

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：13401	
研究種目：若手研究（B）	
研究期間：2011～2012	
課題番号：23790985	
研究課題名（和文）	酸化ストレスイメージングによるパーキンソン病の病態解明と治療法開発
研究課題名（英文）	Clarification of the pathogenesis and development of treatments of Parkinson's disease using oxidative stress imaging
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神経変性に、酸化ストレスが関与していることを明らかにした。また、ミトコンドリア病患者における血液中の酸化ストレスを FRAS4 システムによって検討し、ミトコンドリア病患者は、常に酸化ストレスに晒されていることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：The oxidative stress imaging using ^{62}Cu -ATSM PET demonstrated that oxidative stress associates with striatal neurodegeneration in patients with Parkinson's disease. In addition, the FRAS4 system demonstrated that patients with mitochondrial diseases are always exposed to underlying oxidative stress.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	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。

今回我々は、 ^{62}Cu -diacetyl-bis(N^1 -ethylthiosemicarbazone) (^{62}Cu -ATSM) による positron emission tomography (PET) を酸化ストレスイメージングとして用いた。 ^{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、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。

また、PD をはじめ多くの脳神経疾患の神経変性の過程に、ミトコンドリア機能異常、酸化ストレスが関与していることが想定されている。ミトコンドリア遺伝子異常によるミトコンドリア病患者は、神経変性におけるミトコンドリア機能異常による酸化ストレスの関与を明らかにする上で、病態モデルとなりうるが、全身の酸化ストレス増強の有無はまだ不明であった。

2. 研究の目的

本研究は、PD 患者に対し、酸化ストレスイメージングとして ^{62}Cu -ATSM PET を行い、PD における、神経変性へのミトコンドリア機能低下による酸化ストレスの関与を明らかにすることを目的とした (研究 1)。

また、脳神経疾患における酸化ストレスに関連する研究として、ミトコンドリア病患者における血液中の酸化ストレスの検討を行い、ミトコンドリア病の病態への酸化ストレスの関与を明らかにすることを目的とした (研究 2)。

3. 研究の方法

(研究 1) 発症時に片側優位の症状を呈していた PD 患者 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) および健常対照者 6 名 (全員男性、平均 34.7 ± 9.0 歳) を対象とした。

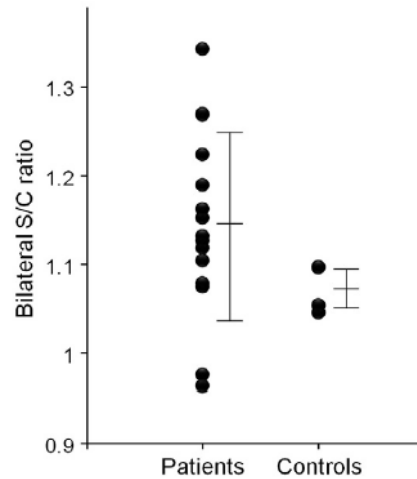
被験者に対し、 ^{62}Cu -ATSM を経静脈的に 1 回投与の上、頭部のダイナミック PET スキャンを行い、得られた画像を解析ソフト (SPM2) にて解剖学的に標準化した。また、標準脳 MRI 上の線条体と小脳皮質に関心領域 (ROI) を設定し、standardized uptake value (SUV) を算出した。各被験者間での比較を行うために、線条体 (Striatum) の SUV を小脳皮質 (Cerebellum) の SUV で除し、S/C 比として左右各々の線条体への集積を算出し、群間比較および患者群での重症度との比較を行った。

(研究 2) ミトコンドリア病の原因となるミトコンドリア遺伝子 A3243G 変異を有する患者 14 名 (男性 7 名、女性 7 名、平均 32.1 ± 14.7 歳) と、健常対照者 34 名 (男性 20 名、女性 14 名、平均 34.6 ± 7.4 歳) を対象とした。患者群は、脳卒中様発作を有する MELAS 病型 10 名と、有さず心筋症、糖尿病を主体とする病型の 4 名から成っていた。

被験者に対し採血を行い、FRAS4 システムを用いて、血中の d-ROMs による酸化ストレスと、BAP による抗酸化力の測定を行い、群間比較および患者群での病型間での比較を行った。

