

## アトピー関連脳脊髄・末梢神経障害の病態解明と画期的治療法の開発

研究代表者：吉良 潤一 九州大学大学院医学研究院神経内科学 教授

### 研究要旨

申請者らはアトピー関連脳脊髄・末梢神経障害の病態解明、治療法開発のため、平成 24 年度から平成 26 年度にかけて臨床研究(全国疫学調査、病理学的検討、生化学的検討)、基礎研究（モデルマウス作成および治療介入）を行った。

平成 24 年度は、3 年計画の 1 年目として、病態解明の足がかりとなるモデルマウスの作成、患者データの集積と解析を行なった。モデルマウスに関しては、アトピー素因マウスの中枢神経におけるグリア炎症の存在が示唆された。患者対象研究では、アトピー性脊髄炎患者における HLA-DPB1\*0201 遺伝子多型の増加、患者血清中 Glycoprotein IIb/IIIa (GP IIb/IIIa)の高値を発見し報告した。

平成 25 年度は、3 年計画の 2 年目として、病態解明の足がかりとなるモデルマウスの作成と解析を行ない、アレルギー素因マウスにおける感覚過敏症(アロディニア)の存在を世界で初めて確認した。マウス初代培養グリア細胞ではアストロサイトが CCL11(Eotaxin1)を発現し、末梢血好酸球の中枢神経系への浸潤に影響している可能性が示唆された。アトピー性脊髄炎剖検例の病理学的検討では多発性硬化症とは異なる病理像が見られた。

平成 26 年度は、3 年計画の 3 年目として、前年度までに世界で初めて作成に成功したアトピー関連感覚過敏症(atopy-related allodynia, ARA)モデルマウスの病態解析と治療に成功した。マウス初代培養グリア細胞ではアストロサイトは疾患促進的に、ミクログリアは神経炎症を増悪させている可能性が示唆された。臨床的には、脊髄炎患者の 0.85%がアトピー素因を有し、そのうち 2 例がアトピー性脊髄炎の診断基準を満たしていた。実際の患者サンプルの病理学的・生化学的解析から、従来はアトピー素因との関連性が低いと考えられてきた神経炎症性疾患でも、アレルギー性の病態機序が関与している可能性が考えられた。本研究がさらに発展することで、従来見逃されてきた ARA を始めとするアトピー関連神経障害の診断および治療法開発がさらに進み、将来の障害者数減少や労働力の確保に貢献できると思われた。

研究分担者(平成 24 年度)

楠 進 近畿大学医学部神経内科(近畿大学)

教授

吉田 真理 愛知医科大学加齢医学研究所神

経病理部門（愛知医科大学）教授

桑原 聡 千葉大学大学院医学研究院神経内科学分野（千葉大学）教授

錫村 明生 名古屋大学環境医学研究所神経免疫学（名古屋大学）教授

萩原 綱一 九州大学大学院医学研究院臨床神経生理学分野（九州大学）助教

松下 拓也 九州大学大学院医学研究院神経内科学（九州大学）学術研究員

松瀬 大 九州大学大学院医学研究院神経内科学分野（九州大学）助教

吉村 怜 九州大学大学院医学研究神経内科学分野（九州大学）共同研究員

研究協力者

城戸 瑞穂 九州大学大学院歯学研究院 分子口腔解剖学分野（九州大学）准教授

研究分担者(平成 25 年度)

楠 進 近畿大学医学部神経内科(近畿大学)教授

吉田 真理 愛知医科大学加齢医学研究所神経病理部門（愛知医科大学）教授

桑原 聡 千葉大学大学院医学研究院神経内科学分野（千葉大学）教授

錫村 明生 名古屋大学環境医学研究所神経免疫学（名古屋大学）教授

萩原 綱一 九州大学大学院医学研究院臨床神経生理学分野（九州大学）助教

松下 拓也 九州大学大学院医学研究院神経内科学（九州大学）学術研究員

松瀬 大 九州大学大学院医学研究院神経内科学分野（九州大学）助教

吉村 怜 九州大学大学院医学研究神経内科学分野（九州大学）共同研究員

研究協力者

城戸 瑞穂 九州大学大学院歯学研究院 分子口腔解剖学分野（九州大学） 准教授

研究分担者(平成 26 年度)

