

smegmatis の *folP* 遺伝子のクローニング、および組換えの確認には以下の DNA プライマーを使用した。(MSfolP1: 5' GCTCTAGAAGAACGGAGACTTCGATGAC 3'、MSfolP2: 5' GCGAATTCACCGTCTCGATCAGGTTGCG 3'、MSfolP3: 5' AACAGTCCGCTCAGGACGAC 3'、MSfolP4: 5' CATCATCGAATGTCAGCGGG、Km1: 5' TTCACGAGGCAGAACTCAGC、Km2: 5' TGAGACACAACGTCCTTTC 3) PCR 産物の塩基配列は BigDye Terminator Cycle Sequencing キット(Applied Biosystems 製)を用いて決定し、DNASIS コンピュータソフトウェア(日立ソフトウェアエンジニアリング製)を用いて解析した。ダブソン感受性試験には、*folP* 遺伝子欠損大腸菌 C600Δ*folP*::Km^rを用い、らい菌 *folP* プラスミドで形質転換することにより行った。大腸菌 C600Δ*folP*::Km^r、およびその形質転換菌株の培養には 2X YT 培地を用い、ダブソン感受性試験には 1mM IPTG、10μg/ml カナマイシン、および 50μg/ml アンピシリンを含む Mueller Hinton (MH) 培地を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は実験動物より得られたらい菌株を用いて行った。動物実験は「国立感染症研究所において行われる動物実験に関する基本方針」に則って行い、倫理面に配慮した。

C. 研究結果

ダブソン感受性らい菌 Thai53 株、およびダブソン耐性が疑われるらい菌分離株 (Isolate1 - 4) から MLfolP1、MLfolP2 プライマーを用いた PCR により *folP* 遺伝

子断片を増幅し、塩基配列を決定して比較を行った (表 1)。

菌株	変異
Isolate-1	P55L (CCC→CTC)
Isolate-2	T53I (ACC→ATC)
Isolate-3	L36M (CTG→ATG)
Isolate-4	D33R (CAG→CGG) D79R (CAG→CGG)

表 1 らい菌分離株の *folP* 遺伝子変異

これらの *folP* 遺伝子断片をプラスミド pBluescript II SK+ の *lac* プロモータ配列の下流に連結して、*folP* 遺伝子欠損大腸菌 C600Δ*folP*::Km^r を形質転換したが、得られた菌株は、1mM IPTG でらい菌 *folP* 遺伝子の発現を誘導しても MH 培地では増殖しなかった。MH 培地は PABA および thymine-tymidine を含まない培地のため、*folP* 遺伝子産物である Dihydropteroate synthase (DHPS) 活性を持たない菌は増殖できない。菌が増殖しなかったのはらい菌 *folP* 遺伝子の発現が十分に得られていないためと考えられたため、MLfolP3、MLfolP4 プライマーを用いてそれぞれ PCR を行い、LacZ 融合タンパク質として発現するように pUC18 プラスミドベクターに連結させた。これらの *folP* プラスミドを用いて大腸菌を形質転換したところ MH 培地で増殖が見られた。これらの菌株と MH 培地での増殖性、およびダブソン感受性を表 2 に示した。DHPS の 53 番の Thr の Ile への変異、および 55 番の Pro の Leu への変異によりダブソン最小発育阻害濃度は約 2 倍を示した。また、36 番の Leu が Met に置換され

るとダブゾン最小発育阻害濃度は約 2 倍になり、また 33 番の Gln または 79 番の Gln の 2 カ所の Arg への変異により、ダブゾン最小発育阻害濃度は同様に約 2 倍を示した。

菌株	MH 培地での増殖	ダブゾン MIC(μg/ml)
C600Δ <i>folP</i> :Km	-	ND
C600Δ <i>folP</i> :Km (pUC18)	-	ND
C600Δ <i>folP</i> :Km (pUC18 <i>E.coli folP</i>)	+	>200
C600Δ <i>folP</i> :Km (pUC18 <i>Thai53 folP</i>)	-	25
C600Δ <i>folP</i> :Km (pUC18 Isolate-1 <i>folP</i>)	+	50
C600Δ <i>folP</i> :Km (pUC18 Isolate-2 <i>folP</i>)	+	50
C600Δ <i>folP</i> :Km (pUC18 Isolate-3 <i>folP</i>)	+	50
C600Δ <i>folP</i> :Km (pUC18 Isolate-4 <i>folP</i>)	-	50

表 2 組換え大腸菌の増殖とダブゾン感受性

そこでより詳細な検討を行うため、大腸菌よりらい菌に近縁な *M. smegmatis* での試験系の開発を試みた、まず *M. smegmatis* の *folP* 遺伝子のクローニングを行った。TIGR (The Institute for Genomic Research) 遺伝子データベースより、らい菌の *folP* 遺伝子と高い相同性をもつ *M. smegmatis* の DNA 配列の検索を行い、MS*folP*1、および MS*folP*2 プライマーを用いて PCR により *M. smegmatis* の *folP* 遺伝子領域と考えられる約 1.7kb の DNA 断片を得た。これをプラスミド pBluescript II SK+ にクローニングし、大腸菌 C600Δ*folP*:Km^r に導入したところ MH 培地の増殖がみられ、この DNA 断片が *folP* 遺伝子機能を持つことがわかった。そこで、この 1.7kb *folP* 遺伝子断片の約 1.0kb の位置にある *Bam*HI 制限酵素認識部位にカナマイシン耐性遺伝子断片を挿入することにより *folP* 遺伝子を不活化したプラスミドを作製した。このプラスミドを大腸菌

C600Δ*folP*:Km^r に導入したところ、MH 培地での菌の増殖がみられなかったため、*folP* 遺伝子の不活化が確かめられた。カナマイシン耐性遺伝子断片を含む *M. smegmatis* の *folP* 領域の DNA 断片を *sacB* 遺伝子を持つ自殺プラスミドベクターに組み込み、*M. smegmatis* にエレクトロポレーションにより導入し、カナマイシン耐性コロニーを 8 コロニー分離した。分離されたこれらの菌株における *folP* 遺伝子領域の組み換えについて PCR により調べた。その結果 8 株中 7 株が *folP* 遺伝子前半部における 1 回組換えによる組換え体であり、2 回組換えによる *folP* 遺伝子破壊株は得られなかった (図 1)。

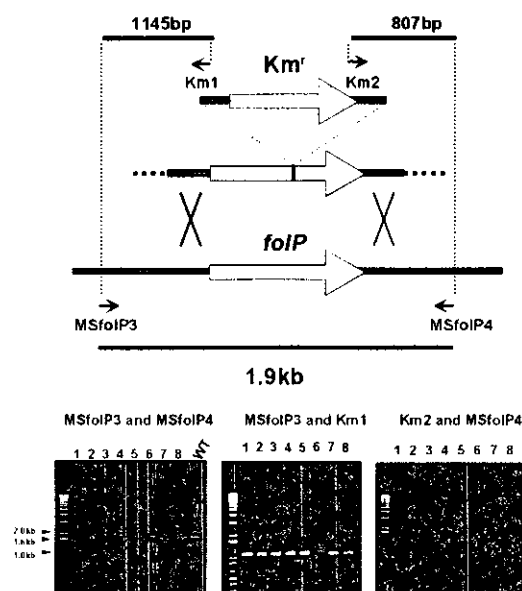


図 1 *folP* 領域の組換えと PCR による確認

D. 考察

ダブゾンに対する感受性に影響を与える *folP* 遺伝子の変異として、53 番目の Thr と 55 番の Pro の変異がこれまでに報告されているが、本研究により 36 番の Leu、およ

び33番の Gln または 79 番の Gln の変異がダブソン感受性に影響を与えることが示唆された。らい菌の遺伝子の変異における薬剤感受性への影響を調べるには大腸菌よりもらい菌に近縁である菌種を利用することが望ましいと考えられ、迅速発育性抗酸菌である *M. smegmatis* はこの目的に適している。本研究で得られた 1 回組換えによる *folP* 遺伝子組換え *M. smegmatis* 株から、*sacB* 遺伝子を利用した選択により *folP* 遺伝子破壊株を得ることが可能であるため、現在引き続き試験系の開発を行っている。

らい菌は人工培地による培養が不可能であり、実験動物中での増殖も大変遅いため、一般に行われる薬剤感受性試験が適用できない。*folP* 遺伝子欠損抗酸菌を利用してらい菌 *folP* 遺伝子変異によるダブソン感受性の変化を調べることは薬剤耐性らい菌の早期診断への応用が可能であり大変重要であると考えられる。またリファンピシンやキノロン剤など標的遺伝子の明らかとなっている他のハンセン病治療薬に関しても、同様の試験系を開発が重要であると考えられる。

E. 結論

らい菌 DHPS の T53I、および P55L の変異以外にも、L36M、および D33R または D79R の変異により、ダブソン感受性が影響を受けることわかった。また、らい菌遺伝子変異の薬剤感受性への影響を試験するために大腸菌より適していると考えられる *M. smegmatis* の *folP* 遺伝子欠損株の作製を試み、中間組換え体を得た。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Maeda, S., Matsuoka, M., Nakata, N., Kai, M., Maeda, Y., Hashimoto, K., Kimura, H., Kobayashi, K. and Kashiwabara, Y.

