

201224/13A

厚生労働科学研究費補助金

障害者対策総合研究事業

アトピー関連脳脊髄・末梢神経障害の病態解明と画期的治療法の開発
(H24-神経・筋-一般-001)

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 吉良 潤一

平成 25(2013)年 5 月

目 次

I. 総括・分担研究報告	
アトピー性脊髄炎の免疫学的解析	----- 1
吉良 潤一	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 3

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業（神経・筋疾患分野））
総括研究報告書

アトピー関連脳脊髄・末梢神経障害の病態解明と画期的治療法の開発

研究代表者：吉良潤一 九州大学大学院医学研究院神経内科学 教授

研究要旨

申請者らはアトピー関連脳脊髄・末梢神経障害の病態解明、治療法開発のため、臨床研究（全国疫学調査、病理学的検討、生化学的検討）、基礎研究（モデルマウス作成および治療介入）を行っている。平成24年度は、3年計画の1年目として、病態解明の足がかりとなるモデルマウスの作成、患者データの集積と解析を行なった。モデルマウスに関しては、アトピー素因マウスの中枢神経におけるグリア炎症の存在が示唆された。患者対象研究では、アトピー性脊髄炎患者におけるHLA-DPB1*0201遺伝子多型の増加、患者血清中Glycoprotein IIb/IIIa (GP IIb/IIIa)の高値を発見し報告した。今後は、新規診断基準に基づく患者情報の集積を継続し、臨床症状、治療効果などの特徴を把握するとともに、より効果的治療介入法を基礎・臨床の両面から検討する予定である。

研究分担者

楠 進 近畿大学医学部神経内科（近畿大学）教授

吉田 真理 愛知医科大学加齢医学研究所神経病理部門（愛知医科大学） 教授

桑原 聡 千葉大学大学院医学研究院神経内科学分野（千葉大学）教授

錫村 明生 名古屋大学環境医学研究所神経免疫学（名古屋大学）教授

萩原 綱一 九州大学大学院医学研究院臨床神経生理学分野（九州大学）助教

松下 拓也 九州大学大学院医学研究院神経内科学（九州大学） 学術研究員

松瀬 大 九州大学大学院医学研究院神経内科学分野（九州大学）助教

吉村 怜 九州大学大学院医学研究神経内科学分野（九州大学）共同研究員

研究協力者

城戸 瑞穂 九州大学大学院歯学研究院 口腔解剖学分野（九州大学） 准教授

研究目的

アトピー関連脳脊髄・末梢神経障害には、アトピー性脊髄炎、Churg-Strauss症候群(CSS)が含まれるが、これに加えてCSSの診断基準を満たさないアトピー関連末梢神経炎や脳障害が存在する(Isobe et al, Neurology 2009)。さらに平山病やHopkins症候群においてもアトピー素因の病態への関与が報告され(Kira, Ochi, JNNP 2001)、広範囲な神経疾患病態にアトピー素因が関与している可能性が示唆されている。本研究では、これらのアトピー関連脳脊髄

・末梢神経障害に共通する病態、および疾患毎に特徴的な病態を明らかにし、それらを標的とした治療法の開発を目的としている。

アトピー性脊髄炎は、国内外から年々報告例が増加しているが、新たな診断基準の策定と英文報告(Isobe et al, JNS 2012)に伴って、現在まで原因不明と考えられていた脊髄炎が新たにアトピー性脊髄炎と診断される事も想定され、今後も症例数が増加する事が予想される。また、CSSや若年者を侵す平山病およびHopkins症候群も年々増加しており、有効な治療法もない。これに伴い、患者本人の負担に加え、医療資源の問題や介護の問題も含めた社会的負担も大きく、原因究明と治療法の早期開発が急務である。これらの疾患概念の確立は比較的新しく、基礎的研究に基づいた病態解明が必要と考える。

研究方法

①アトピーに関連した臨床像の十分に解明されていない神経障害の解析（吉良、楠、桑原、萩原）

アトピー性脊髄炎患者、CSSを含むアトピー関連末梢神経障害患者の128チャンネル脳波計による精密な脳波解析や脳磁図による解析を引き続き行う。CSS患者とCSS以外のアトピー関連末梢神経障害患者とで末梢神経伝導検査や誘発電位検査による解を行い比較する。

