

図 2

Immunofluorescence microscopy of human PnMEC using anti-human von Willebrand antigen antibody (Dako). Granular cytoplasmic staining was noted. Bar = 100 μ m.

ウシBMECやPnMECと同じく細長いfibroblastに類似した形態を示し、時にpolygonalに近い形を呈するが、培養皿上でconfluentとなるに従い、明らかなcontact inhibitionを示す単層を形成した(図1)。内皮細胞のマーカーであるDiI-Ac-LDLの細胞内取込み能を有し、抗von Willebrand抗体を用いた免疫染色でも細胞質内に明らかな陽性顆粒を認めた(図2)。細胞増殖能はウシPnMECとほぼ同等であったが、より若年の患者から得られた細胞ほど優れた増殖能が得られる傾向があった。電顕的には細胞接着部位にelectron denseなtight junctionが観察された。

考 察

BNBは、血液脳関門(BBB)と比較してバリアーとしての機能が劣るというのが従来よりの通説であったが、Podusloら⁴⁾はいくつかの分子量の異なる蛋白質を用いたin vivoの実験の結果、BBBとBNBのバリアー機能はほぼ同等であるとの結論を記載している。BBB機能の分子細胞学的研究は、この十数年間に飛躍的な進歩があり、培養BMECは今や不可欠の材料のひとつであるが、BNBの細胞学的主座の一つであるPnMECは、その技術的困難がここ数年の間によりやく克服され¹⁾⁵⁾、培養の対象として認知されはじめたところである。我々はウシPnMEC大量培養法確立の後、数年にわたってヒトBNBのモデルとしてより妥当性の高いヒトPnMECの培養を継続して試みてきたが、今回、培養液および分離条

件の頻回な改変を通じて、ようやく3つのcell lineの確立に至った。ヒト細胞系の確立は、実験系での細胞の反応性における種差の問題がクリアーできることのほかに、ヒト蛋白を対象として作製された各種blocking antibodyがすべて使用可能になるなど大きな利点をもつ。現在、糖鎖抗原をはじめとする本細胞の生化学的特性、バリアー形成能などの生理学的特性の解析が進行中である。

結 論

ヒト末梢神経神経内膜微小血管由来内皮細胞(PnMEC)の大量培養法を確立した。抗ヒト接着因子抗体を用いたヒトリンパ球の接着阻害実験⁶⁾や、患者リンパ球の内皮細胞への接着とmigrationの観察、各種サイトカインなどの外的要因によって発現するmRNAのパターン解析等、本細胞系によって可能となる実験系の幅が大きく広がることが期待される。BNBの分子細胞学的研究にあたって、このヒトPnMECの純培養法は大きな意義をもつものと思われる。

文 献

- (1) Kanda T, Iwasaki T, Yamawaki M, Ikeda K: Isolation and culture of bovine endothelial cells of endoneurial origin. *J Neurosci Res* 49: 769-777, 1997.
- (2) Kanda T, Iwasaki T, Yamawaki M, Mizusawa H, Tai T: Anti-GM1 antibody facilitates leakage in an in vitro blood-nerve barrier model. *Neurology* 55: 585-587, 2000.
- (3) Kanda T, Owada K, Iwasaki T, Yamawaki M, Mizusawa H: Anti-GM1 antibody activates NF- κ B and increase nitric oxide secretion in cultured endothelial cells forming blood-nerve barrier. *Ann Neurol* 50(suppl 1): S22, 2001.
- (4) Poduslo JF, Curran GL, Berg CT: Macromolecular permeability across the blood-nerve and blood-brain barriers. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 5705-5709, 1994.
- (5) Argall KG, Armati PJ, Pollard JD: A method for the isolation and culture of rat peripheral nerve vascular endothelial cells. *Mol Cell Neurosci* 5: 413-417, 1994.
- (6) Kanda T, Yamawaki M, Ariga T, Yu RK: Interleukin-1 β up-regulates the expression of sulfoglucuronosyl paragloboside, a ligand for L-selectin, in brain microvascular endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 7897-7901, 1995.

Miller-Fisher 症候群患者血清が神経筋伝達 に及ぼす作用の検討

分担研究者 松尾 秀徳
(国立療養所川棚病院神経内科)

研究要旨

急性期 MFS 患者血漿及び、免疫吸着療法を行って得られたカラムの洗浄液が神経筋伝達に及ぼす作用を検討した。また、抗 GQ1b 抗体が神経終末におけるアセチルコリン (ACh) 遊離に及ぼす作用を検討した。抗 GQ1b 抗体陽性例では、MEPP 出現頻度が著明に増加した。quantal content は変化しなかったが、神経終末に蓄えられている ACh の総量は経時的に減少する傾向を認めた。以上より、抗 GQ1b 抗体は神経筋伝達を阻害することが示唆された。また血漿とカラム洗浄液は類似した所見を呈し、吸着療法の論理的裏づけが得られた。

Miller-Fisher 症候群患者血清が神経筋伝達に及ぼす作用の検討

福留隆泰 松尾秀徳 後藤公文 神原千晶
泉本 一 澁谷統壽

目的

抗 GQ1b 抗体陽性の Miller-Fisher 症候群 (MFS) 患者血漿 (血清) は神経終末に作用してアセチルコリン (ACh) を放出させたり、quantal content (m) を減少させて神経筋伝達を阻害すると報告されている。マウスの横隔膜神経筋標本を用いた微小電極法による実験では、急性期の MFS 患者血清により MEPP の出現頻度が非可逆的に増加することや、 m が可逆的に減少することが知られている。本研究では、急性期の MFS 患者に免疫吸着療法を行って得られた吸着カラムの洗浄液を用いて微小電極記録を行い、神経筋伝達に及ぼす作用を検討した。また、神経終末における ACh 遊離阻害の機序についても検討した。

方法

3 例の MFS 急性期患者 (MFS1~MFS3) に対し旭メディカルの TR-350 カラムを用いて免疫吸着を行った後に Tyrode 液でカラムを洗浄し、カラム洗浄液を得た。

微小電極記録は、8 から 10 週齢の BKTO マウスの横隔膜神経筋標本を用いて MEPP と EPP を記録した。まず標本を酸素飽和した Tyrode 溶液で灌流してコントロール記録を行い、その後灌流液を MFS 患者血漿またはカラム洗浄液で置換して経時的に記録した。

40Hz Run-Down 法による EPP 記録により、ACh 遊離に関わるパラメーターとして n (神経終末に蓄えられている ACh quanta の総量) の経時的変化を検討した。

結果

MFS 1 (抗 GQ1b 抗体陰性、カラム洗浄液の IgG 濃度 = 858mg/dL) における MEPP 出現頻度の経時的変化 (患者血漿: 図 1、カラム洗浄液: 図 2): 血漿では置換後 180 分まで記録したが、コントロールで 21/分であった出現頻度が最高で 30/分 (約 1.5 倍) まで増加した。カラム洗浄液では置換後 120 分まで記録したが、コントロールで 25/分であった出現頻度が最高で 43/分 (約 1.7 倍) まで増加した。

