

2.1. STING による気道炎症のメカニズム

辻真世子、近藤光子、亀山伸吉、赤羽朋博、有村健、八木理充、桂秀樹、多賀谷悦子
(呼吸器内科学)

〔目的〕 STING による気道炎症のメカニズムを解明する。

〔方法〕 気道炎症は気道上皮におけるパターン認識受容体が関与している。Stimulator of interferon related genes (STING) の気道上皮細胞における遺伝子発現を公開データベースで解析した。また STING アゴニスト存在下で初代気道上皮細胞の培養を行い、上皮性サイトカインを qPCR により解析した。

〔結果〕 我々は、気管支鏡による粘膜生検体の RNA-seq データ (GEO: GSE 148815) を解析したところ、STING の発現が他のパターン認識受容体と比較しても著明に高値であること、また初代気道上皮細胞で STING を活性化すると上皮性サイトカインである *IL-33* や *TSLP* ではなく *RANTES* が強く発現することを見出した (図 1)。

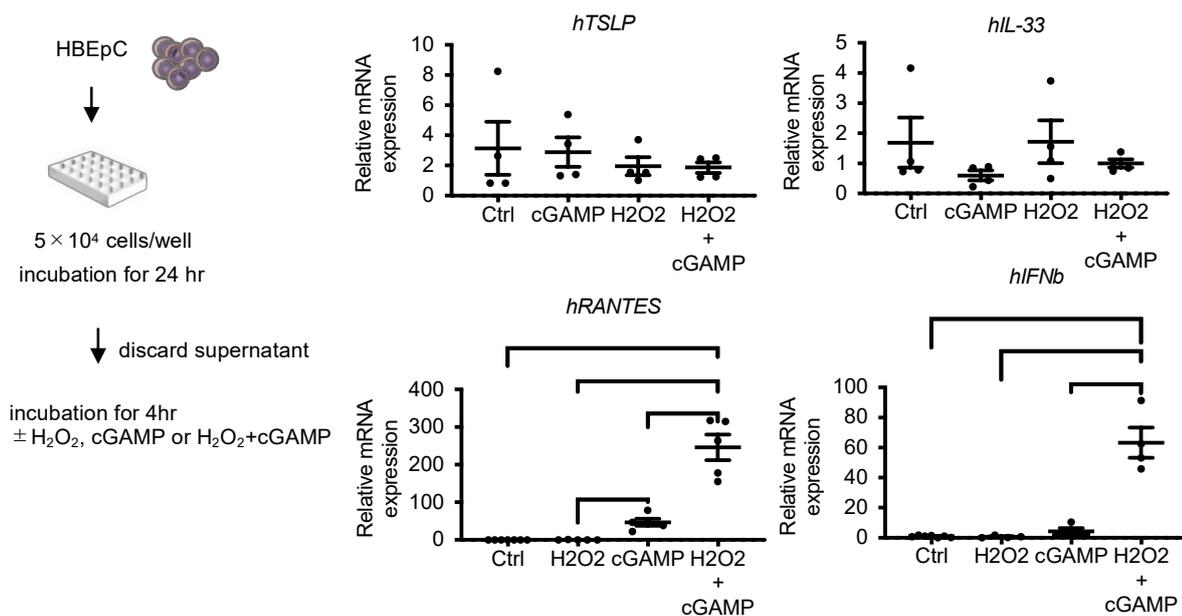


図 1. 初代気道上皮細胞の STING 活性化による上皮性サイトカインの変化

〔考察〕 STING は、RS ウイルス、ライノウイルス、細菌などの DNA、RNA をリガンドとしている。これらの STING 活性化による気道炎症は、RANTES を介している可能性が考えられた。また近年、RANTES が 1 型炎症から 2 型炎症への移行を促しているという報告があり、STING の喘息に関する報告もされていることから¹⁾、この RANTES が STING 活性化による喘息発症において重要である可能性が考えられた。2 型炎症への移行機序についてはさらなる検討が必要である。

〔結論〕 STING は気道上皮細胞でパターン認識受容体中最も高発現であり、活性化により RANTES が亢進していた。STING による気道炎症は RANTES が重要であることが示唆された。

〔文献〕

- 1) Gauthier M, Kale SL, Oriss TB, et al. CCL5 is a potential bridge between type 1 and type 2 inflammation in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2023;152(1):94-106.e112.

2.2. コルチゾール自律性過剰分泌患者の心血管危険因子解析

渡辺大輔、森本聡、森嶋紀子、市原淳弘
(高血圧学)

〔目的〕 コルチゾール産生腺腫(CPA)は、臨床徴候からクッシング症候群(CS)とサブクリニカルクッシング症候群(SCS)に大別される。一方で、CPAは複数の遺伝子変異により多様な分子基盤を有していることが知られている¹⁾。今回、我々は臨床徴候や腫瘍の分子生物学的な多様性が、CPA患者の心血管危険因子に及ぼす影響につき検討した。

〔方法〕 CPA患者25症例、非機能性腺腫(NF)患者8例、本態性高血圧(EH)患者45例を対象とした。血管機能検査として血流依存性血管拡張反応(FMD)、心臓足首血管指数(CAVI)を施行し、CPAの*PRKACA*と*CTNNB1*の遺伝子変異を評価した。臨床徴候や遺伝子変異の有無により分類した2群間で、血管機能また血管機能に影響する因子、手術前および1年後の心血管危険因子の変動につき比較した。本研究は、本学の倫理委員会の承認を受けて行った(承認番号2022-0047)。

〔結果〕 *PRKACA*と*CTNNB1*の遺伝子変異を図1に示す。CS12例、SCS13例、*PRKACA*陽性6例、陰性19例であった。*CTNNB1*はCSのうち2例、SCSのうち1例が陽性であった。FMDは、CS($5.1 \pm 2.0\%$)、SCS($5.3 \pm 1.7\%$)ともに、NF($7.4 \pm 1.9\%$)とEH($7.0 \pm 2.1\%$)に比し低値であり、*PRKACA*変異(変異あり： $4.7 \pm 1.3\%$ 、なし： $5.4 \pm 1.9\%$)に関わらず、NFとEHに比し低値であった(図2)。CAVIは、CPA患者とNF患者、EH患者で差を認めなかった(図2)。FMDはCS群では血糖、HbA1c、クレアチニンと、SCS群では中性脂肪、HbA1cと負の相関を示した(表

