

られているが、この2つのアイソフォームは VLA-4 との結合能に差があり 7D がより強い結合能があると報告されている。

そこで今回は VLA-4 の cleavage についてさらなる解析を加えるとともに、この分子の主要な ligand の1つである VCAM-1 についても分子病理学的検討を行った。

### 研究方法

HAM 患者 9 名及び無症候性 HTLV-I carrier 9 名の末梢血を採血後速やかに PBMC に分離し、スメア標本としたのちアセトン固定し、VLA-4  $\alpha$  鎖の N 末端側を標的とする抗体と C 末端側を標的とする抗体を用いた免疫染色を行い、VLA-4 のタンパク質レベルでの発現パターン (cleavage の有無、程度) について検討した。各染色標本にて PBMC を 1000 個ずつ count し、各々の染色で陰性 (N-, C-)、陽性 (N+, C+)、強陽性 (N++, C++) に分類し統計学的解析を行った。

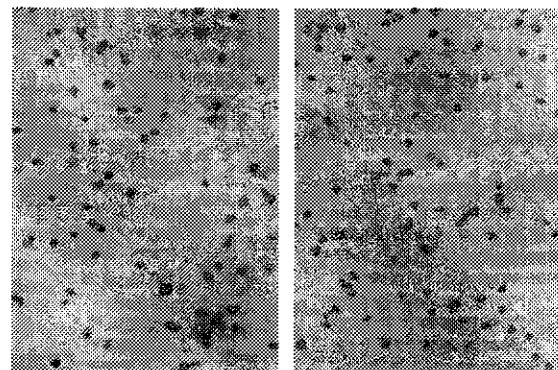
また、剖検後速やかに凍結切片とし液体窒素にて保存していた脊髄病変のない 3 症例の胸髄を前索・側索・後索・中央部に分け各々より m-RNA を抽出し、c-DNA を作成後 RT-PCR を行い各部位別の RNA レベルでの VCAM-1 発現パターン (6D と 7D の splicing variant の発現パターン) についても検討した。また、同時に  $\beta$ -actin の RT-PCR も行い m-RNA の抽出及び c-DNA 作成の陽性コントロールとした。

### 研究結果

PBMC スメア標本において、N末端側を標的とする抗体を用いた免疫染色では HAM 患者及び無症候性 HTLV-I carrier の間で陽性細胞数の有意差は認められず (Fig 1a, 表 1)、C 末端側を標的とする抗体でも同様の結果であった (Fig 1b, 表 1)。

RT-PCR を用いた脊髄の各部位別の VCAM-1 RNA 発現パターン解析では、一例で側索における VCAM-1 RNA の発現亢進が認められた (Fig 2, patient 1)。また別の一例で側索における 7 Domain splicing variant が前索や後索などと比較して多く発現しており発現パターンに差が認められた。(Fig 2, patient 2)

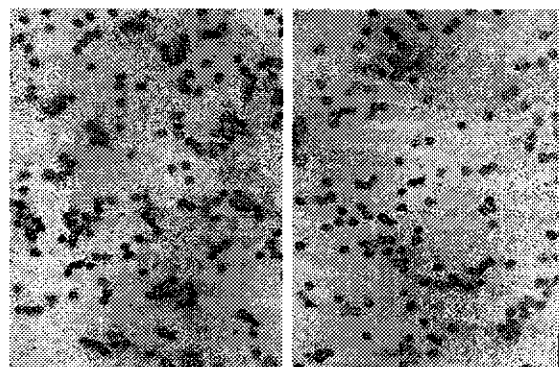
Fig1a. VLA-4免疫染色 (N末)



HAM

Carrier

Fig1b. VLA-4免疫染色 (C末)



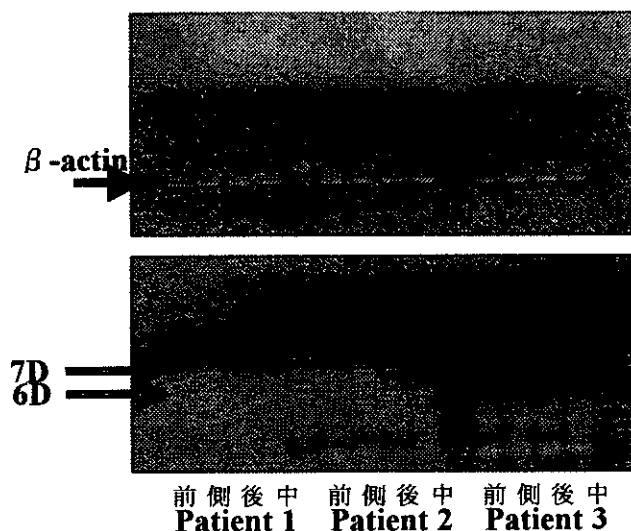
HAM

Carrier

表1. 免疫染色まとめ

	N- (%)	N+ (%)	N++ (%)	C- (%)	C+ (%)	C++ (%)
HAM1	48.3	44.9	6.8	43.6	47.3	9.1
HAM2	27.3	55.3	17.4	33	57.1	9.9
HAM3	32.1	44.1	23.8	41.9	49.5	8.6
HAM4	39.3	48.3	12.4	53.8	35.3	10.9
HAM5	27.3	64	8.7	25.4	62.7	11.9
HAM6	44.6	47.3	8.1	55	33.9	11.1
HAM7	36.2	53.5	10.3	43.9	50	6.1
HAM8	31.7	64.3	4	43.4	48.8	7.8
HAM9	40.5	51.8	7.7	53.2	42.7	4.1
平均値	36.4	52.6	11	43.7	47.4	8.8
標準偏差	±7.4SD	±7.5SD	±6.1SD	±9.8SD	±9.3SD	±2.5SD
carrier1	19.5	64.3	16.2	61.8	29.7	8.5
carrier2	20.1	58.7	21.2	49.7	37.1	13.2
carrier3	31.6	55.1	13.3	67.8	25.7	6.5
carrier4	30.8	53.3	15.9	42.5	46.9	10.6
carrier5	30	54.2	15.8	61.2	27.3	11.5
carrier6	51.3	46.1	2.6	47.6	46.7	5.7
carrier7	46.2	51	2.8	39.6	55.4	5
carrier8	65	31.3	3.7	50	45.9	4.1
carrier9	59.1	38.2	2.7	51.5	46.1	2.4
平均値	39.3	50.2	10.5	52.4	40.1	7.5
標準偏差	±16.6SD	±10.2SD	±7.4SD	±9.4SD	±10.5SD	±3.7SD

Fig. 2 RT-PCR of VCAM-1 and  $\beta$ -actin



### 考察

前回の解析では、PBMC より抽出したタンパク質を用いた Western blot では HAM 患者の VLA-4 は無症候性 HTLV-I carrier のそれに比較して cleavage が亢進していた。しかしながら、今回の検討では cleavage を受けた

と思われる細胞数に有意な差がなく、この結果は cleavage を受けた細胞数の変化ではなく各々の細胞における cleavage を受ける VLA-4 の程度の差であることを示唆しているものと思われる。今後はフローサイトメトリーや抗 HTLV-I 抗体を用いた二重染色などを用い特に HTLV-I 感染細胞における VLA-4 発現パターンの検討が必要であると思われる。また VCAM-1 RNA 発現パターン解析より、HAM の脊髄病変の局在に VCAM-1 アイソフォームの発現パターンの差が関与している可能性が示唆された。しかしながら全例で差を認めたわけではなく、その理由としては剖検検体であるため検体の状態が未知数なことや RT-PCR という定量性に乏しい実験系であるためと考えられる。今後は症例数を増やしたり定量性を上げるなどしてさらなる検討を進める必要があると思われる。

