

多発性硬化症脱髄巢反応性アストロサイトにおける 14-3-3 蛋白質各アイソフォームの発現

分担研究者 山村 隆¹⁾

共同研究者 佐藤準一¹⁾、川井 充²⁾、有馬邦正³⁾

1) 国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部

2) 国立精神・神経センター武蔵病院神経内科

3) 国立精神・神経センター武蔵病院臨床検査部

研究要旨

多発性硬化症(multiple sclerosis; MS)は視神経・大脳・脊髄など中枢神経系白質に炎症性脱髄巢が多発し、様々な神経症状が再発と寛解を繰り返して進行する難病である。病理学的には急性期に CD4⁺ T 細胞やマクロファージを主体とするリンパ球浸潤と髄鞘形成細胞であるオリゴデンドロサイトの細胞死および脱髄を認める。回復期には髄鞘再生も見られるが、炎症が遷延化すると軸索傷害(axonal injury)を来して不可逆的な後遺症を残す。また炎症性サイトカイン TNF α 、IL-1、IL-6、IFN γ はアストロサイトの増殖を促進し、その結果陳旧性脱髄巢は肥大したアストロサイトによって形成されるグリア瘢痕(glial scar)でおおわれる。Glial scar はコンドロイチン硫酸プロテオグリカン豊富に含み、再生途上の軸索の伸長に対しては障壁を形成する。従ってアストログリオシス(astrogliosis)を人為的に制御することにより、軸索再生を促進し神経学的後遺症を軽減する治療法を開発出来る可能性があるが、現在までその分子細胞学的メカニズムは十分解明されていない。本研究では MS 脱髄巢に出現する反応性アストロサイト(reactive astrocytes)が 14-3-3 蛋白質を高発現することに着目し、14-3-3 結合蛋白質を同定したところ、アストロサイト細胞骨格蛋白質中間径フィラメント(intermediate filaments; IF)のビメンチン(vimentin)と神経膠原繊維酸性蛋白質(glial fibrillary acidic protein; GFAP)であった。本研究の結果は、14-3-3 蛋白質が reactive astrocytes において vimentin と GFAP を束ねる分子シャペロンとして働き、intermediate filament network を制御している可能性を示唆する。

研究目的

14-3-3 蛋白質(以下 14-3-3)は脳に豊富に含まれている 30-kDa 酸性蛋白質で 7 種類の isoform (β , γ , ϵ , η , ζ , θ , σ)に分離される。2 種類の isoform は N 末端で homodimer や heterodimer を形成し、特異なリン酸化セリン

エピトープ(RSXpSXP)を有する 2 つの蛋白質と同時に結合して引き寄せる働きがある。すなわち 14-3-3 は Ras/Raf-1/MAPK 系や Akt-BAD 系におけるシグナル伝達因子アダプター分子として働き、神経細胞分化・増殖・死を制御している。14-3-3 は脳組織破壊の際に

髄液に遊出し、その検出は Creutzfeldt-Jakob 病では生前診断の重要な指標となる。しかし 14-3-3 は脳脊髄炎など非プリオン神経疾患の髄液でも検出され、マウス全脳培養系では神経細胞・グリア細胞が 14-3-3 を発現する(Satoh J et al. Eur Neurol 41: 216-225, 1999)。最近我々は多発性硬化症(multiple sclerosis; MS)で再発後に重篤な後遺症を残す症例の髄液で 14-3-3 β isoform を検出可能なことを報告し、予後の指標となることを示唆した(Satoh J et al. J Neurol Sci 212: 11-20, 2003)。また MS 脳脊髄組織において 14-3-3 蛋白質が神経細胞とアストロサイトに高発現していることを報告した(Satoh J et al. Neuropathology 23: A14, 2003; Barin Pathol Suppl: S48, 2003)。本研究では MS 病巣における 14-3-3 各 isoform 発現を isoform 特異的抗体を用いて免疫組織学的に解析し、また培養ヒトアストロサイトにおける 14-3-3 結合蛋白質を同定した。

研究方法

1) 症例：MS 症例は死亡時 29 歳女性 secondary progressive MS (#791), 40 歳女性 secondary progressive MS (#744), 43 歳女性 primary progressive MS (#609), 33 歳男性 secondary progressive MS (#544)の 4 症例を解析した。全例 conventional form で#744, #609, #544 は終末期は寝たきり状態。47 歳男性 acute cerebral infarction (#719), 84 歳男性 acute cerebral infarction (#786), 62 歳男性 chronic cerebral infarction (#789), 56 歳男性 chronic cerebral infarction (#807), 36 歳女性 schizophrenia (#523), 61 歳男性 schizophrenia

(#826)を対照とした。

2) 免疫組織化学：ホルマリン固定大脳組織切片を脱パラフィンと microwave 処理後に 8 種類の anti-14-3-3 protein isoform-specific antibody (IBL および Santa Cruz Biotechnology) で染色し、2 次抗体は Histofine Simple Stain kit (Nichirei)を用い DAB で発色した。また隣接切片を anti-GFAP antibody (Dako), anti-MBP antibody (Dako), anti-CD68 antibody (Dako), anti-neurofilament antibody (Nichirei)で染色した。

3) ヒトアストロサイト純培養：無血清培養で継代したヒト胎児脳由来神経前駆細胞を 10% FBS 添加 DMEM で培養することにより、アストロサイト純培養(GFAP⁺ >95%)を樹立した。一部はアストロサイト誘導後に無血清で培養を継続した。また既報(Satoh J et al. Eur Neurol 41: 216-225, 1999)に従い免疫細胞染色とウエスタンブロット解析を行った。

4) アストロサイト結合蛋白質の同定：培養ヒトアストロサイト全蛋白質を 2D-PAGE で分離・転写し、E. coli で発現・精製した recombinant human 14-3-3 ϵ protein with Xpress tag を probe として Far Western 解析を行い、特異的 spot をゲルから切り出し trypsin 処理後、質量分析(mass spectrometry)で peptide fragments を同定した。

研究結果

1) 全症例で大脳半卵円中心白質・脳室周囲白質・脳梁・視神経・小脳白質・橋・延髄・頸髄に散在する、軸索脱落とグリオーシスを伴う脱髄巣を認めた。#744, #609 は血管周囲性リンパ球・マクロファージ浸潤の目立つ

active lesions が多く、#791、#544 は inactive lesions が多かった。

2) 免疫組織化学的には大脳皮質錐体細胞などの神経細胞の細胞体や突起・腫大軸索は $\beta, \gamma, \zeta, \eta, \theta$ で染色された。脱髄巢の反応性アストロサイト (reactive astrocytes) は $\beta, \gamma, \epsilon, \zeta, \eta, \theta, \sigma$ で染色されたが、 ϵ は reactive astrocytes 特異的に発現しており大多数の reactive astrocytes にその発現を認め、 σ は少数の reactive astrocytes に発現していた。 σ を発現するアストロサイトは 2 核のものが多く見られた。また脳梗塞症例の reactive astrocytes も ϵ, σ で染色された。脱髄巢に残存するオリゴデンドロサイト (surviving oligodendrocytes) は β, η, θ で染色された。ミクログリアやマクロファージは β, ζ, η で染色された。

3) 培養ヒトアストロサイトは σ を除く全ての isoform を発現しており、発現量は無血清培養に比較して 10%FBS 添加培地における培養で 1.6-18.7 倍増加した。

4) 培養ヒトアストロサイトの 14-3-3 結合蛋白質として Ser-39, 72, 83 phosphorylated vimentin と GFAP を同定し、免疫沈降で両者と 14-3-3 ϵ, ζ, β との結合を確認した。また vimentin に関しては MS 脱髄巢の reactive astrocytes においてもその発現を認めた。

