

III 臨床研究班

〔 1 〕 臨床研究班全体研究報告

【臨床研究班班員】

	氏 名	所 属	役職名	研究テーマ
班長	玉岡 晃	筑波大学人間総合科学 研究科	教授	若年層における脳血流シンチグ ラフ (^{123}I -IMP-SPECT) の正常 対照群データベース作成
班員	石井 一弘	筑波大学人間総合科学 研究科	講師	
	武田 徹	筑波大学人間総合科学 研究科	講師	
	岩崎 信明	茨城県立医療大学附属 病院小児科	准教授	小児におけるジフェニルアルシ ン酸 (DPAA) 等に係る健康影響 に関する調査研究
	宮本 信也	筑波大学人間総合科学 研究科	教授	
	石井 賢二	東京都老人総合研究所 ポジトロン医学研究施 設	診療所長	ジフェニルアルシン酸 (DPAA) 等有機ヒ素化合物ばく露者にお ける脳ポジトロンCT (PET) の解析
	中馬越 清隆	筑波大学人間総合科学 研究科	講師	ジフェニルアルシン酸 (DPAA) 等有機ヒ素化合物ばく露者の眼 球運動障害の検討

【臨床研究班研究概要】

茨城県神栖市において有機ヒ素化合物（ジフェニルアルシン酸（DPAA））による健康影響は発覚から5年が経過し、節目を迎えた。臨床研究班はこれまでばく露者の臨床症状を詳細に分析し、臨床検査の異常所見を総合的に解析した結果、脳血流シンチグラフや脳ポジトロンCTが有機ヒ素化合物ばく露に密接に関連するクリニカルマーカー（臨床指標または客観的生物指標）として有用であること明らかにし、また、小児でも成人と同様に脳幹・小脳、海馬、後頭葉において血流低下や糖代謝低下が生じることが判った。さらに健康影響を詳細に検討し、一部の小児に起立性調節障害が起こることを明らかにした。

DPAAの標的臓器の一つは中枢神経、なかでも脳幹・小脳である。本年度は脳幹・小脳機能を評価する方法として、電気眼振計による眼球運動障害の定量的解析を行う研究班を立ち上げた。急性期に認められていた眼球運動異常と異常眼振がばく露中止後5年を経て、自覚症状がほぼ消失した現時点でも検出できる意義は大きい。この脳幹・小脳機能異常をサブクリニカルなレベルで鋭敏に検出できる本検査法を用いて、DPAAの長期影響を客観的に証明することは重要なこと

である。これら脳幹・小脳の長期に亘る異常所見は脳ポジトロンCTでも認められており、非常に興味深い。

これまでの臨床班の研究結果を纏めると①DPAA ばく露の臨床症状は脳幹・小脳症状、側頭葉症状と後頭葉症状である。②小児は一部で精神遅滞、起立性調節障害がみられる。③急性期にみられる症状に関連した脳部位（脳幹・小脳、側頭葉、後頭葉）に一致して、脳血流低下がみられる。④この脳血流低下は緩徐に改善するが長期間続く。⑤脳糖代謝低下は脳血流低下部位に一致しており、サブクリニカルには遷延する。⑥ばく露初期にみられた眼球運動異常、異常眼振も遷延してみられた。以上より脳幹・小脳機能低下を示唆する所見が機能画像検査および生理学的検査で証明された。

今後の課題は、各検査結果を持ち寄り、異常検査結果の相互関係を考察し、DPAA ばく露影響がどの程度検査結果に現れているかを解釈することである。難題ではあるが、異常所見と慢性期症状や後遺障害との関連を明確にすることであると考える。

[2] テーマ別研究報告

[2 . 1] 若年層における脳血流シンチグラフ (^{123}I -IMP-SPECT) の 正常対照群データベース作成

主任研究者：石井 一弘 (筑波大学 人間総合科学研究科 講師)
分担研究者：武田 徹 (筑波大学 人間総合科学研究科 講師)
 ：玉岡 晃 (筑波大学 人間総合科学研究科 教授)
研究協力者：朝田 隆 (筑波大学 人間総合科学研究科 教授)
 ：貝瀬 利一 (東京薬科大学生命科学部 教授)
 ：柴田 康行 (国立環境研究所化学環境研究領域 領域長)
 ：平野 靖史郎 (国立環境研究所化学物質環境リスク研究センター 室長)
 ：中馬越 清隆 (筑波大学人間総合科学研究所 講師)
 ：圓藤 吟史 (大阪市立大学大学院 教授)
 ：瀬戸 康雄 (警察庁科学警察研究所)
 ：石井 賢二 (東京都老人総合研究所 診療所長)
 ：小関 迪 (筑波記念病院 院長)

