

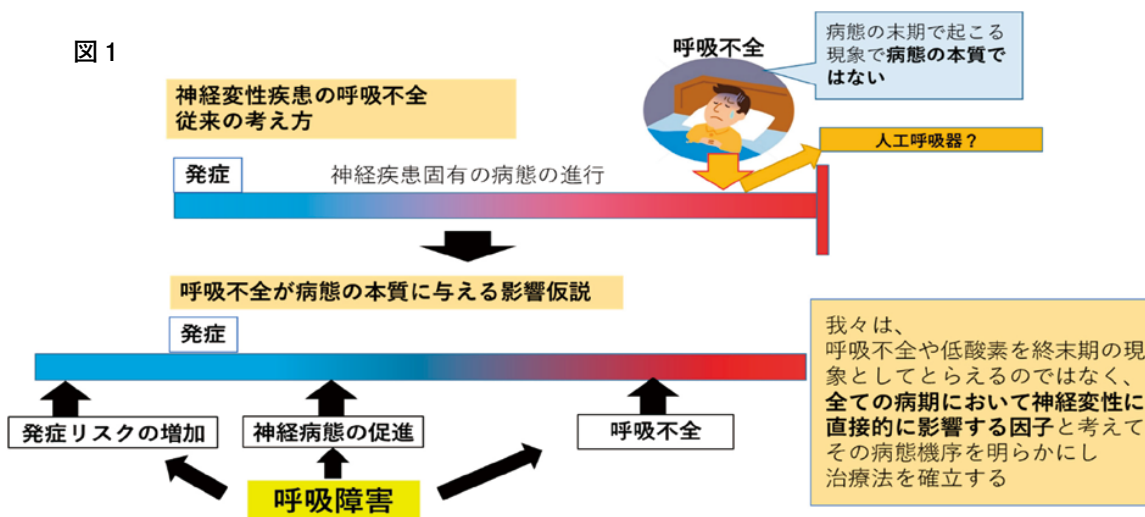
睡眠時呼吸障害がALS患者の早期病態に与える影響の解明と夜間非侵襲的呼吸補助による病態改善についての検討



大阪大学大学院医学系研究科神経内科・助教 池田 建介

研究全体の目的

多くの神経変性疾患患者において、呼吸不全は最終的に生命予後を規定する因子として捉えられており、侵襲的な人工呼吸器の導入は延命をすかさずしないかという論点のもと議論が行われている。しかしながら、最近の研究では呼吸不全がより早期から神経変性疾患患者において観察されることや、更に閉塞性睡眠時無呼吸症候群（OSAS）などが認知症、パーキンソン病などの神経変性疾患の発症リスクになることが報告されており、呼吸不全はより積極的に神経変性疾患の病態に関与している事が示唆されている（図1）。その機序はほとんど明らかにされていないが、低酸素がタウのリン酸化を促進して蛋白質の異常凝集を誘引するなど、神経変性疾患の本質的な病態に寄与している可能性が注目されている。



我々は、低酸素の影響は多岐にわたると予想されるが、過去の報告から、低酸素は脳内ADMAの上昇と関係があり、それがひいては神経変性疾患につながると考えている。

本研究においては、

1. 非侵襲的経皮的CO₂計測装置を用いたALS患者の夜間呼吸障害についての評価
2. ALS患者における呼吸障害と髄液中ADMAの関係について
3. ALS患者脳内においてADMA上昇につながっている過メチル化蛋白質の同定

