

機関番号：13401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21790838

研究課題名（和文）パーキンソン病患者脳における酸化ストレスのPETイメージング

研究課題名（英文）PET imaging of brain oxidative stress in patients with Parkinson's disease

研究代表者

井川 正道（IKAWA MASAMICHI）

福井大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60444212

研究成果の概要（和文）： ^{62}Cu -ATSM-PETを用いた酸化ストレスイメージングによって、パーキンソン病患者における脳線条体の酸化ストレスが正常対照者に比べて増強しており、かつ症状の進行に比例して増加していることが示された。これにより、パーキンソン病における脳線条体の神経変性に、酸化ストレスが関与していることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）： ^{62}Cu ATSM PET imaging demonstrated that striatal oxidative stress was enhanced in patients with Parkinson's disease compared with the controls and was increased with the progression of disease severity. These findings indicated that oxidative stress associates with striatal neurodegeneration in Parkinson's disease.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：神経機能画像学，パーキンソン病，酸化ストレス，神経変性疾患，PET

1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病（Parkinson's disease; PD）は、黒質線条体系のドパミン含有神経細胞が変性脱落することにより、ドパミン欠乏が生じる疾患である。極めて頻度が高く（120/10万人）、日常生活動作を阻害する。PDの病態については、単一遺伝子異常PDでの研究から、遺伝的因子の関与が示唆される一方、1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine（MPTP）投与によるモデルおよび患者剖検脳における研究より、ミトコンドリア（呼吸鎖）機能低下・活性酸素種増大による酸化ストレスが、神経変性に関与していることが示唆されている（Mizuno Y, et

al. J Neurochem. 1987; Schapira AHV, et al. Lancet. 1989）。しかしこれまで、患者生体脳における酸化ストレスを直接評価する方法がなく、酸化ストレスと神経変性の係わりは不明であった。

今回われわれが酸化ストレスのイメージングとして用いたのは、 ^{62}Cu -diacetyl-bis(N^1 -ethylthiosemicarbazone) (^{62}Cu -ATSM) による positron emission tomography (PET) 画像である。 ^{62}Cu -ATSMは、電子が過剰に滞留している過還元状態の部位において、2価の ^{62}Cu が還元されて錯体(ATSM)より外れることにより集積する（Fujibayashi Y, et al. J Nucl Med. 1997;

Obata A, et al. Ann Nucl Med. 2001). 過還元状態は、主にミトコンドリア呼吸鎖の機能低下によって生じ、活性酸素種発生による酸化ストレスの原因となる。すでに我々は、ミトコンドリア遺伝子異常による疾患である、mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS) 患者での脳卒中様発作病変に ^{62}Cu -ATSM が著明に集積することを明らかにしている (Ikawa M, et al. Mitochondrion. 2009)。したがって、 ^{62}Cu -ATSM-PET は、患者生体脳における、ミトコンドリア機能障害による酸化ストレスを直接評価できる方法として有用であり、PD 患者脳における酸化ストレスイメージングとして利用可能であると考えられた。

2. 研究の目的

上述のように、PD においては、ミトコンドリア機能低下による酸化ストレスがドパミン神経の変性に深く関与していると考えられているが、これまで生体脳での証明はなされていない。本研究では、 ^{62}Cu -ATSM-PET を用いた酸化ストレスイメージングによって、PD における酸化ストレスの関与を中心とした病態の解明を目指す。そのために、病期の異なる PD 患者 (PD) 群と、正常対照者 (NC) 群に対して ^{62}Cu -ATSM-PET を施行し、PD 群と NC 群での比較、および PD 群における重症度との相関を評価し、PD の神経変性における酸化ストレスの関与を検討した。

3. 研究の方法

発症時に片側優位の症状を呈していた PD 患者 (PD) 15 名 (男性 7 名, 女性 8 名, 平均 72.2 ± 9.4 歳, 平均罹病期間 5.7 ± 3.1 年) および正常対照者 (NC) 6 名 (全員男性, 平均 34.7 ± 9.0 歳) を対象とした。PD 群は全例、抗 PD 薬による治療中であり、頭部 MRI にて、線条体、小脳皮質、側頭葉皮質に明らかな萎縮や病変は認められなかった。重症度は Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) にて評価した。

