

demyelinating polyneuropathy: clinical features and response to treatment in 67 consecutive patients with and without a monoclonal gammopathy. *Neurology* 48:321-328, 1997.

4) 信国圭吾ら：慢性炎症性脱髄性ポリニューロパチー(CIDP)重症化例の臨床的，疫学的検討。厚生労働省精神・神経疾患研究委託費による12-14年度総括研究報告書，神経疾患の予防・診断・治療に関する臨床研究。67-68, 2003.

5) 服部直樹ら：機能予後不良 CIDP の臨床病理学的検討。末梢神経 12: 157-160, 2002.

6) Ishikawa T et al.: An autopsy case of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP). *Neuropathology* 24: A23, 2004.

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

慢性炎症性脱髄性多発根神経炎における脊髄神経根の

臨床放射線学的検討

分担研究者 池田修一¹⁾

共同研究者 田澤浩一¹⁾、吉田拓弘¹⁾、下島恭弘¹⁾、五野貴久¹⁾、石井亘¹⁾、
森田洋¹⁾、松田正之¹⁾

研究要旨

慢性炎症性脱髄性多発根神経炎（以下 CIDP）患者において、頸部・腰部 MRI で神経根の肥厚が認められることはこれまでも数多く報告されてきた。我々は比較的報告の多い MRI short tau inversion recovery(STIR)法を用いて、CIDP 患者の神経根を測定し、その臨床的意義について、臨床経過、各種電気生理学的指標、髄液所見との相関から検討を行った。その結果、神経根径は腰部では F 波伝導速度($p < 0.01$)および近位遠位 CMAP size 比($p < 0.01$)と負の相関を示し、さらに F 波 M 波潜時差($p < 0.01$)と正の相関を示した。頸部神経根径は F 波伝導速度($P < 0.05$)とのみ有意な負の相関を認めた。MRI における神経根の測定は電気生理学的伝導障害の程度をよく反映している可能性があり、今後さらに検討が必要である。

研究目的

CIDP 患者における神経根の肥厚は、これまでに MRI を中心とした画像所見または病理学的側面から数多く報告されてきた。我々は MRI STIR 法を用い、CIDP 患者における頸部および腰部の神経根を測定し、各種電気生理学的指標や髄液所見との相関について検討した。

研究方法

対象：1998 年 8 月から 2003 年 8 月の間に当科にて American Academy of Neurology, Ad Hoc subcommittee, 1991 の診断基準において probable 以上と診断された CIDP 患者 14 名（男性 9 名、女性 5 名）。平均年齢

46.6±15.6 歳、平均罹病期間 4.1±2.0 年。

装置：MRI (GE 社 SIGNA 1.5T)

部位・撮像法：STIR 法 頸椎・腰椎前額断 (thin 4mm, gap 1mm)

計測：画像を簡易スキャナーで汎用パソコンに取り込み、画像計測ソフト (MacScope) にて C5-C8 レベルと L1-S1 レベルの椎間孔での神経根径を計測した。各レベルの最大径を脊髄神経根径と定義し、不鮮明な脊髄レベルでは計測不能とした。

解析：頸部(C5-C8)・腰部(L1-S1)の平均脊髄神経根径と各種神経電気生理学的指標、髄液中の蛋白・IgG 等の指標を Spearman 順位相関係数を用いて解析した。

研究結果

頸部神経根径は 4.8 mm～8.7 mm の間に分布し、全体での平均は 6.6±1.3mm であっ

1)信州大学医学部第三内科

た。腰部神経根径は 5.8mm～14.6mm の間に分布し、全体での平均は 8.4±2.8mm であった。

頸部脊髄神経根径は、F波伝導速度 (FWCV) との間に負の相関が認められた ($P<0.05$)。径の増大とともに髄液蛋白は上昇する傾向が見られたが、有意な相関は認められなかった。

腰部神経根径は、FWCV、CMAP電位の近位遠位比と負の相関を認め ($p<0.01$)、F波-M波潜時差と正の相関が認められた ($p<0.01$)。髄液IgGは径の増加とともに上昇する傾向が認められたが、有意な相関は認められなかった。

考察

CIDP における神経根の肥厚は病理学的には炎症細胞浸潤、間質の浮腫、脱髄と再生、onionbulb などによって形成されると考えられている。

神経肥厚についての電気生理学的検討は少なく、Multifocal motor neuropathy (MMN) において Kaji ら¹⁾、Parry ら²⁾が conduction block 部位における神経根の肥厚を、また CIDP においては Kuwabara ら³⁾が MRI 上の神経肥厚部位での conduction block を報告している。

今回の結果、神経根の肥厚の程度と F 波の伝導が負の相関を持つことが明らかとなった。神経の肥厚がその機能的障害を反映していることが示唆され、MRI STIR 法で計測された神経根径が CIDP の病勢を反映している可能性が考えられた。また、Hasan ら⁴⁾は正常者における頸部神経根径 (C3-C7、椎弓根下) を肉眼的に検討しており、C7 レベルが最大で、平均 3.7mm と報告している。今後 CIDP の軽症例も含めた検討を行うことにより、STIR 法での神経根計測が CIDP

診断の一助となりうる可能性があると考えられた。

結論

CIDP 患者において MRI STIR 法での神経根肥厚は病勢を反映しており、今後診断の一助となりうる可能性がある。

文献

- 1) Kaji R, Oka N, Tsuji T et al. Pathological findings at the site of conduction block in multifocal motor neuropathy. *Ann Neurol* 1993;33:152-158
- 2) Parry G J. AAEM case report #30:Multifocal motor neuropathy. *Muscle & Nerve* 1996;19:269-276
- 3) Kuwabara S, Nakajima M, Matsuda S et al. Magnetic resonance imaging at the demyelinating foci in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Neurology* 1997;48:874-877
- 4) Hasan CU, Ayhan A, Aysun Uz et al. Surgical anatomic evaluation of the cervical pedicle and adjacent neural structures. *Neurosurgery* 2000;47:1162-1169

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

実用新案登録：なし

慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチーのIVIg治療反応性を

規定する遺伝子背景 —HLA多型を中心に—

分担研究者 祖父江 元

共同研究者 飯島正博, 森 恵子, 小池春樹, 服部直樹, 田中章景
山本正彦

研究要旨

慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー（以下 CIDP）は、四肢対称性の運動感覚障害をきたす末梢神経障害である。副腎皮質ステロイド、血液浄化療法に加え、近年は免疫グロブリン静注（IVIg）療法の保険適用により予後は劇的に改善した。しかし治療の第一選択となりつつあるIVIg療法について国内外の治療成績の報告は一定して非反応群が存在することが指摘され、背後に存在する病態解明が求められている。私どもはIVIg反応性をCIDPの病態多様性を説明するキーワードであると仮定して解析を行った結果、IVIg反応性ごとに特有の臨床・電気生理的特徴が存在することを過去に示した。今回は同様の観点から遺伝子的背景の裏付けを求めた。免疫関連疾患として、また遺伝子多型を反映するヒト白血球抗原（HLA）のアリル多型からIVIg反応性ごとの各アリル頻度について検討した結果、IVIg治療反応群の間に優位なアリル頻度の差異をもつ部位が判明した。以上の結果はCIDPの病態多様性を支持する結果を遺伝子レベルで支持するものと考えられた。

