

12月17日(金)

9:50 研究代表者挨拶

9:55 厚生労働省疾病対策課御挨拶

時間	番号	演題名	演者・研究分担者 研究協力者
	A1		座長:梶 龍児
10:00	1	日本における脊髄性筋萎縮症の臨床遺伝学的調査(データベースの作成)	伊藤 万由里・斎藤 加代子
10:15	2	新しい表面筋電図解析法、Clustering Index (CI)法による、球脊髄性筋萎縮症の下位運動ニューロン障害の評価	東原 真奈・園生 雅弘
10:30	3	軸索イオンチャネルからみたALSの病態:免疫組織学的検討	澁谷 和幹・桑原 聡
10:45	4	運動神経軸索膜の興奮特性変化はALSにおける独立した予後規定因子である	金井 数明・桑原 聡
	A2		座長:中島 健二
11:00	5	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バイオマーカーの検討 - 脳脊髄液中リン酸化タウの解析 -	小久保 康昌・小久保 康昌
11:15	6	紀伊半島ALS症例の神経原線維変化の分布	葛原 茂樹・葛原 茂樹
11:30	7	筋萎縮性側索硬化症における残存筋肉量の指標としての血清クレアチニン/血清シスタチンC比	手塚 修一・中野 今治
11:45	8	ALS患者の縦断像(JaCALSからの解析)	熱田 直樹・祖父 江元

事務連絡・昼食(12:00~13:00)

	A3		座長:祖父江 元
13:00	9	FUS/TLS遺伝子異常に伴う日本人家族性ALSにおける 遺伝子変異と臨床型、病理に関する検討	鈴木 直輝・青木 正志
13:15	10	異なる臨床症状を呈し、新規のTDP-43遺伝子変異を認めた家族性ALSの2割検例	藤田 行雄・岡本 幸市
13:30	11	optineurin 遺伝子変異による筋萎縮性側索硬化症	和泉 唯信・梶 龍児
13:45	12	水疱性類疱疹を合併した筋萎縮性側索硬化症の3例	織田 雅也・梶 龍児
	A4		座長:中川 正法
14:00	13	DJ-1は変異SOD1と相互作用し、神経毒性を軽減する	山下 賢・内野 誠
14:15	14	Derlin-1は変異SOD1の小胞体内蓄積と小胞体ストレスを軽減する	森 麗・内野 誠
14:30	15	孤発性ALS運動ニューロンにおけるADAR2活性とGluR2 RNA編集異常の病因的意義	日出山 拓人・郭 伸
14:45	16	神経変性疾患の遺伝子治療:HDLをベクターとした中枢神経系へのsiRNAデリバリー	宇野 佳孝・水澤 英洋

コーヒーブレイク(15:00~15:15)

	A5		座長:郭 伸
15:15	17	マウス26Sプロテアソーム欠損による神経変性疾患モデルの検討	田代 善崇・高橋 良輔
15:30	18	ALSモデルマウス脊髄血管におけるneurovascular unitの異常	宮崎 一徳・阿部 康二
15:45	19	ALS-FUSモデルショウジョウバエの作成	徳田 隆彦・中川 正法
16:00	20	SOD1変異ALSマウス脊髄不溶性分画における2次元電気泳動プロテオミクス解析	渡辺 保裕・中島 健二
	A6		座長:水澤 英洋
16:15	21	UHDRSの信頼性検定	長谷川 一子・長谷川 一子
16:30	22	有棘赤血球舞踏病の総合的分子診断	中村 雅之・佐野 輝
16:45	23	脊髄空洞症の第二次全国調査	佐久嶋 研・佐々木 秀直
17:00	24	パーキンソン病における口腔内疼痛	山本 光利・山本 光利

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調査研究班 平成22年度班会議 プログラム (敬称略)

12月18日(土)

時間	番号	演題名	演者・研究分担者 研究協力者
	B1		座長:長谷川一子
9:00	25	鳥取県米子市における進行性核上性麻痺(PSP)の疫学的検討	瀧川 洋史・中島 健二
9:15	26	大脳皮質基底核変性症剖検例における臨床像の解析	龔場 郁子・龔場 郁子
9:30	27	レビー小体病の生命予後に関する検討	横川 ゆき・龔場 郁子
	B2		座長:葛原 茂樹
9:45	28	レビー小体病理は体の中のどこではじまるか?	村山 繁雄・村山 繁雄
10:00	29	非典型的アルツハイマー病あるいは新たなタウオパチーの1型か?:パーキンソニズムと認知症を示した1剖検例	岡崎 健一・高橋 均
10:15	30	前頭側頭葉変性症(FTLD)に属する新規4リピートタウオパチー:3剖検例における臨床病理と生化学所見	付 永娟・高橋 均
10:30	31	TDP-43 proteinopathyと関連するパーキンソン症候群	吉田 真理・吉田 真理
コーヒープレイク(10:45-11:00)			
	B3		座長:高橋 良輔
11:00	32	α -synuclein 3'-flanking SNPはアレレル特異的な転写因子の結合を介してパーキンソン病感受性に影響する	水田 依久子・戸田 達史
11:15	33	若年性パーキンソニズム症例におけるPLA2G6 (PARK14) 変異解析	吉野 浩代・服部 信孝
11:30	34	Parkinノックアウトマウスにおけるインスリン分泌機構の検討:インスリン開口機構から神経変性の発症機序に迫る	江口 博人・服部 信孝
11:45	35	進行性外眼筋麻痺を伴ったパーキンソニズムの遺伝子解析	矢部 一郎・佐々木 秀直
事務連絡・昼食(12:00-13:00)			
	B4		座長:戸田 達史
13:00	36	パーキンソニズム患者の脳脊髄液プロテオーム解析	徳田 隆彦・中川 正法
13:15	37	PARK8 (I2020T) 患者脳脊髄液中ピオブテリン・モノアミン代謝物の測定	一瀬 宏・長谷川 一子
13:30	38	慢性パーキンソン病モデルにおける導入パーキンの機能解析	安田 徹・望月 秀樹
13:45	39	パーキンとパーキン関連蛋白の機能連関	三ツ井 貴夫・梶 龍児
	B5		座長:服部 信孝
14:00	40	国際共同試験における治療環境の検討ー日本と欧米における使用治療薬の比較ー	永井 将弘・野元 正弘
14:15	41	パーキンソン病、薬物の自動車運転に対する影響ードライビング・シミュレーターによる検討ー	野元 正弘・野元 正弘
14:30	42	われわれが開発した経皮的嚥下運動モニタリング装置によるパーキンソン病の嚥下動態の定量的解析	山本 敏之・村田 美穂
コーヒープレイク(14:45-15:00)			
	B6		座長:村山 繁雄
15:00	43	パーキンソン病患者における四肢冷感の原因病態	新藤 和雅・瀧山 嘉久
15:15	44	パーキンソン病の皮膚温の検討、および甘味嗜好と病態に関する検討	高真守 村・近藤 智善 田 顕 也
15:30	45	パーキンソン病治療における八升豆の可能性について	阪田 麻友美・近藤 智善
	B7		座長:近藤 智善
15:45	46	STN-DBS後に生じた言語障害に対するLee Silverman voice treatmentの有有用性	渡辺 宏久・祖父 江 元
16:00	47	側坐核ドバミンとうつ症状	村松 慎一・村松 慎一
16:15	48	Parkinson病治療薬による姿勢異常	藤本 健一・藤本 健一
16:30		研究代表者挨拶	

1演題:発表10分+討論5分(時間厳守をお願いします) * 両日とも昼食をご用意しております

総括研究報告

研究代表者 中野 今治

自治医科大学 内科学講座 神経内科学部門

研究分担者：28 名 研究協力者：5 名 班友：1 名

I. はじめに

「神経変性疾患に関する調査研究班」（変性班）は、厚生労働省による難治性疾患克服研究事業の一端を担っている。変性班が研究を担当する疾患は、運動ニューロン疾患の 4 疾患（筋萎縮性側索硬化症 ALS、球脊髄性筋萎縮症 SBMA、脊髄性筋萎縮症 SMA、原発性側索硬化症 PLS）、パーキンソニズムを呈する 3 疾患（パーキンソン病 PD、進行性核上性麻痺 PSP、大脳皮質基底核変性症 CBD）、舞踏病の 2 疾患（ハンチントン病 HD、有棘赤血球舞踏病 ChA）および脊髄空洞症 SM の 10 疾患である。このうち、医療費が補助される特定疾患治療研究事業対象疾患（公費対象疾患）は、ALS、SBMA、SMA、PD、PSP、CBD、HD の 7 疾患である。SBMA と SMA は 2009 年度に公費対照疾患に指定され、2010 年度から運用が開始された。

