

## FUS 関連 ALS 症例における FUS, TDP-43, ADAR2 病理の免疫組織化学的検討

研究分担者 郭 伸<sup>1,2,3)</sup>

研究協力者 相澤仁志<sup>4)</sup>, 日出山拓人<sup>1)</sup>, 山下雄也<sup>1,2)</sup>,

木村 隆<sup>5)</sup>, 鈴木直輝<sup>6)</sup>, 青木正志<sup>6)</sup>

1) 東京大学神経内科, 2) 現東京大学疾患生命工学センター, 3) 国際医療福祉大学臨床医学研究センター, 4) 国立病院機構東京病院神経内科, 5) 国立病院機構旭川医療センター, 6) 東北大学神経内科

### 研究要旨

遺伝性 ALS の原因遺伝子の一つである *FUS/TLS* 遺伝子の変異 (P525L) により ALS を生じた症例において、孤発性 ALS に見られ、運動ニューロン死を引き起こす疾患特異的分子異常である、RNA 編集酵素 ADAR2 の発現低下が生じているかどうかを免疫組織化学的に検討した。ADAR2 免疫活性を有する運動ニューロンと欠失している運動ニューロンとが観察され、FUS 陽性の好塩基性細胞質封入体の出現は ADAR2 発現低下とは相関していなかった。ADAR2 免疫活性のない運動ニューロンは、未編集型 GluA2 を発現していると考えられ、P525L *FUS/TLS* 変異を伴う ALS の運動ニューロン死には孤発性 ALS と共通の病態が示唆された。今後 *FUS/TLS* 関連 ALS と孤発性 ALS の病因的共通性の検討が必要である。

### A. 研究目的

Fused in sarcoma/translated in liposarcoma 遺伝子 (*FUS/TLS*) 関連 ALS 症例において、孤発性 ALS の大多数例に見られ、かつ運動ニューロン死を引き起こす分子異常である、RNA 編集酵素 adenosine deaminase acting on RNA 2 (ADAR2) の発現低下が生じているかどうかを免疫組織学的に検討し、*FUS/TLS* 関連 ALS の細胞死カスケードと孤発性 ALS のそれとの共通性の有無を検討することを目的とした。

### B. 研究方法

〔症例〕 24 歳、女性 (J)。神経疾患の家族歴なし。右上肢の脱力で発症し、5 ヶ月後には左上肢、さらに頸部、両下肢の脱力・筋萎縮が出現。6 ヶ月後に D 病院神経内科入院。入院時、神経学的に右上肢完全麻痺、四肢筋位筋優位の筋力低下、上肢腱反射減弱、下肢腱反射正常をみとめ、病的反射は見られなかった。末梢運動神経伝導速度検査で

は伝導速度は正常で振幅は低下。針筋電図では active denervation の所見を認めた。入院一ヵ月半で死亡、全経過 7 ヶ月。剖検では脳重 1166g、肉眼的には頸髄前根の軽度萎縮をみとめた。剖検時左脳をホルマリン固定、右脳を凍結保存した。

〔方法〕 凍結脳より DNA を抽出し PCR、*FUS/TLS* 遺伝子の direct sequence を行った。

脳脊髄を約一週間のホルマリン固定後、パラフィン切片を作成し、L-HE 染色と抗 FUS 抗体、抗リン酸化 TDP-43 抗体、抗 ADAR2 抗体による免疫組織化学染色を行った。

### C. 研究結果

本例は弱年発症、急性の経過を辿る孤発性 ALS である。遺伝子解析により *FUS/TLS* 遺伝子 Exon15 の 525 番目のプロリン Pro(CCG) がロイシン Leu (CTG) に変化するミスセンス変異 (c.1574C>T, p.P525L) を heterozygous に認めた。本症例は家族歴がないことから de novo の

*FUS/TLS* P525L mutation と考えられる。

残存する脊髄前角細胞の一部に basophilic cytoplasmic inclusion (BCI) を認めた。BCI は FUS 陽性であり、運動ニューロンにとどまらず、視床や大脳基底核、脳幹、小脳、さらにはグリアなど多系統に及んでいた。

脊髄前角運動ニューロンは、抗 ADAR2 抗体陽性細胞と陰性細胞が存在していた。BCI を認める運動ニューロンの ADAR2 免疫活性は陽性のものと陰性のものがあった。BCI をもたない運動ニューロンも ADAR2 陽性のものと陰性のものが見られた。リン酸化 TDP-43 陽性封入体をもつ運動ニューロンは観察されなかった。

#### D. 考察

本例は FUS タンパク 525 番目のアミノ酸がプロリンからロイシンへ変異する *FUS/TLS* 関連 ALS であり、弱年発症、速い進行、FUS 陽性 BCI の出現という、既報告の P525L 変異の ALS 症例と共通の臨床的特徴を持っていた(2)。家族歴はなかったが、これも過去に報告があり、de novo 変異と考えられる。

脊髄前角運動ニューロンで ADAR2 免疫活性が低下しているものが存在したことは、一部の運動ニューロンが未編集型 GluA2 を発現していたことと合致する結果である(3)。孤発性 ALS の大多数例では一部の運動ニューロンで未編集型 GluA2 が発現しており(3, 4)、この分子変化は AMPA 受容体の Ca<sup>2+</sup>透過性昂進を通じて運動ニューロン死を引き起こすことが動物実験から証明されている(5)。すなわち、正常な運動ニューロンは編集型 GluA2 のみを発現するのに対し、孤発性 ALS の大多数では ADAR2 活性が低下し未編集型 GluA2 を発現する運動ニューロンが観察され、ALS 発症に関与していると考えられる。本症例では、この孤発性 ALS に見られる細胞死に関連する分子異常が生じていることがわかった。本症例を含む P525L*FUS/TLS* 変異例は全例弱年

発症、急性経過をとることは、孤発性 ALS の臨床的特徴とは一線を画している。孤発性 ALS では、ADAR2 の発現低下は徐々に起こるため、細胞死に至るまでの時間は比較的長いと考えられるが、この変異をもつ例で急速な経過をとるのは ADAR2 発現低下が急速に起こるためと考えられる。実際コンディショナル ADAR2 ノックアウトマウスの検討から、未編集型 GluA2 のみを発現する運動ニューロンの約半数は ADAR2 が Cre の発現によりノックアウトされてから 1 ヶ月以内に細胞死に陥る(5)。ただし、未編集型 GluA2 の発現以外の分子メカニズムが加わっている可能性も否定はできない。

本例で、FUS 陽性 BCI が ADAR2 陽性・陰性運動ニューロンのいずれにもみられたことは、BCI の存在は TDP-43 陽性封入体形成とは異なり、ADAR2 活性との関連(6, 7)に乏しく、細胞死には必ずしも必須でない可能性が示唆される。

FUS 同様、TDP-43 の異常も遺伝性 ALS(ALS10) および孤発性 ALS に共通に見られ、また他の遺伝性 ALS(*C9ORF72* 関連 ALS など)にも見られる。TDP-43 病理は異常な TDP-43 陽性細胞質封入体の形成と正常な局在部位である核からの喪失からなる。その形成メカニズムが、カルシウム依存性プロテアーゼであるカルパインによる易凝集性断片への切断によることが明らかになったが、孤発性 ALS では Ca<sup>2+</sup>透過性 AMPA 受容体発現によるカルパインの活性化によるのに対し、ALS10 では変異 TDP-43 のカルパインへの脆弱性昂進である(6)。共通した TDP-43 病理が見られていてもその分子メカニズムは異なる場合があることを示している(6)。

FUS 陽性封入体は *FUS/TLS* 遺伝子変異による ALS6 以外にも、一部の孤発性 ALS や FTLD にもみられる (FTLD-ALS-FUS)。TDP-43 同様に、*FUS/TLS* 関連 ALS と孤発性 ALS における FUS 陽性封入体形成・細胞死カスケードについても異なる分子メカニズムが働いている可能性があり、

今後の検討を要する。

遺伝性ALSに様々なRNA関連分子が関与していることが想定されている(8)。本報告を含め、これらと孤発性ALSに関与しているRNA関連タンパクであるADAR2との分子関連を示唆する知見が加わり(6,7)、異なる原因で生ずるALSが共通の細胞死カスケードに収斂する可能性が示された。

## E. 結論

本例の運動ニューロン死には孤発性ALSに見られるADAR2活性の低下が関与していると考えられ、この病態がFUS/TLS関連ALSに共通しているか如何かを検討することは、ALSの病因解明に役立つと思われる。

文献：

1. Aizawa H, et al: *J Neurol Sci* **176**, 109-113, 2000.
2. Conte A, et al: *Neuromuscular disorders : NMD* **22**, 73-75, 2012.
3. Hideyama T, et al: *Neurobiology of disease* **45**, 1121-1128, 2012.
4. Kawahara Y, et al: *Nature* **427**, 801, 2004.
5. Hideyama T, et al: *J Neurosci* **30**, 11917-11925, 2010.
6. Yamashita T, et al: *Nat Commun* **3**, 1307, 2012.
7. Aizawa H, et al: *Acta Neuropathol* **120**, 75-84, 2010.
8. Da Cruz S, et al: *Current opinion in neurobiology* **21**, 904-919, 2011.