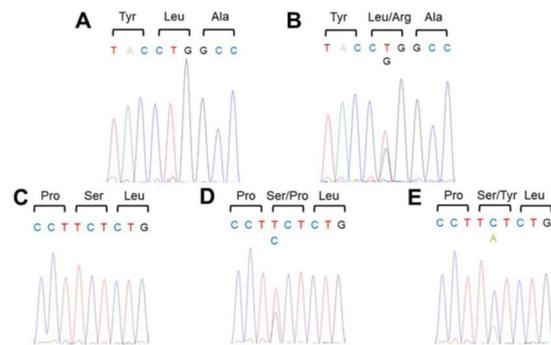


図1. 副腎腺腫における*PRKACA*と*CTNNB1*遺伝子の変異例(A：*PRKACA*陰性、B：*PRKACA*陽性、C：*CTNNB1*陰性、D、E：*CTNNB1*陽性)

1)。*PRKACA*陽性群では血糖、HbA1cと、陰性群ではBMI、HbA1cと負の相関を示した(表1)。CPAにおけるCYP11B1のmRNA発現は、CS、SCS、NFもしくは*PRKACA*陰性、陽性、NFの3群間で差を認めなかった。手術1年後には、CS群では収縮期血圧とHbA1c、SCS群では収縮期血圧とLDLコレステロール(LDLc)、*PRKACA*陽性群ではHbA1c、陰性群では収縮期血圧とLDLcが改善した一方、他因子は各群で改善しなかった(表2)。

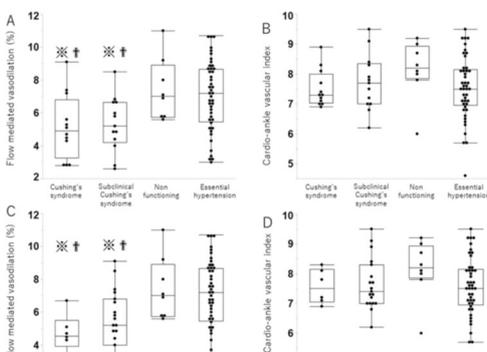


図2. CSとSCS、*PRKACA*陽性と陰性群におけるFMDとCAVIの違い

(A, B: CSおよびSCS群の比較、C, D: *PRKACA*陽性および陰性群の比較)

表 1. CS および SCS、PRKACA 陽性および陰性群における FMD と各種背景因子との相関

	Clinical features				Genetic characteristics			
	CS		SCS		PRKACA mutation (+)		PRKACA mutation (-)	
	rs	p	rs	p	rs	p	rs	p
Age (years)	-0.09	0.78	-0.55	0.05	-0.05	0.91	-0.38	0.11
Body mass index (kg/m ²)	-0.47	0.12	-0.38	0.20	0.14	0.79	-0.50	0.03
Systolic BP (mmHg)	0.32	0.31	-0.04	0.90	0.03	0.95	0.13	0.60
Diastolic BP (mmHg)	0.11	0.75	0.18	0.56	0.09	0.87	0.23	0.33
HDL-C (mg/dL)	-0.10	0.75	0.45	0.12	0.54	0.27	0.13	0.61
LDL-C (mg/dL)	0.10	0.75	-0.04	0.89	0.37	0.47	0.02	0.95
Triglycerides (mg/dL)	-0.21	0.51	-0.58	0.04	-0.20	0.70	-0.44	0.06
Plasma glucose (mg/dL)	-0.62	0.03	-0.40	0.18	-0.83	0.04	-0.43	0.06
Hemoglobin A1c (%)	-0.60	0.04	-0.56	0.04	-0.83	0.04	-0.48	0.04
Creatinine (mg/dL)	-0.63	0.03	-0.15	0.63	0.31	0.54	-0.36	0.13
eGFR (ml/min/1.73 m ²)	0.70	0.01	0.20	0.52	0.14	0.79	0.38	0.11
Serum cortisol 8.00 (µg/dL)	0.02	0.94	0.17	0.58	-0.54	0.27	0.23	0.34
Serum cortisol 23.00 (µg/dL)	-0.05	0.88	0.45	0.12	-0.43	0.40	0.29	0.22
24-h urine cortisol (µg/day)	0.34	0.28	0.52	0.07	-0.60	0.21	0.41	0.08
Serum cortisol after 1-mg DST (µg/dL)	0.03	0.92	0.37	0.21	-0.66	0.16	0.32	0.18

Bold indicates statistical significance
 BP blood pressure, CS Cushing's syndrome, DST dexamethasone suppression test, eGFR estimated glomerular filtration rate; FMD flow-mediated vasodilation, HDL-C high-density lipoprotein cholesterol, LDL-C low-density lipoprotein cholesterol, PRKACA protein kinase cAMP-activated catalytic subunit alpha, SCS subclinical Cushing's syndrome
 p < 0.05

表 2. CS および SCS、PRKACA 陽性および陰性群での手術前後での背景因子の変動

	CS		SCS		PRKACA mutation (+)		PRKACA mutation (-)	
	Baseline	1 year	Baseline	1 year	Baseline	1 year	Baseline	1 year
Systolic BP (mmHg)	141.2 ± 17.7	112.9 ± 19.1 [#]	136.1 ± 17.4	122.8 ± 13.2 [#]	138.7 ± 27.4	113.7 ± 12.8	138.5 ± 13.9	119.5 ± 17.9 [#]
HDL-C (mg/dL)	75.8 ± 17.7	68.0 ± 16.6	69.6 ± 14.7	69.6 ± 11.6	72.5 ± 17.5	62.8 ± 19.1	72.6 ± 16.2	70.7 ± 11.9
LDL-C (mg/dL)	144.4 ± 42.7	123.6 ± 25.9	116.2 ± 4.06	89.9 ± 21.2 [#]	146.5 ± 49.2	133.2 ± 20.4	124.4 ± 41.2	97.5 ± 25.8 [#]
Triglycerides (mg/dL)	136.5 ± 69.7	123.3 ± 93.9	127.4 ± 53.2	118.5 ± 46.7	147.5 ± 75.3	153.7 ± 120.1	126.8 ± 56.6	110.4 ± 48.7
Plasma glucose (mg/dL)	100.3 ± 15.5	98.7 ± 16.9	105.2 ± 26.9	106.9 ± 21.5	102.8 ± 20.0	103.5 ± 21.6	102.9 ± 23.0	102.8 ± 19.4
Hemoglobin A1c (%)	6.0 ± 0.6	5.5 ± 0.3 [#]	6.0 ± 0.9	5.9 ± 1.1	6.0 ± 0.6	5.6 ± 0.4 [#]	6.0 ± 0.8	5.8 ± 0.9

