

アンケートによる現在の ALS・TPPV 患者での TLS の全国実態調査 と神経病院での TLS について

川田 明広¹⁾、林 秀明¹⁾、溝口 功一²⁾

¹⁾都立神経病院 脳神経内科、

²⁾独立行政法人国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター 神経内科

研究要旨

TPPV を導入した ALS (ALS・TPPV) 患者のうち、すべての随意運動系の麻痺により、随意運動を用いた現在使用可能なコミュニケーション方法でコミュニケーションがとれない状態 (totally locked-in state = TLS) になった患者について、アンケートによる全国調査を行い、神経病院開設以来の ALS・TLS 患者の臨床的特徴と比較検討した。調査時点、全国 673 名の ALS・TPPV 患者のうち 89 名 (13%) が TLS の状態であった。このうち二次アンケートで回答があった 38 名の TLS 患者 (男性 19 名、女性 19 名) において、我々が提唱した 3 つの ALS の臨床分類³⁾を適用すると、複数運動系同時麻痺型 (C 型) が 27 例、呼吸運動系先行麻痺型 (R 型) が 7 名、球運動系先行麻痺型 (B 型) が 3 名、不明が 1 名と、C 型がもっとも多く、78% は呼吸運動完全麻痺後 5 年以内に TLS になった。TLS 例は、4 つの随意運動系のうち外眼運動系が最後に麻痺することが大部分であるが、橋・延髄運動系麻痺が最後に起こる場合も存在した。TLS は、ALS の連続した病態であり、その病態をさらに深めていくことは、ALS の原因究明と TLS 患者・家族への診療・ケアの上で必須の課題である。

はじめに

本邦では、呼吸筋の完全麻痺を呈した ALS 患者のうち TPPV (気管切開による陽圧人工呼吸療法) を導入した患者の割合は、1982 年の 13% から 2005 年には 34% と増加し、呼吸運動系麻痺を越えて全ての随意運動系が障害されていく臨床病理的な経過観察の必要性が改めて認識されている。私達は、1987 年に随意運動系を四肢運動系、“球” (橋と延髄) 運動系、呼吸運動系、外眼運動系の 4 つに分け、これら全ての運動系麻痺により、現在使用可能なコミュニケーション手段ではコミュニケーションがとれない状態 (totally locked-in state = TLS) になることを報告した¹⁾。その後、TLS を ALS の連続病態としてとらえ、1989 年に TLS の臨床病理像を ALS の全体像として報告し²⁾、1997 年には“新しい ALS 観”を提唱して、ALS は TLS 患者を含めて、研究・臨床・診療ケアを進めていくべきことを報告してきた。³⁾

研究目的

全国的に TPPV 患者数が増加してきた現在、TLS 病態の理解とそれへの対応を深め

るために、今回アンケートによる TLS 患者数の全国実態調査を行い、当院での開設以来の TLS 患者の特徴と比較検討する。

研究方法

神経学会教育病院と国立病院機構に属する病院等に、一次アンケートで現在 (2006 年 8 月～11 月時点) の TPPV・ALS 患者数と TLS 患者数を調査した。TLS の定義としては、四肢運動系、“球” (橋と延髄) 運動系、呼吸運動系、外眼運動系の 4 つの運動系の全ての随意運動麻痺により、これらを介した現在使用可能なコミュニケーション手段ではコミュニケーションがとれない状態とした。一次アンケートで TLS が存在すると回答を得た施設に二次アンケートを送付し、TLS 患者において 4 つの運動系が完全麻痺した時点、TLS になった時点を調査した。また当院の開設以来の TLS 患者の臨床経過も診療録を参考に整理した。

臨床分類としては、上記 4 つの随意運動系のうちある運動系が完全麻痺してから 6 ヶ月経過した時点で、他の 3 つの運動系のうち完全麻痺した運動系の数から、呼吸運動系先行麻痺型 (R 型)、球運動系先行麻痺

型 (B 型), 複数運動系同時麻痺型 (C 型) の 3 つに分けた ALS の臨床分類³⁾を用いた。

研究結果

一次アンケートは 400 施設に発送し, 225 施設から回答を得, 回収率は 56%であった。TPPV を導入した ALS 患者 (ALS・TPPV 患者) 数は, 673 名 (96 施設) であった。そのうち現在 TLS になっている患者は 89 名 (47 施設) で, 13%であった。二次アンケートを発送した 47 施設のうち 26 施設から回答を得, 回収率は 55%であった。最終的に二次アンケートで報告のあった ALS・TPPV 患者数は 38 名であった。

上記 38 名の ALS・TPPV 患者の男女比は 19:19 で同数であり, 我々が提唱した 3 つの ALS の臨床分類では, C 型が 27 例, R 型が 7 名, B 型が 3 名, 不明が 1 名であった。従来の ALS 臨床病型でみると, 上肢型 (古典型) 17 名, 下肢型 (偽多発神経炎型) 13 名, 球麻痺型 8 名であった。最終的に麻痺した随意運動系は, 眼運動系が 34 名, 延髄運動系が 1 名, 不明が 3 名であった。呼吸運動系完全麻痺から, TLS になるまでの期間は, 5 年以内が 37 人中 29 人で 78% を占めた。

一方当院では, 開設以来 11 名の ALS・TPPV 患者を経験しており, そのうち現在生存者は 3 名である。臨床型は, 1 例の R 型を除き全例が C 型であった。この 1 例は, 呼吸運動系完全麻痺後 2 年して眼運動系が完全麻痺し, 2 年 3 ヶ月後に四肢運動系ついで橋運動系が完全麻痺して TLS となった。その他の 10 名は, 眼運動系の完全麻痺をもって TLS となった。死亡した TLS 患者 8 名のうち 4 名が剖検を受けており, いずれも TLS を反映する広汎な運動神経系の変性像を呈し, ALS の全臨床病理像を呈していた。

考察

二次アンケート回収率の低さの一因として, どの時点をとるか TLS とするか判断の困難さ, 呼吸運動系麻痺後の他の 3 つの運動系障害の確実な観察記録の不十分さ, 途中から受け持った施設では十分な連続観察が必須である TLS の判断が出来ない等の理由が考えられた。現時点の TLS の定義は, 全随意運動系の機能的な完全麻痺によって, 目

に見える随意運動を用いたコミュニケーション手段では患者自身の意思が伝達できない状態である。

我々が提唱した, 4 つの運動系麻痺から分類した 3 つの ALS の臨床分類では, 複数運動系同時麻痺型 (C 型) が, TLS になりやすく, TLS は呼吸筋麻痺後 5 年以内になることが多い。一方従来の上肢型, 下肢型, 球麻痺型といった初発症状をもって分類する ALS の臨床病型は, 呼吸筋麻痺を越えた ALS の全臨床経過中のコミュニケーション障害の予後予測の上では, 有用ではないと考えられた。

TLS 例の臨床像の経過観察から, 橋・延髄運動系麻痺が最後に起こる場合もあるが, 眼運動系が 4 つの随意運動系のうち最後に麻痺することが多く, ALS では最も障害されにくい運動系といえる。

結論

調査時点の全国における TLS の頻度は 13%で低かった。依然 TLS に関する共通認識が十分とは言えず, 今後 anoxia 等の二次的な障害によるコミュニケーション障害を除いた, ALS という疾患そのものの連続病態としての TLS の病態を, TPPV 患者の継続的な観察から深く把握していく必要がある。そのことによって ALS の原因究明や, 新しいテクノロジーによるコミュニケーション手段の開発, TLS 患者・家族の診療ケアの向上に寄与するものと考えられる。

文献

- 1) Hayashi H et al.: Neurology 37: 1431-1432, 1987.
- 2) Hayashi H et al.: J Neurol Sci 93: 19-35, 1989
- 3) 林 秀明ほか: 脳神経 49: 435-441, 1997

学会発表

第 48 回日本神経学会総会(2007)発表予定

知的財産権の取得状況
なし

筋萎縮性側索硬化症における横隔膜運動誘発電位 —その有用性と限界—

清水俊夫¹⁾, 林 秀明¹⁾, 釘尾由美子¹⁾, 小森哲夫²⁾

1) 東京都立神経病院 脳神経内科, 2) 埼玉医科大学 神経内科

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症(ALS)および原発性側索硬化症(PLS)患者において、経頭蓋的大脳磁気刺激法を用いて横隔膜一次運動野の興奮性を調べた。対象は ALS 患者 29 例, PLS 患者 6 例, 健常正常人 7 例で、Magstim200 および円形コイルを用い TMS を行い、両側横隔膜から表面電極により運動誘発電位(MEP)を記録した。ALS 患者では有意に MEP の振幅が低下しており、また無反応の症例が多数認められた。MEP の振幅と臨床的な呼吸機能のパラメータや罹病期間とは相関が得られなかった。PLS 患者においても MEP が消失する症例が認められたが、症例間にばらつきがあり、一定の傾向は得られなかった。ALS における横隔膜 MEP の消失は、運動野の変性もしくは興奮性の低下を反映していると思われ、初期診断に有用であると思われる。

A. はじめに

筋萎縮性側索硬化症(ALS)は運動ニューロンの系統変性疾患であり、横隔膜をはじめとする呼吸筋の障害により呼吸不全を来す。ALS では上位および下位運動ニューロンともに障害を受けるが、上位運動ニューロン、すなわち大脳運動野の機能については、経頭蓋的大脳磁気刺激法(transcranial magnetic stimulation; TMS)により可能であり、ALS においても多くの TMS の報告がなされているが、呼吸筋(横隔膜)を被験筋とした報告は少ない[5, 9]。ALS においては横隔膜運動野が変性することは想像に難くないが、その程度が呼吸機能の予後とどのような関係にあるのかは今もって不明である。今回、我々は、ALS 患者の横隔膜運動野の興奮性を TMS を用いて調べ、その臨床的意義について考察した[8]。また原発性側索硬化症(PLS)患者においても同様に検討した。

