

厚生労働科学研究費補助金  
障害者対策総合研究事業(神経・筋疾患分野)

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

平成 24 年度 ～ 平成 26 年度 総合研究報告書

研究代表者 吉良 潤一

平成 27 年 (2015 年) 5 月

## 目 次

### I. 総合研究報告

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-----	1
吉良 潤一	

### II. 分担研究報告(H24-H26 総括研究報告)

1. 平山病とアトピー素因-----	12
千葉大学大学院医学研究院神経内科学 桑原 聡	
2. アトピー関連サイトカインの中枢神経系での作用-----	14
名古屋大学環境医学研究所神経免疫学 錫村 明生	
3. アトピー素因が末梢組織に与える影響の解明-----	17
九州大学大学院歯学研究院分子航空解剖学 城戸 瑞穂	
4. アトピー性脊髄炎患者の一次および二次体性感覚野応答:脳磁計を用いた検 討-----	21
九州大学大学院医学研究院臨床神経生理学 萩原 綱一	
5. アトピー性皮膚炎と脊髄症-----	24
近畿大学医学部 神経内科 楠 進	
6. アトピー性脊髄炎の臨床病理学的研究-----	26
愛知医科大学加齢医科学研究所 吉田 眞理	
7. 非喫煙喘息死患者における炎症細胞・サイトカインに関する研究-----	28
久留米大学医学部内科学講座呼吸器・神経・膠原病内科部門 星野 友昭	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表-----	32
--------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別冊-----	44
----------------------	----

## 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）。

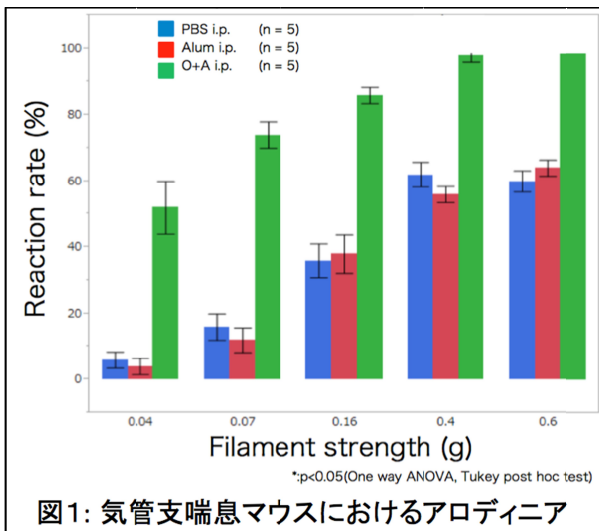


図1: 気管支喘息マウスにおけるアロディニア

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）。

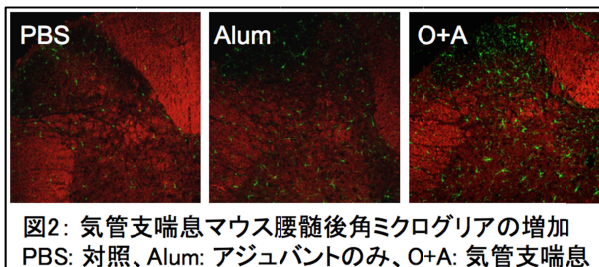


図2: 気管支喘息マウス腰髄後角ミクログリアの増加  
PBS: 対照, Alum: アジュバントのみ, O+A: 気管支喘息

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）。

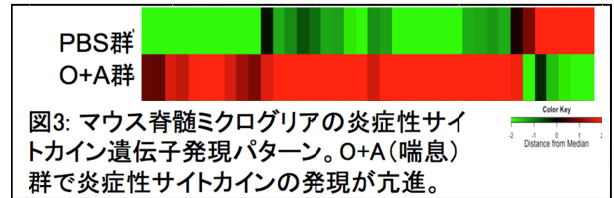


図3: マウス脊髄ミクログリアの炎症性サイトカイン遺伝子発現パターン。O+A(喘息)群で炎症性サイトカインの発現が亢進。

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）。

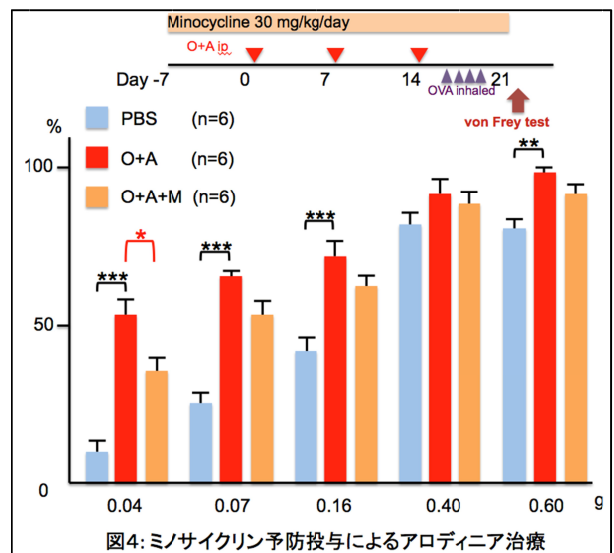


図4: ミノサイクリン予防投与によるアロディニア治療

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、比較的好くみられる 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(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

## 平山病とアトピー素因

研究分担者：桑原 聡 千葉大学大学院医学研究院神経内科学  
研究協力者：別府 美奈子 千葉大学大学院医学研究院分子病態解析学  
澤井 撰 千葉大学大学院医学研究院分子病態解析学  
三澤 園子 千葉大学大学院医学研究院神経内科学

### 研究要旨

平山病患者の一部では血清 IgE 高値を示すことが報告されており、平山病の発症・悪化のリスクの一つとしてアトピー素因の関与が考えられている。平山病患者及び正常対照の血清を用い、27 種類のサイトカインを同時測定した。正常対照と比較して平山病患者では、Eotaxin、MCP-1、RANTES、MIP-1b の 4 つのサイトカインが有意に上昇していた。Eotaxin、RANTES は好酸球遊走・アレルギー性炎症に関わるサイトカインであり、アトピー素因が平山病の病態に関連していることが示唆された。

### A. 研究目的

平山病患者の一部に高 IgE 血症を認めることが報告されており、平山病の発症・悪化のリスクにアトピー素因の関与が示唆されている。そこで平山病の悪化リスクとしてのアトピー素因について明らかにすることを目的とし、平山病患者血清でサイトカインを測定した。

### B. 研究方法

Bio-Plex マルチプレックスシステム（BIO-RAD）を用いて、平山病 12 例、正常対照 12 例の血清における 27 種類のサイトカインを測定した。

**（倫理面への配慮）** 検体は匿名化して扱い、千葉大学大学院医学研究院の倫理申請のもとに行った。

### C. 研究結果

平山病患者血清では正常対照と比較し、Eotaxin、MCP-1、RANTES、MIP-1b の 4 つのサイトカインが有意に上昇していた。

### D. 考察

Eotaxin、RANTES は好酸球遊走・アレルギー性炎症に関与するサイトカインである。これらのサイトカインの上昇は平山病のアトピー素因を反映した結果であった。平山病の病態機序として、頸部前屈時の硬膜管前方移動による頸髄圧迫に伴う前角運動ニューロン障害が想定されている。好酸球は MMP-9 などを介して collagen 産生に抑制的に作用することから硬膜管の成長発達に影響し、平山病の発症並びに増悪に関与する可能性がある。

## E. 結論

平山病患者血清では好酸球遊走・アレルギー性炎症に関連するサイトカインの上昇がみられており、アトピー素因が平山病の病態に関与している可能性がある。

## [参考文献]

[雑誌]

1. Ito S, Kuwabara S, Fukutake T, Tokumaru Y, Hattori T. HyperIgEaemia in patients with juvenile muscular atrophy of the distal upper extremity (Hirayama disease). JNNP. 2005;76:132-134
2. Hirayama K, Tokumaru Y. Cervical dural sac and spinal cord in juvenile muscular atrophy of distal upper extremity. Neurology. 2000;54:1922-6

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Uzawa A, Masahiro M, Kuwabara S. Cytokines and chemokines in neuromyelitis optica: pathogenetic and therapeutic implications. Brain Pathol. 2014;24:67-73
- 2) Masuda H, Mori M, Katayama K, Kikkawa Y, Kuwabara S. Anti-aquaporin-4 antibody-seronegative NMO spectrum disorder with Baló's concentric lesions. Intern Med. 2013;52:1517-21
- 3) Uzawa A, Mori M, Sawai S, Masuda S, Muto M, Uchida T, Ito S, Nomura F, Kuwabara S. Cerebrospinal fluid interleukin-6 and glial fibrillary acidic

protein levels are increased during initial neuromyelitis optica attacks. Clin Chim Acta. 2013;421:181-3

- 4) Uzawa A, Mori M, Masuda S, Muto M, Kuwabara S. CSF high-mobility group box 1 is associated with intrathecal inflammation and astrocytic damage in neuromyelitis optica. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2013;84:517-22.

## 2. 学会発表

発表者名. 題名. 学会名. 発表地, 発表日.

