

より強く相関することを報告している。本研究では比較的罹病期間の長い CIDP 患者が対象であったため、二次性の軸索障害の程度が反映されたものと考えた。

今後は、拡散テンソル画像により、CIDP を含めた末梢神経疾患の診断補助や治療効果判定、神経原性筋萎縮と筋原性筋萎縮との鑑別、神経伝導検査の困難な末梢神経近位部での神経の評価などへの応用が期待される。今後の MR 装置の進歩により、さらなる画像の改善も望まれる。

結論

拡散テンソル画像は CIDP などの末梢神経障害において、末梢神経の非侵襲的評価法として有用であると考えられる。

文献

- 1) Kakuda T, et al. Diffusion tensor imaging of peripheral nerve in patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: a feasibility study. *Neuroradiology* 2011, in press.
- 2) Takagi T, et al. Visualization of peripheral nerve degeneration and regeneration: monitoring with diffusion tensor tractography. *Neuroimage* 44:884-892, 2009

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

CIDP の遺伝子発現解析からみた治療反応性

研究分担者 祖父江 元

共同研究者 飯島正博、小池春樹、川頭祐一、富田稔、橋本里奈

研究要旨

慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー (chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, CIDP) は、四肢に進行性の運動感覚障害をきたす脱髄疾患である。病態に免疫機序が関与するとされ、治療にはステロイドをはじめとする各種免疫療法の有効性がランダム化比較試験で確立している。ただしこれらの治療に反応しない難治例が一定の割合で存在することから、治療反応性が生じる病態機序の解明が期待されている。今回我々は、病変部生検神経における遺伝子発現解析から CIDP の病態と治療反応性のメカニズムにかかわる候補遺伝子の機能を検討した。疾患-コントロール間、経静脈免疫グロブリン (intravenous immunoglobulin, IVIg) responder-non-responder 間で発現変動を示す遺伝子群をスクリーニングし、gene ontology による機能解析と pathway によるネットワークを形成する遺伝子群を抽出した結果、CIDP の病態には細胞性免疫をはじめとする炎症や恒常性にかかわる機能が示された。一方 IVIg 治療反応別では IVIg responder で液性免疫を主体とする炎症機序の関与が示唆された。

研究目的

CIDP は自己免疫性の末梢神経疾患であり、再発寛解や慢性進行性の運動感覚障害を特徴とする難治性疾患である。治療にはステロイド、血液浄化療法、IVIg といった各種免疫療法が確立しており、これらの有効性に優劣はないとされる。しかし CIDP ではこれらの治療法に反応しない難治例が一定の割合で存在することは広く知られており、治療反応性にかかわる病態の解明が求められている。な

かでも IVIg は第一選択で使用される治療法であり、その有効性を規定する因子の解明は重要である。今回我々は病変部生検神経を対象にした網羅的な遺伝子発現解析を行い、CIDP の病態と治療反応性のメカニズムにかかわる候補遺伝子やそれらの果たす役割を検討した。

研究方法

対象は CIDP 11 例とコントロール 2 例。IVIg 治療反応性の評価は治療前後の運動機能スケール (overall disability sum score, ODSS) の改善度 (Δ ODSS) で 1 点以上の改善を示した場合を

名古屋大学医学部神経内科

responder、それ以外を non-responder と定義した。CIDP 群のうち、生検前の IVIg 使用が後日明らかとなった 1 例と IVIg には良好に反応するものの短期間の再発を繰り返す 3 例を今回の解析対象から除外した。遺伝子発現量は凍結生検神経より抽出した mRNA を cDNA へ逆転写し、Affymetrix 社のマイクロアレイチップを用いて発現量を評価した。これらの遺伝子発現量の信頼性検定や各種解析には GeneSpring GX ソフトウェアを使用した。

倫理面への配慮

本研究は名古屋大学倫理委員会の審査・承認を経て実施した。症例には番号を付与して匿名化するなど倫理的配慮を行った。

研究結果

スクリーニングとして CIDP-コントロール、IVIg 治療反応性の群間の遺伝子発現量が 4 倍以上の遺伝子群を抽出した。このうち遺伝子群の機能を抽出する gene ontology analysis と、ネットワークを形成する遺伝子群の抽出に有用な pathway analysis を施行した。CIDP で亢進した遺伝子群 (658 entities) 主要な機能として、シグナル調整、免疫応答や恒常性維持、ストレス反応機序が示された。さらに pathway analysis から細胞性免疫に関与 (CXCL9, ZAP70 等) する遺伝子群の有意性が示された。治療反応別では IVIg responder で 236 entities、IVIg non-responder で 28 entities の亢進が示

された。Responder で発現亢進した遺伝子群の特徴には免疫応答と傷害に対する応答が示された。Pathway analysis では特に液性免疫に関与が知られる各種のインターロイキンやケモカインの発現が responder で亢進していることが示唆された。一方 non-responder で特徴的な機能は今回の解析からは検出されなかった。

考察

病変部神経の遺伝子発現解析から、CIDP には細胞性免疫を主体とする免疫機序が関与すると考えられた。治療反応性に関し液性免疫を担う遺伝子の発現亢進が responder で示されたことは、四肢対称性かつ比較的進行が明らかな典型例で免疫療法が奏効する可能性を示唆する。なお今回は mRNA を主要な解析対象とするため、軸索における遺伝子発現は反映されていないと考えている。従って non-responder に対応する病態が今回検出されなかったことは、軸索関連分子が治療反応性、とくに non-responder のメカニズムに関与する可能性が示唆される。

結論

CIDP が免疫機序を背景とする疾患であることが遺伝子発現レベルで支持された。治療反応性に対応する因子として液性免疫の発現量は有用な指標となりうる。

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

POEMS 症候群の網羅的サイトカイン・ケモカインプロファイル解析

分担研究者 桑原 聡

共同研究者 金井数明、澤井撰、三澤園子、渋谷和幹

研究要旨

POEMS 症候群は形質細胞腫に伴い浮腫、胸水・腹水、脱髄性多発ニューロパチーなどの特異な臨床症状を呈する疾患である。本症候群では血清中の VEGF が異常高値を示すことが知られており、POEMS 症候群の疾患活動性マーカーとしての意義は確立されている。一方で、IL-6 などの炎症性サイトカインの上昇なども報告され、また高 VEGF 病態モデル動物で末梢神経障害が認められないなど、POEMS 症候群の病態の全てを血清 VEGF の上昇だけで説明はできないことも推定されていた。VEGF 以外のサイトカインが POEMS 症候群の病態生理に関与している可能性を考え、POEMS 症候群 25 名の血清検体から未治療時 16 検体、再発時 7 検体を抽出し、健常者 19 名、CIDP 患者 10 名を対照としてマルチプレックスサスペンションアレイ法を用いて網羅的サイトカイン・ケモカインプロファイル解析を行った。POEMS 症候群患者 10 名では治療前後のサイトカインプロファイルの変化も検討した。その結果、POEMS 症候群の未治療患者および再発患者では多くのサイトカインの有意な上昇や現象を認めたが、患者全員が異常高値を示すサイトカインとして VEGF と IL-12 を認めた。この 2 種のサイトカインのみ 3 か月間の治療による有意な減少を認めた。IL-12 は実験的にも脱髄性ニューロパチーを生じることが示されている他、AIDP など他の脱髄性ニューロパチーでも軽度の上昇が報告されている。このため、今回 POEMS 症候群で高度の血清濃度上昇を認めた IL-12 は、POEMS 症候群の脱髄性ニューロパチーの責任サイトカインである可能性が示唆された。