### 結論

HAM 患者の PBMC では各細胞における cleavage を受ける VLA-4 の程度が亢進していると考えられた。また HAM の脊髄病変の局在に VCAM-1 の発現パターンの差が関与している可能性が示唆された。

### 健康危険情報

なし

### 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

# アトピー素因を伴う神経疾患 —アトピー性脊髄炎から若年性上肢遠位筋萎縮症まで—

分担研究者 吉良潤一<sup>1)</sup>

共同研究者 越智博文<sup>1)</sup>、小副川学<sup>1)</sup>、梅風君<sup>1)</sup>、徳永秀明<sup>1)</sup>

## 研究要旨

アトピー性脊髄炎は頸髄病変が多く、持続する四肢の異常感覚を主徴とし、高頻度に潜在性末梢神経傷害を合併することが明らかとなった。また、若年性上肢遠位筋萎縮症でも、気道アレルギーやアトピー性疾患の家族歴が有意に高率で、Th2 サイトカインやアレルギー機序による血小板の活性化が病態に関与している可能性が示唆された。

## 研究目的

我々はアトピー性皮膚炎 (atopic dermatitis: AD) が先行し、後に脊髄炎を発症する病態の存在を指摘し、アトピー性脊髄炎 (atopic myelitis: AM) という新たな疾患単位を提唱している<sup>1)2)</sup>。そこで昨年度行った全国調査結果を踏まえて、本疾患の臨床像、検査成績の特徴を明らかにすることを第一の目的とした。また我々は、若年者に発症した上肢遠位筋萎縮症に高率にアトピー素因が見られることを報告した<sup>4)</sup>。そこで若年性上肢遠位筋萎縮症 (Juvenile muscular atrophy of distal upper extremity; JMADUE) 発症における、免疫アレルギー学的機序の関与を明らかにすることを第二の目的とした。

## 研究方法

### 1) アトピー性脊髄炎の集積

AM を、他の疾患が除外できる原因不明の脊髄炎で、(1)アトピー性疾患の合併、(2)高 IgE 血症またはアレルギー特異的 IgE が陽性的ものとし、更に脊髄 MRI、運動誘発電位や体性感覚誘発電位、もしくは神経学的所見 (腱反射亢進やレベルのある感覚障害) により脊髄病変部位が特定できるものみの集積を行った。

### 2) アトピー性脊髄炎の病像、臨床検査成績

上記の診断基準に合致する全国調査例 30 例と、九大例 49 例を対象に、その臨床像、検査成績を検討した。また潜在性末梢神経障害の合併を検討する目的で、九大例 21 例について末梢伝導速度検査を施行し多発

性硬化症 (multiple sclerosis: MS) 28 例と比較した。

さらに九大例 20 例に針筋電図検査を施行した。

### 3) 若年性上肢遠位筋萎縮症における臨床・免疫アレルギー学的検討

臨床的に JMADUE を呈した自験連続 11 例を対象に、頸椎前屈位 MRI にて下部頸髄の扁平化と後方硬膜外腔の拡大の有無を検討した。また全例にアレルギー問診を行い、血清全 IgE 値とアレルギー特異的 IgE を測定した。さらに血小板低親和性 IgE 受容体 (CD23) 発現量と末梢血リンパ球 Th1/Th2 バランスをフローサイトメトリー法にて測定し、健常対照と比較した。

## 研究結果

### 1) アトピー性脊髄炎の臨床像

全国調査例 30 例と九大例 49 例を比較すると、前者では脊髄 MRI で病変を認め (80% vs. 44.9%,  $p=0.0045$ )、髄液細胞数の増加を認める症例が多い点を除けば (40.7% vs. 11.1%,  $p=0.0297$ )、両群で臨床像、検査成績に差を認めなかった。性差は 1 : 0.65 とやや男性に多く、平均発症年齢は  $35.8 \pm 13.6$  歳。73.4% にアトピー性疾患の合併を認めたが、アトピー性皮膚炎が最も多かった (41.8%)。初発症状 (74.5%)、その後の臨床症状 (83.5%) とともに四肢の異常感覚を主徴とする症例が大部分で、高度の脱力を呈する症例は稀であった (5.2%)。臨床症候からみた病変は頸髄が最も高率であった (75.9%)。

### 2) アトピー性脊髄炎の検査所見

58.2% の症例で MRI 上病巣を確認できたが頸髄が最も高率であった (73.9%)。ガドリニウム造影効果を

1) 九州大学医学部神経内科

56.4%に認め、血液脳関門の破綻を伴う炎症が生じていることが示唆された。54例に頭部MRIが施行され、6例(11.1%)に散在性のT2延長病巣を認めたがMcDonaldの診断基準を満たす症例はなかった。88.2%で高IgE血症を認めた。ヤケダニ及びコナダニ特異的IgEはそれぞれ90.9%、88.3%の症例で陽性であった。末梢血好酸球増多は57%に認め、10%を超える症例も28.6%存在した。54例で髄液検査が行われ26%に細胞数増多を認めたが、50/μlを超える症例はなかった。14例で髄液IgE値を測定しえたが、基準値を超える症例は6例(42.9%)であった。髄液IgE値は血清IgE値と正の相関を示した( $r=0.83, p<0.001$ )。

### 3) アトピー性脊髄炎の潜在性末梢神経病変

AMではMSと比べ感覚神経伝導検査での異常が有意に高率であった(52.4% vs. 14.3%,  $p=0.0106$ )。運動神経伝導検査ではAMはMSに比し約2倍の異常率を示したが(38.1% vs. 17.9%)、有意差はなかった。F波検査ではAMはMSに比し有意に異常率が高かった(57.9% vs. 10.7%,  $p=0.0016$ )。

針筋電図検査を施行したAM20例のうち、筋萎縮を呈した1例を除いて臨床的に明らかな下位運動ニューロン徴候は認めなかったが、12例(60%)で様々な潜在性神経原性変化を認めた。5例でon-goingの脱神経所見(亜急性神経原性状態)を、12例で非活動性神経原性変化を認めた。4例では脊髄MRI上の病巣を超える分節に異常を認めた。on-goingの脱神経所見を呈した2例に、血漿交換療法と大量免疫グロブリン静注療法を施行し、脱神経所見の改善とともに神経症候の改善を認めた。

### 4) 若年性上肢遠位筋萎縮症における臨床・免疫アレルギー学的検討

頸椎前屈位MRIで下部頸髄の扁平化を10例で、後方硬膜外腔の拡大を6例で認めた。健常対照( $n=42$ )に比しJMADUEではアレルギー性鼻炎(11.9% vs. 54.5%,  $p=0.0057$ )と花粉症(7.1% vs. 45.5%,  $p=0.0064$ )の合併が有意に高く、アレルギー疾患の家族歴も有意に高率であった(11.9% vs. 81.8%,  $p<0.001$ )。ヤケダニ、コナダニ特異的IgE陽性率も有意に高率であった(ヤケダニ:33.3% vs. 72.7%,  $p=0.0361$ 、コナダニ:33.3% vs. 72.7%,  $p=0.0361$ )。血小板CD23発現量は健常対照( $n=21$ )が $7.92\pm 4.31$ であるのに対しJMADUEは $20.9$

$\pm 4.31$ と有意に高かった( $p<0.0001$ )。JMADUEではCD4陽性T細胞におけるIL4産生細胞の割合が有意に高く( $2.02\pm 0.68\%$  vs.  $2.73\pm 0.32\%$ ,  $p=0.0017$ )、IFN $\gamma$ /IL4比が有意に低かった( $8.92\pm 2.95$  vs.  $5.67\pm 1.84$ ,  $p=0.002$ )。

