

多発性硬化症患者の赤血球膜動態

— サポニンに対する赤血球膜の fragility —

川崎医科大学 神経内科
 守本 研二, 寺尾 章
 同 検査診断
 上田 智
 同 生化学
 原野 恵子
 (昭和58年10月13日受付)

The Alteration of Physicochemical Properties of Erythrocyte Membrane in Patients with Multiple Sclerosis

— The Fragility of Erythrocyte
 Membrane for Saponin —

Kenji Morimoto and Akira Terao

Division of Neurology
 Department of Medicine
 Kawasaki Medical School

Satoshi Ueda

Department of Clinical Pathology
 Kawasaki Medical School

Keiko Harano

Department of Biochemistry
 Kawasaki Medical School

(Accepted on October 13, 1983)

多発性硬化症患者8例(急性期4例,慢性期4例)およびその他若干の神経疾患においてサポニンテストを行い次の結果を得た。

1. 急性期4例ではいずれも $T_{end}^{0.5}$ の著明な短縮を認め,慢性期4例ではほぼ正常パターンを示した。急性期4例中3例で症状寛解期に再検し,正常パターンとなった。
 2. 急性期ウイルス性脊髄炎2例および球後視神経炎2例は正常パターンを呈した。
 3. 筋緊張性ジストロフィー症3例で,多発性硬化症急性期例と同様のパターンを認めた。
- 以上の結果より,多発性硬化症急性期例ではサポニンに対する赤血球膜の fragility 亢進を認め,病勢に一致して赤血球膜動態が変化し得ることが示唆された。

The Saponin test of erythrocytes was carried out in eight patients with multiple sclerosis (MS, four in acute stage and four in chronic stage) and a few patients

with other neurological disorders.

The following results were obtained.

1. All four acute MS patients showed the pattern of marked shortening of $T_{end}^{0.5}$ and then three of four became to show the normal pattern on stable stage.
2. All four chronic MS patients showed the normal pattern.
3. The normal pattern was noticed in two cases with acute viral myelitis and two with acute retrobulbar neuritis.
4. Three patients with myotonic dystrophy revealed the pattern of $T_{end}^{0.5}$ shortening as seen in the acute MS cases.

The results indicated the increased fragility of erythrocyte for saponin on acute stage of MS and it suggested that the physicochemical properties of erythrocyte membrane could be alterable corresponding to disease activity.

Key Words ① Multiple sclerosis (MS) ② Saponin test ③ Fragility of erythrocyte membrane

はじめに

多発性硬化症（以下 MS と略す）は中枢神経系の一次的な脱髄を特徴とする疾患で、末梢血リンパ球動態や髄液中の IgG など免疫学的観点から種々の検索がなされている。しかし赤血球とくに赤血球膜機能より検討した報告は少なく、わずかに Stasiw ら¹⁾、Schauf ら²⁾ が MS 患者赤血球において osmotic fragility の亢進が認められることを報告しているのみである。

ところで赤血球にサポニンを添加すると、赤血球膜の構成成分の一つであるコレステロール分子と結合し環状ミセルを形成後、赤血球からはずれ内径約 80 Å の孔を赤血球膜にあげ溶血作用をおこすことが知られている。今回我々は

この溶血作用を応用したサポニンテスト³⁾により赤血球膜動態の面から MS およびその他若干の神経疾患につき検討をおこなったので報告する。

対 象

急性増悪期 4 例（このうち 3 例は寛解期にも検査した）、慢性期ないし寛解期 4 例あわせて 8 例の MS (Table 1)。急性期のウイルス性脊髄炎 2 例、急性期球後視神経炎 2 例、筋緊張性ジストロフィー症 5 例。