研究目的

CIDPの病態には自己免疫機序の関与が推察されている。同じ脱髄性疾患として多発性硬化症が、中枢に置ける自己免疫機序が関与することが示され、副腎皮質ステロイドや血液浄化療法、一部の報告ではIVIg療法の有効性が報告されていることも自己免疫性末梢神経障害としてのCIDPの位置付けを支持している。

過去に私どもは臨床・電気生理所見の観点からCIDPはIVIg治療反応性により多様性が明らかになり、その反応群ごとに特徴を有

していることをこの場で報告した。今回は種々の自己免疫疾患と密接な関係にあるHLAのアリル多型解析の結果から、IVIg治療反応性とそれに対応するHLAアリル多型との関連、すなわちIVIg治療反応性を規定する遺伝子背景の関与の可能性につき報告する。

研究方法

対象はアメリカ神経学会アドホック小委員会によるCIDP診断基準（1991年）により診断されたCIDP100例。すべては初回治療にIVIg療法を施行され、各症例のIVIg治療効果の判定には、modified Rankin scale

名古屋大学医学部神経内科

と、Inflammatory Neuropathy Cause and Treatment (INCAT) group によって作成された overall disability sum scale により ADL を客観的に評価し、治療前後のスコアの変動により有効性の判定とした。すなわち治療反応群はいずれかの ADL スケールで治療前後に 1 点以上の改善を認めた群、治療非反応群は 1 点未満、または治療後も増悪を認めた群と定義した。

HLA の各アレルのうち最も多型を示す部位である HLA class II 領域 (DQB1, DRB1, DPB1) を今回の解析対象とし、白血球由来 DNA をもとにアレルタイピングを行い、それぞれ治療反応別に Fisher の正確検定により補正を行った上で有意性を確認した。

研究結果

HLA-DQB1 と DRB1 領域の特定のアレルで、IVIg 治療反応別に有意な差異を認めた (図 1 : 補正前 $p=0.005$, 補正後 $p=0.02$)。

考察

一般に HLA 多型と疾患との関係については、特定のアレルと相同なエピトープによる

病態関与の可能性と、連鎖不平衡による病態関連性の客観的指標の意義がある。今回 IVIg 治療反応性別に統計的に有意なアレル頻度の差異を確認したことから、それぞれのアレルについて上記の観点による検討が必要であると考えられる。

結論

CIDP の病態多様性を支持する遺伝子的背景の存在を証明した。IVIg 治療反応性に基づく病態機序の解明が今後の CIDP の理解に寄与すると考えられた。

文献

Clinical and electrophysiological correlates of IVIg responsiveness in CIDP. M Iijima, Gen Sobue et al. *Neurology in press*

健康危険情報

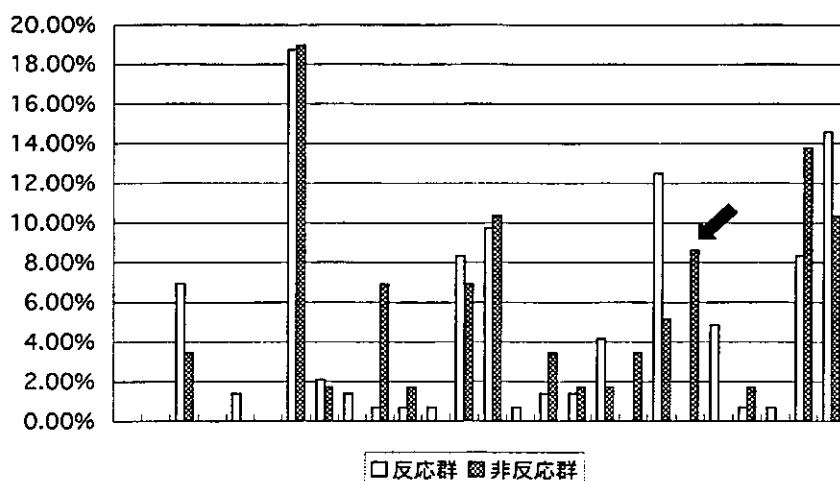
なし

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

<図 1. HLA-DRB1 領域におけるアレル多型解析>



治療抵抗性 CIDP 5 例のタクロリムス使用経験 タクロリムス治療による血清サイトカインの変動

分担研究者 野村 恭一
共同研究者 三井隆男、大熊 彩、高濱美里、大貫 学
高砂子由佳子¹⁾、木下俊介¹⁾、大島裕紀¹⁾、富岳 亮¹⁾

研究要旨

治療抵抗性 CIDP の 5 症例に対してステロイド・タクロリムス併用療法を行い、タクロリムスの治療効果ならびに血清サイトカインの変動を検討した。タクロリムスはステロイドの治療効果を増強させ、ステロイドの減量効果を示し、CIDP の再発抑制ならびに進行抑制効果を認めた。血清サイトカインの検討では、タクロリムスは CIDP で増加している Th1 系サイトカインの INF- γ を減少させ、液性免疫の調節作用を有するものと推察した。今後、タクロリムス併用療法は CIDP の新たな治療法となりうる可能性を示された。

研究目的

免疫治療(免疫グロブリン静注療法 IVIg、パルス療法、血液浄化療法)抵抗性の慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー(CIDP) 5 例にステロイド・タクロリムスを併用し、タクロリムスの CIDP に対する治療効果、ならびに各種血清サイトカインの変動を検討した。

研究方法および対象

対象は、IVIg 療法あるいはパルス療法、免疫吸着療法に対して治療抵抗性であった CIDP の 5 症例。年齢は 18~50 歳、男女比は 4 : 1、末梢神経障害は運動障害型 3 例、運動・感覚障害型 2 例。CIDP の病型は再発寛解型 3 例、慢性進行型 2 例。発症からタクロリムス併用までの期間は 7~19 か月で、タクロリムス血中濃度は 3~5 ng/ml (トラ

フ値) を維持した。これらの症例においてタクロリムス・ステロイド併用による治療効果を数年間にわたり検討した(表 1)。

さらに、5 例の CIDP において、タクロリムス併用前後の血清サイトカイン、ならびに末梢血リンパ球サブセット、Th1/Th2 バランスを検討した。Th1 系サイトカイン (INF- γ 、IL-2、TNF- α)、Th2 系サイトカイン (IL-4、IL-5、IL-10) を Cytometric Bead Array キット (BD PharMingen) を用いて一斉に測定した。単位はすべて pg/ml。末梢血リンパ球サブセット、末梢血リンパ球ケモカインレセプター解析は、二重染色フローサイトメトリー法を用い、リンパ球表面マーカーの陽性率を求めた。T 細胞は FITC 標識抗体で CD4 系、CD8 系細胞に分け、さらに、PE 標識ケモカインレセプター抗体 (CCR5、CCR3) を用い、Th1・Th2 細胞を測定した。