### 考察

アトピー素因を背景にする脊髄炎は頸髄病変が多く、持続する四肢の異常感覚を主徴とすることが明らかとなった。また、高頻度に潜在性末梢神経傷害を合併することが明らかとなり、アトピー素因に伴って中枢および末梢神経に多発性の炎症病変が生じることが示唆された。アトピー性疾患が近年増加傾向であることを考えると、全国的にはさらなる症例が存在するものと予想される。事実、全国調査例は九大例に比し炎症所見が高度な症例が多いなど、軽症例が集積できていない可能性が考えられた。一方、若年性上肢遠位筋萎縮症でもMRI所見によらず気道アレルギーやアトピー性疾患の家族歴が有意に高率で、Th2サイトカインやアレルギー機序による血小板の活性化が病態に関与している可能性が示唆された。

### 結論

アトピー素因を背景に発症する脊髄炎は広く全国に分布することが明らかとなった。若年性上肢遠位筋萎縮症でもアトピー素因が関与する可能性が示唆されたが、先行するアトピー性疾患は気道アレルギーが多いなど、アトピー性脊髄炎とは異なる機序で発症している可能性が考えられる。

### 文献

- 1) Kira J. et al. J Neurol Sci 148:199-203, 1997.
- 2) Kira J. et al. J Neuro Neurosurg Psychiatry 64:676-679, 1998.
- 3) Kira J. et al. J Neurol Sci 162:56-61, 1999.
- 4) Kira J. et al. J Neuro Neurosurg Psychiatry 70:798-801, 2001.

### 健康危険情報

なし

### 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

## 傍腫瘍性辺縁系脳炎の抗神経細胞抗体・抗原の検討

分担研究者 酒井宏一郎<sup>1)</sup>

共同研究者 北川陽子<sup>1)</sup>、白川知泰<sup>1)</sup>、齋木三鈴<sup>1)</sup>、齋木臣二<sup>1)</sup>

### 研究要旨

傍腫瘍性神経症候群を構成する辺縁系脳炎は、しばしば疑われる疾患であるがその原因を特定することは困難であることが多い。本疾患が疑われた症例について、臨床的特徴と抗神経細胞抗体、抗原を解析した。臨床症状では意識障害、近時記憶障害、幻覚、けいれんの神経症状が高頻度に見られ、多くにMRI画像上での異常所見が観察された。腫瘍では肺小細胞癌が最も多く、次いで非小細胞性肺癌、乳癌、悪性リンパ腫がみられた。抗神経細胞抗体の出現は全体では極めて低い頻度であったが、肺小細胞癌随伴例では高率にHu抗体の出現がみられた。精巣癌のみに出現するとされたMa2(Ta)抗体が乳癌に随伴する症例で確認された。この癌組織には、Ma1-3の全てのmRNAの発現を認めたが、Ma2にのみAla188Thrのアミノ酸置換を認め、自己免疫機序における抗原性として辺縁系脳炎の病態に関与している可能性が示唆された。

### 研究目的

傍腫瘍性神経症候群では神経蛋白抗原に対する免疫反応が疾患特異的にみられ、その発症機序への関与が示唆されている。傍腫瘍性神経症候群に関連する抗神経細胞抗体とその標的神経抗原の性状を明らかにすることは、本症候群の病態の解明に重要である。傍腫瘍性神経症候群は多彩な神経疾患から構成されているが、そのなかに大脳辺縁系を病変の主座とする傍腫瘍性辺縁系脳炎がある。辺縁系脳炎の診断は、その特徴的な臨床症状と画像検査によって、比較的容易に診断されるが、単純ヘルペス脳炎を除いては、その原因を特定することが困難であることが多い。傍腫瘍性辺縁系脳炎は他の傍腫瘍性神経疾患と比べて、比較的抗神経細胞抗体の出現が少ないとされる。傍腫瘍性神経症候群では一般に特定の腫瘍や特定の抗神経細胞抗体の出現がみられるが、この疾患では、他の傍腫瘍性神経疾患と比べて、種々の腫瘍との関連と比較的多様な抗神経細胞抗体の出現がみられることが報告されている。そのなかでも、精巣癌に

を随伴する傍腫瘍性辺縁系脳炎とMa2抗体のように特定の腫瘍と抗神経細胞抗体との強い関連を示すものもある。

今回、辺縁系脳炎と診断された症例を対象に、臨床症状を解析し、抗神経細胞抗体の出現を検討した。さらに、乳癌に随伴し、Ma2抗体の出現をみた傍腫瘍性辺縁系脳炎の症例について癌組織に発現している抗原を解析し、抗神経細胞抗体が出現するinduction phaseについて検討した。

### 研究方法

解析の対象として当施設と他施設の専門科より傍腫瘍性辺縁系脳炎と診断され、抗神経細胞抗体の測定を依頼された症例とその脳脊髄液・血清を用いた。依頼された症例のなかから、単純ヘルペス脳炎の可能性が除外されており、

臨床症状と臨床経過から辺縁系脳炎と診断される症例を選別し、そのなかから頭部MRI画像で辺縁系脳炎に特徴的な所見がみられる症例あるいは悪性腫瘍の存在が明らかになった症例を選んで解析した。

1) 金沢医科大学神経内科

抗神経細胞抗体は、血清或いは脳脊髄液検体をラット凍結脳組織切片を用いたABC法による免疫組織化学で検討してスクリーニングした後、免疫組織化学で抗神経細胞抗体の存在が疑われる検体について、組織ホモジュネート、GST 融合組換え体蛋白を抗原とした Western blotting により解析した。

Ma2 抗体の出現をみた傍腫瘍性辺縁系脳炎については、患者に随伴した乳癌組織のパラフィン包埋腫瘍標本より、の mRNA を抽出した後、reverse transcriptase-PCR と direct sequencing により解析した。

## 研究結果

臨床的に辺縁系脳炎が疑われた 42 症例のうち、MRI 上で辺縁系脳炎に特徴的な異常所見を認めた症例は 27 例、悪性腫瘍を既に随伴していた症例は 22 例、このなかで MRI 異常と悪性腫瘍の存在を共に認めた症例は 7 例であった。悪性腫瘍の内訳は肺小細胞癌が 10 例、小細胞癌以外の肺癌と乳癌が 3 例、悪性リンパ腫が 2 例、粘液性類上皮腫、前立腺癌、肝癌、膵癌、腎癌、慢性骨髄性白血病が各 1 例でそのうち非小細胞性肺癌、腎癌、前立腺癌の 3 種類の悪性腫瘍の随伴例が 1 例含まれた。臨床的な症状としては記憶力障害 28 例、意識障害 15 例、譫妄、不穏、幻覚 14 例、けいれん発作 14 例、見当識障害 10 例、人格変化 2 例であった。その他、小脳失調 2 例、難聴、ミオクローヌス、片麻痺、注視麻痺がそれぞれ 1 例でみられた。これらの症例のなかで、Hu 抗体(ANNA-1)の陽性症例は 3 例で、この Hu 抗体陽性の全例が肺小細胞癌を随伴していた。この結果は、臨床症状と MRI 画像所見あるいは悪性腫瘍の存在より疑われた辺縁系脳炎症例での抗神経細胞抗体の陽性率は全症例の 0.9%と極めて低いことが明らかになった。肺小細胞癌を随伴した症例に限って検討すると 25%に Hu 抗体の出現が認められ、傍腫瘍性