1 概 要

本研究では、データベース化されていない 20 歳台、30 歳台、40 歳台、50 歳台の正常対照群の脳血流シンチグラフデータベースを作成し、これを用いて DPAA ばく露者における客観的、定量的脳血流変化を明らかにし、脳血流 SPECT 検査を客観的生物指標として確立させることを目的とした。今回、暫定的に若年健常者データベースを作成し、A 地区 DPAA ばく露者の脳血流スペクトに対して自動で関心領域 (ROI) 設定を行い 3D-SSP 解析法、断層画像統計解析法を施行した。前年度来の結果と同様に小脳、脳幹、後頭葉における定量的、客観的
血流低下が証明された。これら小脳、脳幹、後頭葉の血流低下は緩徐な改善傾向がみられるものの、ばく露中止から数年経過していても有意な脳血流低下が認められることから、今後も更なる長期経過観察が必要であると思われる。

2 目 的

DPAA ばく露者の脳血流シンチグラフでは、小脳・側頭—後頭葉・側頭葉内側部 (海馬) の血流低下が認められるが、60 歳台以上の正常対照者で作成されたデータベースを用いて、その血流低下部位を明らかにしていた。しかしながら、年齢により脳血流が若干変化することが知られており、各脳部位での血流変化を定量的・統計学的に証明するには、各年齢別正常対照群データベースを作成する必要がある。本研究ではデータベース化されていない 20 歳台、30 歳台、40 歳台、50 歳台の正常対照群の脳血流シンチグラフデータベースを作成し、DPAA ばく露者における脳血流低下部位の定量化を行い、同時に経時的脳血流変化を解析することを目的とした。また、DPAA ばく露者における客観的生物指標としての脳血流 SPECT 検査の実用化を目指す。

