

ギラン・バレー症候群患者血清のBNBモデル透過性に対する効果

水澤英洋 神田 隆 山脇正永 岩崎孝之

はじめに

末梢神経系は中枢神経系と同じく、バリアーシステムによって全身循環系から隔絶されている。従来、血液神経関門(blood-nerve barrier; BNB)は血液脳関門(blood-brain barrier; BBB)と比較して脆弱であるとされてきたが、最近、BNBはBBBとほぼ同等の機能を持つとの報告があいついでなされている。近年、各種炎症性ニューロパチーにおいて液性免疫の重要性が指摘されているが、免疫グロブリンをはじめとする高分子物質がBNBを通過して末梢神経実質にアプローチするメカニズムについては未だに明らかにされていない。我々はこの問題に対し、BNBの培養モデルを用いて主に個々のサイトカイン、抗糖脂質抗体のBNB透過性に対する影響という面から研究を重ねてきたが、今回は、急性期ギラン・バレー症候群(以下 GBS)患者血清を材料として、そのBNB透過性を与える影響をBNB培養モデルを用いて解析し、興味ある結果を得たので報告する。

方法

GBS患者14例の急性期血清を検索の対象とした。同年代の健康成人19人の血清を対照として用いた。ウシ末梢神経神経内膜微小血管由来内皮細胞(PnMEC)は、成牛馬尾から我々の開発した方法¹⁾²⁾により分離し、99%以上の純度を持つ細胞を得た。ラット type I collagen を塗布した culture insert (孔径 0.4 μ m, 表面積 0.31 cm²; Becton-Dickinson)の上面に 1 \times 10⁵ cells/insert の密度で PnMEC を播種し、3日後に細胞が confluent になったことを確認し得た insert のみを透過実験に用いた。Culture Insert の上室には serum free の内皮細胞用培地に非働化した血清を 15%(vol/vol)加えたものを guinea pig complement (GPC)の存在下、非存在下で注入し、insert を介した透過性の変化を検討した。BNBモデルの透過性は(1)Endohm-6を用いたtransendothelial electrical resistance (TEER)の測定(測定開始後0分、20分、

40分、60分、120分、180分の6点で測定)、および(2)上室に入れた¹⁴C-inulinの下室への漏出(¹⁴C-inulin clearance)の経時的測定の2つのパラメーターによって評価した。

結果

GBS患者血清を用いた¹⁴C-inulin clearanceは、GPC使用群・非使用群とも40分値で対照と比較して上昇傾向を

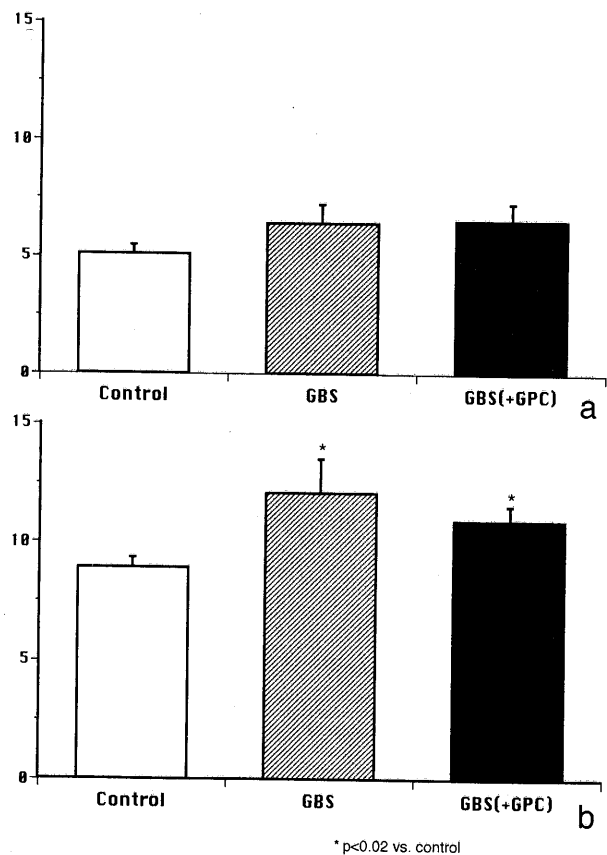


図1 ¹⁴C-inulin clearance at 40 min (a) and 60 min (b) of incubation. GBS sera with and without GPC show significant increase of ¹⁴C-inulin clearance at 60 min.

示し、60分値で有意の透過性亢進(P<.02)を認めた(図1)。TEERも120分値、180分値でGBS群の有意な低下

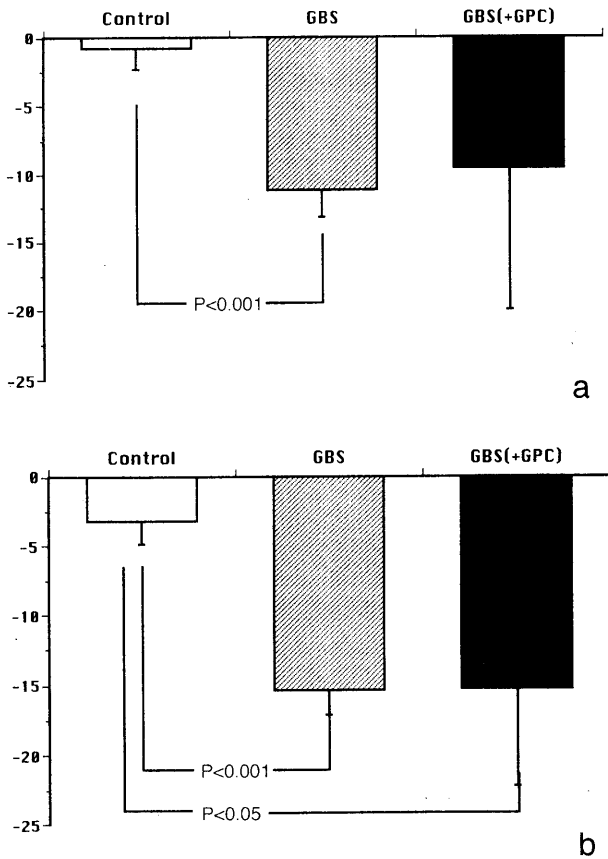


図2 The percentage decrease of TEER value after 120 min (a) and 180 min (b) of incubation. Patients' sera without GPC showed significant decrease of TEER after 120 min and 180 min of treatment, and those with GPC also decreased the TEER value after 180 min of incubation.

($P<.001$)が見られ、GPC添加群も180分値で有意な低下が認められた($P<0.05$; 図2)。GBS1例において、急性期に血漿交換(1クールのみ施行)と平行して経時的な ^{14}C -inulin clearanceの変化を測定したが、急性期のclearanceの亢進が血漿交換施行直後に低下し、1日後には前値に復するものの臨床症状の改善と共に正常化することが観察された(図3)。

考 察

GBS、multifocal motor neuropathy (MMN)などの炎症性ニューロパチーの病変分布はpatchyであることが電気生理学的にも病理学的にも³⁾示されており、多巣性の脱髄巣はBNBが破壊された部位と一致して発現するのではないかと考えられる。われわれはBBB/BNBモデルを用いた一連の研究から、①IL-1 β 、TNF α 、VEGFなどにはTEER減少効果と ^{14}C -inulin clearanceの上昇効果があり、これらのサイトカインはBNB破壊性に働くこと⁴⁾⁵⁾、②抗GM1抗体にも同様の効果を認めるが、その他の抗糖脂質抗体、たとえば抗GD1a抗体、抗GD1b抗体、抗GQ1b抗体などにはBNBをmodulateする機能はない

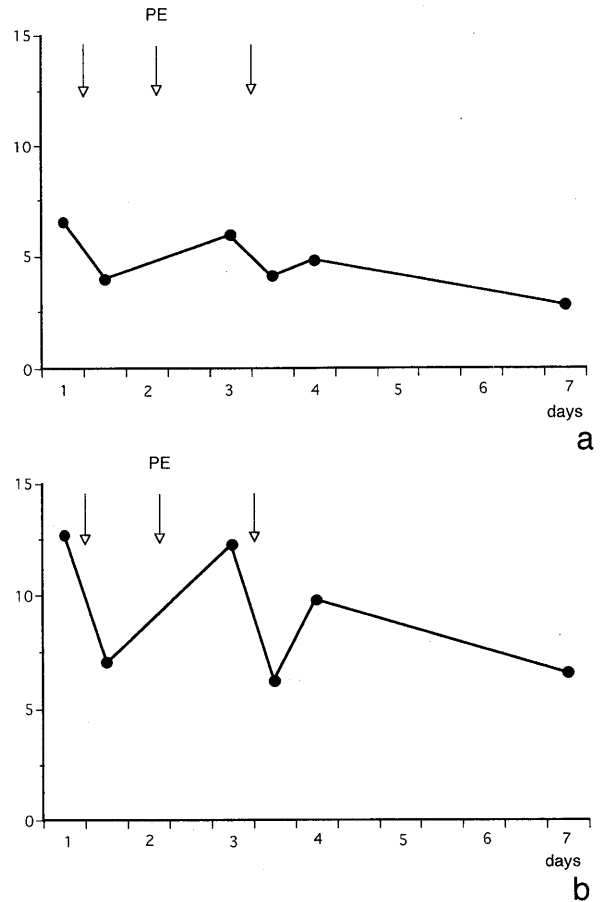


図3 Consecutive changes of ^{14}C -inulin clearance value at 40 min (a) and 60 min (b) in one patient. ^{14}C -inulin clearance was decreased immediately after plasma exchange. Although the ^{14}C -inulin clearance value was raised again at 3rd day morning, it decreased gradually as the symptom of the patient ameliorated. PE, plasma exchange.