考察

14-3-3 は神経細胞で構成的に高発現し、その発現は MS 脱髄巢では reactive astrocytes で増加している。特に ϵ はほとんどの reactive astrocytes において高発現し、特異的マーカーと成る可能性が有る。また σ は少数の

reactive astrocytes に限局して高発現し、神経細胞では発現を認めない。培養系でも無血清培養 (growth-arrested cultures) に比較して 10%FBS 添加培養 (proliferating cultures) で発現量が著明に増加する。以上の点から 14-3-3 は isoform 特異的にアストロサイトの増殖シグナル制御に関与している可能性がある。さらに培養ヒトアストロサイトでは 14-3-3 は vimentin および GFAP と結合していることが判明した。Type III intermediate filaments (IF) である vimentin, GFAP の発現量は静止期アストロサイト (resting astrocytes) に比較して、反応性アストロサイトにおいて顕著に増加することが知られている。すなわちアストロサイトの増殖・肥大化では細胞骨格蛋白質 IF の再構築が起こるが、この過程で 14-3-3 も発現量が増加し、vimentin と GFAP を束ねる分子シャペロンとして働いている可能性がある (図)。

結論

MS 脱髄巢において 14-3-3 は reactive astrocytes で高発現しており、vimentin と GFAP をつなぐアダプターとして働き、IF network を制御している可能性がある。

健康危険情報 なし

知的財産権の出願・登録状況

特許出願中：(1) 多発性硬化症に対するインターフェロン・ベータ薬物治療の有効性予測法、(2) 多発性硬化症特異的遺伝子発現プロファイルの解析

実用新案登録：なし

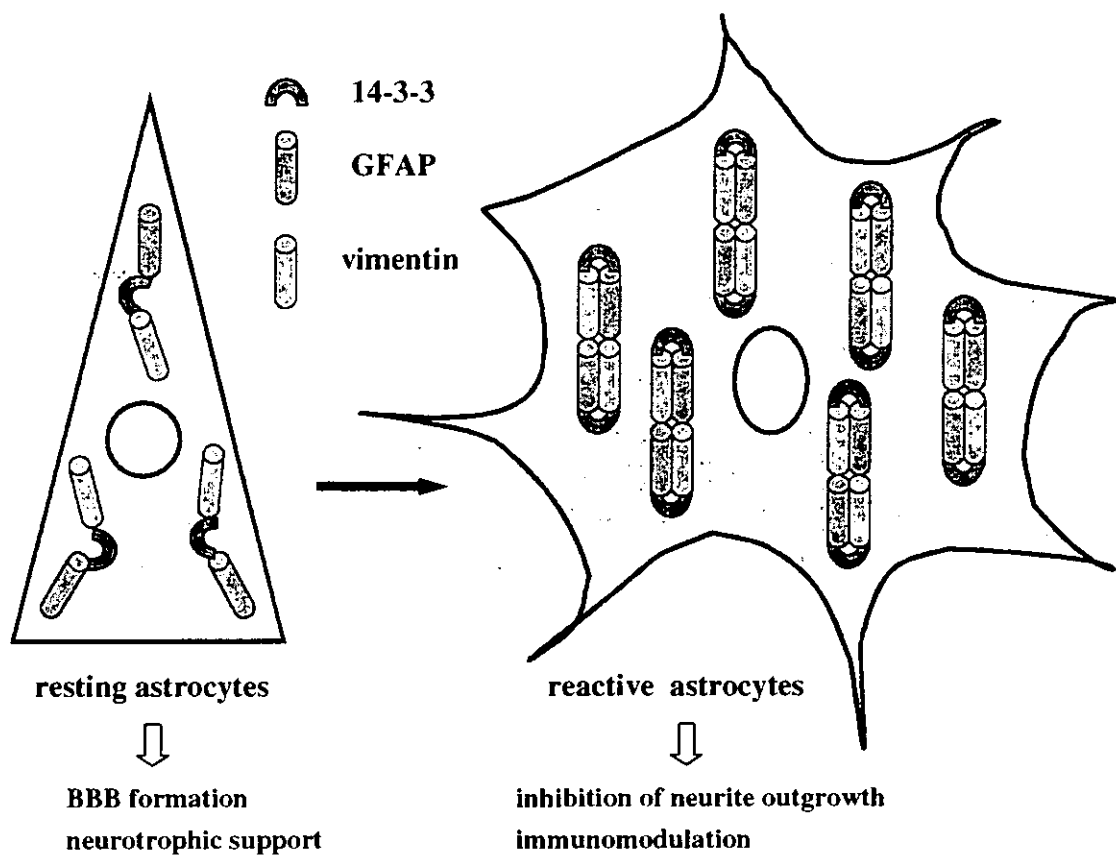


図. 14-3-3 蛋白質のアストログリオーシスにおける役割。14-3-3 は reactive astrocytes で高発現しており、vimentin と GFAP をつなぐアダプターとして働き、intermediate filament network を制御している可能性がある。

炎症性脱髄における神経細胞変性

分担研究者 錫村明生

共同研究者 水野哲也、竹内英之、川ノ口潤、加藤秀紀、久能玲子、金世杰、張桂琴

研究要旨

炎症性脱髄における神経細胞変性の機序を明らかにするために、活性化ミクログリアによる神経細胞の障害作用、炎症性サイトカインの神経細胞に直接および作用について検討した。更に、活性化ミクログリアを制御する薬剤の神経細胞保護作用についても検討した。活性化ミクログリアは、炎症性サイトカイン、NO、活性酸素、興奮性アミノ酸を産生し、神経細胞死を引き起こすが、障害の初期には、beading 形成等 dendrite の障害が著明であった。炎症性サイトカインの神経細胞に直接および作用については、IFN- γ による障害が強く、主に dendrite の retraction、beading 形成、synapse formation が障害された。ibudilast、nicergoline、statin は活性化ミクログリアを抑制することにより神経細胞障害を改善した。

研究目的

近年、多発性硬化症の病態において軸索変性等神経細胞の障害が関与していることが明らかとなっている。活性化ミクログリアは、炎症性脱髄の中心的なエフェクター細胞であり、炎症性サイトカイン、NO、活性酸素、興奮性アミノ酸を産生することにより脱髄に関与している。これらの分子は神経細胞にも障害因子となりうる。また中枢神経に浸潤するT細胞の産生するIFN- γ は、ミクログリアにclass II MHC 抗原を誘導し脳内の免疫反応を活性化する。そこで、活性化ミクログリアによる神経細胞の障害作用、炎症性サイトカインの神経細胞に直接および作用について検討した。

研究方法

C57B6J マウスから分離・培養したミクログリア、大脳皮質神経細胞の共培養を用い、LPS、IFN- γ でミクログリアを活性化し、神経細胞障害の検討を行った。更に抗MAP2抗体で免疫染色し、dendrite の障害についても検討した。次に種々のサイトカインを直接培養神経細胞に投与し、その障害作用

について検討を行った。また、活性化ミクログリアを制御する薬剤の神経細胞保護作用についても検討した。

研究結果

活性化ミクログリアは、神経細胞障害を誘導した(図1)。障害の初期には、beading 形成等 dendrite の障害が著明であった(図2)。炎症性サイトカインの神経細胞に対する直接作用については、IFN- γ による障害が強く、主に dendrite の retraction、beading 形成を生じた。活性化ミクログリアの炎症性サイトカイン(TNF α 、IL1 β 、IL6)やNO産生の抑制効果をもつibudilast、nicergoline、statin は、神経細胞障害を抑制した(図3)。

考察

炎症性脱髄に関与する炎症性サイトカイン、NO、活性酸素、興奮性アミノ酸等の分子は、神経細胞に対しても障害作用を持つことが明らかになった。従って、ミクログリアの活性化を制御することにより、神経細胞障害を軽減することが期待され、これらの作用をもつ上記薬剤は多発性硬化症の治療薬として期待される。また、脳内の免疫反応の活性化作

用をもつ IFN- γ に、軽度ながら神経細胞障害を引き起こす作用が認められたことから、IFN- γ をターゲットとした治療も有効と考えられた。

結論

活性化ミクログリアの産生する炎症性サイトカイン、NO、活性酸素、興奮性アミノ酸を制御することにより、炎症性脱髄の抑制のみならず、神経細胞保護作用も期待される。

文献

- 1) Kim IJ, et al. Interferon γ induces retrograde dendritic retraction and inhibits synapse formation. J Neurosci 22:4530-4539, 2002
- 2) Michael BJ, et al. Interferon γ enhances microglial reactions to hippocampal axonal degeneration. J Neurosci 20:3612-3621, 2000