辺縁系脳炎の抗神経細胞抗体の出現には特定の腫瘍との関連が重要であることが明らかになった。辺縁系脳炎と感覚性ニューロン障害の症状発現の違いを説明する機序は明らかではない。傍腫瘍性辺縁系脳炎の Hu 抗体と傍腫瘍性感覚ニューロン障害患者の Hu 抗体と比較して、3つの中枢神経系特異的 Hu 抗原に対する反応性について検討したところ、両者の抗体の抗原認識において、感覚性ニューロン障害では、3つの Hu 抗原に対して全てに反応を示したのに対し、辺縁系脳炎症例では、HuCやHuDに対する反応に差異を認めたものの、海馬に特異的に発現するとされる He1-N1(HuB)に対しては全てが反応する結果が得られた。乳癌を随伴する辺縁系脳炎症例 1 例において脳脊髄液中に抗神経細胞抗体の存在を認め、この抗体は Ma2 抗原を認識するが、Ma1 及び Ma3 抗原とは反応せず Ma2(Ta)抗体と考えられた。この患者より採取された atypical medullary carcinoma 乳癌組織標本より mRNA を抽出し、RT-PCR により Ma1、Ma2、Ma3 の RNA レベルでの発現を調べると、3つの Ma 抗原のいずれの発現も観察された。患者乳癌組織に発現された Ma 抗原 mRNA の塩基配列を解析すると、癌組織の Ma1 と Ma3 は脳蛋白と同一の塩基配列を示したのに対し、癌組織の Ma2 mRNA の塩基配列は脳由来 Ma2 と比較して Ala188Thr のミスセンス変異を生じる open reading frame 領域の G562A の変異が確認された。10種類のヒト癌細胞株で Ma2 の発現を検討したところ、9つの癌細胞株での発現を認め、そのうち8つの癌細胞株では脳 Ma2 抗原と同じ配列を示したが、T98G 細胞株ではこの乳癌組織における Ma2 抗原と同じ変異を認めた。さらに deletion mutant 組換え体蛋白により Ma2 抗原のエピトープ部位を調べると、アミノ酸残基 187-197 の部位がエピトープ認識に重要であり、乳癌組織の Ma2 抗原にみられた変異部位が免疫反応に重要である可能性が示唆された。

## 考察

傍腫瘍性辺縁系脳炎においては、他の傍腫瘍性神経症候群に比べ、抗神経細胞抗体の陽性例は比較的少ないことが報告されているが、今回我々が検索した結果では、腫瘍の存在が確認された症例のみに限った場合でも、抗神経細胞抗体の出現の頻度は極めて低い結果であった。しかしながら、肺小細胞癌を随伴する症例のなかで抗神経細胞抗体が出現する頻度は比較的高く、抗神経細胞抗体を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎と肺小細胞癌との関連が強いこと、抗体の出現は肺小細胞癌の存在を疑う必要があることが示唆された。この場合の抗神経細胞抗体は全て Hu 抗体であり、この腫瘍との関連が報告されている Amphiphysin 抗体やその他の抗神経細胞抗体の出現は確認されなかった。また、Ma2(Ta)抗体が確認されたが、これまでに Ma2 抗体の出現は 100%の症例で精巣癌を随伴すると報告されていたが、今回乳癌に随伴した辺縁系脳炎に Ma2抗体の出現をみる事が明らかになった。最近、精巣癌以外の腫瘍を随伴する辺縁系脳炎においても Ma2 抗体の出現が報告され、乳癌を随伴する辺縁系脳炎の症例も報告されている。今回の解析の結果もそれを支持する結果であった。このことより女性の辺縁系脳炎患者においても Ma2 抗体の検索を念頭におくべきであることを示唆している。癌組織に発現する抗原と自己免疫反応が起こる機序については不明な点が多いが、患者の乳癌組織より Ma1, Ma2, Ma3 の全ての転写産物が発現しているにも拘わらず、Ma2 抗体のみが出現していることには、本疾患の自己免疫応答には癌宿主の条件が重要であることを示している。さらに、癌組織にみられたミスセンス変異により、免疫応答が変化した可能性も考えられる。とりわけ後者の可能性に関しては、ミスセンス変異部位が Ma2 抗原のエピトープ部位に位置する部位に相当しており、この部位が免疫原性に重要である可能性が示唆される。

## 結論

傍腫瘍性辺縁系脳炎においては、抗神経細胞抗体の出現の頻度は低い、抗神経細胞抗体の出現は肺小細胞癌との関連が強い。Ma2(Ta)抗体は精巣癌以外乳癌の随伴症例にも認め、その乳癌組織には脳組織における Ma2 抗原とは異なるミスセンス変異を認めた。腫瘍におけるこの変異が傍腫瘍性辺縁系脳炎にみられる免疫原性に重要である可能性がある。

## 健康危険情報

なし

## 知的財産権の出願・登録状況

特許取得:なし

実用新案登録:なし

# 傍腫瘍性神経症候群関連抗体特異的スクリーニング システムの確立に向けて

分担研究者 田中恵子<sup>1)</sup>

共同研究者 丁 欣<sup>1)</sup>, 辻 省次<sup>2)</sup>, 田中正美<sup>3)</sup>

## 研究要旨

傍腫瘍性神経症候群は臨床症状のみでの診断は困難であり、特異的抗体の検出が有用である。このためには抗体認識部位を有する抗原蛋白との特異反応を確認する必要があるため、我々はこれまで作成したりコンビナント Yo および Hu 蛋白に加え、CRMP-5, Ma-2, Ri, amphiphysin, glutamate receptor の各 cDNA を作成し、融合蛋白を作って western blot および ELISA にて特異抗体の検出を可能にした。今後も順次本症特異的抗原蛋白を同定し、抗体診断率の拡充を図る。

## 研究目的

様々な変性性・炎症性・代謝性神経疾患の診断においては傍腫瘍性神経症候群 (paraneoplastic neurological syndrome :PNS) との鑑別が困難な場合があり、PNS 発症早期から認められる特異的抗体の検出が診断に有用である。我々はこれまで国内諸施設から抗体検索の依頼を受け、Yo および Hu 抗体については抗体認識部位のリコンビナント蛋白を抗原とする特異的診断を行うと同時に、その他の抗体については神経組織その他を用いた western blot および免疫組織化学染色のパターンから診断を行ってきた。western blot および免疫組織化学染色では、同様の染色パター

ンを呈する数多くの蛋白が存在するため、これらの手法のみでは対応抗原の同定が困難であることが多い。Yo および Hu 抗原以外の PNS 関連の抗原の分子特性が次々に明らかになってきていることから、これらのリコンビナント蛋白を順次作成し、さらに多数の抗体について網羅的に特異診断を行う系を確立する。

## 研究方法

- 1) Yo および Hu-D 抗原のリコンビナント蛋白は既報のごとく作成しそれぞれ ELISA の抗原として用いた<sup>1)2)</sup>。
- 2) Ri 抗原<sup>3)</sup>: 54kD の蛋白である Nova-1 のアミノ酸配列から、抗体認識部位である 147-486 番目の遺伝子を合成し、pMal C vector に組み込み、*E.Coli DH5* を transforms 後、rich broth で培養し、IPTG で蛋白合成を誘導、菌破碎上清を amylose resin カ

1) 新潟大学脳研究所神経内科

2) 東京大学医学部神経内科

3) 国療西新潟中央病院神経内科



ラムを用いて精製してリコンビナント蛋白を作成した。

- 3) Ma-2<sup>4)</sup>およびCRMP-5<sup>5)</sup>抗原：既報に従い、Ma-2 および CRMP-5 の全長をカバーする遺伝子を合成し、Ri 抗原と同様の方法でリコンビナント蛋白を作成した。
- 4) それぞれのリコンビナント抗原蛋白を用いて western blot および ELISA 測定系を確立し、PNS を疑われる患者血清中の各抗体についてスクリーニングを行った。
- 5) このほか、これまでの神経組織を抗原とした western blot 及び免疫組織化学染色のパターンから、抗 amphiphysin/GAD/glutamate receptor 抗体その他の抗体を検出する。