研究目的

POEMS 症候群は形質細胞腫に伴い浮腫、胸水・腹水、脱髄性多発ニューロパチーなどの特異な臨床症状を呈する疾患である。本症候群では血清中の vascular endothelial growth factor (VEGF) が異常高値を示すことが明らかにされており、VEGF の POEMS 症候群の疾患活動性マーカーとしての意義は確立されている。一方で、IL-6 などの炎症性サイトカイン値の上昇なども報告され、また高 VEGF 病態モデル動物で末梢神経障害が認められないなど、POEMS 症候群の病態の全てを血清 VEGF の上昇だけで説明はできないことも推定されていた。このため VEGF 以外のサイトカインやケモカインが関与している可能性を考え、POEMS 症候群患者の治療前・治療後あるいは再発後の保存血清検体を対象として網羅的サイトカイン・ケモカインプロファイル解析を行った。

研究方法

(1) 対象：POEMS 症候群患者 25 例（男性 16 例）を対象とし、これらの患者の保存血清から未発症時 16 検体（男性 12 検体：平均 57.1 才）、再発時 7 検体（男性 2 例；女性 1 例は 2 回再発を認める；平均 62.4 才）を抽出した。さらに 10 例（男性 7 例；平均 61.2 才；自己末梢血幹細胞移植を伴う高用量化学療法 4 例、サリドマイド療法 6 例）について治療前後のサイトカインプロファイルの変化を検討することとした。正常対照として、age-match させた健常者 19 名（年齢 42-76 歳、平均 59.3 歳）および疾患対照として CIDP 患者 10 名の血清検体を用いた。
(2) 方法：上記の検体について、BIORAD 社のサイトカインマルチプルアッセイシステムを用い、血清中の 27 種類のサイトカイン・ケモカインの同時測定を行った。

倫理面への配慮

本研究に際しては、千葉大学大学院医学研究院および医学部附属病院の倫理規定を遵守して行った。保存血清の利用に関しては当院の倫理委員会の承認を得ている。

研究結果

(1) 27種のサイトカイン・ケモカインのうち、IL-2とIL-15の2種は疾患群・正常対象群ともに検出限界以下であり、その他25種に関しては、無治療 POEMS 症候群と正常対照群との間で、VEGFをはじめとして20種のサイトカインで有意な上昇、Eotaxin 及び RANTES の2種で有意な低下を認め、PDGF-bb、G-CSF、IP-10の3種で有意さを認めなかった。既報告の通り、IL-6の有意な上昇も確認された。血清 VEGF に関しては、無治療 POEMS 患者では全員で正常対照の平均+3SD の値を超え、同様に無治療 POEMS 患者において全員が異常高値を示すサイトカインを検索したところ、IL-12が同様な挙動を示すことが明らかとなった。

(2) 治療前後の比較では、全体として、VEGF 及び IL-12 の2種のみで治療開始後3ヶ月で有意な低下を認め、RANTES 及び IP-10 で有意な上昇を認めた。IL-6 や TNF- α など、これまで脱髄性ニューロパチーの病態との関連が示唆されていたサイトカインは、有意差はないものの、平均値は治療後の方が高値であった。

考察

これまでの報告から、PBSCT を用いた高用量化学療法群では3か月以内に迅速な神経症状の改善が認められるとされ、またサリドマイド療法でも、神経症状以外の症状改善は2か月前後から始まり、神経症状も約3分の1は3か月以内に改善が始まるとされている。このため、1) 未治療患者の全員で異常高値を認め、2) 治療に迅速に反応し、3) 再発時にはやはり全員が高値を示す、という性質をいずれも満たす VEGF と IL-12 は、ともに POEMS 症候群の病態の中で重要な役割を果たしているサイトカインであると推定される。

免疫介在性脱髄性ニューロパチーの検討から脱髄に関与しているサイトカインとして、IL-6 や TNF- α などと並んで、IL-12 も候補として推定されている。これに関連し、マウス坐骨神

経に IL-12 を注入すると、脱髄が生じることが実験的に示されており[1]、また、GBS では血清 IL-12 が患者群で有意に上昇する事が報告されている[2]。

今回のデータと併せ考えると、IL-12 が POEMS 症候群の脱髄性ニューロパチーの責任サイトカインである可能性が示唆された。IL-12 は、POEMS 症候群における分子標的療法の新規作用点となる可能性も示唆された。

結論

サイトカインマルチプレックスアッセイ法を用いて、POEMS 症候群患者の初発無治療時・再発時・治療開始後のサイトカインプロファイルを検索した。その結果、これまで知られていた VEGF 異常高値の他に、異常高値を呈するサイトカインとして IL-12 が存在する事が判明した。VEGF と同様、IL-12 は治療によって速やかに低下を示し、また治療反応性とも相関することが示された。

IL-12 は POEMS 症候群における脱髄性ニューロパチーを説明する、この疾患の Key molecule である可能性が高く、今後同疾患における分子標的療法の新規作用点となる可能性があり、注目される。

文献

1. Welidou SH, Deretzi G, Zou LP, Quiding C, Zhu J. Inflammation and severe demyelination in the peripheral nervous system induced by the intraneural injection of recombinant mouse interleukin-12. *Scand J Immunol.* 1999; 50: 39-44.
2. Deng H, Yang X, Jin T, Wu J, Hu LS, Chang M, Sun XJ, Adem A, Winblad B, Zhu J. The role of IL-12 and TNF- α in AIDP and AMAN. *Eur J Neurol.* 2008; 15: 1100-5.