Data are expressed as mean ± SD
 BP blood pressure, CS Cushing's syndrome, HDL-C high-density lipoprotein cholesterol, LDL-C low-density lipoprotein cholesterol, PRKACA protein kinase cAMP-activated catalytic subunit alpha, SCS subclinical Cushing's syndrome
[#]p < 0.05 versus baseline

〔考察〕 SCS 患者や PRKACA 変異陰性の CPA 患者でも、血管機能は本態性高血圧患者に比べ低下し、代謝異常は手術 1 年後も一部残存していることが示唆された。

〔結論〕 臨床徴候や副腎腫瘍の遺伝子変異の有無にかかわらず、CPA 患者では手術後も注意深く心血管危険因子をフォローする必要があると考えられた。

〔文献〕

- 1) Pitsava G., Stratakis CA. (2022) Genetic Alterations in Benign Adrenal Tumors. Biomedicines. 10(5): 1041

〔発表論文〕

- 1) Watanabe D., Morimoto S., Morishima N., et al. (2023) Cardiovascular risk assessments in patients with cortisol-producing adenoma: impact of clinical features and genetic characteristics. Heart Vessels. In press.

2 3 . Precise clinicopathologic findings for application of genetic testing in pediatric kidney transplant recipients with focal segmental glomerulosclerosis/steroid-resistant nephrotic syndrome

Kenichiro Miura¹, Naoto Kaneko¹, Taeko Hashimoto¹, Kiyonobu Ishizuka¹,
Yoko Shirai¹, Hiroko Chikamoto¹, Yuko Akioka¹, Shoichiro Kanda¹,
Toshiyuki Yamamoto² and Motoshi Hattori¹
(¹Department of Pediatric Nephrology, ²Institute of Medical Genetics)

[Purpose] Establishing a molecular genetic diagnosis of focal segmental glomerulosclerosis (FSGS)/steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS) can be useful for predicting post-transplant recurrence. Monogenic causes are reportedly present in approximately 20%–30% of patients with FSGS/SRNS. However, the characteristics of patients who are likely to have a monogenic cause remain to be determined. The aim of the study was to examine the likelihood of detecting causative variants in patients with FSGS/SRNS based on clinicopathologic findings, such as age of onset, birth weight, kidney size, family history, extra-kidney manifestations, nephrotic syndrome, treatment response to initial steroid therapy and additional therapies, and degree of foot process effacement (FPE) on electron microscopy (EM).

[Methods] Pediatric recipients with SRNS and/or biopsy-proven FSGS who underwent their first kidney transplantation at our center between 1999 and 2019 were analyzed. Patients with secondary FSGS/SRNS were excluded. The recipients were divided into three groups: familial/syndromic, presumed primary, and undetermined FSGS/SRNS. Patients who met all of the following criteria were categorized as having presumed primary FSGS/SRNS: (i) nephrotic syndrome, (ii) complete or partial remission with initial steroid therapy and/or additional immunosuppressive therapies¹, and (iii) diffuse FPE on EM in the native kidney biopsy². All patients underwent genetic testing using next-generation sequencing (NGS).

[Results] Twenty-four patients from 23 families were analyzed in this study. Pathogenic or likely pathogenic variants in FSGS/SRNS-related genes were identified in four of four families, zero of eight families, and 10 of 11 families with familial/syndromic, presumed primary, and undetermined FSGS/SRNS, respectively. Post-transplant recurrence occurred in five of eight patients with presumed primary FSGS/SRNS, whereas no patients with familial/syndromic and undetermined FSGS/SRNS experienced post-transplant recurrence.

[Discussion] Genetic testing using NGS has become a valuable diagnostic tool for the identification of monogenic FSGS/SRNS, which is present in approximately 20%–30% of patients affected by FSGS/SRNS. Our systematic approach based on precise clinicopathologic findings greatly increased the detection rate of causative variants in FSGS/SRNS patients when recipients with presumed

primary FSGS/SRNS were excluded. No pathogenic variants in 65 FSGS/SRNS-related genes were identified in recipients with presumed primary FSGS/SRNS. Consistent with these results, post-transplant recurrence occurred only in patients with presumed primary FSGS/SRNS, whereas patients with familial/syndromic and undetermined FSGS/SRNS experienced no recurrence. Therefore, our systematic clinicopathologic approach may be useful to differentiate patients who are likely to have a monogenic cause of disease from patients who are not, and to predict post-transplant recurrence of FSGS/SRNS. Our approach can potentially contribute to an improved cost-effective strategy for genomic analysis in pediatric kidney transplant recipients with FSGS/SRNS.

[Conclusions] Our systematic approach based on precise clinicopathological findings including nephrotic syndrome, treatment responses, and diffuse FPE might be useful to differentiate pediatric kidney transplant recipients with FSGS/SRNS who are likely to have a monogenic cause from patients who are not, and to predict post-transplant recurrence.

[Reference]

- 1) Miura K., Ando T., Kanda S., et al. (2022) *Pediatr. Transplant.* 26: e14103
- 2) Ishizuka K., Miura K., Hashimoto T., et al. (2021) *Sci. Rep.* 11: 12008

[Article]

- 1) Miura K., Kaneko N., Hashimoto T., Ishizuka K., Shirai Y., Hisano M., Chikamoto H., Akioka Y., Kanda S., Harita Y., Yamamoto T., Hattori M. (2023) Precise clinicopathologic findings for application of genetic testing in pediatric kidney transplant recipients with focal segmental glomerulosclerosis/steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* 38: 417-429

[Conference Presentation]

- 1) Miura K., Kaneko N., Hashimoto T., et al. Precise clinicopathologic findings for application of genetic testing in pediatric kidney transplant recipients with focal segmental glomerulosclerosis/steroid-resistant nephrotic syndrome. 19th International Pediatric Nephrology Association Congress, Calgary, Canada, Hybrid Meeting, 2022/9

2 4. 常染色体顕性(優性)多発性嚢胞腎における Splicing mutation と脳動脈瘤発症の関連性について

潮雄介、片岡浩史、眞部俊、星野純一
(腎臓内科学)

〔目的〕 常染色体顕性(優性)多発性嚢胞腎 (ADPKD) は最も多い遺伝子腎疾患である。重要な合併症として脳動脈瘤があり、一般人口よりも 5-10 倍の発症リスクを有するとされる。これまで我々は ADPKD における遺伝子変異の研究をおこなってきた。脳動脈瘤発症には PKD1mutation が、中でも splicing mutation と frameshift mutation が関連していると報告している。しかし splicing mutation には Exon skipping, Intron retention, Intron retention with cryptic site などに細分化され、それぞれが脳動脈瘤発症に関連しているかは不明である。本研究では splicing mutation の Exon skipping, Intron retention, Intron retention with cryptic site と脳動脈瘤発症について調べた。

