

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19487

研究課題名（和文）神経構造・機能画像を統合した筋萎縮性側索硬化症の新規バイオマーカーの開発

研究課題名（英文）The development of novel biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis using structural and functional neuroimaging

研究代表者

佐光 亘 (SAKO, Wataru)

徳島大学・病院・特任助教

研究者番号：60581155

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,000,000円

研究成果の概要（和文）：筋萎縮性側索硬化症の客観的なバイオマーカー開発は正確な臨床試験の遂行に必須である。我々は、神経構造・機能画像がその客観的バイオマーカーになりうるという仮説を持っている。安静時機能的MRI由来の神経機能を反映する値の低下を一次運動感覚野で見出した。構造的MRI・MR spectroscopyを用いて、神経線維束の結合性を反映するfractional anisotropyの補足運動野における値が罹患期間と疾患重症度の両方と相関すること、一次運動野のN-acetyl aspartate/グルタミン酸比が罹患期間と相関することを報告した。神経画像はバイオマーカーになり得ると考えた。

研究成果の概要（英文）：The development of objective biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is essential for accurate clinical trials. We hypothesized that structural and functional neuroimaging could be novel biomarkers for ALS. A reduced value of amplitude of low frequency fluctuation was found in the sensorimotor cortex in ALS using resting state functional magnetic resonance imaging (fMRI). Fractional anisotropy in the supplementary motor area was reported to correlate with both disease duration and severity using structural MRI. Furthermore, MR spectroscopy revealed a correlation between N-acetyl aspartate/glutamate ratio and disease duration. These findings suggested that structural and functional neuroimaging might be helpful for recruitment and/or assessment of drug efficacy in clinical trials.

研究分野：医歯薬学

キーワード：筋萎縮性側索硬化症 バイオマーカー MRI fMRI DTI

1. 研究開始当初の背景

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は、全身の筋力低下を来し、予後不良の転帰をとる神経変性疾患である。病理学的には上位・下位運動ニューロンの脱落を特徴とし、臨床診断には上位・下位運動ニューロン徴候が必要とされる。しかしながら、上位運動ニューロン徴候は、しばしば全経過にわたり臨床的には検出されないこともあり、その代替が求められてきた。現状のままでは、少なからぬ ALS 患者が生前には診断基準を満たさず、臨床治験における正確な患者登録へ影響を及ぼすことが懸念される。また、上述した診断のみならず、ALS の重症度評価も現在では客観的な方法がなく、ALS functional rating scale-revised (ALSFRS-R) という各神経内科医の問診・診察に基づくものが用いられている。その客観性や評価者間の差なども、他施設にまたがり行われる臨床治験では問題となることが容易に想像される。

magnetic resonance imaging (MRI) は生体の脳構造・機能を評価できる方法として、すでに臨床に多く応用されている。ALS においても、古典的な構造的 MRI により錐体路などに視覚的な異常が指摘されることはあっても、その感度・特異度は実際に臨床応用できるところまでは到達していない。近年、MRI の進歩は目覚ましく、diffusion tensor imaging (DTI) では、水の拡散性を見ることにより神経線維束の評価が、functional MRI では、ヘモグロビンの酸素化を見ることにより脳神経細胞の評価が可能となっている。我々は、パーキンソン病、ジストニアなど他の神経疾患において、DTI、functional MRI や magnetic resonance spectroscopy (MRS) をはじめとする神経画像を用いて、その病態機序解明やバイオマーカー開発にこれまで取り組んできた。

2. 研究の目的

上位運動ニューロン徴候は、一次運動野の病変に起因する。本研究代表者らは、一次運動

野における神経活動・神経伝達物質の低下と一次運動野からの下降路である錐体路の神経線維束の結合性の低下が一次運動野病変を反映し、上位運動ニューロン徴候に代わりうるという仮説をもっている。また、重症度評価に関しても同様に、一次運動野病変に関連する異常が ALS の進行とともに変化すると考えている。

神経活動に関しては、functional MRI から算出される amplitude of low frequency fluctuation (ALFF) 値、神経伝達物質に関しては Glutamate、神経線維束に関しては DTI による fractional anisotropy (FA) 値を用いて、他疾患に対するこれまでの経験・方法論を基に、ALS に対する診断・重症度評価を可能とする客観的バイオマーカー開発の基盤確立を目的とした。

