

## 脊髄小脳変性症の失調症状と髄液生化学的パラメーターへの 経頭蓋反復磁気刺激の影響

井原雄悦 信国圭吾 高田 裕 坂井研一  
西中哲也 田邊康之 高橋幸治

**要旨** 脊髄小脳変性症患者10名において失調の重症度, 小脳半球血流量, および髄液の ascorbate free radical, superoxide dismutase 蛋白, superoxide 消去能, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, noradrenaline, dopamine, homovanillic acid, 5-hydroxyindol acetic acid を8週間の経頭蓋反復磁気刺激 (rTMS) の施行前後で比較した. 脊髄小脳変性症患者では19人の対照者に比べて ascorbate free radical, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, superoxide 消去能が高値を示した. rTMS 後の脊髄小脳変性症患者では ascorbate free radical と失調の重症度が低下し, noradrenaline と dopamine が増加した. しかし rTMS 後に失調の重症度が悪化した唯一の脊髄小脳変性症患者では, ascorbate free radical が増加し, noradrenaline と dopamine が減少していた. したがって, rTMS の治療機序には酸化的ストレスの軽減とカテコラミンの増加が関与していると考えられる.

(キーワード: 経頭蓋反復磁気刺激 (rTMS), 脊髄小脳変性症, カテコラミン, 酸化的ストレス, 髄液)

Influence of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation on Ataxia Severity  
and Biochemical Parameters in Cerebrospinal Fluid of Patients  
with Spinocerebellar Degeneration

Yuetsu Ihara, Keigo Nobukuni, Hiroshi Takata, Kenichi Sakai,  
Tetsuya Nishinaka, Yasuyuki Tanabe, and Koji Takahashi

**Abstract** Ataxia severity, cerebellar hemispheric blood flow, and ascorbate free radical, superoxide dismutase protein, superoxide scavenging activity, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, noradrenaline, dopamine, homovanillic acid, and 5-hydroxyindol acetic acid in cerebrospinal fluid were compared before and after an 8-week course of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in 10 patients with spinocerebellar degenerations (SCD). SCD patients showed higher ascorbate free radical, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, and superoxide scavenging activity than 19 controls. In SCD patients, ascorbate free radical and ataxia severity declined, and noradrenaline and dopamine increased after rTMS. But in the one SCD patient who showed deterioration of ataxia severity after rTMS, ascorbate free radical increased and noradrenaline and dopamine decreased. Therefore, the therapeutic mechanism of rTMS may involve decreased oxidative stress and increased catecholamine levels.

(Key Words : repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS), spinocerebellar degeneration, catecholamine, oxidative stress, cerebrospinal fluid)

---

国立病院機構 南岡山医療センター 臨床研究部・神経内科  
別刷請求先: 井原雄悦 国立病院機構 南岡山医療センター 臨床研究部・神経内科  
〒701-0304 岡山県都窪郡早島町早島4066  
(平成17年9月5日受付)  
(平成17年12月22日受理)

近年、脊髄小脳変性症に対する経頭蓋反復磁気刺激 (repetitive transcranial magnetic stimulation : rTMS) が注目されている<sup>1)</sup>。一方、Friedreich ataxia<sup>2)</sup> や olivopontocerebellar atrophy (OPCA)<sup>3)</sup> の病態に酸化ストレスが関与しており、磁気刺激は海馬 HT22 細胞の酸化ストレスに対する抵抗性を増強することが報告されている<sup>4)</sup>。そしてわれわれは、rTMS が脊髄小脳変性症に有効であり、rTMS により小脳半球血流量が増加し髄液の酸化ストレスが改善することを報告した<sup>5)</sup>。さらに rTMS による脊髄小脳変性症の失調症状の改善と抑うつなどの精神症状に関連がある可能性も報告した<sup>6,7)</sup>。本研究では rTMS の施行前後で失調症状の重症度 (International Cooperative Ataxia Rating Scale : ICARS)<sup>8)</sup>、小脳半球血流量、および髄液の ascorbate free radical (AFR), Cu,Zn-superoxide dismutase (SOD) 蛋白, Mn-SOD 蛋白, superoxide 消去能, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG), noradrenaline (NA), dopamine (DA), homovanillic acid (HVA), 5-hydroxy-indol acetic acid (5-HIAA) を測定し、rTMS の効果と髄液のカテコラミンを中心とした生化学的パラメーターとの関連を検討した。