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¹⁾

表1 CIDP 5例の臨床的特徴とタクロリムス・ステロイド併用療法の治療効果

症例	年齢・性	末梢神経障害	病型	治療抵抗性	発症からタクロリムス服用までの期間(月)	ST治療効果 増強・減量効果	タクロリムス 治療効果
1	50 F	運動>感覚	再発寛解	IVIg治療	19	+	再発
2	30 M	運動	再発寛解	IVIg治療	7	+	再発
3	35 M	運動	再発寛解	IVIg治療	7	+	再発
4	18 M	運動>感覚	慢性進行	IVIg・パルス・IAPP治療	7	+	進行
5	23 M	運動	慢性進行	IVIg治療	12	+	進行

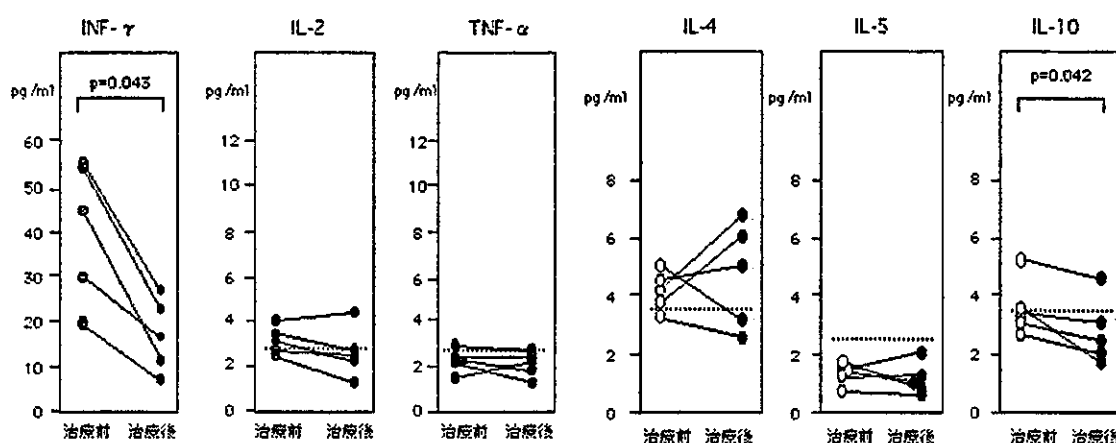


図1 タクロリムス治療CIDPにおけるTh1、Th2サイトカインの変動

研究結果

CIDPにおけるタクロリムスの併用療法は、ステロイドの治療効果を増強し、ステロイド投与量の減量効果を示した。さらに、3例において再発の抑制、2例において神経症候の進行抑制効果を示した(表1)。

CIDPの血清サイトカインの検討では、Th1系サイトカインであるINF-γ、IL-2は健常対照(n=16)に比較し有意の高値を示し(p=0.0009、p=0.007)、TNF-αには有意差をみなかった。一方、Th2系サイトカインであるIL-4は健常対照に比較し有意の高値を示し(p=0.012)、IL-5、IL-10には有意差をみなかった。

さらに、タクロリムス併用前後における血清サイトカインの検討では、Th1系サイトカインのINF-γは治療後に明らかに低下し(p=0.043)、IL-2ならびにTNF-αには変化を認めなかった。Th2系サイトカインのIL-10は治療後に有意に低下し(p=0.042)、IL-4、IL-5には変化を認めなかった(図1)。

症例2のリンパ球サブセットの検討では、タクロリムス併用前において健常対照に比較して有意な増加を認めたCD4+CD29+(helper-inducer)細胞は、タクロリムス併用1か月後には正常範囲に集束した。Th1/Th2バランスの検討では、併用前1.0、併用後に1.3(正常範囲は1.6±0.3)であり、

有意な変化を認めなかった。

結 論

治療抵抗性 CIDP に対するタクロリムス併用療法は、ステロイドの治療効果を増強し、ステロイドの減量効果を示し、CIDP の再発抑制、進行抑制作用を有することを認めた。タクロリムスは、CIDP で主に増加している Th1 系サイトカインである INF- γ を減少させ、免疫状態の調節作用を有するものと思われた。タクロリムス併用療法は、CIDP に対する新たな治療法となりうる可能性を示した。

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

末梢神経における slow K⁺ channel の in vivo 評価法

分担研究者 梶龍兒¹⁾

共同研究者 野寺裕之¹⁾、中根俊成¹⁾、Daisy Tabuena¹⁾、Jurgen Schwarz²⁾、Hugh Bostock³⁾

研究要旨

末梢神経に遅い K⁺チャンネルが存在することは生理学的に分かっていましたが、その分子構造は不明である。最近、K⁺チャンネルの一つである KCNQ2-3 がランビエ絞輪部に存在することが組織学的に確認されたため、それが遅いチャンネルである可能性が考えられた。正常ラットに KCNQ2-3 の阻害薬である XE991 を投与し、その前後で電気生理学的に遅い K⁺チャンネルの機能を比較したところその阻害が確認され、さらに持続時間の長い連続放電が認められた。臨床的にはラットは fasciculation 様の異常を呈し、神経興奮性の亢進を示唆した。KCNQ2-3 は末梢神経に存在する遅い K⁺チャンネルで、軸索の興奮性を適度に抑制することで線維束性収縮等の異常発火を防ぐ。自己免疫的機序などによりチャンネルの機能低下が末梢神経の異常興奮を引き起こす可能性がある。

研究目的

末梢神経で遅い K⁺チャンネルが存在することは生理学的には知られていたが、その分子構造は不明だった。最近病理学的に KCNQ-2 と 3 がランビエ絞輪に局在することが分かったが (Devaux, et al, J Neurosci 2004; 24: 1236-1244)、これらのチャンネルが遅い K⁺チャンネルとして機能するかの検討はされていない。さて、Bostock により開発された神経閾値評価法は神経伝導検査の応用であり、半自動プログラムにより末梢神経軸索膜電位や Na⁺と K⁺チャンネル機能を 10 分程度で in vivo に評価する方法である。

今回我々は、遅い K⁺チャンネルが KCNQ2 あるいは 3 であるとの仮説の元に、KCNQ チャンネル阻害薬の XE991 投与前後での遅い K⁺チャンネル機能の変化を in vivo に評価した。

研究方法

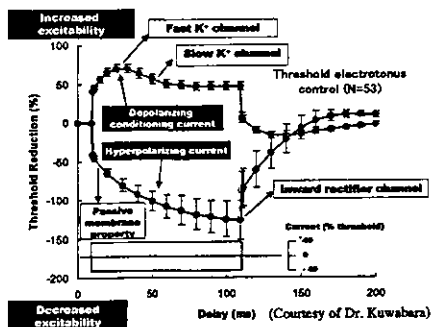
成熟した雄ウィスターラット 5 匹を使用した。ケタラジン・キシラジンをを用い腹腔麻酔を行った後、尾の中間部に針電極を刺入し、尾の近位部から表面電極を用いて経時的に CMAP を記録した。TROND 法により閾値緊張法 (TE) と recovery cycle (RC) を経時的に記録し、XE991 投与前の遅い K⁺チャンネル機能を評価した。安定したデータが得られた後、XE991 (2.5mg/kg) を腹腔内に投与し、TE と RC