健康危険情報

なし

知的所有権の出願・登録状況

特許取得・実用新案登録：なし

抗 signal recognition particle (SRP)抗体陽性症例での、 抗体価と臨床的、病理学特徴に関する検討

研究分担者 清水 潤¹⁾

共同研究者 橋本 明子¹⁾²⁾, 岩田 淳³⁾, 辻 省次¹⁾

研究要旨

抗 SRP 抗体陽性筋炎症例での抗体価と臨床・病理学的特徴・治療経過との関連を検討することを目的とした。Dot blot 法で抗 SRP 抗体陽性と判定された筋炎 20 例, 正常コントロール 24 例を対象とし, ELISA 法で SRP54 蛋白に対する IgG 抗体の検出を行い, その吸光度を測定した。ブランクとの吸光度差は, 抗 SRP 抗体陽性症例で 1.26 ± 0.40 , 正常コントロールで, 0.23 ± 0.18 であった。抗 SRP 抗体の抗体価は, 血清 CK 値, 発症までの期間との有意な相関は無く, 嚥下障害・拘束性呼吸障害の有無, 四肢 MMT の高度低下群・軽度低下～正常群での比較においても有意差を認めなかった。また, 抗体価は壊死・再生線維, 炎症細胞浸潤の程度とも明らかな相関を認めなかった。治療開始から 6 か月以上経過した 4 例では, 治療前と比較して, 4 例中 4 例で血清 CK 値の減少, Modified Rankin Scale の改善, 抗 SRP 抗体価低下を認め, 2 例では抗体は検出感度以下となった。既報告では, 動物由来の SRP 全体を抗原として用いた抗 SRP 抗体検出検討が多く, SRP54 以外の各サブユニットに対する抗体の存在も指摘されている。本抗体陽性症例の臨床病理学的多様性については, SRP54 のみではなく他のサブユニットに対する抗体の存在の関与も検討すべきと考えられた。

研究目的

近年, 抗 signal recognition particle (SRP) 抗体陽性筋炎症例は, 従来の報告よりも臨床的・病理学的多様性が存在することが指摘されている。しかし, 現在まで多様性を生じる因子は明らかになっていない。

本検討では, 抗 SRP 抗体陽性炎症性筋疾患症例の臨床的・病理学的多様性に関して, ELISA 法による抗 SRP 抗体価との関連に注目し, 抗体価と臨床・病理学的特徴との関連, 抗体価と治療経過との関連について検討することを目的とした。

研究方法

対象は Dot blot 法で抗 SRP 抗体陽性炎症性筋疾患症例 20 例, および正常コントロール 24 例。

血清学的方法: リコンビナント SRP54 蛋白 (Direct 社) を ELISA プレート (Linbro 社) に 1500ng ずつ 乾燥固相化し, ブロッキング後, 40 倍希釈患者血清を室温で 90 分間反応させた。5000 倍希釈ペルオキシダーゼ標識抗ヒト goat IgG 抗体 (ICN/Cappel 社) を室温で 90 分間反応後, 発色させ, 吸光プレートリーダー (モレキュラーデバイス社) で吸光度を測定した。1 回につき 2 レーンの平均値をとり, さらに 2 回以上測定し, 平均値をその検体の値とした。さらに, Dot blot 法で抗 SRP 抗体陽性炎症性筋疾患症例 15 例で

1) 東京大学医学部 神経内科

2) 虎の門病院 神経内科

3) 東京大学大学院医学系研究科分子脳病態科学講座

は、血清(40, 80, 160, 320, 640, 1280 倍希釈)を用い、同様に上記方法で検査を行った。

病理学的方法:筋病理像の光顕検討は、骨格筋凍結標本を作成し、切片作成後ルーチン筋組織染色、抗 HLA class I Antigen 染色、抗 HLA class II Antigen 染色、抗 Leucocyte Common Antigen、抗 C5b-9 染色(全て DAKO)を施行。

臨床情報は、カルテ記載と生検時の質問票を用い後方視的に把握した。

統計学的方法:臨床および病理所見に関する抗 SRP 抗体陽性症例と正常コントロールとの比較には Mann-Whitney test, Fisher's exact test を用い、抗体価と CK、入院前期間との関連に関しては、単純回帰分析を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究でおこなわれている筋生検、血清保存、解析の実施にあたっては、各被検者に対してその内容を説明し、文書による同意を得た上で実施している。

研究結果

血清学的検討において、抗 SRP 抗体陽性症例では、ブランクとの吸光度差は、 1.26 ± 0.40 (平均 \pm SD) であり、正常コントロールでは、 0.23 ± 0.18 であった。カットオフ閾値を 0.8 (正常コントロール血清での値の平均 $+3SD$) とした場合、dot blot 法で抗 SRP 抗体陽性炎症性筋疾患症例の 85% は ELISA 法でも抗体陽性となり、正常コントロールのうち ELISA 法で陽性となった症例は存在しなかった(感度 85%、特異度 100%)。

抗 SRP 抗体の抗体価は、血清 CK 値(IU/l)、発症までの期間(月)との有意な相関は無く、嚥下障害の有無、拘束性呼吸障害の有無、四肢 MMT の高度低下群(MMT <3)と軽度低下

～正常群(MMT4, 5)での比較においても有意差を認めなかった。また、抗体価は病理学的所見(壊死・再生線維、炎症細胞浸潤の半定量評価)とも明らかな相関を認めなかった。

抗免疫療法を行い、治療開始から6か月以上経過した症例4例では、治療前と比較して、血清 CK 値の減少、Modified Rankin Scale スコアの改善を認め、4例中4例で抗 SRP 抗体価は低下し、2例では抗体は検出感度以下となった。

考察

本検討で、抗免疫療法による臨床的改善に伴い、抗体価が減少することが明らかになったことより、抗 SRP 抗体価は、治療反応の評価マーカーとして有用である可能性が示唆された。

抗 SRP 抗体価と、各種臨床および病理所見の程度との相関は明らかではなかった。本検討では、SRP54 蛋白に対する抗体を検出することによって、抗 SRP 抗体陽性例を抽出したが、既報告では、抗 SRP 抗体の検出に、イヌなどの動物由来の SRP 全体を抗原として用いている検討が多い(2-4)。本抗体陽性患者血清には、72kDa や 9kDa 蛋白サブユニットに対しても結合する抗体や(5)6)、脱蛋白した 7SL-RNA そのものに対する抗体の存在も報告されており(7)、抗 SRP 抗体の他の各蛋白サブユニットに対する免疫学的多様性も指摘されている。このことより、本抗体陽性症例における臨床・病理での多様性については、SRP54 蛋白以外のサブユニットに対する抗体の存在の関与についても検討すべきであると考えられた。

結論

抗 SRP 抗体価と臨床・病理学的特徴との明らかな関連はなかった。個々の症例において、抗

体価は治療経過に伴って低下し、治療反応マーカーとなりうる。

文献

- 1) Okada N, et al. J Immunol. 1987;138:3219-3223
- 2) Love L, et al. Medicine. 1991;70:360-374
- 3) Targoff I, et al. Arthritis Rheum. 1990;33:1361-1370
- 4) Takada T, et al. Mod Rheumatol. 2009;19:156-164
- 5) Targoff I, et al. Arthritis Rheum. 1990;33:1361-1370