方 法

30°C に保温した 0.5% および 0.9% の食塩水 50 ml に被検血液 1 μl を添加、浮遊させ、

Table 1. Clinical details of patients with multiple sclerosis

No	Pt.	年齢	性	罹病期間 (年)	Probable or Possible	Stage	Saponin 溶血亢進	病 巣				
								視神経	脊髄	脳幹	小脳	大脳
1	K. Y.	18	F	5	probable	急性期	+	+		+		+
2	Y. T.	28	F	9	probable	急性期	+	+	+			
3	H. Y.	42	M	1	probable	急性期	+	+	+			
4	M. T.	55	F	5	probable	急性期	+	+	+			
5	Y. T.	52	F	9	probable	慢性期	-	+	+			
6	M. K.	29	F	4	probable	慢性期	-		+	+	+	
7	M. N.	19	M	1	possible	慢性期	-	+	+			
8	M. I.	59	F	1	possible	慢性期	-		+	+		+

40秒後1%のサポニン溶液 150 μ l を加え、赤血球が膨化後溶血にいたるまでの赤血球平均容積(以下 MCV と略す)の変化を東亜医用電子製自動血球計数器 Sysmex CC-108 および連続 MCV 測定装置で記録した。

サポニン溶液添加直後から MCV を計測し始め、赤血球の溶血破壊により赤血球数が溶血前赤血球数の 25% になるまでの時間を Tend(秒)とした。正常成人では 0.9% 食塩水中においてサポニン溶液添加後 MCV はしだいに増加し、一方 0.5% 食塩水中では最初最大の MCV を有し、サポニン溶液添加後徐々に低下する。

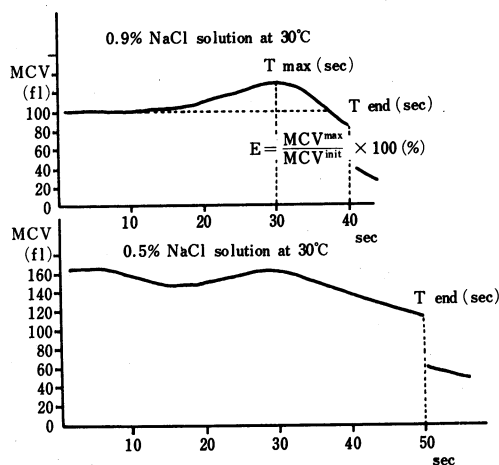


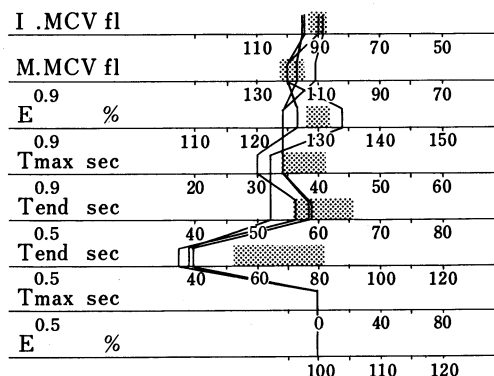
Fig. 1. Profile of erythrocyte volume changes after addition of saponin solution

サポニン溶液添加前の initial MCV と maximum MCV から膨張率 E (maximum MCV/initial MCV \times 100%) を求め、同時にサポニン溶液添加から maximum MCV となるまでの時間を Tmax (秒) とした (Fig. 1)。またサポニンテストとほぼ同時期に末梢血検査、血液化学スクリーニング、髄液検査(細胞数、蛋白量、IgG 量)をおこなった。

結 果

1. 正常成人では $E^{0.9}$: $130 \pm 2\%$, $T_{max}^{0.9}$: 37 ± 4 (秒), $T_{end}^{0.9}$: 61 ± 5 (秒), $E^{0.5}$: 100%, $T_{max}^{0.5}$: 0(秒), $T_{end}^{0.5}$: 68 ± 15 (秒) であった。