MFS 2 (抗 GQ1b 抗体陽性、カラム洗浄液の IgG 濃度 = 475mg/dL) における MEPP 出現頻度の経時的変化 (患者血漿: 図 3、カラム洗浄液: 図 4): 血漿では置換後 1 時間まで記録したが、コントロールで 20/分であった出

現頻度が約 30 分で最高 50/分 (約 2.5 倍) まで増加した。カラム洗浄液では置換後 150 分まで記録したが、コントロールで 25/分であった出現頻度が約 30 分で最高 58/分 (約 2.3 倍) まで増加した。カラム洗浄液では、60 分以降に 1.5 倍以上の頻度増加を示す記録は得られなかった。

MFS 3 (抗 GQ1b 抗体陽性、カラム洗浄液の IgG 濃度 = 423mg/dL) における MEPP 出現頻度の経時的変化 (カラム洗浄液のみ: 図 5): 置換後 120 分まで記録したが、コントロールで 20/分であった出現頻度が約 30 分で最高 39/分 (約 2.0 倍) まで増加した。また、60 分以降に 1.5 倍以上の頻度増加を示す記録は得られなかった。

MFS 3 における quantal content (m) の経時的変化 (患者血漿: 図 6、カラム洗浄液: 図 7): 血漿では置換後 190 分までカラム洗浄液では置換後 180 分まで記録したが、 m は変化しなかった。

MFS 3 における n (神経終末に蓄えられている ACh quanta の総量) の経時的変化 (患者血漿: 図 8、カラム洗浄液: 図 9): 共に置換後 180 分まで記録したが、 n は経時的に漸減する傾向を認めた。

考案

MEPP 出現頻度は抗 GQ1b 抗体の有無に関わらず増加したが、抗 GQ1b 抗体陽性例で顕著であった。抗 GQ1b 抗体陽性例では置換後約 30 分以内で高頻度となる記録を認め、従来の報告に類似していた。

抗 GQ1b 抗体陽性例における quantal content (m) の経時的変化は、従来の報告と異なり減少を認めなかった。しかし、 n (神経終末に蓄えられている ACh quanta の総量) は経時的に減少する傾向を認め、長時間後に m が減少することが予想された。これは、抗 GQ1b 抗体が神経筋伝達を阻害する可能性を示唆した。

抗 GQ1b 抗体陽性例における MEPP 出現頻度、quantal content (m) および n (神経終末に蓄えられている ACh quanta の総量) の経時的変化は、患者血漿とカラム洗浄液で類似していた。このことは、抗 GQ1b 抗体が神経筋伝達に作用することを示唆した。