1) 徳島大学神経内科

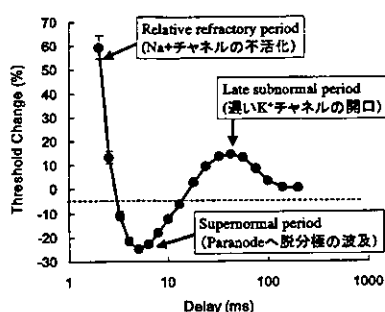
2) ハンブルグ大学

3) 英国王立神経研究所

記録のパラメータを投与前と比較した。



Threshold electrotonus の正常波形

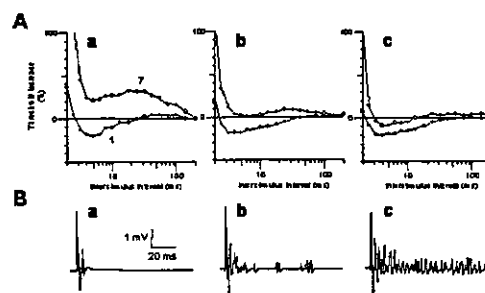


Recovery cycle の正常波形

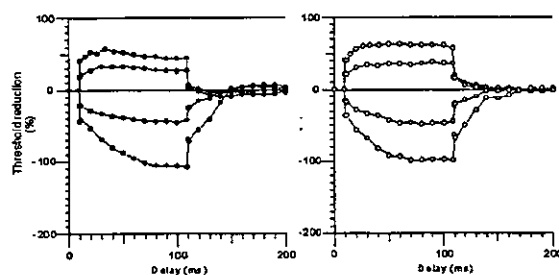
研究結果

XE911 投与により得られた変化として：(1)TEで脱分極条件刺激時に見られる S2 期は、遅い K⁺チャネルにより軸索の膜電位を過分極方向へ変位させる結果現れるが、XE991 投与後には S2 期を殆ど認めなくなった。その結果、100ms 脱分極条件刺激にて閾値の低下が見られ、軸索の興奮性が亢進したと考えられた。(2)RC での late subnormal period は遅い K⁺チャ

ネルの開口により軸索の興奮性が低下する期であるが、XE991 投与後にはそれが抑制された。7連続刺激を行った後には遅い K⁺チャネルがより著明に開口するため、H1 期として軸索の興奮性の低下がより明瞭となるが、XE991 投与により H1 期が消失した。(3) XE991 投与後に反復放電を認めるため、CMAP の持続時間は著明に延長し、臨床的に四肢体幹での線維束性収縮を認めた。



XE991 投与前、半量投与後、全量投与後の recovery cycle と CMAP 波形の変化



XE991 投与前後の threshold electrotonus 波形の変化

考察

電位依存性の速い K⁺チャネルに対する自己抗体の産生は Neuromyotonia などで認められる。また、KCNQ チャネル遺伝子異常は myokymia と新生児痙攣を合併するが、遅い

K⁺チャンネルに対する免疫性神経疾患は報告が無い。今回 KCNQ2-3 を阻害することにより末梢神経軸索の異常発火が起こり、fasciculation が起こったことから考え、自己抗体産生などによる後天性の遅い K⁺チャンネル機能低下が軸索興奮性の亢進として fasciculation や myokymiaなどを呈する可能性が示唆された (slow potassium channelopathy)。今後このような症例や、fasciculation を引き起こす CIDP,MMN などの疾患群における KCNQ2-3 機能と、関連した免疫異常の有無の存在を検討していく。

結論

KCNQ2-3 は末梢神経に存在する遅い K⁺チャンネルで、軸索の興奮性を適度に抑制することで線維束性収縮等の異常発火を防ぐ。自己免疫的機序などによりチャンネルの機能低下が末梢神経の異常興奮を引き起こす可能性がある。

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

Campylobacter jejuni 由来蛋白による末梢神経伝導障害

主任研究者 村井弘之¹⁾

共同研究者 三野原元澄¹⁾、朴華¹⁾、小副川学¹⁾、石津尚明¹⁾、水之江義充²⁾、吉良潤一¹⁾

研究要旨

本研究は、ギラン・バレー症候群 (GBS) の主要な先行感染菌である *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) よりクローニングされた DNA-binding protein from starved cells (C-Dps)蛋白の GBS 病態への関与を解明することを目的としている。私どもはこれまでに、C-Dps 蛋白が sulfatide を受容体として神経系に結合し、ニューロンへ分化誘導した PC12 細胞株に対して、C-Dps 蛋白は細胞膜を傷害し LDH の遊離を引き起こすことを報告してきた。今回、我々は in vivo における C-Dps 蛋白の作用について電気生理学的検討を行い、C-Dps 蛋白がラット坐骨神経に対して伝導ブロックを引き起こすこと、C-DPS 蛋白が末梢神経の髄鞘、並びにランビエ絞輪部に結合することがわかった。以上のことより、C-Dps 蛋白は in vivo においても神経傷害活性を持っており、GBS の病態に関与する可能性が示唆された。今後更に GBS との関連を検討する予定である。

目的

私どもはこれまでに、ギラン・バレー症候群 (GBS) の先行感染病原体である *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) より、DNA-binding protein from starved cells (Dps) 蛋白をクローニングし、*C. jejuni* 感染後 GBS 患者における抗 C-Dps-IgG 抗体の陽性率は 50% と高いこと、C-Dps 蛋白が sulfatide を介して中枢神経ニューロンの胞体および末梢神経髄鞘に結合することを報告した。更に nerve growth factor (NGF) を用いてニューロンに分化誘導した PC12 細胞に対して、C-Dps 蛋白は直接的に細胞傷害活性を持つことを証明した。これにより、C-Dps 蛋白が *C. jejuni* 感染後 GBS の病態に何らかの作用を及ぼしている可能性が考えられた。今回、ラット坐骨神経への C-Dps 蛋白注入による in vivo における末梢神経伝導障害作用について電気生理学的検討を行ったので報告する。

方法

ラット坐骨神経への C-Dps 蛋白の作用

7~8 週齢の雌の Lewis rat (n=5) の左右の坐骨神経を露出し、一方にはコントロールとして PBS (30 μ l) を注入、他方には endotoxin を除去したリコンビナン

ト C-Dps 蛋白を 15 μ g (30 μ l) 注入した。注入部位の遠位部と近位部において、最大上電気刺激を加え複合筋活動電位 (cMAP) と潜時を測定し、近位部 cMAP/遠位部 cMAP の比と運動神経伝導速度 (MCV) を算出し比較した。測定は注入前、注入後 10 分、60 分、180 分、300 分、420 分で行った。

結果

ラット坐骨神経への C-Dps 蛋白の作用

注入前の平均 MCV は PBS 群は 37.2 m/sec、C-Dps 群では 42.4 m/sec であった。注入直後はそれぞれ 25.4、28.7 m/sec と一過性の低下が認められたが注入後 60 分には改善した。注入前値と比べ注入後のいずれの時間においても、各群有意な MCV の低下は認められなかった (図 1)。

cMAP の平均 P/D 比においては、PBS 群では注入前値 1.06、10 分値 1.04、60 分値 1.01、180 分値 0.97、300 分値 0.93、420 分値 0.97 で有り、注入前値と比べ注入後のいずれの時間においても有意な低下は認められなかった。一方で、C-Dps 注入群においては、注入前値 1.04、10 分値 0.88、60 分値 0.82、180 分値 0.83、300 分値 0.75、420 分値 0.69 であり (図 2)、注入後

