

2 1. 原発性アルドステロン症患者における臓器障害の進行と血清可溶性（プロ）レニン受容体濃度の意義

山下薫、森本聡、関康史、渡辺大輔、市原淳弘
(内分泌内科学)

〔目的〕 原発性アルドステロン症 (Primary aldosteronism, PA) は副腎病変から自律的にアルドステロンが産生される疾患である。過剰なアルドステロンが動脈硬化や腎障害、心臓線維化などの臓器障害を引き起こすことは知られているが¹⁾³⁾、その詳細なメカニズムは不明である。(プロ)レニン受容体 [(P)RR] は、脳、心臓、腎臓など全身の重要臓器に発現しており、組織レニン-アンジオテンシン系 (RAS) に関与する⁴⁾⁵⁾。(P)RR は、可溶性 (P)RR [s(P)RR] と液胞型プロトン ATPase に付随する ATP6AP2 に切断され、血中 s(P)RR 濃度は組織における (P)RR 発現量を反映すると考えられる。本研究では PA 患者における臓器障害の進行度と血清 s(P)RR 濃度との関連について検討を行った。

〔方法〕 当科で PA と診断し、降圧薬を内服していない、または降圧薬としてはカルシウム拮抗剤のみを内服している患者 124 例において血清 s(P)RR 濃度、および臓器障害の指標としての高感度 CRP (hsCRP)、Cardio-ankle vascular index (CAVI)、eGFR、BNP を測定し、両者の関連を検討した。血清 s(P)RR は ELISA (サンドイッチ) 法 (soluble-Prorenine Receptor Assay Kit-IBL、タカラバイオ株式会社、大津市) を用いて測定した。CAVI は VaSera VS-1500AN vascular screening system (福田電子社) を用いて仰臥位で両腕・両足首の血圧と脈波を測定し、算出した。

〔結果〕 対象患者の背景因子は年齢 54.9 ± 12.2 歳、男性 76 例であった。s(P)RR と臓器障害の指標の単回帰分析から、年齢 ($r=0.23$, $p<0.05$)、hsCRP ($r=0.35$, $p<0.05$)、CAVI ($r=0.31$, $p<0.05$) と正の相関、eGFR ($r=-0.25$, $p<0.05$) と負の相関を認めたが、血清アルドステロン濃度 (PAC) と臓器障害の指標とは相関が認められなかった。

〔考察〕 今回の研究で s(P)RR で臓器障害の指標と相関が認められた原因としては、(P)RR が組織 RAS として血管壁での Angiotensin II 発現の亢進を介して動脈硬化をきたし、結果として、eGFR の低下や hsCRP 上昇をきたしたと考えられた。

〔結論〕 PA 患者において s(P)RR は PAC よりも臓器障害との関連が強いことが示唆された。PA 患者における臓器障害の機序のひとつに (P)RR の発現亢進が関与する可能性が示唆された。(P)RR と臓器障害との関連機序におけるアルドステロンの関与などの詳細については、今後更なる検討が必要である。

〔文献〕

- 1) Weber K.T., Brilla CG. 1991) Circulation. 83: 1849–1865
- 2) Nishiyama A., Yao L., Nagai Y., et al. 2004) Hypertension. 43: 841-48

- 3) Matsui S., Kishimoto S., Kajikawa M., et al. 2018) *Hypertens Res.* 41: 932–938
- 4) Nguyen G., Muller D.N. 2010) *J. Am. Soc. Nephrol.* 21: 18–23
- 5) Recarti C., Seccia T. M., Caroccia B., et. al. 2015) *J. Hypertens.* 33

〔発表論文〕

- 1) Serum-soluble (pro)renin receptor concentration as a biomarker for organ damage in primary aldosteronism. Kaoru Yamashita, Satoshi Morimoto, Yasufumi Seki, Daisuke Watanabe & Atsuhiko Ichihara *Hypertension Research* volume 42, 1951–1960(2019)

〔学会発表〕

- 1) 山下薫. 原発性アルドステロン症患者における臓器障害の進行度と血清可溶性（プロ）レニン受容体濃度の相関の検討. 第11会（プロ）レニン受容体フォーラム、東京、2019/3
- 2) Morimoto S., Yamashita K., Kimura S., et al. Serum soluble (pro)renin receptor concentration is correlated with organ dysfunctions in patients with primary aldosteronism. 27th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, Beijing, China, 2018/9
- 3) 山下薫、森本聡、石田和也、他. 原発性アルドステロン症患者における臓器障害の進行度と血清可溶性（プロ）レニン受容体濃度の相関の検討. 第41回日本高血圧学会総会、旭川、2018/9
- 4) 山下薫、石川透、木村美和、他. 原発性アルドステロン症患者では臓器障害の進行と血清可溶性（プロ）レニン受容体濃度が相関を示す. 第22回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、仙台、2018/4

2.2. 子宮灌流圧低下(RUPP)妊娠ラットの胎盤では、虚血による低酸素で胎盤内可溶性(プロ)レニン受容体[s(P)RR]タンパク質量を増加させた

須田睦士、谷田部淳一、谷田部緑、市原淳弘
(内分泌内科学)

〔目的〕 本研究は「胎盤内 s(P)RR が胎盤虚血時の酸化代謝および効率的なエネルギー産生の維持に役立つ」を実証することを目的とした。

〔方法〕 12～18 週齢の SD ラットを交配し、プラグ確認日を 0.5dpc とする。妊娠 14 日目(14.5dpc)に手術を行い、偽手術(Sham)群と RUPP 群で比較検討を行った。麻酔はイソフルランを使用し 4%で導入、維持は 2%～2.5%で行った。手術の方法は下腹部を正中切開し腹部大動脈を露出させ、0.2mm 厚に調整されたシルバークリップで腸骨動脈直上の腹部大動脈を挟み込んだ。続いて、左右の子宮動静脈を露出させ、0.1mm 厚に調整されたシルバークリップで左右の子宮動静脈を挟み込む。計 3 ヶ所の胎盤に向かう血流を減少させ、疑似的に胎盤虚血状態を作り出した。妊娠 21 日目(21.5dpc)にサクリファイスし、血液・尿は生化学検査を行い、胎盤はタンパク質発現解析実験に供した。

