

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総合分担研究報告書

原発性局所多汗症診療ガイドライン改訂に伴い掌蹠、腋窩および頭部、顔面多汗症に対するボツリヌス毒素Aの推奨度の検討

研究分担者 玉田康彦 愛知医科大学皮膚科特任教授

渡辺大輔 愛知医科大学教授

研究協力者 大嶋雄一郎 愛知医科大学講師

研究要旨 2010年にわれわれは原発性局所多汗症（手掌、足底、腋窩）の診療ガイドラインを作成した。2012年11月には腋窩多汗症のボツリヌス毒素A（BT-A）の局所注射療法が保険収載され、腋窩多汗症に対するBT-Aの推奨度の再考、さらに原発性頭部、顔面多汗症（CFH）の治療指針の追加等診療ガイドラインの改訂が必要と考えられる。腋窩多汗症では重症型に保険診療が適応となり、本邦での二重盲検下で大規模臨床試験の結果でもBT-Aの有用性が確認されたことから、その推奨度をBに変更した。一方掌蹠多汗症はC1で据え置くことにした。

CFH（Frey症候群を含む）に対するBT-Aの局注療法は昨年度からの文献検索の結果、それぞれの報告で患者の満足度は高く、重篤な副作用もないことから内服、外用療法無効の場合は試みてもよいのではないかと考えた。しかし本邦で保険診療として認められていないことからその推奨度をB～C1とした。

A. 研究目的

2010年にわれわれは原発性局所多汗症診療ガイドラインを作成したが、その後原発性局所多汗症に対するBT-Aの局所注射療法の新しい知見も報告されている。また2012年11月に腋窩多汗症のBT-Aの局所注射が保険収載されたことから、その推奨度の再考、さらにCFHの診療ガイドラインへの追加等の改訂が必要と考えられる。

B. 研究方法

Medline(1996年以降)、医学中央雑誌(1996年以降)を用いて掌蹠多汗症、腋窩多汗症、

FCHに対するBT-Aの局注療法の検索を行った。「エビデンスのレベルと推奨度は皮膚悪性腫瘍グループが作成した『エビデンスのレベルと推奨度の決定基準』(図1)に基づいて決定した。

C. 研究結果

2013年本邦で腋窩多汗症患者149例に二重盲検下で左右腋窩に50単位ずつのBT-Aを投与し、プラセボ群に比べて明らかな有効性が確認されている(大嶋ら2013)。掌蹠多汗症に対するBT-Aの検討では重症度に応じたBT-Aの増量により、その有効性を記載してい

る報告 (Ito et al. 2012) もあるが、大規模な比較試験の報告がみられない。

CFH に関する検索で 2000 年に Boger ら (J Neurol 2000) の非ランダム化比較試験は 12 例の頭部、顔面の多汗症患者の前額の半分に Dysport® を 2.5-4ng 局注し、27 ヶ月間の観察ではほぼ全例に発汗量の低下を認めている (レベル III)。一方 Kinkel ら (Br J Dermatol 2000) の症例対照研究では 10 例の前額部の多汗症に Botox®86U 局注し、4 週後の汗重量測定で全例著明な発汗量の減少がみられ、その効果が約 5 ヶ月間持続継続し、BT-A の効能と安全性を評価している (レベル IV)。その後症例報告ではあるが、数施設で頭部、鼻部、前額部の多汗に対して、少量の BT-A 投与による有効性が確認されている (レベル V)。本邦では 2 施設から症例報告がなされている。前額の多汗で悩む更年期婦人 3 症例の前額部に Botox® の局注を行い、3 例とも皺の改善と発汗量が低下している。もう一例は 25 歳男性の顔面多汗症に対して Botox®2 単位を前額部 7 カ所に局注し、発汗の低下と QOL の改善が報告されている。

Frey 症候群に対する BT-A の局注療法は数施設で報告されており、いずれも BT-A 局注療法は安全でかつ有効な治療法であるとの記載がある。

2007 年カナダの皮膚科学会で限局性多汗症の治療指針が作成され、CFH に最大 100U までの BT-A 局注療法が Frey 症候群も含めエビデンスレベル II で投与が推奨されている。

D. 考察

腋窩多汗症では重症型に保険診療が適応となり、本邦での二重盲検下で大規模臨床試験の結果でも BT-A の有用性が確認されたこと

から、その推奨度をアップグレードする必要がある。掌蹠多汗症に対する BT-A の検討では BT-A の投与量や反復投与など検討の余地がある。

CFH に対して、塩化アルミニウム外用、抗コリン剤の内服などで対処してきたが、確立した治療法はなく患者の満足度も低かった。BT-A 局所注射療法の有用性は非ランダム化比較試験による Boger らの報告、Kinkel らの症例対照研究、その他は症例報告でエビデンスレベルはそれほど高くないが、それぞれの報告で患者の満足度は高く、重篤な副作用もないことから内服、外用療法無効の場合は試みてもよいのではないかと考える。Frey 症候群では数施設から症例対照研究がなされており、著効例が多くその有用性が確認されているので推奨される治療法であろう。またカナダの局所多汗症治療指針でも CFH (Frey 症候群も含む) に対する BT-A 投与が高く評価されている。

E. 結論

腋窩多汗症では重症型に保険診療が適応となり、本邦での二重盲検下で大規模臨床試験の結果でも BT-A の有用性が確認されたことから、その推奨度を B とした。掌蹠多汗症は C1 で据え置くことにした。

内服、外用療法に抵抗性の CFH (Frey 症候群を含む) に対して BT-A 局所注射療法は試みても良い治療法であるが、本邦では保険診療として認められていない。したがってその推奨度を B~C1 とした。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yanagishita T, Tamada Y, Ohshima Y, Ito K, Akita Y, Watanabe D. Histological localization of aluminum in topical aluminum chloride treatment for palmar hyperhidrosis. J Dermatol Sci. 2012, 67(1):69-71.
2. 玉田康彦. 多汗症のイオントフォレーシス療法とボトックス療法. 日本皮膚科学会雑誌. 2012 122(13); 3331-4.
3. 大嶋雄一郎, 柳下武士, 伊東慶子, 玉田康彦, 渡辺大輔. Botox治療について. 皮膚病診療. 2012 34(5):493-9.
4. 春日井 親俊, 玉田康彦, 春日井一葉, 秋田洋一, 渡辺大輔. 【掌蹠の皮膚病】<臨床例>掌蹠多汗症の治療中に診断しえた長島型掌蹠角化症. 皮膚病診療. 2012 34(5):437-40.
5. 柳下武士, 玉田康彦, 伊東慶子, 大嶋雄一郎, 西村直記, 岩瀬 敏, 吉岡 洋, 村瀬允也, 渡辺大輔. 代償性発汗に対するボツリヌス毒素A局所注射療法の治療効果. 発汗学. 2012 19(1) 2-5.
6. 伊東慶子, 玉田康彦, 柳下武士, 大嶋雄一郎, 渡辺大輔. 重症掌蹠多汗症の重症度によるボツリヌス毒素Aの治療効果. 発汗学. 2012 18(2) 44-7.
7. 玉田康彦. 原発性局所多汗症診療ガイドラインについて. 日本皮膚科学会雑誌8月号 レター
8. 大嶋雄一郎, 伊東慶子, 柳下武士, 玉田康彦, 渡辺大輔. 掌蹠多汗症の治療. Aesthetic Dermatology. 2013;23(1):18-23.
9. 大嶋雄一郎, 玉田康彦, 横関博雄, 前田俊夫, 遠藤 輝, 千田朋子, 長岐為一郎. 原発性腋窩多汗症患者に対するA型ボツリヌス毒素製剤の治療評価. 西日本皮膚科. 2013;75(4):357-364.
10. Ohshima Y, Yanagishita T, Ito K, Tamada Y, Nishimura N, Inukai Y, Iwase S, Sugeno Y, Watanabe D. Treatment of patients with acquired idiopathic generalized anhidrosis. Br J Dermatol. 2013 Feb;168(2):430-432.
11. 伊東慶子, 玉田康彦. 多汗症. 皮膚科の臨床レベルアップエッセンス2013;55(12):1731-1736.

2. 学会発表

1. 玉田康彦. 多汗症のイオントフォレーシス療法とボトックス療法. 第111回日本皮膚科学会総会 教育講演 2012
2. 大嶋雄一郎. 愛知医科大学皮膚科を受診した特発性後天性全身無汗症患者の臨床例. 第20回日本発汗学会 2012
3. 伊東慶子, 玉田康彦, 大嶋雄一郎, 柳下武士, 渡辺大輔. 最重症型掌蹠多汗症に対するボツリヌス毒素A120単位の治療効果. 第20回日本発汗学会 2012
4. 柳下武士, 玉田康彦, 伊東慶子, 大嶋雄一郎, 西村直記, 岩瀬 敏, 吉岡 洋, 村瀬 允也, 渡辺大輔. 代償性発汗に対するボツリヌス毒素A局所注射療法の投与方法の検討. 第20回日本発汗学会 2012
5. 玉田康彦. 重度の原発性腋窩多汗症. 第76回日本皮膚科学会東京支部学術大会 2013
6. 伊東慶子, 玉田康彦, 大嶋雄一郎, 柳下武士, 渡辺大輔. 最重症型掌蹠多汗症に

対するボツリヌス毒素A120単位の治療

効果．第21回日本発汗学会 2013

7. 大嶋雄一郎．原発性局所多汗症に対するA型ボツリヌス毒素局注療法．第21回日本発汗学会 2013
8. 大嶋雄一郎．重症の原発性腋窩多汗症に対するA型ボツリヌス毒素(ボトックス®)局注療法．第77回日本皮膚科学会東部支部学術大会 2013
9. 大嶋雄一郎．原発性手掌多汗症の治療について．第64回日本皮膚科学会中部支部学術大会 2013

H.知的財産権の出願・登録状況

該当なし

図 1

■ エビデンスのレベルと推奨度の決定基準(皮膚悪性腫瘍グループ)

| A. エビデンスのレベル分類 | |
|----------------|---------------------------|
| I | システマティック・レビュー／メタアナリシス |
| II | 1つ以上のランダム化比較試験による |
| III | 非ランダム化比較試験による |
| IV | 分析疫学的研究(コホート研究や症例対照研究による) |
| V | 記述研究(症例報告や症例集積研究による) |
| VI | 専門委員会や専門家個人の意見+ |

| B. 推奨度の分類* | |
|------------|---|
| A | 行うよう強く勧められる (少なくとも1つの有効性を示すレベルIもしくは良質のレベルIIのエビデンスがあること) |
| B | 行うよう勧められる (少なくとも1つ以上の有効性を示す質の劣るレベルIIが良質のレベルIIIあるいは非常に良質のIVのエビデンスがあること) |
| C1 | 行うことを考慮してもよいが、十分な根拠*がない (質の劣るIII-IV,良質な複数のV,あるいは委員会が認めるVI) |
| C2 | 根拠*がないので勧められない(有効のエビデンスがない、あるいは無効であるエビデンスがある) |
| D | 行わないよう勧められる(無効あるいは有害であることを示す良質のエビデンスがある) |

+ 基礎実験によるデータ及びそれから導かれる理論はこのレベルとする。

* 根拠とは臨床試験や疫学研究による知見を指す。

本文中の推奨度が必ずしも上表に一致しないものがある。国際的にも皮膚悪性腫瘍診療に関するエビデンスが不足している状況、また海外のエビデンスがそのまま我が国に適用できない実情を考慮し、さらに実用性を勘案し、(エビデンス・レベルを示した上で)委員会のコンセンサスに基づき推奨度のグレードを決定した箇所があるからである。

特異性発汗異常症・色素異常症の病態解析と新規治療薬開発に向けた戦略的研究
**両側内視鏡的交感神経遮断術施行後の代償性発汗に対する
ボツリヌス毒素 A 局所注射療法のみノール法による評価**

研究代表者 横関 博雄 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科皮膚科学分野 教授

研究要旨

内視鏡的交感神経節切除術(ETS)後に、代償性多汗の起きる例にボツリヌス毒素 A(Botox A)を皮下注射し、効果を得た症例の Minor 法とサーモグラフィーの結果から、Botox A の皮下注射の有効性を確認した。ETS のレベルが同じでも、個人差により、発汗のレベルや、代償性多汗の多さに、差が生ずることが判明した。

研究分担者

岩瀬 敏
愛知医科大学生理学講座 教授
玉田康彦
愛知医科大学皮膚科学 客員教授
研究協力者
西村直記
愛知医科大学生理学講座 講師
吉岡 洋
名古屋第二赤十字病院呼吸器外科 部長
柳下武士
愛知医科大学皮膚科学 助教
犬飼洋子
愛知医科大学生理学講座 講師

A. 研究目的

本研究は、内視鏡的交感神経節切除術(ETS)により発汗状態がどのように変化するかを Minor 法により評価し、代償性発汗がどのように展開するか、さらには代償性発汗に対し、ボツリヌス毒素 A (Botox A)を皮下注射した処置における有効性も Minor 法により解析することを目的とした。

B. 研究方法

本研究の流れは、ETS の希望者に吉岡が手術を施行し、西村と岩瀬が Minor 法およびサーモグラフィーによる評価をし、さらに ETS による代償性多汗に不満な患者に対し玉田と柳下が Botox A 皮下注射による治療を行い、その後同様の評価を行うこととした。

ETS の手術法は、テイラーメイド手術と称し、支配領域の皮膚にレーザードブロー皮膚血流量計のプロープを貼付、交感神経節を電気刺激することで血流の低下がどのように起きるかを判定、焼灼すべき神経節を同定した。Minor 法に関しては、ポピドンヨード、蓖麻子油、無水アルコールを混じた液を、被験者の全身に塗布し、乾燥後に澱粉を振り掛けた後、室温 40℃、相対湿度 50%の人工気候室に入室させ、20 分ほどの発汗状態を観察し

た。

C. 研究結果

1) 両側 ETS 後に発汗レベルに差が生じた症例

図 1 に両側 ETS 後に無汗レベルに差が生じた例を Minor 法の画像とサーモグラフィー画像で示す。本例は左右共に ETS により T5 レベルで交感神経焼灼を行った(T5 神経節下端を電気メスにて焼灼)。Minor 法によっても、サーモグラフィーによっても、発汗レベルに差がみられ、右の方が高く(図 1)、また、顔面発汗は低下していた。本例においては、腰部、大腿部の多汗症を患者が訴えた(図 2)ため、大腿部に Botox A の皮下注射を行い、注射部位の発汗低下を観察した(図 3)。さらに発汗低下は、サーモグラフィーでも観察された(図 4)。このような下腿の代償性発汗過多に対し、Botox A を皮下注射したところ、下肢温の改善を観察し、Botox A の代償性発汗に対する効果が確認された。

2) 片側(右側)と両側 ETS 後において、発汗レベルに差が認められた症例

ETS 前では、両上肢から体幹にかけて発汗領域がみられ、顔面温度は体幹よりも高かったが、右側 T3/4 の ETS 後には、右上肢から右前胸部、背側肩胛部にかけて無汗となり、顔面と体幹、下肢の発汗増加が観察された(図 5, 6)。その後、左側 T4 の ETS を施行すると、前胸部、肩胛部の無汗部の広がりには差がないが、発汗部のサーモグラフィーが片側時より低温を呈しており、体幹や下肢に代償性発汗を呈した。そのため、下肢に Botox A の皮下注射を行い、多汗の改善をみた(図 7, 8)。

D. 考察

限局性多汗症である掌蹠多汗症に対する内視鏡的交感神経節切除術 ETS は、従来までは確実に手掌を無汗にする最良の方法と考えられてきたが、非遮断部支配の皮膚、とくに体幹、臀部、大腿に大量の発汗を自覚するようになり、代償性発汗として問題視されるようになってきた。本来、代償性発汗とは神経疾

患等により部分的に無汗症領域が生じた場合、その無汗領域の上下、あるいは対側に多汗を生ずる場合をいうが、最近はこの ETS 後の多汗も代償性多汗、代償性発汗と称するようである。

ETS は明らかに手掌の発汗を停止させるため、有効な治療法であったが、手掌のみならず顔面までも完全に発汗を停止させるために、腰回り、臀部、大腿部などにおける代償性発汗が問題となった。

その後、代償性発汗が生じるための訴訟も起きたため、次第に本手術を行う施設も、手術数も減少しているのが現状である。吉岡らの考案したテイラーメイド手術は、その代償性発汗を最小に留めるため、極力無汗範囲を少なくし、手掌無汗も完全には消失させない手術法である。一方でこれまでの ETS の効果に対する報告は、患者の申告やアンケートによる満足度の報告にとどまっており、客観的な評価とは言えなかった。

これまでに従来までの ETS による手術後の Minor 法による結果を報告してきたが、そのような症例では顔面も無汗となっており、われわれの仮説とする交感神経出力一定説による垂直性代償性発汗や水平性代償性発汗の理論と区別できなかつた。そこで今回、テイラーメイド手術による ETS 後の Minor 検査、さらには代償性発汗がみられた場合には、Botox A の皮下注効果についての Minor 法による観察を行った。

サーモグラフィーによる評価においては、皮膚血流量の増減による血液温の熱放散増減と、発汗による蒸散の過多の両者が、皮膚温を決定するため、脱神経領域においては皮膚血流量増加と無汗による皮膚温上昇が観察される。

症例 1 では顔面発汗は消失しており、そのためか体幹部(腰部)、大腿部に代償性多汗を訴えた。この代償性多汗は、以前報告したような従来型 ETS の手術後の Minor 法やサーモグラフィーによる客観的証明に比較して低下はしていたが、術前より亢進していた。患者の代償性多汗の訴えにより Botox A の皮下注を腰部と大腿部に施行したが、ある程度の満足が得られた。その発汗低下の程度も Minor 法やサーモグラフィーによって客観的に評価できた。

症例 2 においては、顔面発汗は温存されたが、やはり腰部、下肢に代償性発汗が観察された。その程度は症例 1 よりやや少ない程度であったが、このわずかな差を症例 1 では多い、2 では満足と感じており、代償性発汗に対する主観的評価には、かなり個人差があることが推測された。

その結果として、テイラーメイド手術を行えば、顔面無汗をある程度は予防でき、代償性発汗も Minor 法により、それほど多くはないことが判明した(一部は昨年度報告した)。さらに、顔面無汗を来さなかつた症例の解析により、Lin-Telaranta classification (Lin CC, Telaranta T. Ann Chirurg Gynaecol 2001)よりも交感神経出力一定説の方が有力ではないかという仮説を提唱したい。

ただ、顔面発汗が低下した症例よりにおいては、保持された症例に比較して、同じ程度の代償性発汗を代償性発汗がひどいと感じているために、テイラーメイド手術により顔面発汗はなるべく温存する方が望ましいと思われる。

ETS を施行した患者における代償性多汗の訴え後に、Minor 法やサーモグラフィーを施行しながら人工気候室で加温する機会は、それほど多くないため、これからも症例の蓄積を行い、患者の希望する Quality of Life を実現できるよう手術、検査、処置の流れを確立したい。

E. 結論

- 1) 代償性発汗は、水平性にも垂直性にも起こる。
- 2) 代償性発汗は過度に亢進した交感神経のフローを中断することにより、それが他方向に出力されるために起こるのではない(交感神経出力一定説)という仮説が有力なのではないか。
- 3) ETS による発汗抑制には個人差が大きい。そのため、患者の十分な満足を得るためには Minor 法やサーモグラフィーによる評価が必要である。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
（総合）研究報告書

特発性発汗異常症・色素異常症の病態解析と新規治療薬開発に向けた戦略的研究
局所多汗症の病態解析

研究代表者 横関 博雄 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科皮膚科学分野 教授

研究要旨

温熱性多汗は、無汗部の代償性である局所性が多い。的確な治療への導入のための解析法の確立のため、経験した症例をまとめた。多汗を訴える 14 名に、Minor 法、レーザードップラー血流測定、赤外線サーモグラフィを、暑熱条件下（室温 40℃）で行った。障害部位の確認のため MRI などの画像診断を施行した。発汗分布により以下のように分類された：① 一側性多汗：頸椎椎間板ヘルニア（正中型）による一側性無汗に対する代償、② 分節性半側多汗：a. harlequin 症候群、b. 頸椎椎間板ヘルニア（傍正中型）による無汗に対する代償の疑い、c. その他の症候性。温熱性多汗を的確な治療に導入するため、全身発汗分布、ほぼ全身の皮膚血流量、全身皮膚温分布を確認し、局所無汗部位の有無、部位、病態を精査することが肝要である。

研究分担者 岩瀬 敏
愛知医科大学生理学講座 教授
研究協力者 犬飼 洋子
愛知医科大学生理学講座 講師
研究協力者 西村 直記
愛知医科大学生理学講座 講師

A．研究目的

温熱性多汗は、無汗部の代償性である局所性が多い。的確な治療への導入のための解析法の確立のため、経験した症例をまとめた。

B．研究方法

多汗を訴える 14 名に、Minor 法（全身発汗分布）、レーザードップラー血流測定（局所皮膚血流量）、赤外線サーモグラフィ（全身皮膚温分布）を、暑熱条件下（室温 40℃）で行った。障害部位の確認のため MRI などの画像診断を施行した。

研究対象者のプライバシー、実験結果は一切公開しない。研究への参加は被検者の自由意志で、同意はいつでも撤回でき、それによる不利益は一切ない。検査による合併症、例えば Minor 試薬塗布によるかぶれや、温熱負荷による脱水、血行動態の変化などを、十分説明し、事故が起こった場合には附属病院との連携の下に速やかに適切な処置をとる。以上により、倫理面には問題ない。

C．研究結果

発汗分布により以下のように分類された（表 1）。① 一側性多汗（41～68 歳の男女 4 名）：MRI で確認された正中で突出する頸椎

椎間板ヘルニア（正中型）による圧迫側の中心動脈の循環障害によると思われる全身性片側性無汗による対側への代償。② 分節性半側多汗（10 名）。a. 一側の顔面から頸髄領域までの多汗と顔面紅潮（harlequin 症候群）（1 歳 9 か月、2 歳 1 か月、5 歳 6 か月、9 歳、いずれも男児）。対側の頸部交感神経幹節前線維の損傷による無汗の代償と考えた。既往歴がない幼児 3 名は、障害側と分娩時頭位での頸部牽引側とが一致していることから、原因に分娩の関与を推察している。b. 境界明瞭な半側性顔面～頸髄領域分節性多汗（63 歳男性、74 歳女性、37 歳女性）。その隣接下位領域の無汗に対する代償といえる。MRI で正中から約 3mm 外側で最も突出する頸椎椎間板ヘルニア（傍正中型）が存在したが、分節性無汗をきたす機序は明らかでない。c. その他の症候性分節性半側多汗（3 名）。63 歳女性：頸部多汗は、その対側胸部過伸展側の胸部交感神経幹損傷による無汗部に対する代償。46 歳男性：胸部多汗は、その隣接上部レベルの肺癌の交感神経幹浸潤による無汗に対する代償。38 歳女性：顔面片側多汗（発汗減少側とともに patchy 側に Adie 瞳孔を伴う Ross 症候群。ともに原疾患の治療を必要とした。それぞれの病態の代表例を図 1 に示す。

D．考察

多汗は、局所性の場合は無汗部の存在による代償性と考えられる場合があり、治療は無汗部に対して行う必要がある。

E．結論

多汗症を的確な治療に導入するため、全身

発汗分布、ほぼ全身の皮膚血流量、全身皮膚温分布を確認し、局所無汗部位の有無、部位、病態を精査することが肝要である。

なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得

| 症例 | 年齢 | 性 | 主訴：多汗部位 | 一側性 / 分節性 | Horner 症候群、その他 | 暑熱時顔面紅潮：harlequin 症候群 | 頸椎 MRI：椎間板突出、その他 | 病態の分類 |
|----|------|---|---------------|-----------|----------------|-----------------------|------------------|--|
| 1 | 44y | 女 | 顔面 | 一側性 | - | - | 正中 | 病態の分類 ：一側性多汗： 頸椎椎間板ヘルニア（正中型） ： 分節性半側多汗 -a. Harlequin 症候群 -b： 頸椎椎間板ヘルニア（傍正中型）？ -c： その他の症候性 |
| 2 | 41y | 男 | 左顔面と左胸部 | 一側性 | - | - | 正中 | |
| 3 | 68y | 男 | 左顔面～体幹 | 一側性 | +：無汗側 | - | 正中 | |
| 4 | 45y | 男 | 多汗（30歳頃から） | 一側性 | - | - | 正中（やや右側） | |
| 5 | 1y9m | 男 | 右顔面～右上半身 | 分節性 | - | 多汗側 | | |
| 6 | 2y1m | 男 | 右顔面、左背中半分 | 分節性 | - | 多汗側 | | |
| 7 | 5y6m | 男 | 右顔面 | 分節性 | - | 多汗側 | | |
| 8 | 9y | 男 | 左顔面 | 分節性 | +：無汗側 | 多汗側 | | |
| 9 | 63y | 男 | 右顔面・頭部 | 分節性 | - | - | やや右側 | |
| 10 | 74y | 女 | 顔面 | 分節性 | - | - | 右側 | |
| 11 | 37y | 女 | 左顔面～左上半身 | 分節性 | - | - | 左側 | |
| 12 | 63y | 女 | 右後頭部、左腋窩・左肩径部 | 分節性 | - | - | - | |
| 13 | 44y | 男 | 右半側体幹上部 | 分節性 | - | - | 肺癌 | |
| 14 | 38y | 女 | 左顔面～左頸部、右腹背部 | 分節性 | 多汗側：Adie 瞳孔 | 多汗側 | Ross 症候群 | |

表 1 症例のまとめ

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
（総合）研究報告書

特発性発汗異常症・色素異常症の病態解析と新規治療薬開発に向けた戦略的研究
椎間板ヘルニアによる顔面半側多汗

研究代表者 横関 博雄 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科皮膚科学分野 教授

研究要旨

顔面半側多汗はしばしば同レベル対側や同側下位の無汗部の代償である。顔面多汗を主訴とし頸椎椎間板ヘルニアを持つ 11 例において、多汗に対する的確な治療のため、無汗との因果関係を検討した。暑熱環境下で、Minor 法で全身発汗分布を、赤外線サーモグラフィで全身皮膚温分布を、レーザードップラー血流計にて局所皮膚血流量を測定した。責任病巣の確認のため神経学的検査、MRI などの画像診断を施行した。椎間板最突出部位が、一側性多汗症例(54.5%)では、全例で正中(median type)であった。分節性半側多汗症例(45.5%)では全例が傍正中(paramedian type)であり、そのうち 80%例で側性が無汗側に一致しており、かつ無汗の頭側境界髄節レベルが椎間板突出髄節と一致していた。確認できた症例では、腱反射亢進側と Babinski 反射陽性側は、無汗側と一致していた。結果より、無汗分布パターンは椎間板の水平面での最突出部位によると推察された。一側性多汗症例の無汗部は、正中部で突出する椎間板により、脊髄の中心動脈の圧迫された側の環流域である発汗神経下降路の血流不全によると思われる。いずれの症例でも MRI で髄内に異常信号は認められなかったが、無汗の原因が椎間板ヘルニアである可能性は大きいと考えられた。顔面多汗を的確な治療に導入するため、全身発汗分布、ほぼ全身の皮膚血流量、全身皮膚温分布を確認し、局所無汗部位の有無、部位、病態を精査することが肝要である。