②髄液でのサイトカイン産生細胞の解析（桑原、吉村）

髄液の網羅的サイトカイン・ケモカイン解析、髄液T細胞のケモカイン受容体解析、T細胞内サイトカイン産生能測定、Th9細胞の検出等を引き続き実

施する。

③アトピー性脊髄炎剖検例での免疫病理学的解析 (吉田)

世界でも唯一のアトピー性脊髄炎剖検症例の脊髄を用いて、サイトカイン・ケモカイン、T細胞、B細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイト、軸索、髄鞘等の免疫染色による解析を行う。

④アトピー性脊髄炎モデルマウスの作成 (吉良、錫村、城戸)

6週齢の雌C57Bl/6の背部に卵アルブミンによる接触性皮膚炎を惹起し、これに伴う脊髄後根神経節の炎症の有無、脊髄へのT細胞浸潤の有無およびミクログリアの活性化の有無を確認する。

⑤病態に基づいた治療指針の作成 (吉良、楠、桑原、錫村)

上記の解析結果に基づいて、アトピー性脊髄炎、平山病、CSSおよびHopkins症候群の各疾患における治療指針を策定する。

⑥IL-9の神経障害における役割の解析と抗IL-9療法の開発 (錫村、吉良)

申請者らは、最近、IL-9がアストロサイトからのCCL20産生を介して自己反応性Th17細胞の中枢神経への移入を促進することを明らかにしている(J Immunol 2011)。アトピー性脊髄炎患者髄液で増加するIL-9の神経障害における役割を培養細胞系やマウスの実験的自己免疫性脳脊髄炎系などで解析し、抗IL-9療法の開発を継続して行う。

⑦新診断基準による国際的な共同臨床疫学調査の実施 (吉良、楠、桑原)

新診断基準の自験例以外の日本人集団での感度、特異度の検証後に、アトピー性脊髄炎の報告がある海外施設 (韓国Ajou University、イタリアAzienda Ospedaliera University、英国National Hospital for Neurology and Neurosurgery) と新規診断基準による共同臨床疫学調査を実施する。

(倫理面への配慮)

本研究は九州大学倫理委員会、千葉大学倫理委員会、近畿大学倫理委員会の承認を受けて実施予定。一部は既に承認されている。サイトカイン・ケモカイン等の測定データ、臨床情報は、決して外部に流出しないよう、厳重に保管する。その公表 (学会発表や論文発表) に際しては、被検者の個人名が特定できないようプライバシーの保護に配慮する。動物実験では、九州大学医学部および名古屋大学動物実験倫理委員会の審査を受け、「動物保護及び保管に関する法律」、「実験動物の飼育及び保管に関する基準」(総理府告示第6号)の規制に基づいて実施する。実験に使用するマウスなどの動物は、苦痛の軽減、排除の方法として、十分な麻酔を行った上で使用する。

研究結果

①アトピーに関連した臨床像の十分に解明されていない神経障害の解析 (吉良、楠、桑原、萩原)

楠、桑原らは現在症例の収集と検討を行っている。桑原らは平山病患者における髄液のサイトカインプロファイルを解析中。萩原らはアトピー性脊髄炎患者における脳波/脳磁図異常を検索中。アトピー性脊髄炎患者と多発性硬化症患者を対象に、脳磁図を用いて正中神経刺激による体性感覚誘発脳磁場 (一次および二次体性感覚野応答) を測定している。現時点では統計的解析に十分な症例数ではなく、各10~20名程度を目標にデータを蓄積していく予定である。

吉村らはアトピー関連疾患における血小板凝集異常を解析中である。Glycoprotein IIb/IIIa (GP IIb/IIIa)はアトピー性脊髄炎患者で有意に高値である事を発見し報告した。

吉良、松下らはアトピー関連疾患患者におけるHLA遺伝子多型を検索している。HLA-DPB1*0201の遺伝子多型がアトピー性脊髄炎患者に多い事を発見し報告した。

また、吉良らは一部のアトピー性脊髄炎患者血清中に新規自己抗原 (抗Kir4.1抗体) が高値となる事を見出した。現在詳細を解析中。

②髄液でのサイトカイン産生細胞の解析 (桑原、吉村)

吉村らは患者髄液におけるサイトカイン産生プロファイルを解析している。

桑原らは若年性一側上肢筋萎縮症のアトピー性素因、サイトカインプロファイルの検討のため患者血清を収集中。

③アトピー性脊髄炎剖検例での免疫病理学的解析 (吉田)