(倫理面への配慮)

症例の解析は匿名化して行った。

## 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. Hideyama T, Yamashita T, Aizawa H, Tsuji S, Kakita A, Takahashi H, Kwak S: Profound downregulation of the RNA editing enzyme ADAR2 in ALS spinal motor neurons. *Neurobiol Dis* **45** : 1121-28, 2012.
2. Yamashita T, Tadami C, Nishimoto Y, Hideyama T, Kimura D, Suzuki T, Kwak S: RNA editing of the Q/R site of GluA2 in different cultured cell lines that constitutively express different levels of RNA editing enzyme ADAR2. *Neurosci Res* **73**:42-48, 2012.
3. Yamashita T, Hideyama T, Teramoto S, Kwak S: Abnormal processing of TDP-43 does not regulate ADAR2 activity in cultured cell lines. *Neurosci Res* **73**:153-160, 2012.
4. Hideyama T, Teramoto S, Hachiga K, Yamashita T, Kwak S: Co-occurrence of TDP-43 mislocalization with reduced RNA editing enzyme, ADAR2, in aged mouse motor neurons: implications for age-related acceleration of ALS. *PLoS One* **7**(8) e43469, 2012.
5. Yamashita T, Hideyama T, Hachiga K, Teramoto S, Takano J, Iwata N, Saido T, Kwak S: A role for calpain-dependent cleavage of TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis pathology. *Nat Commun* **3**:1307, 2012.

他 8 編

## 2. 学会発表

1. 郭 伸：「ALS 遺伝子治療の展望・経血管的ADAR2 遺伝子の導入」厚生労働省難治性疾患克服事業 神経変性疾患に関する研究班夏のワークショップ 東京 July 20, 2012.
2. Kwak S, Hideyama T, Yamashita T：「RNA editing and ALS」6<sup>th</sup> International symposium on nanomedicine. Matsue, Nov 29-Des 1, 2012.

他 12 編

## 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

## hypothenar MUNE への遠隔電場電位の混入：SBMA での検討

研究分担者 園生雅弘<sup>1)</sup>

研究協力者 東原真奈<sup>2)</sup>，山本知孝<sup>3)</sup>，河村 保臣<sup>1)</sup>，宇川義一<sup>4)</sup>，辻 省次<sup>3)</sup>

- 1) 帝京大学医学部神経内科，2) 防衛医科大学校神経内科，3) 東京大学神経内科，  
4) 福島県立医科大学神経内科

### 研究要旨

運動単位数推定 (MUNE)は下位運動ニューロン障害の定量的評価法であり、球脊髄性筋萎縮症 (SBMA)などの運動ニューロン病における有用な電気生理マーカーとして報告されてきたが、我々は先行研究において hypothenar MUNE の異常検出感度が予想よりも低いという問題点を指摘した。その理由として hypothenar MUNE における遠隔電場電位 (FFP) の混入による機序を想定し、本研究ではそれを明らかにすることを目的とした。対象は SBMA 患者 29 名と正常対照男性 27 名。先行研究で得られた単一の表面運動単位電位 (SMUP) を、波形パターンから ADM 由来の ADM SMUP、骨間筋など他の筋由来である non-ADM SMUP に分類した。その結果、健常群で  $68 \pm 22\%$  (17–100%)、SBMA 群では  $84 \pm 15\%$  (50–100%) の SMUP が non-ADM 由来であった。non-ADM SMUP は ADM SMUP よりもサイズが小さく、これらが健常群ではかなりが除外されるが、non-ADM SMUP も巨大化している SBMA 群ではほとんど採用されるため、診断感度が低下する可能性が考えられた。実際に MUNE 正常と判定された SBMA 患者 2 名ではすべてないしほとんどの記録 SMUP が non-ADM 由来であった。

### A. 研究目的

運動単位数推定 (motor unit number estimation, MUNE)は、運動単位数を定量的に評価することのできる電気生理学的手法のひとつである。複合筋活動電位 (compound muscle action potential, CMAP)振幅も下位運動ニューロン障害の定量的視標になりうるが、神経原性疾患においては、神経再支配が生じるため、感度が低いという問題点があった。そのため、MUNE は筋萎縮性側索硬化症や球脊髄性筋萎縮症 (spinal and bulbar muscular atrophy, SBMA) など運動ニューロン病における、有用な電気生理マーカーとして報告されてきた。一方、SBMA 患者における検討で、小指球筋における MUNE (hypothenar MUNE)は、我々が開発した表面筋電図を用いた定量評価法である Clustering Index 法より異常検出感度が低かった。その理由として、我々は hypothenar MUNE における遠隔電場電位 (far-field potentials, FFPs) の混入を想定した。本研究では、SBMA 患者の hypothenar

MUNE において、FFPs の混入がどのように影響しているかについて検討した。

### B. 研究方法

対象は SBMA 患者 29 名 ( $53.4 \pm 10.6$  歳)と健常男性 27 名 ( $51.8 \pm 16.3$  歳)で、SBMA の確定診断は遺伝子検査によりなされた。小指外転筋 (abductor digiti minimi, ADM)の筋腹 (belly)に記録電極、小指 DIP 関節に遠位基準電極 (distal reference, dref)、前腕に近位基準電極 (proximal reference, pref)をそれぞれ配置した。belly-dref, belly-pref, dref-pref の 3 チャンネル記録により FFP と近接電場電位の分離記録を試み、多点刺激 (multiple point stimulation, MPS)法による MUNE を施行した。少なくとも 15 箇所以上の刺激部位において、可能であれば 10 個以上の単一の表面運動単位電位 (surface motor unit potential, SMUP) を収集した。また、従来用いられている size criteria をもとに、routine 記録である belly-dref誘導から得られた SMUP において、

(1) 初期陽性波あり (2) 陰性波面積 $<25\mu\text{Vms}$  (3) 振幅 $<10\mu\text{V}$ の場合、解析から除外した。先行研究から得られた知見をもとに、得られた SMUP を波形パターンから小指外転筋由来の ADM SMUP、骨間筋など他の筋由来である non-ADM SMUP に分類した。

(倫理面への配慮)

本研究は東京大学倫理委員会にて承認され、また被検者に研究内容・目的を説明して同意を得た。

### C. 研究結果

健常男性から得られた 263 個の SMUP、SBMA 患者から得られた 207 個の SMUP を解析対象とした。健常男性の MUNE 値は  $350.6\pm 121.1$  (178.2–696.7) であり、SBMA 患者から得られた MUNE 値は  $54.4\pm 51.7$  (4.6–226.8) と、SBMA 患者で低かった。MUNE 値の対数表示の  $\pm 2.5$  SD を基準値として用いると、SBMA 患者 29 例中 27 例が異常となり、MUNE の異常検出感度は 93% であった。実際に採用された SMUP の波形を図 1 (正常対照者)、図 2 (SBMA 患者) に示す。