研究分担者 岩瀬 敏
愛知医科大学医学部生理学講座 教授
研究協力者 犬飼 洋子
愛知医科大学医学部生理学講座 講師

A．研究目的

顔面半側多汗はしばしば同レベル対側や同側下位の無汗部の代償である。このような症例ではしばしば頸椎椎間板ヘルニアが存在する。多汗に対する的確な治療のため、その無汗の原因が、椎間板ヘルニアによるミエロパチーかを検討した。

B．研究方法

対象：おもに顔面多汗を主訴とし、頸椎椎間板ヘルニア以外に、原因となる異常所見がみとめられなかった症例 11 名（37～74 歳：平均年齢 55 歳：男性 7 名、女性 4 名）。
方法：暑熱環境下（室温 40℃、相対湿度 50%）で、Minor 法で全身発汗分布を、赤外線サーモグラフィで全身皮膚温分布を、レーザードップラー血流計にて局所皮膚血流量を測定した。また責任病巣の確認のため神経学的検査、MRI などの画像診断を施行した。
（倫理面への配慮）
研究対象者のプライバシー、実験結果は一切

公開しない。研究への参加は被検者の自由意志で、同意はいつでも撤回でき、それによる不利益は一切ない。検査による合併症、例えば Minor 試薬塗布によるかぶれや、温熱負荷による脱水、血行動態の変化などを、十分説明し、事故が起こった場合には附属病院との連携の下に速やかに適切な処置をとる。以上により、倫理面には問題ない。

C．研究結果（表 1）

Minor 法により発汗分布は、全身性一側性多汗（11 例中 6 例：54.5%）と、分節性半側性多汗（11 例中 5 例：45.5%）の 2 タイプがみとめられた（図 1）。分節性の症例では、無汗部の同側上位部と同レベルの対側部に多汗がみられた。サーモグラフィでは、全例で無汗部や低汗部で皮膚温が高値であった。MRI では、全例でみとめられている頸椎椎間板ヘルニアの最も突出している部位が、一側性多汗症例では全例(100%)（症例 2, 5, 6, 8, 9, 10）がほぼ正中(median type) 1（図 2）で、分節性半側多汗症例では全例が、正中より 3mm 外側である傍正中(paramedian type) 1（図 2）であった。そのうち 4 例(80%)（症例 1, 3, 4, 11）の側性は無汗側に一致しており、かつ無汗の頭側境界髄節レベルが椎間板突出髄節と一致していた。しかし 1 例(20%)（症例 7）で

は最突出部位が無汗とは反対側であった。いずれの症例でも、MRIにて脊髄内に異常信号は認められなかった。各症例の全身発汗分布（Minor法）全身皮膚温分布、頸椎MRI所見を示す（図3）。神経学的検査を施行できた4例のうち、1例の上肢のしびれ側は無汗側と一致し、3例の腱反射亢進側とそのうち2例のBabinski反射陽性側は、無汗側と一致していた。Horner症候群が確認できた7例中、1例（14.7%）は無汗側と同側にあり、5例（71.4%）ではなく、1例（14.7%）では無汗と反対側にあった。

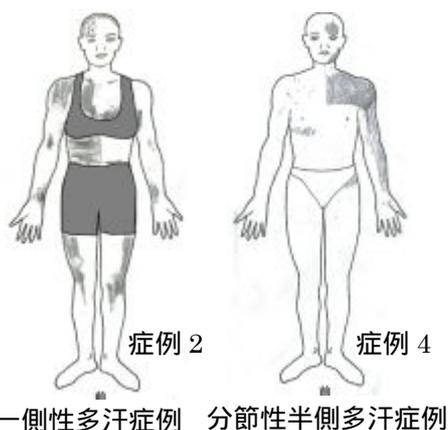


図1 Minor法による温熱発汗試験結果。

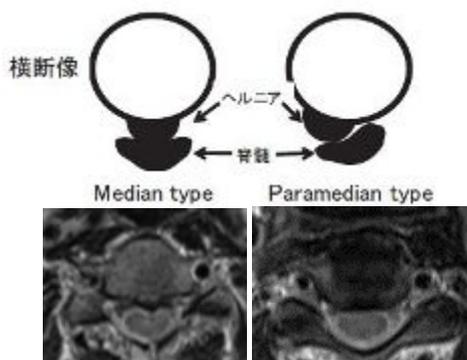


図2 椎間板ヘルニアのMRI横断像による形態分類（松本ら、2001）¹とそのMRI像例。

D. 考察

片側顔面を含む多汗部位は、一側性多汗例では、その対側の無汗に対する代償、また、分節性半側多汗例では、無汗部位に対する、同側上位部（同側顔面を含む）と同レベル対側部での代償であると思われる。

結果より、無汗分布パターンは椎間板の水

平面での最突出部位によると推察された。すなわち、一側性多汗症例の無汗部は、正中部で突出する椎間板により、前脊髄動脈の枝である中心動脈の圧迫された側の環流域である発汗神経下降路の血流不全によると思われる（図4）。分節性半側多汗では、無汗側の無汗部頭側境界レベルが、同側椎間板突出レベルと一致している理由は明らかでない。しかし80%の症例で無汗側と椎間板突出側が一致していることより、この発汗パターンも椎間板ヘルニアによる可能性があると考えられた。またいずれの症例でも、MRIで髄内に異常信号は認められなかったが、前述の機序より、無汗の原因が椎間板ヘルニアである可能性は大きいと考えられた。

よって、顔面半側多汗に対する治療としては、無汗の原因と考えられる椎間板ヘルニアに対する治療、すなわち頸部牽引による除圧などを考慮するのが的確と思われる。

今後の課題は、当症例に対する頸部牽引療法による改善経過を確認することである。また、本無汗の原因が脊髄障害によるものであることを証明するため、体性感覚誘発電位（sensory evoked potential；SEP）などの検査を加えることである。

E. 結論

顔面多汗症を的確な治療に導入するため、全身発汗分布、ほぼ全身の皮膚血流量、全身皮膚温分布を確認し、局所無汗部位の有無、部位、その病態を精査することが肝要である。

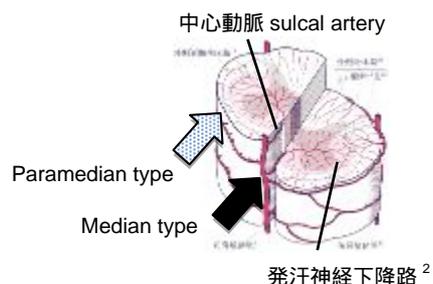


図4 椎間板による頸髄の圧迫

F. 参考文献

1. 松本守雄,丸岩博文,石川雅之,西澤隆,千葉一裕,藤村祥一,戸山芳昭. 脊椎外科最近の進歩. 頸椎椎間板ヘルニアによる頸髄症軽症例に対する保存療法. 臨床整形外科, 2001, 36, 4, 429-434.
2. Nathan PW, Smith MC (1986). The location of descending fibres to sympathetic neurons supplying the eye and sudomotor neurons supplying the head and neck. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 49(2):187-94.

| 症例 | 年齢 | 性別 | 現病歴 | その他の症状、神経学的所見 | 温熱性発汗 Minor 法所見 (半側多汗部位) | 無汗側 | Horner 症候群 (無汗と同側) | MRI SPINE | 椎間板最突出部位型 |
|----|----|----|-------------------|---------------------------------------|--|-----|--------------------|----------------------------------|------------|
| 1 | 63 | 男 | 右顔面・頭部の多汗と熱感 | <不明> | 分節性：右額～C4 | 右 | <不明> | C3/4 椎間板やや右側軽度圧迫 | 傍正中型 |
| 2 | 44 | 女 | 顔面の紅潮と多汗 | <不明> | 一側性：右顔面～腹部 | 左 | <不明> | C6/7 正中線上ヘルニア | 正中型 |
| 3 | 74 | 女 | 顔面多汗 | <不明> | 分節性：右側の顔～頭部～頸部～肩～第4指 (C7領域) | 右 | <不明> | C5/6 で右側寄りの椎間板ヘルニア | 傍正中型 |
| 4 | 37 | 女 | 左顔面と上半身の多汗 | <不明> | 分節性：左顔面～上肢 | 左 | 無 | C5/6 で左側寄りの椎間板突出 | 傍正中型 |
| 5 | 41 | 男 | 左顔面と胸部に多汗 | <不明> | 一側性：左顔面～体幹 | 右 | 無 | C5/6 ほぼ正中部の椎間板ヘルニア | 正中型 |
| 6 | 68 | 男 | 左背中が冷たい(10年前より) | <不明> | 一側性：左 C4～T9 | 右 | (反対側に有) | C3/4 椎間板髄核の後方突出 | 正中型 |
| 7 | 41 | 男 | 頭部発汗 | 首の運動で右上腕しびれ(：発汗分布異常部位と一致する) | 分節性：前額部と前頸部(C2)では右側が、C3以下体幹～下肢で左側優位(交叉性) | 右 | <不明> | C3/4、C4/5 左側へ突出(反対側だが)障害レベル合致 | (突出部位が反対側) |
| 8 | 68 | 男 | 左顔面～左半身の多汗(3年前より) | 両手の4、5指しびれ。右上下肢で腱反射亢進、右 Babinski 反射陽性 | 一側性：左顔面胸部、右上肢～体幹 | 右 | 右 | C5/6 全周性の脊髄圧迫、右側椎間孔の狭小化 | 正中型 |
| 9 | 45 | 男 | 多汗(30歳頃から) | | 一側性：全身性に左側優位 | 右 | 無 | C5/6 椎間板突出：正中やや右側 | 正中型 |
| 10 | 45 | 男 | 頭部の多汗(6～7年前から) | 左膝蓋腱反射亢進・左 Babinski 反射陽性 | 一側性：右前額部と右体幹で代償性多汗 | 左 | 無 | C5/6 正中突出、C6/7 左後側方突出、C7 骨棘神経根圧迫 | 正中型 |
| 11 | 76 | 女 | 額の多汗(今夏過ぎから) | 腱反射は上肢で左優位 | 分節性：左側首と右側背部(交叉性) | 左 | 無 | C5/6 左側へ圧迫 | 傍正中型 |

表1 症例の背景と発汗分布、MRI 所見
 : 発汗分布が一側性、■ : 発汗分布が分節性

MRI : いずれも髄内信号異常なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Iwase S*, Inukai Y*, Nishimura N, Sato Maki, Sugenoja J. (*equally contributed author) Hemifacial hyperhidrosis associated with ipsi/contralateral cervical disc herniation myelopathy. -functional considerations how compression pattern determines the laterality-. Functional Neurology 2013, vol 28, in press
- 2) Iwase S, Kawahara Y, Nishimura N, Nishimura R, Sugenoja J, Miwa C, Takada M. Effects of isotonic and isometric exercises with mist sauna bathing on cardiovascular, thermoregulatory, and metabolic functions. Int J Biometeorol. 2013 Jul 25. [Epub ahead of print]
- 3) Iwase S, Kawahara Y, Nishimura N, Nishimura R, Miwa C, Kataoka Y, Kobayashi C, Suzuki T, Shigaraki M, Maeda Y, Takada H, Watanabe Y. A comparison of head-out mist bathing, with or without facial fanning, with head-out half-body low-water level

- bathing in humans-a pilot study. *Int J Biometeorol.* 2013 Jun 12. [Epub ahead of print]
- 4) Ohno H, Nishimura N, Yamada K, Shimizu Y, Iwase S, Sugenoja J, Sato M. Effects of water nanodroplets on skin moisture and viscoelasticity during air-conditioning. *Skin Res Technol.* Nov;19(4):375-83, 2013
 - 5) Tanaka K, Nishimura N, Sato M, Kanikowska D, Shimizu Y, Inukai Y, Abe C, Iwata C, Morita H, Iwase S, Sugenoja J. Arterial pressure oscillation and muscle sympathetic nerve activity after 20 days of head-down bed rest. *Auton Neurosci.* Oct;177(2). 266-70. 2013
 - 6) Sato M, Kanikowska D, Iwase S, Shimizu Y, Nishimura N, Inukai Y, Sato M, Sugenoja J. Seasonal differences in melatonin concentrations and heart rates during sleep in obese subjects in Japan. *Int J Biometeorol.* Sep;57(5), 743-8, 2013
 - 7) Kanikowska D, Sato M, Sugenoja J, Shimizu Y, Nishimura N, Inukai Y, Iwase S. Attenuated thermoregulatory responses with increased plasma osmolality in obese subjects during two seasons. *Int J Biometeorol.* Sep;57(5). 663-7. 2013
 - 8) Kanikowska D, Sato M, Iwase S, Shimizu Y, Nishimura N, Inukai Y, Sugenoja J. Effects of living at two ambient temperatures on 24-h blood pressure and neuroendocrine function among obese and non-obese humans: a pilot study. *Int J Biometeorol.* May;57(3). 475-81. 2013
 - 9) Iwase S, Kawahara Y, Nishimura N, Takada H, Nagata M, Niimi Y, Miwa C. Effects of dry and mist saunas on circulatory and thermoregulatory functions in humans. *Health* 5(2), 267-73, 2013
 - 10) Iwase S, Kawahara Y, Miwa C, Nishimura N. Effect and efficacy of thermal environment provided by a new bathing style, "mist sauna bathing". *Balneo Research Journal* 4(1) 23-34, 2013
 - 11) Ohshima Y, Yanagishita T, Ito K, Tamada Y, Nishimura N, Inukai Y, Iwase S, Sugenoja J, Watanabe D. Treatment of patients with acquired idiopathic generalized anhidrosis. *Br J Dermatol.* Feb;168(2):430-2, 2013
 - 12) 西村直記, 岩瀬 敏, 菅屋潤壹, 河原ゆう子. 異なる入浴様式による加齢臭の除去・抑制効果. *日本生気象学会雑誌* 19(2): 107-15, 2013
 - 13) 岩瀬 敏. しびれを感じるメカニズム. *レジデントノート*, 15(9): 1649-52, 2013
 - 14) 岩瀬 敏. 【足の特異な症候】Painful legs and moving toes. *脊髄脊椎ジャーナル*, 26(7): 721-27, 2013
 - 15) 中垣明美, 稲見崇孝, 馬場礼三, 岩瀬 敏. 心拍変動解析を用いた高年女性の水中運動中の自律神経活動 高血圧のある4事例の検討から. *医学と生物学* 157(2), 239-46, 2013
 - 16) 中里良彦, 佐藤貴浩, 朝比奈正人, 横関博雄, 岩瀬 敏, 片山一郎, 佐野健司, 藤本智子, 宗次太吉, 渡辺大輔, 「特発性後天性全身性無汗症診療ガイドライン」作成委員会. 特発性後天性全身性無汗症診療ガイドライン. *自律神経* 50(1): 67-73, 2013
 - 17) 岩瀬 敏. 発汗の自律神経学的基礎とその異常. *発汗学* 20(1): 26-8, 2013
 - 18) 岩瀬 敏. 発汗学への期待. *発汗学* 20(1): 1, 2013
 - 19) Kanikowska D, Sato M, Sugenoja J, Iwase S, Shimizu Y, Nishimura N, Inukai Y. No effects of acclimation to heat on immune and hormonal responses to passive heating in healthy volunteers. *Int J Biometeorol.* Jan;56(1):107-12, 2012
 - 20) Van Loon JJWA, Baeyens JP, Berte J, Blanc S, Braak L, Bok K, Bos J, Boyle R, Bravenoer N, Eekhoff M, Chouker A, Clément G, Cras P, Cross E, Custaud MA, De Angelis M, De Dreu C, Delavaux T, Delfos R, Poelma C, Denise P, Felsenberg D, Fong K, Fuller C, Grillner S, Groen E, Harlaar J, Heer M, Heglund N, Hinghofer-Szalkay H, Goswami N, Hughes-Fulford M, Iwase S, Karemaker JM, Langdahl B, Linnarsson D, Lüthen C, Monici M, Mulder E, Narici M, Norsk P, Paloski W, Prisk GK, Rutten M, Singer P, Stegeman D, Stephan A, Stienen GJM, Suedfeld P, Tesch P, Ullrich O, Van den Berg R, Van de Heyning P, Delahaye A, Veyt J, Vico L, Woodward E, Young L, Wuyts F. A large human centrifuge for exploration and exploitation research. *Annales Kinesiologiae* 1. 1, 201-15, 2012
 - 21) Goswami N, Roma PG, DeBoever P, Clement G, Hargens AR, Loeppky JA, Evans JM, Stein TP, Blaber AP, Van

- Loon JJWA, Mano T, Iwase S, Reitz G, Hinghofer-Szalkay H G. Using the moon as a high-fidelity analogue environment to study biological and behavioral effects of long-duration space exploration. *Planetary and Space Science*, 74(1) 111-20, 2012
- 22) Bernjak A, Cui J, Iwase S, Mano T, Stefanovska A, Eckberg DL. Human sympathetic outflows to skin and muscle target organs fluctuate concordantly over a wide range of time-varying frequencies. *J Physiol* 2012 Jan 15 590 (Pt2) 363-75
- 23) 大野秀夫, 西村直記, 山田邦之, 清水祐樹, 岩瀬 敏, 菅屋潤壹. 空調された室内で発生する微細気泡浴水分粒子による皮膚潤い効果についての生理学的検討: 仮説. *発汗学* 19(2): 60-4, 2012
- 24) 岩瀬 敏. 精神性発汗の意義と温熱性発汗との比較. *発汗学* 19(2): 68-72, 2012
- 25) 柳下武士, 玉田康彦, 伊東慶子, 大嶋雄一郎, 西村直記, 岩瀬 敏, 吉岡 洋, 村瀬允也, 渡辺大輔. 代償性発汗に対するボツリヌス毒素 A 局所注射両方の治療効果. *発汗学* 19 (1): 2-5, 2012
- 26) 西村直記, 岩瀬 敏, 吉岡 洋, 横山智輝, 村瀬允也, 玉田康彦. 手掌多汗症治療ガイドラインは実際の診療に即しているのか? 客観的判断を生理学の立場から. *発汗学* 19 (1): 14-7, 2012
- 27) 大野秀夫, 西村直記, 清水祐樹, 岩瀬 敏, 菅屋潤壹. エアコンから発生する(-)帯電微細水分粒子による皮膚の”はり”と潤い効果における季節差の影響. *発汗学* 19 (1): 27-9, 2012
- 28) 岩瀬 敏. 自律神経系の生態情報が生体システムに及ぼす影響. *繊維製品消費科学* 53:15-20, 2012
- 29) 河原ゆう子, 美和千尋, 岩瀬 敏. 新しい入浴形態「ミストサウナ」の温熱環境がもたらす効果・効能. *自律神経* 49: 95-102, 2012
2. 学会発表
- 1) 犬飼洋子, 岩瀬 敏, 西村直記, 佐藤麻紀, 清水祐樹, 佐藤元彦, 丹羽淳一, 泉雅之, 高橋 昭, 萩原真清. 椎間板ヘルニアによる顔面半側多汗. 平成 25 年度 厚生労働科学研究補助金(難治性疾患克服研究事業) 第 2 回特発性発汗異常症・色素異常症の病態解析と新規治療薬開発に向けた戦略的研究班(発汗異常班) 班会議. 平成 26 年 1 月 10 日(金). 東京
- 2) 岩瀬 敏, 西村直記, 桑原裕子, 塚原玲子. 精神性発汗・血管収縮の体温調節における意義. 平成 25 年度 厚生労働科学研究補助金(難治性疾患克服研究事業) 第 2 回特発性発汗異常症・色素異常症の病態解析と新規治療薬開発に向けた戦略的研究班(発汗異常班) 班会議. 平成 26 年 1 月 10 日(金). 東京
- 3) 犬飼洋子, 岩瀬 敏, 西村直記, 佐藤麻紀, 清水祐樹, 佐藤元彦, 丹羽淳一, 泉雅之, 高橋 昭, 萩原真清. Ross 症候群の ^{123}I -MIBG (*meta*-iodobenzylguanidine) 心筋シンチグラフィによる病態解析. 第 41 回自律神経生理研究会. 2013 年 12 月 7 日(土). 東京
- 4) 逸見憲一, 西村直記, 竹内史朗, 坂上智樹, 岩瀬 敏, 星崎潤一郎. マイクロナノバブル水流が肌水分量に及ぼす作用(会議録). *日本温泉気候物理医学会雑誌* 77(1). 46, 2013.11
- 5) 竹内史朗, 西村直記, 逸見憲一, 坂上智樹, 星崎潤一郎, 岩瀬 敏. マイクロナノバブル水流による温浴効果の検証(会議録). *日本温泉気候物理医学会雑誌* 77(1)45-46. 2013.11
- 6) 美和千尋, 島崎博也, 田中紀行, 川村陽一, 出口 晃, 鈴村恵理, 前田一範, 川村憲市, 水谷真康, 岩瀬 敏. 人工塩化物泉および炭酸水素塩泉の飲泉が胃電図および心拍変動に及ぼす影響(会議録). *日本温泉気候物理医学会雑誌* 77(1)2013.11
- 7) 犬飼洋子, 岩瀬 敏, 西村直記, 佐藤麻紀, 清水祐樹, 佐藤元彦, 丹羽淳一, 泉雅之, 高橋 昭, 萩原真清. Ross 症候群の ^{123}I -MIBG (*meta*-iodobenzylguanidine) 心筋シンチグラフィ 第 66 回日本自律神経学会総会. 2013 年 10 月 24 日・25 日. 名古屋, プログラム・抄録集 99
- 8) 伊藤志門, 吉岡洋, 横山智輝, 村瀬允也, 西村直記, 岩瀬 敏. 交感神経遮断による各種治療の実際 手掌多汗症に対する胸部交感神経遮断術(会議録). *日本自律神経学会 総会 プログラム・抄録集* 66,67,2013.10
- 9) 岩瀬 敏. 環境変化に対する自律神経応答のニューログラム解析 皮膚交感神経活動を中心に(会議録). *日本自律神経学会 総会 プログラム・抄録集* 66,38,2013.10
- 10) 犬飼洋子. シンポジウム 後天性特発性全身性無汗症(AIGA) AIGA の治療. 第 66 回日本自律神経学会総会. 2013 年 10 月 24 日・25 日. 名古屋
- 11) 西村直記, 岩瀬 敏, 西村るみ子. 炭酸水への浸漬中の温度感覚上昇に関わる TRP チャネルの役割(会議録). *日本生気象学会雑誌* 50(3)S56,2013.10
- 12) Y. Inukai, S. Iwase, Y. Shimizu, M. Sato, N. Nishimura, C. Onizuka, Y. Kuwahara, J. Sugeno, M. Sato.

