

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K09710

研究課題名(和文) 新たな視点によるALSの進行パターンの電気生理学的探索

研究課題名(英文) A novel analysis of the disease progression patterns in ALS using electrophysiological data

研究代表者

叶内 匡 (Kanouchi, Tadashi)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：50345287

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：ALS 21例中針筋電図上の障害髄節が初発部を基準に連続した分布の8例においてのみ、初発肢のCMAP振幅低下速度と次の身体領域への症状進展速度とに正相関の傾向がみられた。上肢発症7例では、経頭蓋磁気刺激(三重刺激法)による初発肢の反応が小さい程、初発肢のCMAP振幅低下速度に比して次の身体領域への症状進展が相対的に早い傾向があった。前者は、病変進展が病因因子のドミノ倒し的な神経細胞間伝播によるという仮説と合う結果で、後者は上位運動ニューロン障害が強いほど局所の重症化に比して病変の領域間進展がより優位となることを示唆する結果だが、いずれも十分な確証を得るに至らず、更に症例の蓄積が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

プリオン様伝播仮説などの病態機序を視野に入れたALSの疾患進行パターンを新しく考案した。電気生理学的検査により得られる上位および下位運動ニューロンの情報を入れ込むことで疾患進行パターンを立体的かつ定量的に扱うことができるようになった。これにより、病変の進展が病因因子のドミノ倒し的な神経細胞間伝播によるという仮説と合うような進行パターンを示している可能性のある一群を見出すことができた。

研究成果の概要(英文)：The speed of symptom spreading from the onset site to the next body region tended to be positively correlated with the speed of CMAP amplitude reduction in the onset limb in 8 of 21 ALS patients, in whom the involved spinal segments with acute denervation in needle EMG are contiguously distributed from the onset segment. In 7 ALS patients with the upper limb onset, the smaller the response of onset limb to transcranial magnetic stimulation using the triple stimulation technique is, the faster the inter-regional symptom spreading relative to the CMAP amplitude reduction speed in the onset limb is. The first finding seems to be consistent with the hypothesis in which the ALS lesion would spread out with domino-like cell-to-cell propagation of the pathogenic proteins. The second finding suggests that impairment of the upper motor neurons may affect the regional spreading of ALS lesion. But both findings are not sufficiently certain and further research will be necessary in the future.

研究分野：脳神経内科学、臨床神経生理学

キーワード：筋委縮性側索硬化症 プリオン様伝播仮説 病変進展 定量的疾患進行パターン Local progression Regional spread 電気生理学的検査

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

神経変性疾患の新たな病態仮説として、細胞内の異常蛋白質凝集体が異常プリオン蛋白質のように細胞から細胞へと伝播することで病変が広がるというプリオン様伝播仮説が提唱されている。そうした病態が存在するのであれば、病因物質の伝播を阻止することが神経変性疾患の重要な治療ターゲットとなりうる。

ALS においても培養細胞の実験や患者剖検脳・脊髄における病理学的研究などからこれを支持する報告が複数なされている。臨床的にも運動障害が体の一部に初発しその後経時的に他の身体部位へと広がっていくことはよく知られており、症状の進展パターンの解析は実際の患者における病変の進展機序を考える上で大きな手がかりを与えてくれるものと期待される。しかし臨床症状の観察にのみ基づく研究は subclinical な病変進展を見逃している可能性を残すなどの限界がある。

電気生理検査は subclinical な障害もとらえることができ、障害を定量化できる利点がある。我々は先行研究において針筋電図を用いて下位運動ニューロン障害が初発部位から髄節を必ずしも連続して進展するわけではなく、連続型、不連続型、びまん型の 3 型が見られること (Sekiguchi T, Kanouchi T, et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2013) や、初発部位の複合筋活動電位 (compound muscle action potential, CMAP) を用いて局所における重症化の速度を定量化し、これと他身体領域に症状が進展する時間とを組み合わせることで、ALS 病変の進展パターンを定量的に分類することができることを示した (横田隆徳、叶内匡、大久保卓哉・平成 27 年度厚生労働科学研究補助金 神経変性疾患領域における調査研究班 (分担) 研究報告書)。

しかし、両者の関係については明らかとなっていない。また、ALS は下位と共に上位運動ニューロンも障害される疾患であり、疾患進行パターンの全体像を把握するには上位運動ニューロン障害の進行パターンや上位と下位との障害の関係性を明らかにする必要がある。

