

ALS 患者における TFG 変異のスクリーニングと機能解析

研究分担者 梶 龍児¹⁾

研究協力者 瓦井俊孝¹⁾ 小泉英貴¹⁾ 藤田浩司¹⁾ 和泉唯信¹⁾ 森垣龍馬²⁾ 後藤 恵²⁾
森田光哉³⁾ 中野今治⁴⁾

1) 徳島大学大学院 HBS 臨床神経科学分野 2) 徳島大学 HBS 先端運動治療学
3) 自治医科大学神経内科 4) 東京都立神経病院

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症(ALS)患者を対象に TRK-fused gene (TFG)のシーケンス解析を行ったところ、2つのミスセンス変異(Gln294His, Arg360Lys)を孤発例 ALS 患者で見出した。培養細胞に発現させ、ALS 関連タンパクである FUS (Fused in Sarcoma), TAR DNA-binding protein 43kDa (TDP-43), Optineurin (OPTN)の細胞内局在の変化を観察した。その結果、核内に多く存在している FUS 蛋白が細胞質内に凝集体を形成するように局在していることが判明した。TDP-43 や OPTN においても変異型で細胞質内に一部局在が認められたが、野生型と比べ有意差は認められなかった。TFG の変異により ALS が発症すること、TFG の機能異常は運動ニューロン死を引き起こす重要なメカニズムの一つであることを明らかにした。

A.研究目的

近位筋優位遺伝性運動感覚ニューロパチー Hereditary motor and sensory neuropathy with proximal dominant involvement (HMSN-P) の原因遺伝子として TRK-fused gene (TFG)が報告された。その後、TFG の変異により視神経萎縮、末梢神経障害を伴う家族性痙性対麻痺(HSP)も発症することが報告された。TFG は小胞体-ゴルジ体における細胞内輸送に関与しており、TFG 自身の凝集以外に TFG の機能異常による蛋白の細胞内輸送の異常も運動ニューロン死に関与している可能性がある。TFG の変異により筋萎縮性側索硬化症(ALS)が発症する可能性、ならびに TFG 変異により ALS 関連タンパクの細胞内局在が変化している可能性を検証した。

B.研究方法

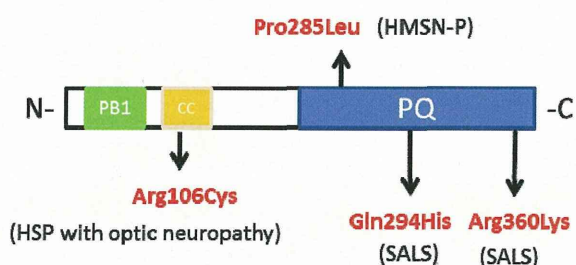
The Japanese Consortium for Amyotrophic

Lateral Sclerosis Research (JaCALS)に登録された孤発性 ALS 592 症例、徳島大学で集められた家族性 ALS 症例 12 例、イタリアで集められた家族性 ALS 症例 90 例を対象に Sanger 法によるシーケンス解析を行った。見つかった変異に関して、バイオインフォマティクス解析を行った。また培養細胞 Neuro 2a に発現させ、ALS 関連タンパクである FUS (Fused in Sarcoma), TAR DNA-binding protein 43kDa (TDP-43), Optineurin (OPTN)の細胞内局在の変化を観察した。細胞質に凝集体を形成している細胞数を計測し、野生型 TFG を発現させた場合と比べ有意差がないか統計解析を行った。本研究における患者に対する説明と同意の取得法、サンプル採取のプロトコル・患者の個人情報保護は、徳島大学病院臨床研究倫理審査委員会において審議され承認されている（平成 23 年 7 月 12 日付け、「神

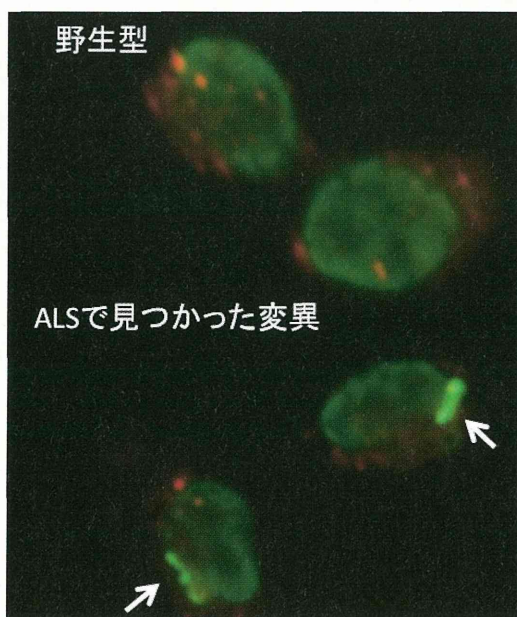
経・筋疾患における遺伝子解析」)。遺伝子組換え実験は、徳島大学遺伝子組換え実験安全管理委員会において承認を受けている(平成 23 年 8 月 2 日承認、承認番号(第 23-58 号))。

C. 研究結果

孤発例 ALS(SALS)患者 2 名でミスセンス変異(Gln294His, Arg360Lys)を見出した。変異は HMSN-P 変異と同様、PQ ドメインに存在していた。バイオインフォマティクス解析では発症の危険性が予想された。



ALS 変異(Gln294His, Arg360Lys)を導入した TFG 蛋白を培養細胞に発現させたところ、FUS タンパクの細胞内局在が変化していることが分かった。本来、核に多く発現している FUS 蛋白が細胞質内に凝集するような形態が認められた。



培養細胞 Neuro 2a に発現させて、内在性の FUS の局在を調べた所、野生型では核に局在している FUS (緑色) が ALS 変異では細胞質内に凝集するように局在していた (白色矢印)。ランダムに

選んだ 25 視野において、凝集体を持つ細胞数を計測した所、野生型と比べ有意差が認められた。赤色は小胞体マーカーを示している。小胞体と FUS の局在は一致していなかった。

D. 考察

頻度は少ないが、TFG の変異により ALS の臨床表現型を呈することが明らかとなった。これまで報告された ALS や HSP の原因遺伝子の中で、細胞内蛋白輸送に関係しているものでは、幅広い表現型を取り得ることが示されており、TFG においても同様のことが示されたと考えられる。FUS の細胞内局在は主として核であるが、核内と細胞質における発現量の調整は明らかになっていない。TFG の変異により FUS の細胞内代謝に影響が及ぼしていることは新しい発見であると考えられる。

E. 結論

TFG の変異により ALS が発症する。また TFG の機能異常は運動ニューロン死を引き起こす重要なメカニズムの一つである。

F. 健康危険情報

無

G. 研究発表

1. 論文発表

Kawarai T, Morita M, Morigaki R, Fujita K, Nodera H, Izumi Y, Goto S, Nakano I, Kaji R. Pathomechanisms of motor neuron death by mutant TFG. *Rinsho Shinkeigaku* 2013;53(11):1199.