楠 進 近畿大学医学部神経内科(近畿大学)教授

吉田 真理 愛知医科大学加齢医学研究所神経病理部門（愛知医科大学）教授

桑原 聡 千葉大学大学院医学研究院神経内科学分野（千葉大学）教授

錫村 明生 名古屋大学環境医学研究所神経免疫学（名古屋大学）教授

星野 友昭 久留米大学内科学講座呼吸器神経膠原病内科部門(久留米大学) 教授

城戸 瑞穂 九州大学大学院歯学研究院 分子口腔解剖学分野（九州大学）准教授

萩原 綱一 九州大学大学院医学研究院臨床神経生理学分野（九州大学）助教

松下 拓也 九州大学大学院医学研究院神経治療学（九州大学）准教授

松瀬 大 九州大学大学院医学研究院神経内科学分野（九州大学）助教

## A. 研究目的

アトピー関連脳脊髄・末梢神経障害には、アトピー性脊髄炎、Churg-Strauss 症候群 (CSS)が含まれるが、さらに平山病や Hopkins 症候群においてもアトピー素因の病態への関与が報告され(Kira, Ochi, JNNP 2001)、広範囲な神経疾患病態にアトピー素因が関与している可能性が示唆されている。また、末梢における炎症が中枢神経グリア炎症を惹起することも知られているが、末梢におけるアレルギー炎症と中枢神経系の炎症を直接的に結びつける研究はない。

本研究課題では、これらのアトピー関連脳脊髄・末梢神経障害に共通する末梢のアレルギー炎症が神経障害を惹起するメカニズム解明のため、モデルマウス作成と解析を中心とした病態生理の解明および、疾患毎に特徴的な病態を明らかにし、それらを標的とした治療法の開発を目的して研究を行ってきた。

アトピー性脊髄炎は、アレルギー素因を持つ患者に発症する中枢・末梢神経障害である。我々が発表した新診断基準 (Isobe et al, JNS 2012) を適用することで、現在まで原因不明と考えられていた脊髄炎が新たにアトピー性脊髄炎と診断され、症例数が増加する事が予想される。さらに、本疾患患者でとくに多く (80%程度) 認められるアロディニアや神経障害性疼痛については MRI 画像などで異常を認めないことも多いので、患者自体が医療従事者に訴えていない可能性もあり、潜在的な患者は想定よりも多い可能性が高い。また、CSS や若年者を侵す平山病および Hopkins 症候群も年々増加しており、有効な治療法もない。これに伴い、患者本人の負担に加え、医療資源の問題や介護の問題も含めた社会的負担も大きく、原因究明と治療法の早期開発が急務である。その方策としての疾患モデル動物作成およびその解析は、可及的速やかに行われる必要がある。

本研究課題を推進するにあたり、我々は分担研究課題を基礎研究と臨床研究に大きく分類した。基礎研究としては アトピー性脊髄炎の病態モデルマウスの作成およびその解析、治療法開発 (吉良、錫村、城戸)、 培養グリア細胞におけるアトピー関連サイトカイン産生と反応の解析 (錫村)、臨床研究として 脳磁図計を用いたアトピー関連中枢・末梢神経障害患者の神経生理学的解析 (萩原、吉良)、

アトピー関連中枢末梢神経障害患者における血小板機能解析 (吉村、吉良)、 アトピー性脊髄炎患者剖検症例の病理学的解析 (吉田)、

アトピー性脊髄炎患者における HLA 遺伝子多型の特徴 (松下、吉良)、 平山病患者髄液中サイトカインの解析 (桑原)、 脊髄炎患者におけるアトピー性皮膚炎の合併 (楠)、を主に行ってきた。以下、それぞれの研究課題について概説する。詳細は各分担研究者の報告書に詳述しているのでご参照いただきたい。

## B. 研究方法

アトピー性脊髄炎モデルマウスの作成と解析 (吉良、錫村、城戸)

アトピー性脊髄炎モデルマウスの作成は本疾患の病態解明および治療法開発のため不可欠である。典型的な患者脊髄病変では、血液脳関門の破綻、炎症細胞の浸潤、組織破壊等が見られるが、これらの患者は病歴も長く、同様の病変をマウス脊髄に再現することは容易でない。一方、前述の通りアトピー性脊髄炎患者ではその 80%以上の方が末梢神経障害性疼痛 (アロディニア) を自覚され、一部の患者では MRI 異常を伴わないことが報告されており、脊髄病変の再現がモデルマウスの必要条件ではなく、アレルギー疾患が中枢・末梢神経障害を惹起するという事を証明することがモデルマウス作成の第一歩と考えた。そこで我々は、まず従来から知られている気管支喘息モデルマウスを作成し、これらのマウス脊髄の詳細な観察および、気管支喘息以外の表現型を解析した。

6 週齢の雌 C57Bl/6 マウスに、週に一回卵アルブミン (OVA) 50  $\mu$ g + Alum 2 mg の腹腔内注射を行い、3 週後に OVA 100  $\mu$ g の気道内吸入を 5 日間連続で行い気管支喘息を誘発した。これらのアトピー性疾患モデルマウス中枢神経におけるグリア炎症を免疫組織学的に解析した。また感覚障害の有無を von-Frey filament を用いた行動実験にて確認した。

