

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 8 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010 年度～2012 年度

課題番号：22590960

研究課題名（和文） 重症筋無力症における興奮収縮連関障害の解明

研究課題名（英文） Impairment of excitation-contraction coupling in myasthenia gravis

研究代表者

今井 富裕（IMAI TOMIHIRO）

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：40231162

研究成果の概要（和文）：

本研究の成果は 2 つあり、一つは咬筋を被検筋として加速度センサーを用いた興奮収縮連関時間（excitation-contraction coupling time; ECCT）の測定法を開発したことであり、もう一つは重症筋無力症において咬筋の興奮収縮連関障害と咬合力の関係を明らかにしたことである。一部の重症筋無力症患者では咬筋の興奮収縮連関が障害されており、治療後の咬合力の増加に興奮収縮連関の機能的回復が関与していると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

The results of this study were: 1) to develop measurement of excitation-contraction coupling time (ECCT) of masseter using an accelerometer; 2) to elucidate the relationship between the impairment of E-C coupling of masseter and the bite force in patients with myasthenia gravis (MG). Masseteric E-C coupling is impaired in some MG patients, and functional recovery of E-C coupling contributes to the increase in bite force at least in part after treatment.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
2012 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：臨床神経生理学

## 1. 研究開始当初の背景

重症筋無力症（Myasthenia gravis, 以下 MG）は、易疲労性を特徴とする神経筋接合部疾患である。臨床症状は、眼瞼下垂、複視、顔面および四肢の筋力低下、咀嚼時の顎のだるさ、嚥下障害、呼吸障害等と多岐に渡る。

臨床診断のための検査法は、抗アセチルコリン受容体（Acetylcholine receptor, 以下 AChR）抗体の測定、テンシロンテスト、反復刺激検査（Repetitive nerve stimulation, 以下 RNS）、単一筋線維筋電図（Single fiber EMG, 以下 SFEMG）等により行われるが、顎のだるさを他覚的に評価する検査法はい

まだ確立されていない。近年、MG の病態解明がすすめられ、その臨床症状が抗 AChR 抗体以外の要素によっても規定されている可能性が示されてきた。その候補としては、抗 AChR 抗体以外の自己抗体、興奮収縮連関の障害、二次的な筋自体の変化などの関与があげられる。その中でも特に注目されている興奮収縮連関は、神経筋接合部に発生した活動電位が横行小管の膜電位を変化させ、さらに筋小胞体の膜電位変化をもたらすことで、筋小胞体から  $Ca^{2+}$  を放出し、その  $Ca^{2+}$  がトロポニンと結合することによりアクチンフィラメント活性部とミオシンフィラメントが結合し筋収縮がおこる一連の過程であり、興奮収縮連関が障害されるということはシナプス後膜以外にも病態に関連した、もしくは病態を修飾する部位が存在する可能性を示している。

我々は 2005 年から顎のだるさを評価すべく、三叉神経咬筋枝刺激による咬筋 RNS を行って来た。咬筋 RNS は現在 50 例を越える MG 患者で施行されており、単独でも有用な検査法であるが、これに加速度センサーを組み合わせると、興奮収縮連関時間 (Excitation-contraction coupling time 以下、ECCT) を測定することが可能となる。すでに *in vivo* でのヒトの興奮収縮連関を評価する方法が考案されており、RST や SFEMG で評価できる電氣的シナプス伝達の異常と組み合わせることによって、より詳細に神経筋接合部の障害を評価できる素地はできている。しかしながら、これまでの報告のように短母指外転筋 (APB) などの上肢遠位筋を被検筋として MG の神経筋接合部の評価を行なった場合、被検筋の神経筋接合部異常とその筋力を直接的に対応させることができないという重大な問題がある。

## 2. 研究の目的

MG 患者における咬筋の神経筋接合部障害を調べるために、咬筋反復刺激試験 (RNS)、咬筋 ECCT 測定、咬筋単線維筋電図 (SFEMG) を行い、MG 患者を 1) 咬筋 RNS や咬筋 SFEMG で異常が検出される群、すなわち三叉神経-咬筋接合部の電氣的シナプス接続が障害されている群、2) 咬筋 ECCT に異常がみられる群、すなわち咬筋のシナプス後膜における興奮収縮連関が障害されている群、3) 上記二者のどちらも障害されている群、4) 上記二者のどちらも障害されていない群に分類する。電気生理学的諸検査を行う際に感圧シートを用いて咬合力を測定し、神経筋接合部の障害と筋力低下の対応を明らかにし、4 群の臨床的特徴、特に胸腺異常や自己抗体との相関や薬物治療に対する反応性を解析することによって、E-C coupling の障害を有する MG