¹⁾九州大学医学部神経内科、²⁾九州大学医学部微生物学

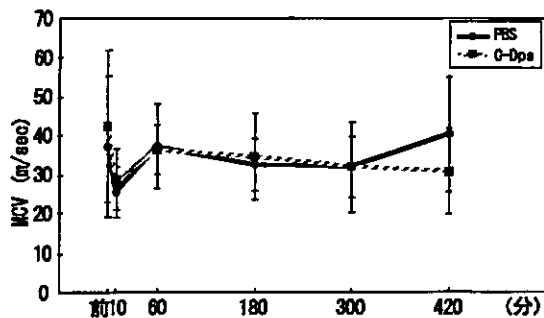


図1 C-Dps注入によるMCVの変化

10分から以降、有意なP/D比の低下が認められた (p値:10分 0.016, 60分 0.016, 180分 0.026, 300分 0.005, 420分 0.006)。

また、C-Dps 蛋白を注入した末梢神経切片においては、抗 C-Dps 抗体を用いた免疫染色にて、髄鞘が染色され、さらに、ランビエ後輪部への C-Dps 蛋白の沈着が確認された。

考察

我々の研究グループにおいてクローニングした C-Dps 蛋白は、様々なストレスに曝された細菌の産生する一種のストレス蛋白である。C. jejuni 感染後の GBS 患者では、50%に抗 C-Dps-IgG 抗体が検出されることから、これらの患者が C. jejuni 感染後に C-Dps 蛋白に暴露されていることが示唆されている。我々はこれまでに、C-Dps 蛋白が sulfatide を介して神経系に結合すること、in vitro において、NGF でニューロンに分化誘導した PC12 細胞株に対し、C-Dps 蛋白は細胞膜に結合し上清へ LDH の遊離を引き起こすことなど、直接的な神経傷害活性を持ちうることを報告してきた。今回のラット坐骨神経での in vivo における検討においては、C-Dps 蛋白は MCV の低下はきたさないが、cMAP の P/D 比の低下、つまり伝導ブロックを引き起こすことが示された。このような C-Dps 蛋白の作用は、C. jejuni 感染後 GBS での軸索傷害となんらかの関連があるのかもしれない。

ランビエ絞輪における node 部位の軸索膜状には、電位依存性 Na チャンネルが存在し、paranode 部位には caspr、更とその近傍 (juxtaparanode) には K チ

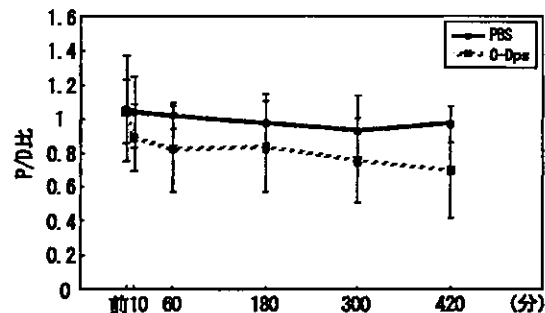


図2 C-Dps注入によるcMAP (P/D比) の変化

チャンネルというように特異な分布をしている。セラミドガラクトシルトランスフェラーゼ (CGT) やセレブロシドスルフォトランスフェラーゼ (CST) は硫酸化糖脂質の産生に不可欠な酵素であるが、これらをノックアウトしたマウスでは sulfatide は欠損する。sulfatide は paranode 部位におけるミエリンループと軸索膜との接着結合に不可欠な分子であり、これら CGT や CST ノックアウトマウスでは一見末梢神経はよくミエリン構造を保っているように見えるが、paranode 部位の異常や Na チャンネルや K チャンネルの集積に異常が認められる。C-Dps 蛋白の受容体は sulfatide であるため、C-Dps 蛋白による神経障害では paranode 部位、あるいは Na チャンネルや K チャンネルの集積などに異常をきたす可能性が考えられ、現在検討を進めている。

結論

ラット坐骨神経への C-Dps 蛋白注入では、MCV の低下は認められなかった。一方で、cMAP における P/D 比は、PBS 注入群では、前値と注入後で有意な低下は認められなかったが、C-Dps 蛋白注入群では前値と比べ注入後 10 分以降で有意な低下が認められたことより、C-Dps 蛋白は末梢神経の伝導ブロックを引き起こす可能性が示唆される。

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

ボツリヌス毒素の抗原性に関する検討

分担研究者 吉川弘明^{1),2)}

共同研究者 丸田高広²⁾、山田正仁²⁾、大島美奈子³⁾、BZ Dolimbek³⁾、MZ Atassi³⁾

研究要旨

ボツリヌス毒素 A 型 (BTA) は、神経終末のアセチルコリン放出を阻害する。また BTA の反復投与はその中和抗体を生ずる。本研究では BTA および中和抗体の作用過程解明を目的とした。まず、BTA 重鎖のアミノ酸配列から 60 個のオーバーラップペプチドを合成し、この合成ペプチドとシナプトゾームを用いた RI 免疫沈降法で BTA の神経終末結合部位を同定した。次に、Plate Assay (RIA) を用いて、BTA (トキシイド) を感作したマウス血清と結合する合成ペプチドをスクリーニングした。その結果、神経終末結合部位は BTA H 鎖上の N 末側と C 末側の両者に存在していた。また、抗 BTA 抗体は BTA H 鎖上の神経終末結合部位とその近傍を認識していた。以上より、BTA の中和抗体は BTA H 鎖上 N 末側、C 末側の両方に存在する神経終末結合部位近傍を認識し、BTA の神経終末結合を阻害すると考えられた。

研究目的

重症筋無力症や Lambert Eaton 筋無力症候群 (LEMS) など神経筋接合部疾患の病態解明には、 α ブンガロトキシンや ω コノトキシンなどの神経毒研究の貢献が大きい。特にボツリヌス神経毒 A 型 (BTA) は、神経終末のアセチルコリン放出を阻害し、LEMS 様症状を呈する。しかし、BTA 摂取から症状発現に至る過程には未解明の部分も多い。今回、BTA の抗原性検討から、神経終末への作用過程を明らかにすることを目的とした。

研究方法

1) 合成ペプチド、¹²⁵I-BTA、シナプトゾームの準備

BTA H 鎖 (残基番号 449-1296) のアミノ酸配列から N 端側 (H_N; 残基番号 449-859) 29 個、C 端側 (H_C; 残基番号 855-1296) 31 個の計 60 個のオーバーラップペプチド (N1-

29, C1-31) を既報法 (Proc Natl Acad Sci USA 1991, 88; 3613-17) にて合成、精製した。BTA はクロラミン T 法で ¹²⁵I 標識した。シナプトゾーム (Syn) はマウス脳から密度勾配遠心分離法を用いて抽出した。