Acute stage



Chronic stage

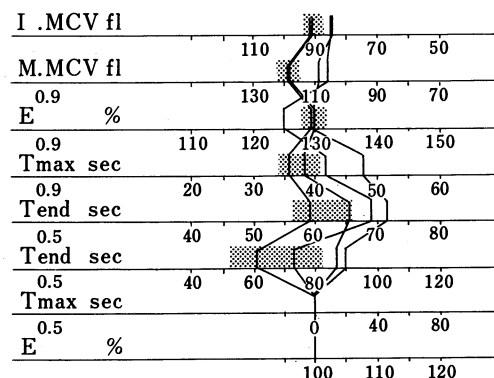
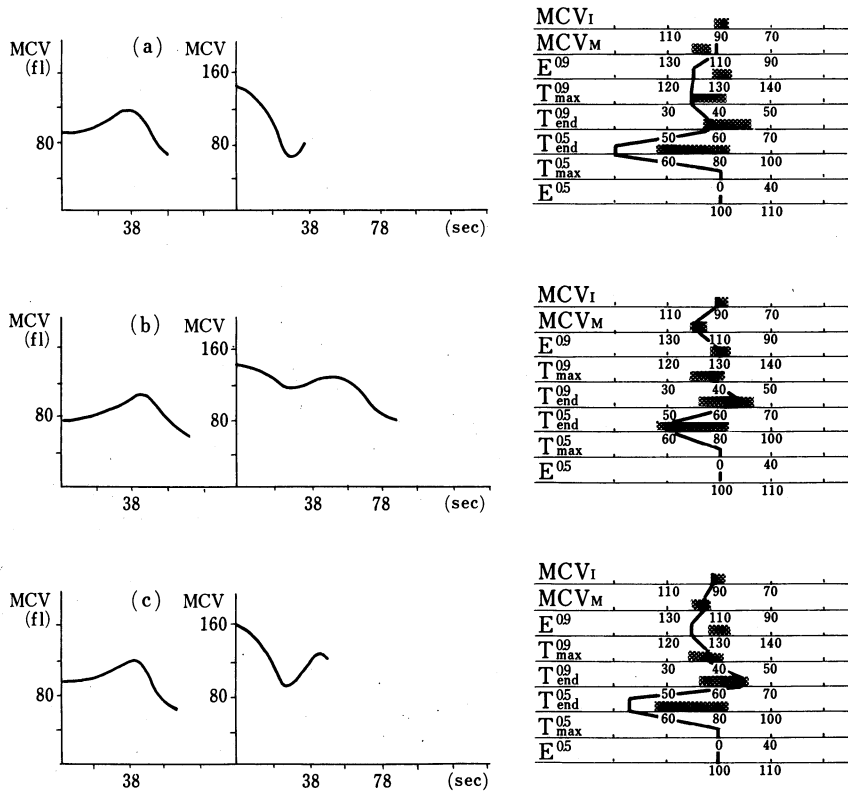


Fig. 2. Diagrammatic representation of the Saponin test in multiple sclerosis

2. MS 8例の結果は Fig. 2 に示す。急性増悪期 4例ではいずれも $T_{max}^{0.9}$ の短縮および $T_{max}^{0.5}$ の著明な短縮を認め、慢性期ないし寛解期 4例では正常ないし Tend の軽度延長傾向パターンを示した。また急性期中 3例は寛解期にも検査したが、正常パターンとなっていた (Fig. 3. a, b)。同時におこなったその他の検査項目は髄液中 IgG 値を除いて、急性期群と寛解期群で有意差を認めなかった。髄液中 IgG 値は急性期群で全例増加を認めた。

3. 脊髄炎、球後視神経炎例は正常パターンを示した。

4. 筋緊張性ジストロフィー症 5例のうち臨床上著明な筋緊張を呈する 3例で $T_{end}^{0.5}$ の短縮があり、MS 急性期例と同様のパターンを示



(a) MS (acute) (b) MS (chronic) (c) Myotonic Dystrophy

Fig. 3. The Saponin test in multiple sclerosis and myotonic dystrophy

した。

次に実例を示す。

症例1 55歳, 女性 (Table 1 の No. 5). 左眼視力障害と四肢不全麻痺を呈する慢性期のMS患者で, 褥瘡治療の目的にて入院. 入院時サポニンテストは正常パターンであったが, 昭和57年1月頃より左眼視力障害を訴えるようになり, 精査の結果右眼球後視神経炎と診断. サポニンテストを再検したところ $T_{end}^{0.5}$ の著明な短縮パターンを認めた (Fig. 4).

症例2 42歳, 男性 (Table 1 の No. 3). 第4胸髄以下の感覚障害および対麻痺をきたし入院.

