別紙３

厚生労働科学研究費補助金　（難治性疾患政策研究事業）
神経変性疾患領域の基盤的調査研究　分担研究報告書

ALS の症候、早期診断に関わる因子の解析

小野寺　理，
大津 裕，畠野 雄也，石原 智彦
新潟大学脳研究所脳神経内科

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症:Amyotrophic lateral sclerosis（ALS）は成人発症の致死的な神経変性疾患である．病態や治療法には未解明の点も多いが，病態修飾薬の開発が進められており，早期診断，進行予測の重要性が増している．本研究では早期診断および進行予測に向けて介入可能な要素を抽出するために，①剖検例を用いての遺伝子解析，②発症部位，初診標榜科などの因子が，初診・診断までの期間に与える影響を検討，解析した．

当施設での ALS 剖検例 139 例より DNA を抽出し，エクソーム解析を実施した．このうち認知症の有無が確認できる 80 例での検討にて、APOE2 アレルの保有が認知症リスクを増大させる可能性が示された。

また当科および関連病院に入院し診断確定した ALS 連続症例 265 例を対象として後方視的検索を行った．その結果，1）肩症状で発症する上肢近位型 ALS は他臨床型と比較し受診までの期間が長い，2）整形外科，一般内科初診例は，脳神経内科初診例に比して，初診から診断までの期間が長い傾向にあった．以上から初診となる可能性の高い，耳鼻科，整形外科医に対し Split hand、髄節支配との乖離など ALS を示唆する所見の周知，肩挙上不良例の鑑別として ALS がありうることの啓蒙，といった対応を行い，診断までの期間の短縮を計る必要がある．

A．研究目的

筋萎縮性側索硬化症：ALS は成人発症の代表的な運動神経変性疾患である．全身の上位下位運動神経の変性により，最終的には嚥下，呼吸障害を呈し，多くは 3-5 年で不幸な転機をたどる．

ALS の重要な症候に認知症がある．ALS では 50％で認知機能障害をきたし（ALS-D)、10－15％に前頭側頭型認知症(FTD)を呈する（ALS/FTD）ALS/FTD 患者の主要な遺伝子背景は C9orf72 遺伝子変異だが，本邦では同変異は稀である. 2016 年にイタリアより APOE2 アレルが ALS/FTD のリスク因子として報告された(Chio, et al. JAMA Neurol. 2016) ．本研究では本邦での ALS-D と APOE の関連について検討した．

また，ALS では病態修飾薬の開発が進められており，早期診断の重要性が高まっている．本症の診断までの期間と発症部位、初診科についての検討がなされており，狩野らによれば四肢発症で整形外科受診例が診断までの期間が 20 カ月以上と最も時間を要することが報告されている(Kano et al. BMC neurology 2016)．しかし，同様の検討は少ない．発症部位，初診標榜科による診断までの期間，および，初診までの期間に

ついて検討した.

B. 研究方法

①新潟大学脳研究所保有の ALS 139 例より遺伝子を抽出し,エクソーム解析を行った.うち病歴に認知症の有無がある 80 例を対象とした. *APOE* rs7412 と rs429358 の SNP より *APOE* 遺伝子型を同定した. 疾患群を認知症の有無, 病理学的な他認知症の合併, ALS 原因遺伝子の rare variant 保有の有無で分類し, 各群での *APOE* のアレル頻度の差を Fisher の正確確率検定で解析した.

②当科,当院関連病院に入院し診断確定した ALS 連続 265 症例を対象に, 後方視的検索を行った. 各症例の初診科, 初発症状（球症状、上下肢近位遠位), 初診までの期間, 診断確定までの期間を調査し,診断までの期間との関連を評価した. 初診科, 初発症状毎に, 一元配置分散分析(ANOVA)を行った. 多重比較は Tuley-Kramer 検定を行なった.

（倫理面への配慮）

本研究は新潟大学医学部倫理委員会の承認を得て行った.

C. 研究結果

①ALS 認知症合併例（ALS-D）30 例と非合併例（ALS-nonD）50 例に分類し, APOE2 アレル頻度を比較した. APOE 2 アレル頻度は ALS-D での 6.7%に対し, ALS-nonD では 3%であり前者で多い傾向にあった (オッズ比 2.31; p = 0.43) . さらに病理学的にアルツハイマー病や嗜銀顆粒性認知症の症例,ALS 関連遺伝子変異陽性例を除外した. これらの症例の解析では、APOE 2 アレル頻度は ALS-D 11.8%に対し, ALS-nonD では 1.4%で, 前者で有意に多かった（オッズ比 9.20; p = 0.038）

	APOE ε2	APOE ε3	APOE ε4
ALS-D (17 例)	4 (11.8 %)	26 (76.5 %)	4 (11.8 %)
ALS-nonD (35 例)	1 (1.4 %)	62 (88.6 %)	7 (10 %)

②初診科は整形外科が 91/265 例と最多だった. 発症から初診までの期間は市中病院脳神経内科で長い傾向があり, 大学病院整形外科が 3.2±3.5 月, 大学病院耳鼻科が

	大学	市中	佐渡
合計	4.3 (5.2)	7.4 (9.0)	3.9 (4.7)
神内	6.8 (6.8)	10.0 (10.7)	5.4 (5.5)
整形	3.2 (3.5)	7.6 (8.8)	3.3 (2.5)
耳鼻	2.1 (2.9)	4.7 (4.9)	6
脳外	4.6 (2.9)	7.1 (8.8)	–
内科	4.8 (4.5)	4.5 (8.8)	0 (0.0)
その他	2.2 (3.3)	6.6 (5.2)	0 (0.0)

2.1±2.9 月と短い傾向があった（表).