6) Targoff I. Rheum Dis Clin North Am. 2002;28:859-890

7) Satoh T et al. J Rheumatol. 2005;32:1727-1733

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

封入体筋炎における被検筋による針筋電図所見の違い：深指屈筋の有用性

研究分担者：園生雅弘¹⁾

共同研究者：北國圭一¹⁾、村嶋英治¹⁾、東原真奈²⁾、畑中裕己¹⁾、清水潤²⁾、Erik Stålberg³⁾、清水輝夫¹⁾

研究要旨

封入体筋炎（IBM）では針筋電図で高振幅・長持続時間の運動単位電位がみられ、神経原性変化と紛らわしく、筋萎縮性側索硬化症（ALS）と誤診されることも多い。IBMでは臨床的には深指屈筋（FDP）が強く障害されることが知られているが、FDPでの針筋電図所見を検討した報告はない。本研究では、IBMの針筋電図所見の筋ごとの違いを検討しFDPの有用性を示すことを目的とした。対象は、病理学的にIBMと診断された17例。FDP 15例、上腕二頭筋（BB）14例、大腿直筋（RF）9例について、安静時・随意収縮時活動の定性所見を後方視的に検討した。また、一部の例ではMUP定量解析も施行した。結果として、定性評価では、低振幅MUPはFDPで67%、残る2筋はいずれも0%であった、一方、高振幅MUPはFDP 20%、BB 64%、RF 78%とFDPで有意に少なかった。定量解析でも同様の結果が得られた。IBMではFDPを被検筋に選べば、容易に筋原性と診断でき、ALSとの誤診を防げるものと考えられた。

研究目的

封入体筋炎（IBM）では針筋電図で高振幅・長持続時間の運動単位電位がみられ、神経原性変化と紛らわしい場合があることが知られている。このために筋萎縮性側索硬化症（ALS）と誤診されることも多い。IBMでは臨床的には深指屈筋（FDP）が強く障害されることが知られているが、FDPでの針筋電図所見を検討した報告はなく、また、針筋電図所見の筋ごとの違いを系統的に検討した報告もない。本研究では、IBMの針筋電図所見の筋ごとの違いを検討しFDPの有用性を示すことを目的とした。

研究方法

対象は2004年以降6年間に当院ないし関連施設において、針筋電図が施行され、筋病理からIBMと診断された17例。FDP、上腕二頭筋（BB）、大腿直筋（RF）の3筋について、各種安静時活

動の出現の有無、随意収縮時活動各項目の定性的評価所見について後方視的に検討した。

また、筋電図の生波形がデータレコーダを用いて保存してあった例（FDP 6例、BB 7例）について、MUP定量解析を施行した。MUP形態に関する定量パラメータとして、振幅（amp）、面積（area）、持続時間（dur）、area/amplitude（area/amp; thickness）、Size Index（SI）の5つを解析対象とした。MUP定量解析の正常対照として、高齢健常者のFDP 9例、BB 8例の検査も施行した。

（倫理面への配慮）

後ろ向き研究、及び、正常者の検査それぞれについて、帝京大学倫理委員会の承認を得た。正常者の検査にあたっては、検査内容・目的を十分に説明し同意を得た。

研究結果

1) 定性評価

FDP 15例、BB 14例、RF 9例の筋電図所見が得

1) 帝京大学神経内科

2) 東京大学神経内科

3) ウプサラ大学臨床神経生理学部門

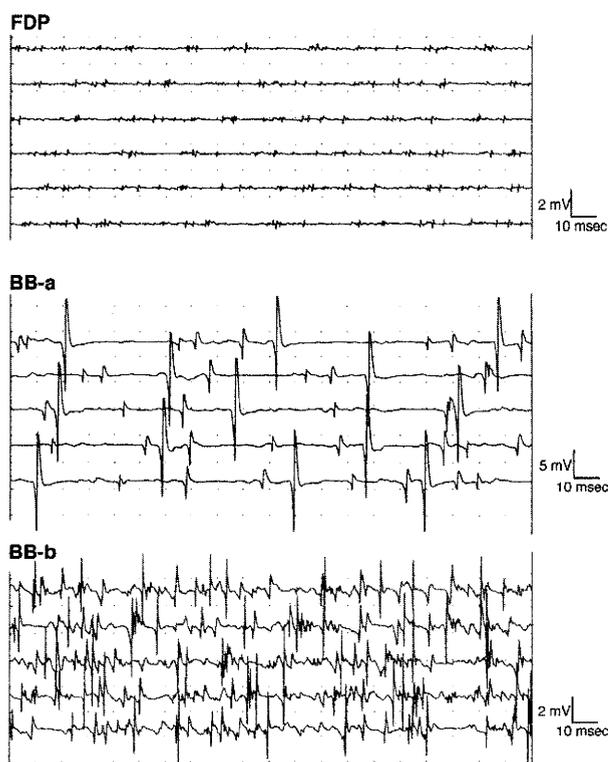


図1 IBM患者の筋電図波形の実例

上段：FDP、低振幅・thin MUPが主体

中段：BB、著明な高振幅・thick MUPが見られるが、動員パターンは正常。

下段：BB、ほぼ正常なMUPが主体で、正常な動員を示している。

られた。線維自発電位、陽性鋭波いずれの筋でも高頻度に認められたが、線維束自発電位はいずれの筋でも全く認められなかった。随意収縮時所見では、ミオパチーの特徴とされる低振幅MUPはFDPでは67%の症例で認められたが、残る2筋はいずれも0%、thin MUPはFDP 87%、BB 57%、RF 22%で、いずれもFDPで高頻度に認められた(図1上)。一方、高振幅MUPはFDP 20%、BB 64%、RF 78%で認められ(図1中)、FDPで有意に少なかった。多相MUPはいずれの筋でも高頻度に認められた。RecruitmentはFDPでは一部の筋で低下を認めたが、BB、RFでは全例正常に保たれていた(図1中、下)。FDPにおいては、筋力低下高度である程、low/thinスコアが高い相関が見られた。

2) 定量評価

FDPにおいては各パラメータの平均値はすべてIBM患者では正常対照に比して有意に低値であった(図2)。Outlier解析において、正常下限を下回るoutlierが10%を超えて異常な例は、area 100%、amp、area/amp、SIは83%に比し、durは17%にとどまった。BBではamp、area、SIがIBM患者で有意に高値を示した(図1)。Outlier解析においては、正常上限を上回るoutlierが、SI 57%、area 43%、amp、dur、area/ampでは14%に見られた。以上の定量解析の結果は定性的印象を裏付けるものであった。

3) 定性評価と定量評価の比較

一般に、定性スコアと定量パラメータは良好な相関を示した。FDPにおいては、low/thinスコアがarea及びSIと共に $r=-0.961$ の相関係数を示し、BBにおいては、high/thickスコアがareaと $r=0.928$ 、SIと $r=0.924$ の高相関を示した。