4. 研究成果

(研究 1) PD 患者群と対照群での集積を比較したところ、両側 S/C 比 (両側線条体への集積) の平均は、患者群 (1.15 ± 0.10) で対照群 (1.08 ± 0.02) より有意に高かった ($P < 0.05$) (下図)。

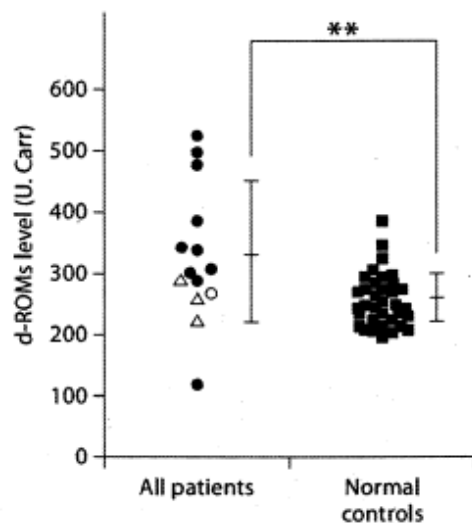


さらに患者群においては、両側 S/C 比 (両側線条体への集積) と重症度スケールである UPDRS 総点数との間に、有意な正の相関が認められた ($r = 0.52$, $P < 0.05$)。

上記の結果より、PD 患者群では、線条体への ^{62}Cu -ATSM の強い集積が認められ、重症度 (UPDRS 総点数) に比例して集積は増加していた。

したがって、 ^{62}Cu -ATSM PET による酸化ストレスイメージングを用いた本研究によって、PD 患者における線条体の酸化ストレスの増強が明らかとなり、PD における黒質線条体系の神経変性の進行に、酸化ストレスが関与することが明らかとなった。

(研究 2) ミトコンドリア病患者群と対照群で比較したところ、d-ROMs (酸化ストレス) は、対照群に比べて患者群で有意に増加していた ($P < 0.005$) (下図)。



とくに、患者群のなかでも MELAS 病型の患者では、d-ROMs (酸化ストレス), BAP (抗酸化力) とともに、対照群に比べて増加していた ($P < 0.01$).

上記の結果より、ミトコンドリア病患者群における全身の酸化ストレス増強が認められた。よって、ミトコンドリア病患者は、ミトコンドリア機能低下による酸化ストレスに常に晒されていることが明らかとなった。また、患者のなかでもとくに MELAS 病型での酸化ストレス増強が示され、表現型 (症状・病態) と酸化ストレスの関連が明らかとなった。

以上、本研究によって、PD およびミトコンドリア病における酸化ストレス増強と、その病態への関与が明らかとなった。今後、この知見をもとに、他の脳神経疾患における酸化ストレスの評価を行い、酸化ストレスを標的とした治療が有効であるかを検討する予定である。

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 11 件)

- ① Ikawa M, Arakawa K, Hamano T, Nagata M, Nakamoto Y, Kuriyama M, Koga Y, Yoneda M. Evaluation of systemic redox states in patients carrying the MELAS A3243G mutation in mitochondrial DNA. *Eur Neurol*. 2012;67:232-237 (査読有)
- ② Ishitobi M, Yoneda M, Ikawa M, Matsunaga A, Ueno K, Kimura H, Wada Y. Hashimoto's encephalopathy with hippocampus involvement detected on continuous arterial spin labeling. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2013;67:128-129 (査読有)
- ③ Matsunaga A, Ikawa M, Fujii A, Nakamoto Y, Kuriyama M, Yoneda M. Hashimoto's encephalopathy as a treatable adult-onset cerebellar ataxia mimicking spinocerebellar degeneration. *Eur Neurol*. 2013;69:14-20 (査読有)
- ④ Kitai R, Hashimoto N, Yamate K, Ikawa M, Yoneda M, Nakajima T, Arishima H, Takeuchi H, Sato K, Kikuta KI. Lymphomatosis cerebri: clinical characteristics, neuroimaging, and pathological findings. *Brain Tumor Pathol*. 2012;29:47-53 (査読有)
- ⑤ Tsujikawa T, Yamamoto T, Ikawa M, Yoneda M, Kimura H. Crossed cerebellar hyperperfusion after