## 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

研究成果の刊行に関する一覧表  
(2012年4月1日～2015年3月31日迄)

**雑誌** 御名前：桑原聡 先生

英文著書 : 11 ポイント・Century

日本文著書 : 11 ポイント・MS 明朝

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Uzawa A, Masahiro M, Kuwabara S.	Cytokines and chemokines in neuromyelitis optica: pathogenetic and therapeutic implications.	Brain Pathol.	24	67-73	2014
Masuda H, Mori M, Katayama K, Kikkawa Y, Kuwabara S.	Anti-aquaporin-4 antibody-seronegative NMO spectrum disorder with Baló's concentric lesions.	Intern Med.	52	1517-21	2013
Uzawa A, Mori M, Sawai S, Masuda S, Muto M, Uchida T, Ito S, Nomura F, Kuwabara S.	Cerebrospinal fluid interleukin-6 and glial fibrillary acidic protein levels are increased during initial neuromyelitis optica attacks.	Clin Chim Acta.	421	181-3	2013
Uzawa A, Mori M, Masuda S, Muto M, Kuwabara S.	CSF high-mobility group box 1 is associated with intrathecal inflammation and astrocytic damage in neuromyelitis optica.	J Neurol Neurosurg Psychiatry.	84	517-22	2013



厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業（神経・筋疾患分野））

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

分担研究報告書

## アトピー関連サイトカインの中枢神経系での作用

研究分担者 錫村明生 名古屋大学環境医学研究所神経免疫学<sup>1)</sup>

研究協力者 竹内英之<sup>1)</sup>、園部佳史<sup>1)</sup>、Bijay Parajuli<sup>1)</sup>、堀内 浩<sup>1)</sup>、水野哲也<sup>1)</sup>

### 研究要旨

アトピー性脊髄炎（AM）の本態は不明であるが、AMの髄液中でさまざまなアトピー関連サイトカインが増加していることから、中枢神経系での病態発現機序にこれらのサイトカインが関与していると考えられる。我々は、アトピー関連サイトカインの中枢神経系にける産生とその機能を検討した。その結果、これらのサイトカインが中枢神経系で産生され、中枢神経系では独自の作用を持つことが明らかになった。その他、アトピー関連疾患において末梢で産生されるIL-9も、神経系内への浸潤後は末梢とは異なる特異な作用を持ち、AMの病態形成に関与している可能性が示唆された。

### A. 研究目的

アトピー性脊髄炎（AM）の病態は不明であるが、他の脊髄炎に比べCCL11（eotaxin-1）、IL-9などのアトピー関連サイトカインがAMの脳脊髄液中で上昇していることが示されている。本研究では、これらのサイトカインの中枢神経系内での作用を検討し、AMの病態にアプローチした。

### B. 研究方法

C56BL/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。各々のサイトカインについて、ミクログリア、アストロサイト、神経細胞に対する作用を既報のごとく検討した。

### C. 研究結果

CCL11（eotaxin-1）はアストロサイトにより産生され、炎症性サイトカインでその産生が亢進した。その受容体（CCR3、CCR5）はミクログリアが表現していた（図1）。CCL11はミクログリアの遊走を誘導し（図1）、さらにNOX1産生を介して活性酸素（ROS）を産生し、ミクログリアの神経傷害作用を誘導した（図2）。

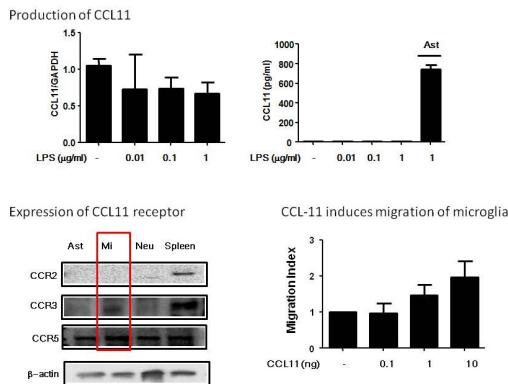


図 1

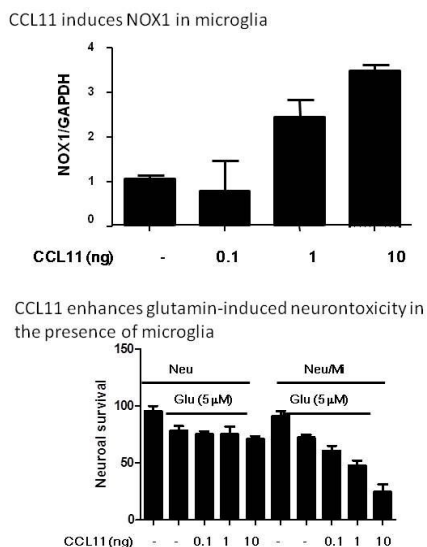


図 2

IL-9 は IL-4 存在下で Th2、Th17 より産生され、中枢神経系では産生はされなかった。その受容体 (IL-9R と IL-2R の複合体) はアストロサイトのみに発現していた。IL-19 はアストロサイトの CCL20 産生を誘導し、その CCL20 が Th17 細胞の血液脳関門の通過を促進した。もう一つのアトピー関連サイトカインである IL-19 はミクログリアにより産生され、その受容体 (IL-20Rαとβの複合体) はミクログリアのみが表現していた。

IL-19 はミクログリアの炎症因子、栄養因子の産生には影響を与えなかったが、IL-19 ノックアウトマウス由来のミクログリアでは炎症性サイトカインの産生が亢進しており、その亢進が IL-19 添加で抑制されることから、IL-19 はミクログリアの抑制刺激として働いている可能性が想定された。

## D. 考察と結論

さまざまなアトピー関連サイトカインが中枢神経系において産生され、中枢神経系では独自の作用を持つことが明らかになった。その他、アトピー関連疾患において末梢で産生される IL-9 も、神経系内への浸潤後は末梢とは異なる特異な作用を持ち、AM の病態形成に関与している可能性が示唆された (図 3)。

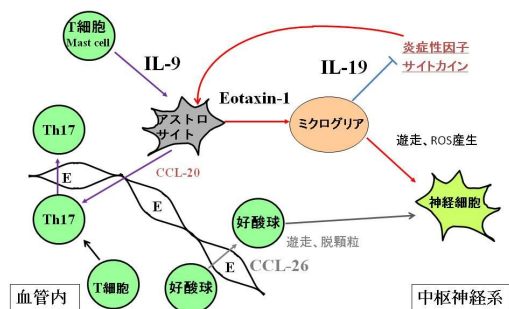


図 3

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

- 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.

2014 PLoS One 9(12) e115981

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

3. Takeuchi H, Suzumura A. Gap junctions and hemichannels composed of connexins: potential therapeutic targets for neurodegenerative diseases. Front Cell Neurosci. 2014 8, 189

4. Doi Y, Takeuchi H, Mizoguchi H, Fukumoto K, Horiuchi H, Jin S, Kawanokuchi J, Parajuli B, Sonobe Y, Mizuno T, Suzumura A. Granulocyte-colony stimulating factor attenuates oligomeric amyloid  $\beta$  neurotoxicity by activation of neprilysin. PLoS One 2014 9(7), e103458

5. Burkovetskaya M, Karpuk N, Xiong J, Bosch M, Boska MD, Takeuchi H, Suzumura A, Kielian T. PLoS One 2014 9(4), e95023

6. Noda M, Takii K, Parajuli B, Kawanokuchi J, Sonobe Y, Takeuchi H, Mizuno T, Suzumura A. FGF-2 released from degenerating neurons exerts

microglial-induced neuroprotection via FGFR3-ERK signaling pathway. J Neuroinflammation 2014 11, 76

7. Fukumoto K, Mizoguchi H, Takeuchi H, Horiuchi H, Kawanokuchi J, Jin S, Mizuno T, Suzumura A. Fingolimod increases brain-derived neurotrophic factor levels and ameliorates amyloid  $\beta$ -induced memory impairment. Behav Brain Res. 2014 268, 88-93

8. Cheng Y, Takeuchi H, Sonobe Y, Jin S, Wang Y, Horiuchi H, Parajuli B, Kawanokuchi J, Mizuno T, Suzumura A. Sirtuin 1 attenuates oxidative stress via upregulation of superoxide dismutase 2 and catalase in astrocytes. J Neuroimmunol. 2014 269(1-2) 38-43.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 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（障害者対策総合研究事業（神経・筋疾患分野））

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

分担研究報告書

## アトピー素因が末梢組織に与える影響の解明

研究分担者：城戸 瑞穂 九州大学大学院歯学研究院

研究協力者：村田 直久 九州大学大学院歯学研究院

大内 雅博 九州大学大学院歯学研究院

### 研究要旨

アトピーに関連した中枢・末梢神経障害の病因・病態そして治療法を見出すためには、モデル動物の作出が重要である。喘息モデルに用いられる条件を改変し、末梢神経障害が表出される動物作製に成功し、解析を行った。このモデルでは高 IgE 血症を認め、末梢および中枢組織における炎症性細胞浸潤、炎症性サイトカイン、脂質メディエーターの上昇などを認めた。

### A. 研究目的

アトピーに関連した中枢・末梢神経障害の病因・病態そして治療法を見出すためには、モデル動物の作出が重要である。アレルギーモデルとしての過去の報告は、卵白アルブミンの投与による方法などが用いられているが、いずれも短期的なモデルである。そこで、中長期にわたりアレルギーを投与するモデルを評価することとした。

