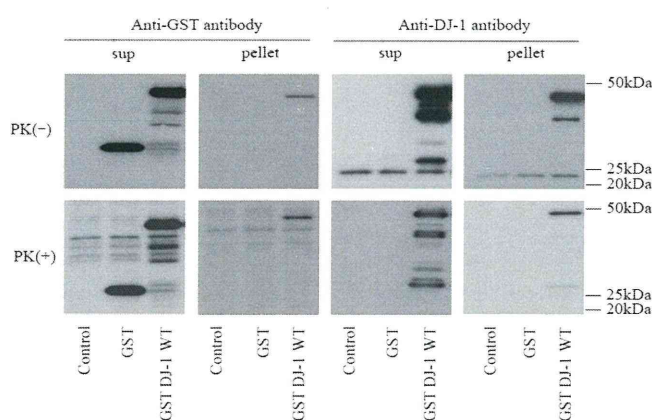


Figure 3. Recombinant DJ-1 wild type (WT), fused at its N terminus to the GST protein, was reacted with PC12 membranes or PK-treated membranes for 60 min at 30°C. The GST-tagged protein, which served as a negative control, was also reacted. The reacted samples were centrifuged and divided into supernatant and pellet. Both supernatant and pellet were subjected to SDS-PAGE followed by immunoblotting. Anti-GST antibody detected the band of GST-DJ-1 WT recombinant protein in the pellet fraction, whereas the GST-tagged protein was not detected in the pellet fraction. GST-DJ-1 WT recombinant protein directly associated with the plasma membrane in the *in vitro* assay.

さらに、病的変異型で結合能に変化がないかどうかを検討した。DJ-1 が介在蛋白を介さずに直接結合する可能性が高いことから、内因性の DJ-1 の影響を受けないように、DJ-1 ノックアウトマウスの LS1 画分を用いて検討を行った。LS1 画分に recombinant protein を反応させ、26 万 G の超遠心にかけて vesicle fraction である LP2 と cytosol fraction である LS2 に分画した。L166P のみ有意差をもって膜成分との結合能が低下しているこ

とが分かった (Figure 4A, B)。そこで、*In vivo* の実験として、DJ-1 の病的変異の FLAG tag を HeLa 細胞に transfection させて局在検討を行った。WT 及びその他の病的変異は細胞質中心にび慢性に局在していたが、L166P は細胞膜近傍に DJ-1 が局所的に局在していた (Figure 4C)。

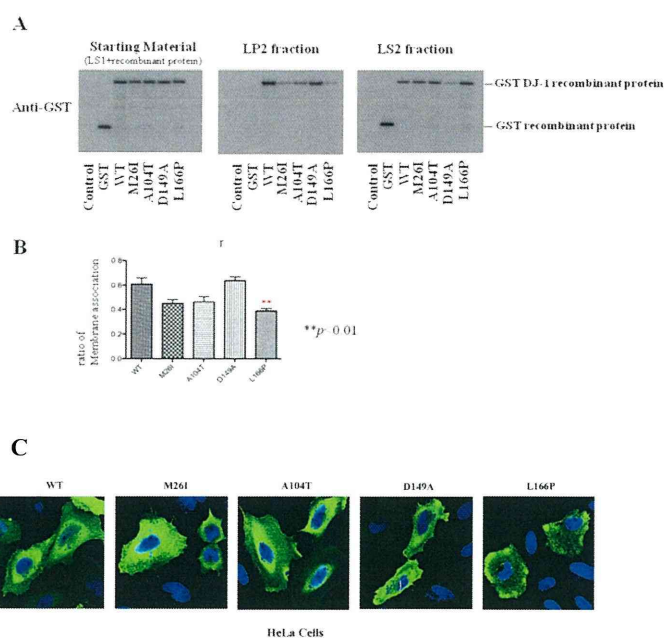


Figure 4. (A) LS1 fraction of DJ-1 KO mouse was reacted for 20 min at 30°C with 500 nM GST recombinant protein, WT, or various mutants. Each of the bound proteins was divided into an LP2 fraction (synaptic vesicles) and LS2 fraction (synaptic cytosol) by ultra-centrifugation at 260,000 *g* for 2 h at 4°C. The samples were subjected to SDS-PAGE followed by immunoblotting. The A104T, L166P, and M26I mutations also had lower bands corresponding to synaptic vesicles (LP2 fraction), compared to WT and D149A DJ-1. The GST-tagged protein, which served as a negative control was not detected. (B) Quantitative data from three independent experiments showed that the L166P mutant has reduced binding ability with the synaptic membrane. Immunoreactivity was quantified and expressed as percentage of bound (LP2) to total DJ-1 protein (LP2 + LS2). The data were plotted as the mean \pm SEM. **, $P < 0.001$ vs. WT, one-way ANOVA with Dunnett's Multiple Comparison Test. The other mutations were not statistically significant. The data was analyzed by GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc.). (C) HeLa cells were transfected with expression vectors for FLAG-DJ-1 WT, M26I, A104T, D149A, or L166P. After 24 hours immunocytochemistry assay was performed on the cells. WT and the other mutant except the L166P mutant present diffusely in subcellular distribution. WT is localized to cytosol and punctate spots. Similar results were obtained for mutants DJ-1, except for L166P. L166P localized near the plasma membrane.

D. 考察

DJ-1 はシナプス小胞に局在することが確認さ

れた。なかでも, Rab3A, synaptophysin と局在を共にしているため放出能に関するシナプス小胞に局在する可能性が示唆された。

Immunoisolation 法の結果からシナプス小胞の表面に局在し, FRET assay より DJ-1 の一部は synaptophysin の近傍に局在していることが示唆された。また, DJ-1 は他の蛋白を介さず細胞膜に直接結合し, L166P は WT と比較して膜への結合能が低い可能性が示唆された。

E. 結論

DJ-1 はシナプス小胞に局在し膜輸送の機能を持ち, その破綻が病気の原因となる可能性が示された。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Usami, Y., et al., 2011. DJ-1 associates with synaptic membranes. *Neurobiology of Disease* 43, 651-662.

2. 学会発表

第 52 回神経総会—DJ-1 の細胞内局在に関する検討—ポスター発表

若年発症パーキンソン病とミトコンドリア機能異常

研究分担者 服部信孝^{1) 4)}

研究協力者 佐藤栄人¹⁾、天羽 拓²⁾、斉木臣二¹⁾、太田成男³⁾

- 1) 順天堂大学脳神経内科, 2) 防衛大学校応用科学, 3) 日本医科大学老人病研究所
4) 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

家族性パーキンソン病の中にあつて Parkin と PINK1 を原因遺伝子とする若年発症パーキンソン病はミトコンドリア機能異常がその病態の中核をなす疾患として注目されている。PINK1 は損傷ミトコンドリアを認識し除去することにより細胞内環境を健全に保つ機能を有するが、一方でミトコンドリアに局在しミトコンドリア呼吸機能にも重要な働きをもつことが明らかになってきた。

A. 研究目的

Parkin 遺伝子変異の頻度は家族性のパーキンソン病の最も多くの割合を占め、PINK1 の遺伝子変異も比較的多いことがわかってきた。この2つの疾患は若年発症であることやドーパミンが比較的有効であることなど非常に類似の疾患である。若年発症パーキンソン病の遺伝子産物 PINK1 の作用としてミトコンドリアの品質管理が注目されている。すなわち膜電位の低下した異常ミトコンドリアを認識し、選択的にクリアランスすることにより細胞内環境を維持するメカニズム(ミトファジー)に関与するとの知見が明らかになった。その一方で、ミトコンドリアにも局在する PINK1 自身がミトコンドリア機能にいかに関与しているかは未だ不明な点が多い。そこで我々は PINK1 ノックアウト MEF を用いて呼吸鎖や膜電位への影響を詳細に検討した。