B. 研究方法

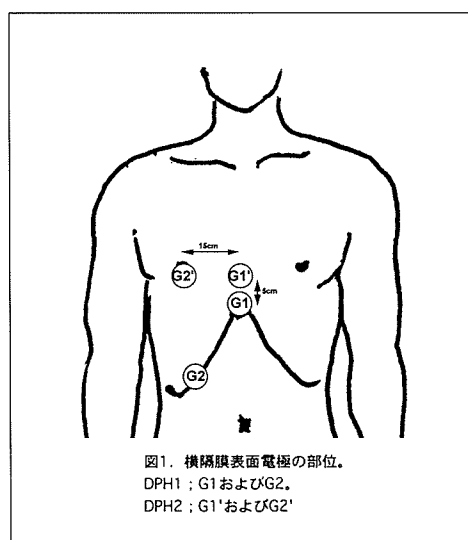
対象は、El Escorial の診断基準を満たす ALS 患者 29 例である(女性 15 例, 男性 14 例, 平均年齢 60.8 歳, 27~78 歳)。平均罹病期間は 2.5 年であり、呼吸不全の有無にかかわらず、全例生理検査室にて 30~40 分の検査に耐えうる症例を選んでおり、人工呼吸器を装着している症例は含めていない。また PLS 患者 6 例(女性 3 例, 男性 3 例, 平均年齢 65.8 歳, 44~81 歳, 平均罹病期間 6.3 年)も対象にした。PLS の診断は、(1) 上位運動ニューロン障害が主体で、下位運動ニューロン障害はないかあっても軽微なもの、(2) 自発呼吸が保たれており、補助換気が必要としないもの、(3) 感覚障害の見られないもの、とした。

上記の患者に加え、7 人の健常正常人を対照として検査を行った(女性 2 例, 男性 5 例, 平均年齢 63.0 歳, 57~67 歳)。すべての患者および健常人から事前に検査目的を説明し同意書を取得した。

方法は、両側横隔膜を被験筋とし、表面電極から筋電計 Counterpoint(Dantec 社, デンマーク)を用いて筋電図を記録した(bandpass 10Hz~1.5kHz)。表面電極の位置は、DPH1 と DPH2 の二通りとし、以下の場所に電極をつけた(図 1)[1~3]。

DPH1; 記録電極: 胸骨剣状突起, 基準電極: 第 12 肋骨下縁(鎖骨中線上)。

DPH2; 記録電極: 胸骨剣状突起から 5cm 頭側, 基準電極: 記録電極から 15cm 外側。



TMS は、Magstim 200 (Magstim 社, UK) を使用し、刺激のためのコイルは平均直径 9cm の円形コイルを用いた。左横隔膜を被験筋とするときは、コイルの B

面を上、右横隔膜を被験筋とするときは、A面を上にして刺激をし、記録は両側横隔膜同時に行い、対側性運動誘発電位(MEP)と同時に同側性MEPをも記録した。

評価方法(パラメータ)は以下のとおりとした。(1)M波の振幅(胸鎖乳突筋後縁での横隔神経最大上電気刺激による)、(2)MEPの振幅;最大出力刺激(100%)にて得られるMEPのpeak-to-peak amplitude(mV)。呼気終末時(end-expiratory phase)と深吸気時(deep-inspiratory phase)にそれぞれ測定した。上記の測定値を、検査時の動脈血酸素分圧(PaO₂)、動脈血炭酸ガス分圧(PaCO₂)、肺活量(%VC)、呼吸苦の有無、構音障害の有無、罹病期間といった臨床データと相関があるかどうか検討した。統計処理は各パラメータの健常正常人との比較には、Mann-Whitney U testを用い、臨床データとの相関には、pearman's rank correlation coefficient testを用いた。

C. 研究結果

[1]M波の振幅

DPH1では、健常人 1.14 ± 0.51 mV(平均 ± 標準偏差)、ALS患者 0.65 ± 0.32 mVで、ALS患者において有意に振幅が低下していた($P < 0.05$)。DPH2で

は、健常人 0.43 ± 0.21 mV、ALS患者 0.37 ± 0.22 mVで、有意差は認められなかった。

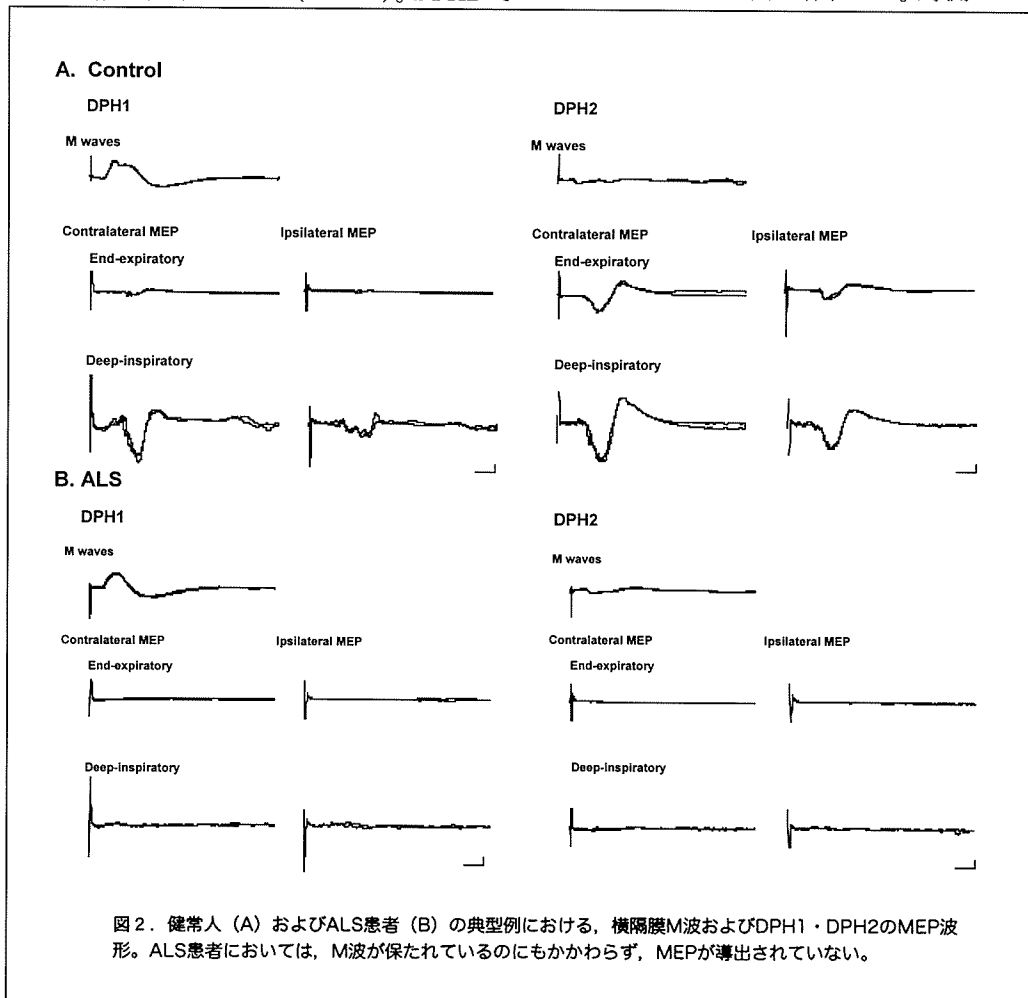
[2]呼気終末時のMEPの振幅(図2, 3)

対側DPH1では、健常人 0.16 ± 0.10 mV、ALS患者 0.12 ± 0.19 mVで、ALS患者において振幅の低下を認めたが、有意差はなかった。ただALS患者においてはMEPが無反応である症例が存在した。対側DPH2では、健常人 0.20 ± 0.18 mV、ALS患者 0.10 ± 0.20 mVと、ALSにおいて有意な振幅の低下を認め($P < 0.05$)、やはり無反応である症例が存在した。

同側DPH1では、健常人 0.17 ± 0.21 mV、ALS患者 0.15 ± 0.31 mVで、有意差はなかった。同側DPH2では、健常人 0.27 ± 0.34 mV、ALS患者 0.12 ± 0.27 mVであり、ALSにおいて有意な振幅の低下を認め($P < 0.05$)、またMEPが無反応である症例が存在した。

[3]深吸気時のMEPの振幅(図2, 4)

対側DPH1では、健常人 0.81 ± 0.60 mV、ALS患者 0.45 ± 0.45 mVと、ALSにおいて有意な振幅の低下を認めた($P < 0.05$)。また安静時のMEPと同様に無反応である症例が存在した。対側DPH2では、健



常人 1.09 ± 1.31 mV, ALS 患者 0.31 ± 0.44 mV であり, これも ALS において有意な振幅の低下を認めるとともに ($P < 0.05$), 無反応である症例が存在した。

同側 DPH1 では, 健常人 0.67 ± 0.46 mV, ALS 患者 0.46 ± 0.70 mV であり, 有意差はなかったが, やはり ALS において無反応である症例が存在した。同側 DPH2 では, 健常人 0.65 ± 0.55 mV, ALS 患者 0.31 ± 0.51 mV であり, ALS において有意な振幅の低下と ($P < 0.05$), 無反応の症例の存在を認めた。

[4]臨床データとの相関

検査時の PaO₂, PaCO₂, %VC, 呼吸苦の有無, 構音障害の有無, 罹病期間と, M 波および MEP の各パラメータとの間には有意な相関は認められなかった。

[5]PLS 患者における結果

6 例中 3 例 (罹病期間 1 年, 1 年, 4 年) で, 深吸気時において無反応であったが, 罹病期間とは相関

がなく, 発症後 9 年および 22 年の症例においてそれぞれ 0.25 mV, 0.24 mV の MEP (DPH1) が誘発され, 一定の傾向は得られなかった。

D. 考察

以上の結果をまとめると, まず ALS 患者においては, 横隔膜 (横隔神経) の M 波の振幅が低下すること, 横隔膜 MEP については, DPH1・DPH2 ともに振幅が低下し, また全く無反応になる症例が存在すること, そしてこの現象は, 対側横隔膜 (交叉性皮質脊髄路) のみならず, 同側横隔膜 (非交叉性皮質脊髄路) にまで及ぶこと, 最後にこの振幅の低下ないしは MEP の消失は臨床的な呼吸不全の程度とは無関係である可能性が高いことである。