### B. 研究方法

動物実験計画については、九州大学動物実験委員会の承認を得た。実験は動物福祉に十分配慮して実施した。

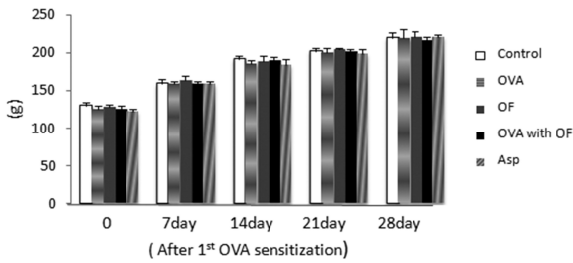
6週齢雄性的 C57BL/6 マウスの腹腔にアジュバントとしてアルミニウムゲルとアレルギーとして卵白アルブミンを投与した。投与は 1 週間毎行い、6 週間継続した。対照群として、無

投与群、アジュバントのみ投与した群あるいはアレルギーのみ投与した群を用いた。薬剤投与 3 および 6 週間後に血清学的解析および組織学的観察を行った。

ラットは高 IgE 血症が惹起され喘息あるいは食物アレルギーモデルとして利用されている Brown-Norway ラットに OVA (1 mg) を背部皮下投与し、同時にアジュバントとして不活性化百日咳菌 ( $1 \times 10^{10}$ ) を投与し、1 週間後に OVA の追加投与を行った。その 1 週間後および 2 週間後にラットを安楽死させ、採血および灌流固定を行った。そして、血清学的解析および組織学的観察を行った。

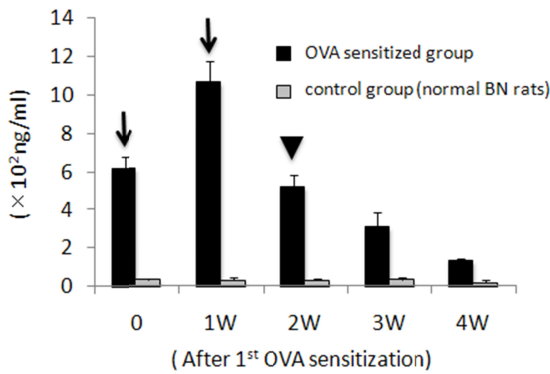
### C. 研究結果

マウス、ラット共に対照群と比較して体重には有意な変化は認められなかった。



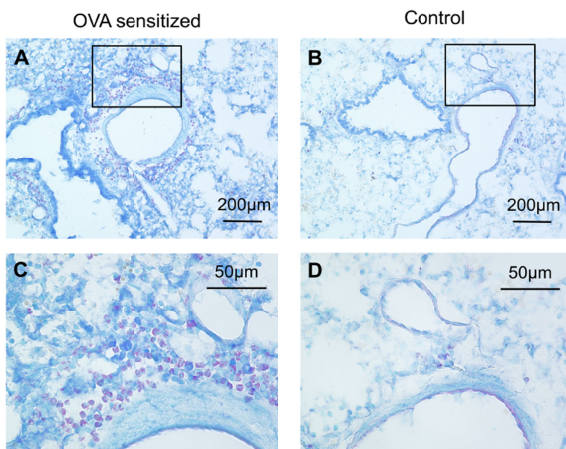
ラットの体重変化

血清中の総 IgE および OVA 特異的 IgE は OVA 投与群に於いて有意に上昇していた。



ラット血清中の OVA 特異的 IgE 濃度

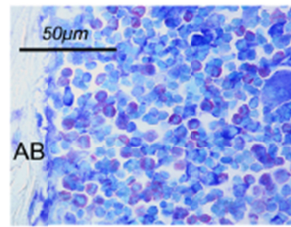
アレルギー反応が惹起されるかどうかを確認するため、OVA を吸入させ、肺および骨髄を組織学に観察した。肺組織には多数の好酸球の浸潤が認められた。また骨組織においても同様であった。



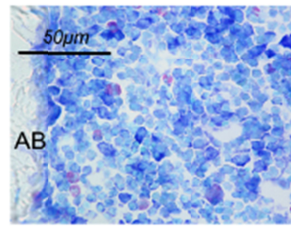
肺の顕微鏡写真

OVA 投与群では多量の赤紫色の好酸球浸潤が認められる。CD は AB の四角部分の拡大像を示す。

OVA sensitized



Control



骨髄においても OVA 投与により多数の好酸球浸潤が認められた。

次に、末梢神経および脊髄神経の変化を調べた。末梢組織、および脊髄のヘマトキシリンエオジン染色を施した切片においても OVA 投与群では炎症性細胞の浸潤が顕著に起こっていた。神経線維の分布や脊髄の構築は光学顕微鏡レベルでは変化は認められなかった。免疫学的な解析は進行中である。

#### D. 考察

アレルギー疾患罹患患者は世界的にも増加しており社会的にも経済的にも大きな課題の一つである。アトピー性皮膚炎や喘息等のアレルギー疾患関連の中枢・末梢神経障害の病因および病態解明のモデルとしてマウスおよびラットのアレルギー惹起を行い、好酸球性の炎症を起こすことが出来た。

これら動物を用い、痛み行動実験を行い、痛覚過敏が観察されたことで(吉良の項参照) このモデルがアトピー関連脳脊髄・末梢神経障害の

一つのモデルとして有用であることが考えられる。

## E. 結論

ラットおよびマウスにおいて卵白アルブミンをアジュバントと共に投与することで高 IgE 血症と末梢組織における好酸球浸潤を伴う病態を作出することができた。

## [参考文献]

[雑誌] 著者名. 題名. 誌名. 発行年 : 巻数 ; 頁 - 頁.

[書籍] 著者名. 題名. In: 編集者名・編. 書籍名, 発行地, 発行所名, 発行年 ; 頁 - 頁.

## F. 健康危険情報

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Akimoto N, Honda K, Uta D, Beppu K, Ushijima Y, Matsuzaki Y, Nakashima S, Kido MA, Imoto K, Takano Y, Noda M. CCL-1 in the spinal cord contributes to neuropathic pain induced by nerve injury. *Cell Death Dis.*2013;4:e679.
2. Murata N, Ioi H, Ouchi M, Takao T, Oida H, Aijima R, Yamaza T, Kido MA. Effect of allergen sensitization on external root resorption. *J Dent Res.*2013;92;641-7.

### 2. 学会発表

1. 村田直久、五百井秀樹、大内雅博、城戸瑞穂、高橋一郎. 矯正歯の移動時におけるアレルギー誘導性歯根吸収促進メカニズムの解明. 第 73 回日本矯正歯科学会大会・第 5 回日韓ジョイントミーティング. 千葉, 2014.10.20-22. 優秀発表賞 受賞
2. 大内雅博、畠山純子、村田直久、良成正

雄、合島怜央奈、城戸瑞穂. アトピー素因が骨代謝に与える影響. 第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会. 栃木, 2014.3.27-29.

3. 吉住潤子、宇都宮怜子、合島怜央奈、木附智子、城戸瑞穂. カプサイシン受容体 TRPV1 の遺伝子多型と口腔痛み感覚. 第 55 回歯科基礎医学会学術大会. 岡山, 2013.9.20-22.
4. 村田直久、五百井秀樹、大内雅博、合島怜央奈、沖雄二、山座孝義、高橋一郎、城戸瑞穂. 矯正歯の移動時におけるアレルギー誘導性歯根吸収促進機構. 第 55 回歯科基礎医学会学術大会. 岡山, 2013.9.20-22.
5. 宇都宮怜子、合島怜央奈、吉住潤子、木附智子、壇上敦、山下佳雄、城戸瑞穂. 口腔内乾燥を訴える患者に認められた口唇粘膜上皮のバリア機構の破綻. 第 55 回歯科基礎医学会学術大会. 岡山, 2013.9.20-22.
6. Kido MA, Ouchi N, Hatakeyama J, Murata M, Yoshinari M, Aijima R, Ioi H, Takahashi I. Novel insight into mechanisms of bone loss from allergic inflammation using experimental mouse model. 2nd Joint Meeting of the International Bone and Mineral Society and The Japanese Society for Bone and Mineral Research. 神戸, 2013.5.28-6.1.
7. 吉住潤子、合島怜央奈、大山順子、森悦秀、豊福明、木附智子、城戸瑞穂. 唐辛子辛味成分カプサイシン受容体 TRPV1 の遺伝子多型と口腔疼痛症候との関連. 第 67 回日本口腔科学会学術集会. 宇都宮, 2013.5.22-24.
8. Kido MA, Wang B, Aijima R, Takao T, Nishida M, Ohsaki Y, Zhang JQ, Mizuno A, Suzuki M, Noda M. Oral

9. epithelial cells are osmo-sensitive and regulate epithelial barrier via TRPV4. Neuroscience 2012. New Orleans, 2012.10.14.
10. 吉住潤子、大山順子、合島怜央奈、森悦秀、城戸瑞穂。ヒト口腔粘膜における TRPV1 チャネルの発現と SNP 解析。第 66 回日本口腔科学学会・学術集会.広島,2012.5.17.