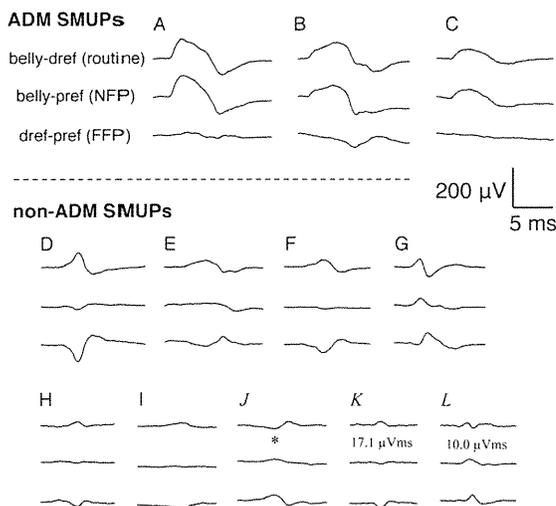


図 1: 正常対照群から得られた SMUPs

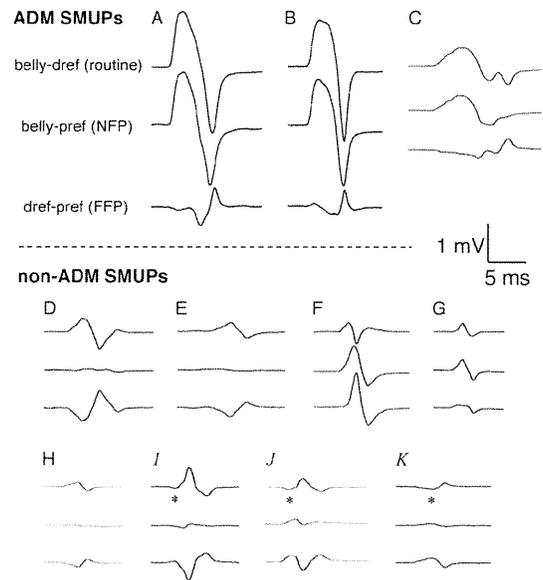


図 2: SBMA 群から得られた SMUPs

正常群、SBMA 患者群の両者において、SMUP はきわめて類似した波形パターンを示し、すなわち、ADM SMUP では belly-dref および belly-pref において、陰性成分からはじまる二相性波形を呈し、dref-pref 誘導 (FFP) では陽性波からはじまる小さな電位を呈するか、ほとんど欠如するという特徴的な波形パターンとなる。一方で、non-ADM SMUP のほとんどは骨間筋に由来するが、近接電場電位である belly-pref がほとんど欠如する結果、belly-dref と dref-pref が mirror image となる。ここで、健常群の ADM SMUP の面積を算出すると  $219.0\pm 131.3\mu\text{Vms}$  であり、non-ADM SMUP の面積は  $63.7\pm 48.5\mu\text{Vms}$  であった。一方で、SBMA 患者群においてはそれぞれ、 $1988.9\pm 999.4$  and  $222.7\pm 125.7\mu\text{Vms}$  であった。non-ADM SMUP の割合は健常群で  $68\pm 22\%$  (range 17–100%) で、SBMA 群では  $84\pm 15\%$  (50–100%) であった。健常群、SBMA 患者群の両群において non-ADM SMUP は ADM SMUP よりサイズが小さいが、SBMA 群では正常群よりも ADM SMUP と non-ADM SMUP の差が大きく、ADM SMUP は non-ADM SMUP の 8 倍以上になり、正常群では約 4 倍程度にとどまった。さらに non-ADM SMUP の割合が SBMA 群で正常群よりも大きかった。

ここで、正常対照群および SBMA 群において

得られた全 SMUP のヒストグラムを作成すると (図 3)、正常群ではより多くの小さな、non-ADM SMUP が size criteria により除外される結果、正常群においてのみ non-ADM SMUP area の平均が、全陰性 SMUP よりも採用 SMUP の方が高くなった。

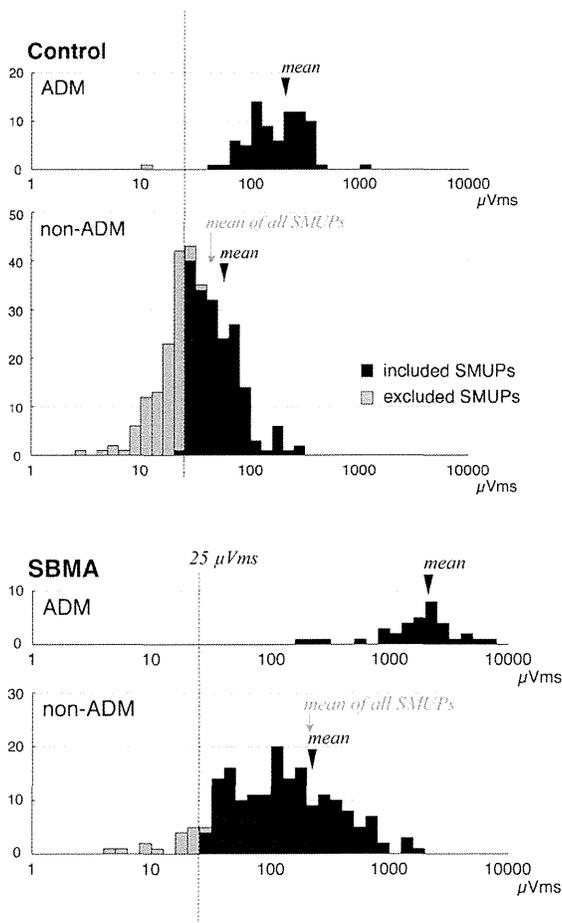


図 3: 正常対照群および SBMA 群から得られた全 SMUP のヒストグラム

#### D. 考察

従来、hypothenar MUNE において、小指球以外の遠方の筋からの SMUP は、初期陽性の SMUP ないしサイズの小さい SMUP を除外する現行の基準で除外できると信じられていたが、本研究で non-ADM 由来の SMUP の多くもルーチン誘導で陰性立ち上がり有し、ADM SMUP との鑑別は困難であることが示された。

正常対照群、SBMA 群両群とも、ADM SMUP よりも non-ADM SMUP の割合が多かった。その機序は不明だが、尺骨神経内の神経線維分布ある

いは骨間筋を支配する神経線維の数が多い可能性が考えられる。SBMA 群においては、正常対照群より non-ADM SMUP の割合が多かったが、その理由として、size criteria により正常対照群の non-ADM SMUP が多く除外されたためと考えられた。同じ理由で、正常対照群および SBMA 群共に ADM SMUP よりも non-ADM SMUP のサイズが小さかったが、SBMA 群の方がその差は顕著であった。

SBMA29 例中、MUNE で異常と判定できなかった 2 症例のうち、1 症例は全 SMUP が non-ADM 由来、1 症例は 10 SMUP のうち 9 個が non-ADM 由来であった。すなわち、たまたま non-ADM SMUP が主に記録されたことにより平均 SMUP 面積が小さくなり、MUNE value が高くなったと考えられた。また、size criteria により、正常群で多くの小さな non-ADM SMUP が除外されることも、hypothenar MUNE における感度低下の原因となると考えられた。

#### E. 結論

hypothenar MUNE においては、FFP に由来する non-ADM SMUP の混入が多くみられ、従来の方法では ADM SMUP との鑑別は困難である。また、従来の size criteria により、正常群でサイズの小さな non-ADM SMUP がより多く除外される結果、MUNE の診断感度は低下した。

これは hypothenar MUNE を代理マーカとして臨床に应用する場合の欠点であり、それを克服する手法の開発が必要である。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Higashihara M, Sonoo M, Yamamoto T, et al. Far-field potentials in hypothenar motor unit number estimation. Muscle Nerve, in print.

- 2) Kawamura Y, Sonoo M, Higashihara M, et al.  
Origin of surface MUPs in hypothenar motor unit  
number estimation. Muscle Nerve, in print.
- 3) Sonoo M, Higashihara M, Kobayashi M. Reply.  
Muscle Nerve, 46: 143-144, 2012.
- 4) Higashihara M, Sonoo M, Imafuku I, et al.  
Fasciculation potentials in ALS and the diagnostic  
yield of the Awaji algorithm. Muscle Nerve, 45:  
175-182, 2012.
- 5) Hokkoku K, Sonoo M, Higashihara M, et al. EMGs  
of the flexor digitorum profundus muscle in inclusion  
body myositis. Muscle Nerve, 46: 181-186, 2012.

## 2.学会発表

- 1) Higashihara M, Sonoo M, Kobayashi M, et al.  
Clustering of discharges of fasciculation potentials.  
59th annual scientific meeting of American  
association of neuromuscular and electrodiagnostic  
medicine, Orlando, 10, 2012.
- 2) Kawamura Y, Sonoo M, Higashihara M et al.  
Origins of single MUPs in hypothenar MUNE reveal  
its limitation. XXth International SFEMG and QEMG  
Course and XIIth QEMG Conference, Istanbul, 6,  
2012.
- 3) Sonoo M, Stalberg E. Size Index revisited: proposal  
of the revised Size Index (rSI). XXth International  
SFEMG and QEMG Course and XIIth QEMG  
Conference, Istanbul, 6, 2012.

## H.知的所有権の取得状況（予定を含む）

特になし

## hypothenar MUNE の表面 MUP の起源

研究分担者 園生雅弘<sup>1)</sup>

研究協力者 河村保臣<sup>1)</sup>，東原真奈<sup>2)</sup>，千葉隆司<sup>1)</sup>，畑中裕己<sup>1)</sup>

1) 帝京大学神経内科，2) 防衛医科大学神経内科

### 研究要旨

運動単位数推定（MUNE）は下位運動ニューロン障害の定量的評価法である。尺骨神経刺激による hypothenar MUNE に遠隔電場電位（FFP）が寄与する可能性が指摘されている。我々は先行研究において、その FFP の起源としては骨間筋など小指球以外の手内筋の寄与が大きいことが示された。しかしこの報告ではそれぞれ表面運動単位電位（SMUP）の正確な起源筋は同定されていない。本研究では、SMUP の起源筋を、尺骨神経支配の手内筋それぞれに記録電極を装着することによって詳細に同定することを目的とした。対象は 27～54 歳の健常者の 20 例。尺骨神経支配各筋の筋腹上に探査電極を設置、前腕を近位基準電極（pref）として導出した。各筋での導出で最大の陰性波が得られる筋を SMUP の起源とした。その結果、hypothenar MUNE の SMUP のうち、ADM 起源は 39%にとどまり、non-ADM 起源が過半数であった。ADM SMUP に比べて、non-ADM SMUP ははるかに小さい。小さい non-ADM SMUP の多量の混入は hypothenar MUNE の意味づけを不明確にする可能性がある。