Dysfunction of TFG in amyotrophic lateral sclerosis. Toshitaka Kawarai, Mitsuya Morita, Ryoma Morigaki, Hidetaka Koizumi, Kotaro Ogaki, Akihiro Kawata, Koji Fujita, Hiroyuki Nodera, Antonio Orlacchio, MD, Yuishin Izumi, Satoshi Goto, Imaharu Nakano, Ryuji Kaji and

Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis research (JaCALS) (paper in preparation)

瓦井俊孝、森垣龍馬、藤田浩司、和泉唯信、梶龍兒 近位筋優位遺伝性運動感覚ニューロパチーの分子病態機序 神経内科 79(6) 751-756 2013

藤田浩司、瓦井俊孝、和泉唯信、後藤 惠、梶龍兒 近位筋優位運動感覚ニューロパチーの臨床的特徴 神経内科 79(6): 732-737, 2013

2.学会発表

梶 龍兒、森田光哉、瓦井俊孝、森垣龍馬、藤田浩司、野寺裕之。和泉唯信、後藤 惠、中野今治 TFG 変異による運動ニューロン死のメカニズム 第 54 回日本神経学会学術大会 2013

H.知的所有権の取得状況（予定を含む）

- 1.特許取得 無
- 2.実用新案登録 無
- 3.その他 無

紀伊半島の ALS/PDC における脳脊髄液中酸化ストレスの解析

研究分担者 小久保康昌¹⁾

研究協力者 江口 聡²⁾、福持皓介²⁾、森本 悟³⁾、米田 操⁴⁾、馬 寧⁴⁾、葛原茂樹⁴⁾

1) 三重大学地域イノベーション学研究科、 2) 三重大学医学部、
3) 三重大学医学部腫瘍病理学講座、 4) 鈴鹿医療科学大学

研究要旨

〔目的〕我々は、以前、紀伊半島 ALS/PDC では、尿中酸化ストレスが有意に高いことを報告した。(Morimoto et al, Mov. Disord. 2008;24:123-126)今回は髄液中の酸化ストレスについて解析したので報告する。

〔方法〕対象は、ALS/PDC (n=11)、アルツハイマー病 (AD ; n=9)、パーキンソン病 (PD ; n=8)、ALS (n=11)。d-ROMs Test, BAP Test (FREE carpe diem, WISMERLL) を用いて、髄液中の酸化度および抗酸化力を測定し解析を行った。

〔結果および考察〕各疾患群における d-ROMs Test, BAP Test の平均値を示す。(単位は d-ROM: U.CARR, BAP: μ mo/L、括弧内は範囲)。① d-ROM: 紀伊 ALS/PDC:30.27 (1-54), AD:40.67 (25-61), PD:41.8 (30-57), ALS:41.05 (29-54), ② BAP: 紀伊 ALS/PDC:1063.23 (410.3-2277.1), AD:1582.8 (409.1-11747.1), PD:1616.6 (826.4-3369.1), ALS:1508.1 (270.6-2828.1)。ALS/PDC で酸化ストレスレベルは他の疾患群と比較して有意に低いことが分かったが、どの疾患群においても正常値よりは高い結果となった。(参考正常値: 2.8 ± 2.4) BAP TEST では、どの疾患群間においても有意差は認められなかったものの ALS/PDC では低下傾向であった。

〔結論〕紀伊 ALS/PDC の髄液の酸化度は他疾患と比べてむしろ低下していた。還元力は優位差を認めなかった。検体の採取条件を揃えた多数例でのさらなる検討が必要である。

A.研究目的

我々は、以前、紀伊半島 ALS/PDC では、尿中酸化ストレスが有意に高いことを報告した。(Morimoto et al, Mov. Disord. 2008;24:123-126)今回は髄液中の酸化ストレスについて解析したので報告する。酸化ストレスの強度として、フリーラジカルの代謝産物であるヒドロペルオキシドの定量 (d-ROMs TEST) と、抗酸化力として、 Fe^{3+} イオンから Fe^{2+} イオンへの還元力の定量 (BAP TEST) を行った。

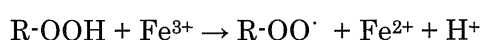
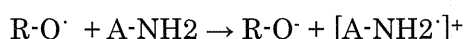
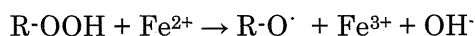
対象は、ALS/PDC (n=11)、アルツハイマー病 (AD ; n=9)、パーキンソン病 (PD ; n=8)、

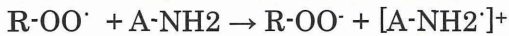
B.研究方法

(FREE carpe diem, WISMERLL) を用いて、髄液中の酸化度および抗酸化力を測定し解析を行った。

d-ROMs Test (Reactive Oxygen Metabolites Test): 活性酸素・フリーラジカルによる代謝物であるヒドロペルオキシド: R-OOH

(過酸化された脂質、タンパク質、アミノ酸、核酸等) の量を呈色液クロモゲンにより測定するテスト。d-ROMs テストにおける反応





R·OOH = ヒドロペルオキシド全般

R·O = アルコキシラジカル

R·OO· = ペルオキシラジカル

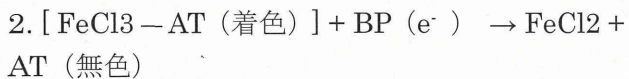
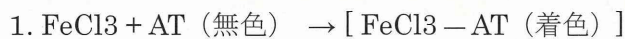
A·NH₂ = N,N-ジエチルパラフェニレンジアミン
(d-ROMs テストのクロモゲン基質)

[A·NH₂]⁺ = クロモゲン基質の呈色したラジカル陽イオン

BAP Test (Biological Anti-oxidant Potential):

三価鉄塩 FeCl₃ は、ある特定のチオシアン酸塩誘導物を含む無色の溶液に溶解すると三価鉄 Fe³⁺ イオンの機能として赤く呈色する。そこにサンプルを添加すると、サンプル中の抗酸化物質の作用で二価鉄 Fe²⁺ イオンに還元され、脱色される。色の変化を光度計で計測し、サンプルの還元力を評価する方法。

BAP テストにおける反応



+ BP

AT (無色) = チオシアン酸塩

FeCl₃ = 三価鉄塩 (塩化第二鉄)

[FeCl₃ - AT (着色)] = 三価鉄塩とチオシアン酸塩化合物

BP (e⁻) = 三価鉄イオンを還元する、つまり電子を与え、抗酸化能をもつ血漿分子

BP = BP (e⁻) の、酸化した状態の血漿分子

FeCl₂ = BP (e⁻) の還元反応によって得られた二価鉄塩 (塩化第一鉄)

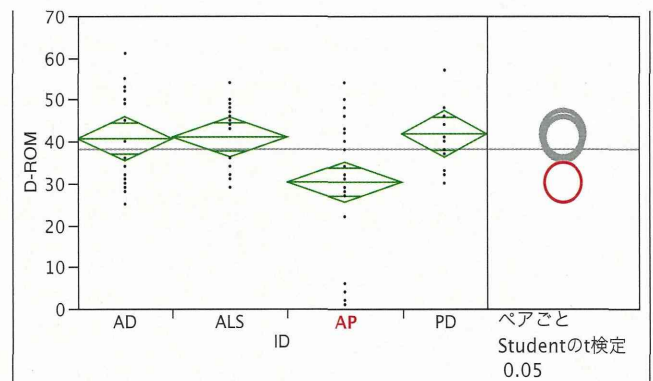
(倫理面への配慮) 本研究は、三重大学医学部附属病院倫理委員会で承認を得ている。

C. 研究結果

各疾患群における d-ROMs Test, BAP Test の平均値を示す。(単位は d-ROM: U.CARR, BAP: μ mo/L、括弧内は範囲)。① d-ROM: 紀伊 ALS/PDC:30.27 (1-54), AD:40.67 (25-61), PD:41.8 (30-57), ALS:41.05 (29-54), ② BAP: 紀伊 ALS/PDC:1063.23 (410.3-2277.1), AD:1582.8 (409.1-11747.1), PD:1616.6

(826.4-3369.1), ALS:1508.1 (270.6-2828.1)。ALS/PDC で酸化ストレスレベルは他の疾患群と比較して有意に低いことが分かったが、どの疾患群においても正常値よりは高い結果となった。(参考正常値: 2.8±2.4) BAP TEST では、どの疾患群間においても有意差は認められなかったものの ALS/PDC では低下傾向であった。