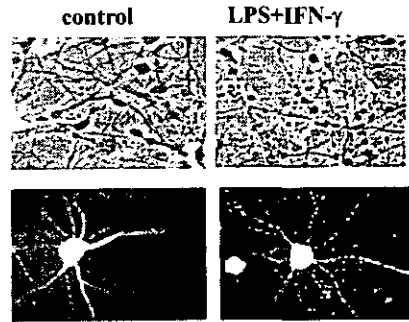


図2. 活性化ミクログリアによるdendritic beadingの形成

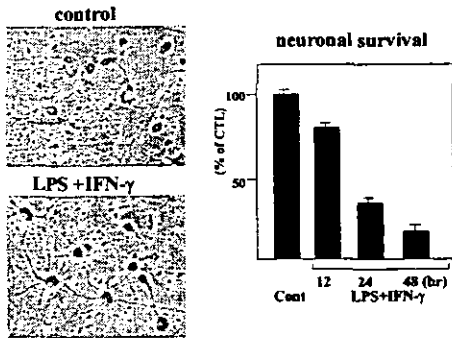


図1. 活性化ミクログリアによる神経細胞障害

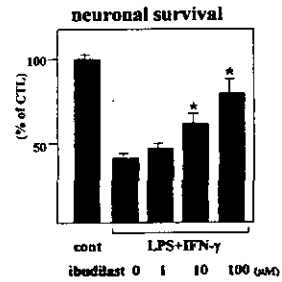


図3. ibudilastによる神経細胞障害の抑制効果

ウイルス性脱髄モデルを用いた脱髄関連遺伝子の探索

分担研究者 大原義朗¹⁾

共同研究者 朝倉邦彦¹⁾, 紺谷靖英¹⁾, 姫田敏樹¹⁾

研究要旨

昨年度 Theiler ウイルスで脱髄をきたす株でのみ産生される L^{*}蛋白と L 蛋白の上流にある Leader Peptide (L 蛋白)の zinc-binding motif の持続感染・脱髄における重要性を組換えウイルスを用いて検討した。本年度はさらに詳細に脱髄発症の機構を解明するため、Bacterial two-hybrid system を用いて L^{*}蛋白, L 蛋白と反応する宿主側遺伝子の検索を行った。その結果, L^{*}蛋白, L 蛋白の標的分子として IFN γ -induced GTPase, apoptosis-inducing DNA sequence, IL-2R γ 鎖などの分子と機能未知のいくつかの分子の cDNA が同定された。既知の遺伝子からは, 宿主の抗ウイルス作用・細胞死を抑制している可能性や, 宿主の CTL 反応を抑制している機構が考えられた。MS との関連が示唆されているヘルペスウイルスなどで同様の機能を持つ蛋白が見出されれば, MS におけるウイルスの果たす役割を明らかにする一助となる可能性があると考えられた。

研究目的

多発性硬化症 (MS) の原因の一つとしてウイルス感染, とくに HHV-6 や E-B ウイルスなどヘルペスウイルス属との関連を示唆する報告が多いが, いまだ明確な結論は得られていない。ヘルペスウイルスはゲノムが 120~250kb と非常に長く, コードされるタンパク質も, 機能の不明なものも含めて非常に多いためその解析は容易ではない。我々はこれまで, Theiler ウイルスを用いた MS 実験モデルにおいてその病態の解明と治療法の開発について取り組んできた。Theiler ウイルスは全長約 8kb の一本鎖 RNA ウイルスで解析が比較的容易であり, DA 株はマウス脊髄に持続感染し脱髄を引き起こし, MS の動物モデルとして用いられている。昨年度脱髄をきたす株でのみ out-of-frame で産生される 17kDa の L^{*}蛋白と L 蛋白の上流にある Leader Peptide (L 蛋白)の zinc-binding motif の持続感染・脱髄における重要性をいくつかの組換えウイルスを用いて検討した。その結果, この zinc-binding motif が持続感染・脱髄に非常に重要であり, その機構に IFN 産生抑制が関与していることが示唆された。本年度はさ

らに詳細に脱髄発症の機構を解明するため, two-hybrid system を用いて L^{*}蛋白, L 蛋白と反応する宿主側遺伝子の検索を行った。

研究方法

迅速かつ効率的な cDNA スクリーニングを目的として, Yeast two-hybrid system に代わり Bacterial two-hybrid system を用いた。DA 株全長 cDNA を含むプラスミドより, L^{*}蛋白, L 蛋白をコードする遺伝子をそれぞれ PCR により増幅し, bait プラスミドベクターに挿入した。Theiler ウイルスはマクロファージ系の細胞に持続感染して脱髄を引き起こすと考えられていることから, 脱髄に関連する L^{*}蛋白, L 蛋白の標的分子はマクロファージ系細胞に存在する可能性が高いため, マウス脾臓 cDNA ライブラリーを作製した bait プラスミドベクターによりスクリーニングを行った。

まず, bait プラスミドベクターと target プラスミドベクターにより大腸菌を形質転換 (cotransformation) し, 抗生剤 (calbenicillin) による選択で 1 次スクリーニングを行った後, 陽性クローンをさらに, X-gal と β -galactosidase 遺伝子を利用した 2 次スクリーニングを行った。2 次スクリーニング陽性クローンよりそれ

¹⁾ 金沢医科大学微生物学講座

ぞれ独立に target プラスミドベクターを抽出し, bait プラスミドベクターとともに形質転換を行い, 最終的に蛋白-蛋白の相互作用を確認した。最終スクリーニングで陽性の target プラスミドベクターに含まれる cDNA の 5' 末端の塩基配列を決定し, 相同性検索を行い遺伝子の同定を行った。

研究結果

L^{*}蛋白を組み込んだ bait ベクターを用いて, 2.0×10^6 の cDNA クローンをスクリーニングした結果, 最終的に 166 個のクローンが得られた。これらのクローンに含まれる cDNA の塩基配列の一部(5'末端)を決定して相同性検索を行った結果, 造血系に関連する遺伝子を除いて, 機能不明の遺伝子が 19 個あり, Theiler ウイルス感染の病態に関与する可能性のある遺伝子として IFN γ -induced GTPase, apoptosis-inducing DNA sequence などのいくつかのシグナル伝達に関連する遺伝子が同定された。これらの遺伝子と慢性感染・脱髄の病態発現機構との関連については現在検討中である。

同様に, L 蛋白については 1.0×10^6 の cDNA クローンをスクリーニングした結果, 最終的に 92 個の陽性クローンが得られた。これらのクローンに含まれる cDNA の塩基配列の一部(5'末端)を決定して相同性検索を行った結果, 造血系に関連する遺伝子を除いて, 機能不明の遺伝子が 2 個あり, 病態に関与する可能性のある遺伝子として IL-2R γ 鎖の細胞内ドメインが同定された。

考察

L^{*}蛋白と相互作用を示す蛋白の遺伝子がクローニングされた。機能が未知の遺伝子も多く, 現時点で L^{*}蛋白およびL蛋白の標的分子を 1 つないしは数個に絞り込むことは困難であった。既知の遺伝子群では, L^{*}蛋白は IFN γ -induced GTPase の機能を抑制して宿主の抗ウイルス作用を抑制している可能性や, 宿主の細胞死を抑制している可能性が示唆された。L蛋白は, IL-2R γ 鎖の細胞内ドメインと結合することにより, そのシグナル伝達をブロックし, 宿

主の CTL 反応を抑制している機構が考えられた。今後疑陽性クローンを効率的に除去し, L^{*}蛋白やL蛋白の標的分子を同定することにより, 脱髄発症の病態解明や H-2 遺伝子に拘束される機構が明らかになるのではないかと考えられる。さらに, MS との関連が示唆されているウイルス, とくにヘルペスウイルスで同様の機能を持つ蛋白が見出されれば, MS におけるウイルスの果たす役割を明らかにする一助となるであろう。

