

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 3 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590952

研究課題名（和文） 皮膚生検によるパーキンソン病の組織診断法の確立

研究課題名（英文） Clinical availability of skin biopsy in the diagnosis of Parkinson's disease

研究代表者

富山 誠彦（TOMIYAMA MASAHIKO）

弘前大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：40311542

研究成果の概要(和文):パーキンソン病および多系統萎縮症患者の下腿からの生検皮膚を用い、免疫組織化学および蛍光免疫組織化学を行った。両方法でパーキンソン病患者 37 例のうちレビー病理を証明できたものは 3 例に過ぎなかった。一方、多系統萎縮症 15 例では皮膚内にはレビー病理は見られなかった。皮膚でのレビー病理の検討は感度が低く、診断には有用とはいえない。パーキンソン病患者では多系統萎縮症患者に比べ、表皮内神経密度が低下していた。L-DOPA 未治療患者でも L-DOPA 治療を受けた患者と同様に表皮内神経密度は低下しており、パーキンソン病での表皮内神経密度の低下は L-DOPA 治療の影響ではないと考えられた。以上のことからパーキンソン病と多系統萎縮症の鑑別に表皮内神経密度の検討は有用である。

研究成果の概要(英文): Lewy pathology in biopsied skin was found only in three of 37 patients with Parkinson disease (PD). Clinical availability of skin biopsy was limited for the diagnosis of Parkinson disease. No Lewy pathology was detected in biopsied skin from patients with multiple system atrophy (MSA). Intraepidermal nerve density (IENF) was significantly lower in patients with PD than in MSA. No significant differences in IENF were found between L-DOPA-treated and drug-naïve patients with PD. The decrease in IENF did not result from L-DOPA treatment. This result suggests that the evaluation of IENF is useful to differentiate PD from MSA.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
2012 年度	600,000	180,000	780,000
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

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：パーキンソン病 リン酸化 α シヌクレイン Lewy neurite 多系統萎縮症
皮膚生検 L-DOPA 表皮内神経密度 早期パーキンソン病

1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病患者の剖検皮膚組織の末梢神経束内にレビー病理が見いだされる。パーキンソン病患者では生検皮膚の表皮内神経密度が低下している。

2. 研究の目的

パーキンソン病患者の皮膚生検組織においてレビー病理を検索し、パーキンソン病の診断に皮膚生検が有用か否かを明らかにする。パーキンソン病と多系統萎縮症における皮膚表皮内末梢神経障害の実態を明らかにし、表皮内神経密度の検討が両疾患の鑑別診断に有用か否かを検討する。またパーキンソン病における表皮内神経密度の低下はL-Dopa治療によって起こるとする報告がある。L-Dopa治療を受けているパーキンソン病患者と未治療の患者で表皮内神経密度に違いがあるかあきらかにする。

3. 研究の方法

パーキンソン病患者（レボドパ治療中29例と未治療8例の合計37例）、多系統萎縮症（15例）からデルマパンチを用い下腿の外踝上方10センチで皮膚生検を行い、ホルマリン液およびザンボニ液で固定した。前者の検体にてリン酸化 α シヌクレイン抗体を用いて通常の免疫組織化学によりレビー病理を検索した。さらに詳細に皮膚内のレビー病理を検討するため、後者の検体を用いて神経抗体 (PGP-9.5) とリン酸化 α シヌクレイン抗体の蛍光二重免疫染色を行い、共焦点顕微鏡を用いて神経線維上の α シヌクレイン陽性の凝集体を検索した。ザンボニ固定の検体を神経抗体とIV型コラーゲン抗体（皮膚の基底膜が染まる）にて蛍光二重染色し、基底膜を貫通する神経線維数を数えることにより表皮内神経密度を定量化した。

4. 研究成果

37例のパーキンソン病患者からのホルマリン固定検体を用いた免疫染色では、2例のみではあるが皮膚神経束内にリン酸化 α シヌクレイン陽性の凝集体を見いだした（図1）。

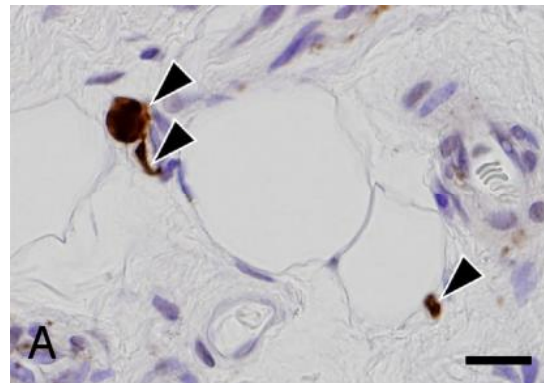


図1 皮膚内に見られるリン酸化 α シヌクレイン陽性の凝集体（矢頭）

一方、多系統萎縮患者の皮膚にはリン酸化 α シヌクレイン陽性の凝集体は認めなかった。

ザンボニ固定した検体の検討でも、 α シヌクレイン陽性の凝集体が神経線維上に見られたのは2例のみであった（図2）。このうちの1例は免疫組織化学でレビー病理が見いだされた症例であった。