ミクログリアの遺伝子発現パターン解析のため、これらのマウス脊髄を冷却しながらグラインダーですりつぶし、濃度勾配法を用いて単核球を抽出した。これらの細胞を抗 F4/80 抗体と抗 CD45 抗体で染色し、フローサイトメーターで F4/80 陽性 CD45dim ミクログリアを収集した。これらの細胞から RNA を抽出し、RNA アレイアッセイにて疾患モデルマウスミクログリアで発現修飾されている遺伝子の探索を行った。また、発現レベルに差異

が見られた分子については、病理学的解析やウエスタンブロットにて実際の蛋白発現と機能解析を試みた。

本マウスの治療法探索には、ミノマイシンやプロムワレリル尿素、BQ788 を用いたグリア細胞の機能抑制による治療を試みた。

培養グリア細胞におけるアトピー関連サイトカイン産生と反応の解析(錫村、吉良)(分担研究報告書あり)

C57BL/6 新生仔由来の混合グリア細胞培養より、ミクログリア・アストロサイトを分離し、神経細胞はその皮質神経細胞の一次培養を用いた。各細胞について、アトピー関連サイトカインとその受容体の発現を RT-PCR、ELISA あるいは Western Blotting により検討した。

脳磁図計を用いたアトピー関連中枢・末梢神経障害患者の神経生理学的解析(萩原、吉良)(分担研究報告書あり)

アトピー性脊髄炎患者における脳波/脳磁図異常を検索するため、アトピー性脊髄炎患者と多発性硬化症患者を対象に、脳磁図を用いて正中神経刺激による体性感覚誘発脳磁場(一次および二次体性感覚野応答)を測定した。

アトピー関連中枢末梢神経障害患者における血小板機能解析(吉村、吉良)

アトピー関連疾患における血小板凝集能異常を解析した。17 例のアトピー性脊髄炎患者および 35 例の健常コントロールの臨床およびアレルギー性疾患の背景および血液中 glycoprotein IIb/IIIa(GP IIb/IIIa)について VerifyNow assay system を用いて解析した。

アトピー性脊髄炎患者剖検症例の病理学的解析(吉田)(分担報告書あり)

世界でも唯一のアトピー性脊髄炎剖検症例の脊髄を用いて、サイトカイン・ケモカイン、T 細胞、B 細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイト、軸索、髄鞘等の免疫染色による解析を行う。また、多発性硬化症の脳生検サンプルについて、アレルギー炎症を示唆する所見の有無を精査した。本研究では 4 例の脳生検標本において脱髄疾患が疑われた症例の病理学的解析を通してその浸潤細胞種類等の特徴や病態を解析した。

アトピー性脊髄炎患者における HLA 遺伝子多型の特徴(松下、吉良)

アトピー性脊髄炎と HLA 遺伝子多型との関連性を検討するため、55 例のアトピー性脊髄炎患者と 367 例の健常コントロール末梢血から抽出した DNA サンプルを解析した。

平山病患者髄液中サイトカインの解析(桑原)(分担研究報告書あり)

平山病患者の一部に高 IgE 血症を認める。平山病 12 例、正常対照 12 例の血清中サイトカイン 27 種を時期ビーズサスペンションアレイアッセイを用いて同時測定した。

脊髄炎患者におけるアトピー性皮膚炎の合併(楠)(分担研究報告書あり)

アトピー性脊髄炎は、アレルギー科の医師(眼科、皮膚科、耳鼻科)には周知されていないため、実態が把握されていない可能性が高い。2005 年から 2014 年に近畿大学医学部附属病院を受診した患者で、カルテ病名上でアトピー性疾患と脊髄炎の合併例がどの程度存在するか、またその臨床像を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は九州大学倫理委員会、千葉大学倫理委員会、近畿大学倫理委員会の承認を受けて実施された。サイトカイン・ケモカイン等

の測定データ、臨床情報は、決して外部に流出しないよう、厳重に保管された。その公表（学会発表や論文発表）に際しては、被検者の個人名が特定できないようプライバシーの保護に配慮された。動物実験では、九州大学医学部および名古屋大学動物実験倫理委員会の審査を受け、「動物保護及び保管に関する法律」、「実験動物の飼育及び保管に関する基準」（総理府告示第 6 号）の規制に基づいて実施された。実験に使用するマウスなどの動物は、苦痛の軽減、排除の方法として、十分な麻酔を行った上で使用された。