こと⁶⁾⁷⁾などを報告してきた。また、抗糖脂質抗体を有する炎症性ニューロパチー患者から得られた生検腓腹神経では、神経内膜内の微小血管にBNB破綻を示唆する所見が有意に多いことを明らかにした⁸⁾。

今回の検討により、GBS患者血清そのものにもBNBをdysregulateする働きがあることが明らかになった。急性期GBS患者血清において、抗グングリオシド抗体のみならず各種のサイトカインが上昇することは広く知られており、今回観察されたGBS患者血清によるBNB透過性の亢進は、複数の要素の組み合わせによるものと考えられる。今回の我々の検索では、BNB破壊に最も強く関与する物質の同定には至らなかったが、この部分が明らかになることによって、急性期GBSに対する新たな治療戦略の開発が期待できよう。今後、GM1を用いた免疫沈降や各種サイトカインのblocking antibodyを用いた検索によりGBSにおける最も強力なBNB modulatorを同定すること、その物質の機能をBNB構成細胞の細胞内シグナル伝達系を制御することでコントロールする手段を開

発すること、の2点を次のステップとして考えている。

結 論

GBS急性期患者血清はBNBモデルの透過性を亢進させることが明らかになった。また、透過性の亢進は血漿交換により抑制され、GBSの臨床的回復期には正常化することが1例の経時的観察で認められ、GBSの臨床経過とBNBの破綻がほぼ平行して動く可能性が考えられた。個々の症例におけるBNB機能の経時的評価については、多数例を用いた更なる検討を予定している。

文 献

- 1) Kanda T et al.: Isolation and culture of bovine endothelial cells of endoneurial origin. *J Neurosci Res.* 49: 769-777, 1997.
- 2) 神田 隆ほか:末梢神経神経内膜由来内皮細胞培養法の確立とその糖脂質抗原の解析. *神経免疫学*4: 96-97, 1996.
- 3) Kanda T et al.: A fulminant case of Guillain-Barré syndrome: topographic and fibre size related analysis of demyelinating changes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 52: 857-864, 1989.

4) 岩崎孝之ほか: 末梢神経微小血管内皮細胞の膜電気抵抗に対するサイトカインの影響. *神経免疫学* 6: 66-67, 1998.

5) Iwasaki T et al.: Effects of pericytes and various cytokines on integrity of endothelial monolayer originated from blood-nerve barrier: an in vitro study. *J Med Dent Sci* 46: 31-40, 1999.

6) Kanda T et al.: Glycosphingolipid antigens in cultured microvascular bovine brain endothelial cells: sulfolucuronosyl paragloboside as a target of monoclonal IgM in demyelinating neuropathy. *J Cell Biol* 126: 235-246, 1994.

7) Kanda T et al.: Effect of cytokines and anti-glycoconjugate antibodies on the integrity of in vitro blood-nerve barrier model. *Neurology* 52: A9, 1999 (suppl 2).

8) Kanda T et al.: Glycosphingolipid antibodies and blood-nerve barrier in demyelinating neuropathy. *Neurology* 54, 2000, *in press*.

〔multifocal motor neuropathy 患者の一部には末梢血 CD16⁺CD57⁻ natural killer 細胞サブセットの増加が認められる〕

水谷 江太郎¹⁾ 梶 龍児²⁾ 岡 伸幸²⁾ 松井 大²⁾
目崎 高広¹⁾ 秋口 一郎²⁾ 柴崎 浩²⁾

目的

ヒト神経疾患の病態における natural killer (NK) 細胞の役割については、ほとんど知られていない。今回我々は、各種神経疾患患者の末梢血について、強いNK活性を有する CD16⁺CD57⁻ NK 細胞サブセット [1] の比率を検討した。

対象

末梢神経疾患 41 例 [multifocal motor neuropathy (MMN) 5 例, CIDP 7 例を含む], 運動ニューロン疾患およびその関連 36 例, 脊髄小脳変性症およびその関連 25 例, パーキンソン病およびその関連 18 例, アルツハイマー病などの痴呆関連 15 例, MS およびその関連 12 例, HAM11 例, 脳炎などの神経系感染症 13 例, 筋疾患 12 例, 脳血管障害 8 例, てんかん 10 例, ジストニアおよび不随意運動関連 13 例, 整形外科関連 6 例, その他 41 例の計 261 症例。

方法

対象患者の末梢血について、two-color フローサイトメトリー法にて、リンパ球領域における CD16⁺CD57⁻ NK 細胞分画の比率を測定した。測定結果の中から、健常者 (n=72) における平均+2SD (10.4%) をこえるものを抽出した。

結果

脳炎 3 例, MMN 3 例, CIDP 1 例, 原因不明の polyneuropathy 1 例, その他 6 例の計 14 例で CD16⁺

CD57⁻ 分画の比率の増加を認めた (表)。MMN 3 例では、特に感染の所見を認めず、また別の時期に再検して同様の結果が得られた。MMN 例中の 1 例 (Patient 1) では、特に著明な比率の増加 (32.6%) を認めた。

考察

脳炎 3 例で CD16⁺CD57⁻ 分画の比率の増加を認めたが、感染後に末梢血 NK 細胞の増加が生じうことは、よく知られている。一方、MMN 3 例での結果は興味深いと思われる。最も高い比率を認めた MMN 症例 (Patient 1) は、すでに過去に報告されており [2, 3], conduction block の部位に Gd 造影 MRI にて blood-nerve-barrier (BNB) の破綻を認めている。NK 細胞は血管内皮を傷害しうることが報告されているので [4], BNB の破綻と関連があるかも知れない。また興味深いことに、conduction block を伴う稀な筋萎縮性側索硬化症例で末梢血 NK サブセットの異常が報告されている [5]。

MMN は CIDP の亜型とされ、脱髄性の疾患と考えられているが、通常、ステロイド治療は奏効せず、時に臨床症状を悪化させることもある [6, 7]。また、血清 IgM 抗 GM1 抗体の上昇を認める例が半数前後あるが [6, 7], 血漿交換療法も有効ではない [6, 8]。これに対し、intravenous immunoglobulin (IVIg) 療法 [6, 7] あるいはサイクロフォスファミド治療 [8] は、かなりの例で有効であることが報告されている。今回用いた NK 細胞マーカーである CD16 (Leu11) は IgG の Fc レセプターである [9]。したがって、IVIg 療法の際、Fc ブロックにより CD16⁺CD57⁻ NK 細胞は影響を受ける可能性がある。さらに、血液内科の分野では一般に、NK 細胞を抑制するのにサイクロフォスファミドが用いられる [10, 11]。このように、MMN の病態において CD16⁺CD57⁻ NK 細胞が何らかの関与があると想定すれば、IVIg あるいはサイクロフォスファミドの有効性に対する仮説としての理由付けが可能である。

1) 榊原白鳳病院神経内科

2) 京都大学医学部神経内科

表 Analysis of CD16⁺CD57⁻ NK Cells in Peripheral Blood

Patient No.	Age (yr)/Sex	CD16 ⁺ CD57 ⁻ Cells (%) ^a	Diagnosis
1	40/M	32.6	MMN
2	72/M	22.8	Polyneuropathy
3	71/M	20.9	Encephalitis
4	63/M	16.7	Spastic paraparesis
5	20/M	16.5	Lafora disease
6	59/F	15.1	Encephalitis
7	17/F	13.5	MMN
8	46/F	12.9	MMN
9	30/F	12.4	CIDP
10	28/M	12.1	Encephalitis
11	40/M	11.7	Spastic paraparesis
12	59/F	10.7	Leukoencephalopathy
13	28/F	10.6	Myasthenia gravis
14	50/F	10.5	OPCA

^aThe cut-off value = 10.4 (%).