を目標に挙げて取り組んだ。

以下に、これまでの成果を上げる。

研究結果>

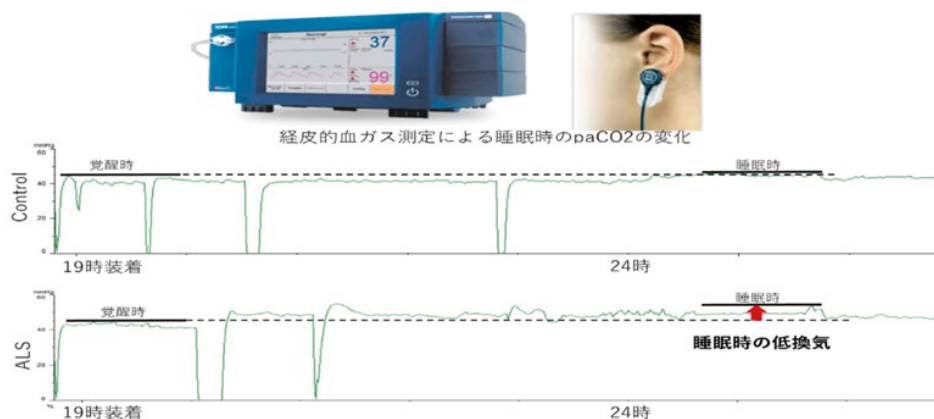
1. ALS患者の夜間呼吸不全の評価について

方法>

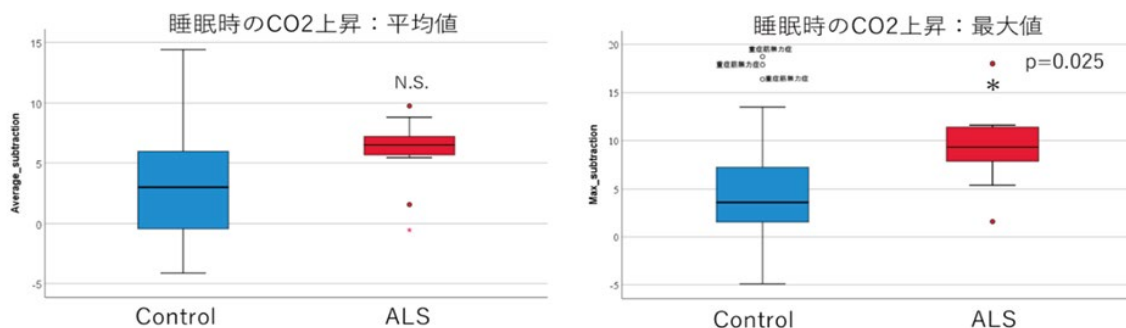
大阪大学、および名古屋大学において入院した43名のALS患者と26名の疾患対象患者に対して夜間CO₂変動のモニターを行った。睡眠時のCO₂値とCO₂最大貯留値をそれぞれ計測した。CO₂モニターにはIMI社経費血液ガスモニター TCM5を用いた（本研究費で購入）。CO₂の結果は、呼吸機能検査% FVCとの相関、1年間後のALS患者の機能評価指数の減少値との相関などを検討した。

結果>

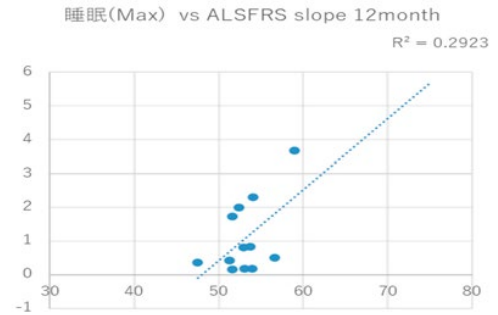
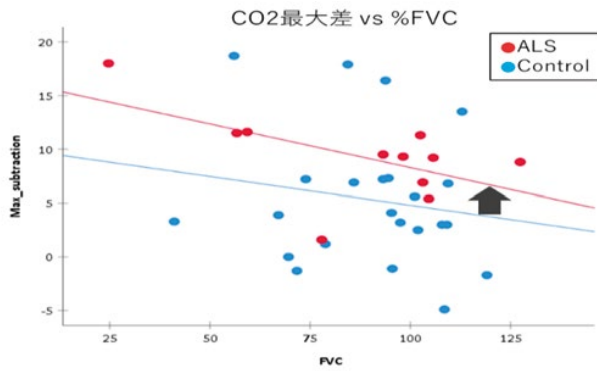
CO₂モニターの結果を示す。経皮的に非侵襲的にCO₂は計測された。下図のようにCO₂をモニターすることができ、ALS患者においては、睡眠時にCO₂が貯留する傾向が認められた。



次に、睡眠時のCO₂の上昇値（覚醒時に比べて）とその上昇値の最大値を求め、定量したところ、ALS患者においてその上昇値の最大値がALS患者において優位に上昇していることを見出した（下図右側）。



次に、CO₂上昇最大値と日中覚醒時の最大呼吸量（% FVC）について相関関係を検討した。興味深いことに、% FVCとCO₂最大差は、ALSにおいてもControlにおいても逆相関関係があったが、その相関はALSにおいてより顕著であった。つまり、ALS患者ではより鋭敏に、夜間睡眠時のCO₂貯留が起こることを示唆した（下図左）。



さらに、いまだ少数例ではあるが、1年経過した患者におけるALS機能予後（ALSFRSという評価指数の点数の低下度合い）と当初のCO₂上昇最大値の相関を調べたところ、顕著な相関を見出した（上段右）。

今後の予定>

睡眠時のCO₂上昇と髄液中NFL、ADMA値の相関関係については、現在NFL測定を終え、ADMA測定は現在予定中です。今後こうしたバイオマーカーと、睡眠時CO₂値の関連についてまとめる予定である。

