



Title	筋萎縮性側索硬化症(ALS)における摂食機能と四肢運動機能の比較及び筋体積減少の特徴
Author(s)	川田, 創
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/95980
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (川 田 創)	
論文題名	筋萎縮性側索硬化症 (ALS) における摂食機能と四肢運動機能の比較および筋体積減少の特徴
論文内容の要旨	
<p>【目的】 筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic Lateral Sclerosis, ALS) は、上位・下位運動ニューロンが障害される進行性の疾患である。人口10万人当たり2.16人の割合で発症し、発症初期は四肢の筋力が多くみられ、末期には横隔膜の筋力低下による呼吸不全がしばしば死因に関与する。現在まで有効な治療法のないALSにおいて、摂食障害を解明し、栄養状態を改善することでALS患者の延命につながる可能性が示唆されている。ALS患者では、嚥下障害が頻発することが知られているが、咀嚼機能について詳細は不明である。本研究では、ALSマウスモデルを使って咀嚼機能と四肢運動機能の変化を比較し、さらに経時的な筋体積の変化について検討した。</p> <p>【方法】 実験1：ALSモデルマウスにおける経時的な骨格筋体積の測定および行動生理学的検討 ALSモデルマウス (SOD1G93A : mSOD1群) (雄、n=11) と野生型マウス (Wild type : WT群) (雄、n=10) を用いて、4週齢から16週齢まで2週ごとに、骨格筋体積の測定および摂食機能、四肢運動機能の測定を行った。骨格筋体積測定は、三種混合麻酔を腹腔内注射したマウスを動物実験用マイクロCTにて撮影し、代表的な咀嚼筋として咬筋、対照となる四肢骨格筋として上腕三頭筋を主とする前肢筋群、腓腹筋を主とする下肢筋群を抽出し、その筋体積を解析ソフトにて測定した。摂食機能については、摂食量、摂食時間の計測を行った。摂食行動の観察は、ケージに飼料を固定し2台のビデオカメラで前方、側方の2方向より30分間撮影した。撮影前後での飼料の質量を測定し、減少量を摂食量とした。四肢の運動機能については小動物握力測定装置にて前肢、四肢の握力を、多連トレッドミルにて走行距離の計測を行った。</p> <p>実験2：SOD1G93Aマウスにおける咀嚼筋及び四肢骨格筋の組織学的検討 8週齢、16週齢のSOD1G93Aマウスと野生型マウス (雄、各群n=5) より、咬筋及び腓腹筋を摘出し筋湿重量を測定した。摘出した筋組織を液体窒素にて冷却したジメチルブタンにて急速凍結させた。サンプルを6μmの厚さでスライスした標本を作製し、免疫染色にてMyHC-I、IIa、IIb型線維 (抗BA-D5抗体、抗BF-F3抗体、抗SC-71抗体)、筋衛星細胞 (抗Pax7抗体)、筋細胞基底膜 (抗Laminin α2抗体) を染色した。2次抗体には抗マウスIgG抗体、抗ラビットIgG抗体、抗ラットIgG抗体を用いた。標本はオールインワン蛍光顕微鏡にて蛍光画像を連結撮影し、解析アプリケーションにて線維数、断面積、筋衛星細胞数、筋繊維タイプ別割合を定量解析した。</p> <p>【結果】 実験1：SOD1G93Aマウスにおける経時的な骨格筋体積の測定および行動生理学的検討 咀嚼機能について、摂食時間、摂食量ともにWT群と比較し有意差を認めなかった。四肢の運動機能について、mSOD1群の握力は14週齢以降でWT群と比較し有意に減少し、走行距離は16週齢でWT群と比較し有意に減少した。筋体積測定では、咬筋では有意な体積減少を認めなかったが、後肢筋群では16週齢で有意に体積減少を認めた。また、筋湿重量においても、咬筋は有意差を認めなかったのに対し、腓腹筋では16週齢で有意差を認めた。実験動物の体重変化について、mSOD1群は12週齢より減少傾向を認めたが、WT群と比較し有意差は認めなかった。</p> <p>実験2：SOD1G93Aマウスにおける咀嚼筋及び四肢骨格筋の組織学的検討 筋湿重量において、mSOD1群の咬筋は8週齢、16週齢でWT群と比較し有意差を認めなかったのに対し、腓腹筋では16週齢でWT群と比較し有意差を認めた。筋線維数は咬筋、腓腹筋ともに週齢間、群間比較で有意差は見られなかった。筋線維断面積の群間比較において、咬筋では両群に有意差を認めなかったのに対して、腓腹筋では8、16週齢ともにmSOD1群はWT群と比較し有意に小さい値を示した。また、週齢間で比較したところ、咬筋では両群とも8週齢</p>	