当初脊髄炎の診断でステロイドによる治療をおこなっていたが, 下肢の疼痛性強直性けいれんを認めるようになり, サポニンテストをおこ

なったところ著明な $T_{end}^{0.5}$ の短縮を認めた. この時点での神経眼科的検索では異常なく経過観察をしていたところ, 数日して視力障害を訴えるようになり, 精査の結果球後視神経炎と判明. 臨床症状等より視神経脊髄炎と考へ, 再びステロイド治療を開始し, 症状の寛解を認めた. サポニンテスト再検の結果でも $T_{end}^{0.9}$ の軽度短縮はあるが, $T_{end}^{0.5}$ は正常化している (Fig. 5).

考 察

MS は中枢神経系の一次的な脱髄病変を特徴とする疾患で, 急性期に髄液 IgG 増加, 末梢血 suppressor T cell および natural killer cell activity の減少をきたすなど多くの免疫異常を認める^{4), 5)} こと, さらに実験的アレルギー性脳

M.T. 55y. F

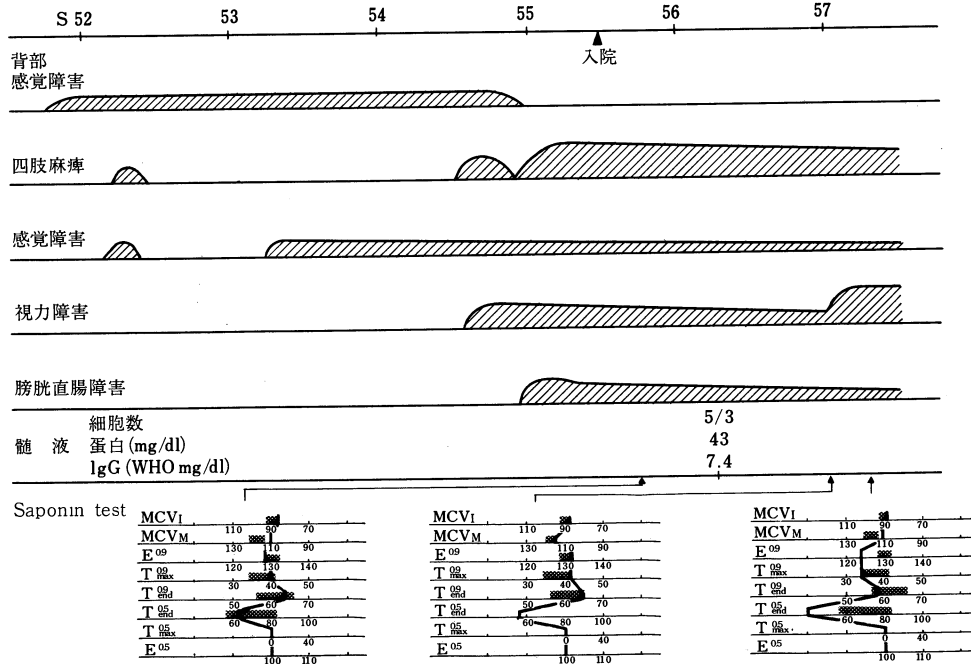


Fig. 4. Clinical course of M. T. patient

H.Y. 42y. M

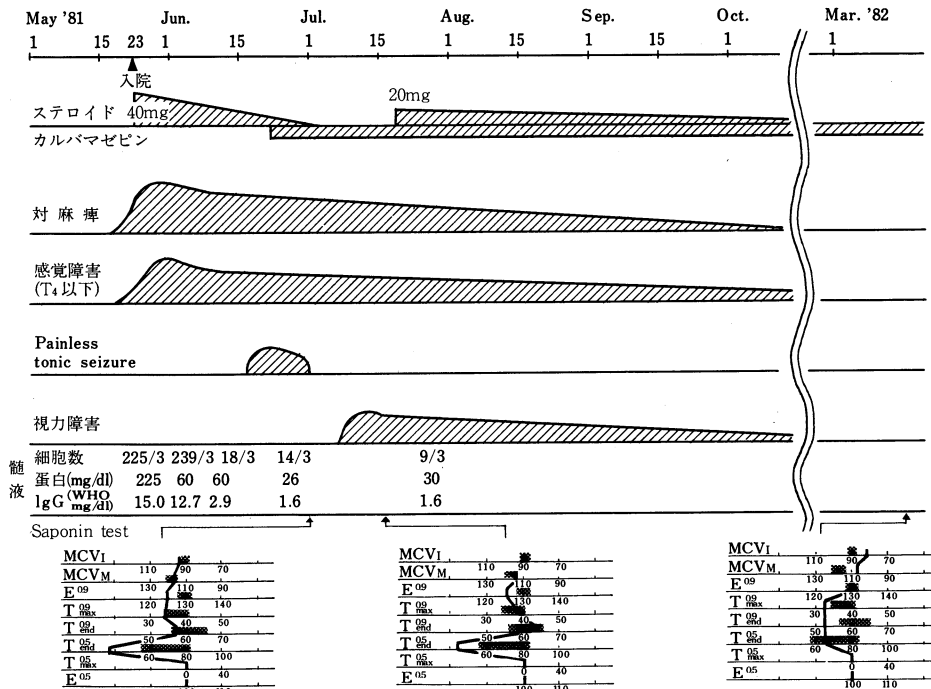


Fig. 5. Clinical course of H. Y. patient

炎と類似性があることなどから広義の自己免疫疾患の範疇にはいる⁶⁾ものと考えられている。

しかし麻疹など種々のウイルス抗体価の上昇⁷⁾や髄液中 oligoclonal band の存在などウイルスとの関連を示す知見も多々あり、現在のところ何らかのウイルス感染が trigger となり免疫学的プロセスが関与して脱髄病変が存在するものとするのが妥当である。