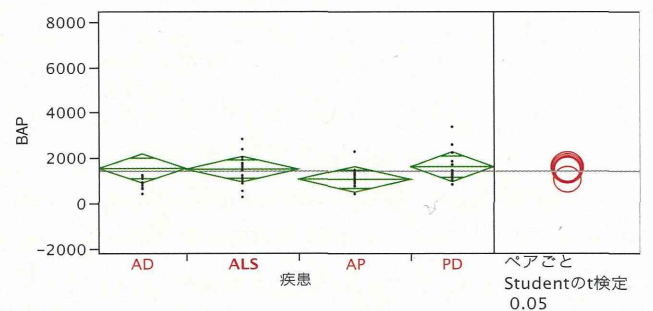
図 1 d-ROM test



AP(ALS/PDC)で酸化ストレスレベルは有意に低いことが分かったが、どの疾患においても正常値よりは高い結果となった。

(正常値: 2.8±2.4)

図 2 BAP test



BAP TEST では、どの疾患においても有意差は認められなかったものの ALS/PDC では低下傾向であった。

D. 考察

髄液中の酸化ストレス強度は紀伊 ALS/PDC では優位に低いものの、正常者と比較すると高値を示した。抗酸化力は他の神経変性疾患に比べ有意差

は見られなかった。紀伊 ALS/PDC の髄液では、他疾患と比較して、酸化還元力に大きな違いがなかった。若干の酸化還元力の低下が環境要因への脆弱性に関与している可能性がある。また、核酸と脂質や蛋白質との間に酸化ストレスレベルの違いがあるのかもしれない。今後さらにサンプル数を増やして検討する必要がある。

E. 結論

紀伊 ALS/PDC の髄液の酸化度は他疾患と比べてむしろ低下していた。還元力は優位差を認めなかった。検体の採取条件を揃えた多数例でのさらなる検討が必要である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yui Nakayama, Satoru Morimoto, Misao Yoneda, Shigeki Kuzuhara, and Yasumasa Kokubo. Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Kii Amyotrophic Lateral Sclerosis /Parkinsonism-Dementia Complex. Journal of Neurodegenerative Diseases. Article ID 679089, 4 pages 2013.
2. Kotaro Ogaki, Yuanzhe Li, Masashi Takanashi, Kei-Ichi Ishikawa, Tomonori Kobayashi, Takashi Nonaka, Masato Hasegawa, Masahiko Kishi, Hiroyo Yoshino, Manabu Funayama, Tetsuro Tsukamoto, Keiichi Shioya, Masayuki Yokochi, Hisamasa Imai, Ryogen Sasaki, Yasumasa Kokubo, Shigeki Kuzuhara, Hiroyuki Tomiyama, Nobutaka Hattori. Analyses of the MAPT, PGRN, and C9orf72 mutations in Japanese patients with FTL, PSP, and CBS. Parkinsonism Relat Disord. 2013 Jan;19(1):15-20.
3. Tameko Kihira, Kazushi Okamoto, Sohei Yoshida, Tetuya Kondo, Keiko Iwai, Sachiko Wada, Yoshinori Kajim. Parkinsonism Relat Disord. 2013 Jan;19(1):15-20.oto, Tomoyoshi

Kondo, Yasumasa Kokubo, Shigeki Kuzuhara. Environmental Characteristics and oxidative stress of inhabitants and patients with amyotrophic lateral sclerosis in a high-incidence area on the Kii peninsula, Japan. Internal Medicine 2013;52:1479-1486

4. Ken-ichiro Kobayashi, Fukumi Nakamura-Uchiyama, Takeshi Nishiguchi, Kenichi Isoda, Yasumasa Kokubo, Katsuhiko Ando, Masaki Katurahara, Yasuhito Sako, Tetsuya Yanagida, Akira Ito, Sentaro Iwabuchi, and Kenji Ohnishi. Rare case of disseminated cysticercosis and taeniasis in a Japanese traveller after returning from India. Am J Trop Med Hyg. 2013 Jul;89(1):58-62.

2. 学会発表

1. Yasumasa Kokubo. Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and parkinsonism-dementia complex (PDC) of the Kii peninsula of Japan (Muro disease). - Recent Advances of Reserch -. 9th international congress on mental disorders & other non-motor features in Parkinson's disease and related disorders. MDPD 2013.
2. Satoru Morimoto, Yasumasa Kokubo, Hiroyuki Hatsuta, Shigeki Kuzuhara, Shigeo Murayama. Immunohistochemical study of the cerebellum in amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/ parkinson-dementia complex (PDC) in Kii peninsula (ALS/PDC- Kii, Muro disease). Alzheimer's Association International Conference, 2013.
3. Tameko Kihira, Iori Sakurai, Sohei Yoshida, Ikuro Wakayama, Koichi Takamiya, Yukihiro Nakano, Ryo Okumura, Iinuma Yuhto, Keiko Iwai, Junko Kohmoto, Yoshinori Kajimoto, Yasuhiro Hiwatani, Kazushi Okamoto, Yasumasa Kokubo, Shigeki Kuzuhara. Transitional metal contents in scalp hair and lifestyle of ALS patients and residents in the Kii Peninsula, Japan -the second report-. 24th International Symposium on ALS/MND.
4. Y. Kokubo, S. Morimoto, T. Nakagawa, K.

Miyazaki, S. Kuzuhara. Clinical trial of Edaravone in amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex of the Kii peninsula of Japan. 24th International Symposium on ALS/MND.

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

臨床調査個人票を用いた筋萎縮性側索硬化症に関する記述疫学研究

研究分担者 土井由利子

研究協力者 1) 熱田直樹 2) 森田光哉 3) 祖父江元 2) 中野今治 4)

- 1) 国立保健医療科学院疫学調査研究分野 2) 名古屋大学大学院医学系研究科神経内科学
3) 自治医科大学内科学講座神経内科学部門 4) 東京都立神経病院

研究要旨

全国 47 都道府県の担当課に対し、2009 年度（2009 年 4 月 1 日～2010 年 3 月 1 日）の ALS 特定疾患医療受給者証所持者に係る調査を実施したところ、[新規+更新]は 10,237（男 5,842、女 4,395）人、うち[新規]は 2,264（男 1,302、女 962）人であった（回収率 100%）。[新規+更新]および[新規]の所持者数を分子、医療保険制度別加入者人口を分母として、年間の有病率および発病率（対人口 10 万）を推計すれば（20 歳以上）、それぞれ 9.93（男 11.77、女 8.23）、2.20（男 2.62、女 1.80）で、70 歳代にピークが見られた（27.08（男 33.41、女 21.90）、6.54（男 8.30、女 5.09））。なお、新規所持者数に地域差が示唆された。

A. 研究目的

AL 特定疾患医療受給者証所持者数をもとに、有病率[新規+更新]および発病率[新規]の推計を行うことを目的とした。特に代表性に焦点を当てて検討を試みた。

B. 研究方法

全国の都道府県担当課に対し、2009 年度（2009 年 4 月 1 日から 2010 年 3 月 31 日までの 1 年間）における ALS 特定疾患医療受給者証を所持する者の人数（全数（年度内死亡者を含む）、新規・更新、性・年齢階級）に関する情報提供を依頼した。対象年度は、東日本大震災発災（2010 年 3 月 31 日）以前の直近年度で臨床調査個人票の入力件数が最も多かった年度とした。

特定疾患医療受給者証は医療保険適用者に限定されるため、総務省統計局人口推計（2009 年 10 月 1 日現在）から厚生労働省被保護者全国一斉調査基礎調査被保護人員（2009 年 7 月 1 日現在）

2009 年度の特定疾患医療受給者証所持者数を分子として、年間の有病率・発病率を推計した。

特定疾患医療受給者証新規所持者の地域差（47 都道府県）については、医療保険制度加入者人口を用い、間接法にて性・年齢調整を行い、観察数/期待数（95%信頼区間、P 値）を算出した。

本研究は、国立保健医療科学院研究倫理審査委員会の承認を得て実施したものである（NIPH-IBRA#12005）。

C. 研究結果

全国 47 都道府県より回答を得た（回収率 100%）。[新規+更新]は 10,237（男 5,842、女 4,395）人、うち[新規]は 2,264（男 1,302、女 962）人であった。都道府県別人数、性・年齢階級別人数および有病率・発病率（対人口 10 万）を表 1～表 3 に示した。なお、[新規]では、男性で沖縄、奈良、和歌山、新潟で高く、東京、大阪で低い傾