NK = natural killer; MMN = multifocal motor neuropathy; CIDP = chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy; OPCA = olivopontocerebellar atrophy.

結論

MMN 患者の一部には末梢血 CD16⁺CD57⁻ NK 細胞サブセットの比率の増加が認められ、その病態に関与している可能性が示された。

文献

1. Lanier LL et al: Subpopulations of human natural killer cells defined by expression of the Leu-7 (HNK-1) and Leu-11 (NK-15) antigens. *J Immunol* 131:1789-1796, 1983
2. Kaji R et al: Pathological findings at the site of conduction block in multifocal motor neuropathy. *Ann Neurol* 33:152-158, 1993
3. Kaji R et al: Anti-GM1 antibodies and impaired blood-nerve barrier may interfere with remyelination in multifocal motor neuropathy. *Muscle Nerve* 17:

108-110, 1994

4. Damle NK et al: Interleukin 2-activated human lymphocytes exhibit enhanced adhesion to normal vascular endothelial cells and cause their lysis. *J Immunol* 138:1779-1785, 1987
5. Tanaka M et al: Lymphocyte subsets in amyotrophic lateral sclerosis with motor conduction block. *Muscle Nerve* 16:116-117, 1993
6. Kaji R et al: Multifocal demyelinating motor neuropathy: cranial nerve involvement and immunoglobulin therapy. *Neurology* 42:506-509, 1992
7. Donaghy M et al: Pure motor demyelinating neuropathy: deterioration after steroid treatment and improvement with intravenous immunoglobulin. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 57:778-783, 1994
8. Feldman EL et al: Immunosuppressive treatment in multifocal motor neuropathy. *Ann Neurol* 30:

397-401, 1991

9. Perussia B et al: The Fc receptor for IgG on human natural killer cells: phenotypic, functional, and comparative studies with monoclonal antibodies. *J Immunol* 133:180-189, 1984

10. Goss GD et al: Effect of natural killer cells on syngeneic bone marrow: in vitro and in vivo studies demonstrating graft failure due to NK cells in an identical twin treated by bone marrow transplantation. *Blood* 66:1043-1046, 1985

11. Oshimi K et al: Laboratory findings and clinical courses of 33 patients with granular lymphocyte-proliferative disorders. *Leukemia* 7:782-788, 1993

重症筋無力症に対するプレドニゾン併用胸腺摘出術の周術期管理 —術後呼吸不全の予測とその対策—

服部孝道¹⁾、斎藤幸雄²⁾、藤澤武彦²⁾、馬場雅行²⁾、吉山容正¹⁾

目的

術前よりプレドニゾン (PSL)隔日大量療法を行うことにより重症筋無力症 (MG) に対する胸腺摘出術の安全性は向上したが、依然周術期における呼吸管理は重要な問題である。本研究の目的は、臨床的な術前因子と術後呼吸不全の関連について検討し、呼吸不全発生の予測モデルを作成すること、および術前血漿交換療法 (PE) の有用性について評価することである。

対象および方法

1979年より1999年10月までに胸腺摘出術を施行した全身型MG131例を対象とした(表1)。術前プレドニゾン投与は20ないし30mgより開始し、2回投与毎に5mgずつ増量し¹⁾、症状改善の程度と重症度を考慮して抗コリンエステラーゼ剤は可及的に減量中止した。さらに1985年以降は呼吸不全状態の重症例を中心に術前の血漿交換療法が行われた。これら術前加療により最も症状の安定した時期を待って拡大胸腺摘出術を施行した。術前のPSL投与にて症状が充分改善した症例は87例(PSL単独投与群)、抗コリンエステラーゼ剤の投与を必要とした症例は25例(抗ChE剤併用群)、薬物療法では充分な術前状態の改善が得られないため血漿交換療法(PE群)を施行した症例は19例である。重症度の判定には大島の分類²⁾を用いた。術後呼吸不全症例の周術期に関わる14因子25項目について検討を行い(Studentのt検定, χ^2 検定)、その結果より術後呼吸不全の予測モデルを作成した(ロジスティック回帰分析³⁾)。またこの予測モデルをもとに術前血漿交換療法の効果について評価した。

結果

術後人工呼吸管理を必要とした症例は14例(10.7%)で離脱までの期間は平均7.2日、全例離脱が可能であった。関連する因子としては治療前重症度($p=0.08472$)、Osserman分類(IIA+IIB vs III : $p=0.00134$)、術前重症

度($p<0.00001$)、呼吸クリーゼの既往($p=0.04508$)、術前%FVC($p<0.001$)が $p<0.1$ 以下の有意性を示した。これらの因子に対するロジスティック回帰分析(変数増加法)により術前重症度($p=0.0018$)、%FVC($p<0.0001$)の2因子が選択された(表2)。[$Z=0.8448$ (術前重症度) -0.0452 (%FVC)、Predicted Probability= $1/(1+e^{-Z})$, Sensitivity=36%、Specificity=97%]

表1 プレドニゾン隔日大量療法併用胸腺摘出術症例 (1979~1999.10)

年齢 (yrs)	39.2±14.1		
男性	39		
女性	92		
Osserman分類	術前治療		
IIA	65	Pr単独	87
IIB	52	抗ChE剤併用	25
III	14	PE併用	19
Pr療法前重症度	胸腺腫		
Grade1	19	(+)	32
Grade2	63	(-)	99
Grade3	24		
Grade4	11		
Grade5	14		

Pr: prednisolone, 抗ChE剤: 抗コリンエステラーゼ剤, PE: 血漿交換・透析

表2 ロジスティック解析結果

Variable	B	S.E.	P value	Exp(B)
術前重症度	0.8448	0.2704	0.0018	2.3275
%FVC	-0.0452	0.0076	0.0000	0.9558
治療前重症度			0.1122	
Osserman分類			0.2914	
呼吸クリーゼの既往			0.3438	

術前加療法別の平均予測確率はPSL単独投与群が4.9±7.6%、抗ChE剤併用群が15.7±19.3%、PE群が30.6±33.1%と本予測モデルではPE群症例が最も術後呼吸不全の可能性が高いと判定されたが、術後呼吸不全を呈した症

1) 千葉大学医学部神経内科学

2) 千葉大学医学部肺癌研究施設外科

例は 19 例中 3 例のみであった。一方抗 ChE 剤併用群では 25 例中 9 例に術後呼吸不全が認められ、術前治療法によりモデル適合性の差が認められた。各症例の予測確率と実際の人工呼吸器使用の有無を術前加療法別に見ると、抗コリンエステラーゼ剤併用群では予測確率が 30%以上の 5 例は全例人工呼吸器が使用されていたが 30%以下でも 4 例に人工呼吸器が使用されていた。一方、血漿交換併用例では 30%以上の高い予測確率を示した 6 例中 3 例は人工呼吸器を使用せずに良好な経過をとった(図 1)。

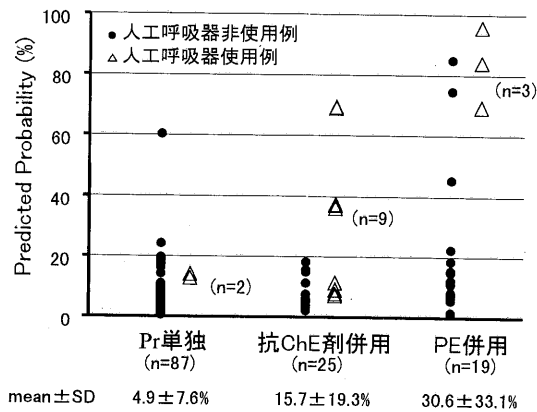


図 1 術前加療法別 Predicted Probability と観測結果

まとめ

周術期管理、特に呼吸管理における臨床的因子を検討し、PSL 隔日大量療法併用胸腺摘出術における術後呼吸不全発生の予測式を作成した。血漿交換群では予測式に反する症例が多数認められる結果であったが、このことは血漿交換が重症例に対し有効な治療方法であることを示唆し、本法において予測式より術後人工呼吸管理を要すると思われる症例に対しては積極的に血漿交換を施行する価値があるものと考えられた。

文献

- 1) Seybold ME, Drachmann DB: Gradually increasing doses of prednisone in myasthenia gravis: reducing the hazards of treatment. N Engl J Med 290: 81-84, 1974.
- 2) 大島扶美: 重症筋無力症における胸腺摘出術後の臨床経過の検討及び corticosteroid 治療の意義. 臨床神経 21: 117-125, 1981.
- 3) Walker SH, Duncan DB: Estimation of the probability of an event as a function of several independent variables. Biometrika 54:167-179, 1967.

