

精神研



<http://www.prit.go.jp/>

- 近赤外線を用いた光診断の可能性と限界 1
- 研究紹介
神経変性疾患はタンパク質の「がん」 4
- 研究用語の基礎知識
レーザーマイクロダイセクション 6
- 第1回 精神研都民講座報告
オーバービュー；統合失調症の最新情報 8

発行: (財)東京都医学研究機構 東京都精神医学総合研究所

近赤外線を用いた光診断の可能性と限界

● 脳機能解析研究チーム・副参事研究員 星 詳子

近赤外線スペクトロスコピーと光トポグラフィ

近赤外線という光を頭皮上に照射して数cm離れた部位から光を検出することによって、脳内ヘモグロビン (Hb) 量の変化を計測することができ、この方法は近赤外線スペクトロスコピー (near-infrared spectroscopy, NIRS) と呼ばれています。Hbは赤血球中にあり酸素を組織へ運ぶ役目がありますが、酸素と結合している酸素化ヘモグロビン (oxy-Hb) 量の変化は脳血流変化を反映しています。脳局所の活動増加はその領域の血流増加を伴うという現象を利用して、NIRSはHb計測から脳活動変化を検出することができますが、脳は部位によって機能が異なります (脳の機能局在)。そこで、頭部の複数の部位で同時に計測を行い、そのデータをもとに脳の活動領域の分布を画像として示す (神経機能イメージング) ために、多チャンネルNIRS計測装置が開発されました (写真1)。この装置で用いられている二次元画像表示法を光トポグラフィと呼びますが、多チャンネルNIRSと同義語のように使われています。

NIRS信号の解釈

手軽に取り扱えるNIRSは、脳ブームによってマスコミにしばしば登場するようになり、知名度は少しずつ上がってきていますが、サイエンスの世界ではまだ確たる市民権を得ていません。NIRSは、もともと手術室や集中治療室で患者さんの脳への酸素供給状態をモニタする方法として約30年前から開発が始まり、15年くらい前から現在のような神経機能イメージング法として用いられるようになり、決して新しい方法ではありません。NIRSの臨床応用を妨げてきた主たる原因は、この方法ではHb濃度変化の絶対値をもとめることができないことにあります。少し専門的になりますが、Hbの濃度変化を算出するためには光路長 (正確には部分光路長: 照射した光が検出されるまでに移動した脳内での距離) が既知数として必要ですが、現在の技術では光路長を計測することができないため、NIRS信号はHb濃度変化と光路長の積で表わされています。多チャンネルNIRS計測装置は、各計測部位で照射-受光間距離を一定にしておけば光路長は同じとみなすことができるという仮定のもとに、脳の活動領域を画



写真1 多チャンネルNIRS計測装置

像化しています。しかし、実際のところ光路長は計測部位によって異なり、NIRS信号の大きさは必ずしもHb濃度変化の大きさに対応していません。光路長の長い部位ではHb濃度変化が小さくても大きい信号変化を示すことがあり、もし脳血流が計測領域全体で一様に变化した場合は、得られる画像は脳の活動領域ではなく光路長の分布を示していることとなります(図)。つまり、計測部位間でのNIRS信号の大きさを比較してもHb濃度変化の比較にはならないため、患者さんグループと健常人グループとの間で比較を行うことが多い臨床研究でNIRSはあまり普及しませんでした。

信号強度のグループ間(計測部位間)比較ができないということは、NIRSを神経機能イメージング法として用いる時にも制約を与えていますが、実験デザインやデータ解析法を工夫することによって多彩な応用が可能になりNIRS人口は増加してきております。しかし、ここで、もう一点注意すべきことがあります。それは、課題遂行中に被験者の血圧や心拍が大きく変化した場合には、皮膚血流の変化がNIRS信号の中に含まれている可能性があるということです。