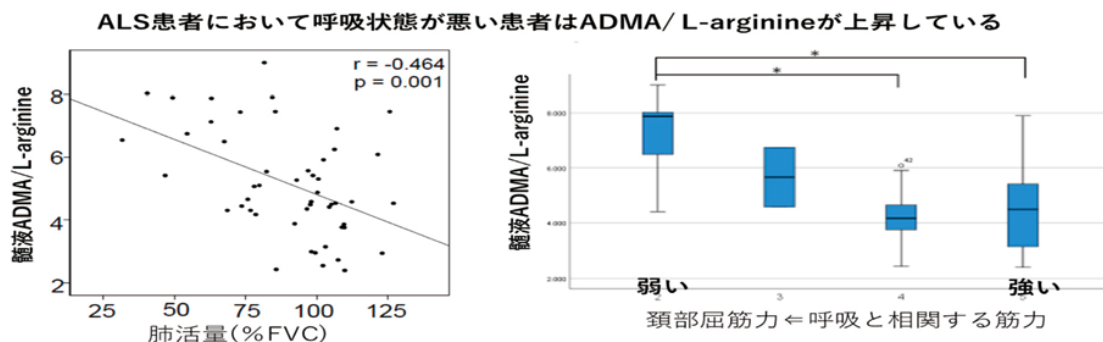
2. 呼吸不全とアルギニンメチル化の関連について

方法>

当院において入院し、%FVCや頸部の筋力測定を行ったALS患者において、髄液中ADMA値との相関関係を検討した。

結果>

ALS患者において、肺活量が低下するほど、さらに頸部屈筋力が低下するほど、髄液中のADMA値は上昇することを見出した（下図）。



研究テーマ1においても、今後ADMA値と夜間呼吸障害の関連についてさらに深く検討をしていくが、%FVCや頸部屈筋（呼吸筋と関連）の低下がADMA上昇に寄与している点において、呼吸不全とADMAの関係は期待できる。

3. 血液中ADMA値とALS患者の予後についての検討 ※下記発表論文の成果です

過去の報告で、髄液中ADMAの重要性を示した。本研究では、同様の結果が血液でも見られるかを検討した。

結果>

1) ALS患者における血清ADMAの検討

血清ADMA値は、ALS患者において健常対照者や疾患対照者に比べて有意に高いことがわかった（右図、ALS対健常対照者、 $p < 0.0001$ 、ALS対疾患対照者、 $p = 0.006$ ）。疾患対照者のADMA値は健常対照者よりわずかに高かったが、その差は統計的に有意ではなかった（ $p = 0.051$ ）。疾患対照のサブグループ解析では、非定型パーキンソン病（aPD）群および神経障害群は、血清ADMA値が健常対照よりも有意に高かった（健常対照 vs. aPD、 $p < 0.0001$ 、健常対照 vs. polyneuropathy、 $p = 0.007$ ）。次に、血清とCSFのADMA値を比較したところ、血清ADMA値はCSF値と有意に相関していた（図2（a）、 $r = 0.591$ 、 $p < 0.032$ ）。一方、L-アルギニンレベルでは、血清とCSFの間に相関は見られなかった（図2、 $r = 0.591$ 、 $p < 0.032$ ）。おそらく血清L-アルギニンレベルは、食事や他のいくつかの要因によって影響を受けるからであろう。

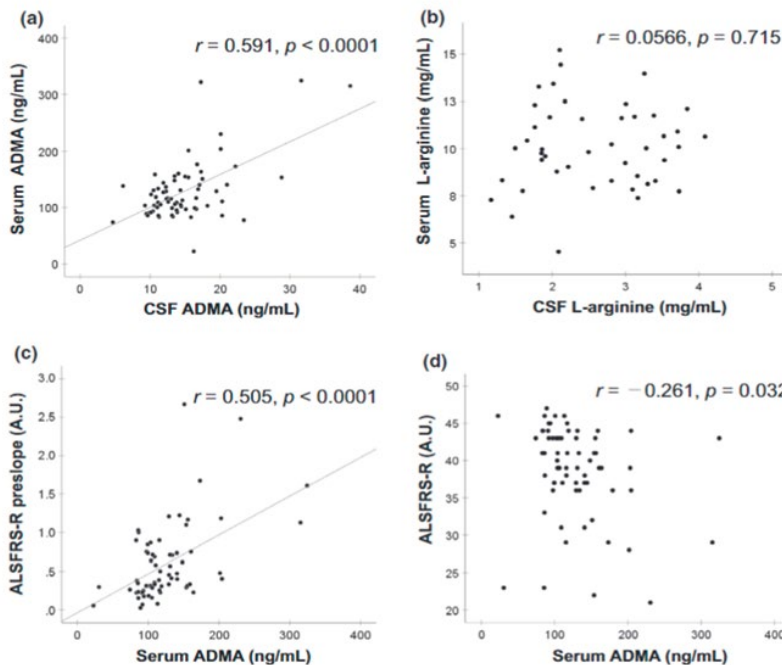
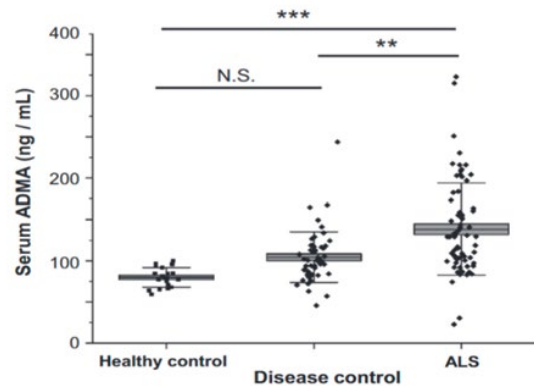


