

し、実際に早期 RA の診断に役立つかどうかの検討を開始する。RNA は全血から抽出し、Affimetrix 社の Human Genome U133Plus2 を用いて解析する。さらに、RA と診断された症例については、6 ヶ月後の検体についてもマイクロアレイでの解析を施行し、初診時との比較を行う。

### C. 研究結果

現在まだ、RA9 例、健常人7名の比較であるが、RA 末梢血で健常人と比較して2倍以上に上昇していた遺伝子は、急性期反応性蛋白である C4A, PAPSS, 赤血球系遺伝子である Glycophorin A, Glycophorin B, Glycophorin E, Hemoglobin delta, ALAS2, SLC4A1 などの他、SLC6AB, GPR146, C20, DKFZP434C09, Guanylate cytlease, ZNF216, SUFU などの遺伝子であった。

RA 末梢血で健常人と比較して2倍以上に減少していた遺伝子は、370 遺伝子以上あった。其の内訳では、シグナル伝達に関与する分子、細胞接着に関与する分子、細胞内の vesicle transport に関する遺伝子、細胞周期に関する遺伝子等が多かった。いずれも、多発性硬化症でみられたものとは、著しく異なる遺伝子プロファイルを示した。

### D. 考察

多発性硬化症では T 細胞の遺伝子プロファイルが健常人とは異なることが明らかとなってきた。そこで、このプロファイルが他の自己免疫疾患もしくは、他の中枢神経疾患と区別しうる特異的なものを検討することが今後重要と考えられる。診断的に有効かどうかを検討するため、本研究では、Th 1 優位な臓器特異的自己免疫疾患

である RA の遺伝子プロファイルについて検討した。今回は末梢血全体を用いて検討したが、その遺伝子発現は多発性硬化症とは大きく異なり、多発性硬化症でみられた特徴的な遺伝子プロファイルは、疾患特異的であることが示唆された。診断用にマイクロアレイを用いることは、コスト面でまだ実用には問題がある。今後更に廉価で解析できるシステムの開発が重要である。また、疾患特異性を示すために、他の自己免疫疾患、感染性脳炎、ベーチェット病等を含む脳神経疾患についても、その遺伝子プロファイルについて検討することが必要である。

### E. 結論

RA で上昇のみられた遺伝子群は、多発性硬化症で上昇がみられた遺伝子群と異なっていた。多発性硬化症に特異的な DNA チップの開発は疾患特異性があることが期待できる。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### I 論文発表

原著

- 1) Chiba A, Oki S, Miyamoto K, Hashimoto H, Yamamura T and Miyake S. Suppression of collagen-induced arthritis by natural killer T cell activation with OCH, a sphingosine-truncated analog of alpha-galactosylceramide.

- Arthritis Rheum.** 50(1): 305-313, 2004
- 2) Oki S, Chiba A, Yamamura T and Miyake S. The clinical implication and molecular mechanism of preferential IL-4 production by modified glycolipid-stimulated NKT cells. **J. Clin. Invest.** 113(11): 1631-1640, 2004
- 3) Takahashi T, Miyake S, Endoh M and Yamamura T. The regulatory role for natural killer cells in the "smoldering" state of multiple sclerosis. **Brain** 127, 1917-1927, 2004
- 4) Nakai Y, Iwabuchi K, Fujii S, Ishimori N, Dashtsoodol N, Watano K, Mishima T, Iwabuchi C, Kato K, Tanaka S, Bezbradica JS, Nakayama T, Taniguchi M, Miyake S, Yamamura T, Kitabatake A, Joyce S, Van Kaer L and Onoe K. Natural killer T cells accelerate atherogenesis in mice. **Blood** 104(7), 2051-5059, 2004
- 5) Satoh J-i, Nakanishi M, Koike F, Miyake S, Yamamoto T, Kawai M, Kikuchi S, Nomura K, Yokoyama K, Ota K, Kanda T, Fukazawa T and Yamamura T. Microarray analysis identifies an aberrant expression of apoptosis and DNA damage-regulatory genes in multiple sclerosis. **Neurobiol. Dis.** In press
- 6) Ueno, Y., S. Tanaka, M. Sumii, S. Miyake, S. Tazuma, M. Taniguchi, T. Yamamura and K. Chayama: Single dose of OCH improves mucosal Th1/Th2 cytokine balance and prevents experimental colitis in the presence of Va14 NKT cells in mice. **Inflamm. Bowel Disease** In press
- 7) Hashimoto D, Asakura S, Miyake S, Yamamura T, van Kaer L, Liu C, Tanimoto M, Teshima T. Stimulation of host natural killer T cells by synthetic glycolipid regulates acute graft-versus-host disease by inducible Th2 polarization of donor T cells. **J. Immunol.** 174(1):551-556, 2005
- 総説
- 1) 三宅幸子: NKT 細胞と自己免疫疾患 **内科** 93(2): 213-216, 2004
- 2) 三宅幸子: 免疫制御細胞と自己免疫疾患 **Mol. Med.** 41(2):177-182, 2004
- 3) 三宅幸子: ナチュラルキラーT 細胞を標的とした糖脂質による多発性硬化症の分子治療 **医学のあゆみ** 208(5):449-453, 2004
- 4) 三宅幸子: NKT 細胞の機能改変を目指した変異リガンド **現代医療** 36(7):113-1443, 2004
- 5) 三宅幸子: Cbl ファミリーと自己免疫 **分子リウマチ** 1(3):16-22, 2004
- 6) 大木伸司、三宅幸子: ナイーブ T 細胞の共刺激における LFA-1 の作用機序 **臨床免疫** 42(3): 375-8, 2004
- 7) 三宅幸子: 自己免疫疾患と細胞性免疫 **MEDICO** 35(10):9-11, 2004
- 8) 三宅幸子: NKT 細胞と自己免疫疾患 **医学のあゆみ** 211(6):715-720, 2004
- 9) 千葉麻子、三宅幸子: NKT 細胞を標的とした

関節炎治療法の開発 **リウマチ科** In press

10) 三宅幸子: NKT 細胞からの TH2 サイトカイン 産生を誘導する合成糖脂質 **臨床免疫** 42(2): 202-5, 2004

11) 三宅幸子: NKT 細胞を標的とした自己免疫疾患治療法 **アレルギー科** 18(6): 467-75, 2004

## II 学会発表

### 国際学会

1) Masumura M, Miyake S, Miyamoto K, Mizuno M and Yamamura T. A new synthetic glycolipid OCH suppressed experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) by inducing Th2 bias of natural killer (NK) T cells. 56<sup>th</sup> Annual Meeting of American Academy of Neurology, San Francisco, April 27, 2004