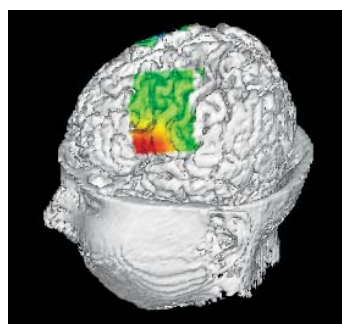


図 トポグラフィ画像
多チャンネルNIRS計測装置から得られたトポグラフィ画像をMRI画像に重ね合わせました。計測領域で血流が一様に变化した場合は、脳の活動部位ではなく、光路長分布を示しています。(赤い部分が最も光路長が長い)

しかも、皮膚血流変化のNIRS信号全体に対する寄与率は一定でなく、全く影響を与えない場合もあれば、信号の半分以上が皮膚血流変化による場合もあります。

このようにNIRS信号は複数の要因によって変化するため解釈が難しいことが、サイエンスの世界で高い信頼性が得られていない一因であります。さらに、NIRSが安易にテレビの娯楽性のある科学番組で用いられていることも、信頼性低下につながっていると思われます。

NIRSによる精神疾患診断の危険性

臨床応用がなかなか進まなかったNIRSですが、最近になって精神疾患の診断法として用いられるようになりました。これは、多数の精神疾患患者さんを対象にある認知課題遂行中の前頭部Hbの変化をNIRSで計測したところ、平均変化パターンが疾患ごとに異なり、このパターンを基準にした診断と通常の診察による診断との一致率が7~8割程度であったということから、先進医療(これにかかる費用は患者さんが全額負担)の承認が厚生労働省から得られて開始されました。糖尿病や高血圧症と異なり、今まで診断の決め手となる生物学的指標がなかったこの領域においては画期的なことと思われませんが、この方法は重大な問題をかかえています。まず、前項で述べましたように、NIRS信号は個体によって光路長と皮膚血流の全NIRS信号に対する寄与率が異なります。そのようなNIRS信号のグループ内での平均値が、どれだけ正確に疾患特異性のある脳活動を反映しているのかは不明です。次に、診断基準になる変化パターンは平均値であり、健常者であっても疾患特有のパターンを示す場合があります。また逆に患者さんであっても健常者あるいは別の疾患パターンを示す場合があります。これは、NIRS信号だけでなく人の生理現象にはよくあることで、しかも信号の大きさを数値化できないNIRSでは正常と異常の境界線を引くことができません。生理現象でパターン認識による診断が確立しているのは、心電図(不整脈など)や脳波(てんかん波など)

などごく一部に限られています。NIRS計測結果だけで診断をするわけではないと推測されますが、このような問題を抱えたまま先進医療として承認されてしまったことは、時期尚早であったと思われる。

NIRSの有用性

これまで述べてきたことから、NIRSなんて全く役に立たないと思われた方がいらっしゃるかもしれませんが、決してそうではありません。NIRSを診断法として用いるのには限界がありますが、様々な現象の神経基盤や病態を明らかにする方法としては有用です。現在、複数の異なる神経機能イメージング法があり、中でも機能的核磁気共鳴画像法 (functional magnetic resonance imaging, fMRI) は、脳の機能局在だけでなく領域間のつながりなども明らかにすることができ、脳機能局在研究においてゴールドスタンダードになっています。一方、NIRSは前述の問題に加えて、脳の解剖学的情報をもたず、さらに脳深部の変化をとらえることができませんが、fMRIのように特殊な計測環境や厳しい体動制限は必要なく、写真1に示すようにある程度のスペースがあれば手軽に計測を行うことができます。従って、NIRSはfMRIでは計測が難しい課題遂行中 (トレッドミル検査や箱庭療法など) の脳活動計測が可能です。また、乳幼児・小児、高齢者、精神神経疾患患者さんは、fMRIのように狭いところで身動きができない状態で計測することは困難ですが、NIRSなら計測を行うことができます。このような利点によって、NIRSは医学の領域にとどまらず、工学や発達心理学など多岐にわたる学術領域で用いられるようになってきています。

拡散光トモグラフィ

今後NIRSをさらに発展させるためには、脳由来の信号を選択的かつ定量的に計測する方法を確立する必要があります。皮膚血流の影響を取り除く方法は既に幾つか報告されておりますが、それらの方法は妥当性の検証が必要であり、実用化までにはまた時間がかかりそうです。一方、私達は電気通信大学と産業技術総合研究所と共同で