3 方法

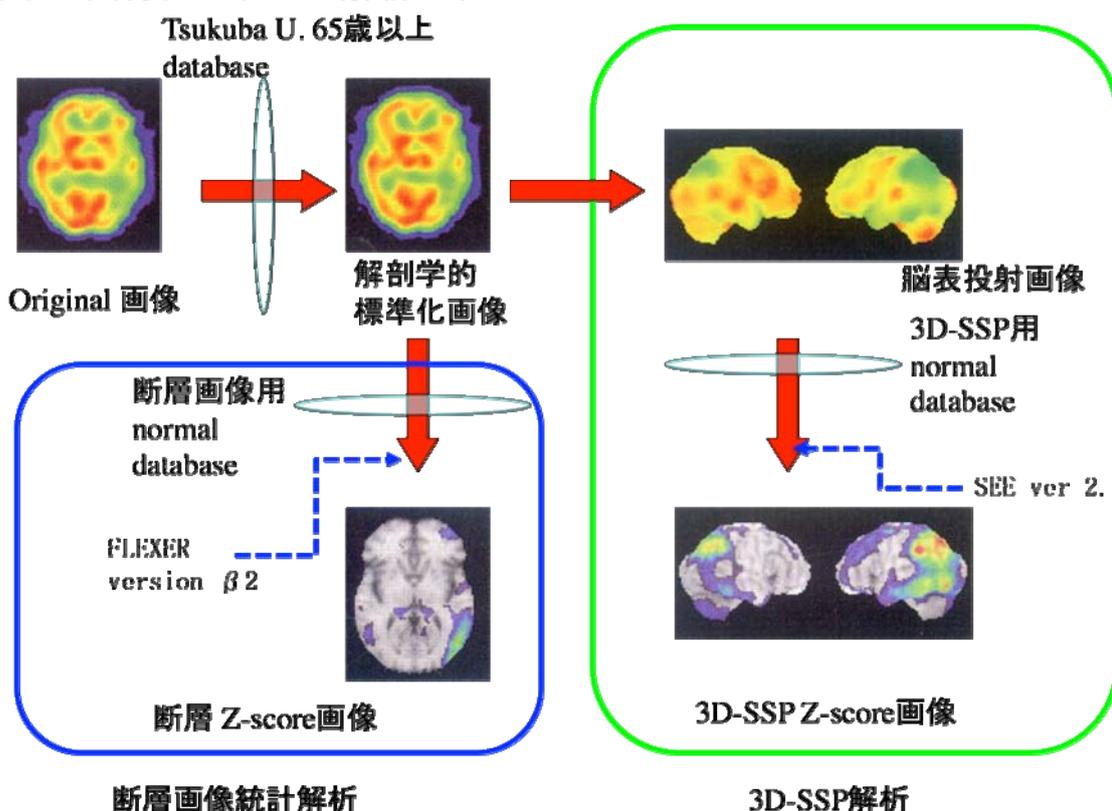
3. 1 健常者データの収集法

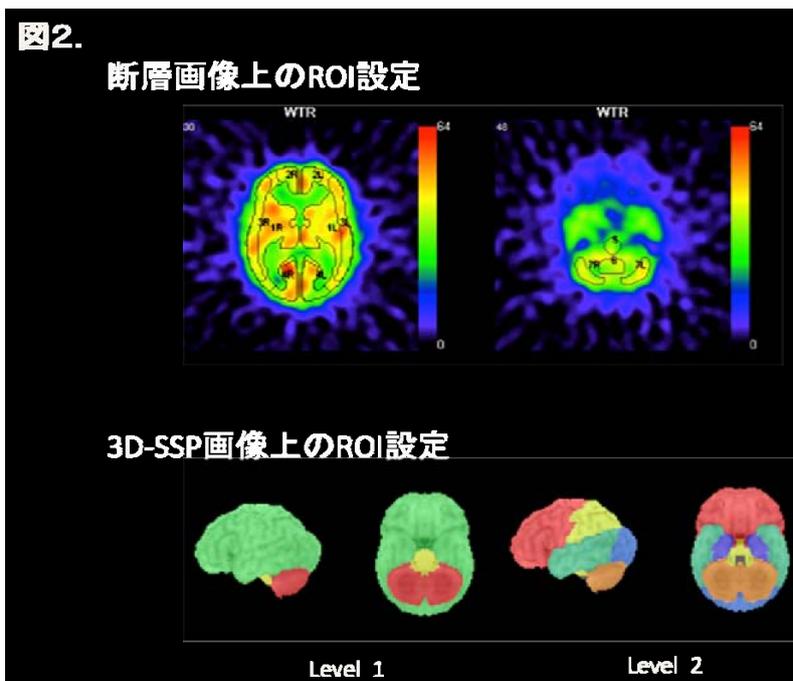
つくば市周辺の一般市中病院である筑波記念病院にて脳ドックまたは人間ドックを受診し、AまたはB判定を受けた方やそれと同等であると判断された方に本研究への参加の勧誘を行い、本研究の主旨に賛同を頂き、同意を得られた方を対象にする。但し、他施設にて脳ドック、人間ドックを受診し、AまたはB判定を受けた方（血液検査、心電図などが正常である方）は、同等と考え参加可能とする。20歳台、30歳台、40歳台、50歳台の正常対照者各群40人（総人数160人）に頭部MRI、心理検査（簡易版WAIS-R（知識、類似、絵画完成、符号）、MMSE、長谷川式痴呆スケール）を施行し、正常範囲内である被験者に対して、筑波大学附属病院にて脳血流シンチグラフ（ ^{123}I -IMP）を行い、各年齢層の健常者データベースに組み入れた。

3. 2 断層画像統計解析法と3D-SSP解析法

^{123}I -IMP SPECTは放射能222MBqを静脈注射して15分後にE-cam（Siemens社製）にて画像を撮像した。従来のデータベース処理や解剖学的標準化画像を経て、今回、暫定的に作成した健常者断層画像用と健常者3D-SSP用の2種の年齢階層別データベースを用いて解析を試みた。画像上での関心領域（ROI）の設定に関して、断層画像ではFLEXER version β 2を、3D-SSPではSEE ver2.1を使用した。（図1，2参照）