〔結果〕 タンパク質発現解析の結果から、Sham 群と RUPP 群の胎盤内タンパク質発現量の比較で低酸素誘導因子である HIF1 α と s(P)RR でタンパク質発現量が RUPP 群で有意に増加していた。

〔考察〕 胎盤形成不全の一因となる低酸素は胎盤内の HIF1 発現を増加させる。HIF1 発現増加は乳酸脱水素酵素 A の発現を上昇させ、胎盤内乳酸濃度を上昇させ、胎盤内 pH が低下する。また、ピルビン酸脱水素酵素キナーゼ 1 (PK1)の発現を誘導することで、ピルビン酸脱水素酵素(PDH)活性が抑制され、ピルビン酸からアセチル CoA の変換が阻害される。基質であるアセチル CoA の供給が滞る事でクエン酸回路が停滞し、ミトコンドリア機能が抑制されると予測される。胎盤内 pH 低下・ミトコンドリア機能低下は胎盤形成不全・胎盤機能不全を引き起こし母子共に悪影響を及ぼす。

〔結論〕 虚血による低酸素により増加した HIF1 α が胎盤内乳酸量の増加・アセチル CoA 量低下・PDH 活性低下などのネガティブな影響を及ぼす一方で、増加した s(P)RR がネガティブな影響を受けている酸化的代謝やエネルギー産生の安定化に寄与すると考える。

〔文献〕

- 1) Narita T., Ichihara A., Matsuoka K., et al. (2016) Placenta. 37: 72-78
- 2) Watanabe N., Morimoto S., Fujiwara T., et al. (2013) PLoS One. 8(3): e60036
- 3) Nakagawa T., Suzuki-Nakagawa C., Watanabe A., et al. (2017) J. Biochem. 161(4): 369-379
- 4) Suda C., Yatabe J., Ichihara A., et al. (2020) J. Mol. Endocrinol. 64(3): 145-154

2.3. 遺伝性巣状分節性糸球体硬化症における足突起消失の割合：単施設での解析および文献レビュー

石塚喜世伸¹、三浦健一郎¹、橋本多恵子²、金子直人¹、張田豊³、藪内智朗¹、久野正貴⁴、藤永周一郎⁵、大森多恵⁶、山口裕⁷、服部元史¹

(¹腎臓小児科、²山形大学小児科、³東京大学小児科、⁴千葉県こども病院腎臓科、⁵埼玉県立小児医療センター腎臓科、⁶都立墨東病院小児科、⁷山口病理組織研究所)

〔目的〕 巣状分節性糸球体硬化症 (focal segmental glomerulosclerosis: FSGS) は難治性のネフローゼ症候群であり、高率に末期腎不全に進行し、腎移植後には再発をきたしうる¹⁾。FSGS の病因は、一次性、遺伝性、および二次性にわかれる^{2),3)}。このうち、一次性 FSGS のみで移植後の再発リスクが高く、FSGS の病因診断は、腎移植における治療戦略に極めて重要な意味を持つ。

電子顕微鏡 (electron microscopy: EM) 画像における足突起消失 (foot process effacement: FPE) の割合や平均足突起幅 (foot process width: FPW) の比較により、一次性と二次性 FSGS の判別は可能であるとされている⁴⁾。一方、遺伝性 FSGS における FPE の割合の系統的な評価は行われていない。本研究では、遺伝性 FSGS 患者の自己腎生検組織における FPE の割合を解析し、一次性 FSGS 患者との判別が可能か検討した。

〔方法〕 当院で腎移植を受けた小児 FSGS 患者のうち、全エクソーム解析を行い、FSGS に関連する 64 の遺伝子のいずれかに病的変異を有していた遺伝性 FSGS の 8 人 (遺伝性群) と、移植後再発により一次性 FSGS と臨床的に確定診断され、かつ FSGS に関連する遺伝子変異を有さなかった 9 人 (一次性群) を本研究の対象とした。さらに、低形成腎、チアノーゼ腎症、肥満腎症を原因とする二次性 FSGS の患者 3 人を二次性群として本研究の対象に加えた。各群について、臨床経過を比較し、自己腎生検の EM 画像における FPE の割合と平均 FPW を測定し比較した。さらに FPE の割合が記載された遺伝性 FSGS についての既報を精査した。本研究は東京女子医科大学倫理委員会の承認を経て施行された (承認番号 4866-R3)。

〔結果〕 臨床データにおける遺伝性群と一次性群の比較では、腎生検時の尿蛋白量、発症年齢や末期腎不全までの期間に関して有意差は認めなかったが、ネフローゼ症候群の基準を満たした割合は一次性群で有意に多かった。一方、遺伝性群でも 8 人中 5 人がネフローゼ症候群の基準を満たしていた。FPE の割合は、遺伝性群および二次性群では 0~38%であったが、一次性群では 88~100%と有意差を認めた ($p=0.0003$) (図 1)。平均 FPW は、遺伝性群および二次性群ではすべて 2000nm 以下であったが、一次性群はすべて 3000nm 以上であり有意差を認めた ($p=0.0006$) (図 2)。腎生検時の蛋白尿量と FPE の割合、平均 FPW はいずれも有意な相関を認めなかった。FPE の割合が記載された遺伝性 FSGS の既報は

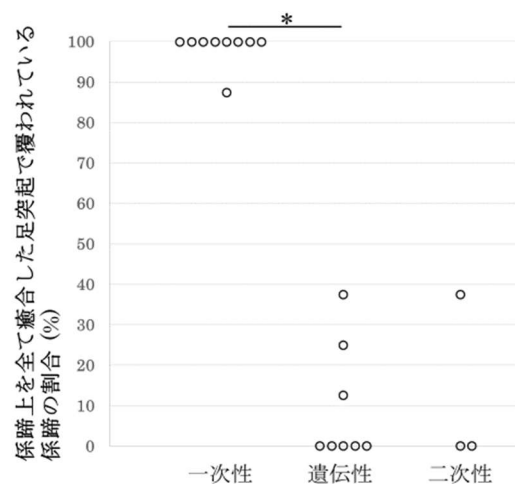


図 1. 癒合した足突起に全て覆われた係蹄の割合
* 一次性と遺伝性で有意差あり($p=0.0003$)