### C. 研究結果

アトピー性脊髄炎モデルマウスの作成と解析（吉良、錫村、城戸）

気管支喘息モデルマウスでは神経障害性疼痛、アロディニアを認めた（図 1）。

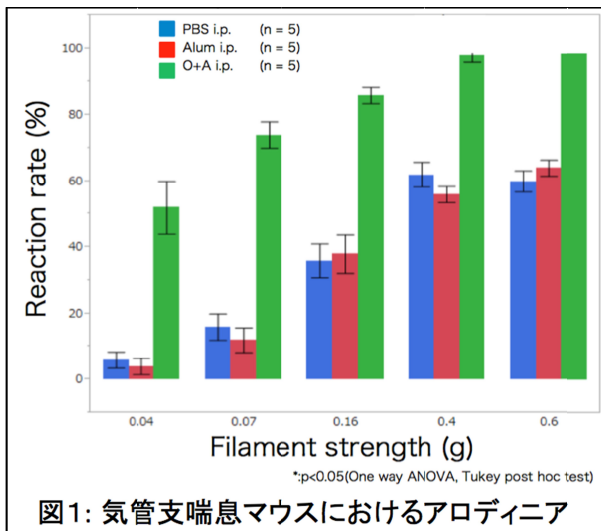


図1: 気管支喘息マウスにおけるアロディニア

これらのマウス脊髄では、ミクログリアやアストロサイトの増殖、活性化を認め、いわゆるグリア炎症が惹起されていた（図 2）。

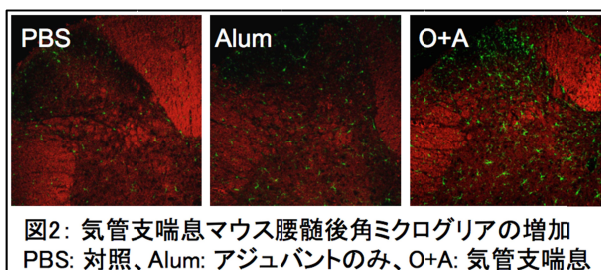


図2: 気管支喘息マウス腰髄後角ミクログリアの増加  
PBS: 対照, Alum: アジュバントのみ, O+A: 気管支喘息

また、血管内皮細胞の活性化および血液脳関

門の破綻が見られた。これらのマウス脊髄からミクログリアを単離し、遺伝子発現パターンを網羅的に解析したところ、対照群と比較し幾つかの経路が活性化していた（図 3）。

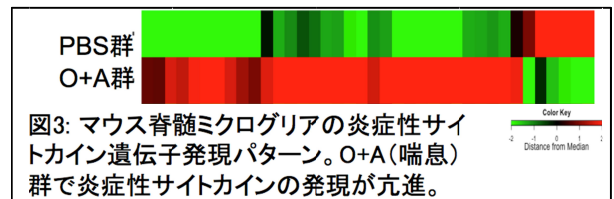


図3: マウス脊髄ミクログリアの炎症性サイトカイン遺伝子発現パターン。O+A(喘息)群で炎症性サイトカインの発現が亢進。

また、受容体レベルでは EDNRB をコードする遺伝子の優位な発現上昇が見られた。実際にモデルマウスの脊髄でも本受容体の発現亢進を免疫染色およびウエスタンブロットで確認した。また、本受容体はミクログリアよりアストロサイトでより強い発現増加をみとめた。EDNRB のリガンドである ET-1 の血中レベルは、気管支喘息マウスで有意に上昇していた。さらに ET-1 は気管支喘息マウスの肺胞でも発現亢進していたことから、本マウスのグリア炎症になんらかの関連性があると思われる。ミノサイクリン 30 mg/kg/day の連日腹腔内投与によりアロディニアは軽減し、脊髄グリア炎症も抑制された（図 4）。

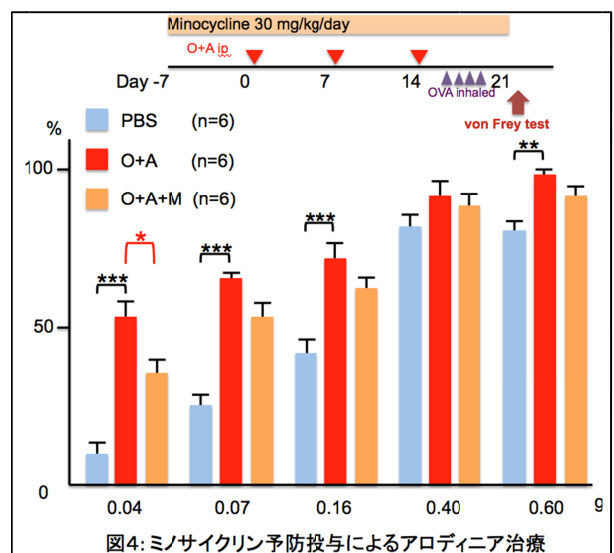


図4: ミノサイクリン予防投与によるアロディニア治療

ミノサイクリンによる治療では血中 ET-1 や脊髄 EDNRB 蛋白発現レベルは変動していなかったことから、ミノサイクリンは ET-1/EDNRB 経路とは異なる機序で症状軽減をもたらした