初診から診断までは, 市中病院脳神経内科, 大学脳神経外科が短く, 大学整形外科が 10.0±8.8 月, 大学内科が 10.6±14.4 月であった（表).

発症部位は上肢型が最多で, 球麻痺型は約 3 割であった. 発症部位別の発症から診断までの比較では, 大学病院での上肢近位（肩）発症例が 15.7±7.5 月, 市中病院での下肢発症例が 16.3±15.3 月と長い傾向があった. 呼吸発症例は、大学で 9.0±5.3

	大学	市中	佐渡
合計	7.9 (8.1)	5.7 (7.1)	8.3 (11.6)
神内	6.3 (7.9)	4.4 (4.4)	9.0 (13.9)
整形	10.0 (8.8)	6.4 (7.7)	6.0 (7.8)
耳鼻	7.6 (3.8)	6.4 (5.2)	1
脳外	4.6 (2.9)	7.4 (8.7)	–

	大学	市中	佐渡
合計	12.4 (8.5)	13.5 (12.0)	12.4 (11.8)
上肢	12.4 (7.4) 肩 15.7 (7.5) 手指 11.3(7.5)	13.9 (12.2)	11.6 (8.3)
下肢	13.2 (11.4)	16.3 (15.3)	–
球発症	12.1 (8.6)	11.2 (6.5)	13.3 (14.7)
呼吸発症	9.0 (5.3)	3.3 (1.9)	–
その他	9	15.8 (15.5)	–

月、市中病院で3.3±1.9カ月と短期間であった（表）.

D. 考察

①ALSでは*APOE2*アレル頻度が有意に高く，APOE蛋白質蛋白がALSの認知症リスクを上げる可能性が示された．この結果は既報(Chio, et al. JAMA Neurol. 2016)とも一致する．少数例の検討ながら，病理学的な裏付けのある症例での ALSの認知症リスクを検討した意義は大きい.

APOE蛋白質はAPOE 2, 3, 4 のサブタイプがある．特にAPOE4は家族性アルツハイマー病の重要なリスク因子である.

本研究および既報にてAPOE2がALSの認知症リスクとされ，他の認知症をきたす変性疾患と異なる点は重要である.

②発症から診断までの全体の平均期間は，既報（Kano et al. BMC neurology 2016)と同程度であった．発症してから初診するまでは，脳神経内科が遅く，耳鼻科と整形外科が早い傾向があった．耳鼻科受診は球麻痺症状例が多い影響と考えられた．初診から診断までは、大学整形外科，内科ではそれぞれ10か月以上を要した．疲れや年齢による筋力低下，頸椎症との鑑別で経過観察される期間があるものと考えられた.

ALSを速やかに診断するためには，専門科である脳神経内科への早期の受診が必要となる．脱力箇所と髄節支配との乖離や，Split hand，Split elbowなどのALSを疑わせる症状についての他科への啓蒙が，早期診断には有用である．上肢近位発症の場合，つまり肩の発症の場合には，初診までに時間がかかっていた．上肢遠位である手指発症の場合と比べて，日常動作への影響が少ない点，五十肩などの他疾患との鑑別，Flail arm typeのALSはそもそも進行が遅いという点も影響している可能性がある．いずれにしても，肩が上がらないという症状の方にいかに早く受診していただくかという点は，今後の課題である.

E. 結論

①本邦でもAPOE2が ALSにおける認知症のリスク因子になっている可能性がある。病理学的に裏付けのあるALS症例において遺伝的要素が，臨床的特徴，病理学的特徴と関連付けて解析が行われることは今後のALS病態生理，治療法の解明に有用である．引き続き，症例数を増やし，本邦におけるALSの原因遺伝子の同定およびその機能解析を進めていく.

②発症早期の様々な治験が導入される現在において，脳神経内科の診断までの期間の短縮を図る必要がある．さらに，初診となる可能性の高い，耳鼻科，整形外科医に対しても， Split handなどALSを示唆する所見の周知を行い，診断までの期間の短縮を計る必要がある．上肢近位型が，受診までの期間が長い傾向があり，肩の挙上不良時の，本症の可能性について，ひろく啓蒙が必要である.

F. 健康危険情報

特になし.

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2.学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況（予定を含む）

1.特許取得
2.実用新案登録
3.その他
特になし.