## 研究結果

Yo/Hu/Ri/Ma-2/CRMP-5 それぞれの cDNA から特異抗原蛋白を作成した。それぞれの抗原を用いた western blot/ELISA を用いた血清スクリーニングで、1500 検体中、抗 Yo 抗体は 23 例、抗 Hu 抗体は 35 例の頻度で検出された。抗 Ri/Ma-2/CRMP-5 抗体の頻度については現在解析を進めている。

これ以外に western blot および免疫組織染色パターンから、抗 amphiphysin 抗体陽性の乳癌を背景にした limbic encephalitis、抗 glutamate receptor 抗体陽性の stiff-person 症例、抗 recoverin 抗体を有する cancer-associated retinopathy を診断した。

## 考察

PNS は腫瘍発見に先行して多彩な神経症

状を呈するため、症候のみから本症を診断するのは困難である。PNS の一部では神経症状一腫瘍一抗体の種類にある程度の関連が見られ、病初期から高力価の抗体が出現するためこれらの抗体を検出することが本症の診断に有力な情報となる。このうち、抗 Hu 抗体、抗 Yo 抗体、抗 voltage-gated calcium channel 抗体は出現頻度が高いものであるが、このほか対応抗原の分子特性が明らかになっているものとして抗 CRMP-5/Ma-2/Ri 抗体、抗 amphiphysin /glutamate receptor/recoverin 抗体などが知られている。これらの抗体の特異的診断には、抗体認識部位のアミノ酸配列を含むリコンビナント抗原蛋白との反応を確認する必要があるため、我々は既作成の Yo および Hu 蛋白に加え、新たに CRMP-5/Ri/Ma-2/glutamate receptor /amphiphysin 蛋白を作成した。さらに従来 of 神経組織での western blot /immunohistochemistry と併用し、一定の特徴を有する抗体については対応抗原の同定を進めることにより、多数の抗体の特異的検出が可能になり、PNS 診断への寄与が拡大できると考えている。

## 結論

傍腫瘍性神経症候群の診断に有用な抗神経抗体の特異的検出率拡充のため、既作成のリコンビナント Yo および Hu 蛋白に加えて、その分子特性が明らかになっている抗原蛋白 ( CRMP-5/Ma-2/Ri/amphiphysin/glutamate receptor ) を作成し、本症の特異的診断率の向上に寄与した。今後も順次新たな特異抗原を同定していく。

## 文献

- 1) 田中恵子ら：リコンビナント Yo 蛋白を用いた ELISA 法による Paraneoplastic cerebellar degeneration 患者での自己抗体の検出 脳神経 46: 47-51, 1994.
- 2) Yagi Y, et al.: Changes in anti-HuD antibody titers in the long-term course in paraneoplastic sensory neuropathy Eur J Neurol 37:122-123,1997
- 3) Jensen KB, et al.:Nova-1 regulates neuron-specific alternative splicing and is essential for neuronal viability. Neuron 25:359-371,2000
- 4) Voltz R, et al.:A serologic marker of paraneoplastic limbic and brain-stem encephalitis in patients with testicular cancer. New Engl J Med 340:1788-1795,1999
- 5) Yu Z, et al.:CRMP-5 neuronal autoantibody: Marker of lung cancer and thymoma-related autoimmunity. Ann Neurol 49:146-154,2001

## 健康危険情報

なし

## 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

## 傍腫瘍性神経症候群における細胞傷害性T細胞の研究

分担研究者 田中恵子<sup>1)</sup>

共同研究者 田中正美<sup>2)</sup>

### 研究要旨

傍腫瘍性神経症候群ではさまざまな抗体が見出され、神経症状と背景となる腫瘍と抗体の間に一定の相関があることから、抗体が腫瘍マーカーとしても利用できている。しかし、抗体により神経細胞傷害が起きるといった証拠はない。多くの場合、細胞質や核内に対応抗原があることから、抗体による細胞傷害の可能性は低いと考えられる。私たちは、HLA解析からClass Iとの相関を見出し、reverse immunogeneticsの手法により、CD8陽性細胞傷害性T細胞(CTL)が認識するペプチドを同定してきた。さらに、CTLによる動物モデルの作製を試みている。

### 研究目的

傍腫瘍性神経症候群ではさまざまな抗体が末梢血や脊髄液中で証明されるが、抗体が神経細胞傷害を起こすという直接的な証拠はない<sup>1)</sup>。リコンビナント蛋白を免疫すると、高力価の抗体が容易に産生されるが、神経細胞は傷害されないし、さまざまな条件による受動免疫でも動物モデルは作製できない<sup>1)</sup>。

抗原がそもそも細胞表面にはないことや初期病変でCD8陽性細胞が浸潤していること、患者のHLAが比較的限定されていたことから、細胞傷害性T細胞(CTL)が注目されるようになってきた。私たちはreverse immunogeneticsにより、世界で初めて抗Yo抗体陽性PCD患者末梢血のCTLが認識するペプチドを同定し<sup>2)</sup>、抗Hu抗体陽性症候群でもCTLが存在することを報告した<sup>3)</sup>。また、抗Hu抗体陽性症候群ではHLA B7 supertypeが重要であり<sup>4)</sup>、CTLが認識

するペプチドを同定した<sup>5)</sup>。抗Yo抗体陽性PCDではHLA A\*2402だけでなく、結合するペプチドモチーフが一部で共通のB27 supertypeも関与していることも示した<sup>6)</sup>。

しかし、未だに動物モデルの作製には成功しておらず、CTLにより神経細胞が傷害されて発症するという確かな証拠はない。

私たちは、今までCTLの誘導に様々な方法を用いてきたが、より安定的に誘導できる方法の開発をめざしている。また、血液関門が中枢神経(BBB)よりルーズと思われる末梢神経(BNB)を標的とした動物モデルの作製を試みている。本年は、最近の私たちの試みを紹介する。

### 研究方法

6-12週令のメスのBALB/Cを用いた。抗原提示細胞としては骨髄から樹状細胞(DCI)を誘導して用い、ペプチドを結合させてから後肢付け根に皮下注射することで免疫した。1週間隔で2回投与後に所属リンパ節を回収し、ペプチドで更にin vitroで刺激をした。24時間後にIL-2を添加し

1) 新潟大学脳研究所神経内科学分野

2) 国療 西新潟中央病院神経内科

た。マウスCTL活性は<sup>51</sup>Cr放出試験で測定した。アデノウイルスをベクターとして、CD40LをDCに組み込んだ細胞を抗原提示細胞とした。抗原となるペプチドは、Yo蛋白のアミノ酸配列から"AYRARALEL" (Yo-1)の他に、Yo-1を結合させたlipopeptideを合成し、Hu蛋白からHLA B7 supertypeのモチーフを有するペプチドを選択し合成した。標的細胞は同種線維芽細胞を用いた。

## 結果

lipopeptide Yo-1を用いてCTLが誘導された。in vitroでさらにCTL活性を増強させるべく検討中である。

また、Hu蛋白由来ペプチドではごくわずかのCTLしか誘導できておらず、再現性にも乏しいが、抗Hu抗体症候群の臨床病型により、CTLが反応するペプチドに差がある可能性が示唆された。また、アデノウイルスをベクターとしたCD40Lを組み込んだDCを抗原提示細胞を用いて、同様にマウスに免疫して、低力価ながらCTL活性が認められた。

## 考察

CD8陽性CTLの誘導についてはゴールドスタンダードはない。今回は1). DCにペプチドをパルスしてマウスに免疫する従来からの方法、2). lipopeptideで免疫する方法、3). アデノウイルスベクターを用いてCD40LをDCに組み込んで免疫する方法、の3通りを試みた。これらの一部では定常的にCTL活性が誘導できたが、なお力価は低く、充分とは言えなかった。こんご、さらに検討を要すると考えられた。