可能性が高い。ブロムワレリル尿素はさらに著名なアロディニア軽減効果が得られたが、治療群はコントロール群よりもさらに刺激に対する反応率が低下していたことから、アロディニア特異的というよりも麻酔作用が反応を鈍らせている可能性が高いと思われた。

#### 培養グリア細胞におけるアトピー関連サイトカイン産生と反応の解析(錫村、吉良)

C57BL/6 新生仔由来の混合グリア細胞培養より、ミクログリア・アストロサイトを分離し、神経細胞はその皮質神経細胞の一次培養を用いた。各細胞について、アトピー関連サイトカインとその受容体の発現を RT-PCR、ELISA あるいは Western Blotting により検討した。

CCL11(eotaxin-1)はアストロサイトにより産生され、その受容体(CCR3, CCR5)はミクログリアに発現し、これらの遊走および活性酸素種(ROS)の発現亢進に寄与していた。IL-9はT細胞から発現し、中枢神経内での発現は見られないが、その受容体(IL-9RとIL-2R)はアストロサイトが発現し、同細胞のCCL20発現を促進した。CCL20はTh17細胞のBBB通過を誘導した。また、IL-19はミクログリアが発現し、受容体(IL-20R / )もミクログリアが発現していたことから、オートクリン的に働くと思われた。また、IL-19欠損マウスミクログリアは炎症性サイトカインの発現が亢進していたことから、IL-19は炎症抑制的に働くことが示唆された。

#### 脳磁図計を用いたアトピー関連中枢・末梢神経障害患者の神経生理学的解析(萩原、吉良)

アトピー性脊髄炎患者の一次および二次体性感覚野、SI(エスワン)とSII(エスツー)についての脳磁計を用いた検討。AM患者7名について正中神経刺激による誘発磁場反応

を記録した。結果、SIについては、頸髄から末梢の病変の影響が反映されたため、潜時延長や誘発不能例が認められた。ただし、ルーチンで行っているSEPよりもArea 3bの活動に特異的であるため、異常の頻度はやや高いと考えられた。SIIの異常については、N20mの異常がある場合にみられ、やはりSIへ到達するまでの末梢の影響が大きいと考えられた。ただ、先行研究において、MSではSIIの反応が保たれていることが多かったので、代償機転の差など、何らかの病態の違いを反映している可能性は否定できない。

#### アトピー関連中枢末梢神経障害患者における血小板機能解析(吉村、吉良)

アトピー性脊髄炎患者では、罹病期間とEDSSスコアおよび感覚障害スコアが有意な相関を認めた。GPIIb/IIIaはアトピー性脊髄炎患者で有意に高く、また女性で高値を認めた。これらの結果から、アトピー性脊髄炎は進行性の疾患で、末梢神経障害をきたし、血小板凝集能異常を伴うことが初めて明らかとなった(Ainiding et al., J Neuroimmunol 2012)。

#### アトピー性脊髄炎患者剖検症例の病理学的解析(吉田)

2013年と2014年に脳腫瘍が疑われ脳生検が施行され、病理学的に脱髄疾患が疑われた4症例を検討した。

結果：炎症細胞浸潤、好酸球、Creutzfeldt cell(C cell)の有無、MBP、AQP4、GFAPの染色性などを検討した。脱髄疾患には急性期の浮腫性変化より脳腫瘍が疑われる症例(Tumefactive MS)があり、鑑別上注意を要する。脱髄疾患の急性期(発症後1~2ヶ月以内)では、血管周囲性の炎症細胞に、好酸球の出現が高頻度に見られた。好酸球出現は多発性硬化症の病理像として成書に記載されて

いるが、剖検例で観察することは稀であり特記すべき所見であった。Creutzfeldt cell は、脱髄疾患に特異性はないが、比較的よくみられる astrocyte の変化であり、3 例に確認された。数ミリ程度の小切片の脳生検診断には限界があること(サンプルエラー)、ステロイド治療などによる修飾や病勢の変化により病理診断が困難になることにも留意する必要があると思われた。

アトピー性脊髄炎患者における HLA 遺伝子多型の特徴(松下、吉良)