II. 研究目標

1. 治療法の開発：当研究班の最終的な目標は当班が取り扱う神経変性疾患の原因療法を確立することである。当班が扱う諸難病の病態解明、それに裏付けられた根治療法の開発こそが当班に期待される目標である。しかしながら、原因遺伝子が同定された疾患に於いてすら、発病に到る機序は未解明であり、それ以外の疾患では原因さえ不明である。このような状況下では、病態機序に基づいた治療法開発のための最も確かな方法は、遠回りには見えても疾患を視野に入れながら地に足の付いた基礎研究を弛むことなく続けることである。一方、現に難病に苦しむ患者を目前にするとき、対症療法の開発・改善や介護者の啓発も疎かにはできない。例えば、PD では薬物療法のみでなく、外科的治療や理学療法などが行われている。有効な薬物療法が見だされていない PSP や CBD では患者・介護者への支援がとりわけ重要である HD では、舞踏運動軽減を目指した治験が本邦でも視野に入っており、評価基準日本語版のバリデーションが終了した。現在、実質的な薬物療法が無い ALS に対しても有望な薬物の治験が計画段階にあり、種々の対症療法の開発あるいは支援体制の強化が進められている。

2. 担当疾患の調査研究：疫学研究は当班の大きな柱の一つである。疫学調査によって得られる種々のデータ（発症年齢、発症様式、進行状況、重症度、経過、予後規定因子）は、疾患の原因・病態の解明に有益であると共に、患者の実態把握、さらには治験薬の効果判定に必須である。また、医療施策を支え、ひいては患者の福祉向上に役立つ資料を提供する。その点に於いて当班班員を主要構成員とする Japanese Consortium of Amyotrophic Lateral Sclerosis (JaCALS)（事務局 名古屋大学医学部神経内科）により行われている、ALS の前向きかつ経時的臨床情報収集と遺伝子試料は、全ての研究者に開かれたデータバンクであり、ユニークな研究試料である。

3. 診断基準、機能評価方法の見直しと確立：当班の対象疾患では、長年の基礎研究の成果として種々の病態仮説が提唱され、それに基づいた治験が実施されてきたし、現在も試みられており、近い将来の治験も計画されている。神経変性疾患の治療においてまず目指すところは病態抑止療法であり、これには効果判定のための精緻な方法の確立が必要である。神経疾患の特性として治療効果の主たる判定指標は運動能力の改善であり、日常生活動作を含めて適切な運動機能評価法の確立が重要である。そのためには、欧米の機能評価方法をそのまま持ち込むことはできず、我が国の生活習慣に適した評価法を確定することが望ましい。また、正確な効果判定の為に、可能な限り均一な対象症例を選択することが望ましく、特に進行の速い ALS では正確な早期診断法の開発が不可欠である。また、運動機能評価の他に客観的な判定に使えるサロゲートマーカーの発見も重要である。当班ではこの方面にも力を入れた。

III. 今年度の研究成果

1. 運動ニューロン疾患関連

1) 基礎

(1) モデル動物

背景：DNA/RNA 結合蛋白と ALS：TDP-43 は DNA/RNA 結合蛋白の一つで、ALS の主として下位運動ニューロンに出現するユビキチン化した封入体（円形封入体と糸束様封入体）の構成蛋白として同定された。2008 年以来、TDP-43 の遺伝子変異を有する ALS 例が相次いで報告されたことから、その代謝異常が ALS の運動ニューロン死の背景にあるものと推測されている。一方、同様に DNA/RNA 結合タンパクである FUS/TLS の遺伝子異常を有する ALS 家系が次々に報告され、DNA/RNA 結合タンパク異常が ALS 病態の背景に共通に存在する可能性が考えられており、これらの蛋白異常に基づくモデルマウス作成と病態研究が進められている。

(a) ALS-FUS モデルショウジョウバエ：ALS-FUS の病態機序解明のために *FUS* のショウジョウバエホモログである *Caz* をノックダウンしたショウジョウバエ系統の樹立が報告された。神経細胞特異的にノックダウンした系では、中枢神経での *Caz* の発現が減少していた。今後は運動神経特異的にノックダウンした系を作成し、運動機能への影響を検索する。本モデルは FUS-ALS の病態解明および治療法確立に資する可能性がある。

(b) ubiquitin-proteasome system(UPS)欠損による ALS モデルマウス：昨年度作成した下位運動ニューロン特異的に 26S proteasome 構成単位の一つである Rpt3 を欠くマウスの解析結果が報告された。このマウスは、握力およびロタロッドでの運動機能が低下しており、神経病理学的には ChAT 陽性ニューロンで Rpt3 発現減少と ubiquitin の蓄積、および TDP-43 と FUS の発現増加が観察された。このマウスは ALS の病態解明および治療法開発のツールになる可能性が有る。

(2) ALS に於ける ADAR2 活性の低下：下位運動ニューロンに於ける AMPA 受容体 GluR2 サブユニット Q/R 部位の編集率低下が選択的運動ニューロン死の要因であることが本研究班で報告されてきた。今年度は、ALS 剖検脊髄の下位運動ニューロンを laser dissector で回収して RNA 編集酵素 ADAR2 の発現量を細胞毎に調べた結果が報告された。それによると、編集型 GluR2 のみを発現していることからこの RNA 編集が正常に行われている運動ニューロンが同定されるが、そのようなニューロンでも ADAR2 発現レベルの低下が認められた。このことから、ALS では ADAR2 の活性低下が潜行して進み、臨界点を越えた時点から GluR2 サブユニット Q/R 部位の編集率低下が出現することが推測された。

2) 臨床

(1) 遺伝子変異

(a) Optineurin 遺伝子 (*OPTN*) 変異家系：開放隅角緑内障の原因遺伝子である *OPTN* は、主として常染色体性劣性遺伝を示す家族性 ALS の原因遺伝子であることが 2010 年に我が国から Nature 誌に報告された。今年度はその内 *OPTN* の Q398X ホモ接合体変異を認めた ALS の 2 例が報告された。その 1 例は球麻痺型、他は下肢発症型であり、同一遺伝子変異を有しながら異なる臨床像を示した。球麻痺型例の剖検検索では、中心前回の高度の萎縮と神経細胞脱落、被殻の高度変性と下位運動ニューロンの脱落が見られた。Bunina 小体は認められなかった。孤発性 ALS とは臨床的には区別できなかったが、病理学的には Bunina 小体が観察されなかった点で異なっていた。また、JaCALS の孤発性 ALS254 例には *OPTN* 変異は無く、孤発性 ALS での変異頻度は低いと考えられた。

(b) FUS/TLS 遺伝子変異を示す ALS 家系：FUS/TLS 変異を有する家族性 ALS の 9 家系（点変異 8 家系：p. K510E、p. S513P、p. R514S、p. H517D、p. H517P、p. R521C、挿入変異 1 家系：c. 1420_1421insGT）が報告された。p. R521C 変異による大家系では、浸透率は 100% と高く、平均発症年齢は 35 歳、平均死亡年齢は 37 歳で進行も急速であった。典型例の剖検では、運動ニューロンの高度の変性に加えて脳幹被蓋の著明な萎縮が認められ、脳幹の神経細胞には FUS/TLS 抗体で染色される好塩基性封入体が観察された。

(c) TDP-43 遺伝子変異を示す ALS 家系：家族性 ALS の 1 家系において TDP-43 遺伝子変異 (A315E) が同定され、そのうち 2 剖検例が報告された。臨床診断は症例 1 では ALS、症例 2 では ALS とパーキンソン病の合併であった。2 例共に脊髄前角細胞の高度減少が見られ、症例 2 では黒質メラニン含有細胞の脱落が観察された。リン酸化 TDP-43 抗体陽性の封入体が脊髄前角細胞、脳幹運動神経核、グリア細胞で見られたが、海馬歯状回顆粒細胞には認められなかった。Bunina 小体は症例 1 で認められた。TDP-43 の同一変異例でも臨床病理像に差が見られることは、病態機序に遺伝子以外の要因が関与している可能性が考えられる。

(2) 電気生理：ALS では尺骨神経支配である小指外転筋よりも正中神経支配である短母指外転筋において強い萎縮が見られる (split hand)。これは、正中神経の軸索興奮性がより増大していることによると考えられており、その背景には Na⁺チャネルを介する Na⁺電流の増大 (脱分極化促進) と K⁺チャネルを介する K⁺電流の低下 (分極化阻害) が予想されている。ALS の剖検脊髄の前根と後根、正中神経において panNa チャネル抗体、Kv1.2 チャネル抗体を用いて蛍光免疫染色を行ったところ、脊髄前根において K⁺チャネルの発現が有意に低下しており、生前軸索興奮性が増大していたことが示された。さらに、この軸索興奮性を示す電気生理学的指標と ALS 患者の予後とを比較したところ、持続性 Na⁺電流と関連する指標と、fast K⁺電流と関連する指標が生存期間と有意に相関していた。また、前者は初期に於いてリスクファクターとなることが示され、各種イオンチャネル modulator による治療介入の可能性が報告された。一方、SBMA において、新しい表面筋電図解析法である clustering index 法を試行したところ、下位運動ニューロン障害の電気生理学的マーカーとして有望であることが示された。