M 波の振幅の低下は, 二次運動ニューロンである横隔神経の変性を直接反映しているものと思われるが, 我々はこれまで横隔膜 M 波の変化が ALS における呼吸筋麻痺の程度とある程度相関し, 呼吸機能の予後の一指標となりうることを報告してきた [6, 7]。

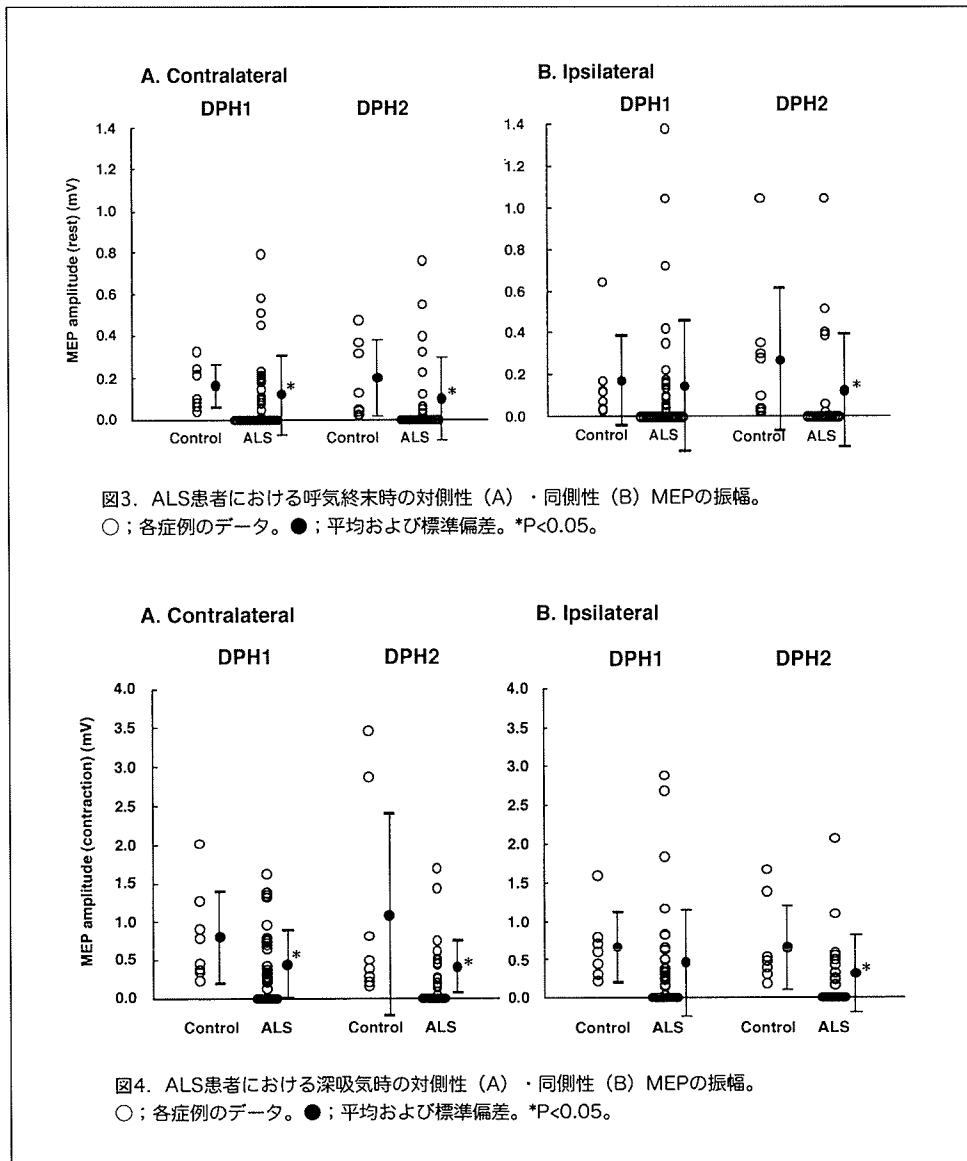


図3. ALS患者における呼気終末時の対側性 (A)・同側性 (B) MEPの振幅。
○; 各症例のデータ。●; 平均および標準偏差。* $P < 0.05$ 。

図4. ALS患者における深吸気時の対側性 (A)・同側性 (B) MEPの振幅。
○; 各症例のデータ。●; 平均および標準偏差。* $P < 0.05$ 。

それによると、左右横隔神経の M 波振幅の平均が 0.2mV を下回ると、何らかの呼吸補助が必要になる率が高く、この 0.2mV を一つの目安として、経時的に M 波振幅を追跡していくことが重要であることが示唆されている。本研究の対象 ALS 患者においても、M 波の振幅は有意に低下していたが、呼吸機能の臨床データとは関連しなかった。これは、呼吸筋麻痺が比較的軽く、呼吸補助の必要がない症例を選んだためと思われる。

本研究で特記すべきことは、健常人では全例 MEP が誘発されたのにもかかわらず、ALS ではかなりの症例で横隔膜 MEP が無反応であったことである。疾患の性質上 MEP の無反応は、おそらく大脳運動野の変性による興奮性の低下を反映しているものと思われる。健常人ではそのような現象がないことから、横隔膜 MEP の消失は ALS における診断的価値がある可能性がある。特に図 2 の症例のように横隔神経の M 波が保たれており、呼吸機能も全く正常な症例においてさえ、MEP が消失することもあり、ALS の早期診断に寄与しうる現象として特記すべきである。

また MEP の振幅の低下は、対側性 MEP のみならず、同側性 MEP においても同じように認められた。横隔膜のような体幹筋では、対側性(交叉性)・同側性(非交叉性)ともにほぼ同じ比率で皮質支配があると思われ、ALS における横隔膜皮質脊髄路の変性も、どちらか一方に優位性を持つことなく、同じように変性が進んでいくものと思われる。これまでこのような報告はなく、ALS における病変の広がりにおいて新たな視点を与えるものと思われる。

横隔膜 MEP の測定にあたって注意しなければならないことは、その検査の限界である。体幹深部に motor point があり、かつかなり広範囲にわたって広がっている横隔膜という筋から表面電極を使って MEP を記録しているわけで、手指筋から筋電図を記録するのと違い、記録の sensitivity は落ちると言わざるを得ない。また横隔膜周囲には、大胸筋、腹筋、肋間筋などの他の体幹筋が付着しており、それらによる影響を除くことは不可能である。厳密に言うならば、大脳磁気刺激によって DPH1, DPH2 の電極から記録される MEP の成分はこれらの筋活動の複合であることを念頭におくべきである。DPH1 に電極をおいたときにそこから得られる記録は、横隔膜の筋活動をある程度反映していることはすでに報告されているが、ALS のように種々の筋が変性をしていく過程においては、その解釈はより慎重になる必要がある。

横隔膜 MEP の消失は、臨床的な呼吸不全の程度とは関連しなかった。このことは、MEP のデータが呼吸状態の予後の判定には有用ではないことを示して

いる。上述したように二次運動ニューロン変性の指標である M 波の振幅は呼吸状態を反映する可能性が高く、そのことは対照的な結果となった。これはおそらく横隔膜運動野が変性しても、二次運動ニューロンが保たれてさえいれば、延髄呼吸中枢による自律的な呼吸リズムの生成により、呼吸不全は起こらないことを示唆するものである[4]。横隔膜運動野の詳細な機能は不明であるが、随意的な深呼吸や息こらえなどに関与しているとすれば、横隔膜 MEP が消失した症例では深呼吸や息どめができない可能性があるが、臨床的には必ずしもそのような現象は見られず、詳細な検討は今後の課題である。

PLS 患者においても、横隔膜 MEP の消失した症例が認められたが、ALS と同様に横隔膜運動野の変性を示している可能性がある。しかし、症例間によりばらつきが認められ、経過が長くても正常に MEP が誘発される症例があること、また発症後 1 年の症例は今後 ALS に発展していく可能性があることを考えると、断定的な結論を出すことはできない。特に PLS は多様性のある疾患であり、疾患概念の確立がまだされておらず、個々の症例における経過を慎重に追う必要があると思われる。

E. 結論

1. ALS 患者における横隔膜 MEP の消失は、横隔膜運動野の変性・興奮性の変化を反映していると考えられ、またこの変化は交叉性皮質脊髄路のみでなく、非交叉性皮質脊髄路にも同様に及んでいる。
2. 横隔膜 MEP の消失は、呼吸不全の程度とは関係せず、ALS の初期診断には寄与しうるが、呼吸状態の予後を判定するパラメータとはなりえない。
3. PLS 患者においても横隔膜 MEP が消失する症例が認められたが、症例間にばらつきがあり、今後の経時的変化を慎重に追う必要がある。

F. 文献

- [1] Bolton CF. Muscle Nerve 1993; 16: 809-818.
- [2] Similowski T, et al. Eur Respir J 1996; 9: 1224-1231.
- [3] Zifko U, et al. Muscle Nerve 1996; 19: 614-620.
- [4] Corfield DR, et al. Respir Physiol 1998; 114: 109-117.
- [5] Similowski T, et al. Eur Respir J 2000; 15: 332-337.
- [6] 小森哲夫ほか. Brain Medical 2002; 14: 78-84.
- [7] 小森哲夫ほか. 臨床脳波 2004; 46: 49-54.
- [8] Duguet A, et al. Neurology 2006; 67: 288-292.
- [9] Miscio G, et al. J Neurol Sci 2006; 251: 10-16.