Multidrug Resistant *Mycobacterium leprae* from Patients with Leprosy.

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45, 3635-3639, 2001

(2) 中田登

Mycobacterium leprae の遺伝子について

日本ハンセン病学会雑誌、70、135-140、2001

(3) 中田登

細菌のゲノム解読と臨床への応用、抗酸菌
(結核菌、らい菌)

臨床と微生物、28、785-790、2001

2. 学会発表

(1) 中田登

らい菌の遺伝子について

第 74 回日本ハンセン病学会総会、2001 年

(2) 前田百美、ブイ・バン・ホアン、橋本研、中田登、前田伸司、柏原嘉子、牧野正彦

ハンセン病患者血清に反応する未知なる抗原の分子免疫学的解析

第 74 回日本ハンセン病学会総会、2001 年

(3)鈴木幸一、石井健、木村博昭、中田登、前田百美、武下文彦、牧野正彦
宿主細胞内二本鎖核酸とらい菌感染と
による抗原提示能の活性化
第74回日本ハンセン病学会総会、2001
年

H. 知的財産件の出願・登録状況
無し

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

新規抗らい菌薬の開発研究

分担研究者 儀同 政一

国立感染症研究所ハンセン病研究センター生体防御部第4研究室長

研究要旨：

治療期間の短縮と薬剤耐性に対応するため新規抗らい菌薬の開発を行った。リファマイシン系薬剤である RFP 耐性に対応する薬剤として Rifalazil(KRM-1648)を、フルオロキノロン系薬剤である OFLX 耐性に対応する薬剤として WQ-3345,WQ-3402 を、マクロライド系薬剤である CAM 耐性に対応する薬剤として Ketolide(ケトライド)HMR-3647 を ¹⁴C-パルミチン酸の代謝活性により抗らい菌活性を測定する Buddemeyer 法で検討した。Rifalazil(KRM-1648)は、RFP を凌ぐ強い活性を、WQ-3402 は、SPFX を凌ぐ強い活性を、WQ-3345 に LVFX より強い活性を認めた。HMR-3647 は、CAM に及ばないものの AZM より強い活性を認めた。新規4種薬剤は、作用部位である第1標的が相違すると考えられることから耐性患者に対する治療薬としての可能性を示唆した。最少抑制濃度については、ヌードマウス足蹠法で、現在検討中である。

A.研究目的

ハンセン病は、多剤併用療法の普及により有病率は低下したが、いまなお70万人の新患発生があるばかりか、耐性菌の増加により治療を困難にしている。治療期間の短縮と薬剤耐性に対応するためリファマイシン系薬剤である Rifalazil (KRM-1648)、フルオロキノロン系薬剤である WQ-3345, WQ-3402、ケトライド (Ketolide)HMR-3647 の抗らい菌活性を *in vitro* 法である Buddemeyer 法で検討した。

B.研究方法

1)らい菌(Thai-53) : BALB/c ヌードマウス足蹠より集菌・精製し、Shepard 法により菌数計算後所定の濃度に希釈し実験に用いた。

2)抗菌薬 : Rifalazil(KRM-1648, 鐘淵化

学)、WQ-3345・WQ-3402(湧永製薬)、HMR-3647(Aventis Pharm)、SPFX(大日本製薬)、GFLX(杏林製薬)、LVFX(第一製薬)、CAM(大正製薬)、RXM(Aventis Pharm)、AZM(ファイザー製薬)は、各製薬会社から原末の提供を受けた。RFP(和光純薬)は、市販品を用いた。

3)Buddemeyer 法 : 4-ml のガラスバイアル中に 7H12 培地、らい菌(2×10^7)、薬剤(最終濃度:8.0, 2.0, 0.5, 0.125 μ g/ml)を加えよく混合する。このガラスバイアルのキャップを緩く締め、32°Cの炭酸ガス培養器中で4日間培養後、¹⁴C-パルミチン酸(1 μ Ci)を加え混合後、再びキャップを緩く締めたガラスバイアルを、NaOH・シンチレータで処理した濾紙片を入れたプラスチックバイアルに入れキャップを強く締める。さらに32°Cの培養器で7日間培養を継続し、発生

した $^{14}\text{C}\text{O}_2$ 量を液体シンチレーションカウンターで計測する。

- 1) Rifarazile の抗らい菌活性を RFP と比較検討する。
- 2) WQ-3345, WQ-3402 の抗らい菌活性を LVFX, SPFX, GFLX, RFP と比較検討する。
- 3) HMR-3647 の抗らい菌活性を CAM, RXM, AZM, RFP, SPFX と比較検討を行う。(倫理面での配慮)

使用マウスは、頸骨脱臼により安楽致死させてから所定の実験に用いている。

C. 研究成果

- 1) Rifalazile の抗らい菌活性
Rifalazile \gg RFP の順で Rifalazile に RFP を凌ぐ強い抗らい菌活性を認めた。結果を図 1 に示す。
- 2) WQ-3345, WQ-3402 の抗らい菌活性
RFP $>$ WQ-3402 $>$ SPFX $>$ GFLX $>$ WQ-3345 $>$ LVFX の順で、WQ-3402 に SPFX を凌ぐ強い抗らい菌活性を、WQ-3345 に LVFX より強い活性を認めた。結果を図 2 に示す。
- 3) HMR-3647 の抗らい菌活性
RFP $>$ CAM $>$ SPFX $>$ RXM $>$ HMR-3647 $>$ AZM の順で、HMR-3647 に強い抗らい菌活性を認めた。結果を図 3 に示す。

D. 考察

多剤併用療法の普及により有病率は低下したが、6 ヶ月から 1 年に及ぶ長い治療期間のため不規則治療、治療中断また低用量長期投与により DDS, B663, RFP のみならず近年開発された OFLX, CAM にも耐性が増加し治療を困難にしている。これら薬剤耐性に対応するため臨床から新規薬剤の開発が求められている。*in vitro* 法である Buddemeyer 法で検討の

結果 Rifalazil は、RFP 耐性菌に部分交差耐性があるが強い抗らい菌活性を認めた。また WQ-3402 は OFLX と第一次標的酵素が相違すると考えられること、またマクロライド耐性に抗菌活性を示すクトライド HMR3647 に強い抗らい菌活性を認めた。以上のことから Rifarazile, WQ-3402, WQ-3345, HMR-3647 は、耐性患者に対する治療薬としての可能性を示唆した。現在、ヌードマウス足蹠法で最少抑制濃度を実験中である。