- PATHOGENESIS OF THE HEMIFACIAL HYPERHIDROSIS. 21st World Congress of Neurology (WCN 2013) (第21回世界神経学会議). 21-26, September, 2013. Vienna, Austria
- 13) 犬飼洋子, 岩瀬敏, 西村直記, 佐藤麻紀, 清水祐樹. 進行性分節型無汗症と harlequin 症候群から診断された Ross 症候群例の病態解析 ^{123}I -MIBG (*meta*-iodobenzylguanidine) 心筋シンチグラフィの所見から. 第21回日本発汗学会総会. 松本
 - 14) 西村直記, 吉岡 洋, 岩瀬 敏, 犬飼洋子. 第21回日本発汗学会シンポジウム: 汗の神経診断学 交感神経節の汗腺支配分布 ETS 後の代償性発汗分布から. 第21回日本発汗学会総会. 平成25年8月30日(金)~31日(土), 松本
 - 15) 犬飼洋子. 進行性分節型無汗症と harlequin 症候群から診断された Ross 症候群例の病態解析 ^{123}I -MIBG (*meta*-iodobenzylguanidine) 心筋シンチグラフィの所見から. 第3回 愛知発汗研究会. 平成25年8月22日(木), 名古屋
 - 16) Y. Inukai, S. Iwase, Y. Shimizu, M Sato, N. Nishimura, C. Onizuka, Y. Kuwahara, J. Sugeno, M. Sato. Pathophysiology of hemifacial hyperhidrosis. ISAN-EFAS 2013 (JOINT MEETING 8th Congress of the International Society for Autonomic Neuroscience (ISAN), 15th Meeting of the European Federation of Autonomic Societies (EFAS) (第8回 国際自律神経科学学会 第15回 欧州自律神経学会連盟合同総会). July 29th-August 2nd, 2013, Giessen, Germany
 - 17) Miho Sakima, Hiroko Suzuki, Satoshi Iwase, Yoko Inukai, Naoki Nishimura, Maki Sato, Yuuki Shimizu, Motohiko Sato. Identification of novel signal regulators of heterotrimeric G-protein involved in the development of cardiovascular diseases. 新学術領域研究「多階層生体機能学 HD Physiology」第二回国際シンポジウム .2013年6月28日(金)・29日(土), 東京
 - 18) 犬飼洋子, 岩瀬 敏, 清水祐樹, 佐藤麻紀, 西村直記, 鬼塚知里, 桑原裕子, 菅屋潤壹, 佐藤元彦. 局所性多汗症の病態解析. 第54回日本神経学会学術大会. 2013年5月29日(水)~6月1日(土), 東京
 - 19) 柳下武士, 玉田康彦, 伊東慶子, 大嶋雄一郎, 西村直記, 岩瀬 敏, 渡辺大輔. 代償性発汗に対するボツリヌス毒素 A 局所注
 - 20) 射療法の有用性(会議録). 日本皮膚科学会雑誌. 123(5)993, 2013.04
 - 20) 佐藤元彦, 鈴木洋子, 佐喜真未帆, 岩瀬敏, 犬飼洋子, 西村直記, 佐藤麻紀, 清水祐樹. 病態下で発現する G 蛋白活性調節因子の同定と解析 Identification and characterization of activator of G-protein signaling (AGS) proteins induced in the pathophysiological conditions. シンポジウム. 第90回日本生理学会大会. 2013年3月27日(水)~29日(金), 東京
 - 21) 佐藤麻紀, Dominika Kanikowska, 岩瀬敏, 清水祐樹, 西村直記, 犬飼洋子, 菅屋潤壹, 佐藤元彦. 肥満者におけるアディポサイトカインおよびホルモンの季節性変動 Seasonal differences in plasma adipocytokines and hormones concentration in obese subjects. 第90回日本生理学会大会. 2013年3月27日(水)~29日(金), 東京
 - 22) 犬飼洋子, 岩瀬 敏, 西村直記, 佐藤麻紀, 清水祐樹, 桑原裕子, 菅屋潤壹, 佐藤元彦. 身体半側多汗の病態機序 Pathophysiology of hemilateral hyperhidrosis. 第90回日本生理学会大会 .2013年3月27日(水)~29日(金), 東京
 - 23) 犬飼洋子, 岩瀬 敏, 西村直記, 佐藤麻紀, 清水祐樹, 佐藤元彦, 丹羽淳一, 泉雅之, 高橋 昭, 荻原真清. Ross 症候群における ^{123}I -MIBG (*meta*-iodobenzylguanidine) 心筋シンチグラフィの検討. 第135回日本神経学会 東海北陸地方会 .2013年3月16日(火), 名古屋, 臨床神経学 53(9)765, 2013.09
 - 24) 犬飼洋子, 岩瀬 敏. 局所多汗症の病態解析. 平成24年度 厚生労働科学研究補助金(難治性疾患克服研究事業) 第2回特発性発汗異常症・色素異常症の病態解析と新規治療薬開発に向けた戦略的研究班(発汗異常班) 班会議. 平成24年12月14日, 東京
 - 25) 中垣明美, 稲見崇孝, 馬場礼三, 渡辺員支, 岩瀬 敏. 心拍変動解析による妊婦運動負荷中の自律神経活動の変化(会議録). 体力科学 61(6), 645, 2012.12
 - 26) 岩瀬 敏, 桑原裕子, 西村直記, 塚原玲子, 犬飼洋子, 菅屋潤壹, 間野忠明. 精神性発汗・血管収縮の意義と誘発電位との関連. 第40回自律神経生理研究会. 2012年12月1日, 東京. プログラム 6
 - 27) 犬飼洋子, 岩瀬 敏, 清水祐樹, 西村直記, 桑原裕子, 菅屋潤壹, 佐藤元彦. 環境温により体温が変動した2例の病態生理. 第40回自律神経生理研究会. 2012年12月1日, 東京. プログラム 2

- 28) 犬飼洋子, 岩瀬 敏, 西村直記, 佐藤麻紀, 桑原裕子, 清水祐樹, 菅屋潤壹, 佐藤元彦. 体温調節異常が視床下部障害によると考えられた 3 例の病態生理. 第 59 回中部日本生理学会. 2012 年 11 月 16-17 日, 岡崎
- 29) 佐藤麻紀, Dominika Kanikowska, 岩瀬敏, 清水祐樹, 西村直記, 犬飼洋子, 佐藤元彦, 菅屋潤壹. 肥満者における睡眠中のメラトニン濃度と心拍数の季節性変動. 第 59 回中部日本生理学会. 2012 年 11 月 16-17 日, 岡崎
- 30) 犬飼洋子, 岩瀬 敏, 西村直記, 桑原裕子, 菅屋潤壹. 環境温の変化により体温変動をきたした 3 例. 第 58 回日本宇宙航空環境医学会大会. 2012 年 11 月 15-17 日, 豊橋. プログラム予稿集 13
- 31) 岩瀬 敏, 桑原裕子, 西村直記, 塚原玲子, 犬飼洋子, 菅屋潤壹, 間野忠明. 精神性発汗・血管収縮の意義と温熱性発汗・血管収縮との比較. 第 65 回日本自律神経学会総会 2012 年 10 月 26 日, 東京. プログラム・抄録集 133
- 32) 犬飼洋子, 岩瀬 敏, 西村直記, 佐藤麻紀, 清水祐樹, 菅屋潤壹. 特発性後天性全身性無汗症の治療経過 過去 6 年間における当大学受診例. 第 65 回日本自律神経学会総会 2012 年 10 月 26 日, 東京. プログラム・抄録集 132
- 33) 犬飼洋子, 岩瀬 敏, 清水祐樹, 西村直記, 佐藤麻紀, 桑原裕子, 菅屋潤壹. 体温調節障害が視床下部障害によると考えられた 3 例. 第 65 回日本自律神経学会総会. 2012 年 10 月 26 日, 東京. プログラム・抄録集 132
- 34) 清水祐樹, 今井美香, 桑原裕子, 吉田 豊, 西村直記, 横山清子, 岩瀬 敏, 平井眞理, 菅屋潤壹. 胸腔内圧の変化が循環動態と直腸内圧に及ぼす影響 胸腔内圧を基準とする伝達関数による解析. 2012 年 10 月 26 日, 東京. 日本自律神経学会総会プログラム・抄録集 65 回, 114(2012.10)
- 35) 西村直記, 岩瀬 敏, 田中邦彦, 間野忠明. 改良型人工重力負荷+運動負荷装置の効果. 日本自律神経学会総会プログラム・抄録集 65 回, 96(2012.10)
- 36) 岩瀬 敏, 桑原裕子, 塚原玲子, 西村直記, 犬飼洋子, 菅屋潤壹, 間野忠明. 精神性発汗の意義と温熱性発汗との比較. 第 20 回日本発汗学会総会. 平成 24 年 8 月 24 日-25 日, 奈良. 抄録集・プログラム 38
- 37) 犬飼洋子, 岩瀬 敏, 清水祐樹, 西村直記, 桑原裕子. 変温症の一例. 第 20 回日本発汗学会総会. 平成 24 年 8 月 24 日-25 日, 奈良. 抄録集・プログラム 42
- 38) 岩瀬 敏, 西村直記, 犬飼洋子, 桑原裕子, 菅屋潤壹. 精神性発汗の意義と温熱性発汗との比較. 第 2 回 愛知発汗研究会. 2012 年 8 月 17 日, 名古屋
- 39) 犬飼洋子, 岩瀬 敏, 清水祐樹, 西村直記, 桑原裕子. 変温症の病態生理 Pathophysiology of poikilothermia. 第 25 回日本マイクロニューログラフィ学会. 平成 24 年 6 月 16 日, 金沢. プログラム・抄録 9
- 40) 岩瀬 敏, 桑原裕子, 塚原玲子, 西村直記, 犬飼洋子, 菅屋潤壹, 間野忠明. 精神性発汗・血管収縮の意義と温熱性発汗・血管収縮との比較. 第 25 回日本マイクロニューログラフィ学会. 平成 24 年 6 月 16 日, 金沢.
- 41) Yoko S Inukai, Satoshi Iwase, Naoki Nishimura, Yuki Shimizu, Maki Sato, Junichi Sugeno. Hemifacial hyperhidrosis associated with ipsi/contralateral cervical disc herniation myelopathy. —compression pattern determines the laterality—. 13th Asian Oceanian Congress of Neurology, 4-8 June 2012, Melbourne, Australia
- 42) 犬飼洋子, 岩瀬 敏, 清水祐樹, 西村直記, 桑原裕子. 変温症(poikilothermia)の 1 例の病態. 第 53 回日本神経学会学術大会. 2012 年 5 月 22~25 日, 東京. 臨床神経学 52(12), 1468
- 43) 平瀬 翔, 犬飼洋子, 藤掛彰史, 泉 雅之, 丹羽淳一, 中尾直樹, 高橋 昭, 道勇 学. 変動する複視を呈した Wallenberg 症候群の 1 例. 第 109 回 日本内科学会総会サテライトシンポジウム 研修医、医学生の内科学会 2012 京都, 2012 年 4 月 14 日・15 日, 京都.
- 44) Dominika Kanikowska, 佐藤麻紀, 岩瀬敏, 清水祐樹, 西村直記, 犬飼洋子, 菅屋潤壹. 肥満者における 24 時間血圧および血中カテコールアミン濃度の季節性変動. 第 89 回日本生理学会大会. 2012 年 3 月 29~31 日, 松本
- 45) 佐藤麻紀, Dominika Kanikowska, 岩瀬敏, 清水祐樹, 西村直記, 犬飼洋子, 菅屋潤壹. 肥満者における体温調節応答とホルモンの季節性変動. 第 89 回日本生理学会大会. 2012 年 3 月 29~31 日, 松本
- 46) Inukai Yoko, Iwase Satoshi, Shimizu Yuki, Nishimura Naoki, Kuwahara Yuko. Pathophysiology of a case of poikilothermia 変温症の一例の病態生理. 第 89 回日本生理学会大会 The 89th Annual Meeting of the PSJ, March 29 - 31, 2012, Matsumoto, S174, Program 2012
- 47) 犬飼洋子, 岩瀬敏, 西村直記, 清水祐樹, 佐藤麻紀, 鬼塚知里, 菅屋潤壹. 片側顔

面の多汗の原因が同側/対側の頸椎症性脊髄症によると考えられた 5 例の検討 側性は圧迫様式による . 第 132 回日本神経学会東海北陸地方会 . 平成 24 年 3 月 3 日 . 名古屋 臨床神経学 52(8),618,2012.08

- 48) 西村直記, 岩瀬 敏, 宅見央子, 山本敬子 . 糖転移ヘスペリジン摂取は長時間の椅座位による下腿部の浮腫を軽減させる(会議録) . 日本生気象学会雑誌 49(3),S75,2012.10
- 49) 犬飼洋子 . 頸椎症による顔面多汗 . 第 1 回 愛知発汗研究会 . 2012 年 2 月 14 日 (火) . 名古屋

H . 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

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）

総合分担研究報告書

掌蹠多汗症の患者多数例における発汗変化量と脳血流変化量の相関解析

研究分担者 水澤英洋 東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科学) 教授
研究協力者 三條伸夫 東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科学) 講師
研究協力者 藤本智子 多摩南部地域病院 医長
研究協力者 横関博雄 東京医科歯科大学大学院皮膚科学分野 教授

研究要旨 掌蹠多汗症患者 12 例と健常人 11 例において、ストレス負荷時の手掌の発汗変化量と Single Photon Emission Computed Tomography(SPECT)による前頭葉脳血流変化量を測定し、両者の相関性を単回帰解析した。本研究では撮像方法によるバイアスなどがあり、両者の間には相関性が認められなかった。多汗症患者ではストレス負荷時に血流が増加傾向にあるのに対し、健常人では全例で低下を認めており、多汗症患者においては前頭葉の機能亢進や交感神経系の興奮が関与していることが示唆された。今後、撮像データの質の管理などに配慮した形での解析が必要であると思われる。

A. 研究目的

掌蹠多汗症の病理メカニズムには、中枢神経系の関与が強いことが推測されているが、発汗や交感神経活動と大脳皮質の活動性との関連性を調べた報告はほとんどない。2009 年の本研究報告書において、田中らは掌蹠多汗症患者と健常人の脳血流変化を脳血流シンチ(SPECT)にて測定し、比較解析をおこなったところ、安静時、および暗算によるストレス負荷時において、各々の条件で多汗症患者群の前頭葉で、健常人患者群と比較して脳血流が増加していることを報告した。しかし、多汗症患者群において、ストレス負荷時には発汗量や脳血流量が増加しているものの、どちらの変化量(変化率)にも統計学的有意差を認めなかった。その原因として、各個人の発汗量、および脳血流変化量のばらつきが大きく、統計学的有意差が得ら

れなかった可能性があると考えられた。

2012 年度の解析では、試験的に少人数の多汗症症例と健常者のデータを解析したところ、多汗症患者で、発汗量変化と脳血流変化の間に強い相関性がみられたため、2013 年では多人数で解析を行った。

B. 研究方法

東京医科歯科大学皮膚科発汗異常外来を受診し、掌蹠多汗症重症例と診断した患者 12 人(男 5 人、女 7 人、平均年齢 20.18 歳、全例右利き)と正常コントロール 10 人(男 5 人、女 5 人、平均年齢 29.2 歳、全例右利き)に対し、安静時と暗算によるストレス負荷を別々の日に行い、手掌の発汗量と、SPECT による脳血流を測定した。各個人のデータより、ストレス負荷時のデータと安静時のデータの差(「負荷後」-「負荷前」)を

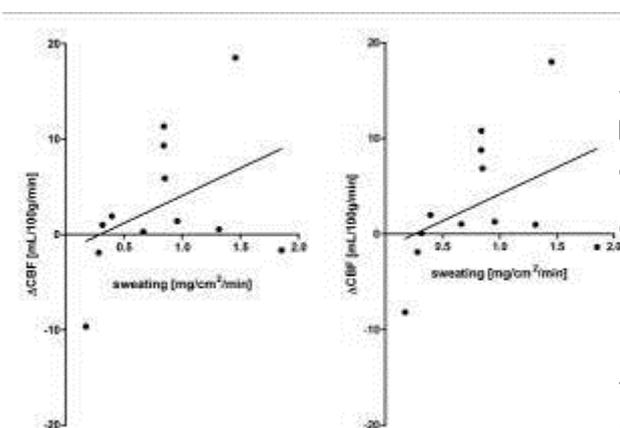
計算し、各変化量間における単回帰分析を行った。

(倫理面への配慮)

被験者には本研究の主旨を説明したうえで同意を得た。本研究は東京医科歯科大学医学部倫理委員会の承認を得て倫理的配慮のもとに行った。

C. 研究結果

多汗症患者において、手掌の発汗変化量と脳血流変化量間の単回帰分析を行ったところ、右前頭葉で寄与率(決定係数)0.16、F検定のp値<0.001であり(下図左)、左前頭葉で寄与率(決定係数)0.17、F検定のp値<0.001(下図右)と相関性は認められなかった。健常者においても寄与率(決定係数)0.00、F検定のp値<0.63、左前頭葉で寄与率(決定係数)0.00、F検定のp値<0.62と全く相関性は認められなかった。多汗症患者において、ほとんどの患者でストレス負荷時の血流が増加していたのに対し、健常人では全例でストレス負荷時に血流が低下していた。



D. 考察

近年、情動変化(emotional change)時における交感神経系を介した発汗亢進とfunctional MRIによる脳機能との関連性を解析した結果より、発汗亢進時の大脳皮質活動亢進部位として扁桃核、橋背外側、視床、側坐核、上脳皮質が、活動低下部位として眼窩回、前頭前野、楔前部などが関連していることが報告された[1]。昨年度の少人数症例における我々の解析では、発汗量変化と前頭葉の血流変化には明かな相関性を認めていたが、今年度症例を増やして解析したところ、相関性は全く認められなかった。この原因として、脳血流検査のデータの質が脳血流を擬似的に絶対値で評価できる撮像方法がとられていなかったこと、撮像の際の頭部の軸の設定が一定していないため、各ピクセルの位置がずれていることなどが原因となり、データ間のばらつきが大きくなっていることが考えられた。実際、健常者のデータは、昨年度のデータでは数値が0からマイナス13の範囲に収まっていたものが、今年度追加した症例ではマイナス20からマイナス70と大きく変動しており、データの質の検証が不可欠であることが示唆された。

今回の解析では相関性はなかったものの、多汗症患者では12例中9例でストレス負荷時の前頭葉の脳血流が増加するのに対し、健常者では全例で血流が低下していた。健常者の血流低下減少は、Hendersonらの報告[1]と同様の結果であり、多くの多汗症患者でストレス負荷時に発汗量変化が亢進していた点に関しては、多汗症患者に特異的な現象であることが示唆された。

今後、更なる症例の蓄積が望まれる。

E. 結論

ストレス負荷時に健常者では前頭葉の血流低下を認めるのに対し、多汗症患者では増加することより、交感神経系の興奮を介して発汗異常を惹き起こしている可能性が示唆された。

[雑誌]

Henderson, LA, et al, Real-time imaging of cortical areas involved in the generation of increases in skin sympathetic nerve activity when viewing emotionally charged images. *NeuroImage* 62, 30-40, 2012

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表 (2011/4/1～2013/3/31 発表)

1. 論文発表

1. Zen Kobayashi, Miho Akaza, Yoshiyuki Numasawa, Shoichiro Ishihara, Hiroyuki Tomimitsu, Kazuo Nakamichi, Masayuki Saijo, Tomohiro Morio, Norio Shimizu, Nobuo Sanjo, Shuzo Shintani, Hidehiro Mizusawa. Failure of mefloquine therapy in progressive multifocal leukoencephalopathy: report of two Japanese patients without human immunodeficiency virus infection. *Journal of the Neurological Sciences* 324, 190-194, 2013
2. 三條伸夫、水澤英洋. 臨床講座 アルツハイマー病. *Pharma Tribune* 2012; 4: 19-29.
3. Koji Fujita, Masafumi Harada, Makoto Sasaki, Tatsuhiko Yuasa, Kenji Sakai, Tsuyoshi Hamaguchi, Nobuo Sanjo, Yusei Shiga, Katsuya Satoh, Ryuichiro Atarashi, Susumu Shirabe, Ken Nagata, Tetsuya Maeda, Shigeo Murayama, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji, Masahito Yamada, Hidehiro Mizusawa. Multicentre, multiobserver study of diffusion-weighted and fluid-attenuated inversion recovery MRI for the diagnosis of sporadic Creutzfeldt–Jakob disease: a reliability and agreement study. *BMJ open.* , 2012, 2:e000649
4. Takumi Hori, Nobuo Sanjo, Makoto Tomita, Hidehiro Mizusawa. Visual Reproduction on the Wechsler Memory Scale-Revised as a predictor of Alzheimer’s disease in Japanese patients with mild cognitive impairments. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders* 35. 165-176, 2013
5. Maya Higuma, Nobuo Sanjo, Katsuya Satoh, Yusei Shiga, Kenji Sakai, Ichiro Nozaki, Tsuyoshi Hamaguchi, Yosikazu Nakamura, Tetsuyuki Kitamoto, Susumu Shirabe, Shigeo Murayama, Masahito Yamada, Jun Tateishi, Hidehiro Mizusawa. Relationships between Clinicopathological Features and Cerebrospinal Fluid Biomarkers in

- Japanese Patients with Genetic Prion Diseases. PLoS One 8(3): e60003, 2013.
6. Sano K, Satoh K, Atarashi R, Takashima H, Iwasaki Y, Yoshida M, Sanjo N, Murai H, Mizusawa H, Schmitz M, Zerr I, Kim YS, Nishida N. Early Detection of Abnormal Prion Protein in Genetic Human Prion Diseases Now Possible Using Real-Time QUIC Assay. PLoS One 8(1). e54915, 2013
 7. Tsuyoshi Hamaguchi, Kenji Sakai, Moeko Noguchi-Shinohara, Ichiro Nozaki, Ichiro Takumi, Nobuo Sanjo, Atsuko Sadakane, Yosikazu Nakamura, Tetsuyuki Kitamoto, Nobuhito Saito, Hidehiro Mizusawa, Masahito Yamada. Insight into the frequent occurrence of dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease in Japan. J Neurol Neurosurg Psychiatry, in press, 2013.
 8. Kenji Sakai, Tsuyoshi Hamaguchi, Moeko Noguchi-Shinohara, Ichiro Nozaki, Ichiro Takumi, Nobuo Sanjo, Yosikazu Nakamura, Tetsuyuki Kitamoto, Nobuhito Saito, Hidehiro Mizusawa, Masahito Yamada. Graft-related disease progression in dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease: a cross-sectional study. BMJ Open 2013; 3: e003400
- 2.学会発表
1. Nobuo Sanjo, Maya Ohara, Katsuya Satoh, Tsuyoshi Hamaguchi, Yosikazu Nakamura, Tetsuyuki Kitamoto, Masahito Yamada, Hidehiro Mizusawa. Cerebrospinal fluid findings in genetic prion disease in Japan and their association with clinical features. Prion 2012, Amsterdam, Netherland, 2012 May 9-12
 2. Kenji Sakai, Tsuyoshi Hamaguchi, Moeko Noguchi-Shinohara, Ichiro Nozaki, Takeshi Sato, Ichiro Takumi, Nobuo Sanjo, Yoshikazu Nakamura, Tetsuyuki Kitamoto, Nobuhito Saito, Hidehiro Mizusawa, Masahito Yamada. Prion protein propagation in dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease. Prion 2012, Amsterdam, Netherland, 2012 May 9-12
 3. 三條伸夫、テムチナ、堀 匠、水澤英洋 . 全長型 presenilin 1 の小胞体膜上における dual functions . 第 53 回日本神経学会学術集会、東京、2012 年 5 月 24 日
 4. 古木美紗子、三 伸夫、石川欽也、横田隆徳、水澤英洋 . 肥厚性硬膜炎 5 症例の臨床的検討 . 第 53 回日本神経学会学術集会、東京、2012 年 5 月 23 日
 5. 尾崎 心、三條伸夫、石川欽也、池田篤平、服部高明、加藤 剛、横田隆徳、大川 淳、山田正仁、水澤英洋 . 表層シデロシス (superficial siderosis) に対する治療法の検討 . 第 53 回日本神経学会学術集会、東京、2012 年 5 月 23 日

6. 堀 匠、三條伸夫、水澤英洋 . 日本人の軽度認知機能障害患者における視覚性再生検査の特徴 . 第 53 回日本神経学会学術集会、東京、2012 年 5 月 23 日
7. 能勢裕里江、三條伸夫、小林大輔、古木美紗子、阿部圭輔、石橋哲、関口輝彦、大久保卓哉、横田隆徳、大野喜久郎、江石義信、水澤英洋 . Tumefactive MS における病理所見を基にした画像所見上の特徴 . 第 53 回日本神経学会学術集会、東京、2012 年 5 月 24 日
8. 馬嶋貴正、三條伸夫、横田隆徳、水澤英洋 . 若年発症の多発性硬化症 5 例の脳萎縮と神経心理検査の関連 . 第 53 回日本神経学会学術集会、東京、2012 年 5 月 24 日
9. Temuqina, Nobuo Sanjo, Takumi Hori, Paul E. Fraser, Hidehiro Mizusawa. Pattern of Amyloid β Production by Mouse Embryonic Fibroblasts Overexpressing PSEN1 with I143T Mutation. Alzheimer's Association International Conference 2012, Vancouver, Canada, Jul 14-19
10. 三條伸夫、テムチナ、日熊麻耶、Paul Fraser、水澤英洋. An effect of PSEN1 with I143T mutation on amyloid beta production. 第 31 回日本認知症学会総会、筑波、10 月 27 日 (26-28), 2012 年
11. 赤座実穂、沼沢祥行、小林 禪、石原正一郎、富満弘之、新谷周三、三條伸夫、水澤英洋. mefloquine 治療を試みるも無効であった進行性多巣性白質脳症の 1 例. 第 17 回日本神経感染症学会総会学術集会. 京都, 10 月 19 日, 2012 年
12. 三浦富之、大久保卓哉、一條真彦、三條伸夫、横田隆徳、水澤英洋. 健常成人に発症したヒトヘルペスウイルス 7 神経根脊髄炎の 1 例. 第 17 回日本神経感染症学会総会学術集会. 京都, 10 月 19 日, 2012 年
13. 岩澤絵梨, 大久保卓哉, 叶内匡, 富満弘之, 三條伸夫, 横田隆徳, 水澤英洋. uromitexan 膀胱灌流併用 cyclophosphamide 大量静注療法で長期寛解中の多巣性運動ニューロパチーの重症例. 第 30 回 日本神経治療学会総会. 北九州, 11 月 29 日, 2012 年
14. 能勢裕里江、三條伸夫、稲次基希、古木美紗子、阿部圭輔、大久保卓哉、石橋哲、関口輝彦、横田隆徳、大野喜久郎、水澤英洋. Tumefactive demyelinating disease におけるステロイド治療反応性と再発について. 第 54 回日本神経学会学術大会 . 東京, 5 月 29 日, 2013 年
15. 三條伸夫、三苫 博、日熊麻耶、伊藤陽子、堀 匠、水澤英洋. 歩行解析器を用いたアルツハイマー病における歩行障害の解析. 第 54 回日本神経学会学術大会 . 東京, 5 月 31 日, 2013 年
16. 馬嶋貴正、三條伸夫、松田博史、横田隆徳、水澤英洋. 多発性硬化症(MS)患者における認知機能低下と MRI での白質萎縮の相関. 第 54 回日本神経学会学術大会 . 東京, 5 月 30 日, 2013 年
17. 古川迪子、三條伸夫、石橋 哲、大久保卓哉、石川欽也、水澤英洋. ハンチントン病患者における尾状核萎縮の画像的評価. 第 54 回日本神経学会学術大会 . 東京, 6 月 1 日, 2013 年

18. 堀 匠、三條伸夫、水澤英洋. 日本人の軽度認知機能障害患者の転化予測における SPECT での楔前部血流低下の有用性. 第 54 回日本神経学会学術大会 . 東京, 5 月 30 日, 2013 年
19. 浅見裕太郎, 大久保卓哉, 市野瀬慶子, 三條伸夫, 横田隆徳, 水澤英洋. 認知症を合併した筋萎縮性側索硬化症 10 例の臨床的検討. 第 54 回日本神経学会学術大会 . 東京, 5 月 29 日, 2013 年
20. Maya Higuma, Nobuo Sanjo, Hiroshi Mitoma, Yoko Ito, Takumi Hori, Hidehiro Mizusawa. Quantitative analysis of gait disorders in patients with Alzheimer's disease by using a portable gait rhythmograph. Alzheimer's Association International Conference 2013, Boston, USA, Jul 13-18, 2013
21. Takumi Hori, Nobuo Sanjo, Hidehiro Mizusawa. Visual Reproduction on the Wechsler Memory Scale-Revised as a predictor of Alzheimer's disease in Japanese patients with mild cognitive impairments. Alzheimer's Association International Conference 2013, Boston, USA, Jul 13-18, 2013
22. 堀 匠、三條伸夫、松本裕希子、深山説子、水澤英洋. 日本人の軽度認知機能障害患者における視覚性再生検査の特徴. 第 18 回認知神経科学会学術集会. 2013 年 7 月 27・28 日. 東京
23. Nobuo SANJO, Maya HIGUMA, Masaki HIZUME, Yosikazu NAKAMURA, Tetsuyuki KITAMOTO, Masahito YAMADA, Kenji SAKAI, Ichiro NOZAKI, Moeko NOGUCHI-SHINOHARA, Tsuyoshi HAMAGUCHI, Fumio MORIWAKA, Masashi AOKI, Yoshiyuki KUROIWA, Shigeru KOYANO, Masatoyo NISHIZAWA, Akio YOKOSEKI, Masatoshi TAKEDA, Kenji YOSHIYAMA, Takashi INUZUKA, Yuichi HAYASHI, Koji ABE, Hiroyuki MURAI, Shigeo MURAYAMA, Masaki TAKAO, Katsuya SATOH, Masafumi HARADA, Nobuhito SAITO, Ichirou TAKUMI, Hidehiro MIZUSAWA. Human prion diseases in Japan: a prospective surveillance from 1999. XXI World Congress of Neurology. Vienna, Austria, Sep 21-26, 2013
24. 古川迪子, 三條伸夫, 工藤俊介, 中道一生, 西條政幸, 鈴木忠樹, 吉岡光太郎, 石橋賢士, 石原正一郎, 石橋哲, 大久保卓哉, 森尾友宏, 江石義信, 横田隆徳, 水澤英洋. BK ウイルス感染による後根神経節炎が疑われた原発性無ガンマグロブリン血症の 30 歳男性. 第 18 回日本神経感染症学会総会学術集会. 2013 年 10 月 11・12 日, 宮崎
25. 浜口 毅, 坂井健二, 野崎一朗, 篠原もえ子, 太組一朗, 三條伸夫, 中村好一, 北本哲之, 斉藤延人, 水澤英洋, 山田正仁. わが国と海外の硬膜移植後 Creutzfeldt-Jakob 病の比較. 第 18 回日本神経感染症学会総会学術集会. 2013 年 10 月 11・12 日, 宮崎
26. 三條伸夫, 三苫 博, 日熊麻耶, 水澤英洋. アルツハイマー病における歩行