38例あり、糸球体上皮細胞（ポドサイト）のスリット膜関連分子の遺伝子変異例ではびまん性のFPEを示し、細胞骨格関連分子の遺伝子変異例のFPEの割合は様々であり、その他のポドサイト関連分子や基底膜関連分子の遺伝子変異例のFPEは分節性であった。

〔考察〕 本研究は遺伝性FSGSにおけるFPEの程度を系統的に解析した初めての研究である。二次性FSGSの要因の有無により、遺伝性と二次性FSGSの判別は困難ではない。一方、遺伝性と一次性FSGSは、臨床経過のみでは判別が困難である。両群の鑑別には病理情報が有用であり、自己腎生検組織においてFPEが分節性であった場合には、遺伝性FSGSが強く示唆されると考えられた。

〔結論〕 自己腎の腎生検におけるFPEの割合が、遺伝性FSGS患者と一次性FSGS患者の鑑別に有用であることが示唆された。

〔文献〕

- 1) Cosio F.G., Cattran D.C. (2017) *Kidney. Int.* 91(2): 304-314
- 2) De Vriese A.S., Sethi S, Nath K.A., et al. (2018) *J. Am. Soc. Nephrol* 29(3): 759-774
- 3) Sethi S, Glasscock R.J, Fervenza F.C. (2015) *Nephrol. Dial. Transplant.* 30(3): 375-384
- 4) Sethi S, Zand L, Nasr S.H., et al. (2014) *Clin. Kidney. J.* 7(6): 531-537

〔発表論文〕

- 1) Ishizuka K, Miura K, Hashimoto T, et al. (2021) Degree of foot process effacement in patients with genetic focal segmental glomerulosclerosis: a single-center analysis and review of literature. *Sci Rep.* 11(1): 12008

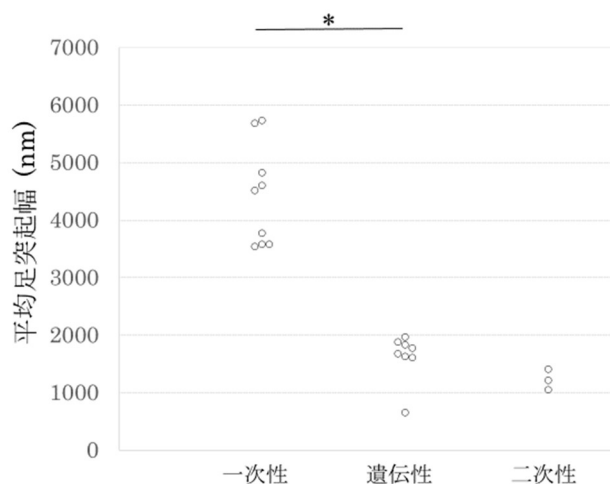


図2. 各群における平均足突起幅の比較

* 一次性と遺伝性で有意差あり($p=0.0006$)

2 4 . Electron microscopic analysis of Intracellular trafficking pathway of albumin in glomerular epithelial cells

Takahito Moriyama, Fumio Hasegawa, Yoei Miyabe, Kenichi Akiyama, Kazunori Karasawa, Keiko Uchida and Kosaku Nitta
(Department of Nephrology)

[Purpose] Recently, intracellular trafficking pathway of albumin through caveolae in glomerular epithelial cells (podocytes) has been suspected to new etiological hypothesis of albuminuria in addition to pathway through gap between foot processes. We previously reported the possibility of that caveolae-mediated intracellular trafficking pathway by *in vitro* and *in vivo* analysis.¹⁾⁻⁴⁾ However, there was no report to show that pathway by the electron microscopic analysis.

[Methods] For the nephrotic syndrome modeled mouse, the puromycin aminonucleoside (PAN; 450 mg/kg; Sigma-Aldrich) was injected intraperitoneally, and the mice were sacrificed on day 9. For electron microscopy with immunogold labelling of albumin, small pieces of renal cortex were fixed with 0.05% glutaraldehyde in 4% paraformaldehyde. The samples were subsequently fixed with 1% osmium tetroxide, and then dehydrated in graded ethanol solutions. They were replaced with n-butyl glycidyl ether, diluted by alcohol, and embedded by inverting Poly/Bed 812-filled Better Equipment for Electron Microscopy capsules at room temperature. The blocks were cured, and the ultrathin sections were cut with a diamond knife on an ultramicrotome. The samples were incubated in PBS with 1% BSA for blocking, incubated overnight with anti-mouse albumin antibody, and then incubated with a secondary antibody for immune-gold. The samples were stained with uranyl acetate and were observed under a JEM-1400 Plus transmission electron microscope at 80 kV.

[Results] Figure 1a and 1b showed the immunogold-labelled albumin particles were captured in caveolae in the podocytes. Figure 1c and d showed the albumin-containing caveolae vesicles were pinched off from the cell membrane

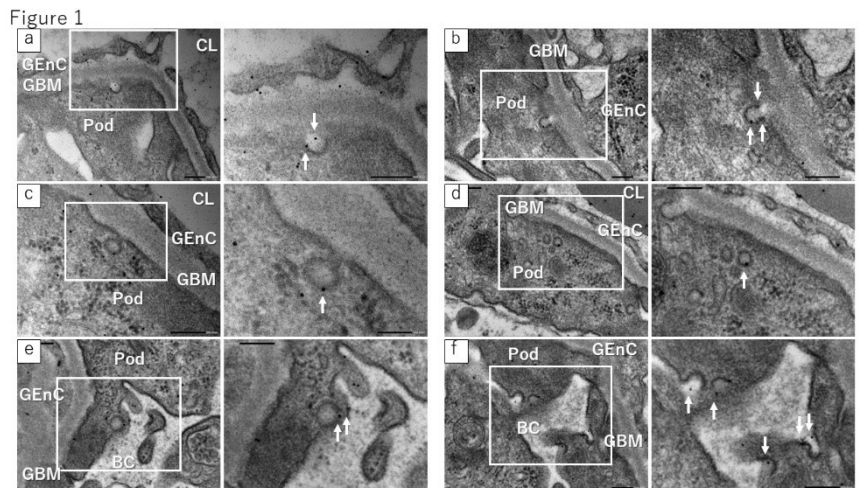


Figure 1. Electron microscopy shows the immunogold-labelled albumin particles observed in caveolae of the podocytes in nephrotic syndrome modelled mice (a-f). Arrows: immunogold-labelled albumin. Pod: podocytes, GEnC: glomerular endothelial cells, GBM: glomerular basement membrane, CL: capillary lumen, BC: Bowman's capsule. The scale bars indicate 200nm without C right panel (100nm).

and underwent endocytosis and transcytosis. The exocytosis of albumin particles from caveolae vesicles to Bowman's capsule lumen were observed in Figure 1e and f.