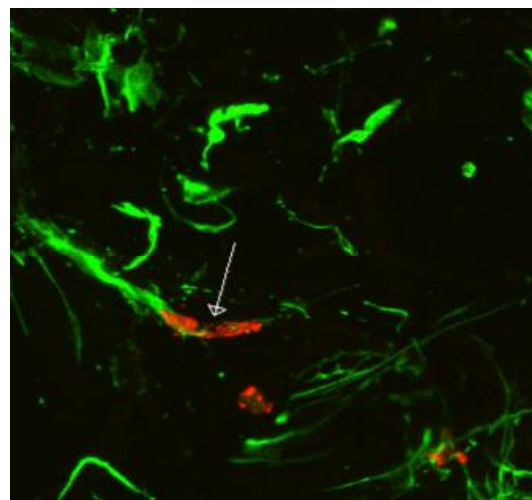


図2 神経線維上（緑）に共局在するリン酸

化 α シヌクレイン陽性の凝集体（赤）

以上より、蛍光免疫組織化学で共焦点顕微鏡を用いても、37例のうち合計3例でしか皮膚内にリン酸化 α シヌクレイン陽性の凝集体を確認できなかった。これらの皮膚生検を用いた病理診断法は感度が低いことが問題といえる。臨床検査として期待できるホルマリン固定された皮膚の免疫組織化学的検討ではパーキンソン病の病理診断は困難と考えられる。

表皮内神経密度は、パーキンソン病患者では多系統萎縮患者に比べ低下していた。パーキンソン病の表皮神経密度はL-Dopa治療群と未治療群の両群間で有意な差は認められず、多系統萎縮症と比べ低下していた。この結果より、表皮神経密度の検討は多系統萎縮症との鑑別に有用であることが示された。またパーキンソン病における表皮神経密度の低下はL-Dopa投与の影響ではないことが明らかとなった。

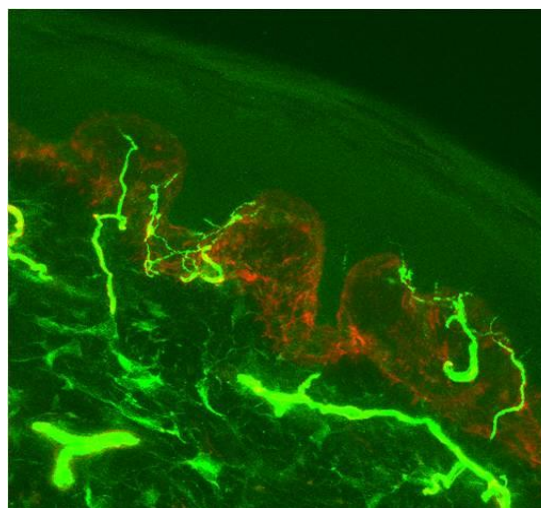
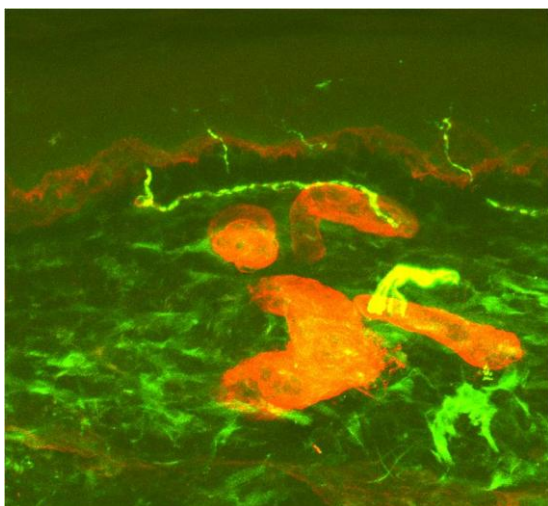


図3 パーキンソン病患者の皮膚（上）では基底膜（赤）を貫通する神経線維（緑）が多系統萎縮症患者の皮膚（下）に比べ減少している。

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1件）

① Miki Y, Tomiyama M, Arai A ほか7名
Clinical availability of skin biopsy in the diagnosis of Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 2010;469:357-9, doi: 10.1016

〔学会発表〕（計5件）

① Tomiyama M, Arai A, Sugimoto, K. ほか7名, Differences in intraepidermal nerve fiber density between Parkinson's disease and multisystem atrophy. International Congress of Parkinson's disease and Movement Disorders, June 5-9, 2011. Toronto, Canada.

② 富山誠彦, 新井陽, 杉本一博ほか8名 皮膚生検はパーキンソン病の診断に有用か? 日本神経学会学術大会 2011, 5月18-20日 名古屋

③ 上野達哉, 富山誠彦, 新井陽, 杉本一博ほか7名. 皮膚生検における表皮内神経密度解析によるパーキンソン病と多系統萎縮症の鑑別. パーキンソン病運動障害コンgres 2010年10月7-9日, 京都

④ Tomiyama M, Arai A, ほか8名. Clinical

availability of skin biopsy in the diagnosis of Parkinson's disease. International Congress of Parkinson's disease and Movement Disorders, Jun 13-17 2010. Buenos Aires, Argentine.

⑤ 三木康生, 富山誠彦, 新井陽ほか8名.
パーキンソン病の生検皮膚における Lewy pathology の検討. 日本神経病理学会総会 2010年4月23日.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富山誠彦 (TOMIYAMA MASAHIKO)
弘前大学・医学(系)研究科(研究院)
研究員
研究者番号: 40311542

(2) 研究分担者

新井 陽 (ARAI AKIRA)
弘前大学・医学(系)研究科(研究院)
研究員
研究者番号: 80422062

杉本一博 (SUGIMOTO KAZUHIRO)
弘前大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号: 70271799

(3) 連携研究者

なし