NIRSの究極の技術である拡散光トモグラフィ (光断層イメージング) の開発を行っています。これには、非常に短いピコ (10^{-12} 秒) オーダーパルス幅のレーザー光を用いて、同じくピコ秒オーダーの時間分解能をもつ超高速光検出器で光を測定する時間分解計測



写真2 16チャンネル時間分解計測システム (光断層イメージングシステム)

システムというものを扱います。現在16チャンネルの時間分解計測システムを構築して (写真2)、脳組織のHbの濃度分布を示す断層画像の取得を目指しています。このシステムによって選択的・定量的脳内Hbの計測が可能になり、さらにこの技術は生体现象を分子のレベルで調べることができる蛍光トモグラフィにも発展させることができます。まだ動物実験の段階ですが、この分子イメージング技術により投与した薬物の脳内における動態追跡などができるようになり、医学研究に大きく貢献すると考えています。

NIRSの展望

NIRSはゆっくりではありますが30年の歳月をかけて確実に進歩しており、本法によって従来の方法では明らかにされなかった脳に関する新発見が発見されています。一方でNIRSの限界を超える使用もしばしば見受けられますが、このような使用は脳科学に何ら発展をもたらしません。NIRSは開発当初から“有用な道具”なのかそれとも“高価なおもちゃ”なのかということが問われてきました。NIRSの限界を超えた無理な使用の場合は“高価なおもちゃ”にすぎませんが、本法の利点・長所を最大限に活用することであれば“有用な道具”であり、将来的には光診断への道を拓くことができると考えています。

(精神研ニュース2008年9月号No331を参考にして下さい。過去の精神研ニュースは、当研究所のホームページに掲載しています。)

神経変性疾患はタンパク質の「がん」

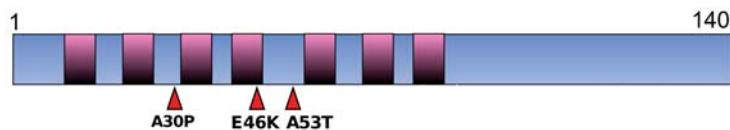
◆分子神経生物学研究チーム・副参事研究員 長谷川 成人

タンパク質は、細胞の骨組みをつくると共に、酵素として様々な化学反応に働く重要な分子であることはいうまでもありませんが、このタンパク質が何らかの理由で、本来とるべき構造やコンフォメーション(折りたたみ)に異常が起これるとその役割をはたすことができなくなるばかりか、全くちがう性質や細胞の生存を脅かす毒性を獲得してしまうことがあります。通常は直ちに分解されたり、修復されたりしてことなきを得ますが、中枢神経系において、あるタンパク質が分解されにくい異常分子「アミロイド」に変化した場合、徐々に進行する神経変性疾患の原因となるのです。アルツハイマー病やパーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症などの神経疾患の多くは、変性部位に異常タンパク質の病変が認められますが、近年の研究で、そのタンパク質の構造異常が病気の発症や進行に直接関わっていると考えられるようになってきました。この意味で、異常タンパク質の蓄積を伴う多くの神経変性疾患は「タンパク質のがん」と考えることができるかもしれません。

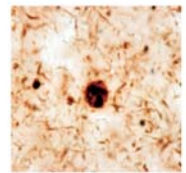
パーキンソン病の患者さんには、神経細胞のシナプスで働くαシヌクレインというタンパク質が、本来の構造とは異なる形をとって変性部位に蓄積してきていることがわかっています。重要なことに、この異常αシヌクレインの蓄積の広がりや患者さんの臨床症状について、興味深い相関が認められま

す。また、遺伝性のパーキンソン病の患者さんの一部に、αシヌクレインのアミノ酸が一つ置き換わる遺伝子変異や、αシヌクレインの遺伝子領域が重複している例が報告されています。遺伝子の異常によっておこる病気は、原因がはっきりしていますが、その異常があるとなぜ病気を発症するかという解析は思ったほど容易ではありません。遺伝子の異常から病気の発症までに様々な段階があり、また長い時間がかかるからです。遺伝性のパーキンソン病の場合も同じです。αシヌクレインというタンパク質は140個のアミノ酸がつながった分子ですが、その30番目のアラニンがプロリンにかわる変異(A30P)、46番目のグルタミン酸がリジンにかわる変異(E46K)、あるいは53番目のアラニンがスレオニンにかわる変異(A53T)のいずれかを生まれつき持った場合、ある程度の高齢になるとパーキンソン病を発症します(これらの変異は日本国内ではまだ報告されていません)。パーキンソン病は中脳黒質などの神経細胞にαシヌクレインが蓄積して、変性する病気ですので、変異型αシ