[Discussion] In the present study, we showed the caveolae-mediated intracellular trafficking of immunogold albumin through mouse podocytes *in vivo*. In our previous *in vitro* study, albumin endocytosis and transcytosis were also observed in the cultured human podocytes.³⁾ Another our previous report showed that sertraline interfered with albumin internalisation through caveolae and decreased albuminuria in PAN mice by inhibiting the activity of dynamin I guanosine triphosphatases, which play an important role in pinching off the caveolae from the cell membrane.⁴⁾ It was traditionally recognized that albumin could pass through absent or defective slit diaphragms between podocytes, and the intracellular trafficking pathway of albumin was controversial. However, the pathogenesis of urinary albumin excretion has not been fully understood, and these previous studies and our present results indicated albumin endocytosis, transcytosis, and exocytosis through the podocytes via the caveolae-mediated pathway.

[Conclusions] In conclusion, we showed albumin endocytosis, transcytosis, and exocytosis through podocytes via a caveolae-mediated pathway by the electron microscopic analysis. It may be one of the aetiologies of urinary albumin excretion and may be a new therapeutic target.

[Reference]

- 1) Moriyama T., Tsuruta Y., Shimizu A., et al. (2011) The significance of caveolae in the glomeruli in glomerular disease. *J.Clin.Pathol.*64(6): 504-509
- 2) Moriyama T., Karasawa K., Nitta K. (2018) The role of caveolae on albumin passage through glomerular endothelial and epithelial cells: The new etiology of urinary albumin excretion. *Contrib. Nephrol.* 195: 1-11
- 3) Moriyama T., Karasawa K., Uchida K., et al. (2020) Intracellular trafficking pathway of albumin in glomerular epithelial cells. *総研紀要* 39
- 4) Moriyama T., Karasawa K., Hasegawa F., et al. (2019) Sertraline Reduces Albuminuria by Interfering with Caveolae-Mediated Endocytosis through Glomerular Endothelial and Epithelial Cells. *Am. J. Nephrol.* 50(6): 444-453

[Article]

- 1) Moriyama T, Hasegawa F, Miyabe Y, et al. (2021) Intracellular trafficking pathway of albumin in glomerular epithelial cells. *Biochem. Biophys Res Commun.* 574 : 97-103

[Conference Presentation]

- 1) Moriyama T., Nitta K., Intracellular trafficking pathway of albumin in glomerular epithelial cells
Kidney Week 2019, Washington D.C., USA, 2019/11

25. 繰り返し、軽度の腎障害の集積による CKD の発症、重症化の機序の解明と治療介入

土谷健、二家真由子
(腎臓内科学)

〔目的〕 最近、慢性腎臓病(CKD)の発症・進展・重症化には、種々の程度の頻回な腎障害(AKI: acute kidney injury を含む)が集積することにより生じることが注目されている。それは、特定の原因疾患によらず、CKD が発症もしくは増悪する可能性を示唆し、特に高齢化社会では末期腎不全・透析の患者が増加する結果となる。本研究では、研究者らが従来から検討しているリン制御因子、組織保護作用のある Klotho 蛋白の特性を応用し、いわゆる AKI から CKD の相互互換の成立の機序を解明し、いかなる治療介入が有効か検討することにある。

〔方法〕 虚血モデルマウスでの検討: Klotho 発現が半減した(haploinsufficiency)(*kl^{-/-}*)マウスで、通常の虚血再灌流モデルとされる腎動脈 clump 手技で、20 分間虚血の短時間処置を週 1 回、3 週間継続することで、腎機能、組織障害を検討する。腎組織障害スコア(ATN score)、および線維化指標の alpha-SMA 染色、線維化遺伝子群の発現を PCR 法にて検討する。

〔結果〕 腎組織障害スコア(ATN score)が(*kl^{-/-}*)マウスで有意に高値であり、線維化指標の alpha-SMA 染色が著明である。各線維化のマーカー遺伝子発現も高値となった。

〔考察〕 軽度の腎障害の繰り返しが CKD の発生・進展に関する機序を解明し、その機序にいたる要件を検討し、さらに治療的戦略を模索することで、原疾患ではなく、非特異的な CKD の進行に至る可能性が示唆された。研究者らは腎尿細管に発現する Klotho 蛋白のリン制御、anti-aging 作用に着目し、CKD の stage 早期から発現の低下を観察し、組織障害とは悪循環を形成し、さらにリン代謝障害とあいまって CKD の病態を形成すると報告した¹⁾。このことは、Klotho 発現の低下は、より繰り返される腎障害による CKD の成立、進展に関与する可能性を示唆している。Klotho 蛋白は、FGF23 と共役したリン排泄を主要な作用としながら、遊離 Klotho の存在や抗アポトーシス、TGF beta の抑制作用などの生理活性を有することから、研究者は、保存期 CKD におけるリン代謝障害は ligand である FGF23 との作用で、組織の線維化にも関わる可能性を検討している。

〔結論〕 Klotho 蛋白の発現は CKD の進行とともに低下し、かつ繰り返し、軽度の腎障害の集積によっても、その発現は低下し、CKD の重症化機転が促進される可能性がある。

〔文献〕

1) Sugiura H., Yoshida T., Shiohira S., et al. (2012) Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 302: F1252-1264