向、女性では熊本で高く、宮崎で低い傾向が見られた（表は割愛）。

D・E. 考察・結論

年間の有病率および発病率（対人口 10 万）の推計は、9.93（男 11.77、女 8.23）、2.20（男 2.62、女 1.80）であった。[新規]で地域差が示唆された。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

なし

H.知的所有権の取得状況（予定を含む）

なし

表1 全国47都道府県別ALS特定疾患医療受給者証所持者数（2009年4月1日～2010年3月31日）

都道府県	新規+更新			新規			更新		
	男	女	男女	男	女	男女	男	女	男女
北海道	223	212	435	67	43	110	156	169	325
青森	82	68	150	16	14	30	66	54	120
岩手	83	62	145	16	14	30	67	48	115
宮城	105	70	175	18	11	29	87	59	146
秋田	75	55	130	12	13	25	63	42	105
山形	88	58	146	13	14	27	75	44	119
福島	116	71	187	26	9	35	90	62	152
茨城	154	79	233	41	21	62	113	58	171
栃木	84	68	152	16	9	25	68	59	127
群馬	119	72	191	22	10	32	97	62	159
埼玉	279	183	462	70	46	116	209	137	346
千葉	265	192	457	61	47	108	204	145	349
東京	463	377	840	97	78	175	366	299	665
神奈川	330	257	587	87	70	157	243	187	430
新潟	173	99	272	39	25	64	134	74	208
富山	54	41	95	13	12	25	41	29	70
石川	63	43	106	13	10	23	50	33	83
福井	41	17	58	10	4	14	31	13	44
山梨	34	27	61	11	4	15	23	23	46
長野	111	81	192	24	20	44	87	61	148
岐阜	89	59	148	32	18	50	57	41	98
静岡	175	124	299	39	30	69	136	94	230
愛知	289	219	508	76	45	121	213	174	387
三重	86	68	154	22	8	30	64	60	124
滋賀	73	46	119	19	8	27	54	38	92
京都	120	95	215	19	14	33	101	81	182
大阪	368	299	667	63	70	133	305	229	534
兵庫	244	204	448	43	47	90	201	157	358
奈良	65	56	121	29	9	38	36	47	83
和歌山	91	49	140	20	9	29	71	40	111
鳥取	44	74	118	7	3	10	37	71	108
島根	62	44	106	14	7	21	48	37	85
岡山	109	58	167	24	14	38	85	44	129
広島	111	86	197	20	18	38	91	68	159
山口	81	60	141	16	15	31	65	45	110
徳島	56	30	86	11	4	15	45	26	71
香川	69	53	122	6	11	17	63	42	105
愛媛	49	54	103	10	15	25	39	39	78
高知	41	33	74	8	7	15	33	26	59
福岡	181	162	343	43	46	89	138	116	254
佐賀	30	31	61	13	11	24	17	20	37
長崎	61	45	106	10	11	21	51	34	85
熊本	95	80	175	21	24	45	74	56	130
大分	89	67	156	11	14	25	78	53	131
宮崎	69	51	120	15	3	18	54	48	102
鹿児島	84	68	152	16	16	32	68	52	120
沖縄	69	48	117	23	11	34	46	37	83
全国	5,842	4,395	10,237	1,302	962	2,264	4,540	3,433	7,973

表2 全国47都道府県性年齢階級別ALS特定疾患医療受給者証所持者数（2009年4月1日～2010年3月31日）

年齢（歳）	新規＋更新			新規			更新		
	男	女	男女	男	女	男女	男	女	男女
0～4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5～9	1	0	1	0	0	0	1	0	1
10～14	0	2	2	0	0	0	0	2	2
15～19	1	2	3	1	0	1	0	2	2
20～24	8	2	10	2	0	2	6	2	8
25～29	14	5	19	1	1	2	13	4	17
30～34	23	27	50	4	4	8	19	23	42
35～39	58	37	95	7	6	13	51	31	82
40～44	120	106	226	17	24	41	103	82	185
45～49	180	139	319	26	29	55	154	110	264
50～54	326	232	558	54	45	99	272	187	459
55～59	663	402	1,065	143	80	223	520	322	842
60～64	955	635	1,590	217	120	337	738	515	1,253
65～69	1,103	693	1,796	234	160	394	869	533	1,402
70～74	1,111	837	1,948	269	181	450	842	656	1,498
75～79	752	656	1,408	194	166	360	558	490	1,048
80～84	407	436	843	96	108	204	311	328	639
85歳以上	120	184	304	37	38	75	83	146	229
計	5,842	4,395	10,237	1,302	962	2,264	4,540	3,433	7,973
再掲									
20歳以上	5,840	4,391	10,231	1,301	962	2,263	4,539	3,429	7,968

表3 全国47都道府県ALS特定疾患医療受給者証所持者数（対人口10万）（2009年4月1日～2010年3月31日）

年齢	人口		新規+更新			新規			更新			
	総人口 (a)	医療保険制度		所持者数 (c)	c/a (対人 口10万)	c/b (対人 口10万)	所持者数 (d)	d/a (対人 口10万)	d/b (対人 口10万)	所持者数 (e)	e/a (対人 口10万)	e/b (対人 口10万)
		加入者人口 (b)										
男												
20～29	7,382,000	7,366,821	22	0.30	0.30	3	0.04	0.04	19	0.26	0.26	
30～39	9,279,000	9,241,101	81	0.87	0.88	11	0.12	0.12	70	0.75	0.76	
40～49	8,255,000	8,187,477	300	3.63	3.66	43	0.52	0.53	257	3.11	3.14	
50～59	8,380,000	8,235,051	989	11.80	12.01	197	2.35	2.39	792	9.45	9.62	
60～69	8,608,000	8,393,464	2,058	23.91	24.52	451	5.24	5.37	1,607	18.67	19.15	
70～79	5,726,000	5,576,087	1,863	32.54	33.41	463	8.09	8.30	1,400	24.45	25.11	
80歳以上	2,668,000	2,627,371	527	19.75	20.06	133	4.99	5.06	394	14.77	15.00	
計	50,298,000	49,627,372	5,840	11.61	11.77	1,301	2.59	2.62	4,539	9.02	9.15	
女												
20～29	7,033,000	7,005,115	7	0.10	0.10	1	0.01	0.01	6	0.09	0.09	
30～39	9,027,000	8,952,725	64	0.71	0.71	10	0.11	0.11	54	0.60	0.60	
40～49	8,152,000	8,066,518	245	3.01	3.04	53	0.65	0.66	192	2.36	2.38	
50～59	8,493,000	8,396,326	634	7.46	7.55	125	1.47	1.49	509	5.99	6.06	
60～69	9,190,000	9,025,874	1,328	14.45	14.71	280	3.05	3.10	1,048	11.40	11.61	
70～79	6,997,000	6,816,596	1,493	21.34	21.90	347	4.96	5.09	1,146	16.38	16.81	
80歳以上	5,229,000	5,109,590	620	11.86	12.13	146	2.79	2.86	474	9.06	9.28	
計	54,121,000	53,372,744	4,391	8.11	8.23	962	1.78	1.80	3,429	6.34	6.42	
男女												
20～29	14,415,000	14,371,936	29	0.20	0.20	4	0.03	0.03	25	0.17	0.17	
30～39	18,306,000	18,193,826	145	0.79	0.80	21	0.11	0.12	124	0.68	0.68	
40～49	16,407,000	16,253,995	545	3.32	3.35	96	0.59	0.59	449	2.74	2.76	
50～59	16,873,000	16,631,377	1,623	9.62	9.76	322	1.91	1.94	1,301	7.71	7.82	
60～69	17,798,000	17,419,338	3,386	19.02	19.44	731	4.11	4.20	2,655	14.92	15.24	
70～79	12,724,000	12,393,683	3,356	26.38	27.08	810	6.37	6.54	2,546	20.01	20.54	
80歳以上	7,897,000	7,736,961	1,147	14.52	14.82	279	3.53	3.61	868	10.99	11.22	
計	104,420,000	103,001,116	10,231	9.80	9.93	2,263	2.17	2.20	7,968	7.63	7.74	