アトピー性脊髄炎患者罹患率と HLA-DPB1 および DRB1 多型との関連性を検索するため、55 例のアトピー性脊髄炎患者および 367 例の健常対照の DNA サンプルを解析したところ、HLA-DPB1\*0201 がアトピー性脊髄炎患者で有意に高値であった(54.5% vs. 31.9%, OR 2.564)。この結果は、アトピー性脊髄炎患者の遺伝免疫学的背景が、他の神経免疫性疾患(多発性硬化症や視神経脊髄炎)と異なることを示唆していた(Sato et al., J. Neuroimmunol 2012)。

平山病患者髄液中サイトカインの解析(桑原)

平山病 12 例、健常対照 12 例の血清中炎症性サイトカインを測定した結果、平山病患者では Eotaxin-1, MCP-1, RANTES, MIP-1b が高値を示した。Eotaxin、RANTES は好酸球遊走・アレルギー性炎症に関与する。好酸球は MMP-9 などを介して collagen 産生に抑制的に作用し、硬膜管の成長発達に影響する可能性が考えられた。今後は、重症度、EMG 脱神経所見との関連を解析するとともに、急性期(進行期)における抗アレルギー療法が奏功する可能性について検討する予定である。

脊髄炎患者におけるアトピー性皮膚炎の合

併(楠)

アトピー性脊髄炎は、アレルギー科の医師(眼科、皮膚科、耳鼻科)には周知されていないため、実態が把握されていない可能性が高い。2005 年から 2014 年に近畿大学医学部附属病院を受診した患者で、カルテ病名上でアトピー性疾患と脊髄炎の合併例がどの程度存在するか、検討するため、アトピー性皮膚炎患者 10238 例、脊髄炎関連疾患 529 例を渉猟した。このうち、アトピー性皮膚炎と脊髄炎関連疾患の合併は 5 名であった。3 名はヤケヒョウヒダニ特異的 IgE 抗体が陽性であった。5 例中 1 例はアトピー性脊髄炎の診断基準を満たし、1 例は「疑い」であった。いずれの症例も単相性の経過で、ステロイドパルス治療が有効であった。また、末梢神経障害患者 521 例中、アトピー性皮膚炎患者は 3 名であったが、いずれもその原因が明らかで免疫介在性とは言い難いものであった。

アトピー性皮膚炎患者の 0.05%に脊髄炎を合併し、脊髄炎患者の 0.85%にアトピー性皮膚炎を合併していた。アトピー性皮膚炎以外のアトピー性疾患に関しても同様の調査が必要であろう。

#### D. 考察

当研究班は、平成 24 年度から平成 26 年度まで、今後増加する可能性が非常に高い、アレルギー性疾患に伴う神経障害の原因解明および治療法開発を目的として研究を行った。

末梢のアレルギー性疾患に起因する神経障害としてはアレルギー性肉芽種性血管炎に伴う末梢神経障害(Churg-Strauss 症候群)に伴う末梢神経障害が有名であるが、アレルギー炎症が直接中枢・末梢神経障害をきたすという報告は我々のグループが報告したアトピー性脊髄炎が初めてである。しかしながら、本疾患は低有病率と認知度の低さから、日本国内でも 1000 名前後の患者がいるのみであり、臨床研究や

基礎研究は端緒についたばかりである。基礎的臨床研究を行うためには動物モデルの作成が必要不可欠であるが、本研究班の研究が始まるまではそのような動物モデルは存在しなかった。平成 24 年度に我々が発見したアレルギー素因マウスにおけるアロディニアは本疾患を部分的に再現するものであり、非常に有意義な発見であった。

アトピー素因モデルマウスにおけるアロディニアは再現性が高い。現在までに知られているアロディニアモデル動物としては、足底への Complete Freund's Adjuvant (CFA) や Carageenan 等の注射、関節炎の作成、神経結紮モデル、UV 照射、虚血、糖尿病モデル等あり、また髄腔内への刺激物質投与(NMDA、オピオイド、ATP、LPS 等)でもアロディニアを誘発できる(Sandkuhler, *Physiol Rev* 2009)。本研究班の研究により、上記に加え新たに気管支喘息などの末梢アレルギー炎症がアロディニアを誘発し、驚いたことに脊髄におけるグリア炎症を伴っていることが明らかとなった。また、内皮細胞の活性化や血液脳関門の破綻を伴っていたことから、末梢のアレルギー炎症がなんらかの経路を介して中枢のグリア炎症を惹起したものと考えられた。錫村らの研究でも、実際の患者髄液中で上昇している CCL11 や IL-9 が実際にグリア炎症の惹起に関係していることが培養系で証明され、本疾患におけるグリア炎症の重要性がうかがえる。最新の実験手法を用いてモデルマウス脊髄のミクログリアを抽出し、発現遺伝子を解析したところ、エンドセリン 1(ET-1)受容体の発現亢進を認め、免疫染色にて本受容体がアストロサイトにより多く発現していること、気管支喘息モデルマウスの肺組織では ET-1 自体の発現が亢進し、血中レベルも上昇していることなどから、末梢から中枢への橋渡し物質として ET-1 が強く示唆された。また、ミノサイクリンによる治療では内皮細胞の活性