考察

IBMでは、針筋電図にて高振幅、長持続時間のMUPがしばしば見られ、神経原性変化の混在が示唆されてきた。また、このためALSと誤診されることがしばしばあることが臨床的問題点となっている。一方、定量筋電図やマクロ筋電図による検討ではやはりミオパチーであるとする報告もあり、議論が分かれていた。しかし、これまで被検筋による所見の違いを検討した報告はなく、これらの検討結果の違いを被検筋の差と関係づけて論じた報告もない。

本報告ではIBMで臨床的にも強く障害されるFDPでは低振幅・thin MUPが主体だが、BBやRFで高振幅MUPがむしろ目立つことが、定性評価、定量解析両者において示された。FDPにおいて筋力低下高度の筋程low/thin MUPが主体であったことと併せ、low/thinの所謂ミオパチー性のMUP変化は、高度の筋原性変化に見られる所見であることが示唆された。IBMではFDPを被検筋に選ばばミオパチーとしての特徴が明

らかであり、ALSとの誤診を防ぐことができるものと考えられた。また、障害が最も高度のFDPにおいて筋原性変化が明らかであることは、IBMの本質がミオパチーであることを支持するものと考えられた。

BB・RFなどでは著明な高振幅・thick MUPがしばしば見られたが、これらの筋でもRecruitmentは正常であった。慢性の経過で筋力低下を示す疾患でRecruitmentが正常であることは、間違いなく筋原性を示唆する所見である。

定量パラメータのうちでは一般にareaとSIが正常群と患者群の判別が良好であった。定性スコアと定量パラメータ（特にareaとSI）が良好な相関を示したことは、本研究での定性評価の信頼性が高いことを示唆するものである。

結論

- 1) IBM患者のFDPでは低振幅・thin MUPが明らかであった。
- 2) FDPを被検筋に選べば容易に筋原性と診断でき、ALSとの鑑別に有用と考えられた。
- 3) BB・RFなどではしばしば高振幅・thickなMUPが見られたが、これらの筋でもRecruitmentが正常なことに注目すればミオパチーであるとの診断は明白である。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・取得状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

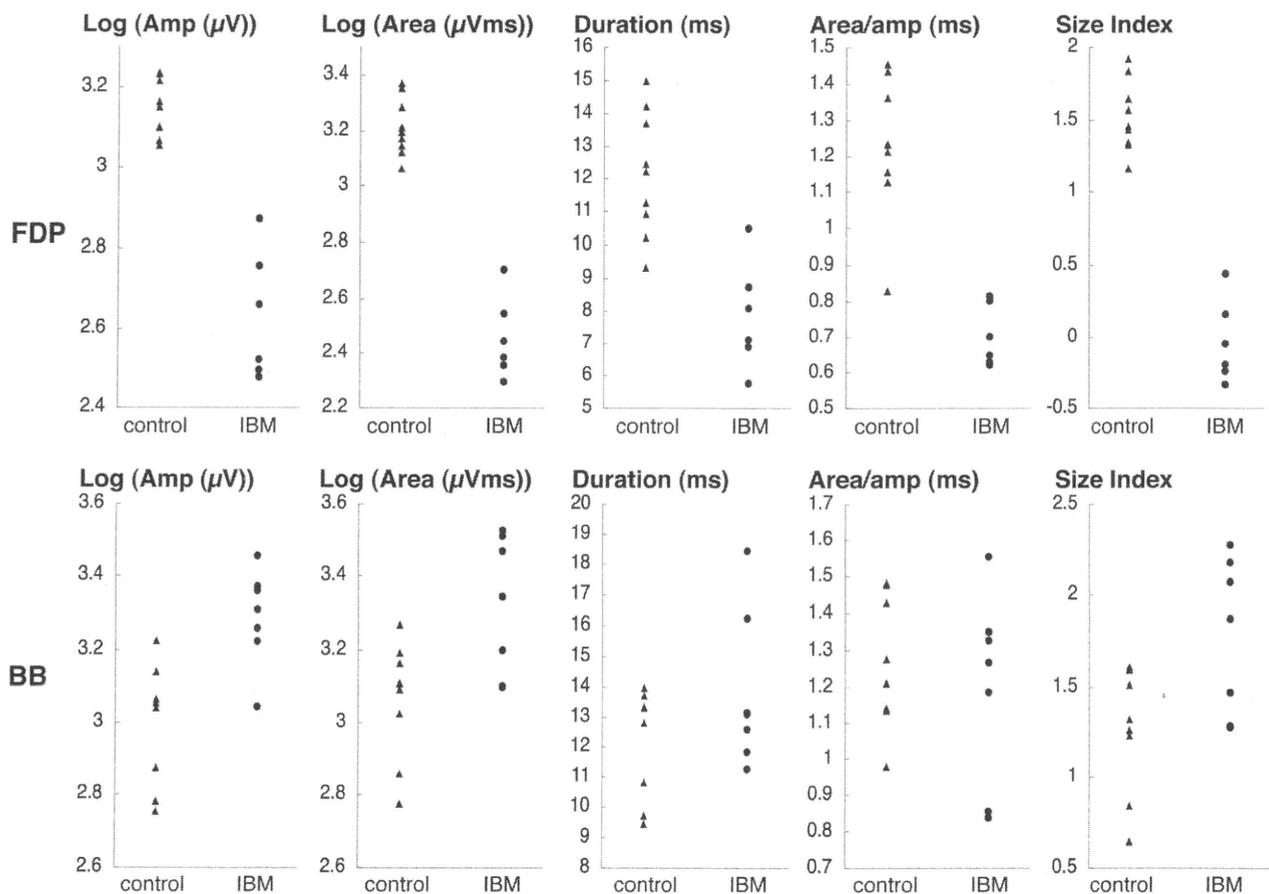


図2 健常者とIBM患者のMUP定量パラメータ平均値の比較：上段FDP、下段BB

封入体筋炎における筋再生に関する転写因子の解析

研究分担者 清水 潤¹⁾

共同研究者 久保田 暁¹⁾, 岩田 淳^{1),2)}, 辻 省次¹⁾

研究要旨

封入体筋炎 (IBM) では再生障害があると考えられているが、原因は明らかでない。一方、筋再生では筋衛星細胞に発現する様々な転写因子が重要であり、分化状態のマーカーとしても有用である。今回の検討では、IBM 11 例と他の炎症性筋疾患 (IIM) 19 例の生検筋における筋再生に係る転写因子 (Pax7, 休眠状態; MyoD1, 分化初期; myogenin, 分化後期) の発現を解析し、IBM の筋再生障害の原因を検討した。結果、IBM 群では IIM 群に比して myogenin のみ定量解析全て (免疫染色・Western blot・real-time RT-PCR) で発現量が少なかった。更に二重蛍光免疫染色で IBM の Aβ42 陽性封入体に myogenin が沈着していることが明らかとなった。Myogenin は筋衛星細胞が筋線維へ融合するために必要な転写因子であり、IBM における myogenin の発現異常は筋再生障害に関係している可能性がある。