## 対 象

てんかんや心疾患の既往がなく、脳波で発作波を認めない脊髄小脳変性症10例 (51.8±12.4歳、男性6例、女性4例)、OPCA 5例、cortical cerebellar atrophy (CCA) 3例、spinocerebellar atrophy type 6 (SCA 6) 2例を対象とした。また対照となる髄液は年齢の一致した腰椎麻酔を施行した外科患者19名 (57.1±13.9歳) から採取した。

## 方 法

rTMS は Wassermann の安全基準を遵守した<sup>9)</sup>。脊髄小脳変性症の頭蓋後頭隆起およびその左右4cmの3カ所をおのおの0.2Hzで1日10回、週3回、8週間刺激した。磁気刺激には MagLite transcranial magnetic stimulator (MagLite™, Dantec) と 8 字型コイル (MC B-70) を用い、出力100%とした。MagLite™ による100%刺激での平均磁場は約1.1Tに相当した。

8週間の rTMS 前後で小脳症状評価 (ICARS), SPECT (99mTc-ethyl cystein) を用いた小脳半球血流量測定、髄液検査を行った。小脳半球血流量の測定には Patlak plot graphical analysis<sup>10)</sup> を用いた。

脊髄小脳変性症と対照の髄液を用い次の検査を行った。(1) AFR を髄液採取10分後に電子スピン共鳴装置 (日本

電子) を用いて測定した。電子スピン共鳴装置は次のように設定した。室温; magnetic field, 335.7±5.0mT; modulation width, 100kHz (0.079mT); microwave power, 4 mW; sweep time, 1 min. (2) superoxide 消去能は次の方法で測定した。50μl hypoxanthine (4mmol/l; Sigma Chemical), 30μl dimethyl sulfoxide (2.1M; Sigma), 50μl の髄液または SOD 標準溶液 (Sigma) に 20μl の 5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide (DMPO; 428mmol/l; ラボテック) 次いで 50μl の 0.1U/ml xanthine oxidase (Boehringer Mannheim) を加えて40秒後に superoxide を電子スピン共鳴装置を用いて測定した。superoxide 消去能はサンプルと SOD 標準溶液の superoxide 量を比較して算出した。電子スピン共鳴装置の設定は AFR 測定時と同様とした。(3) ELISA 法により Cu,Zn-SOD 蛋白と Mn-SOD 蛋白 (アマシヤム), 8-OHdG (日本老化制御研究所) を測定した。

さらに脊髄小脳変性症の髄液では NA, DA, HVA, 5-HIAA を液体クロマトグラフィーで測定した。

以上から、AFR (10<sup>13</sup>spins/ml), superoxide 消去能 (U/ml), Cu,Zn-SOD 蛋白 (μg/ml), Mn-SOD 蛋白 (ng/ml), 8-OHdG (ng/ml), NA (pg/ml), DA (pg/ml), HVA (ng/ml), 5-HIAA (ng/ml) を得た。

rTMS 前後の脊髄小脳変性症と対照の3群比較には one-way ANOVA と Scheffe's F test を用いた。rTMS 前後の脊髄小脳変性症の比較には Wilcoxon signed-ranks test, 脊髄小脳変性症と対照の年齢比較には Mann-Whitney's U test を用いた。

