

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24592569

研究課題名(和文) 顔面神経麻痺患者のウイルス特異的免疫能 - ワクチン接種による発症予防の基礎的研究 -

研究課題名(英文) Varicella zoster virus-specific cell-mediated immunity in patients with facial nerve paralysis

研究代表者

萩森 伸一 (Haginomori, Shin-ichi)

大阪医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90291799

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：水痘・带状疱疹ウイルス(VZV)再活性化が原因の難治性顔面神経麻痺であるHunt症候群と特発性顔面神経麻痺のBell麻痺におけるVZV特異的細胞性免疫能を比較した。全血から単核球を分離後、VZV抗原刺激で産生されるIFN- γ をELISPOT法で定量化した。その結果、Hunt症候群のELISPOT数87.3はBell麻痺の62.3に比べ有意に高値であった。Hunt症候群のELISPOT数は発症からの日数に強い正の相関を示し、発症5日以内で80.0を超える例はなかった。以上からHunt症候群の発症にVZV特異的細胞性免疫能低下の関与が示唆され、VZVワクチンでの発症予防が可能と考えられた。

研究成果の概要(英文)：We determined the median spot numbers and examined varicella zoster virus (VZV)-specific cell-mediated immunity (CMI) in patients with Hunt syndrome and with Bell's palsy using IFN- γ enzyme-linked immunospot (ELISPOT) assays. We analyzed the relationship between the value of VZV-specific CMI and days from disease onset. The median spot number in Hunt syndrome (87.3) was higher than that in Bell's palsy (62.3). Hunt syndrome showed a strong relationship between the ELISPOT count and days from onset. Within the first 5 days from onset, no ELISPOT counts higher than 80 were observed. These results suggest that VZV-specific CMI in Hunt syndrome is low at disease onset and increases rapidly thereafter. Consequently, reduced VZV-specific CMI may play an important role in the reactivation of VZV in the facial nerve, leading to Hunt syndrome

研究分野：耳科学 耳鼻咽喉科学

キーワード：Ramsay Hunt症候群 顔面神経麻痺 水痘・带状疱疹ウイルス 細胞性免疫 ワクチン

1. 研究開始当初の背景

顔面神経麻痺は比較的予後良好な Bell 麻痺と予後不良な Hunt 症候群で 9 割近くを占める。Hunt 症候群は小児期に顔面神経膝部に潜伏感染した水痘・帯状疱疹ウイルス (VZV) の再活性化によって生ずるが、再活性化メカニズムは十分に解明されていない。動物モデルを用いた実験ではウイルス再活性化に細胞性免疫低下の関与が示唆されているが、顔面神経麻痺患者における臨床的研究はなされていなかった。同機序で発症する帯状疱疹ではその流行が水痘の流行と逆の関係にあり、これは水痘の流行による免疫の booster 効果が帯状疱疹発症を抑制すると考えられる。また VZV 感染・発症予防として水痘ワクチン注射があり、近年は水痘発症予防のための幼児への接種のみならず、帯状疱疹発症予防を目的に高齢者への接種も開始されている。水痘ワクチンは生ワクチンであり、その接種は液性免疫のみならず細胞性免疫にも booster 効果があるとされ、Hunt 症候群に対する予防効果もあると思われるが、臨床的検討は未だなされていなかった。

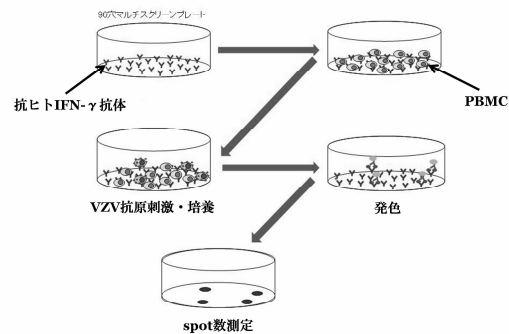
2. 研究の目的

本研究では Hunt 症候群ならびに Bell 麻痺患者における VZV 特異的細胞性免疫能の測定を行い、麻痺の発症、特にウイルス再活性化の機序について宿主側の免疫能の観点から分析・解明を試み、予防医学の検知から VZV ワクチン接種による Hunt 症候群発症予防についても考察する。

3. 研究の方法

対象は Hunt 症候群 20 例 (男性 10 例、女性 10 例、平均年齢 59.1 歳) と Bell 麻痺 57 例 (男性 36 例、女性 21 例、平均年齢 56.3 歳) である。両群間には男女比、年齢とも差は認めなかった。患者から末梢血採血を行い、全血より Ficoll 法に末梢血単核球 (以下 PBMC) を分離した。抗ヒト IFN- γ 抗体 100 μ l