〔方法〕 事前に各患者においては次世代シーケンサーにて遺伝子変異について同定した。患者の血液検体から RNA 抽出後に cDNA 合成を行なった。cDNA 合成後に変異を有するエクソンの前後にプライマーをたて、RT-PCR を行なった。RT-PCR 後に電気泳動を行い変異部位のバンドを確認した。PCR product を purification した後、サンガー法にて splicing mutation 部位がどの変異タイプなのかを同定し、脳動脈瘤発症の有無との関連性を検討する。

〔結果〕 現在、解析を行なっている。

〔今後の展望〕 これまで当科より ADPKD における脳動脈瘤には truncating mutation が若年発症に関連していると報告してきた。そのため splicing mutation において intron retention よりも Exon skipping や Intron retention with cryptic site に脳動脈瘤発症が多いと予想する。また ADPKD において PKD1 遺伝子より発現される PC1 が欠損すると、血管内皮細胞機能障害により脳動脈瘤発症に寄与する可能性が示唆されている。このことから nontruncating mutation より truncating mutation の方が脳動脈瘤発症は多いと予想する。

〔結論〕 現在、解析を行なっている。

〔文献〕

- 1) H. Kataoka, Stroke: Vascular and Interventional Neurology. 2022;2:e000203
- 2) Mouad Hamzaoui, Hypertension. 2022;79:2542–2551.

25. マウス中大脳動脈永久閉塞モデルにおける遠隔虚血コンディショニングと低体温療法の有効性の比較

齋藤萌子、星野岳郎、石塚健太郎、北川一夫
(脳神経内科学)

〔目的〕 我々は中大脳動脈永久閉塞に対して遠隔虚血コンディショニング (RIC : remote ischemic conditioning) を1日1回行うことで、脳軟膜動脈吻合を介した側副血行を発達させ脳保護効果が観察される事を報告している¹⁾。今回は一過性虚血再灌流モデルでの脳保護効果が多数報告されている低体温療法と RIC の脳保護効果を永久閉塞モデルにおいて比較検討することを目的とした。

〔方法〕 成熟 C57BL/6 雄マウスを用いてイソフルレン吸入麻酔下で左中大脳動脈 (MCA) を露出させ嗅索より近位部を永久閉塞した。MCA 閉塞から 70 分間の脳皮質血流をモニターした。RIC 群は MCA 閉塞 30 分後から両側下肢鼠径部でカフを用いて 200mmHg の負荷をかけ 5 分間駆血 5 分間解放を 4 回反復した。対照群は遠隔虚血負荷なしで同じ時間麻酔をかけ偽負荷を行った群とした (Sham 群)。低体温療法は MCA 閉塞から 70 分間体温を 33°C に保持した (低体温群)。RIC、偽処置または低体温処置を行った直後に MRI を用いて拡散強調画像 (DWI) を撮像し早期虚血病変を評価した。24 時間後の神経症状を観察し、TTC 染色より梗塞体積を評価した。

〔結果〕 ADCmap 体積は Sham 群、RIC 群と低体温群で $46.5 \pm 4.3 \text{mm}^3$ 、 $35.6 \pm 4.8 \text{mm}^3$ と $40.2 \pm 8.7 \text{mm}^3$ で Sham 群に対して RIC 群、低体温群で有意に縮小していた。また、低体温群に対して RIC 群で有意に縮小していた。24 時間後の梗塞体積は Sham 群、RIC 群と低体温群で $44.3 \pm 4.6 \text{mm}^3$ 、 $32.4 \pm 5.3 \text{mm}^3$ と $39.6 \pm 8.0 \text{mm}^3$ で Sham 群に対して RIC 群で有意に縮小していた。また、低体温群に対して RIC 群で有意に縮小していた。

〔考察〕 本研究での低体温療法の期間は約 1 時間と短いため保護効果が十分発揮されていない可能性がある。低体温療法は虚血再灌流モデルで有効性が多く報告されており、今後再灌流モデルでの検討が必要である。

〔結論〕 マウス中大脳動脈永久閉塞モデルにおいて、RIC は低体温療法に比較しても有意な脳梗塞縮小効果が観察された。

〔文献〕

1) Saito M, Hoshino T, Ishizuka K., et al. (2022) Transl Stroke Res. Online ahead of print.

〔学会発表〕

1) 齋藤萌子、星野岳郎、石塚健太郎、他. マウス中大脳動脈永久閉塞モデルにおける遠隔虚血コンディショニングと低体温療法の有効性の比較. 第 65 回日本脳循環代謝学会学術集会、山梨、2022/11

2 6 . Usefulness of nerve biopsy

Miki Suzuki
(Neurology)

[Background] The yield of nerve biopsy depends on a number of factors, including selection of patients, expertise of the laboratory, and techniques used.

[Methods] The indications of nerve biopsy are reviewed.

[Results] Before considering performing a nerve biopsy, the neuropathy must be investigated carefully and characterized by its inheritance, distribution, course, the general context in which it has developed, associated cerebrospinal and electrodiagnostic findings, and availability of DNA testing in the case of hereditary disease¹⁾. Certain conditions have characteristic histopathological appearances including most cases of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy, Charcot-Marie-Tooth disease 1, amyloid neuropathy, vasculitis, sarcoidosis, giant axonal neuropathy, hexacarbon neuropathy, IgM kappa paraproteinemic neuropathy, metachromatic leukodystrophy, and Krabbe's and Fabry's diseases but in many conditions the appearance of axonal degeneration or mixed axonal degeneration and demyelination is non-specific and nerve biopsy assists the diagnosis only by exclusion³⁾. Sural nerve biopsy has been considered a standard method of diagnosing vasculitic neuropathy, however, the procedure yields unequivocal evidence of vasculitis in only 20% of patients in whom biopsies are performed for this indication¹⁾. A multicenter prospective study confirmed the higher yield for performing a biopsy of the superficial peroneal nerve combined with a peroneus brevis muscle biopsy to search for vasculitis because of the higher frequency of involvement of the peroneal nerve in vasculitic neuropathy and the frequent involvement of muscle arteries¹⁾.

[Discussion] A recent prospective study has shown that nerve biopsy improves treatment in an estimated 60% of patients²⁾. Nerve sampling must be performed in an affected territory, and the specimen must be studied in a laboratory with expertise in the field¹⁾.

