

【要約】

Axonal dysfunction precedes motor neuronal death
in amyotrophic lateral sclerosis

(筋萎縮性側索硬化症では軸索機能障害が
運動ニューロン死に先行する)

千葉大学大学院医学薬学府

先端医学薬学専攻

(主任：桑原 聡 教授)

岩井 雄太

【背景】

筋萎縮性側索硬化症（amyotrophic lateral sclerosis : ALS）は上位および下位運動ニューロンの変性・脱落を生じる神経変性疾患であるが、その病態については未だ十分に解明されていない。複数の要因が寄与していると考えられており、運動神経興奮性増大もその一因となっている可能性がある。広範囲に生じる線維束性収縮は ALS に特徴的であり、神経終末の興奮性増大によって生じるとされている。実際、ALS 患者の運動神経軸索において持続性 Na 電流の増加や K 電流の減少が報告されており、これらのイオンチャネル変化は神経興奮性増大をもたらすものである。グルタミン酸は中枢神経の興奮性神経伝達物質であり、過剰なグルタミン酸は興奮毒性を生じ神経変性を生じる。さらに、ALS の運動ニューロンにおいては Ca^{2+} の耐容量が減少している。このように、神経興奮性増大は運動ニューロンの変性に寄与していると考えられている。実際、リルゾールはシナプス間でのグルタミン酸濃度を減少させることが知られており、このことは上記仮説を支持するものである。

興奮性増大と運動ニューロン死の関連については徐々に解明されつつあるものの、未だ不明な点も多い。ALS37 名の軸索興奮性を 3 ヶ月間観察した報告では、K 電流減少がより進行してくることが報告されている。しかし、神経興奮性増大がいつから生じるか、また長期的にどのように変化するかについては明らかとはなっていない。このため、我々は興奮性増大と運動ニューロン死の関係性を明らかにすることを目的として、ALS100 例以上で軸索興奮性検査を施行した。

【方法】

当院に 2001 年 1 月から 2014 年 9 月までに受診した ALS 患者のうち、改訂 El Escorial 基準で probable 以上の患者を対象とした。糖尿病、手根管症候群合併者やリルゾール内服患者、高度の軸索変性を生じている患者は、検査結果に影響を及ぼしうるため除外した。明らかな末梢神経障害を有しない 44 名のデータを、正常対照とした。

正中神経刺激、短母指外転筋記録にて神経伝導検査を施行し、軸索変性の尺度として複合筋活動電位（complex muscle action potential : CMAP）振幅を測定した。また、正中神経手首部刺激、短母指外転筋導出にて、神経興奮性検査を施

行し、以下のパラメータを測定した。Strength-duration time constant (SDTC)、threshold electrotonus (TE 法)、recovery cycle (RC 法) における refractoriness, superexcitability, late subexcitability、および current threshold relationship を解析した。

解析方法は、ALS 群と正常対照間で t 検定と Fisher の正確性検査を施行した。サブ解析として ALS 群を CMAP 振幅が正常範囲にある群 ($>5\text{mV}$) と低下している群 ($<5\text{mV}$) の 2 群に分け、それぞれを正常対照と比較した。また、CMAP 振幅と軸索興奮性検査の各パラメータの関係性を見るために、Pearson の相関係数を算出した。 $P < 0.05$ を統計学的有意差と判定し、相関解析については $R > 0.2$ かつ $P < 0.05$ を満たしたものを有意な相関があると判定した。

【結果】

ALS 患者 140 名の平均年齢は 66.6 ± 0.8 歳であり、男性が 77 例であった。平均罹病期間は 16.5 ± 1.2 ヶ月で、四肢での発症が 69%、平均の CMAP 振幅は $4.5 \pm 0.3\text{mV}$ であった。

正常対照と比較して、ALS 患者群 ($n = 140$) で有意に SDTC の延長および TE 法での脱分極側 (TEd) の上方への偏倚、RC 法での superexcitability の増加と late subexcitability の減少、current threshold relationship での 40% depolarizing current の減少が認められ、これらは持続性 Na 電流増加と K 電流減少を示唆していた。