αシヌクレイン分子の模式図



E46K、A53T変異体は野生型(WT)よりも線維形成が速いが、A30Pは逆に遅い。



患者脳に蓄積するαシヌクレイン(茶色)

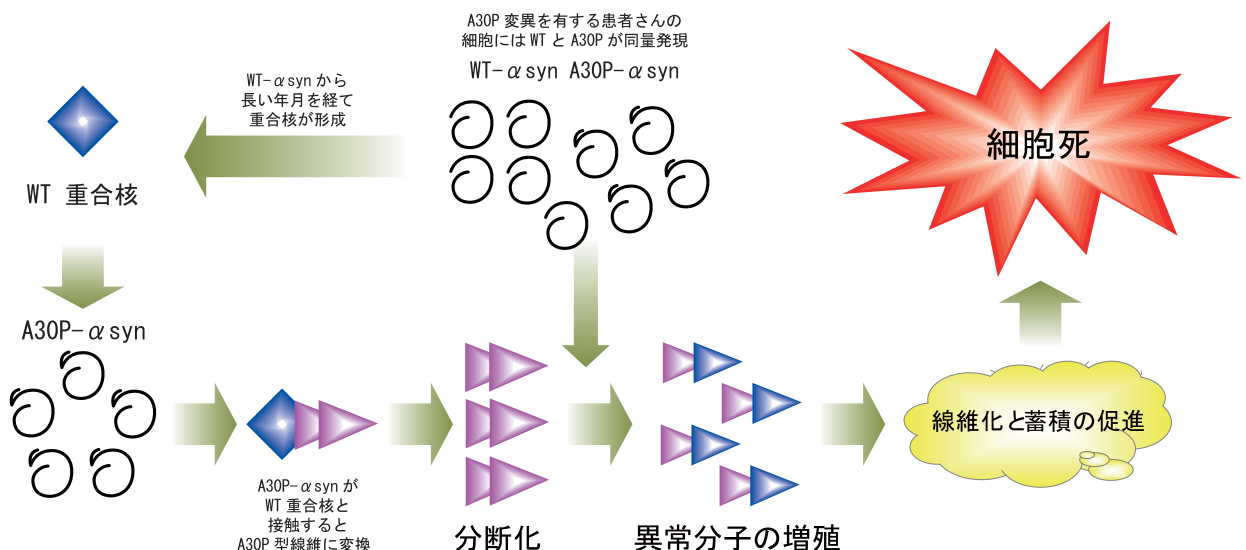
異常分子の重合体(アミロイド線維)の形成機序



重合核形成するまではかなりの時間を要するが、その後の反応は速く進む。

ヌクレインが正常タンパク質に比べて凝集、蓄積しやすいことが考えられます。実際に試験管内の実験でA53T変異とE46K変異は凝集を促進するという結果が出ていました。ところがA30Pの変異だけ、野生型（WT）よりもむしろ凝集が遅く、その解釈が問題となっていました。米国のある研究者は、この実験結果から変異は凝集を促進するのではなく、分子がいくつか会合した可溶性オリゴマーの形成を促進し、これが毒性を発揮するという論文を、米国アカデミー紀要誌、Nature誌に発表しておりました。私達は少し別の角度から、A30P変異の効果について検討してみました。タンパク質が凝集、線維化するときは、最初に小さな凝集核が形成され、それが種(シード)になって線維が伸長していくと考えられています。そこでその状態を再現するため、正常αシヌクレイン分子に線維化した異常αシヌクレイン分子を少量混合するという実験を行ってみました。その結果、A30P変異αシヌクレインの線維を混合したものが最も速く線維化したのです。この現象を詳しく調べた結果、A30P変異αシヌクレインはそれ自身が線維化するのには遅いのですが、一旦線維化すると、悪性の「がん細胞」のように分散しやすく、正常分子を異常分子に変換する能力が高いこと、また変異のないαシヌクレインも自分と同じA30P型の悪