[Conclusions] Nerve and muscle biopsy remains a useful diagnostic tool in selected cases, especially in patients with multifocal neuropathy.

[Reference]

1) Said G. (2002) *Acta Neurol.* 59 : 1532-1535

2) Gabriel CM, Howard R, Kinsella N, et al. (2000) *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 69: 442-446

3) Mcleod JG. (2000) *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 69: 431-432

27. 抗 MOG 抗体関連疾患 3 症例における脳病理学的検討

池口亮太郎¹、神田菜月¹、小原三千代¹、増井憲太²、柴田亮行²、清水優子¹、北川一夫¹

(¹脳神経内科学、²病理学 (人体病理学・病態神経科学分野))

〔目的〕 抗 myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) 抗体関連疾患 (MOGAD) は、視神経脊髄炎、急性散在性脳脊髄炎、視神経炎などを呈することが中枢神経の自己免疫性炎症性疾患である。¹ここ数年、大脳病変を呈するサブグループも認知されてきているが、脳病理を検討した研究は少なく、病態についても明らかでないことが多い。本研究は腫瘍様脳病変を呈し抗 MOG 抗体が陽性であった 3 例において脳病理学的検討を行い、MOGAD の病態を明らかにすることを目的とする。

〔方法〕 2015 年 1 月から 2023 年 5 月の間に、当院に入院し腫瘍様脳病変を呈した患者のうち、抗 MOG 抗体陽性かつ脳生検を行った患者について臨床的・病理学的特徴について検討した。CD3、CD4、CD8、CD20、CD68、CD79a、CD138、C9neo、GFAP、SM131、MOG などの免疫染色に加え、EVG の染色を行った。本研究は本学倫理委員会の承認を得ている。

〔結果〕 2015 年 1 月から 2023 年 4 月の間に、腫瘍様脳病変を呈した患者のうち抗 MOG 抗体が陽性かつ脳生検を施行した患者は 4 例であった。平均発症年齢は 28 歳 (range 15~55 歳)、男性が 3 例であった。髄液検査では 3 例で細胞数が上昇していた。頭部 MRI では、3 例で基底核から側頭葉にかけて Gd 増強効果を伴う病変を呈し、1 例は open-ring 状の Gd 増強効果を伴う側脳室周囲の白質病変を呈した。いずれもステロイド治療を行い、治療反応性は良好であった。再発は 3 例でみられた。脳病理では、4 例とも脱髄が認められ、3 例で MOG の染色性が低下していた。4 例で血管周囲にリンパ球浸潤を認め、2 例で B 細胞優位、1 例で T 細胞が優位、1 例では T 細胞と B 細胞が同等であった。1 例で血管炎の所見、1 例では “actively demyelinating lesions” の所見が認められた。

〔考察〕 今回の検討では、既報告同様に全ての患者で炎症性脱髄の所見が認められた。代表的な炎症性脱髄性疾患である多発性硬化症 (MS) では、病理学的に炎症性脱髄の所見を示す (一次的脱髄)。一方、MS の類縁疾患である視神経脊髄炎では、脱髄所見は呈するもののアストロサイトが primary に障害されるため二次的脱髄と認識されている。我々の今回の検討では、MOG の脱落も認められ、一次的脱髄であることが示唆された。また自験例では急性期中枢神経病変に B 細胞優位のリンパ球集簇が 3 例でみられた (1 例は T 細胞優位)。既報告では、ほぼ全例が T 細胞優位のリンパ球集簇を示しており、本例における特徴的な所見であった。^{2,3} また本例では補体の軽度の補体沈着はみられたが、視神経脊髄炎でみられるような顕著な沈着はみられなかった。また 1 例で血管炎の所見、1 例で MS にみられる “actively demyelinating lesions” の所見が認められたことから、MOGAD は炎症性脱髄性疾患であるが臨床像は様々であり、既報告および今回の病理学的検討から heterogeneous な疾患であることが示唆された。

〔結論〕 MOGAD は脱髄に加え T 細胞優位のリンパ球浸潤を呈することが知られている。本研究の結果から、MOGAD は B 細胞主体のリンパ球浸潤を呈しうることに加え、血管炎の所見や MS でみられる “actively demyelinating lesions” を示すことが明らかとなった。また腫瘍様脳病変を呈する患者においては、MOGAD を鑑別に挙げる必要がある。

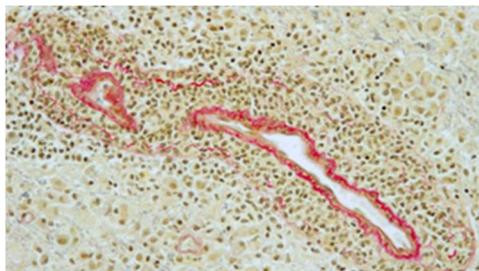


図 1. 抗 MOG 抗体関連疾患の急性期における脳病理学的所見 (EVG 染色)
MOG: myelin oligodendrocyte glycoprotein

※巻末にカラー図掲載

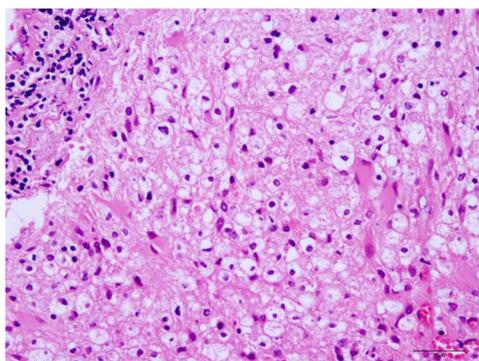


図 2. 抗 MOG 抗体関連疾患の急性期における脳病理学的所見 (HE 染色)
MOG: myelin oligodendrocyte glycoprotein

※巻末にカラー図掲載

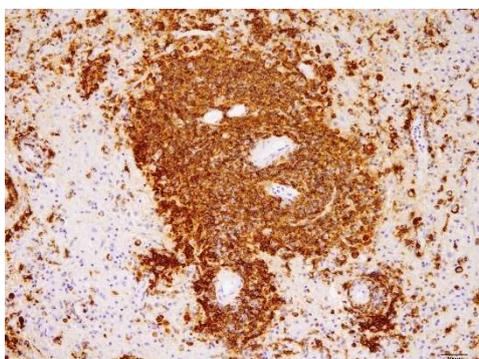


図 3. 抗 MOG 抗体関連疾患の急性期における脳病理学的所見 (CD20 染色)
MOG: myelin oligodendrocyte glycoprotein