B. 研究方法

PINK1 ノックアウトマウス胎児由来の MEF 細胞を不死化し、PINK1 ノックアウト株と野生株をグルコース培地とガラクトース培地で培養する

ことによりミトコンドリア呼吸依存的な増殖率を比較検討した。さらにミトコンドリアを抽出し Oxygen Meter と Mitocell MT 2000 により単位細胞当たりの酸素消費を定量することにより呼吸能を比較した。MEF からミトコンドリア分画を抽出し単位ミトコンドリア当たりの呼吸機能を Modular Kinetic Analysis により測定した。MEF の単位細胞あたりの ROS の産生とプロトンリークを測定し比較した。また免疫染色によるミトコンドリアの形態や膜電位の変化を観察した。

C. 研究結果

PINK1 ノックアウト MEF ではガラクトース培地にて増殖の低下が顕著であった。また PINK1 をノックアウトすることによりミトコンドリアからのプロトンリークや ATP 合成能には変化は認められないものの、基質酸化能は低下していることが判明した。さらにはミトコンドリアの膜電位も低下を認めると共に、細胞当たりの ATP は PINK1 ノックアウト MEF では約 80 パーセントに低下していた。

D. 考察

PINK1 ノックアウトMEFはガラクトース培地中で明らかに増殖率が低下する。ガラクトース培地中ではミトコンドリア呼吸依存的な呼吸が必要になってくるため、このような結果はPINK1 ノックアウトMEFがミトコンドリア呼吸能に障害をもつことを示唆している。実際に細胞当たりの呼吸能を詳細に検討すると基質酸化能の低下が認められるために二次的に膜電位が低下していることが考えられた。このような膜電位の低下した異常ミトコンドリアは本来であればミトファジーによって除去される運命にある。その結果として細胞内環境が健全に保たれるはずであるが、PINK1自身の機能が十分でない場合はミトファジーを誘導できなくなるため、異常なミトコンドリアを除去できずに結果として細胞内に蓄積する。この悪循環による異常ミトコンドリアの蓄積が若年発症の原因の一因であると推測される。

E. 結論

- 1) PINK1はミトコンドリア呼吸能の維持のために重要な機能を有する。
- 2) 異常ミトコンドリアの蓄積が若年発症に起因する。

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. Sato S, Hattori N. Genetic mutations and mitochondrial toxins shed new light on the pathogenesis of Parkinson's disease. *Parkinsons Dis.* 979231:2011
2. Kawajiri S, Saiki S, Sato S, Hattori N. Genetic mutations and functions of PINK1. *Trends Pharmacol Sci.* 32:573-80:2011
3. Usami Y, Hatano T, Imai S, Kubo S, Sato S, Saiki S, Fujioka Y, Ohba Y, Sato F, Funayama M, Eguchi H, Shiba K, Ariga H, Shen J,

Hattori N. DJ-1 associates with synaptic membranes. *Neurobiol Dis.* 43:651-62:2011

4. Amo T, Sato S, Saiki S, Wolf AM, Toyomizu M, Gautier CA, Shen J, Ohta S, Hattori N. Mitochondrial membrane potential decrease caused by loss of PINK1 is not due to proton leak, but to respiratory chain defects. *Neurobiol Dis.* 41:118-8:2011

2. 学会発表

神経学会総会 平成23年5月 名古屋国際会議場

H. 知的所有権の取得状況（予定を含む）

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他

パーキンのミトコンドリア膜電位に対する影響

研究分担者 梶 龍児¹⁾

研究協力者 三ツ井貴夫²⁾，牧(黒田)由紀子²⁾，十河正子²⁾，川村和之³⁾

- 1) 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部感覚情報医学講座神経情報医学分野
2) 国立病院機構徳島病院 臨床研究部， 3) 国立病院機構 徳島病院 神経内科

研究趣旨

我々は、パーキンは増殖状態にある細胞では、ミトコンドリア内に局在し、ミトコンドリアの biogenesis を促進することを以前に報告した。本研究では、ミトコンドリア膜電位とパーキンの細胞内局在との関係を検討した。GFP-パーキンを導入した細胞では、ミトコンドリア一致して強い GFP シグナルを有する細胞と、細胞質に弱い GFP シグナルがび慢性に存在する細胞が混在していた。前者の細胞ではミトコンドリアの膜電位は著明に増大し、この現象は CCCP 処理を行った場合にも認められた。Klokin 1 を導入した細胞では、ミトコンドリア一致して強い GFP-パーキンのシグナルを有する細胞が有意に増加し、逆に siRNA により Klokin 1 発現を抑制した細胞では、そのシグナルは減少した。ミトコンドリア内に局在するパーキンは、その膜電位を維持するように作用すること、Klokin 1 はパーキンのミトコンドリア局在を促進することが示唆された。

A. 研究目的

パーキンは遺伝性パーキンソン病の原因遺伝子であり、その転写産物であるパーキン蛋白の機能として、ミトコンドリアのオートファジーが注目されている。すなわち、細胞内において細胞質に存在するパーキンは、膜電位の低下したミトコンドリアに集積し、ユビキチン・プロテオゾームシステムを介し、そのミトコンドリアを処理することが報告されている。一方、我々は、パーキンは増殖状態にある細胞では、ミトコンドリア内に局在し、ミトコンドリアの biogenesis を促進することを以前に報告した。本研究では、ミトコンドリア膜電位とパーキンの細胞内局在との関係を検討した。

B. 研究方法

培養細胞系：COS1 において GFP パーキンを導入し、その局在とミトコンドリアとの関係を検討した。また、細胞あたりの GFP シグナルを定量し、細胞内局在でそのシグナルがどのように変化するかを検討した。siRNA を用いて Klokin 1 とパーキンの内因性蛋白を抑制し、あるいは Klokin 1 とパーキンの遺伝子導入を行い、ミトコンドリアにおける膜電位がどのように変化するかを TMRM を用いて検討した。

C. 研究結果

GFP-Parkin を COS1 細胞に導入し、その局在とミトコンドリアとの関係を検討した（図1）。ミトコンドリアは CMXRosde 検出した。CCCP 非添加時に強い GFP シグナルがミトコンドリアに一致して観察された。一方、弱い GFP シグナルはび慢性に細胞質に広がって観察された。CCCP 添加時には、