2) Oki S, Chiba A, Yamamura T, Miyake S. The molecular mechanisms of preferential IL-4 production by modified glycolipid-stimulated NKT cells. 12<sup>th</sup> International Congress of Immunology and 4<sup>th</sup> Annual Conference of FOCIS, Montreal, July 19, 2004

3) Miyake S, Chiba A, Yamamura T, Oki S. The molecular basis of preferential IL-4 production by OCH-stimulated NKT cells. The 3<sup>rd</sup> International Workshop on NKT cells and CD1 Antigen Presentation, Australia, Sept. 9, 2004

4) Takeda K, Ikarashi Y, Miyake S, Yamamura T, Wakasugi H, Kronenberg M, Okumura K. Modulation of iNKT cell responses by their specific ligands. The 3<sup>rd</sup> International Workshop on NKT cells and CD1 Antigen Presentation, Australia, Sept. 9, 2004

5) Oki S, Mizuno M, Tomi C, Yamamura T, Miyake S. Molecular basis of NKT cell aptitude as primary source of cytokine production for regulation of immune responses in vivo. The 3<sup>rd</sup> International Workshop on NKT cells and CD1 Antigen Presentation, Australia, Sept. 9, 2004

6) Chiba A, Kaieda S, Oki S, Yamamura T, Miyake S. The critical role of NKT cells in the pathogenesis of collagen-induced and antibody-induced arthritis. American College of Rheumatology 68<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting, Orlando, Florida, October 25, 2003 (Arthritis Rheum. 50:S270, 2004)

### 国内学会

1) 林幼偉、三宅幸子、山村隆: SJL/J マウスに脳炎惹起性を有するペプチド間のヒエラルキーおよび制御性機能に関する研究、第 16 回日本神経免疫学会、2004 年 1 月 30 日、東京

2) 升村誠、三宅幸子、山村隆: 新規糖脂質 OCH リガンドによる多発性硬化症治療の可能性: PLP 免疫 SJL/J マウス EAE モデルを用いた検討、第 16 回日本神経免疫学会、2004 年 1 月 30 日、東京

3) 千葉麻子、大木伸司、橋本博史、山村隆、三

三宅幸子 : NKT 細胞を標的とした自己免疫疾患制御法の開発、第 48 回日本リウマチ学会、2004 年 4 月 16 日、岡山

4) 三宅幸子 : NKT 細胞を標的とした自己免疫疾患治療法の開発、第 16 回日本アレルギー学会、2004 年 5 月 13 日、前橋

5) 林幼偉、三宅幸子、山村隆 : SJL マウスの PLP136-150 感作 EAE における EAE 再誘導に対する抵抗性、第 34 回日本免疫学会、2004 年 12 月 1 日、札幌

6) 荒浪利昌、三宅幸子、山村隆 : 多発性硬化症寛解期における NK 細胞 CD11c 発現上昇、第 34 回日本免疫学会、2004 年 12 月 1 日、札幌

7) 海江田信二郎、千葉麻子、Croxford Ludovic、大木伸司、島村道夫、山村隆、三宅幸子 : マウス関節炎も出るにおける V $\alpha$ 14NKT 細胞ならびに V $\alpha$ 19NKT 細胞の機能解析、第 34 回日本免疫学会、2004 年 12 月 1 日、札幌

8) 塚本和行、大辻希樹、中村和裕、三宅幸子、山村隆、広瀬幸子 : NKT 細胞の SLE 病態における役割、第 34 回日本免疫学会、2004 年 12 月 1 日、札幌

9) 大木伸司、山村隆、三宅幸子 : NKT 細胞によるサイトカイン産生の分子基盤、第 34 回日本免疫学会、2004 年 12 月 1 日、札幌

10) Croxford Ludovic, 三宅幸子、島村道夫、山村隆 : Over-expression of V $\alpha$ 19-J $\alpha$ 33 invariant NKT cells regulate clinical disease in a model of multiple sclerosis. 第 34 回日本免疫学会、2004 年 12 月 1 日、札幌

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし

2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし

IFN $\beta$ による培養脳毛細血管由来内皮細胞の  
MMPs 及び MMP 関連遺伝子発現変化の検討

分担研究者 神田 隆 山口大学医学部脳神経病態学神経内科  
共同研究者 山脇正永、大和田潔、岡本尚子、水澤英洋  
東京医科歯科大学大学院脳神経病態学

研究要旨

【目的】血液脳関門(BBB)における種々の遺伝子発現を、培養ヒト脳毛細血管由来内皮細胞(HBMEC)を用いて検討した。本研究では matrix metalloproteinases (MMPs)およびその関連分子の動態について主に解析を行った。【方法】IFN $\beta$ にて刺激した HBMEC と非刺激の HBMEC による比較を行った。さらに、TNF $\alpha$ を添加した HBMEC を用いて IFN $\beta$ にて刺激した HBMEC と非刺激の HBMEC による比較をおこなった。DNA チップは Human 3K Chip (Takara)を用いた。【成績】IFN $\beta$ にて刺激した HBMEC と非刺激の HBMEC による比較の結果、MMP-1, MMP-15, TACE, ADAM-9 の上昇、MMP-3, MMP-7, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-19, TIMP-2 の低下を認めた。また、TNF $\alpha$  + IFN $\beta$  刺激 HBMEC では MMP-3, MMP-9, MMP-12, MMP-13, MMP-16, MMP-19 の低下、MMP-15, TACE の上昇を認めた。【結論】今回の検討では IFN $\beta$ によって BBB の内皮細胞側でも MMP-9 をはじめとする MMPs の減少、TACE の上昇がみられており、内皮細胞のレベルで MMPs の発現抑制が認められた。IFN $\beta$ は MS の炎症細胞の transmigration に MMPs の発現低下を介して抑制性に働くことが示唆された。

A.研究目的

血液脳関門(BBB, blood-brain barrier)は多発性硬化症をはじめとする自己免疫性神経疾患において、自己感作性細胞の homing に関与し、中枢神経系への炎症の第一段階を惹起する場である。Homing に関与する因子としては細胞接着因子 (CAM, cell adhesion molecule) 、chemokine, chemokine receptor が重要な役割を果たすが、近年これらの調節因子として matrix metalloproteinases (MMPs)およびその関連分子が注目されている。

今回の検討では BBB における、MMPs, chemokine, chemokine receptor, CAMs 及びその関連分子の動態について検討するた

めに、培養ヒト脳毛細血管内皮細胞 (HBMEC)を用いて解析を行った。

B.研究方法

1) 細胞培養及びサイトカイン刺激

HBMEC は女性剖検脳から採取した。定法により毛細血管内皮細胞を分離・継代培養を行った。内皮細胞の同定は抗 von Willebrand 因子と DiI-acetylated LDL にて行い、純度 98%以上の培養細胞を用いた。