筋萎縮性側索硬化症における横隔神経伝導検査所見と 呼吸機能・生命予後との関連

研究分担者 清水俊夫¹⁾,

研究協力者 林健太郎¹⁾, 木田耕太¹⁾, 山崎寿洋¹⁾, 中野今治¹⁾

1) 東京都立神経病院 脳神経内科

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）患者 84 例において、横隔神経伝導検査を行い、得られた複合性運動活動電位（CMAP）の振幅と、呼吸機能・生命予後との相関を検討した。横隔神経伝導検査は、胸鎖乳突筋後縁にて最大上電気刺激を行い、剣状突起に記録電極、鎖骨中線上季肋部に不関電極を置いて記録した。CMAP 振幅（peak-to-peak）は、努力肺活量、動脈血二酸化炭素分圧と有意な相関を示した。また振幅 0.4mV 前後で 2 群に分けると、0.4mV 未満の群で生命予後が有意に不良であった。CMAP 振幅は呼吸機能を反映し、振幅が 0.4mV 未満になった場合、呼吸補助に対する方針決定を急ぐ必要があると考えられる。

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症（ALS）においては、呼吸筋麻痺による呼吸不全は生命予後を左右する重要な臨床徴候である。人工呼吸器を装着するかどうかにより、その後の生命予後は著しく異なるため、正確な呼吸状態の評価とともに、的確なインフォームドコンセントに基づいた方針決定がなされることが望ましい。

呼吸機能の評価には、呼吸生理学的評価、血液学的評価、神経生理学的評価がある。このうち、努力肺活量（FVC）、最大咳嗽流速（PCF）、鼻腔吸気圧（SNIP）などを代表とする呼吸生理学的な評価がルーチン検査としては汎用されているが、評価には患者の協力が必須であること、検査時の姿勢や球症状の有無などにより測定値がばらつくこと、呼吸不全が増悪した場合には検査ができないことなどの欠点がある。また酸素飽和度測定や動脈血ガス分析なども症状が進行しないと異常が検出されず、初期の呼吸不全の検出には適さない。

横隔神経伝導検査は、横隔膜機能を反映する神経生理学的検査であるが、患者の協力が不必要で、

手技が簡便であり、呼吸状態が悪くても検査可能である。今回は、横隔神経伝導検査による横隔膜

複合性運動活動電位（CMAP）の振幅が、呼吸機能とどう相関するか、また生命予後を予測しうるかどうかを検討した。

B. 研究方法

対象は、東京都立神経病院にて 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 84 例（男性 48 例、女性 36 例、平均年齢 65 歳、33～88 歳）。発症から検査までの期間は平均 2.0 年（0.2～6.1 年）であった。初発症状による分類は、球麻痺型 24 例、上肢型 32 例、下肢型 26 例、呼吸発症型 1 例、体幹筋発症型 1 例である。伝導検査は 2008 年 5 月～2012 年 8 月に施行された。

刺激部位は胸鎖乳突筋後縁、鎖骨上約 2cm で、最大上電気刺激を行った。記録電極は剣状突起上、不関電極は鎖骨中線上季肋部とした。上下肢の症状の強い側の CMAP を安静呼気時に記録し、peak-to-peak の振幅を測定した。また同時に、正中神経、尺骨神経、脛骨神経の運動神経伝導検査も施行し CMAP の振幅を測定した。そのほかの解析項目として、座位での FVC（%）、動脈血二酸化炭素分圧（PCO₂, mmHg）、発症

からエンドポイント（死亡，気管切開，呼吸器装着）までの期間を測定した。

解析は，横隔神経 CMAP 振幅と呼吸機能（FVC，PCO₂）との相関（Spearman's rank correlation test），横隔神経 CMAP 振幅と生命予後との相関（Kaplan-Meier 生存解析，log-rank test），横隔神経 CMAP 振幅と他の因子との交絡（Cox 比例ハザードモデル）を調べた。なお生存解析の打切日は 2013 年 3 月末日とした。

検査はすべて ALS の診断および病状評価目的のルーチンの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。

C. 研究結果

被検者全体での FVC は平均 65.1% (S.D. 29.3)，PCO₂ は平均 44.9mHg (8.7) であった。CMAP 振幅は，横隔神経が平均 0.44mV (0.28)，正中神経 3.14mV (2.63)，尺骨神経 5.36mV (3.28)，脛骨神経 8.35mV (5.90) であった。

横隔神経 CMAP 振幅と，FVC は有意な正の相関が認められた（図 1. $p=0.0081$ ）。ただばらつきが大きく，振幅が保たれているが FVC が低い症例，振幅が小さいが FVC が正常な例も相当数混在していた。横隔神経 CMAP 振幅と，PCO₂ の間にも有意な負の相関が認められた（図 2. $p=0.0137$ ）。横隔神経 CMAP 振幅と，正中神経，尺骨神経，脛骨神経 CMAP 振幅の間には有意な相関は認められなかった。

患者を FVC \geq 60%，<60%の 2 群にわけ，生存解析を行うと，<60%の群で有意に生命予後が不良であった（log-rank test, $p=0.0061$ ）。次に横隔神経 CMAP 振幅 \geq 0.4mV，<0.4mV で 2 群に分けると，やはり<0.4mV の群で生命予後が不良であった（図 3. log-rank test, $p=0.002$ ）。CMAP 振幅のカットオフを 0.3mV としても同様の結果であった。

被検者の性別，発症年齢（ \geq vs. <65 歳），発症部位（球麻痺発症 vs. 四肢体幹発症），FVC（ \geq vs. <60%），横隔神経 CMAP 振幅（ \geq vs. <0.4mV）を因子として Cox 比例ハザードモデルを用いて多変量解析を行ったところ，発症年齢（HR 2.233, $p=0.0181$ ），横隔神経 CMAP 振幅（HR 3.009, $p=0.0030$ ）の 2 つが有意な因子として検出された。

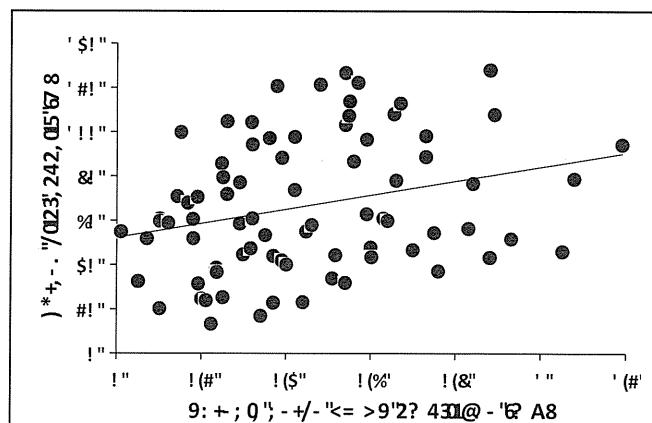


図 1. 横隔神経 CMAP 振幅と，努力肺活量の相関。有意な正の相関があるが，ばらつきも大きい（Spearman's rank correlation, $p=0.0081$, $R^2=0.077$ ）。