結論

Theiler ウイルス由来の蛋白で, 脱髄発症に関連すると考えられる L^{*}蛋白, L 蛋白の標的分子として IFN γ -induced GTPase, apoptosis-inducing DNA sequence, IL-2R γ 鎖などが同定されたが, 機能未知の分子もあり, 今後の検討が必要と考えられた。

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

多発性硬化症の急性期にIVIgが著効した症例

分担研究者 梶 龍兒¹⁾

共同研究者 村瀬永子¹⁾、和泉唯信¹⁾、坂本 崇¹⁾、島津秀紀¹⁾、野寺裕之¹⁾

研究要旨

多発性硬化症(MS)に対する治療としてのIVIgは、relapsing-remitting MSの再発期間を短縮するため、主として再発頻度を下げる目的で選択される。しかし急性期治療として積極的に選択されることは少ない。初発で、先行感染を伴わない中枢神経の脱随性と考えられる病変を示した患者で、IVIgが著効した2例、および多巣性運動ニューロパチー(Multifocal motor neuropathy: MMN)を合併したrelapsing-remitting MSで、積極的なIVIg治療で中枢病変が軽快した2例を報告する。4症例から、中枢性脱随疾患において、少なくとも他の治療が無効で増悪傾向の時、IVIgは試みられるべき治療法であると考えられた。

A. 研究目的

中枢神経の脱随性と考えられる病変を示した患者で、IVIgが有効であった4症例を提示し、IVIgの積極的な使用について考察する。

B. 研究方法

Case 1および2：初発で、先行感染を伴わない中枢神経の脱随性と考えられる病変を示した患者。Case 3および4：MMNを合併したrelapsing-remitting MSの患者。前2例は他に治療法がないため、また後2例はMMNの治療のためIVIg投与を行った。治療は全て患者の同意書取得のもとで行った。

C. 研究結果

case 1: 32歳女性、主婦。特記すべき既往歴、家族歴なし。2003年8月25日より右

肩の痺れ、28日より右方視で視点がぼやけ、9月3日に右手の痺れと脱力が出現した。9月4日受診時の神経学的所見として、右方向で眼振、Lhermitte sign、右上肢C4-8領域の脱力(MMT 3)、産科医の手の異常姿勢、反射が両上下肢で亢進、位置覚の消失を認めた。同日のMRIで、右深部白質、頸随C2-5で造影効果を伴うT1低信号、T2高信号の病変を認め、髄液では細胞数98/3、タンパク31mg/dl、MBP 1170pg/ml(正常値102>)であった。MSと診断し、ステロイドパルスを2クール施行するが症状は増悪し、10病日で四肢麻痺、四肢の表在覚や温痛覚が低下、位置覚が消失した。14病日より免疫吸着、血漿交換2回行いが、さらに症状は増悪、四肢完全麻痺に加え呼吸筋麻痺、脳神経CVII、IX X、XII障害が出現した。21病日より、白血球除去後ステロイドに併用して、IVIg(献血グロベニン-I 0.4g/kg/d x 5 days)を2クール行った。IVIg開始4日目の24病日より脳神経IX X

1) 徳島大学医学部神経内科

の障害が軽快し、30 病日より呼吸筋麻痺と左下肢の脱力が回復傾向を示し初め、その後四肢麻痺を含めた障害、呼吸筋麻痺が徐々に軽快し、98 病日には四肢の筋力正常、自力歩行可能となり退院した。

case 2: 15 歳女性、高校生。特記すべき既往歴、家族歴なし。2003 年 9 月 24 日に両手 C7-8 領域の痺れと脱力が出現した。その後痺れは右上肢全体に広がった。9 月 27 日嚥下困難、28 日 hiccup がとまらず受診した。受診時の神経学的所見として、脳神経 IX の障害、右片麻痺、反射が両下肢で亢進、右 Th6 以下の触覚低下、Lhermitte sign を認めた。MRI で、延髄より中一下位胸髄レベルまで造影効果を伴う T1 低信号、T2 高信号の病変を認め、髄液では細胞数 30/3、タンパク 110mg/dl であった。MS あるいは ADEM と診断した。症例 1 と同じくステロイドパルスや免疫吸着に抵抗性で、10 病日より四肢完全麻痺、右半身全感覚消失となった。13 病日より IVIg(献血グロベニン・I 0.4g/kg/d x 5 days)を開始し、IVIg 開始 4 日目の 16 病日より右膝より遠位部の感覚が回復傾向を示し、その後四肢麻痺を含めた障害が徐々に軽快し、38 病日には上下肢は右 MMT2-3、左 4+5 に軽快した。

case 3: 49 歳女性 主婦、特記すべき既往歴、家族歴なし。37 歳 右目の球後視神経炎で失明、38 歳 左胸部の知覚過敏、左上下肢の脱力出現 (MMT 3-3+)、MRI で頸部に造影される病変、末梢神経の脱髄性病変があり Devic syndrome に MMN が合併していると診断された。このときはステロイド治療にて軽快した。39 歳から 41 歳 左胸部の知覚過敏が強くなり、左上肢の脱力が悪化、MMT 1-2 になった。m-PSL 30mg id

にもかかわらず、再発したため、IVIg 治療に変更した。IVIg 5g/d x 6 days 投与にて、投与後約 5 日で脱力が改善傾向、10 日で MMT3-3+となった。このようなエピソードを年に 2 回繰り返した。41 歳から 44 歳 左上下肢の MMT は 3-3+で悪化時 MMT 2 程度のエピソードが 4 年間で 6 回あり、そのたびに IVIg を行った。しだいと寛解期の MMT が 4-4+程度になった。44 歳から 46 歳 左上下肢の MMT は 3+-4 で悪化時も痺れ程度になった。4 年で 3 回のエピソードのとき I v I g を 3 日間の点滴に変更した。46 歳から現在にいたるまでの 3 年で年に 1 回の IVIg 5g/d x 3 days で再発がみられず安定。下肢刺激の SEP で、P40 の潜時が症状の増悪時増加、IVIg による寛解に応じて短縮し、中枢病変に効果的であると考えられた。

case 4: 44 歳男性 会社員、特記すべき既往歴、家族歴なし。37 歳の時左手尺側の痺れ、脱力で発症、電気生理検査で MMN と診断された。感覚神経誘発電位 (sensory evoked potential: SEP) の異常から MS が合併していると考えられた。その後 2 回の増悪期は IVIG (ポリグロビン N 5g x 6 days) で軽快した。39 歳の時、左手尺側および両下肢の脱力で再発、ステロイドで軽快した。40 歳左手尺側および両下肢の脱力で再発、IVIg にて 1 ヶ月後軽快し、以後再発なし。下肢刺激の SEP で、P40 の潜時が症状の増悪時増加、IVIg による寛解に応じて短縮した。

D. 考察

SΦrensen が行っている 4 つの文献のメタアナリシスの結果¹⁾では、多発性硬化

症に対する IVIg 投与は再発頻度を下げ、新しい MRI 上の病変を少なくし、病気の増悪を妨げると報告されている。一方急性期の積極的治療としては、急性散在性脳脊髄炎の治療として数例報告があるのみである。しかし、IVIg の抗炎症効果として Samuelsson が報告している抑制性 Fc 受容体の導入²⁾、髄鞘再生の促進、cytokine 産成や interleukin-2 受容体の表現のダウンレギュレーションなどから、炎症機転を作るものとして、急性期の積極的治療の効果も考えられ、今回報告した 4 例はそれを裏付けるものである。

E. 結論

1 MS 初回発症あるいは ADEM の激症型で、IVIg が有効であった 2 例、および MS に合併した MMN で、寛解増悪期での IVIg が中枢の脱髄病変に有効であった 2 例を提示した。

2 一般に寛解増悪型の MS に対して、IVIg が再発の頻度を下げるとしてその有効性が確立されている。今回経験した症例から、中枢性脱髄疾患において、少なくとも他の治療が無効で増悪傾向の時、急性期あるいは増悪期の投与も考慮すべきであると考えられた。

