

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09932

研究課題名(和文)パーキンソン病における神経変性を可視化する細胞内タンパクイメーシング法の開発

研究課題名(英文)Development of the intracellular protein imaging method which visualization makes nerve alteration in Parkinson disease

研究代表者

上村 清央 (KAMIMURA, Kiyohisa)

鹿児島大学・医歯学域附属病院・講師

研究者番号：30593652

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：パーキンソン病患者(PD)においてAPTイメーシングの取得を行った。PD10名と健常者7名との間で、unpaired t検定を用いて、黒質、赤核、尾状核、淡蒼球、被殻のAPT値を比較した。黒質ではPDのAPT値は健常者より低値であった。一方、赤核、尾状核、淡蒼球、被殻では、PDのAPT値は健常者より高値であった。いずれの部位でも有意差はなかった。また、PDの重症度分類のヤール分類と黒質のAPT値との間に相関は見られなかった。本院における、PDの受診者数が少なく、十分な症例を取得することが困難であった。そのため、有意差が得られる症例数に達していないのかもしれない。今後の症例の蓄積に期待したい。

研究成果の概要(英文)：Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disease, characterized by degenerative changes in the dopaminergic neurons in the substantia nigra that result in a decreased dopamine level. CEST imaging has recently emerged as an important contrast mechanism for MRI, and the amide proton transfer (APT) for mobile proteins and peptides in tissue.

We compared the total APT signal intensities (APTSIs) of the substantia nigra, red nucleus, globus pallidus, putamen and caudate for all PD patients and normal controls. The total APTSI of the substantia nigra was lower in PD patients than in normal controls ($0.58 \pm 0.72\%$ vs. $0.65 \pm 0.81\%$, $P=0.73$). The total APT signal intensities of the red nucleus, caudate nucleus, globus pallidus and putamen were also higher in PD patients than in normal controls, but no significant differences were found. We didn't find significant difference between PD and normal controls in every part of the basal ganglia. Further PD patients are needed to have a result.

研究分野：放射線診断学

キーワード：パーキンソン病 MRI CESTイメーシング APTイメーシング

1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病は安静時振戦、筋強剛、無動、などを特徴とする神経変性疾患で、日本に約 18 万人の患者がいると推定される。パーキンソン病の病因は未だ不明であるが、神経伝達物質であるドパミンを産生する黒質緻密部のドパミンニューロンが変性・脱落し、線条体でのドパミンが低下することにより症状が出現することが知られている。初期には進行性核上性麻痺や多系統萎縮症などと同様の症状を呈し、鑑別が困難である。パーキンソン病の診断のために様々な画像診断法が提案されているが、十分な感度・特異度を持つ方法は確立していない。

近年、chemical-exchange saturation-transfer (CEST) と呼ばれる MRI による新たな分子イメージング法が注目されている。この方法は、組織中のアミド (-NH) やヒドロキシル (-OH) などの溶質とバルク水の間で生じるプロトンの化学交換にもとづく画像法である。直接 MRI で観察することが困難な低濃度の化合物を、バルク水とプロトンの交換を介して、バルク水の信号変化として、間接的かつ高い感度で観察することが可能である。このうち特に内因性のアミドによるものを amide proton transfer (APT) イメージング (図 1) と呼ぶ。これまで不可能だった低濃度の可動性タンパクやペプチドの高感度検出が可能となり、腫瘍の悪性度判定などへの応用が研究されはじめている。正常脳組織では、細胞外にはミエリンのような半固形の分子は多く存在するが、可動性タンパクはもっぱら細胞内に局在している。したがって、APT イメージングに基づいて、細胞内タンパクの変化を高感度に検出するイメージング、すなわち細胞内タンパクイメージングを実現できると期待される。神経変性疾患における神経細胞の変性・脱落では、細胞内可動性タンパクが減少するため、細胞内タンパクイメージングは神経変性を鋭敏に捉えることができるものと思われる (図 2)。本研究では、パーキンソン病の神経変性を可視化するための細胞内タンパクイメージングを開発し、それを早期診断や他の変性疾患との鑑別に応用する方法を確立することを目的とする。さらに、このよう細胞内タンパクイメ

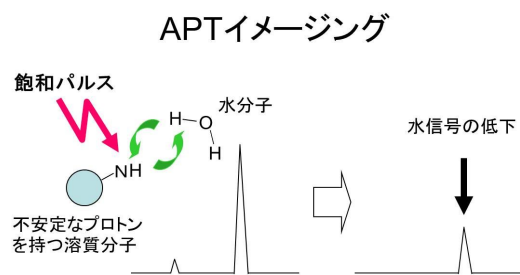


図1: 飽和パルスにより飽和されたプロトンが化学交換により水分子に移動する。これにより、従来の方法で検出不可能な低濃度アミドを間接的かつ高感度に検出

ージングが確立されると、パーキンソン病以外の神経変性疾患にも広く応用可能な、新たな画像的アプローチとなり得る。

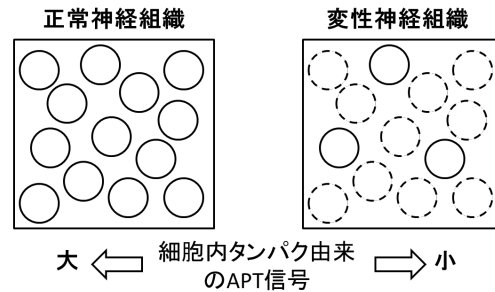


図2: 細胞内タンパクイメージング。神経細胞の変性・脱落により、細胞内タンパクからの信号が低下する。

2. 研究の目的

本研究の目的は、以下の2つである。

APTイメージングに基づいてパーキンソン病における神経変性を可視化する細胞内タンパクイメージング法を開発する
細胞内タンパクイメージングを用いて、パーキンソン病の早期診断および他の変性疾患との鑑別を行う方法を確立する