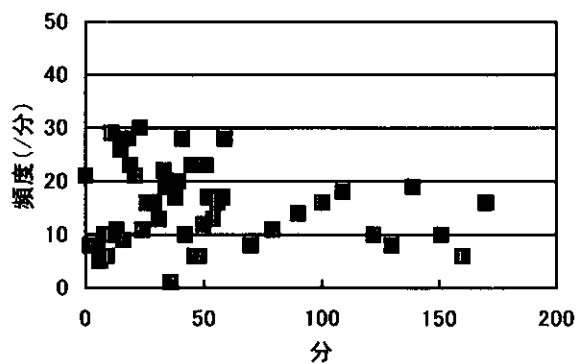


図 1.MFS1 血漿における MEPP 出現頻度の経時的変化

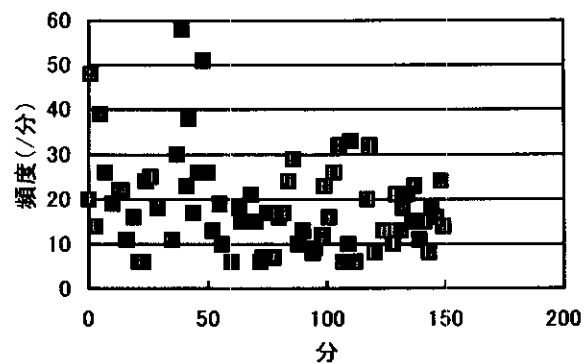


図 4.MFS2 カラム洗浄液における MEPP 出現頻度の経時的変化

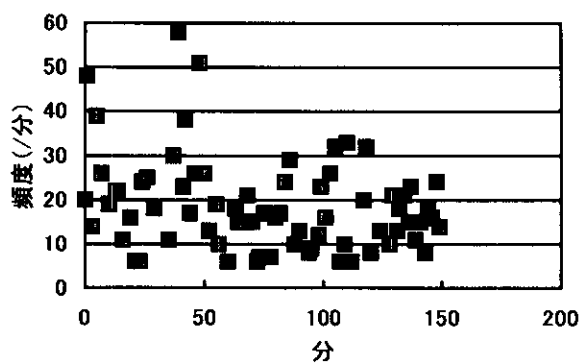


図 2.MFS1 カラム洗浄液における MEPP 出現頻度の経時的変化

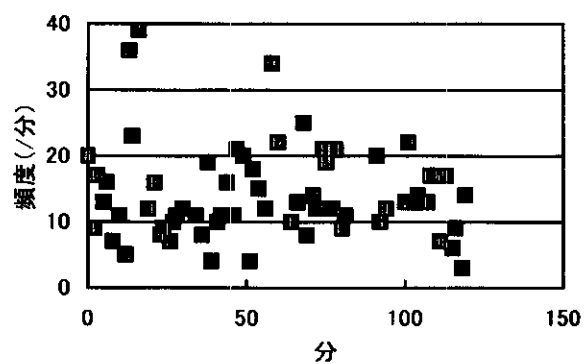


図 5.MFS3 カラム洗浄液における MEPP 出現頻度の経時的変化

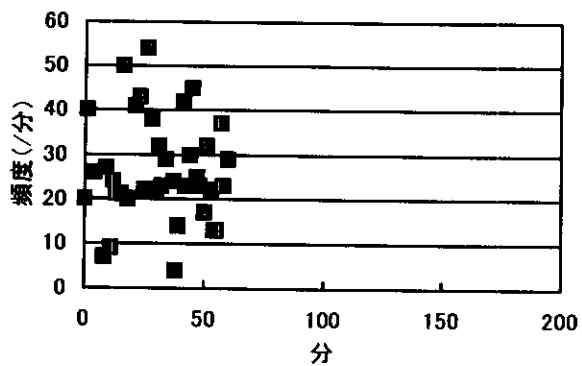


図 3.MFS2 血漿における MEPP 出現頻度の経時的変化

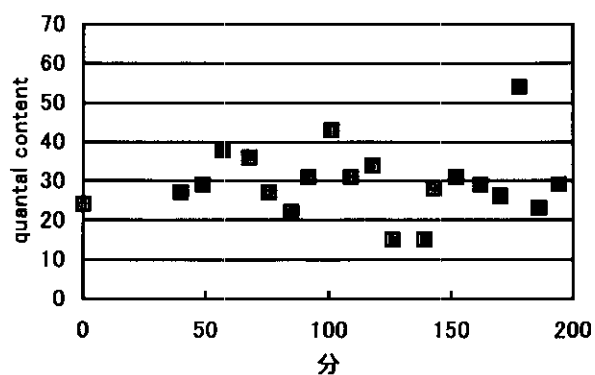


図 6.MFS3 血漿における quantal content (m) の経時的変化

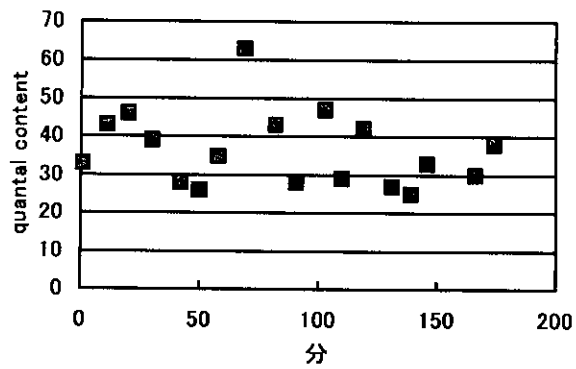


図7.MFS3 カラム洗浄液における quantal content (m) の経時的変化

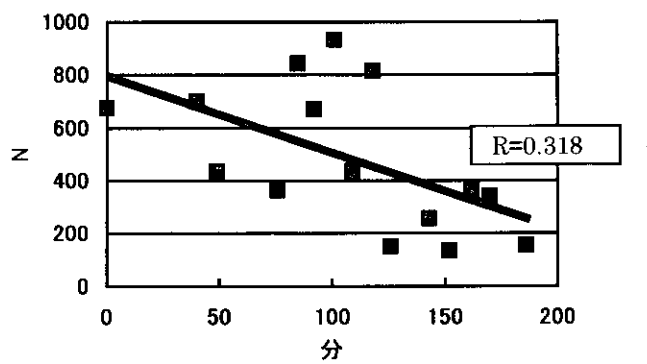


図8.MFS3 血漿における n (神経終末に蓄えられている ACh quanta の総量) の経時的変化

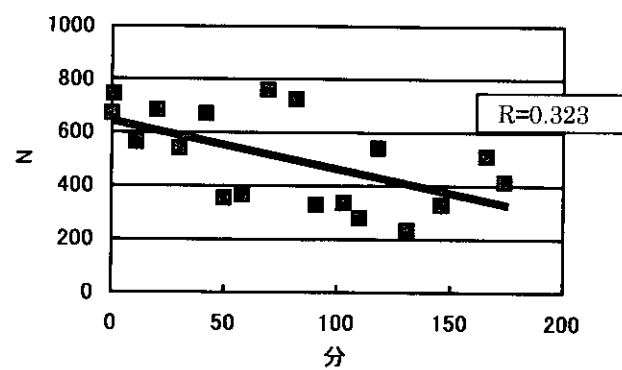


図9.MFS3 カラム洗浄液における n (神経終末に蓄えられている ACh quanta の総量) の経時的変化

軸索型 Guillain-Barré 症候群における伝導ブロック の病態機序：絞輪部 Na⁺チャンネル機能の検討

分担研究者 服部 孝道
(千葉大学医学部神経内)

研究要旨

軸索型 Guillain-Barré 症候群 (AMAN) においてしばしばみられる伝導ブロックの機序を検討するため、絞輪部 Na⁺チャンネルの機能を反映するとされる refractoriness (相対不応期における閾値電流の上昇) を AMAN 10 名、AIDP 8 名、正常対照 37 名、疾患対照 61 名の正中神経手関節部において測定した。AMAN 群のみで refractoriness は著明に増大していた。Refractoriness は経時的に減少し、複合筋活動電位の回復と有意に相関した。軸索の二重刺激において刺激間隔が短い場合 1 発目の刺激による脱分極により Na⁺チャンネルが一旦不活化されるために 2 発目の反応を誘発するためにより多くの電流を要することが refractoriness のメカニズムとされている。Refractoriness の上昇は AMAN に特異的な所見であり、その解釈として刺激部位 (手首) における Na⁺チャンネル機能異常と遠位部における伝導ブロックの二つの可能性が考えられた。AMAN では軸索変性に加えて Na⁺チャンネルの機能異常が存在し伝導ブロックを呈している可能性がある。

軸索型 Guillain-Barré 症候群における伝導ブロックの病態機序：

絞輪部 Na⁺チャネル機能の検討

服部孝道 桑原 聡 小河原一恵
森 雅裕 Sung Jia-Ying 金井 数明
Hugh Bostock*

目 的

Guillain-Barré 症候群 (GBS) は、病理学的・電気生理学的所見から脱髄型 (AIDP) と軸索型 (AMAN) に大別される。臨床において両者の分類は神経伝導検査所見に基づいており、脱髄域と定義される伝導遅延が 2 本以上の神経でみられれば AIDP、伝導遅延のない複合筋活動電位 (CMAP) 低下がみられれば AMAN と電気診断される¹⁾。AMAN 患者の約 70% ではすべての被検神経で単純な軸索変性 (遠位潜時が正常で CMAP 振幅が低下) を呈するが、20-30% の患者では一部の神経に遠位潜時が著明に延長していたり、遠位部刺激 CMAP 振幅が急速に増大する (伝導ブロックの解消) などの脱髄様の伝導異常が混在することが報告されている^{2) 3)}。その解釈として神経終末部に限局性の脱髄が存在する可能性、抗ガングリオシド抗体などの液性因子によって Na⁺チャネルなどが抑制されて伝導遅延や伝導ブロックが起こっている可能性などが指摘されている。特に抗ガングリオシド抗体が Na⁺コンダクタンスに影響するかについては、複数の動物実験で相反する結果が出されており結論が得られていない⁵⁾。1999 年英国の Bostock らにより開発された Mmultiple excitability measures と呼ばれる軸索機能検査法はヒトにおいて非侵襲的に Na⁺、K⁺イオン

のコンダクタンスや軸索特性を短時間で推定できる方法として注目されている⁶⁾。今回この手法を用いて AMAN と AIDP 患者における所見を比較検討した。

方 法

(1)対象：Hadden らの診断基準により診断された AMAN 患者 10 名、AIDP 患者 8 名を対象とした。正常対照 37 名、疾患対照として慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー 15 名、糖尿病性ニューロパチー 22 名、筋萎縮性側索硬化症 21 名において同様の検討を行った。