E. 結論

新規薬 Rifalazile, WQ-3345, WQ-3402, HMR-3647 に既存同系薬と比べ強い抗らい菌活性をみとめた。

F. 健康危険情報

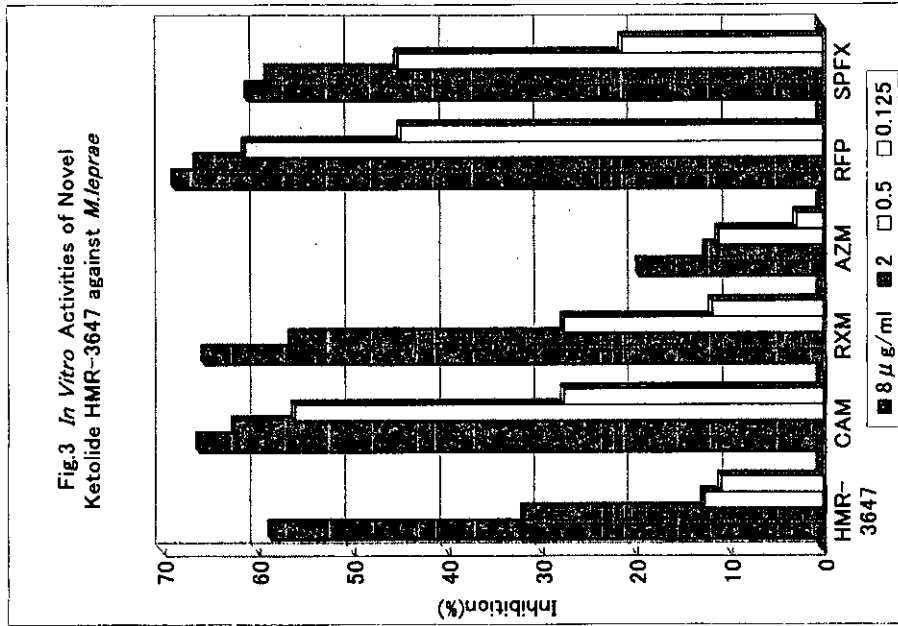
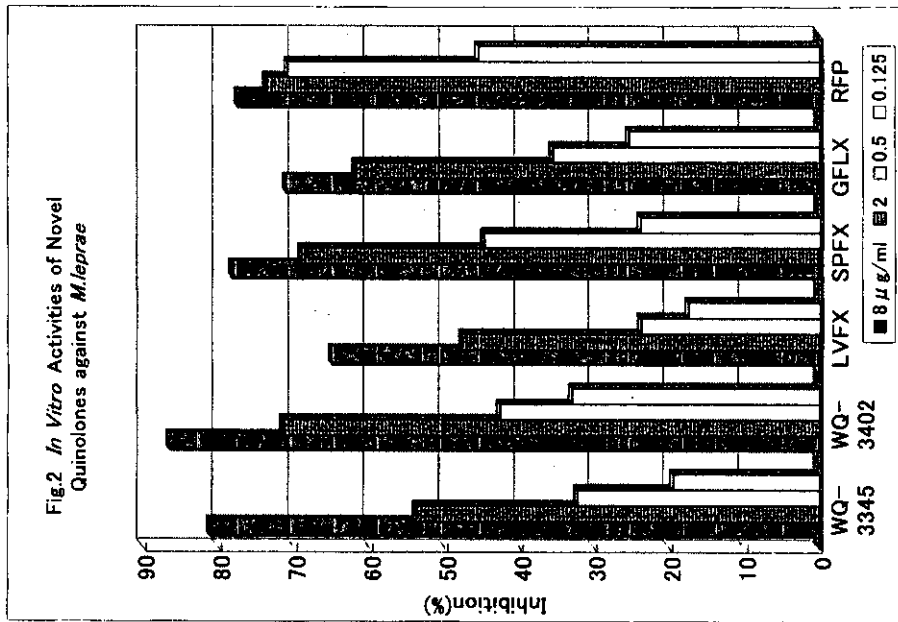
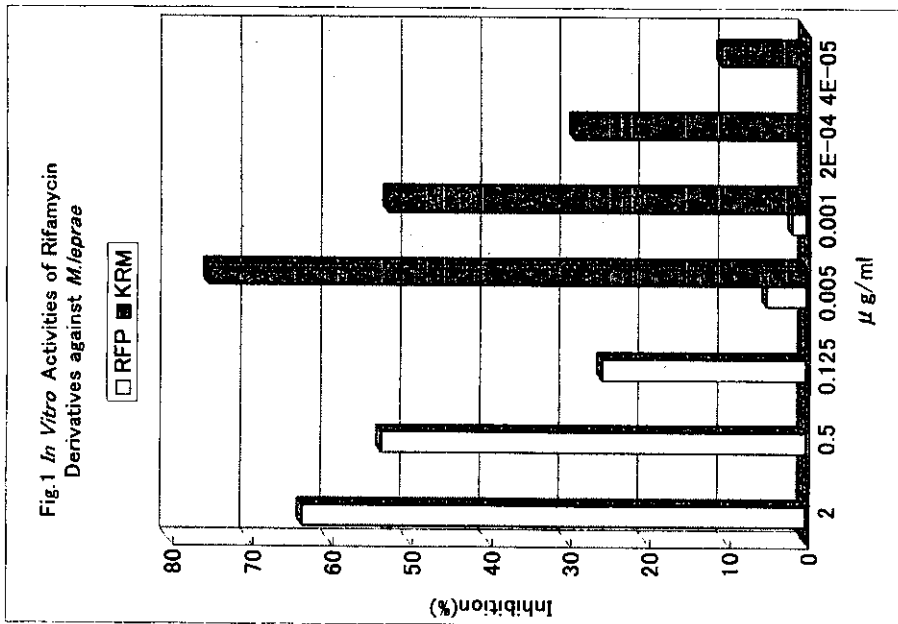
無し

G. 研究発表

1. 論文発表
 2. 学会発表
- 1) 儀同政一：LVFX, ROM の抗らい菌活性、第 74 回日本ハンセン病学会総会 Jpn.J.Lep. 70:78(2001).

D. 知的財産件の出願・登録状況

無し



厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告

免疫環境是正法の開発

分担研究者 牧野 正彦 国立感染症研究所 部長

研究要旨. ハンセン病に対する免疫療法およびワクチン開発に係る抗原性分子を探索する目的で、らい菌を菌壁・菌膜・細胞質に分画しその抗原性を検索した。その結果、らい菌細胞膜分画は抗原提示細胞である樹状細胞(DC)に取り込まれプロセッシングされた後、細胞表面にらい菌由来の抗原を発現した。菌膜をパルスした DC は IL-12 p70 を産生し、この DC によって刺激された CD4 陽性 T 細胞は IFN- γ を、CD8 陽性 T 細胞は IFN- γ およびパーフォリンを産生した。従って、らい菌菌膜には抗細菌細胞性免疫を誘導する分子が存在すると考えられた。

A. 研究目的

ハンセン病に対する新しい治療法として免疫療法が有効と想定され、活性化した T 細胞とりわけキラー活性を有する CD8 陽性 T 細胞の分化・誘導が重要と考えられる。T 細胞を特異的に活性化する抗原の同定は不可欠であるが未だ確立されていない。そこで、T 細胞活性化を誘導する抗原性分子を探索する目的で菌を細胞壁・細胞膜・細胞質に分画し、その抗原性を解析した。

B. 研究方法

正常健常者末梢単球を得て、リコンビナント GM-CSF および IL-4 を用いて樹状細胞(DC)を分化誘導した。らい菌(Thai 53 株)はヌードマウスを用いて増殖させビーズビーダーと超遠心機を用いて、細胞壁・細胞膜・細胞質分画に分類精製した。菌分画成分をパルスした DC の抗原提示能は、自己 T 細胞の活性化誘導能で解析した。細胞表面抗原の解析には FACScalibur を用い、DC により刺激された CD8 陽性 T 細胞の perforin 産生能は T 細胞膜を permeabilize して細胞内 perforin を FACScalibur を用いて検索した。DC から産生された IL-12 p70、T 細胞から産生される IFN- γ は ELISA 法を以てアッセイキットを用いて定量化した。

倫理面への配慮 国立感染症研究所倫理委員会の審査を受け、以下の通り行った。血液ドナーのプライバシーを完全に守る

ため、研究結果発表に際しては個人が特定されないよう配慮し、研究者はドナーのいかなる個人情報も漏出しないよう細心の注意を払った。また、使用目的と使用方法および医学上の貢献予測を十分に説明し理解(インフォームドコンセント)を得た。さらに、結果について守秘義務に基づいて知る権利と知りたくない権利を守った。