※巻末にカラー図掲載

〔文献〕

- 1) Jurynczyk M., Messina S., Woodhall M.R., et al. (2017) Clinical presentation and prognosis in MOG-antibody disease: a UK study. *Brain*. 140(12): 3128-3138
- 2) Takai Y., Misu T., Kaneko K., et al. (2020) Myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disease: an immunopathological study. *Brain*. 143(5): 1431-1446
- 3) Höftberger R., Guo Y., Flanagan E.P., et al. (2020) The pathology of central nervous system inflammatory demyelinating disease accompanying myelin oligodendrocyte glycoprotein autoantibody. *Acta Neuropathol*. 139(5): 875-892

28. 多発性硬化症合併妊娠におけるフマル酸ジメチルとナタリズマブの自験例におけるリンパ球サブセットの検討

清水優子^{1,2}、斉藤聡志¹、池口亮太郎¹、北川一夫¹

(¹脳神経内科学、²医療安全科)

〔目的〕 多発性硬化症 (multiple sclerosis: MS) は女性に多く罹患し、好発年齢は妊娠可能年齢と重なる。近年疾患修飾薬 (disease modifying drug: DMD) の普及にともない海外では MS の出産率は増加している。MS の再発抑制効果について、フマル酸ジメチル (dimethyl fumarate: DMF) は中等度、ナタリズマブ (natalizumab: NTZ) は最も高い。本邦の DMD 添付文書では DMF および NTZ は妊婦へ有益性投与、授乳に関して DMF は有益性授乳、NTZ は最終使用後 12 週間授乳を中止しなければならない。今回、我々は、DMF および NTZ を周産期に使用した症例を経験したため、母体の妊娠・出産に伴う再発の有無、DMD の妊娠曝露期間、分娩様式、新生児の先天性異常の有無、出産後 DMD 開始時、授乳に関して末梢血リンパ球サブセットの結果も踏まえ報告する。

〔方法〕 2015 年から 2023 年までに当院通院加療の MS 合併妊娠のうち、出産後 1 年以上経過を追えた DMF2 例、NTZ2 例について Tab. に示した項目について観察を行った。妊娠前、妊娠中、出産後の末梢血リンパ球サブセットは末梢血リンパ球を抽出し、フローサイトメーターを用い、Th1 関連性ケモカインとして CXCR3、Th2 関連性ケモカインとし、CD4+Th1/Th2 : CD4+CXCR3+/CD4+CCR4、CD8+Tc1/Tc2 : CD8+CXCR3+/CD8+CCR4、Treg:CD4+CD25+CD127±について検討した。なお、本研究は東京女子医科大学倫理委員会で承諾を得て施行した。

〔結果〕 DMF を使用した 2 例は、妊娠が判明した 5 週、6 週目に本剤を中止。妊娠中の再発はなく、いずれも正常分娩であった。初乳を与えたのち、出産 1 週間後 DMF を再開し混合授乳を開始。児の発達は正常。なお、1 例は、出産 9 ヶ月後の頭部 MRI で新病巣を認めたが臨床的再発はなく、DMF を継続、以降再発はなく児の成長・発達は正常。NTZ を使用した 2 例は、妊娠が判明した時点で投与間隔を 6 週間に延長、1 例は悪阻により胎児の成長が若干低下したため妊娠 25 週、1 例は 30 週で投与を中止した。いずれも正常分娩、新生児に血液異常はなし。出産後、1 例目は初乳をあたえたのち NTZ を再開、2 例とも患者希望で人工乳となった (Table 1) 産後 1 年以内の再発はなく、児の成長・発達も正常。末梢血リンパ球サブセットは 4 症例の平均値を示す (図 1~3)。その結果 DMF では妊娠前、妊娠中、出産後顕著な変化はなかったが、NTZ では、CD4 と CD8 の Th1/Th2 は妊娠前と比較し、妊娠第 2 三半期以降低下し出産後は妊娠前の値に戻った。Treg は DMF, NTZ で一定の傾向はなかった。

〔考察〕 妊産婦への薬剤の安全性は、倫理的観点からランダム化比較試験は不可能のためレジストリや市販後調査、症例報告が主体である。MS 合併妊娠の周産期における DMF および NTZ はいずれも禁忌ではないが安全性に関しては注意深いモニタリングが必要であり、我々の MS 合併妊娠症例において母子ともに重篤が有害事象は認められなかった。また 4 例の妊娠前、妊娠中、出産後の末梢血リンパ球サブセットの結果、妊娠中は Th2 シフトになり NTZ では、CD4 と CD8 の Th1/Th2 は妊娠前と比較し妊娠第 2 三半期移行低下し出産後徐々に妊娠前の値に戻り、妊娠中の Th2 シフトが確認できた。MS 合

併妊産婦の DMD 投与に際し、患者の意思決定の共有と支援は必須であるが、より安全で最適な DMD を選択するためには、海外ではなく、本邦の MS 合併妊娠のレジストリが求められる。

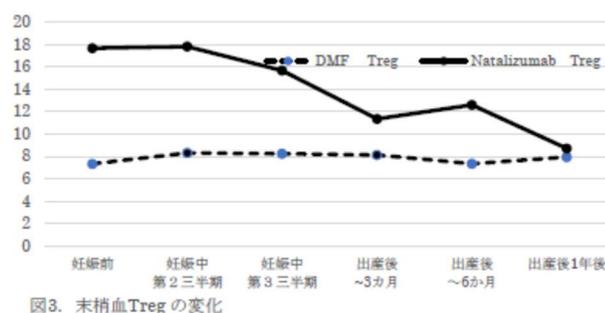
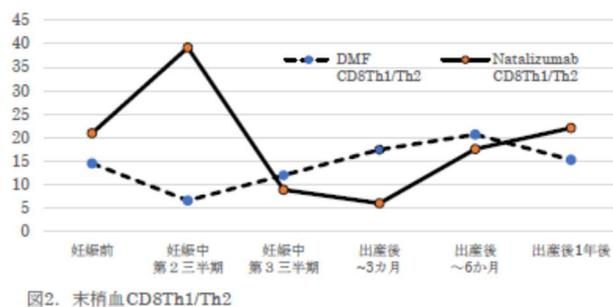
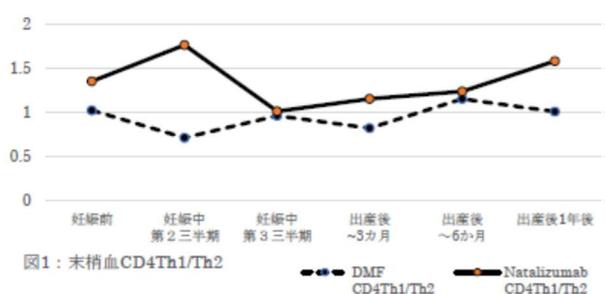
Table1. Summary of the characteristic multiple sclerosis patients with pregnancy