## **H. 知的財産権の出願・登録状況**

**1. 特許取得 なし**

**2. 実用新案登録 なし**

**3. その他**

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業（神経・筋疾患分野））

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

分担研究報告書

アトピー性脊髄炎患者の一次および二次体性感覚野応答：脳磁計を用いた検討

研究分担者：萩原 綱一 九州大学大学院医学研究院脳研臨床神経生理

## 研究要旨

近年適応が拡大された脳磁計を用いて一次・二次体性感覚野の誘発反応を評価し、アトピー性脊髄炎の感覚系機能的異常の検出および病態を反映した所見の同定を試みた。一次体性感覚野の誘発反応においては、従来検査である体性感覚誘発電位に比し潜時・振幅の異常が検出されやすい傾向が認められ、一方、二次体性感覚野の誘発反応においては、多発性硬化症に比して誘発不能例が多く、皮質機能障害・代償機転の差に関連した影響が示唆された。

## A. 研究目的

アトピー性脊髄炎患者の中枢性感覚異常（一次（SI）および二次（SII）体性感覚野応答）の特徴について脳磁計を用いて評価し、電気生理学的観点から疾患の特徴を検討した。

## B. 研究方法

対象はアトピー性脊髄炎患者 7 名（年齢  $44.7 \pm 8.0$  歳；罹病期間  $12.1 \pm 6.5$  年）左右上肢について正中神経（手首）を電気刺激（3～4 mA，3 秒間隔）し、306ch 全頭型脳磁計（Elekta-Neuromag 社製）を用いて体性感覚誘発磁場（SEF）を記録した（100 回反応加算平均）記録された反応について SI および SII の誘発反応を分離し、各々について振幅・潜時を評価した。SI の誘発反応については皮質到達時間を反映する頂点潜時 20 ms 前後の誘発成分（N20m）に着目して解析した。SII については頂点潜時 80-120 ms で記録される主

成分について解析した。先行研究[1]において求めた正常値（年齢的变化を考慮）および多発性硬化症患者における特徴と比較検討した。**（倫理面への配慮）**

脳磁計を用いた SEF の計測は中枢神経疾患の感覚障害及び運動障害の鑑別診断のための臨床検査として保険診療上認められており、検査適応は個々の患者の臨床背景をもとに決定された。健常者および多発性硬化症患者については先行研究[1]において取得されたデータを再解析した。

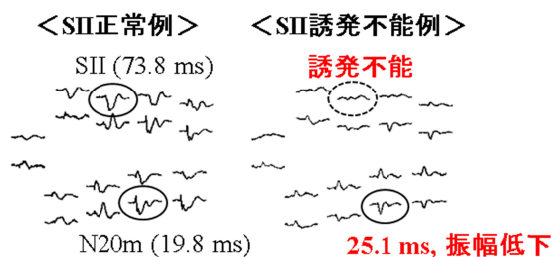
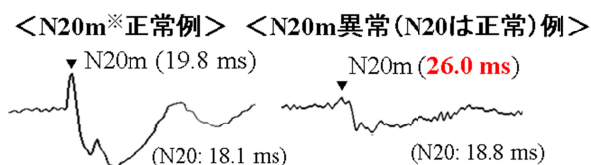
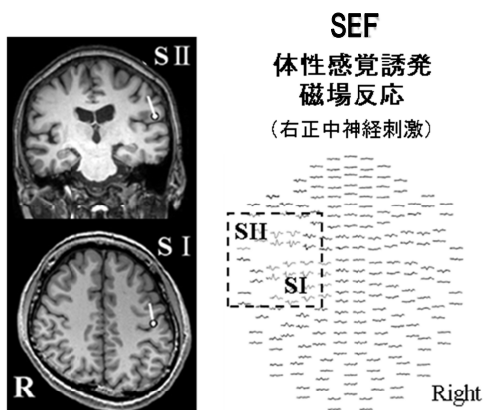
## C. 研究結果

SI（N20m）の潜時の平均は  $22.9 \pm 2.6$  ms であり、年齢を考慮した正常範囲（ $21.4 \pm 1.0$  ms [1,2]）より延長していた。4 上肢で延長し、2 上肢で誘発不能であった。異常例では MRI および SEP で頸髄～末梢神経の異常が指摘されていたが、延長例のうち 2 上肢では、



MRI 上で頸髄病変指摘されるも，従来の感覚機能検査である体性感覚誘発電位 (SEP) は正常であった。

SII の潜時の平均は  $99.3 \pm 13.8$  ms であり，正常範囲 ( $91.2 \pm 15.8$  ms [1,2]) と明らかな差は認めなかった。しかしながら，3 肢で誘発不能 (健常者では全例誘発可能 [1,2]) であり，かならず SI (N20m) の異常を伴っていた (下図)。



N20m: SEP における N20 に相当する成分。

#### D. 考察

SI (N20m) については，頸髄病変ないし末梢神経のレベルにおける病変の影響が反映されたために潜時延長や誘発不能例が認められたと考えられた。従来検査である SEP と概ね対応する結果であったが，SEP における N20 が正常な例において N20m が延長しているこ

とがあり，SEF の異常検出頻度はやや高いと考えられた。脳磁計を用いて記録される SEF は SI の主な活動源である Area 3b に特異的な活動を計測しているため，SEP よりも感度が高い可能性が示唆された。

SII の異常については，上述のごとく N20m の異常がある場合に認められ，やはり SI へ到達するまでの末梢神経ないし頸髄病変による伝導異常の影響が反映されていると考えられた。重要なことに，先行研究において計測された多発性硬化症患者のデータでは SII の反応が正常に保たれていることが多かったため [1]，皮質障害や皮質代償機転の差など，何らかの病態の違いを反映している可能性が示唆された。

#### E. 結論

SEF を用いて SI と SII の 2 つの領域を評価することは，機能的側面から病態の存在を明らかにし，さらに主な鑑別疾患である多発性硬化症との病態の差異を可視化するために有用である可能性が示唆された。

#### [参考文献]

- [1] Hagiwara K, Okamoto T, Shigeto H, Ogata K, Somehara Y, Matsushita T, Kira J, Tobimatsu S. Oscillatory gamma synchronization binds the primary and secondary somatosensory areas in humans. *Neuroimage*. 2010;51;412-20.
- [2] Hagiwara K, Ogata K, Okamoto T, Uehara T, Hironaga N, Shigeto H, Kira J, Tobimatsu S. Age-related changes across the primary and secondary somatosensory areas: an analysis of neuromagnetic oscillatory activities. *Clin Neurophysiol*. 2014;125;1021-9.

#### F. 健康危険情報

無 .

## **G. 研究発表 (2012/4/1~2015/3/31 発表)**

### **1. 論文発表**

Hagiwara K, Ogata K, Okamoto T, Uehara T, Hironaga N, Shigeto H, Kira J, Tobimatsu S. Age-related changes across the primary and secondary somatosensory areas: an analysis of neuromagnetic oscillatory activities. Clin Neurophysiol. 2014;125;1021-9.

### **2. 学会発表**

Hagiwara K, Ogata K, Okamoto T, Uehara T, Hironaga N, Shigeto H, Tobimatsu S. Neuromagnetic Changes of the Somatosensory

Information Processing in Normal Aging. The 2012 IEEE/ICME International Conference on Complex Medical Engineering. Kobe. 2012.07.03.

## **H. 知的財産権の出願・登録状況**

**(予定を含む.)**

### **1. 特許取得**

無 .

### **2. 実用新案登録**

無 .

### **3. その他**

無 .

## 分担研究報告書

### アトピー性皮膚炎と脊髄症

研究分担者： 楠 進 （近畿大学医学部 神経内科）

研究協力者： 宮本勝一 （近畿大学医学部 神経内科）

#### 研究要旨

アトピー性皮膚炎を合併する脊髄症について関係診療科のカルテ検索にて調査した。2005年から2014年までの10年間で、近畿大学医学部附属病院を受診したアトピー性皮膚炎患者は10238名、脊髄炎関連疾患の患者は529名であった。両疾患合併例は5名で、詳細を確認できた3名では、ヤケヒョウヒダニとコナヒョウヒダニに対するIgE亢進を認め、そのうちの2名がIsobeらのアトピー性脊髄炎の診断基準に合致した。いずれも単発の脊髄炎であり、ステロイドパルス治療が有効であった。

#### A. 研究目的

アトピー性脊髄炎（atopic myelitis）は、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、気管支喘息などのアトピー性疾患が先行し、脊髄にアトピー性炎症を起こす免疫性神経疾患であるとされている（表1）。しかし本疾患は、患者が最初に受診すると考えられる皮膚科、耳鼻咽喉科、アレルギー科等の医師には周知されていない疾患であるため、実態が十分に把握されていない可能性が高い。今回、我々は、関係診療科のカルテ検索からアトピー性疾患と脊髄症との実態を調査した。

#### B. 研究方法

2005年から2014年の期間に近畿大学医学部附属病院を受診した患者を対象とし、カルテ病名による患者検索を行った。一部症例は、カルテ確認を行い、臨床情報の正確性を確認した。