## 倫理面への配慮

rTMS の施行については国立病院機構南岡山医療センター倫理委員会の承認を得た。また患者にも文書にて同意を得た。

## 結 果

ICARS は rTMS 施行前に比べ施行後には有意な改善を示した (表)。rTMS を施行した脊髄小脳変性症10例のうち、ICARS は1例で悪化 (CCA39歳男性)、1例で不変を示したが、他の8例はすべて改善した (図1)。

髄液の AFR は電子スピン共鳴装置により急峻な2峰性のスペクトルとして検出された (図2)。脊髄小脳変性症の AFR は rTMS 施行前には対照に比べて有意な高値を示したが、rTMS 施行により有意に低下した。その結果、脊髄小脳変性症の AFR は rTMS 施行後では対照と有意差を認めなかった (表)。脊髄小脳変性症10例中3例で AFR は rTMS 施行後に軽度増加したが、増加症

表 経頭蓋反復磁気刺激 (rTMS) による脊髄小脳変性症の髄液の生化学的パラメーターと重症度の変化

	脊髄小脳変性症 rTMS施行前 (N=10) (mean ± SD)	脊髄小脳変性症 rTMS施行後 (N=10) (mean ± SD)	対照 (N=19) (mean ± SD)	脊髄小脳変性症 rTMS施行前 vs. 脊髄小脳変性症 rTMS施行後	脊髄小脳変性症 rTMS施行前 vs. 対照	脊髄小脳変性症 rTMS施行後 vs. 対照
AFR (10 <sup>13</sup> spins/ml)	5.42 ± 3.97	2.04 ± 0.57	1.89 ± 1.48	P<0.01	P<0.002	NS
Superoxide消去能 (U/ml)	14.44 ± 7.00	16.66 ± 4.98	8.74 ± 3.15	NS	P<0.02	P<0.001
Cu, Zn-SOD蛋白 (μg/ml)	47.95 ± 12.04	43.05 ± 6.42	64.10 ± 20.88	NS	P<0.06	P<0.01
Mn-SOD蛋白 (ng/ml)	13.57 ± 4.30	13.17 ± 3.42	13.80 ± 4.91	NS	NS	NS
8-OHdG (ng/ml)	0.46 ± 0.12	0.47 ± 0.11	0.34 ± 0.10	NS	P<0.03	P<0.01
小脳半球血流量 (ml/100g/min)	45.91 ± 16.69	47.28 ± 17.41		NS		
ICARS	38.60 ± 18.30	33.50 ± 16.32		P<0.04		
NA (pg/ml)	72.20 ± 34.86	101.40 ± 53.76		P<0.03		
DA (pg/ml)	7.30 ± 3.92	10.9 ± 14.27		P<0.02		
HVA (ng/ml)	24.96 ± 19.98	25.25 ± 22.18		NS		
5-HIAA (ng/ml)	9.01 ± 7.00	8.72 ± 6.67		NS		

脊髄小脳変性症 (51.8 ± 12.4歳) と対照 (57.1 ± 13.9歳) の年齢には有意差は認めなかった。AFR, ascorbate free radical; SOD, superoxide dismutase; 8-OHdG, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; ICARS, International Cooperative Ataxia Rating Scale; NA, noradrenaline; DA, dopamine; HVA, homovanillic acid; 5-HIAA, 5-hydroxyindol acetic acid.