〔ヒト胸腺 T 細胞の positive selection のシグナルについて〕

藤井義敬 棚橋雅幸 横山智輝

目 的

胸腺内における T 細胞は自己 MHC 分子と有効な反応性を獲得したものが positive selection という正の選択をうけ分化、成熟をし末梢血へ移行していくが、自己 MHC と強く反応するものは negative selection という負の選択をうけ排除される。ここでの selection が十分に機能しないと異物抗原を認識する能力のない T 細胞や、自己体の分子を認識して重症筋無力症などの自己免疫疾患の原因になるおそれのある T 細胞が末梢へと移行していくことになる。そこで自己免疫疾患の原因を解明し、また重症筋無力症に対する胸腺摘出術の生体に及ぼす影響を明らかにするため、正常の胸腺内 positive selection、negative selection のメカニズムの解明を試みた。

方 法

小児開心術の際、胸腺切除が必要となった症例のヒト正常胸腺から胸腺細胞を抽出し解析に用いた。胸腺細胞を protein kinase C (PKC) activator、phorbol -myristate-acetate (PMA) と calcium ionophore、ionomycin で 20 時間培養し、洗浄後 24 時間 medium のみで培養した時の CD4/CD8 の phenotype の変化、CD1 と bcl-2 の発現の変化、dexamethason に対する抵抗性、細胞増殖能の変化を調べた。

結 果

PMA/ionomycin による CD4/CD8 の phenotype の変化

胸腺 T 細胞では PMA と ionomycin で 20 時間の培養直後から CD4 の down-regulation がみられ、CD4⁺CD8⁺ (double positive, DP) cell が減少し CD8 single positive (8SP) cell が大部分を占めた。末梢血リンパ球 (成熟リンパ球) では PMA と ionomycin で 20 時間培養直後は CD4 の down-regulation がみられたが、洗浄後 24 時間の medium のみでの培養で CD4 の up-regulation が認められた (図 1)。

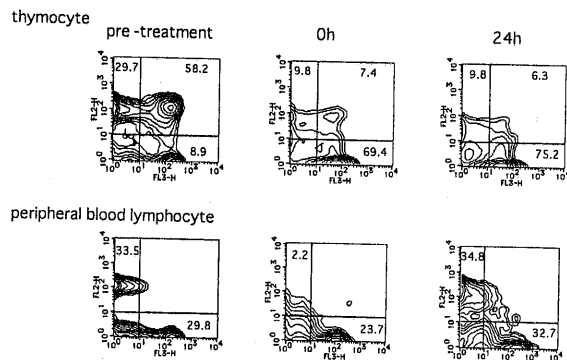


図 1 PMA/ionomycin による CD4/CD8 の変化

PMA/ionomycin による bcl-2 の発現の変化

FACS で胸腺 T 細胞の DP cell だけを取り出して PMA/ionomycin 処理によりその bcl-2 の発現がどのように変化するかを調べた。medium のみの培養では DP cell は bcl-2 の発現は low であるが、PMA/ionomycin により bcl-2 の up-regulation が認められた (図 2)。

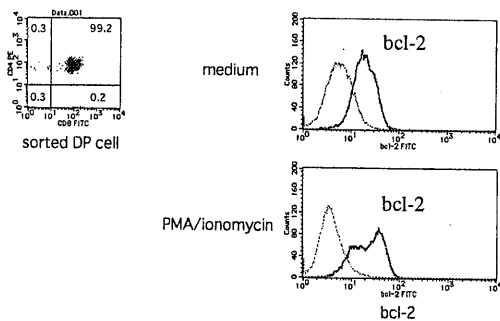


図2 PMA/ionomycin による bcl-2 の変化

PMA/ionomycin による CD1 の発現の変化

DP cell の PMA/ionomycin による CD1 の発現の変化を調べた。PMA/ionomycin による処理前、処理直後、洗浄後 24 時間と経過するに従い CD1 の down-regulation が認められた (図 3)。

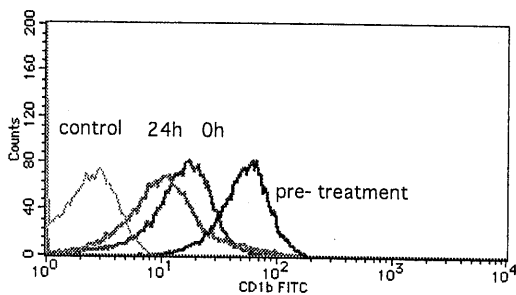


図3 PMA/ionomycin による CD1 の変化

PMA/ionomycin による細胞増殖能の変化

ヒト胸腺 T 細胞を PMA と ionomycin で刺激することにより、細胞増殖能がどのように変化するかを dojindo の cell counting kit-8 を使って調べた。2~200ng/ml の PMA で高い増殖能を認めた (図 4)。次に DP cell だけとりだして PMA/ionomycin による細胞増殖能の変化を調べた。medium で培養した DP cell に比べて PMA/ionomycin 処理した DP cell は明らかに高い細胞増殖能を示した (図 5)。

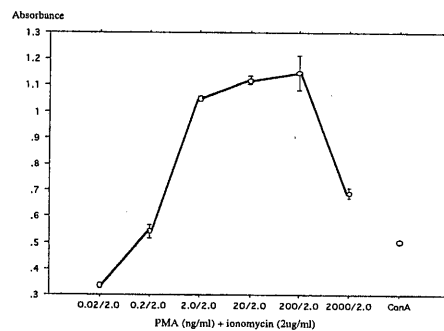


図4 PMA/ionomycin による増殖能の変化

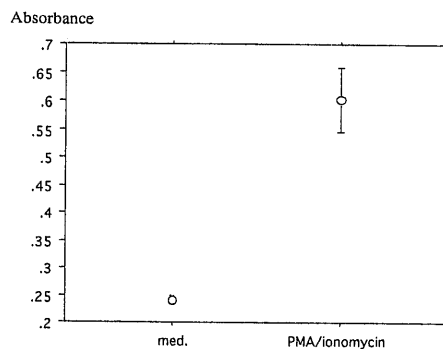


図5 PMA/ionomycin による DP cell の増殖能

末梢血リンパ球の PMA/ionomycin 処理による細胞増殖能の変化を調べると、2ng/ml PMA と 2 μ g/ml ionomycin で細胞増殖能は高くはなかったが、ConA の値と比較すると低値であった (図 6)。PMA/ionomycin により未熟リンパ球は成熟リンパ球と比べ高い増殖能を得るといえる。

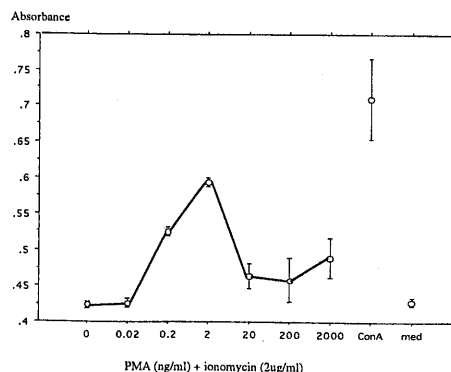


図6 末梢血リンパ球の増殖能の変化

PMA/ionomycin による dexamethason 誘導 apoptosis に対する影響

胸腺 T 細胞の dexamethason により誘導される apoptosis に対して PMA/ionomycin がどのように影響を与えるか調べた。medium のみでの培養では dexamethason により annexin V⁺ cell が増加したが、PMA/ionomycin により annexin V⁺ cell は減少した (図 7)。

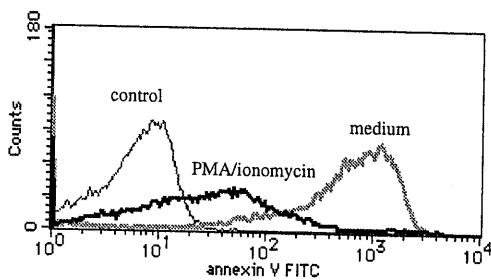


図 7 PMA/ionomycin による annexin V の変化

考 察

今回、我々の実験では PMA と ionomycin を用いてヒト胸腺 T 細胞を刺激すると CD4 の down-regulation、bcl-2 の up-regulation、CD1 の down-regulation、細胞増殖能の増加を認めた。この結果はこれまでに報告されている DP cell の positive selection による変化と一致している。したがってヒト胸腺 T 細胞においては PMA と ionomycin により CD8⁺ T cell への positive selection を誘導できることが示唆された。すなわち DP cell の CD8⁺ T cell への positive selection には protein kinase C の活性化と細胞内 Ca²⁺の上昇が関与していると考えられる。またデータには示していないが、PMA の至適濃度 2ng/ml があれば ionomycin を加えなくても細胞増殖能が高くなったことから PKC の活性化が positive selection にはより重要と思われる。