でコーティングした 96 穴マルチスクリーンプレートに、PBMC 溶液および VZV 抗原溶液を投入したのち 37 で 40 時間細胞を刺激し、PBMC から VZV 特異的 IFN- γ を産生させた。プレートを洗浄後、ビオチン標識抗 IFN- γ 標識抗体を反応させ、ABC 法、tetramethylbenzidine を用いた発色を行い、IFN- γ スポット数を自動で測定した。



なお、採血は全例に初回受診の際に行い、統計処理はスピアマンの順位相関係数を用い、解析ソフトは JMP version 9 を使用した。なお、本研究は大阪医科大学の倫理委員会にて承認を得て施行した (課題名「顔面神経麻痺におけるヘルペスウイルスの検出と宿主免疫能の解析」倫理委員会承認番号 0773)

4. 研究成果

(1) Hunt 症候群と Bell 麻痺の ELISPOT 数

Hunt 症候群における ELISPOT 数の中央値は 87.3 spot-forming cells [SFCs]/ 4×10^5 peripheral blood mononuclear cells [PBMCs] であった。他方、Bell 麻痺では 62.3 SFCs/ 4×10^5 PBMCs であり、ELISPOT 数は有意に Hunt 症候群が高値であった ($P=0.04$, Mann-Whitney U test)。

(2) Hunt 症候群と Bell 麻痺の発症 30 日以内の spot 数

Hunt 症候群では、spot 数と発症 30 日までの間に強い相関がみられた (相関係数 $r=0.73$, $P=0.001$, Spearman's correlation

coefficient by rank test) (図1a) 一方、Bell 麻痺では両者に関連はみられなかった ($r=-0.19$, $P=0.13$) (図1b)

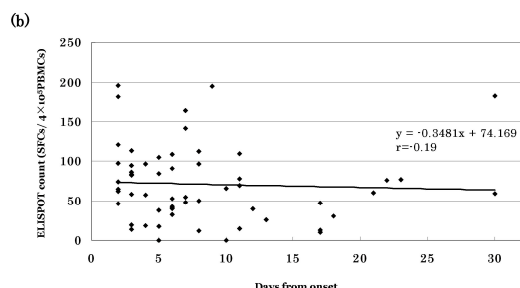
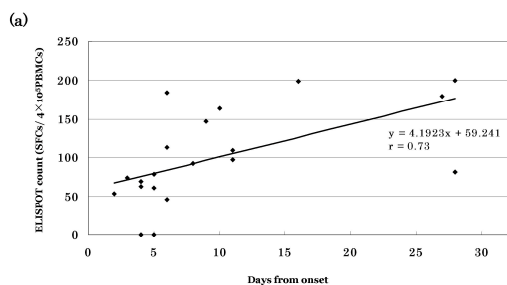


図1 発症後30日以内のspot数

(a) Hunt症候群 (b) Bell麻痺

(3) Hunt 症候群と Bell 麻痺の発症 15 日以内の spot 数

Hunt症候群では、spot数と発症15日までの間に強い相関がみられた(相関係数 $r=0.65$, $P=0.01$) (図2a) 特に発症後5日以内に80.0 SFCs/ 4×10^5 PBMCs以上の例は1例もみとめられなかった。一方、Bell麻痺では両者に関連はみられなかった($r=-0.19$, $P=0.18$) (図2b)

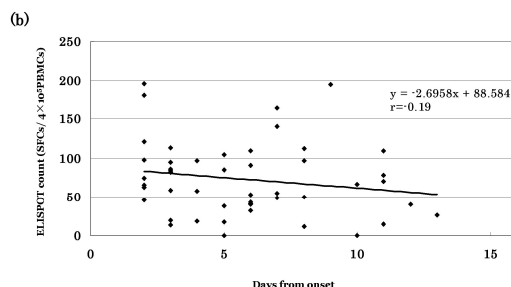
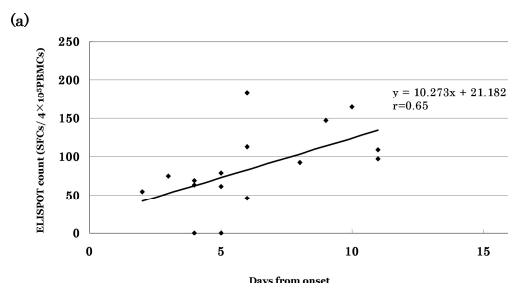