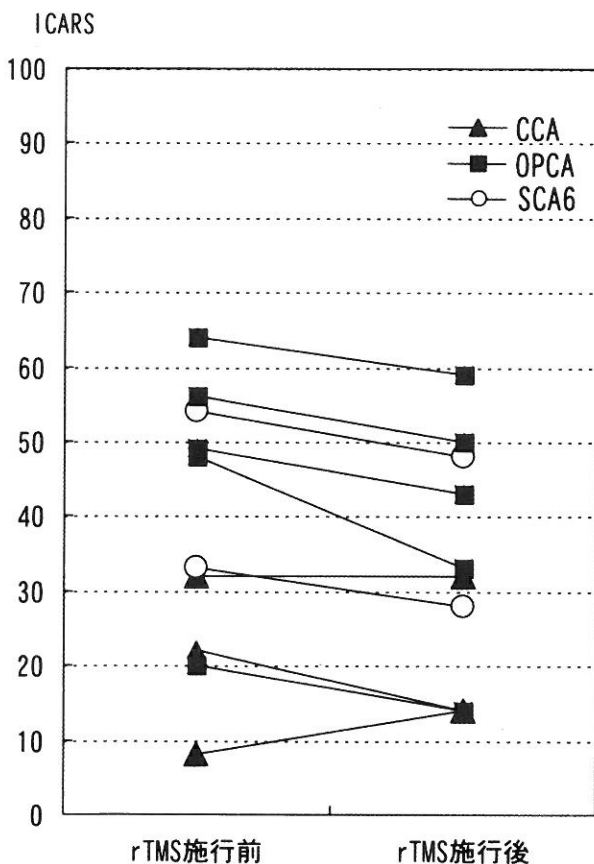


図1. rTMSによる脊髄小脳変性症10例のICARSの変化  
ICARSは1例(CCA39歳男性)で悪化, 1例で不変, 8例で改善を示した。

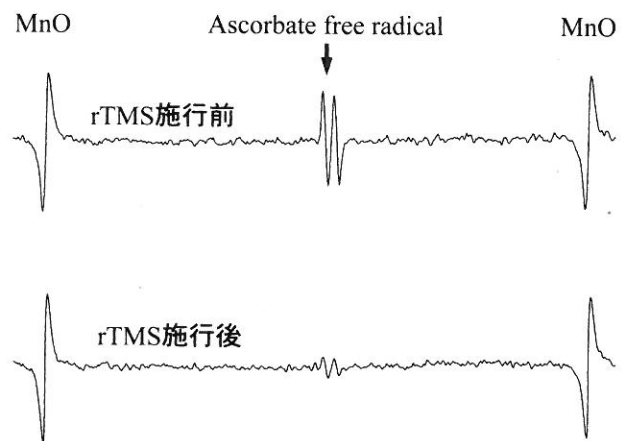


図2. rTMSによるCCA53歳男性例の髄液AFRのスペクトルの変化  
AFRは電子スピン共鳴装置により急峻な2峰性のスペクトルとして検出された。  
AFRはrTMS施行後に著しい低下を示した。