- (3) ALS の縦断像解析：多施設共同 ALS 患者コホートである JaCALS に登録された孤発性 ALS279 例の前向き臨床情報を解析し、臨床経過に影響する因子を探った研究報告がなされた。発症から発語不能、嚥下不能、上肢機能廃絶、呼吸器導入あるいは死亡にいたる期間は発症年齢が高いほど短いことが示され、進行度を示す指標 (%VC、ALSFRS-R) と進行速度の指標 (Δ ALSFRS-R) を組み合わせることで、重大なイベントの出現リスクを評価できることが判明した。
- (4) SMA のデータベース構築：SMA における臨床情報を管理するデータベースの作成が報告された。これに臨床調査個人票の情報を入力・解析することにより小児期発症の SMA I-III 型の臨床実態と成人発症の IV 型の概念が示された。

3) 治療に向けての基礎研究

- (1) Derlin-1 による変異 SOD1 発現細胞での小胞体ストレス軽減：変異 SOD1 と Derlin-1 を培養細胞 (neuro2a) に共発現させると、変異 SOD1 による細胞毒性が Derlin-1 により抑制されることが報告され、Derlin-1 遺伝子導入による治療の可能性が示された。
- (2) siRNA の中枢神経系へのデリバリー： α -Tocopherol (α -Toc) は high density lipoprotein (HDL) によって中枢神経系に輸送される。 α -Toc 結合型 siRNA (Toc-siRNA) を HDL に結合 (Toc-siRNA/HDL) することで、Toc-siRNA が神経細胞 (neuro2a) 内に取り込まれる効率が著しく増大することが報告された。Toc-siRNA/HDL をマウス脳室内に持続投与することにより、標的遺伝子である β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 の発現が mRNA およびタンパク質レベルで特異的かつ広範囲に抑制され、siRNA による神経変性疾患の治療可能性が示された。

2. パーキンソン病 (PD) 関連

1) 基礎

- (1) α -synuclein： α -synuclein (SNCA) は孤発性 PD の感受性遺伝子であることは本学会議で報告されてきた。今年度は、SNCA の SNP が PD の発症に関わる機序が報告された。ルシフェラーゼ、ゲルシフトアッセイにより、SNCA の 3'-flanking 領域の SNP rs356219 がアレール特異的に結合する転写因子を介して SNCA の転写レベルを調節している可能性が示された。
- (2) パーキン：培養細胞系での cell viability はパーキンあるいはパーキンの関連タンパク Klokin 1/ChPF を過剰発現すると増加し、siRNA により発現抑制すると減少することが昨年度報告された。今年度は、この cell viability はパーキン発現を抑制しても Klokin 1 の過剰発現で回復したが、その逆では回復しないことが報告され、Klokin1 はパーキンを介することなく独自の抗アポトーシス作用を有する可能性が示された。また、パーキン KO マウスでは Klokin1 が過剰に発現しており、このマウスがパーキンソニズムを呈さないのはその過剰発現によるものと推測された。一方、パーキン KO マウスで指摘されているドパミンの分泌阻害の機序は不明である。ドパミンとインスリンの放出には共通の機序が推測されており、パーキン KO マウスで膵臓 β 細胞でのインスリン分泌機構を調べることで、神経系に於けるドパミン放出障害機序解明の手がかりが得られる可能性がある。今年度はパーキン KO マウスの初代培養膵臓 β 細胞およびパーキンを KD した PC12 細胞 (正常ではカテコラミン分泌能を有する) を検索したところ、前者ではインスリン分泌能が、後者ではカテコラミン分泌能が低下しており、細胞骨格のリモデリングによる可能性が示された。

2) 臨床

- (1) 遺伝： *PLA2G6* は常染色体性劣性遺伝性パーキンソニズムの原因遺伝子である。今回はパーキンソニズムを呈する本邦 29 家系 30 例において *PLA2G6* の変異解析が行われた結果、3 種の新規点変異 (p. F72L, p. Q452X, p. R635Q) が本邦で初めて同定・報告された。3 例とも L-DOPA 反応性のパーキンソニズムと前頭側頭葉の萎縮および認知症を伴っており、このような臨床特徴を有するパーキンソニズム例では *PLA2G6* 変異解析が必要であることが示された。また、我が国では未報告の chronic progressive external ophthalmoplegia with parkinsonism (CPEO-P) の 2 症例について遺伝子解析がなされ、1 例に於いて *POLG1* の複合ヘテロ変異が認められたことが報告された。
- (2) バイオマーカー：パーキンソニズムを呈する症例の脳脊髄液を magnetic beads/MALDI-TOF mass spectroscopy システム (ClinPlot システム) を用いてプロテオーム解析を行った結果、MSA 群と対照群、PD 群と MSA 群は十分な弁別力を有して分離できることが報告された。
- (3) 臨床像：病理診断された CBD の 4 例の臨床像を解析した結果、その特徴として対軸性固縮、垂直正中視麻痺、前頭葉徴候が抽出され、CBD 特有の大脳皮質症候は見られなかったことが報告された。CBD では PSP や dementia with Lewy body の像を呈する症例が存在し、画像を含めたバイオマーカーの検索が必要であることが示された。
- (4) PD 治療薬による姿勢異常：PD に見られる治療薬誘発性姿勢異常の実態把握のために実施された全国疫学調査の結果が報告された。一次および二次調査の結果、PD 治療薬による姿勢異常を呈したと判断される症例が 135 例集積され、その平均年齢は 67 歳、男女比はほぼ 1 : 2、罹病期間平均は 6.3 年 (1-26 年) であった。姿勢異常のうちわけは、複数の姿勢異常の合併を加えると首下がり 19、猫背 13、腰曲がり 80、側屈 44、背屈 1 例であった。被疑薬はドパミンアゴニスト、中でも pramipexole が最も多かった。
- (5) 非運動症状：PD では四肢末梢の冷感の訴えが多い。PD と健常人において微小神経電図法にて腓骨神経から皮膚交感神経活動を記録し、また皮膚血流量を測定した。足関節部で電気刺激し、反射性バースト活動と皮膚血流減少反応を調べた結果、PD では血流減少反応には異常なく、その持続が長いことが示され、これが四肢末梢の冷感に関与している可能性が報告された。

3) 病理：臨床病理学的に FTLD、パーキンソニズムおよび運動ニューロン病を呈し、4 リピートタウの蓄積が認められる 3 剖検例が報告され、新規 4 リピートタウオパチーである可能性が報告された。また、生前 PD あるいは dementia with Lewy body が考えられた 1 症例の剖検で、TDP-43 陽性封入体を呈する高度の黒質変性が報告された。この例では *DCTN1*、*PRGN* の変異はなく、 α -synuclein の蓄積も認められなかったことから TDP-43 proteinopathy with parkinsonism のサブグループの存在の可能性が示された。

4) 治療研究

- (1) 八升豆 (*Mucuna*) の抗 PD 作用：八升豆は L-DOPA を大量に含む豆であるが、L-DOPA 剤治療に伴う運動合併症を改善するとの報告がなされている。本年度は八升豆と

L-DOPA/DCI 合剤服用後の血中薬物動態と運動機能改善の比較研究が報告された。PD では L-DOPA/DCI 合剤内服よりも八升豆摂取時の方が、L-DOPA の C_{max} が高値であり、かつ on 時間がジスキネジアの増悪を伴うことなく増加した。PD の治療薬として八升豆の有用性が期待される。

- (2) STN-DBS 性発語障害の Lee Silverman voice treatment (LSVT) : LSVT は発声発語明瞭度改善目的の訓練法で、PD の構音障害治療に対して有効である。近年普及している STN-DBS 後に発語障害が生じることが報告されており、このような例に対して LSVT を施し、全例で何らかの効果が見られたことが報告された。今後規定される治療法である。

5) CBD マニュアルの作成

昨年度作成した PSP 患者向けの手引き書「進行性核上性麻痺(PSP)診療とケアマニュアル」の姉妹編として「大脳皮質基底核変性症(CBD)診療とマニュアル」を作成して、患者・家族に配布した。かつ PSP マニュアルと共に神経変性班の HP からダウンロードできるようにした。