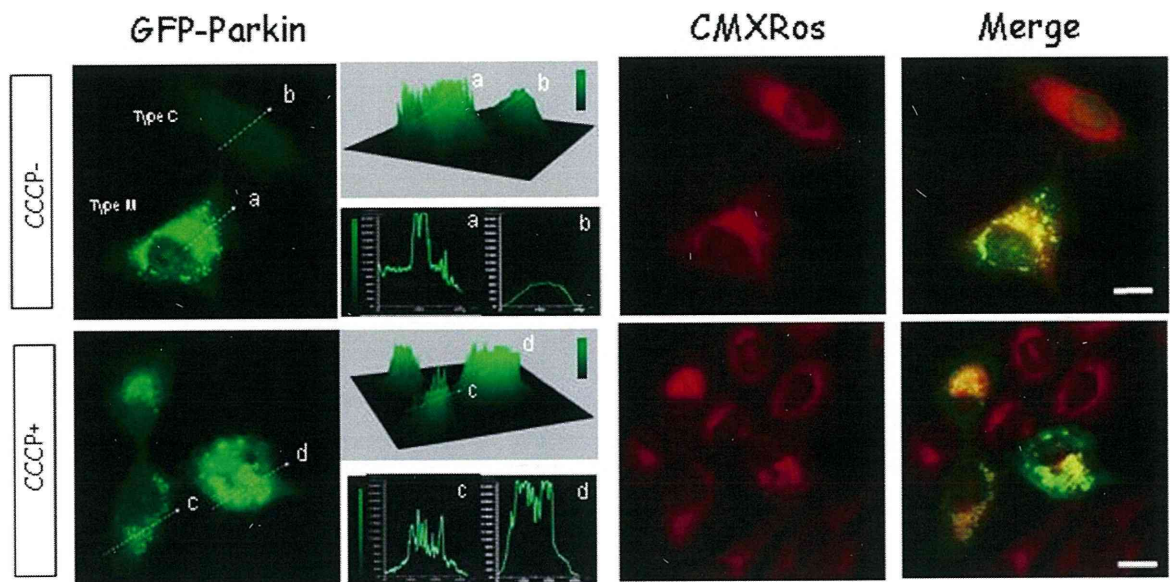


図1 GFP-Parkin を COS1 細胞に導入し、その局在とミトコンドリアとの関係を検討した。ミトコンドリアは CMXRos で検出した。CCCP 非添加時に強い GFP シグナルがミトコンドリアに一致して観察された。一方、弱い GFP シグナルはび慢性に細胞質に広がって観察された。CCCP 添加時には、び慢性に細胞質に広がって観察された GFP シグナルは減少し、ミトコンドリアに一致して観察される弱い GFP シグナルが増加した。一方強い GFP シグナルは CCCP 添加時においてもミトコンドリアに一致して観察された。

び慢性に細胞質に広がって観察された GFP シグナルは減少し、ミトコンドリアに一致して観察される弱い GFP シグナルが増加した。一方強い GFP シグナルは CCCP 添加時においてもミトコンドリアに一致して観察された。

GFP-Parkin を COS1 細胞に導入し、その局在とミトコンドリア膜電位との関係を検討した(図2)。ミトコンドリア膜電位は TMRM で検出した。CCCP 非添加時に強い GFP シグナルがみとめられたミトコンドリアは深い膜電位が観察された。一方、弱い GFP シグナルはび慢性に細胞質に広がって観察され、その細胞では浅い膜電位がみられた。CCCP 添加時には、び慢性に細胞質に広がって観察された GFP シグナルは減少し、ミトコンドリアに一致して

観察される弱い GFP シグナルが増加した。その細胞では膜電位も浅いものであった。一方強い GFP シグナルが観察された細胞では CCCP 添加時においてもミトコンドリアの膜電位は深く保たれていた。

Klokin 1 を GFP パーキンと同時に導入した細胞では、ミトコンドリア一致して強い GFP-パーキンのシグナルを有する細胞が有意に増加した ($p < 0.01$)。逆に siRNA により Klokin 1 発現を抑制した細胞では、ミトコンドリア一致して強い GFP-パーキンのシグナルは有意に減少した ($p < 0.01$)。

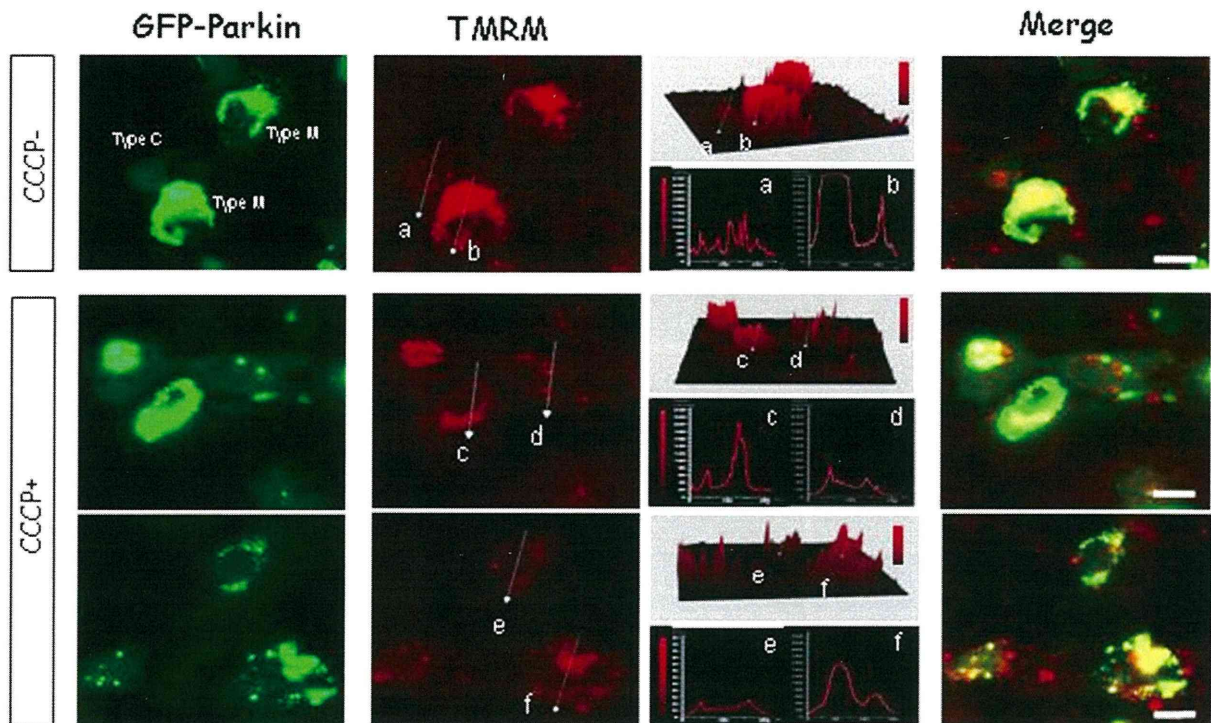


図2 GFP-Parkin を COS1 細胞に導入し、その局在とミトコンドリア膜電位との関係を検討した。ミトコンドリア膜電位は TMRM で検出した。CCCP 非添加時に強い GFP シグナルがみとめられたミトコンドリアは深い膜電位が観察された。一方、弱い GFP シグナルはび慢性に細胞質に広がって観察され、その細胞では浅い膜電位がみられた。CCCP 添加時には、び慢性に細胞質に広がって観察された GFP シグナルは減少し、ミトコンドリアに一致して観察される弱い GFP シグナルが増加した。その細胞では膜電位も浅いものであった。一方強い GFP シグナルが観察された細胞では CCCP 添加時においてもミトコンドリアの膜電位は深く保たれていた。

D. 考察

GFP-パーキンを導入した細胞では、ミトコンドリア一致して強い GFP シグナルを有する細胞と、細胞質に弱い GFP シグナルがび慢性に存在する細胞が混在していた。前者の細胞ではミトコンドリアの膜電位は著明に増大し、この現象は CCCP 処理を行った場合にも認められた。Klokin 1 を導入した細胞では、ミトコンドリア一致して強い GFP-パーキンのシグナルを有する細胞が有意に増加し、逆に siRNA により Klokin 1 発現を抑制した細胞では、そのシグナルは減少した。これらのこ

とは、GFP パーキンは細胞内で 2 種類の局在のパターンをとっていることが考えられた。そして、ミトコンドリア一致して強い GFP シグナルを有する細胞では CCCP 処理に対しても、膜電位を維持するように作用していることが推定された。また、Klokin 1 の存在がパーキンのミトコンドリア局在を促進することが強く示唆された。