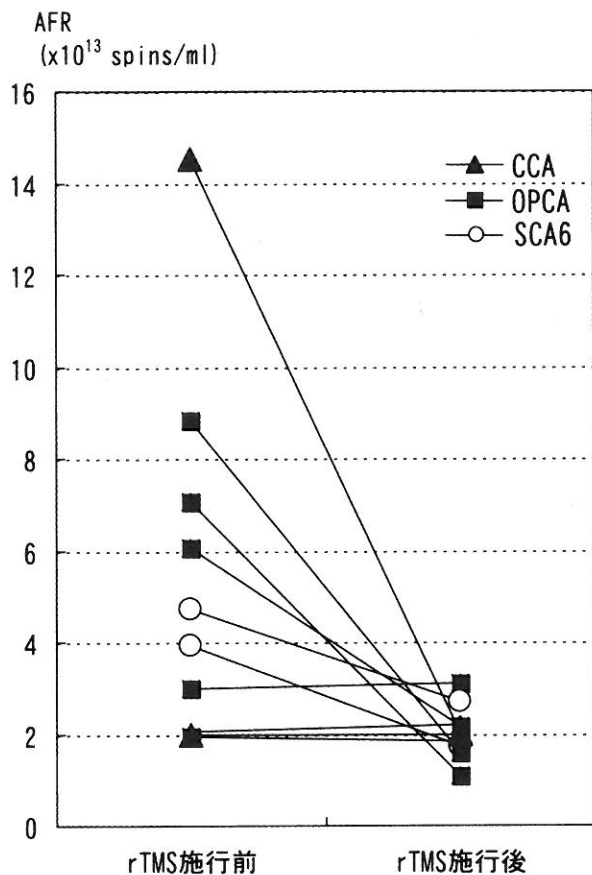


図3. rTMSによる脊髄小脳変性症10例の髄液 AFR の変化  
AFR が高い症例ほど rTMS 施行後に著名な低下を示した。rTMS 施行後に AFR は 7 例で低下し、CCA39歳男性を含む 3 例で軽度増加を示した。

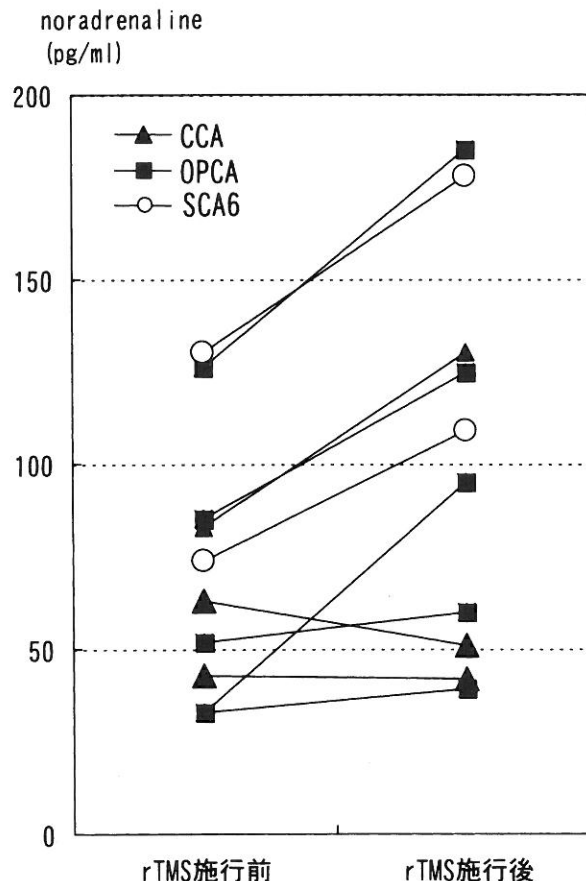


図4. rTMSによる脊髄小脳変性症10例の髄液 NA の変化  
NA は10例のうち 8 例で増加、CCA39歳男性を含む 2 例で低下を示した。

例の AFR は rTMS 前後とも対照の AFR 測定値 (1.89 ± 1.48 × 10<sup>13</sup> spins/ml) の範囲内であった (図 3)。また、AFR が rTMS 後に増加した 3 症例には ICARS が悪化した CCA39歳男性例が含まれていた。

脊髄小脳変性症は rTMS 施行前後とも対照に比べて superoxide 消去能と 8-OHdG の有意な高値、Cu, Zn-SOD 蛋白の有意な低値を示したが、rTMS 前後での有意な変化はなかった (表)。一方、NA と DA は rTMS 施行前に比べて施行後では有意に増加していた (表)。DA と NA はおのおの脊髄小脳変性症 10 例中 8 例で増加を示した。そして、DA と NA とともに低下を示したのは、ICARS 悪化と AFR の増加を示した CCA39歳男性例のみであった (図 4, 図 5)。小脳半球血流量、5-HIAA、HVA は rTMS 施行前後で有意な変化はなかった。