3. ハンチントン病(HD)と関連疾患

海外では HD の運動症状の治療薬としてテトラベナジンが使用されるようになった。本法でも本剤の治療のための準備として、神経変性班班員を含む UHDRS 研究グループにより Unified Huntington's Disease Rating Scale (UHDRS) 日本語版の信頼性検定が複数の施設において実施され、得られた結果に対して統計解析を行ったところ、全てのパートに於いて高い信頼性が得られた。これにより我が国でも日本語版 UHDRS を用いた治療が可能になった。有棘赤血球舞踏病(ChAc)は、*VSP13A* の変異によって生じる疾患であるが、copy number variation や *VSP13A* の遺伝子産物である chorein の Western blotting による検出解析を加えないと診断できない症例もある。今回はこれらの手法を駆使した ChAc の総合的診断法の確立が報告された。

4. 脊髄空洞症：昨年度（2009 年度）13 年振りに改訂した改訂診断基準に基づいて厚生省「特定疾患の疫学に関する研究」班の協力を得て 13 年ぶりに本症の全国的疫学調査が開始された。昨年度に行った一次調査による推計患者数は約 2,500 人であった。今年度は二次調査を行った結果、症候性空洞症 77%、無症候性空洞症 23%であり、前者では運動症候が 60%、感覚障害が 78%に見られた。キアリ奇形 I 型に合併した例 48%、II 型に合併した例 8%で、特発性空洞症は 16%であった。家族歴を有する症例は 0.4%であった。予後では、進行性 44%、不変 39%、寛解 12%、進行停止 5%であった。今回の二次調査の特徴として無症候性空洞症と特発性空洞症が多かったことが挙げられる。これは本邦で広く普及している MRI が診断に大きく寄与していることによると考えられる。

5. 臨床調査個人票(個票)を用いての予後調査法の改善: 個票の経年的解析は当該疾患に於ける基本データとその推移を知る上で重要な研究であるが、その利用はこれまでは横断的な解析にのみ限定されていて、貴重なデータが十分には生かされて来なかった。今年度当班担当者と厚生労働省健康局疾病対策課および国立保健医療科学院の担当者との話し合いの結果、臨床調査個人票の転帰欄を充実させることで経年的追跡が行えるシステムに改善することで合意し、その準備が進んでいる。今後、臨床調査個人票が一層有効活用されるものと期待される。

日本における脊髄性筋萎縮症の臨床遺伝学的調査（データベースの作成）

研究分担者 齊藤加代子¹⁾

研究協力者 伊藤万由里¹⁾²⁾、浦野真理¹⁾、相楽有規子¹⁾

1) 東京女子医科大学附属遺伝子医療センター

2) 同 小児科

研究要旨

脊髄性筋萎縮症(SMA)は発症年齢と経過に基づき、分類されていたが、我が国ではその疾患概念は診療科によりやや隔たりがあり、臨床分類も混沌としていた。本年度の研究では、臨床情報を管理するデータベースを作成し、臨床調査個人票に登録された情報を入力、解析することにより、改めて、小児期発症のⅠ～Ⅲ型の臨床実態と成人発症のⅣ型の概念を示すことができた。今後も、SMAに関する臨床情報の解析と社会へのフィードバックを進め、SMAを取り巻く医療環境の整備に貢献できるよう、研究を継続する予定である。

A. 研究目的

脊髄性筋萎縮症(spinal muscular atrophy; SMA)は、脊髄前角細胞と脳神経核の変性・脱落により、進行性の神経原性筋萎縮を示す遺伝性疾患である。しかし、その疾患概念は日本では診療科によりやや隔たりがあり、臨床分類も混沌としていた。小児科領域では、乳児期発症のⅠ型から幼児期以降発症のⅢ型までをSMAとして捉えている。診断確定のために遺伝子検査も実施され、遺伝カウンセリング加算とともに保険収載された。それに対して、神経内科領域では、小児期発症のSMAの他に、SPMAやSBMA、またALSの一部も下位運動ニューロンが障害される共通の病態として認識されていた。疾患概念が曖昧であることが、罹患者本人にも不利益をもたらしている可能性もあり、本研究班では、平成21年のSMAの認定診断基準の策定の際に、その概念と分類を明確に定め、国際基準にも照らし合わせ、成人発症のSMAをⅣ型と定めた。今年度、本研究班では、SMAを取り巻く医療環境がより良くなることを目的として、臨床と遺伝子解析結果など、現時点で蓄積されている臨床情報の更なる分析を行った。また、個人情報保護に留意した上で、臨床情報の客観的な管理・運用を実現させるため

に、データベースの作成を試みた。

B. 研究方法

IDとパスワードを使用することで、情報の漏洩を防ぐデータベースを試作した。データベースには、個人を特定できる項目は入れず、個人情報の保護に留意した。今後、臨床個人調査票を用いた臨床情報の蓄積・活用につなげるための前段階として、今回は2つの群の臨床情報を研究対象とした。1) 臨床調査個人票をもとにした群：埼玉、北海道、大阪、東京で登録された104名分を抽出した。2) アンケートを基にした群：当院に遺伝子検査を依頼された際に主治医から送られた臨床情報を対象とした。それぞれの群で解析した臨床情報は、1) 発症年齢、初発症状、歩行不可能になった年齢、大まかな臨床経過、遺伝子検査施行の有無 2) 詳細な症状(筋力低下の特徴など)、遺伝子検査結果(型別の割合など)、である。

(倫理面への配慮) 本研究は、2003年の本学倫理委員会の承認のもとに施行した疫学調査を発展させたものとして実施した。また、「脊髄性筋萎縮症の遺伝学的解析研究」は本学倫理審査委員会において承認されている。

C. 研究結果

臨床調査個人票を基にした場合、記載した医師の認識の違いなども影響するため、客観的に解析できるのは、年齢、性別、ある事象の大まかな分類や有無などに限られることが分かった。発症年齢の解析では、図1のような結果が得られた。

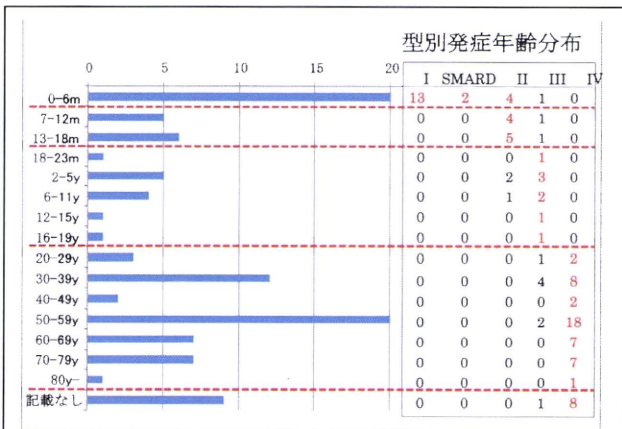


図1 発症年齢(臨床調査個人票より)

発症年齢には大別して二つのピーク(生後6ヶ月までの発症、成人以降の発症)がみられた。若干の重なりはあるものの型別に線を引くこともできる。

歩行不可能になった年齢を解析すると、歩行獲得に至らない小児型と、緩徐に進行する成人型とに大別された(図2)。

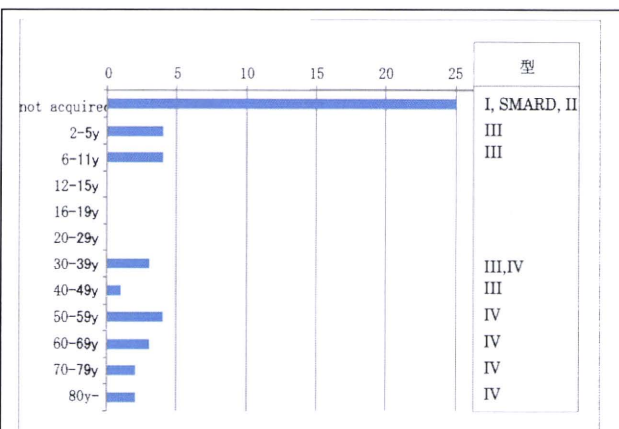


図2 歩行不可能になった年齢(個票より)

歩行を獲得できなかった小児型が約1/4を占めた。成人発症のI V型では各年齢層に分布していた。

臨床経過を大まかに分類すると、図3のような傾向がみられた。9割で進行性の症状を示すものの、その経過は概ね緩徐であることが分かった。

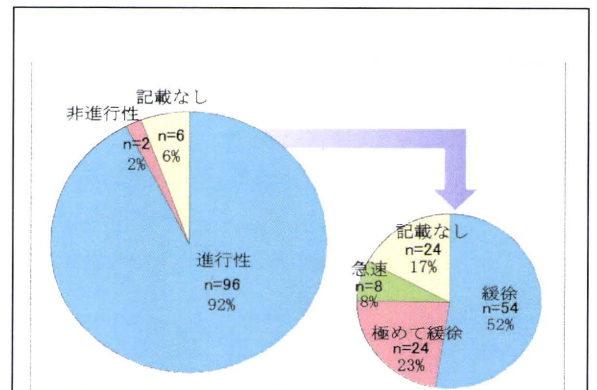


図3 経過(個票より)