3. 研究の方法

(1) 撮影パルスシーケンスの開発・最適化 (上村、吉浦、中條)

細胞内タンパクイメージングのパルスシーケンスの開発・最適化を行う。ファントムを用いたテストを行ったのち、少数例の正常被験者を用いて、最適な条件を決定する。

最適な飽和パルスデザインの開発

細胞内タンパクイメージングのパルスシーケンスにおいて最も重要なのは、飽和パルスのデザインである。特に飽和パルスの強度と長さによって、得られるコントラストは大きく変化する。比吸収率 (SAR) や duty cycle など装置の制限の中で APT 信号を最大化する最適な飽和パルスのデザインを行う。これらの問題をクリアするため Keupp らが考案した方法を採用する。

(2) パーキンソン病患者での神経変性可視化の画像撮影・解析技術の開発 (上村、吉浦、中條)

少数のパーキンソン病患者と年齢性別をマッチさせた正常被験者で細胞内タンパクイメージングを行い、神経変性領域を可視化するための撮影法の最適化と画像解析法の開発を行う。

B0 補正法の最適化

細胞内タンパクイメージングでは B0 の不均一の影響を受けやすく、正確な評価のためにはその補正が不可欠である。B0 補

正の方法には、1) 0ppm 付近を低い強度の飽和パルスで密にサンプルする water saturation shift referencing (WASSR) 法、補正用に B0 マップを別に取得する方法、などいくつかの異なる方法が知られている。最も精度よく、かつ効率が高い方法を選択する必要がある。

神経変性を可視化する画像解析法の開発

パーキンソン病で神経変性が病理組織学的に明らかにされている、黒質緻密帯に関心領域を置き、同部位の APT 信号低下が最大となるような画像解析法を開発する。APT イメージングでは通常、アミドに特異的な 3.5 ppm での magnetization transfer ratio (MTR) の非対称性 (MTR_{asym}) を指標とすることが多いが、ある程度の周波数範囲での積分を用いる方法を提案されている。変性検出に最も適した方法を選択する。

さらに、決定された解析条件で、大脳全体の神経変性を詳細にマッピングするための画像解析法の開発を行う。これには、statistical parametric mapping (SPM) あるいはこれに類似した方法を用いる。

(3) 正常者およびパーキンソン病患者でのデータ収集 (上村、中條)

パーキンソン病が疑われる患者での画像データおよび臨床データの収集を行う。画像データとして、細胞内タンパクイメージングの他、T1 強調画像、拡散テンソル画像、灌流画像、MR スペクトロスコピーを撮影する。灌流画像は、造影剤を使用しない arterial spin labeling (ASL) を使う。また同時に、SPECT によるドパミントランスポーターイメージングも行う。臨床データとして患者の Hoehn-Yahr 分類とパーキンソン病統一スケールなどを取得する。患者と年齢・性別をマッチさせた正常被験者の撮影も行う。症例数は研究期間を通じて正常被験者、パーキンソン病患者それぞれ計 50 例を目標とする。

4. 研究成果

パーキンソン病の神経変性を可視化するために、パーキンソン病患者において APT イメージングの取得を行った (図 3)。パーキンソン病患者 10 名と健常者 7 名との間で、unpaired t 検定を用いて、黒質、赤核、尾状核、淡蒼球、被殻の APT 値を比較したところ、黒質では、パーキンソン病患者の APT 値は、健常者より低値であった。それに対し、赤核、尾状核、淡蒼球、被殻では、パーキンソン病患者の APT 値は健常者よりも高値であった (図 4)。しかしながら、いずれの部位においても有意差はみられなかった。また、パーキンソン病の重症度分類として、広く用いられているホーエン・ヤールの分類による

重症度と黒質の APT 値との間に相関は見られなかった (図 5)。本院における、パーキンソン病患者の受診者数が少なく、十分な症例を取得することが困難であった。そのために、有意差が得られる症例数に達していないのかもしれない。今後の症例の蓄積に期待したい。

