

主論文の要旨

**Elevated serum creatine kinase in the early stage of
sporadic amyotrophic lateral sclerosis**

孤発性筋萎縮性側索硬化症の発症早期における
血清クレアチンキナーゼの上昇

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
脳神経病態制御学講座 神経内科学分野

(指導：勝野 雅央 教授)

伊藤 大輔

【緒言】

筋萎縮性側索硬化症（amyotrophic lateral sclerosis, ALS）は運動ニューロンが選択的に障害され、全身の筋力低下、筋萎縮をきたし、主に呼吸不全のために約 3-5 年で死に至る、進行性の神経変性疾患である。孤発性 ALS では、RNA 代謝やタンパク恒常性、核細胞質間輸送や神経炎症などのいくつかの病態機序が関連していると考えられている。これらの病態機序に対して効果のあると考えられるいくつかの薬剤が、前臨床試験では効果を示したが、その大半は臨床試験において効果を検証するに至らなかった。この臨床応用への失敗の一因には、神経変性疾患では発症前から分子病態の変化および神経変性が始まっており、治療介入時にはすでに病態が進行してしまっていることが想定されている。例えばアルツハイマー病では、認知機能低下をきたすよりも 20 年以上前からアミロイド β が中枢神経へ蓄積することが知られている。ハンチントン病やパーキンソン病、球脊髄性筋萎縮症などの他の神経変性疾患においても発症前のバイオマーカーの変化が報告されており、神経変性疾患の治療において発症前の予防的治療介入が重要であると考えられ始めている。

ALS では、一部の家族性 ALS において発症前バイオマーカーがいくつか報告されているが、患者の 90-95% を占める孤発性 ALS における発症前バイオマーカーの報告はほとんどない。我々は発症早期・孤発性 ALS 患者の縦断的な評価の変化から、発症時付近のバイオマーカーの変化を推測する臨床研究を行い、臨床研究で得られた知見を、ALS モデルマウスを用いた基礎研究によって検証した。

【対象及び方法】

臨床研究では、文書による同意を取得した上で、改訂 El Escorial 基準における possible 以上と臨床診断され、家族歴がなく、罹病期間 2 年以下の孤発性 ALS 患者、および健常者を組み入れた。発症は筋力低下を自覚した時点、発症部位は最初に筋力低下を感じた部位と定義した。さらに、発症部位により球発症型と四肢発症型の 2 型に分類した。前向き縦断的検討では、ALS の ADL 指標である日本語版 revised ALS Functional Rating Scale（ALSFRS-R）と血清クレアチンキナーゼ（CK）、クレアチニン（Cr）を含む血液検査を測定し、全身骨格筋量の指標である四肢除脂肪軟部組織量（appendicular lean soft tissue mass, ALST mass）を含めた体組成は、二重エネルギー X 線吸収測定法（dual-energy X-ray absorptiometry, DXA）によって測定した。縦断的評価を元に Linear mixed models with unstructured correlation and random intercepts を使い、各指標のモデル曲線と発症時付近推測値を算出した。血清 CK 値は常用対数化し解析に用いた。さらには、発症前に ALS の診療と別の目的で実施された血液検査を後方視的に解析した。

基礎研究では、ALS のマウスモデルである superoxide dismutase 1（SOD1）遺伝子に変異を導入した SOD1^{G93A} トランスジェニックマウスとその同胞を用い、血清 CK 値および血清 Cr 値の発症前（5 週齢）、発症時（9 週齢）、進行期（15 週齢）の変化を測定した。さらにマウス腓腹筋を用い、筋肉中脱神経マーカーである acetylcholine

receptor subunit γ (*Chrng*) と muscle-associated receptor tyrosine kinase (*Musk*) の mRNA 発現量を RT-PCR 法を用いて測定し、血清 CK 値および血清 Cr 値の変化と脱神経の変化の関係性を検討した。