筋萎縮性側索硬化症の Surrogate Marker として神経生理検査は有用か

(1) MUNE と Neurophysiological Index の比較

朝日 理, 内藤 寛, 葛原 茂樹

三重大学医学部神経内科

研究要旨 運動単位数推定(MUNE)は前角細胞脱落を半定量的に知る指標であるが、手技が煩雑なものもあり、十分には普及していない。今回、ALS患者に対し、自動化された方法によるMUNEと、より簡便な方法としてCarvalhoらの提唱するNeurophysiological Index (NI)を測定し、MUNEとNIの相関、握力とMUNE、NIの相関について検討した。検査間の相関係数は0.82で有意であった。MUNE、NIと握力との間にも有意な相関が得られ、相関係数はそれぞれ0.88、0.76と、MUNEでより高かった。NIは手技は簡便であるが、MUNEのほうがsurrogate markerとしてより適していると考えられた。

A.研究目的

筋萎縮性側索硬化症(ALS)の診断、進行度の評価において、神経生理検査は重要な位置を占めている。前角細胞脱落を半定量的に知る指標として、運動単位数推定(MUNE)があるが、MUNE測定法の多くは手技が煩雑であり、十分には普及していない。

Carvalhoらは、より簡便に施行できるものとしてNeurophysiological Index (NI)という指標を提唱しており、MUNEや他の臨床評価と相関¹⁾することを報告している。

今回、ALS患者に対して、自動化された方法によるMUNEとNIを測定し、検査間の相関、臨床指標との相関を求め、前角細胞脱落の指標surrogate markerとしての有用性を検討した。本報告では、検査間の相関および握力との相関について検討し、それ以外の臨床指標との相関については、別稿²⁾にのべた。

B.研究方法

対象は三重大学神経内科でALSと診断した患

者9名で、年齢は52-77歳、男性4名、女性5名。罹病期間は9-76ヵ月、厚生労働省基準による重症度は1-4であった。

神経生理検査として、多点刺激法(multiple point stimulation, MPS)³⁾によるMUNE、およびNIを測定した。臨床指標としては左右それぞれの握力、revised ALS functional rating scale (ALSFRS-R)、Norris limb scaleを施行した。

MUNEについては、荒崎らにより開発された、日本光電製MEB-9104搭載のMUNE自動測定ソフト⁴⁾を使用した。表面電極を小指外転筋に貼付し、刺激電極を尺骨神経上で移動させながら10箇所を刺激して、それぞれの部位においてall or noneで出現する単一運動単位波形(SMUP)を記録した。最大上刺激によるCMAP振幅と、平均した運動単位波形から求めたSMUP振幅から、左右各々のMUNEを求めた。2名の検者が独立して検査を施行し、その平均値をMUNE結果とした。

NI測定については、Carvalhoらの方法⁵⁾に従い、記録電極を小指外転筋に、刺激電極を手首の尺骨神経上において最大上刺激

を行い、左右それぞれの手について、以下の式
 $NI = \text{CMAP 振幅(mV)} \div \text{終末潜時(ms)} \times \text{F 波出現率(\%)}$
 で求めた。

握力は、等尺性握力計で求めた。左右計 18 手につき、MUNE と NI の相関、握力と MUNE および NI との相関について検討した。

C. 研究結果

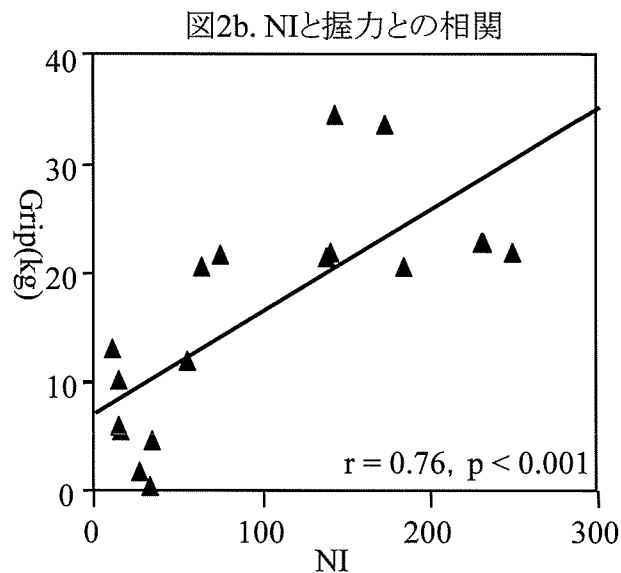
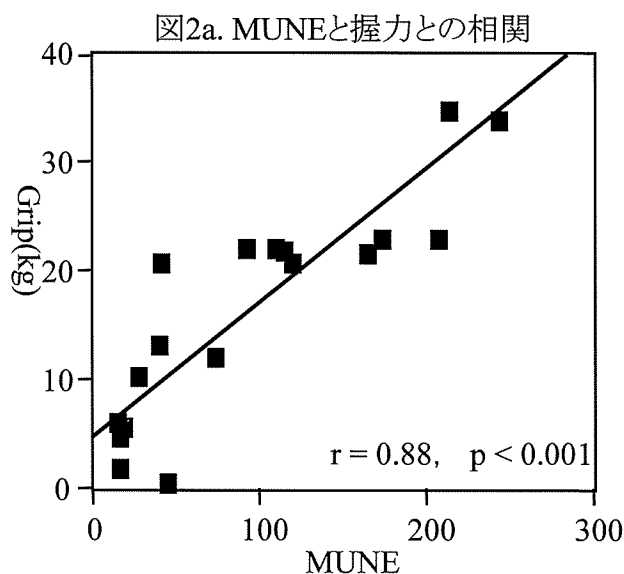
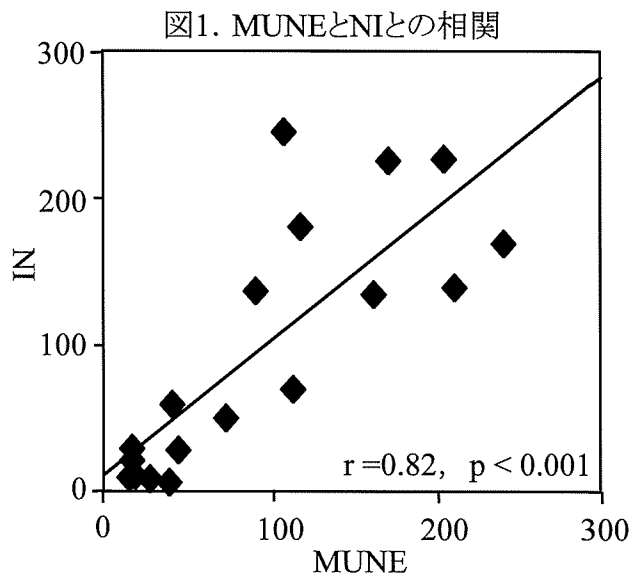
MUNE と NI は有意に相関し($p < 0.001$)、相関係数は 0.82 であった(図 1)。握力との相関は MUNE、NI ともに有意であった($p < 0.001$)が、相関係数はそれぞれ 0.88、0.76 と、MUNE でより高い相関が得られた。(図 2a, b)

D. 考察

現在のところ、MUNE と NI を直接比較した報告は、Calvalho らのもの¹⁾のみである。彼らは、ALS 患者において incremental 法⁶⁾による MUNE、NI、小指外転筋の maximum voluntary isometric contraction 法による筋力 (MVIC-ADM) などを測定し、MUNE と NI、MVIC-ADM と MUNE、NI が有意に相関し、その相関係数はそれぞれ 0.77、0.72、0.72 であったと報告している。今回の我々の検討では、同様の指標である握力と MUNE との相関は NI との相関よりもかなり高い結果であった。

NI が発表された背景には、MUNE の手技がやや煩雑であるという問題点がある。しかし、今回のような自動化機器を用いれば、最大上刺激、個々の単一運動単位の収集から平均波形の合成、MUNE の計算まで自動化されるため、煩雑さはかなり軽減する。

MUNE の特徴は、これが原理的に病態生理を反映している⁷⁾というところにあり、MUNE が減少したということは、脊髄において下位運動ニューロンがそれだけ減少したという意味をもっている。一方、NI は、手技は一般の神経伝導検査と同等で簡便である、しかし、これは計算によって求められた指標であり、運動ニューロンの減少と NI を構成する要素の変化との間の定量的な関連



が不明である。そのため、NIの数値自体になんらかの意味づけをおこなうことはできない。NIの意義は、同一患者において、病状進行に伴う数値の減少としてのみ評価できるものであり、その利用には引き続き検討が必要と考えられた。

E.結論

MUNEとNIは相関があるが、握力との相関はMUNEが高く、その原理からもよりsurrogate markerとして適していると考えられた。

F.文献

- 1) de Carvalho M et al.: Neurology 64: 1783- 1785 , 2005
- 2) 内藤寛ら: 厚生労働省「神経変性疾患に関する研究」班 2006 年度報告書 (in press)
- 3) Brown WF et al.: J Neurol Neurosurg Psychiatry 39:249-257, 1976
- 4) 荒崎圭介ら: 厚生労働省「神経変性疾患に関する研究」班 2004 年度報告書 123-125, 2005
- 5) de Carvalho M et al. : Muscle Nerve 24:1391-1395, 2001
- 6) McComas AJ et al. : J Neurol Neurosurg Psychiatry 34:121-131, 1971
- 7) Bromberg MB : Clin Neurophysiol. 118:1-8, 2007

G.健康危険情報

なし

H.学会発表

なし

I.知的所有権の取得状況

なし

筋萎縮性側索硬化症の Surrogate Marker として神経生理検査は有用か (2) 臨床指標との相関

内藤 寛, 朝日 理, 葛原 茂樹

三重大学医学部神経内科

研究要旨: ALS 患者に対し, 運動単位数推定法(MUNE)と Neurophysiological Index (NI)を測定し, ALSFRS-RとNorris scale の2つの臨床スコアと比較することで, 前角細胞脱落の surrogate markerとしての有用性を検討した. 小手指筋のMUNEは, 上肢機能に限定したALSFRS-RとNorris Scaleとの間に有意な相関が見られた. NIは, 上肢機能に限定したNorris Scaleとの有意な相関がみられ, これらはALSの生理学的指標として適していると考えられた. とくに MUNE は disability との相関が高く, ALS の生理学的指標として優れていると考えられた. ALSFRS-R や Norris Scale に反映されない pre-clinical な状態であっても MUNE が低下している事例があり, 神経生理検査は ALS の surrogate marker として有用である.