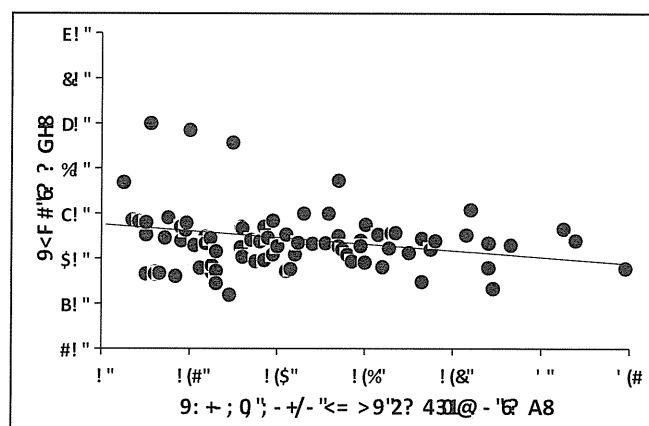
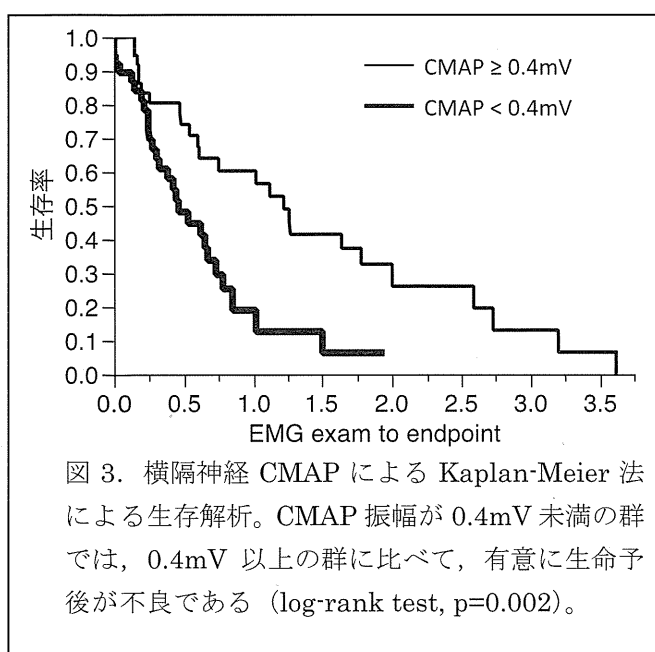


図 2. 横隔神経 CMAP 振幅と，動脈血二酸化炭素分圧（PCO₂）の相関。有意な正の相関を認める（Spearman's rank correlation, $p=0.0137$, $R^2=0.054$ ）。

D. 考察

呼吸筋麻痺による呼吸不全は ALS 患者の生命予後を予測する因子として確立されており，臨床その正確な評価が求められる。今回の結果から，横隔神経 CMAP 振幅は，FVC と PCO₂ とも有意な相関を示したことから，ALS 患者における呼吸機能の評価には有用であることが示された。また CMAP 振幅の正常下限を 0.4mV とした場合，それ未満になった場合には生存予後に明らかな差が出ることも確認され，生命予後を推測する上でも本検査が有用であ

ることが示された。



横隔神経 CMAP は、ほぼ横隔膜の筋活動を反映していると報告されている。また近年の報告では、0.4mV 未満の場合の呼吸不全に対する陽性的中率は約 95%であったとされている。しかしながら、陰性的中率が約 20~30%とも報告されており、振幅が正常であっても呼吸不全が存在する可能性もある。今回の結果からも CMAP 振幅と FVC の間には有意な相関はあるとはいえないものの、ばらつきが大きく、胸郭の形の個人差や皮下脂肪の程度などにより、CMAP 振幅が影響を受けた影響や、FVC の測定が正確でなかった影響があったことが考えられる。

呼吸不全の評価は、自覚症状、理学所見、呼吸生理学的評価、血液学的評価、神経生理学的評価など多角的、総合的な評価が必要である。客観的な横隔膜筋力の評価法はこの横隔神経伝導検査以外にはないことから、本検査をルーチン検査として臨床に取り入れ、呼吸状態を正確に把握していくことの意義は大きいと思われる。また非侵襲的陽圧補助呼吸療法を開始する一つ目安として、この横隔神経伝導検査が有用である可能性があり、少なくとも CMAP 振幅が 0.4mV を下回った場合には、呼吸療法に関する方針決定を急ぐべきであると考えられる。

E. 結論

ALS 患者において、横隔神経 CMAP 振幅は、呼吸機能を反映する。また CMAP 振幅 < 0.4mV は、 $\geq 0.4mV$ の群に比べて検査後の生命予後が有意に悪く、0.4mV を下回った場合には、呼吸療法に関する方針決定を急ぐべきである。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

林健太郎, 清水俊夫. ALS の横隔神経伝導検査所見と生命予後との関連. 難病と在宅ケア 2013 ; 19 : 16-18.

2. 学会発表

林健太郎, 清水俊夫, 藤巻由実ほか. 筋萎縮性側索硬化症における横隔神経 M 波振幅と生命予後との関連. 第 54 回日本神経学会学術大会, 2013 (5), 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 患者の腰仙髄における下位運動ニューロン障害の進展形式

研究分担者 水澤 英洋¹⁾，
研究協力者 関口 輝彦¹⁾，叶内 匡²⁾，横田 隆徳¹⁾，桑原 聡³⁾，中川 正法⁴⁾

1) 東京医科歯科大学大学院 脳神経病態学分野 2) 東京医科歯科大学医学部附属病院 検査部
3) 千葉大学大学院医学研究院 神経内科 4) 京都府立医科大学大学院 医学研究科 神経内科

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（以下 ALS）の自然歴において、身体の一部に初発して連続した部位に順々に拡大する可能性が近年指摘されている。しかし一昨年、我々は髄節レベルごとの針筋電図所見を用いて検討した結果、頭側に初発した ALS においても、中間髄節をスキップしたまま L5 髄節に非連続的に障害を来たす例が多いことを報告した。今回我々は L5 髄節に非連続的に生じた障害がそこからのように進展するのか、またその機序について針筋電図所見と臨床所見から再検討を加えた。対象は球・呼吸症状や上肢に初発し、改訂 El Escorial 基準を満たした孤発性 ALS 患者 36 名で、一側（初発側）の各髄節において針筋電図検査を施行、脱神経電位（線維自発電位・陽性鋭波）および線維束電位の有無を検索した。36 例中 14 例で中間髄節をスキップして筋電図異常が非連続的に分布した。L5 髄節支配筋である L5 傍脊柱筋と前脛骨筋では脱神経電位が線維束電位と同等かそれ以上に多く出現したが、それ以外の腰仙髄支配筋においては脱神経電位の出現率は線維束電位の出現率より低かった。文献的には、ALS の経過中で線維束電位の方が脱神経電位より早期に出現するとされており、L5 髄節とそれ以外では障害を来たす時期に時間差があると考えられた。また中間髄節をスキップして筋電図異常が広がった 14 例中 3 例は下肢に上位運動ニューロン徴候を認めず、その他の 11 例においても膝蓋腱反射（L3/4 レベル）とアキレス腱反射（S1）の程度に明らかな差は認めなかった。腰仙髄領域の発症においては、上位運動ニューロンとは無関係に中間髄節をスキップしたまま L5 髄節中心の異常をきたし、そこから周囲の髄節に徐々に異常が広がっていく可能性が示唆された。

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症（以下 ALS）の臨床症状の進展様式においては、身体の一部から初発してそこから連続した部位に順々に拡大する可能性が話題になっている（Ravits *et al*, *Neurology* 2007 ほか）が、身体を 4~5 部位程度に大まかに分割して検討した報告が主体であり、詳細な臨床的検討はなされていない。分子生物学的には、隣接したニューロン間で異常蛋白が伝播し、神経変性疾患が広がるのではないかとという仮説が近年注目されつつあり（Goedert *et al*, *Trends Neurosci* 2010 ほか）、疾患の進行する機序を考える上で重要視されている。ALS の病変が髄節レベ

ルで連続的に進展するのか否かは、その進展機序を考察する上で重要な知見と考えられる。そこで我々は、ALS 発症早期例において針筋電図検査を用いて検討し、複数の症例において筋電図異常が非連続的に分布し、特に L5 髄節に障害が及びやすいことを一昨年の本報告書において発表した。今回は L5 髄節に非連続的に生じた障害がそこからのように進展するのか、またその機序について針筋電図所見と臨床所見から再検討を加えた。