図2 発症後15日以内のspot数

(a) Hunt症候群 (b) Bell麻痺

考察

Hunt 症候群は、幼少期に初感染した VZV が顔面神経膝神経節内に長期に渡って潜伏し、機械刺激や日光曝露などの外因子、糖尿病や免疫低下などの内因子が相互的に関与し合った結果、ウイルス再活性化が生じ麻痺が生じるものとされる。同機序で発症する帯状疱疹では、その流行が水痘の流行と逆の関係にあり、水痘の流行による免疫の booster 効果が帯状疱疹発症を抑制していると考えられている。また水痘の予防として、幼児期における水痘ワクチン注射があるが、近年は幼児への接種のみならず、帯状疱疹発症予防を目的に高齢者への接種も開始され、有効性が報告されている。

本研究では、Bell 麻痺では病日と spot 数との間に明らかな関係を認めなかったのに対し、Hunt 症候群では症状出現 15 日以内、30 日以内とも spot 数と病日との間に強い正の相関を認め、症状出現 5 日以内では全例 spot 数が 80 以下であり、Hunt 症候群発症初期における VZV 特異的細胞性免疫能の低下が示唆された。これらより Hunt 症候群は VZV 特異的細胞性免疫能の低下がその発症に関与する可能性が示唆され、発症後は抗原曝露により VZV 特異的細胞性免疫能は上昇するものと考えられた。成人において VZV 特異的細胞性免疫能を Hunt 症候群発症レベルより高く維持することが発症予防に有効と考えられ、水痘ワクチン接種がその手段として期待される。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6 件)

1. Haginomori S, Ichihara T, Mori A, Kanazawa A, Kawata R, Tang H, Mori Y. Varicella-zoster virus-specific cell-mediated immunity in Ramsay Hunt syndrome. Laryngoscope(査読有) 126: E35-E39, 2016
DOI: 10.1002/lary.25441
2. 萩森伸一. Ramsay Hunt 症候群 - 重症例を減らすためには何が必要か. 月報 原病微生物検出情報(IASR) (査読無) 34 : 301-302, 2013
3. 櫛原崇宏, 萩森伸一, 森 京子, 金沢敦子, 河田 了. 顔面神経麻痺患者における水痘帯状疱疹ウイルス特異的細胞性免疫能. Facial N Res Jpn (査読有)33: 78-80, 2013

[学会発表](計 11 件)

1. Ichihara T, Haginomori S, et al. Longitudinal change of VZV-specific cell-mediated immunity in Hunt syndrome. 30th Politzer Society Meeting & 1st World Congress of Otolaryngology. 2015年6月30日-7月3日, 朱鷺メッセ(新潟県新潟市)
2. 櫛原崇宏, 萩森伸一, 他. 顔面神経麻痺患者における ELISPOT を用いた水痘・帯状疱疹ウイルス特異的免疫能の測定. 2015年2月26, 27日, 東武ホテルレバン ト東京(東京都墨田区)
3. Ichihara T, Haginomori S, et al. Longitudinal change of VZV-specific cell-mediated immunity in Hunt syndrome and Bell's palsy. American Academy of Otolaryngology - Head & Neck Surgery 2014. 2014年9月21日-24日, Orlando, FL(米国)
4. 萩森伸一. 末梢性顔面神経麻痺におけるヘルペスウイルスの関与. 第6回近畿へ

ルペス感染症研究会. 2014年6月5日, ANA クラウンプラザホテル大阪(大阪府大阪市)

5. Ichihara T, Haginomori S, et al. Varicella-zoster virus-specific cell-mediated immunity in facial palsy: comparison between Hunt syndrome and Bell's palsy. American Academy of Otolaryngology - Head & Neck Surgery 2013. 2013年9月29日-10月2日, Vancouver(カナダ)
6. 櫛原崇宏, 萩森伸一, 他. 顔面神経麻痺患者における水痘・帯状疱疹ウイルス特異的細胞性免疫能の変化. 第115回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会. 2014年5月14日-17日. ヒルトン福岡シーホーク(福岡県福岡市)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

萩森伸一 (HAGINOMORI Shinichi)
大阪医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 9029799

(2)研究分担者

櫛原崇宏 (ICHIHARA Takahiro)
大阪医科大学・医学部・助教
研究者番号: 20624240

森 京子 (Mori Atsuko)

大阪医科大学・医学部・助教

研究者番号: 40368105

(平成25年度まで研究分担者)

(3)連携研究者

森 康子 (Mori Yasuko)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号: 50343257