性の線維に変換していくことがわかりました。すなわち、野生型でも変異型でも最初に線維が形成されると変異型の異常分子が雪だるま式に増殖していくということがわかったのです。この実験は試験管内の実験に基づいたもので単なる仮説にすぎないわけですが、つい最近亡くなられたA30P変異をもつ患者さんの脳が調べられ、非常に沢山のαシヌクレインが線維化して蓄積していることが明らかとなりました。この研究から明らかになったことは、一度線維化して異常になったαシヌクレインは正常αシヌクレインを異常型に変換する「プリオン」様の性質を有すること、同じタンパク質でも一つのアミノ酸が置き換わっただけで性質が大きく異なる異常分子に変化すること、さらに異常分子は正常分子を自身と同じ構造や性質をもつ異常分子に変換して自己増殖するということです。このような意味で、異常タンパク質が蓄積する多くの神経変性疾患は、異常タンパク質が老化に関連した何らかの原因で生じ、それが分解されずに他の細胞や脳領域に広がっていくことで病気が進行するという共通のメカニズムが考えられるように思います。また、この考え方に立てば、発症を抑えるというよりも、病気の進行を抑える新しい治療法の開発に取り組むことを考える必要があると思います。



レーザーマイクロダイセクション

◆統合失調症研究チーム・研究員 市川 智恵

人が病気になった時、その病気によっては、体の組織中の細胞の状態が変化していることがあります。たとえば、がんでは細胞の増殖が亢進し、腫瘍ができます。また、特有の物質を産生し、それを細胞内に蓄積したり、分泌する病気もあるでしょう。組織の構造が異常になる場合もあります。このように病変部位として組織に異常を認める病気が多数ありますが、なぜそういう状態になるのか、原因がはっきりしない場合も多く存在します。そのような疾患では、組織から病気の原因を探ることが重要になります。

レーザーマイクロダイセクション

疾患を例にあげると、例えばがんの場合は、手術でがんを取り除いたあとに、摘出したがんの組織を、その原因解明や治療法の開発をめざして研究に使用させていただくことがあります。組織を用いて、遺伝子解析やタンパク質の発現を解析する研究などが行われていますが、以前の技術では、病変部位の組織をそのまま丸ごと使用していました。しかし、実はそこには正常な細胞と異常のある細胞が混在しているため、このような組織の塊を使用して遺伝子発現解析などを行った場合、がん細胞に特徴的な遺伝子の発現変化などを見逃してしまうことがあります。

そこで、研究を行う際には、異常のある細胞だけ、あるいは正常な細胞だけを選んで集めて解析したいと考えます。組織の場合では、切片の染色などにより、病変部位と正常部位を見分けることもできます。しかし顕微鏡下で見分けている狭い範囲の病変部位や、個々の細胞を集めることは長いこと技術的に困難でした。



写真1 レーザーマイクロダイセクションの装置

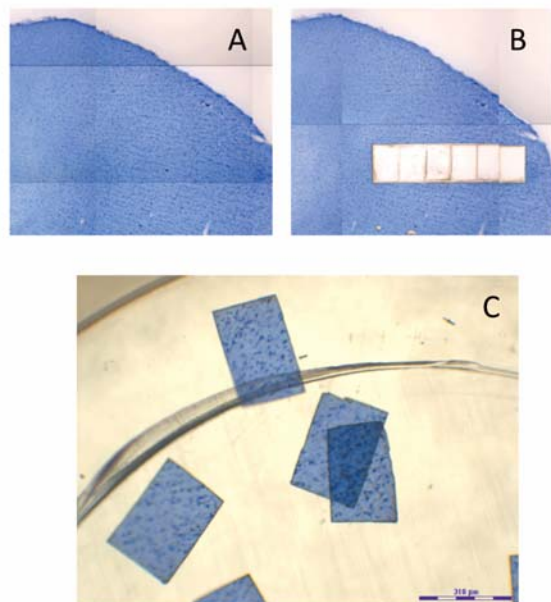


写真2 レーザーにより切り出した組織片

染色した組織切片(A)から目的の部位を切り出した後(B)、切り取られた組織片はチューブのキャップの部分に落下する。回収した組織を顕微鏡下で確認することができる(C)。