### A. 研究目的

運動単位数推定（MUNE）は下位運動ニューロン障害の定量的評価法として広く用いられている。特に、尺骨神経刺激による hypothenar MUNE は、多点刺激法が施行しやすいこともあり、汎用されている。近年、尺骨神経刺激の複合筋活動電位（CMAP）には遠隔電場電位（FFP）が寄与することが明らかとなった。その FFP の起源としては骨間筋など小指球以外の手内筋の寄与が大きいことが示されている。hypothenar MUNE にも FFP が寄与する可能性が指摘されていたが、このことを実際に検討した報告はなかった。我々は先行研究（Higashihara et al., in print）において、健常者と球脊髄性筋萎縮症（SBMA）患者を対象に 3 チャンネル記録での hypothenar MUNE を検討し、記録された表面運動単位電位（SMUP）をその波形パターンから小指外転筋（ADM）由来、それ以外の筋由来（non-ADM）に分類した。その結果、全記録 SMUP のうち、健常者では 70%、SBMA 患者で 83%が non-ADM

由来であったことを見出した。しかしこの報告では各 SMUP の正確な起源筋は同定されていない。本研究では、SMUP の起源筋を、尺骨神経支配の手内筋それぞれに記録電極を装着することによって詳細に同定することを目的とした。

### B. 研究方法

対象は 27～54 歳の健常者 20 例。ADM の他、尺骨神経支配である他の小指球筋（other hypothenar）、背側・掌側骨間筋（IOD1～4、IOP1～3）、母指内転筋、それぞれの筋腹上、及びルーチン誘導の基準電極である第 5 指 DIP に探査電極を置き、前腕遠位に共通の近位基準電極（pref）を置いた。多点刺激法による hypothenar MUNE を通常の方法で施行し、ルーチン誘導で negative area 25 $\mu$ Vms 未満、negative amplitude 10 $\mu$ V 未満、ないし、positive onset の SMUP は除外した。近位基準電極誘導で最大陰性波が記録される筋が、各 SMUP の起源に相当するものとして同定を行い、記録された SMUP の筋別の起源、その

面積を解析し、さらに ADM と non-ADM に分けて集計した。また、ADM と近位基準電極を結んだ近接電場電位 (NFP) で SMUP を記録する near-field MUNE 法の有用性を我々は先行研究で示唆している。この施行可能性をみるために、ADM-pref 誘導で記録される near-field SMUP についても解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は帝京大学倫理委員会にて承認され、また被検者に研究内容・目的を説明して同意を得た。

### C. 研究結果

20名の被検者から合計460 SMUPsが記録され、うち228 SMUPsが採用された。残りの232 SMUPsのうち、101はサイズが小さいため、131はpositive onsetのために除外された。図1に記録されたSMUPの筋別の起源の内訳を示す。

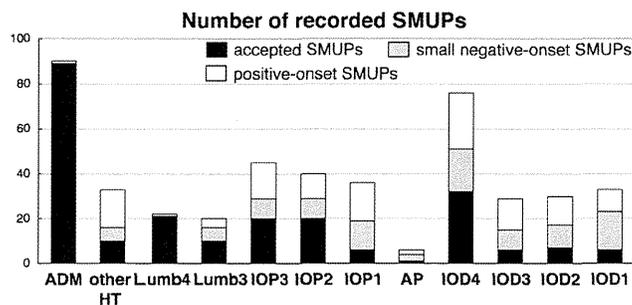


図1: 20例で記録されたSMUPすべてについて、各由来筋別の数を集計したグラフ

採用されたSMUPsのうち39.0%がADM由来、61.0%がnon-ADM由来であった。Other hypothenarを併せても、小指球筋由来SMUPは43.4%にとどまった。ADM以外では、IOD4 (14.0%)、Lumb4(9.2%)、IOP3 (8.8%)、IOP2 (8.8%)など手の尺側半分の固有手筋に由来するSMUPが多かった。ADM、Lumb4以外では小さいないし陽性の除外SMUPがかなりみられた。除外SMUPも含めるとADM由来は19.6%に低下した。各個人でみると、ADM SMUPの割合は18-73%と様々であった。

図2に筋別のSMUP平均面積を示した。ADM SMUPは他筋に比べて面積が際立って大きく、他

筋ではLumb4、Lumb3がやや大きい、他はADMの1/4ないしそれ以下であった。

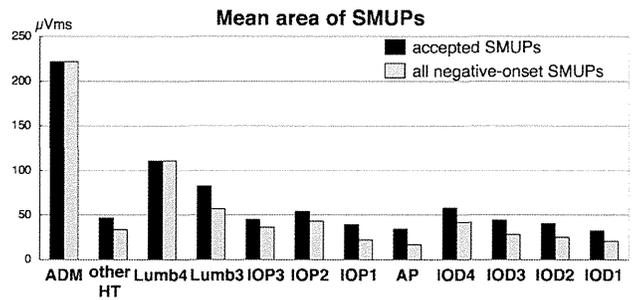


図2: SMUP areaの各筋別の平均を集計したグラフ

図3にSMUP面積のヒストグラムを示した。これでみると、ADM SMUPとnon-ADM SMUPにはかなり重なりが見られた。

#### A: SMUPs from standard MUNE

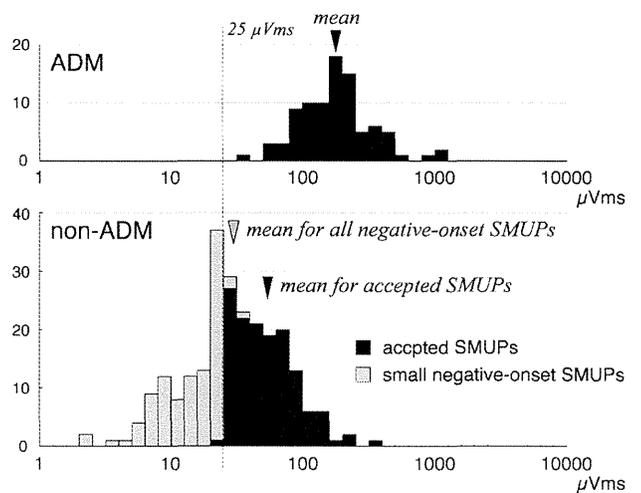


図3: ADMとnon-ADM SMUPそれぞれについてのSMUP面積のヒストグラム

Near-field SMUPについて見ると、non-ADM由来のSMUPの多くは、ADM-pref誘導の波形が極めて小さいため、near-field SMUPでのADMとnon-ADM SMUPの判別は、ルーチン誘導よりも良好であり、68 μVmsをカットオフとすると、感度93.3%、特異度97.7%が得られた。

### D. 考察

これまでの、hypothenar MUNEにおいて遠方の筋からのSMUPは、positive onsetや小さいSMUPを除外することで適切に除くことができると信じられていた。しかし、今回の検討で、ADMあるいは小指球以外の筋由来のSMUPでも、

陰性の立ち上がりを有して、基準を満たす場合が多くあり、ルーチン誘導のみでは ADM SMUP との鑑別が困難であることが示された。

小さい non-ADM SMUP の多量の混入のために、hypothenar MUNE にはいくつかの問題点が生ずる。第一に、先行研究でも示されたように、より小さい non-ADM SMUP は健常者では面積基準によってかなりが除外されるが、神経原性疾患ではこれらも大きくなって基準を満たすようになるため、結果的に健常者と神経原性患者の差が縮まって感度が低下する可能性がある。第二に non-ADM と ADM SMUP の記録される割合は個人によって様々であり、この偶然によって MUNE の値が大きく左右されて信頼性が低下する。第三に、MUNE の値の意味付けが不明確となる。記録される SMUP の過半数は小指球の外由来の筋なので、hypothenar MUNE とはもはや言えない。多くの小さい non-ADM SMUP は除外されるので、すべての尺骨神経支配小手筋に含まれる運動単位数でもない。その中間の何かということになる。

このような MUNE の問題点を克服し、より信頼度の高い運動ニューロン疾患評価のための電気生理学的代理マーカを開発することが急務である。near-field MUNE はその候補となり得る。

## E. 結論

小さい non-ADM SMUP の多量の混入は hypothenar MUNE の意味づけを不明確し、その信頼性を低下させる。

## F. 健康危険情報

特になし

## 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) Kawamura Y, Sonoo M, Higashihara M, et al. Origin of surface MUPs in hypothenar motor

unit number estimation. Muscle Nerve, in print.

2) Higashihara M, Sonoo M, Yamamoto T, et al. Far-field potentials in hypothenar motor unit number estimation. Muscle Nerve, in print.

3) Sonoo M, Higashihara M, Kobayashi M. Reply. Muscle Nerve, 46: 143-144, 2012.

4) Higashihara M, Sonoo M, Imafuku I, et al. Fasciculation potentials in ALS and the diagnostic yield of the Awaji algorithm. Muscle Nerve, 45: 175-182, 2012.

5) Hokkoku K, Sonoo M, Higashihara M, et al. EMGs of the flexor digitorum profundus muscle in inclusion body myositis. Muscle Nerve, 46: 181-186, 2012.