機能と1日運動量の解析. 第32回日本認知症学会学術集会. 2013年11月8日-10日, 松本

27. 馬嶋貴正、堀 匠、伊丹 亮、高橋 真、尾崎 心、大久保卓哉、石橋 哲、宮坂尚幸、三條伸夫、横田隆徳、水澤英洋. 発症1年7ヶ月後の卵巣嚢腫切除にて回復した抗 NMDA 受容体脳炎の39歳女性例. 第31回日本神経治療学会総会. 2013年11月21-23日, 東京
28. 大津信一、大久保卓哉、石橋 哲、三條伸夫、石川欽也、横田隆徳、水澤英洋. 小脳・脳幹萎縮を伴う慢性進行型神経ペーチェット病不全型と考えられる1例. 第25回日本神経免疫学会学術集会. 2013年11月27-29日, 山口
29. 工藤俊介、三條伸夫、古川迪子、吉岡耕太郎、一條真彦、石原正一郎、石橋哲、横田隆徳、北川昌伸、水澤英洋. 後根神経節にCD8陽性Tリンパ球浸潤を伴った原発性無ガンマグロブリン血症の30歳男性. 第25回日本神経免疫学会学術集会. 2013年11月27-29日, 山口
30. 西李依子、石橋哲、三條伸夫、三苦 博、斎藤文仁、李鍾昊、寛慎治、横田隆徳、水澤英洋. 多系統萎縮症が疑われるも低力価抗 GAD 抗体が検出され、免疫グロブリン大量静注療法が有効であった51歳女性例. 第25回日本神経免疫学会学術集会. 2013年11月27-29日, 山口

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

特になし

皮膚・汗腺におけるアクアポリン蛋白発現と制御解析

分担研究者 佐々木 成 東京医科歯科大学大学院腎臓内科学分野 教授
研究協力者 内田 信一 東京医科歯科大学大学院腎臓内科学分野 准教授
井上梨紗子 石心会 埼玉石心会病院皮膚科

研究要旨：アクアポリン(以下 AQP)は水を選択的に通す膜蛋白で、浸透圧勾配により 1 秒間に億を超える水分子が通過するが、これはアクアポリンを持たない脂質 2 重膜の 100 倍程度の水透過能となる。よって AQP は、素早い水の透過を必要とする細胞、上皮、および臓器で活躍している可能性があり、実際腎臓での水の出納調節は集合尿細管における AQP2 が担っており、その異常は腎性尿崩症を引き起こす。過去の報告書において、我々は、(1) ヒト皮膚汗腺における AQP5 の詳細な局在を示し、(2) マウス汗腺において、発汗時と発汗乏時における AQP5 に局在差があることを示し、(3) 極性をもたせることができる MDCK (Madin-Darby canine kidney) cell line を用いて AQP5 を安定発現させ、Ca²⁺刺激で cytoplasm から apical に細胞内移動することを示し、AQP5 は発汗調節薬の標的として有望な候補であることを報告した。本総括ではこれらのデータを補完するデータを示す。また、汗腺に発現する他の AQPs として AQP3 が挙げられるが、汗腺における AQP3 についての詳細な報告はない。汗腺における AQP3 の局在について検討した結果も示す。

(1) マウス paw 汗腺の AQP5 の細胞内局在

A. 研究目的

過去の研究報告書で、マウス paw 汗腺の免疫蛍光染色を用いて AQP5 が発汗刺激により non-apical 領域から apical 領域に一部 trafficking することを示した。乏汗時でも発汗時でもマウス paw 汗腺における AQP5 の局在は、ヒトの汗腺の AQP5 の局在とは異なっているように見えた。そこで AQP5 の細胞内局在について検討した。

B. 研究方法

発汗乏時マウス paw を採取し、パラフィン組織標本を作成。AQP5 と basolateral marker である Na⁺/K⁺ATPase の抗体を用いて二重染色を行い、蛍光顕微鏡で観察した。

C. 研究結果

Basolateral marker である Na⁺/K⁺ATPase (図1 緑)は、マウス汗腺分泌部コイル断面の基底膜側から細胞境界部領域にスリガラス様に、

一部 dot 状にみとめた。Merge 像では、AQP5 とほぼ重なっていた。その辺縁核側/内腔側でわずかに AQP5 単独の領域も存在するように思われた。

D. 考察

ヒトだけでなくマウス汗腺においても、基底膜は鋸歯状に入り組んでおり (Kurosumi K et al. *Arch Histol Jpn.* 31(3):455-75, 1970)、basolateral 膜に局在する分子を免疫染色した場合、一見細胞質が染色されたのかと思われるようなスリガラス様の領域をみとめる。今回我々が得た Na⁺/K⁺ATPase の結果は、basolateral に局在する NKCC1 の免疫染色の報告 (Nejsum LN et al. *Am J Physiol Cell Physiol.* 289(2):C333-40, 2005) における figure と類似していた。

Merge 像を観察すると、AQP5 は apical 膜に主に局在するが、basolateral にも、basolateral よりやや内腔側すなわち細胞質と考えられる領域にも局在していた。核 (図1では類円形に

抜けている領域)が大きく、basolateral膜が鋸歯状に細胞質側に入り組んでいるため、細胞質、特に核より基底膜側の細胞質は乏しいと考えられた。

この結果を踏まえて、過去の研究報告書で報告した、発汗時マウスpaw汗腺のAQP5免疫染色のfigureで、わずかにnon-apical領域にみとめた淡いAQP5染色は、basolateral膜におけるAQP5を反映していると考えた。

(2) ヒトAQP5蛋白の細胞内trafficking (細胞免疫染色法)

A.研究目的

過去の報告書で、ヒトAQP5蛋白を発現させたMDCK cell line安定株において、Calcium ionophore 添加5分後に apical membrane fractionのAQP5蛋白量が2.1倍に増加し、30分後にcontrolと同じレベルになったことを、biotinylation assayを用いて示した。これを細胞免疫染色法でも確認した。

B.研究方法

同細胞を培養し、薬剤を希釈した培養液で置換し(最終濃度10 μ M calcium ionophore A23187)、0分後、5分後、30分後にすみやかに4% パラフォルムアルデヒドで固定、triton X-100処理後、1% BSAでblocking、AQP5抗体とDAPIで免疫染色を行い、蛍光顕微鏡で観察した。

C.研究結果

Apical membraneレベルの断面(図2, 上段)と核レベルの断面(図2, 下段)を示す。5分後、apical membraneレベルにおけるAQP5量が増加し、30分後は0分時の状態に戻った。

D.考察

細胞免疫染色法を用いた検討でも、biotinylation assayで得られた結果と矛盾ない結果、細胞内カルシウム濃度上昇でapical membraneへヒトAQP5がtraffickingすることが示された。

(3) ヒトAQP5蛋白の細胞内trafficking (thapsigargin)

A.研究目的

Calcium ionophoreとは異なる細胞内Ca²⁺濃度上昇作用のある薬剤でも、Calcium ionophoreと同じ結果が得られるかを検証した。

B.研究方法

前述の細胞を培養し、薬剤を希釈した培養液で置換し(最終濃度20 μ M thapsigargin)、5分後、30分後にapical およびbasolateral membrane fractionをbiotinylationにより分画し、AQP5量の変化をWestern blot法で確認した。

C.研究結果

Thapsigargin 添加5分後に apical membrane fractionのAQP5量は増加し、30分後 controlと同じレベルになった。Basolateral membrane fractionのAQP5量は5分後も30分後も変化はなかった。

D.考察

細胞内Ca²⁺濃度上昇により、短時間でヒトAQP5は細胞質からapical membraneにtraffickingすることがthapsigarginを用いても示された。ヒト発汗時にAQP5は細胞質からapical膜へにtraffickingし、その機能を

果たす——水透過性を高めると推測される。

(4) 汗腺におけるAQP3の局在

A. 研究目的

汗腺にAQP3が局在することについては、過去の報告 (Olsson M et al. Allergy. Sep;61(9):1132-7. 2006) の中で記載はあるが、その詳細な報告はない。汗腺におけるAQP3の局在について、ヒトとマウス検体を用い免疫染色で検討した。

B. 研究方法

ヒト皮膚およびマウス足蹠皮膚をホルマリン固定後、パラフィン包埋し、標本作製した。AQP3抗体とNa⁺/K⁺ATPaseで染色、蛍光抗体を2次抗体とし、共焦点顕微鏡を用いて観察した。

C. 研究結果

ヒト皮膚汗腺のAQP3およびNa⁺/K⁺ATPaseの免疫染色の結果を図4に示す。2種の細胞からなるmonolayerである分泌部は実線、2層の細胞からなる汗管は点線で囲った。AQP3は分泌部においても汗管においても、ある種の細胞の細胞膜に発現が見られた (図4, 赤)。Na⁺/K⁺ATPaseについても同様の傾向で (図4, 緑およびmerge)、特に分泌部に比して汗管により強い染色がみられた。

強拡大を図5に示す。汗管ではAQP3は外側細胞に分布しており (図5, 赤)、Na⁺/K⁺ATPaseとmergeさせると、外側細胞の細胞膜でその分布は一致していた (図5, merge)。一方Na⁺/K⁺ATPaseは外側細胞の細胞膜と、内側細胞のbasolateral膜には発現がみられたが、apical膜には発現がみとめられなかった (図5, 緑およびmerge)。分泌部では、細胞が入り組み判別が難しいが、AQP3はlumen側に接する

面積の大きい暗調細胞のbasolateral膜に発現がみとめられると考えた (図5, 赤およびmerge)。

マウス汗腺はヒトとは構造が異なり、分泌部は明調細胞様の1種の細胞から構成される。図4および5で用いた抗体と同じ抗AQP3抗体を用いてマウス足蹠皮膚を免疫染色した結果を図6に示す。マウス汗腺分泌部においてAQP3に対応する染色は細胞内にdotsとしてみとめられた (図6, 赤)。機能的なAQP3蛋白を現わしているのか、非特異的な染色であるのかは検討を要する。

D. 考察

AQP3は水とグリセロールを輸送するアクアグリセロポリンの一種である。皮膚では表皮に豊富に発現しており、AQP3遺伝子欠損マウスでは表皮の水透過性の低下やグリセロール透過性の低下、角層水分量の減少、皮膚弾力性の低下、バリア機能の低下、創傷治癒の遅延がみられる。これまで汗腺のAQP3に関して詳細に検討した報告はない。

図4および5に示したごとく、ヒト汗腺の汗管および分泌部の細胞の細胞膜にクリアなAQP3の染色がみられた。

分泌部の明調細胞が原汗の主に水分を産生する細胞であるのに比して、暗調細胞はPAS陽性の糖蛋白で構成される顆粒を豊富に含み、汗に含まれる微量な物質、すなわち免疫物質、サイトカイン、上皮増殖因子 (EGF)等を産生する細胞であると予想される。AQP3がこれらの物質の産生機構に関わる可能性が推察される。また、原汗が汗管を通る際に水分と電解質の再吸収が行われるが、AQP3がその過程に関わる可能性も推察される。それ以外にも、未解明の事項であるが、汗管において微量な

物質が再吸収ないし分泌される可能性はあり得ると考えられ、AQP3がその一役を担っている可能性もある。

E. 結論

発汗時 AQP5 は、汗腺分泌部において、細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇により細胞質から管腔膜に trafficking (移動)することを通して apical 膜の水透過性を亢進させ、原汗産生に重要な役割を果たしていると考えられる。AQP5 は発汗調節薬の標的として有望な候補と考える。

ヒト汗腺において AQP3 は汗管の外側細胞の細胞膜と分泌部の暗調細胞の basolateral 膜に分布する。マウス汗腺において AQP3 は細胞内に分布している可能性がある。

汗腺における AQP5 および AQP3 の発現や機能に関してさらなる知見が求められる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. A minor role of WNK3 in regulating phosphorylation of renal NKCC2 and NCC co-transporters in vivo. Oi K, Sohara E, Rai T, Misawa M, Chiga M, Alessi DR, Sasaki S, Uchida S. Biol Open. 2012 Feb 15;1(2):120-7.
2. Does a β 2-adrenergic receptor-WNK4-Na-Cl co-transporter signal cascade exist in the in vivo kidney? Uchida S, Chiga M, Sohara E, Rai T, Sasaki S. Nat Med. 2012 Sep;18(9):1324-5; author reply 1325-7.
3. Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt

signaling pathway activates the WNK-OSR1/SPAK-NCC phosphorylation cascade in hyperinsulinemic db/db mice. Nishida H, Sohara E, Nomura N, Chiga M, Alessi DR, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Hypertension. 2012 Oct;60(4):981-90.

4. Phosphorylation of Na-Cl cotransporter by OSR1 and SPAK kinases regulates its ubiquitination. Hossain Khan MZ, Sohara E, Ohta A, Chiga M, Inoue Y, Isobe K, Wakabayashi M, Oi K, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Biochem Biophys Res Commun. 2012 Aug 24;425(2):456-61.
5. Effect of heterozygous deletion of WNK1 on the WNK-OSR1/SPAK-NCC/NKCC1/NKCC2 signal cascade in the kidney and blood vessels. Susa K, Kita S, Iwamoto T, Yang SS, Lin SH, Ohta A, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Alessi DR, Uchida S. Clin Exp Nephrol. 2012 Aug;16(4):530-8
6. Severe hyperparathyroidism in a pre-dialysis chronic kidney disease patient treated with a very low protein diet. Ohta E, Akazawa M, Noda Y, Mandai S, Naito S, Ohta A, Sohara E, Okado T, Rai T, Uchida S, Sasaki S. J Bone Miner Metab. 2012 Mar;30(2):238-42.
7. Aquaporin 2: from its discovery to molecular structure and medical implications. Sasaki S. Mol Aspects Med. 2012 Oct-Dec;33(5-6):535-46.
8. WNK-OSR1/SPAK-NCC signal cascade

- has circadian rhythm dependent on aldosterone. Susa K, Sohara E, Isobe K, Chiga M, Rai T, Sasaki S, Uchida S. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Nov 2;427(4):743-7.
9. Impaired KLHL3-mediated ubiquitination of WNK4 causes human hypertension. Wakabayashi M, Mori T, Isobe K, Sohara E, Susa K, Araki Y, Chiga M, Kikuchi E, Nomura N, Mori Y, Matsuo H, Murata T, Nomura S, Asano T, Kawaguchi H, Nonoyama S, Rai T, Sasaki S, Uchida S. *Cell Rep.* 2013 Mar 28;3(3):858-68.
 10. Immunolocalization and translocation of aquaporin-5 water channel in sweat glands. Inoue R, Sohara E, Rai T, Satoh T, Yokozeki H, Sasaki S, Uchida S. *J Dermatol Sci.* 2013 Apr;70(1):26-33.
 11. Actin directly interacts with different membrane channel proteins and influences channel activities: AQP2 as a model. Sasaki S, Yui N, Noda Y. *Biochim Biophys Acta.* 2013 Jun 14.
 12. Hereditary nephrogenic diabetes insipidus in Japanese patients: analysis of 78 families and report of 22 new mutations in AVPR2 and AQP2. Sasaki S, Chiga M, Kikuchi E, Rai T, Uchida S. *Clin Exp Nephrol.* 2013 Jun;17(3):338-44.
 13. Baseline characteristics and prevalence of cardiovascular disease in newly visiting or referred chronic kidney disease patients to nephrology centers in Japan: a prospective cohort study. Iimori S, Noda Y, Okado T, Naito S, Toda T, Chida Y, Kuwahara M, Ando R, Nishio Y, Maeda Y, Tanaka H, Tamura T, Kimoto S, Kanda E, Inoshita S, Yoshikawa M, Okutsu R, Tajima M, Kusaura T, Kobayashi K, Rai T, Uchida S, Sasaki S. *BMC Nephrol.* 2013 Jul 17;14:152.
 14. KLHL2 interacts with and ubiquitinates WNK kinases. Takahashi D, Mori T, Wakabayashi M, Mori Y, Susa K, Zeniya M, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013 Aug 2;437(3):457-62.
 15. Decrease of WNK4 ubiquitination by disease-causing mutations of KLHL3 through different molecular mechanisms. Mori Y, Wakabayashi M, Mori T, Araki Y, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013 Sep 13;439(1):30-4.
 16. Chemical library screening for WNK signalling inhibitors using fluorescence correlation spectroscopy. Mori T, Kikuchi E, Watanabe Y, Fujii S, Ishigami-Yuasa M, Kagechika H, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. *Biochem J.* 2013 Nov 1;455(3):339-45.
 17. Dietary salt intake regulates WNK3-SPAK-NKCC1 phosphorylation cascade in mouse aorta through angiotensin II. Zeniya M, Sohara E, Kita S, Iwamoto T, Susa K, Mori T, Oi K, Chiga M, Takahashi D, Yang SS, Lin

- SH, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Hypertension. 2013 Nov;62(5):872-8.
18. Development of enzyme-linked immunosorbent assays for urinary thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter measurement. Isobe K, Mori T, Asano T, Kawaguchi H, Nonoyama S, Kumagai N, Kamada F, Morimoto T, Hayashi M, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2013 Nov;305(9):F1374-81.
 19. Treatment with 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin ameliorated symptoms of Bartter syndrome type IV caused by mutated *Bsnd* in mice. Nomura N, Kamiya K, Ikeda K, Yui N, Chiga M, Sohara E, Rai T, Sakaki S, Uchida S. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Nov 22
 20. Regulation of with-no-lysine kinase signaling by Kelch-like proteins. Uchida S, Sohara E, Rai T, Sasaki S. *Biol Cell*. 2013 Dec 8.
2. 学会発表
1. Hereditary Nephrogenic Diabetes Insipidus in Japanese Patients: Analysis of 73 Families Sei Sasaki, Motoko Chiga, Eriko Kikuchi, Shinichi Uchida. (ASN Kidney Week 2012. 11, Poster)
 2. Impaired Trafficking of Polycystin-1 May Be a Key Mechanism of Cyst Formation in the Aquaporin-1 Knockout Mouse Yuichi Inoue, Eisei Sohara, Katsuki Kobayashi, Tatemitsu Rai, Kenichi Ishibashi, Sei Sasaki, Shinichi Uchida. (ASN Kidney Week 2012. 11, Poster)
 3. Impaired KLHL3-Mediated Ubiquitination of WNK4 Activates OSR1 and SPAK Kinases-NaCl Cotransporter (NCC) Signaling and Causes Hypertension Mai Wakabayashi, Takayasu Mori, Kiyoshi Isobe, Eisei Sohara, Koichiro Susa, Yuya Araki, Motoko Chiga, Eriko Kikuchi, Naohiro Nomura, Yutaro Mori, Tatemitsu Rai, Sei Sasaki, Shinichi Uchida. (ASN Kidney Week 2013. 11, Oral)
 4. Analyses of KLHL3 Mutants That Cause Pseudohypoaldosteronism Type II Yutaro Mori, Mai Wakabayashi, Takayasu Mori, Yuya Araki, Eisei Sohara, Tatemitsu Rai, Sei Sasaki, Shinichi Uchida. (ASN Kidney Week 2013. 11, Oral)
 5. KLHL2 Interacts with and Ubiquitinates WNK Kinases Daiei Takahashi, Takayasu Mori, Mai Wakabayashi, Yutaro Mori, Koichiro Susa, Moko Zeniya, Tatemitsu Rai, Eisei Sohara, Sei Sasaki, Shinichi Uchida. (ASN Kidney Week 2013. 11, Oral)
 6. WNK3 Regulates Blood Pressure through the Regulation of Vascular OSR1/SPAK-NKCC1 Phosphorylation Cascade Moko Zeniya, Eisei Sohara, Katsuyuki Oi, Motoko Chiga, Koichiro Susa, Takayasu Mori, Daiei Takahashi, Tatemitsu Rai, Sei Sasaki, Shinichi

- Uchida. (ASN Kidney Week 2013. 11, Oral)
7. Ser-261 Phosphorylation Is an Endocytotic Signal of Aquaporin-2 Water Channel Naofumi Yui, Shinichi Uchida, Sei Sasaki. (ASN Kidney Week 2013. 11, Poster)
 8. Aberrant Glycosylation and Localization of Polycystin-1 Cause Polycystic Kidney in AQP11-Knockout Mice Yuichi Inoue, Eisei Sohara, Katsuki Kobayashi, Tatemitsu Rai, Kenichi Ishibashi, Shigeo Horie, Xuefeng Su, Jing Zhou, Sei Sasaki, Shinichi Uchida. (ASN Kidney Week 2013. 11, Poster)

H.知的財産権の出願・登録状況

該当なし

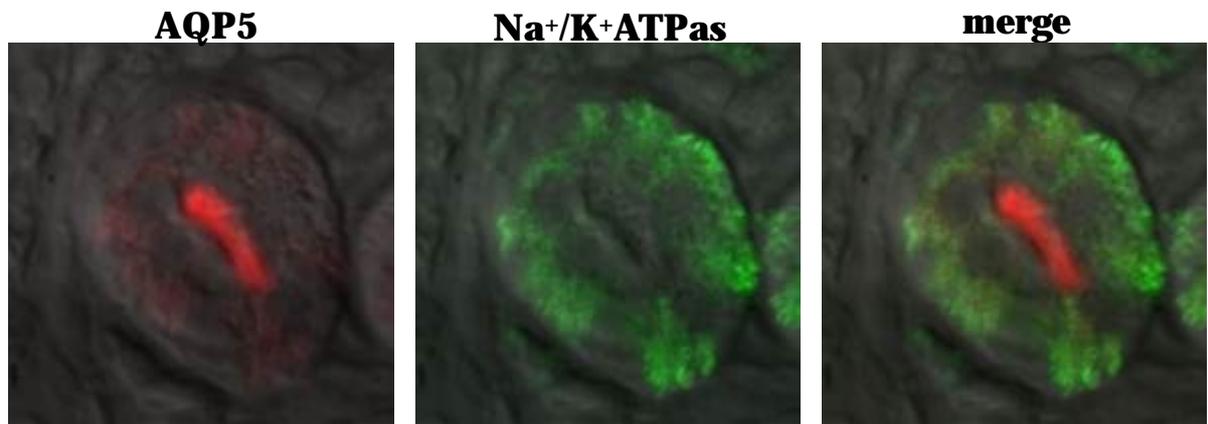


図 1: 発汗乏時マウス paw 汗腺における AQP5 の細胞内局在 AQP5(赤), Na+/K+ATPase(緑)

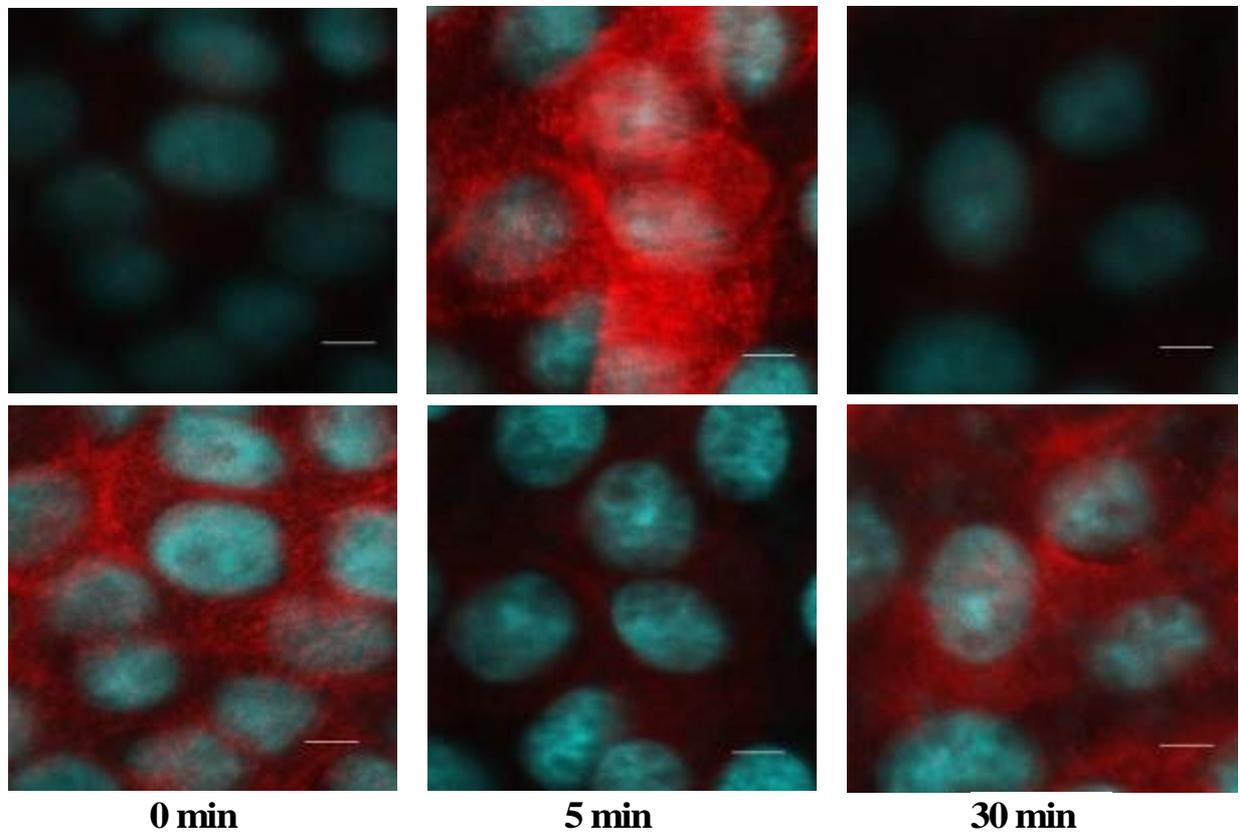


図 2: ヒト AQP5 蛋白の細胞内 trafficking 細胞免疫染色 AQP5(赤), DAPI(青)