図1. 画像処理および解析過程





3. 3 DPAAばく露者データ

DPAAばく露者のA地区住民（男性 8 人、女性 11 人）における¹²³I-IMP SPECTの経時的データをを用いた。DPAAばく露者の血流変化を飲水中止からの日数で飲水中止からSPECT撮像までの日数を0-199日（延べ人数 12人）、200-499日（延べ人数 7人）、500-999日（延べ人数 29人）、1000-1499日（延べ人数 38人）、1500日以上（延べ人数 30人）に分けて健常者データベースから平均標準偏差（SD）を算出した。さらに3D-SSPではExtent ratio（特定ROI内で設定した閾値を超える値を持つピクセル数が占める割合）とSeverity mean（特定ROI内で設定した閾値を超える値を持つピクセルの平均値）を求めてグラフ化した。断層画像ではGLB（全脳カウントで正規化した3D-SSP解析のZ-score）を求めてグラフ化した。

3. 4 統計解析法

画像統計解析ソフトウェアとしてiNeurostat-plus（日本メジフィジックス）を用い、解剖学的脳部位の特定をするために 3D-SSP法ではSEE version 2.1（日本メジフィジックス）を断層画像法ではFLEXER version β2（日本メジフィジックス）を用いた。また、数値データの統計解析にはJMP ver.5.1（SAS Institute Japan）を使用した。

4 結果

健常者標本数が少ないため、20-39歳と40-59歳の2群に分けた。20-39歳では男性12名、女性13名で、40-59歳では男性4名、女性12名であった。次にこれら健常者データベースを使用して、画像統計解析を行った。

3D-SSP（脳表画像解析）において、Severity meanでは、全ての脳部位にて-1 ～ -1.4SD程度の脳血流低下が、Extent ratioでは、40%～80%の血流低下度として認められた。この脳血流低下度は飲水中止からの日数が増えるほど改善する傾向がみられた。飲水中止から撮像までの日数ごとに脳部位別の平均値の多重比較解析（Studentのt検定を使ったペア毎の比較、Tukey-KramerのHSD検定、HsuのMCB検定、Dunnnettの検定）を行ったところ、Severity meanでは、小脳、脳幹、前頭葉、側頭葉、頭頂葉、後頭葉の各間で全ての検定法で有意差は認められなかった。一方、Extent ratioでは小脳、脳幹、後頭葉にて脳血流低下傾向がみられた。

断層画像解析（GLB）において、小脳半球、中大脳動脈領域、後大脳動脈領域において全期間に亘り、有意な脳血流低下がみられた。脳幹、小脳虫部では有意な低下が明らかでなかった。この脳血流は飲水中止からの日数の増加に伴って改善する傾向がみられた。