文献

- 1) SΦrensen PS. Treatment of multiple sclerosis with intravenous immunoglobulin: review of clinical trials. *Neurol Sci* 2003, Oct;24 Suppl 4:S227-30.
- 2) Samuelsson A, Towers TL, Ravetch JV. Anti-inflammatory activity of IVIG mediated through the inhibitory Fc

receptor. *Science* 2001, Jan 19;291(5503):445-6.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録情報

特許所得：なし

実用新案登録：なし

小児急性散在性脳脊髄炎およびその類縁疾患に関する疫学的研究

分担研究者 原 寿郎¹⁾

共同研究者 鳥巢浩幸¹⁾、吉良龍太郎¹⁾、安元佐和²⁾、石崎義人³⁾、村上義比古⁴⁾、
下野昌幸⁵⁾、永光信一郎⁶⁾、益崎まゆみ⁷⁾、天本正乃⁸⁾、近藤里香子⁹⁾、
魚住友彦¹⁰⁾、相部美由紀¹¹⁾、權藤健二郎¹²⁾、花井敏男³⁾、松石豊次郎⁶⁾、
白幡 聡⁵⁾、満留昭久²⁾

研究要旨

我々は1998年10月より2003年9月までの5年間に福岡県内で入院した急性散在性脳脊髄炎(ADEM)、多発性硬化症(MS)、横断性脊髄炎(ATM)、視神経炎(ON)の全小児例の集計と臨床像の解析を行った。ADEM 26人(感染後19人、予防接種後4人、特発性3人)、MS 8人、ATM 4人、ON 2人が集計され、ADEM 推定罹患率は年間10万人当たり 0.64 ± 0.26 人であった。ADEM例は平均罹患年齢6.2歳、男女比2.3:1、前駆症状として73%に発熱、初発症状として50%に意識障害と運動麻痺、31%に痙攣を認めた。初診時、81%に髄液細胞増多、34%に蛋白上昇を認めた。84%がmPSL大量療法を受け、70%で後遺症を認めなかった。本調査で我が国の小児ADEMの罹患率が明らかとなり、発症年齢や性比でMSとの相違が認められた。諸外国の報告と比較し、我が国のADEM例は発熱・痙攣を示す割合が高かったが、人種差・地域差に関してはさらなる検討が必要である。

研究目的

急性散在性脳脊髄炎(ADEM)はウイルス感染や予防接種に関連して発症する单相性の脳脊髄炎で、その病態には自己免疫機序が関わりと考えられている。

近年、海外での小児ADEMの症例調査の報告が散見されるが¹⁻³⁾、我が国では1984年に厚生省特定疾患免疫性神経疾患調査研究班が小児多発性硬化症全国症例調査⁴⁾で小児ADEM 45例の解析を行って以来、多症例を集めた症例調査は実施されていない。

ADEMの疫学的検討は、急性脳炎関連の調査結

- 1) 九州大学大学院医学研究院 成長発達医学分野
- 1) 福岡大学 小児科 3) 福岡市立こども病院 小児神経科
- 4) 大牟田市立総合病院 小児科 5) 産業医科大学 小児科
- 6) 久留米大学医学部 小児科 7) 福岡大学筑紫病院 小児科
- 8) 北九州市立八幡病院 小児科 9) 麻生飯塚病院 小児科
- 10) 新日鐵八幡病院 小児科 11) 九州労災病院 小児科
- 12) 北九州市立医療センター 小児科

果をもとに行われ、その罹患率は年間10万人に対し0.2人前後と推定されるが⁵⁾、母集団が小規模な場合や不確実な場合が多い。

今回、我々は小児ADEMとその類縁疾患の疫学的特徴と臨床像を明らかにするために、福岡県(人口約495万人、総人口の約4%)を対象地域として後方視的に疫学調査を行い、罹患率の推定と臨床像の統計的解析を行った。

研究方法

1次調査

福岡県内の小児科を標榜する全病院(108病院)の小児科医長または小児科担当者に対して調査票によるアンケート調査を行い、1998年10月より2003年9月までの5年間に入院したADEM、多発性硬化症(MS)、横断性脊髄炎(ATM)、視神経炎(ON)症例の集計を行った。

ADEMの診断は、「a. 急性に発症し、中枢神

経症状を認める。b. 経過中に頭部 MRI 検査で中枢神経系に散在性の脱髄病変を認める。c. 感染性脳炎および脳血管炎ではない。」を全て満たすこととし、脱髄病変が 1 箇所の場合、脱髄病変以外に皮質病変がある場合、他の疾患が否定できない場合は疑いとした。

2 次調査

全該当症例に対して個人識別情報があらかじめ削除された調査票を用いて、罹患年齢、性別、既往歴、症状、病変部位、治療、予後等の匿名化された臨床資料を収集し、解析を行った。尚、資料作成は全例小児神経科医が行った。

本研究は九州大学医学部倫理委員会の承認を受けている。

研究結果

1 次調査の結果

全調査対象病院より回答を得た（回答率 100%）。1998 年 10 月より 2003 年 9 月までの 5 年間に福岡県では ADEM 26 人（感染後 ADEM 19 人、予防接種後 ADEM 4 人、特発性 ADEM 3 人）および疑い 2 人、MS 8 人および疑い 2 人、ATM 4 人および疑い 1 人、ON 2 人が集計された。福岡県における調査期間 5 年間の小児（15 歳未満）累積人口は 3,733,258 名であり、小児期の ADEM 推定罹患率は年間 10 万人当たり 0.64 ± 0.26 人、MS は 0.21 ± 0.15 人、ATM は 0.11 ± 0.11 人、ON は 0.05 ± 0.07 人であった。（表 1）

2 次調査の結果

ADEM 平均観察期間 1.6 年

(1) 患者背景

男 18 人 女 8 人（男女比 2.3 : 1）

家族内発症 なし

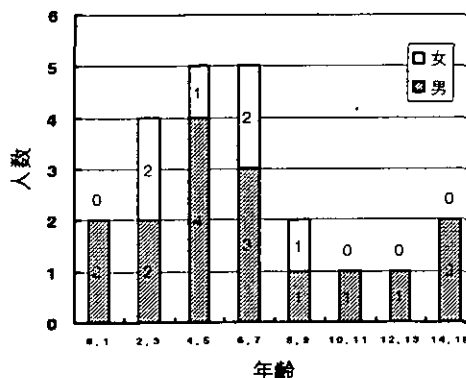
表 1. 福岡県 5 年間の小児 ADEM・類縁疾患罹患患者数

	ADEM	MS	ATM	ON
罹患患者数	24 (2) *	8 (2)	4 (1)	2
罹患率	0.64	0.21	0.11	0.05
標準誤差 †	0.26	0.15	0.11	0.07

(1998 年 10 月～2003 年 9 月)

() は疑い数 †: 信頼度 95% * 15 歳症例 2 人を除く

図 1. 小児 ADEM 罹患年齢分布
(予防接種後を除く)



罹患年齢分布（予防接種後を除く）(図 1)

罹患年齢平均 6.2 歳

誘因 上気道炎、胃腸炎

病原体判明例 3 例：マイコプラズマ、インフルエンザ、EV71（手足口病）

予防接種：日本脳炎、風疹、B 型肝炎、ポリオ

発症までの期間 2-30 日間（平均 17.7 日間）

(2) 症状 () は症状を示したものの割合

前駆症状 発熱 (73%) 頭痛 (38%)

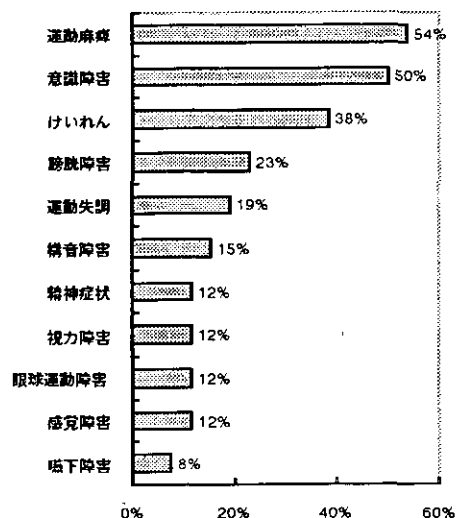
初発症状 歩行障害 (54%) 意識障害 (50%)