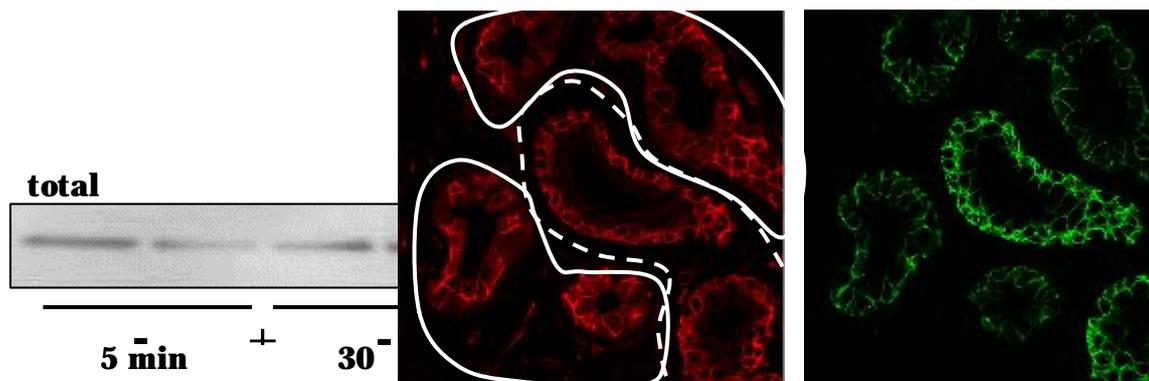


図 1 ラット皮膚肝臓における ①の存在強弱 赤

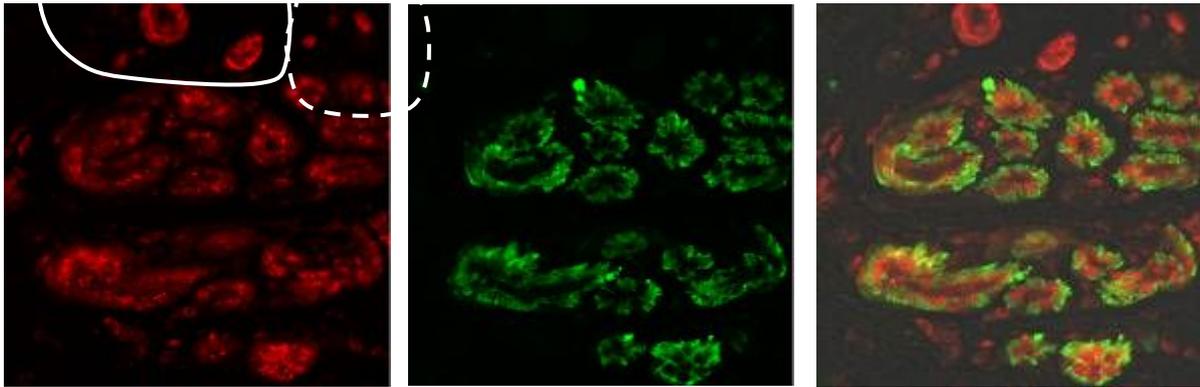


図 6: マウス足蹠皮膚汗腺における AQP3 の細胞内局在 AQP3(赤), Na+/K+ATPase(緑), merge(右)
Merge 画像は DIC も含む

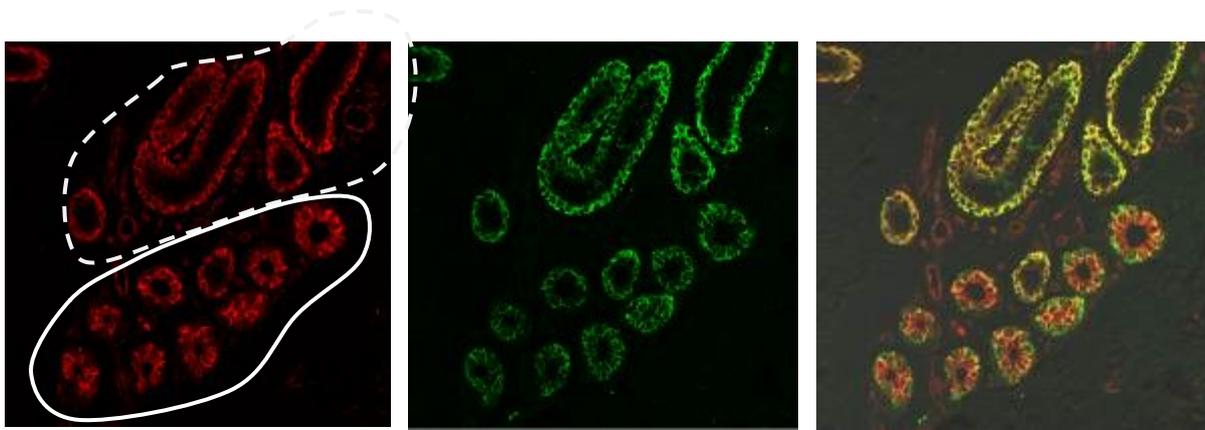


図 4: ヒト皮膚汗腺における AQP3 の局在 AQP5(赤), Na+/K+ATPase(緑), merge(右) Merge 画
像は DIC も含む

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総合分担研究報告書

特発性発汗異常症・色素異常症の病態解析と新規治療薬開発に向けた戦略的研究班

研究分担者 中野 創 弘前大学大学院医学研究科皮膚科学講座 准教授

研究要旨 遺伝性発汗異常症のいくつかの病型について分子遺伝学的解析を行った。原発性局所多汗症は基礎疾患なしに、手、足、腋窩、顔などの局所発汗過剰を認める疾患である。本症の少なくとも一部は遺伝性であると考えられているが、原因遺伝子は未だに同定されていない。今回の研究では、原因遺伝子の同定を目的として、家族性の発症が明らかな家系例を 15 家系収集した。現在、11 家系についてエクソーム解析を行い、原因遺伝子の同定を進めている。また、発汗異常を示す遺伝性疾患である無/低汗性外胚葉形成異常症、先天性無痛無汗症および遺伝性掌蹠角化症を含むその他の遺伝性発汗異常症の遺伝子変異検索を行った。遺伝性発汗異常症の遺伝子変異を分析し、その変異が引き起こすタンパク分子異常が発汗の分子にどのような影響を与えているかを解析することによって、発汗異常のより詳細なメカニズムが明らかになり、将来の根本的治療実現への戦略上、極めて有力な知見が得られると考えられる。

A. 研究目的

原発性局所多汗症（PPH）は基礎疾患がないものの、手、足、腋窩、顔などの局所発汗過剰を認める原因不明の疾患である。症例の 40%前後で家族性の発症が認められ、家系分析からは常染色体優性遺伝性疾患であると考えられている。近年、本邦において複数の家系から得られたゲノム DNA を用いて連鎖解析を行った結果、一部の家系では原因遺伝子座が第 14 番染色体の q11.2-q13 に局在していることが判明したが、原因遺伝子そのものは未だに明らかにされていない。発汗に関与する全てのタンパク分子が、その機能低下あるいは亢進を来すことによって、原因として候補になりえると考えられる。一方、発汗を調整する最も重要な組織であるエクリン汗腺において、アクアポリン 5（AQP-5）が水分子の輸送に必須の役割を担っていることが最近明らかになり、PPH の原因遺伝子として有力な候補になると推測された。そこで昨年度、孤発例と考えられる PPH において、AQP-5 遺伝子変異検索を行ったが、変異は同定されなかった。本研究では、原因遺伝子同定のために PPH 家系を収集し、エクソーム解析を行うとともに、発汗異常を示すいくつかの遺伝性疾患の遺伝子変異検索を行った。

B. 研究方法

PPH 家系例収集においては田中らの原発性局所多汗症診療ガイドラインに従い症例を選択した。遺伝性が明らかな 15 家系のうち、11 家系を選択し、発症者 18 人と健常者 2 人の末梢血白血球由来ゲノム DNA を用いてエクソーム解析を行った。遺伝性発汗異常症である無/低汗性外胚葉形成異常症（A/HED）、先天性無痛無汗症（CIPA）、Dyskeratosis congenita（DC）、Papillon-Lefevre 症候群（PLS）、Richiner-Hanhart 症候群（RHS）および先天性爪甲硬厚症（PC）の家系例については、それぞれ発端者及びその家族から末梢血白血球由来 DNA を採取し、原因遺伝子のタンパク質コード領域とその近傍の塩基配列を決定した。症例の遺伝学的解析にあたって、倫理面ではヘルシンキ宣言、政府および関連学会が制定した遺伝子解析研究に関するガイドライン等を順守した。また、研究実施施設における倫理委員会の承認も得た。

C. 結果

1) PPH の本邦家系例を 17 家系収集した（愛知医科大学皮膚科、弘前大学皮膚科症例）。そのうち 15 家系が家族歴を有し、13 家系は優性遺伝性、2 家系は劣性遺伝性と考えられた。残る 2 家系は孤発性と考えられた。

2) 臨床的に A/HED と診断された本邦 11 家系例について遺伝子診断を行い、8 家系の男子発端者の *EDA* 遺伝子にヘミ接合性の病的変異を同定した。さらに 1 家系において *EDARADD* 遺伝子に、もう 1 家系において *WNT10A* 遺伝子にそれぞれヘテロ接合性の病的変異を検出した。残りの 1 家系では 6 つの原因遺伝子のいずれにも変異が見出されなかった。

3) CIPA の日本人 1 家系およびイラン人 1 家系について、原因遺伝子 *NTRK1* 遺伝子の配列を調べたところ、それぞれの家系で複合ヘテロ接合変異およびホモ接合性変異を同定した。

4) 臨床的に DC が考えられた 2 例について、8 つの病型の原因遺伝子 7 つ全て (*TERC*, *TERT*,

TINF2, NOLA3, NOLA2, WRAP53, DKC1) について塩基配列決定条件を設定し、遺伝子変異検索を行ったが、いずれの症例においても病的変異は同定されなかった。

5) その他の遺伝性発汗異常症のうち、PLS の 2 家系、RHS の 1 家系、および PC の 1 家系において遺伝子診断を行い、原因遺伝子であるそれぞれ *CTSC, TAT* および *KRT16* 遺伝子に病的変異を同定した。

D. 考察

本研究で収集した PPH の 17 家系は、うち 15 家系が遺伝性と考えられ、従来の報告に比較して家族歴を有する家系の割合が高い。これまでの本症の原因遺伝子検索において、唯一遺伝子座が明らかにされた報告によると、本疾患 11 家系中 3 家系にのみ原因遺伝子座が第 14 番染色体 q11.2-q13 に局在されたが、最近の報告によると否定的な意見も出されている。本研究におけるエクソーム解析による原因遺伝子同定が進行中であるが、多因子遺伝や遺伝的異質性の可能性なども考慮して分析を行う必要があると考えられた。A/HED の 11 家系のうち、*EDA* 遺伝子に変異が同定された 8 家系では、明らかな発症者がいずれも男性であり、X 連鎖性遺伝であることが確認され、遺伝子診断が遺伝カウンセリングに役立った。興味深い事に、*EDA* 遺伝子にヘテロ接合性に変異を有した女性 1 例の眉毛が低形成であったことから、注意深く観察すれば、女性のヘテロ接合体に軽微な表現型の出現が確認できる可能性が示唆された。*EDARADD* 遺伝子および *WNT10A* 遺伝子に変異が同定された A/HED は本邦最初の症例であると思われる。免疫異常を伴わない A/HED は、臨床症状が病型間で似かよっているために、原因遺伝子が 6 つのうちのいずれであるかを推定するのは事実上不可能である。したがって、遺伝子診断を行う際は頻度の順に *EDA, EDAR, EDAR2, EDARADD, WNT10A, TRAF6* を順番に検索する必要がある。これまで遺伝子変異が同定された A/HED の臨床症状を詳細に検討し、原因遺伝子特異的な臨床症状を見出す努力が必要と思われる。CIPA は臨床診断が困難な症例が少なくなく、本研究で調べた CIPA の 2 家系のうち 1 家系では、発端者が掌蹠角化症と診断されていたが、*TAT* に病的変異が同定されて初めて CIPA と確定診断がなされた。従って、遺伝子診断の有用性が極めて高いと言える。DC が疑われた 2 例については 7 つの原因遺伝子のいずれにも病的変異が見出されなかったため、臨床診断を再考する必要がある。鑑別診断として Rothmund-Thomson 症候群が挙げられるが、原因遺伝子である *RECQL4* 遺伝子および *C16orf57* 遺伝子の配列を調べたものの、いずれの遺伝子にも病的変異は検出されなかった。タンパクコード領域以外に変異がある可能性や、これまで未知の遺伝子が原因である可能性も考慮されるべきであろう。多汗を生じる遺伝性掌蹠角化症は汗腺機能が一次的に障害されている疾患ではないと理解されているが、多汗を生じるメカニズムが明らかでないために、個々の病型の変異タンパクが発汗のメカニズムにどう関連するのかを知る上でも、症例の収集と遺伝子変異解析を含めた病態解明のためのアプローチを続ける意義が大きい。

E. 結論

PPH は遺伝的に多因子性あるいは不均一な疾患である可能性があり、原因遺伝子を同定するためには、できるだけ多数の家系を収集する必要がある。また、遺伝性発汗異常症はまれにしかみられないものが多く、臨床症状のみで確定診断を得ることが非常に困難である。したがって、診断確定のためには遺伝子診断を積極的に行うとともに、全国規模の症例収集を継続し、遺伝子診断データベースの充実に努める必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Sayyahfar S, Chavoshzadeh Z, Khaledi M, Madadi F, Yeganeh M, Sawamura D, Nakano H, Rezaei N. Congenital insensitivity to pain with anhidrosis mimicking palmoplantar keratoderma. *Pediatr Dermatol*, 2013 Nov; 30 (6): 754-6.
2. Inaba Y, Kanazawa N, Furukawa F, Sakurane Y, Nakano H, Sawamura D, Yoneda K, Hamada T, Hashimoto T. Pachyonychia congenita in Japan: report of familial cases with a recurrent KRT16 mutation and review of the literature *Eur J Dermatol* 2013, in press.
3. Ohashi M, Moriya C, Tanahashi K, Nakano H, Sawamura D, Seishima M. A New EDA Gene Mutation in a Family of X-linked Hypohidrotic Ectodermal Dysplasia. *J Dermatol Sci*, in press.
4. 中野創. 遺伝性角化症のスキルアップ「分類と診断のポイント, 最近の話題」. 皮膚診療スキルアップ 30 ポイント. 三橋善比古編. *MB Derma* 203 巻 増大号 p73-8, 2013.
5. 中野創. 皮膚科セミナーウム 1. 遺伝子診断と皮膚疾患. *日皮会誌* 122 巻 8 号 p2057-63, 2012.

2. 学会・研究会発表

1. 中野創. 皮膚科領域の遺伝子診断. 第 1 回福島皮膚科スプリングセミナー. 2013 年 5 月 17 日, 福島.
2. 中野創. 臨床医のための遺伝子診断. 第 112 回日本皮膚科学会総会学術大会. 2013 年 6 月 14 日, 横浜.
3. 中野創. 遺伝性疾患の検査法. 第 112 回日本皮膚科学会総会学術大会. 2013 年 6 月 15 日, 横浜.
4. 三澤 恵, 牧野 輝彦, 滝吉 典子, 中野創, 澤村 大輔, 清水 忠道. Papillon-Lefèvre 症候群の 1 例. 第 112 回日本皮膚科学会総会学術大会. 2013 年 6 月 15 日, 横浜.
5. 中野創. 遺伝性発汗異常症の遺伝子診断. 第 3 回汗と皮膚の研究会. 2013 年 8 月 10 日, 東京.
6. 滝吉典子, 松崎康司, 赤坂英二郎, 中野創, 澤村大輔. TAT 遺伝子変異を同定した Richner-Hanhart 症候群の一例. 第 75 回日本皮膚科学会東京支部学術大会. 2012 年 2 月 18 日, 東京.

7. 松浦大輔, 落合豊子, 中野創, 澤村大輔, 楡井和重, 森山光彦. 遺伝子検査で最終診断した Papillon-Lefèvre 症候群. 第 75 回日本皮膚科学会東京支部学術大会. 2012 年 2 月 18 日, 東京.
8. Takiyoshi N, Matsuura D, Umekoji A, Furuichi M, Shimizu T, Fukui T, Nakano H, Sawamura D, Ochiai T. Papillon-Lefèvre syndrome; total loss of cathepsin C activity may be required for disease expression. The 42nd Annual European society for Dermatological Research Meeting, Venice, Italy. 19-22 September, 2012.
9. Takiyoshi N, Matsuura D, Umekoji A, Kato A, Furuichi M, Shimizu T, Fukui T, Mitsuhashi Y, Nakano H, Sawamura D, Ochiai T. Papillon-Lefèvre syndrome; five novel mutations of CTSC and functional analyses of a single nucleotide polymorphism. The 37th Annual Japanese society for Dermatological Research Meeting, Naha, Japan. 7-9 December, 2012.

3. 著書

1. 中野創. 紅斑症 29 Symmetrical lividities of the soles of the feet の概念・病態・診断・治療. 紅斑と痒疹 病態・治療の新たな展開. 診る・わかる・治す 皮膚科臨床アセット 18. 横関博雄編. 中山書店. p158-63, 2013.
2. Nakano H, Nakajima K. Papillon-Lefèvre syndrome. In: The color atlas of disorders of keratinization, 2nd ed. (ed. By Ogawa H et al.), p113-4, Kyowa Kikaku, LTD, Tokyo, 2012.
3. Nakano H, Umegaki N, Tamai K. Vörner type palmoplantar keratoderma. In: The Color Atlas of Disorders of Keratinization, 2nd ed. (ed. By Ogawa H et al.), p108-9, Kyowa Kikaku, LTD, Tokyo, 2012.

G. 知的財産の出願・登録状況

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）

総合分担研究報告書

平成 24-25 年度肥厚性皮膚骨膜炎活動状況報告

研究分担者 新聞寛徳 国立成育医療研究センター皮膚科 医長

研究要旨 肥厚性皮膚骨膜炎は合併症が多岐にわたる中、患者の 3 割以上に多汗症が合併することが知られている。病因としては我々が発見した原因遺伝子 *SLCO2A1* を含め 2 つの原因遺伝子に関連したプロスタグランジン分解不全が生じることが知られている。今年度の活動の骨子は、1) 全国調査(1 次)、2) 遺伝子診断、生化学検査実施、3) 診断基準策定である。1) 平成 22 年度、24 年度につづき、第 3 回の全国調査(1 次)を計画した。第 1 回は皮膚科、整形外科、形成外科あて、第 2 回に内科あてであったので、今回は小児科あて、全国 79 大学医学教育機関(大学)を含む小児科専門医研修施設のすべて(519 施設)に調査依頼を送付した。前年度の調査では患者ありの返答は全くなかったため、本年度は来院時期を限定しないなどの対策を講じた。2) 平成 25 年度の遺伝子診断、生化学検査実施例 7 例中 5 例に遺伝子変異が見つかった。*c.940+1G>A* 変異がこれまで診断できた症例の約半数に陽性である。*SLCO2A1*、*HPGD* に変異が見つからなかった症例はエクソーム法にて新規原因遺伝子検索を予定している。3) 診断基準は、Touraine が提唱した 3 主徴により容易であるが、2 次性との鑑別を要するために、主に 2 次性(続発性)で本症の症状を呈する疾患を挙げ、本邦の実情に合わせた診断基準を策定した。

共同研究者

関 敦仁(国立成育医療研究センター整形外科)

椛島健治(京都大学医学部皮膚科)

大塚篤司(京都大学医学部皮膚科)

種瀬啓士、天谷雅行(慶應義塾大学医学部皮膚科)

石河 晃(東邦大学医学部皮膚科学)

桑原理充(奈良県立医科大学附属病院形成外科センター)

松田麻衣子(国立成育医療研究センター皮膚科)

中林一彦(国立成育医療研究センター周産期病態部)

塩濱愛子(慶應義塾大学医学部皮膚科)

佐々木貴史(慶應義塾大学医学部総合医科学研究センター)

工藤 純(慶應義塾大学医学部遺伝子医学研究室)

奥山虎之(国立成育医療研究センター臨床検査部)

A. 研究目的

Pachydermoperiostosis(肥厚性皮膚骨膜炎; PDP)は、1935年に Touraine が提唱した疾患分類が現在に至っても用いられているが、この分類は経過、予後、遺伝形式を反映するものではないため、新しい臨床分類の確立が望まれている。

我々が発見した原因遺伝子 *SLCO2A1* を含め 2 つの原因遺伝子の発見により、病因に関してプロスタグランジン(PG)過剰症であることが知られている。しかし、いまだ完全型、不全型と遺伝子型との関係、多様な合併症との関係(Genotype-Phenotype correlation)は明らかではない。そこで Genotype-Phenotype correlation を明らかにするため、1) 紹介患者に対して、臨床症状(合併症)の調査、遺伝

子型の収集、2) 全国(1次)調査、3) 診断基準の確立を実施し、診療体制を整備した。

B. 研究方法

1) 遺伝子診断、生化学検査

2年間で12名の新患者をご紹介いただいた(疑い例を含む)。患者は男性11名、女性1名(最高年齢67歳、最低15歳)であった。遺伝子診断への協力については文章を用いた説明により同意をいただいた。

血液2mLよりDNAを抽出した(QIAamp DNA Blood Midi Kit, QIAGEN)。表1、図1のごとく各エクソンごとにプライマーを設定し、PCR法にて増幅後、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Life Technologies)を用いてラベルし、ABI3130xl Genetic Analyzerにて塩基配列を決定した。生化学検査は、遮光、氷冷にて-80℃冷凍庫に一旦保存した。ELISA法によるプロスタグランジン(PG)E2濃度測定は、市販キット(Cayman, Cayman Biochemical, Ann Arbor, MI, USA)を用いた。血清では、25-200 pg/ml、尿中レベルでは、クレアチニン値補正後50 ng/mmol creatinine未滿を基準値に用いた。

2) 全国(1次)調査

本調査は、「難病の患者数と臨床疫学像把握のための全国疫学調査マニュアル」に準拠して実施された。H24年度は内科宛、H25年度は小児科診療責任者あての案内を準備した。送付する医療機関は、疾患の特殊性を鑑み、病床規模が大きな病院に集まると仮定し、1) 全国79大学医学教育機関および全国臨床研修病院一覧(<http://guide.pmet.jp/web2011/index.html>)より、臨床研修病院一覧よりひとつおき(奇数列)の415病院(合計494施設)に、2)

公益社団法人日本小児科学会HP(<http://www.jpeds.or.jp/modules/shisetsu/>)内、「小児科専門医」ページより、「小児科専門医研修施設検索」に該当した全国519施設すべて(全国79大学医学教育機関含む)に調査依頼を郵送した。

(倫理面への配慮)

受付番号374肥厚性皮膚骨膜炎における原因遺伝子変異の検索

C. 研究結果

1) 紹介患者および遺伝子診断、生化学検査

12名についてHPGD、SLCO2A1遺伝子診断を行った。9例から既知の変異が見いだされた。明らかなSLCO2A1、HPGD遺伝子変異が見いだされない症例が3例あった。血清、尿中PGE2値は変異が見られない3例をふくみ、全例で上昇していた(ただし、女性例を除く)。本症では珍しい女性例から新規変異を見出した(Niizeki H, et al. Br J Dermatol, オンライン掲載2013年12月)。女性例は、症状が軽症で、晩発性であるといった特徴がある。

2) 全国(1次)調査

[H24]全返信数は188通、大学のみ合計は38であった。返信率はそれぞれ、38.1%、48.1%である。患者有の回答は平成22年、23年とも0であった。

[H25]小児科専門医研修指定病院519施設にアンケートを送付することになった。2014年1月7日発送であったため、報告書には結果が間にあわなかった。

3) 診断基準(参考資料1)

従来、Touraineの3主徴を基に診断を行っているが、厳密には除外診断をする必要がある。今回は具体的な病名を列挙することによ

り、診断基準を確立した。除外診断は骨系統疾患および2次性肥大性骨関節症(の基礎疾患)である。

D. 考察

収集した12例中9例にSLCO2A1遺伝子変異を見出した。そのうち3つの新規遺伝子変異が見つかった(一部は投稿準備中)。

- ・ c.1279G>A/p.E427K,
- ・ c.1807C>T/p.R603*,
- ・ c.421G>T/p.E141*

また、4例の遺伝子型も過去と同じであった。

・ c.940+1G>A/p.R288Gfs*7 homozygote(2例)

- ・ c.940+1G>A/p.R288Gfs*7,
- c.1279_1290del12/p.E427_P430del(2例)

2例とも10代では不全型であり、20歳前後で皮膚肥厚が進行し完全型に移行するという共通点があった。

このようにして遺伝子型と臨床像の記録を蓄積することにより本症の本態が少しずつ明らかになりつつある。

E. 結論

Pachydermoperiositosis患者(疑い例を含む)12例中9例よりSLCO2A1遺伝子変異を見出した。女性例を除き血中PGE2は高値であった。第2、第3回全国調査(1次)を行った。診断基準を策定した。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Niizeki H, Shiohama A, Sasaki T, Seki A, Kabashima K, Otsuka A, Takeshita M, Hirakiyama A, Okuyama T, Tanese K, Ishiko A, Amagai M, Kudoh J: The novel SLCO2A1 heterozygous missense mutation p.E427K and nonsense mutation p.R603* in a female patient with pachydermoperiostosis with an atypical phenotype. Br J Dermatol. 2013 Dec 16. doi: 10.1111/bjd.12790. [Epub ahead of print]
 2. Nakahigashi K, Otsuka A, Doi H, Tanaka S, Okajima Y, Niizeki H, Hirakiyama A, Miyachi Y, Kabashima K. Prostaglandin E2 increase in pachydermoperiostosis without 15-hydroprostaglandin dehydrogenase mutations. Acta Derm Venereol. 2013; 93(1):118-9.
 3. Sasaki T, Niizeki H, Shimizu A, Shiohama A, Hirakiyama A, Okuyama T, Seki A, Kabashima K, Otsuka A, Ishiko A, Tanese K, Miyakawa SI, Sakabe JI, Kuwahara M, Amagai M, Okano H, Suematsu M, Kudoh J. Identification of mutations in the prostaglandin transporter gene SLCO2A1 and its phenotype-genotype correlation in Japanese patients with pachydermoperiostosis. J Dermatol Sci. 2012; 68 (1), 2012.10
- #### 2. 学会発表
1. 新関寛徳、塩濱愛子、佐々木貴史、関 敦仁、椋島健治、大塚篤司、石河晃、野崎誠、天谷雅行、工藤純 : SLCO2A1 遺伝