考 察

Shiga らは後頭部刺激 (運動閾値の約 250%) とシャ

ム刺激による検討で、rTMS が脊髄小脳変性症の失調を軽減し、小脳や橋における血流が増加することを報告している<sup>1)</sup>。一方、辻らは CCA と SCA 6 を大脳運動野刺激群、小脳刺激群、シャム刺激群に分けて運動閾値の 130% 刺激を用いた多施設共同研究を行い、SCA 6 の大脳運動野刺激群においてシャム刺激群より ICARS の有意な改善を認めしたが、小脳刺激群とシャム刺激群には有意差を認めなかった<sup>11)</sup>。すでにわれわれは、本研究と同様に出力 100% (運動閾値の約 200% 刺激) を用いた rTMS を脊髄小脳変性症に施行し、ICARS の有意な改善と小脳血流の有意な増加を報告した<sup>5)</sup>。したがって、辻らの運動閾値の 130% 刺激では小脳が十分に刺激されていない可能性もあり、今後、刺激の強度や頻度を含めた研究がさらに必要と考えられる。

Ascorbate は他のフリーラジカルを消去し、自身は比較的安定な AFR になる。したがって、AFR 量は酸化ストレスの程度を反映する可能性があることは、パラ

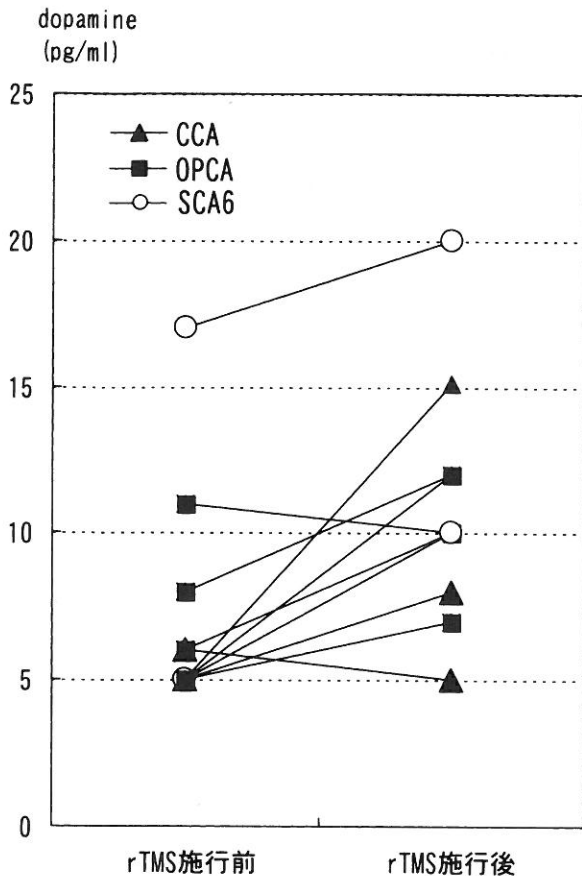


図5. rTMSによる脊髄小脳変性症10例の髄液DAの変化  
DAは10例のうち8例で増加, CCA39歳男性を含む2例で低下を示した。

コートによる研究ですすでに報告されている<sup>12)</sup>。われわれもミトコンドリア脳筋症<sup>13)</sup>、Cu, Zn-SOD 遺伝子変異を示す家族性筋萎縮性側索硬化症と弧発性筋萎縮性側索硬化症<sup>14)</sup>における検討で、髄液 AFR が中枢神経系の酸化ストレスを反映することを報告した。また、Friedreich ataxia<sup>2)</sup>や OPCA<sup>3)</sup>の病態に酸化ストレスが関与しており、磁気刺激は海馬 HT22細胞の酸化ストレスに対する抵抗性を増強することが報告されている<sup>4)</sup>。以上から、われわれは rTMS が脊髄小脳変性症の酸化ストレスに及ぼす影響を検討し、rTMS が髄液の AFR を低下させることから、rTMS は脊髄小脳変性症の酸化ストレスを改善する可能性があることを報告した<sup>5)</sup>。さらに、Strafella らは positron emission tomography (PET) を用いた研究で、健常人の前頭部に rTMS を施行すると線条体の DA が増加することを報告している<sup>15)</sup>。本研究では rTMS による髄液 AFR の有意な低下に加え、髄液の NA と DA が有意に増加することを示した。そして、本研究で唯一 ICARS が rTMS 後に悪化した CCA39歳