けいれん (31%) 排尿障害 (19%)

項部硬直 (23%)

全経過中の臨床症状 (図 2)

図 2. ADEM 症例の臨床症状 (N=26)



(3) 検査成績 (初診時)

CRP <1.5mg/dl	(92%)
末梢血白血球 >10,000/mm ³	(62%)
髄液細胞数 >10/mm ³	(81%)
髄液蛋白 >40mg/dl	(35%)
オリゴクローナルバンド陽性	0/18 人

(4) 頭部 MRI 画像所見 (T2 強調または FLAIR 法)

病変の個数

4 個以上 (94%)

病変分布

大脳 (100%) 大脳における分布: 図 3

脳幹 (27%) 小脳 (35%)

脊髄 (23%) 視神経 (8%)

病変の性状

造影効果あり (27%)

(6) 治療

mPSL 大量療法 (84%)

施行者のうち、効果有り (100%)

経口ステロイド療法のみ (8%)

施行者のうち、効果有り (100%)

ガンマグロブリン療法のみ 1 人

効果あり

(7) 予後

後遺症なし (74%)

軽度運動障害 (13%)

視力障害 (9%)

考察

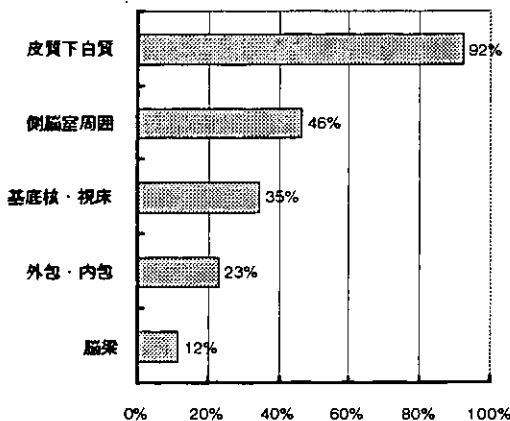
今回の調査で、我が国における小児 ADEM の罹患率をはじめ明らかとなった。今回調査した ADEM 症例には将来 MS となるものが含まれると考えられるが、過去の報告ではその割合は 10%以下とされており⁶、概数は把握できたと考えられた。

小児 ADEM では MS と異なり、男女比は 2.3:1 で男性が多く、5、6 歳に発症のピークが認められた。感染後 ADEM と予防接種後 ADEM の合計が 88%であることを考慮すると、この結果は多くの小児 ADEM は感染病原体の侵入によって惹起される 2 次性脳炎であり、MS との発症機構の相違を示しているものと考えられる。

本調査の ADEM 症例では運動障害に加え、有熱時の意識障害やけいれんで発症し、髄液細胞数が増加しているものが多数認められた。この臨床的な特徴は脱髄巣が皮質下に散在することが多いことと関連していると考えられるが、我が国の小児 ADEM 例は諸外国例と比較して大脳病変の相違が明らかでないにもかかわらず、発熱の割合が高く、けいれん例が多い。(表 2) 我が国の ADEM の臨床像には ADEM 本来の病態に加えて、他の要因が関与している可能性がある。

ADEM の疫学的調査は乏しいため、他調査との比較ができないが、MS で認める地域差や latitude effect ならびに人種差、民族差などがあるかどうか今後の検討が必要である。

図 3. ADEM 症例の大脳病変の分布



結論

1) 我が国の小児期の ADEM 推定罹患率は年間 10 万人当たり 0.64±0.26 人であった。

1) 小児 ADEM の発症年齢分布は 5、6 歳にピークを有し、平均値 6.2 歳、男女比は 2.3:1 であり、MS との相違が認められた。

1) 外国の報告と比較し、我が国の ADEM 例は発熱・痙攣を示す割合が高かったが、人種差・地域差に関してはさらなる検討が必要である。

表 2

Comparison of 4 Pediatric ADEM Studies				
Parameters	Present	Murthy (1)	Dale (2)	Hynson (3)
Demographics				
Study type	Retrospective	Retrospective	Retrospective	Retrospective
Geographical area	Japan	USA	UK	Australia
Number of patients	26	18	28	31
Age (y; range, mean)	0-15, 6	2-22, 8	3-15, 7	2-16, 6
Sex ratio (M/F)	2.25	1.57	1.19	0.72
Preceding infection (%)	73	72	74	77
Clinical findings (%)				
Motor sign	54	77	71	23
Altered consciousness	50	45	69	68
Fever	73	39	43	52
Cranial neuropathy	11	23	51	45
Seizures	38	17	17	13
Laboratory findings (%)				
Leucocytosis	62	39	64	62
CSF pleocytosis	81	69	64	62
Elevated CSF protein	35	55	60	45
MRI findings				
Subcortical white matter lesions	92	93	91	90
Thalamic lesions	14	27	41	32
Periventricular lesions	46	60	44	29

文献

- Murthy SNK, et al.: Acute Disseminated Encephalomyelitis in Children. *Pediatrics* 110: e21, 2002.
- Dale RC, et al.: Acute disseminated encephalomyelitis and multiphasic disseminated encephalomyelitis and multiple sclerosis in children. *Brain* 123:2407-2422, 2000.
- Hynson JL, et al.: Clinical and neuroradiologic features of acute disseminated encephalomyelitis in children. *Neurology* 56:1308-1312, 2001.
- 福山幸夫ほか：小児多発性硬化症全国症例二次調査報告。厚生省特定疾患免疫性神経疾患調査研究班，昭和 59 年度研究報告書，p22-27, 1985
- Kamei S, Takasu T: Nationwide survey of the annual prevalence of viral and other neurological infections inpatients. *Intren Med* 39:894-900, 2000
- Rust RS: Multiple sclerosis, acute disseminated encephalomyelitis, and related conditions. *Semin Pediatr Neurol* 7:66-90, 2000.

健康危険情報

なし

知的財産の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案特許：なし

急性散在性脳脊髄炎における髄液中サイトカインの検討

分担研究者 古川 漸¹⁾

共同研究者 市山高志¹⁾、伊住浩史¹⁾、加藤光広²⁾、小沢 浩³⁾、沢石由記夫⁴⁾、
庄司紘史⁵⁾

研究要旨

急性散在性脳脊髄炎 (ADEM) 18 例の急性期における髄液中サイトカインを測定し、本症の免疫病態を検討した。髄液を用いて interleukin-1 β (IL-1 β)、IL-6、IL-10、tumor necrosis factor- α (TNF- α)、soluble TNF receptor 1 (sTNFR1)、interferon- γ を ELISA キットで測定した。急性期の髄液中 IL-6、IL-10、TNF- α 、sTNFR1 は 18 例中それぞれ 16 例、13 例、3 例、11 例で上昇していた。IL-10 と sTNFR1 には正の相関があった。sTNFR1 上昇群のミエリン塩基性蛋白 (MBP) は sTNFR1 正常群の値に比して有意に高値だった。髄液中 IL-1 β と IFN γ の上昇はみられなかった。TNF- α の半減期は 30 分で、その増加はとらえにくい。一方 sTNFR1 は TNF- α の真の生物学的活性を反映するとされる。髄液中 sTNFR1 上昇例が 11 例に比し TNF- α 上昇例が 3 例に過ぎず、これは TNF- α の産生が短時間であることを推測させる。また sTNFR1 上昇群で MBP がより高値で、オリゴデンドロサイトの傷害に TNF- α が関与していることが示唆された。

研究目的

急性散在性脳脊髄炎 (acute disseminated encephalomyelitis; ADEM) について、これまで私どもは、急性期に末梢血中で interferon γ (IFN γ) 産生 CD3 陽性 T 細胞が増加し、病状と相関することや回復期の髄液中でオリゴデンドロサイトの神経栄養因子である ciliary neurotrophic factor が上昇することを報告した [1, 2]。ADEM の免疫病態を髄液中サイトカインの解析から検討した。