- 子変異を同定し得た肥厚性皮膚骨膜症の 8 例、第 112 回日本皮膚科学会総会、横浜、2013.06.15
2. Kudoh J, Sasaki T, Shimizu A, Shiohama A, Hirakiyama A, Okuyama T, Seki A, Kabashima K, Otsuka A, Ishiko A, Tanese K, Miyakawa S, Sakabe J, Kuwahara M, Amagai M, Okano H, Suematsu M, Niizeki H: Identification of mutations in the prostaglandin transporter gene *SLCO2A1* in Japanese patients with pachydermoperiostosis. American Society of Human Genetics 2012 Annual Meeting, San Francisco, USA, November 6-10, 2012
3. 新関寛徳、関 敦仁、石河 晃、桑原 理充、大塚 篤司、椛島 健治、十字 琢夫、野崎 誠、奥山虎之：肥厚性皮膚骨膜症の全国疫学調査、第 57 回日本人類遺伝学会総会、東京、2012.10.24-27
4. 佐々木貴史、新関寛徳、清水厚志、塩濱 愛子、開山麻美、奥山虎之、関 敦仁、椛島健治、大塚篤司、石河晃、宮川 俊一、天谷雅行、岡野栄之、末松誠、工藤純：次世代シーケンサーを用いたエキソーム解析による肥厚性皮膚骨膜症原因遺伝子 *SLCO2A1* の同定、第 57 回日本人類遺伝学会総会、東京、2012.10.24-27
- (予定を含む。) 該当なし。
1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他
平成 26 年 1 月 23 日現在、全国調査返信は 519 件中、342 件であり、患者ありと返答した施設は 2 件であった。

H . 知的財産権の出願・登録状況

参考資料 1

診断基準 2013 (案)

以下の 4 症状により確定診断を行う。

太鼓ばち状指 (ばち指)

長管骨を主とする骨膜性骨肥厚

皮膚肥厚性変化

頭部脳回転状皮膚

- - のすべてがみられる症例を「**完全型**」と診断する。
- - がみられるが、頭部脳回転状皮膚を欠く症例のうち除外診断「2 次性肥大性骨関節症」を除外できた症例を「**不全型**」と診断する。
- 上記のうち、2 つがみられる症例のうち、除外診断 - を除外できた症例を「**疑い例**」と診断する。このうち - のみがみられる症例を「**初期型**」と称する場合もある。女性例では - のみがみられることがある。このような場合は *HPGD* と *SLCO2A1* 遺伝子変異の検索が診断に有用であるが、症状がそろうまで「不全型」「完全型」とは呼ばない。

診断に際しての諸注意

- 「**完全型**」の 4 症状の特異度は高く、確定診断にいたる。「**不全型**」「**疑い例**」では除外診断「2 次性肥大性骨関節症」を除外するために基礎疾患の有無を検討する必要がある。
- 「**不全型**」「**疑い例**」は年余にわたり進行し、「**完全型**」に移行することがある。遺伝子診断が有用であるが、症状がそろうまで「**完全型**」とは呼ばない。
- 多彩な合併症は診断の参考になるが確定診

断に用いてはならない。

除外診断

2 次性肥大性骨関節症 (secondary hypertrophic osteoarthropathy) : 図 1

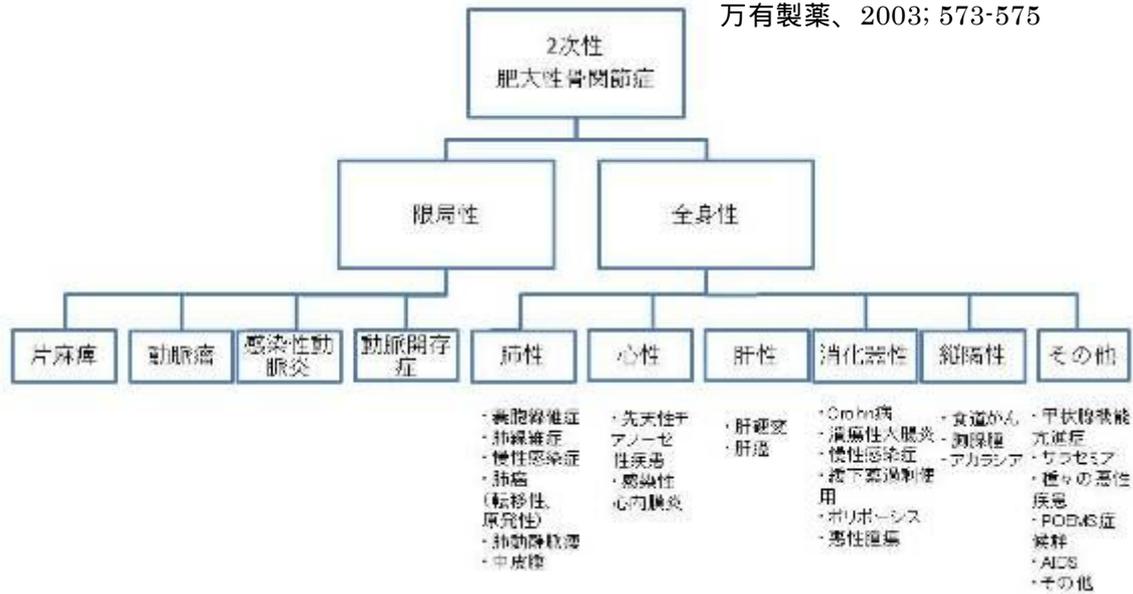
成長ホルモン過剰症および先端肥大症
骨系統疾患

- 1 高アルカリフォスファターゼ血症

- 2 骨幹異形成症
(Camurati-Engelmann 病)

図1 2次性肥大型骨関節症の分類(文献3より一部を改変)

リカ関節炎財団(編)、日本リウマチ学会(訳)リウマチ入門、第12版(日本語版)、万有製薬、2003; 573-575



診断の参考になる合併症(括弧内は2011年全国調査結果より)

<皮膚症状> 脂漏・油性光沢(69%)、ざ瘡(65.5%)、多汗症(34.5%)、脂漏性湿疹(16.7%)

<関節症状> 関節痛(51.7%) [運動時関節痛(30.3%)、安静時関節痛(9.1%)]、関節腫脹(42.4%)、関節水腫(24.2%)、関節の熱感(9.1%)、骨折歴(6.3%)

<その他> 貧血(18.2%)、発熱(15.6%)、胃・十二指腸潰瘍(9.4%)、低カリウム血症(9.1%)、自律神経症状(9.1%)、易疲労性(6.1%)、思考力減退(3%)

参考文献

1. 小崎里華：皮膚骨膜肥厚症、骨系統疾患マニュアル、南江堂
2. Sasaki T, Niizeki H, et al: Identification of mutations in the prostaglandin transporter gene SLCO2A1 and its phenotype-genotype correlation in Japanese patients with pachydermoperiostosis. J Dermatol Sci 68 (1): 36-44, 2012
3. Martinez-Lavin M: 肥大型骨関節症 . アメ

特発性発汗異常症・色素異常症の病態解析と新規治療薬開発に向けた戦略的研究班

研究分担者 室田浩之 大阪大学大学院医学系研究科皮膚科 講師

研究協力者 松井佐紀 大阪大学大学院医学系研究科皮膚科 大学院生

小野慧美 大阪大学大学院医学系研究科皮膚科 大学院生

研究要旨 特発性発汗異常症は発症、誘発機序不明の疾患である。汗分泌の異常が患者の個人的また社会的な QOL を著しく低下させ、さらに我々の検討から労働生産性を著しく障害することで医療経済学的にも大きなインパクトを与えることが明らかになった。日常診療において、掌蹠の発汗は精神的な緊張状態で誘発されることが多い。温熱性および精神性発汗のいずれもコリン作動性の交感神経が優位に作用することとされているが、具体的な制御機構は不明の点が多い。

今回私たちはアトピー性皮膚炎が乏汗になっているメカニズムに着目し、アセチルコリン性発汗を抑制する因子を探索することで新しい多汗症治療戦略が確立できるのではないかと考え、化学伝達物質が発汗に与える影響について検討を行った。さらに定量的軸索反射性発汗試験の結果と臨床パラメーターを比較することで、発汗異常に関わる背景を探る。

A. 研究目的

特発性後天性全身性無汗症の病態は未だ明らかではない。発汗を抑制する因子の検索がそのメカニズムの解明に有用な手がかりを寄与すると期待される。汗は皮膚の自然免疫や保湿、体温調節などに貢献するが、アトピー性皮膚炎では発汗異常あるいは汗そのものが症状の増悪因子とされる。“汗で増悪する”様式をより具体的に調査するために私たちが行ったアンケート結果から、「発汗がアトピーの増悪因子」という意見の中には「室温があがると痒い」「汗が出ない」などという意見も含まれていた。つまり、汗を「増悪因子」と考える背景は多様である事が伺える。上述したように発汗は皮膚の恒常性

維持に必要な生理現象であり、その機能がアトピー性皮膚炎でなんらかの形で損なわれている可能性も考えられる。私たちはアトピー性皮膚炎での発汗異常のメカニズムが解明されれば、発汗異常に対する治療介入も明らかにできると期待し、本研究を行った。

B. 研究方法

これまでに私達はアトピー性皮膚炎で乏汗が生じている事をアンケートによる実態調査とアセチルコリンによる定量的軸索反射性発汗試験を用いて証明してきた(図1)。このことはアレルギー炎症に関わるなんらかの因子が発汗能を抑制している可能性を想像させる。アレルギー炎症

の病態形成に關与する化学伝達物質や神経ペプチドがアセチルコリン誘発性発汗に与える影響を検討するために、マウスを用いたミノール法と角質水分量による汗の定量化、光コヒーレントトモグラフィーによる汗のイメージング、二光子顕微鏡を用いた汗腺の生体内動態観察を用いてヒスタミンの発汗に対する影響を検討した。

C. 研究結果

当院通院中のアトピー性皮膚炎患者66名に対し、汗への意識および対策の調査を目的としたアンケートを行った。その結果、83.9%が汗を増悪因子と考えていた。一方、発汗の程度を伺ったところ、30.8%が「普通」に発汗、32.3%は「汗をかきやすい」、12.3%が「部分的に汗をかく」、6.15%は「汗をかきにくい」と発汗の自覚は様々であった。意外なことに発汗した場所の皮膚症状が増悪すると答えた方は約半数にとどまっていた。

次に私たちはアトピー性皮膚炎における発汗機能をアセチルコリンによる定量的軸索反射発汗試験によって評価した。この試験ではアセチルコリンをイオントフォレーシスによって皮膚に浸透させ、軸索反射性に誘発された発汗量(軸索反射性発汗量)と発汗までに要した時間が測定できる。この結果、アトピー性皮膚炎の皮疹部/無疹部ともに軸索反射性発汗量が健常人に比し有意に減少し、特に掻破性湿疹、苔癬型皮疹、痒疹を有する症例でその低下が顕著であることが明らかとなった(図1)。さらにアトピー性皮膚炎ではアセチルコリンに反応して発汗するまでの時間が有意に延長していることが分か

った。さらに得られた発汗機能検査結果を様々な臨床上の検査値と照らし合わせたところ、患者の特性不安が強いほどアセチルコリンへの反応が遅れることが判明した。

次にアトピー性皮膚炎でみられる乏汗はケミカルメディエーターの影響を受けるかを動物実験で検討した(図2)。C57BL6マウスの足底皮内にアセチルコリンを投与するとミノール法、角層水分量測定で発汗の有意な上昇が確認され、光コヒーレントトモグラフィーによる汗のイメージングでも実際に発汗の生じていることが確認された。

アセチルコリン、サブスタンス P、ヒスタミンを同時あるいは別々に足底に皮下注射したのち2分後に発汗を半定量化した。サブスタンス P とヒスタミンはアセチルコリン誘導性の発汗を有意に抑制した。これらの抑制効果はサブスタンス P 阻害剤、あるいは H1 受容体拮抗薬によって抑制された。ただしサブスタンス P 阻害剤の効果はマウスの系統によって異なり、C57BL6では抑制されるが BALB/c では抑制されない。一方、H1 受容体拮抗薬はいずれの系統でも抑制作用を示した。この結果よりヒスタミンによる発汗抑制作用に特に注目して検討を続けた。H2、H4 受容体拮抗薬はアセチルコリン性の発汗そのものを抑制する作用が確認された。アセチルコリンとヒスタミンを同時に皮内に投与すると発汗は抑制される。光コヒーレントトモグラフィーでは汗管内の汗も確認されなくなることからヒスタミンは汗腺腺体を取りまく微小環境に影響し、発汗を抑制するものと考えられた。そこで汗腺の動態を二光子顕微鏡によって観察した(図3)。アセチルコリン投与後、汗腺は腺房

細胞に汗の溜まったと、縮みながら汗を分泌する動態が観察された(図4)。ここにヒスタミンを投与すると、汗腺腺房細胞は膨らむが、膨らんだままで汗が腺房細胞から分泌されないという現象が確認された。汗腺腺房細胞でヒスタミンとアセチルコリンのシグナル伝達経路間のクロストークが生じている可能性を考え、アセチルコリンおよびヒスタミン投与前後における皮膚の蛋白抽出サンプルを用いたキナーゼアレイを行った。その結果、アセチルコリンによるGSK3betaのリン酸化がヒスタミンによって阻害されることが判明した(図5)。つまり、ヒスタミンは汗腺腺房細胞でのグリコーゲン合成系に影響を与える結果、腺房細胞からの汗分泌を抑制している。このヒスタミンによる阻害作用はH1受容体を介していることが判明した。

D. 考察

軸索反射性発汗試験の結果から発汗の機会でアトピー性皮膚炎では皮膚表面に一様ではなく、まばらに発汗していると想像できる(図6)。次に得られた発汗機能検査結果を様々な臨床上の検査値と照らし合わせたところ、患者の特性不安が強いほどアセチルコリンへの反応が遅れることが判明した。以上の結果より、心理面の影響も受けたアセチルコリン低応答性が発汗量を減少させ、皮膚の乾燥を導くのではないかと推察される。

次に、なぜアトピー性皮膚炎で発汗機能が低下しているのかに疑問が残る。しかしアトピー性皮膚炎で発汗機能が低下しているのかに疑問が残る。これまでアトピー性皮膚炎で見られる発汗異常はステロイド外用剤をはじめとする適切な治療によって改善するとの報告があり、アレルギー炎症が発汗機能低下の引き金になる可能

性が推察されている。今回、私たちはヒスタミンが発汗を抑制する作用をその分子メカニズムの検討を含め網羅的に解析を行った。

ヒスタミンはH1受容体を介して汗腺細胞に直接作用することで発汗を抑制していると考えられた。

E. 結論

この結果より、今後、特発性全身性無汗症の病態へのヒスタミンの関与を検討するとともに、H1受容体拮抗治療の有用性を検証していく予定である。



図1：アトピー性皮膚炎では軸索反射性発汗量減少している。*P<0.05, unpaired t-test. AD:atopic dermatitis. 特に発汗していない群では肘窩に皮疹を高率に認めた。

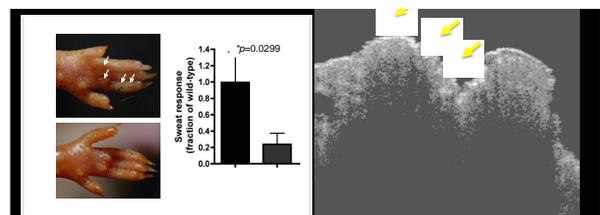


図2：マウスを用いたミノール法による発汗定量(左)。光コヒーレントトモグラフィーを用いた発汗動態のイメージング。

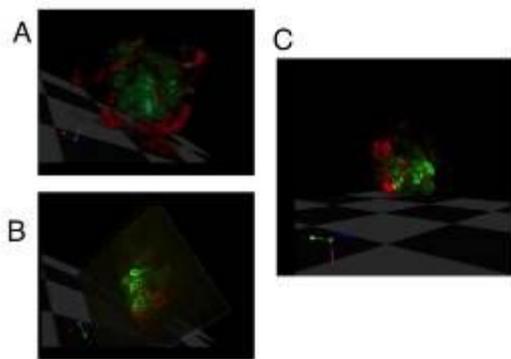


図3：二光子顕微鏡を用いた汗腺の3次元構造
A,B,C はおのおの異なる方向から観察した結果を示す。赤：血管。緑：汗腺。

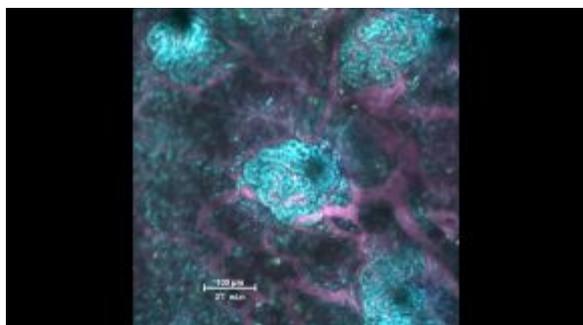


図4：アセチルコリン投与後の汗腺の動態。赤：血管、緑：汗腺。汗腺中の黒い影は pH 変化による蛍光の失活と考えており、汗と想像している。

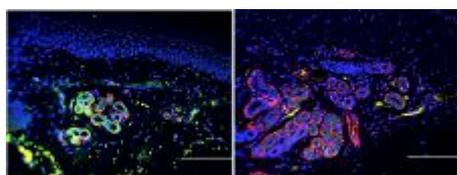


図5：アセチルコリン投与およびアセチルコリン + ヒスタミン投与後の皮膚をリン酸化 GSK3beta で免疫染色した。左はアセチルコリン投与、右がアセチルコリン + ヒスタミン投与。緑：リン酸化 GSK3beta、赤：SMA、青：ヘキスト。

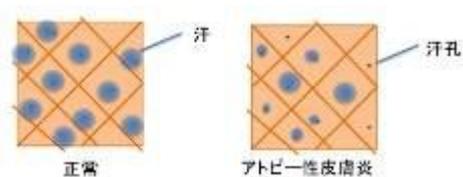


図6：皮膚表面の発汗イメージ図。アトピー性皮膚炎ではまばらに発汗すると想像された。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

1.論文発表

1. Murota H, Itoi S, Terao M, Matsui S, Kawai H, Satou Y, Suda K, Katayama I. Topical cholesterol treatment ameliorates hapten-evoked cutaneous hypersensitivity by sustaining expression of 11 β -HSD1 in epidermis. *Exp Dermatol*. 2013 Nov 13. doi: 10.1111/exd.12284
2. Takahashi A, Murota H, Matsui S, Kijima A, Kitaba S, Lee JB, Katayama I. Decreased Sudomotor Function is Involved in the Formation of Atopic Eczema in the Cubital Fossa. *Allergol Int*. 2013 Sep 25.
3. Itoi S, Terao M, Murota H, Katayama I. 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase 1 contributes to the pro-inflammatory response of keratinocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Oct 18;440(2):265-70.
4. Inoue T, Yamaoka T, Murota H, Yokomi A, Tanemura A, Igawa K, Tani M, Katayama I. Effective Oral Psoralen Plus Ultraviolet A Therapy for Digital Ulcers with Revascularization in Systemic Sclerosis. *Acta Derm Venereol*. 2013 Aug 8. doi:10.2340/00015555-1678.

5. Matsui S, Murota H, Takahashi A, Yang L, Lee JB, Omiya K, Ohmi M, Kikuta J, Ishii M, Katayama I. Dynamic Analysis of Histamine-Mediated Attenuation of Acetylcholine-Induced Sweating via GSK3 β Activation. *J Invest Dermatol*. 2013 Jul 30. doi: 10.1038/jid.2013.323.
6. Murota H, El-Latif MA, Tamura T, Katayama I. Olopatadine Hydrochloride Decreases Tissue Interleukin-31 Levels in an Atopic Dermatitis Mouse Model. *Acta Derm Venereol*. 2013 Jul 1. doi: 10.2340/00015555-1648.
7. Nakajima K, Terao M, Takaishi M, Kataoka S, Goto-Inoue N, Setou M, Horie K, Sakamoto F, Ito M, Azukizawa H, Kitaba S, Murota H, Itami S, Katayama I, Takeda J, Sano S. Barrier abnormality due to ceramide deficiency leads to psoriasiform inflammation in a mouse model. *J Invest Dermatol*. 2013 Nov;133(11):2555-65.
8. Hanafusa T, Matsui S, Murota H, Tani M, Igawa K, Katayama I. Increased frequency of skin-infiltrating FoxP3+ regulatory T cells as a diagnostic indicator of severe atopic dermatitis from cutaneous T cell lymphoma. *Clin Exp Immunol*. 2013 Jun;172(3):507-12.
9. Tanaka R, Fukushima S, Sasaki K, Tanaka Y, Murota H, Matsumoto T, Araki T, Yasui T. In vivo visualization of dermal collagen fiber in skin burn by collagen-sensitive second-harmonic-generation microscopy. *J Biomed Opt*. 2013 Jun;18(6):61231.
10. Yasui T, Yonetsu M, Tanaka R, Tanaka Y, Fukushima S, Yamashita T, Ogura Y, Hirao T, Murota H, Araki T. In vivo observation of age-related structural changes of dermal collagen in human facial skin using collagen-sensitive second harmonic generation microscope equipped with 1250-nm mode-locked Cr:Forsterite laser. *J Biomed Opt*. 2013 Mar;18(3):031108.
11. Terao M, Itoi S, Murota H, Katayama I. Expression profiles of cortisol-inactivating enzyme, 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-2, in human epidermal tumors and its role in keratinocyte proliferation. *Exp Dermatol*. 2013 Feb;22(2):98-101. doi: 10.1111/exd.
12. Murota H, Katayama I. Reply: To PMID 22770266. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Mar;131(3):928-9.
13. Yasui T, Yonetsu M, Tanaka R, Tanaka Y, Fukushima S, Yamashita T, Ogura Y, Hirao T, Murota H, Araki T. In vivo observation of age-related structural changes of dermal collagen in human facial skin using collagen-sensitive second harmonic generation microscope equipped with 1250-nm mode-locked Cr:Forsterite laser. *J Biomed Opt*. 2013 Mar;18(3):31108.
14. Yang L, Serada S, Fujimoto M, Terao M, Kotobuki Y, Kitaba S, Matsui S, Kudo A, Naka T, Murota H, Katayama I. Periostin facilitates skin sclerosis via PI3K/Akt dependent mechanism in a mouse model of scleroderma. *PLoS One*. 2012;7(7):e41994.
15. Schmitt J, Spuls P, Boers M, et al (35名中27番目). Towards global consensus on outcome measures for atopic eczema

- research: results of the HOME II meeting. *Allergy*. 2012 Sep;67(9):1111-7.
16. Kijima A, Murota H, Matsui S, Takahashi A, Kimura A, Kitaba S, Lee JB, Katayama I. Abnormal axon reflex-mediated sweating correlates with high state of anxiety in atopic dermatitis. *Allergol Int*. 2012 Sep;61(3):469-73.
 17. Murota H, Izumi M, Abd El-Latif MI, Nishioka M, Terao M, Tani M, Matsui S, Sano S, Katayama I. Artemin causes hypersensitivity to warm sensation, mimicking warmth-provoked pruritus in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Sep;130(3):671-682.
 18. Kimura A, Terao M, Kato A, Hanafusa T, Murota H, Katayama I, Miyoshi E. Upregulation of N-acetylglucosaminyltransferase-V by heparin-binding EGF-like growth factor induces keratinocyte proliferation and epidermal hyperplasia. *Exp Dermatol*. 2012 Jul;21(7):515-9.
 19. Kondo Y, Umegaki N, Terao M, Murota H, Kimura T, Katayama I. A case of generalized acanthosis nigricans with positive lupus erythematosus-related autoantibodies and antimicrosomal antibody: autoimmune acanthosis nigricans? *Case Rep Dermatol*. 2012 Jan;4(1):85-91.
 20. Ontsuka K, Kotobuki Y, Shiraishi H, Serada S, Ohta S, Tanemura A, Yang L, Fujimoto M, Arima K, Suzuki S, Murota H, Toda S, Kudo A, Conway SJ, Narisawa Y, Katayama I, Izuhara K, Naka T. Periostin, a matricellular protein, accelerates cutaneous wound repair by activating dermal fibroblasts. *Exp Dermatol*. 2012 May;21(5):331-6.
 21. Arase N, Igawa K, Senda S, Terao M, Murota H, Katayama I. Morphea on the breast after a needle biopsy. *Ann Dermatol*. 2011 Dec;23(Suppl 3):S408-10.
 22. Hanafusa T, Azukizawa H, Nishioka M, Tanemura A, Murota H, Yoshida H, Sato E, Hashii Y, Ozono K, Koga H, Hashimoto T, Katayama I. Lichen planus-type chronic graft-versus-host disease complicated by mucous membrane pemphigoid with positive anti-BP180/230 and scleroderma-related autoantibodies followed by reduced regulatory T cell frequency. *Eur J Dermatol*. 2012 Jan-Feb;22(1):140-2.
 23. Kotobuki Y, Tanemura A, Yang L, Itoi S, Wataya-Kaneda M, Murota H, Fujimoto M, Serada S, Naka T, Katayama I. Dysregulation of melanocyte function by Th17-related cytokines: significance of Th17 cell infiltration in autoimmune vitiligo vulgaris. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2012 Mar;25(2):219-30.
 24. Kitaba S, Murota H, Terao M, Azukizawa H, Terabe F, Shima Y, Fujimoto M, Tanaka T, Naka T, Kishimoto T, Katayama I. Blockade of interleukin-6 receptor alleviates disease in mouse model of scleroderma. *Am J Pathol*. 2012 Jan;180(1):165-76.
- (日本語論文)
1. 室田 浩之: 【アトピー性皮膚炎の病態と治療】 アトピー性皮膚炎の悪化因子対策. *臨床免疫・アレルギー科 臨床免疫・アレルギー科*(1881-1930)60巻3号Page302-308