B. 研究方法

球症状、呼吸症状ないし上肢症状から初発し、孤発性 ALS を疑われて針筋電図検査を施行し、

フォロー中に改訂 El Escorial 診断基準 (Brooks *et al*, *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2000) にて Clinically Probable ALS Laboratory-supported 以上に至った患者 36 名 (男性 23 名、女性 13 名) を対象とした。針筋電図検査の結果に影響を与え得る腰椎疾患や末梢神経障害の合併例は除外した。年齢は 41~79 歳、平均 63.3 歳であり、初発部位は球症状 10 名、呼吸症状 1 名、上肢症状 25 名であった。

初発側一側において、第一背側骨間筋 (FDI ; C8 髄節支配)、T10/L3/L5 傍脊柱筋 (PS)、大腿直筋 (RF ; L3/4)、内側広筋 (VM ; L3/4)、前脛骨筋 (TA ; L5)、大腿二頭筋 (BF ; S1)、腓腹筋 (GC ; S1) の安静時針筋電図検査を施行し、脱神経電位 (線維自発電位および陽性鋭波) や線維束電位の有無を比較した。

各被検筋ごとに 10ヶ所から安静時電位を記録、2ヶ所以上で線維自発電位ないし陽性鋭波を認めたものを脱神経電位陽性とした。うち 1ヶ所では 60 秒間安静時電位を観察、2 回以上同一波形の運動単位電位が出現した場合に線維束電位陽性とした。

(倫理面への配慮)

本研究については、各施設 (東京医科歯科大学、千葉大学、京都府立医科大学) における倫理委員会の承認を得て行った。

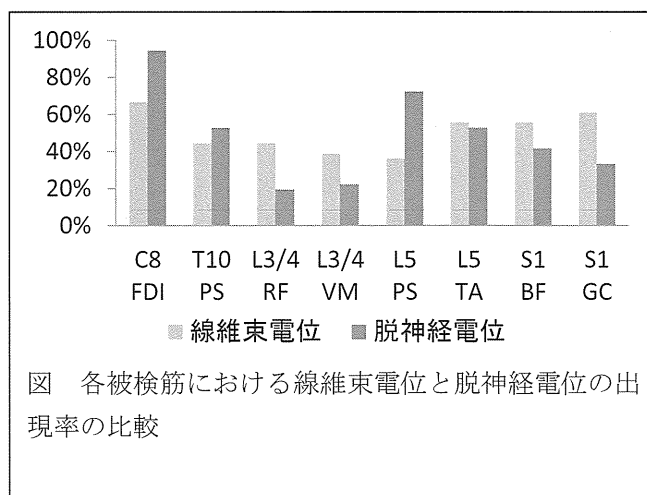
C. 研究結果

36 例中 19 例においては、初回検査時点で全ての被検髄節に筋電図異常 (脱神経電位ないし線維束電位) を認めた。

残る 17 例中 14 例で中間髄節をスキップし、筋電図異常が非連続的に分布した。運動ニューロンの脆弱性に関係し得る軸索長やサブタイプ比率がほぼ等しい T10・L5PS ならびに VM と BF の間で比較しても、8 例で尾側の髄節支配筋のみに筋電図異常を認めた。

図に示すように、脱神経電位と線維束電位に分けて検討した結果、FDI においては脱神経電位の方が線維束電位より多く出現した。逆に L3/4 髄節支配の RF・VM および S1 髄節支配の BF・GC においては線維束電位の方が多く出現した。一方で、L5 髄節支配の L5PS および TA においては、

脱神経電位が線維束電位と同等かより多く出現した。



た 14 例中 3 例は検査時点で下肢に上位運動ニューロン徴候、すなわち膝蓋腱反射やアキレス腱反射の亢進や Babinski 反射を認めなかった。その他の 11 例においても膝蓋腱反射 (L3/4 レベル) とアキレス腱反射 (S1) の亢進の程度には明らかな差は認めなかった。

D. 考察

脱神経電位と線維束電位では、出現する時期に時間差があり、障害のより早期には線維束電位の方が出現しやすいことが知られている (Okita *et al*, *J Neurol Sci* 2011 ほか)。L5 髄節では脱神経電位が多く、その周囲の L3/4 や S1 髄節においては線維束電位が主体であることから、腰仙髄のうち、L5 髄節だけがより早期に障害を来たしていると考えられる。従って、非連続的な下位運動ニューロン障害はまず L5 髄節に及び、そこから連続的に周囲の髄節へと広がっていくものと推定される。

一方で、ALS の病態においては上位運動ニューロン障害が下位よりも先行する、とする仮説もある。仮に L5 や S1 髄節に投射する上位運動ニューロンだけがたまたま先に障害されて同髄節の下位運動ニューロンを障害しやすければ、L3/4 髄節をスキップした非連続的な筋電図異常パターンの原因となり得る。そうだとすれば、単に脳レベルにおける連続性と上位から下位運動ニュー

ロンへの経シナプスの進展だけで非連続的な筋電図異常パターンは説明可能であり、脊髄レベルで下位運動ニューロン障害が多発する機序は理論上不要となる。

今回の安静時針筋電図検査による検討のみでは上位運動ニューロンの関与を評価できていないが、少なくとも検査時点では、臨床的な上位運動ニューロン徴候を伴わずに非連続的な筋電図異常の分布をとる症例が複数存在した。また、L3/4 レベルに反射中枢が存在する膝蓋腱反射とS1 レベルのアキレス腱反射の程度に明確な差がないことから、S1 髄節に投射する上位運動ニューロンだけが障害されて非連続的な筋電図異常の原因となる、という仮説は否定的と考えられた。

以上の検討から、我々の示した非連続的な下位運動ニューロン障害の分布を、上位運動ニューロンの関与で説明することはできないと考えた。

E. 結論

腰仙髄領域における ALS の発症においては、上位運動ニューロンとは無関係に中間髄節をスキップしたまま、まず L5 髄節中心の異常をきたし、そこから周囲の髄節に徐々に異常が広がっていく可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Sekiguchi T, Kanouchi T, Shibuya K, Noto YI, Yagi Y, Inaba A, Abe K, Misawa S, Orimo S, Kobayashi T, Kamata T, Nakagawa M, Kuwabara S, Mizusawa H, Yokota T. Spreading of amyotrophic lateral sclerosis lesions—multifocal hits and local propagation? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* published online September 11, 2013 doi:10.1136/jnnp-2013-305617

2. 学会発表

1. Mizusawa H. Movement disorders in Asia-Oceania. 17th International Congress of Parkinson's disease and Movement disorders. Sydney. Jun 17, 2013.

2. Nishina K, Wenyang Piao, Yoshida-Tanaka K, Nishina T, Kuwahara H, Mizusawa H, Yokota T. Efficient in vivo delivery of antisense oligonucleotide to choroid plexus. 10th International Conference on Cerebral Vascular Biology. Montreal. Jun 19-20, 2013.

3. Machida A, Ohkubo T, Mizusawa H, Yokota T. Normalization of microRNA expression levels in cerebrospinal fluid. The International Society for Extracellular Vesicles 2012 meeting. Gothenberg. Apr 19, 2012.

4. 関口輝彦, 叶内匡, 澁谷和幹, 能登祐一, 八木洋輔, 稲葉彰, 阿部圭輔, 三澤園子, 織茂智之, 小林高義, 鎌田智幸, 中川正法, 桑原聡, 水澤英洋, 横田隆徳. 筋萎縮性側索硬化症の下位運動ニューロン障害の腰仙髄における進展形式の検討. 第 54 回日本神経学会学術大会. 東京. 2013.5.29.

5. 大久保卓哉, 田尻美緒, 関口輝彦, 寺岡静香, 木村展之, 内原俊記, 水澤英洋, 横田隆徳. 霊長類 ALS モデルにおける TDP-43 の拡がりについて. 第 54 回日本神経学会学術大会. 東京. 2013.5.31.