## 2. 学会発表

1) Kawamura Y, Sonoo M, Higashihara M et al. Origins of single MUPs in hypothenar MUNE reveal its limitation. XXth International SFEMG and QEMG Course and XIIth QEMG Conference, Istanbul, 6, 2012.

2) Sonoo M, Stalberg E. Size Index revisited: proposal of the revised Size Index (rSI). XXth International SFEMG and QEMG Course and XIIth QEMG Conference, Istanbul, 6, 2012.

3) Higashihara M, Sonoo M, Kobayashi M, et al. Clustering of discharges of fasciculation potentials. 59th annual scientific meeting of American association of neuromuscular and electrodiagnostic medicine, Orlando, 10, 2012.

4) 河村保臣, 園生雅弘, 東原真奈他 hypothenar MUNE において記録される single MUP の起源について. 第 42 回日本臨床神経生理学会学術大会, 東京, 11, 2012.

## H. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

特になし

## 筋萎縮性側索硬化症における fasciculation potential ; その出現様式および生命予後との関連

研究協力者 清水俊夫<sup>1)</sup>

藤巻由実<sup>1)</sup>, 榎本 雪<sup>2)</sup>, 宇川義一<sup>2)</sup>, 松原四郎<sup>1)</sup>

1) 東京都立神経病院 脳神経内科, 2) 福島県立医科大学神経内科

### 研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）患者 85 例において、針筋電図にて complex fasciculation potential（CFP）を検出し、その出現頻度と生命予後との相関を検討した。CFP は筋力が正常か軽度の筋力低下の筋に高率に出現し、発症部位にかかわらず上肢筋に高率に出現した。CFP の有無による 2 群間では、生存曲線に有意な差が認められ（log-rank test ;  $p=0.0071$ , Cox ハザード比 2.431）、CFP を示す筋の数が多ければ多いほど生命予後は不良であった。CFP は ALS における予後規定因子の一つであることが示唆された。

### A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症（ALS）において、線維束性筋攣縮（fasciculation）は疾患特異的とも言える所見であり、病態生理を反映する重要な徴候ととらえられている。また ALS の電気診断においても、線維束自発電位（fasciculation potential ; FP）は重要な位置をしめており、近年発表された新たな診断基準（Awaji 基準）においても診断率を上げる特徴的な所見と見なされている。特に Awaji 基準においては、多相性の複雑な波形をし、かつ不安定な complex FP（CFP）の診断的意義が強調されている。本研究では、ALS 患者の電気診断における FP の出現頻度、出現分布を FP の形態に焦点を合わせて検討するとともに、FP と ALS の生命予後との関連を検討した。

### B. 研究方法

対象は、都立神経病院・福島県立医大病院にて revised El Escorial 診断基準で clinically possible 以上と診断された ALS もしくは上位運動ニューロン徴候のない progressive muscular atrophy（PMA）と診断された患者 85 例（男性 41 例、女性 44 例、平均年齢 68 歳、39～88 歳）。

初発症状による分類は、球麻痺型 23 例、上肢型 36 例、下肢型 24 例、呼吸発症型 1 例、体幹筋発症型 1 例である。針筋電図は 2010 年 1 月～2012 年 8 月に施行された。一側の上腕二頭筋（BB）、撓側手根屈筋（ECR）、第一背側骨間筋（FDI）、内側広筋（VM）、前脛骨筋（TA）、傍脊柱筋（PSM）、上部僧帽筋（TPZ）を被検筋とし、安静時放電の有無に焦点をあてて解析した。安静時放電は、fibrillation potential（fib）、positive sharp wave（psw）、FP の 3 つに注目し、一筋につき最低 60 秒以上の観察を行った。FP は、5 相以上の CFP と 4 相未満の simple FP（SFP）の 2 つに分類した。施行筋別の FP・CFP の出現頻度、fib/psw との関連、発症部位や筋力との関連を検討した。また endpoint を死亡もしくは人工呼吸器装着時とし、発症から endpoint までの期間と、FP・CFP の出現頻度との相関を Kaplan-Meier 生存曲線、log-rank test および Cox 比例ハザードモデルにて解析した。なお打ち切り日は 2012 年 9 月 30 日に設定した。

検査はすべて ALS の診断および病状評価目的の日常診療行為として行われ、検査の同意は

すべての患者から口頭で得た。また本研究は、東京都立神経病院および福島県立医大の倫理委員会の承認を得て行われた。

### C. 研究結果

被検者全体での FP の出現頻度は、FP なしが 8 例 (9.4%)、SFP のみの症例が 30 例 (35.3%)、CFP が一筋以上で認められた症例が 47 例 (55.3%) と、半数以上の症例で CFP が検出された。施行筋別の FP の出現頻度は、BB 65%、ECR 53%、FDI 60%、VM 29%、TA 41%、PSM 11%、TPZ 46% であった。また CFP の出現頻度は、BB 40%、ECR 29%、FDI 29%、VM 11%、TA 16%、PSM 2%、TPZ 4% であり、FP、CFP とともに下肢よりも上肢に出現しやすい傾向を認めた。

各患者での、FP もしくは CFP の出現頻度 (被検筋の何%に出現したか) と、発症から検査日までの期間との間には、統計学的に有意な相関は認められなかったが、80%以上の筋で FP・CFP を認めた症例はいずれも発症から 2 年以内の症例であった。

筋力と自発電位の出現率との関連については、fib/psw はいずれの筋でも筋力低下が強ければ強いほど出現率は増大したが、FP、CFP は、正常な筋力の筋か、軽度の筋力低下の筋において高率に認められ、fib/psw の出現頻度との間に有意差を認めた。

初発部位と自発電位の出現率との関連については、球麻痺発症型・上肢発症型では fib/psw、FP・CFP とともに上肢で最も出現率が高かった。一方、下肢発症型では、fib/psw は下肢に高率であったが、FP・CFP は上肢に高率に認められ、出現様式に乖離を認めた。

生存曲線の解析では、FP なしの群 (8 例) と、FP ありの群 (77 例) との間には、有意な差は認められなかった。一方、CFP なしの群 (47 例) と、CFP が一筋でも認めた群 (38 例) との間では、有意な差が認められ、CFP を認めた群での生命予後が不良であった (log-rank test,  $p=0.0071$ ,

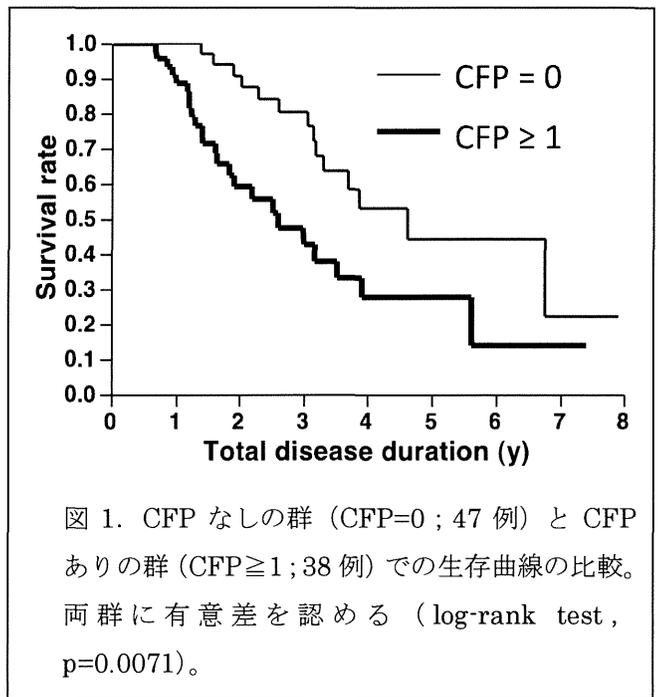


図 1. CFP なしの群 (CFP=0 ; 47 例) と CFP ありの群 (CFP $\geq$ 1 ; 38 例) での生存曲線の比較。両群に有意差を認める (log-rank test,  $p=0.0071$ )。