E. 結論

ミトコンドリア内に局在するパーキンは、その膜電位を維持するように作用すること、Klokin 1

はパーキンのミトコンドリア局在を促進することが示唆された。

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「徳島病院遺伝子組換え 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. Takao Mitsui, Yukiko Kuroda, Shu-ichi Ueno, Ryuji Kaji. The effects of FK506 on refractory inflammatory myopathies. *Acta Neurol. Belg.* 2011; 111, 188-194
2. Kuroda Y, Sako W, Goto S, Sawada T, Uchida D, Izumi Y, Takahashi T, Kagawa N, Matsumoto M, Matsumoto M, Takahashi R, Kaji R, Mitsui T. Parkin interacts with Klokin1 for mitochondrial import and maintenance of membrane potential. *Hum Mol Genet.* 2011 Nov 25. [Epub ahead of print]
3. Arii Y, Inui T, Asanuma K, Izumi Y, Kaji R, Mitsui T. A new rehabilitation strategy for patients with Parkinson disease: a proposal of mentality-orientated rehabilitation. *Brain Nerve.* 2011 Aug;63(8):878-83.
4. Kuroda Y et al. Parkin enhances mitochondrial biogenesis in proliferating cells. *Hum Mol Genet.* 15(6):883-95, 2006.
5. 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. 三ッ井貴夫、牧(黒田)由紀子、乾俊夫、梶 龍児：

ミトコンドリア遺伝子の転写後修飾に対するパーキンの関与。第 52 回日本神経学会総会、2011 年 5 月

2. 牧(黒田)由紀子、藤本美希、川村和之、三ッ井貴夫、梶龍児、佐光亘、後藤恵、和泉唯信、梶龍児、澤田知世、高橋良輔：パーキンの細胞内局在・機能に対する関連蛋白の関与。第 52 回日本神経学会総会、2011 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 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

AADC 欠損症の遺伝子治療

研究分担者 村松慎一¹⁾

研究協力者 Wuh-Liang Hwu²⁾, Sheng-Hong Tseng³⁾, Kai-Yuan Tzen⁴⁾, Ni-Chung Lee²⁾, Yin-Hsiu Chien²⁾, Richard O. Snyder⁵⁾, Barry Byrne⁵⁾, Chun-Hwei Tai²⁾, Ruey-Meei Wu⁶⁾

1)自治医科大学 神経内科学, 2)Department of Pediatrics and Medical Genetics, 3)Surgery, 4)Nuclear Medicine, and 6)Neurology, National Taiwan University College of Medicine, 5)Powell Gene Therapy Center, University of Florida, College of Medicine.

研究要旨

芳香族アミノ酸脱炭酸酵素 (AADC)の先天性欠損症の4人を対象として、AADC 遺伝子を発現するアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを両側の被殻に注入する遺伝子治療を国立台湾大学で実施した。治療後、体重が増加し発達スコアが改善した。PET では被殻の FDOPA 集積が増加し、髄液中のドパミン代謝産物が増加した。術後数か月の間、orofacial dyskinesia が認められた。

A.研究目的

ドパミンとセロトニンの合成に必要な芳香族アミノ酸脱炭酸酵素 aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC)の先天性欠損症は世界で78例という稀な疾患であるが、台湾では共通する遺伝子変異により32例が報告されている。主な症状は、筋力低下、oculogyric crisis、ジストニアなどの運動障害で、有効な治療法がないため大部分は小児期に亡くなる。アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを使用した AADC 遺伝子治療を国立台湾大学で実施した。

B.研究方法

対象は、台湾在住の4歳3か月～6歳3か月までの AADC 欠損症4名（女児3，男児1）.共通の遺伝子変異として IVS6+4A>T が同定されている。4人とも筋力低下、oculogyric crisis、ジストニアがあり寝たきり状態となっていた。パーキンソン病の遺伝子治療と同様の CMV プロモーター下流にヒト AADC cDNA を搭載した2型 AAV ベクターを使用した。定位脳手術により両側の被殻に合計 1.6×10^{11} vector genome を投与した。片側の被殻あたり2ポイント、1ポイント 80 μ l を注入した、運動症状を video 記録し、The Alberta Infant Motor Scale (AIMS)などの発達スコアで評価した。治療前後で 6-[¹⁸F]fluorodopa (FDOPA)をトレーサーとした PET を実施し、髄液の homovanillic acid (HVA), 5-hydroxyindoleacetic acid (HIAA),

3-O-methyldopa, L-DOPA を測定した。

(倫理面への配慮)

遺伝子治療の実施に際しては、国立台湾大学の倫理委員会の承認と、患児の両親から文書による同意を得た。

C.研究結果

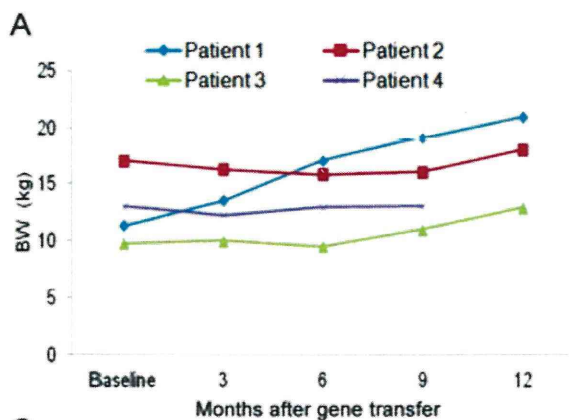
治療前には定額せず寝たきりの状態であったが、遺伝子治療後、体重が増加し発達スコアも徐々に改善した（図1）。遺伝子導入3～6か月後より発達の改善が明らかになり、1例目では13か月後に自分で座れるようになった。Oculogyric crisis は頻度が減少し程度も軽減した。FDOPA-PETでは、術後に集積が増加し導入した AADC 遺伝子の発現によるものと考えられた。髄液では HVA と HIAA の増加が認められた。術後数か月の間、orofacial dyskinesia が認められた。

表：遺伝子治療対象患児の背景

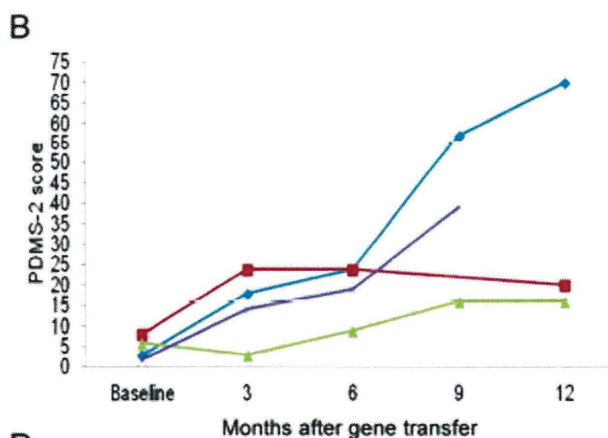
患者	1	2	3	4
性別	女	男	女	男
年齢	4歳 3月	4歳 5月	4歳 6月	6歳 3月
体重 kg	10.5	17	9.8	13
遺伝子変異	IVS6+4A>T IVS6+4A>T	同左	同左	IVS6+4A>T c.1297_1298insA

図1：遺伝子治療の効果

A: 体重の増加



B: 発達スコアの改善



PDMS-II : the Peabody Developmental Motor Scale Second Edition.