2) 非標識 BTA および合成ペプチドによる ¹²⁵I-BTA-Syn 結合阻害

Syn に非標識 BTA または合成ペプチドを加え、その後 ¹²⁵I-BTA を反応させ遠心し、沈殿の放射活性を γ カウンターで測定した。

3) 抗 BTA 抗体認識エピトープの同定

Plate Assay (RIA) を用いて、BTA (トキシイド) により感作したマウス血清と結合する合成ペプチドをスクリーニングした。

(倫理面への配慮)

動物実験は大学動物実験指針に則って行った。

研究結果

1) 非標識 BTA および合成ペプチドによる ¹²⁵I-BTA-Syn 結合阻害

¹²⁵I-BTA と Syn の結合は非標識 BTA および H_N の 6 合成ペプチド (N7, N16, N19, N21, N26), H_C の 5 合成ペプチド (C16, C19, C23,

¹⁾ 金沢大学保健管理センター

²⁾ 金沢大学大学院医科学系専攻
脳老化・神経病態学 (神経内科)

³⁾ Baylor 医科大生化学・免疫学科

C28, C31) で阻害され, 同部位が BTA のシナプス結合部位であることが示唆された (図).

2) 抗 BTA 抗体認識エピートープの同定

¹²⁵I-BTA と Syn の結合を阻害した合成ペプチドの近傍をマウス抗 BTA 抗体が認識することがわかった (図).

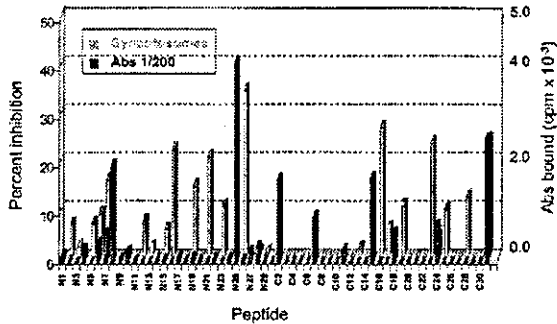


図. ボツリヌス毒素上の神経終末結合部位と抗 BTA 抗体標的的部位

BTA H 鎖 (残基番号 449-1296) の N 端側 (HN ; 残基番号 449-859) 29 個 (N1-29), C 端側 (HC ; 残基番号 855-1296) 31 個 (C1-31) のペプチドを合成. 各ペプチドは 19 アミノ酸からなり (C31 のみ 22 アミノ酸), 隣接するペプチドは 5 アミノ酸づつ重複している.

考察

近年, BTA はその筋弛緩作用から, 眼瞼痙攣や痙性斜頸などの治療に対する有効性が評価されるようになった. しかし, BTA 治療の反復により, BTA 中和抗体が出現し, 治療効果がなくなることが知られている. 本研究から, 抗 BTA 抗体認識部位が神経終末結合部位であることが示された. この結果は, 中和抗体の作用機序が BTA と神経終末の結合阻害であることを示唆している. 今後, 中和抗体結合部位のアミノ酸配列改変により, 中和抗体の出来にくい BTA アナログが開発できる可能性がある.

結論

今回の実験から BTA の神経終末結合部位が

BTA 上の H_N, H_C 両者に存在することが示された. また, 同部位およびその近傍が抗 BTA 抗体の認識部位であることがわかった. 抗 BTA 抗体はこの神経終末結合過程を阻害することにより, BTA の神経筋接合部機能障害を阻止すると考えられた.

文献

Maruta T, Dolimbek BZ, Aoki KR, Atassi MZ. Mapping of the Synaptosome-Binding Regions on the Heavy Chain of Botulinum Neurotoxin A By Synthetic Overlapping peptides Encompassing the Entire Chain. *Prot J* 23(8); 539-552, 2004

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

多発筋炎 (PM)/皮膚筋炎 (DM) の臨床像と病理像の関連性の解析

分担研究者 清水潤¹⁾

共同研究者 加納聡子¹⁾、三方崇嗣¹⁾、古和久朋¹⁾、辻省次¹⁾

研究要旨

皮膚症状のみで Dermatomyositis (DM) と Polymyositis (PM) を鑑別する Bohan の診断基準の問題点が近年になり指摘されている。臨床像と筋病理像の対応を PM/DM157 例を用いて検討した。皮疹合併：72 例、非合併：85 例、病理所見は PM 診断的 (非壊死筋線維へのリンパ球浸潤)：8 例、DM 診断的 (perifascicular atrophy, および補体の小血管沈着)：49 例であった。皮疹の合併しない 85 例中 17 例の病理診断は DM であった。本検討での分類として、PM 確実：診断的な PM の病理所見例、DM 確実：皮疹合併または診断的 DM の病理所見例、とした。PM 確実：8 例、DM 確実 89 例、分類不能 53 例であった。PM 群は高齢、慢性経過で CK は低値の傾向、DM 群のみに発熱、間質性肺炎、膠原病、悪性腫瘍の合併を認めた。また、皮疹の性状により膠原病、癌の合併頻度が異なった。PM は極端に少ないこと、PM と DM の臨床像は大きく異なること、筋炎の約 4 割でタイプ分類が不可能であること、DM 群にサブタイプが存在することが示された。

研究目的

Dermatomyositis (DM) では液性免疫が関与し、病理所見は perifascicular atrophy (PFA), C5b9 の筋内鞘への沈着、電顕での筋内鞘血管変化が特異的であり、Polymyositis (PM) では細胞性免疫が関与、病理所見は正常筋線維へのリンパ球浸潤が特異的である。Bohan の基準では皮膚症状のみが DM と PM の鑑別点として用いられてきた。しかしながら、皮膚症状がなく“PM”とされる例の生検筋で DM に典型的な病理所見を認めることをしばしば経験する。Bohan 分類では機序の異なる病態を一緒に扱う可能性があり、病態解明や治療開発のために不適切である可能性がある。PM/DM 例で臨床像と病理像の対応を明らかにし、臨床像と病理像を考慮した筋炎分類を試みた。

研究方法

Bohan の診断基準を満たす当科経験の連続 157 例の筋炎症例を対象とした。

1) 東京大学医学部神経内科

臨床情報に関しては、臨床チャートを見直した。皮膚症状に関しては、典型的なものとは非典型的なものに分け、間質性肺炎、膠原病、癌の有無で細分をした。病理所見は、非壊死筋線維への細胞浸潤、PFA、血管内鞘 C5b9 沈着 (C5b9) を病理因子とした。臨床像と病理像を考慮し症例を、PM 確実：非壊死筋線維への細胞浸潤をみる例、DM 確実：皮膚所見または PFA, C5b9 像を認める例、タイプ非確定筋炎：特異所見ない炎症像を認める例、筋炎疑い：炎症像がないまたは軽微な例 の 4 グループに分けた。

研究結果

1) 臨床像と病理像 (表 1)

157 例中特異的病理所見を伴う例は 57 例 (36%) で、非特異的炎症像を伴う例が多かった。PFA は典型的皮疹を伴う例に多く認めた。非壊死筋線維への浸潤像を見る例は 8 例存在し、皮疹は認めなかった。また、悪性腫瘍を合併する筋炎の 40 割で筋組織内に