進行性が9割を占め、そのうち、緩徐な進行を示したのは3/4であった。

遺伝子検査施行の有無、その結果(欠失の有無のみ)について検討すると、図4のようになった。

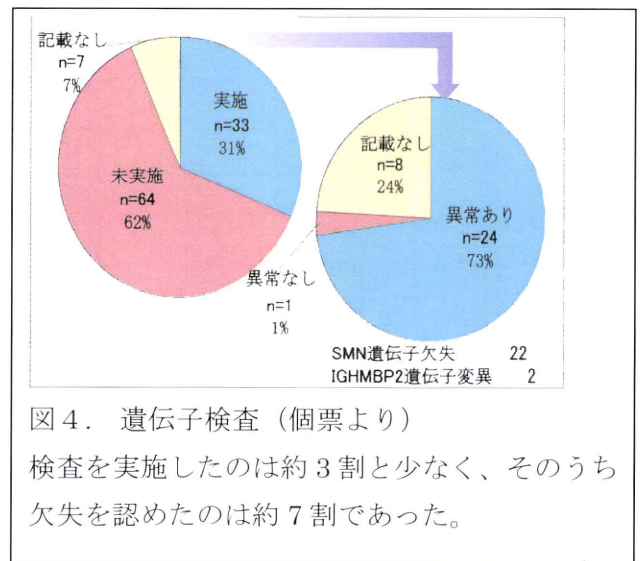


図4. 遺伝子検査(個票より)

検査を実施したのは約3割と少なく、そのうち欠失を認めたのは約7割であった。

臨床調査個人票(個票)のデータでは、遺伝子検査の詳細な分析を行うことが困難であった。これに対し、アンケートを基にした群の解析では、型別の欠失の割合など、より詳しい分析を行うことができた(図5)。

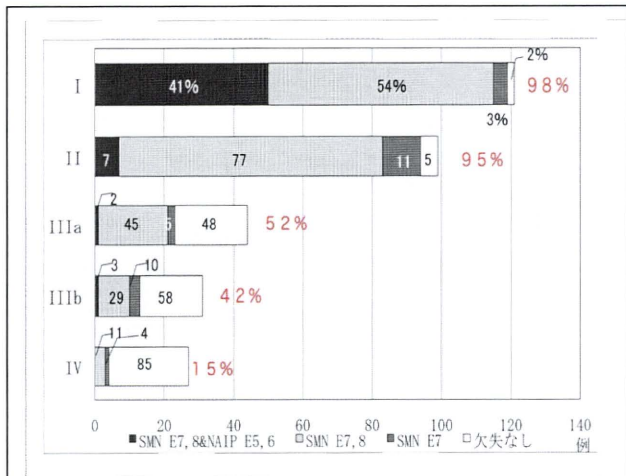


図5 遺伝子検査結果（アンケートより）
SMA322例のうち252例（78%）で欠失がみられた。型別にみると、I型では98%、II型では95%、3歳未満発症のIIIa型では52%、IIIb型では42%、20歳以降発症のIV型では15%にSMN遺伝子の欠失を認めた。

また、アンケートを基にした群では、臨床症状のより詳細な分析も行うことが可能であった。一例として、筋力低下の特徴とその例外についての解析結果を図6に示す。

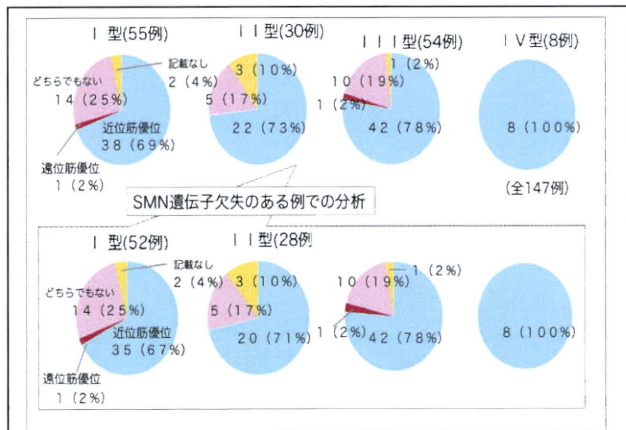


図6 筋力低下の特徴
近位筋優位であったのは、I型からIII型で7割程度、IV型では全例であった。遺伝子欠失のある例でみると、大半は近位筋優位であったが、I型、III型では遠位筋優位の筋力低下を示す例を認めた。

D. 考察

臨床調査個人票を基にした情報の分析結果より、図7に示すように、各型の発症年齢を規定し得た。

型	病名	発症経過	最高到達運動機能	遺伝
I	Werdnig-Hoffmann病 急性乳児型SMA	発症<6か月 死亡<2歳	Never sit	常劣
II	Dubowitz病 慢性小児型SMA	発症<1歳 経過<10歳(>90%)	Never stand	常劣
III	Kugelberg-Welander病 若年型SMA	IIIa:発症<3歳 IIIb:発症>3歳 経過:緩徐 寿命:短くない	Stand & walk alone	常劣 まれに 常優
IV	成人型SMA	発症>20歳 重症度:多彩 寿命:正常	Normal	多くは孤発 常優か常劣

図7 SMAの型別分類と特徴

IからIII型は、国際SMA協会の分類を踏襲したが、成人型は20歳以降発症のものをIVとした（いわゆるSPMAを含む）。

データベースをウェブ上に作成したことによるメリットも多い。入力した情報を『閲覧』画面で確認できるので、複数の関係者で、情報の共有が可能となる。また、ある特徴をもつ例を、『検索』画面で抽出することにより、何らかの臨床的特徴が明らかになることもあり、臨床研究をすすめていく上でとても有用である。情報を社会資源として活用していくことも可能となる。一方、臨床調査個人票の情報を入力する際には、適正な処理が必要であり、特定の情報管理者を置くことも今後、検討していくべき課題である。

E. 結論

日本におけるSMAの臨床遺伝学的調査を推進・継続していくためのデータベースを作成した。臨床情報を適切に管理していくためには、情報のデータベース化は有用である。これからも、SMAに関する臨床情報の解析と社会へのフィードバックを進め、SMAを取り巻く医療環境の整備に貢献できるよう、研究を継続する予定である。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

1.論文発表

1. Abe A, Numakura C, Saito K et al.
Neurofilament light chain polypeptide gene mutations in Charcot-Marie-Tooth disease: nonsense mutation probably causes a recessive phenotype *Journal of Human Genetics*. 2009;54:94-97
2. Kuru S, Motoko Sakai M, Konagaya M, Yoshida M, Hashizume Y, Saito K. An autopsy case of spinal muscular atrophy type III (Kugelberg-Welander disease) *Neuropathology* 2009;29:63-67
3. Ito Y, Shibata N, Saito K, Kobayashi M, Osawa M. New insights into the pathogenesis of spinal muscular atrophy. *Brain Dev*. 2010 Jul 3. [Epub ahead of print]
4. 斎藤加代子、伊藤万由里、荒川玲子. 脊髄性筋萎縮症. *J Clinical Rehabilitation*. 2010;19:601-606
5. Kawamichi Y, Cui CH, Toyoda M, Makino H, Horie A, Takahashi Y, Matsumoto K, Saito H, Ohta H, Saito K, Umezawa A. Cells of extraembryonic mesodermal origin confer human dystrophin in the mdx model of Duchenne muscular dystrophy. *J Cell Physiol*. 2010;223(3):695-702
6. 斎藤加代子. 脊髄性筋萎縮症(SMA)の遺伝子診断法. *難病と在宅ケア*. 2010;16(6):13-15
7. 斎藤加代子. 保因者診断と遺伝カウンセリング. *日本臨床* 68(増刊号8) 遺伝子診療学(第2版) 2010:183-188
8. 斎藤加代子. 日常診療に必要な臨床遺伝学と遺伝カウンセリング. *日本医師会雑誌*. 2010;139(3):573-576

2.学会発表

斎藤加代子. 脊髄性筋萎縮症の臨床および遺伝子の概要. 第26回小児神経筋疾患懇話会「脊髄性筋萎縮症」.2009.8.23 於:東京
岡本健太郎、斎藤加代子、佐藤孝俊ら. 脊髄性筋萎縮症0型の1例. 第52回日本小児神経学会総会. 2010/5/20-22 於: 福岡
斎藤加代子. 小児神経疾患と遺伝子診断. 大阪小児科学会シンポジウム「小児疾患における臨床遺伝学の進歩」.2010/9/26.於:大阪医科大学