D. 考察

台湾における AADC 欠損症 20 人の自然経過の調査では、全員が定額することなく低体重となっており、Oculogyric crisis, ジストニア, 舞踏様運動などの運動障害が認められる。今回、被殻への AADC 遺伝子導入により、体重増加, 運動発達, 不随意運動の軽減が得られた。使用した AAV ベクターと定位脳手術の手技は、これまでにパーキンソン病の遺伝子治療で臨床応用されているものと同様であり、被殻内では主に medium spiny neuron に遺伝子導入されていると推察される。経過中認められた口舌ジスキネジアは、一時的にドパミン受容体の過剰刺激が生じ

た可能性が示唆される。AADC 欠損症では、パーキンソン病と異なり、黒質からの神経終末は保たれているので、より生理的な治療としては黒質への遺伝子導入が考えられる。しかし、中脳への定位脳手術のリスクを考慮する必要がある。また、今後の検討課題として、さらに広範な領域への遺伝子導入が必要かどうか、より早期に遺伝子治療を実施すべきかどうかなどが挙げられる。

E. 結論

AADC 欠損症に対して、両側の被殻内に AAV-AADC を注入する遺伝子治療を実施した。重篤な副作用はなく、運動発達の改善が認められた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Asari S, Fujimoto K, Miyauchi A, Sato T, Nakano I and Muramatsu S: Subregional 6-¹⁸F]fluoro-L-m-tyrosine uptake in the striatum in Parkinson's disease. BMC Neurol, 11-35, 2011.
- Tokuoka H, Muramatsu S, Ichinose C, Sakane H, Kojima M, Aso Y, Nomura T, Metzger D and Ichinose H: Compensatory regulation of dopamine after ablation of the tyrosine hydroxylase gene in the nigrostriatal projection. J Biol Chem, 286(50):43549-43558.
- Miyamoto M, Miyamoto T, Iwanami M, Muramatsu S, Asari S, Nakano I and Hirata K: Preclinical substantia nigra dysfunction in rapid eye movement sleep behaviour disorder. Sleep Med, 2011, doi:10.1016/j.sleep.2011.03.024.
- Muramatsu S, Asari S: Assessment of dopaminergic function in Parkinson's disease by SPECT/PET. Horizons in Neuroscience Research Volume 7, Nova Publishers, *in press*.
- Muramatsu S: Gene therapy for continuous dopamine production in Parkinson's disease. Dopamine: Functions, Regulation and Health Effects, Nova Publishers, *in press*.
- Kondo Y, Okuno T, Asari S and Muramatsu S: Cell therapy for Parkinson's disease. Clinical implications of fetal transplantation in Medicine (editors: Stubblefield P and Bhattacharya N), Springer-Verlag, *in press*.

2.学会発表

1. 村松慎一: パーキンソン病の遺伝子治療. 第9回遺伝子治療シンポジウム, 2011年2月1日, 大阪.
2. 村松慎一: 神経変性疾患の遺伝子治療～AAVベクターの応用～. 第4回 *In vivo* 実験医学シンポジウム～「*In vivo* 実験医学の今後の展望」～, 2011年2月23日, 東京. (プログラム p34-35)
3. Muramatsu S: Promise of gene therapy in PD. 3rd Asian and Oceanian Parkinson's Disease and Movement Disorders Congress (AOPMC), March 27, 2011, Taipei.
4. Muramatsu S: Gene and stem cell therapy in Parkinson's disease. 8th International Symposium of Asian and Pacific Parkinson Association (APPA), March 27, 2011, Taipei.
5. 村松慎一, 奈良優子, 浅利さやか, 宮内ひとみ, 綾部啓子, 滝野直美, 中野今治, 嶋崎久仁子: 血管内投与型AAVベクターによる乏突起膠細胞への遺伝子導入. 第52回日本神経学会学術大会, 2011年5月18日, 名古屋. (プログラム p285)
6. Muramatsu S: Gene therapy for Parkinson's disease: Strategies for the local production of dopamine. The Federation of European Biochemical Societies 36th FEBS Congress, June 30, 2011, Torino.
7. Muramatsu S: A phase I study of aromatic L-amino acid decarboxylase gene therapy for Parkinson's disease. The 17th Annual Meeting of the Japan Society of Gene Therapy, 2nd Takara Bio Award Lecture, July 15, 2011, Fukuoka. (abstract p102)
8. Muramatsu S, Fujimoto K, Kato S, Asari S, Mizukami H, Ikeguchi K, Kawakami T, Urabe M, Kume A, Sato T, Watanabe E, Ozawa K and Nakano I: AADC gene therapy for Parkinson's disease: Four years of follow-up. The 17th Annual Meeting of the Japan Society of Gene Therapy, Best Presentation, July 15, 2011, Fukuoka. (abstract p107)
9. Muramatsu S: In vivo imaging in cell and gene therapy for Parkinson's disease. The 17th Annual Meeting of the Japan Society of Gene Therapy, July 17, 2011, Fukuoka. (abstract p91)
10. 村松慎一, 浅利さやか, 川上忠孝, 池口邦彦, 中野今治, 水上浩明, 卜部匡司, 久米晃啓, 小澤敬也, 加藤正哉, 渡辺英寿, 佐藤俊彦: パーキンソン病の遺伝子治療. 平成23年度 第10回自治医科大学

シンポジウム, 2011年9月2日, 自治医科大学 地域医療情報研修センター. (プログラム p14)

11. Muramatsu S: Gene therapy for Parkinson's disease: Four years follow-up. The 8th International Symposium, September 21, 2011, Nikko. (abstract p20-21)
12. Muramatsu S: Gene therapy: the state of the art. 6th International Expert Meeting on the Treatment of Parkinson's disease, Oct 30, 2011, Tokyo.

H.知的所有権の取得状況

該当無し

パーキンソン病患者脳脊髄液におけるビオプテリン量と発症年齢、 症状との関連について

研究分担者 長谷川一子¹⁾

研究協力者 一瀬 宏²⁾，小柴梢子²⁾，横山照夫¹⁾，堀内恵美子¹⁾

1) 国立病院機構相模原病院神経内科，2) 東京工業大学大学院生命理工学研究科

研究要旨

脳脊髄液(CSF)中に存在するビオプテリンは、黒質線条体系ドーパミンニューロンの指標と考えられるため、PARK8 患者および特発性パーキンソン病患者において CSF 中のビオプテリン量を測定し、症状や発症年齢との関連を検討した。PARK8 患者では PD 症状と CSF 中ビオプテリン量の間には負の相関関係が認められたが、特発性 PD 患者においては、明瞭な相関関係は認められなかった。しかし、特発性 PD 患者を、薬剤応答性を指標にして分類してみると、薬剤反応性が良好なグループでは、PARK8 患者と同様に発症年齢が 60 歳以前の患者が多く、相対的に発症年齢が早く、CSF 中ビオプテリン量と重症度との間にも弱い相関関係があった。薬剤応答性が悪いグループでは、症状に比べてビオプテリンが低値を示す傾向があった。今後さらに、症例数を増やして検討すると共に、多系統萎縮症等の類縁疾患も含めて、黒質線条体系ドーパミンニューロン残存量の指標としての CSF 中ビオプテリン量の有用性についてさらに検討を進めていく。

A. 研究目的

テトラヒドロビオプテリンは、チロシン水酸化酵素やトリプトファン水酸化酵素の補酵素としてドーパミン・ノルアドレナリン・セロトニンなどのモノアミン系神経伝達物質の生合成に必須な化合物である。テトラヒドロビオプテリンは血液脳関門をほとんど通過できないため、脳内で必要とされるビオプテリンはグアノシン三リン酸（GTP）から脳内で生合成されている。脳脊髄液（CSF）中に存在するビオプテリンは、その 8 割が黒質線条体系ドーパミンニューロンに由来することが、6-ヒドロキシドーパミンを用いたドーパミンニューロンの破壊実験から報告されている。パーキンソン病（PD）は黒質線条体系ドーパミンニューロンの変性により発症する疾患であるため、PD 患者 CSF 中のビオプテリン量は低下していることは、これまでも報告されている。

我々は昨年度の報告において、遺伝性パーキンソ

ン病の一つである PARK8 患者では、同程度の症状を有する特発性 PD 患者より CSF 中ビオプテリン量が有意に高いことを報告した[Koshiba et al. (2011) *J Neural Transm*]. CSF 中ビオプテリン量が黒質線条体系ドーパミンニューロン変性の程度を反映していると考え、我々の結果は、PARK8 患者では同程度の症状を示す特発性 PD 患者より黒質線条体系ドーパミンニューロンの変性がマイルドであることを示唆した。PARK8 患者での病理学的所見・PET 解析・モデル動物を用いた解析などの研究からも、神経変性が PARK8 患者でマイルドであることをサポートする結果が集積しつつある。