の特徴を明らかにする。

## 3. 研究の方法

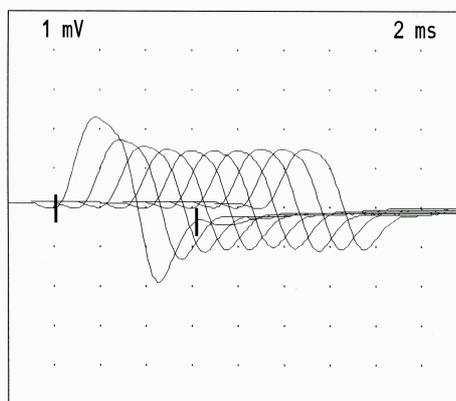
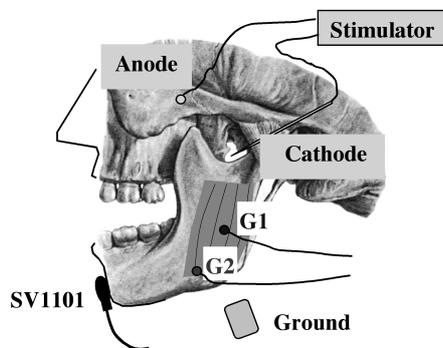
### 1) 臨床症状の解析

各症例において以下の臨床所見、検査所見を解析する。

- ①. 自覚症状の問診 (特に咀嚼の易疲労性、顎のだるさの有無を聴取する)。
- ②. MGFA 臨床分類、MG-ADL スコア
- ③. 胸腺異常の有無、胸腺摘出術と病理組織 (WHO 分類を含む)
- ④. 各種自己抗体 (抗 ACh 受容体 (AChR) 抗体、抗 Ryanodine 受容体 (RyR) 抗体、抗 MuSK 抗体)
- ⑤. 副腎皮質ホルモン、免疫グロブリン、血漿吸着あるいは血漿交換療法に対する治療反応性
- ⑥. 総合的な臨床経過

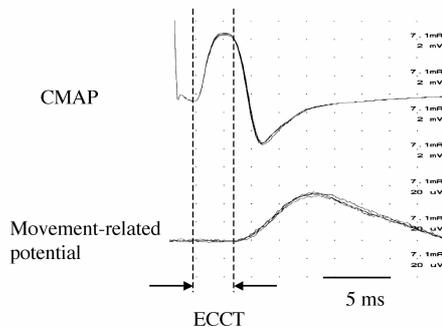
### 2) 咬筋反復刺激検査 (咬筋 RNS)

下顎切痕に (約 15 mm 程度) 挿入した単極針によって三叉神経咬筋枝を電気刺激し、表面電極を用いて咬筋の複合筋活動電位 (CMAP) を記録する。設置電極は頸部に置く。最低電流で最大 CMAP が導出される至適位置に刺激電極を固定した後、1~3 Hz の低頻度 RNS を行う。第 5 波で振幅が 10% 以上減衰した場合を waning 陽性とする。



### 3) 咬筋 ECCT の測定

単極アンマ針によって三叉神経咬筋枝を電気刺激し、表面電極を用いて咬筋の複合筋活動電位 (CMAP) を記録する。至適条件で RNS を行った後、下顎先端に設置した加速度計 (SV1101) によって下顎の運動誘発波形を記録し、CMAP との潜時差を ECCT として計測する。



### 4) 咬筋 SFEMG

ニコレー-Viking IV を用いる。被検者は安静仰臥位とし、同芯針電極 (直径 0.45 mm) を咬筋に刺入したのち軽度の随意収縮を行なわせて、単線維電位を探查する。周波数帯域の下限を 2kHz に設定し、level trigger で単線維電位として記録する。

単線維電位の条件は rise time 0.3 ms 以下、1 ペアの解析に必要な最低発火数: 50 以上、1 ペアの電位間隔 (Interpotential interval: IPI) の上限: 2ms、1 筋での測定ペア数: 20 以上とする。各単一ペアの Mean consecutive difference (MCD), Mean sorted-data difference (MSD), IPI を記録する。

