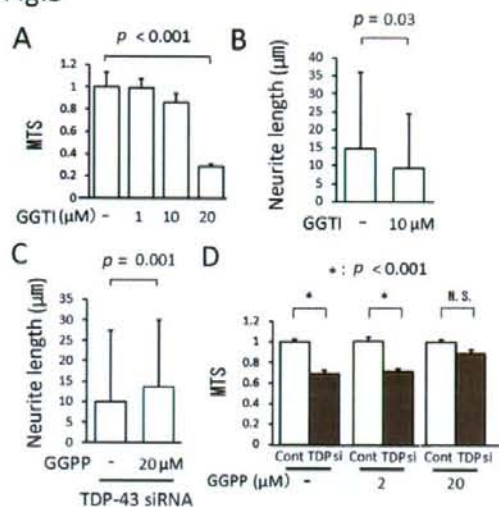


in TDP-43 knocked-down cells. This effect, however, was not observed with H-Ras or Rab5. Moreover, the subcellular fraction of RhoGDI was not altered by TDP-43 depletion. GAPDH and integrin β 1 were used as a cytosol and membrane marker, respectively. Cyto, cytosol fraction; Mem, membrane fraction; Nuc, nuclear fraction. (C) Neuro-2a cells were metabolically labeled with [14 C]mevalonic acid (MVA): left, Western blot with anti-RhoA or Rac1 antibody of cell lysates; right, incorporation of [14 C]MVA into RhoA or Rac1.

Fig.3



(A) The viability of Neuro-2a cells incubated with the indicated concentrations of GGTI-298. (B) Averages of neurite length in Neuro-2a cells incubated with 20 μ M of GGTI-298 compared with control. (C) Measurement of neurite length of Neuro-2a cells incubated with 20 μ M of GGPP. The cells were transfected with TDP-43 siRNA or control RNA. (D) The viability of Neuro-2a cells incubated with the indicated concentrations of GGPP. Error bars indicate SD.

D. 考察

Neuro-2a において TDP-43 のノックダウンにより細胞死と神経突起の伸張が阻害されることが

確認され、その原因として Rho family (RhoA, Rac1, Cdc42)の活性低下が一因と考えられた。Rho family はそのほとんどは GDP 結合型の不活性体として細胞質に存在し、一部が GDP 結合型の活性体で細胞膜に維持されている。さらに、細胞膜への維持は geranylgeranyl 化に既定されている。我々の検討では TDP-43 のノックダウンにより膜分画の RhoA, Rac1, Cdc42 が一様に低下し、RhoA, Rac1 の geranylgeranyl 化も抑制されていた。さらに TDP-43 ノックダウンによる細胞障害は geranylgeranyl 化の基質である GGPP によって軽減され、GGTI を負荷して geranylgeranyl 化を抑制すると TDP-43 ノックダウンと同様 viability の低下と神経突起の伸張阻害がみられた。これらは、TDP-43 により Rho family の geranylgeranyl 化が障害され、その活性が失われることによって細胞障害を引き起こすことを強く示唆する結果と考えられた。ALS や FTLD-U においても TDP-43 が本来果たすべき働きが失われることが神経変性に関わっている可能性がある。今後は動物モデルで検証していく予定である。

E. 結論

TDP-43 の Loss of function により神経変性を起す可能性が示唆された。

その病態機序としてゲラニルゲラニル化が障害されることによる Rho family GTPase の活性低下が一因と考えられた。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Banno H, Katsuno M, Suzuki K, Takeuchi Y, Kawashima M, Suga N, Takamori M, Ito M, Nakamura T, Matsuo K, Yamada S, Oki Y, Adachi H, Minamiyama M, Waza M, Atsuta N, Watanabe H, Fujimoto Y,

Nakashima T, Tanaka F, Doyu M, Sobue G. Phase 2 trial of leuprorelin in patients with spinal and bulbar muscular atrophy. *Ann Neurol.* (in press).

特記事項なし

Atsuta N, Watanabe H, Ito M, Tanaka F, Tamakoshi A, Nakano I, Aoki M, Tsuji S, Yuasa T, Takano H, Hayashi H, Kuzuhara S, Sobue G. Age at onset influences on wide-ranged clinical features of sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.* 2008 Oct 27. (Epub ahead of print)

Tokui K, Adachi H, Waza M, Katsuno M, Minamiyama M, Doi H, Tanaka K, Hamazaki J, Murata S, Tanaka F, Sobue G. 17-DMAG ameliorates polyglutamine-mediated motor neuron degeneration through well-preserved proteasome function in a SBMA model mouse. *Hum Mol Genet.* 2008 Dec 9. (Epub ahead of print)

2. 学会発表

Katsuno M, Kawashima M, Banno H, Suzuki K, Takeuchi Y, Suga N, Adachi H, Tanaka F, Sobue G: Skeletal muscle involvement in spinal and bulbar muscular atrophy. The 19th International Symposium on ALS/MND. Birmingham, UK, Nov 3-5, 2008.

Atsuta N, Watanabe H, Ito M, Tanaka F, Nakano I, Aoki M, Tsuji S, Yuasa T, Takano H, Hayashi H, Kuzuhara S, Sobue G. Sporadic amyotrophic lateral sclerosis in Japan: age at onset influences on wide-ranged clinical profiles. The 19th International Symposium on ALS/MND. Birmingham, UK, Nov 3-5, 2008.

H. 知的所有権の取得状況（予定を含む）

1. 特許取得

特記事項なし

2. 実用新案登録

3. その他

RNA 編集異常と孤発性 ALS モデルマウスの開発

郭 伸¹⁾

日出山 拓人¹⁾, 山下 雄也¹⁾, 西本 祥仁²⁾, 木村 大輔³⁾, 鈴木 岳史³⁾, 辻 省次¹⁾,
相澤 仁志⁴⁾, 柿田 明美⁵⁾, 高橋 均⁵⁾

1) 東京大学神経内科, 2) 慶應大学神経内科, 3) 慶應大学基礎生物学,

4) 旭川医科大学第一内科, 5) 新潟大学脳研病理,

研究要旨

我々は孤発性ALS脊髄運動ニューロンにおいてグルタミン酸受容体であるAMPA受容体のGluR2サブユニットQ/R部位の未編集型が増加していること、これがALS運動ニューロンに疾患特異的かつ細胞選択的な変化であることを報告した(Kawahara Y et al, Nature, 2004). GluR2 Q/R部位のA-I編集は、RNA編集酵素ADAR2 (adenosine deaminase acting on RNA type 2)により、特異的に触媒されるので、孤発性ALSの運動ニューロンではADAR2活性が低下していると考えられる。CYFIP2 (cytoplasmic fragile X mental retardation protein interacting protein 2) mRNAにおけるK/E部位は、ADAR2により触媒される新たなA-I編集部位であることを明らかにし、この部位の編集率がin vivoにおいてもADAR2活性を反映する良いパラメーターであることを、ADAR2コンディショナルノックアウトマウスにより確認した。孤発性ALSの脊髄運動ニューロンではADAR2 mRNA発現量の低下と、CYFIP2 K/E部位編集率の低下がみられ、ADAR2活性が低下していることを明らかにした。