6. 叶内匡, 関口輝彦, 水澤英洋, 横田隆徳. 筋萎縮性側索硬化症の初発部位における障害進行と他部位への障害進展の関係. 第 43 回日本臨床神経生理学会学術大会. 高知. 2013.11.8.

H. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得

特許出願日 2013 年 5 月 30 日 (特許出願番号 2013-113912) : 横田隆徳, 町田明, 大久保卓哉, 水澤英洋. 運動神経の障害を呈する疾患の鑑別に用いるマイクロ RNA の検出方法. 東京医科歯科大学

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

ALS における四肢筋萎縮のパターンとその規定因子

研究分担者 桑原 聡
研究協力者 澁谷和幹、三澤園子、岩井雄太

千葉大学大学院医学研究院 神経内科学

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）では母指球側筋が小指外転筋より優位に萎縮する解離性小手筋萎縮（split hand）が特異的に認められるが、この現象の病態基盤として(1)筋の使用頻度（酸化ストレス、代謝要求）、(2)上位運動ニューロンからのシナプス結合（グルタミン酸興奮毒性）、(3)軸索興奮性（持続性 Na 電流増大）などが関わるとされている。一方 ALS の下肢筋では短趾伸筋と母趾外転筋の萎縮の程度はほぼ同等であるが、健常者の軸索興奮性は母趾外転筋支配軸索の方が高い。すなわち下肢筋萎縮には上記(1)～(3)の関与は相対的に少なく、(4)軸索長（軸索輸送障害）の影響が大きいことが考えられる。ALS の運動ニューロン死には(1)～(4)の因子が複合的に関与しており、その治療戦略を立てる上においてこれらを考慮に入れた集学的治療が必要であると考えられる。

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症（ALS）では手内筋の解離性筋萎縮（split hand）が認められる。これは母指球側筋（短母指外転筋 {APB}、第一背側骨間筋 {FDI}）が小指外転筋（ADM）よりも優位に萎縮する現象であり、これは ALS に特異的に認められる現象であることが知られている（Kuwabara et al. *Muscle Nerve* 2000, 2008）。Split hand の病態基盤として、(1)筋の使用頻度（酸化ストレス、代謝要求）、(2)上位運動ニューロンからのシナプス結合（グルタミン酸興奮毒性）、(3)軸索興奮性（持続性 Na 電流増大）などの違いによる可能性が推察されている。

下位運動ニューロンの神経軸索興奮性に関しては、ALS 患者では健常者に比べ持続性 Na 電流が亢進していること、健常者では APB や FDI 支配軸索の持続性 Na 電流は ADM より亢進していること、ALS 患者と健常者の持続性 Na 電流の差は、APB の方が ADM の差よりも大きいことが報

告されている（Kanai et al. *Brain* 2006, Bae et al. *Muscle Nerve* 2009, Shibuya et al. *JNNP* 2013）。

しかし、下肢筋（短趾伸筋：EDB、母趾外転筋：AH）を含めた四肢筋の萎縮がどのような関係にあるか（AH）における萎縮の程度や軸索興奮性についての検討は行われていない。そこで我々は、下肢筋を含めた ALS 運動ニューロン死の病態について検討した。

B. 研究方法

①ALS 患者 127 名、脊髄性筋萎縮症・球脊髄性筋萎縮症患者（SMA/SBMA）46 名において、CMAP 振幅を APB、ADM、EDB、AH の 4 筋で測定し、正常平均値との比率を算出して比較検討した。

②健常者において上記 4 筋支配神経の強さ・時間曲線時定数（SDTC）値を測定し、持続性 Na 電流の指標とした。

(倫理面への配慮)

本研究は千葉大学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払った。

C. 研究結果

①ALSにおける CMAP 低下は $APB > EDB = AH > ADM$ の順に顕著であり ($APB = 0.41, EDB = 0.54, AH = 0.56, ADM = 0.65$)、下肢筋と比較しても APB での低下が著明であった。また APB の萎縮が ADM より強いという関係は、発症部位 (球、上肢、下肢型)に関わらず認められた。SMA/SBMA では $APB = EDB = AH > ADM$ の順で顕著であり ($APB = 0.62, EDB = 0.63, AH = 0.61, ADM = 0.78$)、APB 振幅は EDB、AH と同程度に低下していた。

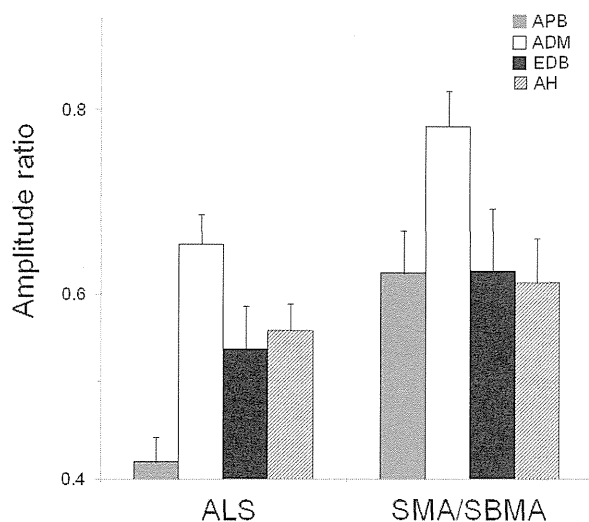


図: ALS における CMAP 低下は $APB > EDB = AH > ADM$ の順に顕著であり、SMA/SBMA では $APB = EDB = AH > ADM$ の順であった。

②健常者の SDTC 平均値は、 $APB = 0.45, ADM = 0.39, EDB = 0.37, AH = 0.44$ であった。

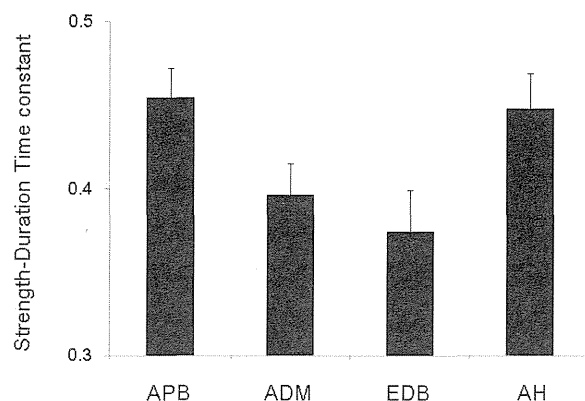


図: 健常者における SDTC は $APB = AH > ADM > EDB = AH > ADM$ の順であった。

D. 考察

下位運動ニューロンのみが障害される SMA/SBMA では ADM が比較的保たれ APB と EDB/AH で同程度の萎縮がみられた。ALS においては、ADM が相対的に保たれている点は同様であったが、APB の萎縮が下肢筋より顕著であった。この差に関しては軸索興奮性に加えて上位ニューロン病変によるグルタミン興奮毒性の影響を考える必要がある。一方 ALS において下肢筋の萎縮が ADM より高度である点に関しては主に軸索長が関与していると思われる。ALS における運動ニューロン死には多因子が複合的に関与しているものと思われた。

E. 結論

ALS における萎縮の筋間差の要因は多因子であり、(1) 筋の使用頻度 (酸化ストレス増大)、(2) 上位運動ニューロンとの synaptic connection (グルタミン酸興奮毒性)、(3) 支配神経軸索の生理的興奮性の高さ (過興奮性)、(4) 軸索長 (軸索輸送障害) など、上位運動ニューロン (2) と下位運動ニューロン (1、3、4) の要素が複合関与しているものと考えられる。Split hand の発現には (1)~(3) が想定されるが、下肢筋支配の運動ニューロン死には (4) の関与が大きいと思われる。

上記のように ALS では運動ニューロン死に複数の因子が関わっている可能性があり、その治療