今回の結果は、ヒトにおいては初めての知見であり、positive selection の伝達シグナルを解明するのに有用である。今後さらにこの系を用いて、MG 症例における positive selection の正常との違いを明らかにしていく必要がある。

まとめ

- 1) PMA 2ng/ml、ionomycin 2 μ g/ml で胸腺 DP cell の CD4 down-regulation が認められた。
- 2) CD4 down-regulation には細胞増殖能の増加、bcl-2 の up-regulation と CD1 の down-regulation をともなっていた。
- 3) PMA/ionomycin は胸腺 T 細胞の dexamethason による apoptosis を阻害した。

文 献

- 1) Iwata M. et al: Differential Induction of helper and killer T cells from Isolated CD4⁺CD8⁺ thymocytes In suspension culture. Eur.J.Immunol.26:2081-2086,1996
- 2) Takahama Y. et al: Phorbol Ester and Calcium Ionophore Can Replace TCR Signals That Induce Positive Selection of CD4 T Cells. J.Immunol.157: 1508-1513,1996
- 3) Fujii Y. et al: Bcl-2 expression In the thymus and periphery. Cell.Immunol.151: 335-344,1994
- 4) Yong Z. et al: Calcineurin Activation Protects T Cells from Glucocorticoid-Induced Apoptosis. J.Immunol. 154: 6346-6354,1995

アセチルコリン受容体 (AChR) 特異的T細胞の胸腺内 AChR に対する反応

松尾 秀徳 後藤 公文 藤下 敏 澁谷 統寿 本村 政勝*

目 的

重症筋無力症 (MG) におけるアセチルコリン受容体 (AChR) 抗体の産生にはB細胞のみならず自己反応性 (AChR 特異的) T細胞が重要な役割を持っている。MGでは高率に胸腺の異常 (過形成, 胸腺腫) を伴うが, この異常な胸腺には AChR 特異的T細胞が増加していることが示されている。MG の抗原となる AChR は, そのほとんどが神経筋接合部と胸腺に存在すると考えられる。神経筋接合部では患者生検筋運動終板にほとんどリンパ球の浸潤が観察されないことや, 適当な抗原提示細胞が存在しないことなどから, ここでT細胞の活性化が行われているとは考えにくい。一方, 胸腺には, T細胞, B細胞, 胸腺上皮細胞, dendritic cell, そして myoid cell などが存在し, ヒト, マウス, ラットなどで胸腺内に AChR またはAChR 類似の蛋白質が存在することが報告されている。しかし, この胸腺内 AChR が胸腺内で AChR 特異的T細胞を活性化している直接の証拠は得られていない。われわれは, これまでにMG発症における抗原特異的T細胞と胸腺の役割について AChR に反応するT細胞を passive transfer することにより検討してきた。これまでの結果から, 自己の AChR と反応するT細胞は myoid cell など胸腺内の AChR を標的としている可能性が考えられる。今回は syngeneic AChR や合成ペプチドを用いて自己 AChR をより強く認識するT細胞ラインを樹立を試み, これらのT細胞の胸腺細胞・胸腺内 AChR に対する反応を in vitro で検討した。

方 法

1) AChR 特異的T細胞ラインの作成

シビレエイ由来 AChR (NA), ラット除神経骨格筋由来 AChR および recombinant Human AChR α -subunit (α) で免疫した Lewis ラットの所属リンパ節細胞浮遊液より, NA, α および AChR α -subunit の一部のペプチド T α 100-116, H α 128-142 を

国立療養所川棚病院神経内科 *長崎大学第一内科

それぞれ刺激抗原として用い, マイトマイシン C (MMC) 処理胸腺細胞を抗原提示細胞とする再刺激とT細胞増殖因子による増殖を繰り返すことによりそれぞれの抗原に特異的T細胞ラインを誘導した。

2) AChR 特異的T細胞と胸腺細胞の反応

各 T細胞 5x10⁴/well と MMC 処理または非処理 Lewis ラット胸腺細胞 5x10⁵/well を 200ml の培養液で 5%CO₂, 37°C の条件下で 72 時間培養後, リンパ球幼若化反応を 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)を用いた Cell proliferation ELISA で測定した。コントロールとして各T細胞に MMC 処理脾細胞をそれぞれ 5x10⁵ 加え, 同様に増殖反応を検討した。また, それぞれの系において 2.5% T細胞増殖因子添加培養液を用いて同様の検討を行った。

結 果

1) AChR 特異的T細胞ライン

種々の AChR 抗原を用い AChR 特異的T細胞ラインの誘導を試みた結果, NA, α , T α 100-116 そして H α 128-142 にそれぞれ特異的に反応するT細胞ラインを樹立した (表 1)。

表 1. AChR 特異的T細胞とその胸腺細胞との反応性

	免疫抗原	刺激抗原	胸腺細胞への反応
AC	NA	NA	-
T α 1	NA	T α	-
r 1	α	α	-/+
SH	NA	H α	+

NA: シビレエイ由来 AChR, α : recombinant Human AChR α -subunit, T α : 合成ペプチド T α 100-116, H α : 合成ペプチド H α 128-142

2) 抗原特異的T細胞と胸腺細胞の反応

4 つのラインのうち H α 128-142 に反応する SH ラインは MMC 処理および非処理胸腺細胞の混合培養で増殖反応を示したが, MMC 処理脾細胞には反応を示さなかった。AC, T α 1 は MMC 処理および非処理胸腺細胞の混合培養では増殖反応

を示さず, r1 は MMC 非処理胸腺細胞に対してのみ反応を示した (図 1). さらに, 2.5% T細胞増殖因子添加培養液を用いた検討でも同様の傾向が認められたが, この条件下では, r1 は MMC 処理胸腺細胞にも反応が認められた.

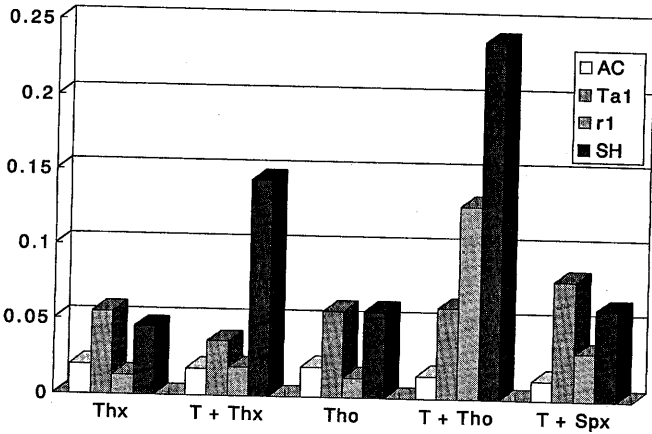


図 1. 各T細胞ラインの MMC 処理(Thx)および非処理胸腺細胞(Tho)および MMC 処理脾細胞(Spx)に対する反応性

3) SH ラインの胸腺細胞に対する反応を確認するために, SH と MMC 処理胸腺細胞を抗原を添加せずに混合培養し, 反応したT細胞芽球を比重遠心で分離し増殖させたものについて, 胸腺細胞および H α 128-142 に対する反応を検討した. このT細胞も MMC 処理胸腺細胞に反応し, H α 128-142 の添加により用量依存性に活性化された (図 2).

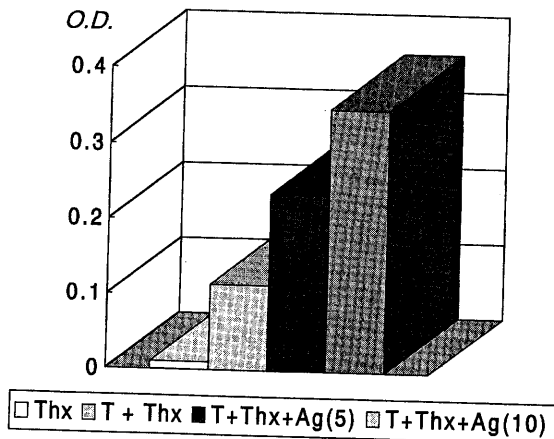


図 2. MMC 処理胸腺細胞(Thx)で活性化された SH ライン T 細胞の Thx および抗原ペプチド(Ag)に対する反応

4) また, 胸腺細胞を 2 時間培養後の non-adherent, 18 時間培養後後の脱着分画と adherent に分画に反応しているかを検討した. 18 時間培養後はがれてきた分画は dendritic cell が多いと考えられているが, SH ラインはこの分画に反応していた (図 3).