A. 研究目的

我々は孤発性ALS脊髄運動ニューロンにおいてグルタミン酸受容体であるAMPA受容体のGluR2サブユニットQ/R部位の未編集型が増加していること、これがALS運動ニューロンに疾患特異的かつ細胞選択的な変化であることを報告した(1)。GluR2 Q/R部位のA-I編集は、RNA編集酵素ADAR2 (adenosine deaminase acting on RNA type 2)により、特異的に触媒されるので、孤発性ALSの運動ニューロンではADAR2活性が低下していると考えられる。さらにこの分子変化は、AMPA受容体のCa²⁺透過性を亢進させることにより神経細胞死を引き起こす一次的な原因になることから、ALSの病因と密接に関連している可能性が高い(2)。しかも、SOD1関連性家族性ALS (ALS1)の運動ニューロン及びSBMA (球脊髄筋萎縮症)には見られない分子変化である(3)ことから、孤発性ALSに特異的な神経細胞死関連分子変化であると考えられる。平成18年の班会議では、孤発性ALSの病型、罹病期間、発症年齢を問わず孤発性ALSの脊髄前角ではGluR2 Q/R部位の編集率が低下している

ことを報告した(4)。孤発性ALSの運動ニューロンではADAR2活性が低下していることを確認するためにはGluR2 Q/R部位以外のADAR2の基質での活性低下を示す必要があったが、既知のGluR6 Q/R部位などは発現量が少なく、編集率の低下傾向とGluR2 Q/R部位との相関は認められたものの、有意差は得られなかった。今回、その候補としてCYFIP2 (cytoplasmic fragile X mental retardation protein interacting protein 2) mRNAにおけるK/E部位のA-I編集がADAR2により触媒されることを報告した(5)。今回、孤発性ALSの脊髄運動ニューロンでADAR2活性低下の有無を明らかにするために、CYFIP2 K/E部位の編集率を測定し、GluR2 Q/R部位の編集率との関連について検討した。

B. 研究方法

凍結保存したヒト剖検脳脊髄(正常対照n=17; ALS dementia, 長期生存例を含む様々な臨床型の孤発性ALS; n=18)より前角組織及び単一脊髄運動ニューロンをlaser microdissectorで切り出した。得られた組織より総RNAを抽出し、RT-PCR後、得られたcDNA

を特異的制限酵素で処理し、消化断片の定量により編集率を算定した。1) GluR2 Q/R 部位の RNA 編集率, 2) GluR2 Q/R 部位以外の新規の ADAR2 基質である CYFIP2 K/E 部位の編集率を算出した。コンディショナルノックアウトマウスの運動ニューロン組織について CYFIP2 K/E 部位の RNA 編集率を同様の方法で測定し, *in vivo* における ADAR2 活性のパラメータとしての有用性を検討した。また, 得られた cDNA から GluR2 及び ADAR2 mRNA の定量は孤発性 ALS 29 例及び正常対照 12 例の剖検脊髄前角組織を対象とし, real-time PCR 法 (Roche Lightcycler 480) により行い, ADAR2 活性を規定する因子の 1 つである ADAR2 mRNA 量 (7) について定量した。

C. 研究結果

孤発性 ALS 前角組織では, 臨床病型の違いにかかわらず GluR2 Q/R 部位は, 正常対照 $99.4 \pm 0.7\%$ に対し, $61.0 \pm 22.7\%$ と有意に低下し ($p < 0.001$), ADAR2/GluR2 mRNA も正常対照 $86.9 \pm 44.4 (10^{-3})$ に対し, $21.5 \pm 11.5 (10^{-3})$ と 1/4 以下に低下していた。脊髄後角, 白質では有意差は無かった ($p > 0.05$)。

CYFIP2 K/E 部位は, 正常対照脊髄前角が $8.5 \pm 2.3\%$ に対して孤発性 ALS 同部位では $1.3 \pm 0.4\%$ と有意に低下し ($p < 0.05$), 30 個プールした運動ニューロン (各 7 症例, 3 グループ) でも正常対照群 $21.9 \pm 3.0\%$ に対して $11.1 \pm 3.1\%$ と有意に低下していた ($p < 0.01$)。さらに GluR2 Q/R 部位と CYFIP2 K/E 部位の編集については Pearson の相関係数は 0.43 と正の相関を示した ($p < 0.01$)。

D. 考察

CYFIP2 K/E 部位は ADAR2 により特異的に編集されることがモデルマウスを用いた検討でも確かめられ, *in vivo* における ADAR2 の活性を反映する新たなパラメーターとして CYFIP2 K/E 部位の RNA 編集率測定が有用であることを明らかにした。したがって, 孤発性 ALS 前角組織, 運動ニューロンにおけるこの部位の RNA 編集低下は, ADAR2 活性低下を反映していると考えられる。GluR2 Q/R 部位と共に, 2 種以上の ADAR2 基質での編集率低下, および ADAR2 mRNA 発現量の

低下は, 孤発性 ALS 運動ニューロンには ADAR2 活性が低下していることを意味する。

ADAR2 のコンディショナルノックアウトマウスでは緩徐進行性に脊髄運動ニューロンが細胞死に陥ること (昨年度報告書, 6) から, この分子変化は孤発性 ALS における運動ニューロン死の原因であることを示している。何故 ADAR2 活性が低下するのは今後の課題であるが, 運動ニューロン死に直接関わるこの分子異常は, 治療法開発の標的になると考えられる。

E. 結論

孤発性 ALS 運動ニューロンでは ADAR2 活性が低下し, GluR2 Q/R 部位の RNA 編集異常が引き起こされることを明らかにした。ADAR2 活性低下は孤発性 ALS における運動ニューロン死の直接原因であると考えられる。

<引用文献>

1. Kawahara Y, et al. Glutamate receptors: RNA editing and death of motor neurons. *Nature* 427: 801. 2004
2. Kwak S, Weiss JH. Calcium-permeable AMPA channels in neurodegenerative disease and ischemia. *Curr Opin Neurobiol.* 16: 281-7. 2006
3. Kawahara Y, et al. Underediting of GluR2 mRNA, a neuronal death inducing molecular change in sporadic ALS, does not occur in motor neurons in ALS1 or SBMA. *Neurosci Res* 54: 11-14. 2005.
4. 郭 伸ら. 孤発性 ALS の脊髄前角における RNA 編集異常と病型. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 神経変性疾患に関する研究班 2006 年度研究報告書, 70-71, 2007.
5. Nishimoto Y, et al. : Determination of editors of mRNAs with site-selective A-to-I editing positions. *Neurosci Res.* 61:201-6, 2008,

6. Hideyama T, et al: Slow neuronal death of motor neurons in sporadic ALS mouse
7. Kawahara et al. Low editing efficiency of GluR2 mRNA is associated with a low relative abundance of ADAR2 mRNA in white matter of normal human brain. *Eur J Neurosci.* 18:23-33, 2003

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表 :

- 1) Nishimoto Y, et al. *Neurosci Res* 61:201-6, 2008,
- 2) Kwak S, et al. *RNA Biol* 5:5-15, 2008,
- 3) Buckingham SD, et al. *BioEssays* 30:193-7, 2008.
- 4) Kwak S, et al. *Amino Acid Receptor Res, Nova Sci Pub.* NY. 293-310, 2008

他 9 編

model by RNA editing enzyme ADAR2 knockout, *Abstr Soc Neurosci.* 745.17.