(2)方法 (multiple excitability measures)：正中神経を手関節部で刺激して短母指外転筋から CMAP を導出した。多項目軸索機能検査法 (QTRAC, Trondheim protocol, copyright ; Institute of Neurology, London) を用いて種々の条件刺激を加え、最大 CMAP の 40% の振幅を導出するのに必要な電流を追跡した (threshold tracking)。パラメーターとして以下の 3 項目を用いた。

(1)strength-duration time constant (安静時に開いている Na⁺コンダクタンスを反映)

(2)threshold electrotonus (fast および slow K⁺コンダクタンス、軸索抵抗、髄鞘抵抗に依存)

(3)二重刺激における refractoriness (相対不応期における閾値の増大; Na⁺チャネルの不活化からの回復の指標)、supernormality (軸索抵抗、髄鞘抵抗、fast K⁺コンダクタンスに依存)

千葉大学神経内科

*英国国立神経研究所

結 果

(1)AMAN: 10名中7名で refractoriness は正常平均値の3倍以上と著明に増大していた。この refractoriness 増大は AIDP においても、CIDP、DM、ALS においても認められず AMAN に特異的な所見と思われた。ただし不応期の延長は著明ではなかった。Strength-duration time constant, threshold electrotonus, supernormality, late subnormality は正常者と差を認めなかった。

(2)AIDP: Strength-duration time constant は、AMAN、正常者に対してやや延長していたが有意差はみられなかった。Threshold electrotonus, refractoriness、supernormality、late subnormality は正常者と比較して有意差はみられなかった。

(3)感覚神経: AMAN 患者7名で正中神経において感覚神経電位について同様の検討を行ったが、すべてのパラメーターにおいて正常対照群と有意差は認められなかった。

考 察

今回の検討では AMAN では二重刺激における refractoriness が著明に増大していること所見が認められた。軸索の二重刺激において刺激間隔が2-2.5ms と短い場合1発目の条件刺激による脱分極による Na⁺チャンネル不活化からの回復が不十分なために2発目の反応を誘発するためにより多くの電流を要することが refractoriness のメカニズムとされている⁷⁾。Refractoriness の上昇は AIDP、CIDP などの脱髄性ニューロパチーではみられなかった。また運動神経軸索の変性をきたす ALS や糖尿病性ニューロパチーでもみられず、単純な軸索変性の結果とも解釈できず、AMAN に特異的な現象であることが示された。この refractoriness 上昇の解釈として刺激部位(手首)における Na⁺チャンネル機能異常と刺激部位より遠位における試

験刺激の絶体不応期や伝導ブロックの二つの可能性がある。後者の場合も遠位部神経終末における Na⁺チャンネルの不活化で説明可能であると思われる。一方 AIDP において正中神経手首部の軸特性索特性にはほとんど変化が見られなかった。これは AIDP の初期病変は遠位部神経終末に局限していることを示唆する結果であると思われた。

結 論

AMAN の運動神経軸索では軸索変性に加えて Na⁺チャンネルの機能異常が存在する可能性が高い。軸索特性の変化は AIDP とは異なっており、両疾患の標的分子も異なるものと思われる。

文 献

- 1) Ho TW et al. Guillain-Barre syndrome in northern China. Relationship to Campylobacter jejuni infection and anti-glycolipid antibodies. Brain 1995;118:597.
- 2) Kuwabara S et al. IgG anti-GM1 antibody is associated with reversible conduction failure and axonal degeneration in Guillain-Barre syndrome. Ann Neurol 1998;44:202.
- 3) Ogawara K et al. Axonal Guillain-Barre syndrome. Relation to anti-ganglioside antibodies and Campylobacter jejuni infection in Japan. Ann Neurol 2000;48:624.
- 4) Takigawa T et al. Antibodies against GM1 ganglioside affects K and Na currents in isolated rat myelinated fibers. Ann Neurol 1995;37:436.
- 5) Bostock H et al. Threshold tracking technique in the study of human peripheral nerve. Muscle Nerve 1998;21:137.

慢性炎症性脱髄性多発根神経炎における monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)産生について－免疫組織化学染色を用いた検討－

分担研究者 郡山 達男
(広島大学医学部第三内科)

研究要旨

目的: CIDP における MCP-1 の病態への関与の有無と macrophage の末梢神経への動員における関与を明らかにする。

対象: CIDP 5 例と、同様の炎症性末梢神経障害として Churg-Strauss syndrome (CSS) 4 例とギラン・バレー症候群 (GBS) 3 例、非炎症性末梢神経障害を 7 例用いた。

方法: 生検腓腹神経を抗 MCP-1 抗体もしくは抗 CD68 抗体にて免疫染色を行い、神経束内の陽性細胞の数を計測し、半定量化して評価した。

結果: CIDP 患者においては全例 MCP-1 と CD68 とともに陽性であった。陽性細胞のほとんどが浸潤した macrophage であったが、一部シュワン細胞も染色された。CSS と GBS では陽性細胞のパターンが異なると思われた。結論: MCP-1 を介した macrophage の二面的役割が、CIDP の病態形成に関与している可能性がある。

慢性炎症性脱髄性多発根神経炎における monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) 産生について —免疫組織化学染色を用いた検討—

郡山 達男¹⁾ 越智 一秀¹⁾ 片山 禎夫¹⁾ 檜垣 雅裕¹⁾
松岡 直輝¹⁾ 池田 順子²⁾ 原田 暁²⁾ 中村 重信¹⁾

目 的

末梢神経障害患者に対して施行した腓腹神経生検においては、しばしばmacrophageの浸潤が認められる。慢性炎症性脱髄性多発根神経炎(CIDP)患者の末梢神経組織においてはmacrophageに関連した脱髄が脱髄型CIDPの特徴的な所見であることが知られている。免疫染色を用いた報告では、CIDPのonion bulbはシュワン細胞優位に構成され、一部活性化macrophageとfibroblastを含んでいるとされている¹⁾。

一方monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1)はCC subfamilyに属するchemokineのひとつであり、monocyte, memory T cell, basophil に特異的に結合し、これらの細胞の病変部位への遊走を促進する強力な遊走因子である。多発性硬化症²⁾やGuillain-Barré syndrome (GBS)やCIDPの動物モデルとされる実験的アレルギー性神経炎(EAN)のラットにおいて、病変形成に関与していると報告される一方、神経再生や再髄鞘化へ関与しているとの報告^{3,4)}も散見される。そこで、今回はCIDPにおけるMCP-1の病変部局所での産生を検討し、MCP-1の病態への関与の有無とmacrophageの末梢神経への動員における関与を明らかにするため、腓腹神経生検組織において免疫染色を用いて検討した。