研究目的

封入体筋炎 (IBM) は慢性進行性の筋疾患で、病理学的に炎症と変性が共存している事が特徴であり、病態は未だ不明な点が多い。また IBM は病理学的に再生線維が比較的少なく、筋再生障害があるとされている。しかし IBM における筋再生障害に関する検討は少なく、原因は未だ明らかでない。

また筋再生では、筋衛星細胞に様々な転写因子が重要であり、これらの転写因子は分化状態のマーカーとしても有用であることが明らかになりつつある。

研究方法

(1) 対象: 2001年2月から2010年6月の間に当科で診断した IBM 11 例および IBM 以外の炎症性筋疾患 (IIM) 19 例の生検筋を対象とした。

なお倫理面では、包括同意を患者本人より書面で得ており、研究計画は東京大学大学院医学系研究科医学部倫理委員会で承認を得ている。

(2) 方法: 筋再生に係る転写因子 (Pax7, 休眠状態; MyoD1, 分化初期; myogenin, 分化後期) につき、定量解析 (免疫染色・Western blot・real-time RT-PCR) および発現解析 (免疫染色・蛍光免疫染色) を行った。統計解析には Student's t test および χ^2 test を用いた。

1) 東京大学神経内科

2) 東京大学大学院医学系研究科分子脳病態科学講座

研究結果

(1) 対象：IBM 群は IIM 群に比して生検時年齢が高く (IBM, 68.9 ± 9.2 歳; IIM, 50.6 ± 10.7 ; $p = 0.0028$), 発症から生検までの期間が長く (IBM, 59.5 ± 62.4 ヶ月; IIM, 4.3 ± 2.7 ; $p = 0.0005$), 男性が多く (IBM, 8:3 (男:女); IIM, 3:19; $p = 0.0016$), IBM の臨床的特徴に合致した。

(2) 定量解析：Pax7・MyoD1 の発現は IBM 群と IIM 群で差は認めなかった。一方, myogenin は免疫染色 (IBM, 4.7 ± 1.4 個/筋線維 100 本; IIM, 7.3 ± 3.7 ; $p = 0.0352$)・Western blot (IBM, 0.048 ± 0.030 (actin に対する相対量); IIM, 0.090 ± 0.056 ; $p = 0.0297$)・real-time RT-PCR (IBM, 10.6 ± 8.5 (β -actin に対する相対量); IIM, 19.6 ± 11.7 ; $p = 0.0344$) のいずれの手法においても IBM 群では IIM 群に比較して発現量が低かった。

(3) 発現解析：抗 myogenin 抗体免疫染色で IBM の変性線維内部にプラーク状の陽性所見を認め, 封入体との関係が示唆された。A β 42 抗体との二重蛍光免疫染色では myogenin と A β 42 は非常に良く共存しており, IBM の A β 42 陽性封入体に myogenin が沈着していることが明らかとなった。

考察

本研究では IBM における筋再生に関係する転写因子を複数の手法を用いて解析し, IBM において myogenin の 1) 相対的低下ならびに 2) 封入体

への沈着と二種類の発現異常があることを示した。臨床経過の違いが転写因子の発現に影響を与えた可能性はあるが, Pax7・MyoD1 の発現は IBM 群と IIM 群で同等であり, IBM において myogenin の発現量が低下していると判断した。Myogenin は筋衛星細胞が筋線維に融合するために必要な転写因子であり, 相対的発現量低下は筋再生障害を来す可能性がある。

また myogenin は A β 42 封入体に沈着していた。Myogenin は成熟筋線維では発現せず, 変性線維内部の発現は異所性発現と言え, 興味深い。意義はまだ不明であるが, 筋再生障害に関与しているかもしれない。

結論

1. IBM の生検筋では IIM に比して myogenin の発現が相対的に低下していた。
2. IBM の変性線維内部の A β 42 封入体に myogenin が沈着していた。
3. これらの myogenin 発現異常は IBM の筋再生障害に関与しているかもしれない。

健康危惧情報

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

悪性腫瘍を伴う炎症性筋疾患におけるケモカインの発現

分担研究者 祖父江元¹⁾

共同研究者 木村正剛¹⁾、松尾幸治¹⁾、中西浩隆¹⁾、飯島正博¹⁾

研究要旨

傍腫瘍症候群としての悪性腫瘍を伴う炎症性筋疾患の病態機序は依然不明である。今回は chemokine に注目した定量的な検討と、臨床徴候に注目した検討を試みた。生検された凍結筋組織を用いて、ELISA による chemokine (MCP-1, IP-10, MIP-3 α , SDF-1 α) 発現量と免疫染色による MIP-3 α の受容体である CCR6 受容体陽性浸潤細胞を検討した。その結果、悪性腫瘍を伴う炎症性筋疾患 (20 例) のなかに MIP-3 α が高発現した一群 (4 例) があることが判明した。この MIP-3 α 高値群の特徴として他の chemokine (MCP-1, IP-10, SDF-1 α) も高発現している。CCR6 陽性の単核細胞浸潤を認める。CK 値が高く、症状のピークまでの期間が短い、臨床的に症状が重い。組織学的にも筋束の構造が壊れかかっており単核細胞浸潤も瀰漫性に組織全体に広がっているなど重症であることが共通していた。一方、悪性腫瘍を伴わなかった皮膚筋炎についても同様の検討を行ったが組織学的に重症の例であっても MIP-3 α の高発現は認めなかった。悪性腫瘍を伴った炎症性筋疾患について、今後 MIP-3 α を中心に検討を進めていく。

研究目的

傍腫瘍性神経症候群は悪性腫瘍の浸潤、転移、感染、代謝、虚血によらず遠隔効果によって生じる神経筋疾患である。炎症性筋疾患に悪性腫瘍が伴うことは古くから知られるがいまだに疾患特異自己抗体も確立されておらず、その病態機序は殆ど分かっていない。今回は、炎症性筋疾患及び悪性腫瘍に関連した chemokine に注目した定量的な検討、および悪性腫瘍を伴う症例と、伴わない症例の臨床徴候の比較、chemokine の発現からみた臨床徴候の検討などから悪性腫瘍に伴った炎症性筋疾患の病態機序の一端を明らかにする。

研究方法

対象は悪性腫瘍を伴う炎症性筋疾患

(paraneoplastic inflammatory myopathy 以下 PIM と略す) 20 例 (男 13 例、女 7 例、年齢 63.2 ± 11.1)、皮膚筋炎 (DM) 20 例 (男 10 例、女 10 例、年齢 60.9 ± 10.5)、正常対照 4 例
①PIM20 例、DM20 例、正常対照 4 例の凍結筋組織を溶解し ELISA 測定キットを用いて MIP-3 α 、IP-10、MCP-1、SDF-1 α の 4 種の chemokine を測定した。単位蛋白濃度当りの chemokine 発現量 (pg/mg) で表した。②MIP-3 α の受容体 CCR6 に対するモノクローナル抗体を用いて免疫染色を行い CCR6 陽性の単核浸潤細胞を検討した。③PIM と DM の臨床徴候を比較した。④MIP-3 α の発現からみた臨床徴候を検討した。