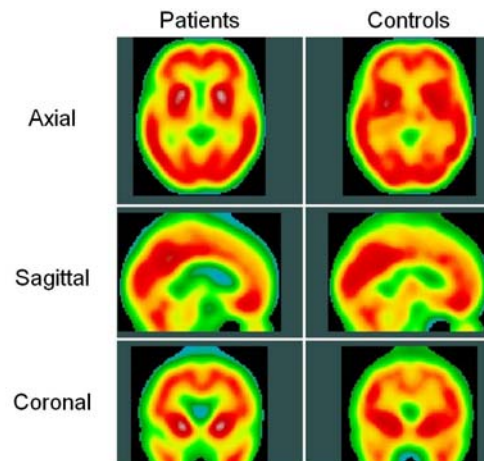
被験者に対し、 ^{62}Cu -ATSM を経静脈的に 1 回投与し、直後から 20 分間、頭部のダイナミック PET スキャンを行い、得られた画像を解析ソフト (SPM2) にて解剖学的に標準化した。また、標準脳 MRI 上の線条体と小脳皮質に関心領域 (ROI) を設定し、standardized uptake value (SUV) を算出した。各被験者間での比較を行うために、線条体 (Striatum) の SUV を小脳皮質 (Cerebellum) の SUV で除し、S/C 比として左右各々の線条体への集積を算出した。また、発症時の症状優位側の対側 (Contralateral) 線条体の SUV を同側

(Ipsilateral) 線条体の SUV で除した比を C/I 比とし、線条体への集積の左右比を検討した。さらに、線条体と側頭葉皮質に ROI を設定した時間放射能曲線の算出、および各群における集積の平均画像の構成を行った。統計的手法として、PD 群と NC 群の比較には、Mann-Whitney U 検定を、PD 群における S/C 比と UPDRS との相関の検討には、Pearson 相関係数検定を用いた。

4. 研究成果

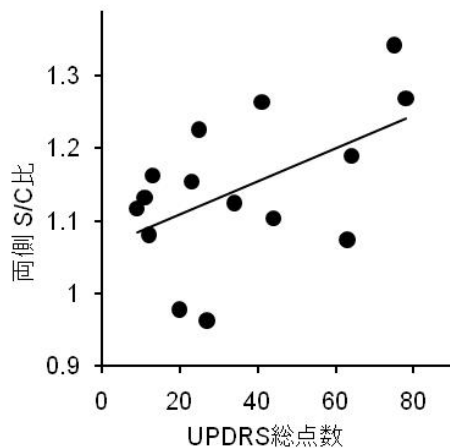
(1) 時間放射能曲線において、PD 群では側頭葉皮質に比べ、線条体への強い ^{62}Cu -ATSM の集積が認められた。また、各群の平均画像でも、PD 群では NC 群に比べ、線条体への集積が高度であった (図 1)。両側 S/C 比 (両側線条体への集積) の平均は、PD 群 (1.15 ± 0.10) で NC 群 (1.08 ± 0.02) より有意に高かった ($P < 0.05$)。

図 1 Patients (PD 患者群) と Controls (正常対照者群) の脳における ^{62}Cu -ATSM 集積の平均画像。PD 患者群の線条体において、正常対照者群と比較して集積の増加が認められる。



さらに PD 群においては、両側 S/C 比と UPDRS 総点数に有意な正の相関が認められ ($r = 0.52$, $P < 0.05$) (図 2)、対側線条体への集積 (対側 S/C 比) と UPDRS 総点数には、さらに強い正の相関が認められた ($r = 0.62$, $P < 0.05$)。C/I 比 (線条体の左右比) と UPDRS 総点数には、有意な対数性の相関が認められ ($r = 0.53$, $P < 0.05$)、UPDRS の点数が増すにつれて対側線条体への集積が優位となっていた。両側 S/C 比と年齢には有意な相関は認められなかった。