C. 研究結果

生らい菌・菌膜・細胞質を同量 DC にパルスすると、菌膜を抗原として用いた場合より強い CD4 陽性および CD8 陽性 T 細胞の増殖応答が観察された。そこで、菌膜の抗原性を細胞質分画をコントロールとして検索した。菌膜を DC にパルスし DC の細胞表面を解析すると、細胞壁由来の抗原(PGL-1)は存在せず、菌膜由来抗原(LAM)が存在しかつハンセン病患者血清と反応した。菌膜を細胞内プロセッシング阻害剤であるクロロキニン存在下で DC にパルスすると細胞表面に発現し患者血清と反応する抗原量は低下した。従って、菌膜成分は DC 内でプロセッシングを受け、細胞表面に発現すると考えられた。さらに、菌膜成分に FITC をラベルした後 DC にパルスすると、トリパンブルーを用いて細胞表面に残存する FITC をマスクしても DC は FITC を発色し、かつその程度は減少しなかった。従って、菌膜は DC によって細胞内に取り込まれていると判明した。次いで、抗原提示

び CD83 抗原の発現が菌膜投与により増強された。菌膜パルス DC の抗原提示能を IFN- γ 産生能により解析すると、CD40L 存在下で DC により刺激された CD4 陽性および CD8 陽性 T 細胞は IFN- γ を産生した。IFN- γ 誘導能は菌膜が細胞質よりも強かった。IL-10 は産生されなかった。従って、らい菌膜は Th1 タイプ CD4 陽性 T 細胞および Tc1 タイプ CD8 陽性 T 細胞を活性化する上で重要な抗原を保有していると想定された。菌膜パルス DC を用い 10 日間自己の CD8 陽性 T 細胞を刺激すると、検索したドナーの約 50% において CD8 陽性 T 細胞の細胞質内に perforin が産生された。しかし、*M. bovis* BCG 菌由来菌膜、あるいは非病原性抗酸菌 *M. smegmatis* 由来菌膜を抗原として用いた場合は全てのドナー CD8 陽性 T 細胞から perforin が産生され、かつその程度もらい菌膜に比し強かった。そこで、菌膜抗原の DC からの IL-12 p70 産生誘導能を検索した。らい菌膜は CD40L 抗原存在下で IL-12 p70 の産生を誘導した。その程度はらい菌膜細胞質を用いた場合よりも強かった。しかし、LPS 存在下では IL-12 p70 の産生は誘導できず、CD40L の存在が必要であった。*M. smegmatis* 菌膜は、LPS の存在下でも IL-12 p70 の産生を誘導した。また、らい菌膜を hydrophobic 分画と hydrophylic 分画に分けて IL-12 p70 の産生能を検索したが、両分画ともに IL-12 を産生した。

D. 考察

ハンセン病の発症を阻止するワクチンはこれまでに確立されておらず、早急な対応が望まれている。これまでに、らい菌は生らい菌を用いるよりは菌を構成する分画を用いた方が、T 細胞の増殖応答を誘導し易いユニークな抗酸菌であることを報告してきた。そこで、ワクチンの候補分子を探る目的で、らい菌を細胞膜・壁・細胞質の 3 つに分画しその抗原性を検索した。その結果、細胞膜に Th1 タイプ CD4 陽性 T 細胞・Tc1 タイプ CD8 陽性 T 細胞の活性化を誘導する分子が存在することが判明した。これらの T 細胞サブセットの活性化は、らい菌膜が DC を刺激し IL-12 p70 を産生することに関連しているものと考えられ

た。CD8 陽性 T 細胞は perforin と granulysin を産生し、抗抗酸菌キラー活性を獲得し有効なワクチンおよび免疫療法のメディエーターとなり得ることが想定されている。その意味において、CD40L 存在下で菌膜は DC を介し perforin 産生に至るまで CD8 陽性 T 細胞を活性化したことは意義深い。一般に、CD8 陽性 T 細胞が Cytotoxic T lymphocytes までに分化されるためには、in vivo において感作されている必要がある。本研究では、約 50% のドナーにおいて、in vitro で菌膜パルス DC による刺激を受けて CD8 陽性 T 細胞は CTL にまで分化したが、これはドナーの BCG に対する感受性あるいは BCG 菌による感作程度を反映している可能性が考えられ、抗酸菌に対するワクチンを考える際に有用な知見と思われる。

らい菌膜を油性分画と水性分画にさらに分画し IL-12 p70 産生能を検索すると、両者において同程度にサイトカイン産生をもたらした。従って、菌膜にはワクチンとなり得る分子が複数存在するものと考えられた。

E. 結論

抗酸菌菌膜には、樹状細胞より IL-12 p70 を産生し Th1 タイプ CD4 陽性 T 細胞および Tc1 タイプ CD8 陽性 T 細胞を活性化する抗原性分子が複数含まれていた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nomaguchi, H., N. Jahan, B. C. Mandal, Y. Yogi, K. Kawatsu, Y. Yoshizawa, H. Okamura, and M. Makino. IL-12 and IL-18 synergistically induce the bactericidal activity of murine peritoneal cells against *M. leprae*. Jpn. J. Leprosy, 70:113-119, 2001.
- 2) Umemura, M., K. Hirose, W. Wajjwaiku, H. Nishimura, T. Matsuguchi, Y. Gotoh, M. Takahashi, M. Makino, and Y. Yoshikai. Impaired IL-15

- production associated with susceptibility of murine AIDS to mycobacterial infection. *J. Leukoc. Biol.* 69(1):138-148, 2001.
- 3) Makino, M., A. Utsunomiya, Y. Maeda, S. Shimokubo, S. Izumo, and M. Baba. Association of CD40 ligand expression on HTLV-I-infected T cells and maturation of dendritic cells. *Scand. J. Immunol.*, 54:574-581, 2001.
 - 4) Kawamura, M., T. Naito, M. Ueno, T. Akagi, K. Hiraishi, I. Takai, M. Makino, T. Serizawa, K. Sugimura, M. Akashi, and M. Baba. Induction of mucosal immunity following intravaginal administration of inactivated HIV-1-capturing nanospheres in mice. *J. Med. Microbiology*, in press, 2002.
2. 学会発表
- 1) 野間口博子, 與儀ヤス子, 川津邦雄, 牧野正彦, 吉澤雄介, 岡村春樹。マウス腹腔内マクロファージのらい菌殺菌機構の解析。第74回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2001年5月 米子
 - 2) 鈴木幸一, 石井 健, 木村博昭, 中田登, 前田百美, 武下文彦, 牧野正彦。宿主細胞内日本鎖核酸とらい菌感染とによる抗原提示能の活性化。第74回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2001年5月 米子
 - 3) 前田百美, ブイ・バン・ホアン, 橋本研, 中田 登, 前田伸司, 柏原嘉子, 牧野正彦。ハンセン病患者血清に反応する未知なる抗原の分子免疫学的解析。第74回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2001年5月 米子
 - 4) 牧野正彦, 橋本 研, 前田百美, 松岡正典。らい菌の正常健常者末梢単球由来樹状細胞の抗原提示能に及ぼす影響。第31回日本免疫学会総会 2001年12月 大阪
 - 5) 梅村正幸, 西村仁志, 松口徹也, 牧野正彦, 須田貴司, 吉開泰信。IL-15はマウス後天性免疫不全症候群の病態の進展を抑制する。第31回日本免疫学会総会 2001年12月 大阪
 - 6) Maeda Y., B. V. Hoang, S. Shrisungngam, S. Maeda, P. J. Brennan, Y. Kashiwabara, and M. Makino. Molecular and immunological analysis of a protein against leprosy. *International Symposium on Mycobacterial Diseases: Pathogenesis, Protection and Control*, Jan., 2001, Bose Institute, Calcutta, India.
- H. 知的所有権の取得状況
なし

末梢神経機能障害の解明・予防・治療に関する研究

分担研究者 後藤 正道 鹿児島大学医学部第二病理助教授

化学療法によってハンセン病の皮膚症状が治癒した後も末梢神経障害が徐々に進行する症例が少なからずあり Silent Neuropathy と呼ばれているが、その病態はまだ未解明である。昨年度に引き続き、その病態解明のための臨床病理学的研究を行った。対照 9 例、治癒状態のハンセン病 T 型 16 例と L 型 33 例の剖検例の下腹正中部の皮膚切片に、神経 marker である抗 PGP9.5 抗体による免疫組織化学染色と、その陽性面積の計測をおこなった。真皮上層における PGP9.5 陽性面積(%)は、対照： 0.20 ± 0.05 、T 型： 0.11 ± 0.09 、L 型： 0.08 ± 0.08 であった。ハンセン病では加齢に伴って PGP9.5 陽性面積が減少する傾向が見い出されたが、その減少は L 型に著しく、かつ早期(60 歳代)から始まることが明らかになった。また、この面積減少は、個々の神経線維の大きさの減少によることが判明した。これらの結果から、ハンセン病では治癒状態においても、神経障害が進行することが形態学的に明らかになった。