図 3. 3D-SSP 画像による A 地区ばく露者の各脳部位での脳血流低下度（Extent ratio）

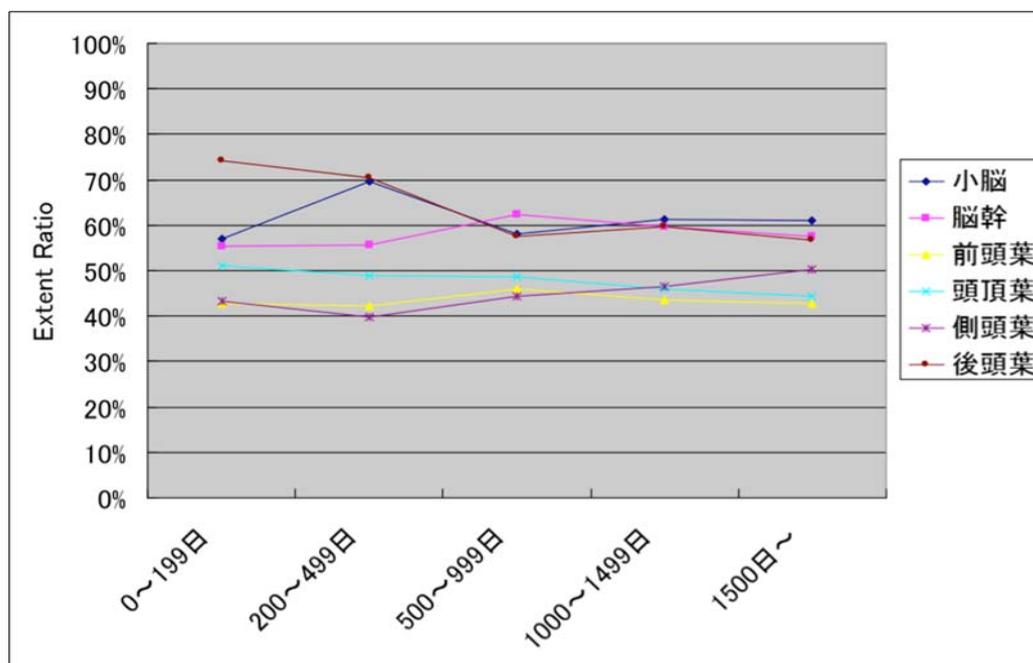


図 4. 3D-SSP 画像による A 地区ばく露者の各脳部位での脳血流低下度（Severity mean）

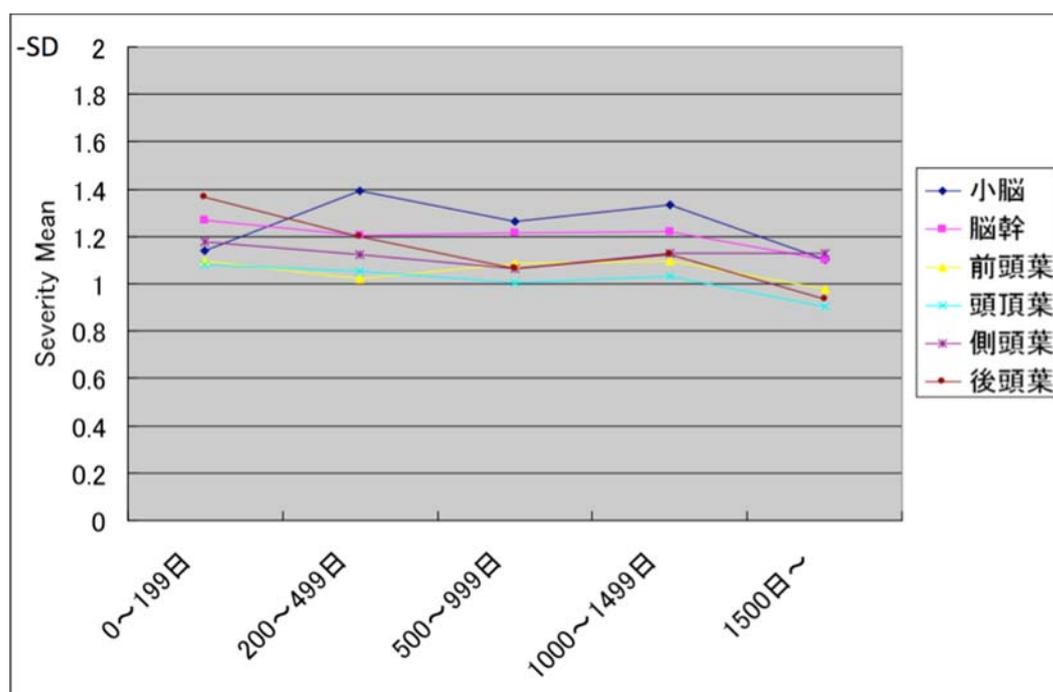


図5. 断層画像によるA地区ばく露者の各脳部位での脳血流低下度 (GLB)