2. 学会発表 :

- 1) 日出山拓人ら. 第 49 回神経学会総会, 横浜, 2008. 5. 14-16.
- 2) 郭 伸ら. 第 31 回神経科学大会, 東京, 2008. 7. 9-11.
- 3) Hideyama T, et al. *6th FENS*, Geneva, 12-16 Jul 2008.
- 4) 郭 伸. 第 7 回日本認知症学会, 前橋, 2008. 10. 10-11.
- 5) Hideyama T, et al. *19th ALS/MND International Symposium*, Birmingham, 3-5 Nov 2008.
- 6) Yamashita T, et al. *38th Annual Meeting Society for Neuroscience*, Washington, 15-19 Nov 2008
- 7) Hideyama T, et al. *38th Annual Meeting Society for Neuroscience*, Washington, 15-19 Nov 2008

他 5 編.

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

紀伊半島の筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症複合における尿中酸化 ストレスの検討

小久保康昌¹⁾、森本 悟¹⁾、葛原茂樹²⁾

¹⁾三重大学神経内科、²⁾国立精神・神経センター病院

研究要旨（10ポイント程度）

紀伊半島多発地域の筋萎縮性側索硬化症とパーキンソン認知症複合（紀伊 ALS/PDC）における酸化ストレスの関与を明らかにするために、尿中酸化ストレスについて検討した。紀伊 ALS/PDC 11例と対照 8例の尿を用いて、尿中 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)/ creatinine 比を測定した。紀伊 ALS/PDC では、対照に比べて尿中 8-OHdG/ creatinine 比が著明に高値であった。尿中 8-OHdG/ creatinine 比は、重症度に相関して上昇する傾向があった。尿中 8-OHdG/ creatinine 比は、MMSE (mini-mental state examination) とは相関しなかった。今回の検討から、酸化ストレスが紀伊 ALS/PDC の病態に関与しているものと推察できた。酸化ストレスは、脳や血小板、筋肉など全身性のミトコンドリア機能障害を反映している可能性がある。

A.研究目的

紀伊半島多発地域の筋萎縮性側索硬化症とパーキンソン認知症複合（Amyotrophic Lateral Sclerosis /Parkinsonism-dementia complex :ALS/PDC）における酸化ストレスの関与を明らかにするために、尿中酸化ストレスについて検討する。

B.研究方法

対象は、紀伊 ALS/PDC 11例（平均年齢 72.7±1.98 歳、年齢範囲 65 歳から 84 歳）と対照 8例（平均年齢 74.8±1.13 歳、年齢範囲 69 歳から 78 歳）。

方法は、10時から15時の間に得た初尿を採尿後、直ちに 1000x g 15 分間遠心後、-30 °C で保存した。抗 8-OHdG モノクローナル抗体を用いた ELISA kit（New 8-OHdG Check、日本老化制御研究所）を用いて数回測定後、平均値を算出した。muscle mass の補正のために、urinary creatinine (mg/dL) を測定し、8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)/ creatinine 比を求めた。ELISA の感度は、

0.5 ~200 (ng/dL)で、Student *t*-test を用いて統計学的に検討した。

本研究は、三重大学の倫理委員会の承認に基づき行った。

C.研究結果

疾患対象者と正常対照者の詳細とそれぞれの尿中 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)/ creatinine 比 (8-OHdG/creatinine ratio)を Table に示す。

紀伊 ALS/PDC では、対照に比べて尿中 8-OHdG/ creatinine 比が著明に高値であった。(図 A) 尿中 8-OHdG/ creatinine 比は、重症度に相関して上昇する傾向があった。(図 B) 尿中 8-OHdG/ creatinine 比は、MMSE (mini-mental state examination) とは相関しなかった。

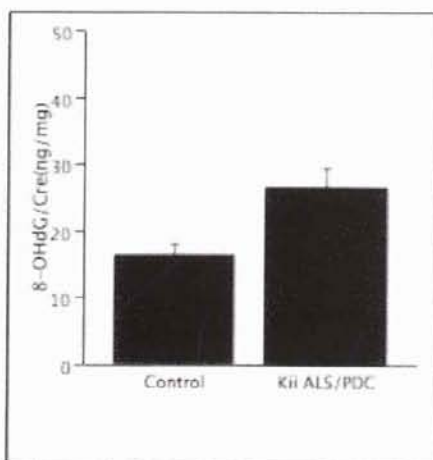
Table Clinical characteristics of patients with Kii ALS/PDC

	Clinical Dx	Age	Sex	Duration of the illness, y	Severity Scale	MMSE	Urinary 8-OHdG/creatinine ratio \pm SD
Control 1	Normal	75	F	-	-	-	21.99 \pm 13.94
Control 2	Normal	69	F	-	-	-	16.94 \pm 9.53
Control 3	MCI	78	F	-	-	-	18.70 \pm 9.66
Control 4	Normal	78	F	-	-	-	12.52 \pm 6.17
Control 5	Normal	76	M	-	-	-	17.65 \pm 7.16
Control 6	Normal	73	F	-	-	-	21.04 \pm 8.97
Control 7	Normal	77	M	-	-	-	12.49 \pm 8.11
Control 8	Normal	72	M	-	-	-	10.26
Case 1	PDC	68	F	7	Stage III	1030	39.06 \pm 19.26
Case 2	PDC	66	F	5	Stage IV	2000	29.49 \pm 16.14
Case 3	PDC	68	M	8	Stage IV	1800	33.30 \pm 16.74
Case 4	PDC	71	M	3	Stage V	1300	34.19 \pm 18.24
Case 5	ALS	80	F	1	Stage V	3000	38.79 \pm 7.67
Case 6	PDC	74	M	8	Stage V	070	12.51 \pm 0.80
Case 7	PDC	73	F	8	Stage III	1500	28.61 \pm 8.92
Case 8	PDC	81	F	7	Stage II	2600	17.72 \pm 6.79
Case 9	PDC	84	F	6	Stage I	2300	19.76 \pm 3.38
Case 10	PDC	68	M	12	Stage IV	090	25.01 \pm 5.13
Case 11	PDC	65	M	13	Stage IV	070	12.25 \pm 1.34