IFN $\beta$ による遺伝子発現調節を確認するために、IFN $\beta$ にて刺激した HBMEC と非刺激の HBMEC による比較を行った。また、炎症性サイトカイン存在下におけ

る IFN  $\beta$  による遺伝子発現調節を確認するために、TNF  $\alpha$  を添加した HBMEC を用いて IFN  $\beta$  にて刺激した HBMEC と非刺激の HBMEC による比較をおこなった。各条件の HBMEC はスクレイパーにて収集後、直ちに mRNA 抽出を開始した。

## 2) DNA microarray

DNA チップは Human 3K Chip (Takara) を用いた。PolyA RNA を鋳型とし、reverse transcriptase により逆転写反応で Cy3, Cy5-dUTP を取り込ませた。Cy3 及び Cy5 標識プローブを混合して 65°C、14 時間でハイブリダイゼーションを行った。測定は Affimetrix 428 Array Scanner にて Cy3, Cy5 各検出波長において、シグナル強度に応じた 3 段階で測定した。データ解析は BioDiscovery ImaGene Ver.4.2 を用いた。

今回の検討では MMPs、細胞接着因子、chemokine、chemokine receptor およびその関連分子に関して解析した。

## C. 研究結果

IFN  $\beta$  にて刺激した HBMEC と非刺激の HBMEC による比較の結果、MMP-1, MMP-15, TACE (TNF  $\alpha$  converting enzyme), ADAM-9 (a disintegrin and metalloproteinase domain-9) の上昇、MMP-3, MMP-7, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-19, TIMP-2 (tissue inhibitor of metalloproteinase-2) の低下を認めた。

また、TNF  $\alpha$  を添加後 IFN  $\beta$  にて刺激した HBMEC では MMP-3, MMP-9, MMP-12, MMP-13, MMP-16, MMP-19 の低下、MMP-15, TACE の上昇を認めた。

Chemokine では CXCL1, CXCL2, IL-8, Mig, MCP-1, MCP-3, TECK, fractalkine の上昇、MIP-1  $\alpha$ , CCL11, CCL13, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21 の低下を認めた。Chemokine receptor の解析では CCR1, CCR2, CCR4, CXCR4 の発現低下を認めた。

## D. 考察

MMPs は血管内皮下の基底膜や細胞外基質を破壊するエンドペプチダーゼであり、MS 及び EAE の中枢病変の炎症細胞

の近傍に発現が認められ、病変の発現に関与していると考えられている。臨床的には MS 患者の血中 MMP-9 量は健常者よりも高値で MRI 上の造影病変と相関する報告、MS 患者髄液中の MMPs 濃度と病勢とが関連する報告、また、MS 増悪期の末梢血リンパ球の MMP-9 mRNA の発現亢進などの報告がある。免疫組織化学的には MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-9 が脱髄斑周囲にみられることが報告されている。一方、EAE では臨床症状のピークに一致して MMP-7 及び MMP-9 の転写産物が増加することが確認されている。

さらに In vitro BBB モデルを用いた解析では、IL-2 刺激により MMP-2, MMP-9 を介した T 細胞の transmigration が認められ、この migration は MMP 阻害薬によりブロックされることが報告されている。MMP 阻害薬による作用は MMPs への直接のブロックや TACE を介したものでなく TNF  $\alpha$  及び FasL を介した作用も想定されている。

## E. 結論

今回の検討では IFN  $\beta$  によって BBB の内皮細胞側でも MMP-9 をはじめとする MMPs の減少、TACE の上昇がみられており、内皮細胞のレベルで MMPs の発現抑制が認められた。IFN  $\beta$  は MS の炎症細胞の transmigration に MMPs の発現低下を介して抑制性に働くことが示唆された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### I 論文発表

1) Takashi Kanda, Yukiyo Numata, Hidehiro Mizusawa: Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: decreased claudin-5 and relocated ZO-1. J Neurol Neurosurg Psychiatry 75: 765 - 769, 2004.

- 2) Fumiaki Saito, Hiroyuki Tomimitsu, K Arai, S Nakai, Takashi Kanda, Teruo Shimizu, Hidehiro Mizusawa, Kiichiro Matsumura: A Japanese patient with distal myopathy with rimmed vacuoles: missense mutation in the epimerase domain of the UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase (GNE) gene accompanied by hyposialylation of skeletal muscle glycoproteins. *Neuromusc Disord* 14: 158-161, 2004.
- 3) Takashi Kanda, Toshio Ariga, Hisako Kubodera, Hong Lian Jin, Kiyoshi Owada, Takeshi Kasama, Masanaga Yamawaki, Hidehiro Mizusawa: Glycosphingolipid composition of primary cultured human brain microvascular endothelial cells. *J Neurosci Res* 78: 141-150, 2004.
- 4) Kazuyuki Ishida, Yoshiaki Wada, Taiji Tsunemi, Takashi Kanda, Hidehiro Mizusawa: Marked hypertrophy of the cauda equina in a patient with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy presenting lumbar stenosis. *J Neurology* 2005, in press.
- 5) Satoko Hori, Sumio Ohtsuki, Masashi Ichinowatari, Takanori Yokota, Takashi Kanda, Tetsuya Terasaki: Selective gene silencing of rat ATP-binding cassette G2 transporter in an in vitro blood-brain barrier model by short interfering RNA. *J Neurochem* 2005, in press.
- 6) Jun-ichi Satoh, Nakanishi, Fumiko Koike, Sachiko Miyake, Toshiyuki Yamamoto, Mitsuru Kawai, Seiji Kikuchi, kyoichi Nomura, Kazumasa Yokoyama, Kohei Ota, Takashi Kanda, Fukazawa, Takashi Yamamura: Microarray analysis identifies an aberrant expression of apoptosis and DNA damage-regulatory genes in multiple sclerosis. *Neurobiol Dis* 18: 2005, in press.
- 7) 神田 隆: 血液脳関門の機能. *日本医事新報* 4164: 107-108, 2004.
- 8) 神田 隆: 脳血管性痴呆の特殊型. Sneddon 症候群. *日本臨床* 62: Suppl.4, 192-195, 2004.
- 9) 神田 隆: アルコール性ニューロパチー. *Brain Medical* 16: 249-253, 2004.
- 10) 石橋 哲、神田 隆: 多発性硬化症の鑑別診断. *モダン フィジシャン* 24: 1856-1859, 2004.
- 11) 神田 隆: 糖尿病性神経障害の病理. *日本臨床別冊 糖尿病性最小血管症*. 2005.