26. 中大脳動脈永久閉塞モデル遠隔虚血コンディショニングにおける一酸化窒素合成酵素の関与

齋藤萌子、石塚健太郎、星野岳郎、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72時間後まで脳保護効果が観察されることを昨年本誌で報告しているが RIC の脳保護作用の詳細は不明である。本研究では、RIC の脳血管内皮機能への関与を想定し一酸化窒素合成酵素 (NOS) 阻害薬投与による RIC の梗塞体積縮小効果への影響を明らかに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処置を行った群とした (Sham 群)。MCA 閉塞直後に生食、NOS 阻害薬の L-NIO または L-NAME を腹腔内投与し90分後に小動物用 1T-MRI により拡散強調画像を撮像した。24時間後に TTC 染色より梗塞体積を算出した。

〔結果〕 生食投与群での MRI 早期虚血病変のサイズ (mm³) は Sham 群、RIC 群で 47.0±5.2、35.1±4.9 と RIC 群で有意に縮小していた。24時間後の梗塞体積 (mm³) は 46.6±5.2、33.7±4.0 と RIC 群で有意な縮小をみとめ神経症状も RIC 群で軽減する傾向がみられた。L-NIO 投与群での早期虚血病変サイズ (mm³) は Sham 群、RIC 群で 48.2±4.3、44.3±7.0、24時間後の梗塞体積 (mm³) は 48.6±6.6、45.9±6.9 と RIC 群で縮小はみられなかった。L-NAME 投与群での早期虚血病変サイズ (mm³) は Sham 群、RIC 群で 43.9±3.5、44.0±1.3、24時間後の梗塞体積 (mm³) は 42.6±5.9、42.7±2.8 と RIC 群で縮小はみられなかった。

〔考察〕 遠隔虚血コンディショニングの保護作用として、液性因子、神経刺激、免疫調節、炎症作用の関与が想定されているが、詳しいことはわかっていない。我々は、脳血管内皮の関与を想定しており、今後血管内皮型 NOS (eNOS) の関与についての実験を予定している。

〔結論〕 NOS 阻害薬を投与することによりマウス中大脳動脈永久閉塞に対する遠隔虚血コンディショニングによる早期虚血病変、梗塞体積の縮小効果が消失した。遠隔虚血コンディショニングの保護作用に NOS が関連することが示唆された。

〔学会発表〕

- 1) 齋藤萌子、石塚健太郎、星野岳郎、他. 中大脳動脈永久閉塞モデル遠隔虚血コンディショニングにおける一酸化窒素合成酵素の関与. 第63回日本脳循環代謝学会学術集会、横浜、2020/11

2 7 . Peripheral neuropathy and livedoid vasculopathy

Miki Suzuki, Megumi Horiba, Masaki Kobayashi and Kazuo Kitagawa
(Department of Neurology)

[Purpose] Livedoid vasculopathy is a rare thrombotic disease of the skin microcirculation resulting in painful ulcers, mainly affecting the lower legs. Recently, cases of peripheral neuropathy, most often mononeuritis multiplex, have been reported in association with livedoid vasculopathy ¹⁾.

[Methods] We describe four cases of peripheral neuropathy associated with livedoid vasculopathy, and review the literature.

[Results] All patients were female, ranging in age from 51 to 80 years old. Time between first cutaneous manifestations and diagnosis of neuropathy ranged from 2 to 9 years. No body weight loss was observed in any patients. Nerve biopsies in three cases revealed multiple axonal loss suggestive of ischemic processes without significant inflammation or necrotizing vasculitis. One patient presented with necrotizing vasculitis in nerve and muscle specimens and had been treated with corticosteroid.

[Discussion] Although livedoid vasculopathy was formerly considered a vasculitic disorder, recent advances have suggested primary hypercoagulative state rather than inflammation as a more likely primary cause of ischemic damage and cutaneous manifestations ²⁾. A French study reported that 10 of 20 livedoid vasculopathy patients for whom results of neurophysiological investigations were available showed peripheral neuropathy, with 2 patients demonstrating specific thrombo-occlusive vasculopathy. Three of our cases showed vasculopathy, but one developed vasculitic features in nerves and muscles ³⁾. Our presentation will discuss the significance of livedoid vasculopathy with neuropathy along the spectrum of vasculitides based on the Chapel Hill Consensus Conference nomenclature.

[Conclusions] Nerve biopsy is beneficial for confirming diagnoses and selecting adequate treatments in livedoid vasculopathy associated with peripheral neuropathy.

[Reference]

- 1) Toth C., Trotter M., Clark A., et al. (2003) Mononeuropathy Multiplex in Association with Livedoid Vasculitis. *Muscle Nerve* 27 : 634-639
- 2) Khenifer S., Thomas L., Balme B., et al. (2009) Livedoid vasculopathy : thrombotic or inflammatory disease ? *Clinical and Experimental Dermatology* 35 : 693-698
- 3) Gardette E., Moguelet P., Bouaziz JD., et al. (2018) Livedoid Vasculopathy: A France Observational Study Including Therapeutic Options. *Acta Derm Venereol* 98: 842-847

[Conference Presentation]

- 1) Suzuki M., Horiba M., Kobayashi M., et al. Peripheral neuropathy and livedoid vasculopathy. 6th Congress of the European Academy of Neurology, virtual congress, 2020/5

28. 卵巣奇形腫合併の傍腫瘍性視神経脊髄炎について：症例報告と卵巣奇形腫の病理学的検討

池口亮太郎¹、清水優子¹、小原三千代¹、下村礼門¹、鈴木美樹¹、山本智子²、柴田亮行²、
北川一夫¹

(¹脳神経内科学、²病理学 (病態神経科学分野))

〔目的〕 視神経脊髄炎は自己免疫性炎症性中枢神経疾患であり、その一部は傍腫瘍性免疫介在性機序で発症することが知られているが、卵巣奇形腫と視神経脊髄炎発症の関連は明らかでない。本研究は卵巣奇形腫を合併した視神経脊髄炎の病態解明を目的とする。