（倫理面への配慮）本研究は当施設の倫理委員会にて承認された（受付番号22-129）。

#### C. 研究結果

アトピー性皮膚炎の患者は10238名、脊髄炎関連疾患の患者は529名であった。脊髄炎関連疾患の内訳は多発性硬化症（MS）348名、視神経脊髄炎

18名、脊髄炎221名であったが、図1のような病名重複があった。アトピー性皮膚炎と脊髄炎関連疾患の合併例は5名（MS2名、脊髄炎3名）であったが、そのうち1名は詳細を確認できなかった。表2に示すように、3名でヤケヒョウヒダニとコナヒョウヒダニに対するIgE亢進を認め、そのうちの2名がIsobeらのアトピー性脊髄炎の診断基準に合致した。いずれも単発の脊髄炎であり、ステロイドパルス治療が有効であった。

次に、末梢神経障害との合併について調査した。末梢神経障害の患者数は521名だった。その中でアトピー性皮膚炎の合併は3名であった。しかし、内訳は糖尿病性ニューロパチー、橈骨神経麻痺、帯状疱疹に伴う神経炎であり、アトピーとの因果関係は否定的であった。

#### D. 考察

2000年全国調査では、79例のアトピー性脊髄炎が報告され、特徴として男性にやや多く、平均発症年齢は $35.8 \pm 13.6$ 歳、73.4%にアトピー性疾患の合併を認め、その内訳は41.8%がアトピー性皮膚炎、22.8%が気管支喘息、27.8%がアレルギー性鼻炎・花粉症であった。発症様式は60%が急性発症で、推定病巣は頸髄が75.9%と最多であった（

Osoegawa M, et al. J Neurol Sci. 2003)

九州大学では、1996年から2010年の15年間で69例のアトピー性脊髄炎が報告されており、発症には地域差が推定される。

アトピー性皮膚炎 10238名中5名(0.05%)に脊髄炎を合併し、脊髄炎関連疾患 529名中5名(0.85%)にアトピー性皮膚炎を合併していた。

他のアトピー性疾患についても、脊髄炎を合併する可能性があり、さらなる調査が必要である。

E. 結論

図1 脊髄炎関連疾患の内訳

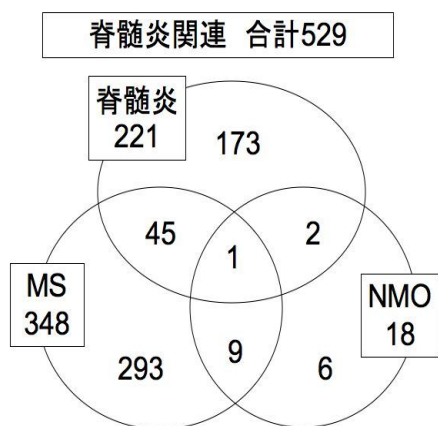


表1 アトピー性脊髄炎の診断基準

必須項目	1)原因不明の脊髄炎 2)アレルギー特異的IgE陽性 3)脳MRIでBarkhof基準を満たさない
主要組織所見	脊髄生検所見で種々の程度の好酸球浸潤を伴う炎症巣を認め、髄鞘の軸索もともに脱落する。肉芽腫を伴うこともある。
補助項目	陽性所見 1)アトピー性疾患の合併または既往 2)血清総IgE値高値(240 U/mL以上) 3)髄液IL-9高値(14 pg/mL以上)またはeotaxin高値(2.2 pg/mL以上)
	陰性所見 4)髄液オリゴクローナルバンド陰性
診断	確定 必須項目+主要組織所見 または 必須項目+陽性所見2つ+陰性所見
	疑い 必須項目+陽性所見/陰性所見から2つ

Isobe N, et al. J Neuro Sci 2012より

表2 アトピー性皮膚炎と脊髄炎関連疾患の合併例

症例	脊髄炎部位	特異 IgE 高値	アトピー性脊髄炎診断基準	診断
1 39 F	C4, Th8	コナ表皮ダニ ヤケ表皮ダニ	必須項目2)満たす 補助項目2)満たす	MS
2 28 M	C7-Th1, Th7	なし	必須項目満たさず 補助項目1)2)4)満たす	MS
3 23 M	C4-5	コナ表皮ダニ ヤケ表皮ダニ	必須項目すべて満たす 補助項目1)2)4)満たす	アトピー性脊髄炎(確定)
4 21 M	Th12	コナ表皮ダニ ヤケ表皮ダニ	必須項目すべて満たす 補助項目1)4)満たす	アトピー性脊髄炎(疑い)
5 20 F	不明	不明	不明	脊髄炎(情報不足)

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表(2012/4/1~2015/3/31 発表)

なし

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（障害者対策総合研究事業（神経・筋疾患分野））

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

分担研究報告書

## アトピー性脊髄炎の臨床病理学的研究

研究分担者：吉田眞理 所属機関 愛知医科大学加齢医科学研究所

研究協力者：三室マヤ、岩崎靖 所属機関 愛知医科大学加齢医科学研究所

小林麗 所属機関 名古屋医療センター神経内科

### 研究要旨

アトピー関連脳脊髄炎の病理像を検討した。剖検例では脊髄は高度な髄鞘脱落と軸索の障害を示し、古典的な多発性硬化症、視神経脊髄炎などとは異なる病理像を示したが、治療による修飾のため活動的な炎症細胞は確認できなかった。脱髄疾患の脳生検の組織像には多数の好酸球浸潤を認め、アトピー関連脳脊髄炎との類似点が示唆された。

### A. 研究目的

アトピー関連脳脊髄炎の病態を考える上で、人の組織像の検討は欠くことできない。われわれは臨床的にアトピー関連脳脊髄炎が疑われた剖検例を臨床病理学的に検討した。

一方、神経免疫疾患の剖検例の病理検索は病巣の分布や程度の評価には有用であるが、急性期の病態検索には必ずしも十分とはいえない。そこで、アトピー関連脳脊髄炎と他の脱髄疾患との類似性と相違を明らかにする目的で、脳生検が施行された組織病変における炎症細胞浸潤について検討した。

### B. 研究方法

妊娠中期にアトピー関連脳脊髄炎に罹患し全経過1年2ヶ月で死亡した22歳女性を神経病理学的に検索した。

生検例に関しては、脳腫瘍が疑われて脳生

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。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。

剖検例については文書で同意を得ており、倫理面には十分配慮している。

### C. 研究結果

#### 1) アトピー関連脳脊髄炎の臨床病理像

脊髄は頸髄から腰髄まで横断性に白質の海綿状腫大、髄鞘、軸索の強い脱落を認め、延髄錐体、中・下小脳脚、小脳白質、橋縦束、大脳脚にも広がりをも認めた(図1)。ステロイド治療などの影響のため炎症細胞浸潤は乏しかった。

脱髄性変化は脊髄のみならず、脳幹部、小脳にも一部及び、きわめて高度な変化を示した症例であった。

また本例の姉がその後、緩徐進行性の瘻性



対麻痺を呈していることが判明し、何らかの家族性因子が関与している可能性も示唆され、引き続き経過観察をしているが、これまでのところ、姉には気管支喘息やアトピーなどの臨床症状は観察されていない。

## 2) 脳生検 4 例の検討

臨床的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 症例は、全例女性で、(1) 症例 1 32 歳、臨床症状は左同名半盲、頭痛、(2) 症例 2 42 歳、構音障害、右不全麻痺、(3) 症例 3 41 歳、左半側空間無視、左同名半盲、(4) 症例 4 42 歳、眩暈、頭痛であった。4 例は大脳白質や脳幹部などに MRI 画像で異常信号をみとめ、脳腫瘍が疑われて脳生検が施行された。全例でステロイド治療前に脳生検が施行されていた。

症例 1、2、4 は病理学的に tumefactive MS と診断され、症例 3 は好酸球性血管炎が疑われた。炎症細胞浸潤は、B リンパ球、T リンパ球、マクロファージの出現を全例で認め、好酸球は 3 例で確認された。Creutzfeldt cell は 2 例でみられた。MBP の染色性は全例で低下を認めしたが、AQP4、GFAP の染色性には低下を認めなかった。

## D. 考察

アトピー関連脳脊髄炎が疑われた症例の病理像では、髄鞘の障害は従来の多発性硬化症や視神経脊髄炎とは異なる変化を示した。しかし炎症反応に関しては、ステロイド治療による修飾のため特異的所見と同定することは困難であった。

脳生検例で多発性硬化症が疑われた組織像では多彩な炎症細胞浸潤がみられ、好酸球の浸潤も豊富に確認された。多発性硬化症や視神経脊髄炎の病理像では、好酸球の浸潤がみられることが古くから指摘されているが、剖検例ではステロイドなどの治療の修飾のために本来の炎症像の同定は困難なことが多い。