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

新しい表面筋電図解析法、Clustering Index (CI)法による、球脊髄性筋萎縮症の下位運動ニューロン障害の評価

研究分担者 園生雅弘¹⁾

研究協力者 東原真奈²⁾，山本知孝²⁾，長島優²⁾，寺尾安生²⁾，宇川義一³⁾，辻省次²⁾

1) 帝京大学医学部神経内科，2) 東京大学医学部神経内科，3) 福島県立医科大学神経内科

研究要旨

球脊髄性筋萎縮症 (SBMA)は、分子標的治療の研究が進んでいる運動ニューロン病であり、優れた電気生理学的マーカーの開発が待たれている。我々は新しい表面筋電図解析法である Clustering Index (CI) 法を応用し、本疾患の下位運動ニューロン (LMN)障害を定量的かつ非侵襲的に評価した。対象は SBMA 29 例、健常対象 27 例。CI 法、既存の電気生理マーカーである複合筋活動電位 (CMAP)振幅、多点刺激法による運動単位数推定 (MUNE)の感度を比較した。その結果、 ± 2.5 SD を正常範囲としたときの異常検出感度は、CI 法 100%、の CMAP 振幅 72%、MUNE 93%で CI 法が最も優れていた。CI 法は検者間および経過観察での再現性も良好で、筋力とも相関した。CI 法は SBMA の LMN 障害の電気生理マーカーとして有望である。

A.研究目的

球脊髄性筋萎縮症 (Spinal and bulbar muscular atrophy; SBMA)は伴性劣性遺伝の運動ニューロン疾患であり、近年分子標的治療の開発研究・治験が進められている。このような状況で、病態を反映する電気生理学的マーカーの役割も大きい。既存のマーカー、複合筋活動電位 (CMAP) 振幅、運動単位数推定 (MUNE) などは必ずしも十分な有用性を示しているとは言えない。我々は先行研究で、新しい表面筋電図解析法である Clustering Index (CI)法を開発した。本研究では、CI 法を SBMA の下位運動ニューロン (LMN) 障害の評価に応用し、その有用性を CMAP 振幅、MUNE と比較することを目的とした。

B.研究方法

対象は SBMA 患者 29 名 (53.4 \pm 10.6 歳; 36-71 歳)

と正常対照者 27 名 (51.8 \pm 16.3 歳; 30-80 歳)。SBMA 患者は全例アンドロゲン受容体における CAG リピートの解析により確定診断された。被検筋には小指外転筋 (ADM) を選択し、MUNE については多点刺激法を用いた。

表面筋電図については、基準電極を ADM 筋腹上の探查電極から 2cm 近位に置くことで、良好な運動単位電位 (MUP) の分離が得られた。被検者に、様々な強さで小指を外転してもらい、収縮強度が一定の 1 秒間の SEMG 記録を保存した。この 1 秒間の SEMG 信号を epoch として用い、それぞれの被検者につき、20-50 個の epoch を集めた。この各 epoch について CI を計算した。CI は 0 から 1 の値をとり、筋電信号の分布のばらつきが強い、すなわち神経原性の変化が強いほど高い値をとる指標である。健常者の全 epoch を CI と log (area)の 2 軸上にプロットして線形回帰を行

い、この回帰直線からの個々の epoch の残差を計算し、各被検者ごとの残差平均 (Rm) を計算した。正常被検者全員の Rm の平均と標準偏差を元に、患者を含む個々の被検者の Rm の Z-score を計算し、この値を CI 法の代表値として用いた。

CI 法、CMAP 振幅、MUNE それぞれについて、 ± 2.5 SD を正常範囲として設定し、SBMA での異常検出感度を比較した。また各電気生理学的マーカーと SBMA の種々の臨床パラメータとの相関についても検討した。

さらに、CI 法については、SBMA 患者 3 名と正常者 3 名において、1 名の筋電図専門医と、1 名の非専門医により検査を行い、検者間再現性についても検討した。

SBMA 例において、およそ 3 ヶ月ごとに CI、CMAP 振幅、MUNE の各電気生理パラメータを評価し、経過フォローにおける変化・再現性を検討した。

本検査に際しては、目的、方法について十分説明した上で、所定の書式の同意書により同意を取得した。また、本研究の内容は東京大学大学院医学系研究科倫理委員会にて承認された。(承認番号 2237, 運動ニューロン病における下位運動ニューロン障害の診断方法についての検討)

C. 研究結果

CI、CMAP 振幅、MUNE の異常検出感度はそれぞれ 100% (29/29)、72% (21/29)、93% (27/29)であった。CI 法での SBMA 症例の Z-score は 7.07 ± 2.18 (3.3-12.4)であった。

臨床指標との相関については、CMAP 振幅と CI は ADM の筋力と相関したが、MUNE では有意な相関を認めなかった。また、筋力低下発症からの罹病期間での検討では、CMAP 振幅と MUNE は罹病期間と有意に相関したが、CI は相関を認めなかった。しかしながら、罹病期間が 10 年未満と 10 年以上の 2 群に分けると、CI において 2 群間の差が最大だった。

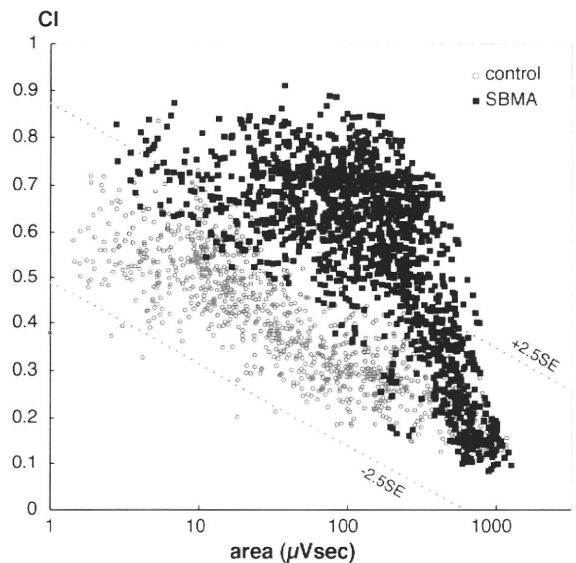


図 1 : CI-area 図における。健常者と SBMA 患者の epoch。後者の多くは健常者から作ったクラウドの外に分布する。

CI 法において、2 検者間の Z-score に有意差はなく、相関係数は 0.990 と良好な再現性が得られた。

SBMA において、初回検査の 6 ヶ月後のデータは 15 例、12 ヶ月後のデータは 10 例で得られたが、どの電気生理学的パラメータも有意な変化を示さなかった。各被検者内の再現性を、群内 SD/群間 SD 比率、群内 SD/ (正常患者間の平均値の

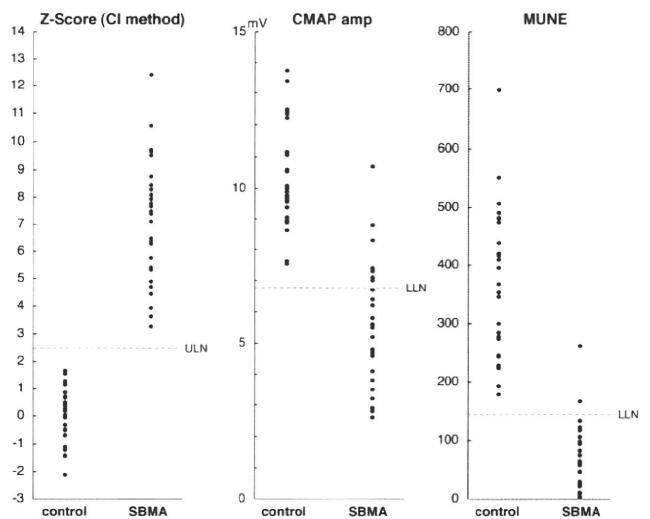


図 2 : CI 法、CMAP 振幅、MUNE 3 法での、健常者と SBMA 患者の比較。CI 法において両群の分離は最も良好である。ULN : 正常上限値 LLN : 正常下限値

差)の比率の2つの指標で評価したが、両指標ともMUNEの値が最大(再現性が不良)で、前者の指標ではCMAP振幅が、後者の指標ではCI法が最も良好な再現性を示した。

D. 考察

本研究でCI法は、CMAP振幅、MUNEよりもSBMAのLMN障害の異常検出における高い感度を有していた。SBMAのような慢性経過の運動ニューロン病においては、神経再支配による代償が十分生じるため、CMAP振幅の感度が低くなることは十分予測できる。しかし、理論的には潜在性のLMN数低下を検出できることが期待できるMUNEについても、その感度も、CIよりは低く、さらに経過観察における再現性は3者の中でもっとも低かった。これは、技術的な複雑さなどによるものと考えられ、MUNEの限界を示唆するものである。