ところが近年、技術が向上したことで、顕微鏡で観察しながら、組織切片を切ることが可能になりました。目的の部位を囲むようにレーザー光を照射し、狭い部位を焼き切って取り出す方法が「レーザーマイクロダイセクション」という技術です。この技術によって、大まかな部位別の解析から、個々の細胞レベルの解析まで、目的に合った試料を顕微鏡下で切り出せるようになりました。

写真1に示したのがその装置で、顕微鏡にレーザーを発生する装置が付いています。スライドガラスに組織切片細胞を貼り付け顕微鏡で観察します。組織切片の様子はパソコンのモニターで確認し、必要な部位を囲むようにレーザー光を照射して組織を切り出します。切り出された組織片は、小さいチューブのキャップの部分に入れられます。顕微鏡下で切り出した組織片を確認することもできます（写真2）。顕微鏡の倍率や、切り出すレーザー光の強度を調節することで、組織切片中の個々の細胞や、培養した細胞など、小さい面積を切り出すことができます（写真3）。

レーザーマイクロダイセクションを用いた研究

上記のがんの例以外にも、様々な研究にレーザーマイクロダイセクションの手法は応用されており、特定の組織や細胞を対象に研究を行うことができるようになりました。たとえば動物モデルについて、疾患や発生の研究を行う際に

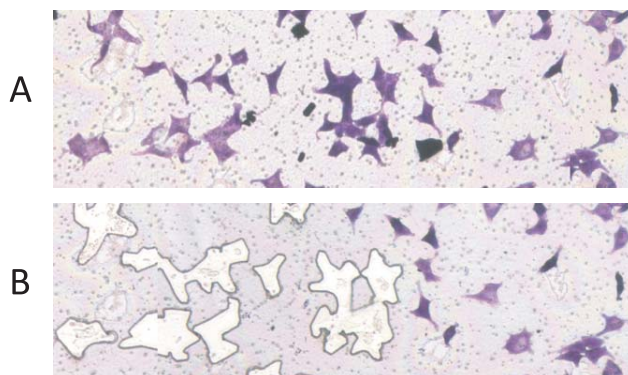


写真3 レーザーにより切り出した培養細胞
染色した培養細胞 A(切り出し前)からも目的の細胞を切り出すことができる B(切り出し後)。

多様な遺伝子発現を調べたい場合には、組織ごとに調べるだけでなく、脳のさらに細かい部位ごとや、大脳の白質・灰白質別、神経細胞のみ、というように、目的に合わせて細かい単位まで絞り込み、組織を回収することができます。さらに、個々の細胞について、細胞の中で生じている異常を検出し、病気の原因を探る研究も始まっています。レーザーマイクロダイセクションで切り出した細胞群から、病気の原因となりそうなたんぱく質や遺伝子の発現を解析することができるようになってきました。

さらに、レーザーマイクロダイセクションはミトコンドリアを対象とした研究でも非常に注目されています。ミトコンドリアの中にはミトコンドリアDNA (mtDNA) が数百から数千個含まれると考えられていますが、個々の細胞の中には正常なmtDNAだけでなく、塩基置換や欠失などの変異を有するmtDNAも混在しています。一つの細胞に含まれる変異mtDNAの割合は細胞により異なることが報告されており、変異したmtDNAを多く保有している細胞は、エネルギー産生にかかわるミトコンドリアの活性が低下することが知られています。レーザーマイクロダイセクションにより、ミトコンドリア活性の低下した個々の細胞を切り出すことで、細胞内のmtDNA変異率を求めることも可能となりました。最近の研究では、変異したmtDNAが細胞の中でどの程度まで増えてしまうとミトコンドリアの活性が低下するのか、といった研究も行われています。レーザーマイクロダイセクションは、このような非常に小さな単位の研究を行う際にも活用できる応用性の高い技術です。