### 5) 感圧シートによる咬筋力の測定

本学歯科口腔外科でその高い有用性が報告されている感圧測定シートを咬ませて咬合状態を記録したのち、画像解析装置 (FPD-707, GC 社) でシートの分析を行なう。感圧測定シートはベッドサイドで簡便かつ短時間に多点同時の咬合状態の評価を可能にし、信頼性も高い。すでに予備的実験を行なっているが、MG 患者のような咬合力の低下した患者においても再現性のあるデータ収集が可能である。咬合接触面積、咬合力および咬合圧について正常対象群との比較のみならず、治療前後での経時的な変化を記録する。

### 6) データ解析

臨床所見、咬筋 RNS、咬筋 ECCT、咬筋 SFEMG および感圧シートによる咬筋力のデータを Excel などの表計算ソフトに入力し、JMP statistical program を用いて統計解析する。

### 7) 総合考察

臨床所見、咬筋 RNS、咬筋 ECCT、咬筋 SFEMG および感圧シートによる咬筋力の記録を症例ごとに経時的に行なう。

得られたデータから咬筋力が低下した MG 症例を

A 群: 咬筋 RNS や咬筋 SFEMG で異常が検出される群、すなわち三叉神経-咬筋接合部の電気的シナプス接続が障害されている群

B 群: 咬筋 ECCT に異常がみられる群、すなわち咬筋のシナプス後膜における興奮収縮連関が障害されている群

C 群: 上記二者のどちらも障害されている群

D 群: 上記二者のどちらも障害されていない群の 4 群に分類し、胸腺病変との関連や各種自己抗体 (抗 AChR 抗体、抗 RyR 抗体、抗 MuSK 抗体) との関連について検討する。上述のように推定される神経筋接合部障害の機序から 4 群に分類された症例が、副腎皮質ステロイド剤、免疫抑制剤 (特に抗 RyR 受容体を介した筋小胞体からのカルシウムイオンの放出促進作用を有するとされる FK506)、免疫グロブリン大量静注療法あるいは血液浄化療法による治療にどのように反応し、神経筋接合部の機能回復と咬筋力の回復が対応しているかどうかを検討する。最終的に、研究期間内の治療反応性からみた 4 群の特徴について一定の結論を提示する。

### 4. 研究成果

初年度には、咬筋の興奮収縮連関時間 (E-C coupling time; ECCT) 測定法と感圧測定シートを用いた咬合力測定法を確立し、ECCT と咬合力の正常値を構築した。次に、重症筋無力症 (myasthenia gravis; MG) を対象として、咬筋 RNS の減衰率 (% decrement), ECCT および咬合力を経時的に測定し、自己抗体との関連や各種薬剤の治療効果を検討した。

咬筋を対象とした % decrement や ECCT の測定法は、簡便で安全であり再現性のある記録が可能であった。治療前後で経時的に検査しえた MG 20 例において治療後に咬合力の増加とともに % decrement と ECCT が改善し、単回帰分析では、% decrement, ECCT, 咬合力の間に相関を認めた。ECCT の延長は興奮収縮連関の障害だけではなく、終板での伝達効率の低下や筋線維自体の障害でも起こりうると考えられた。しかしながら、% decrement に異常がなくても ECCT の延長がみられる症例や、% decrement や咬筋の複合筋活動電位に有意な変化がなくても治療直後から ECCT が短縮する症例を認めた。このことから、ECCT は終板での伝達効率や筋線維の病理学的変化と独立して変化しており、興奮収縮連関の機能を直接的に評価する指標になりうると考えられた。つまり、少な

くとも一部の MG 患者においては、ECCT の短縮を伴う咬合力の増加が興奮収縮連関の機能的改善を反映していると思われた。さらに、抗リアノジン受容体抗体や FK506 (タクロリムス) が興奮収縮連関の機能不全あるいは機能改善と関連している可能性が示唆され、次年度にその確証を得るための研究計画を立案した。

二年次 (2011 年次) 以降の研究成果を項目別に以下にまとめる。

#### 1) 抗リアノジン (RyR) 抗体による興奮収縮連関障害

重症筋無力症 (myasthenia gravis: MG) 26 例を抗 RyR 抗体陽性群 12 例/陰性群 14 例に分け、ステロイドや免疫抑制剤 (FK506, シクロスポリン) 投与あるいは免疫グロブリン大量静注療法、血液浄化療法の治療内容にかかわらず、反復刺激試験の %decrement が正常な時のデータを解析した。前年度の研究から ECCT は興奮収縮連関だけではなく、シナプスでの伝達効率の変化や筋線維の病理学的変化にも影響を受けることが明らかになったが、本研究では、電気的シナプス接続、咬筋の複合筋活動電位、病期あるいは MG 重症度に関して抗 RyR 陽性群/陰性群で有意差がない条件が設定された。このように純粋に興奮収縮連関障害を評価することができる条件設定においても、抗 RyR 抗体陰性群に対して抗 RyR 抗体陽性群で有意に ECCT の延長がみられた。このことから抗 RyR 抗体はシナプスでの伝達障害や筋線維障害とは無関係に興奮収縮連関を障害すると考えられた。