MCI = Mild cognitive impairment

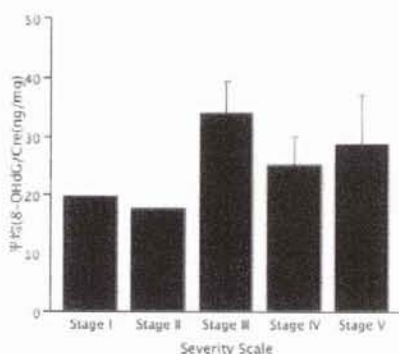
Table

A



図A 正常対照と紀伊 ALS/PDC における尿中 8-OHdG/Cre 比

B



図B 紀伊 ALS/PDC の病期ごとの 8-OHdG/Cre 比

D. 考察

今回の検討から、酸化ストレスが紀伊 ALS/PDC の病態に関与しているものと推察できた。尿中 8-OHdG/Cre 比は、病期の進行とともに上昇する傾向があったことから、主に中期以降の病勢進行に関与している可能性がある。酸化ストレスが病態進行に及ぼす機序は不明だが、尿中 8-OHdG/Cre 比が MMSE と相関しなかったことから、8-OHdG は脳からの由来ではないと考えられた。ミトコンドリアは、酸化ストレスの主要な産生部位であり、パーキンソン病やハンチントン病、糖尿病といった疾患で全身的なミトコンドリア機能障害が推定されていることから、紀伊 ALS/PDC においても 8-OHdG の上昇は、脳や血小板、筋肉といった全身性のミトコンドリア機能障害を反映している可能性がある。

E. 結論

紀伊 ALS/PDC の病態には、酸化ストレスが関与している。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Morimoto S, Kuzuhara S, Kokubo Y. Increased oxidative stress in patients with amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex in the Kii peninsula, Japan. *Mov Disord.* 2008, in press.

2. 学会発表

Y, Kokubo, S Morimoto, S. Kuzuhara. Increased oxidative stress in patients with amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex in the Kii peninsula, Japan. 第2回 Movement disease society, Japan.

H. 知的所有権の取得状況（予定を含む）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

紀伊半島 Amyotrophic Lateral Sclerosis /Parkinsonism-dementia complex (ALS/PDC)の候補遺伝子解析

富山弘幸¹⁾, 小久保康昌²⁾, 佐々木良元²⁾, 李元哲¹⁾, 今道洋子¹⁾, 船山学³⁾, 水野美邦³⁾, 服部信孝¹⁾,
葛原茂樹⁴⁾

順天堂大学脳神経内科¹⁾, 三重大学神経内科²⁾,
順天堂大学老人性疾患・病態治療研究センター³⁾,
国立精神・神経センター病院⁴⁾

研究分担者：小久保康昌（三重大学神経内科）

研究要旨

紀伊半島の Amyotrophic Lateral Sclerosis /Parkinsonism-dementia complex (ALS/PDC)の遺伝的背景を明らかにする目的で、病理診断された3例の紀伊半島 ALS/PDC患者を対象とし、ALS/frontotemporal lobar degeneration (FTLD)関連遺伝子、タウオパチー関連遺伝子、パーキンソニズム関連遺伝子の、計19の候補遺伝子解析を行った。本候補遺伝子解析で病的変異は特定できなかったものの、紀伊半島 ALS/PDCの発症には、未知の遺伝的因子が関わっている可能性が高いと考えられ、今後のより大規模な多型解析や連鎖解析の成果が期待される。

A.研究目的

紀伊半島の Amyotrophic Lateral Sclerosis /
Parkinsonism-dementia complex (ALS/PDC)の遺伝的
背景を明らかにする。

B.研究方法

病理診断された3例の紀伊半島 ALS/PDC患者に
おいて遺伝子解析を行った。以前解析した *MAPT*
や *SOD1*の他に、直接塩基配列決定法で
amyotrophic lateral sclerosis (ALS) /
frontotemporal lobar degeneration (FTLD)関連遺
伝子(*SOD2*, *SOD3*, *ALS2/alsin*, *SMN1*, *PGRN*,
ANG, *VEGF*, *VCP*, *VAPB*, *DCTN1*, *CHMP2B*,
TARDBP/TDP-43)、タウオパチー関連遺伝子
(*GSK3β*)、パーキンソニズム関連遺伝子

(*alpha-synuclein*, *LRRK2*, *parkin*, *DJ-1*, *PINK1*,
ATP13A2)のさらに計19の候補遺伝子解析を行っ
た。

MAPT, *alpha-synuclein*, *TDP-43/TARDBP*,
GSK3β, *parkin*の欠損や重複の有無についても
TaqMan法を用いて解析した。

本研究は、三重大学、順天堂大学の倫理委員会
の承認に基づき行った。

C.研究結果

これら19候補遺伝子には病的変異は認めなかつ
た。3例ともホモの *ALS2/alsin* V368Mを持ってい
たが、正常者もほとんど持っている SNPであり疾
患に関係はないと考えられた。*MAPT*,
alpha-synuclein, *TDP-43*, *GSK3β*, *parkin*にエクソ

ンの欠損や重複を認めなかった。

D. 考察

本解析および以前の *MAPT* や *SOD1* 解析の結果により、ALS, FTLD, パーキンソニズム, シヌクレイノパチー, TDP-43 プロテイノパチー, タウオパチーの原因および感受性遺伝子のエクソン, エクソンイントロン境界に病的変異はなく, いくつかの候補遺伝子のエクソンの欠損や重複もないことが明らかになった。しかしながら, 発症者の家系内集積が強いこと, これまで環境因子として確立したものはないことから, 紀伊半島の ALS/PDC には未知の遺伝的因子が強く発症に関わっている可能性が考えられた。

E. 結論

本候補遺伝子解析では特定できなかったものの, 紀伊半島 ALS/PDC の発症には, 未知の遺伝的因子が関わっている可能性が高い。ALS/PDC の研究が孤発性 ALS, TDP-43 プロテイノパチー, タウオパチー, シヌクレイノパチーの病態解明に大きな役割を果たす可能性があり, グアム島やバプアニューギニアにみられる ALS/PDC ともあわせ, 今後のより大規模な多型解析や連鎖解析の成果が期待される。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Tomiya H, Kokubo Y, Sasaki R, Li Y, Imamichi Y, Funayama M, Mizuno Y, Hattori N, Kuzuhara S.
Mutation analyses in amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex of the Kii peninsula, Japan.
Mov disord 23;2344-2348, 2008.

2. 学会発表

特になし

H. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

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

High-Resolution Melting Analysis を用いた

Sporadic ALS の *SOD1* 遺伝子解析

報告者氏名 河又千鶴, 森田光哉, 中野今治
自治医科大学 神経内科

研究要旨

High Resolution Melting (HRM) Analysis を用いて筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の原因遺伝子の一つである Cu/Zn Superoxide Dismutase (*SOD1*) 遺伝子の解析を行った。既知の *SOD1* 遺伝子変異 19 種類において HRM 法を施行し 18 種類にて変異を検出し、感度は 94.7% であった。また、Sporadic ALS (SALS) 184 症例において HRM 法を施行し、3 症例において新しい *SOD1* 遺伝子変異を検出した。当院における SALS 遺伝子変異の頻度は 1.63% であり、既存の報告と類似した結果であった。

A. 研究目的

SOD1 は家族性 ALS の原因遺伝子の一つとされているが、孤発性 ALS (SALS) の数パーセントにも変異を認める事が知られている。今回我々は、HRM 法を用いて SALS の *SOD1* 遺伝子解析を行った。