脳生検の結果からは、多発性硬化症などの脱髄疾患においても好酸球は出現することが確認され、アトピー関連脳脊髄炎との類似性が示唆された。

## E. 結論

アトピー関連脳脊髄炎を含む免疫性脱髄疾患の組炎症細胞浸潤に関しては、病期、治療薬との関連など複数の要因を総合的に考慮する必要がある。

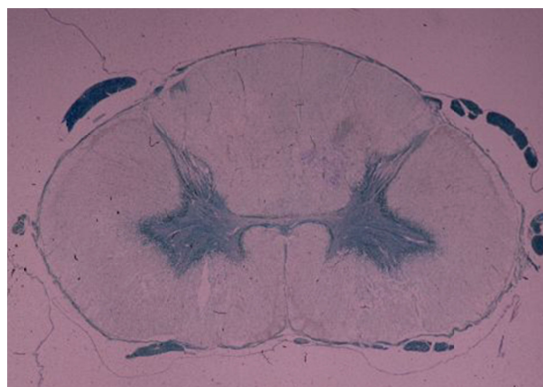


図 1 アトピー関連脊髄炎

脊髄横断面の Klüver-Barrera 染色では白質全体が浮腫状になり髄鞘の高度脱落を示す。

## [参考文献]

Miyata K et al. An autopsy case of atopic myelitis  
Neuropathology 20(Suppl) A47, 2000

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況 な

### 3. その他

# 平成24年度-平成26年度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」分担研究報告書

## 非喫煙喘息死患者における炎症細胞・サイトカインに関する研究

研究分担者 星野 友昭 (久留米大学医学部内科学講座呼吸器・神経・膠原病内科部門)  
文責者 岡元 昌樹(久留米大学医学部内科学講座呼吸器・神経・膠原病内科部門)

### 研究要旨

**【目的】**過去の喘息死の報告では、喫煙歴が不明であり、非喫煙喘息死患者の肺、気道炎症のプロセスに関する詳細な報告はない。**【方法】**12人の非喫煙喘息死患者の剖検肺組織(喘息死群)、5人の外科的肺切除後の非喫煙軽症喘息の摘出肺組織(軽症喘息群)、10人の外科的肺切除後の非喫煙者の肺組織(コントロール群)を解析した。喫煙、COPDは厳密に除外した。さらに、各群で肺炎症細胞、炎症性サイトカインIL18、IL18レセプター $\alpha$ の発現を評価した。**【結果】**喘息死群において好酸球、リンパ球は他の2群と比べ有意に増加していた。また肺好中球は喘息死群とコントロール群では有意差を認めなかったが、喘息死群と軽症喘息群では有意差は認めなかった。CD8陽性T細胞は、喘息死群では他の2群と比べ有意に増加していた。さらにIL-18、IL-18Rは喘息死患者肺組織の炎症細胞、気道上皮細胞、平滑筋細胞において他2群と比べ強く発現していた。**【考察】**好酸球、CD8陽性T細胞、IL-18タンパクの過剰発現は致死的喘息の悪化において重要な役割を果たす可能性があり、また過去の喘息死の報告は、喫煙およびCOPDの影響が否定できない可能性がある。

### A．研究目的

過去の喘息死に関する報告では、喘息死患者の気道において、好酸球の増加、多量の粘液栓、リモデリングの所見が認められる。更には発症24時間以内に死亡した超急性例では、好酸球浸潤よりも好中球浸潤が優位であることや喘息死患者においてCD8陽性T細胞、IFN- $\gamma$ の発現増加が認められることが報告されている<sup>1,2</sup>。すなわち、CD4陽性細胞やIL-4, 5, 13などのTh2サイトカインの増加が優位である安定期の喘息と異なる気道炎症の環境が存在することが示唆されている。しかしながら、これらの報告では、喫煙歴についての詳細が明らかではなく、COPDの症例が含まれている可能性を否定できない。

IL-18は、IFN- $\gamma$ などのTh1サイトカインの産生を誘導する一方で、Th2サイトカイン、IgEの産生も誘導する<sup>3,4</sup>。我々は、IL-18がCOPD、間質性肺炎、RAの病態に関与していることを明らかにしている<sup>5-8</sup>。アレルギー性気管支喘息においても、平滑筋細胞、気道上皮にもIL-18が発現してい

ること、血清IL-18が上昇していることが示されている<sup>9,10</sup>。また、IL-18の遺伝子多型が喘息の重症度に関連している<sup>11</sup>。さらに我々は、IL-18トランスジェニックマウスにおいて、気道過敏性と気道炎症が亢進していることを証明した<sup>12</sup>。しかし、喘息死の病態におけるIL-18の関与は明らかではない。

今回、我々は、COPDの合併のない非喫煙の喘息死における気道炎症のプロセス、喘息死におけるIL-18の関与を明らかにするため、研究を行った。

### B．研究方法 対象症例

喘息死群(表1): 12例(男性9名、年齢:44.4 $\pm$ 7.4歳): 1973年から1998年の間に病理解剖を行われた12人の非喫煙喘息死患者肺組織

軽症喘息群: 5例(男性1名、年齢:66.8 $\pm$ 4.1歳): 肺癌切除術を施行された5人のコントロール良好な非喫煙喘息患者肺組織

コントロール群：10例（男性5名、年齢：62.5 ± 4.9歳）：肺癌切除術を施行された10人の非喫煙者肺組織

### 炎症細胞、炎症性サイトカインの解析

**炎症細胞**：メイ・ギムザ染色にて好酸球、好塩基球、リンパ球、好中球、肺胞マクロファージの定量的評価を行った。

### 免疫染色

抗 CD4 (4B12 [mouse IgG2a], Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK)

抗ヒト CD8 (C8/144B [mouse IgG1], Dako)

抗ヒト IL-18 (clone8 [mouse IgG2a])

抗 IL-18 受容体 (H44 [mouse IgG1])

上記モノクローナル抗体にて CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞、IL-18 発現細胞を定量的に評価した。

### （倫理面への配慮）

個人情報の尊重、検体の使用に関しては、2008年のヘルシンキ宣言に従い、同意書を取得し、当大学の倫理委員会の承認を得た。

## C. 研究結果 (図1~4)

喘息死の気道では、組織学的に粘液栓形成、杯細胞増加、平滑筋過形成などの著明な気道炎症とリモデリングが認められた。全ての症例で組織学的に肺気腫はなかった。

喘息死の気道における好酸球、リンパ球数増加は著明であり、浸潤細胞数のカウントでは、喘息死における好酸球数、リンパ球数は軽症喘息群、コントロール群よりも高値であった。

過去の報告とは違い、喘息死群における好中球の増加は軽度であった。喘息死群における好中球は、コントロール群より有意に増加していたが、軽症喘息群とは差がなかった。

喘息死群、軽症喘息群において、気道におけるCD4陽性T細胞はコントロール群よりも有意に増加していたが、2群間に差はなかった。それに対して、CD8陽性T細胞は、喘息死群では、軽症喘息群、コントロール群よりも有意に増加していた。

気管支肺胞上皮細胞、炎症細胞はIL-18、IL-18受容体が強発現しており、CD8T細胞でもそれらの発現の増加が認められた。

以上の現象は年齢や性別に関係が無く12名のすべての喘息死患者でみられた。喘息死群の12例中5例は発作から24時間以内に死亡していた超急性群であったが、超急性群とそれ以外の症例で炎症細胞数に差はなかった。

表1. 喘息死症例の患者背景

番号	年齢	性別	死亡年	治療						発作からの時間
				全身ステロイド*	ICS	B2刺激薬	テオフィリン	抗LT薬	人工呼吸器	
1	32	M	1973	+	-	-	+	-	-	75 min
2	52	M	1974	+	-	-	-	-	-	5 days
3	5	M	1977	-	-	-	-	-	+	36 hrs
4	67	M	1980	-	-	-	-	-	-	5 hrs
5	43	M	1981	+	-	-	-	-	-	< 24hrs
6	75	M	1982	+	-	-	-	-	-	20 min
7	16	F	1984	-	-	+	+	-	-	DOA (6 hrs)
8	79	F	1986	+	-	-	-	-	+	7 days
9	57	M	1986	+	-	-	-	-	-	unknown
10	14	M	1994	-	-	-	-	-	-	DOA (13 days)
11	24	M	1998	+	+	+	+	-	-	4 days
12	68	F	1998	-	+	-	-	-	+	DOA (7 days)