3. 研究の方法

改訂版 El Escorial 診断基準における possible 以上の ALS 患者を対象とした。疾患重症度の評価は ALSFRS-R により行った。年齢、性、罹患期間、初発症状を解析項目とした。MRI、MRS の撮影は 3 テスラのスキャナーにより行った。functional MRI に関しては、REST により 0.01-0.08Hz の波から ALFF 値を算出した。また、DTI に関しては、FSL を用いて FA 値を算出した。空間的標準化は linear registration で行った。standard space における voxel level の解析は statistical parametric mapping (SPM) を用いて行った。

得られた MRS データは、LCModel により、水を reference とした各化学物質量の測定に用いた。

4. 研究成果

ALS の前帯状回、運動前野と一次感覚運動野において、神経細胞の活動性を反映していると考えられている ALFF 値が低下していることを明らかにした。特に、一次感覚運動野の ALFF 値における内包後脚の FA 値に対する負の相関を認めた。FA 値と罹患期間は負の相

関をとることが知られており、上記結果は、罹患期間の長さに伴う ALFF 値の増加傾向を示唆している。この結果を考慮すると、長期経過の ALS では、一次感覚運動野における ALFF 値の低下を捉えることはより難しいと推察される。一次感覚運動野における ALFF 値の診断能力を評価するために、罹患期間が一年未満のみ、あるいは罹患期間に関わらない全 ALS 患者それぞれの群の receiver operating curve の area under curve を比較したが、やはり早期の ALS 群のほうが優れた area under curve を示した。これらの結果は、一次運動野の ALFF 値が、ALS 早期診断法になりうる可能性を示唆している。さらなる症例の蓄積を重ね、上記結果の検証を行うとともに、タンパク質レベルの解析も追加し、進行に伴い上昇する ALFF 値の原因も探索する予定である (Sako et al., *Neurol Sci* 2017)。

補足運動野の FA 値が罹患期間と疾患重症度の両方と相関することを見出した。両方と相関する疾患重症度評価バイオマーカー候補は稀であり、今後前向きコホートを用いて、疾患重症度評価に対する有用性・再現性を検証する予定である (Sako et al., *Neurol Sci* 2016)。

一次運動野における N-acetyl aspartate (NAA)/グルタミン酸 (Glu) 比の罹患期間に対する負の相関を報告した。Bootstrap analysis でも支持される有力な疾患重症度評価バイオマーカー候補であり、これに関しても今後前向きコホートを用いて検証予定である (Sako et al., *J Clin Neurosci* 2016)。

実際の臨床試験という観点からは、ALFF 値が患者リクルートに、FA 値と NAA/Glu 比が治療効果判定に応用できる可能性がある。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 20 件)

1) Wataru Sako, Nagahisa Murakami, Yuishin

Izumi, Ryuji Kaji. Usefulness of the superior cerebellar peduncle for differential diagnosis of progressive supranuclear palsy: A meta-analysis. *J Neurol Sci* 2017, in press. 査読有り

2) Naoto Uyama, Hideki Otsuka, Takayoshi Shinya, Yoichi Otomi, Masafumi Harada, Wataru Sako, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji, Yuya Watanabe, Satoru Takashi, Yamato Kunikane. The utility of the combination of a SPECT study with [¹²³I]-FP-CIT of dopamine transporters and [¹²³I]-MIBG myocardial scintigraphy in differentiating Parkinson disease from other degenerative parkinsonian syndromes. *Nucl Med Commun* 2017, in press. 査読有り

3) Wataru Sako, Takashi Abe, Yuishin Izumi, Hiroki Yamazaki, Naoko Matsui, Masafumi Harada, Ryuji Kaji. Spontaneous brain activity in the sensorimotor cortex in amyotrophic lateral sclerosis can be negatively regulated by corticospinal fiber integrity. *Neurol Sci* 2017, in press. 査読有り

4) An Vo, Wataru Sako, Koji Fujita, Shichun Peng, Paul J. Mattis, Frank M. Skidmore, Yilong Ma, Aziz M. Uluğ, David Eidelberg. Parkinson's disease-related network topographies characterized with resting state functional MRI. *Hum Brain Mapp* 2017 38(2), 617-630. 査読有り

5) Takashi Abe, Toshitaka Kawarai, Koji Fujita, Wataru Sako, Yuka Terasawa, Tsuyoshi Matsuda, Waka Sakai, Ai Tsukamoto-Miyashiro, Naoko Matsui, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji, Masafumi Harada. MR Spectroscopy in patients with hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids and asymptomatic carriers of colony-stimulating factor 1 receptor