我々は、CSF 中ビオプテリン量と、PARK8 患者および特発性 PD 患者の症状や発症年齢、薬剤応答性との間にどのような関連がみられるかについて検討した。

B. 研究方法

患者 CSF 中のネオプテリン・ビオプテリン量は、高速液体クロマトグラフィ-蛍光検出法により定量した。ドーパミン代謝物であるホモバニリン酸

(HVA)、セロトニン代謝物である 5-ヒドロキシインドール酢酸(5HIAA)は、高速液体クロマトグラフィ-電気化学検出法により定量した。有意差の検定には Mann-Whitney's U-test を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立病院機構相模原病院および東京工業大学の倫理委員会の承認のもとに行った。

C. 研究結果

PD 患者の症状の指標として、Hoehn/Yahr 重症度分類 (H/Y ステージ) を用いた。PARK8 患者において Off 時の H/Y ステージと CSF 中のビオプテリン量をプロットすると、例数は多くないものの症状が進行すると共にビオプテリン量が低下するという負の相関が認められた (図 1)。

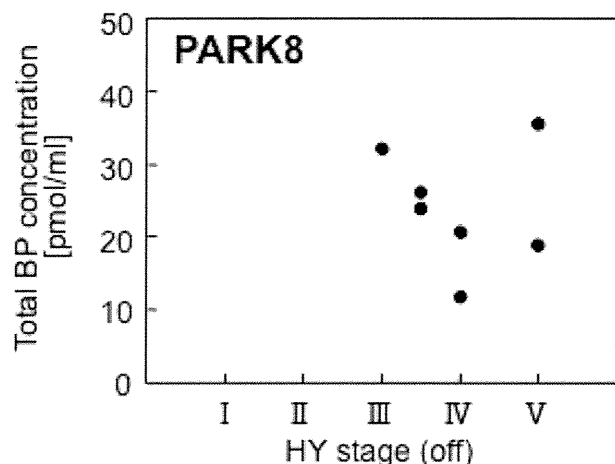


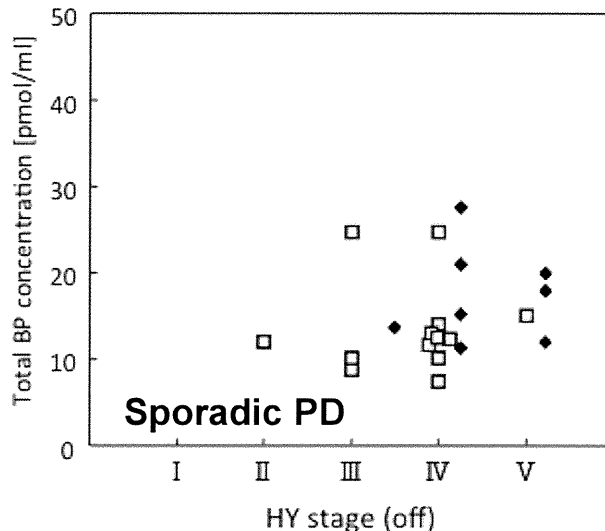
図 1. PARK8 患者 CSF 中ビオプテリン量と重症度の関連

一方、特発性 PD 患者においては、H/Y ステージが 3 前後でも CSF 中のビオプテリン量が低値を示す患者もおり、症状とビオプテリン量の間には明瞭な相関関係は認められなかった (図 2)。

今回対象とした PARK8 患者は、L-DOPA 治療応答性がよく平均発症年齢が 53.6 歳であったのに対して、特発性 PD 患者 21 例の平均発症年齢は 63.4 歳であり、PARK8 患者の方が約 10 歳早く発症して

いた。特発性 PD 患者を詳細に検討し、薬物治療による応答性が長期にわたって良好な群と、薬剤応答性が悪い群の 2 群に分類してみた。その結果、治療応答性が良好な群では 60 歳以前に発症している患者が多かったのに対して、治療応答性が悪い群では 60 歳後半に発症している患者が多く、発症年齢に明らかな違いが見られた。

さらに、CSF 中のビオプテリン量に関しても、治



療応答性が良い群では重症度とビオプテリン量の間には負の相関を示す傾向がみられた。それに対して、治療応答性が悪く発症年齢が高い群においては PD の症状とビオプテリン量の間には相関がなく、症状が軽度でも低いビオプテリン値を示した (図 2)。

図 2. 特発性 PD 患者 CSF 中ビオプテリン量と重症度の関連 ◆: 薬剤反応性がよく発症年齢が相対的に早いグループ; □: 薬剤反応性が悪く発症年齢が相対的に遅いグループ

D. 考察

本研究から特発性 PD 患者において、症状が軽くても CSF 中のビオプテリン量が低い患者と、PARK8 患者と同様に症状の進行と共にビオプテリン量が低下していく患者がいることが示唆された。

CSF 中のビオプテリン量が黒質線条体系ドーパミンニューロンの残存量の指標と考えると、特発性 PD 患者でなぜ症状とビオプテリン量の間には明確な

相関がないのかということが疑問となる。比較的高齢発症で薬剤応答性が悪い患者で、症状に比べてビオプテリンが低値を示す患者が多かったことを考えると、これらの患者ではドーパミンニューロンのシグナルを受け取る線条体のニューロンも異常を起していることが考えられる。老化による脳の全般的萎縮や、多系統萎縮症の患者のように、脳全体のニューロンの変性が進行していく途上にあると考えると、PD 症状が重くなくても他のニューロンと同様にドーパミンニューロンの変性も進んでいると考えられることができる。この点については、今後特発性 PD 患者の例数を増やすと共に、多系統萎縮症の患者での CSF 中のビオプテリン量の測定や、PET により測定したドーパミンニューロンの変性の進行度とビオプテリン量の相関関係などを検討していく必要があると考えられる。

E. 結論

PARK8 患者では PD 症状と CSF 中ビオプテリン量の間には負の相関関係が認められたが、特発性 PD 患者においては、明瞭な相関関係は認められなかった。しかし、特発性 PD 患者を、薬剤応答性を指標にして分類してみると、薬剤反応性が良好なグループでは、PARK8 患者と同様に発症年齢が 60 歳以前の患者が多く、相対的に発症年齢が早く、CSF 中ビオプテリン量と重症度との間にも弱い相関関係があった。薬剤応答性が悪いグループでは、症状に比べてビオプテリンが低値を示す傾向があった。今後さらに、症例数を増やして検討すると共に、多系統萎縮症等の類縁疾患も含めて、黒質線条体系ドーパミンニューロン残存量の指標としての CSF 中ビオプテリン量の有用性についてさらに検討を進めていく。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Koshiba S, Tokuoka H, Yokoyama T, Horiuchi E, Ichinose H, Hasegawa K. (2011) Biopterin levels in the cerebrospinal fluid of patients with PARK8 (I2020T). *J. Neural Transm* 118, 899-903.

2. 学会発表

Koshiba S, Tokuoka H, Yokoyama T, Horiuchi E, Ichinose H, Hasegawa K. Marked differences in biopterin metabolism between PARK8 and sporadic Parkinson's disease. ADPD2011, Barcelona (Spain) March 9-13, 2011.