## II 学会発表

### 国内学会

1. 山脇正永、神田 隆、大和田 潔、岡本尚子、水澤英洋: IFN  $\beta$  による培養脳毛細血管由来内皮細胞の遺伝子発現変化. 第 16 回日本神経免疫学会学術集会、東京
2. 神田 隆: シンポジウム: 免疫性神経疾患の画像診断—類縁疾患との鑑別のポイント: 多発性筋炎. 第 16 回日本神経免疫学会学術集会、東京
3. 神田 隆、石橋 哲、山脇正永、沼田幸代、金 紅蓮、水澤英洋: 免疫性神経疾患における BBB 浸潤細胞の解析. 第 45 回日本神経学会総会、東京
4. 松本 卓、沼田幸代、神田 隆、水澤英洋、清水潤: 抗 HLA class I antigen 抗体への IBM と RVDM の免疫反応性の検討. 第 45 回日本神経学会総会、東京
5. 石橋賢士、山南文香、石川欽也、松永高志、神田 隆、水澤英洋: 非ケトン性高浸透圧性糖尿病昏睡における片麻痺の神経放射線学的検討. 第 45 回日本神経学会総会、東京
6. 服部 亮、袖山信幸、神田 隆、水澤英洋: CK 上昇を認めない非典型的炎症性筋疾患における筋 MRI の有用性. 第 45 回日本神経学会総会、東京
7. 竹尾一寿、藤ヶ崎浩人、日野太郎、神田 隆、水澤英洋: 腫瘍様病変を呈した多発性硬化症 5 例の検討. 第 45 回日本神経学会総会、東京
8. 山脇正永、神田 隆、大和田潔、水澤英洋: 脳毛細血管内皮細胞に対するインターフェロン  $\beta$  の作用: DNA microarray

を用いた解析. 第 45 回日本神経学会総会、東京

9. 木村正道、前田敏彦、川井元晴、根来清、神田 隆：グリチルリチン過剰投与による偽性アルドステロン症に伴う低カリウム性ミオパチーの一例. 第 16 回日本老年医学会中国地方会、米子

10. 前田敏彦、小笠原淳一、能村友紀子、川井元晴、根来 清、神田 隆：経過中に明かな左右差を呈した多発筋炎の 74 歳女性例. 第 77 回日本神経学会中国・四国地方会、広島

11. 能村友紀子、木村正道、川井元晴、根来 清、神田 隆、足立秀光、加藤祥一、鈴木倫保：右内頸動脈領域の脳動静脈奇形を合併した高位頸髄硬膜動静脈瘻の 77 歳男性例. 第 77 回日本神経学会中国・四国地方会、広島

12. 安部真彰、小笠原淳一、川井元晴、根来 清、神田 隆：エンテロウイルスの関与が考えられた非ヘルペス性辺縁系脳炎の 1 例. 第 9 回日本神経感染症学会、弘前

13. 安部真彰、小笠原淳一、川井元晴、根来 清、神田 隆：嚥下障害、拘束性換気障害を呈した DISH (Diffuse idiopathic skeletal hyperostosis) の 1 例. 第 91 回日本内科学会中国地方会、米子

14. 清水文崇、小笠原淳一、川井元晴、根来 清、神田 隆：特発性硬膜下血腫後に出現した低髄液圧による頭痛の 1 例. 第 32 回日本頭痛学会総会、鹿児島

#### H. 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



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

多発性硬化症インターフェロン・ベータ療法ドロップアウト例に関する研究

分担研究者 川井 充 独立行政法人国立病院機構 東埼玉病院副院長

**研究要旨** インターフェロン・ベータ（IFN-β）療法を導入した多発性硬化症（MS）患者で副作用のため治療を中止されたドロップアウト例について検討した。対象はMS患者41例（男性15例、女性26例、導入時年齢41.1±10.6歳）。41例中6例が副作用のため中止されていた。内訳は、導入後の再発部位の変化2例、導入直後の比較的重度の再発1例、瘧性の増悪1例、網膜静脈閉塞症1例、肝機能障害1例。再発部位の変化をみた例のうち1例は脊髄のみの再発寛解型であったが導入直後から視神経病変を繰り返し、もう1例は視神経+脊髄病変で初発、その後脊髄病変再発を繰り返す再発寛解型であったが導入直後に大脳半球に非常に大きな病変が複数出現した。さらにIFN-β療法継続症例中の1例は脊髄病変主体の2次進行型から脊髄病変の再発寛解型に移行した。IFN-βにより少数例ではあるが再発部位や病型が変化するMSが存在しうる。一部は重症化例もあり注意が必要である。

**A. 研究目的**

多発性硬化症（MS）に対するインターフェロン・ベータ（IFN-β）療法は、再発抑制の有効性が証明され広く臨床応用されているが、治療効果がないノンレスポonderの存在や副作用の問題点がある。今回は、IFN-βを導入したもののその後、副作用で治療を中止されたドロップアウト例についてその詳細を検討した。

**B. 研究方法**

対象は、IFN-β療法を導入しその後6ヶ月以上経過観察しえたMS患者41例。男性15例、女性26例、導入時年齢41.1±10.6歳。挙児希望等、副作用が原因でない中止例は除外し、後ろ向きに病歴調査をおこなった。今回の調査は後ろ向き調査であり治療等にはなんらの介入もしていない。プライバシーの保護等には十分に配慮した。

**C. 研究結果**

41例中6例が副作用のためIFN-β療法を中止されていた。内訳は、導入後の再発部位の変

化2例、導入直後の比較的重度の再発1例、瘧性の増悪1例、網膜静脈閉塞症1例、肝機能障害1例。精神症状の増悪のために中止された例はなかった。再発部位の変化をみた例は、1例は発症29歳、導入時36歳女性。脊髄のみに頻回に再発していた再発寛解型。導入1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月後と連続してこれまでなかった視神経病変で再発。その後IFN-β中止、1.5年度に視神経病変で再発。残りの1例は発症16歳、導入時19歳女性。視神経+脊髄病変で初発。その後脊髄病変再発を繰り返す再発寛解型。導入2ヶ月後に大脳半球に非常に大きな複数の病変で再発。IFN-βは中止。中止後は脊髄病変のみで再発した。導入後の重度の再発をみた例は初発41歳、導入時47歳女性再発寛解型。視神経、脊髄、大脳ともに病変あり。導入2ヶ月後にこれまでと同様の脊髄病変で再発したが重度で回復も悪かった。偶発的である可能性もあるがIFN-β療法は中止した。瘧性が増悪した例は、初発31歳、導入時39歳男性。視神経病変で発症。大脳病変もあるが脊髄病変の再発が主体の再発寛解型。導入後、再発ではないが特に投与