図 2 PD 患者群における、両側 S/C 比と UPDRS 総点数の相関関係を示すグラフ。有意な正の相関が認められる。



(2) 以上の結果より、PD群では、線条体への ^{62}Cu -ATSMの強い集積が認められ、重症度(UPDRS)に比例して集積は増加していた。UPDRSは神経変性の進行を反映しており(Snow BJ, Ann Neurol. 1993)、本研究における結果は、PD患者の線条体における神経変性の進行に、酸化ストレスが関与していることを示唆していると考えられた。また、PDでは症状の左右差が認められることが多く、病理学的にも、対側線条体における神経変性が同側線条体に比べて高度であることが報告されている(Djalal et al. Lancet Neurol. 2006)が、本研究における対側線条体への ^{62}Cu -ATSMの強い集積は、対側線条体のドパミン神経系への酸化ストレスのより強い曝露を示唆するものと考えられた。なお、NC群に比べ、PD群の平均年齢は有意に高かったが、線条体への集積と年齢に相関はなく、PD群における線条体への集積の増加は、加齢によるものではなく、PD自体によるものであると考えられた。

(3) これまで、患者生体での酸化ストレスの評価には、尿中・髄液中の8-hydroxyguanosineなどの酸化物の測定法が用いられてきたが、黒質線条体系など脳局所における評価は困難であるため、PETによる機能イメージングが最適であり、手法の開発が期待されていた。

本研究で用いた ^{62}Cu -ATSMは、電子の過剰滞留(過還元)状態の部位において、 $[\text{Cu}]^{2+}$ が還元されることによって集積する(Fujibayashi Y, et al. J Nucl Med. 1997)。ミトコンドリア呼吸鎖不全によって過還元状態は出現し、活性酸素種増加による酸化ストレスの原因となるため、 ^{62}Cu -ATSMの集積は、酸化ストレスを反映すると考えられる。 ^{62}Cu -ATSMは脳血液関門を容易に通過するため脳内への集積も良好であり、98%が β^+ 崩壊するためPET用核種としての安全性も高い。 ^{62}Cu -ATSM-PETをPDなどの神経変性疾患に対して応用しているのは、現在のところ世界中

で我々のみであり、独創的な研究であると考えられる。

(4) 以上より、 ^{62}Cu -ATSM-PETイメージングによって、脳線条体の酸化ストレスは、PD患者において増強しており、特に対側線条体において、症状の進行とともに増加することが示された。本研究によって、PDにおける線条体の神経変性に、酸化ストレスが関与していることが明らかとなった。

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5件)

- ① Ikawa M, Okazawa H, Kudo T, Kuriyama M, Fujibayashi Y, Yoneda M. Evaluation of striatal oxidative stress in patients with Parkinson's disease using [^{62}Cu]ATSM PET. Nuclear Medicine and Biology. 査読有, 2011, 印刷中
- ② Arakawa K, Kudo T, Ikawa M, Morikawa N, Kawai Y, Sahashi K, Lee JD, Kuriyama M, Miyamori I, Okazawa H, Yoneda M. Abnormal myocardial energy-production state in mitochondrial cardiomyopathy and acute response to L-arginine infusion: C-11 acetate kinetics revealed by positron emission tomography. Circulation Journal. 査読有, 74巻, 2010, 2702-2711
- ③ Ikawa M, Yoneda M, Tanaka M. Energy States in Mitochondrial Cardiomyopathy - In vivo Functional Imaging and L-arginine Therapy - [Editorial]. Circulation Journal. 査読有, 74巻, 2010, 2560-2561
- ④ Tsujikawa T, Yoneda M, Shimizu Y, Uematsu H, Toyooka M, Ikawa M, Kudo T, Okazawa H, Kuriyama M, Kimura H. Pathophysiologic evaluation of MELAS strokes by serially quantified MRS and CASL perfusion images. Brain & Development. 査読有, 32巻, 2010, 143-149
- ⑤ Ikawa M, Okazawa H, Arakawa K, Kudo T, Kimura H, Fujibayashi Y, Kuriyama M, Yoneda M. PET imaging of redox and energy states in stroke-like episodes of MELAS. Mitochondrion. 査読有, 9巻, 2009, 144-148

〔学会発表〕(計12件)