アトピー関連脳脊髄・末梢神経障害に関する神経病理学的研究に関して、ミエロパチーの神経病理像に関して視神経脊髄炎や多発性硬化症との異同に関して比較検討を行っている。アトピー関連脳脊髄疾患は稀少疾患であり、ここ数年は新しい剖検症例の蓄積はない。

④アトピー性脊髄炎モデルマウスの作成

6週齢のC57Bl/6マウス腹腔内に、免疫誘導物質であるAlumと卵アルブミン(OVA)を週に1回ずつ注射し、3週後にマウス脊髄を観察したところ、腰髄後角におけるミクログリアの活性化が見られた(図1)。マウスに個体差があるため、現在は例数を増やして詳細な解析を行っている。また、これらのマウスに気管支喘息やアトピー性皮膚炎を誘導する事にも成功している。これらのマウス血清中サイトカインの解析も行い、結果を集計中である。

⑤病態に基づいた治療指針の作成 (吉良、楠、桑原、錫村)

現在、病態生理の解析を吉良、錫村を中心に行っている。病態の解析に際し、モデルマウスを開発中。新規に分担研究者となった城戸准教授と吉良らのグループを中心に好酸球性脊髄炎モデルマウスの

作成を行っている。

⑥IL-9の神経障害における役割の解析と抗IL-9療法の開発(錫村、吉良)

アトピー性脊髄炎 (AM) の成因に関して、従来から脊髄液中のIL-9の高値が報告されているので、IL-9産生細胞および神経系内におけるIL-9の作用について検討している。

⑦新診断基準による国際的な共同臨床疫学調査の実施(吉良、楠、桑原)

新診断基準(Isobe et al, JNS 2012)策定により、国際的に統一された診断が可能となった。これをもとに本邦自験例以外の症例検討および海外で報告のあった施設における共同臨床疫学調査を検討中。

考察

平成24年度は、主に患者データの蓄積や病態解明のためのモデルマウス開発を行った。

基礎的研究の足がかりとしてのモデルマウス開発は、今まで前例がなく、かつ実際の症例同様マウス間の個体差も大きく困難な面もあるが、実際に脊髄内ミクログリアの活性化が見られており、今後は表現型の明確化および免疫組織学的解析、生化学的解析と治療介入を行う予定。

臨床データに関しては、研究代表者所属施設における豊富な症例をもとに、倫理面に配慮しつつ解析を進め、一部は論文化された。今後も他施設の症例を集積し更なる臨床像の解明、および治療への反応性を確認しながらよりより治療法を模索する。

結論

3年計画の1年目として、平成24年度は研究の足がかりとしての臨床データ収集、基礎的実験の手がかりとなるモデルマウス作成を主に行った。今後は多施設間の連携をもとに、各々の分野におけるメリットを生かしつつ症例の解析を行い、平行して基礎研究による病態解明、治療法開発を目指す。

健康危険情報

なし

研究発表

1. 論文発表

①HLA-DPB1*0201 is associated with susceptibility to atopic myelitis in Japanese.

○Sato S, Isobe N, Yoshimura S, Kanamori Y, Masaki K, Matsushita T, Kira J.

J Neuroimmunol. 2012 Oct 15;251(1-2):110-3. doi: 10.1016/j.jneuroim.2012.07.007. Epub 2012 Aug 9.

②Clinical disability progression and platelet GP IIb/IIIa values in patients with atopic myelitis.

○Ainiding G, Yamashita K, Torii T, Furuta K, Isobe N, Matsushita T, Masaki K, Matsumoto S, Kira J.

J Neuroimmunol. 2012 May 15;246(1-2):108-12. Epub 2012 Apr 5.

③First diagnostic criteria for atopic myelitis with special reference to discrimination from myelitis-onset multiple sclerosis.

○Isobe N, Kanamori Y, Yonekawa T, Matsushita T, Shigeto H, Kawamura N, Kira J.

J Neurol Sci. 2012 May 15;316(1-2):30-5. Epub 2012 Feb 25

2. 学会発表

① Sato S, Yoshimura S, Yonekawa T, Isobe N, Kanamori Y, Masaki K, Matsushita T, Kira J: Relationship Between Human Leukocyte Antigen Polymorphisms and Disease Susceptibility in Japanese Patients with Multiple Sclerosis, Neuromyelitis Optica, or Atopic Myelitis. PACTRIMS 2012.9.13 ~ 15 北京.