【研究協力者】

野元 三治¹・北島 信一¹・米澤 傑²

¹国立療養所星塚敬愛園研究検査科

²鹿児島大学医学部第二病理

【研究目的】

ハンセン病は皮膚と末梢神経をおかす慢性感染症であり、化学療法によって皮膚症状が治癒すると末梢神経障害の進行も停止することが多い。しかしながら、治癒後も末梢神経障害が徐々に進行する症例が少なからずあり、Silent Neuropathy あるいは Quiet Nerve Paralysis (QNP) と呼称されている。この病態についてはいまだに十分に解明されていない。本研究は、病理学的な手法を用いて、ハンセン病における Silent Neuropathy の発症機序を解明することを目的とする。

本研究によって、Silent Neuropathy の発症機序が明らかになれば、世界のハンセン病対策に大きな寄与ができると同時に、わが国の新規患者あるいは療養所で生活中の入園者のかなりの症例において見られる神経障害の進行・日常生活能力(ADL)の低下の防止につながるものと考えられる。

昨年度の本研究において、腹部皮膚の PGP9.5 陽性皮内神経の定量的解析を行い、L 型治癒例の約半数において、60 歳頃から進行する皮内神経の脱落が見られることを明らかにした。本年度はこの結果の妥当性を検証すると共に、他疾患による末梢神経障害との比較を行った。

【方法】

対照の剖検 9 例（鹿児島大学医学部、51-82 歳、 64 ± 9 歳）、治癒状態のハンセン病 T 型 16 例（星塚敬愛園、66-95 歳、 83 ± 9 歳）、治癒状態のハンセン病 L 型 33 例（星塚敬愛園、55-92 歳、 77 ± 9 歳）の下腹正中中部皮膚のフォルマリン固定・パラフィン切片に、Fite 染色、抗酸菌マーカーの抗 BCG 抗体(DAKO)と、神経マーカーの抗 PGP9.5 抗体

(Ultraclone, rabbit poly-clonal)による免疫組織化学染色(ABC 法)を行なった。これらの免疫染色は ABC 法(Amersham 社)で行い、DAB 発色後にヘマトキシリン染色をおこなった。

さらに、PGP9.5 免疫染色標本の真皮上層 $0.6 \times 0.9 \text{mm}$ の範囲を顕微鏡からデジタルカメラ Fuji Finepix S1 Pro に取り込み、マッキントッシュコンピュータの Photoshop(Adobe 社)で青画像を抽出後に、画像処理プログラム NIH image を用いて、PGP9.5 陽性部位の面積の計測を行うことで、皮内神経の分布密度を求めた。これらの解析結果と年齢・病型などとの関連について解析を行った。

【結果】

(1) L 型 1 例の神経周囲にらい性神経炎を示すリンパ球の浸潤が見られた。他のハンセン病 48 例に神経炎は見られず、Fite 染色と抗 BCG 免疫染色は全例において陰性であった。

(2) ハンセン病症例では皮内神経の密度の減少が様々な割合で見られた。

(3) 免疫染色の画像解析の結果、真皮上層における PGP9.5 陽性面積すなわち皮内神経の単位面積当りの分布密度は、対照： 0.20 ± 0.05 、T 型： 0.11 ± 0.09 、L 型： 0.08 ± 0.08 であった。

(4) ハンセン病では加齢に伴って PGP9.5 陽性面積が減少する傾向が見い出されたが、その減少は L 型に著しく、かつ早期(60 歳代)から始まることが明らかになった(Fig.1)。

(5) PGP9.5 陽性の神経線維の一本当たりの平均面積(太さ)と年齢との相関を見ると(Fig. 2)、対照： $10.6 \pm 2.0 \mu\text{m}^2$ 、T 型： $4.5 \pm 2.5 \mu\text{m}^2$ 、L 型： $4.5 \pm 3.3 \mu\text{m}^2$ であった。一方、PGP9.5 陽性神経線維の単位面積当たりの本数を見ると(Fig. 3)、対照： $199 \pm 60 \text{本}/\text{mm}^2$ 、T 型： $228 \pm 116 \text{本}/\text{mm}^2$ 、L 型： $149 \pm 120 \text{本}/\text{mm}^2$ 、であり、有意差は認められなかった。これらの結果から、ハンセン病における面積減少は、主として個々の神経線維の大きさの減少によるこ

とが判明した。

【考察】

昨年度の少数例による研究では、L型の治癒例の約半数において下腹部皮膚の神経線維が加齢に伴って著明に脱落することを報告した。本年度、症例を増やして解析を行った結果、T型でも脱落する症例があること、しかしL型のほうが早期からかつ高度に脱落することが明確になった。

また、昨年度の解析では明らかでなかった、個々の神経線維の大きさの減少が、今年度の研究によって明確になった。

【結論】

L型治癒例に多く見られる Silent Neuropathy の発症には、皮膚神経線維の径の減少を伴う脱落が関与していることが、病理組織学的に明らかになった。

【研究発表】

1. 論文発表

- (1) 後藤正道：ハンセン病の特徴と日本の治療指針。日本ハンセン病学会雑誌 70(3):151-155 (2001)
- (2) Yoshihiro Yoshida, Shinya Ikematsu, Takashi Moritoyo, Masamichi Goto, Jun-ichiro Tsutsui, Sadatoshi Sakuma, Mitsuhiro Osame, Takashi Muramatsu: Intraventricular administration of the neurotrophic factor midkine ameliorates hippocampal delayed neuronal death following transient forebrain ischemia in gerbils. *Brain Res* 894: 46-55 (2001)
- (3) 米澤 傑、後藤正道：看護のための最新医学講座第24巻、腫瘍の臨床(分担執筆) 「腫瘍の病理」(今井浩三編集) pp 7-23、中山書店、東京(2001)
- (4) Aihua Li, Suguru Yonezawa, Sumika Matsukita, Kazuhisa Hasui, Masamichi Goto, Sadao Tanaka, Kohzoh Imai, Eiichi Sato: Comparative study for histology, proliferative activity, glycoproteins, and p53 protein between old and recent colorectal adenomas in Japan. *Cancer Lett* 170: 45-52 (2001)
- (5) Shunichi Yokoyama, Hirofumi Hirano, Koichi Moroki, Masamichi Goto, Shinichi Imamura, Jun-ichi Kuratsu: Are nonfunctioning pituitary adenomas extending into the cavernous sinus aggressive and/or invasive? *Neurosurgery* 49:857-863 (2001)
- (6) Fuan Wang, Masamichi Goto, Young S. Kim, Michiyo Higashi, Kohzoh Imai, Eiichi Sato, Suguru Yonezawa: Altered GalNAc-a-2, 6-Sialylation Compartments for Mucin-Associated Sialyl-Tn Antigen in Colorectal Adenoma and Adenocarcinoma. *J Histochem Cytochem* 49:1581-1592 (2001)
- (7) Aihua Li, Masamichi Goto, Michiko Horinouchi, Sadao Tanaka, Kohzoh Imai, Young S. Kim, Eiichi Sato, Suguru Yonezawa: Expression of MUC1 and MUC2 mucins and its Relationship with Cell Proliferative Activity in Human Colorectal Neoplasias. *Pathol Int* 51:853-860 (2001)
- (8) Masatoshi Tsuji, Masamichi Goto, Fumiyuki Uehara, Akihiro Kaneko, Junki Sawai, Suguru Yonezawa, Norio Ohba: Photoreceptor Cell Differentiation in Retinoblastoma demonstrated by a new immunohistochemical marker Mucin-Like Glycoprotein Associated with Photoreceptor Cells (MLGAPC). *Histopathology* 40:180-186 (2002)
- (9) Akiko Nakamura, Michiko Horinouchi, Masamichi Goto, Kohji Nagata, Koro Sakoda, Sonshin Takao, Kohzoh Imai, Young S. Kim, Eiichi Sato, Suguru Yonezawa: New classification of intraductal papillary-mucinous tumour by mucin expression: Its relationship with malignancy potential. *J Pathol in press*