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症(ALS)では, 筋萎縮などの臨床症状が発現する前から運動単位数の減少が始まっている¹⁾. ALSの診断や進行の評価に, 神経生理検査は重要である. なかでも運動単位数推定法(Motor Unit Number Estimation: MUNE)は, 電気生理学的に運動単位数を推定する手法で, ALSの早期診断や進行度の評価に有用な検査である^{2,3)}. MUNEの多くは手技が煩雑で, 検者の技術に依存する面が多いことから, 十分に普及してはいない. Carvalhoら⁴⁾は, より簡便に施行できる生理学的指標として, Neurophysiological Index (NI)を提唱し, MUNEや他の臨床評価と相関することを報告している. 本研究では, ALS患者に対し, MUNEとNIを測定し, 検査間の比較, 臨床指標との相関を求めることで, これらの指標の前角細胞脱落の surrogate markerとしての有用性を検討した.

B. 研究方法

ALS患者9名(男性4例, 女性5例, 年齢52~77

歳, 罹病期間9~76ヵ月, 厚労省重症度1~4)に対し, 多点刺激法(multiple point stimulation: MPS法)によるMUNEとNIを測定し, ALSFRS-RとNorris scaleの2つの臨床スコアと比較した.

MUNEは, 日本光電製筋電計MEB-9104を使用し, 前腕部で尺骨神経をフェルト電極で刺激して, 手の小指外転筋(ADM)から記録した. 微弱な刺激を加えて, 筋腹上に貼付した表面電極から all or none で出現する筋活動電位を, 単一運動単位電位(SMUP)として記録した. 同一閾値を有する複数のSMUPが同時に発火することによっておこる波形変化(alteration)がMUNEの誤差要因になるために, 順次刺激部位を変えて10個のSMUP波形を記録し, 立ち上がり潜時をそろえた後にコンピュータで加算平均して合成したものを平均的なSMUPとした. 手関節部で尺骨神経を最大上刺激して得られた最大M波の振幅を, 平均的なSMUPの振幅で除してMUNEを算出した. 2名の検者が独立して施行し, その平均値をMUNE結果とした.

NIの測定は, Carvalhoら⁴⁾の方法に従い, 記録電極をADMに, 刺激電極を手首の尺骨神経上において最大上刺激を行い, 以下の式 $NI = \text{CMAP 振幅(mV)} \div$

M 波終末潜時(ms) × F 波出現率(%) で求めた。

患側の9手で、MUNEとNIについて、ALSFRS-Rの総得点(ALSFRS-T)とNorris scaleの総得点(Norris-T), およびそれぞれの臨床指標の中で、書字、摂食動作、着衣、身の回りの動作といった、手に関する sub score (ALSFRS-H, Norris-H)の相関について検討した。

統計処理には、Spearmanの順位相関係数を用いた。

C. 研究結果

MUNEとNIの計測値と、ALSFRS-RとNorris Scaleの得点との相関結果を表1に、回帰直線を図1~6に示した。MUNEとNIのいずれも、ALSFRS-Rの総点との有意な相関は認められなかった。ALSFRS-Rのなかで上肢機能に限定した下位スコアALSFRS-Hは、MUNEとの相関係数が0.741で、有意な相関が見られた(図1)。一方で、NIとALSFRS-Hの相関係数は0.528と低く、有意ではなかった(図2)。

Norris Scaleの総点では、MUNEとの相関係数が0.750を示し、有意な相関が見られた(図3)。一方で、NIとNorris Scale 総点の相関係数は0.417と低く、有意ではなかった(図4)。Norris scaleのなかで上肢機能に限定した下位スコアNorris-Hは、MUNEとの相関係数が0.928と高く、有意な相関が見られた(図5)。NIとNorris-Hの相関係数も0.783と良好で、NIについては唯一有意な相関が見られた(図6)。

表1: MUNE・NIと臨床指標の相関

	MUNE	NI
ALSFRS 総点	$\rho=0.544$ $p=0.130$ ns	$\rho=0.167$ $p=0.667$ ns
ALSFRS 上肢	$\rho=0.741$ $p=0.023$ *	$\rho=0.528$ $p=0.144$ ns
Norris 総点	$\rho=0.750$ $p=0.020$ *	$\rho=0.417$ $p=0.265$ ns
Norris 上肢	$\rho=0.928$ $p=0.0003$ *	$\rho=0.783$ $p=0.013$ *

初期のALS患者で、臨床症状が比較的軽いか、上肢以外から発症したものの中には、ADMのMUNEが正常の約半数である100程度にまで減少していても、ALSFRS-RやNorris scaleではほぼ満点に近い点を得られ、これらの臨床指標では捕捉しきれていない例があった。

C. 考 察

ALSに代表される運動ニューロン疾患では、疾患の進行に伴い脊髄前角細胞の脱落がおこるが、病初期においては、同時に脱神経筋の再支配が進み、運動単位の巨大化が観察され、それが運動単位数の減少を補完する。しかし、ALSの前角細胞脱落は進行性かつ非可逆的であり、運動単位の巨大化にも限度があることから、神経再支配の破綻がおこり、筋萎縮と脱力が顕在化して、ひとたび臨床症状が現れると急速に進行することになる。ALSの経過観察において、MUNEは他のいかなる生理学的、臨床指標よりも早く変化が現れることが知られている⁵⁾。その理由から、MUNEは筋力や臨床評価スケール、肺活量等よりも鋭敏な予後判定因子になるといわれている⁶⁾。また、MUNEが急激に低下する患者においては、死亡リスクが高いことが知られている⁷⁾。したがって、MUNEはALSの実験動物モデルなどでも臨床症状発現前のsurrogate markerとして利用されている。

MUNEにはいくつかの手法があるが、いずれの原理も、支配神経の最大刺激で得られたM波(CMAP)などの筋活動量・電位を、単一運動単位が活動したときの筋活動量・電位の平均値で除して求めるというもので、生理学的に活動性のある運動単位数を反映している。今回の検討でも、MUNEはNorris Scaleや、上肢に限定したALSFRS-Rスケールとの相関が見られた。これらの臨床指標がほぼ満点に近い得点であっても、MUNEが正常の約半数にまで減少している例があり、MUNEはALSのsurrogate markerとして妥当であると考えられた。

一方、Neurophysiological Index (NI)は、ALSの進行に伴って変化する電気生理学的指標の中で、減少する指標であるCMAP振幅とF波出現率を乗じたものを、増大する指標であるM波終末潜時で除すことで得られ、進行とともに減少する指標で、特殊な技術や設備がなくともMUNEより簡便に施行できる利点がある¹⁾。

NI は、ALS 患者の臨床経過を追うのに良い指標とされており、検査の再現性 test-retest reliability も高いとされ、筋力と高い相関があるとされている⁸⁾。また NI は急速進行するものや緩徐進行するものにも対応可能で⁹⁾、検者間誤差も少なく、ALS 患者の経過を追うのに適している¹⁰⁾。しかし、臨床的に筋力が残っていても F 波の導出ができないような ALS 患者では、NI がいきなり”0”になってしまい、評価できないという欠点がある。今回の検討では、NI で唯一相関がみられたのは上肢に限定した Norris Scale であった。ALSFRS-R と NI とは有意な相関が見られなかったが、患者の発症部位や筋萎縮の分布、進行度に違いがあり、画一的に評価することはできない。NI は増減する筋電図上の数値を乗除して求めた単なる算術的指標であり、何を反映しているかが不明確である。

今回、臨床評価に用いた ALSFRS-R と Norris Scale は、ALS 治療薬の開発治験などで広く用いられているもので、四肢・体幹機能、呼吸・嚥下機能を網羅した総合的な臨床評価スケールである。MUNE も NI も神経・筋機能障害 (impairment) の指標であるが、これらと患者の能力障害 (disability) を評価する臨床指標との高い相関が示されたことになる。

E. 結 論

小手筋の MUNE は、上肢機能に限定した ALSFRS-R と Norris Scale との間に有意な相関が見られた。NI は、上肢機能に限定した Norris Scale との相関が有意にみられ、これらは ALS の生理学的指標として適していると考えられた。とくに MUNE は disability との相関が高く、ALS の生理学的指標として、NI より優れていると考えられた。ALSFRS-R や Norris Scale に反映されない pre-clinical な状態であっても MUNE が低下している事例があり、神経生理検査は surrogate marker として有用である。

F. 文 献

1. Aggarwal A, et al: J Neurol Neurosurg Psychiatry 73: 199-201, 2002.
2. Yuen EC, et al: Neurology 49: 573-578, 1997.
3. Bromberg MB, et al: J Neurological Sci 139 (suppl.): 38-42, 1996.
4. Carvalho M, et al: Neurology 64: 1783-1785, 2005.
5. Mitsumoto H, et al. Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord 5 (suppl 2): 34-35. 2004.
6. Felice KJ. Muscle Nerve 20: 179-185, 1997.
7. Yuen E, et al. Neurology 49: 573-578, 1997.
8. Carvalho M, et al: Muscle Nerve 23: 344-352, 2000.
9. Carvalho M, et al: Muscle Nerve 28: 630-633, 2003.
10. Carvalho M, et al: Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord 5 (suppl 1): 108-110, 2004.

G. 健康危険情報

なし

H. 学会発表

1.論文発表

Naito Y, Asahi M, Kuzuhara S: Test-retest and inter-examiner reliability of automated motor unit number estimation (MUNE). Amyotrophic Lateral Sclerosis. 7 (Suppl 1), 37, 2006.