研究方法

対象は 1997 年 4 月～2000 年 11 月までに山口大学医学部附属病院小児科および関連病院、山形大学医学部附属病院小児科および関連病院、東京都立八王子小児病院、秋田大学医学部附属病院小児科、久留米大学医学部附属病院第一内科に入院した ADEM18 例 (2～26 歳、平均 5.9 歳、男性 9 例、女性 9 例)。コントロールは神経疾患の精査で採取した無熱、非感染症の 25 例 (2～14 歳、平均 5.8 歳、男性 12 例、女性 13 例)。

方法は髄液を用いて interleukin-1 β (IL-1 β)、IL-6、IL-10、tumor necrosis factor- α (TNF- α)、soluble TNF receptor 1 (sTNFR1)、IFN γ を ELISA キットで測定した。

- 1) 山口大学医学部小児科
- 2) 山形大学医学部小児科
- 3) 東京都立八王子こども病院小児内科
- 4) 秋田大学医学部小児科
- 5) 久留米大学医学部第一内科

研究結果

急性期の髄液中 IL-6、IL-10、TNF- α 、sTNFR1 は 18 例中それぞれ 16 例、13 例、3 例、11 例で上昇していた。IL-10 と sTNFR1 には正の相関があった ($r=0.78$ 、 $p<0.01$)。sTNFR1 上昇群のミエリン塩基性蛋白 (MBP) は sTNFR1 正常群の値に比して有意に高値だった ($p<0.05$)。髄液中 IL-1 β と IFN γ の上昇はみられなかった。

考察

TNF- α の半減期は 30 分で、その増加はとらえにくい。一方 sTNFR1 は半減期が長く TNF- α の真の生物学的活性を反映するとされる。髄液中 sTNFR1 上昇例が 11 例に比し TNF- α 上昇例が 3 例に過ぎず、これは TNF- α の産生が短時間であることを推測させる。また sTNFR1 上昇群で MBP がより高値で、オリゴデンドロサイトの傷害に TNF- α が関与していることが示唆された。ADEM の急性期では IL-6、TNF- α が関与する炎症が中枢神経系内で短時間生じ、それに呼応しての抗炎症性サイトカインである IL-10 の産生が示唆された。

結論

ADEM の急性期における髄液中サイトカインを解析した。IL-6、TNF- α が関与する炎症が中枢神経系内で短時間生じ、それに呼応しての抗炎症性サイトカインである IL-10 の産生が考えられた [3]。

文献

- [1] Yoshitomi T, Matsubara T, Nishikawa M, Katayama K, Ichiyama T, Hayashi T, Furukawa S. Increased peripheral blood interferon gamma-producing T cells in acute disseminated encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 2000; 111: 224-228.
- [2] Ichiyama T, Nishikawa M, Yoshitami T, Matsubara T, Hayashi T, Furukawa S. Elevated cerebrospinal fluid level of ciliary neurotrophic factor in acute disseminated encephalomyelitis. *J Neurol Sci* 2000; 177: 146-149.
- [3] Ichiyama T, Shoji H, Kato M, Sawaishi Y, Ozawa H, Matsubara T, Furukawa S. Cerebrospinal fluid levels of cytokines and soluble tumor necrosis factor receptor in acute disseminated encephalomyelitis. *Eur J Pediatr* 2002; 161: 133-137.

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

Table 1. Data for the 18 patients with acute disseminated encephalomyelitis.

Patient No./Age/Sex	T2 high intensity lesions on MRI	Days	CSF					
			Cell (/μl)	Protein (mg/dl)	MBP (ng/ml)	IL-6 (pg/ml)	sTNFR1 (ng/ml)	IL-10 (pg/ml)
1/5 yr/F	CWM (multiple), cerebellum	2	31	47	28.7	2,514	2.43	2.4
2/5 yr/F	CWM (multiple), basal ganglia	13	24	47	13.2	1,230	7.05	105
3/2 yr/M	CWM (multiple)	3	436	55	6.0	232	0.84	<2.0
4/5 yr/M	CWM (multiple), cerebellum	16	1	18	8.8	4.2	2.70	7.2
5/9 yr/M	CWM (multiple)	2	41	104	29.2	908	3.06	21.0
6/3 yr/F	CWM (multiple)	3	12	24	<4.0	10.6	0.96	2.4
7/5 yr/F	CWM (multiple), thalamus	2	96	39	7.4	364	1.88	4.2
8/3 yr/M	CWM (multiple), cerebellar peduncle	5	10	30	7.1	198	2.49	11.0
9/14 yr/M	CWM (multiple), brainstem	6	96	400	6.0	136	4.05	19.0
10/26 yr/M	Brainstem, cerebellar peduncle	11	114	59	6.5	849	0.51	4.1
11/21 yr/M	CWM (multiple), basal ganglia	7	31	56	ND	1,049	3.96	2.1
12/3 yr/F	CWM (multiple)	3	14	36	<4.0	73.8	0.28	<2.0
13/11 yr/M	CWM (multiple), basal ganglia, cerebellar peduncle	4	59	44	32.0	86.5	2.98	<2.0
14/5 yr/F	CWM (multiple), cerebellum	10	24	29	<4.0	56.6	0.30	<2.0
15/9 yr/F	CWM (multiple)	16	82	ND	<4.0	733	3.11	14.6
16/6 yr/F	Spinal cord (multiple)	9	3	27	10.7	<3.1	0.46	3.6
17/6 yr/M	CWM (multiple), brainstem	5	13	33	25.6	358	2.67	13.1
18/16 yr/F	CWM (multiple), basal ganglia, brainstem	9	0	131	ND	<3.1	1.54	<2.0

MBP = myelin basic protein; CWM = cerebral white matter; ND = not done.