- mutation. *Magn Reson Med Sci* 2016, in press. 査読有り
- 6) Paul J. Mattis, Martin Niethammer, Wataru Sako, Chris C. Tang, Amir Nazem, Marc L. Gordon, Vicky Brandt, Vijay Dhawan, David Eidelberg. Distinct brain networks underlie cognitive dysfunction in Parkinson and Alzheimer diseases. *Neurology* 2016 87(18), 1925-1933. 査読有り
 - 7) Wataru Sako, Takashi Abe, Nagahisa Murakami, Yoshimichi Miyazaki, Yuishin Izumi, Masafumi Harada, Ryuji Kaji. Imaging-based differential diagnosis between multiple system atrophy and Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 2016 368: 104-108. 査読有り
 - 8) Wataru Sako, Nagahisa Murakami, Yoshimichi Miyazaki, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji. The difference of apparent diffusion coefficient in the middle cerebellar peduncle among parkinsonian syndromes: Evidence from a meta-analysis. *J Neurol Sci* 2016 363: 90-94. 査読有り
 - 9) Wataru Sako, Takashi Abe, Yuishin Izumi, Masafumi Harada, Ryuji Kaji. Fractional anisotropy in the supplementary motor area correlates with disease duration and severity of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Sci* 2016 37(4): 573-577. 査読有り
 - 10) Wataru Sako, Takashi Abe, Yuishin Izumi, Masafumi Harada, Ryuji Kaji. The ratio of N-acetyl aspartate to glutamate correlates with disease duration of amyotrophic lateral sclerosis. *J Clin Neurosci* 2016 27: 110-113. 査読有り
 - 11) Wataru Sako, Nagahisa Murakami, Yoshimichi Miyazaki, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji. On-period unified Parkinson's disease rating scale before surgery correlates with differences in outcomes between pallidal and subthalamic stimulation: a meta-analysis. *Neurol Sci* 2016 37(1): 135-137. 査読有り
 - 12) Wataru Sako, Koji Fujita, An Vo, Janet Rucker, John-Ross Rizzo, Martin Niethammer, Maren Carbon, Susan Bressman, Aziz M. Uluğ, David Eidelberg. The visual perception of natural motion: abnormal task-related neural activity in DYT1 dystonia. *Brain* 2015 138(Pt 12): 3598-3609. 査読有り
 - 13) Takashi Abe, Yoshifumi Mizobuchi, Wataru Sako, Saho Irahara, Yoichi Otomi, Yuki Obama, Kohei Nakajima, Delgerdalai Khashbat, Mungunkhuyag Majigsuren, Teruyoshi Kageji, Shinji Nagahiro, Masafumi Harada. Clinical significance of discrepancy between arterial spin labeling images and contrast-enhanced images in the diagnosis of brain tumors. *Magn Reson Med Sci* 2015 14(4): 313-319. 査読有り
 - 14) Wataru Sako, Nagahisa Murakami, Yoshimichi Miyazaki, Takashi Abe, Masafumi Harada, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji. The effect of tremor onset on middle cerebellar peduncle of Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 2015 358(1-2): 172-177. 査読有り
 - 15) Sophia F. Tam, Joyce T. Au, Wataru Sako, Antonio E. Alfonso, Ginosuke Sugiyama. How sick are dialysis patients undergoing cholecystectomy? Analysis of 92,672 patients from the American College of Surgeons National Surgical Quality Improvement Program database. *Am J Surg* 2015 210(5): 864-870. 査読有り
 - 16) Wataru Sako, Nagahisa Murakami, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji. Neurofilament light chain level in cerebrospinal fluid can differentiate Parkinson's disease from atypical

parkinsonism: Evidence from a meta-analysis. *J Neurol Sci* 2015 352(1-2): 84-87. 査読有り

- 17) Phoebe G. Spetsieris, Ji Hyun Ko, Chris C. Tang, Amir Nazem, Wataru Sako, Shichun Peng, Yilong Ma, Vijay Dhawan, David Eidelberg. Metabolic resting-state brain networks in health and disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015 112(8): 2563-2568. 査読有り
- 18) Wataru Sako, Nagahisa Murakami, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji. Val66Met polymorphism of brain-derived neurotrophic factor is associated with primary dystonia: A meta-analysis of case-control studies. *J Clin Neurosci* 2015 22(3): 575-577. 査読有り
- 19) An Vo, Wataru Sako, Martin Niethammer, Maren Carbon, Susan Bressman, Aziz Uluğ, David Eidelberg. Thalamocortical connectivity correlates with phenotypic variability in dystonia. *Cereb Cortex* 2015 25(9): 3086-3094. 査読有り
- 20) An Vo, Wataru Sako, Stephen L. Dewey, David Eidelberg, Aziz M. Uluğ. ¹⁸FDG-microPET and MR DTI findings in Tor1a^{+/-} heterozygous knock-out mice. *Neurobiol Dis* 2015 73: 399-406. 査読有り