CI法は簡便で、電気刺激を使わない点で既存の方法より非侵襲的である。検者間の再現性の検討でも筋電図専門医・非専門医の間で差がなく、結果が電気生理検査の技術に依存しないことが示された。SBMAにおける優れたLMN障害の検出感度、再現性も良好であること、筋力との相関も見られることなどから、SBMAの電気生理マーカーとして有望と思われた。

なお、本研究では、CMAP振幅およびMUNEについても過去のSBMAについての報告より高い感度を示したが、その理由としてはCMAP振幅およびMUNEの評価に対数値を用いたこと、対象とした患者群が過去の報告より重症度が高かったこと、我々の用いた正常値のばらつきが少ないことなどが理由として考えられた。

E. 結論

CI法は、非侵襲的かつ簡便な定量表面筋電図解析法であり、SBMAにおけるLMN障害の検出感度が高く、再現性にも優れており、SBMAの電気

生理マーカーとして期待できる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Higashihara M., Sonoo M., Yamamoto T., et al. Evaluation of spinal and bulbar muscular atrophy by the Clustering Index method. (投稿中)

2. 学会発表

1) 東原真奈, 園生雅弘, 山本知孝他 新しい表面筋電図解析法による、球脊髄筋萎縮症の下位運動ニューロン障害の定量評価. 第51回日本神経学会総会, 東京, 5, 2010

2) Higashihara M, Sonoo M, Yamamoto T, et al. Quantitative analysis of surface electromyography for the evaluation of lower motor neuron involvement in spinal and bulbar muscular atrophy. 57th annual scientific meeting of American association of neuromuscular and electrodiagnostic medicine, Quebec, 10, 2010

3) Higashihara M, Sonoo M, Yamamoto T, et al. Quantitative analysis of surface electromyography for the evaluation of lower motor neuron involvement in spinal and bulbar muscular atrophy. 29th International Congress of Clinical Neurophysiology, Kobe, 10, 2010.

H. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

なし

軸索イオンチャネルからみた ALS の病態：免疫組織学的検討

研究分担者 桑原 聡¹⁾

研究協力者 澁谷和幹¹⁾、金井数明¹⁾、新井公人²⁾、中田美保¹⁾

1) 千葉大学大学院医学研究院神経内科 2) 独立行政法人国立病院機構千葉東病院

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）においてイオンチャネルの機能障害を基礎とした運動神経軸索の過剰興奮が下位運動神経変性の進行速度に影響を与えている可能性があり、生理学的検討では軸索 K 電流の低下と持続性 Na 電流の増大が報告されている。今回、ALS 患者 5 名（球型 2 名、上肢型 1 名、下肢型 2 名）および疾患対照 2 名の舌下神経、C7 および L5 の脊髄前・後根を用いて、抗 pan-Na チャネル、K_{v1.2} チャネル抗体による免疫染色を行い、それぞれチャネルの染色性（輝度）を計測し、運動神経および感覚神経のイオンチャネルの蛋白レベルでの発現変化について検討した。ALS 患者の脊髄前根では、K_{v1.2} チャネルの輝度が著明に低下していた。また、各患者の中では、発症部位に対応する領域からの検体においてより輝度が低下している傾向があった。今回の結果は、ALS の運動神経の過剰興奮性が K⁺チャネルの蛋白レベルでの発現障害によってもたらされていることを示唆するものであり、このような ALS の運動神経軸索におけるイオンチャネルの機能障害の分子生物学的基盤の解明は ALS の生理学的病態の更なる解明や新規治療法の開発の一助となる可能性があると考えられた。

A. 研究目的

広範な fasciculation は ALS に特異的に認められる所見であり、その起源は運動神経軸索の過剰興奮性に基づくものであるとされている。一方、ALS の運動神経における軸索過剰興奮は、同病などで認められる split hand 現象などの生理学的基盤をなすなど、下位運動神経変性の進行速度に影響を与えているという可能性を示唆する研究が報告されている。

我々はこれまで、電気生理学的手法を用いて、ALS 患者運動神経軸索において持続性 Na⁺電流の亢進および K⁺電流の低下を報告してきた。これらはいずれも運動神経軸索の興奮性が増大していることを示す所見である。また、ALS の脊髄運動神経において mRNA レベルで K⁺チャネルの発現低下が報告されている。しかし、蛋白発現レベルでのこれらの所見は未だ明らかとなっていない。

今回我々は、チャネルの免疫組織化学的検討から蛋白発現レベルで Na および K チャネルの変化

について検討した。

B. 研究方法

ALS 患者 5 名（球型 2 名、上肢型 1 名、下肢型 2 名）（平均年齢 67.8 歳）および対照 2 名（平均年齢 70.5 歳）の舌下神経、C7 および L5 の脊髄前・後根を検体として用いた。標本を長軸方向に 8 μm の厚さでスライスし、抗 pan-Na チャネル抗体、抗 K_{v1.2} チャネル抗体を用いて免疫染色を行った。共焦点顕微鏡を使用し、それぞれの神経について 30 視野（1 視野：117.85 × 117.85 μm）撮影し、無作為に 10 視野を選択し解析した。Node の数、Na および K チャネルの輝度を計測し、比較検討を行った。なお、下肢型 1 名は、死亡前 22 カ月の時点で既に電気生理学的手法により、正中神経運動神経軸索の K⁺電流低下が観察されていた。

*倫理面への配慮

本研究に際しては、千葉大学医学研究院および独

立行政法人国立病院機構千葉東病院の倫理規定を遵守して行った。個人の情報は決して表に出ることがないように細心の注意を払い、プライバシーの保護には十分に配慮した。

C. 研究結果

免疫抗体染色によって認められる Node の数は、ALS の舌下神経および C7 前根において有意に低下していた。疾患対照および ALS 全標本とを比較すると、Kv_{1.2} チャンネルの輝度は ALS 患者の脊髄前根において有意に低下していた。病型別にみると、球型では舌下神経、上肢型では C7 前根、下肢型では L5 前根といったように、発症部位に対応する領域から得られた検体において、Kv_{1.2} チャンネルの輝度が目立って低下している傾向があった。後根 K⁺チャンネル、および Na⁺チャンネル輝度は疾患対照と有意差を認めなかった。

D. 考察

我々がこれまで電気生理学的手法を用いて示してきた ALS 患者運動神経軸索の K⁺電流の低下は、K⁺チャンネルの蛋白レベルでの発現の低下によりもたらされていることが明らかとなった。これらは、これまで報告されている下位運動神経における mRNA の低下などを反映している可能性がある。またこれに加え、ALS の分子病態で関連が推定される軸索輸送障害なども関与している可能性も考えられた。また、Kv_{1.2} チャンネルの輝度は初発部位でより低下している傾向があり、こういったイオンチャンネルの発現障害は ALS の臨床症状の進展とパラレルに関連している可能性が示唆された。

これらをまとめると、ALS 患者運動神経では、何らかの原因により mRNA レベルでの K⁺チャンネルの発現低下が起り、あるいは蛋白の軸索輸送障害も影響し、それが K⁺チャンネルの蛋白質レベルでの発現の低下を生じ、これにより運動神経軸索膜の過剰興奮が生みだされ、その結果として臨床症状としての fasciculation が生じる可能性が示

唆された。これらの変化が運動ニューロン死を加速している可能性も示唆された。

また今回の研究では Na⁺チャンネル輝度は維持されていた。この結果は、これまで電気生理学的研究により証明されていた、持続性 Na⁺電流の亢進とは解離する結果であった。その理由として病期の違いが影響している可能性が考えられる。これまでの報告では持続性 Na⁺電流亢進の報告は病初期に認められるとされる。また、持続性 Na⁺電流は Na_{v1.6} のあるサブポピュレーション(全体の約 1% と推定される) が担っている可能性が有力視されており、ALS ではこのサブポピュレーションの比の変化により持続性 Na⁺電流の変化が生じている可能性なども考えられた。また、持続性 Na⁺電流の亢進が他の非選択的カチオンチャンネルなど Na⁺チャンネル以外の変化によりもたらされているのであれば、やはり今回の手法では検出できない可能性があることが考えられた。

E. 結論

今回我々の研究によって、ALS の運動神経軸索におけるイオンチャンネル機能障害の蛋白レベルでの病態基盤の一部が明らかとなった。K⁺チャンネルなどの軸索イオンチャンネル発現障害は ALS の下位運動ニューロン変性と密接な関連がある可能性があり、その解明は ALS の生理学的病態の更なる解明につながる可能性が示唆されるのみならず、新規治療法の開発の一助となる可能性もある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Noto Y, Shibuya K, Sato Y, Kanai K, Misawa S, Sawai S, Mori M, Uchiyama T, Iose S, Nasu S, Sekiguchi Y, Fujimaki Y, Kasai T, Tokuda T, Nakagawa M, Kuwabara S. Elevated CSF