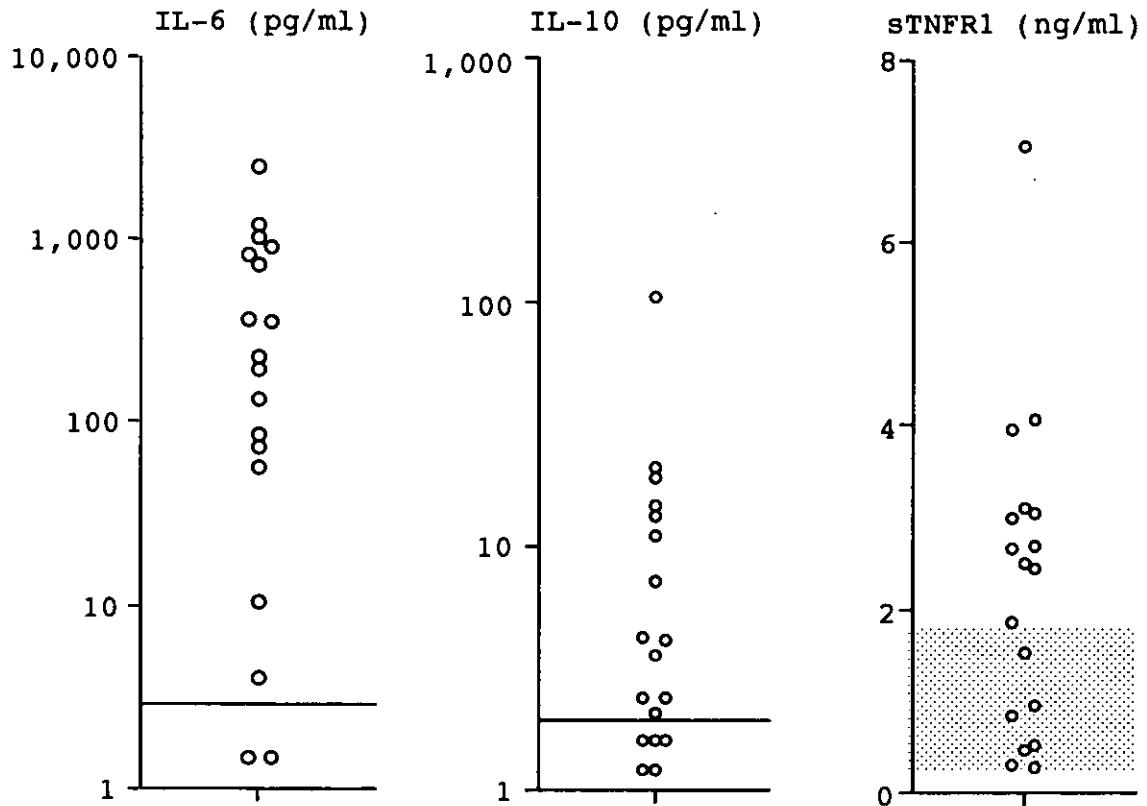


図1. ADEMの髄液中IL-6, IL-10, sTNFR1値

アトピー性脊髄炎と寄生虫性脊髄炎における免疫動態の差異

分担研究者 村井弘之¹⁾

共同研究者 小副川学¹⁾、石津尚明¹⁾、梅風君¹⁾、三野原元澄¹⁾、越智博文¹⁾、
内山ふくみ²⁾、広松賢治²⁾、名和行文²⁾、吉良潤一¹⁾

研究要旨

アトピー性皮膚炎が先行し、後に脊髄炎を発症する病態の存在を指摘し、アトピー性脊髄炎として報告している。また最近全身症状を欠くか乏しい寄生虫性脊髄炎が報告されている。そこで今回5年間に九州大学神経内科で新規に入院精査された連続108例の中でその割合を検討すると、アトピー性脊髄炎および寄生虫性脊髄炎はそれぞれ30%、5%であり、現代日本の非圧迫性ミエロパチーの中で少なくないと考えられた。また、寄生虫性脊髄炎自験7例の特徴として、①血清および髄液にて抗寄生虫抗体値が陽性である、②全例でMRI上の病巣のわりに症候が軽微である、③画像上は全例で比較的大きなT2高信号病巣のごく一部がガドリニウムで造影されるという特徴を有することを示した。アトピー性脊髄炎と寄生虫性脊髄炎において、髄液細胞内サイトカインおよび髄液上清サイトカインおよびケモカインを検討すると、寄生虫性脊髄炎ではアトピー性脊髄炎例に比べてIFN γ -IL-4⁺CD4陽性T細胞%の著明な増加を示す例がみられ、またIL-5値が有意に高値であり、この両者は全く異なる病態を背景としてもつことが示唆された。

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。これまでの班会議において、アトピー素因を伴う脊髄炎の全国調査結果を報告し、全国的に類似の症例が分布していることを指摘した。一方、我々はイヌ回虫やブタ回虫による全身症状を欠くか乏しい寄生虫性脊髄炎(parasite myelitis: PM)の存在を報告している。そこで今回我々は、当科における非圧迫性の脊髄症に占める両疾患の意義を明らかにすることを第1の目的とした。次に、PMの臨床像を明らかにすることを第2の目的とした。さらにAMとPMにおける髄液中の細胞内及び上清中のサイトカインおよびケモカイン産生の差異を明らかにすることを第3の目的とした。

研究方法

1) 非圧迫性ミエロパチーの成因の検索

MRI上圧迫所見のない脊髄症(非圧迫性ミエロパチー)で、1998年1月から2002年12月までの5年間に九州大学神経内科で新規に入院精査された連続108例を対象とし、retrospectiveに臨床記録を調査した。

2) 寄生虫性脊髄炎の臨床像の解析

最近5年間の寄生虫性脊髄炎(PM)自験7例に関して臨床記録を調査した。PMの診断は血清及び髄液抗寄生虫抗体価が高値で他の原因が除外されることとした。

3) 末梢血および髄液中CD4陽性T細胞内サイトカイン測定

対象はAM7例、PM4例、その他の非炎症性神経疾患(OND)13例、健常群(末梢血のみ)8例とした。髄液を採取後ただちに4℃、800rpmで5分間遠心、末梢血は採血後比重遠沈法でリンパ球を分離した。得られた細胞をPMA(25ng/ml)、ionomycin(1 μ g/ml)、brefeldin A(10 μ g/ml)

1) 九州大学医学部神経内科学

2) 宮崎大学医学部寄生虫学

存在下で37°C、4時間培養し、CD4、IFN γ 、IL-4で免疫染色後、フローサイトメトリー法で測定した。CD4陽性T細胞内のIFN γ ⁺IL-4⁺細胞%、IFN γ ⁻IL-4⁺細胞%を測定し、これらの比であるintracellular IFN γ /IL-4 ratioを計算した。

4) 髄液サイトカインおよびケモカイン測定

AM 14例、PM 4例、OND 14例の髄液を用いた。サイトカインの測定はBio-Plex サスペンションシステム(Bio-Rad)を用い、今回IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12(p70)、IL-13、IL-17、IFN- γ 、TNF- α 、G-CSF、MIP-1 β 、MCP-1の16種を測定した。各サイトカインに対する抗体を結合させたビーズと12 μ lのサンプルとを混合し、30分間反応させ、洗浄後にビオチン化抗体を加え、さらに30分間反応させた。洗浄後、ストレプトアビジン-フィコエリスリンを加え、10分間反応させ、Bio-Plex サスペンションアレイシステムにより測定。3)、4)に関して群間比較をKruskal-Wallis test、Mann-Whitney U test with Bonferroni correctionを用いて行った。

研究結果

1) 108例の非圧迫性ミエロパチーのうち、64%が急性一亜急性、36%が慢性の経過を示した。成因としては、感染性23% (うちPM 5%)、自己免疫性12%、血管障害性9%、変性9%、代謝性3%、腫瘍性・脊髄空洞症3%、原因不明13%であり、AMは30%であった。

2) 当科で経験したPMの臨床および検査成績を表1に示す。PMのうち、5例はイヌ回虫性、2例はブタ回虫性であった。末梢血好酸球増加は1例で高度、4例で軽度、2例でみられなかった。髄液好酸球増加は2例でのみみられた。臨床的には全例でMRI上の病巣のわりに症候が軽微であった。画像上は全例で比較的大きなT2高信号病巣の一部がガドリニウムで造影された。

3) PM 4例中3例でAM群、OND群と比べて髄液IFN γ ⁻IL-4⁺CD4陽性T細胞%の著明な増加を示した(図1)。全体としてみると統計学的には、ONDに比べ、PM群は髄液IFN- γ ⁻IL-4⁺CD4陽性T細胞

%において有意に高値であった(PM: 12.5 \pm 8.3% vs. AM: 1.5 \pm 1.6%, p=0.0167)。末梢血では明らかな統計学的有意差は認められなかった。

4) 各サイトカインの平均値(pg/ml)を表2に示す。OND群と比べて、AM群およびPM群でIL-8が有意に高く(OND vs. AM: p=0.0033, OND vs. PM: p=0.0041)、AM群ではOND群と比べてIFN γ が有意に高かった(p=0.0033)。また、PM群において、OND群、AM群と比べ、有意にIL-5が高値であった(PM vs. OND: p=0.0079, PM vs. AM: p=0.0107)(図2)。

考察

現代日本の非圧迫性ミエロパチーの中では、アトピー素因を伴う脊髄炎と寄生虫性脊髄炎が少なくないことが示された。両者は末梢血で高IgE血症や好酸球増多を伴う点で共通しており、鑑別が重要である。PMの中では、髄液の細胞増多や髄液中への好酸球浸潤が明らかでない例があり、診断が難しい。髄液では、PMは上清中のIL-5が高値である点、髄液細胞内サイトカイン産生でIFN- γ ⁻IL-4⁺CD4⁺T細胞の著明な増加が見られる例のある点に特徴がある。これらの点は両者の鑑別上参考になるとともに、両者の脊髄炎発症機序の差を反映していると考えられる。

結論

PMとAMはともに末梢血ではTh2細胞優位な状態で脊髄炎を発症しているが、髄液免疫動態には明らかな差があり、髄腔内ではPMはIL-4、IL-5等のTh2系の亢進がみられ、一方AMではこのような所見はみられない。

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