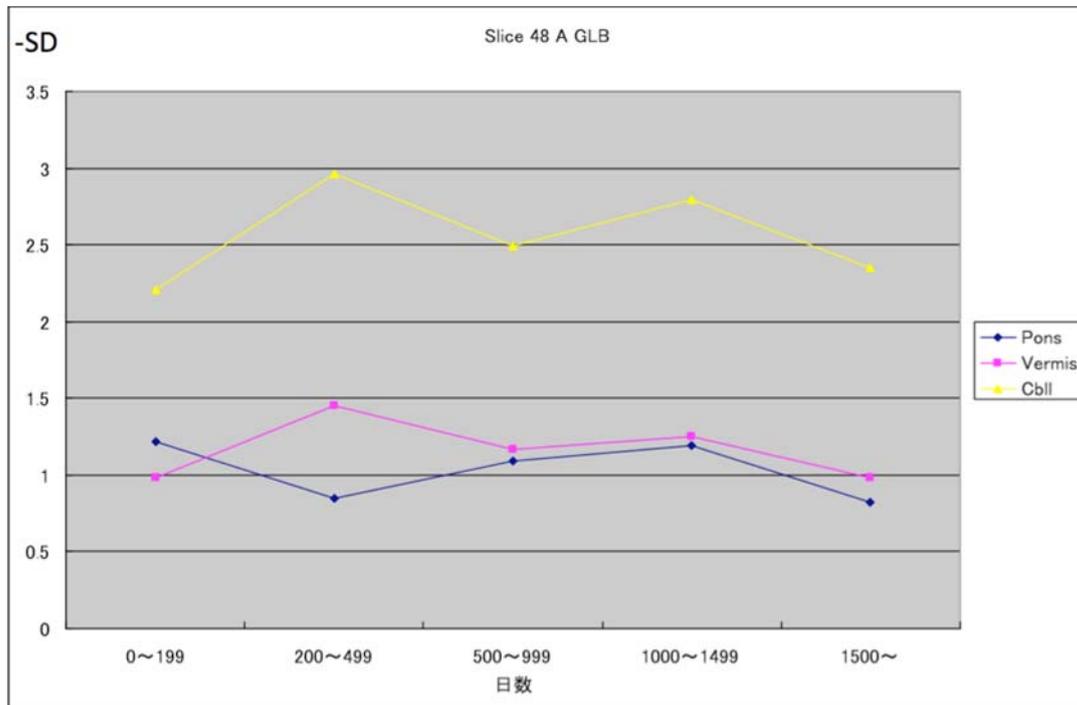
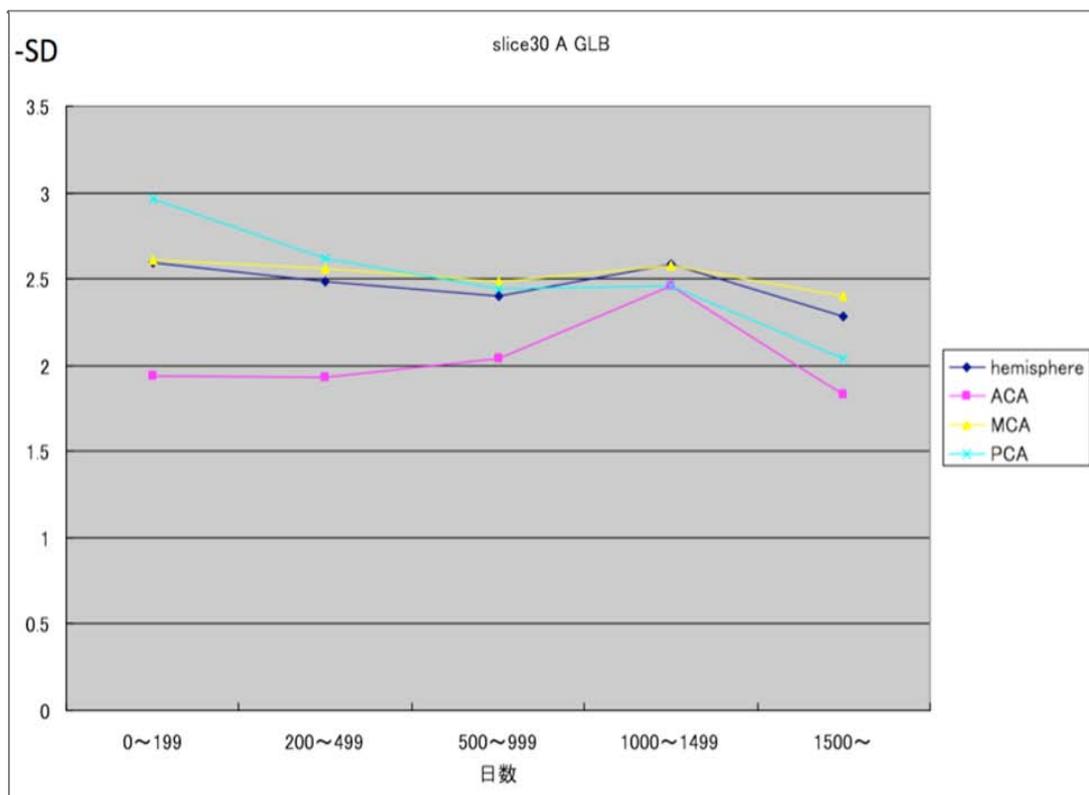