2. 学会発表(抄録)

- (1) 後藤正道：ハンセン病治療指針について。日本ハンセン病学会雑誌 70(2):71-72 (2001)
- (2) 野元三治、北島信一、今泉正臣、後藤正道：ハンセン病再発の治療中、B663によるアレルギー性皮疹が疑われた一例。日本ハンセン病学会雑誌 70(2):97 (2001)
- (3) 後藤正道：ハンセン病における Silent Neuropathy の発症機序-剖検例の PGP9.5 陽性神経分布の解析。Neuropathology 21(suppl):102 (2001)
- (4) 後藤正道、野元三治、北島信一、米澤傑：ハンセン病における腹部の皮内神経分布について。日本病理学会会誌 90(1):233 (2001)
- (5) 樋口一恵、小林和夫、原田登之、関谷幸江、森下加奈、後藤正道：UV 処理結核死菌と BCG 菌に於ける免疫力の比較。結核 75(3):246 (2001)

Fig. 1 Age and PGP9.5+ dermal nerve

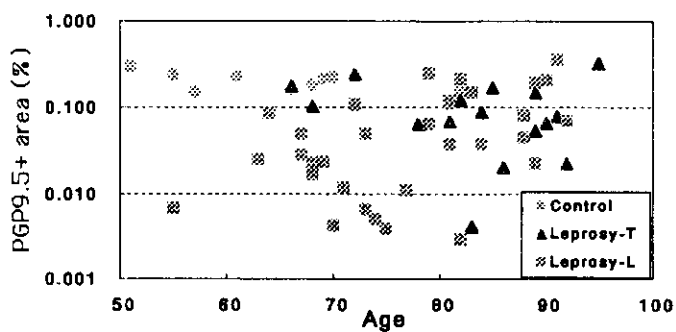


Fig. 2 Age and nerve fiber size

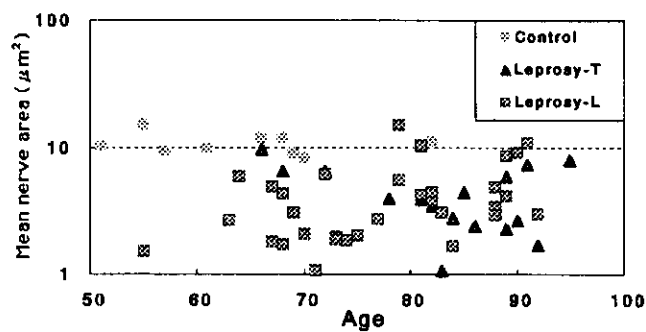
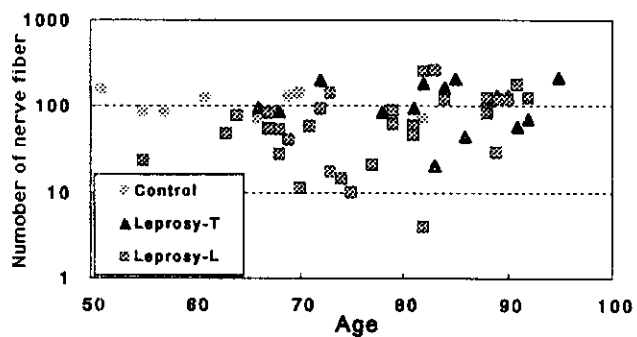


Fig. 3 Age and number of nerve fiber



ハンセン病による末梢神経炎発症および制御機構の解析

遠藤 真澄（国立感染症研究所ハンセン病研究センター主任研究官）

ハンセン病性末梢神経炎発症機構を解明する上で、らい菌とシュワン細胞の相互作用を解析することは極めて重要である。我々はシュワン細胞株を樹立し、シュワン細胞由来生理活性物質遺伝子発現の解析を行ってきた。今回、アポトーシスを誘導したシュワン細胞由来神経栄養因子、炎症惹起性サイトカイン等生理活性物質の動向を検討した結果、らい菌感染シュワン細胞（生細胞）のこれら因子の発現動向とは、異なることを見いだした。本研究で神経再生・修復に重要な役割を果たしている生理活性物質の発現調節機構を解明することにより、それらの物質による後遺症を含めたハンセン病性末梢神経炎の新しい治療や予防戦略を構築することが期待できる。

A, 研究目的

ハンセン病による末梢神経炎発症機構は、現在でもほとんど不明であり、適切な治療方法や予防方法も確立されていない。臨床的には、化学療法によりハンセン病の原因菌であるらい菌を完全に排除してもなお末梢神経炎は完治せず、後遺症として残存する。末梢神経炎の発症は、神経組織構成細胞であるシュワン細胞にらい菌が特異的に感染し、局所的な炎症性細胞浸潤を惹起することに起因していると考えられる。シュワン細胞は神経栄養因子やサイトカインなどの生理活性物質を産生し、末梢神経や組織の恒常性維持に参与している。そして末梢神経炎の際、これらの生理活性物質の発現レベルが変動することから、末梢神経炎あるいは炎症後の神経組織の再生・修復にシュワン細胞は重要な役割を果たしている。しかしながら、ハンセン病性末梢神経炎におけるシュワン細胞やシュワン細胞由

来生理活性物質の役割はほとんど不明である。したがって、ハンセン病性末梢神経炎発症機構を解明する上で、らい菌感染シュワン細胞と末梢神経との相互作用を解析することは極めて重要である。本研究は、株化した培養シュワン細胞にらい菌を感染させ、シュワン細胞由来生理活性物質の発現調節機構の動態を解析し、後遺症を含めたハンセン病性末梢神経炎の新しい治療や予防戦略を構築することを目的とする。これまでに我々は、ラット坐骨神経由来シュワン細胞の株化・クローニングを行い、各種抗酸菌のシュワン細胞への侵入を確認する共に、感染シュワン細胞が産生する神経栄養因子、サイトカイン等、生理活性物質遺伝子発現の解析を行ってきた。そこで今年度は、アポトーシスを誘導したシュワン細胞、並びに各種抗酸菌の感染させたシュワン細胞の生理活性物質遺伝子発現の相違を解析した。

B、研究方法

アポトーシスを誘導したシュワン細胞株、並びにらい菌(Thai53), BCG, *M. avium* を感染させたシュワン細胞株より、経時的に定法に従い全 RNA を分離し、RT-PCR 法にて神経栄養因子、それらのレセプター、サイトカイン、ケモカイン mRNA 発現を解析した。抗酸菌の感染は、カバースリップ上で培養した感染シュワン細胞株を、チール・ネールセン法による抗酸菌染色を施すことにより確認した。アポトーシスは、TNF α 、アクチノマイシン D、グリオトキシンの添加、並びに無血清培養により誘導した。またアポトーシスは、細胞の形態学的変化(付着細胞の遊離)、並びに DNA の断片化により確認した。

C、研究結果

TNF α 、アクチノマイシン D、グリオトキシシン、無血清培養の中で、シュワン細胞株へのアポトーシスの誘導は、グリオトキシンの添加が最も効果的であった。グリオトキシシン 2 μ g/ml、24 時間の曝露によりアポトーシスを誘導した結果、シュワン細胞株に構成的に発現している NGF(nerve growth factor), GDNF (glial-cell derived neurotrophic factor), IGF-1(insulin like growth factor-1), p75(NGFレセプター), TGF- β (transforming growth factor), gp130, IL-8, ErbB2, -3, -4(Neuregulinレセプター) mRNA のシグナルが消失し、CNTF(ciliary neurotrophic factor), NCAM(neural cell adhesion molecule) mRNA の down regulate 並びに、LIF(leukemia inhibitory factor), NOSi(inducible nitric oxide synthase), TNF α , CCR-5(ケモカインレセプター)の upregulate が認められた。らい菌, BCG, *M. avium* 3 種の抗酸菌感染 24 時間から 72 時間におけるシュワン細胞株が発現する

各種因子の遺伝子は、昨年までの報告どおり GDNF, NT-3, RANTES mRNA がらい菌感染により特異的に upregulate されるのみであり、アポトーシス細胞の遺伝子発現の動向とは大きく異なっていた。