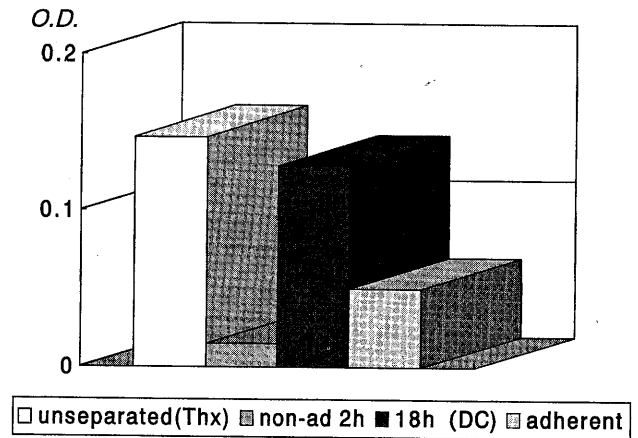


図 3. SH ラインの胸腺細胞(Thx)の各分画に対する反応

考 察

今回, われわれは AChR α -subunit の残基番号 128-142 の部分が AChR 上の T cell epitope であり, このペプチドに反応するT細胞が in vitro において正常胸腺細胞により, 外来抗原の添加なしに活性化されることを示した. この部分のペプチドはヒト, ラットおよびシビレイの AChR でアミノ酸配列が類似していることより, このT細胞がラット胸腺内 AChR の一部を認識した可能性が高い. また, epitope は同定できなかったものの, r1 もある条件下では胸腺細胞に反応を示した. われわれは, 以前に AC ラインのようなシビレイ由来 AChR に反応するT細胞を用いて検討した場合, in vitro でも in vivo においても胸腺細胞による活性化がないことを示したが, 自己抗原 (ラット AChR) を認識する AChR 特異的T細胞のみが胸腺内 AChR を認識し, 胸腺内で活性化される可能性が推測される.

今回の検討では, 胸腺内では抗原は dendritic cell の多い分画に存在することが示された. しかし, この分画には dendritic cell 以外の細胞も含まれているので, 抗原を取り込んだ dendritic cell がT細胞に抗原を提示しているのか, その他の細胞が抗原を提示しているのかについてはさらに詳しい検討が必要である.

自己の胸腺内の抗原に交差反応を示すようなT細胞が生体内で増殖すれば、胸腺に集積し、MGと同じような病理学的変化や抗体産生が起こる可能性がある。今後、このようなT細胞が *in vivo* でどのような反応を示すかについて検討していく必要がある。

ま と め

ヒト、ラットおよびシビレイの AChR およびその合成ペプチドを用いて、4つの AChR 特異的T細胞ラインを樹立した。このうちヒト、ラットおよびシビレイの AChR でアミノ酸配列が類似している AChR α -subunit の残基番号 128-142 を epitope とするT細胞ラインが *in vitro* で胸腺細胞に反応して活性化されることを示した。自己の AChR と交差反応を示すT細胞は胸腺内で活性化される可能性がある。

文 献

- 1) Fritz RB et al: Thymic expression of myelin basic protein(MBP): activation of MBP-specific T cells by thymic cells in the absence of exogenous MBP. *J Immunol* 157:5249-5253,1996.
- 2) Vincent A et al: Determinant spreading and immune responses to acetylcholine receptors in myasthenia gravis. *Immunol Rev* 164:157-168,1998

アセチルコリン受容体に対する hu-SCID マウスの自己免疫応答の研究

吉川 弘明

目 的

重症筋無力症 (MG) は、神経筋接合部のアセチルコリン受容体 (AChR) を標的とした自己免疫疾患であり、MG 患者体内では抗 AChR 抗体 (AChRab) が、持続的に産生されている [1, 2]。しかし、MG 患者免疫系の抗原に対する反応性を直接調べることは不可能である。ラットやマウスに AChR を免疫して作製する実験的重症筋無力症モデル (EAMG) は、MG 類似の臨床症状を呈するものの、免疫異常という点からは外部からアジュバントとともに与えた AChR に対して作製された抗体が、動物の AChR に交差反応を起こしているために発症するモデルであり、発症の引き金が何かという点では MG の病態とは異なっている。Severe combined immune deficiency (SCID) マウスは、常染色体劣性遺伝形式の突然変異であり機能を持った T 細胞、B 細胞が形成されない [3]。そのため、SCID マウス腹腔内に注入したヒト末梢血リンパ球 (PBL) は、マウス免疫系の標的となることなく機能をもったヒト免疫系を再構築することができる [4, 5]。これまで、様々な自己免疫疾患において、患者リンパ球を SCID マウスに移入させ、実験モデル (hu-SCID mouse) が作られてきた [6-9]。今回、正常人と MG 患者における、AChR に対する免疫学的応答の違いを調べるために、正常人 PBL もしくは MG 患者胸腺細胞を SCID マウス腹腔内に注入し、AChR 投与に対する IgG、IgM 産生ならびに AChRab 産生能の変化を調べた。

対象および方法

MG 患者の摘出胸腺ならびに正常人の末梢血を用いた。全ての患者に十分な説明をし、インフォームドコンセントを得た。患者は AChRab が高値の症例を選び、正常人の AChRab は陰性であった (表 1)。胸腺は金属メッシュを通して単細胞浮遊液とした。末梢血を Histopaque 1077 を使って遠心分離し、PBL を得た。メス C.B.-17 scid/scid (SCID) マウスは無菌的条件下で飼育した。これらの SCID マウス一匹あたり $1.6 - 4.0 \times 10^7$ 個のヒト細胞を腹腔内に注入した。SCID マウスは毎週体重を調べるとともに 10 日ごとに採血をして、血清中のヒト IgG、IgM ならびに AChRab 価を測定した。ヒト IgG、IgM は ELISA 法により測定し、AChRab はヒト骨格筋 AChR を ^{125}I - α -bungarotoxin で標識し、免疫沈降法により測定した。また、AChRab の種特異性を調べるため、マウス骨格筋、シビレエイ電気器

官を抗原に用いて同様に測定した。SCID マウスに注入したヒト細胞の抗原特異的抗体産生能を調べるため、SCID マウスに組み換えヒト AChR α_1 subunit (残基番号 1-210; H α 1-210) を間欠的に腹腔内投与した。また、IgG、IgM 産生における T 細胞の関与を調べるために、精製した抗 CD3 抗体 (OKT3) を静脈内投与した。抗 CD3 抗体のコントロールとしては、抗 KLH (Keyhole Limpets Hemocyanin) 抗体を用いた。

結 果

ヒト IgG、IgM は、正常人 PBL 注入 SCID マウス (hu-SCID) と MG 胸腺細胞注入 SCID マウス (MG-SCID) の両方で、30 日以内にマウス血中より検出できた。IgG、IgM の値はともに 20-70 日にピークとなり、以後低下していった。この推移は hu-SCID においても MG-SCID でも同様であった。抗 CD3 抗体をヒト細胞注入直前に投与すると IgG、IgM の産生は量依存的に抑制され、マウスあたり 0.5 μg でほぼ完全に抑制された (図 1)。しかし、いったん IgG、IgM の産生が始まってから、抗 CD3 抗体を投与しても抑制効果は見られなかった。一方、抗 KLH 抗体投与では抗体産生に影響がなかった。IgG、IgM がピークに達した後、低下してくる過程で MG-SCID 腹腔内に H α 1-210 を投与すると、IgG、IgM の推移は変わらないまま、AChRab が上昇した (図 2)。この AChRab はヒト骨格筋に特異的でマウス骨格筋ならびにシビレエイ電気器官にはほとんど結合しなかった。一方、同様に hu-SCID 腹腔内に H α 1-210 を投与すると、32 匹中 1 匹のマウスで IgG、IgM の推移には影響を与えず、AChRab の上昇をみる事ができた。しかし、hu-SCID マウスで産生された AChRab はヒト、マウス、シビレエイに同程度の結合性を示した (図 3)。また、MG-SCID において細胞移入後早期より H α 1-210 を投与すると、IgG、IgM の産生が抑制されたが、hu-SCID ではそのような現象がみられなかった。