図6. 断層画像によるA地区ばく露者の各脳部位での脳血流低下度 (GLB)



5 考 察

DPAA ばく露者の臨床症状は小脳・脳幹症状と考えられる運動失調、ミオクローヌス（感覚誘発性ミオクローヌス）、複視、振戦に加え、睡眠障害、記憶力障害、視覚異常などである。これら症状は、一過性でありばく露中止により数週間ではほぼ消失する。めまい、ふらつき等の症状を長年に亘り訴える症例もあるが、それら症状と DPAA による中枢神経系への長期影響の関連が明確でなく、それら症状と関連があると思われる客観的指標も明らかになっていない。我々は当初より DPAA の中枢神経影響の客観的指標として小脳・脳幹や側頭・後頭部などの標的部位での脳血流低下を指摘し、それを証明するために研究を行ってきた。

DPAA ばく露中止後も小脳、脳幹、側頭・後頭葉での血流低下を示す例が多数存在することから、暫定的ではあるが、筑波大学附属病院の E-cam で作成した健常者データベースを用いて、A 地区 DPAA ばく露者の脳血流スペクトを iNeurostat-plus で画像解析し、小脳、後頭葉では脳表面画像解析と断層解析の両方で血流が有意に低下していた。また、脳幹は脳表面画像解析でのみ有意に血流低下が見られた。これらの結果は、これまで報告してきた平成 16 年度、平成 17 年度、平成 18 年度の研究報告書の結果と同じであり、さらに恣意性を完全に排除した客観的で定量的な解析法でも確認されたことは極めて重要である。

急性期に出現していた症状は、これまで指摘されていた小脳、脳幹、後頭葉由来の症状であり、この脳部位が DPAA による影響を最も強く受けたと考えられる。ラットやサルに DPAA 経口投与した実験では、中枢神経系への集積が多く、中でも脳幹、小脳に多く DPAA が蓄積しており、また、排泄も遅く、長期に亘り中枢神経内に留まることが明らかになっている。これまでの ARG（オートラジオグラム）の結果や臓器別生化学的定量分析の結果から、DPAA は中枢神経に集積しやすく、中枢神経内分布は一様ではあるが、脳部位排泄速度が異なるのか、残留量が脳部位で異なり、小脳や脳幹に残留しやすいと考えられる。

断層画像解析法で使用した FLEXER version $\beta 2$ に添付されている領域設定は脳血管支配領域であり、本研究で測定すべき皮質下の領域も含まれているので、関心領域を正確に反映していない。新たに関心領域を設定して、血流の差を測定する予定である。また、B 地区 DPAA ばく露者の画像統計解析も順次進めていき、A 地区ばく露者と比較する予定である。さらに健常者データベースのサンプル数を増やすよう努力する。

（倫理面での配慮）

本研究は、筑波大学病院倫理委員会での承認（平成16年11月22日付けで承認）（通知番号第376号）と筑波記念病院倫理委員会での承認を得た。（平成16年12月30日付けで承認）

参 考 文 献

- 1) Ishii K, Tamaoka A, Otsuka F, et al. Dipenylarsinic acid poisoning from chemical weapons in Kamisu, Japan. *Ann Neurol* 56: 741-745, 2004
- 2) Nakamagoe K, Ishii K, Tamaoka A, Shoji S. Upward gaze-evoked nystagmus with organoarsenic poisoning. *Neurology* 66:131-132, 2006