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

血清尿酸値とパーキンソン病

研究分担者 野元正弘¹⁾

研究協力者 岩城寛尚¹⁾， 玉木祐子¹⁾， 辻井智明¹⁾， 西川典子¹⁾、永井将弘¹⁾

1) 愛媛大学医学部附属病院 薬物療法・神経内科

研究要旨

パーキンソン病では、酸化ストレスがその病態に関わっていると考えられるため、血中で最大の抗酸化物質である尿酸とパーキンソン病の関係を調べた。当科外来患者において性別、年齢、体重、腎機能(eGFR)及び血清尿酸値を調査し、パーキンソン病患者とそれ以外の患者において比較分析した。調査項目のうち、血清尿酸値のみがパーキンソン病のオッズと負の相関を認めた。血清尿酸値で患者を4つの群に分けると、最も尿酸値の低い群に対し、最も尿酸値の高い群では、パーキンソン病のオッズ比は0.23と有意に低値であった。尿酸はパーキンソンに対して保護的に働いている可能性がある。

A. 研究目的

尿酸はアデノシンやグアノシンなど、プリン体の最終代謝産物で、主に肝臓や小腸で産生される。人体では、pHに依存して、尿酸とその共役塩基である尿酸塩として存在しており、髄液の濃度は血中の約10分の1程度である。

血清尿酸値の上昇は、痛風や尿路結石など、尿酸結晶が析出することが直接的に病態とかかわる疾患以外にも、高血圧、虚血性心疾患、腎機能低下などの疾患リスクの上昇と関連があることがわかっている。一方で近年、血清尿酸値の上昇が、多発性硬化症やNMO、アルツハイマー病などの神経疾患において疫学的調査では血清尿酸値の上昇が疾患リスクの低下に関連のあることも報告されている。

本研究では、血清尿酸値と、神経変性疾患の一つであるパーキンソン病(PD)との関係を検討する。

B. 研究方法

当科外来を2011年4月から2011年11月までに受診された方のうち性別、年齢、体重、eGFR、尿酸値及びパーキンソン病の有無について、確認できる症例を全例収集した。集めたデータについて

非PD群とPD群における各種データの差についてt検定を用いて評価した。また、PDの有無を目的変数として、ロジスティック回帰分析を行った。尿酸の男女別の平均値を求めるために、当病院で2011年9月に、成人に対して行われた血清尿酸値の検査の全例についてもデータを収集した。

(倫理面への配慮)

本研究は愛媛大学医学部附属病院臨床研究倫理審査委員会での承認を得て行った。

C. 研究結果

2011年9月における当院での尿酸値測定は男性で2124件、女性で1979件であり、そのMean±1SDは男性で6.0±1.8 mg/dL、女性は5.0±1.5 mg/dLであり、男女の尿酸値の差は有意(p<0.0000001)であった。男性と女性の尿酸値の差が1.0 mg/dLと大きいため、尿酸値の分析には男女差を考慮する必要があることが示された。

次に、当科外来での分析対象患者の総数は353人、女性は211人でそのうちPD患者が112人、男性は142人でそのうちPD患者は71人であった。これらの患者の背景について、表1.に示した。

表 1. 当科外来受診患者の背景

	女性		p	男性		p
	非PD群: 99人	PD群: 112人		非PD群: 71人	PD群: 71人	
年齢	66 ± 10	69 ± 9	0.051	70 ± 9	67 ± 10	0.13
体重	51.6 ± 9.0	51.3 ± 8.9	0.78	62.6 ± 9.6	62.6 ± 10.0	0.99
eGFR	73.0 ± 19.2	68.8 ± 15.5	0.077	65.1 ± 21.1	70.1 ± 15.5	0.12
尿酸値	4.9 ± 1.4	4.2 ± 1.3	<0.0001	5.7 ± 1.3	5.4 ± 1.2	0.13

いずれの性別においても、年齢、体重、eGFR の値に有意差はなかったが、尿酸値については、PD 群で低い傾向が認められ、特に女性において、PD 群の尿酸値は有意に低値であった。

次に、PD オッズにおける各要素の相関について、ロジスティック回帰分析を行った。↗

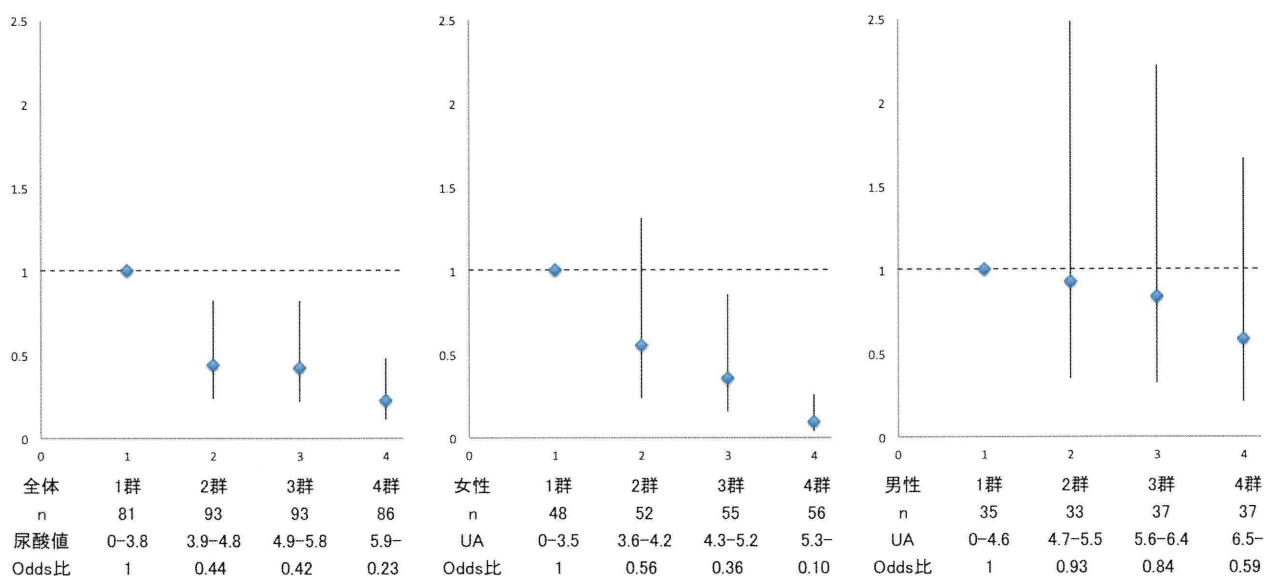
表 2. PD オッズに対する各因子の回帰分析結果

変数名	係数	標準誤差	Z 値	P
性別	-0.099	0.27	0.364	0.71
年齢	-0.0021	0.013	0.163	0.87
体重	0.0066	0.013	0.522	0.6
eGFR	-0.013	0.0076	1.77	0.08
尿酸値	-0.43	0.097	4.4	0.00001

性別、年齢、体重、eGFR は、PD オッズへの相関は認められなかったが、尿酸値に関しては有意に PD オッズと相関しており、その係数は-0.43 であった。

次に血清尿酸値の 4 分位によって、PD オッズがどのように変化するかを、尿酸値が最も低い群の PD オッズを 1 として、比較した。結果は下図に示す。中心の点がオッズ比であり、上下の線分の範囲は、95%信頼区間である。↘

図 1. 尿酸値 4 分位における、全体及び各性別でのオッズ比の変化



全体としては、尿酸値が高い群では有意にオッズ比が低下し、低下幅は尿酸値が高い群ほど大きかった。尚、尿酸値が 3.8 以下の第 1 群に対する、尿酸値が 5.9 以上の第 4 群のオッズ比は 0.23 であ