抗Hu抗体症候群で病型によりCTLが認識するペプチドが異なる可能性が示唆されたことは、重要な知見と考えられる。

## 結論

今回、3つの方法でCTL誘導を試みた。まだ改善の余地はあると考えられた。また、抗Hu抗体症候群では病態によりCTLが認識するペプチドに差異があることが示唆された。

## 文献

- 1) Tanaka, M. & Tanaka, K.: Pathogenesis and treatment of paraneoplastic neurologic syndrome. *Expert Rev Neurotherapeutics*, 2(6): 901-909, 2002.
- 2) 田中正美ら：Paraneoplastic cerebellar degenerationでのHLAクラス結合モチーフから類推したYo蛋白由来ペプチドに反応する細胞傷害性T細胞の同定。第27回日本免疫学会学術集会記録集、1997,p.360.
- 3) Tanaka K, et al. Cytotoxic T lymphocyte-Mediated mediated cell death in paraneoplastic sensory neuronopathy with anti-Hu antibody. *J Neurol Sci* 163:159-162, 1999.
- 4) Tanaka M, et al. Lack of association between human leukocyte antigens and anti-Hu syndrome in patients with small-cell lung cancer. [published erratum appears in *Neurology* 52:1952, 1999]. *Neurology* 52:431, 1999.
- 5) Tanaka M, et al. Cytotoxic T cell activity against peptides of Hu protein in anti-Hu syndrome. *J Neurol Sci* 201:9-12, 2002.
- 6) Tanaka M, et al. Cytotoxic T cell activity against the peptide, AYRARALEL, from Yo protein of patients with the HLA A24 or B27 supertype and paraneoplastic cerebellar degeneration. *J Neurol Sci* 188:61-65, 2001.

## 健康危険情報

なし

## 知的財産権の出願・登録状況

なし

# 自己免疫性脳症および傍腫瘍性神経症候群における自己抗体の 標的抗原の検索

分担研究者 米田誠<sup>1)</sup>

共同研究者 藤井明弘<sup>1)</sup>、濱野忠則<sup>1)</sup>、栗山勝<sup>1)</sup>、金子清俊<sup>2)</sup>、鈴木寛<sup>3)</sup>

## 研究要旨

これまで私どもは、液性免疫の立場から、自己免疫性脳症および傍腫瘍性神経症候群における自己抗体の検索と、抗体が認識する標的抗原の同定をプロテオミクス法を用いて行ってきた。その結果、橋本甲状腺炎に伴う自己免疫性脳症（橋本脳症）や悪性リンパ腫において抗神経抗体の存在を明らかにし、標的抗原の同定を行ってきた。その結果、橋本脳症では、 $\alpha$ -enolase を標的とする自己抗体が存在することが明らかとなった。また、悪性リンパ腫の症例において、collapsin response mediator protein (CRMP)-2に対する自己抗体が血清中に存在することが明らかとなった。

現在、さらに対象を各種の自己免疫性脳症および傍腫瘍性神経症候群に拡げて、同様の検討を行っている。本年度は、痴呆や意識障害の原因となる自己免疫性脳症である自己免疫性下垂体炎患者において、新規の抗下垂体自己抗体を見出したので報告する。

## 研究目的

自己免疫性下垂体炎は、下垂体組織に対する自己免疫性機序によって、下垂体組織の破壊と機能低下をきたす疾患であ

る。二次性下垂体機能不全による意識障害・痴呆などの神経症状をきたすが、自己抗体が認識する下垂体の標的抗原に関しては十分解明されていない。本研究の目的は、自己免疫性下垂体炎において、患者血清あるいは髄液中の抗体が認識する標的抗原を明らかにし、病態の解明と血清・髄液を用いた診断法の開発をめざ

---

1) 福井医科大学第二内科

2) 国立精神・神経センター神経研究所  
疾病研究第7部

3) 福井県立大学生物資源学科

す点にある。

## 研究方法

対象：2例の自己免疫性下垂体炎患者。  
症例1は、61歳の男性でマクログロブリン血症を伴い、意識障害と痴呆を主徴とした。抗MAG抗体も陽性で末梢神経障害も存在した。症例2は、51歳の女性でせん妄と痴呆を主徴とした。2例とも抗核抗体陽性で、髄液中の免疫グロブリンの上昇と二次性の甲状腺・副腎機能低下症を認めた。

方法：下垂体の蛋白ホモジェネートを二次元電気泳動（等電点・ポリアクリルアミド）し、ウエスタンブロットの後、患者髄液を一次抗体、抗ヒトIgGおよびIgM抗体を二次抗体として反応させ、患者髄液に特異的なスポットを検索した。

## 研究結果

症例1では、80, 65, 25 kDaの蛋白に反応するIgM画分の抗体が検出された。症例2では、50 kDaの蛋白に反応するIgG画分の抗体が検出された。

## 考察

自己免疫性下垂体炎は、各種下垂体前葉機能低下症（単独ACTH欠損，二次性甲状腺機能低下）や後葉機能低下症（尿

崩症）による意識障害や痴呆を呈する。

自己免疫性下垂体炎患者では数種の自己抗体の報告はあるが、今回の症例で見出されたもののうち、65 kDaと40 kDaの抗原は既知のものとは異なる新規抗原と考えられる。今後は、二次元電気泳動で患者において特異的に見いだされたスポットを、橋本脳症で行った方法に準じて、複数のプロテアーゼ切断後、MALDI-TOF/MSによる構造解析、大腸菌あるいは哺乳類細胞におけるリコンビナント蛋白の作成と検証を行っていく。

## 結論

自己免疫性下垂体炎患者において、新規抗原に対するの自己抗体を検出した。

## 文献

なし

## 健康危険情報

なし

## 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

## 重症筋無力症の病態に関する研究

班員	東北大学神経内科	糸山泰人
共同研究者	東北大学神経内科	○小野寺宏, 田郷英昭
	国立仙台病院神経内科	鈴木靖士
	国立仙台病院心臓血管外科	大内将弘, 清水雅行
	国療岩手病院神経内科	永田哲也
	東北大学医学部呼吸器再建	近藤 丘
	近畿大学細菌学	義江 修

### 研究要旨

重症筋無力症 (MG) には高率に胸腺の異常が合併し、胸腺組織型により治療効果や予後が異なる。MGの病態における胸腺の関与を検討するため、胸腺摘出前後でのMG患者の免疫機能を比較検討した。胸腺摘出前の胸腺腫合併MGでは、健常者と比較して、末梢血NK細胞の減少とケモカイン受容体 CXCR3 陽性 CD4 の減少が認められた。一方、過形成胸腺合併MGでは、末梢血NK T細胞の増加とケモカイン受容体 CCR1 (Th 1型) や CCR3 (Th 2型) 陽性 CD4 細胞の増加が認められた。これら免疫担当細胞における胸腺摘出前での変化は術後徐々に正常化した (ステロイド剤などの他の治療も併用)。本研究の結果、胸腺組織型により免疫担当細胞の挙動には大きな相違点が存在することが明らかになった。

エビデンスに基づいた治療計画の基礎データとして、当科と関連病院での胸腺組織型ごとの予後を解析し、胸腺腫合併例では非合併例に比べて胸腺摘出術の治療効果が劣ることを確認した。

### 研究目的

重症筋無力症 (MG) は胸腺異常を高率に合併しており、胸腺摘出術がMG治療のスタンダードとして広く行われている。しかし、胸腺がMGの免疫異常にどのように関与しているかは不明のままであり、胸腺摘出術によりMG患者の免疫動態がどのように変化するかについても明らかでない。さらに胸腺摘出術の治療効果と予後は胸腺組織型によって異なる事が知られている。そこで本研究では、胸腺腫合併MG患者と過形成胸腺合併MG患者における免疫細胞の機能をNK T細胞, NK細胞, T細胞におけるケモカインシグナルの面から比較検討した。また、エビ