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）  
分担研究報告書

翌日毎に下肢の痙性が一過性に増悪した。発熱は認めずそのための増悪とは考えにくい。他に IFN -  $\beta$  療法継続症例中の発症 40 歳、導入時 51 歳の男性 1 例では導入までは、脊髄病変主体の 2 次進行型の経過をとっていたが、導入後は脊髄病変の再発寛解型の臨床経過に移行した。

#### D. 考察

少数例の検討ではあるが通常の副作用以外に IFN -  $\beta$  導入により MS の再発部位や病型が変化したと考えられる例が存在した。原因は不明であるが IFN -  $\beta$  中止により改善する例があり因果関係があると考えられる。症例の蓄積によりどのような症例でこのような再発部位・病型の変化の可能性が高いかを予測することが重要である。

#### E. 結論

IFN -  $\beta$  により少数例ではあるが再発部位や病型が変化する MS が存在しうる。一部の例では重症化がみられ注意が必要である。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 山本 敏之、尾方 克久、片岸 美帆、清水 宏、小川 雅文、山村 隆、川井 充 日本語版 Multiple Sclerosis Quality of Life-54 の信頼性の検討 臨床神経 44 (7) : 417-21、2004

2. 山本 敏之、藤原 由貴、横田 真知子、中村 治雅、清水 宏、片岸 美帆、尾方 克久、竹嶋 光代、山村 隆、川井 充 多発性硬化症の interferon- $\beta$  1b 治療導入におけるクリティカルパスの検討 神経治療 21(2) : 175-182、2004

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1 特許取得

なし

##### 2 実用新案登録

なし

##### 3 その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

アジアにおける多発性硬化症（以下MS）の特徴と疾患分類・診断の問題点—新たな診断基準（McDonald 2001）における「除外基準」の妥当性を中心に—

分担研究者 菊地誠志 北海道大学大学院医学研究科神経内科学分野

### 研究要旨

McDonald 診断基準(2001 年)の妥当性および疾患分類の問題点を検証した。再発・寛解および多発性病変が確認され MS 以外の疾患が除外できた 158 例の日本人多発性硬化症(以下 MS)患者を対象とし、MRI 所見、髄液所見を検討したところ 33 例(20.9%)が診断基準で記載された「脊髄 MRI 病変 $\geq 3$  椎体」あるいは「髄液細胞数 $\geq 50$ 」のいずれかの除外基準を有し、そのうち 21 例は視神経脊髄型 MS(OSMS)、12 例は nonOSMS と分類された。診断基準を満たし除外基準を有さない 125 例の臨床特徴の検討では、10 例(8.0%)が脳、小脳あるいは脳幹に MRI 上で非典型的に大きく広がる病変を有していた。これら「非典型例」の特徴は他のアジア諸国の MS の特徴に共通していた。McDonald の診断基準の適用はアジアの MS には問題がある。特発性炎症性脱髄性疾患という広い視野からの疾患概念理解が診断ひいては病態解明・治療戦略には重要である。

### A. 研究目的

近年、国際委員会の議論を経て多発性硬化症 (multiple sclerosis; MS) に対する新しい McDonald の診断基準 (2001 年) が提唱されたが当該委員会にアジアの神経学者は含まれていない。本邦を含めたアジアにおける MS の臨床像が欧米のそれと異なることは従来から指摘されており、新たな診断基準を「国際的」な基準として臨床応用するためには少なくともアジア諸国での検証が必須である。特に、McDonald の診断基準で明記された除外基準は、これまでアジアの MS に特徴的とされた所見をむしろ反映しており、したがって多くの MS 症例が除外される可能性が高い。臨床的に確実と診断された本邦 MS 自験例において、McDonald の診断基準 (2001 年) で記載された「脊髄 MRI 病変 $\geq 3$  椎体」「髄液細胞数 $\geq 50$ 」という除外診断のいずれかを有する症例の割合とそれら症例のその他の臨床的特徴の有無を検討する。その結果をもとに国際的基準としての McDonald 診断基準の妥当性および疾患

分類自体の問題点を検証する。さらに、髄液 oligoclonal IgG bands (OCB) の診断的有用性についても再検証する。

### B. 研究方法

臨床的な再発・寛解、他覚的な多発性病変が確認され、MS 以外の疾患が除外できた症例のうち、急性期において髄液検査および脊髄 MRI 検査がともに施行された 158 例の日本人 MS 患者を対象とした。再発性の視神経炎のみ、再発性の脊髄炎のみ、あるいは再発性の脳幹病変のみの患者は除外した。鑑別診断のため、必要な場合には血管造影あるいは脳生検が適宜施行された。脊髄病変の広がりには再発に関連した T2 強調画像所見にて評価した。髄液 OCB はすべて等電点電気泳動法を用いて検討した。

### C. 研究結果

158 例中 32 例 (20.3%) において再発に関連した 3 椎体以上にわたる脊髄病変を認め、11 例 (7.0%) が  $50/\text{mm}^3$  以上の髄液細胞増多を示

した。結局 33 症例 (20.9%) が「脊髄 MRI 病変 $\geq$ 3 椎体」あるいは「髄液細胞数 $\geq$ 50」のいずれかの除外基準を有していた。それら 33 例のうち 21 例は視神経脊髄型MS (OSMS) と分類され、残りの 12 例の病変分布は視神経と脊髄に限定されず nonOSMS と分類された。いっぽう、McDonald 診断基準を満たし、かつ、上記の除外基準を有さない 125 例の臨床特徴を再検討したところ、10 例 (8.0%) が大脳、小脳あるいは脳幹に MRI 上で非典型的に大きな拡がりを有する病変を呈していた。昨年度の本会議で我々が提唱した optico-spinal fulminant MS (OS-FIMS)、nonOS-FIMS、nonFIMS の分類に当てはめると、今回の検討で除外基準を満たした OSMS21 例は OS-FIMS に、nonOSMS で除外基準を満たした 12 例および大脳、小脳あるいは脳幹に MRI 上で非典型的に大きな拡がりを示す病変を呈していた 10 例の計 22 例は nonOS-FIMS に、それ以外の 115 例は nonFIMS に適合・分類され、nonFIMS に分類された症例の臨床像は欧米での classical MS と相同であった。OS-FIMS と nonOS-FIMS における OCB の陽性率はそれぞれ 11.1%、15.0%と極めて低値であり、また、臨床像は欧米でいう classical MS とまったく相同と考えられる nonFIMS における OCB 陽性率も 64.9%と欧米の報告に比してかなり低率であった。