図2
血清ADMA値と各種臨床パラメーター、バイオマーカーとの比較

次に、血清ADMA値といくつかの臨床パラメータを比較したところ、血清ADMA値は疾患の進行（ALSFRS-Rプレスロープ）と強い相関があった（図2（c）、 $r = 0.505$ 、 $p < 0.0001$ ）。0001）であったが、各タイムポイントにおける疾患の重症度（ALSFRS-R）（図2（d）、 $r = 0.261$ 、 $p = 0.032$ ）、年齢（ $r = 0.138$ 、 $p = 0.241$ ）、および静脈穿刺時の疾患期間（ $r = 0.286$ 、 $p = 0.017$ ）ではなかった。血清アルギニン値の変動に起因すると思われるが、CSFの研究とは異なり、本研究ではADMA/L-アルギニン比は疾患の進行を反映しなかった（ $r = 0.256$ 、 $p = 0.033$ ）。多変量線形回帰分析では、血清ADMA、年齢、性別、MMT、% FVC、ALSFRS-Rのうち、血清ADMAのみが疾患進行と関連する独立した因子であることが示された（表1）。

表1：ALSFRS-Rの変化に与える各因子の影響について

	ALSFRS-R pre-slope	
	Coefficient (95% CI)	p value
Serum ADMA	0.004 (0.000-0.006)	<0.0001
Age	-0.001 (-0.009-0.007)	0.775
Sex	0.043 (-0.171-0.256)	0.692
MMT	0.014 (-0.003-0.032)	0.102
FVC	-0.005 (-0.010-0.001)	0.110
ALSFRS-R	-0.033 (-0.058-0.009)	0.009

2) 血清ADMA濃度と他のバイオマーカーとの関連性

さらに、患者の神経変性の程度を解析するために血漿NFL値を測定したところ、ADMA値はNFL値と有意に相関していた（図3 (a)、 $r=0.430$, $p=0.002$ ）。興味深いことに、ADMAレベルはNOレベルとは相関せず（図3 (b)、 $r=0.270$, $p=0.080$ ）、ADMAレベルの増加はNOの調節障害とは無関係であることが示された。多変量線形回帰分析により、血清ADMA、クレアチニン、アルブミン、NO、血漿NFL値の中で、血清ADMA値が独立して疾患進行と関連することが示された（表2）。

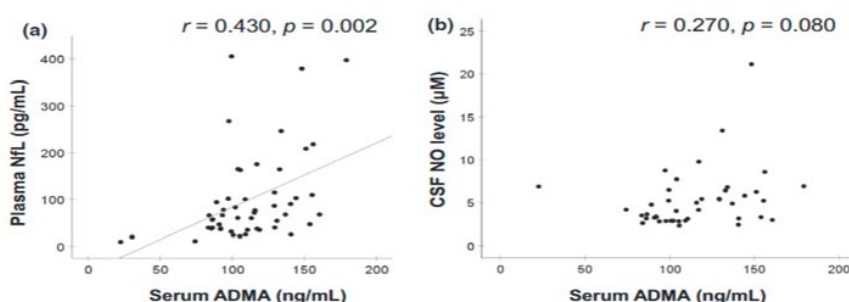


図3
血清ADMAとNFLや
髄液NOとの比較

表2：ALSFRS-rの推移と相関するバイオマーカー

	ALSFRS-R pre-slope	
	Coefficient (95% CI)	p value
Serum ADMA	0.006 (0.001-0.011)	0.024
Creatinine	-0.536 (-1.255-0.183)	0.139
Albumin	-0.30 (-0.429-3.69)	0.880
Nitric oxide	-0.003 (-0.048-0.041)	0.878
Plasma NFL	0.002 (0.000-0.004)	0.045