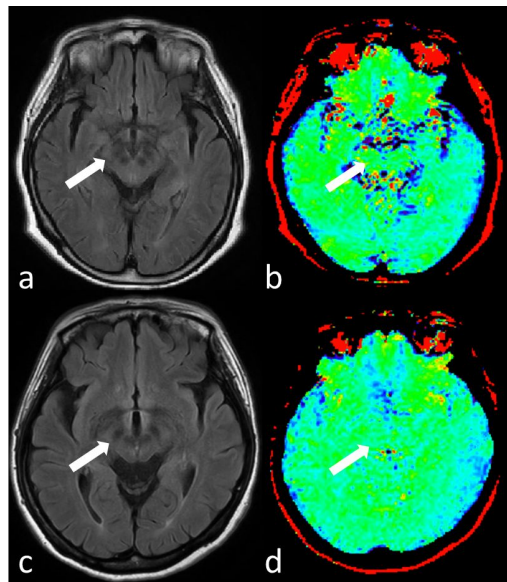


図3. 健常者とパーキンソン病患者におけるFLAIR像とAPTイメージング
APTイメージにおいて黒質部では健常者(a, b)に比べ、パーキンソン病患者(c, d)では低下している。

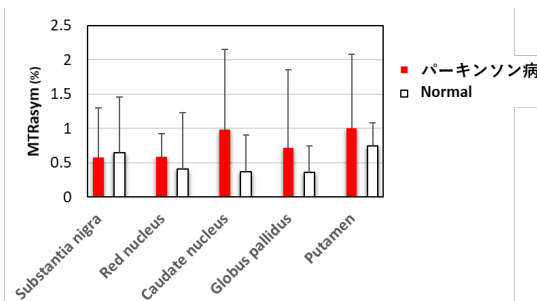


図4: パーキンソン病患者と健常者における各領域におけるMTRasymmetry (MTR_{asym})

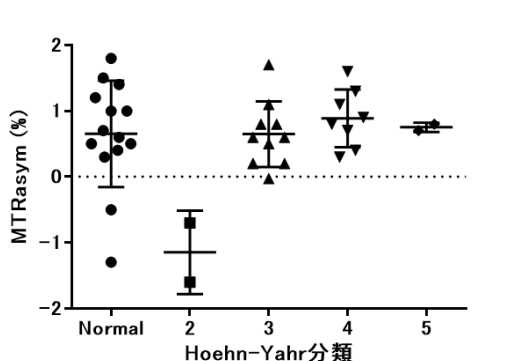


図5: 黒質におけるパーキンソン病患者の重症度分類と健常者のMTRasymmetry (MTR_{asym})

【参考文献】

1. 日本神経学会監修：パーキンソン病治療ガイドライン 2011. 医学書院.
2. Ward KM et al: A new class of contrast agents for MRI based on proton chemical exchange dependent saturation transfer (CEST). J Magn Reson. 2000 Mar;143(1):79-87.
3. Togao O, Yoshiura T, et al. Amide proton transfer imaging of adult diffuse gliomas: correlation with histopathological grades. Neuro Oncol. 2014 16(3):441-448.
4. Li C et al: Chemical exchange saturation transfer MR imaging of Parkinson's disease at 3 Tesla. Eur Radiol. 2014 Oct;24(10):2631-9.
5. Hoehn MM, Yahr MD: Parkinsonism: onset, progression and mortality. Neurology. 1967 May;17(5):427-42.
6. Fahn S and the members of the UPDRS development committee: unified Parkinson's disease rating scale. in recent developments in Parkinson's disease. Macmillan, New York. 1987:153-163.
7. Keupp J, et al. Proceedings of ISMRM 2010
8. Kim M, et al. Water saturation shift referencing (WASSR) for chemical exchange saturation transfer experiments. Magn Reson Med. 2009;61(6):1441-1450.
9. DauerW, et al. Parkinson's disease: mechanisms and models. Neuron. 2003;39:889-909.
10. Hughes AJ, et al. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinicopathological study of 100 cases. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1992;55:181-184.
11. Tolosa E, et al. The diagnosis of Parkinson's disease. Lancet Neurol. 2006; 5:75-86.
12. Mitchell AW, et al. Biomarkers and Parkinson's disease. Brain. 2004;127:1693-1705.
13. Seppi K, et al. Brain magnetic resonance imaging techniques in the diagnosis of parkinsonian syndromes. Neuroimaging Clin N Am. 2010;20:29-55.
14. Vernon AC, et al. Neuroimaging for Lewy body disease: is the in vivo molecular imaging of alpha-synuclein neuropathology required and feasible? Brain Res Rev. 2010;65:28-55.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

上村 清央 (KAAMIMURA, Kiyohisa)
鹿児島大学・医歯学域附属病院・講師
研究者番号：3 0 5 9 3 6 5 2

(2)研究分担者

吉浦 敬 (YOSHIURA, Takashi)
鹿児島大学・医歯学域医学系・教授
研究者番号：4 0 3 2 2 7 4 7

中條 正典 (NAKAJO, Masanori)
鹿児島大学・附属病院・医員
研究者番号：6 0 7 2 7 1 7 1

福倉 良彦 (FUKUKURA, Yoshihiko)
鹿児島大学・医歯学域附属病院・准教授
研究者番号：5 0 3 1 5 4 1 2

中別府 良昭 (NAKABEPPU, Yoshiaki)
鹿児島大学・医歯学域医学系・准教授
研究者番号：2 0 2 3 7 3 7 4