#### D. 考察

脊髄に大きな拡がりを有する症例は MS と診断することができず、大脳、小脳あるいは脳幹にそのような所見を有する場合には MS と診断されることは非論理的であり、しかも、これらの特徴を有する症例が本邦を初めとしたアジア諸国に比較的多い。nonFIMS の臨床像は欧米でいう classical MS とまったく相同と考えられるが OCB 陽性率も 64.9%と欧米の報告に比して低い。これに関連して我々は以前、通常型 MS には HLA-DR15 に相関して OCB 陽性の群と DR4 に相関して OCB 陰性の群の少なくとも 2 群があることを報告したが、最近、スウェーデンから全く同様の報告がなされた。臨床像は同じであっても OCB が陰性である通常型/古典型の MS が本邦を含めたアジアに多いことが確認されたわけであり、言い換えれば、

MS 診断における OCB 検査の有用性は国際的には必ずしも高くない。臨床的多様性と人種差との関連を考慮した診断基準の改訂が必要である。

#### E. 結論

McDonald の診断基準 (2001) の適応はアジアの MS には問題がある。アジアにおける髄液 OCB 検査の有用性は通常型においても欧米に比して著しく低い。特発性炎症性脱髄性疾患という広い視野からの疾患概念理解が診断ひいては病体解明・治療戦略には重要である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

原著

1. Osoegawa M, Niino M, Ochi H, Kikuchi S, Murai H, Fukazawa T, Minohara M, Tashiro K, Kira J. Platelet-activating factor acetylhydrolase gene polymorphism and its activity in Japanese patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 150; 150-156, 2004
2. Fukazawa T, Kikuchi S, Niino M, Yabe I, Miyagishi R, Fukaura H, Hamada T, Tashiro K, Sasaki H. Attack-related severity: A key factor in understanding the spectrum of idiopathic inflammatory demyelinating disorders. *J Neurol Sci* 225; 71-78, 2004
3. Fukazawa T, Kikuchi S, Miyagishi R, Niino M, Yabe I, Hamada T, Sasaki H. CTLA-4 gene polymorphism is not

associated with conventional multiple sclerosis in Japanese. J Neuroimmunol 159: 225-229, 2005

4. Fukazawa T, Kikuchi S, Miyagishi R, Miyazaki Y, Fukaura H, Yabe I, Hamada T, Tashiro, K, Sasaki H. CSF pleocytosis and expansion of spinal lesions in Japanese MS: A special reference to the new diagnostic criteria. J Neurol (in press), 2005

5. Fukazawa T, Kikuchi S, Miyagishi R, Miyazaki Y, Yabe I, Hamada T, Sasaki H. HLA-DPB1\*0501 is not uniquely associated with opticospinal multiple sclerosis in Japanese patients. Important role of DPB1\*0301. Multiple Sclerosis (in press), 2005

症における CTLA4 プロモーター遺伝子多型についての検討. 第16回日本神経免疫学会学術集会. 東京 2004. 年2月

3. 深澤俊行、濱田 毅、深浦彦彰、菊地誠志、佐々木秀直、宮岸隆司、田代邦雄. 炎症性脱髄性疾患 (IIDD) の三次元的概念理解: attack-related severity の重要性. 第45回日本神経学会総会 東京 2004

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

#### 総説

1.

#### II. 学会発表

##### 国際学会

##### 国内学会

1. 宮崎雄生、深澤俊行、新野正明、矢部一郎、宮岸隆司、深浦彦彰、菊地誠志、佐々木秀直、田代邦雄. 視神経脊髄型MSにおける Osteopontin、Vitamin D Receptor、Estrogen receptor 遺伝子多型の検討. 第16回日本神経免疫学会学術集会. 東京 2004. 年2月

2. 宮岸隆司、新野正明、宮崎雄生、矢部一郎、深浦彦彰、深澤俊行、菊地誠志. 多発性硬化

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

インターフェロンβ-1b療法の外来導入に関する検討

分担研究者：太田 宏平<sup>1,2</sup>

共同研究者：大橋 高志<sup>1</sup>、大原 久仁子<sup>1</sup>、竹内 千仙<sup>1</sup>、清水 優子<sup>1</sup>、岩田 誠<sup>1</sup>

1 東京女子医科大学脳神経センター神経内科、 2 東京理科大学理学部

**研究要旨**

インターフェロン（IFN）β-1b療法の導入に当たっては2週間程度の教育入院が望ましいとされているが、実際には入院期間を捻出するのが困難なことが多い。IFN療法を安全に外来で導入するために、医療者用プロトコル、患者用クリニカルパスを作成した。現在までに3例にIFNβ-1bの外来導入を行って、その安全性や患者満足度を評価した。IFNを1/4量（200万単位）から開始し、2週間毎に漸増することで、導入初期の副作用の発現を抑えることができた。看護師が積極的に介入することで、安全、かつスムーズにIFN療法を導入することができた。医師、看護師間の連携を深め、患者の不安を軽減する上で、クリニカルパスの活用はたいへん有用であった。

**A. 研究目的**

インターフェロン（IFN）β-1b療法の導入に当たっては、自己注射の手技を習得し、副作用への対応を学ぶために、2週間程度の教育入院が望ましいとされている。しかし、多発性硬化症（MS）は若年～壮年期に好発する疾患であるため、入院期間を捻出するのが困難なことが多く、IFN療法の導入を遅らせる一因となっている。そのため、IFN療法を安全に外来で導入するためのシステム作りが重要である。

**B. 研究方法**

IFNβ-1bの外来導入のための医療者用プロトコル、患者用クリニカルパスを作成し、IFNβ-1b外来導入のためのシステムを構築した。導入初期の副作用を低減するため、IFNβ-1bは1/4量（200万単位）から開始し、2週間毎に漸増した。外来導入には、外来でのIFN療法の導入を希望し、注射手技の習得に問題のない患者を対象とした。具体的に

は、理解力がよく、手指の巧緻性が保たれ、精神的に安定していることを条件とした。現在までに3例にIFNβ-1bの外来導入を行って、その安全性や患者満足度を評価した。

**C. 研究結果**

今までに、入院の上、IFN療法を漸増法により導入したのは男性5例、女性9例の計14例で、そのうちIFN療法の導入のみを目的として入院したのは6例、その在院日数は14日～23日、平均18.5日であった。注射の手技は看護師の指導により全例で退院までに確立し、退院時には特に不安を訴えることもなかった。