デンスに基づいた治療計画の基礎データとするため、当科と関連病院における胸腺摘出術の効果と予後について胸腺腫例と非胸腺腫例に分類して解析した。

### 研究方法

#### (1) 免疫機能

MG患者の末梢血におけるTリンパ球の機能をケモカイン受容体発現を指標として、またNK細胞とNKT細胞のpopulationについて、健常対照群と比較検討した。MG患者は胸腺腫群と過形成胸腺群の2群に分類し、胸腺摘出やステロイド剤等の免疫抑制剤使用前 (未治療) の患者群と胸腺摘出後6ヶ月以上経過した (慢性期) 患者群とを区別

して解析した。各種免疫細胞マーカー(CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, TCRV $\alpha$  24, CD161), ケモカイン受容体発現(CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CXCR3)をフローサイトメトリーにより解析した。

## (2) 胸腺摘出術と治療効果・予後

胸腺摘出後の病状と予後について胸腺腫合併群と胸腺腫非合併群の2群に分類し、定期的に通院中の患者では最新の所見から、それ以外の患者については毎年のアンケート調査を基に集計した(計308例)。

胸腺摘出術後に一過性にMG症状の増悪を認めることがあるが、術前のステロイド剤の適応とその治療効果については意見が分かれる。そこで当科と関連施設における胸腺摘出術前ステロイド投与患者群と非投与患者群との間での術後急性期のMG症状増悪頻度を比較した。術後の気管チューブの抜管が遅延(翌日以降まで)した症例, MGFAでIVb以上のグレードに悪化した症例をカウントした(250例)。

## 研究結果

### (1) 免疫機能

NK細胞とNKT細胞の頻度, T細胞のケモカイン受容体発現レベルは過形成胸腺合併MGと胸腺腫合併MGとでは大きく異なっていた(図1)。NK細胞のうち(CD3-CD56+CD16+)の分化型NK細胞は胸腺腫合併群で有意に減少していた。一方CD16-のNK細胞の頻度は両MG群ともに正常であった。成熟型NK T細胞(CD3+V $\alpha$  24+CD161+)は過形成胸腺群で有意に増加していた。一方CD161-NKT細胞の頻度は両群ともに正常であった。CD4細胞におけるケモカイン受容体発現率は両MG群間で

異なっており、過形成群ではCCR1(Th1型)陽性細胞(対照群比 $\times 2.1$ )とCCR3(Th2型)陽性細胞( $\times 3.5$ )の比率が有意に増加していた。CXCR3陽性CD4細胞の比率は過形成群では軽度減少にとどまるが( $\times 0.8$ )胸腺腫群では著明に減少していた( $\times 0.6$ )。他のケモカイン受容体のCD4 T細胞における発現率については、過形成胸腺群, 胸腺腫群ともに対照群と比較して有意の差は無かった。胸腺摘出術後6ヶ月以上経過した慢性MG症例では、NK細胞やNKT細胞数, T細胞におけるケモカイン受容体発現率は正常化あるいは正常レベルに近づき、対照群と比較して有意の差は認められなくなった。

### (2) 治療効果・予後

胸腺摘出術後の臨床症状改善度は非胸腺腫群が胸腺腫群を大きく上回っていた。特にステロイド剤等の免疫抑制剤から離脱できた症例の頻度は胸腺腫非合併例では胸腺腫合併例の2倍にも達していた。無効・悪化・死亡の頻度は胸腺腫群では高齢者が多い事を反映して血管障害や胸腺腫以外の腫瘍死などMGと直接関係のない因子が多いものの23%に及んだ(図2)。

胸腺摘出術前ステロイド投与の効果を検討したところ、術前投与群では非投与群に比して術後急性期における増悪の頻度(MGFA IVb以上)は低い傾向にあった(図3)。

## 考察

NK細胞はTh1型サイトカインinterferon- $\gamma$ (IFN $\gamma$ )の主要な産生源であり、NKT細胞はTh2型サイトカインIL4を産生することから、MGではTh1/Th2バランスがTh2側にシフトしている可能性も示唆される。しかし今回MG患者で変化の認められた分化型NK細胞のIFN $\gamma$ 産生能は低く、



成熟 NKT 細胞は IL4 よりも IFN $\gamma$  産生能が高いことも報告されている。T 細胞ケモカインの発現についても、過形成型では Th1, Th2 両タイプの受容体が増加していた。胸腺腫型 MG での末梢血中 CXCR3 陽性 CD4 細胞の減少も、CD4 細胞活性化後の受容体 internalization あるいは CXCR3 陽性細胞の局所への移行による可能性がある。殆どのケモカイン受容体には複数のケモカインが結合し、またケモカインの多くが複数の受容体に結合しうる(例、RANTES は Th1, Th2 の両タイプ CCR1,3,5 に結合)。ケモカインシグナルは局所ケモカイン濃度と免疫細胞上の各受容体発現レベルにより総合的に制御されるので、MG の病態は Th1/Th2 バランスの異常に加えて follicular T 細胞など他のメモリ・エフェクタ細胞でのケモカインシグナルをあわせて検討する必要がある。

ステロイド非投与群における術後増悪の頻度は 10~20%とされる。球症状を合併する症例については(例えば MGFA III b 以上)ステロイドの術前投与が合併症の減少などの面で有用であると考えられるが、今後さらに検討する必要がある。

### 結論

MG 患者での免疫機能とケモカインシグナルは胸腺組織型により大きく異なっていること、胸腺組織型により胸腺摘出術の効果や予後がおおきく異なることが明らかになった。MG におけるステロイド治療効果の判定にあたっては施設間の治療法の差を考慮して解析する必要がある。

健康危険情報 なし

知的財産権の出願・登録状況 なし

図 1 胸腺組織型による免疫機能の相違点

(末梢血)	過形成	胸腺腫
mature NKT	↑	→
CD16 <sup>+</sup> NK	→	↓
CCR1 <sup>+</sup> CD4	↑	→
CCR3 <sup>+</sup> CD4	↑	→
CXCR3 <sup>+</sup> CD4	↓	↓↓

図 2 組織型別予後 (308 例)

	非胸腺腫	胸腺腫
緩解:服薬不要	36	16
著明改善	27	24
軽度改善	26	37
不変悪化	11	23

図 3 全身型 MG での術前ステロイド効果  
術後一過性増悪の頻度  
(MGFA IVb 以上、抜管遅延例含む)

術前ステロイド	あり	8%
	なし	16%

# 胸腺腫非合併の中高年重症筋無力症に対して

## 胸腺摘除術は有効か？

分担研究者 桑原 聡<sup>1)</sup>

共同研究者 川口直樹<sup>1)</sup>、根本有子<sup>1)</sup>、福武敏夫<sup>1)</sup>、服部孝道<sup>1)</sup>、  
里村洋一<sup>2)</sup>、納 光弘<sup>3)</sup>

### 研究要旨

本邦の胸腺腫非合併中高年発症全身型重症筋無力症(MG)に対する胸腺摘除術(ET)施行の現況・長期予後について明らかにするために、免疫性神経疾患に関する調査研究班班員施設にMG治療の現況についてのアンケート調査を施行、解析した。対象は50歳以上発症、治療前重症度MGFAⅡ、胸腺腫非合併、発症から2年以上(ET施行例は術後2年以上)経過を追跡し得た症例である。胸腺摘除施行の有無によらず、併用された治療に差はなく、最終評価時のMGFA分類は胸腺摘除施行群(Ⅰ:Ⅱ:Ⅲ=6:2:3:0)、非施行群(Ⅰ:Ⅱ:Ⅲ=2:1:7:2)であり施行群の転帰の方が良かった。50歳以上で発症した全身型重症筋無力症患者において、胸腺腫が合併していなくても拡大胸腺摘除術施行により長期機能予後が改善することを示した。