D、考察

らい菌はマクロファージやシュワン細胞に貪食、あるいは自身侵入することにより細胞内に寄生し、その結果宿主細胞が産生する種々の因子が、ハンセン病の病態形成に大きく関わってくる。ハンセン病による末梢神経障害は依然その機序は不明であり、化学療法によりらい菌を完全に排除してもなお神経障害は完治せず、神経障害に起因する不可逆性の四肢機能障害などの後遺症は、解決すべき大きな問題として残っている。宿主側であるシュワン細胞のらい菌感染に伴う生死は、神経障害の重篤度に直結すると思われる。神経病理学的には、神経障害が軽い L 型ハンセン病では、末梢神経の変化は節性脱髄が主であり、残存するシュワン細胞に多数のらい菌を認めるが、神経障害が強い T 型ハンセン病では、末梢神経に沿って類上皮細胞、Langhans 形巨細胞を伴った炎症性肉芽腫が形成され、シュワン細胞と神経線維は完全に消失、らい菌は認められない。今回、らい菌感染生細胞は L 型、アポトーシス細胞は T 型を想定してその遺伝子発現の相違について検討したが、両者は完全に異なったものとなった。シュワン細胞に対するアポトーシスの誘導、並びに今回観察されたアポトーシス細胞由来遺伝子発現の動向が、らい菌によっても引き起こすことが可能か否かは今後の検討課題である。これら変動を認めたシュワン細胞由来因子の多くは、神経細胞の生存維持・軸策再生に係わる主要

なものであり、またシュワン細胞自身も、これらの因子による autocrine growth controlを受けていることから、これらの因子がハンセン病の神経障害の要因となりうることが示唆される。今後、らい菌感染によりシュワン細胞にアポトーシスを誘導、神経障害に係わる因子を特定し、そして最終的にはらい菌感染シュワン細胞が産生する因子の発現制御による、ハンセン病性末梢神経炎の新しい治療や予防戦略の構築を試みる。

E、結論

アポトーシスを誘導したシュワン細胞由来神経栄養因子、炎症惹起性サイトカイン等生理活性物質の動向を検討した結果、らい菌感染シュワン細胞(生細胞)のこれら因子の発現動向とは、異なる

ることを見いだした。

F、健康危険情報

無し

G、研究発表

1、論文発表

2、学会発表

遠藤真澄

末梢神経系での抗酸菌感染時におけるケモカイン類の役割

第43回日本神経化学・第24回日本神経科学合同大会、京都、9.28.2001

H、知的財産件の出願・登録状況

無し

厚生科学研究費補助金 (新興・再興感染症研究事業)

分担研究報告書

流行国における神経炎の実態調査

分担研究者 畑野研太郎 国立療養所邑久光明園 副園長

研究要旨 ハンセン病コントロールが WHO のイニシアティブのもと、非常に進展している事は喜ばしい事実である。しかし一方、現在 WHO が用いている指標では、コントロール努力の結果が反映されていないために、より効率的なコントロールを施行する事を妨げている。ミャンマー国ミンゴン地方における 1958 年以後のハンセン病患者のカルテ調査を行い、地域におけるハンセン病流行状況を認識する上で有用な新たな指標となりえる簡易な数値を発見するための検討をおこなった

A. 研究目的

ハンセン病は、早期診断早期適正治療により、障害を残すことなく治癒する疾病である。しかし、ハンセン病流行地である途上国においては、いまだに多くの障害者が発症しつづけている。コントロールワークが積極的に、かつ適正に行われている場合においても、約 10% の障害者が発生することは避けられない。現在 WHO が用いている指標では、非常に努力している地域と、あまり努力がなされていない地域を差別化することができないため努力している地域のモチベーションを下げたり、より効率的なコントロールを施行する事を妨げている。そこで本年度は、これらの神経障害の発生を減少させるために、コントロールの状況をより適正に評価するための指標を見出すべく努力した。神経炎の発生状況を明確にすることを通じて、発症から診断、治療期、治療終了後の時期における神経炎発症の既序を解明し、その対策を検討することをつうじて、ハンセン病による障害者発生を減少させることを最終目的としている。

B. 研究方法

ミャンマー国サガイン管区ミンゴン地方(日本でいう郡程度の行政単位)の、1958 年より 98 年にかけてのハンセン病治療終了者のカルテ調査を引き続き施行した。これらのカルテ調査によって、初診診断時の末梢神経障害の状況、末梢神経肥大状況およびハンセン病の一般情報を収集した。

症例は、154 症例中カルテが比較的無事に残存しており、記載も判読可能な 128 症例に関しておこなった。内訳は、男性：69 例、女性：59 例であった。病型は MB:58 例、PB:70 例であった。年齢分布は、4 歳より 73 歳 (平均 29.4 歳) であった。

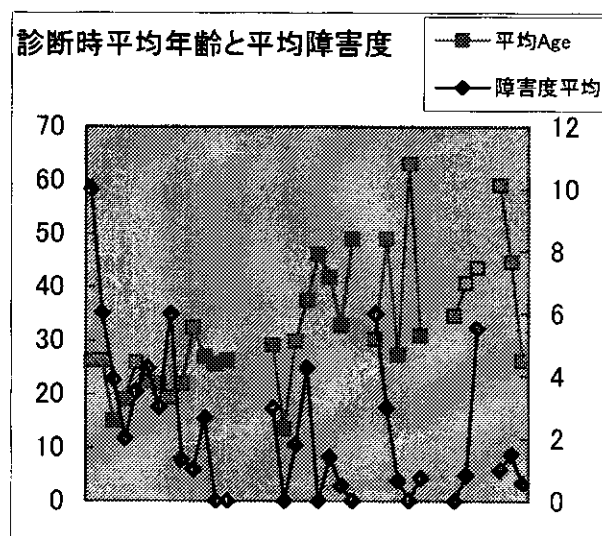
(倫理面への配慮)

基本的には、倫理面上の問題は存在しないと考えられる。カルテ調査は、カルテ番号に基づいて、記録されており患者名の記載は行われていない。

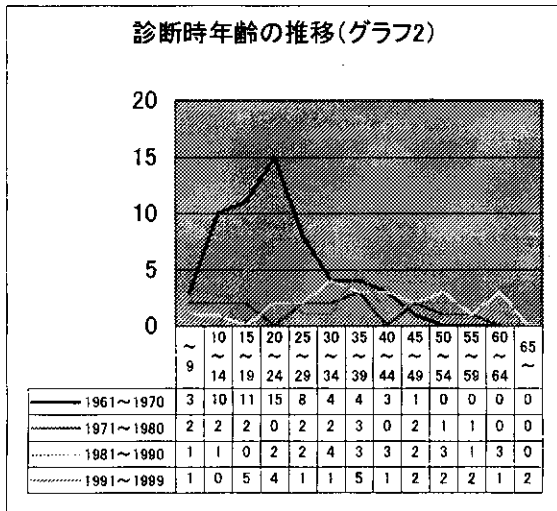
C. 研究結果

初診時における障害度を WHO 障害度指数の合計点数で計算した。ただし、WHO の障害指数は、フィールドに適応しやすくするため途中で簡略化されたので、現在使用されている指数に変換して計算した。

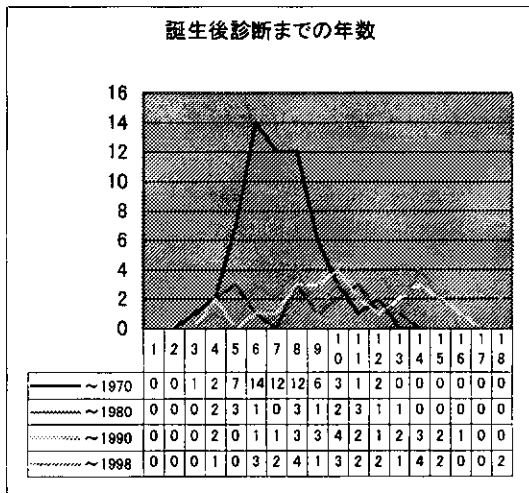
また、各年の診断時平均年齢を算出し、平均障害度指数と比較検討した。(グラフ 1)