今回 MS 患者 8 例において赤血球のサポニンテストを行った結果、急性期 4 例で $T_{\text{end}}^{0.5}$ の著明な短縮がみられ、サポニンに対する赤血球膜の fragility の亢進を認めたが、慢性期ないし寛解期の 4 例では正常パターンないし $T_{\text{end}}^{0.9}$ の軽度延長を認めた。これはリンパ球動態の変化以外に赤血球膜動態にも変化があらわれる可能性を示すものと思われる。慢性期例と急性期例において、年齢、経過、病巣分布に差違は認めず、またステロイドはコレステロール代謝に関連することからステロイド使用例ではその影響も考えられるが、ステロイド未使用例でも $T_{\text{end}}^{0.5}$ の短縮パターンを認めたことより、少なくとも今回の結果に対するステロイドの関与は否定できる。サポニンテストにおいては赤血球の population も考慮する必要があるが、CBC や網状赤血球については急性期と慢性期で有意差を認めなかった。

骨髄検査は行っていないが、報告では両期では差異を認めないとのことである。さらに一部の症例では赤血球内 Na, K 濃度、赤血球内解糖系酵素、CPC (coil planet centrifugation) 法による滲透圧溶血検査を行ったが、両期で違いを認めなかった。

MS 患者における赤血球膜異常については Stasiw らが thalassemia と MS を対比して osmotic fragility の検索を行い、前者では osmotic resistance が増加しているのに対し、MS では osmotic fragility の亢進があることを報告している。この結果は著者らの結果と類似しているが、ただ異なる点はサポニンテストにおいては MS 急性期においてのみ osmotic fragility の亢進を認めたことである。また

Schauf らは mechanical shaking に対する fragility の検索を行い、MS では mechanical fragility の亢進があることを報告し、その原因として何らかの serum factor の存在を推定している。しかし彼らの報告結果ではいずれも disease activity との相関は認めていない。