- ① Ikawa M, Kudo T, Arakawa K, Kawai Y, Tsuchida T, Kuriyama M, Okazawa H, Tanaka M, Yoneda M. *In vivo* functional imaging of energy states and a therapeutic potential of L-arginine for patients with mitochondrial cardiomyopathy. 7th Annual Meeting of ASMRM and 10th J-mit. 2010年12月16日, 福岡
- ② Kuroda Y, Yoshii Y, Yoneda M, Ikawa M, Kiyono Y, Mori T, Yoshii H, Furukawa T, Asai T, Okazawa H, Fujibayashi Y. Cu-ATSM is a novel indicator of intercellular over-reduced states in mitochondrial dysfunction: fundamental evaluation using mitochondrial DNA-less ($\rho 0$) cells and cybrids carrying causal mitochondrial DNA mutation of MELAS syndrome. 7th Annual Meeting of ASMRM and 10th J-mit. 2010年12月16日, 福岡
- ③ Ikawa M, Okazawa H, Kudo T, Kuriyama M, Fujibayashi Y, Yoneda M. ^{62}Cu -ATSM PET demonstrates increase of striatal oxidative stress in patients with Parkinson's disease. EANM'10 - Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine. 2010年10月10日, ウィーン(オーストリア)
- ④ Ikawa M, Okazawa H, Kudo T, Kuriyama M, Fujibayashi Y, Yoneda M. [^{62}Cu]ATSM PET Demonstrates Increase of Striatal Oxidative Stress in Patients with Parkinson's Disease. World Molecular Imaging Congress 2010. 2010年9月9日, 京都
- ⑤ 井川正道, 岡沢秀彦, 工藤崇, 栗山勝, 藤林靖久, 米田誠. パーキンソン病患者線条体における酸化ストレスのPETイメージング. 第51回日本神経学会総会. 2010年5月, 20日東京
- ⑥ Ikawa M, Okazawa H, Kudo T, Kuriyama M, Fujibayashi Y, Yoneda M. Functional imaging of oxidative stress in the nigrostriatal system of patients with Parkinson's disease by ^{62}Cu -ATSM-PET. FUKUI 2010, International Conference on Brain Function and Development. 2010年1月25日, 福井
- ⑦ Yoneda M, Ikawa M, Tsujikawa T, Arakawa K, Kudo T, Fujibayashi Y, Kimura H, Okazawa H, Kuriyama M. Pathophysiologic evaluation of stroke-like episodes in MELAS patients by MRI and PET. FUKUI 2010, International Conference on Brain Function and Development. 2010年1月25日, 福井
- ⑧ Tsujikawa T, Yoneda M, Uematsu H, Toyooka M, Ikawa M, Kudo T, Okazawa H, Kuriyama M, Kimura H. Pathophysiologic evaluation of MELAS strokes by serially quantified MRS and CASL perfusion images. FUKUI 2010, International Conference on Brain Function and Development. 2010年1月25日, 福井
- ⑨ Ikawa M, Tsujikawa T, Arakawa K, Kudo T, Fujibayashi Y, Kimura H, Okazawa H, Kuriyama M, Yoneda M. Pathophysiologic evaluation of cerebral blood flow, energy status and oxidative stress during stroke-like episodes in MELAS patients by MRI and PET. The 6th Conference of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine. 2009年10月30日, 台北(台湾)
- ⑩ Ikawa M, Okazawa H, Kudo T, Kuriyama M, Fujibayashi Y, Yoneda M. Imaging of oxidative stress in the nigrostriatal system of patients with Parkinson's disease using ^{62}Cu -ATSM-PET. The 6th Conference of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine. 2009年10月30日, 台北(台湾)
- ⑪ 井川正道, 岡沢秀彦, 工藤崇, 福村利光, 栗山勝, 藤林靖久, 米田誠. パーキンソン病患者における線条体の酸化ストレスイメージング. 第4回日本分子イメージング学会学術集会. 2009年5月14日, 東京
- ⑫ 井川正道, 辻川哲也, 清水幸生, 植松秀昌, 豊岡麻理子, 工藤崇, 岡沢秀彦, 栗山勝, 木村浩彦, 米田誠. MELAS 脳卒中様発作のMRI(CASL)・MRSによる血流・代謝の経時的変化の検討. 第50回日本神経学会総会. 2009年5月21日, 仙台

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井川 正道 (IKAWA MASAMICHI)

福井大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60444212