3) 血清ADMAはALSの予後予測マーカーである

次に、生存時間の多変量Cox回帰分析を行ったところ、血清ADMA値は、年齢、ALSFRS-Rのpreslope、% FVC、発症症状（bulbar or non-bulbar）とは独立して患者の生存を予測できることがわかった（表3）。

表3：ALS患者の生存率の多変量Cox回帰分析

	Primary end-point	
	HR (95% CI)	p value
Serum ADMA	1.008 (1.002-1.017)	0.014
Age	1.063 (1.022-1.111)	0.003
ALSFRS-R pre-slope	7.268 (2.658-19.872)	<0.0001
FVC	1.007 (0.986-1.024)	0.608
Onset (bulbar or non-bulbar)	2.541 (1.006-6.421)	0.049

n = 68 (33 subjects reached the primary end-point and 35 subjects were censored)

次に、ALSの予後を予測するために最も高いHRを生み出すADMAレベルの最適なカットオフスコアを解析した。ADMA > 118.83ng/mLのカットオフ値を用いた場合、HRは3.58 (95% CI : 1.700–7.570, p=0.001)であった。このカットオフスコアを用いて、登録患者を2つのカテゴリーに分けた。右図は、2つのカテゴリーに分類された患者の主要評価項目に関するKaplan-Meier曲線である。両者の差はlogrank検定により統計的に有意であった (p=0.004)。さらに、ベンチマークとなるバイオマーカー NfLに対するADMA値の付加価値を調べるために、ADMA値とNfL値に応じて4群の患者についてKaplan-Meier曲線を描いた：ADMAとNfLの両方が高値の患者は予後が最悪であった。群間のLogrank検定の結果、ADMAとNfLの両方が高値の群のみが、ADMAとNfLが低値の群、およびADMAが高値でNfLが低値の群と有意差があった。また、血清ADMAが血漿NfL値とは独立して患者の生存を予測できることを確認した (表4)。

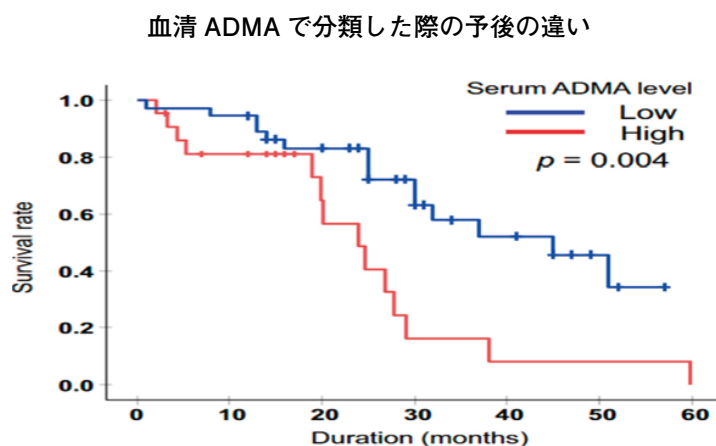


表4：血清 ADMA と NfL 間の ALS 患者の生存率に関する多変量 Cox 回帰分析

	Primary end-point	
	HR (95% CI)	p value
Serum ADMA	1.024 (1.004–1.043)	0.017
Plasma NfL	1.004 (0.999–1.010)	0.143

n = 45 (15 subjects reached the primary end-point and 30 subjects were censored)

全体の考察>

我々は、本研究を通じて、ALS患者においては夜間の呼吸障害が顕著にあり、何らかのALS病態に反映している可能性を見出した。髄液中、血液中ADMAがALS患者の生命、機能予後に大きな影響を与えることは十分に示すことができたと考えており、今後は、呼吸不全とADMA上昇、さらにALS予後に関してさらに直接的なエビデンス構築をしていくことを検討している。

発表論文

1. Serum asymmetric dimethylarginine level correlates with the progression and prognosis of amyotrophic lateral sclerosis.

Ikenaka K, Maeda Y, Hotta Y, Nagano S, Yamada S, Ito D, Torii R, Kakuda K, Tatebe H, Atsuta N, Aguirre C, Kimura Y, Baba K, Tokuda T, Katsuno M, Kimura K, Sobue G, Mochizuki H.

Eur J Neurol. 2022 May ; 29(5) : 1410-1416. doi : 10.1111/ene.15254. Epub 2022 Feb 6.