## 2. 研究の目的

針筋電図や前述の local progression と regional spread による疾患進行パターンとともに、triple stimulation technique (TST) を用いた経頭蓋磁気刺激により ALS 患者の上位運動ニューロン障害を定量的に評価し、ALS の疾患進行パターンの全体像を明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) 対象: 上肢あるいは下肢に初発した updated Awaji 基準で clinically possible 以上の ALS 患者と、下位運動ニューロン障害のみで臨床的に上位運動ニューロン徴候の明らかでない進行性筋萎縮症 (progressive muscular atrophy; PMA) 患者。

(2) 疾患進行パターン解析のための電気生理学的検査

いずれの検査も筋電計 MEB2312 (日本光電) を用いて行った。

針筋電図: 同芯針電極を用いた通常の方法で、初発側を検査した。僧帽筋、上腕二頭筋、第一背側骨間筋、Th10 傍脊柱筋、大腿四頭筋、前脛骨筋の 6 筋を基本とし、これに支配髄節は異なるが神経長がほぼ同じで運動神経の脆弱性に大きな差がないと考えられる 2 筋のペア (上肢は腕橈骨筋と尺側手根屈筋、下肢は大腿四頭筋と大腿二頭筋) を可能な限り加えた。各被検筋ごとに 10 か所の刺入部位で安静時記録を行った。

神経伝導検査: 初発側の正中神経 (短母指外転筋導出)、尺骨神経 (小指外転筋導出)、脛骨神経 (母趾外転筋導出) を電気刺激し最大の CMAP を記録した。

TST を用いた経頭蓋磁気刺激: 初発側の小指外転筋から次の 3 つ、尺骨神経の手関節部電気刺激による CMAP、Erb 点の電気刺激による CMAP、TST による反応を記録した。TST

は、記録筋に持続的な軽い随意収縮をさせた状態で経頭蓋磁気刺激を行い、続いて尺骨神経の手関節部における最大上電気刺激、最後に Erb 点における最大上電気刺激の3つの刺激を適切な時間間隔で連続して行った (Magistris MR, et al. Brain 1998)。経頭蓋磁気刺激は Magstim2000 (Magstim 社) を用いて 2.0T の円形コイル (中心直径 90mm) により行った (刺激強度 100%)。TST による反応の大きさは、Erb 点刺激による CMAP に対する振幅比 (%) として評価した (TST amplitude ratio: TST-AR)。

### (3) 疾患進行パターンの解析

初発部位を起点とした障害髄節の分布パターン: 針筋電図において、10 か所の刺入中 2 か所以上で異常な安静時自発電位 (線維自発電位、陽性鋭波、線維束自発電位のいずれか 1 つ以上) を記録した場合に、その筋で下位ニューロン障害ありと判定した。調べた髄節の中で、障害が初発部位の髄節から連続して分布しているものを連続型、連続していないものを不連続型、全てに及んでいるものをびまん型と分類した。

局所の重症化と他身体領域への症状進展との時間的關係による疾患進行パターン

初発肢から得られた CMAP 振幅 (上肢は手関節刺激、下肢は足関節刺激によるものを対象に頂点間で計測) に基づき、振幅が正常平均から 1 SD (標準偏差) 低下するのに要する時間 (local progression time: LPT) を以下の計算式で算出し、これを局所の重症化の時間的指標とした。

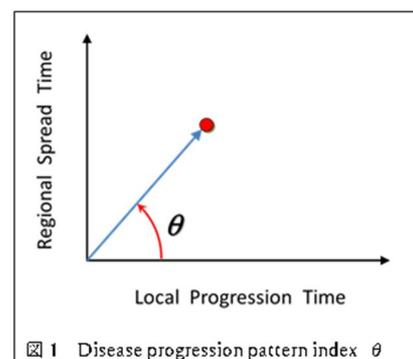
$$LPT = (\text{発症から初回検査までの時間}) \div ((\text{CMAP 振幅の正常平均} - \text{患者 CMAP 振幅}) \div \text{SD})$$

また、発症から次の身体領域 (球部、上肢、体幹、下肢) に運動症状が進展するまでの時間を問診あるいは経過を観察することによって得、これを領域間での症状進展の時間的指標とした (regional spread time: RST)。