導入初期の副作用としては、発熱、注射部位の発赤、白血球減少などがあったが、いずれも軽度であり、IFN療法は継続可能であった。導入初期に症状の増悪を示すような症例もなかった。その後、外来でIFNを増量したときに一次的な発熱、全身倦怠感の増強などがみられたが、特に大きなトラブルもなく、

全例でスムーズに導入、継続することができた。

外来で IFN 療法を導入した 3 例は、5 回に渡る看護師の入念な指導より、いずれも自己注射手技は確立でき、不安なく施注できるようになった。1-2 週毎の外来受診で、臨床検査上の異常所見の有無や、注射部位反応の変化は早期に確認できた。急な症状にも電話、E メールなどで対応できるようにすることで、患者の不安を軽減できた。

いずれの症例も感冒様症状は軽く、注射部位反応も発赤程度の軽微なものに留まった。日常生活を続けながら IFN  $\beta$ -1b を導入することができ、患者の QOL を高めることができた。看護師の方も 1 例目にはかなり戸惑いがあったが、IFN 療法の勉強会を繰り返すことで、2 例目からは適切な対応がとれるようになった。

#### D. 考察

IFN の導入時の用量は、日本では最初から 1 ml、800 万単位、あるいは最初の数回のみ 0.5 ml、400 万単位という使い方が一般的であるが、現在、アメリカでは、導入時には 1/4 量、0.25 ml から 2 週間毎に漸増する方法が推奨されている。このようにして IFN  $\beta$ -1b を漸増することで、とりわけ導入初期にみられる感冒様症状、注射部位反応、全身倦怠感などの副作用の発現を抑えることができるため、外来導入が可能となる。この方法で入院の上、IFN 療法を導入した 14 例の検討でも、副作用は少なく、大きな問題はみられなかった。

IFN 療法を長く継続するためには、導入前に治療内容に関する十分な説明をすることや、導入初期に看護面における支援を十分に行うことが大切である。

欧米では MS 専門看護師が患者の指導を行っており、IFN 療法の成功に大きな役割を果たしていると考えられる。IFN 療法を中断した患者の多くがこの治療に対する説明や注射手技の指導を十分に受けていなかったといわれており、逆に MS 専門看護師による十分な支援を受けた患者は IFN 療法を中断する確率がかかなり低くなる。したがって、外来導入を安全に行うためには看護師の積極的な介入が不可欠であり、また、導入後も継続的に指導、支援を行うことが大切である。当院では外来看護師が定期的に IFN 療法の勉強会を開き、IFN 療法に精通するように努めた。

また、電話、E メールなどを活用して、患者との連絡を密にとり、急な症状にも対応できる体制をとることなども、患者の不安を軽減するのには必要である。

さらに、医師、看護師間の連携を深めることが重要であり、そのために、クリニカルパスを活用することはたいへん有用であると考えられる。

また、当院では電子カルテが導入されたことによって情報の共有が容易になったことも、大きく寄与していると考えた。

#### E. 結論

IFN 療法を外来で導入するシステムを確立した。IFN を漸増することで、導入初期の

副作用の発現を抑えることができた。看護師が積極的に介入することで、安全、かつスムーズに IFN 療法を導入、継続することができた。医師、看護師間の連携を深め、患者の不安を軽減する上で、クリニカルパスの活用はたいへん有用であった。このような経験を積むことは看護師にとってもたいへん有意義であり、エキスパートナースを育成する上でも重要であると考えた。

今後、IFN 療法の入院導入のクリニカルパスを作成し、外来へスムーズに移行できるシステムの構築を目指している。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### I 論文発表

#### 原著

- 1) 中村智美、太田宏平、丹羽直樹、竹内恵、内山真一郎、岩田誠：眼球挫傷をともなう頭部外傷後に大脳白質散在性病変が出現した 1 例。臨床神経学 44:108-110, 2004

#### 総説

- 1) 太田宏平：多発性硬化症の免疫学・免疫遺伝学。Modern Physician 24: 1824-1828, 2004

### II 学会発表

#### 国際学会

- 1) C. Takeuchi, K. Ota, Y. Shimizu, T. Ohashi, K. Ohara, Y. Ono, M. Iwata: Interferon  $\beta$  1-b treatment may reverse the axonal dysfunction in multiple sclerosis. 7<sup>th</sup> International Congress of Neuroimmunology, 2004. 10, Venice

#### 国内学会

- 1) 大橋高志、中原順子、内潟雅信、岩田誠：急性期脳梗塞クリニカルパス導入の試み。第 25 回東京女子医科大学神経懇話会、2003. 11、東京
- 2) 大橋高志、太田宏平、竹内千仙、大原久仁子、清水優子、岩田誠：多発性硬化症の診断、McDonald の診断基準をもちいて。第 45 回日本神経学会総会、2004. 5、東京
- 3) 大橋高志、太田宏平、清水優子、大原久仁子、竹内千仙、岩田誠：インターフェロン  $\beta$ -1b 療法の導入法と副作用の対応に関する検討、第 17 回日本神経免疫学会学術集会、2005. 3、福岡（発表予定）
- 4) 清水優子、太田宏平、大原久仁子、大橋高志、岩田 誠：IFN- $\beta$  1b 療法を行った多発性硬化症患者末梢血の免疫調節細胞



および細胞傷害活性の経時的変化. 第45  
回神経学会総会、2004. 5、東京

5) 大原久仁子、清水優子、太田宏平、岩田  
誠: 多発性硬化症のIFN- $\beta$ 療法による  
細胞内サイトカインの変化. 第45回神経  
学会総会、2004. 5、東京

6) 朴 千仙、太田宏平、清水優子、大原久  
仁子、大橋高志、岩田 誠: 多発性硬化  
症の<sup>1</sup>H-MRS. 第45回神経学会総会、2004.  
5、東京

7) 太田宏平: 慢性・再発性ヘルペス脳炎.  
第39回脳のシンポジウム、2004. 3、東  
京

## H. 知的財産の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

「多発性硬化症患者における TRAIL および TRAIL レセプター遺伝子多型」に関する研究

分担研究者 菊地 誠志 北海道大学大学院医学研究科神経内科学分野

研究要旨

TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) は、TRAIL レセプターを発現する細胞にアポトーシスを誘導するリガンド分子であり、多発性硬化症(MS)患者においてインターフェロンβの治療効果の予測マーカーとして報告された。今回我々は通常型MS 122 例および健常者 158 名において TRAIL および TRAIL-R1(DR4)の遺伝子多型について検討した。TRAIL exon5 (3'非翻訳領域) 1595C/Tsnp の genotype frequency は通常型 MS 患者群では CC genotype の出現頻度が高く有意差を認めロジステック解析でも通常型MS と CCgenotype との有意な相関を認めた。IFNβ 治療反応症例 (responder) 17 例、IFNβ 治療非反応症例 (non-responder) 16 例での比較では両群間に有意差は認めなかった。1595CC 多型が MS 発症のリスク因子であることが示されたが、その機序は明らかでない。日本人では欧米人と比較して genotype として CT を有する割合が高く、日本における有病率が低いことと関連している可能性も考えられた。