2.学会発表

Naito Y, Asahi M, Kuzuhara S: Test-retest and inter-examiner reliability of automated motor unit number estimation (MUNE). 17th International symposium on ALS/MND, Nov 2006, Yokohama

I. 知的所有権の取得状況

- 1.特許取得: なし
- 2.実用新案登録: なし
- 3.その他: なし

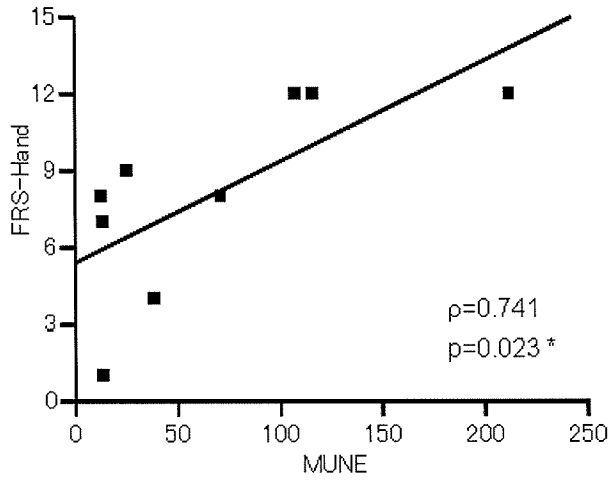


図 1. MUNE と ALSFRS 上肢スコアとの相関

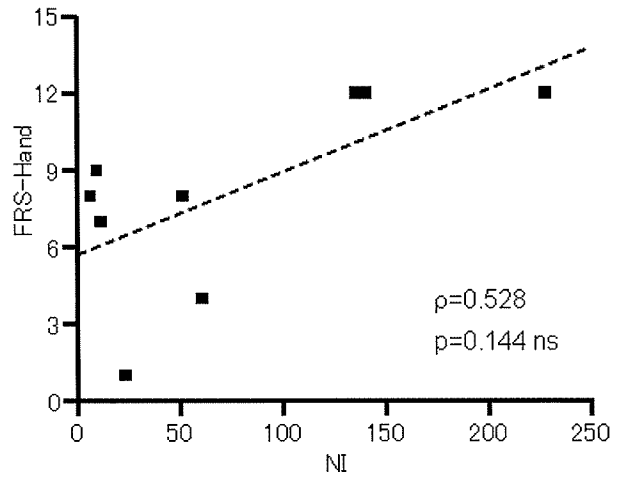


図 2. NI と ALSFRS 上肢スコアとの相関

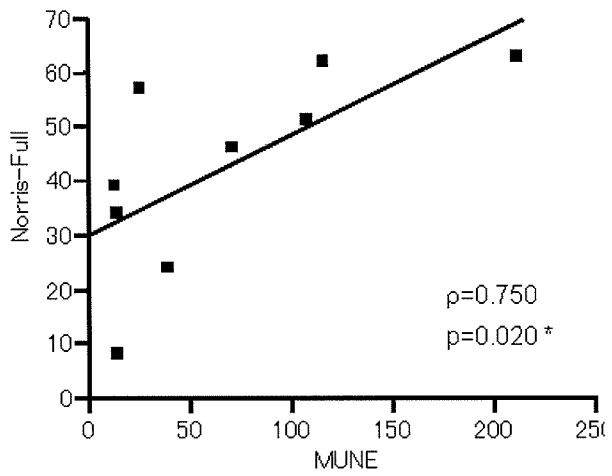


図 3. MUNE と Norris スコア総点との相関

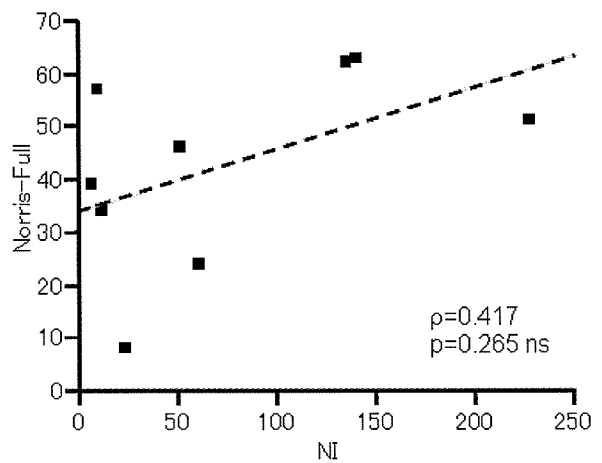


図 4. NI と Norris スコア総点との相関

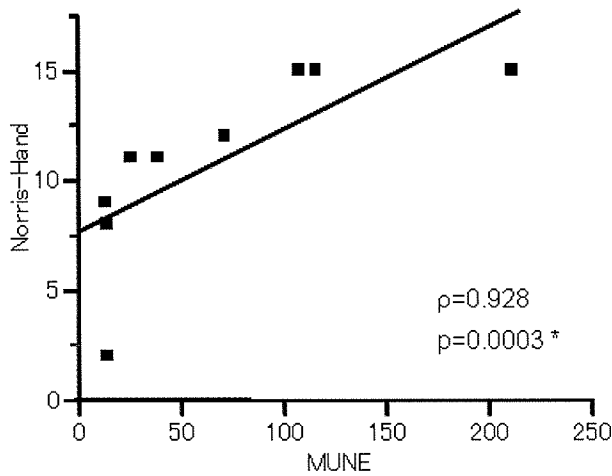


図 5. MUNE と Norris 上肢スコアとの相関

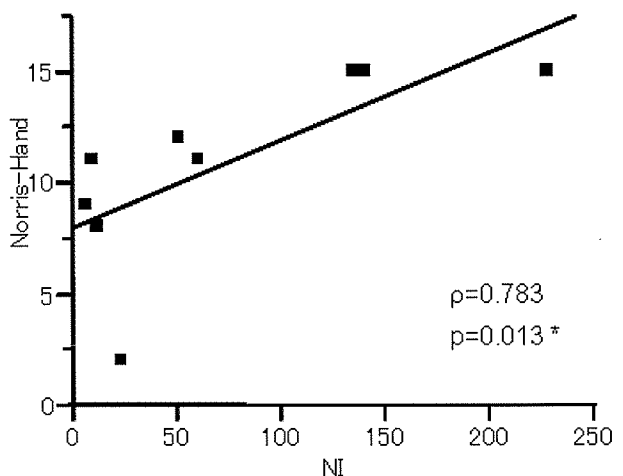


図 6. NI と Norris 上肢スコアとの相関

ALS 患者髄液中の MCP-1 および MCP-1/VEGF 比の検討

[班 員] 阿部康二

[共同研究者] 村上哲郎、永田哲也、森本展年、倉田智子、太田康之、武久康、永井真貴子、神谷達司

[所 属] 岡山大学医学部神経内科

[研究要旨] 筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) は上位および下位運動ニューロンの変性による進行性の神経変性疾患であるがその原因は未だ不明である。本研究で我々は ALS 患者の髄液を用いて monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) および vascular endothelial growth factor (VEGF) 濃度を ELISA 法により測定し、対照群 (神経変性疾患群および正常群) と比較した。髄液の MCP-1 濃度は ALS 患者で正常群に比較して有意に高値を示した。また髄液 MCP-1 値は Norris scale と負の相関を示した。VEGF 値は正常群に比べて低い傾向を示したが有意差は認めなかった。MCP-1/VEGF 比は ALS においてのみ対照群と比較して有意に高値を示した。ALS 患者の MCP-1 および MCP-1/VEGF 比の測定は、ALS の診断および重症度に関するマーカーとして有用であると考えられた。

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は運動ニューロンが選択的に変性し、このため筋萎縮・脱力を来し数年の経過で死に至る神経変性疾患である。ALS の原因は未だ不明であるが、最近炎症細胞の関与も注目されている。特に monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) は中枢神経の傷害に際して単球系の遊走を惹起する因子として重要である。MCP-1 はアルツハイマー病において老人斑やマイクログリアで発現が認められる他に、多発性硬化症における脱髄斑においても発現しているといわれている。さらに近年の報告では ALS 患者の脊髄で MCP-1 の mRNA が増加しているとの報告があり、ALS においてケモカインが神経細胞死に関与しているとの報告が示されている。一方 VEGF は本来血管内皮の増殖因子であるが、神経細胞自体に対する保護効果も報告され、低酸素下で VEGF の誘導を阻害したトランスジェニックマウスでは ALS に類似した病理所見を呈し、VEGF も運動神経細胞死との関与が指摘されている。

そこで我々は、ALS 患者の髄液を用いて MCP-1、VEGF、および MCP-1/VEGF 比を測定し、ALS 患者にマーカーとしての有用性について検討した。また他の神経変性疾患でも同様の検討を行い、ALS における特異性について検討した。

B. 研究方法

ALS 患者 (n=42) から髄液を採取し、MCP-1、VEGF、および MCP-1/VEGF 比を測定した。ALS 患者は El Escorial 診断基準に基づいて診断し、確実例 (definite) と診断した患者の髄液のみを用いた。さらに、ALS 群を四肢発症群 (limb-type) および球麻痺発症群 (PBP-type) に分け、Norris scale (total, limb, および bulbar) との相関について検討した。また対照として、パーキンソン病 (PD, n=25)、脊髄小脳変性症 (SCD, n=18) および正常群 (control, n=16) の各群と比較した。髄液は採取後速やかに遠心し、上清を -80°C で保存した。髄液の MCP-1 および VEGF 濃度はそれぞれ BioSource (Camarillo, CA) および QuantiGlo (R&D systems, Wiesbaden, Germany) のキットを

用いた ELISA 法によって測定した。本研究に参加した患者からは書面による同意を取得し、倫理面には十分に配慮して行った。

C. 研究結果および D. 考察

今回検討した各群において、発症年齢および年齢分布に関して各群において有意な差は認めなかった。ALS 患者髄液中の MCP-1 は正常群に比べて有意に高値 ($p < 0.01$) であったが、PD でも正常群と比較して有意に高値 ($p < 0.05$) であった (図 1)。脊髄小脳変性症では正常群 (control) と比べて有意差は認めなかった。ALS の発症形式別 (limb-type/PBP-type) では有意差はなく、罹病期間別の検討 (1 年未満, 1-3 年, および 3 年以上) でも各群間に有意な差は認めなかった。一方、髄液中の MCP-1 値は Norris scale と負の相関が認められ、重症であるほど MCP-1 値は高値であった。

ALS 患者における髄液 VEGF 濃度は正常群 (control) に比べて低い傾向にあったが有意差は認めなかった (図 1)。PD, SCD でも同様であった。髄液 VEGF 濃度は発症形式や罹病期間、および Norris scale とは相関はなかった。一方 MCP-1/VEGF 比は対照群と比較して ALS 患者でのみ有意に高値を示した。(図 2)。

E. 結論

ALS 患者における MCP-1/VEGF 比は ALS 患者で特異的かつ有意に上昇しており、ALS における診断マーカーとして有用であることが示唆された。

F. 文献

Maghazachi AA, et al. J. Immunol. 153; 4969-4977:1994.