対 象

診断目的で腓腹神経生検を行ったCIDP 5名と、同様の炎症性末梢神経障害としてChurg-Strauss syndrome (CSS/AGA) 4名とGBS 3名を対象とした。疾患対照として非炎症性の末梢神経障害7名を用いた。

方 法

生検組織は摘出後可及的早期に2.5%グルタルアルデヒド及び4%パラホルムアルデヒド固定の後、パラフィン包埋を行い、7µmの切片を作成した。染色は、脱パラフィン後500倍希釈したpolyclonal 抗ヒトMCP-1特異的ヤギ抗体(Santa Cruz Biotechnology Inc.)を一次抗体として用い、4℃一昼夜のincubationを行い、avidin-biotin-peroxidase法を用いdiaminobenzidine による発色を行った。顕微鏡下での観察にて、単位面積(各神経束)あたりのMCP-1陽性細胞の数を測定した。ま

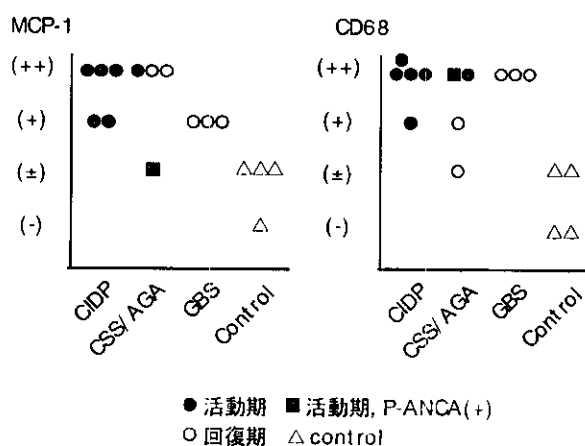


図1. 疾患別の陽性細胞数

た、末梢神経に浸潤したmacrophageのマーカーとして抗CD68抗体(3000倍希釈)を用いて、同様の方法で染色した。各抗体に対する陽性細胞数は半定量化を行い、疾患毎の特徴を評価した(陽性細胞数の評価: 0=(-), 0~5=(±), 5~10=(+), 10~=(++)).

結 果

CIDP患者(表1)では、5例全例が疾患活動期と思われる時期に腓腹神経生検が施行されていた。症例4を除いて、何らかの治療反応性を有していた。神経束内のMCP-1, CD68陽性細胞数はともに(+)以上であった。陽性細胞はほとんどが浸潤したmacrophageであり、一部シュワン細胞も陽性であった。

一方、Churg-Strauss Syndrome(表2)では、治療前の1例(症例3)はCIDPと同様に、MCP-1, CD68ともに強陽性であった。しかし、ステロイド治療後の2例(症例1,2)ではMCP-1は強陽性であったが、CD68陽性細胞は比較的少数であった。P-ANCA陽性の一例(症例4)は治療反応性が悪く免疫抑制剤も併用された経歴があり、MCP-1陽性細胞は少なかったが、CD68陽性細胞を多数認めた。

GBS(表3)では、症例1,2は回復期で血液浄化療法後、症例3は活動期で未治療であったが、いずれも、MCP-1, CD68ともに陽性であり、CD68の方が優位であった。IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS)を伴っていた一例では他の2例よりCD68陽性細胞の数が多かった。

1) 広島大学医学部第三内科

2) 県立広島病院神経内科

表1. CIDP

No.	年齢	性別	Hughes Grade	免疫抑制療法	罹病期間 (月)	病期	髄液蛋白 (mg/dl)	免疫抑制治療反応性			MCP-1	CD68
								IVIg	steroid	other:		
1	50	女	1	なし	1.5	活動期	97	(+)	(+)	IAT(+)	7.0 (+)	10.5 (++)
2	46	女	1	IVIg(2M前)	39	活動期	89	(±)	(+)	IAT(+)	8.0 (+)	20.4 (++)
3	29	女	2	なし	2	活動期	52	n.a.	(+)	n.a.	12.1 (++)	16.1 (++)
4	18	男	3	なし	7	活動期	332	(-)	(-)	IAT(-)	16.6 (++)	19.8 (++)
5	40	男	1	IVIg(1M前)	2.5	活動期	70	(+)	(+)	IAT(+)	18.7 (++)	7.6 (+)

n.a.: not administrated. IAT: immunoabsorbance therapy

表2. Churg-Strauss Syndrome

No.	年齢	性別	Hughes Grade	免疫抑制療法	罹病期間 (月)	病期	免疫抑制治療反応性	MCP-1	CD68	備考
1	58	女	1	ハルス2日目	0.5	回復期	(+)	13.1 (++)	3.5 (±)	
2	57	男	2	PSL(30mg)	1	回復期	(+)	10.8 (++)	6.2 (+)	
3	43	女	4	なし	0	活動期	(+)	23.5 (++)	24.4 (++)	
4	78	女	4	PSL(5mg)	2	活動期	(-)	0.2 (±)	27.3 (++)	P-ANCA(+), 難治性

表3. Guillain-Barré Syndrome

No.	年齢	性別	Hughes Grade	免疫抑制療法	罹病期間 (月)	病期	MCP-1	CD68	備考
1	76	男	5	血液浄化(2.5M前)	3.5	回復期	6.6 (+)	10.1 (++)	
2	71	男	5	血液浄化(1.5M前)	1.5	回復期	6.9 (+)	20.0 (++)	IgM MGUS合併
3	35	男	5	なし	1	活動期	6.5 (+)	11.0 (++)	GBS variant

それに対して、非炎症性神経疾患では全例においてMCP-1, CD68ともに(+)以上の患者は存在しなかった。(図1)

考 察

今回の検討において、対象とした3つの炎症性末梢神経疾患のいずれにおいても、MCP-1陽性細胞とCD68陽性細胞が同時に神経内膜下へみられた。これは、炎症性の末梢神経障害にmacrophageが重要な役割を果たしていることを示唆する所見と考える。とくにCIDP患者においては全例MCP-1, CD68ともに陽性であった。CIDP患者におけるMCP-1の関与についてはあまり多くの報告はない。EANラットでは病変形成に関与し、抗MCP-1抗体の投与によって一部のEANラットの発症時期を遅延させることが可能であったとの報告⁶⁾がある一方、MCP-1はシュワン細胞で産生されて、神経細胞の保護に関与しているとの報告⁹⁾もある。CIDP患者ではIVIg投与によっても血清MCP-1は一過性に上昇する³⁾。CIDPでは、慢性的炎症性脱髄と再生が繰り返して生じており、macrophageは炎症性末梢神経疾患において、神経組織を傷害する役割と、炎症を終結させることで修復を促進するという二つの役割を担う⁸⁾とされていることから、MCP-1を介したmacrophageの二面的役割が、CIDPの病態形成に関与