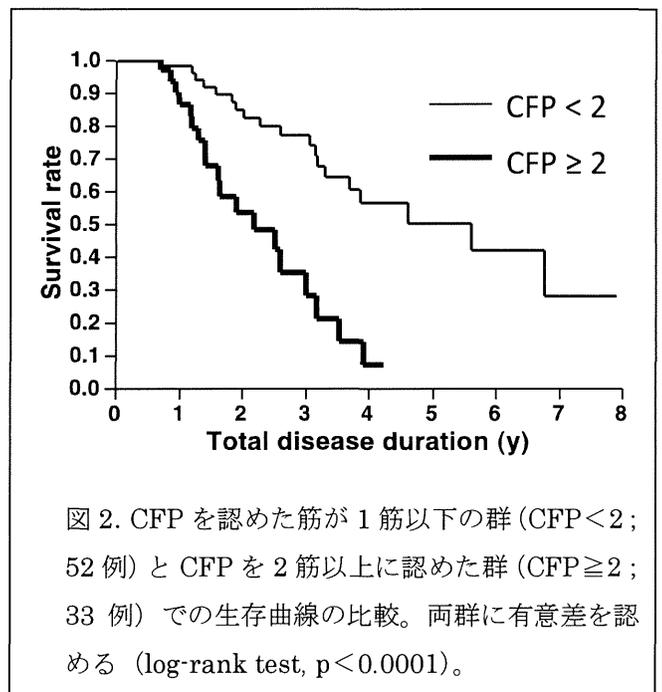
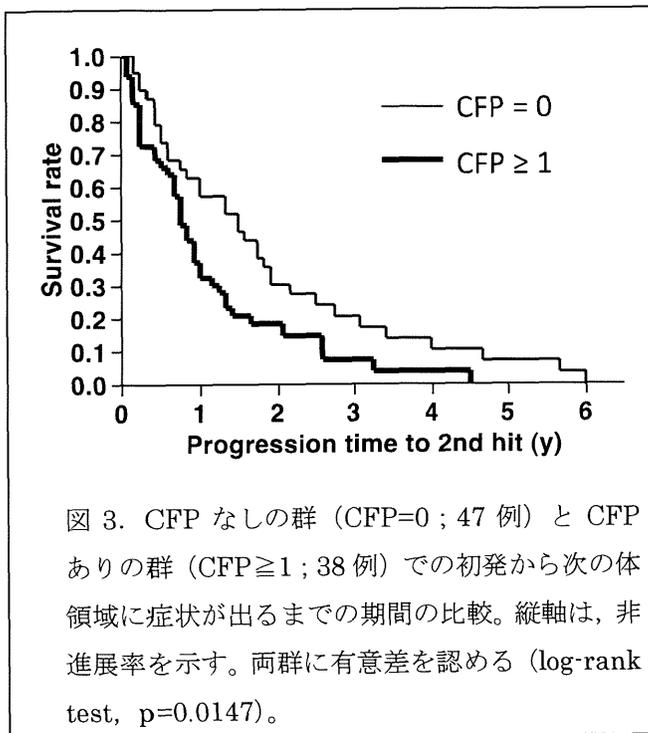


図 2. CFP を認めた筋が 1 筋以下の群 (CFP<2 ; 52 例) と CFP を 2 筋以上に認めた群 (CFP $\geq$ 2 ; 33 例) での生存曲線の比較。両群に有意差を認める (log-rank test,  $p<0.0001$ )。

Cox ハザード比 2.431, 95% CI 1.264–4.853, 図 1)。その傾向は、CFP が 2 筋以上認めた群と 1 筋以下の群での比較でも同様であった (log-rank test,  $p<0.0001$ , 図 2)。また CFP の数が増えれば増えるほど、予後が悪化する有意な傾向を認め、fib/psw の出現とは独立した現象であった。CFP あり・なしの群の endpoint までの期間はそれぞれ 1.5 年 (IQR 1.2–2.6), 3.1 年 (IQR 1.2–2.6) であり、両群で有意差



を認めた (Mann-Whitney U test, p=0.0017)。次に、初発から次の体領域へ症状が進展するまでの期間の解析では、CFP を認めない群と CFP が 1 筋以上にて認めた群間において、Kaplan-Meier 曲線において有意な差を認め、CFP が多い症例ほど症状の進展が速い傾向であった (図 3)。

CFP あり・なしの 2 群の間に、性別、発症年齢、発症部位、肺活量には有意な差は認められず、また多変量解析でも交絡因子は認めなかった。

#### D. 考察

Fasciculation は ALS にかなり特有の現象として知られているが、本研究結果より、筋電図上確認される complex form を呈する FP が、生命予後を規定する因子であることがあらためて確認された。ALS の診断における CFP の重要性については前述したとおりであるが、CFP が ALS の病態に深く関わっている現象であることが強く示唆される。

ALS における FP の発生起源については、諸説あるが、一般的には軸索の最も遠位部から発生していると考えられており、病初期に起きる軸索膜の興奮性の変化によるものであることが推察さ

れている。今回の研究では、FP の出現頻度と、検査までの罹病期間との間に相関は認められなかった。通常針筋電図は初回診断時のみ行われることが多く、経時的変化については未解明であるが、今回の結果からは FP は、筋が残存している限り病期を通じて出現している可能性が高い。しかしながら、筋力との関係では、筋力低下が軽いほど FP・CFP の出現率は高く、明らかに fib/psw との出現頻度とは異なっていた。このことは、やはり fasciculation は筋の変性の初期の段階もしくは変性に先立つ現象であることを示している。

もう一点興味深いことは、FP・CFP が発症部位にかかわらず上肢筋に比較的高頻度に認められたことである。健常人の軸索膜の興奮性が各神経によって異なっていることが報告されており、下肢筋と上肢筋では、運動機能や運動単位の発火頻度が異なっていると考えられるが、それが FP の出現率に影響を与えている可能性はある。最も巧緻運動が要求される単母指外転筋 (APB) や、FDI のほうが小指外転筋 (ADM) よりも軸索膜の興奮性が高く、それが ALS の split hand の発症機序に関わっていると推察されている。同様なことが上肢神経と下肢神経に起きていても不思議ではない。

SFP と CFP の病態意義に差がどれだけあるかは未解明である。CFP を認める患者の多くは同時に SFP も有しており、その発生機序自体に大きな差があるとは思いがたい。しかし、CFP の数が多いほど予後が悪いことを示唆する本研究結果は、CFP が病態に深く関わっていることを示唆している。FP が complex form になるために以下の現象が起きていることが推察される。(1) Distal motor axon の膜電位の不安定性により blocking や jitter が起きるため多相性になる。(2) FP の発生部位が axon branch 内であり、発火が逆行し隣接する branch を次々と発火させるため、筋線維の収縮に temporal dispersion がおき、多相性にな

る。(3) Motor branch 内での発火が多源性もしくは反復性に起きている。(4) 不完全な再支配 (sprouting) のために位相のずれが起きる。一般的に ALS で見られる FP は、Kennedy 病などの他の神経疾患とは違い、100～500 $\mu$ V ほどの低振幅であることがほとんどであることを考えると、十分に完成された再支配によるものであるとは考えにくい。CFP は予後不良を示唆する因子であったということは、CFP は再支配の結果ではなく、軸索膜の不安定性に起因すると考えたほうが自然であろう。Awaji 基準では、CFP も不安定となりうると記載されているが、今回は不安定性の評価はできなかった。CFP であってもより jitter や block を伴うより不安定なものを有する患者のほうが、予後が悪い可能性は十分に考えられ、今後の検討課題である。

#### E. 結論

ALS における complex fasciculation potential は、他の因子とは独立した予後規定因子である可能性がある。発症機序として、most distal axon や sprout における軸索膜の不安定性によるものであることが推察され、病態に関連した現象といえる。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

現在投稿中。

##### 2. 学会発表

藤巻由実, 清水俊夫ほか. 筋萎縮性側索硬化症における fasciculation potential と生命予後との関連. 第 53 回日本神経学会学術大会, 2012 (5) 東京.

清水俊夫. ALS における fasciculation potential の臨床的意義 (シンポジウム). 第 42 回日本臨

床神経生理学会学術大会, 2012 (11) 東京.

#### 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。

## ALS における酸化ストレスセンサーの機能不全

研究分担者 阿部康二<sup>1)</sup>

研究協力者 佐藤恒太<sup>1)</sup>, 山下徹<sup>1)</sup>, 池田佳生<sup>1)</sup>

1) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 脳神経内科学

### 研究要旨

〔目的〕 筋萎縮性側索硬化症(ALS)は選択的運動ニューロン変性により四肢筋力低下、球麻痺、呼吸筋麻痺を来し死に至る致命的な疾患である。G93A 変異を有するヒト SOD1 遺伝子を導入したマウスは選択的な運動神経細胞の脱落を示す ALS のモデルマウスであるが、その病態については十分には解明されていない。一方で、これまでの報告から ALS モデルマウスでも ALS 患者でも酸化ストレスが病態に関連していることが示唆されている。酸化ストレスセンサーである Keap1 は Nrf2 のユビキチン化を通じて Nrf2 の活性化を阻害しているが、酸化ストレス下では Keap1 による Nrf2 のユビキチン化が阻害され Nrf2 の発現量が増加し抗酸化ストレス作用を示すと考えられている。そこで我々は酸素ストレスセンサー蛋白である Keap1/Nrf2 システムについて ALS モデルマウスの脊髄での検討を行い、野生型のマウスとの比較検討を行った。

〔方法〕 ALS モデルマウスとして SOD1 (G93A 変異) トランスジェニック (Tg) マウスおよびコントロールとして同週同腹子の野生型 (WT) を用いた。Tg マウスは 14 週齢頃から運動機能の低下がみられ、19 週頃に死亡する。そのため、10 週齢を ALS 発症前モデル、14 週を発症初期モデル、18 週を ALS 末期モデルとした。各固体から採取した腰髄の切片を作成し、免疫組織染色を行い、Keap1、Nrf2 の発現量を検討した。また腰髄を中心管に沿って腹側部と背側部に切り分け、ウエスタンブロット解析を行い、発現量の変化を調べた。