ICS: inhaled corticosteroid

抗LT剤: 抗ロイコトリエン剤

DOA: death on arrival

図1. 各対象群における気道炎症

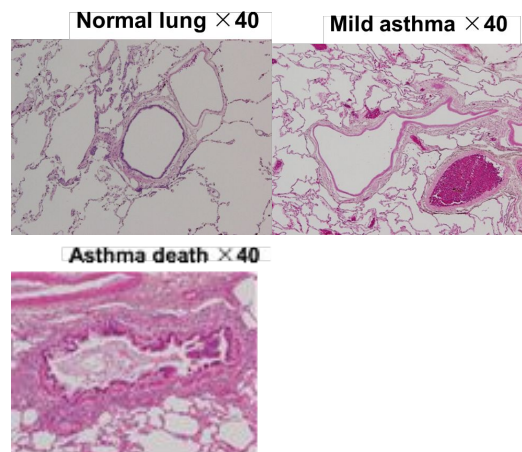


図2. 浸潤炎症細胞数

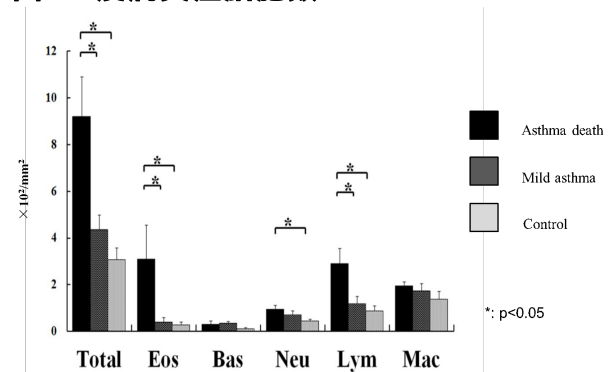




図 3. CD4, 8 陽性 T 細胞数

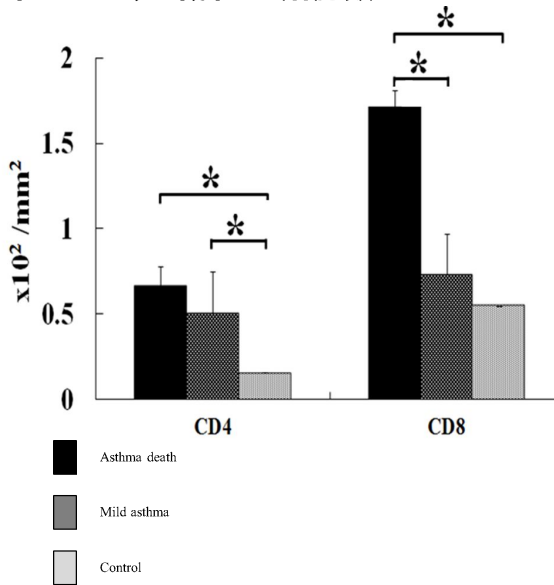
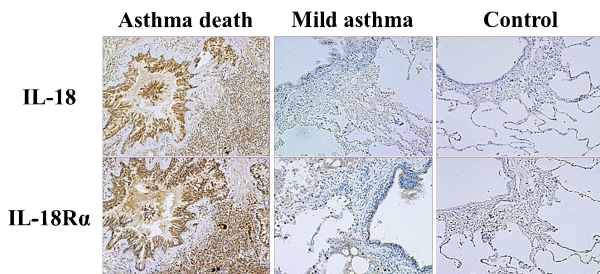


図 4. 抗 IL-18, IL-18 レセプターモノクローナル抗体による免疫組織学的分析



上段: Anti-hIL-18 mAb による免疫染色  
下段: Anti-hIL-18Rα mAb による免疫染色

#### D. 考察

過去の報告と異なり、本研究では喘息死群、軽症喘息群で肺組織中の好中球数の差がなかった。そのため、過去の報告は、喫煙、COPD の関与を否定できない。喘息死における CD8 細胞、IL-18 がなんらかの役割を果たしており、新規治療薬のターゲットとなり得る。さらに喘息死におけるそれらの細胞、蛋白の関与のメカニズムの解析が必要である。

#### E. 結論

喘息死においては、COPD を除外した上で、その病態を解明する必要がある。

#### F. 健康危険情報

問題となる健康危険情報はなかった。

#### G. 研究発表

##### I. 論文発表 (14件)

1. Yokota-Nakatsuma A, Takeuchi H, Ohoka Y, et al. Retinoic acid preve

nts mesenteric lymph node dendritic cells from inducing IL-13-producing inflammatory Th2 cells. *Mucosal Immunol.* 2014;7:786-801.

2. Yamada K, Takeoka H, Mizoguchi Y, et al. Feasibility re-evaluation of 75 mg/m<sup>2</sup> docetaxel in Japanese patients with previously treated non-small cell lung cancer. *Jpn J Clin Oncol.* 2014;44:338-345.
3. Takeoka H, Yamada K, Azuma K, et al. Phase I study of carboplatin combined with pemetrexed for elderly patients with advanced non-squamous non-small cell lung cancer. *Jpn J Clin Oncol.* 2014;44:472-478.
4. Takenaka S, Kawayama T, Imaoka H, et al. The progression of comorbidity in IL-18 transgenic chronic obstructive pulmonary disease mice model. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014;445:597-601.
5. Suetomo M, Kawayama T, Kinoshita T, et al. COPD assessment test scores are associated with exacerbated chronic obstructive pulmonary disease in Japanese patients. *Respir Investig.* 2014;52:288-295.
6. Oda H, Kawayama T, Imaoka H, et al. Interleukin-18 expression, CD8 (+) T cells, and eosinophils in lungs of nonsmokers with fatal asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2014;112:23-28 e1.
7. Kaku Y, Imaoka H, Morimatsu Y, et al. Overexpression of CD163, CD204 and CD206 on alveolar macrophages in the lungs of patients with severe chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One.* 2014;9:e87400.
8. Kaieda S, Zaizen Y, Nomura Y, et al. An autopsy case of refractory vasculo-Behcet's disease. *Mod Rheumatol.* 2014.
9. Kaieda S, Kobayashi T, Moroki M, et al. Successful treatment of rectal ulcers in a patient with systemic lupus erythematosus using corticosteroids and tacrolimus. *Mod Rheumatol.* 2014;24:357-360.
10. Ishii H, Azuma K, Yamada K, et al. Predictive factors in patients with EGFR mutation-negative non-small cell lung cancer treated with erlotinib. *Oncol Lett.* 2014;8:2699-2704.

11. Ishii H, Azuma K, Kawahara A, et al. Significance of programmed cell death-ligand 1 expression and its association with survival in patients with small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2014.
  12. Azuma K, Ota K, Kawahara A, et al. Association of PD-L1 overexpression with activating EGFR mutations in surgically resected nonsmall-cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2014;25:1935-1940.
  13. Azuma K, Komatsu N, Hattori S, et al. Humoral immune responses to EGFR-derived peptides predict progression-free and overall survival of non-small cell lung cancer patients receiving gefitinib. *PLoS One.* 2014;9:e86667.
  14. Azuma K, Kawahara A, Sonoda K, et al. FGFR1 activation is an escape mechanism in human lung cancer cells resistant to afatinib, a pan-EGFR family kinase inhibitor. *Oncotarget.* 2014;5:5908-5919.
2. 星野友昭, 坂崎優樹, 澤田昌典, 小田華子, 竹中慎一, 木下隆, 川山智隆, 相澤久道. 喘息死患者及び COPD における気道リモデリングの類似点と相違点. 第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2010 年 11 月
  3. 坂崎優樹 星野友昭 武井仁子 今岡治樹 木下隆 岡元昌樹 川山智隆 岩永知秋 相澤久道. 喘息死患者の肺病変部における T 細胞サブセットとサイトカイン発現の解析. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 東京, 2008 年 6 月

## 学会発表

### A . 国際学会 (3件)

1. Sakazaki Y, Hoshino T, Takei S, Okamoto M, Kinoshita T, Imaoka H, Iwanaga T, Kato S, Aizawa H. Inflammatory cells strongly express IL-18 in lungs of asthma death. *ERS Annual Congress 2009, Vienna.*
2. Sakazaki Y, Hoshino T, Kawayama T, Imaoka H, Kinoshita T, Sawada M, Oda H, Takenaka S, Kitasato Y, Iwanaga T, Kato S, Aizawa H. Enhanced expression of IL-18 and increased CD8+ T cells and eosinophils in the airways of asthma death. *ERS Annual Congress 2010, Barcelona.*
3. Sakazaki Y, Hoshino T, Takei S, Okamoto M, Kawayama T, Kinoshita T, Imaoka H, Iwanaga T, Kato S, Aizawa H. Increased CD8 T cells and eosinophils but not CD4 T cells in small airways of asthma death. *ATS Annual Congress 2010, New Orleans.*

### B . 国内学会 (3件)

1. 竹中 慎一、坂崎 優樹、小田 華子、加來庸一郎、松岡 昌信、星野 友昭. 非喫煙喘息死患者の気道における炎症細胞・サイトカインの検討. 2013 年慢性閉塞性肺疾患研究会, 東京, 2013 年 1 月

研究成果の刊行に関する一覧表

(2012年4月1日～2015年3月31日迄)

**書籍**

吉良 潤一

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
山崎 亮 吉良 潤一	アトピー性脊髄炎	水澤 英洋	新領域別 症候群シ リーズ	株式会社日 本臨床社	大阪	2014	822-826

研究成果の刊行に関する一覧表

(2012年4月1日～2015年3月31日迄)

**雑誌**

吉良 潤一

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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	251(1- 2)	110-113	2012
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 Neuroimmuno l.	246(1- 2)	108-112	2012
Isobe N, Kanamori Y, Yonekawa T, Matsushita T, Shigeto	First diagnostic criteria for atopic myelitis with	J Neurol Sci.	316(1- 2)	30-35	2012

H, Kawamura N, Kira J.	special reference to discrimination from myelitis-onset multiple sclerosis.				
------------------------	---	--	--	--	--