〔方法〕 傍腫瘍神経症候群の基準を満たす卵巣奇形腫合併視神経脊髄炎患者一例において、卵巣奇形腫の詳細な病理学的解析を行った。また卵巣奇形腫合併の傍腫瘍性視神経脊髄炎患者について、文献的レビューを行い、臨床的特徴について検討した。

〔結果〕 患者は 27 歳女性。上気道炎罹患後に複視、顔面筋麻痺、四肢筋力低下・感覚障害に加え悪心・嘔吐を呈した。MRI では右大脳脚、橋被蓋部、頸髄から胸髄 (C7-Th6 レベル髄内) に異常信号を認めた。髄液検査ではオリゴクローナルバンドが陽性であった。血清抗 AQP4 抗体が陽性であり視神経脊髄炎と診断した。ステロイドパルスを行った後、神経症状や MRI 所見は改善した。腹部 CT 上、卵巣奇形腫が認められ卵巣腫瘍摘出術を行った。病理学的解析の結果、成熟嚢胞性奇形腫に合致する所見であった。奇形腫は神経系成分を含んでおり、GFAP および AQP4 陽性のアストロサイトが認められた。アストロサイトの近傍に炎症細胞浸潤が認められた。中枢神経組織は、免疫組織化学的に補体の沈着を示唆する C9neo 免疫活性陽性像を呈した。本例では、腫瘍切除後に再発はみられていない。

文献検索を行ったところ卵巣奇形腫合併視神経脊髄炎の既報告は 5 例あり、その特徴は抗 AQP4 抗体陽性 (5/5、100%)、悪心・嘔吐 (4/5、80%)、オリゴクローナルバンド陽性 (4/5、100%)、脳幹背側病変 (4/5、80%) であった。これらは自験例と合致していた。卵巣奇形腫の病理組織学的検討については 4 例で行われ、全例で AQP4 陽性の神経組織が含まれており、その近接部位に炎症細胞浸潤を認めた。

〔考察〕 本例では卵巣奇形腫合併に加え、卵巣奇形腫の病理所見 (腫瘍内における AQP4 陽性アストロサイトの存在、リンパ球浸潤)、腫瘍切除後の抗 AQP4 抗体価の減少・再発がないこと、などが傍腫瘍性機序を示唆した。また卵巣奇形腫合併の視神経脊髄炎では、卵巣奇形腫非合併の視神経脊髄炎と異なり悪心・嘔吐を呈する頻度が多く、オリゴクローナルバンド陽性、脳幹背側病変などの臨床的特徴があり、これらは病態における液性免疫の関与を示唆していると思われる。

〔結論〕 卵巣奇形腫合併の視神経脊髄炎では、奇形腫内の中枢神経様組織が視神経脊髄炎発症の誘因となり得ることが示唆された。卵巣奇形腫合併の視神経脊髄炎を含む傍腫瘍性視神経脊髄炎の病態を解明するため、今後のさらなる研究が望まれる。

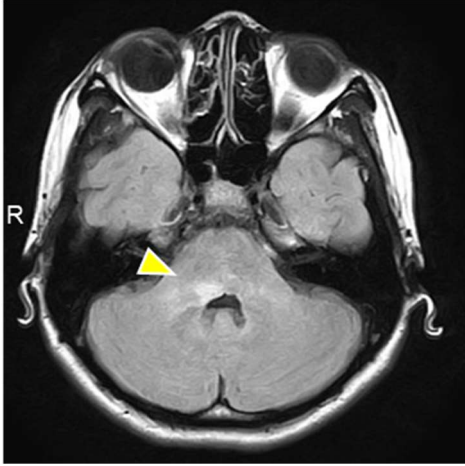


図 1. 頭部 MRI における橋背側病変 (矢頭)

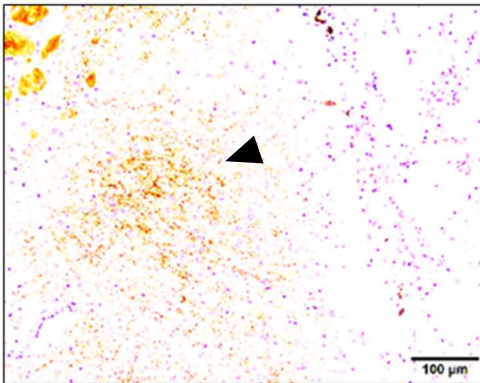


図 2. 卵巣奇形腫の病理像. AQP4 陽性のアストロサイトが認められる (矢頭)

〔文献〕

- 1) Dalmau J, Rosenfeld MR. (2008) Paraneoplastic syndromes of the CNS. *Lancet Neurol.* 7: 327-340
- 2) Sepúlveda M, Sola-Valls N, Escudero D, et al. (2018) Clinical profile of patients with paraneoplastic neuromyelitis optica spectrum disorder and aquaporin-4 antibodies. *Mult Scler.* 24:1753-1759
- 3) Ikeguchi R, Shimizu Y, Shimomura A, et al. (2021) Paraneoplastic AQP4-IgG-seropositive neuromyelitis optica spectrum disorder associated with teratoma: A case report and literature review. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 8(5): e1045

29. 小児期発症重症筋無力症患者における B 細胞活性化因子の動態の検討

七字美延、石垣景子、石黒久美子、佐藤孝俊、永田智
(小児科学)

〔目的〕 重症筋無力症(Myasthenia Gravis: MG)は、神経筋接合部のアセチルコリン受容体 (AChR) 抗体の発現により、神経筋伝達が阻害される自己免疫疾患である。病型は、①眼瞼下垂や眼球運動制限等の眼症状に限定される「眼筋型」、②本人が自覚する症状は眼症状に限定されるものの、反復刺激試験により減衰所見が見られる「潜在性全身型」、③全身骨格筋の筋力低下、嚥下や咀嚼筋、呼吸筋力低下を呈す「全身型」に分類される。成人では約 80%の患者において血清抗体価が陽性となり、抗体価が病勢を反映する指標となる一方で、小児では「眼筋型」が最も多く抗体陽性例が 50%程度に留まり、抗体を病勢の指標としにくいのが特徴である。