化やグリア炎症が抑制され、アロディニアが軽減したことから、アロディニアの成因にグリア炎症が深く関わっていることが裏付けられた。ミノサイクリン治療では血中 ET-1 レベルの減少は見られなかったことから、ET-1 によって惹起された内皮細胞の活性化がミノサイクリンによって抑制され、中枢のグリア炎症をブロックしたことによりアロディニアを抑制したものと思われた。

臨床的研究では、平成 24 年度に吉村らが行った研究で、アトピー性脊髄炎患者では罹病期間と EDSS スコアおよび感覚障害スコアが有意な相関を認め、血小板凝集蛋白 GPIIb/IIIa はアトピー性脊髄炎患者で有意に高く、また女性で高値を認めた。これらの結果から、アトピー性脊髄炎は進行性の疾患で、末梢神経障害をきたし、血小板凝集能異常を伴うことが初めて明らかとなった。また、佐藤らはアトピー性脊髄炎患者の HLA 多型を解析し、鑑別疾患として常に名前が挙がる多発性硬化症や視神経脊髄炎とは明らかに異なる HLA-DPB1\*0201 を保有する率が高いことを報告した。本結果は、臨床像や MRI 画像所見が類似したこれらの疾患も、免疫遺伝学的背景が異なる、別々の疾患群であることを強く示唆していた。

H25-26 年度に、楠らは、脊髄炎患者の 0.85% にアレルギー疾患を併発し、5 例中 2 例はアトピー性脊髄炎の診断基準にほぼ合致していたことが報告された。九大以外からの報告は初めてで、今後の症例蓄積が期待される。アトピー性脊髄炎患者では、MRI 異常を呈さない症例も多いことから、実際の患者数はもっと多いことが考えられる。気管支喘息やアトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎などアトピー素因を持つ患者におけるアロディニアの有病率はさらに増える可能性が強く示唆された。アトピー性脊髄炎の診断において、しばしば多発性硬化症との鑑別が問題になるが、萩原



らは脳磁図を用いた神経生理学的解析で両疾患の差異を指摘しており、今後の診断制度の上昇が期待されている。また、桑原らは、従来は機械的な刺激が発症要因とされていた平山病患者髄液中のアレルギー関連サイトカインの上昇を報告した。急性期の抗アレルギー治療が奏功する可能性を示唆していた。既存の神経炎症性疾患におけるアレルギー炎症の関与の可能性を指摘する重要な報告であった。吉田らの病理学的解析では、脱髄性疾患の生検病理組織における好酸球の浸潤を認めた。従来から脱髄性疾患病理組織中の好酸球浸潤は教科書レベルで指摘されていたが、実際に多発性硬化症と診断されている病理標本中で好酸球の浸潤が証明されたことは重要な意義がある。

#### E. 結論

平成 24 年から平成 26 年度にかけて行った研究により、アレルギー疾患に伴う中枢・末梢神経障害の原因が部分的に解明され、治療法の提案ができたことは、非常に有意義であった。また、従来は軽微な兆候として見逃されていた可能性が高いアロディニアや、アレルギー炎症とは関連性が低いと考えられてきた疾患の病態生理に、末梢のアレルギー性機序やグリア炎症の関与が疑われたことは、今後の診断・治療における大きなパラダイムシフトともなりうる発見であった。

アトピー性脊髄炎の研究は、吉良らが 1997 年に提唱(Kira et al., JNS 1997)して以来、主に九州大学神経内科学教室にて研究を行ってきたが、臨床研究や疫学調査は進歩があったものの基礎研究分野ではモデルマウスの作成や治療に至らなかった。今回、全国の他施設に分担研究を依頼し、新たな視点で研究遂行できたことにより、今回の新たな発見につながった。