こうして得た LPT と RST を X-Y plot し、原点からその点までのベクトルが X 軸となす角度をその患者における疾患進行パターンの定量的指標とした (disease progression pattern index : DPP index) (図 1)。DPP index は 0~0.5 までの値を取り、この値が大きいほど領域間進展に比して局所の重症化が相対的により優位であることを表す。

### (4) 統計解析

3 群間の差の検定には一元配置分散分析、2 群間の差の検定には Mann-Whitney 検定、比率の差の検定には  $\chi^2$  検定をそれぞれ行った。いずれも  $p < 0.05$  のとき有意な差があると判定した。また、LPT と RST など種々の異なる 2 つのパラメータ間で単回帰分析を行った。解析は全て統計解析ソフト R で行った。



## 4. 研究成果

### (1) 解析対象

疾患進行パターンの解析に必要なデータを全て得ることのできた ALS 患者は 21 例 (definite 7 例、probable 9 例 (うち laboratory-supported 5 例) possible 5 例; 男性 10 例、女性 11 例; 45~80 歳, 平均 65.0 歳) PMA 患者は 7 例 (男性 6 例、女性 1 例; 49~74 歳, 平均 63.3 歳) であった。初発部位は、ALS が上肢 16 例、下肢 5 例で、PMA は上肢 5 例、下肢 2 例であった。

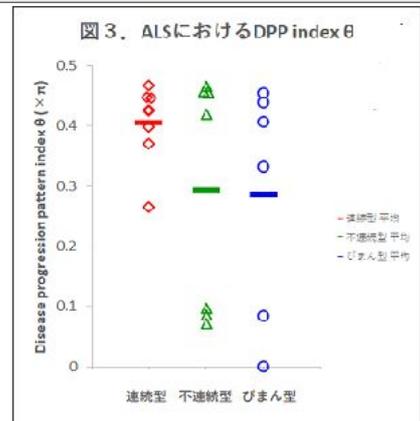
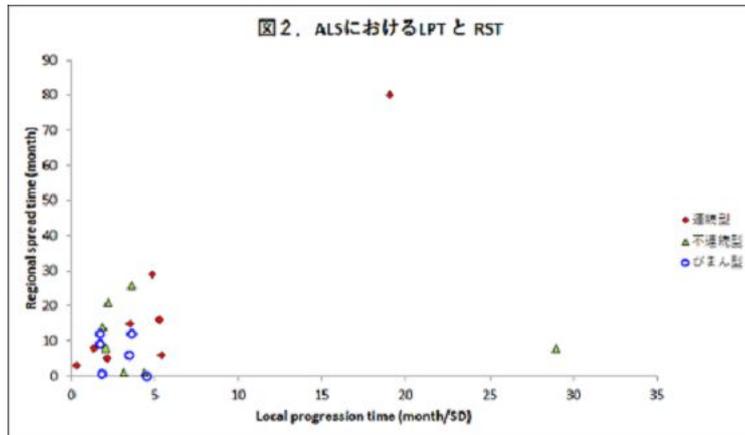
### (2) 初発部位を起点とした障害髄節の分布パターン

ALS においては、連続型 8 例 (38%)、不連続型 7 例 (33%)、びまん型 6 例 (29%) で、PMA においては、連続型 3 例 (43%)、不連続型 2 例 (29%)、びまん型 2 例 (29%) だった。ALS と PMA で各分布パターンの頻度に有意な差は認められなかった ( $p=0.97$ )。