BAFF(B細胞活性化因子: B cell activating factor belonging to the tumor necrosis factor family)は、単球・マクロファージ、樹状細胞、活性化T細胞に発現するTNFスーパーファミリーに属する分子であり、B細胞の分化成熟、恒常性維持に非常に重要な役割を果たしている。BAFFの過剰産生は、末梢でのB細胞の自己免疫寛容の破綻と、B細胞の異常活性化、自己抗体産生を介して自己免疫性疾患の成立に寄与しており、既に成人ではAChR抗体と血清BAFF濃度との相関が示されている²⁾。抗体陰性例が半数を占める小児期発症MG患者において、血清BAFF濃度(以下BAFF濃度)の変動があるかどうか、そして、それを病勢の量的指標にすることができるかを検討することとした。

〔方法〕 急性増悪により当科で寛解導入両方としてステロイドパルス療法を行った患者3名において、パルス前、治療開始後の定期血液検査で保存し得た残血清にて血清 BAFF 濃度を測定した (BAFF, Soluble (human) ELISA Kit (hypersensitive), AdipoGen)。本検討においては、抗 AChR 抗体はこれまでに外来診療の経過で測定してきた値と比較できるように、日常診療で行う SRL での検査結果を参照した。

患者 1: 13 歳。乳児期発症、潜在性全身型。胸腺摘除、各種免疫抑制薬投与も効果乏しくステロイド依存の経過での再発。

患者 2: 10 歳。幼児期発症、眼筋型。タクロリムス、ステロイドにて治療中の再発。

患者 3: 14 歳。思春期発症、全身型。初発時。

また、保険診療内で同月内に複数回 AChR 抗体価を評価することはできないため、治療中の推移を比較する目的で、抗体陽性患者の残血清を用いて AChR 抗体値の測定を行った (Human AChR·Ab (Acetylcholine Receptor Antibody) ELISA Kit: MyBioSource)。

〔結果〕 今回の 3 名の SRL での抗 AChR 抗体は、患者 1、患者 2 でも陽性ではあるが非常に低値であり、患者 3 は著明な高値を呈していた。一方で、測定した血清 BAFF 濃度は、患者 1 が患者 2、3 に比し有意に高値を呈した。各患者の血清 BAFF 濃度はステロイドパルス療法初期に比し、治療後に低値を示した。同一患者での SRL 抗 AChR 抗体価と BAFF 濃度の評価では、抗体価上昇時に BAFF 濃度も上昇した。

血清の希釈率を考慮すると、血清 0.3 mL を最低血清量とし、AChR 抗体および血清 BAFF 濃度の両

者の測定が可能であった。

〔考察〕 各患者において、小児においても治療経過と BAFF 濃度の推移が相関することが示唆され、BAFF 濃度は病勢を反映し得ると考えた。一方で、患者間の比較では、病型重症度や AChR 抗体価と BAFF 濃度は相関しなかった。

MG では、副腎皮質ステロイドは症状の改善に有効であり濫用されるが、肥満や低身長を含めた副作用が多く、昨今では免疫抑制剤に置換し維持治療を継続していく。よって、今回の患者 1、2 のように、評価時に複数の薬剤の投与下であることが多いため、同様の条件の複数の患児の評価結果により、BAFF の動態や小児患者における傾向を検討していくことが望ましい。

既に、全身性エリテマトーデスでは抗 BAFF 抗体が治療薬として承認され、海外では成人の MG においても抗 BAFF 抗体の治療が行われた^{3),4)}。小児の MG 患者においても、血清 BAFF 値と病勢との関連があることを示すことにより、治療の選択肢の拡大が期待される。

今後、研究としては多くの検体の収集が望ましいが、評価に要する最低血清量が 0.3mL 程度であることから定期採血での残血清でも評価を行うことが可能であると考えられた。また、ステロイドパルス療法での寛解導入においては 1 週間に 2 回程、最大で 3 週間程度の治療期間が見込まれるが、患児に負担なく研究を継続できる量であると考えた。

〔結論〕 BAFF 濃度の絶対値と、病型重症度および AChR 抗体価との相関は認められなかったが、各患者において、臨床症状と AChR 抗体価および BAFF 濃度の変動は一致しており、小児期発症 MG 患者においても BAFF 濃度は治療反応や再発予測のマーカーとして臨床応用が期待できる結果であると考えた。

〔文献〕

- 1) 松下貴史、佐藤伸一 BAFF と自己免疫性疾患. *Jpn J.Clin. Immunol.* 2005 28(5):333-342
- 2) Kang SY, Kang CH, Lee KH. B-cell-activating factor is elevated in serum of patients with myasthenia gravis. *Muscle Nerve.* 2016 Dec;54(6):1030-1033
- 3) Hewett K, Sanders DB, Grove RA, et al. Randomized study of adjunctive belimumab in participants with generalized myasthenia gravis. *Neurology.* 2018 90:e1425–e34
- 4) Deepak Menon, Carolina Barnett, Vera Bril. Novel Treatments in Myasthenia Gravis. *Front Neurol.* 2020 Jun 30;11:538

30. IgE 抗体関与卵白アレルギー児の末梢血単核球のオボアルブミンに対する免疫応答の分子生物学的解析

杉本圭、千葉幸英、高橋里恵子、永田智
(小児科学)

〔目的〕 IgE 依存型食物アレルギー（以下：食物アレルギー）における、食物アレルギー児（以下：Persistent group）と寛解児（以下：Tolerant group）および疾患対照児（以下：Control group）の食物蛋白に対する末梢血単核球の免疫応答における比較検討を行い、免疫学的寛解のメカニズム解明の手がかりとなる知見を得る。

〔方法〕 鶏卵アレルギー患児の末梢血から単核球を分離し、鶏卵蛋白（OVA）と 48 時間共培養した後、RNA の抽出、cDNA を作成した。作成した cDNA をリアルタイム-PCR 法を用いて Th1、Th2、Treg、Th17 型免疫応答について核内転写因子 Th1 (T-bet, STAT1, STAT4), Th2 (GATA-3, STAT6), Treg (Foxp-3, STAT5), Th17 (Roryt, STAT3) の発現量を検討した。本研究は本学の倫理委員会の承認を受けて実施した（承認番号 5025）。