A. 研究目的

TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) は腫瘍に対して選択的に細胞死を誘導する分子として注目をあびているが、最近、多発性硬化症(MS)患者においてインターフェロンβの治療効果の予測マーカーとして報告された。今回我々は MS 患者において TRAIL および TRAIL-R1(DR4)の遺伝子多型について PCR-RFLP 解析を行い疾患感受性、臨床像との関連を検討した。

B. 研究方法

対象は1年以上経過観察している臨床的に診断確実な通常型MS 122 例および健常者 158 名。MS 患者は男性 42 名、女性 80 名、発症年齢 26.4±9.2 歳、再発寛解型 85 例、二次進行型 37 例、EDSS 3.3±2.8、progression index 0.46±0.76 である。MS 患者と対照群にて男女比、年齢などの差は認めない。TRAIL 遺伝子多型は、プロモーター領域-665T/Csnp,-597A/Gsnp、exon1 の A/Gcnp、exon3 の T/Ccnp、および exon5 (3'非翻訳領域) の 1525A/Gsnp、1595C/Tsnp について、TRAIL-R1(DR4) は exon3 の 422G/Ascnp、exon4 の 626T/Ccnp につい

て検討した。

### C. 研究結果

TRAIL 1595C/TsSNP の genotype frequency, allele frequency は通常型 MS 患者群では CC genotype の出現頻度が高く有意差を認めた。発症年齢、経過、重症度に関しては有意差は認められなかった。ロジステック解析でも通常型MSと CCgenotype との有意な相関を認め、これは DRB1\*1501 と交絡されない独立した有意性であることが示された。さらに IFN  $\beta$  治療の反応性と遺伝子多型について検討した。IFN  $\beta$  治療反応症例 (responder) 17 例、IFN  $\beta$  治療非反応症例 (non-responder) 16 例で 1595C/T 多型を検討したが両群間にて有意差は認めなかった。1525A/GsSNP は通常型 MS 患者と対照群にて有意差は認めなかった。プロモーター領域の -665C/TsSNP、-597A/GsSNP、および exon1 の A/GcSNP、exon3 の T/CcSNP は MS およびに対照群にて多型は認められなかった。

TRAIL-R1(DR4) 422G/AcSNP、626T/CcSNP は有意差は認めなかった。

### D. 考察

実験アレルギー性脳脊髄炎では TRAIL によるシグナルを阻害することにより重症化することが示されており TRAIL は自己反応性 T 細胞の活性化を抑制する可能性が指摘されている。最近、MS 患者では IFN  $\beta$  responder では治療早期に TRAIL の上昇がみられることが示され MS の疾患感受性や治療反応性

に関して重要な因子と考えられる。今回 1595CC 多型が MS 発症のリスク因子であることが示されたが、その機序は明らかでない。また IFN-responder と non-responder にて多型を比較したが症例数も少なく有意な結果には至っていない。日本人では欧米人と比較して genotype として CT を有する割合が高く、日本における有病率が低いことと関連している可能性も考えられる。

### 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・登録状況

なし

## 多発性硬化症の非活動期における末梢血リンパ球サブセット およびケモカインレセプターと神経症候

分担研究者 野村恭一  
共同研究者 木下俊介\*、高砂子由佳子\*、高濱美里、三井隆男、大島裕紀\*、  
大貫 学、富岳 亮\*

### 研究要旨

今回我々は、再発寛解型多発性硬化症（RR-MS）の非活動期における免疫状態を解明するために、末梢血リンパ球サブセットおよびケモカインレセプターを解析し、MS 再発のメカニズムについて検討した。

1) RR-MS 非活動期において、CD4系の活性化 T 細胞、helper-inducer 細胞は高値を示し、CD8系の suppressor-effector 細胞、cytotoxic or NK 細胞は低値を認めた。MS 非活動期においても既に免疫状態の異常を認め、CD4系のみならず CD8系抑制 T 細胞の異常が示された。

2) RR-MS 非活動期において、CD4、CD8細胞の CCR5、CCR3 表出は、健常人に比較して有意の高値を示したが、Th1/Th2バランス、Tc1/Tc2バランスには有意差を認めなかった。また、末梢血ケモカインレセプターCCR5、CCR3 の表出と各種の臨床症候との間に相関を認めなかった。

以上より、RR-MS では活動期のみならず非活動期においても、末梢血リンパ球は既に免疫賦活状態にあることが示唆された。

### 研究目的

再発寛解型多発性硬化症（RR-MS）の非活動期の免疫状態を解明するために、末梢血リンパ球サブセットおよびケモカインレセプターを解析し、さらに、ケモカインレセプターと各種 MS の臨床症候との相関について比較検討した。

### 研究方法および対象

RR-MS 45 例と健常人（HC）45 例を対象とした。RR-MS は、2 か月以上の間に再発を認めず、薬非服用あるいは prednisolone 10 mg/日以下の服用症例で、インターフェロン治療、慢性炎症性疾患、悪性腫瘍疾患の合併例は除外した。

埼玉医科大学総合医療センター 神経内科  
埼玉医科大学病院 神経内科\*

末梢血リンパ球サブセット、リンパ球ケモカインレセプターの解析は、二重染色フローサイトメトリー法を用い、それぞれのリンパ球表面マーカー抗体の陽性率を求めた。リンパ球サブセットの解析は、T 細胞は FITC 標識抗体（CD4、CD8）で CD4系 T 細胞と CD8系 T 細胞に分け、さらに、CD4系 T 細胞は PE 標識抗体（CD25、HLA-DR、CD29、CD45RA）で、CD8系 T 細胞は PE 標識抗体（CD25、HLA-DR、CD11b）を用い、NK 細胞、CTL 細胞については PE 標識抗体（CD16+CD56）細胞、および FITC 標識抗体（CD3）を用いた。なお、リンパ球サブセットの解析は、RR-MS 25 例（平均年齢 41.5 歳）と HC 25 例（平均年齢 38.0 歳）を対象とした。

リンパ球ケモカインレセプターの解析は、T 細胞は FITC 標識抗体（CD4、CD8）で CD