(3) 下位運動ニューロン障害の分布パターンと LPT・RST による疾患進行パターンの関係

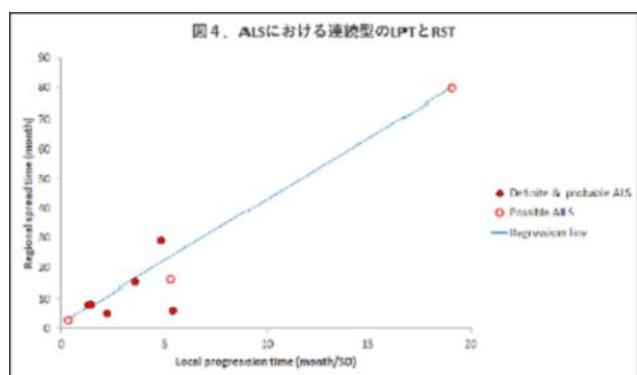
LPT、RST、DPP index の連続型、不連続型、びまん型での群間比較

ALS における LPT は 0.3 ~ 29.0 月/SD (平均 5.0) RST は 0 ~ 80 月 (平均 13.4) で (図 2) DPP index は 0 ~ 0.47 (平均 0.33) だった。障害髄節の分布パターン別にみると、LPT は連続型 0.3 ~ 19.0 月/SD (平均 5.2) 不連続型 1.9 ~ 29.0 月/SD (平均 6.6) びまん型 1.7 ~ 4.5 月/SD (平均 2.8) RST は連続型 3 ~ 80 月 (平均 20.3) 不連続型 1 ~ 26 月 (平均 11.3) びまん型 0 ~ 12 月/SD (平均 6.6) DPP index は連続型 0.27 ~ 0.47 (平均 0.41) 不連続型 0.07 ~ 0.47 (平均 0.29) びまん型 0 ~ 0.45 (平均 0.28) であった (図 3)。いずれも分布パターンによる有意な差は認めなかった (LPT  $p=0.61$ , RST  $p=0.33$ , DPP index  $p=0.29$ )。

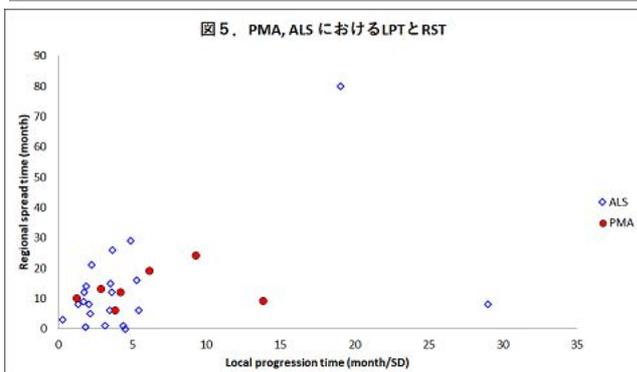


連続型、不連続型、びまん型における LPT と RST との

相関：病因因子が初発運動ニューロンから周囲の正常な運動ニューロンにドミノ倒しに伝播していくモデルを考えた場合、病変は連続的に進展し、初発運動ニューロンプール内で病変が広がる速度(局所の重症化の速度)とそこから他身体領域へと病変が広がる速度には何らかの正相関があることが推測される。ALS 全 21 例で LPT と RST との間に有意な一次相関を認めたのは連続型 8 例においてのみだった ( $RST = 4.2 LPT - 1.6$ ;  $R^2=0.91$ ,  $p=0.00021$ ) (図 4)。しかし、連続型 8 例のうち 1 例 (possible ALS) は LPT 19.0 月/SD、RST 80 月と、他 7 例の LPT 0.3 ~ 5.4 月/SD (平均 3.3) RST 3 ~ 29 月 (平均 11.7) から大きくはずれており、有意な正相関が得られたことにはこの 1 例が大きく影響していると考えられた。実際、この 1 例を除いた連続型 7 例の LPT と RST との間には、それでも多少正相関の傾向があるようには見えるものの、統計学的に有意ではなかった ( $p=0.17$ )。さらに probable 以上の 5 例に限定すると両者の間にはさらに相関を認めがなくなった ( $p=0.47$ )。不連続型 7 例とびまん型 6 例においては LPT と RST との間に有意な相関は認めなかった (それぞれ  $p=0.71$ ,  $p=0.56$ )。



PMA 7 例においても LPT と RST との間に有意な相関は認めなかった





5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kanouchi T, Sekiguchi T, Iida S, Akaza M, Yokota T.
2. 発表標題 Temporal relation between local disease progression in the onset site and regional spread of motor symptoms in amyotrophic lateral sclerosis.
3. 学会等名 The XXIII World Congress of Neurology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 叶内 匡, 関口輝彦, 横田隆徳
2. 発表標題 新たな視点による筋萎縮性側索硬化症（ALS）の進行様式に関する定量解析の試み
3. 学会等名 第57 回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 叶内 匡, 関口輝彦, 東田修二, 横田隆徳
2. 発表標題 筋萎縮性側索硬化症（ALS）における下位運動神経の障害速度 に上位運動神経障害は影響するか
3. 学会等名 第46 回日本臨床神経生理学会学術大会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----