〔学会発表〕(計 14 件)

- 1) 佐光 亘. Neuroimaging を用いた神経変性疾患に対する新規バイオマーカー開発. 第 59 回日本脳循環代謝学会学術集会シンポジウム, あわぎんホール(徳島県徳島市), 2016.11.11-12.
- 2) 佐光 亘. Neuroimaging を用いた神経疾患に対する新規バイオマーカー開発. 第 46 回日本臨床神経生理学会学術大会奨励賞受賞記念講演, ホテルハマツ(福島県郡山市), 2016.10.27-29.
- 3) 佐光 亘, 阿部考志, 原田雅史, 和泉唯信,

梶 龍兒. 筋萎縮性側索硬化症における脳機能ネットワーク独立性の消失. 第 46 回日本臨床神経生理学会学術大会, ホテルハマツ(福島県郡山市), 2016.10.27-29.

- 4) 佐光 亘, 村上永尚, 和泉唯信, 梶 龍兒. 上小脳脚異常に基づくパーキンソン症候群鑑別. 第 10 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres, 京都ホテルオークラ(京都府京都市), 2016.10.6-8.
- 5) Wataru Sako, Takashi Abe, Yuishin Izumi, Naoko Matsui, Masafumi Harada, Ryuji Kaji. The effect of corticospinal fiber integrity on spontaneous brain activity in the sensorimotor cortex in amyotrophic lateral sclerosis. 第 39 回日本神経科学大会, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), 2016.7.20-22.
- 6) Wataru Sako, Takashi Abe, Nagahisa Murakami, Yoshimichi Miyazaki, Yuishin Izumi, Masafumi Harada, Ryuji Kaji. Imaging-based differential diagnosis between multiple system atrophy and Parkinson's disease. The Movement Disorder Society 20th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Berlin (Germany), June 19-23, 2016.
- 7) 佐光 亘, 阿部考志, 原田雅史, 和泉唯信, 梶 龍兒. 筋萎縮性側索硬化症における低周波帯域の安静時脳機能 MRI 信号変化と FA 値の関係. 第 57 回日本神経学会学術大会, 神戸コンベンションセンタ・神戸ポートピアホテル(兵庫県神戸市), 2016.5.18-21.
- 8) 佐光 亘. MSA の早期診断とバイオマーカー. 第 57 回日本神経学会学術大会シンポジウム, 神戸コンベンションセンタ・神戸ポートピアホテル(兵庫県神戸市), 2016.5.18-21.

- 9) 佐光 亘, 阿部考志, 原田雅史, 和泉唯信, 梶 龍兒. 筋萎縮性側索硬化症における低周波帯域の安静時脳機能 MRI 信号変化. 第 45 回日本臨床神経生理学会学術大会, 大阪国際会議場 (大阪府大阪市), 2015.11.5-7.
- 10) 佐光 亘, 村上永尚, 宮崎由道, 阿部考志, 原田雅史, 和泉唯信, 梶 龍兒. パーキンソン病における振戦発症の中小脳脚への影響. 第 9 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres, 品川プリンスホテル (東京都品川区), 2015.10.15-17.
- 11) 佐光 亘, 村上永尚, 宮崎由道, 阿部考志, 原田雅史, 和泉唯信, 梶 龍兒. The effect of tremor onset on middle cerebellar peduncle of Parkinson's disease. 第 38 回日本神経科学大会, 神戸国際会議場・神戸国際展示場 (兵庫県神戸市), 2015.7.28-31.
- 12) 佐光 亘, An Vo, Aziz M. Ulug, David Eidelberg. Abnormal neural activity in natural motion perception in DYT1 dystonia. 第 56 回日本神経学会学術大会, 朱鷺メッセ・ホテル日航新潟 (新潟県新潟市), 2015.5.20-23.
- 13) Koji Fujita, Wataru Sako, An Vo, Aziz M. Ulug, David Eidelberg. Abnormal activation of motion perception-related brain networks in primary dystonia. American Academy of Neurology 68th Annual Meeting, Washington, DC (USA), April 18-25, 2015.
- 14) 佐光 亘, 阿部考志, 和泉唯信, 梶 龍兒, 原田雅史. 筋萎縮性側索硬化症における N-アセチルアスパラギン酸/グルタミン酸と罹患期間の相関. 第 27 回臨床 MR 脳機能研究会, 徳島大学 (徳島県徳島市), 2015.3.14.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐光 亘 (SAKO, Wataru)