〔結果および考察〕 免疫組織染色の結果、Tg マウスでは腰髄の前角の運動神経細胞体内における Keap1 は発症前から軽度低下傾向がみられ、病期の進行に従い低下が顕著であった。しかしグリア細胞内では Keap1 の免疫染色に病期に従った低下傾向は見られなかった。Keap1 とは反対に、Nrf2 は病期の進行に従い運動神経およびグリア細胞体および核内への蓄積がみられた。腰髄腹側のウエスタンブロット解析では発症早期から WT マウスと比較して有意な Keap1 のタンパク量の低下、Nrf2 のタンパク量の増加が認められた。以上より ALS の病態には酸化ストレスの関連が疑われた。

〔結論〕 ALS モデルマウスにおいては酸化ストレスセンサーである Keap1/Nrf2 システムの活性化がみられ、その病態との関連が疑われた。

### A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症(ALS)は選択的運動ニューロン変性により四肢筋力低下、球麻痺、呼吸筋麻痺を来し死に至る致命的な疾患である。G93A 変異を有するヒト SOD1 遺伝子を導入したマウスは選択的な運動神経細胞の脱落を示す ALS のモデルマウスであるが、その病態については十分には解明されていない。一方で、これまでの報告から ALS モデルマウスでも ALS 患者でも酸化ストレスが病態に関連し

ていることが示唆されている。酸化ストレスセンサーである Keap1 は Nrf2 のユビキチン化を通じて Nrf2 の活性化を阻害しているが、酸化ストレス下では Keap1 による Nrf2 のユビキチン化が阻害され Nrf2 の発現量が増加し抗酸化ストレス作用を示すと考えられている。そこで我々は酸素ストレスセンサー蛋白である Keap1/Nrf2 システムについて ALS モデルマウスではその機能障害があるのではないかという仮説を立て、その検証のために実験を行った。

## B.研究方法

[実験動物]

ALS モデルマウスとして SOD1 (G93A 変異) トランスジェニック (Tg) マウスおよびコントロールとして同週同腹子の野生型 (WT) を用いた。Tg マウスは 14 週齢頃から運動機能の低下がみられ、19 週頃に死亡する。そのため、10 週齢を ALS 発症前モデル、14 週を発症初期モデル、18 週を ALS 末期モデルとした。

[Western blotting]

10、14、18 週の Tg マウスおよび WT マウスを麻酔下に、1X PBS を左心室から灌流し、腰髄前角を取り出した。得られた脊髄は腹側と背側と切り分けただ上で、ホモジナイズし 12,000rpm で 10 分遠心後上清を取り、サンプル調整を行った。Keap1 と Nrf2、および  $\beta$ -tubulin に特異的な抗体を用い Western blotting を行った。

[免疫組織染色]

10、14、18 週の Tg マウスおよび WT マウスを麻酔下に、1X PBS を左心室から灌流し、その後腰髄を取り出した。取り出した脊髄は 20 $\mu$ m の薄片切片にし、Keap1、Nrf2 に特異的な抗体を用い免疫組織染色を行った。

(倫理面への配慮)

遺伝子組換え動物実験には、遺伝子組換え実験に関する法令を遵守し、岡山大学の動物実験委員会の許可を受けた。

## C.研究結果

[Western blotting]

図 1 に示したように前角ニューロンが多く含まれる腹側では WT と比較して発症前からの Keap1 の低下傾向と 14 週からの有意な低下を認めたが、背側では有意差は見られなかった。また Nrf2 については腹側では Keap1 に遅れて 14 週から WT と比較して有意な発現増加を認めた。また背側では 18 週になって有意な増加がみられた。

[免疫組織染色]

図 2 に示したように、Keap1 は Tg マウスにおい

ては神経症状発症前の 10 週からニューロンでの集積が低下し、その後も経時的に低下した。グリア細胞では Keap1 の集積はニューロンほど変化は見られなかった。また Nrf2 については WT では細胞質内に優位に集積を認めているのに対して ALS モデルマウスでは 10W から核内と思われる部位の集積が見られ、染色性も WT より強い傾向がみられた。またグリア細胞では 14 週から増加しており、染色性はニューロンと同程度であった。

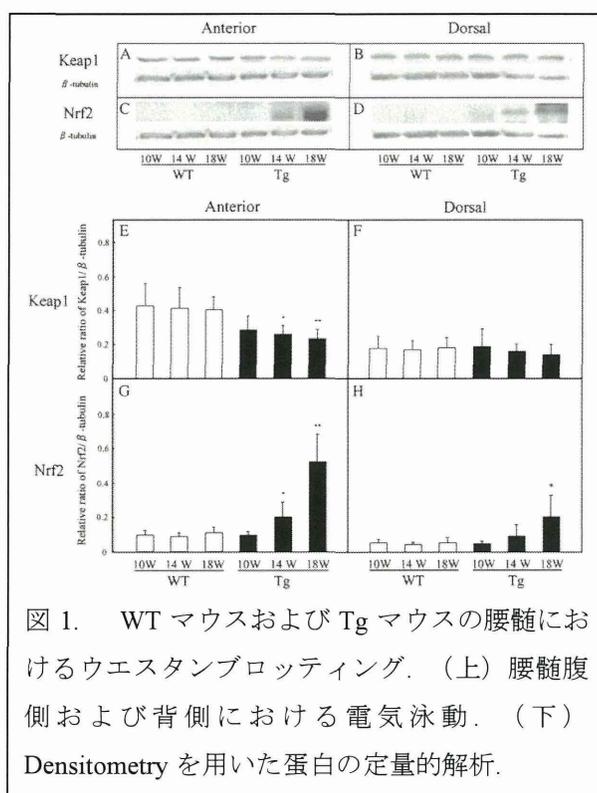


図 1. WT マウスおよび Tg マウスの腰髄におけるウエスタンブロッティング. (上) 腰髄腹側および背側における電気泳動. (下) Densitometry を用いた蛋白の定量的解析.

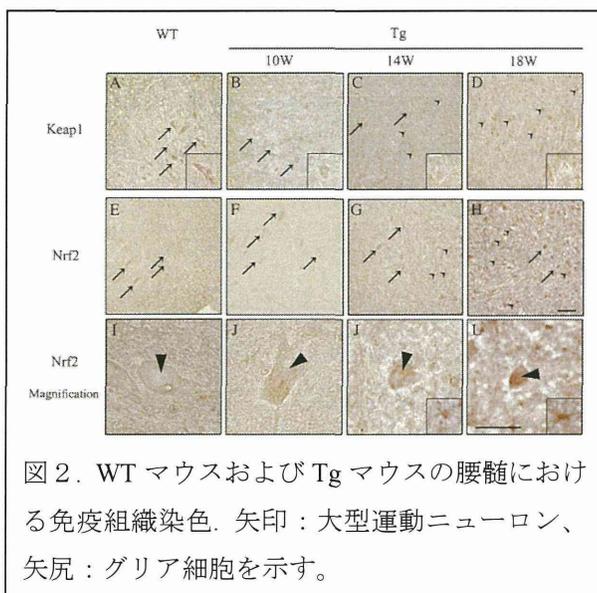


図 2. WT マウスおよび Tg マウスの腰髄における免疫組織染色. 矢印: 大型運動ニューロン、矢尻: グリア細胞を示す。

## D. 考察

本研究では ALS モデルマウスにおける Keap1/Nrf2/ARE システムの継時的な変化とその分布について初めて検討した。Tg マウスでは腰髄で神経症状発症前の10週から特にニューロンでの Keap1 の反応が見られたが、Nrf2 の集積はグリアのそれと比較して高度ではなかった。これまでの報告から、SOD1 変異を有する家族性 ALS の神経細胞や、G93A SOD1 を導入した NSC34 細胞において、Nrf2 の mRNA の低下が報告されており、酸化ストレスセンサーの機能不全が ALS の病態に関連している可能性が示唆された。

## E. 結論

ALS モデルマウスの脊髄において、酸化ストレスセンサーの継時的な変化について初めて報告した。この研究は ALS だけではなく、酸化ストレスが関連すると考えられているパーキンソン病その他の神経変性疾患への応用が期待される。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Impaired antioxidative Keap1/Nrf2 system and the downstream stress protein responses in the motor neuron of ALS model mice. Mimoto T, Miyazaki K, Morimoto N, Kurata T, Sato K, Ikeda Y, Abe K. Brain Res. 2012;1446: 109-18.