また、昨年度の検討結果から、地域における指標は 10 年単位で症例をまとめて検討する事が有用であるとの結果を得ているので、診断時年齢から 10 年毎の誕生年を検討した。(グラフ 2)



これらを、診断時を同一基点として、診断何年前に誕生しているかを比較したのがグラフ3である。



D. 考察

昨年度は、平均障害度の推移を一定の期間の平均値として検討し、地域の状況を把握するのにハンセン病の場合10年単位で検討するのが適当であるとの結論を得た。今年度は、ミングンの新患を、診断時の障害度と年齢から検討し、地域のハンセン病流行度をより鮮明にあらわす指標の開発に用いる可能性について検討した。グラフ1に示すように、この半世紀の診断、治療の発展により、診断時のハンセン病による障害度は、単年ごとのデータでみても確実に低下してきている傾向を示している。10年単位でデータを検討するとこの傾向が一目瞭然である事は昨年度のグラフからも明らかである。(参照グラ

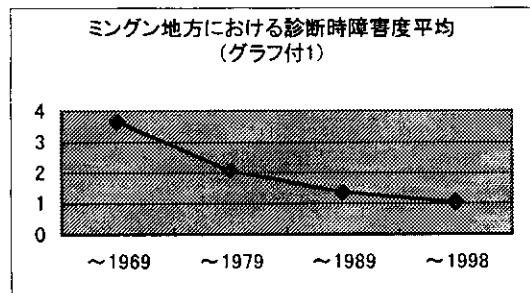
フ付1)しかしそれと同時に、診断時平均年齢が、コントロールの進展に歩調を合わせて上昇してきている傾向が明瞭となった。

この点をさらに確認するために、診断時年齢を、10年ごとのグループで検討したのがグラフ2である。このグラフが示すとおり、過去にさかのぼるほど、若年層が増加しており、最近になるほど発症が高齢者側に移行している傾向が明瞭である。これは、ハンセン病の特に長い潜伏期のものからの発症とも考えられる。

そこで、生まれてからハンセン病と診断されるまでの期間を、各10年ごとのグループで検討してみたのがグラフ3である。ハンセン病の感染は、いうまでもなく垂直感染が否定されている以上、誕生後に起こった事象であり、しかも潜伏期の長さが明確にすることが困難である状況から考えると、少なくとも確実なことは、「誕生後のどこかの時点で感染が起こった」という事だけである。その事から考えると、近年の新患者の年齢が上昇しているという事は、近年、非常に減少している日本人新患の年齢が、60歳を超えているという事実とも考え合わせて、これら高齢者の感染時点は、はるかに遡りうるという可能性を含んでおり、WHOがおこなっている単なる「地域の有病率」および「新患発生率」のみでは、地域の流行状態を正しく反映する事はできないと考えられる。一方、新患の障害率と診断年齢を組み合わせる事で、簡単でありながらよりの確に地域の流行状況を表す指標を算出できる可能性があるものと思われる。

E. 結論

診断時障害度数平均と年齢平均から、地域のハンセン病流行度をあらわす簡便な指標をつくる可能性が存在する。ハンセン病有病率の高さに悩む途上国の現状からかんがみても、今後、この点について検討を深める必要がある。



厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

末梢神経機能障害の解明・予防・治療に関する研究

分担研究者 岩田 誠 東京女子医科大学神経内科

研究要旨

長期経過したハンセン病ニューロパチーの臨床像の変化を調査するため、表在感覚障害と筋力低下の範囲を詳細に検討した症例における追跡調査を行った9例において、15～22年間の末梢神経障害の経過を検索したところ、多くの例で、表在感覚障害部位の縮小を認めたと、筋力低下、筋萎縮には変化を認めないものがほとんどであった。

A. 研究目的

化学療法の進歩により、ハンセン病の治療患者は増えているが、それによって末梢神経障害の改善が見られるかどうかについては、詳細な検討は加えられていない。われわれは15から22年前に、詳細な感覚障害マップを作成した患者において、現時点における同様のマップを作成し、ハンセン病の末梢神経障害が長期間においてどのような経過をとるかを検討した。

B. 研究方法

対象患者は、1978年から1985年にかけて第1回目の詳細な神経内科的診察を受けたハンセン病患者58例中、追跡調査にて第1回目と同じ医師（本分担研究者）による第2回目の神経内科的診察を行い得た患者9例である。これらの9例につき、感覚脱失、特に痛覚脱失の範囲、筋力低下、深部感覚障害について、詳細な比較検討を行った。

（倫理面への配慮）

本調査は日常的な診療の範囲で行われたも

のであり、患者には調査の目的を説明し承諾を得ているので倫理的な問題はないと判断される。

C. 研究結果

〈解析対象症例における原病の背景〉

これら9症例の病型の内訳は、LL5例、BL4例であった。これらのうち、LLの2例を除いた残り7例においては、現在は無治療であり、ハンセン病はほぼ治癒していると考えられるが、LLの1例は難治性ハンセン病であり、現在もなお多剤併用を行っている。残りの1例はDDSのみを継続しているが、現在ハンセン病は非活動性である。第1回調査と第2回調査の間隔は、最短15年、最長22年であった。

〈感覚・運動障害の経過〉

ハンセン病が治癒に至り、現在無治療である7例中LL型の3例では、表在感覚障害、特に痛覚消失域の軽度の縮小が認められた。特に第1回調査時には痛覚が全く消失していた肘窩、腋窩、膝窩などの領域で、痛覚が出現していた。しかし、1例においては、

第1回調査時には感覚障害の見られなかった両下肢に、明らかな痛覚消失域を認めるようになっていた。これに対し、筋萎縮と筋力低下では、第1回調査と第2回調査との間でほとんど変化を認めなかった。

治癒に至ったBL型4例のうち2例では、痛覚消失域の明らかな縮小を認めたのに対し、他の2例では、感覚障害域の一部に拡大、一部に縮小が認められた。運動障害は全例でほぼ同じであった。

現在ハンセン病は非活動性であるが、DDSの服用を継続しているLL型の症例では、18年の経過中に全感覚消失域の拡大が見られたが、筋萎縮・筋力低下の範囲、程度には変化が見られなかった。

18年間にわたる治療中で、ENLを繰り返している難治性ハンセン病で、現在も治療を継続しているLL型の症例においては、ENLを繰り返し生じた体幹部と上肢では感覚消失域の著明な拡大を認めたが、これを生じなかった下肢や顔面の感覚消失域には縮小を認めた。第1回調査時すでにほとんど機能廃絶状態であった上肢遠位側の運動系の所見には何らの改善も認めなかった一方、運動能力がよく保たれていた下肢筋の筋力は18年後にもよく保たれていた。

D. 考察

ハンセン病の末梢神経障害の長期予後については、詳細な検討が少ない。特に今回の調査のように、15～22年間という長期間に渡り、同一の神経内科医により感覚障害と運動障害の詳細な検討が行われたことはない。今回のわれわれの調査では、少なくとも治癒に至ったハンセン病ニューロパチーにおいては、感覚障害の範囲が縮小する

可能性のあることが明らかになった。このことは、障害を受けた感覚神経の再生能力が残存していたことを示唆する所見であると言える。

これに対し、筋萎縮、筋力低下には大きな変化は見られなかったが、これは必ずしも、運動神経には再生能力がないということ単純に意味するものではない可能性がある。今回検討した患者においては、長期にわたる高度の筋萎縮のために、筋肉そのものの再生能力の問題も大きく関与しているものと考えられる。

難治性ハンセン病で、今なお治療を継続している1例の患者における18年間の経過観察においては、体幹部と上肢では感覚障害の拡大が見られたのに対して、顔面や下肢の感覚消失域は縮小した。このような、部位による障害の経過の差は、個々の領域における末梢神経障害のおかされ方が様ではないことを表している。この患者では感覚障害の範囲が拡大した体幹部や上肢においてENLを繰り返し生じていたことから考えると、ENLによる末梢神経障害は、末梢神経の再生能を高度に傷害するような組織障害を生じると考えられる。

E. 結論

ハンセン病の治癒患者では、感覚障害の範囲は縮小する可能性があるが、筋萎縮、筋力低下の回復はほとんど見られない。ENLを繰り返す場合には、ENL生じた領域における感覚障害の範囲は、次第に拡大する傾向がある。

F. 健康危険情報

無し