2. 木嶋 晶子, 室田 浩之, 熊谷 一代, 瀧原 圭子, 片山 一朗 思春期におけるアレルギー疾患に関する実態調査 : CAMPUS HEALTH(1341-4313)50巻1 Page313-315(2013.03)
 3. 室田浩之他 . 【アトピー性皮膚炎治療の新たな展開】 汗とアトピー性皮膚炎(解説/特集) . 臨床免疫・アレルギー科(1881-1930)59巻2号 Page187-190(2013.02)
 4. 木嶋晶子、室田浩之、片山一朗 【総合アレルギー診療を目指して】 《アレルギー疾患の病因・病態における最近の話題》 思春期アレルギー疾患の悪化因子とその対策 . Modern Physician(0913-7963)33巻2号 Page189-192(2013.02)
 5. 室田 浩之 アレルギー皮膚疾患日常診療トピックス アトピー性皮膚炎における生活指導と蕁麻疹の薬物使用戦略 : 高崎医学 (0916-121X)62 : 82-86,(2012.08)
 6. 室田浩之【小児アトピー性皮膚炎】 小児アトピー性皮膚炎の痒みの管理と指導(解説/特集) 臨床免疫・アレルギー科 57 :663-667, 2012.
 7. 室田浩之 【慢性痒疹と皮膚そう痒症の病態と治療】 慢性痒疹・皮膚そう痒症の疫学と労働生産性 アレルギー・免疫 19 920-925, 2012.
- 2.学会発表
1. 室田浩之 . 発汗を制御する因子の探索 : 汗腺の動態観察から見たもの . 日本発汗学会、2013, 9
 2. 小野慧美、室田浩之他 . アトピー性皮膚炎患者を対象とした発汗に関する実態調査アンケート 第25回アレルギー学会春季臨床大会、2013, 5
 3. 永田 由子, 中野 真由子, 松井 佐起, 木嶋 晶子, 高橋 彩, 室田 浩之, 片山 一朗アトピー性皮膚炎におけるネコアレルギーとイヌアレルギーの影響第25回アレルギー学会春季臨床大会、2013, 5
 4. 室田浩之 . 薬剤による発汗の制御 : 無汗症治療の現状と未来 日本皮膚科学会総会 2013, 5
 5. 室田浩之 アトピー性皮膚炎の悪化因子対策 汗と温度の指導箋 日本皮膚科学会総会 2014 . 5
 6. 室田浩之 アトピー性皮膚炎 up-to-date アトピー性皮膚炎と汗 発汗は増悪因子か? 日本臨床皮膚科学会 2013 5
 7. 北場俊、室田浩之、高橋 彩、松井佐起、片山一朗 . 乳児期早期のスキンケアによるアトピー性皮膚炎発症予防効果の検討 . 第24回アレルギー学会春季臨床大会、2012, 5
 8. 楊 伶俐、室田浩之、仲 哲治、片山一朗リモデリングの新たな視点 アレルギー疾患と組織リモデリング ペリオスチンの新たな役割 第24回アレルギー学会春季臨床大会、2012, 5
 9. Murota H. Artemin causes hypersensitivity to warm sensation, similar to warmth-provoked pruritus in atopic dermatitis. 38th Japanese Society of Investigative Dermatology annual meeting. 2012, 12

H.知的財産権の出願・登録状況

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）

総合分担研究報告書

特発性後天性全身性無汗症の臨床像と病態に関する研究 およびその発汗異常の評価法の開発

研究分担者 朝比奈正人 千葉大学大学院医学研究院神経内科学 准教授

研究要旨 特発性後天性全身性無汗症（AIGA）15例の臨床像を解析した。AIGAは、若年・壮年での発症が多く、全例男性で、コリン性蕁麻疹をおよそ半数で伴い、腋窩と手掌部の発汗は保たれていることが多いことが確認された。これらの特徴は、AIGAを診断する際に重要と考えられる。AIGAはステロイド治療が有効であることが多いが、高齢での発症はステロイド抵抗性の予測因子であるかもしれない。さらに、我々はAIGA 15例中12例の血清を解析し、1例でM3受容体に対する自己抗体を確認した。しかし、抗体陽性の頻度は低く、この自己抗体がAIGAの病態に関与しているかどうかは不明である。また、我々はビデオ・スコープを用いた汗腺活動の評価法を開発した。この評価法はAIGAなどの発汗異常を呈する疾患の臨床的評価に役立つ可能性がある。

A. 研究目的

後天性特発性全身性無汗症（AIGA：acquired idiopathic generalized anhidrosis）は、後天的に全身の発汗低下を呈するが、原因となる基礎疾患を伴わず、発汗異常以外の自律神経症候や神経症候を伴わない疾患である^{1, 2}。発汗は体温調節に重要であり、発汗が低下・消失するAIGA患者では運動や暑熱環境で体温が上昇し、日常生活の活動が制限される。また容易に熱中症を起こすため生命が脅かされることもある。比較的希な疾患とされるが、暑熱の暴露や激しい運動をしなければ発病に気付かなかつたり、医療従事者においても疾患の認知度は低く、診断される症例は全体の極一部と推測され、早期に発見し、適切な診断・治療を行う必要がある。また、治療に関しては、ステロイド治療の有効性が指摘されているが、十分なエビデンスはない²。我々は、AIGAの診断

方法と治療法を発展させるために必要な基礎的データを収集することを目的に、当科を受診したAIGA症例の臨床像および治療反応性について解析した。

一方、AIGAの病態は明らかにされていない。ステロイドが有効であることから、自己免疫的機序の関与が推測されているが、特異的な自己抗体は発見されていない。AIGA患者ではエクリン汗腺の機能障害が生じていることが生理学的検討から明らかになっている。エクリン腺はコリン作動性交感神経節後線維により支配され、神経終末から分泌されるアセチルコリンにより、発汗が惹起される。アセチルコリン受容体は、M1～M5のサブタイプに分類され、エクリン腺に存在するのはM3受容体であり、AIGAの標的抗原として抗M3受容体が候補にあがる。我々はAIGA患者の血清中の抗M3受容体抗体の存在を調査した。

一方、AIGA の診断には発汗機能の評価が必須である。発汗の古典的な評価方法にミノール法(ヨード・デンプン法)がある。これは1927年にモスクワの神経内科医 Victor Minor が提唱した方法である³。ミノール法は定性法であり、無汗部位分布の評価には適しているが、定量はできない。定量法としては測定部位の皮膚をカプセルで覆い、カプセル内に空気を送り、蒸発した汗および不感蒸泄を測定する換気カプセル法がある⁴。しかしながら、この方法では個々の汗腺の活動の評価はできない。我々は、ビデオ・マイクロスコープにより撮影した動画を画像解析ソフトを用いて解析し、汗腺活動を経時的かつ半定量的に評価できる方法を開発した。

B. 研究方法

AIGA の臨床像に関する研究

1997~2011年に千葉大学医学部附属病院神経内科を受診し、診断基準²を満たすAIGA 15例(全例男性、年齢 34.9 ± 10.5 歳、罹病期間 2.0 ± 2.0 年)の診療記録を後ろ向きに調査した。

AIGA 患者血清中の抗 M3 受容体抗体の検索に関する研究

特発性後天性全身性無汗症の病態解析及び治療指針の確立班による診断基準²を満たしたAIGA患者12例(全員男性、平均年齢 36.5 ± 11.2 歳、平均罹病期間 2.2 ± 2.1 年)の治療開始前の血清と健常人コントロール10例(平均年齢 32.4 ± 10.4 歳)の血清を使用した。

抗M3受容体抗体検出のためにヒトM3受容体遺伝子をクローニングし、M3が発現していないハムスター卵巣(CHO)細胞株へ導入して強制発現させた。この培養細胞にAIGA患者および健常者の血清を加え、蛍光抗体法によ

り、M3受容体に結合する抗体の有無を評価した。

汗腺活動の評価法の開発

ビデオ・マイクロスコープ(Viewmatic、松電舎)をUSBケーブルでパーソナル・コンピュータ(PC)に接続し、附属ソフトEyeCam(松電舎)を用いてPC画面上で汗孔をリアルタイムで観察した。深呼吸負荷を行った際の指先における発汗反応を30枚/秒(1280×960 ピクセル)で撮影し、EyeCamにて動画を1フレームごとにBMP形式の静止画像(1280×960 ピクセル)に変換した。画像の解析には画像解析ソフトCosmos UI(ライブラリー社)を用いた。

*倫理面への配慮

本研究は千葉大学医学部倫理委員会、信州大学医学部倫理委員会、信州大学医学部遺伝子組み換え実験等安全委員会の承認を得た。

C. 研究結果

AIGA の臨床像に関する研究

AIGA患者の職業については、肉体労働者が8例(53%)、暑熱環境における仕事に従事していたものは3例(20%)であった。アトピー性皮膚炎の既往・合併のある例はなかった。問診上、暑熱環境での皮膚のチクチクした痛み、丘疹、発赤などの症状を呈するコリン性蕁麻疹が8例(53%)で確認された。

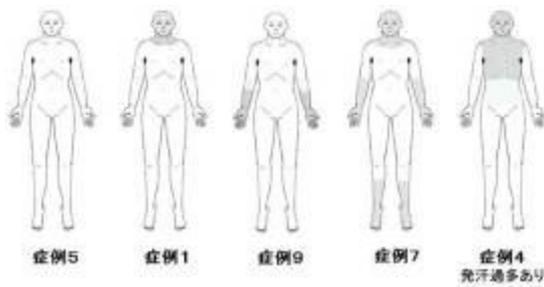


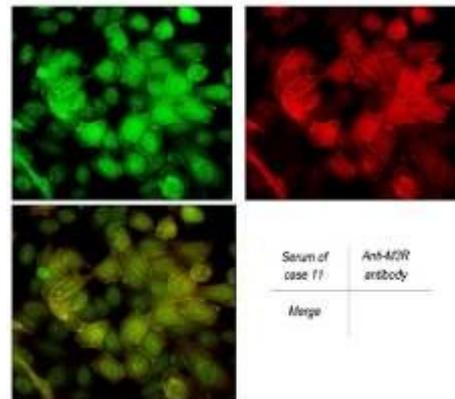
図1 . 温熱発汗試験 . 黒は正常発汗部位、灰色は発汗低下部位、白は無汗部位 .

温熱性発汗試験では、全例で広範な無汗・発汗低下を認めたと、腋窩の発汗は全例で保たれていた。15 例中 13 例で腋窩以外にもの温熱性発汗が残存している部位がみられ、そのうち 1 例で残存部に発汗過多がみられた。温熱性発汗の残存部位としては頭部、顔面、頸部などが多く、体幹（上半身）、上肢遠位、四肢遠位に残存するものもあった（図1）。カプセル換気法を用いて手掌部の精神性発汗を測定した 14 例では 13 例（93%）で精神性発汗は保たれていた。

治療が行われた 13 例の治療内容は、ステロイド・パルス療法（メチルプレドニゾン 1000mg/日静注を 3 日間）に後療法としてステロイド内服治療（30mg/日を連日または 1mg/kg を隔日）を施行したものが 12 例、ステロイドの内服治療のみは 1 例であった。13 例中 10 例（77%）で治療開始後に明瞭な改善が認められ、9 例ではステロイドを漸減・終了することができた。1 例ではステロイド減量により無汗が再燃するため、少量のプレドニン内服を継続した。僅かな改善しかみられなかった 3 例（23%）の臨床像は以下の通りである。症例 1 は経過 5 年の 51 歳男性で、コリン性蕁麻疹の病歴はなかった。温熱発汗試験では、右こめかみ以外は無汗であった。症例 2 は経過 2 ヶ月の 55 歳男性で、コリン性蕁麻疹の病歴は

なかった。温熱発汗試験では、前額部、両側耳介周囲以外は無汗であった。症例 3 は経過 2 年の 33 歳男性で、コリン性蕁麻疹の病歴がみられた。温熱発汗試験では、両上腕から前腕近位および胸正中部以外は無汗であった。3 例とも手掌の精神性発汗は保たれていた。皮膚生検については、症例 1 で汗腺分泌細胞の膨化を認めたが、炎症細胞の浸潤はなかった。症例 2 で汗腺数低下と汗腺への中等度の炎症細胞浸潤を認めた。症例 3 でごく軽度の炎症細胞浸潤を認めた。症例 2 と 3 では汗腺の形態学的変化はなかった。罹病期間、汗腺の病理所見には一定の傾向はみられなかった。

AIGA 患者血清中の抗 M3 受容体抗体の検索に関する研究



AIGA12 例中 1 例（前述のち治療反応性不良例の症例 2）で抗 M3 受容体抗体が確認された（図2）。残りの AIGA 11 例と健常者 10 例では陰性であった⁵。

図2 . 患者（症例 11）血清（左上）、抗 M3 受容体抗体（右上）と両者による M3 発現細胞の免疫組織染色

汗腺活動の評価法の開発

掌側を上にして被検者の指先をビデオ・マイクロスコープの観察台の上に置き、内臓のライトで観察部分を照明することで汗孔を明瞭に観察できた。さらに、深呼吸負荷時に汗孔から分泌される汗を観察できた(図3)。撮影された動画から得られた静止画を経時的にCosmos UIで解析した。

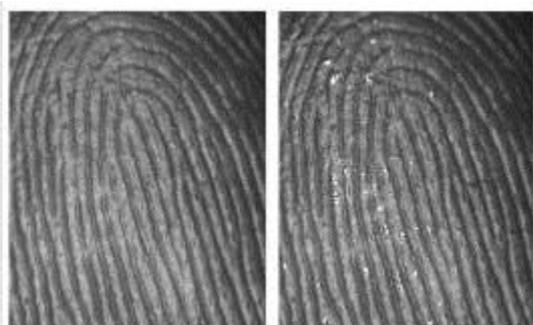


図3.ビデオ・マイクロスコープで撮影した左第2指指先。左は発汗がほとんどみられない安静時、右は深呼吸負荷により発汗がみられた状態。汗が反射して高輝度に見える。

発汗している汗孔(活動汗腺)を選択するために、Cosmos UIで取り込んだ静止画像で発汗により高輝度に見える部分を選択できるようにフィルター閾値を調節して部位を特定し(図4A)、抽出した(図4B)。その後、ノイズ・リムーバー機能を用いて画素数50以下の抽出部位を除去した(図4C)。

この状態では、ひとつの汗孔からの汗が複数に分割されて抽出される場合があるため、抽出部位をいったん膨張させることで近い位置にある抽出部位を統合した(図4D)。その後、抽出部位を縮退させて元の大きさに戻した。

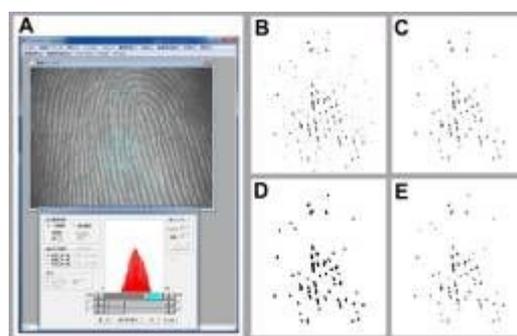


図4.発汗のみられる汗孔の抽出方法

D. 考察

AIGAの臨床像に関する研究

今回の検討では、AIGAは若年・壮年での発症が多く、全例男性で、コリン性蕁麻疹を約半数で伴っていた。温熱発汗試験では、全症例で全身の広範な無汗が観察されたが、腋窩の発汗は全例で保たれていた。腋窩の汗腺はアポクリン腺やアポエクリン腺を含んでおり、他の部位と組織学的な違いがあることが関係している可能性がある。一方、手掌部の発汗(精神性発汗)は、ほとんどの症例で保たれていた。手掌の汗腺は温熱発汗がみられる有毛部と同じエクリン腺であり⁶、温熱発汗との解離を組織学的違いで説明するのは難しく、さらなる検討が必要である。一方、手掌部の発汗が保たれるという特徴はAIGAを診断する際に重要と考えられる。

皮膚生検では汗腺周囲の炎症細胞浸潤、汗腺萎縮、汗腺分泌細胞膨化などの何らかの異常所見が71%でみられたが、軽度の変化であった。汗腺自体の組織学的な変化が軽度であるのに無汗となることは、AIGAでは汗腺の機能的な障害が病態機序の主体であることを意味しているのかもしれない。

AIGAの治療に関しては、多くの症例でステロイド治療の有効性を確認できた。しかしながら、3例はステロイド抵抗性であった。治療抵

抗性の3例中2例は40～50歳代での発症であり、高齢発症はステロイド治療の反応性を予測する因子のひとつかもしれない。

AIGA 患者血清中の抗 M3 受容体抗体の検索に関する研究

抗 M3 受容体抗体陽性例は、高齢発症で、コリン性蕁麻疹を伴わず、ステロイド反応性が不良な点は AIGA として非典型的であった。しかしながら、全身の無汗を認めるものの、他の自律神経障害がなく、皮膚生検で汗腺に形態学的異常を認めなかった点は AIGA を支持する点であった。抗体陽性例の AIGA の臨床像は、典型的な AIGA 患者とはやや異なる可能性がある。

汗腺活動の評価法の開発

ビデオ・マイクロスコープを用いて個々の汗腺の活動を評価することができた。発汗量の調節は、活動汗腺数の調節により行われるとされる⁷。しかし、活動汗腺数をどのようにして調節しているのかはよくわかっていない。今回の汗腺活動の観察では、活動している汗腺と活動していない汗腺がある、活動汗腺の分布は均一ではない、短時間の間に活動する汗腺が入れかわることが確認された。この結果は過去の報告と一致する^{8,9}。汗腺活動を制御する生理学的機構を明らかにする上で、今回開発した汗腺活動の評価法は有用と思われる。さらに、自律神経機能の評価法として臨床応用できる可能性もある。

E. 結論

AIGA を支持する所見は、若年・壮年発症、男性、コリン性蕁麻疹、腋窩と手掌部の発汗の残存、汗腺形態の保持、ステロイド治療反応性

などであった。

AIGA 1 例の血清で M3 受容体に対する自己抗体が確認されたが、この抗体が病態に関与しているかどうかは、現時点で不明である。

ビデオ・スコープを用いて汗腺活動を観察することで経時的に個々の汗腺活動を評価することができた。この方法は、AIGA 等の発汗異常を呈する疾患の評価に役立つ可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Asahina M, Sano K, Fujinuma Y, Kuwabara S. Investigation of anti-muscarinic receptor autoantibody in patients with acquired idiopathic generalized anhidrosis. Intern Med. 2013;52:2733-2737.
2. Asahina M, Low DA, Mathias CJ, Fujinuma Y, Katagiri A, Yamanaka Y, Shimada J, Poudel A, Kuwabara S. Skin temperature of the hand in multiple system atrophy and Parkinson's disease. Parkinsonism Relat Disord. 2013;19:560-562.
3. Yamanaka Y, Asahina M, Akaogi Y, Fujinuma Y, Katagiri A, Kanai K, Kuwabara S. Cutaneous Sympathetic Dysfunction in Patients with Machado-Joseph Disease. Cerebellum. 2012;11:1057-1060.
4. Fujinuma Y, Asahina M, Fukushima T, Katagiri A, Yamanaka Y, Misawa S, Kuwabara S. Preserved autonomic

function in patients with POEMS syndrome. J Neurol Sci. 2012;318:131-134.

5. 朝比奈正人：発汗異常の基礎と臨床発汗異常における治療の現況と今後の課題．発汗学 2013;20:33-34.

6. 朝比奈正人：自律神経症候．河村満 編、メディカルスタッフのための神経内科学、医歯薬出版、東京、2012、76-82 頁

7. 朝比奈正人：Parkinson 病および類縁疾患の発汗異常．神経内科 2012;77:151-157.

8. 朝比奈正人：パーキンソン病および関連疾患における精神性発汗と皮膚血流反応．発汗学 2011;18:99-101.

2. 学会発表

1. 朝比奈正人、藤沼好克、山中義崇、片桐明、Anupama Poudel、桑原聡．特発性後天性全身性無汗症におけるステロイド治療の有効性．第 30 回日本神経治療学会 2011 年 11 月 28 - 30 日 北九州国際会議場、北九州市.

2. 朝比奈正人．シンポジウム 発汗障害の基礎と臨床．発汗異常における治療の現況と今後の課題 第 20 回日本発汗学会、2012 年 8 月 24 - 25 日、奈良.

3. 朝比奈正人、佐野健司、伊藤友里花、藤沼好克、桑原聡．抗アセチルコリン M3 受容体抗体陽性の特発性後天性全身性無汗症例の臨床像に関する研究．第 20 回日本発汗学会、2012 年 8 月 24 - 25 日、奈良.

4. 朝比奈正人、佐野健司、伊藤友里花、藤沼好克、山中義崇、片桐明、Anupama Poudel、桑原聡：後天性特発性全身性無汗症患者の血清における抗 M3 受容体抗体

の検討．65 回日本自律神経学会総会 2012 年 10 月 25 - 26 日、東京.

5. 朝比奈正人、片桐明、藤沼好克、山中義崇、桑原聡．未治療早期パーキンソン病 50 例における心循環および発汗自律神経機能．第 54 回日本神経学会学術大会 2013 年 5 月 29 日 - 6 月 1 日、東京.

6. 朝比奈正人．シンポジウム 汗の神経診断学 神経疾患でみられる発汗異常．第 21 回日本発汗学会総会 2013 年 8 月 30-31 日、松本.

7. 朝比奈正人、佐野健司．シンポジウム 後天性特発性全身性無汗症 AIGA の病態 - M3 受容体抗体の観点から 第 66 回日本自律神経学会総会 2013 年 10 月 24-25 日、名古屋.

H. 知的財産権の出願・登録

なし

文 献

1. 岩瀬敏. 特発性後天性全身無汗症. 日本醫事新報 2003;4136:1-10.
2. 中里良彦, 佐藤貴浩, 朝比奈正人, 他. 特発性後天性全身性無汗症診療ガイドライン. 自律神経 2012;67-73.
3. 田村直. Minor 法と臨床発汗学の歴史的展開. 発汗学 2006;13:39-44.
4. 朝比奈正人. 交感神経性皮膚反応. 日本自律神経学会 編, 自律神経機能検査第 4 版, 東京, 文光堂, 2007: 243-248.
5. Asahina M, Sano K, Fujinuma Y, Kuwabara S. Investigation of antimuscarinic receptor autoantibodies in patients with acquired idiopathic generalized anhidrosis. Internal

- medicine 2013;52:2733-2737.
6. 朝比奈正人. 手掌・足底の発汗. 自律神経 2007;44:368-373.
 7. Randall WC. Sweat gland activity and changing patterns of sweat secretion on the skin surface. Am J Physiol 1946;147:391-398.
 8. 西山哲成, 菅屋潤壹, 松本孝朗, 岩瀬敏, 間野忠明. ビデオマイクロスコープを用いて観察した個々の汗腺の分泌動態. 日本体育大学紀要 2002;31:111-120.
 9. 津田孝雄, 青木彩子, 樋本伊織. 汗腺活動の観察から得られる情報. 発汗学 2009;16:17-19.

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総合分担研究報告書

コリン性蕁麻疹および IPSF の病態 -無汗の分布および汗腺 AchM3 受容体発現に関する考察-

研究分担者 中里良彦 埼玉医科大学神経内科 准教授

研究協力者 二宮充喜子 埼玉医科大学神経内科 講師

研究協力者 田村直俊 埼玉医科大学短期大学看護学科 教授

研究要旨 Idiopathic pure sudomotor failure (IPSF) はコリン性蕁麻疹 (CU) や疼痛を伴うこと、手掌・足底、顔面、腋窩の発汗は障害されないことが特徴である。CU を伴う IPSF と伴わない IPSF の 2 症例において汗腺 AchM3 受容体発現を検討した。19 歳、男性：胸腹部の CU で発症したがパルス治療で寛解、3 か月後に CU を伴う IPSF で再発したが同じ治療で寛解した。CU 発症時に上腕汗腺で AchM3 受容体発現が低下していたが、IPSF 再燃後の寛解時には同部位で発現は改善していた。31 歳、男性：CU を伴わない IPSF で発症した。パルス治療で発汗は体幹部から回復したが、四肢の無汗は高度でステロイド反応性が悪く改善までにパルス 3 クールを要した。IPSF 発症時、上腕、手掌で AchM3 受容体発現はともに高度に低下していた。CU と IPSF は汗腺の AchM3 受容体発現が低下する同一スペクトラム上の病態で、臨床症状の差異は身体各部の発汗能と AchM3 受容体発現量で説明できる。

A. 研究目的

後天性特発性全身性無汗症 (acquired idiopathic generalized anhidrosis: AIGA) ¹⁾ の中核をなす主要病型で、汗腺コリン受容体の機能異常が推定される idiopathic pure sudomotor failure (IPSF) は、コリン性蕁麻疹 (cholinergic urticarial: CU) や疼痛を伴うこと、手掌・足底、顔面、腋窩の発汗は障害されないことが特徴である ²⁾。ただし、CU は全例に認めるわけではなく、生じる症例と生じない症例はどこが違うのか、また、なぜ特定の部位が発汗障害を逃れるのかについては不明である。今回、我々は CU を伴う IPSF と伴わない IPSF の 2 症例において汗腺の muscarinic cholinergic receptor M3

(AchM3 受容体) 発現を検討し、その結果と無汗部位の分布に基づいて IPSF と CU の関係を考察する

B. 研究方法

IPSF の 2 症例において発汗検査 (温熱発汗試験、軸索反射性発汗 (quantitative sudomotor axon reflex test: QSART、定量的精神性発汗検査、サーモグラフィー)、皮膚生検 (HE 染色、acetylcholine M3 (AchM3) 受容体染色) を検討した (浜松医科大学皮膚科 戸倉新樹教授のご厚意による)。

C. 研究結果

症例呈示

症例 1 : 19 歳、男性

主訴：運動すると身体がピリピリする。

既往歴：特記すべきことなし。

現病歴：2011 年 8 月頃より、運動中や入浴時に頭部・頸部・前胸部がピリピリと痛むようになった。疼痛時には胸腹部に紅い小さな皮疹が出現し、しばらくして体幹に発汗した。身体を冷やすと痛み、皮疹は消失した。疼痛のため運動ができなくなった。症状は不変で 2012 年 8 月に 1 回目の入院をした。

1 回目入院時所見：全身皮膚に異常なし。一般身体所見、神経所見、血液検査に異常なし。温熱発汗試験では運動負荷で前胸部・腹部に粟粒状の円形膨疹が出現、頭部、体幹にピリピリとする疼痛を伴った。運動中止の約 10 分後、遅れて腹部を中心とする体幹に多量の発汗が出現した。両側拇指の精神性発汗は正常、前腕、下腿の QSART は前腕では正常に認められたが、下腿では反応性が低下していた。左上腕皮膚生検では HE 染色では汗腺組織に形態学的異常なく、リンパ球浸潤も認めなかった。以上から典型的な CU と診断した。8 月 17 日よりステロイドパルス

(methylprednisolone 1g/日 x 3日間)治療を施行、パルス終了後には運動負荷による疼痛、蕁麻疹はほぼ消失した。9 月～10 月は、頭部のピリピリとした疼痛は残るが、発汗は正常に認めていた。11 月より、運動時の疼痛が再燃、全身の発汗も認めなくなったため H25 年 1 月 12 日に 2 回目の入院をした。