Ishizuka K, et al. Psychiatry Clin. Neurosci. 51;135-138:1997.

McManus C, et al. J. Neuroimmunol. 86;

20-29:1998.

Baron P, et al. Muscle & Nerve 32;541-544:2005.

Murakami T, et al. Brain Research 989; 231-237:2003.

G. 健康危険情報

なし

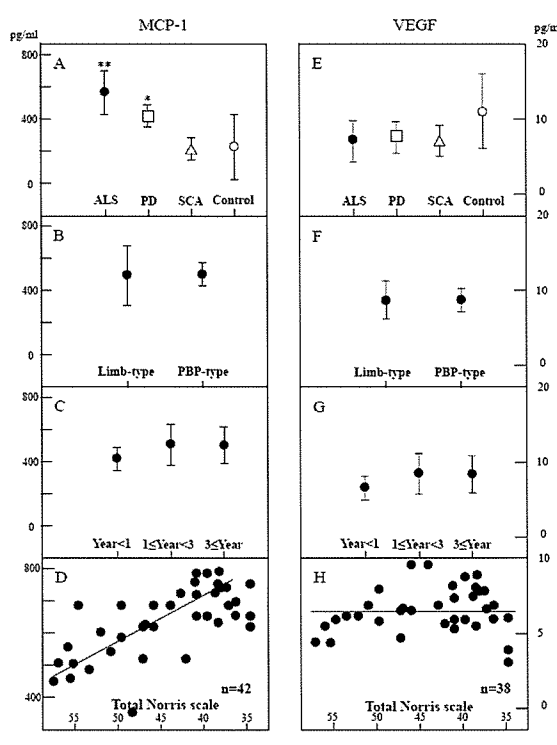
H. 学会発表

第 47 回日本神経学会総会他

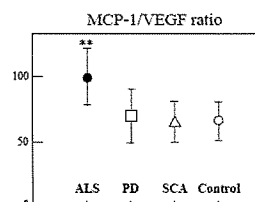
I. 知的所有権の取得情報

なし

<図 1> 各群の髄液 MCP-1 および VEGF 濃度



<図 2> 各群の MCP-1/VEGF 比



運動ニューロン疾患患者髄液サイトカインの網羅的解析

報告者氏名：立石貴久¹⁾、田中正人¹⁾、菊池仁志¹⁾、大八木保政¹⁾、吉良潤一¹⁾

所属：¹⁾九州大学大学院医学研究院神経内科

研究要旨

我々は、平成 17 年度「神経変性疾患に関する調査研究」班にて、ALS 患者髄液で MCP-1 および G-CSF の有意な増加を報告した。今回、孤発性筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 42 例、孤発性脊髄性進行性筋萎縮症 (SPMA) 12 例および非炎症性他神経疾患 (OND) 34 例の髄液の 27 種類サイトカイン/ケモカインを同時測定し、臨床スコアとの相関を解析した。

ALS 患者群では、OND 患者群と比較して、髄液中 MCP-1、G-CSF に加え、eotaxin、IP-10、MIP-1 β 、TNF- α 、VEGF、IL-8、IL-9、IL-17 の有意な上昇を認めたが ($p < 0.01$)、SPMA 患者群では有意差は認めなかった。さらに ALS 患者群では、MCP-1 と髄液蛋白、ALSFRS-R との間で、MIP-1 β と ALSFRS-R、罹病期間、および disease progression rate との間で、IP-10 と罹病期間、disease progression rate との間で有意な相関関係をそれぞれ認めた。

これらの結果より、中枢神経系での炎症機転誘導が ALS における運動ニューロン傷害過程の一因子として作用している可能性が考えられた。

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS)、脊髄性進行性筋萎縮症 (spinal progressive muscular atrophy, SPMA) などの運動ニューロン疾患 (Motor neuron disease, MND) の病因仮説の一つとして近年、免疫・炎症機転の関与が注目されている。これまで我々は、fluorescent bead-based immunoassay 法を用い、ALS 患者髄液における 16 種類の多項目サイトカインの同時解析を行い、MND における免疫・炎症機転の関与を検討した。ALS 患者群では Th2 系サイトカイン/ケモカインの活性化に関連する髄液中 MCP-1、G-CSF の有意な上昇が認められた。また、MCP-1 と髄液蛋白との正相関、ALS functional rating scale (ALSFRS-R) との逆相関

がそれぞれ認められ、ALS における中枢神経系での免疫・炎症機転が運動ニューロン傷害過程の一因子として関与している事が示唆された。

我々は今回、MND (ALS、SPMA) 患者髄液における 27 種類の多項目サイトカインの同時解析を行い、MND における免疫・炎症機転の関与の検討を更に進めた。

B. 研究方法

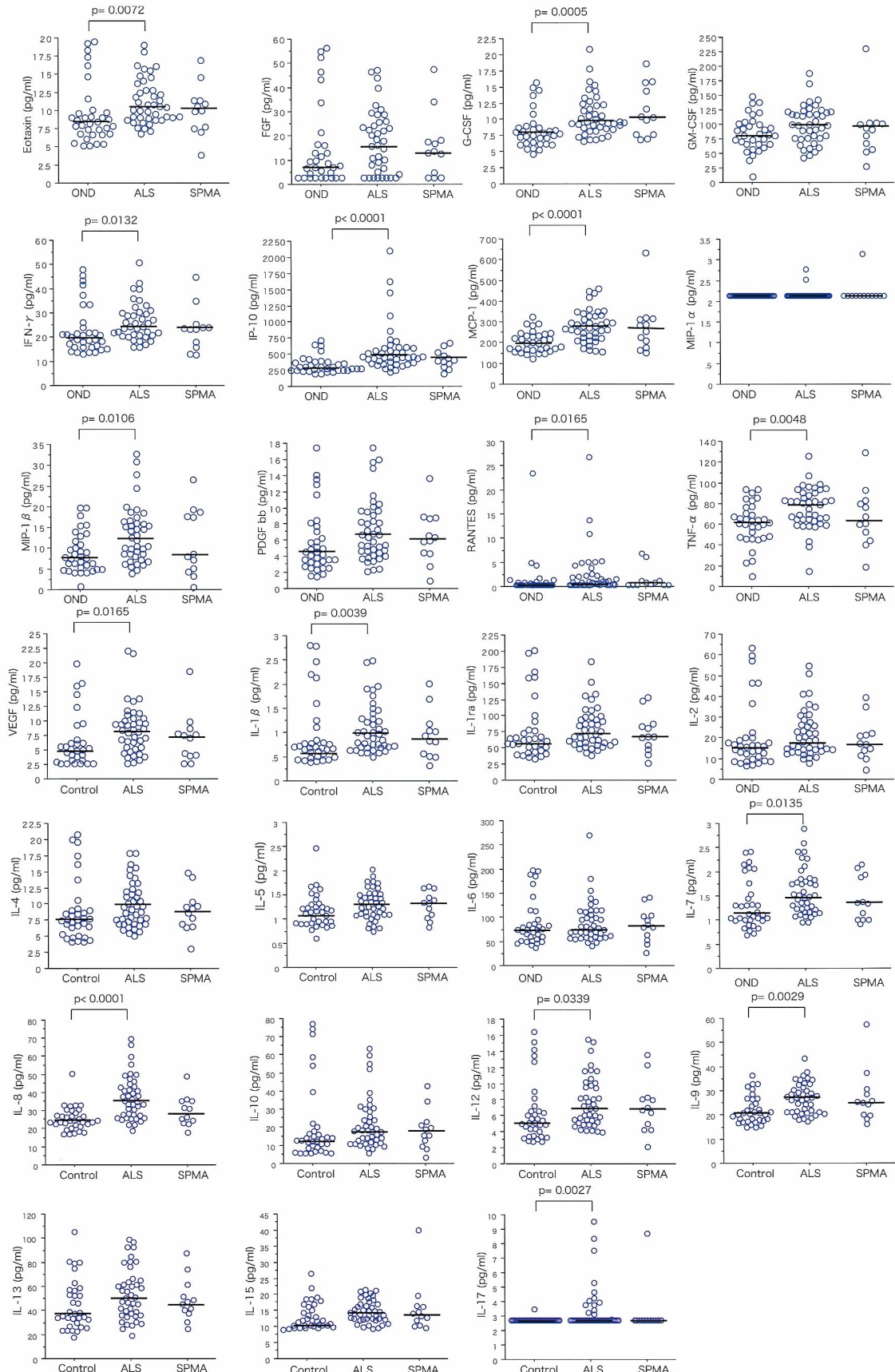
① MND 患者髄液における多項目サイトカインの同時解析

孤発性 ALS 42 例、孤発性 SPMA 12 例および対照としてその他の非炎症性神経疾患 (OND) 34 例の髄液の 27 種類サイトカイン/ケモカインを fluorescent bead-based immunoassay 法により

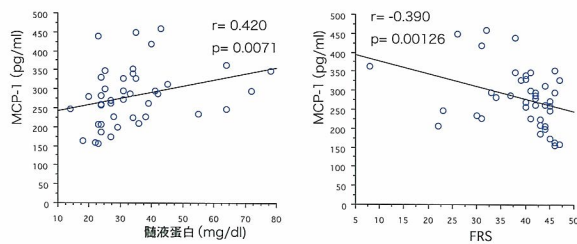
同時測定し、ALSFRS-R、罹病期間、髄液蛋白、
disease progression rate などの臨床スコアとの
相関を解析した。

② 脊髄における VEGF、HIF-1 α の発現の局在

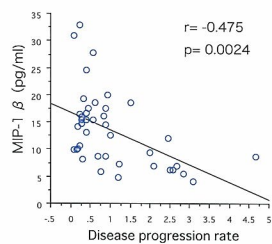
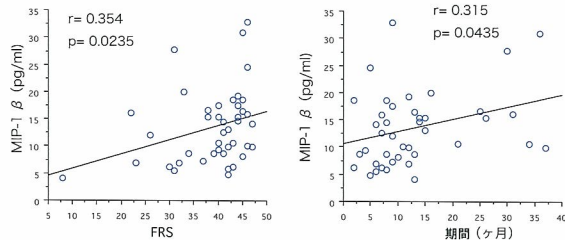
ALS 患者脊髄剖検組織および変異 SOD1
(mSOD1) マウス脊髄材料を用いて、Vascular
endothelial growth factor (VEGF)、Hypoxia
induced factor (HIF-1 α) の発現の変化および