MELAS attack followed up by whole brain continuous arterial spin labeling perfusion imaging. *Acta Radiol*. 2012;53:220-222 (査読有)

- ⑥ Yoshii Y, Yoneda M, Ikawa M, Furukawa T, Kiyono Y, Mori T, Yoshii H, Oyama N, Okazawa H, Saga T, Fujibayashi Y. Radiolabeled Cu-ATSM as a novel indicator of overreduced intracellular state due to mitochondrial dysfunction: studies with mitochondrial DNA-less $\rho 0$ cells and cybrids carrying MELAS mitochondrial DNA mutation. *Nucl Med Biol*. 2012;39:177-185 (査読有)
- ⑦ Yoneda M, Ikawa M, Arakawa K, Kudo T, Kimura H, Fujibayashi Y, Okazawa H. In vivo functional brain imaging and a therapeutic trial of L-arginine in MELAS patients. *Biochim Biophys Acta - General Subjects*. 2012;1820:615-618 (査読有)
- ⑧ 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. *Nucl Med Biol*. 2011; 38: 945-951 (査読有)
- ⑨ 井川 正道, 米田 誠, 田中 雅嗣. ミトコンドリア心筋症. *循環器内科*. 2012;72:592-598 (査読無)
- ⑩ 木村 浩彦, 新井 良和, 菊田 健一郎, 井川 正道, 米田 誠. 最新のニューロイメージングと脳卒中治療への新たな展望 造影剤を用いない灌流画像法 3D-ASL (3D-Arterial Spin Labeling) の基礎と応用 脳卒中、脳血管障害への臨床応用を中心に. *The Mt. Fuji Workshop on CVD*. 2012;30:63-70 (査読無)
- ⑪ 井川 正道, 米田 誠: ミトコンドリア病. *PHARM STAGE*. 2012;12:48-52 (査読無)

[学会発表] (計 15 件)

- ① Ikawa M, Kimura H, Muramatsu T, Matsunaga A, Tsujikawa T, Yamamoto T, Kosaka N, Kinoshita K, Yamamura O, Hamano T, Nakamoto Y, Yoneda M: Detection of presymptomatically latent lesions developing into stroke-like episodes by arterial spin-labeling perfusion MRI in MELAS patients. The 65th Annual Meeting of American Academy of Neurology, 2013 年 3 月, San Diego (USA)
- ② Kishitani T, Matsunaga A,