している可能性があるとおもわれた。今回の検討ではCIDP患者の末梢神経に見られたCD68陽性macrophageに対するMCP-1の直接の役割は明らかではないが、一部のシュワン細胞でも陽性であったことから、慢性的な炎症性脱髄もしくは髄鞘再生に関連している可能性が考えられた。

今回の検討ではすべての疾患で疾患活動性が均一でないため、単純に比較することはできないが、CIDP, CSS/AGA, GBSではMCP-1陽性細胞とCD68陽性細胞の出現パターンに疾患による違いがあることが示唆された。すなわち、CIDPやCSS/AGAのように、慢性的経過をとる炎症性末梢神経疾患においては、急性期にはCD68陽性のmacrophageが神経束内に浸潤し、その細胞が高度にMCP-1を発現している。それに対して、急性の経過をとり単相性に推移するGBSにおいてはCD68陽性細胞が非常に強く神経束内に浸潤するものの、MCP-1の発現については比較的多くはないというパターンが推察され、さらなる検討が必要である。

ステロイド治療後で反応性の良好であったCSS/AGAの2例では、治療前の1例と比べてCD68陽性細胞は比較的少数であったもののMCP-1陽性細胞は残存していた。よって、これらのパターンは治療や臨床経過によって変動し、MCP-1が神経修復過程にも影響する可能性があると考えた。

今後はその他のケモカインやケモカインレセプター

などもCIDP患者において検討し、MCP-1の末梢神経への作用を明らかにするべきで必要があるものと思われる。

結 論

CIDPをはじめとする炎症性末梢神経障害では、末梢神経のシュワン細胞、浸潤したmacrophageなどからのMCP-1の産生と、CD68陽性macrophageの浸潤が同時に生じていた。特にCIDPにおいては、MCP-1を介したmacrophageの二面的役割がCIDPの病態に関与していることが推察された。また、MCP-1の産生やmacrophageの浸潤パターンは疾患によって異なり、治療や臨床経過によって変動する可能性が示された。

文 献

- 1) Chou SM: Immunohistochemical and ultrastructural classification of peripheral neuropathies with onion-bulbs. *Clin Neuropathol* 11:109-14, 1992.
- 2) Simpson J. et al: Expression of the beta-chemokine receptors CCR2, CCR3 and CCR5 in multiple sclerosis central nervous system tissue. *J Neuroimmunol.* 108:192-200, 2000.
- 3) 越智一秀他: 慢性炎症性脱髄性多発根神経炎に対する免疫グロブリン大量療法における血清中M-CSF, MCP-1の検討. *Neuroimmunology* 9: 146-147, 2001
- 4) Taskinen HS. et al.: Increased expression of chemokines (MCP-1, MIP-1alpha, RANTES) after peripheral nerve transection. *J Peripher Nerv Syst.* 5:75-81, 2000.
- 5) Polydefkis MJ, et al.: Rat Schwann cells upregulate MCP-1 synthesis in response to TNF α and IFN γ . *Neurology* 50, A184, 1998. Abstract.
- 6) Kiefer R et al. The role of macrophages in immune-mediated damage to the peripheral nervous system. *Prog Neurobiol* 64:109-27, 2001
- 7) Zou LP. et al.: Dynamics of production of MIP-1alpha, MCP-1 and MIP-2 and potential role of neutralization of these chemokines in the regulation of immune responses during experimental autoimmune neuritis in Lewis rats. *J Neuroimmunol.* 98:168-75,1999.

慢性炎症性脱髄性多発根神経炎に対する免疫グロブリン大量療法
に伴う Th1 と Th2 サイトカインの変動

分担研究者 郡山 達男
(広島大学医学部第三内科)

研究要旨

目的：慢性炎症性脱髄性多発根神経炎（CIIP）に対する免疫グロブリン（IVIg）の作用機序を解明する目的で、IVIg 療法前後において、Th1 と Th2 サイトカインの血中動態について検討した。

方法：対象は CIDP 患者 19 名に施行した計 36 回の IVIg において、Th1 サイトカインとして TNF- α と IFN- γ 、Th2 サイトカインとして IL-4 の血清濃度を ELISA 法で測定した。

結果：治療前に血清 TNF- α 濃度が高値の一群のほかに、血清 IL-4 濃度が高値の一群を認めた。血清 IL-4 濃度は、血清 TNF- α 濃度や血清 IFN- γ 濃度とは異なり、IVIg 第 1 日目投与直後に低下する傾向を認めた。

結論：CIDP において Th1 系の優位な一群のほかに、Th2 系が優位な一群が存在する可能性を示した。IVIg の作用機序に Th1 と Th2 の双方に対する免疫調節が関与している可能性を示した。

慢性炎症性脱髄性多発根神経炎に対する免疫グロブリン 大量療法に伴う Th1 と Th2 サイトカインの変動

郡山 達男¹⁾ 檜垣 雅裕¹⁾ 越智 一秀¹⁾ 松岡 直輝¹⁾
池田 順子²⁾ 原田 暁²⁾ 中村 重信¹⁾

背景

慢性炎症性脱髄性多発根神経炎(CIDP)に対し免疫グロブリン大量療法(IVIg)が広く臨床応用されているが、その作用機序は未だ明らかではない。最近、CIDPの発症機序に Th1 系サイトカイン関与が指摘されている¹⁾。昨年、我々は CIDP に対する IVIg において、Th1 系サイトカインの TNF- α の血清濃度が一過性に上昇し、IVIg 有効例で顕著であることを示した。

目的

CIDP に対する IVIg の作用機序を解明する目的で、IVIg 投与前後において、Th1 系と Th2 系のサイトカインの血中動態について検討した。

対象

CIDP の患者 19 名 (Multifocal Motor Neuropathy の患者 2 例と Crow-Fukase 症候群の患者 2 例を含む) に対し 1999 年 12 月から 2001 年 8 月の間に行った IVIg の計 36 回を対象とした。

方法

IVIg は γ -グロブリン 0.4g/kg を 5 日間点滴投与

した。第 1 日目投与前、第 1 日目投与終了直後、第 2 日目投与開始直前、第 5 日目投与終了直後そして投与開始後 7 日目に採血し、Th1 系のサイトカインとして interferon gamma (IFN- γ) と tumor necrosis factor alpha (TNF- α)、そして Th2 系のサイトカインとして interleukin 4 (IL-4) の血清濃度を測定した。対照には、年齢を一致させた健常者 8 名の血清を用いた。検体は採血後、血清分離し -80°C にて凍結保存したものを用いた。TNF- α 、IFN- γ と IL-4 の測定は ELISA 法 (R&D systems Inc., Minneapolis, MN, USA) を用いた。

患者の臨床的特徴

患者の年齢は 18 歳から 81 歳 (平均 53.1 歳) であり、罹病期間は 1 カ月から 168 カ月 (平均 58.8 カ月) であった。IVIg 投与前の重症度は Hughes grade で grade 1 が 11 例 (32.4%)、grade 2 が 8 例 (23.5%)、grade 3 が 10 例 (29.4%)、grade 4 が 2 例そして grade 5 が 3 例であった。