〔結果〕 Persistent group 24 例、Tolerant group 12 例、Control group 22 例の解析をおこなった。Persistent group の末梢血単核球は OVA との共培養したところ、STAT1, STAT4, Foxp3, STAT3 の mRNA レベルの発現量が、Control group に比して有意に低下していた (each $p < 0.05$; 図 1.A, C&D)。一方、STAT6, GATA3 の mRNA の発現量においては両群間で有意差は認めなかった (図 1.B)。Tolerant group の PBMCs は、OVA へ反応して、STAT4, T-bet, STAT6, GATA3, STAT5, Foxp3, STAT3, ROR γ t の因子の mRNA の発現量が、Control group に比して有意に増加していた (each $p < 0.05$; 図 1.A-D)。加えて、Tolerant group の PBMCs は、OVA に反応すると、T-bet, GATA3, Foxp3, STAT3 の mRNA の発現が、Control group のものと比較して有意に増強していた。

〔考察〕 本研究では、Persistent group では、Control group より、OVA に対して Th2 細胞を除く Th1, Treg, Th17 細胞といった effector T cells の活性は抑えられており、これは先の先行文献とも一致していた¹⁾。鶏卵アレルギーが改善していくときに、正常対照の免疫応答に近づくことが期待されたが、私たちの今回の研究では、T-bet, STAT3, Foxp3, IL-21 のすべてにおいて Tolerated group のそれらは Control group のそれらを有意に上回っていた。寛解を得られてからの期間も関係すると思われるが、明確に OT が得られた時期が推定困難であった。本研究で観察された Tolerant group でみられた Th1, Th2, Treg, Th17, Tfh, Tfr 型免疫応答の増強が、血清卵白特異的 IgE 抗体の産生を抑制するかについては不明である。

OVA の抗原刺激で PBMCs の STAT シグナルや転写因子が明確に一定の発現を示さなかったのは、抗原刺激により monoclonal な細胞増殖が起こらなかったことを示すと思われる。この理由の一つは、抗原刺激に応答した細胞が、CD4⁺ helper T cells だけではなかったことが推測される。これも、抗原タンパクが末梢血に侵入したときに CD4⁺ helper T cells だけでない複数の細胞がバランスよく反応して免疫抑制的になるような生体の合目的な仕組みを物語るものであろう。

[結論] 卵白アレルギーの発症および寛解の段階で、ダイナミックな effector Tcell の機能的変化が起こり、とくに発症には Th2 細胞の相対的な活性化が関与している可能性が示唆された。

[文献]

1) Turcanu V, Maleki SJ, Lack G. (2003) J Clin Invest. 111(7):1065-72

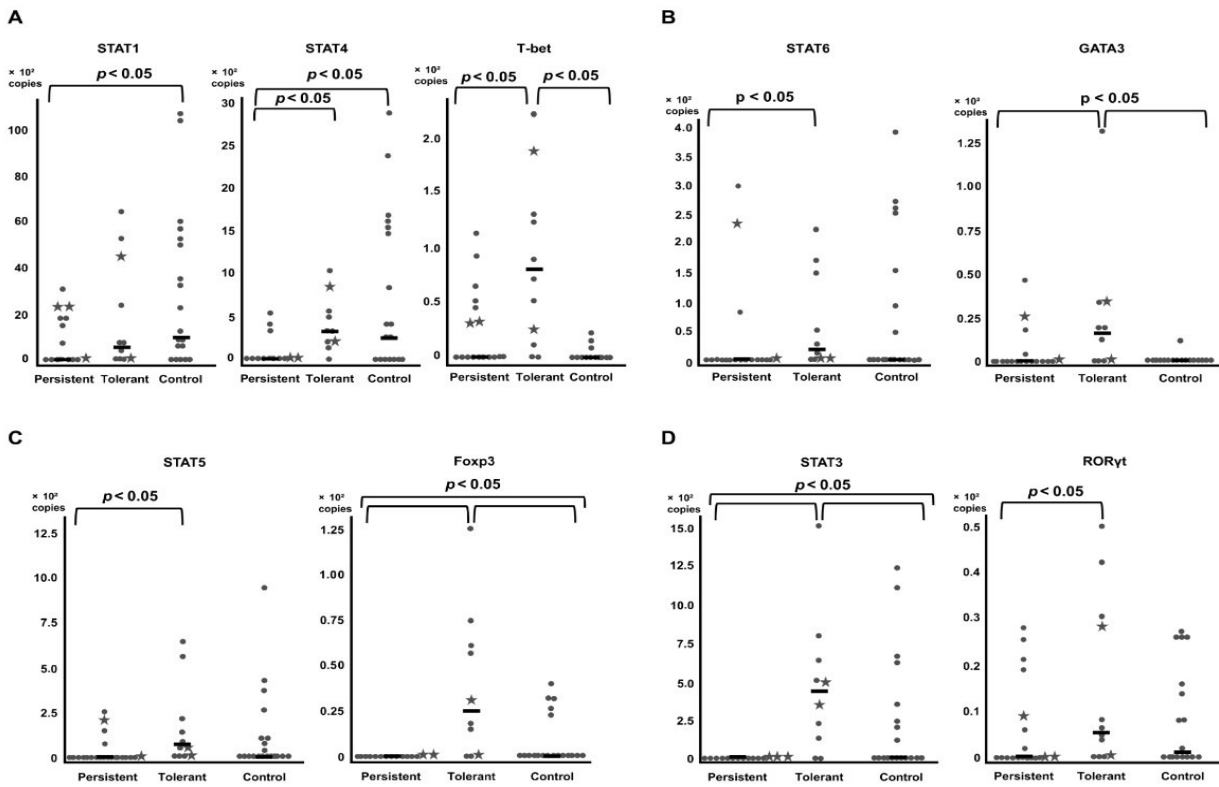


図 1.

A:Th1 (T-bet、STAT1、STAT4)、B:Th2 (GATA-3、STAT6)、C:Treg (Foxp-3、STAT5)、D:Th17 (Roryt、STAT3) の発現量
縦軸の mRNA 発現量は、無刺激条件の background を差し引いた各 factor の遺伝子の copies 数(Δ values)を用いて表
現した。