本研究班の研究成果は、今後のアトピー関

連中枢・末梢神経障害の臨床診断・治療に大きく貢献できるものと思われた。

#### [参考文献]

- 1) Kira J, Ochi H. Juvenile muscular atrophy of the distal upper limb (Hirayama disease) associated with atopy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2001;70(6):798-801.
- 2) Isobe N, Kanamori Y, Yonekawa T, Matsushita T, Shigeto H, Kawamura N, Kira J. First diagnostic criteria for atopic myelitis with special reference to discrimination from myelitis-onset multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2012;15;316(1-2):30-5.
- 3) Ainiding G, Yamashita K, Torii T, Furuta K, Isobe N, Matsushita T, Masaki K, Matsumoto S, Kira J. Clinical disability progression and platelet GP IIb/IIIa values in patients with atopic myelitis. *J Neuroimmunol*. 2012; 15;246(1-2):108-12.
- 4) Sato S, Isobe N, Yoshimura S, Kanamori Y, Masaki K, Matsushita T, Kira J. HLA-DPB1\*0201 is associated with susceptibility to atopic myelitis in Japanese. *J Neuroimmunol*. 2012; 15;251(1-2):110-3.
- 5) Sandkühler J. Models and mechanisms of hyperalgesia and allodynia. *Physiol Rev*. 2009;89(2):707-58.
- 6) Kira J, Yamasaki K, Kawano Y, Kobayashi T. Acute myelitis associated with hyperIgEemia and atopic dermatitis. *J Neurol Sci*. 1997;29;148(2):199-203.

#### F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表 (2012/4/1~2015/3/31 発表)

## 1.論文発表

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

HLA-DPB1\*0201 is associated with susceptibility to atopic myelitis in Japanese. *J Neuroimmunol.* 2012; 15;251(1-2):110-3.

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

Clinical disability progression and platelet GP IIb/IIIa values in patients with atopic myelitis. *J Neuroimmunol.* 2012 ;15;246(1-2):108-12.

3) Isobe N, Kanamori Y, Yonekawa T, Matsushita T, Shigeto H, Kawamura N, Kira J. First diagnostic criteria for atopic myelitis with special reference to discrimination from myelitis-onset multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 2012; 15;316(1-2):30-5.

4) Jin S, Sonobe Y, Kawanokuchi J, Horiuchi H, Cheng Y, Wang Y, Mizuno T, Takeuchi H, Suzumura A. Interleukin-34 restores blood-brain barrier integrity by upregulating tight junction proteins in endothelial cells. *PLoS One.* 2014; 23;9(12):e115981.

5) Wang Y, Jin S, Sonobe Y, Cheng Y, Horiuchi H, Parajuli B, Kawanokuchi J, Mizuno T, Takeuchi H, Suzumura A. Interleukin-1 induces blood-brain barrier disruption by downregulating Sonic hedgehog in astrocytes. *PLoS One.* 2014; 14;9(10):e110024.

山崎 亮, 吉良 潤一. アトピー性脊髄炎.

In: 水澤 英洋・編. 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ 神経症候群(第2版)II, 大阪, 株式会社日本臨床社, 2014; p822-826.

## 2.学会発表

(国内)

(平成24年度)

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

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

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

(平成25年度)

1) 吉良 潤一

アレルギー性炎症と中枢神経障害. 第8回順天堂眼アレルギー研究会 2014.2.26 東京.

2) 王 冰、山崎 亮、方 梅、城戸 瑞穂、吉良 潤一. 末梢のアトピー素因による中枢神経系ミクログリアの活性化. 第18回グリア研究会 2013. 10. 26 仙台.

(平成26年度)

1) Wang B, Yamasaki R, Kido M, Masaki K, Kira J: Allodynia and microglial activation induced by peripheral atopic diathesis. 第55回日本神経学会学術大会 2014.5.21~24 福岡.

2) 山崎亮、王冰、藤井敬之、城戸瑞穂、津

田誠、井上和秀、吉良潤一：気管支喘息モデルマウスはミクログリア活性化とアロディニアを生じる。第 25 回日本末梢神経学会学術集会 2014.8.29～30 京都。

3) Wang B, Yamasaki R, Kido M, Masaki K, Kira J: Peripheral atopic diathesis induces microglial activation and allodynia. 第 26 回日本神経免疫学会 2014.9.4～6 石川。

4) Yamasaki R, Wang B, Fujii T, Kido M, Tsuda M, Inoue K, Kira J: Atopic inflammation induces microglial activation and tactile allodynia.

第 37 回日本神経科学大会 2014.9.11～13 神奈川。

(海外)

(平成 24 年度)

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

2) Sato S, Yoshimura S, Yonekawa T, Isobe N, Kanamori Y, Masaki K, Matsushita T, Kira J: Relationship Between Human Leukocyte Antigen Polymorphisms and Disease Susceptibility in Japanese Patients with

Multiple Sclerosis, Neuromyelitis Optica, or Atopic Myelitis (ポスター)。PACTRIMS 2012.9.13～15 北京。

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

(平成 25 年度)

なし

(平成 26 年度)

1) Yamasaki R, Wang B, Fang M, Fujii T, Kido M, Kira J: Atopic inflammation induces microglial activation and tactile allodynia. CSHL Conference on Glia in Health & Disease 2014. 7.17-7.21 New York。

#### 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