B. 研究方法

1. *SOD1* 遺伝子における HRM 法の感度測定

既知の遺伝子変異 19 種類 (表 1) において HRM 法を施行し、HRM 法の *SOD1* 遺伝子における感度を測定した。

表 1. 検査した既知の遺伝子変異 19 種類

Exon 1	A4V, L8Q, V14G
Exon 2	A42H
Exon 3	D76Y
Exon 4	N86S, A89V, D90S, D101G, S105I, G114A, R115G
Exon 5	L126delTT, G127X, A140A, L144F, L144F type2, L144FVX

(アンダーラインは変異が検出できなかったもの)

2. SALS 184 症例における *SOD1* 遺伝子解析

明らかな家族歴を認めない ALS 184 症例において HRM 解析を行い、SALS における *SOD1* 遺伝子変異の頻度およびその特徴を調べた。

<対象> 検査の同意が得られ、明らかな家族歴を認めず、改訂 El Escorial criteria にて suspected ~

definite ALS と分類された 184 症例において HRM 解析を行った。男女比は男性が 59.2% と多かった。

<方法>

- ① DNA の抽出: 患者さんの同意を得た上で採血を行い、リンパ球から DNA を抽出。
- ② Primer の設計: *SOD1* 遺伝子 Exon1~5 において primer を設計。
- ③ PCR: 通常の PCR 反応液に蛍光色素 LC Green を加えて PCR を施行。
- ④ HRM 解析: PCR 反応後に測定機器にて melting curve を解析。
- ⑤ 塩基配列の確認: 変異が疑われる症例において塩基配列を確認。

C. 研究結果

1. *SOD1* 遺伝子における HRM 法の感度測定

HRM 法にて既知の遺伝子変異 19 種類のうち 18 種類で変異を検出することが可能であり、*SOD1* 遺伝子における HRM 法の感度は 94.7% であった。

2. SALS 184 症例における *SOD1* 遺伝子解析

184 症例のうち 3 症例において *SOD1* 変異を認めた。当院における SALS の *SOD1* 遺伝子変異の確率は 1.63% であった。この 3 つの変異はいずれも新しい変異で point mutation であり、Exon1 に 2 つ (Cys6Tyr, Gln22His)、Exon5 に 1 つ (Ser134Thr) 認めた。これらの melting curve と塩基配列を図 1 に示す (図 1)。

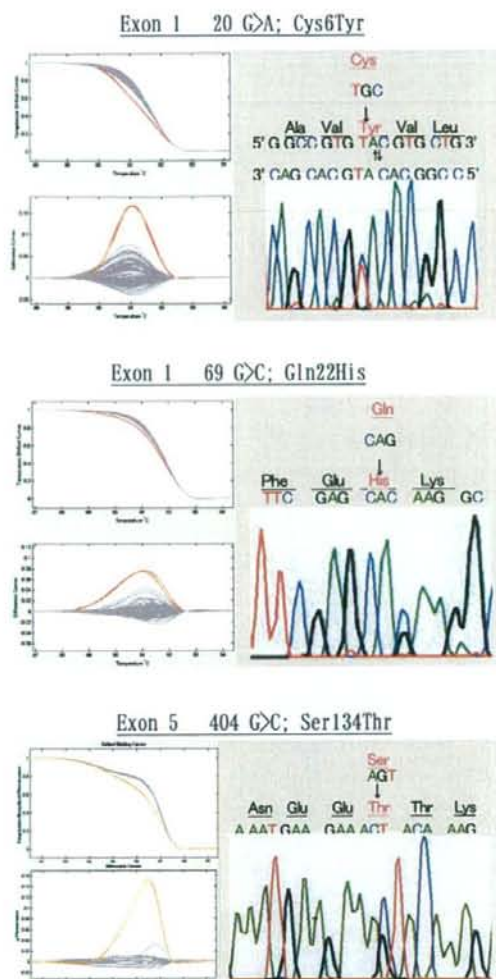


図1. 3種類の遺伝子変異のmelting curveと塩基配列

Cys6Tyrの症例は、34歳時右下肢のspasticityで発症した女性の症例。下位運動神経症状中心の比較的急速な進行を認め、発症3年目に球症状が出現し診断が確定した。呼吸不全にて全経過3年で死亡となった。

Gln22Hisの症例は、48歳時左下肢の筋力低下で発症した男性の症例。筋力低下および嚥下・呼吸障害が緩徐に進行し、発症8年目に侵襲的人工呼吸器装着となり、発症13年目までは生存が確認されている。

Ser134Thrの症例は、62歳時両下肢の筋力低下で発症した男性の症例。下位運動神経症状中心の緩徐な進行を認め、発症8年目に呼吸障害が出現し診断が確定

表2. 3つの遺伝子変異とその特徴

遺伝子変異	蛋白変異	発症年齢	性別	初発症状	主たる症状	経過
20 G>A	Cys6Tyr	34	女	右下肢spasticity	下位運動神経症状	呼吸不全で発症3年目に死亡
69 G>C	Gln22His	48	男	左下肢筋力低下	上下位運動神経症状	発症8年目に人工呼吸器装着
404 G>C	Ser134Thr	62	男	両下肢筋力低下	下位運動神経症状	呼吸不全で発症9年目に死亡

した。呼吸不全にて発症9年目に死亡となった。

これら3症例はいずれも発症年齢や症状、経過が異なっていた。表2に3症例の臨床特徴のまとめを示した(表2)。

D. 考察

SOD1遺伝子変異はFALSの原因遺伝子の一つとされているが、少数のSALSにおいても異常が報告されている。SALSの病因は未だ不明であるが、SOD1などの遺伝子解析を進めることによってALSの発症原因における遺伝的背景を明らかにすることができると思われる。

E. 結論

SOD1遺伝子におけるHRM法の感度は94.7%であった。HRM法はSOD1遺伝子スクリーニングにおいて簡便に行え、有効な手段と思われた。

SALS184症例のうち3症例においてSOD1遺伝子変異を認めた。当院におけるSALSのSOD1遺伝子変異の確率は1.63%であった。これら3症例は新しい変異で、発症年齢や症状、経過が異なっていた。今後さらに解析数を増やし、SOD1遺伝子変異をもつSALSの特徴や変異部位・種類と臨床経過の関係などについて解析していく予定である。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

- 論文発表: なし
- 学会発表: Kawamata-Akimoto C, Morita M, Nakano I: High Resolution Melting (HRM) Analysis for Mutation Screening of the Cu/Zn Superoxide Dismutase (SOD1) Gene. 19th International Symposium on ALS/MND. Birmingham, 3-5 November 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