(倫理面への配慮)

この研究は名古屋大学医学部倫理規定を遵

守して行った。対象者の個人情報漏れないよう配慮した。

研究結果

① Chemokine 濃度は全て(pg/mg)で表す。

PIM、DM、正常対照の順に

MIP-3 α :1.4 \pm 2.5、1.1 \pm 0.6、0.4 \pm 0.4

SDF-1 α :24.7 \pm 25.7、75.6 \pm 47.6、9.8 \pm 11.2

IP-10:80.8 \pm 100.7、124.6 \pm 122.5、1.4 \pm 1.4

MCP-1:22.0 \pm 27.3、29.2 \pm 29.3、4.9 \pm 4.6

であった。MIP-3 α に注目するとPIMで4例が高発現(5.7 \pm 3.0、以下PIM-Hとする)に対し、16例は低発現(0.3 \pm 0.2、以下PIM-Lとする)と、乖離した2群に分かれた。PIM-HとPIM-Lを比較するとこの順に、SDF-1 α :63.9 \pm 29.9、14.9 \pm 11.9、IP-10:179.0 \pm 156.4、56.3 \pm 68.8、MCP-1:60.8 \pm 41.5、12.3 \pm 9.7で全て有意にPIM-Hが上まわっていた(p<0.05)。

② CCR6陽性の単核細胞浸潤

PIM-H群4例:4例とも認めた。

PIM-L群16例:6/16(32%)で認めた。

対象DM9例:2/9(22%)で認めた。

③PIMとDMの比較では年齢、嚥下困出現率、間質性肺炎出現率に差はない。CK値がPIM:5255 \pm 4817(IU/L)、DM:2916 \pm 3429(IU/L)と高く、初発から筋生検までも期間も3.1 \pm 3.1ヶ月とDMの4.6 \pm 5.2ヶ月より短い。また筋組織の細胞浸潤様式を軽症局在性、中等症多発局在性、重症瀰漫性と分けたとき局在性が7例、多発局在性5例、瀰漫性8例に対しDMは局在7例、多発局在12例、瀰漫性1例とPIMに重症瀰漫性が多かった。

④PIM-H群とPIM-L群の臨床徴候を比較した。年齢、性別、嚥下困難出現率、筋痛出現

率、間質性肺炎出現率に差はなかった。また、癌の種類もPIM-H群は卵巣癌、食道癌、胆嚢癌、胃癌各1例で一定の傾向は得られなかった。CK値はPIM-Hで9255 \pm 4147(IU/L)に対しPIM-L4255 \pm 4540(IU/L)と有意差はないが約2倍であった。筋炎の発症から症状のピークまでPIM-H2.4 \pm 1.8ヶ月、PIM-L3.3 \pm 3.5ヶ月とPIM-Hの方が早い(p=0.015)。また組織学的検討で細胞浸潤を、軽症局在性及び中等症の多発局在性と、重症瀰漫性の2群に分けて検討した。PIM-Hでは4例とも重症瀰漫性で、PIM-Lでは16例中12例が軽症局在性〜中等症多発局在性であり重症瀰漫性は4例のみで有意差がみられた(p=0.014)

考察

PIMは、DMより経過が早く、CK値も高い。筋組織の変性や細胞浸潤の程度が強筋の障害としては重症例が多い。癌や炎症に関連したchemokineを調べるとPIM-3 α の高発現群(PIM-H)と正常筋以下しか発現していない低発現群(PIM-L)があることが判明した。PIM-H群が経過の早さ、CK値の高さ、組織像の重症度など、際立って重症のグループでありPIM全体の重症度に影響を与えていると思われる。

結論

PIMを理解する上でMIP-3 α 高発現群と低発現群に分けることで病態機序解明への手掛りとなる。

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

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kaida K, Kusunoki S.	Antibodies to gangliosides and ganglioside complexes in Guillain-Barré syndrome and Fisher syndrome: Mini-review.	J Neuroimmunol	223	5-12	2010
Kusunoki S, Kaida K.	Antibodies against ganglioside complexes in Guillain-Barré syndrome and related disorders.	J Neurochem	116	828-832	2011
荒木俊彦、中田悠皓、楠 進	妊娠後期に発症したGuillain-Barré症候群の2例	臨床神経学	50	24-26	2010
楠 進	CIDPと抗ガングリオン抗体	神経内科	72	284-289	2010
海田賢一、楠 進	神経疾患と分子マーカー：Guillain-Barré症候群	Clinical Neuroscience	28	1400-1404	2010
楠 進	免疫性ニューロパチーのガイドラインをめぐって	神経治療学	27	845-849	2010
Katoh N, Matsuda M, Yoshida T, Yazaki M, Morita H, Sakashita K, Ikeda S	Primary AL amyloid neuropathy successfully treated with high-dose melphalan followed by autologous stem cell transplantation.	Muscle Nerve	41	138-143	2010
Tachibana N, Shirakawa T, Ishii K, Takahashi Y, Tanaka K, Arima K, Yoshida T, Ikeda S	Expression of various glutamate receptors including N-Methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) in an ovarian teratoma removed from a young woman with anti-NMDAR encephalitis.	Intern Med	49	2167-2173	2010
Matsuda M, Gono T, Morita H, Katoh N, Kodaira M, Ikeda S.	Peripheral nerve involvement in primary systemic AL amyloidosis: a clinical and electrophysiological study.	Eur J Neurol		Early electrical publication	2010
Tojo K, Nitta K, Ishii W, Sekijima Y, Morita H, Takahashi Y, Tanaka K, Ikeda S	A young man with anti-NMDAR encephalitis following Guillain-Barré syndrome.	Case Rep Neurol	3	7-13	2011
松田正之、池田修一	特集 慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチー (CIDP) の多様性 CIDPの治療 - 難治例を中心に -	神経内科	72	297-302	2010