結果

治療前の血清 TNF- α 濃度は平均値が 4.50pg/ml で、IFN- γ が 8.72pg/ml そして IL-4 が 0.09pg/ml であった。正常対照における TNF- α 、IFN- γ と IL-4 の血清濃度の mean \pm S.D. はそれぞれ 0.06 \pm

0.18pg/ml, 6.94 ± 10.19 pg/ml, 0.06 ± 0.01 pg/ml であった。カットオフ値を正常対照の mean+3S.D.として投与前の血清濃度について検討したところ、TNF- α は8例(23.5%)で高値、血清 IL-4 濃度は8例(23.5%)で高値であったが、血清 IFN- γ 濃度は2例(5.8%)で高値であった(表 1)。投与時の濃度に希釈した γ -グロブリン製剤中のサイトカイン濃度について測定した結果、TNF- α 濃度は全て測定限界以下であり、IFN- γ 濃度の平均値は7.90pg/ml、IL-4濃度の平均値は0.06pg/mlであった。

血清 IL-4 濃度の変動は、昨年報告した血清 IFN- γ 濃度や血清 TNF- α 濃度の変動とは異なり、1日目投与終了直後に低下する一群を認めた。(図 1,2,3)

IVIg 投与前に血清 IL-4 濃度が高値であり、血清 TNF- α 濃度が低値の群では、1日目投与終了に血清 TNF- α 濃度が有意に高値であった ($p=0.043$ Wilcoxon)。(図 4)

表 1 IVIg 投与前のサイトカインレベル

	IL-4 高値 (8例)	IL-4 低値 (28例)
TNF- α 高値 (8例)	0例 (0%)	8例 (23.5%)
TNF- α 低値 (28例)	8例 (23.5%)	20例 (57%)

Cutt off 値は normal control の mean+3 S.D.

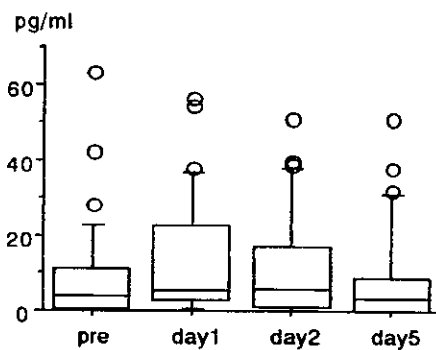


図 1 血清 IFN- γ 濃度の変動

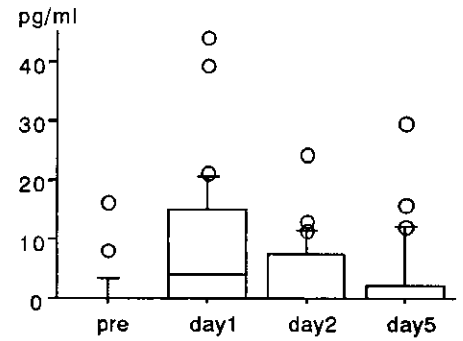


図 2 血清 TNF- α 濃度の変動

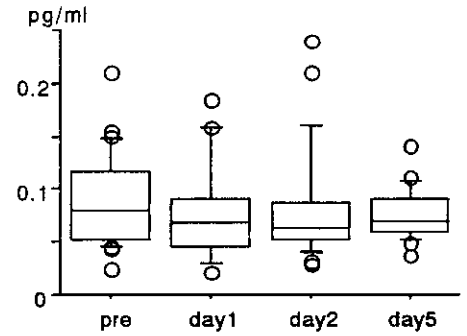


図 3 血清 IL-4 濃度の変動

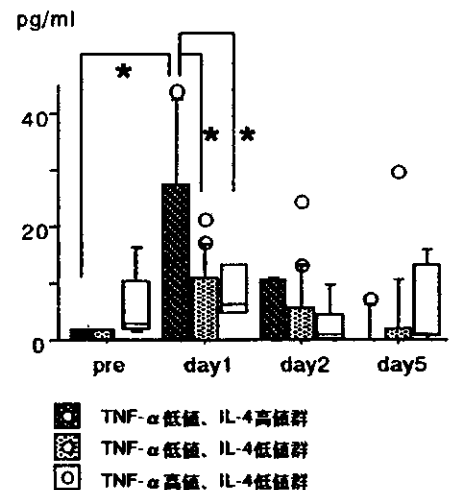


図 4 血清 TNF- α 濃度の変動

* $p < 0.05$

考 察

今回の検討で、CIDPにおいて治療前に血清 TNF- α 濃度が高値の一群だけでなく、血清 IL-4 濃度の治療前値が高い一群も存在する事を示した。TNF- α は Th1 系のサイトカインであり、血清 TNF- α 濃度が高値の一群の存在は、CIDP の病態に Th1 系が関与している事を示すと考えられる。一方、IL-4 は Th2 系のサイトカインであり、IL-4 が高値の一群の存在は CIDP において Th1 系の優位な一群以外に、Th2 系の優位な一群が存在する可能性があると考えられる。近年、flow cytometry による Th1/Th2 balance の検討で CIDP 患者では IL-4⁺/IFN- γ ⁺ cell の割合が正常対照より有意に高値であるという報告⁹⁾もある。

IVIg により血清 IL-4 濃度が 1 日目投与終了直後に低下する一群を認めたことから、IVIg により Th2 系が抑制されている可能性があると考えた。また、IVIg 投与前の血清 IL-4 濃度が高値であった症例は、1 日目投与終了直後に血清 TNF- α 濃度が有意に高値であった。さらに昨年われわれは治療有効性の CIDP 患者に対する IVIg において一過性に Th1 系が誘導されたのち抑制される可能性がある¹⁰⁾ことを示した。以上から IVIg により投与初期には Th1 系に対する一過性の誘導と抑制だけでなく、Th2 系の抑制も生じていると考えられる。このことから、CIDP に対する IVIg の作用機序において Th1 系と Th2 系の双方に対する免疫調節の関与が示唆された。

結 論

CIDP に対する IVIg の作用機序に Th1 系と Th2 系の双方が関与している可能性がある。

文 献

- 1) Mathey E. K et al. : TNF α , IFN γ and IL-2 mRNA expression in CIDP sural nerve biopsies. *J Neurol Sci* ; 163 : 47-52, 1999.
- 2) Van Rhijn I et al. : Expression of accessory molecules for T-cell activation in peripheral nerve of patients with CIDP and vasculitic neuropathy. *Brain* ; 123 : 2020-2029, 2000.
- 3) Horiuchi I et al. : Heightened IgE response to mite antigens in inflammatory neuropathies. *J Neurol Sci* ; 166(2) : 77-80, 1999.
- 4) Horiuchi I et al. : Th2 shift in mononeuritis multiplex and increase of Th2 cells in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy : an intracellular cytokine analysis. *J Neurol Sci* ; 193(1) : 49-52, 2001.
- 5) 檜垣雅裕他 : 慢性炎症性脱髄性多発根神経炎に対する免疫グロブリン大量療法によるサイトカインの動態. *Neuroimmunology* 9 : 144-145, 2001.
- 6) 越智一秀他 : 慢性炎症性脱髄性多発根神経炎に対する免疫グロブリン大量療法における血清中 M-CSF, MCP-1 の検討. *Neuroimmunology* 9 : 146-147, 2001.