- | | |
|---|----------|
| TDP-43 levels in amyotrophic lateral sclerosis: Specificity, sensitivity, and a possible prognostic value. Amyotroph Lateral Scler 2010 (in press) | なし |
| 2. Kuwabara S. Excitability testing: From nerve to muscle. Clin Neurophysiol. 2010 (in press) | 2.実用新案登録 |
| 3. Yamamoto T, Sakakibara R, Uchiyama T, Yamaguchi C, Nomura F, Ito T, Yanagisawa M, Yano M, Awa Y, Yamanishi T, Hattori T, Kuwabara S. Pelvic organ dysfunction is more prevalent and severe in MSA-P compared to parkinson's disease. Neurorol Urodyn 2010 (in press) | なし |
| 4. Kuwabara S. Inward rectifying channels as new targets for treatment. J Physiol 2010;588:2523. | 3.その他 |
| 5. Sawai S, Misawa S, Kanai K, Iose S, Shibuya K, Noto Y, Fujimaki Y, Sekiguchi Y, Nasu S, Nomura F, Kuwabara S. Altered axonal excitability properties in juvenile muscular atrophy of distal upper extremity (Hirayama disease). Clin Neurophysiol. 2010 (in press). | 特記事項なし |
| 6. Hirano S, Shinotoh H, Shimada H, Aotsuka A, Tanaka N, Ota T, Sato K, Ito H, Kuwabara S, Fukushi K, Irie T, Suhara T. Cholinergic imaging in corticobasal syndrome, progressive supranuclear palsy and frontotemporal dementia. Brain 2010;133:2058-68. | |
| 7. Kuwabara S. It's not the end: physiologic assessment of E-C coupling of muscle. Clin Neurophysiol 2010;121:994-5. | |
| 8. 神経生理学からみた ALS の病態と治療展望. BRAIN and NERVE 2010;62:885-891. | |
| 2.学会発表 | |
| 本研究内容は第 52 回日本神経学会学術大会 (2011 年 5 月)にて発表予定 | |

H.知的所有権の取得状況（予定を含む）

- 1.特許取得

運動神経軸索膜の興奮特性変化は ALS における独立した予後規定因子である

研究分担者 桑原 聡¹⁾

研究協力者 金井数明¹⁾, 澁谷和幹¹⁾, 藤巻由実¹⁾, 三澤園子¹⁾, 佐藤泰憲²⁾

1) 千葉大学大学院医学研究院 神経内科学

2) 千葉大学医学部附属病院 臨床試験部

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）では母指球筋の方が小指球筋より変性が速く進行するという split hand 現象があることが知られ、これまでの報告から ALS では運動神経軸索興奮性の高さが神経変性の速度に影響を及ぼしている可能性が示唆されている。このため運動神経興奮特性の ALS の予後に対する影響について当院の診療データに基づいた解析を行った。その結果、運動神経軸索興奮特性が増大する変化が生じると生存期間が短縮することが示され、この影響は既知のリスクファクターとは独立であった。特に病初期では持続性 Na⁺コンダクタンスの増大が予後の悪化と強く関連していることが示され、今後の新たな治療法開発の観点から注目されるものと考えられた。

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症（ALS）では線維束性収縮などの運動単位の自発発射による症状が高頻度に認められ、軸索の興奮性が増大していることが推定されている。この過剰な神経興奮性は運動ニューロンの細胞死とも関連していると考えられる。これらの興奮性変化は ALS の運動神経における代謝的な変化（変性の進行による ATP 欠乏など）やイオンチャネルの機能・発現などの変化を反映していると考えられる。イオンチャネルは様々な神経疾患の分子病態において、遺伝子変異によるものやあるいは発現量や部位の変化など様々な形で関与していることが判明しており、チャネロパシーという概念が提唱されており注目されている。

我々はこれまでイオンチャネルの各種神経疾患の病態に果たす役割を、筋萎縮性側索硬化症（ALS）・下位運動ニューロン疾患などの神経変性疾患で明らかにしており、特に ALS に関しては、ALS 患者の運動神経軸索における K⁺電流の低下や持続性 Na⁺電流の増大を確認し、その臨

この他最近、我々は ALS では同一個人内でも正中神経支配筋の方が尺骨神経支配筋より変性が速く進行するという split hand 現象があることを見出し（Muscle Nerve、2008）、その生理学的基盤として正中神経の神経興奮性が尺骨神経よりも高いこと、すなわち、持続性 Na⁺電流の増大と K⁺電流の低下の所見が正中神経でより目立つことを報告している（Muscle Nerve、2009）。

この split hand 現象は、個人内では遺伝的背景は同一であるにも関わらず神経間で神経変性の進行に差が生じることになるため、その病態生理の解明は新規治療の開発につながる可能性がある。

我々は K⁺電流の低下や持続性 Na⁺電流の増大による軸索興奮特性の変化が、Split hand 現象のような個々の神経変性の進行速度に影響を及ぼすだけでなく、ALS そのものの病勢進行にも影響を与えるのではないかという仮説を立て、これを検証するために当院における ALS 患者の予後研究を行った。

B.研究方法

当院神経内科を2001年から2010年までに受診し、臨床的にALSと診断された患者を抽出した。ここから観察期間のうちにEl Escorial改訂基準でprobable以上を満たす、あるいはpossibleに留まるもののその後の死亡が確認され経過からALSとして確実と考えられる患者を抽出した。ここから軸索興奮特性に影響を与え得る合併症（糖尿病・膠原病の合併や病状進行による二酸化炭素貯留など）を有する患者を除外し、そのような集団のうちで軸索興奮特性検査の記録が残る患者79名を対象とした。

この集団に対し、(1)これまで報告されているALSの既知のリスクファクター、(2)正中神経伝導検査パラメーター、(3)正中神経運動軸索で記録された神経興奮特性検査の諸因子、のそれぞれと生命予後との関連をログランク検定およびCoxハザードモデルを用いて調べた。

*倫理面への配慮：本研究は千葉大倫理委員会の承認を得ている。また個人情報保護に関しては細心の留意を行った。

C.研究結果

今回検討した集団において、%VCおよび%FVCは生命予後の有意なリスクファクターであり、既報告と合致した。性別、発症年齢、病型は今回の検討では生命予後への有意な影響は認められなかった。正中神経のCMAP値は生命予後への有意な影響を示さなかった。

神経軸索興奮特性に関しては、年齢を一致させた正常対照28名の平均値を用い、その大小により2群に分け解析を行った。ALS全体群に対しては、持続性Na⁺コンダクタンスと関連する指標（strength-duration time constant、Latent addition法における0.2ms threshold changeなど）と、複数のK⁺コンダクタンスと関連する指標（TEd10-30やSupernormalityなど）が、生命予後への有意な影響を示した。これらの影響は既知のリスクファクターとは独立していた。

これらの変化に対し、持続性Na⁺コンダクタンスと関連する指標については持続性Na⁺コンダクタンスの増大が認められる群で、K⁺コンダクタンスと関連する指標については膜電位が脱分極を示す際の変化と同様な方向の変化が認められる群で、それぞれ予後が悪かった。Coxハザードモデルにおけるハザード比は2.57-3.97であった。

CMAP値で層別解析を行ったところ、Fast K⁺コンダクタンスと関連する指標はCMAPが中程度以上低下している場合、すなわち評価した正中神経の変性が相応に進んでいるような状態でリスクファクターとなるのに対し、持続性Na⁺コンダクタンスと関連する指標はCMAPの低下が認められない場合、すなわち評価した正中神経の変性がまだあまり進んでいないような状態でリスクファクターとなることが明らかになった。

D.考察

運動神経軸索興奮特性検査の諸指標のうち、持続性Na⁺コンダクタンスと関連する指標とK⁺コンダクタンスと関連する指標は、ALSにおける独立した予後規定因子であることが明らかとなった。持続性Na⁺コンダクタンスの増大は膜興奮性の増大につながり、また膜電位の脱分極方向へのシフトも、膜電位が閾値電位へ近づく事になることから興奮性の増大につながる。すなわち今回の結果は、運動神経軸索膜興奮特性の諸指標が、興奮性が増す方向にシフトすると予後の悪化につながっているということを示している。このことは、運動神経の興奮性増大がALSの神経変性の進行速度を速めているという可能性を示唆するものである。故に今回の結果は、運動神経の過剰興奮性がALSの神経変性の進行速度を規定する因子である、という当初の仮説に対する有力な傍証であると考えられた。

層別解析に関連し、持続性Na⁺コンダクタンスもまた脱分極時に増大を示すことが知られているが、先行研究で運動神経軸索膜が脱分極傾向を示すのは神経変性が進行した段階であることが