組織を対象にしていた研究から、細胞を対象として研究がおこなわれることで、これまで以上に選択的な研究が進むと考えられます。レーザーマイクロダイセクションの応用分野は多様に存在します。精神疾患の領域においても、脳・神経の研究で注目されており、これまでに明らかにできなかった病気の原因解明に役立つことが期待されています。

精神研都民講座 統合失調症の最新情報 – 予防、治療、研究の新しい流れ –

第1回 オーバービュー；統合失調症の最新情報

東京都立松沢病院 院長 岡崎 祐士



統合失調症という疾患概念が生まれて100年あまり、原因解明をめざした研究は難航を続けています。しかし、岡崎祐士先生は、良く見ると確実な進歩が始まっている、と希望に満ちた言葉で御講演を始められました。複数の研究から、統合失調症という病気は、いくつかの段階を経て進行していく疾患であることが分かってきました。脳画像検査は技術開発が格段に進歩したおかげで、わずかな大きさの違いを精密に判定できるようになりました。その結果、脳の横側でちょうど耳の上あたり（側頭葉）と額のあたり（前頭葉）が、発症後5年ほどかけて小さくなっていくことが分かりました。さらに、脳の働きの不具合も進行することが分かってきました。人間は五感で感じ取ったものを全て意識しているわけではありません。ためしに、身体のどこかに痒いところがないか意識してみてください。必ず、どこかしらに痒みを覚えます。普段は、意識を集中している部分以外の感覚は、脳に入ってきて意識に登らないよう調節されています。たとえば、いま皆さんはこの文章を読んでいます。視界の中央に映る文字から、ちょっと意識をそらしてみてください。とたんに、視野の周辺に湯呑み茶碗や寝そべった猫が見えていること、風鈴の音や自動車の騒音が聞こえていたこと、虫歯がちょっと痛んでいたお腹がすいていたことに気づくはずです。これは、脳の奥深く真ん中あたりに、五感をふ

るい分けて（フィルター）、私達が物事に集中できるようにする場所（視床）があるために起きる現象です。視床のフィルターが働きにくくなる体質があり、それが統合失調症の素因と関連しそうだということも分かってきました。視床のフィルターを通過した感覚は、五感別に脳の表面（大脳皮質）で受け止められ（感覚野）、意識に登ります。素因として視床のフィルターがうまく働かず、集中している意識以外の感覚が割り込むようになると、大脳皮質での感覚が障害され統合失調症が発症します。たとえば、誰もいないのに人の声が聞こえたり、テレビのニュースが自分の事を報道していると感じたりする症状などです。大脳皮質には、五感別に離れている感覚野を結びつける場所（連合野）も備わっていて、複雑な脳の働きを実現させます。たとえば、聴覚野に音として受け取られた人の声は、側頭連合野で複雑な意味や文法と結びつけられ「言語」として理解されます。統合失調症はさらに症状が進行すると、こうした連合野までが侵され、日常生活に様々な障害が出てきます。このように視床、感覚野、連合野と障害が進行することは、様々な生理検査の進歩によって分かってきたことです。

世界では早期発見・早期治療をさらに前倒し、本格的な発症の前に援助を始めようという「早期介入」が熱心に取り組まれています。岡崎先生の調査でも、12～15歳の子供の15%で弱い精神科的症状（PLE）が確認され、こうした子供に援助が必要であることが明らかにされました。松沢病院でも青年期外来「わかば」が立ち上がり、学校支援および地域との連携（巢立ち会など）を実現して早期介入のシステムを立ち上げました。訪問介護の24時間化や夜間の訪問援助（アウトリーチ）も導入予定です。

（統合失調症研究チーム 糸川昌成）

(財)東京都医学研究機構 東京都精神医学総合研究所

ニュースに関するお問合せは、下記へ 隔月発行

〒156-8585 東京都世田谷区上北沢2-1-8 TEL03-3304-5701 FAX 03-3329-8035

<http://www.prit.go.jp/> E-mail : news@prit.go.jp

印刷：シンソー印刷(株)

R100
古紙配合率100%再生紙を使用しています