### 研究目的

本邦において、高齢者人口の増加に伴い中高年発症の重症筋無力症(Myasthenia gravis: MG)患者が増加することが予想され<sup>1)</sup>、その治療は重要な課題である。中高年発症の患者胸腺に病理学的変化がほとんどないため、手術適応には慎重であるべき<sup>2)</sup>、あるいは手術侵襲、患者の余命、薬物療法に対する反応性などから、50-70歳以上の例では薬物療法が優先され、難治例にのみ手術を検討すべき<sup>3)</sup>という報告がある一方、60歳以上の高齢発症でも、胸腺摘除術後の予後は若年発症と差がないという報告<sup>4)</sup>や、寛解率ではやや劣るものの十分安全・効果的であると報告<sup>5)</sup>もあり中高年発症の胸

腺腫非合併例に対する胸腺摘除術の有用性について定見はない。本邦における胸腺腫非合併の中高年発症全身型重症筋無力症に対する胸腺摘除術(ET)施行の現況・長期予後について検討し、その意義を示した。

### 研究方法

免疫性神経疾患に関する調査研究班班員施設にMG治療の現況についてアンケート調査を施行した。1999年4月から2001年3月の間に各施設に受診歴を持つMG患者全例につき治療方式、病型、発症から胸腺摘除術(Extended thymectomy: ET)までの期間、術後の経過などを検討した。評価はMGFAの臨床分類<sup>6)</sup>を用いた。この内50歳以上で発症し、治療前重症度MGFAⅡであり、発症から2年以上(ET施行例は術後2年以上)経過を追跡し得た症例について検討した。

1) 千葉大学医学部神経内科

2) 千葉大学附属病院医療情報部

3) 鹿児島大学医学部第3内科

## 研究結果

回収した全 506 例の内訳は女性 331、男性 175、平均発症年齢は女性 40.7 歳、男性 41.5 歳だった。この内対象となったのは ET 群 10 例（平均発症年齢 60.9(52-67)歳、男：女=7：3、MGFA II a 8 例、II b 2 例）、非 ET 群 12 例（平均発症年齢 66.3(55-78)歳、男：女=3：9、MGFA II a 9 例、II b 3 例）であり、治療前重症度 MGFA III 以上の症例では原則的に ET が施行されていた。ET 群において併用された治療は抗コリンエステラーゼ薬 10/10 例、ステロイド 7/10 例、免疫抑制薬 1/10 例、非 ET 群では各々 11/12 例、6/12 例、1/12 例であり違いを認めなかった。最終評価時までの平均罹病期間は ET 群 12.7 年、非 ET 群 7.8 年である。最終評価時の MGFA 分類は ET 群（0：I：II：III=6：2：3：0）、非 ET 群（0：I：II：III=2：1：7：2）と ET 群において改善していた。発症年齢、性別と最終重症度には関連がなかった。

## 考察

50 歳以上の中高年発症全身型 MG 患者において、治療前重症度が軽度であり、胸腺腫非合併例であっても ET 施行によって、より良い改善が得られる可能性が示唆された。個々の患者について全身状態や環境を考慮しながら、中高年発症例においても胸腺摘除術は治療法の 1 つとして十分検討される必要がある。

## 結論

非胸腺腫合併、軽度の中高年発症 MG 患者においても胸腺摘除術により機能回復が見込まれる。

## 文献

- 1) 内野 誠ら 当科で経験した重症筋無力症 114 例の臨床解析 - 老齢発症重症筋無力症の増加の実態と拡大胸腺摘手術の有効性の検討を中心に - 神治 17: 355-359, 2000
- 2) Vincent PP. et al The thymus gland in elderly patients with myasthenia gravis. Neurology 25: 194-295, 1975
- 3) Douglas J. L Indications for thymectomy in myasthenia gravis. Neurology 40: 1828-1829, 1990
- 4) Matsuzaki Y. et al. Influence of age on extend thymectomy as a treatment for myasthenia gravis. Ann Thorac Cardiovasc Surg 4: 192-195, 1998
- 5) Tsuchida M. et al. Efficacy and safety of extended thymectomy for elderly patients with myasthenia gravis. Ann Thorac Surg 67: 1563-7, 1999
- 6) Task Force of the Medical Scientific Advisory Board of the Myasthenia Gravis Foundation of America; Jaretzki III A, Barohn RJ, Ernstoff RM et al.: Myasthenia gravis; Recommendations for clinical research standards, Neurology 55: 16-23, 2000.

## 健康危険情報

なし

## 知的財産権の出願・登録状況

なし

## Isaacs 症候群と重症筋無力症の合併例についての検討

分担研究者 納 光弘<sup>1)</sup>

共同研究者 有村公良<sup>1)</sup>、森豊浩代子<sup>1)</sup>、林 茂昭<sup>1)</sup>

### 研究要旨

抗 VGKC 抗体による自己免疫疾患である Isaacs 症候群（後天性 neuromyotonia）では、抗 AChR 抗体の陽性率が高く、かつ thymoma の合併が多い。MG で末梢神経の興奮性異常を伴った 7 例中 5 例で抗 VGKC 抗体が陽性であった。このことは、Isaacs 症候群でも MG と同様の免疫異常の機序が働いていることが予測された。

### 研究目的

Isaacs 症候群（後天性 neuromyotonia）は抗 VGKC 抗体による自己免疫疾患であり、その他の自己抗体として、特に抗 AChR 抗体の陽性率が高いことが知られている。また thymoma を中心とする腫瘍の合併も多く、傍腫瘍性神経疾患の一つとしても知られている。近年、Isaacs 症候群と重症筋無力症 (MG) の合併例が多いことが相次いで報告されている。今年度は、これまで当科に MG の診断で抗 VGKC 抗体の測定を依頼された症例で、その関連を検討した。

### 症例

70 才、女性。65 才時に疲れたときに増悪する左眼瞼下垂で受診、その後、複視・眼位異常・四肢筋力低下・嚥下障害が出現し、MG の診断を受け、プレドニゾロンを中心に加療される。発症から約 5 年後より動作時に手足の muscle cramp が頻繁に出現するようになった。神経学的には両側外転障害・複視・左眼瞼下垂・嚥下障害、近位筋優位の筋力低下を認めた。手指・足先に動作時に生じる muscle cramp が頻発したが、grip myotonia、発汗過多は見られなかった。検査所見では抗

1) 鹿児島大学医学部第三内科

AChR 抗体陽性、抗 VGKC 抗体陽性。胸部 CT では thymoma や胸腺過形成を示す所見は見られなかった。電気生理学的には、僧帽筋で軽度 decrement 陽性、SFEMG で異常 jitter の増加を認めた。通常の針筋電図では安静時に四肢近位筋で continuous muscle fiber activity を認めた。

### 研究方法・結果

当科および全国から依頼された、原因不明の muscle cramp の原因検索目的で、抗 VGKC 抗体測定を依頼された 59 症例で検討を行った。抗 VGKC 抗体はパッチクランプ法あるいは 125I- $\alpha$ -dendrotoxin を用いた免疫沈降法で測定した。臨床診断の内訳は、Isaacs 症候群およびその関連疾患 27 例、MG 7 例、その他 25 例で、抗 VGKC 抗体の陽性率は Isaacs 症候群で最も高かったが、MG でも 57.1% と高率であった。（表 1）

MG 7 例の臨床症状の検討では、抗体陽性と muscle cramp、myokymia の関連が認められた。また thymoma を伴う 2 例ではいずれも抗 VGKC 抗体が陽性であった。陰性の 1 例では fasciculation のみが見られ、抗 ChE 剤による副作用の鑑別が要と思われた。（表 2）