った。また、男女それぞれについてもオッズ比は尿酸値が高いほど減少する傾向が見られ、特にその傾向は女性の方で強く、一方男性において有意差はつかなかった。

D. 考察

当科外来患者における検討では、尿酸値が高いほど PD オッズ比が低い傾向があり、その傾向は男性より女性のほうが強かった。本研究は横断的な研究であり、集団が当科外来受診患者という点で限界があるものの、尿酸と PD のとの関係については既報告と矛盾するものではない。例えば、JW.Dabis らは、Honolulu heart program で 8000 人の男性の血清尿酸値と PD 罹患率を調査し、血清尿酸値が平均以上の群では、平均以下の群と比較し、パーキンソン病罹患率のオッズ比が 0.6 (95%CI: 0.4-1.0)であったと報告した。[1] 同様の結果は 4000 人規模 Rotterdam study でも確認されている(オッズ比 0.71 (95% CI: 0.51-0.98))。[2] また、医療に従事する男性約 18000 人が参加した Health professionals follow-up study や、15000 人強が参加した、Atherosclerosis risk in communities study においては、尿酸値が高くなるほど PD 罹患率が上昇するという負の相関が両者の間に認められた。([3], [4]) また、早期 PD を対象とした PRECEPT 試験や DATATOP 試験におけるプラセボ群の解析からは、尿酸値が高いほど L-dopa 治療を必要とする進行期 PD への移行率が低く、また特に DATATOP 試験では尿酸値と UPDRS 低下量も負の傾向が認められた。[5], [6] 更に、Maurizio らは、664 名の PD 患者について、尿酸トランスポーター遺伝子の SLC2A9 多型と発症年齢を調査し、血清尿酸値を下げる事が報告されている多型 rs1014290 が、発症年齢の早期化と関連があるという結果を報告している。以上のように、PD に対しては、血清尿酸値が高い方が有利であることを示唆する報告が散見される。その機序は未だ明らかにはされていないものの、PD の神経変性プロセスにおいて重要な役割を果たす酸化ストレスに対し、尿酸が保護的に作用している可能性が指摘されている。尿酸は血中に最も豊富にある抗酸化物質であり、活性化酸素や活性化窒素、また鉄との相互作用により、これらの物質による組織障害を抑制するとされて

いるが、詳細は今後の研究課題である。

E. 結論

当科外来患者において、尿酸値はパーキンソン病と負の相関傾向があった。尿酸は抗酸化作用を通じて、パーキンソン病に対して抑制的に働いている可能性がある。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

第 53 回日本神経学会 2012 5 月 東京
MDS 2012 July Dublin

H. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

なし。

I. 参考文献

- [1] J. W. Davis, A. Grandinetti, C. I. Waslien, G. W. Ross, L. R. White, and D. M. Morens, "Observations on Serum Uric Acid Levels and the Risk of Idiopathic Parkinson's Disease," *American Journal of Epidemiology*, vol. 144, no. 5, pp. 480-484, 1996.
- [2] L. M. L. de Lau, P. J. Koudstaal, A. Hofman, and M. M. B. Breteler, "Serum uric acid levels and the risk of Parkinson disease.," *Annals of neurology*, vol. 58, no. 5, pp. 797-800, Nov. 2005.
- [3] M. G. Weisskopf, E. O'Reilly, H. Chen, M. a Schwarzschild, and a Ascherio, "Plasma urate and risk of Parkinson's disease.," *American journal of epidemiology*, vol. 166, no. 5, pp. 561-7, Sep. 2007.
- [4] H. Chen, T. H. Mosley, A. Alonso, and X. Huang, "Plasma urate and Parkinson's disease in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study.," *American*

journal of epidemiology, vol. 169, no. 9, pp. 1064-9, May 2009.

- [5] M. a Schwarzschild et al., "Serum urate as a predictor of clinical and radiographic progression in Parkinson disease.," *Archives of neurology*, vol. 65, no. 6, pp. 716-23, Jun. 2008.
- [6] A. Ascherio et al., "Urate as a predictor of the rate of clinical decline in Parkinson disease.," *Archives of neurology*, vol. 66, no. 12, pp. 1460-8, Dec. 2009.

パーキンソン病の初期進展様式：

未治療患者における胃電図、嗅覚検査、MIBG 心筋シンチグラフィ

研究分担者 桑原 聡
研究協力者 朝比奈正人，山中義崇，藤沼好克，片桐 明
千葉大学大学院医学研究院 神経内科学

研究要旨

〔目的〕未治療パーキンソン病（PD）患者と多系統萎縮症（MSA）患者において胃電図を評価し、2 疾患の鑑別における胃電図の有用性を評価した。さらに PD 患者においては、胃電図に加え、MIBG の心筋集積、嗅覚機能を評価し、胃電図異常と心交感神経節後神経障害および嗅覚異常との関連を検討した。

〔方法〕対象は未治療 PD 27 例、MSA 17 例、健常対照 18 例とした。空腹時安静臥位にて、胃電計を用いて皮膚電極から胃電図を 30 分間測定した。胃蠕動運動を反映するスペクトル解析にて主要周波数（slow wave の周波数を反映）を算出した。主要周波数の平均に対する標準偏差の％比率である主要周波数変動係数（ICDF；主要周波数の変動の指標）を指標に用いた。

〔結果〕Slow wave は MSA 患者と健常者において保たれていたが、PD 患者では不整であった。胃電図 ICDF は未治療 PD 群で $13.0 \pm 12.1\%$ 、MSA 群で $4.5 \pm 3.2\%$ 、健常群で $5.7 \pm 3.9\%$ であり、PD 群は MSA 群 ($p < 0.01$) および健常群 ($p < 0.05$) に比べて有意に高値であった。MSA 群と健常群の間に有意差はなかった。PD 群における多重回帰分析では、MIBG 心筋シンチグラフィの心/縦隔比（H/M）および washout rate は嗅覚機能と有意な相関を示したが、胃電図の指標は MIBG 所見および嗅覚と相関を示さなかった。

〔結論〕PD の胃電図異常は、治療によらず早期からみられ、MSA との鑑別に有用である。未治療 PD 患者において MIBG の心筋集積低下と嗅覚異常は相関したが、胃電図異常は MIBG 集積低下および嗅覚異常のいずれとも相関しなかった。この結果は PD におけるレビー小体病理の進展過程が消化管に独立して始まる可能性を示している。

A. 研究目的

胃電図にて記録される胃の調律活動を反映する slow wave は、既治療のパーキンソン病（PD）では不整であるが臨床的に鑑別が問題となる多系統萎縮症（MSA）では保たれており、胃電図が 2 疾患の鑑別に役立つ可能性を我々は 21 年度の神経変性疾患に関する調査研究会議で報告した。今回我々は、未治療 PD 患者と MSA 患者において胃電図を評価し、未治療の病初期 PD と MSA の鑑別においても胃電図が有用であるかどうかを検討した。一方、病初期 PD の診断については MIBG 心筋シンチグラフィや嗅覚検査の有用性が報告されており、これらの検査と胃電図に相関がみられるかどうかは、PD のレビー小体病理の初期進展形式を考える上で興味深

い。このため、未治療 PD 患者においては胃電図に加え MIBG 心筋集積と嗅覚機能も評価し、胃電図異常と心交感神経節後神経障害および嗅覚異常との関連を検討した。

B. 研究方法

対象は未治療 PD 27 例（男 13 例、女 14 例、年齢 67.0 ± 8.8 歳、経過 1.2 ± 0.7 年、重症度 I~III）、MSA 17 例（男 13 例、女 4 例、年齢 64.3 ± 7.3 歳、経過 3.2 ± 1.2 年）、健常対照 18 例（男 7 例、女 11 例、年齢 65.9 ± 6.6 歳）とした。空腹時安静臥位にて、腹部に表面電極を設置し、携帯型胃電計（EG、ニプロ）を用いて胃電図を 30 分間測定した。胃電図の解析には専用のソフト（EGS2、グラム社）を用い