から16週齢で増加傾向にあったが、腓腹筋ではmSOD1群において減少を認めた。筋線維数あたりの筋線維核数は、咬筋では群間、週齢間で有意差を認めなかったが、腓腹筋では、mSOD1群において、8週齢と比較し16週齢で有意な減少を認めた。筋線維数あたりの筋衛星細胞数を比較したところ、咬筋は腓腹筋と比較し、筋衛星細胞数は約2倍であった。群間比較において有意差は認めなかったが、週齢間で比較したところ、咬筋、腓腹筋ともに16週齢で増加傾向を認め、咬筋のmSOD1群では8週齢と比較し16週齢で有意な増加を認めた。筋線維タイプ割合において、咬筋では各線維の割合は先行研究と同様、速筋線維であるMyHC-II a、II b線維が約7割であり、遅筋線維であるMyHC-I線維は1割であった。群間、週齢間で有意差は認めなかった。腓腹筋についてもMyHC-II a、II b線維が約8割であり、遅筋線維であるMyHC-I線維は1割以下であった。群間比較においては16週齢のMyHC-II b線維において、mSOD1群は有意差を認めた。

【考察】

本研究結果より、SOD1G93Aマウスの咀嚼機能は四肢運動機能と比較し温存され、咬筋は腓腹筋と比較し筋線維の断面積の減少が少なく、筋萎縮の進行が遅い可能性が示唆された。骨格筋線維の筋線維核は骨格筋体積と関連が指摘されており、筋衛星細胞は筋線維核の供給に関わる。ALS患者では、眼球運動は末期まで温存されることが知られており、眼球運動を司る外眼筋の衛星細胞数が他の骨格筋と比較し多いことが示唆されている (Kallestad et al., 2011、 Pacheco-Pinedo et al., 2009)。また、咬筋は腓腹筋と比較し筋衛星細胞の保持量が多く、再生能力が高いことが報告されている (Yamane et al., 2005.)。これらのことから、咬筋の筋萎縮の進行が腓腹筋と比較し遅い原因の一因に筋衛星細胞数が咬筋で多く、そのために咬筋では筋線維核数が保たれ、筋体積が温存された可能性が考えられた。またALSモデルマウスの骨格筋では、ALSの進行とともに速筋線維から遅筋線維への線維タイプの変化が起こることが指摘されている (Palamiuc et al., 2015)。16週齢のALSモデルマウスの腓腹筋において、MyHC-II b型線維が有意に減少したことは、この線維の遅筋化がALSモデルマウスの腓腹筋で起こったためであると推察された。咬筋においてこのような線維タイプの変化が認められなかったことは、筋衛星細胞数のほかに、ALSの咬筋が腓腹筋と比較し筋萎縮の進行が遅い一因である可能性が考えられた。

【結語】

本研究では、ALSモデルマウスにおける経時的な骨格筋体積の測定および行動生理学的検討及び咀嚼筋・四肢骨格筋の組織学的検討を行った。摂食機能は四肢運動機能と比較し末期まで温存されること、代表的な咀嚼筋である咬筋は外眼筋のように筋萎縮の影響を受けにくい可能性が示唆された。今後、筋による萎縮メカニズムの違いを解析することで、ALSの病態解明及び治療薬開発の一助としたい。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (川 田 創)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教授 田中 晋 副 査 教授 阪井 丘芳 副 査 教授 古田 貴寛 副 査 准教授 豊田 博紀
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>本研究は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）モデルマウスにおける摂食機能、咀嚼筋体積の出生後から発症後末期までの経時的変化および、発症前後の四肢筋、咀嚼筋の組織形態学的変化について検討を行った。</p> <p>その結果、ALS モデルマウスの摂食機能、咀嚼筋体積は発症後末期まで温存され、咬筋では腓腹筋と異なり病状進行に伴う筋線維核数の減少は乏しく、筋衛星細胞数は増加傾向にあることが明らかとなった。</p> <p>以上の結果は ALS が摂食機能に及ぼす影響について明らかにするののものであり、よって博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。</p>	