男性例は、rTMS 後に AFR の増加や NA と DA の低下を示した。したがって、rTMS の作用機序として、酸化ストレスの改善に加えて、カテコラミンの増加が関与している可能性が示唆された。

文 献

- 1) Shiga Y, Tsuda T, Itoyama Y et al: Transcranial magnetic stimulation alleviates truncal ataxia in spinocerebellar degeneration. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 72 : 124-126, 2002
- 2) Schulz JB, Dehmer T, Schöls L et al: Oxidative stress in patients with Friedreich ataxia. *Neurology* 55 : 1719-1721, 2000
- 3) Yamashita T, Ando Y, Obayashi K et al: Oxidative injury is present in Purkinje cells in patients with olivopontocerebellar atrophy. *J Neurol Sci* 175 : 107-110, 2000
- 4) Post A, Müller MB, Engelmann M et al: Repetitive transcranial magnetic stimulation in rats: evidence for a neuroprotective effect in vitro and in vivo. *Eur J Neurosci* 9 : 3247-3254, 1999
- 5) Ihara Y, Takata H, Tanabe Y et al: Influence of repetitive transcranial magnetic stimulation on disease severity and oxidative stress markers in the cerebrospinal fluid of patients with spinocerebellar degeneration. *Neurol Res* 27 : 310-313, 2005
- 6) 高田 裕, 早原敏之: 脊髄小脳変性症に対する後頭部経頭蓋反復磁気刺激療法 (rTMS) と抑うつ等の精神面への影響. *心身医* 45 : 759-765, 2005
- 7) 高田 裕, 信国圭吾, 井原雄悦ほか: 脊髄小脳変性症に対する後頭部経頭蓋反復磁気刺激療法 (rTMS) と抑うつなどの精神面への影響 (第2報). *心療内科* 9 : 152-158, 2005
- 8) Trouillas P, Takayanagi T, Hallett M et al: International Cooperative Ataxia Rating Scale for pharmacological assessment of the cerebellar syndrome. The Ataxia Neuropharmacology Committee of the World Federation of Neurology. *J Neurol Sci* 145 : 205-211, 1997
- 9) Wassermann EM: Risk and safety of repetitive transcranial magnetic stimulation: report and recommendations from the International Workshop on the Safety of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation June 5-7, 1996. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 108 : 1-16, 1998

- 10) Matsuda H, Yagishita A, Tsuji S et al: A quantitative approach to technetium-99m ethyl cysteinate dimer: a comparison with technetium-99m hexamethylpropylene amine oxime. *Eur J Nucl Med* 22 : 633-637, 1995
- 11) 辻 貞俊: 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患研究事業・脊髄小脳変性症の画期的診断・治療法に関する研究・平成14年度-15年度総合研究報告書.
- 12) Minakata K, Suzuki O, Saito S et al: Ascorbate radical levels in human sera and rat plasma intoxicated with paraquat and diquat. *Arch Toxicol* 67 : 126-130, 1993
- 13) Ihara Y, Kibata M, Hayabara T et al: Free radicals in the cerebrospinal fluid are associated with neurological disorders including mitochondrial encephalomyopathy. *Biochem Mol Biol Int* 42 : 937-947, 1997
- 14) Ihara Y, Nobukuni K, Takata H et al: Oxidative stress and metal content in blood and cerebrospinal fluid of amyotrophic lateral sclerosis patients with and without a Cu, Zn-superoxide dismutase mutation. *Neurol Res* 27 : 105-108, 2005
- 15) Strafella AP, Paus T, Barrett J et al: Repetitive transcranial magnetic stimulation of the human prefrontal cortex induces dopamine release in the caudate nucleus. *J Neurosci* 21 : RC157, 2001