下島恭弘、池田修一	特集 膠原病に伴う神経・筋障害：診断と治療の進歩 I. 膠原病・類縁疾患に伴う神経・筋障害の診断と治療 4. 血管炎症候群	日本内科学雑誌	99	23-32	2010
吉長恒明、宮崎大吾、福島和広、下島恭弘、松田正之、池田修一	首下がりを主徴とし舌萎縮を呈した全身性強皮症関連ミオパチーの1例	臨床神経学	50	732-735	2010
池田修一	質疑応答 核間性眼筋麻痺の治療法	日本医事新報		No.4513: 73-75	2010
Kamihira S, Yamano Y, Iwanaga M, Sasaki D, Satake M, Okayama A, Umeki K, Kubota R, Izumo S, Yamaguchi K, Watanabe T	Intra- and inter-laboratory variability in human T-cell leukemia virus type-1 proviral load quantification using real-time polymerase chain reaction assays: a multi-center study.	Cancer Sci.	101(11)	2361-2367	2010
Kozako T, Akimoto M, Toji S, White Y, Suzuki S, Arima T, Suruga Y, Matsushita K, Shimeno H, Soeda S, Kubota R, Izumo S, Uozumi K, Arima N	Target epitopes of HTLV-1 recognized by class I MHC-restricted cytotoxic T lymphocytes in patients with myelopathy and spastic paraparesis and infected patients with autoimmune disorders.	J Med Virol.	83	501-509	2011
Abdullah HM, Higuchi I, Kubota R, Matsuura E, Hashiguchi A, Abdelbary NH, Inamori Y, Takashima H, Izumo S	Histopathological differences between human T-lymphotropic virus type 1-positive and human T-lymphotropic virus type 1-negative polymyositis.	Clin Exp Neuroimmunol.	2	12-24	2011
Abdelbary NH, Abdullah HM, Matsuzaki T, Hayashi D, Tanaka Y, Takashima H, Izumo S, Kubota R	Reduced Tim-3 expression on HTLV-1 Tax-specific cytotoxic T lymphocytes in HTLV-1 infection.	J Infect Dis.	203	948-958	2011
Himeda T, Okuwa T, Muraki Y, Ohara Y	Cytokine/chemokine profile in J774 macrophage cells persistently infected with DA strain of Theiler's Murine Encephalomyelitis Virus (TMEV).	J Neurovirology	16	219-229	2010
Saito K, Saito M, Taniura N, Okuwa T, Ohara Y	Activation of the PI3K- Akt pathway by human T cell leukemia virus type 1(HTLV-1) oncoprotein Tax increases Bcl3 expression, which is associated with enhanced growth of HTLV-1-infected T-cells.	Virology	403	173-180	2010

Okuwa T, Taniura N, Saito M, Himeda T, Ohara Y	Opposite effects of two nonstructural proteins of Theiler's murine encephalomyelitis regulates apoptotic cell death in BHK-21 cells.	Microb Immun	54	639-643	2010
Himeda T, Okuwa T, Nojiri M, Muraki Y, Ohara Y	The anti-apoptotic protein L* of Theiler's murine encephalomyelitis virus (TMEV) contains a mitochondrial targeting signal.	Virus Res	155	381-388	2011
Himeda T, Okuwa T, Muraki Y, Ohara Y	The Preparation of an infectious full-length cDNA clone of Saffold Virus.	Virologia	accept		2011
荻野 美恵子	ALS患者の在宅医療 緩和ケア	Journal of Clinical Rehabilitation	Vol.19 No.5	484-488	2010
荻野 美恵子	特集 体外式陽陰圧式人工呼吸 筋萎縮性側索硬化症	日本呼吸療法医学会誌 人工呼吸	第27巻 第1号	30-33	2010
荻野 美恵子	運動ニューロン疾患・神経系感染症 筋萎縮性側索硬化症	からの科学	265	113-117	2010
荻野 美恵子	呼吸不全を招く疾患 神経筋疾患	medicina	Vol.47 No.8	1420-1423	2010
Kaji R, Matsui N, Nakane S, Takahama Y	Undiminished regulatory T cells in The Thymus of Myasthenia Gravis Patients.	Neurology	75	1121	2010
Matsui N, Nakane S, Saito F, Ohigashi I, Nakagawa Y, Kurobe H, Takizawa H, Mitsui T, Kondo K, Kitagawa T, Takahama Y, Kaji R.	Undiminished regulatory T cells in The Thymus of Myasthenia Gravis Patients.	Neurology	74	816-820	2010
Sano Y, Shimizu F, Abe M, Maeda T, Kashiwamura Y, Ohtsuki S, Terasaki T, Obinata M, Kajiwara K, Fujii M, Suzuki M, Kanda T.	Establishment of a new conditionally immortalized human brain microvascular endothelial cell line retaining an in vivo blood-brain barrier function.	J Cell Physiol	225	519-528	2010
Shimizu F, Sano Y, Abe M, Maeda T, Ohtsuki S, Terasaki T, Kanda T.	Peripheral nerve pericytes modify the blood-nerve barrier function and tight junctional molecules through the secretion of various soluble factors.	J Cell Physiol	217	388-399	2010

Koga M, Takahashi T, Kawai M, Fujihara K, Kanda T.	A serological analysis of viral and bacterial infections associated with neuromyelitis optica.	J Neurol Sci	300	19-22	2011
神田 隆	血液脳関門・血液神経関門. 特集免疫性神経疾患- 新たな治療戦略へ向けて	内科	105	846-851	2010
神田 隆	血液脳関門の分子機構. 内皮細胞を中心に	分子脳血管病	9	251-256	2010
神田 隆	CIDPの治療選択	Current Insights in Neurological Science	18(2)	8-9	2010
柏村陽子, 川井元晴, 小笠原淳一, 古賀道明, 根来 清, 神田隆	Thalidomide単独投与が奏効し、血中M蛋白が消失したPOEMS症候群の55歳男性例	神経治療	27	585-590	2010
春木明代, 小笠原淳一, 古賀道明, 川井元晴, 根来清, 神田隆	極長鎖アシルCoA脱水素酵素(VLCAD)欠損症の22歳女性例に対する食事療法の試み	臨床神経	50(3)	172-174	2010
古賀道明, 神田 隆	薬剤性ニューロパチー	神経内科	72	361-365	2010
Hirofumi M, Niino M, Fukazawa T, Kikuchi S, Yabe I, Hamada S, Tajima Y, Sasaki H.	Decreased IL-10 production mediated by Toll-like receptor 9 in B cells in multiple sclerosis.	J Neuroimmunol	221	95-100	2010
Niino M, Kikuchi S.	Pharmacogenomics of multiple sclerosis: Current status and potential applications.	Curr Pharmacogenomics Person Med,	8	273-279	2010
Minami N, Fujiki N, Doi S, Shima K, Niino M, Kikuchi S, Sasaki	Five-year follow-up with low-dose tacrolimus in patients with myasthenia gravis.	J Neurol Sci	300	59-62	2010
Kikuchi H, Mifune N, Niino M, Ohbu S, Kira J, Kohriyama T, Ota K, Tanaka M, Ochi H, Nakane S, Maezawa M, Kikuchi S.	Impact and characteristics of quality of life in Japanese patients with multiple sclerosis.	Qual Life Res	20	119-131	2011
Niino M, Kikuchi S.	Osteopontin and multiple sclerosis: an update	Clin Exp Neuroimmunol			In press