筋萎縮性側索硬化症の高次脳機能スクリーニング

分担研究者 佐々木秀直¹⁾

研究協力者 秋本幸子¹⁾、濱田晋輔²⁾、大槻美佳³⁾、田村 至³⁾、矢部一郎¹⁾、濱田 毅²⁾

所属施設 ¹⁾北海道大学大学院医学研究科神経内科学分野

²⁾北祐会神経内科病院

³⁾北海道医療大学心理科学部言語聴覚療法学科

研究要旨

【目的】認知症のない筋萎縮性側索硬化症（ALS）で書字を中心とした高次脳機能障害の有無を明らかにする。【方法】北海道大学病院及び北祐会神経内科病院の倫理委員会の承認を得て、以下に適合する患者と、年齢・学歴をマッチさせたコントロール群を対象とした。患者群：前述の二施設において平成20年4月以降通院中の孤発性ALS。但し、認知症や呼吸器症状が明らかな症例は除外した。コントロール群：50-70歳代で神経疾患の既往のない男女。検査項目は前頭葉機能と失語症、書字検査のスクリーニングを念頭に、日常診療で簡便に行えるものを中心に選定した。【結果】数字の順唱、逆唱、文理解、漢字書き取りなどでALS群は有意に障害が見られ、特に絵画配列、課題作文の誤記率で障害が顕著だった。【結論】ALS患者では認知症が無くても高次脳機能の障害を来すことがあり、脱字や錯書はALSの症状のひとつである可能性が示された。

A. 研究目的

球症状が強く言語機能が障害された筋萎縮性側索硬化症（ALS）患者では筆談によるコミュニケーションになると、認知症はないにも関わらず誤字・脱字や文法的な間違いの多い文を書く患者を経験することがある。また、total locked-in state ではないにもかかわらず、文字盤や意思伝達装置ができない患者は少なからず存在し、長期療養中に意思伝達が困難となることは、QOLに直結する重要な問題である。そこで、認知症のないALS患者において、主に書字を中心とした高次脳機能のスクリーニングを行い、書字における様々な問題点を明らかにするとともに、日常診療で利用可能な簡便なスクリーニング方法について検討した。

B. 研究方法

北海道大学病院、北祐会神経内科病院の倫理委員会の承認を得て、次に述べるスクリーニング検査を行った。

検査対象 患者群：平成20年4月以降に両院へ通院した孤発性ALS。但し呼吸機能障害、明らかな認知症、レーブン色彩マトリックス試験（RCPM）で年齢平均 $\pm 2sd$ 以下の患者を除外した。コントロール群：50-70歳代の男女で神経疾患の既往歴のない健常ボランティア。患者・コントロール群の比較は表1に示すが、年齢、教育歴、RCPMの点数に両者の間に差は見られず、適切なコントロール群が選択されたと判断した。ALS群は平均罹病期間 19.4 ± 7.0 ヵ月、脳幹発症10名、頸髄発症6名、腰仙髄発症1名、多領域発症が1名であった。

表1

	ALS	コントロール	P値
人数	18	16	
男:女	9:9	5:11	
年齢(平均±SD)	65.4±11.5	64.5±8.4	0.8007
教育歴(平均±SD)	10.8±2.5	12.0±4.1	0.1279
レーブン色彩マトリックス(RCPM)	28.8±5.5	31.1±4.1	0.1741

検査項目 検査項目は結果とともに表2に示す。検査項目の選定に当たっては、主に前頭葉機能と書字を中心に観察する内容とし、外来でも簡単に検査可能な項目を組み合わせ、60～90分程度で終了することを目安とした。書字における誤りを数量的に評価するため、Western Aphasia Battery (WAB) VIB で用いられるピクニックの絵と Wechsler Adult Intelligence Scale (WAIS)・R で用いられる絵画配列の3種類の図を説明する4つの作文を課し、誤字・脱字・文法的誤りなどの個数(総誤記数)を総語数で除した誤記率を算出した。

統計解析 患者群とコントロール群の比較は、カレイダグラフ 4.0*を用いて有意水準 5%

で統計解析を行った。両者が等分散と見なされる場合は Student の t 検定を、非等分散と見なされる場合は Wilcoxon-Mann-Whitney 検定を行った。各バッテリー間の相関係数は Pearson の相関係数を算出して検討した。

C. 研究結果

各検査項目の平均点を表2に示す。ALS 群ではコントロール群に較べ順唱、逆唱、Trail Making Test B (TMT-B)、定速聴覚的連続加算試験 (PASAT) 2 秒版、文理解 (WAB II C)、小学校3年生以下の漢字の書き取りで有意に低得点であった。3種類の絵画配列(3点満点、患者群平均 1.75 点、コントロール群 2.88 点、 $p=0.0094$)と課題作文における誤記率(患者群平均 13.5%、コントロール群 2.87%、 $p=0.0002$)は特に強い有意差を示した。TMT-B に関しては手の機能障害により書くのに時間を要する患者がいるため、TMT-B と TMT-A の時間差で補正して評価したところ有意差はなくなった。

課題作文の誤記は、患者群では脱字が共通して多くなっている傾向がみられた(図1)。脱字を語数で単純に除した脱字率はコントロール群でも 0.56%程度みられたが、患者群では 3.98%と多く($p=0.0501$)、患者群では特に2文字以上が同時に脱落する例が複数の患者で見られた。その他、患者群で見られた誤りとして、音韻性錯書(例:ジュース→ズーウス、いぬ→いむ)、文字の順序の入れ替わり(例:ギター→ぎータ)、漢字の用法間違い(拾う→広う)、不完全なひらかな(図1)、非実在文字(図2)、濁点の間違い(例:ドライブ→とらいふ、ーしている→ー

表2

	ALS	CONTROL	P値
*順唱	6.89	8.93	0.0183
*逆唱	5.61	7.67	0.0151
TMT B/A	2.91	3.01	0.8845
TMT B-A	110.3	80.3	0.2582
RCPM	28.8	31.1	0.1741
FAB-4	2.39	2.94	0.0624
FAB-5	1.72	1.94	0.6346
PASAT 3s	29.5	38.6	0.1329
*PASAT 2s	22.5	32.2	0.0263
*絵画配列	1.75	2.88	0.0094
頭頂葉4課題	3.71	3.81	0.6450
物品呼称	11.9	12.0	0.3332
単語理解	12	12	—
*文理解 (WABII-C)	72	77.6	0.0157
復唱 (WABIII)	91.5	99.5	0.1692
かな書取	44.5	46.8	0.1395
*漢字書取	36.5	46.5	0.0219
*総誤記率	13.5	2.87	0.0002

している)などがみられた。また、文法的にも、主語の脱落、述語の脱落、主語・述語対応の不一致、助詞の間違いなどのため意味が取れない文や、文の終了が不明瞭でただらだと一文で書き続けるなどの特徴もみられた。

各検査バッテリー間での相関を Pearson の相関係数を算出して検討したところ、誤記率と強い相関を示す項目は TMT-B(相関係数 0.735)、絵画配列 (-0.765)、漢字書き取り (-0.765)、かな書き取り (-0.873)、課題作文の総語数 (-0.716)であった。ALS-FRS-R とは全く相関せず (-0.193)、罹病期間 (0.573)、RCPM (-0.418) とは相関はみられたが、強い相関ではなかった。

図 1: 患者作文の例

おじさんまが本おみとしぐ

患者は、「おじさん(が)ま(ん)が本をおとし(た)が…」と書いたつもりである。最初の‘お’が不完全、脱字三カ所、助詞の‘を’の書き誤りなどがみられる。

図 2: 非實在文字の例

皆→  遊→ 

D. 考察

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) では前頭側頭型認知症 (FTLD) を合併しやすいのは既に広く知られているが、その合併率は 70 年代には 2-3%と言われていたのに比べ、2000 年以降に