**雑誌** 御名前：**桑原聡 先生**

英文著書 : 11 ポイント・Century

日本文著書 : 11 ポイント・MS 明朝

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Uzawa A, Masahiro M, Kuwabara S.	Cytokines and chemokines in neuromyelitis optica: pathogenetic and therapeutic implications.	Brain Pathol.	24	67-73	2014
Masuda H, Mori M, Katayama K, Kikkawa Y, Kuwabara S.	Anti-aquaporin-4 antibody-seronegative NMO spectrum disorder with Baló's concentric lesions.	Intern Med.	52	1517-21	2013
Uzawa A, Mori M, Sawai S, Masuda S, Muto M, Uchida T, Ito S, Nomura F, Kuwabara S.	Cerebrospinal fluid interleukin-6 and glial fibrillary acidic protein levels are increased during initial neuromyelitis optica attacks.	Clin Chim Acta.	421	181-3	2013
Uzawa A, Mori M, Masuda S, Muto M, Kuwabara S.	CSF high-mobility group box 1 is associated with intrathecal inflammation and astrocytic damage in neuromyelitis optica.	J Neurol Neurosurg Psychiatry.	84	517-22	2013

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Sonobe Y, Suzumura A	Multiple Sclerosis	Marie-Eve Tremblay	Microglia in health and disease	Springer	Milton Keynes	2014	393-412

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Jin S, Sonobe Y, Kawano nokuchi J, Horiuchi H, Cheng Y, Wang Y, Mizu no T, Takeuchi H, <b>Suz umura A.</b>	Interleukin-34 restores blood-brain barrier integrity by upregulating tight junction proteins in endothelial cells.	PLoS One.	9(12)	e115981	2014 Dec 23
Wang Y, Jin S, Sonobe Y, Cheng Y, Horiuchi H, Parajuli B, Kawano uchi J, Mizuno T, Take uchi H, <b>Suzumura A.</b>	Interleukin-1 $\beta$ induces blood-brain barrier disruption by downregulating Sonic hedgehog in astrocytes.	PLoS One.	9(10)	e110024	2014 Oct 14
Takeuchi H, <b>Suzumura A.</b>	Gap junctions and hemichannels composed of connexins: potential therapeutic targets for neurodegenerative diseases.	Front Cell Neurosci.	8	189	2014 Sep 2
Doi Y, Takeuchi H, Mizu guchi H, Fukumoto K, Horiuchi H, Jin S, Kaw anokuchi J, Parajuli B, Sonobe Y, Mizuno T, <b>Su zumura A.</b>	Granulocyte-colony stimulating factor attenuates oligomeric amyloid $\beta$ neurotoxicity by activation of neprilysin.	PLoS One.	9(7)	e103458	2014 Jul 25
Burkovetskaya M, Karp uk N, Xiong J, Bosch M, Boska MD, Takeuchi H, <b>Suzumura A</b> , Kielia n T.	Evidence for aberrant astrocyte hemichannel activity in Juvenile Neuronal Ceroid Lipofuscinosis (JNCL).	PLoS One.	9(4)	e95023	2014 Apr 15

Noda M, Takii K, Parajuli B, Kawanokuchi J, Sonobe Y, Takeuchi H, Mizuno T, <b>Suzumura A.</b>	FGF-2 released from degenerating neurons exerts microglial-induced neuroprotection via FGFR3-ERK signaling pathway.	J Neuroinflammation	11	76	2014 Apr 16
Fukumoto K, Mizoguchi H, Takeuchi H, Horiuchi H, Kawanokuchi J, Jin S, Mizuno T, <b>Suzumura A.</b>	Fingolimod increases brain-derived neurotrophic factor levels and ameliorates amyloid $\beta$ -induced memory impairment.	Behav Brain Res.	268	88-93	2014 Jul 15
Cheng Y, Takeuchi H, Sonobe Y, Jin S, Wang Y, Horiuchi H, Parajuli B, Kawanokuchi J, Mizuno T, <b>Suzumura A.</b>	Sirtuin 1 attenuates oxidative stress via upregulation of superoxide dismutase 2 and catalase in astrocytes.	J Neuroimmunol.	269(1-2)	38-43	2014 Apr 15

研究成果の刊行に関する一覧表

(2012年4月1日～2015年3月31日迄)

**書籍**

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

研究成果の刊行に関する一覧表

(2012年4月1日～2015年3月31日迄)

**雑誌**

御名前：城戸 瑞穂

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Akimoto N, Honda K, Uta D, Beppu K, Ushijima Y, Matsuzaki Y, Nakashima S, <u>Kido MA</u> , Imoto K, Takano Y, Noda M.	CCL-1 in the spinal cord contributes to neuropathic pain induced by nerve injury.	Cell Death Dis.	4;	e679	2013
Murata N, Ioi H, Ouchi M, Takao T, Oida H, Aijima R, Yamaza T, <u>Kido</u>	Effect of allergen sensitization on external root resorption.	J Dent Res.	92	641-7.	2013





研究成果の刊行に関する一覧表  
(2012年4月1日～2015年3月31日迄)

**雑誌** 御名前：萩原 綱一 先生

英文著書 : 11 ポイント・Century

日本文著書 : 11 ポイント・MS 明朝

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hagiwara K, Ogata K, Okamoto T, Uehara T, Hironaga N, Shigeto H, Kira J, Tobimatsu S.	Age-related changes across the primary and secondary somatosensory areas: an analysis of neuromagnetic oscillatory activities	Clinical Neurophysiology	125	1021-9	2014

研究成果の刊行に関する一覧表  
(2012年4月1日～2015年3月31日迄)

**書籍**

**御名前：楠 進 先生**

英文著書 : 11 ポイント・Century

日本文著書 : 11 ポイント・MS 明朝

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

研究成果の刊行に関する一覧表  
(2012年4月1日～2015年3月31日迄)

**雑誌**

**御名前：楠 進 先生**

英文著書 : 11 ポイント・Century

日本文著書 : 11 ポイント・MS 明朝

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
なし					

研究成果の刊行に関する一覧表

**書籍**

名前：吉田 真理 なし

**雑誌**

名前：吉田 真理

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
<u>Yoshida M</u>	Astrocytic inclusions in progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration.	Neuropathology.	34	555-570	2014
Tatsumi S, Uchihara T, Aiba I, Iwasaki Y, Mimuro M, Takahashi R, <u>Yoshida M.</u>	Ultrastructural differences in pretangles between Alzheimer disease and corticobasal degeneration revealed by comparative light and electron microscopy.	Acta Neuropathologica Communications	2	161	2014
Yonekawa T, Murai H, Utsuki S, Matsushita T, Masaki K, Isobe N, Yamasaki R, <u>Yoshida M,</u> Kusunoki S, Sakata K, Fujii K, Kira JI.	A nationwide survey of hypertrophic pachymeningitis in Japan.	J Neurology Neurosurgery Psychiatry	85	732-9	2013
Riku Y, Ikeuchi T, Yoshino H, Mimuro M, Mano K, Goto Y, Hattori N, Sobue G, <u>Yoshida M.</u>	Extensive aggregation of $\alpha$ -synuclein and tau in juvenile-onset neuroaxonal dystrophy: an autopsied individual with a	Acta Neuropathologica Commun.	1	12	2013

	novel mutation in the PLA2G6 gene-splicing site.				
--	--	--	--	--	--

平成 25 年度 研究成果の

刊行に関する一覧表

雑誌
----

御名前 星野 友昭先生

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号
Oda H, et al.	IL-18 expression, CD8+ T cells and eosinophils in lungs of non-smokers with fatal asthma.	Annals of Allergy, Asthma and Immunology	112
Yokota-Nakatsuma A, et al.	Retinoic acid prevents mesenteric lymph node dendritic cells from inducing IL-13-producing inflammatory Th2 cells.	Mucosal Immunol	7
Yamada K, et al.	Feasibility re-evaluation of 75 mg/m <sup>2</sup> docetaxel in Japanese patients with previously treated non-small cell lung cancer.	Jpn J Clin Oncol	44
Takeoka H, et al.	The progression of comorbidity in IL-18 transgenic chronic obstructive pulmonary disease mice model.	Biochem Biophys Res Commun	445
Suetomo M, et al.	COPD assessment tests scores are associated with exacerbated chronic obstructive pulmonary disease in Japanese patients.	Respir Investig	52
Kaku Y, et al.	Overexpression of CD163, CD204 and CD206 on alveolar macrophages in the lungs of patients with severe chronic obstructive pulmonary disease.	PLoS One	9
Kaieda S, et al.	An autopsy case of refractory vasculo-Behcet's disease.	Mod Rheumatol	
Kaieda S, et al.	Successful treatment of rectal ulcers	Mod Rheumatol	24

	in a patient with systemic lupus erythematosus using corticosteroids and tacrolimus.		
Ishii H, et al.	Predictive factors in patients with EGFR mutation-negative non-small cell lung cancer treated with erlotinib.	Oncol Lett	8
Ishii H, et al.	Significance of programmed cell death-ligand 1 expression and its association with survival in patients with small cell lung cancer.	J Thorac Oncol	
Azuma K., et al.	Association of PD-L1 overexpression with activating EGFR mutations in surgically resected nonsmall-cell lung cancer.	Ann Oncol	25
Azuma K., et al.	Humoral immune responses to EGFR-derived peptides predict progression-free and overall survival of non-small cell lung cancer patients receiving gefitinib.	PLoS One	9
Azuma K., et al.	FGFR1 activation is an escape mechanism in human lung cancer cells resistant to afatinib, a pan-EGFR family kinase inhibitor.	Oncotarget	5