PFA, C5b9 像を認めた。

2) 筋炎分類

症例全体を Bohan 分類に当てはめると (表 2) “皮膚筋炎” 72 例、“多発筋炎” 85 例であり、“多発筋炎” の中に病理学的に DM 機序の症例が 17 例含まれた。症例全体を皮疹と病理像を考慮した分類に当てはめると (表 3)、PM 確実は 8 例 (5%)、DM 確実は 89 例 (57%)、タイプ診断不可能例が 53 例 (34%) であった。PM 確実群は高齢発症、慢性経過で、CK は低値、合併疾患はなかった。DM 確実群は、亜急性発症で、発熱、炎症所見を示し CK 高値の例が多かった。典型的皮疹を伴う例で悪性腫瘍の合併が多く、非典型的な皮疹を伴う例で膠原病の合併が多かった。

考察

従来、“多発筋炎” は 30~60%とされており、組織所見を考慮しないと PM が過診断される傾向がある。一方、本分類でも約 4 割の症例はタイプの確定ができなかった。皮疹と病理像を考慮した本分類で PM 確実群と DM 確実群の臨床像は大きく異なり、病理所見を加えた分類の必要性が確認された。PM 確実群は封入体筋炎との類似点を持ったが治療反応であり、経過を追う必要がある。DM 確実群は、皮疹の性状により臨床・病理像は異なり、サブグループの存在が示唆された。

筋臨床像と病理所見の対応 (表1)

	特徴的所見 (+)					なんらかの特異所見 (+)	特異所見 (-)	炎症細胞浸潤		HLA-ABC 筋繊維脱失	
	非壊死線維細胞浸潤	PFA	C5b9	PFA または C5b9	>5			5以下	陽性	陰性	
157	8	24	34	49	57	100	139	18	140	17	
皮疹 (+)	72										
典型	40	0	9	14	20	20	32	8	39	1	
非典型	32	0	3	11	12	20	29	3	30	2	
皮疹 (-)	85	8	12	9	17	25	78	7	71	14	
間質性肺炎	30	0			9	9					
膠原病	39	0			6	6					
悪性腫瘍	25	0			10	10					

Bohan の診断基準に基づく筋炎分類 (表2)

確定病態機序	筋病理所見からの障害機序		
	非壊死線維細胞浸潤	PFA または C5b9 血管沈着	
“皮膚筋炎” 72 例	0	32	40
“多発筋炎” 85 例	8	17	60

皮疹と病理像を考慮した筋炎の分類 (表3)

	PM 確実	DM 確実			タイプ非確定筋炎	筋炎疑い
		皮疹 (+)	非典型	皮疹 (-)		
症例数	8	40	32	17	53	7
		89				
性(M,F)	(2:6)	(34:55)			(20:33)	(4:3)
年齢	55~78	55~78			16~87	52~63
(平均)	66.9	54.4			54.1	56.1
経過(月)	34.5	4.8			6.9	6.7
発熱	0	30			8	1
CK(平均)	1458	3983			2777	3504
血沈九進	5	43			20	3
CRP 高値	2	22			10	1
間質性肺炎	30	0	20	8	7	5
膠原病	38	0	17	3	13	1
悪性腫瘍	25	0	15	11	2	1

結論

臨床像と病理像に基づく筋炎の分類が筋炎の病態像の解明や治療開発に不可欠である。サブグループごとのターゲットの解明が必要である。

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

C型肝炎ウイルスと多発筋炎・皮膚筋炎の関連性に関する検討

分担研究者 清水 潤¹⁾

共同研究者 三方崇嗣¹⁾、加納聡子¹⁾、辻省次¹⁾、森屋恭爾²⁾、四柳宏²⁾

研究要旨

多発筋炎(PM)・皮膚筋炎(DM)は様々な背景を持つ疾患である。昨年 IBM において HCV 陽性率が高いことを明らかにした。PM/DM と HCV の関連性について臨床像・病理像・治療法について検討した。PM/DM の HCV 陽性率は 9.3%で疾患対照と有意差認めなかった。HCV(+)PM/DM は臨床的に受診までの期間が有意に長く、上肢遠位筋の筋力低下を示し、形態的にも慢性所見を示した。治療は全例良好に反応した。Rt-PCR で 6 例にプラス鎖、3 例にマイナス鎖認め、免疫染色では 6 例に浸潤炎症細胞のみに染色性を認めた。浸潤炎症細胞に HCV が感染し、宿主の免疫能を変容することで臨床像・病理像に影響を及ぼしていると考えた。

研究目的

炎症性筋疾患は多発筋炎(PM)、皮膚筋炎(DM)、封入体筋炎(IBM)に大別される特発性筋炎とウイルス感染などに続発する二次性筋炎に分類される。PM や DM は膠原病や間質性肺炎などの自己免疫疾患に伴うものや悪性腫瘍に伴うものもあり背景の病態は均一ではないと考えられる。成人における慢性感染のウイルスに伴う筋炎として HTLV-1 や HIV に伴う筋炎が知られている。

一方 HCV の同定以来 HCV 感染に伴う肝外病変として本態性混合性クリオグロブリン血症・膜性増殖性腎炎・シェーグレン症候群・末梢神経障害・悪性リンパ腫などが知られている。HCV の肝外病変の機序としてクリオグロブリンの組織血管沈着に伴う血管炎機序、ウイルスの組織への直接感染、ウイルス抗原と自己抗原の交叉反応、HCV がリンパ系細胞へ感染することによる宿主側の免疫系の異常反応などが推定されている。

また昨年の本班会議で IBM の HCV 陽性率が高いことを明らかにした。

HCV 感染と PM、DM の病態との関連性を疫学的、臨床的、組織学的に明らかにすることを目的とした。

研究方法

対象 1992年～2004年に東京大学医学部附属病院神経内科で診断目的に筋生検が行われ、

1)東京大学神経内科

2)東京大学感染症内科

病理検討の結果 Bohan の診断基準を満たし PM、DM と診断した症例を PM/DM として一括で扱い連続 192 症例で抗 HCV 抗体の測定されていた 150 例を対象とした。

方法 上記対象に対して

1.HCV 合併頻度:各症例の臨床チャートを参照し、血清中の HCV 抗体の有無を調べ、陽性率を算定。各症例に対して、性別・生まれ年を等しくし、入院日が最も近い当科入院患者 1 名を無作為に選び、HCV 陽性率の検討のための疾患対照として χ^2 二乗検定法を用いて検定した。

2.HCV 陽性例と陰性例の臨床像の比較検討:臨床チャートを用いて、下記に関して陽性例と陰性例とで比較した。

1. 年齢、性別 2. 皮疹、発熱、間質性肺炎の合併、膠原病合併、悪性腫瘍合併の有無、筋痛の有無 3. 筋力障害の程度と分布 4. 嚥下障害の有無 5. CK 値、血沈、CRP、抗核抗体