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的所有権の取得状況（予定を含む）

なし

## 新しいALS/SCA crossroad mutation Asidanの新しい嚥下評価

研究分担者 阿部康二<sup>1)</sup>

研究協力者 山下 徹<sup>1)</sup>，佐藤恒太<sup>1)</sup>，森本展年<sup>1)</sup>，池田佳生<sup>1)</sup>，村田尚道<sup>2)</sup>

1) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 脳神経内科学

2) 岡山大学歯学部 スペシャルニーズ歯科センター

### 研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）をはじめとする運動ニューロン病において、嚥下機能低下は栄養状態悪化や誤嚥等を引き起こすことから、その機能の適切な評価は臨床上重要である。近年我々が報告したAsidanは、脊髄小脳変性症様の小脳障害に加え、ALSに類似した運動ニューロン障害を呈する新たなタイプの遺伝性神経変性疾患であり、舌萎縮が高度に認めるのにも関わらず、嚥下障害が比較的軽度であることが分かってきた。そこで我々はその理由を明らかにするため、ALS患者20名、球脊髄性筋萎縮症（SBMA）患者6名、Asidan患者12名、健常者10名を対象として、嚥下造影、舌圧測定、インピーダンス咽頭図を用いて嚥下機能を評価、検討した。嚥下運動全般を評価する嚥下造影検査ではAsidan患者では嚥下障害の頻度が比較的少なかった。口腔期を選択的に評価できる舌圧測定では、ALSとSBMAは舌圧低下を認めた一方Asidan患者では有意な低下は認めなかった。咽頭期を評価するインピーダンス咽頭図ではそれほど明らかな相関は認めなかった。以上のことからAsidan患者では舌萎縮はあるものの舌圧の低下が軽度であり、このことが嚥下機能が低下しない大きな原因と考えられた。

### A. 研究目的

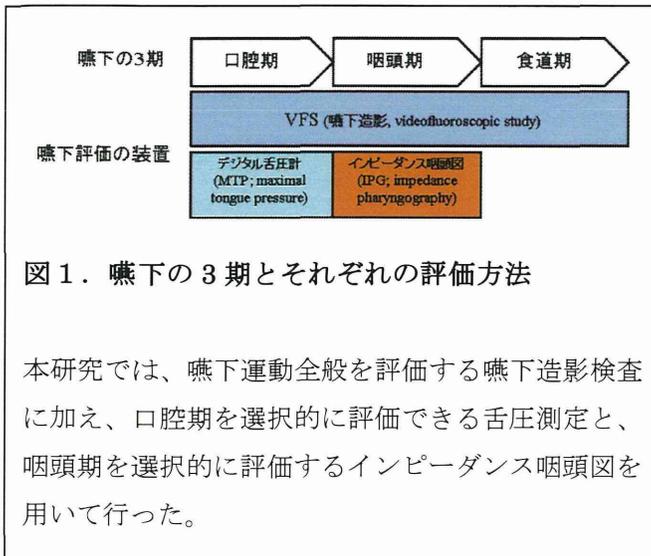
嚥下運動は口腔期、咽頭期、食道期の3つの段階に分けることができる（図1）。また筋萎縮性側索硬化症（ALS）をはじめとする運動ニューロン病において、嚥下機能低下は栄養状態悪化や誤嚥等を引き起こすことから、その機能の適切な評価は臨床上非常に重要である。近年我々が報告したAsidanは、脊髄小脳変性症様の小脳障害に加え、ALSに類似した運動ニューロン障害を呈する新たなタイプの遺伝性神経変性疾患である。これまでの検討から、Asidanは罹病期間が長く、かつ舌萎縮が高度に認めるのにも関わらず、嚥下障害が比較的軽度であることが分かってきた。そこで我々はその理由を明らかにするため、Asidan患者と他運動ニューロン疾患患者における嚥下障害の比較検討を行った。

### B. 研究方法

2011年10月から現在まで岡山大学病院および関連病院の外来を受診した筋萎縮性側索硬化症（ALS）患者20名、球脊髄性筋萎縮症（SBMA）患者6名、Asidan（SCA36）患者12名を対象として調査を行った。また比較のために年齢を一致させた健常者10名についても検査を行った。評価は舌圧測定（MTP）、嚥下造影（VFS）、インピーダンス咽頭図（IPG）を用いて各疾患での嚥下障害の特徴を分析した（図1）。

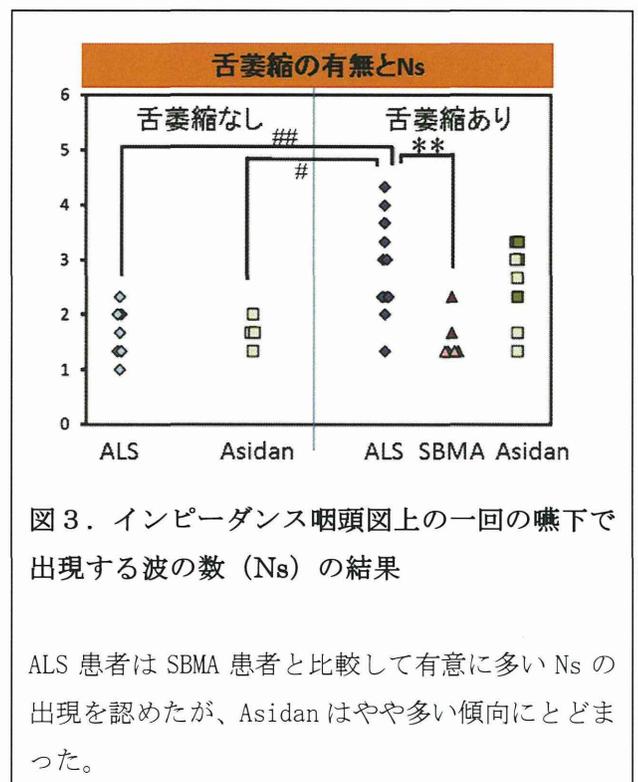
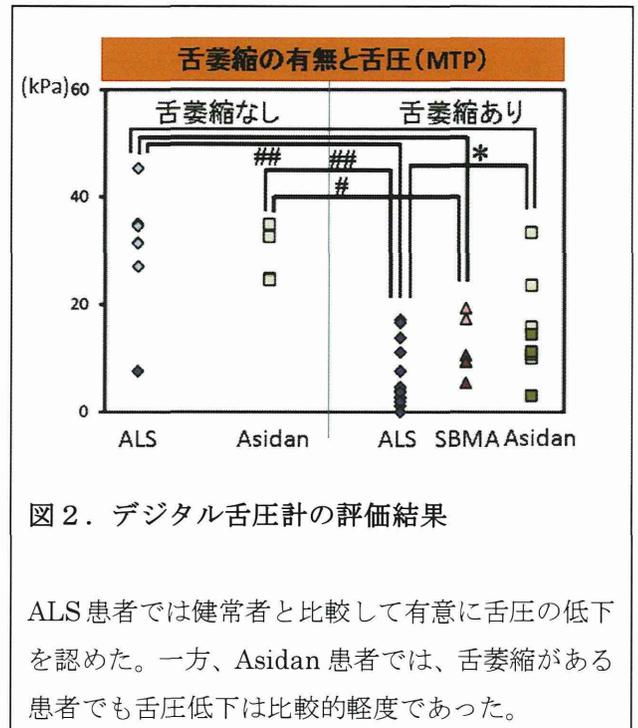
（倫理面への配慮）

本研究は岡山大学医学部倫理審査委員会の審査承認を受けた。



### C. 研究結果

嚥下運動全般を評価する嚥下造影検査では ALS 70%、SBMA 50%、Asidan 33%と Asidan 患者では嚥下障害の頻度が少なかった。口腔期を選択的に評価できる舌圧測定では、ALS と SBMA で健常者群と比較し有意に低下していたが、Asidan 患者では有意な低下は認めなかった (図2)。咽頭期を選択的に評価するインピーダンス咽頭図では ALS 患者は Iwp (咽頭期に要する時間) と Ns (1回の嚥下で出現する波形の数) が延長している傾向があったが、SBMA では Iwp と Ns とともに健常者群に近いパターンであった。Asidan はその中間程度の変化を認めるのみであった (図3)。咽頭期におけるインピーダンス変化率も同時に評価を行ったが各疾患群間で特に明らかな差は認めなかった。



#### D. 考察

Asidan 患者では舌圧の低下が軽度であり、このことが嚥下機能が低下しない大きな原因と考えられた。またこのことから同時に、舌で食塊をのどの奥に送り込む口腔期の一連の動きが、嚥下機能の中でも特に重要であることが示唆された。この口腔期嚥下機能を被爆なしで、簡便かつベッドサイドで調べることができる舌圧測定は臨床上非常に有用と考えられた。

#### E. 結論

Asidan 患者では舌萎縮を呈するものの、舌圧の低下は軽度にとどまり、長い罹病期間を経ても嚥下機能は比較的良く保たれる。

#### F. 健康危険情報

嚥下造影では被爆の問題はあるものの通常操作下で行われており、安全性に特に問題はない。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Morimoto N, Yamashita T, Sato K, Kurata T, Ikeda Y, Kusuhara T, Murata N, Abe K. Assessment of swallowing in motor neuron disease and Asidan/SCA36 patients with new methods. J Neurol Sci (2012) [Epub ahead of print]

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的所有権の取得状況（予定を含む）

なし