② Sato S, Yoshimura S, Yonekawa T, Isobe N, Kanamori Y, Masaki K, Matsushita T, Kira J: Relationship Between Human Leukocyte Antigen Polymorphisms and Disease Susceptibility in Japanese Patients with Multiple Sclerosis, Neuromyelitis Optica, or Atopic Myelitis (ポスター). PACTRIMS 2012.9.13 ~ 15 北京.

③ Sato S, Isobe N, Yoshimura S, Kanamori Y, Masaki K, Matsushita T, Kira J, and the South Japan Multiple Sclerosis Genetics Consortium (SJMSGC): Distinct HLA polymorphisms among atopic myelitis, multiple sclerosis and neuromyelitis optica patients in Japan. ECTRIMS 2012.10.10 ~ 13 Lyon.

④ 佐藤真也、磯部紀子、吉村怜、金森祐治、米川智、眞崎勝久、松下拓也、吉良潤一: 日本人アトピー性脊髄炎患者のHLAにおける疾患感受性遺伝子の探索. 第53回日本神経学会学術大会 2012.5.22 ~ 25 東京.

⑤ 佐藤真也、吉村怜、米川智、磯部紀子、金森祐治、眞崎勝久、松下拓也、吉良潤一: 多発性硬化症、視神経脊髄炎、アトピー性脊髄炎のHLA遺伝子多型の差異. 第24回日本神経免疫学会学術集会 2012.9.20 ~ 21 長野.

⑥ 佐藤真也、吉村怜、米川智、磯部紀子、金森祐治、眞崎勝久、松下拓也、吉良潤一: 多発性硬化症、視神経脊髄炎、アトピー性脊髄炎のHLA遺伝子多型の差異 (ポスター). 第24回日本神経免疫学会学術集会 2012.9.20 ~ 21 長野.

知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録なし
3. その他 なし

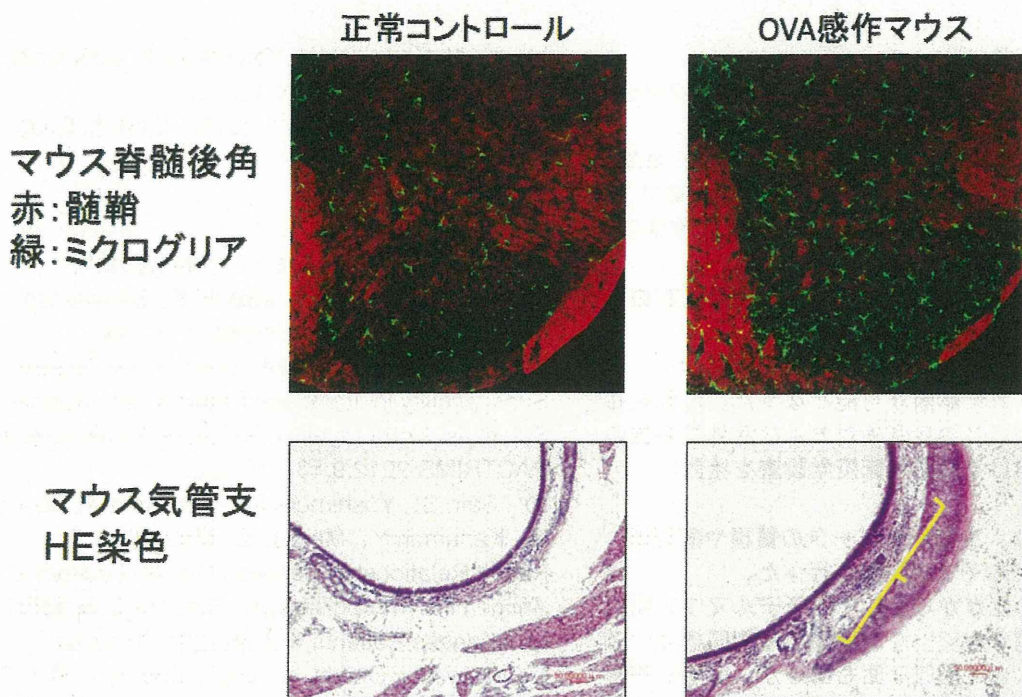


図1 アレルギー素因マウスの脊髄ミクログリア活性化と気管支喘息の誘導
 上段: 正常と比較しOVA感作マウスではミクログリアの増殖が見られる(右)
 下段: OVA感作マウスにOVAを吸入させると、気管支への炎症細胞浸潤が見られ、その程度は正常コントロールより顕著(右)