サブ解析では、CMAP 振幅 $< 5\text{mV}$ の群 ($n = 87$) では、正常対照と比較して有意に SDTC の延長および TE 法での脱分極側への偏倚、RC 法での superexcitability の増加と late subexcitability の減少、current threshold relationship での 40% depolarizing current の減少が認められ、ALS 患者全体での結果と同様に、持続性 Na 電流増加と K 電流減少が示唆された。一方、CMAP 振幅 $> 5\text{mV}$ の群 ($n = 53$) でも、K 電流が減少していた。SDTC や late subexcitability では有意差にまでは至らなかったものの、やはり同方向への変化が認められた。

CMAP 振幅と興奮性検査のパラメータの相関解析では、SDTC と TE 法の TEd (90-100ms) との間に相関を認め、軸索変性の進行に伴ってより変化が顕在化していた。これらのパラメータはそれぞれ持続性 Na 電流と slow K 電流を反映するものであり、両者は軸索変性と相関していると考えられた。TEd (10-30ms) や superexcitability、late subexcitability、40% depolarizing current といったパラメー

タについては、有意な相関は認めなかったが、いずれも軸索変性の進行に伴って K 電流が減少する方向への変化が認められた。

【考察】

今回の研究で、140 例の ALS 患者の運動神経軸索では持続性 Na 電流増加と K 電流減少が認められ、神経興奮性増大が示唆された。また、CMAP 振幅が正常範囲に保たれている患者群においても、すでに K 電流は減少していた。持続性 Na 電流の増加と slow K 電流の減少は CMAP 振幅低下と有意に相関しており、軸索変性と共により顕在化していた。これらの結果から、神経興奮性増大は軸索変性に先行すると考えられた。

前述のように、興奮性増大が運動ニューロン死に関与している可能性が指摘されているが、この興奮性増大がいつから生じるかについては未だ明らかとはなっていない。今回の研究から、CMAP 振幅が保たれている患者においても興奮性増大は認められており、興奮性増大、特に K 電流の減少は軸索変性に先行していることが示唆された。神経興奮性増大は、運動ニューロンへの Ca^{2+} の流入を促進し、神経変性に関与する酵素を活性化させ、ミトコンドリア機能の低下やフリーラジカルの増加を生じ、結果 ATP の枯渇を招き運動ニューロン死を生じるものと考えられている。このことから、神経興奮性増大は、ALS の神経変性のメカニズムの比較的上流に位置していることが推察された。持続性 Na 電流の指標について有意差がなかった原因としては、神経興奮性検査において K 電流の評価が複数のパラメータで行っていたのに対して、持続性 Na 電流のパラメータが 1 つのみであることが影響しているのかもしれない。持続性 Na 電流の増大は ALS 予後不良因子であるとの報告がなされており、この点からも持続性 Na 電流は ALS における運動ニューロン死と関連している可能性が疑われる。この Na 電流と K 電流の結果の解離に関しては、今後さらなる検証が必要である。少なくとも K 電流の減少は軸索変性に先行しており、興奮性増大が ALS の神経変性に関与している可能性があり、イオンチャンネル調整薬は ALS 治療の選択肢となりうる可能性がある。

神経興奮性の増大は、CMAP 振幅が正常範囲である群すなわち軸索変性が軽微な群と比較して、軸索変性が高度な群でより顕在化していた。加えて相関解析でも、軸索変性の程度と興奮性検査のパラメータに相関が認められた。これ

らの結果から、神経興奮性は軸索変性に伴って顕在化すると推察された。前述のように経時的観察で K 電流の減少を認めたとする報告があり、これらの既報告も今回の結果を支持するものと考えられる。また、他の研究では、TDP-43 を発現させた運動細胞株で、神経興奮性増大が報告されている。さらに、TDP-43 のような ALS 病理が細胞間を伝播していく、いわゆる **propagation theory** に従って拡大していくとすると、ALS 病理に従って神経興奮性増大も細胞間を伝播していく可能性がある。これらの報告は今回の検査結果を支持するものとも考えられる。しかし、CMAP 振幅と有意な相関が認められたのは SDTC および TE_d (90-100ms) のみであり、我々の仮説に対するさらなる検証が必要である。

【結論】

今回の研究から、神経興奮性の増大は ALS の病初期から認められることが判明した。神経興奮性は運動ニューロン死を惹起し、また促進する可能性がある。これらの結果から、イオンチャネル調整薬は ALS 治療の選択肢となる可能性がある。