	Case 1	Case 2*	Case 3	Case 4
Age of diagnosis (year)	17	25	25	27
Age at delivery (year)	30	31, 33	32	35
Relapse before first year of pregnancy	0	0, 0	0	0
Type of DMD	IFN β , DMF	IFN β , DMF	IFN β , NTZ	FTY, DMF, NTZ
Discontinuation after conception (week)	5	6, 6	25	30
Delivery (week)	39	40, 39	39	39
Breastfeeding	mixed	mixed, mixed	none	none
Resuming DMD after delivery (week)	1	1, 1	1	2
Newborn weight (g)	2942	3455, 3413	2582	3014
Congenital anomaly	none	none, none	none	none
Hemorrhagic abnormality	none	none, none	none	none
Radiographic relapse after delivery	0	1, 0	0	0
Clinical relapse after delivery	0	0, 0	0	0

Abbreviations: DMD, disease modifying drug; IFN β , interferon- β ; DMF, dimethyl fumarate; NTZ, natalizumab;

FTY, fingolimod.

* The patient carried two babies in case 2.



[文献]

- 1) 日本神経学会・監修「多発性硬化症・視神経脊髄炎スペクトラム障害診療ガイドライン」作成委員会・編. 多発性硬化症・視神経脊髄炎スペクトラム障害診療ガイドライン2023. 東京：医学書院；2023.
- 2) Krysko KM, et al. Lancet Neurol 2023;22:350-366
- 3) Hellwig K, et al. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm 2022;9:e1114.
- 4) Ciplea AI, et al. Ther Adv Neurol Disord. 2020;13:1756286420968414
- 5) Ramesh V, et al. Cureus. 2022;14:e29952

2.9. 肝線維化診断における血清全長結合組織成長因子の意義

小木曾智美、徳重克年
(消化器内科学)

〔目的〕 肝疾患診療では、肝線維化の程度の正確な診断は、予後や合併疾患の推定のために極めて重要である。結合組織増殖因子 (CTGF)、特に N 末端断片は、様々な臓器の線維化を誘導することが知られる¹⁾。非侵襲的な肝線維化診断が特に望まれる非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) とフォンタン関連肝疾患 (FALD) の肝線維化ステージと血清 CTGF 値との相関を検討した。

〔方法〕 対象は 2003 年—2022 年に当院で臨床病理学的に診断した NAFLD (n = 14, 全例組織診断) および FALD (n = 38, うち組織診断 26 例) である。NAFLD では複数回の肝生検を 8 例に行い、のべ 23 時点で評価した。NAFLD の年齢の中央値は 54.5 (33-70) 歳 (男性 7 例)、FALD は 32 (14-56) 歳 (男性 16 例)、術後 21 (7-43) 年であり、肝線維化ステージは、NAFLD F < 3 が 12 例、F ≥ 3 が 11 例、FALD では、F < 3 が 7 例、F ≥ 3 が 19 例であった。1) 従来の CTGF の N 末端を標的とする抗体を用いた測定法では、全長 CTGF と CTGF の N 末端断片を区別できなかったため、CTGF の C 末端断片を標的とした新しい検出抗体 (図 1) を用い、完全長の血清 CTGF および N 末端断片を含めた CTGF 量 (全長 + N 末端断片) を別々に ELISA 法で測定して、両者の差より N 末端断片量を算出した。各 CTGF 量と NAFLD および FALD 症例の肝線維化ステージとの相関を検討した (図 2)。2) CTGF 量や既存の線維化マーカー (血小板数 [PLT]、FIB-4 index) と高度肝線維化 (≥ F3) との相関を多変量ロジスティック解析及び ROC 曲線の area under curve (AUC) で比較した (図 3)。

〔結果〕 1) NAFLD 症例では全長/全長 + N 末端断片/N 末端断片量の中央値は、それぞれ 1010.2/2481.0/914.3 pM であり、何れの CTGF 量も肝線維化ステージと相関しなかった。2) FALD 症例の各 CTGF 量は、1217/2417/908 pM であった。FALD の肝生検例では、PLT は線維化ステージと有意な相関を認めなかったが (r = -0.45、p = 0.06)、全長は有意な逆相関を認めた (r = -0.68、p < 0.01)。4) FALD の高度肝線維化診断に全長が有意な因子として抽出され (Odds ratio 0.997, p = 0.04)、AUC は、PLT 0.744、FIB-4 0.567、全長 0.822 であった。