【結果】

39 例の ALS 患者と年齢・性別の適合した 20 例の健常者を前向き縦断的に検討するとともに、8 例の ALS 患者では発症前血液検査データを後方視的に検討した。ALS 患者群と健常人群で背景因子は同等であった。ALS 患者の平均罹病期間は 12.6 ヶ月であり、本研究における ALS 患者は発症早期例であると考えられる (Table 1)。初回評価時には、全身骨格筋量と相関する血清 Cr 値および ALST mass は健常人群に比して ALS 群で低く、また、血清 CK 値は ALS 群で高値を示した。また、縦断的解析では、血清 CK 値、血清 Cr 値、ならびに ALST mass は経時的に減少した (Table 2) さらに、これらの筋肉関連バイオマーカーと ALS の臨床症状との相関関係を検討したところ、いずれの指標もそれらの縦断的变化量と ALSFRS-R の変化量とに相関関係を示した (Fig. 1)。これらの知見から、血清 CK 値、血清 Cr 値、ALST mass は臨床症状の進行に沿って変化することが明らかになったため、次に、統計学的に筋肉関連バイオマーカーの変化のモデル曲線および発症時付近の推測値を算出した (Fig. 2, Table 3)。このモデルにおいて、血清 CK 値は ALS の発症時には健常者に比して高値を示す一方で、血清 Cr 値と ALST mass は健常者と同等であることが示された。このことから、ALS の発症時には筋萎縮は認められないのにも関わらず、血清 CK 値が上昇することが示唆された。また、8 例の ALS 患者では発症前の血清 CK 値データが記録されており、それらを見ると、発症時付近で血清 CK 値が最高値を示す傾向にあることが示唆された (Fig. 3)。

次に ALS のモデルマウスである SOD1^{G93A} トランスジェニックマウスを用い、血清 CK 値、血清 Cr 値の変化、および脱神経との関連を検証した (Fig. 4)。5 週齢では血清 CK 値は変異 SOD1 マウスと対照群で同等であったが、9 週齢において変異 SOD1 マウスでは脱神経マーカーである腓腹筋中の *Chrng* と *Musk* の mRNA の発現の上昇がみられ始める時期に血清 CK 値が上昇し、15 週齢においては、脱神経マーカーは上昇したままであるが血清 CK 値は低下した。このことから、変異 SOD1 マウスでは、脱神経が始まる時期に血清 CK 値が上昇し、進行とともに低下することが示され、臨床研究で推測された血清 CK 値の経時的挙動に合致することが示された。

【考察】

我々は、臨床データに基づいて、孤発性 ALS 患者では ALS の発症早期に血清 CK 値が上昇すること、一方で、骨格筋量を反映する血清 Cr と ALST mass が健常者と同等であることを示し、これらの指標は進行とともに減少することを確認した。これらの結果により、血清 CK 値は発症時から発症早期にかけての病態の進行を反映するバイオマーカーであることが示唆された。ALS 患者における血清 CK 値の上昇については、これまでに針筋電図による急性脱神経所見との関連を示す報告や、筋痙攣との関

係を示す報告がある。また、基礎研究の報告では機械的な脱神経による筋細胞膜の不安定性と血中への CK の漏出が示されており、これらをまとめると、本研究で示された ALS の発症早期の血清 CK 値の上昇は、脱神経による筋細胞膜の不安定性、筋組織の破壊を反映していると考えられる。また、我々は変異 SOD1 マウスにおいて、脱神経マーカーの上昇とともに、血清 CK 値が上昇することを示したが、変異 SOD1 マウスでは、発症前から筋肉の脱神経と代償的な神経再支配が始まっていることを考慮すると、本研究の結果は ALS において発症前段階から筋肉の脱神経によって血清 CK 値が上昇する可能性を示唆している。

【結論】

ALS では発症早期に筋萎縮をきたすよりも前に、脱神経を反映した血清 CK 値の上昇がみられる。