CIDP 患者における筋疲労現象の新しい機序について H1 型動的伝導ブロック

分担研究者 梶 龍兒
(徳島大学医学部神経内科)

研究要旨

我々は多巣性運動ニューロパチー(MMN)において、筋疲労現象が見られること、またそれが軸索膜の過分極によることを示した。この現象は10-30秒の最大随意収縮でみられ、CIDPでも見られることが報告されており、Na-Kポンプの活性化が原因とされている(H2型)動的伝導ブロック(activity-dependent conduction block)による。今回われわれはこれとは異なり、slow Kチャネルの活性化でおこる筋疲労現象をはじめて明らかにした(H1型)。また、MMNで見られる運動神経に選択的な伝導ブロックの機序に関しても考察を加えた。

CIDP 患者における筋疲労現象の新しい機序について -H1 型動的伝導ブロック-

梶 龍児¹⁾ 田中久貴²⁾ 幸原伸夫²⁾ 阿部剛典²⁾ 柴崎浩²⁾ Hugh Bostock³⁾

目的

我々は多発性運動ニューロパチー(MMN)において、筋疲労現象が見られること、またそれが軸索膜の過分極によることを示した。この現象は10-30秒の最大随意収縮で見られ、CIDP でも見られることが報告されており、Na-K ポンプの活性化が原因とされている(H1型)動的伝導ブロック(activity-dependent conduction block)による。今回われわれはこれとは異なり、slow K チャネルの活性化でおこる筋疲労現象をはじめて明らかにした(H2型)。また、MMNで見られる運動神経に選択的な伝導ブロックの機序についても考察を加えた。

方法

CIDP 患者 8 名(23-77 歳)と正常者 12 名(23-71 歳)、および ALS 患者 10 名(35-65 歳)を対象として、以下の試験を行った。刺激は尺骨神経手首でおこない記録は第一背側骨間筋から得た。

1. 筋疲労テスト
2. 反復刺激テスト
3. 最大随意収縮による閾値変化
4. 2 発最大上刺激テスト
5. Subnormality test

結果

1. 筋疲労テスト

CIDP 患者において随意収縮直後からはじまる有意な筋疲労現象を認めた。

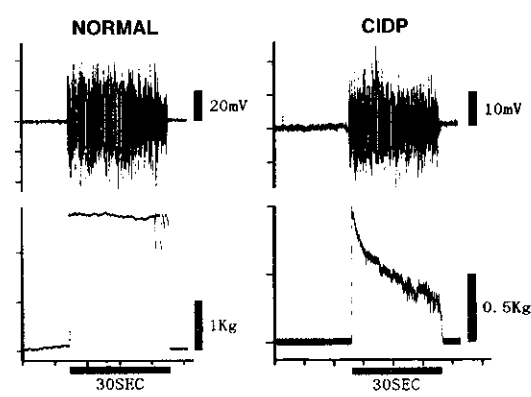


図 1

2. 反復刺激テスト

3Hz では ALS 群のみで有意な減衰がみられ、20Hz では CIDP 群のみが減衰した。

3. 最大随意収縮による閾値変化

30 秒の最大随意収縮で約 1.2-1.3 倍の閾値の上昇がみられたが、CIDP と正常群で有意差は見られなかった。

4. 2 発最大上刺激テスト

刺激間隔が 20-100msec の間で正常者に較べて CIDP では有意に CMAP 振幅が低下していた。

5. Subnormality test では正常に較べて CIDP では 20msec の刺激間隔で閾値の上昇が見られた。

¹⁾ 徳島大学 神経内科

²⁾ 京都大学神経内科

³⁾ Institute of Neurology, Queen Square, London

考 察

これらより、筋疲労と反復刺激テスト 20Hz での減衰は slow K チャネルによる subnormality による動的伝導ブロック(H1)が原因と考えられた。

手首からの刺激であるため、見られたブロックは伝導の安全因子が最も障害されやすい神経終末部の heminode で生じている可能性が高い。H1型動的伝導ブロックが原因であるならば、神経終末部のみならずより中枢での脱髄部での heminode でも同様の現象がおこることが期待されるため、わずかな数発のインパルスでもブロックがおこることが考えられ、臨床症状とくに脱力に寄与する可能性が H2 型よりも大である。H1 や H2 型の動的伝導ブロックは軸索膜の過分極が原因であり、元来知覚神経では非不活化 Na チャネルが多く、Inward Rectifier に富むため過分極がおこりにくい。したがって知覚神経で伝導ブロックがおこりにくい現象は、運動神経の物理化学的性状で説明できる。

文 献

1. Kaji R, Bostock H, Kohara N, Murase N, Kimura J, Shibasaki H. Activity-dependent conduction block in multifocal motor neuropathy. *Brain* 2000;123(Pt 8):1602-1611.
2. Kiernan F, Guglielmi J-M, Kaji R, Murray N, Bostock H. Evidence for axonal membrane hyperpolarization in multifocal motor neuropathy with conduction block. *Brain* 2002; in press.

MAG 関連ニューロパチーにおける臨床経過と 抗 MAG 抗体価の変動

分担研究者 齋藤 豊和
(北里大学東病院神経内科)

研究要旨

MAG 関連ニューロパチーの長期経過を追えた 7 症例について血清抗 MAG 抗体価および血清 IgM 値を測定し、抗体価の変動と臨床経過の関連について検討した。抗 MAG 抗体価と IgM 値は経時的にはほぼ同様に変動したが、終始異常高値であり、これらの変動は臨床症状とは相関しなかった。MAG 関連ニューロパチーにおいて抗 MAG 抗体は、発症にはある一定の閾値を越えることが必要であるが、発症したあとは抗体価の増減は症状の変動を反映しないと思われた。抗 MAG 抗体の測定は、確定診断には有用なものであるが、予後の経過の指標としては必ずしも有用でないことが示唆された。また、臨床症状の改善がみられた症例を多数解析すれば、抗 MAG 抗体価と臨床経過が相関する症例が増える可能性があるが、その場合でも抗 MAG 抗体価の測定より検査が簡単な IgM 値の測定を行うことで代用できる可能性がある。