相次いだ報告では 6-52%と飛躍的に多くなっている。1999 年に FTLD の診断基準が発表され比較的軽症な例でも診断可能となったことが大きいと思われるが、一方で、認知症と認定されない患者においても、言語や遂行機能などにおいて軽度の障害が見られることが複数の施設から報告されている。Ichikawa らは認知症を伴う ALS の高次脳機能障害の中核症状として錯書を挙げている。今回の我々の検討では、非認知症の患者でも程度の差はあれ健常コントロールに比べ有意に書字による言語機能の障害が検出された。特に脱字や音韻性錯書などの単語レベルの障害と、使役動詞や受動態などで主語と述語の不对応であるなどの文法的な誤りが特徴的であった。また、患者群で主語を省略する傾向は見られたものの、主語のない文章はコントロール群でもしばしば見られており、日本語の話し言葉特有の問題とも考えられ、正誤の評価が困難であった。そのため、今回は意味がとれても主語がない場合誤記 1 ポイントとして計算し、同一主語が続く場合には最初の一のみをポイントの対象とした。誤記率の評価細目についてはその再現性と信頼性が重要と考えられ、必要に応じ今後も改良するべきであると考えている。

ALS では上肢障害や構音障害のために、スピードを求められる検査方法は正確な評価には向かない。そのため、検査項目の選択や評価には注意が必要である。今回、PASAT2 秒版は ALS 群で有意に低得点であったものの、3 秒版では有意差はなく、構音障害のため答えの数字を発音するのに時間を要する患者も少なくなかったことから、単純にこれらの検査の表す注意力や作業記憶の障害とは断定できないと考えられた。

今回の検討で、脱字や錯書、文法の障害が ALS に比較的よく随伴する症状である可能性が示唆された。一方で ALS-FRS-R 23 点で今回検査した全患者中最重症の患者は、誤記率は 1.9%で最も低く、他の認知機能の障害もみられ

ず、認知機能は ALS の重症度と必ずしも相関しない可能性がある。高次脳機能障害は ALS の病態・病因の多様性を考える上で重要なポイントとなる可能性があり、認知症のない患者においてもスクリーニングを行うことは病態の解明においても重要であると考えられた。

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

E. 結論

ALS では非認知症患者でも高次脳機能障害を呈することがあり、書字の障害は ALS に見られる大脳皮質症状のひとつである可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表 Maita C, Tsuji S, Yabe I, et al: Secretion of DJ-1 into the serum of patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2008; 431(1):86-89

2. 学会発表

1) 田代 淳, 矢部一郎, 佐々木秀直ら: パーキンソン病(PD)および類縁疾患の MIBG 心筋シンチグラフィ. 第49回日本神経学会総会, 横浜, 2008

2) 辻 幸子, 矢部一郎, 菊地誠志ら: 筋萎縮性側索硬化症患者における髄液シスタチンCの検討. 第49回日本神経学会総会, 横浜, 2008

3) 大槻美佳, 中川賀嗣, 緒方昭彦ら: Slowly progressive Foix-Chavany-Marie syndrome と進行性非流暢性失語の症候. 第32回日本神経心理学会総会, 東京, 2008

4) Otsuki M, Nakagawa Y, Ogata A, et al: Slowly progressive Foix-Chavany-Marie syndrome. 18th Meeting of the European Neurological Society, Nice, France, 2008

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし

大脳皮質変性を伴う神経疾患の臨床像と¹¹C-フルマゼニル(FMZ)-PET 所見 ～特にALSについて～

報告者氏名：佐々木秀直¹⁾

矢部一郎¹⁾，秋本幸子¹⁾，濱田晋輔¹⁾，大槻美佳²⁾，
志賀 哲³⁾，玉木長良³⁾

¹⁾北海道大学大学院医学研究科神経内科学分野，²⁾北海道医療大学心理科学部

³⁾北海道大学大学院医学研究科核医学分野

研究要旨：大脳皮質変性を伴う神経疾患の臨床像は多様であるが、皮質障害部位を客観的に評価できる手法が少ないこともあり、まだ十分に検討されていない。そこで我々は¹¹C-フルマゼニル(FMZ)-PETを用い、筋萎縮性側索硬化症(ALS)患者の臨床症状と大脳皮質病変の相関について検討を行った。その結果、ALS全例で側頭葉内側のベンゾジアゼピン(BZ)受容体結合能低下を認めた。偽性球麻痺群では左下前頭回弁蓋部に、上位運動ニューロン障害優位群では中心前回中下部にBZ受容体結合能低下傾向を認めた。これらの結果は、BZ受容体結合能の低下が神経症状に対応していることと、偽性球麻痺を伴うALSでは弁蓋部障害を伴う可能性を示唆していると考えられた。書字障害群においては、前部帯状回におけるBZ受容体結合能と書字施行時の誤記率が有意に関連していた。この結果は、前部帯状回が正確に書字を遂行するための神経回路の一部を担っている可能性を示唆している。

A. 研究目的と背景

背景；大脳皮質変性を伴う神経疾患の臨床像は多様である。例えば前頭側頭葉変性症においては、神経病理学的にタウ陽性封入体を伴う大脳皮質基底核変性症や進行性核上性麻痺などの病型がある一方、ユビキチン陽性封入体を伴う前頭側頭型認知症や運動ニューロン疾患などの病型をも呈する。また、筋萎縮性側索硬化症(ALS)の構音障害のうち、偽性球麻痺を伴う患者の中で非流暢性失語との鑑

別を要する患者が存在することが指摘されている。これら疾患の臨床所見とそれに対応する大脳皮質障害部位については、皮質障害部位を客観的に評価できる手法が少ないこともあり、まだ十分に検討されていない。

そこで我々は、ALSの高次脳機能を含む神経学的診察と¹¹C-フルマゼニル(FMZ)-PETを行うことにより、神経所見に対応する大脳皮質障害部位を明らかにすることができないかと考えた。

目的；ALS患者における大脳皮質病変を¹¹C-FMZ-PETにて検討する。

B. 研究方法および対象

フルマゼニルはベンゾジアゼピン(BZ)受容体と結合する競合的薬剤として市販されており、¹¹C標識フルマゼニルを用いることで、大脳皮質神経細胞の密度を明らかにすること、即ち神経細胞変性脱落の有無を評価することが可能である。PETはSiemens EXACT HR+を用い¹¹Cフルマゼニル 370MBqを静注後、60分間ダイナミック収集し、結合能をreference tissue methodで算出した。

対象はALS 12例(偽性球麻痺 5例、上位運動ニューロン障害優位型 7例、認知症(レーブン色彩マトリックステスト±2SD以下) 1例)である。

評価項目は、偽性球麻痺の有無、上位運動ニューロン障害の優位性、復唱の流暢性(WAB III)、絵画配列の正確性(WAISR-IV)、書字の誤記率(WABVI-Bの絵画を見せて、その説明を書いて頂き、その文章より算定)とした。まず、各項目を正常群と異常群の二群に分類し、SPM2を用い比較検討することにより統計的に有意に障害されている大脳皮質領域を検討した。次いで、統計的に有意に障害されている大脳皮質領域のBZ受容体結合能(BP)と該当神経症状の重症度との相関につき検討した。