考 察

MG の SCID マウス・モデルについては、これまで複数の報告がある [10-16]。しかし、その結果については、一致をみていない点がある [17]。今回の結果では、SCID マウスに注入されたヒト B 細胞が抗体産生を開始するごく初期において、T 細胞の関与が必要であることがわかった。また、MG-SCID マウスが産生する AChRab は患者血清と同様に、ヒト AChR に特異的であったが、hu-SCID マウス

に H α 1-210 を投与して産生させた AChRAb はヒト、マウス、シビレエイに種をこえた交差反応性を示した。これは、ラットにシビレエイを免疫して作成する Experimental autoimmune myasthenia gravis (EAMG) モデルと同様と考えられた。このような AChRAb の種特異性の維持、自己抗原投与に対する抗体産生の変化から、MG には偶然の自己 AChR に対するトレランス破綻だけでは説明できない免疫学的異常の存在が疑われた。

今後、SCID マウスに注入したヒト B 細胞が抗体産生を開始する時点で T 細胞はどのように作用するのか、MG 患者 B 細胞が産生する AChRAb はなぜヒト AChR に特異的に結合するのかという二つの点を明らかにすることが、より MG 病態の本質に迫ることになると考えられる。

まとめ

MG 患者の胸腺細胞ならびに正常人 PBL を SCID マウス腹腔内に移植し、以下の結果を得た。

- 1) SCID マウスはヒト主要組織適合抗原を持たないことより、完全なヒト免疫系の再構築を期待することできないが、ヒト・リンパ球の免疫応答を能動的に修飾、観察する手段として、ヒト免疫機構ならびに自己免疫疾患発症機序の解明に有用な研究手段である。
- 2) MG は EAMG とは異なり、単に AChR に対するトレランスの破綻だけでは説明できない免疫学的異常が疑われた。

文 献

- 1) Drachman, DB : Myasthenia gravis. N Engl J Med 330: 1797-1810, 1994
- 2) 吉川弘明、他 : 重症筋無力症治療方針. 日内会誌 86: 849-855, 1997
- 3) Bosma MJ et al : A severe combined immunodeficiency mutation in the mouse. Nature 301: 527-530, 1983
- 4) McCune JM et al : The SCID-hu mouse: murine model for the analysis of human hematolymphoid differentiation and function. Science 241: 1632-1639, 1988
- 5) Bosma MJ et al : The SCID mouse mutant: definition, characterization, and potential uses. Annu Rev Immunol 9: 323-350, 1991
- 6) Krams SM et al : Generation of biliary lesions after

transfer of human lymphocytes into severe combined immunodeficient (SCID) mice. J Exp Med 170: 1919-1930, 1989

7) Duchosal MA et al : Transfer of human systemic lupus erythematosus into severe combined immunodeficient (SCID) mice. J Exp Med 172: 985-988, 1990

8) Tighe H et al : Autoantibody production by severe combined immunodeficient mice reconstituted with synovial cells from rheumatoid arthritis patients. Eur J Immunol 20: 1843-1848, 1990

9) Davies TF et al : The SCID-hu mouse and thyroid autoimmunity: characterization of human thyroid autoantibody secretion. Clin Immunol Immunopathol 60: 319-330, 1991

10) Schönbeck S et al : Transplantation of thymic autoimmune microenvironment to severe combined immunodeficiency mice. Transplantation of thymic autoimmune microenvironment to severe combined immunodeficiency mice. A new model of myasthenia gravis. J Clin Invest 90: 245-250, 1992

11) Martino G et al : The human-severe combined immunodeficiency myasthenic mouse model: a new approach for the study of myasthenia gravis. Ann Neurol 34: 48-56, 1993

12) Yoshikawa H et al : Acetylcholine receptor autoantibody secretion by thymocytes: relationship to myasthenia gravis. Neurology 49: 562-567, 1997

13) Yoshikawa H : Engraftment of myasthenia gravis thymocytes into severe combined immunodeficiency (SCID) mice. Autoimmunity 28: 217-224, 1998

14) Wang ZY et al : Myasthenia in SCID mice grafted with myasthenic patient lymphocytes-Role of CD4(+) and CD8(+) cells. Neurology 52 : 484-497, 1999

15) Aissaoui A et al : Prevention of autoimmune attack by targeting specific T-cell receptors in a severe combined immunodeficiency mouse : Model of myasthenia gravis. Ann Neurol 46 : 559-567, 1999

16) Vassilev T et al : Normal human immunoglobulin suppresses experimental myasthenia gravis in SCID mice. Eur J Immunol 29 : 2436-2442, 1999

17) 吉川弘明 : SCID マウスを使った重症筋無力症における自己免疫機序の研究. 神経免疫学 7: 245-252, 1999

表 1. Characteristics of Human Lymphoid Cell Donors

Donor	Sex/Age	Cells	Serum AChR autoantibodies specificity and value (nmol/l)		
			Human	Mouse	Torpedo
MG-Ma	F/28	Thymus and PBL	5,560	0.0	0.0
MG-Ro	F/41	Thymus and PBL	818	0.0	0.0
MG-Hi	F/43	Thymus	131	1.0	0.0
MG-Du	F/15	Thymus	62	N.T.	N.T.
Normal-1	F/49	PBL	0.0	0.0	0.0
Normal-2	M/33	PBL	0.0	0.0	0.0

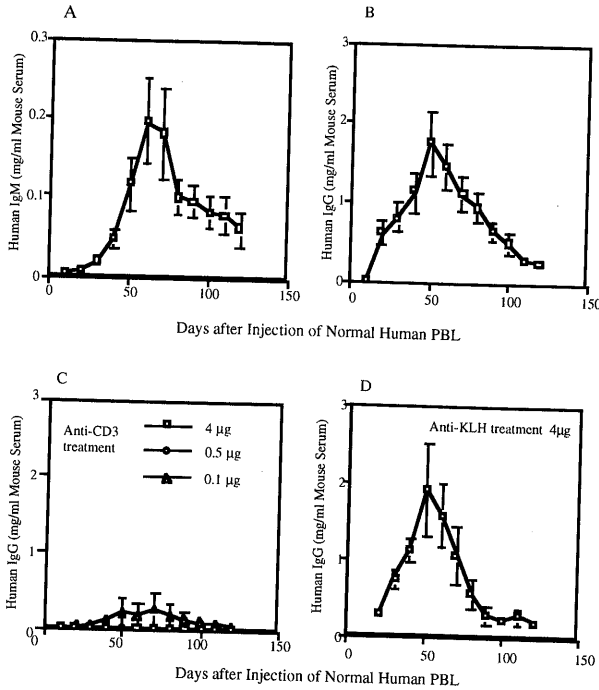


図1 正常PBL注入後のSCIDマウス血清ヒト免疫グロブリン濃度 (mean ± SEM) (A) IgM、(B) IgG、(C) 抗CD3抗体静脈内投与群、(D) 抗KLH抗体投与群

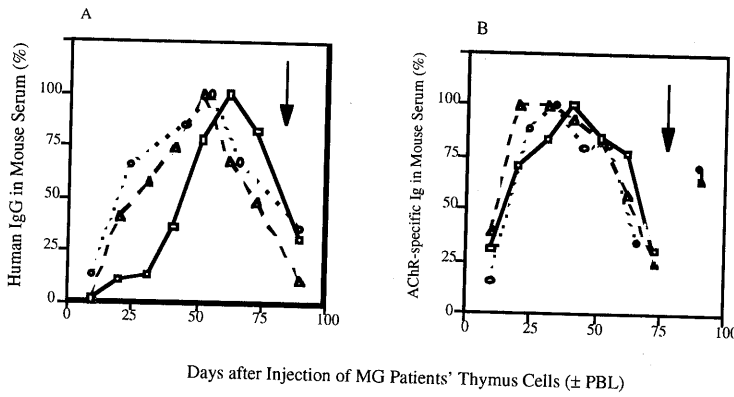


図2 MG-SCIDのIgG (A) ならびにAChRab (B) 産生. 最大値を100%として表示. 矢印(70日)にH α 1-210 (66 μ g)を腹腔内投与した. \square , MG-Ma thymocytes (1.6×10^7), Δ , MG-Ma thymocytes (0.8×10^7) and PBL (0.5×10^7), \circ , MG-Ro thymocytes (3.5×10^7) and PBL (1.2×10^7).

