

## 学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	病態制御科学領域 病態病理学教育研究分野 氏名 羽賀理恵
<p>(論文題目)</p> <p><b>Clinical utility of skin biopsy in differentiating between Parkinson's Disease and multiple system atrophy.</b></p> <p>(パーキンソン病と多系統萎縮症の鑑別における皮膚生検の有用性)</p>	
<p>はじめに</p> <p>パーキンソン病 (PD) と多系統萎縮症 (MSA) の鑑別診断は臨床症状、画像診断、L-dopa への反応性に基づいて行われるが、病初期では両者の鑑別がしばしば困難であるため、感度の高い鑑別診断法が求められている。PD患者の剖検皮膚において、免疫染色でその70%に<math>\alpha</math>シヌクレインの凝集が見出され(特異度100%)、皮膚での<math>\alpha</math>シヌクレイン凝集の検出がPD診断に有用である可能性が示されている。しかし私達が以前行ったPD患者の生検皮膚を用いた検討では、<math>\alpha</math>シヌクレイン凝集はPD患者の10%にしか検出されず、通常生検皮膚の免疫染色ではPDの病理診断が困難であることがわかっていた。一方、同じ<math>\alpha</math>シヌクレインが蓄積する疾患であるMSAの皮膚で、<math>\alpha</math>シヌクレインの検討はなされていない。しかし、より高感度な<math>\alpha</math>シヌクレイン凝集の検出法を用いれば、生検皮膚においても<math>\alpha</math>シヌクレイン凝集をより高頻度に検出できる可能性がある。さらには高感度な検出法ならばPDとMSAの鑑別に有用である可能性が高い。</p> <p>PD患者の皮膚では末梢神経密度が減少するが、MSA皮膚では減少しないとの報告があり、最近標準化された表皮内神経線維密度 (IENFD) の定量法を用いれば、生検皮膚を用いてPDとMSAを鑑別できる可能性を示唆する。しかしながら、L-dopa治療がPDにおけるIENFDを減少させるとする報告があり、L-dopa治療の有無のIENFDへの関与を考慮する必要が出てきた。</p> <p>以上から、生検皮膚における<math>\alpha</math>シヌクレイン蓄積のより高感度の検出とIENFDの検討はPDとMSAの鑑別に有用である可能性がある。</p> <p>目的</p> <p>1) 生検皮膚の神経線維上のリン酸化<math>\alpha</math>シヌクレイン凝集体を、二重免疫蛍光染色と共焦点顕微鏡を用いて検討し、PD患者とMSA患者での検出率の違いを明らかにする。 2) IENFDのPD患者とMSA患者での差を明らかにする。さらにPD患者におけるL-dopa治療の有無とIENFDの関係についても明らかにする。</p> <p>方法</p> <p>United Kingdom PD Society Brain Bank Criteriaにより診断したPD患者38例(男性15例、女性23例、平均年齢64.7歳)、うち26例でL-dopa投与歴があり、12例は未投与、とSecond consensus statement on the diagnosis of MSAにより診断したProbable MSA患者13例(男性7例、女性6例、平均年齢62.0歳)、を対象とした。また、HbA<sub>1c</sub> 6.1%以上の患者、葉酸、ビタミンB<sub>1</sub>、B<sub>12</sub>欠乏症の患者、脛骨神経あるいは腓腹神経の神経伝導検査で異常を有する患者、臨床上明らかな温痛覚・振動覚障害がある患者は除外した。PD38例とMSA13例の下腿外踝上方10cmあるいは胸部正中から採取した皮膚をザンボニ液で固定し、20%シヨ糖含有PBSに浸透、凍結切片を作成した。<math>\alpha</math>シヌク</p>	

レイン陽性構成物の有無については、抗リン酸化 $\alpha$ シヌクレイン抗体と抗PGP-9.5抗体を用いて蛍光二重免疫染色を行い、神経線維上の $\alpha$ シヌクレイン凝集の有無を共焦点顕微鏡を用い検討した。IENFDの定量は抗PGP-9.5抗体と抗IV型コラーゲン抗体を用い、同様に共焦点顕微鏡を用い皮膚基底膜を貫通する神経線維数を計測することによって定量した。

## 結果

$\alpha$ シヌクレイン凝集体の検出：神経線維上の $\alpha$ シヌクレイン凝集はPD患者38例中2例（5.3%）で陽性だった。陽性となった1人の患者は71歳女性、病期4年、Hoen-Yahr Stageは3、凝集体は下肢からの皮膚に認められた。もう1人の患者は70歳男性、病期1年、Hoen-Yahr Stage2、 $\alpha$ シヌクレイン凝集は前胸部からの生検皮膚に認められた。生検皮膚に $\alpha$ シヌクレイン凝集体が認められなかったPD患者の平均病期は $4.8 \pm 3.2$ 年であり、病期と $\alpha$ シヌクレイン凝集体陽性の関連は認められなかった。MSA患者では全例 $\alpha$ シヌクレイン凝集体は陰性だった。

IENFD：全PD患者の平均は $16.6 \pm 0.9$ /mm (mean  $\pm$  SEM)であり、MSA患者の平均は $23.7 \pm 8.7$ /mmで、PD患者でMSA患者に比べ有意に低かった。またPD患者のうちL-dopa投与群の平均は $17.3 \pm 1.2$ /mm、非投与群の平均は $15.2 \pm 1.2$ /mmと有意差はなく、L-dopa治療のIENFDへの影響は明らかでなかった。

## 考察

今回得られた結果として以下にまとめる。

- 1) 神経線維上の $\alpha$ シヌクレイン凝集はPD患者の5.6%で認めた
- 2) MSA患者では生検皮膚で神経線維上に $\alpha$ シヌクレイン凝集は認めなかった
- 3) IENFDはPD患者でMSA患者と比較し低下していた
- 4) IENFDはL-dopa治療の有無で差がなかった

今回の検討で生検皮膚を用いた $\alpha$ シヌクレイン凝集の検出率がPD患者で低かった理由として、剖検例に比べ皮膚深部の神経叢まで観察が困難であったこと、さらに重要な点として生検部位がある。PD患者の背部からの生検皮膚では通常免疫染色で $\alpha$ シヌクレイン凝集の検出率が51.6%であった。一般に末梢神経障害は遠位となるほど障害が強くなる。今回私たちは神経密度定量のため標準となっている下腿の皮膚を主に検討対象としたが、末梢神経系として遠位部であったため神経脱落がより進行しており、検出率が低くなった可能性がある。一方で、IENFDがPDに比べMSAで保たれていたことは、MSAでは一般に末梢神経系は障害されないとされてきた従来の報告と合致する。またL-dopa未使用例でも長期治療例と同等のIENFD低下があり、病初期からの鑑別診断に有用であると考えられる。

## 結語

PD患者では皮膚内に $\alpha$ シヌクレイン凝集体を認めるがその頻度は低く、末梢神経系遠位部での皮膚生検は両疾患の鑑別には有用ではないと考えられた。一方表皮内神経密度はPD患者ではL-dopa投与に関係なくMSA患者に比べ低く、両疾患の鑑別に有用である可能性がある。