3.ルーチン筋病理診断用組織所見の検討: HCV 陽性例と陰性例とで1. 大小不同 2. 肥大線維 3. 脂肪浸潤 4. 炎症細胞浸潤の程度 5. 正常筋線維へのリンパ球浸潤の有無 6. Rimmed vacuole(RV) 7. Perifascicular atrophy(PFA)

4.RT-PCR-サザンブロット:凍結筋より QIAGEN 社の RNeasy Mini を用いて RNA 抽出し、RNA を

cDNA とした後 HCVcore 領域に設定したプライマーを用いて nested-PCR を行った。その後サザンブロットを行い HCV-RNA を特異的に検出した。陽性コントロールとして HCV 陽性肝を用い陰性コントロールとして滅菌蒸留水及び HCV 陰性肝、HCV 陰性 PM/DM を用いた。

5.HCV 抗原に対する免疫染色:抗 E2 抗体、抗 core 抗体を用いて免疫染色を行った。

6.治療に関する検討:HCV 陽性 PM/DM に関し、治療法、治療経過を臨床チャートを用いて検討した。

研究結果

1.PM/DM の HCV 陽性率は 150 例中 14 例で陽性率は 9.3%であり、疾患対照群の HCV 陽性率は 150 例中 7 例で陽性率は 4.6%であった。 χ^2 乗法による検定で $p=0.11$ であり有意差を認めなかった。(表 1)

2.HCV 陽性群が高齢であり、HCV(+)/PM/DM の受診前期間は 27.7 ± 67.8 ヶ月、HCV(-)/PM/DM が 4.7 ± 11.7 ヶ月で U 検定で $p < 0.001$ と有意に HCV(+)/PM/DM が長期であった。HCV(+)/PM/DM のうち 12 ヶ月以上の緩徐発症の経過を 14 例中 9 例(64%)で認めた。また、全 150 症例中 12 ヶ月以上の緩徐発症の経過をとる筋炎は 21 例であり、このうちの HCV 陽性例の比率は 43%であった。上肢遠位筋に近位筋と同等かそれ以上の筋力低下を 4 例で認めた。検査所見や初発症状は著変無かった。(表 2)。

3.肥大線維や RV の程度は HCV(+)/PM/DM が有意に多かった。PM に特徴的な正常筋線維へのリンパ球浸潤像を 3 例、DM に特徴的な PFA を 4 例に認めた。

HCV 陽性群は PM 機序は 4 例(29%)、DM 機序は 6 例(41%)、分類不能 4 例(29%)であり、PM 機序 8 例(6%)、DM 機序 41 例(30%)、分類不能 87 例(65%)の陰性群と比し PM 機序が増加した。(表 3)

4.プラス鎖を 6 例、マイナス鎖を 3 例で検出し、マイナス鎖は長期経過例でのみ検出された(図 1)。

5.6 例で浸潤炎症細胞に抗 E2 抗体、抗 core 抗体の発現を認めたが、筋線維への発現は認めなかった(図 2)。

6.治療を行った例は良好に反応したが、長期経過例では完全な回復に至らない例も認めた。C 型肝炎に関する加療のみで筋症状も軽快した症例も認めた。

表 1.

	平均年齢 (2004)	男:女	HCV 陽性	HCV 陰性	合計
PM/ DM	59.7 ± 32.3	49 : 101	14(9.3%)	136	150
疾患 対照	59.5 ± 31.5	49 : 101	7(4.6%)	143	150

$p=0.11$

表 2

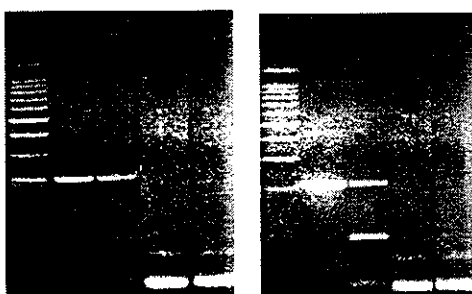
	HCV陽性	陰性	P
症例数	14	136	
2004平均年齢	67.5 ± 17.4	58.9 ± 33.0	$p < 0.02$
男女比	F7 M7	F94 M42	$p = 0.15$
受診前期間(月)	27.7 ± 67.8	4.6 ± 11.6	$p < 0.001$
皮疹	4	34	
発熱	3	36/77	
間質性肺炎	3	18	
膠原病合併	3	22	
悪性腫瘍合併	3	18	
筋痛	6	52/76	
筋障害の分布			
上肢			
近位 > 遠位	10	92/92	$p < 0.001$
近位 ≤ 遠位	4	0	$p < 0.001$
下肢			
近位 > 遠位	14	92/92	
近位 ≤ 遠位	0	0	
嚥下障害	0	2	
血清CK	3017 ± 7742	2627 ± 5941	$p = 0.97$
血沈	44.1 ± 80.1	42.6 ± 61.6	$p = 0.97$
CRP	1.36 ± 3.96	1.23 ± 5.03	$p = 0.71$

表 3

	HCV陽性 PM/DM	HCV陰性 PM/DM	p
症例数	14	136	
正常筋線維 リンパ球浸潤像	4	8	p<0.001
perifascicular atrophy	3	41	p=0.50
肥大線維	5	5	p<0.001
rimmed vacuole	5	3	p<0.001

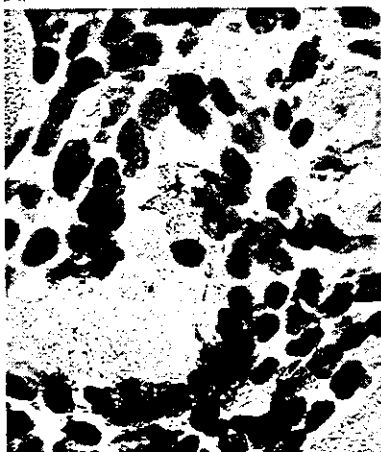
図 1

プラス鎖 マイナス鎖



左から HCV 陽性剖検肝、HCV(+)PM/DM、
HCV(-)PM/DM、ddw

図 2



浸潤炎症細胞にのみ染色性を認める

考察

PM/DM において HCV 陽性率はコントロールと比して有意差は認めなかったが、HCV 陽性例は有意差をもって罹患期間が長期であった。病理学的にも慢性経過を示唆する所見を有意に高率に認めた。臨床的に上肢遠位の筋力低下を認める症例を 4 例認め IBM に類似したが、治療反応性がよい点が異なった。PM 的な機序のものも DM 的な機序のものも認めたが、HCV 陰性例に比し PM 的な機序の例が多かった。HCV 陽性 PM/DM の 6 割が慢性の経過を取ること、IBM とは異なる長期経過の PM/DM を認め、その HCV 陽性率が高いことから HCV が PM/DM の慢性化に関与している可能性があり、その機序として HCV がリンパ球に感染することで宿主の免疫能を変容するためと考えた。

結論

今回我々は HCV 感染と炎症性筋疾患の関連に関して多数例で検討し、臨床的に緩徐発症すること、病理学的にも慢性所見を認めること、治療反応性がよいことを明らかにした。また、RT-PCR で骨格筋にプラス鎖・マイナス鎖共に認め、免疫染色で浸潤炎症細胞のみに HCV を確認した。

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