- Muramatsu T, Kame T, Ikawa M, Nakamoto Y, Yoneda M: Hashimoto's encephalopathy as a treatable adult-onset cerebellar ataxia mimicking spinocerebellar degeneration. The 65th Annual Meeting of American Academy of Neurology, 2013 年 3 月, San Diego (USA)
- ③ Matsunaga A, Kishitani T, Muramatsu T, Ikawa M, Nakamoto Y, Yoneda M: Hashimoto's encephalopathy associated with anti-NAE autoantibodies; analysis of 101 patients. The 65th Annual Meeting of American Academy of Neurology, 2013 年 3 月, San Diego (USA)
- ④ 井川 正道, 辻川 哲也, 村松 倫子, 山元 龍哉, 小坂 信之, 木下 一之, 中本 安成, 木村 浩彦, 米田 誠. MELAS 脳卒中様発作における MRI-ASL 法と MRS による血流・代謝の経時的変化の検討. 第 12 回日本ミトコンドリア学会年会, 2012 年 12 月, つくば
- ⑤ Ikawa M, Yoshii Y, Nakamoto Y, Okazawa H, Fujibayashi Y, Yoneda M: In vitro imaging of over-reduction state (oxidative stress) in cells with mitochondrial dysfunction using PET radiopharmaceutical Cu-ATSM. International Symposium of Asian Association of Aging Research 2012, 2012 年 8 月, 福岡
- ⑥ 井川 正道, 吉井 幸恵, 古川 高子, 清野 泰, 森 哲也, 吉井 裕, 大山 伸幸, 岡沢 秀彦, 佐賀 恒夫, 藤林 靖久, 米田 誠. Cu-ATSM PET による過還元状態 (酸化ストレス) イメージングの基礎的研究. 第 53 回日本神経学会学術大会, 2012 年 5 月, 東京
- ⑦ 村松 倫子, 井川 正道, 武田 朋子, 山元 龍哉, 小坂 信之, 木下 一之, 木村 浩彦, 米田 誠. MELAS 脳卒中様発作における MRI-ASL 法による発作前病変の血流評価. 第 53 回日本神経学会学術大会, 2012 年 5 月, 東京
- ⑧ Ikawa M, Okazawa H, Kudo T, Nakamoto Y, Fujibayashi Y, Yoneda M: PET Imaging of Striatal Oxidative Stress in Patients with Parkinson's Disease Using ^{62}Cu -ATSM. The 64th Annual Meeting of American Academy of Neurology, 2012 年 4 月, New Orleans (USA)
- ⑨ Yoneda M, Ikawa M, Yoshii Y, Nakamoto Y, Fujibayashi Y, Okazawa H. In Vitro and In Vivo Imaging of Over-reduction States (Oxidative Stress) in MELAS Using PET Radiopharmaceutical Cu-ATSM. The 64th Annual Meeting of American Academy of Neurology, 2012 年 4 月, New Orleans (USA)
- ⑩ Muramatsu T, Ikawa M, Takeda T, Yamamoto T, Kosaka N, Kinoshita K, Nakamoto Y, Kimura H, Yoneda M. Hyperperfusion in "pre-stroke" lesions of MELAS detected by non-contrast media perfusion MR imaging. 5th SFRR-ASIA 8th ASMRM 11th J-mit. 2011 年 9 月, 鹿児島
- ⑪ Yoshii Y, Yoneda M, Ikawa M, Furukawa T, Kiyono Y, Mori T, Yoshii H, Oyama N, Okazawa H, Saga T, Fujibayashi Y. Radiolabeled Cu-ATSM as a novel indicator of over-reduced states in mitochondrial disorders: studies with mtDNA-less rho0 cells and the cybrids carrying MELAS mtDNA mutation. World Molecular Imaging Congress 2011, 2011 年 9 月, San Diego (USA)
- ⑫ Yoneda M, Yoshii Y, Ikawa M, Takeda T, Furukawa T, Kiyono Y, Mori T, Yoshii H, Oyama N, Okazawa H, Fujibayashi Y. Radiolabeled Cu-ATSM as a novel indicator of over-reduced states due to mitochondrial dysfunction: studies with mtDNA-less rho0 cells and the cybrids carrying MELAS mtDNA mutation. The 8th European Meeting on Mitochondrial Pathology. Jun 2011 年 6 月, Zaragoza (Spain)
- ⑬ Ikawa M, Okazawa H, Arakawa K, Takeda T, Kudo T, Kimura H, Kuriyama M, Fujibayashi Y, Yoneda M. Imaging of oxidative stress in patients with neurological disorders associated with mitochondrial dysfunction using ^{62}Cu -ATSM PET. The 8th European Meeting on Mitochondrial Pathology. Jun 2011 年 6 月, Zaragoza (Spain)
- ⑭ Yoshii Y, Yoneda M, Ikawa M, Furukawa T, Kiyono Y, Mori T, Yoshii H, Oyama N, Okazawa H, Fujibayashi Y. A novel application of radiolabeled Cu-ATSM as an indicator of intracellular over-reduced states in disorders with mitochondrial dysfunction: Studies with cybrids carrying mitochondrial DNA mutation from MELAS patients. Society of

Nucelar Medicine 58th Annual Meeting. 2011年6月, San Antonio (USA)

- ⑮ 井川 正道, 岡沢 秀彦, 辻川 哲也, 荒川 健一郎, 土田 龍郎, 河合 康幸, 佐橋 功, 工藤 崇, 木村 浩彦, 藤林 靖久, 栗山 勝, 米田 誠. エネルギー代謝と酸化ストレスの機能イメージングによるミトコンドリア病の病態解明. 第52回日本神経学会学術大会, 2011年5月, 名古屋

〔図書〕(計1件)

- ① Ikawa M, Yoneda M. Young woman with recurrent “stroke” attacks. Case Studies in Dementia: Common and Uncommon Presentations. 2011;272-276, Cambridge University Press (London).

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