ところで MS 患者赤血球のサポニンテストにおける $T_{\text{end}}^{0.5}$ の短縮パターンは hereditary spherocytosis や myotonic dystrophy 患者のそれと類似パターンを呈している。これらの疾患はいずれも membranous disease すなわち赤血球膜異常の存在が強く示唆されている疾患で、MS 急性期に同様な membranous property を呈することは興味がある。この membranous property に関連する factor としては次のようなものがある。まず従来からサポニンに対する osmotic fragility の亢進には赤血球膜脂質とくに cholesterol/phospholipid (C/P) の変化が重要と考えられており、事実 hereditary spherocytosis においては C/P が大となっている。MS 急性期でも C/P の変化が考えられるが、一部の症例の検索結果ではその所見は得られなかった。さらに MS 患者では血清および赤血球膜の脂肪酸なかでもリノール酸やアラキドン酸の低下が知られており^{4), 8), 9)}、これもまた赤血球膜動態に変化をおこす可能性がある。今回脂肪酸の検討は行っておらず、言及はさけるが脂肪酸の変化は食事摂取や吸収面など intake の関与が大きく osmotic fragility に影響はあるとしてもすぐに disease activity と関連させるには問題がある。次に脱髄および膜異常と関連した factor としては membrane glycoprotein の異常が報告されている⁴⁾。正常では myelin sheath の periaxonal portion に存在する myelin associated glycoprotein は、MS において脱髄巣 (plaque) 周辺の正常な myelin が存在していると思われる部位において immunocytochemical study により染色されないことから脱髄巣の pathogenesis に関連していると思倣されている。そして MS では general membrane glycoprotein の異常の結果 myelin associated glycoprotein

も影響を受け、myelinの deterioration がひきおこされると共に血球の surface membrane も影響を受けているといわれている。事実 MS 患者血小板の adherence property の亢進はこの membrane glycoprotein に mediate されている。

これらの factor はいずれも膜成分ないし膜組成に関したもので現時点では関連性の有無を断定することはできない。また血球膜動態にはその他膜透過性さらに免疫学的動態とくに膜表面のリセプターなど多くの因子が関与しており、今後さらに症例の積み重ねと、それぞれの factor の詳細な検討が必要と思われる。

またウイルス性脊髄炎や MS に移行する可能性のある球後視神経炎では急性期にもかかわ

らず正常パターンであったが、これは MS の早期鑑別上有用と思われ、サポニンテストをくり返すことにより subclinical stage に MS が診断できる可能性もある。

ま と め

1. 急性期4例、慢性期4例合計8例のMS患者においてサポニンテストをおこなった。
2. 急性期4例全例でサポニンに対する赤血球膜の fragility の亢進を認め、赤血球膜動態にも変化があらわれる可能性が示唆された。
3. サポニンに対する fragility 亢進の原因は現在のところ不明であるが、膜脂質、脂肪酸、glycoprotein などの factor の関与も考えられる。

文 献

1. Stasiw, D. M., Rosato, S., Mazza, J. and Cerny, L. C.: Quantitative osmotic fragility and disease states. *J. lab. clin. Med.* 89: 409—413, 1977
2. Schauf, C. L., Frischer, H. and Davis, F. A.: Mechanical fragility of erythrocytes in multiple sclerosis. *Neurology* 30: 323—325, 1980
3. Ueda, S., Harano, K., Takemoto, Y., Harano, T. and Shibata, S.: Continuous measurement of the change in erythrocyte volume after addition of saponin. *Kawasaki med J.* 7: 127—135, 1981
4. Bauer, H. K., McFarlin, D. E., Stadlan, E. M. and Waksman, B. H.: Mechanisms underlying cellular aggregation and other membrane phenomena in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 11: 207—212, 1982
5. Knight, S. C.: Cellular immunity in multiple sclerosis. *Br. med. Bull.* 33: 45—50, 1977
6. McFarlin, D. E. and Mcfarland, H. F.: Multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 307: 1246—1251, 1982
7. Haire, M.: Significance of virus antibodies in multiple sclerosis. *Br. med. Bull.* 33: 40—44, 1977
8. Baker, R. W. R., Thompson, R. H. S. and Zilkha, K. J.: Serum fatty acids in multiple sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 27: 408—414, 1964
9. Gul, S., Smith, A. D., Thompson, R. H. S., Wright, H. P. and Zilkha, K. J.: Fatty acid composition of phospholipids from platelets and erythrocytes in multiple sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 33: 506—510, 1970