(倫理面での配慮)

本研究については、北海道大学医学研究科医の倫理委員会の承認を得た。対象者には研

究の趣旨を文書で説明し、文書にて同意を得た。

C. 研究結果

ALSにおいては、全例で側頭葉内側のBPが低下していた。偽性球麻痺群では左下前頭回弁蓋部にBP低下を認めた($p = 0.003$ uncorrected)。また、上位運動ニューロン障害優位群では中心前回中下部にBP低下を認めた($p = 0.014$ uncorrected)。復唱の流暢性や絵画配列の正確性が障害された群では、前頭葉皮質にびまん性にBP低下領域を認めた($p < 0.05$ uncorrected)。しかし、これらにおいては $p < 0.05$ correctedと統計学的条件を厳格に設定することにより、統計学的有意性は消失した。

しかしながら、書字障害群においては、前部帯状回が統計的に有意に障害されていた($p < 0.01$ corrected；図1)。同部位のBP結合能と書字施行時の誤記率は有意に逆相関していた($p = 0.002$ $r = -0.852$ ；図2)。

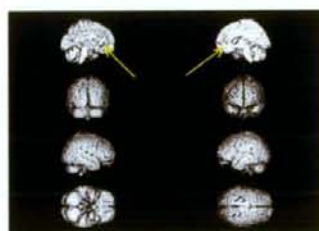


図1；前部帯状回のBP結合能が書字障害群で有意に低下している(矢印； $p < 0.01$ corrected)。

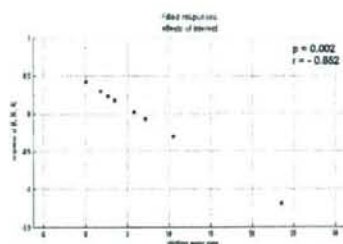


図2；前部帯状回のBP結合能は書字の誤記率と有意に逆相関している（ $p = 0.002$ $r = -0.852$ ）。

D. 考察

ALS 全例で¹¹C-FMZ-PETにて、側頭葉内側病変が存在した。これについては、今後更に多数例での検討が必要である。また、偽性球麻痺群では左下前頭回弁蓋部に、上位運動ニューロン障害優位群では中心前回中下部にBP低下傾向を認めた。これらの結果は、BP低下が臨床症状に対応していることと、偽性球麻痺を伴うALSでは弁蓋部障害を伴う可能性を示唆していると考えられた。

前部帯状回(ACC; Brodmann area 24)のBP低下と書字障害の重症度は統計学的に有意に相関していた。ACCは病理学的も機能画像的にもALSで障害を認める領域であることは既に報告されている。また、この領域の障害によりapathyやakinetismutismを発症することが知られている。ALSの中には、進行期にapathyを伴う例も報告されており、この領域がALSの臨床病態に深く関与している可能性がある。現時点で、書字障害とACC障害が関連する機序については不明であり、今後の検討課題である。

E. 結論

1. ALS全例で、側頭葉内側にBZ結合能の低下を認めた。
2. 前部帯状回は正確な書字の遂行に関与していると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Maita C, Tsuji S, Yabe I, et al: Secretion of DJ-1 into the serum of patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2008; 431(1):86-89

2. 学会発表

- 2) 田代 淳、矢部一郎、佐々木秀直ら：パーキンソン病(PD)および類縁疾患のMIBG心筋シンチグラフィ。第49回日本神経学会総会、横浜、2008
- 3) 辻 幸子、矢部一郎、菊地誠志ら：筋萎縮性側索硬化症患者における髄液シスタチンCの検討。第49回日本神経学会総会、横浜、2008
- 4) 大槻美佳、中川賀嗣、緒方昭彦ら：Slowly progressive Foix-Chavany-Marie syndromeと進行性非流暢性失語の症候。第32回日本神経心理学会総会、東京、2008
- 5) Otsuki M, Nakagawa Y, Ogata A, et al: Slowly progressive Foix-Chavany-Marie syndrome. 18th Meeting of the European Neurological Society, Nice, France, 2008

G. 知的財産の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

軸索イオンチャネルからみた筋萎縮性側索硬化症の病態

桑原 聡、金井数明、澤井 摂、三澤園子、磯瀬沙希里、澁谷和幹

千葉大学大学院医学研究院神経内科

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）では短母指外転筋（APB）と第一背側骨間筋（FDI）が小指外転筋（ADM）に較べて強く萎縮する。各筋を支配する運動軸索の特性の検討から APB/FDI 支配軸索は ADM 軸索より持続性 Na 電流が高く、K 電流は低下していた。これらの軸索イオン電流の変化は ALS において示されている所見と合致するものであった。以上の結果から ALS では生理的に興奮性が高い軸索を有する運動ニューロンが優位に障害されることが示された。Na、K チャネル作動薬は ALS に対する新規治療オプションとなり得るものと思われる。

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症（ALS）では短母指外転筋（APB）と第一背側骨間筋（FDI）が小指外転筋（ADM）に較べて強く萎縮することが知られており「split hand」と呼ばれている。今回、ALS 患者においてこの解離性小手筋萎縮を複合筋活動電位振幅により定量化してその頻度と特異性を明らかにする。また ALS における軸索イオンチャネルの異常として持続性 Na 電流の増大と K 電流の低下が示されており、各筋支配の軸索特性を比較検討することにより ALS における軸索イオンチャネルの病態について解離性小手筋の観点から検証する。

B. 研究方法

1. ALS 患者 77 名、正常対照 171 名、疾患対照 196 名において APB、FDI、ADM の複合筋活動電位（CMAP）を記録し、振幅を比較した。
2. 正常者 12 名において APB、FDI、ADM 支配の運動軸索機能について持続性 Na 電流を反映する強さ・時間曲線時定数と latent addition、K 電流を反映する threshold electrotonus と supernormality を測定した。

倫理面への配慮：学内倫理委員会の承認およびインフォームドコンセントを得て行われた。検査時間は 30 分以内とし、神経刺激に用いる電流強度は最小となるよう配慮を行った。実際に各種電気刺激に対し痛みを訴えた患者はいなかった。

C. 研究結果

結果 1. ALS では正常対照と比較し、明らかに APB/ADM の CMAP 振幅比、FDI/ADM の CMAP 振幅比は低下していた ($p < 0.01$)。APB/ADM の CMAP 振幅比が 0.6 未満であったのは、ALS では 41%に認められたが、正常対照では 5%、疾患対照では 4%のみであった。すなわち、設定した正常値を越える解離性筋萎縮は ALS 患者のほぼ 40%に認められ、また ALS に特異的であった。

結果 2. 正常人の強さ・時間曲線時定数は延長しており、持続性 Na 電流が増加していることが示唆された。また APB、FDI 支配運動軸索は ADM と比較して脱分極性条件刺激を行った際の閾値電流の変化が大きく、K 電流による代償が十分作用していないことが示された。

D. 考察

正常人の APB、FDI 支配運動軸索は ADM と比較