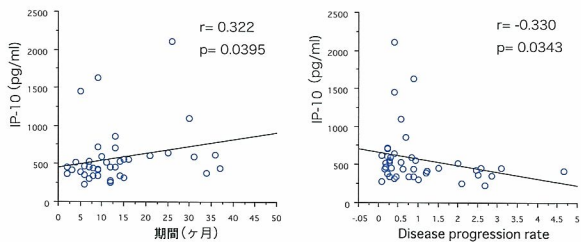
(図1) サイトカインの変動



(図2) MCP-1 と臨床との相関



(図3) MIP-1 β と臨床との相関



(図4) IP-10 と臨床との相関

その局在を検討した。

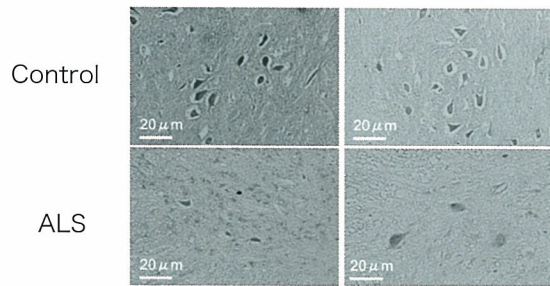
C. 研究結果

① MND 患者髄液における多項目サイトカインの同時解析

ALS 患者群では、対照群に比べて、髄液中 MCP-1、G-CSF に加えて eotaxin、IFN- γ 、IP-10、MIP-1 β 、RANTES、TNF- α 、VEGF、IL-1 β 、IL-7、IL-8、IL-9、IL-12、IL-17 の有意な上昇が認められた ($p < 0.01$) (図 1)。しかし、SPMA 患者群では、サンプル数の関係もあり、OND 患者群と比較して有意差は認めなかった。

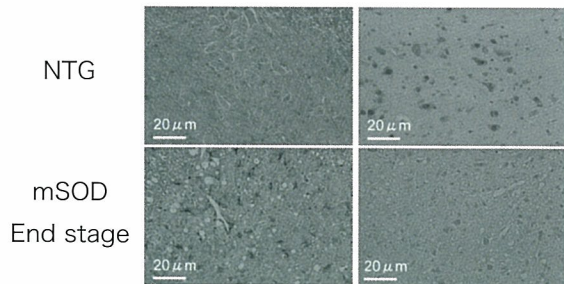
また、ALS 患者群では MCP-1 と髄液蛋白との間に正の相関、ALSFRS-R との間では負の相関(図

(DAB 染色) VEGF HIF-1 α



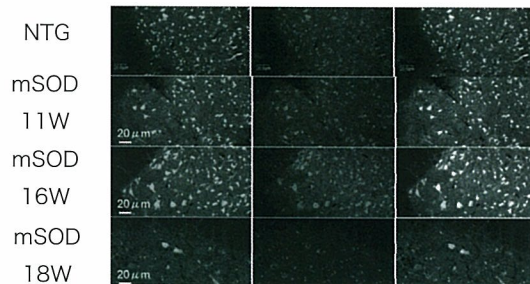
(図5) ヒト脊髄組織における HIF-1 α の発現の変化

(DAB 染色) VEGF HIF-1 α



(図6) mSOD1 マウスにおける VEGF と HIF の発現

Neu N HIF-1 α Merge



(図7) mSOD1 マウス脊髄組織における HIF-1 α の発現の疾患時期疾患時期による変化

2)、MIP-1 β と ALSFRS-R、罹病期間との間には正の相関、disease progression rate との間には負の相関 (図 3)、IP-10 と罹病期間の間には正の相関、disease progression rate との間には負の相関 (図 4) をそれぞれ認めた。

② 脊髄における VEGF、HIF-1 α の発現の局在

次に我々はヒト脊髄組織における VEGF と VEGF の転写因子である HIF-1 α の発現を調べた。ALS 患者脊髄では、コントロールと比較し神経細胞では VEGF の発現が低下していた。また HIF-1 α については ALS 脊髄の神経細胞において発現の低下を認めた (図 5)。

また、mSOD マウスの脊髄組織でも同様に、VEGF と HIF-1 α の発現を調べた。mSOD マウ

ス脊髄のアストロサイトに VEGF の発現を認めており、HIF-1 α は mSOD マウスの神経細胞で非トランスジェニック (NTG) マウスと比べて発現が低下していた (図 6)。

さらに、mSOD マウスにおける HIF-1 α の発現の変化を調べた。発症前である 11 週や 16 週の mSOD マウスでは NTG マウスと比較して、神経細胞における HIF-1 α の発現が亢進していたが、発症後である 18 週の mSOD マウスでは神経細胞における HIF-1 α の発現が低下していた (図 7)。

なお、VEGF の発現の変化についても今後検討していく。

D. 考察

これまで我々は ALS 患者髄液において G-CSF と MCP-1 とが有意に増加している事を報告していたが、今回の測定でも再現性が認めることができた。

今回さらに、ALS 患者髄液において、eotaxin、G-CSF、MCP-1 などの Th2 系サイトカイン / ケモカインの上昇のみならず、IL-12、IL-17、VEGF、IFN- γ 、TNF- α 、IP-10 などの Th1 系サイトカイン / ケモカインの上昇をも認めた。中枢神経系での炎症機転誘導が ALS における運動ニューロン傷害過程の一因子として作用している事が考えられた。

髄液中の VEGF の濃度については経過が長くなると上昇する傾向にあるが、病初期では低下することが報告されている。また、HIF-1 α のレセプターであり VEGF のプロモーターである hypoxia-response element (HRE) の欠損により運動ニューロンの変性が引き起こされるという報告もあり、VEGF はマウスとヒトにおける ALS の修飾因子であり、虚血性運動ニューロン死から保護すると考えられている。今回は、ALS 患者髄液中の VEGF 濃度と罹病期間や、ALS FRS (重症度) との間での相関関係を認めなかった。しかし、発症早期での検討や脊髄の他の部位での病理学的検討も必要と考えられる。

mSOD マウス脊髄組織にて発症前である 16 週

齢で一過性に HIF-1 α の発現が上昇していることより、発症早期の運動ニューロン変性に虚血性機序が関与している可能性が考えられた。

E. 結論

中枢神経系での炎症機転誘導が ALS における運動ニューロン傷害過程の一因子として作用している。

F. 文献

1. Tanaka et al. J Neuropathol Exp Neurol 65: 816-825, 2006
2. Devos et al. Neurology 62: 2127-2129, 2004
3. Ilzecka et al. Clin Neurol Neurosurg 106: 289-293, 2004
4. Oosthuysen et al. Nat Genet 28: 131-138, 2001

G. 健康危険情報

特記事項なし

H. 学会発表

1. 田中正人ら：筋萎縮性側索硬化症における G-CSF の意義，第 47 回日本神経学会総会，2006
2. Tanaka et al: Changes in granulocyte colony stimulating factor and its receptor in the CNS of amyotrophic lateral sclerosis. The 8th International Congress of Neuroimmunology. 2006
3. Tanaka et al: Changes in granulocyte colony stimulating factor and its receptor in the CNS of amyotrophic lateral sclerosis. 17th International Symposium on ALS/ MND, 2006

H. 知的財産権の問題 - 登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
特に無し
2. 実用新案登録
特に無し
3. その他
特に無し

筋萎縮性側索硬化症における transferrin の発現に関する検討

分担研究者：岡本幸市¹⁾

研究協力者：水野裕司¹⁾、甘利雅邦²⁾、高玉真光²⁾、相澤仁志³⁾、美原 盤⁴⁾

¹⁾ 群馬大学大学院医学系研究科脳神経内科学，²⁾ 老年病研究所附属病院，

³⁾ 旭川医科大学第1内科，⁴⁾ 美原記念病院

研究要旨

Transferrin に対するポリクローナル抗体を用いて、筋萎縮性側索硬化症(ALS)剖検例の腰髄パラフィン切片を免疫染色し、疾患特異的異常構造物である Bunina bodies、skein-like inclusions、Lewy body-like inclusions/round inclusions、basophilic inclusions などがどのような免疫反応性を示すのか検討した。Bunina bodies は transferrin 陽性、basophilic inclusions は陽性、部分陽性、陰性に分けられた。また、Lewy body-like inclusions/round inclusions はコアが弱陽性、skein-like inclusions は陰性であった。Bunina bodies と basophilic inclusions の形成に transferrin の関与が示唆されたが、そのメカニズムは明らかでない。

A. 研究目的

Transferrin は鉄結合タンパク質で、体内の各組織へ鉄を運ぶ働きをしている。

Oligodendrocytes は transferrin を生成しているが¹⁾、神経細胞では生成されず、transferrin receptor を介して endocytosis によって神経細胞内に取り込まれると考えられている。そのため transferrin の抗体は oligodendrocytes のマーカーとしても利用されている。

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) には疾患特異的異常構造物として Bunina bodies、skein-like inclusions、Lewy body-like inclusions/round inclusions、basophilic inclusions が存在するが、それらの構成成分はなお解明されていない。また、これまでに神経変性疾患と transferrin の関係を検討した報告は少ない。

今回我々は ALS の脊髄前角細胞内にみられる異常構造物と transferrin の関係を免疫組織学的に検討した。

B. 研究方法と対象

認知症を伴う ALS2 例、basophilic inclusions を認める若年性 ALS2 例、孤発性 ALS8 例、及び5例の対照群の腰髄パラフィン切片を、human transferrin に対するウサギポリクローナル抗体 (Dako, 1:6,000) を用いて免疫染色した。Bunina bodies、Lewy body-like inclusions/round inclusions、basophilic inclusions の前角細胞内での存在箇所を確認するために、まず始めに HE 染色を行い、写真撮影の後、カバーガラスをはずし、脱色し、同一切片を transferrin に対する抗体で追加染色した。

その他、albumin, prealbumin, orosomucoid に