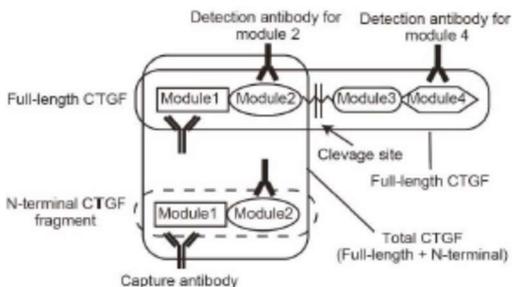


図 1. CTGF 抗体

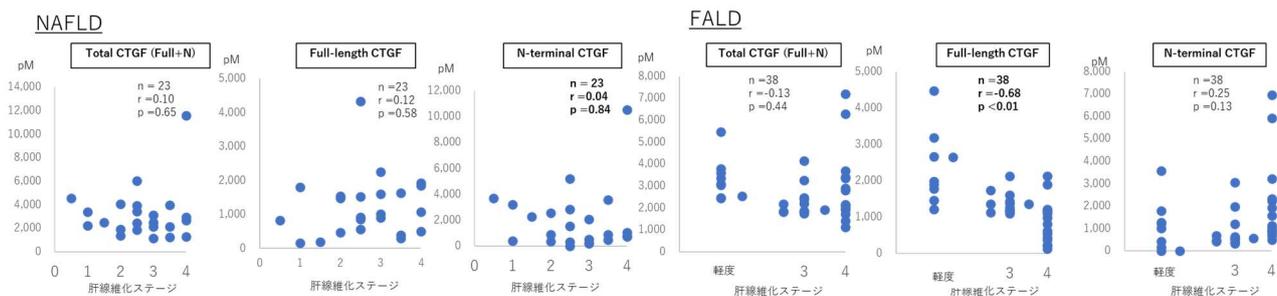


図 2. 各 CTGF 値と NAFLD・FALD の線維化ステージとの相関

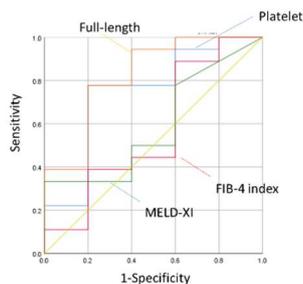


図 3. 肝線維化マーカーと肝線維化の ROC 曲線

〔考察〕 肝硬変や肝癌のリスク因子の多変量解析では、high central venous pressure (CVP) [HR, 1.28, (95% CI 1.01 to 1.63) per 3 mm Hg; p=0.042]や severe atrioventricular valve regurgitation (AVVR) [HR, 6.02, (95% CI 1.53 to 23.77); p=0.010]が報告される²⁾。FALD では CVP 上昇により CTGF が誘導されるが、マトリックスメタロプロテアーゼにより分解される。CTGF の制御に関しては、今後、さらに検討する必要がある。

〔結論〕 FALD 患者においては、CTGF の N 末端断片量よりも全長 CTGF 量が肝線維化ステージの推定に有用であると考えられた。

〔文献〕

- 1) Kono M, Nakamura Y, Suda T, et al. (2011) Plasma CCN2 (connective tissue growth factor; CTGF) is a potential biomarker in idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). Clin Chim Acta. 412(23-24):2211-5
- 2) Inuzuka R, Nii M, Inai K, et al. (2023) Predictors of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma among perioperative survivors of the Fontan operation. Heart. 109(4):276-82

〔学会発表〕

- 1) 小木曾智美、大塚基之、徳重克年. 肝線維化診断における血清全長結合組織成長因子の意義. 第 59 回日本肝臓学会総会 奈良 2023/6

30. Duchenne 型筋ジストロフィーモデル動物に対する筋芽細胞および脂肪由来間葉系幹細胞移植は生着に至らず、しばしば胎仔死亡に至る

木原祐希^{1,2}、田中倭恵³、池田優成³、本間順²、高木亮²、石垣景子¹、山内啓太郎³、
本田浩章⁴、永田智¹、大和雅之²

(¹小児科学、²先端生命医科学研究所、³東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医学専攻比較動物医科学講座、⁴先端生命医学専攻疾患モデル研究分野・実験動物研究所)

〔目的〕 Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD: Duchenne muscular Dystrophy)は、ジストロフィン遺伝子の異常により、正常なタンパクが産生されず、骨格筋や心筋の傷害を起こす進行性の疾患である。遺伝子治療、細胞治療の開発が進んでいる中、胎仔期からの細胞治療も動物実験レベルでの報告がある。¹⁾ 胎仔への細胞移植は、早期治療というメリットだけでなく、免疫のナイーブさにより、同種移植細胞が生着する可能性も目指せるという考えの元、本研究では、DMD モデルマウスおよびラットの胎仔に対して、腹腔内投与および経胎盤的投与を行うことにより、胎仔細胞移植の効果を検討することを目的とした。

〔方法〕 緑色蛍光蛋白(GFP: Green Fluorescent Protein)トランスジェニックマウス・ラット^{2),3)} から、筋芽細胞および脂肪由来間葉系幹細胞(ASCs: adipose-derived mesenchymal stem cells)を移植用細胞として初代培養した⁴⁾。DMD モデルマウスにおいては、E14.5 に母体マウスを開腹し、子宮の外側から透見できる胎仔の腹腔に、36 ゲージ注射針を用いて筋芽細胞もしくは ASCs を腹腔内投与した(図 1)。別の投与方法として、E11.5 に、胚移植用のガラス管を使用して、筋芽細胞もしくは ASCs を経胎盤的に臍帯静脈へ投与した。DMD ラットにおいては、E16.5 に ASCs を腹腔内投与した。いずれのマウス、ラットも生後 4 週齢まで飼育し、筋肉を採取、RT-qPCR により GFP の mRNA の存在を解析し、免疫蛍光染色により GFP や正常なジストロフィンが検出されるかを解析した。



図 1. DMD モデルマウス胎仔への腹腔内投与

〔結果〕 生理食塩水のみでの投与では全例が生存したが、胎仔細胞移植例においては、生存率が 0-41%

と低かった。いずれの投与方法においても ASCs 投与例の生存率は低かった。生存例においても、GFP の mRNA は検出されず、免疫蛍光染色でも GFP や正常ジストロフィンの発現は認められなかった。

〔考察〕 胎児期の免疫拒絶が起きない時点で細胞移植することで、免疫抑制剤の不要な同種移植を目指したが、生着はせず、死亡率も高かった。胎仔期に操作を行うことは、根本的に安全性が高い操作ではないことが高い死亡率の原因と考えられた。また、筋芽細胞よりも ASCs の方で死亡率が高かった理由は、ASCs 自体の塞栓や血栓形成誘発が原因で、血流障害が起きた可能性が考えられた。追加で行った野生型新生仔ラットへの腹腔内同種細胞移植では、筋肉に移植細胞が取り込まれることが判明し、今後の検討が望まれる。

〔結論〕 本研究では、胎仔細胞移植は生着に結びつかず、高い死亡率を示したが、ヒトの胎児細胞移植は臍帯静脈経由であり、臨床応用への道が閉ざされたわけではない。胎仔と同様に免疫がナイーブな新生仔への細胞移植の検討が必要である。

〔文献〕

- 1) Shi C, Pan L, Hu Z. Experimental and clinical progress of in utero hematopoietic cell transplantation therapy for congenital disorders. (2022) *Front Pharmacol.* 13: 851375
- 2) Manning J, O'Malley D. What has the mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy contributed to our understanding of this disease? (2015) *J Muscle Res Cell Motil*; 36(2): 155-67
- 3) Nakamura K, Fujii W, Tsuboi M, et al. Generation of muscular dystrophy model rats with a CRISPR/Cas system. (2014) *Sci Rep*; 4: 5635
- 4) Ryu B, Sekine H, Homma J, et al. Allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cell sheet that produces neurological improvement with angiogenesis and neurogenesis in a rat stroke model. (2019) *J Neurosurg*; 132(2): 442-55.

〔発表論文〕

- 1) In utero transplantation of myoblasts and adipose-derived mesenchymal stem cells to murine models of Duchenne muscular dystrophy does not lead to engraftment and frequently results in fetal death