2 回目入院時所見：温熱性発汗試験は額、腋窩を除き全身性無汗で、頭部、前胸部に疼痛、腹部に CU を認めた。精神性発汗は正常、前腕、下腿の QSART は反応消失していた。IPSF と診断しステロイドパルス治療を行ったところ、パルス終了後から発汗が出現し、疼痛発

作も軽快、CU は出現しなくなった。QSART は前腕、下腿ともに反応は正常に回復した。パルス終了 9 日目に再度、左上腕で皮膚生検を施行したところ、真皮上層の血管周囲と汗腺導管周囲に軽度のリンパ球浸潤を認めた。CU 発症時に上腕皮膚から採取した生検標本、IPSF 寛解後に同部位から採取した標本で汗腺 AchM3 受容体の染色を行った(浜松医科大学皮膚科)。その結果、CU 発症時の AchM3 受容体の染色ではコントロールに比較して AchM3 受容体発現が低下していたが、IPSF 寛解後には著明に改善していた。

症例 2 : 31 歳、男性

主訴：汗をかかない。暑熱環境でうつ熱になる。

既往歴：B 型肝炎

現病歴：もともと汗かきで、仕事(解体業)では常に大量の発汗を認めていた。2013 年 5 月上旬頃より、仕事中にうつ熱で気分が悪くなるがあった。5 月下旬のある日、炎天下で仕事中にうつ熱状態で全身に汗をかいていないことに気付いた。6 月中旬にサウナに入ったところ、全身に全く汗をかかず、すぐに気分が悪くなった。6 月 25 日、当科に 1 回目の入院をした。

1 回目入院時所見：一般身体所見では、全身皮膚にとくに乾燥はなく、神経所見も異常なし。血液検査で肝機能に異常はなかったが、HBs 抗原陽性、HBe 抗体陽性で B 型肝炎の持続感染の状態と判断した。温熱発汗試験では前額部、腋窩、手掌・足底を除き全身性無汗、QSART は前腕、下腿でまったく無反応であった。両側の精神性発汗は正常、右上腕、左手掌で皮膚生検を施行した。両部位とも HE 染色で汗腺、導管組織に形態学的異常はなかったが、右上腕皮膚では汗腺周囲に軽度のリ

ンパ球浸潤を認めた。IPSF と診断し 6 月 28 日よりステロイドパルス治療を施行した。治療直後には発汗を認めなかった。治療 2 週間後、頸部に発汗を認めたが、発汗回復は不十分であった。7 月 19 日に 2 回目の入院、7 月 19 日からステロイドパルス 2クール目を施行した。治療後、顔面、頸部の発汗は増加、発汗部位は胸腹部に広がったが、四肢の発汗は認めなかった。8 月 24 日に 3 回目の入院、ステロイドパルス 3クール目を行ったところ、体幹部の発汗はさらに増加した。この時点で施行した前腕、下腿の QSART では軽度の反応を認めた。以上、本症例は CU を伴わず、ステロイドパルスに対する反応性が不良であった。

初回の入院時に右上腕と左手掌から採取した皮膚生検標本で、ともに汗腺 AchM3 受容体は高度に低下していた。

D. 考察

我々は IPSF の病態を AchM3 受容体の機能異常により Ach が受容体に結合できない状態であると推定し、受容体に結合できない Ach が汗腺周囲の肥満細胞を刺激して、ヒスタミンを遊離し蕁麻疹を、感覚神経末梢を刺激して、疼痛発作を生じると考えている。しかし、この仮説のみでは CU を生じる症例と生じない症例、ステロイドが著効する症例とそれほどでない症例が存在する理由、手掌・足底、顔面など特定の部位が発汗障害を逃れる理由は説明困難であった。

近年、Sawada ら³⁾により CU では汗腺の AchM3 受容体の発現が低下していること、減汗性 CU では無汗部で発現消失、低汗部で発現が低下することが報告された。また、肥満細胞にも AchM3 受容体が存在し、CU で発現

低下していることが証明された。この結果、CU の出現は肥満細胞の AchM3 受容体の発現量に依存し、汗腺・肥満細胞で発現量が高度に低下する部位は無汗で、蕁麻疹も出現しないが、発現低下が軽度の部位は低汗となり、汗腺 AchM3 受容体に結合できない Ach が肥満細胞の AchM3 受容体に結合する結果、コリン性蕁麻疹が出現すると推定される。

IPSF では、手掌・足底、顔面、腋窩など発汗障害を逃れる部位があり、全身各部位で発汗障害の程度は均一ではない。身体各部位における発汗能は能動汗腺密度 X 個々の汗腺の発汗能によって決定される。Kuno⁴⁾によると体幹部に比べ上肢、下肢は発汗能が低いと報告されている。一方、手掌・足底、顔面は能動汗腺密度が非常に高い。

健常状態における汗腺・肥満細胞の AchM3 受容体発現量と身体各部位の発汗能の関係を模式的に図に示す。この図に CU と IPSF の臨床症状を当てはめると、発汗障害部位、蕁麻疹の出現部位などが説明可能と考える。すなわち、汗腺・肥満細胞の AchM3 受容体発現量の低下にしたがって、四肢・体幹は正常～低汗で CU を伴う（臨床診断：CU）、四肢は無汗～低汗で体幹は低汗でときに CU を伴う（臨床診断：CU）、四肢は無汗、体幹は無汗～低汗で CU を伴う（臨床診断：軽症 IPSF）、四肢・体幹は無汗、顔面・手掌・足底の発汗は保たれる（臨床診断：IPSF）、全身無汗（臨床診断：重症 IPSF）という順序で病状が進展すると考える。

文献

1. 厚生労働科学研究補助金（難治性疾患克服研究事業）特発性後天性全身性無汗症の病態解析及び治療方針の確立班。「特

発性後天性全身性無汗症診療ガイドライン」作成委員会．特発性後天性全身性無汗症診療ガイドライン．自律神経 2013;50:67-74.

2. 中里良彦：特発性全身性無汗症．神経治療学 2001;18:141-149
3. Sawada Y、Nakamura M、Bito T、et al. Cholinergic Urticaria: Studies on the muscarinic cholinergic receptor M3 in antidrotic and hypohidrotic skin. J Invest Dermatol 2010;130:2683-2686.
4. Kuno Y. The regional relationship of the amount of sweat. Pp 192-204、Human perspiration. CC Thomas、Springfield、1956

E．結論

CU と IPSF は汗腺および肥満細胞の AchM3 受容体発現が低下する同一スペクトラム上の病態で、臨床症状の差異は身体各部の発汗能と AchM3 受容体発現量で説明できる。

F．研究発表

1．論文発表

1. 二宮充喜子,中里良彦,田村直俊,山元敏正,荒木信夫．レビー小体型認知症に伴った寒冷誘発性多汗症．発汗学 19 : 34-35,2012
2. 中里良彦．無汗症と多汗症．Brain Medical 24 : 53-58,2012
3. 中里良彦．寒冷誘発性発汗過多症．神経内科 77 : 145-150,2012
4. 二宮充喜子．分節型無汗症・harlequin 症候群．神経内科 77 : 127-132,2012
5. 二宮充喜子,中里良彦,田村直俊,吉丸公子,

荒木信夫．症候性 harlequin 症候群 34 例の検討．神経内科 77 : 73-75,2012

6. 中里良彦ら．特発性後天性全身性無汗症診療ガイドライン．自律神経 50 : 67-74,2013
7. 中里良彦．特発性無汗症の診断と病態．発汗学 20 : 35-36,2013
8. 中里良彦,荒木信夫．目で見ると異なる神経症候-まだら様症候群- 日本医師会雑誌 142 : S5,2013

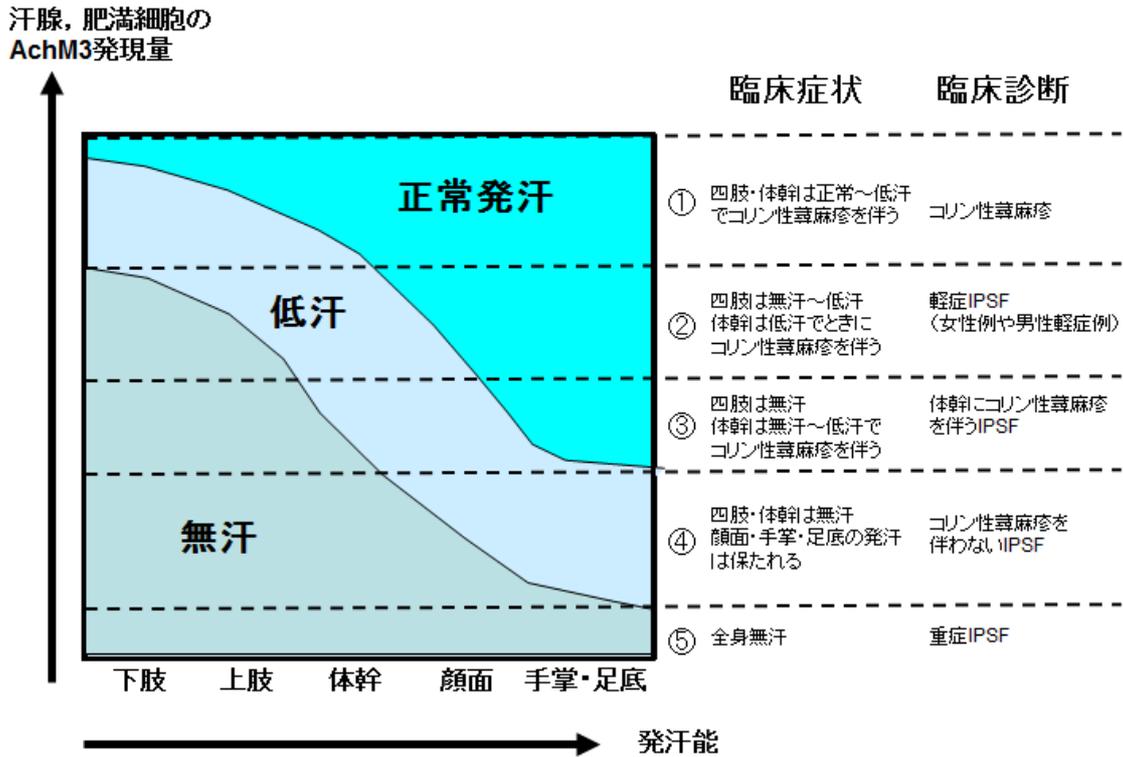
2．学会発表

1. 中里良彦,二宮充喜子,田村直俊,荒木信夫,戸倉新樹,澤田雄宇：全身性無汗と手掌疼痛を呈し汗腺 AchM3 受容体発現消失を認めた Fabry 病の 1 例．第 21 回発汗学会総会
2. 二宮充喜子,中里良彦：分節型発汗異常の診断と病態 -harlequin 症候群を中心に - 第 21 回発汗学会総会
3. 中里良彦：AIGA の臨床症状．第 66 回日本自律神経学会総会 シンポジウム 3 後天性特発性全身性無汗症 (AIGA)
4. 二宮充喜子,中里良彦,田中 愛,田村直俊,荒木信夫,戸倉新樹,澤田雄宇：汗腺 AchM3 受容体発現低下を認めた IPSF の 1 例．第 66 回日本自律神経学会総会
5. 岡田真里子,二宮充喜子,中里良彦,田村直俊,荒木信夫,大竹 明,戸倉新樹,澤田雄宇：Fabry 病 (母,息子例) における発汗障害,四肢疼痛の比較検討．第 66 回日本自律神経学会総会

G．知的財産権の出願・登録状況

該当なし

図：汗腺・肥満細胞の AchM3 受容体発現量と身体各部位の発汗能の関係



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総合分担研究報告書

特発性後天性全身性無汗症の汗腺におけるアセチルコリンレセプター(M3)発現低下と M3 自己抗体の検討

| | | | |
|-------|-------|------------------|------|
| 研究分担者 | 佐野健司 | 信州大学医学部附属病院臨床検査部 | 講師 |
| | 朝比奈正人 | 千葉大学医学部研究院神経内科学 | 准教授 |
| 研究協力者 | 伊藤友里花 | 信州大学医学部附属病院臨床検査部 | 大学院生 |
| | 藤沼好克 | 千葉大学医学部研究院神経内科学 | 大学院生 |
| | 片桐 明 | 千葉大学医学部研究院神経内科学 | 大学院生 |
| | 桑原 聡 | 千葉大学医学部研究院神経内科学 | 教授 |

研究要旨 後天性特発性全身性無汗症(AIGA)の原因検索の一環で、ムスカリニックアセチルコリンレセプター-type 3(M3)の発現解析を行った。13例のAIGAと7例の非AIGAの皮膚生検材料を対象に特異的なM3抗体を使用し、自動免疫染色装置で染色した。その結果、AIGA例では非AIGA例に比較してM3の発現が低下しているものが多かった。M3発現の低下の原因の可能性として重症筋無力症と同様の機序のM3の自己抗体が関与しているかどうかを調べるため、CHO培養細胞にM3遺伝子の全長を強制発現させて、細胞染色により自己抗体の有無を調べた。16例のAIGA血清、12例の健常人血清で1例のAIGAのみ陽性例が得られた。しかし、陽性例1例を含むすべてのAIGA血清で、細胞内カルシウム濃度の変動を抑制させるような機能阻害性のM3自己抗体を有する症例は存在しなかった。従って、M3発現低下の原因は、M3遺伝子のプロモーター活性の変化などの他の要因によるものと思われた。

A.研究目的

特発性後天性全身性無汗症(AIGA)の原因は現在のところ同定されていない。AIGAでは、発汗以外に自律神経異常を認めないことや、汗腺に明らかな器質的变化を認めないこと、さらに、アセチルコリン皮内テストで無汗を示すなどの特徴から、AIGAの病因としてアセチルコリンの受容体であるムスカリニックアセチルコリンレセプター-type 3(M3)及びその下流のシグナル伝達異常の可能性が示唆されている。(Neurology, 2004, 63:1476-1480)そのため、M3の発現がAIGAで減少していないかを調べ

るため、AIGAと非AIGA患者皮膚生検材料を使用して、M3免疫染色を行った。免疫染色の結果はM3発現がAIGA患者で低下していたため、M3の自己抗体がM3発現の低下の可能性のあるものと考え、培養細胞によるM3強制発現の系を構築して患者血清での自己抗体の有無を検討した。

B.研究方法

13例のAIGAの皮膚生検材料と7例の非AIGA(色素性母斑など)の皮膚生検材料に対して、M3特異的な抗体(sigma)を使用して、

M3 の免疫染色を行った。定量的な評価を行う上で染色条件を揃えるために、内因性ペルオキシダーゼ阻害から発色までの工程を自動で行う自動免疫染色装置 (VentanaBenchMark ULTRA) を使用した。一方、ヒト M3 遺伝子の全長を脳組織よりクローニングして発現ベクターに組み込み、M3 が発現していないハムスター卵巣 (CHO) 細胞株へ導入して強制発現させた。M3 の発現解析として細胞内ドメイン認識抗体(Sigma)と細胞外ドメイン認識抗体(Millipore)の 2 種類の M3 特異的抗体を用いた蛍光抗体染色では M3 の発現部位である細胞膜が染まり、ウェスタンブロットングでは M3 と思われる蛋白を特異的に認識した (図 1)。

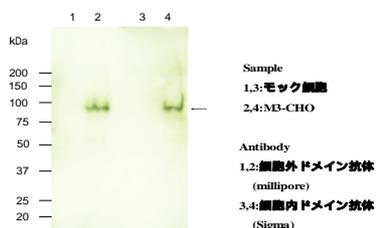


図 1 : M3 特異的抗体によるウェスタンブロット法

両抗体とも発現ベクターのみを導入したモック細胞では陰性だった。さらに M3 の機能解析としてレセプター下流の MAPK/Erk 蛋白のリン酸化を調べた。ppErk 抗体を用いたウェスタンブロットングでは、ppErk は M3 のアゴニストであるアセチルコリンで活性化され、アンタゴニストであるアトロピンで活性が抑制された。モック細胞ではいずれも反応しなかった (図 2)。

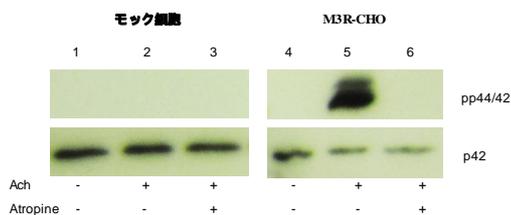


図 2 : MAPカスケードを利用したM3の機能解析

別の機能解析として細胞内カルシウムの変動を検討したところ、M3 陽性細胞はアセチルコリンで細胞内カルシウムが著増し、アトロピンで完全に抑制された。モック細胞では変化がなかった。(図 3)

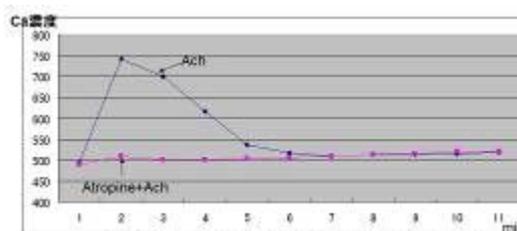


図 3: Ach刺激による細胞内カルシウムの変動

M3 の発現と機能が確認された M3-CHO 細胞を用いて、AIGA 患者 16 名と健常人コントロール 12 名の血清を使用した蛍光抗体染色を行った。また、ppErk のリン酸化シグナルと細胞内カルシウムの変動に対する血清の抑制効果を検討した。

(倫理面への配慮)

患者由来の組織を使用するため、ヘルシンキ宣言を理解するとともに、臨床研究に関する倫理指針 (厚生労働省)、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (文部科学省、厚生労働省及び経済産業省)、遺伝子解析研究に付随する倫理問題等に対応するための指針 (厚生労働省)、ヒト遺伝子解析遵守事項 (信州大学医学部) の各種倫理指針を遵守し、患者のインフ

フォームドコンセントを得て、信州大学医学部医倫理委員会に事前に承諾を得た上で実施をはかっている。生検組織・血清材料を用いた臨床研究内容は、信州大学の倫理審査委員会により承認されている(研究代表者佐野 健司、No.1857、11月8日2011年承認、遺伝子解析:研究代表者佐野 健司、No.11-039、11月25日2011年)。

C.研究結果

M3発現の強さを陰性から1+, 2+, 3+の4段階に半定量性の評価を行ったところ、非AIGAでは表1の示す様に2+が主体を占め、3+と1+がそれぞれ1人であるのに対して、AIGA例では陰性あるいは1+に留まっていた。

表1:M3発現比較結果

| No. | AIGA | 非AIGA | No. |
|-----|------|-------|-----|
| 1 | 1+ | 1+ | 1 |
| 2 | 1+ | 2+ | 2 |
| 3 | - | 2+ | 3 |
| 4 | - | 3+ | 4 |
| 5 | 1+ | 2+ | 5 |
| 6 | - | 2+ | 6 |
| 7 | 1+ | 2+ | 7 |
| 8 | 1+ | | |
| 9 | 1+ | | |
| 10 | - | | |
| 11 | 1+ | | |
| 12 | 1+ | | |
| 13 | 1+ | | |

DABの発色の強さに応じて
---3+まで4段階に半定量的に判定

代表的な例を非AIGAとAIGAを並べて提示する。図4は左が12才男性の非AIGA例で、2+のM3発現を汗腺に認めるのに対して、右は42才男性のAIGA例で、1+の発現を示している。

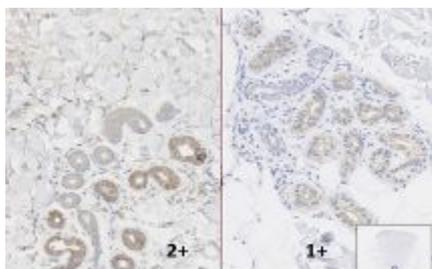


図4

また図5は、11才の女性の非AIGA例で2+のM3発現を示すのに対して、右は49才男性のAIGA例で陰性と判断される。

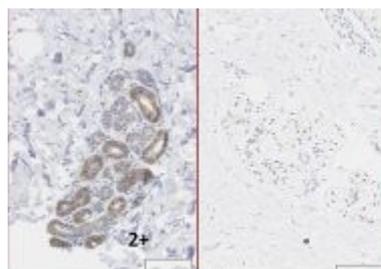


図5

次にM3を強制発現させたCHO細胞の蛍光抗体染色の結果では、AIGA1例のみにM3結合抗体が検出され(図6)他のAIGA15例は陰性であった。健常人コントロール12名の血清はすべて陰性であった。

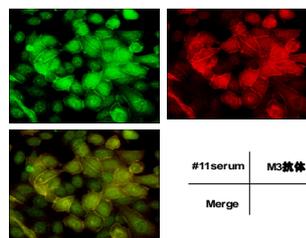
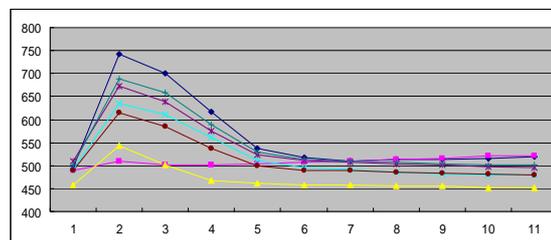


図6:患者血清(#11)とM3抗体の二重染色

血清をプレインキュベーションした後にAch刺激した際のリン酸化ERK(pp42/44)の量はAIGA患者血清と健常人血清との差は有意ではなかった。また、同じく、血清をプレインキュベーションした後にAch刺激した際の細胞内カルシウム濃度の抑制効果は明らかではなかった(図7)。



D. 考察

染色条件を出来る限り一定にして免疫染色を行った結果、皮膚汗腺の M3 発現は AIGA 例では、非 AIGA 例に比較して低下しているものが多いことが判った。M3 の発現量の評価は難しいため、必ずしも完全な統一見解が得られているわけではないが、AIGA での M3 発現低下を支持する報告が多い (J Invest Derma, 2010,130:2684-2686)。AIGA の病態機序を基にした分類として発汗神経に障害を有する発汗神経障害 (sudomotor neuropathy)、発汗神経から汗腺への神経伝達に障害を有する特発性純粋発汗不全 (Idiopathic pure sudomotorfailure:IPSF)、および汗腺自体の障害による特発性汗腺不全 (Sweat gland failure) の 3 型が提唱されている (Neurology, 2004, 63:1476-1480)。しかしながら、病変部位が発汗神経であるのか、発汗神経と汗腺の接合部にあるのかを、臨床的に鑑別するのは難しい。一方、特発性汗腺不全に属する疾患は、形態学的に汗腺の破壊像を伴っているとされるが、IPSF による無汗症においても軽度の汗腺破壊像を伴う場合があり、組織像のみで判定するのは難しい場合がある。AIGA の多くは、IPSF に属するものと推察され、その原因が汗腺に分布する M3 の機能異常や細胞内情報伝達異常が有力視されている。

近年、ムスカリン受容体に対する自己抗体と疾患の報告が相次いでいる。ムスカリン型受容体の薬理的サブタイプは M1 ~ M5 に分類され、M2 に対する自己抗体が拡張型心筋症で検出され、M1 に対する自己抗体が重症筋無力症で検出されている。また M3 に対する自己抗体はシェーグレン症候群、原発性胆汁性肝硬変症などで報告されている (Scand J Immunol, 2003, 59:261-266)。さらに、M3 ノックアウト

マウスとの比較より M3 の欠損症と考えられる人体症例がごく最近に報告がされ、この例では発汗異常を認めている (Neurology, 2011,76:451-455)。また、発汗異常を伴うコリン性蕁麻疹では、M3 の発現低下が報告されている。これらの報告から、M3 の機能異常と発汗低下には深い関連があり、M3 の機能異常の機序は自己免疫が関わっている可能性を示唆している。

今回、ヒトの M3 のクローニングと発現ベクターの構築、さらに CHO 細胞への強制発現によって、機能的な M3 陽性細胞が得られた。この細胞を利用した細胞染色で、AIGA 患者 16 例の血清中の M3 自己抗体の有無を検討した。16 例ともに明らかな末梢神経障害はなく、形態学的に約半数に汗腺への炎症細胞浸潤を認めたと、汗腺の破壊像は認められないため AIGA の中で IPSF に属するものと思われた。今回の実験では、16 例中 1 例のみに、M3 結合抗体が検出された。この例 (症例 11) は 50 歳代と疾患群の中では高齢で、ステロイド反応性も悪かったが、同年代の症例 10 などとは臨床的な差異は気づかれていない。症例 11 で検出された抗体は M3 結合抗体と考えられるが、他の 15 例には検出されなかったため、この抗体が AIGA 発症の主要な原因とは言い難い。また、症例 11 の M3 自己抗体を含めてすべての抗体で、下流のシグナルのリン酸化や細胞内カルシウム変動を有意に阻害する血清は検出できなかったことから、M3 自己抗体が AIGA の主原因である可能性は低いものと考えられた。しかし、AIGA における M3 の発現低下という現象は存在しているため、M3 のプロモーター活性を低下させるような変化、たとえば、M3 プロモーターのメチル化やコリン性蕁麻疹で局所的に高濃度になると考えられる肥満

細胞由来のヒスタミンなどの生理活性物質の影響があるのではないかとと思われる。今後、M3 プロモーター領域の活性調節機構の解明が必要と思われる。

E. 結論

特発性後天性全身性無汗症(AIGA)の発症原因の候補分子であるムスカリニックアセチルコリンレセプター-type 3(M3)の発現は、AIGA例で相対的に低下しているものが多く、AIGAの病因の可能性を示唆している。M3を発現させた培養細胞の系を使用して、AIGA患者の血清中にM3に対する自己抗体が存在するかどうかを検討した結果、16例中1例にM3結合抗体を検出した。しかし、機能阻害実験によってM3自己抗体がAIGAの主原因になっている可能性は低いものと考えられ、M3発現の低下原因をM3プロモーターの解析に求める必要があると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 特発性後天性全身性無汗症患者血清中の抗アセチルコリン受容体抗体検出の検討：伊藤友里花、修士論文、2011
2. Investigation of antimuscarinic receptor autoantibodies in patients with acquired idiopathic generalized anhidrosis. Asahina M, Sano K,

Fujinuma Y, Kuwabara S. Intern Med. 2013;52(24):2733-7.

3. 特発性後天性全身性無汗症(AIGA)の自己抗体の検討 佐野健司、朝比奈正人、藤沼好克、桑原 聡：発汗学 2014 in press

2. 学会発表

1. 特発性後天性全身性無汗症(AIGA)の自己抗体の検討 佐野健司、朝比奈正人、藤沼好克、桑原 聡 第21回日本発汗学会総会、2013, 8,30-31, 松本

G. 知的所有権の取得状況

特にありません。