#### 2) FK506 投与による ECCT の改善

FK506 には本来の免疫抑制作用のほかに興奮収縮連関を促通する効果があると報告されている。この効果を実証するため、20 例の MG 患者において FK506 投与前後で、経時的に感圧シートを用いた咬筋力、反復刺激試験および咬筋 ECCT の測定を行なった。咬筋の複合筋活動電位や反復刺激試験の結果は FK506 投与前後で有意な変化を示さなかったが、ECCT は 12 例で投与後 2 週以内に、8 例で投与後 4 週以内に有意な短縮を認めた。FK506 投与後早期にみられる有意な ECCT の短縮は FK506 の興奮収縮連関促通作用を示していると考えられた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ①. Imai T, Tsuda E, Hozuki T, Yamauchi R, Saitoh M, Hisahara S, Yoshikawa H, Motomura M, Kawamata J, Shimohama S. Early effect of tacrolimus in improving excitation-contraction coupling in

myasthenia gravis. Clin Neurophysiol Clin Neurophysiol 2012, 123:1886-1890. doi: 10.1016/j.clinph.2012.01.017. 査読有

- ②. Imai T, Tsuda E, Hozuki T, Yoshikawa H, Yamauchi R, Saitoh M, Hisahara S, Motomura M, Kawamata J, Shimohama S. Contribution of anti-ryanodine receptor antibody to impairment of excitation-contraction coupling in myasthenia gravis. Clin Neurophysiol 2012, 123:1242-1247. doi: 10.1016/j.clinph.2011.10.038. 査読有
- ③. Imai T, Tsuda E, Toyoshima T, Yoshikawa H, Motomura M, Shimohama S. Anti-ryanodine receptor-positive acetylcholine receptor-negative myasthenia gravis: Evidence of impaired E-C coupling. Muscle Nerve 2011, 43: 294-295. doi: 10.1002/mus.21887. 査読有
- ④. 今井富裕. 興奮収縮連関を測る. BRAIN MEDICAL 2011, 23 (3): 71-77. 査読無
- ⑤. Tsuda E, Imai T, Hozuki T, Yamauchi R, Saitoh M, Hisahara S, Yoshikawa H, Motomura M, Shimohama S. Correlation of bite force with excitation-contraction coupling time of the masseter in myasthenia gravis. Clin Neurophysiol 2010, 121: 1051-1058. doi: 10.1016/j.clinph.2010.01.036. 査読有
- ⑥. 今井富裕, 保月隆良, 津田笑子, 山内理香, 下濱 俊: 重症筋無力症の咬合力評価における感圧測定シートの有用性. 臨床神経生理学 38: 399-405, 2010. 査読有

[学会発表] (計 5 件)

- ①. Imai T, Tsuda E. Safety factor of masseteric single motor end-plates in myasthenia gravis. The XXth International SFEMG and QEMG course and the XIIth QEMG conference, 2012 年 6 月 4 日, Istanbul, Turkey.
- ②. 今井 富裕. 興奮収縮連関を標的とした重症筋無力症の新たな病態. 第 53 回日本神経学会シンポジウム. 2012 年 5 月 25 日, 東京.
- ③. Tomihiko Imai. Contribution of anti-ryanodine receptor antibody to impairment of excitation-contraction coupling in myasthenia gravis, The XXth World Congress of Neurology, 2011 年 11 月 16 日 Marrakech, Morocco.
- ④. 津田笑子, 興奮収縮連関と咬合力評価, 第 41 回日本臨床神経生理学学会学術大会, 2011 年 11 月 11 日, 静岡
- ⑤. Tomihiko Imai. Measurement of excitation-contraction coupling time

of masseter in mandibular movement, The  
29th International Congress of Clinical  
Neurophysiology, 2010年11月1日, 神  
戸

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

今井 富裕 (IMAI TOMIHIRO)  
札幌医科大学・医学部・講師  
研究者番号：40231162

### (2) 研究分担者

保月 隆良 (HOZUKI TAKAYOSHI)  
札幌医科大学・医学部・研究員  
研究者番号：80464501  
津田 笑子 (TSUDA EMIKO)  
札幌医科大学・医学部・研究員  
研究者番号：90464495

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：