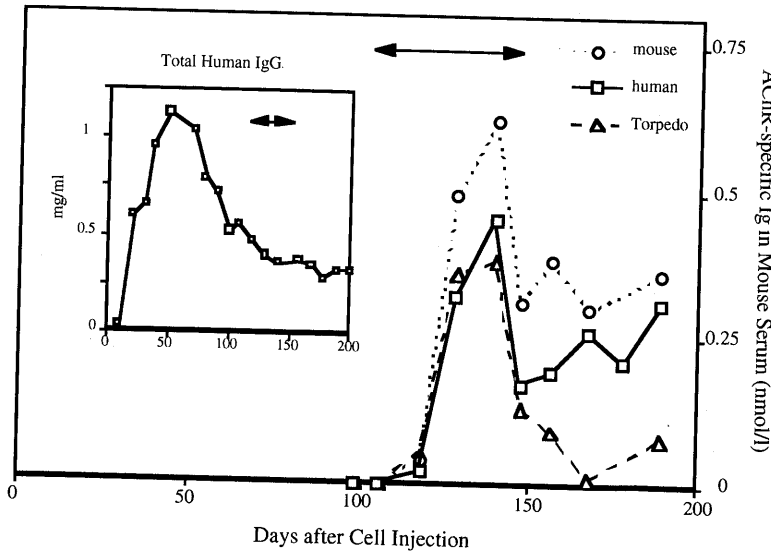


図3 hu-SCIDのヒトIgG (挿入図) およびAChRab産生. 両端矢印付き線はH α 1-210 (66 μ g)の腹腔内投与期間を示す.

免疫性神経疾患におけるケモカインの検討

小野寺宏, 三須建郎, 藤原一男, 鈴木靖士, 田郷英昭, 中島一郎, 糸山泰人

目的

リンパ球は生理的な状態でも再循環とホーミングを繰り返して抗原特異的T細胞クローンが常に組織を監視しているが, 多発性硬化症(MS)の中脳神経組織ではこれらの免疫担当細胞の機能が変調していると考えられる。ケモカインは数十種類のファミリー遺伝子から構成される塩基性のヘパリン結合性分泌蛋白であり, 複数のサイトカイン・ケモカインの組み合わせによりリンパ球の遊走や活性化状態が調節されている。また脳障害後にはケモカインシグナルが変調する事も知られている¹⁾。本研究ではMSの病態におけるケモカインシグナル伝達系の関与を解析するために, (1)血液および髄液中のeotaxinとIL-8濃度, (2)末梢血および髄液中T細胞におけるケモカイン受容体発現を解析した。

また, eotaxinは好酸球の強力な遊走・活性化因子でもあるので, Churg-Strauss症候群(CSS)の治療前後におけるeotaxin血中濃度の変化についてもあわせて検討した。

方法

MS患者19名, Churg-Strauss症候群患者3名(CSS,末梢血好酸球数 $>2000/\mu\text{l}$, 気管支喘息およびmononeuritis multiplex合併例), 健常者10名を対象として, 以下の項目について検討した。

(1) 血液および髄液中eotaxin, IL-8濃度

血液および髄液中のeotaxinおよびIL-8濃度をELISA法により定量した。尚, disease controlとしては他の神経疾患(HAM, ALS, sarcoidosis)を用いた。

(2) 血液および髄液中のT細胞におけるケモカイン受容体発現

RRMS患者の再発時治療前の末梢血と髄液中リンパ球を採取・分離後, 各種リンパ球マーカー(CD4, CD8, CD19)およびケモカイン受容体に対するモノクローナル抗体を用いてフローサイトメトリーを行った。血液と髄液のT細胞におけるケモカイン受容体発現率についても比較検討した。

結果

- MSにおける血液中および髄液中のIL-8濃度
血液中IL-8濃度は, 健常者およびMS再発時(ステロイド治療前)のいずれでも測定限界以下であった($<10\text{ pg/ml}$)。髄液中IL-8濃度はMS再発時において $13\sim 100\text{ pg/ml}$ (平均 32 pg/ml)であり, 他の神経疾患(HAM, ALS, sarcoidosis)および対照群での髄液IL-8濃度と比較して有意の差はなかった。
- MSにおける血液中eotaxin濃度(Figure 1)
他の報告同様に健常者の血中eotaxin濃度は $50\sim 80\text{ pg/ml}$ であった。MS再発直後(治療前)にはeotaxin血中濃度は対照群に比較して高値であり, ステロイド治療後(再発後1ヶ月以内)血液中eotaxin濃度はさらに上昇した。尚, 髄液中のeotaxin濃度は健常群およびMS群ともに測定限界以下であった。
- Churg-Strauss症候群における血液中eotaxin濃度(Figure 1)
発症1ヶ月以内(治療前)のCSSでは, 血液中eotaxin濃度は健常者の約5倍に上昇していた。治療開始後にeotaxin血中濃度は著明に減少した。
- MSの血液および髄液中T細胞におけるケモカイン受容体の発現(Figure 2,3,4)

MS 再発時には健常者と比較して、末梢血の CD4⁺および CD8⁺T 細胞において CXCR3 および CCR5 陽性細胞が増加していた。次に MS 再発時の末梢血および髄液の T 細胞における CCR1, CCR2, CCR3, CCR4 陽性率を比較したところ、CD4⁺T 細胞における CCR2 と CCR3 の発現率は末梢血と髄液とで差は認められなかったものの、Th1 ケモカイン受容体である CCR1 発現率は髄液 CD4⁺T 細胞において著明に増加していた。一方 Th2 ケモカイン受容体である CCR4 の発現率は髄液 CD4⁺T 細胞においては低下傾向にあった。CD8⁺T 細胞における CCR1, CCR2, CCR3, CCR4 の発現率は末梢血に比べて髄液において増加していた。

考察

ケモカインは白血球遊走および活性化作用を持ち免疫機能の調製に重要な役割を果たしている。30種類にも及ぶケモカインのバランスによりリンパ球のホーミングや T 細胞の活性が調節されている。これまでの研究から特定のケモカイン受容体の発現により T 細胞の機能の相違、すなわち Th1 および Th2 リンパ球を分類できることが明らかになった。Th1 は CXCR3 や CCR1, CCR5 を発現しているのに対して、Th2 は CCR4 を発現している事により両者を区別することが可能である。急性期の MS 脳病変部では、MIP-1 α とその受容体である CCR5 が、また IP-10 とその受容体である CXCR3 の発現が報告されており、MS 再発時には Th1 優位の免疫反応が重要と考えられる。今回我々は、MS 再発時には血液中および髄液中の T リンパ球におけるケモカイン受容体発現を解析し、CD4⁺T 細胞における Th1 ケモカイン受容体発現が末梢血および髄液で増加していることを明らかにした。特に CCR1 の発現が末梢血に比して髄液で著明に増加しており、CCR1 を介する CD4⁺細胞の活性化が MS の病態に重要であると考えられた。²⁾

eotaxin 濃度はアトピー性皮膚炎や気管支喘息患者の病巣で上昇していることが報告されている。

好酸球の著増と活性化、血管炎を特徴とする CSS での血中 eotaxin の増加とステロイド治療後の eotaxin レベルの低下は CSS の発症機序における eotaxin の重要性を示している。eotaxin は RANTES や MCP-2 等とともに CCR3 を受容体とするケモカインであるが、MS においては再発直後よりもステロイドパルス治療後に eotaxin 血中濃度が増加していた事は極めて興味深い。CCR3 は Th2 ケモカイン受容体であり、治療後の血中 eotaxin の増加は MS 再発時に Th1 へと傾斜した T 細胞バランスが補正されつつある事を反映している可能性がある。血中 eotaxin の変動は eotaxin と CCR3 を共用する RANTES など他のケモカインの作用が修飾されていることも意味しており、MS の再発と Th1/Th2 バランスの観点から今後の検討が必要である。

まとめ

MS 再発時におけるケモカインシグナル伝達系の変調を明らかにした。ケモカインシグナルを修飾することによる MS 再発時の治療が期待される。

本研究は近畿大学医学部 義江修博士、東京大学医学部 松島綱治博士との共同研究である

文献

- 1) 鈴木靖士, 小野寺宏, 永田哲也, 義江修, 糸山泰人. カイニン酸による海馬障害ラット脳でのケモカイン・ケモカイン受容体の変化 *Neuroimmunology*, 8,140-141,2000
- 2) 三須建郎, 小野寺宏, 藤原一男, 中島一郎, 沖田直, 高瀬貞夫, 義江修, 松島綱治, 糸山泰人. 日本人多発性硬化症患者の末梢血および髄液におけるリンパ球表面マーカーの検討 *Neuroimmunology* 8,36-37,2000