

原 著

髄液 Corticotropin releasing factor-like immunoactivity の検討

東京女子医科大学 脳神経センター神経内科 (主任：丸山勝一教授)

オオタ コウヘイ ムラカミ ヒロヒコ コバヤシ イツロウ マルヤマ ショウイチ
太田 宏平・村上 博彦・小林 逸郎・丸山 勝一

東京女子医科大学 第二内科学教室

シバサキ タモツ
芝崎 保

(受付 昭和61年6月20日)

Studies on Corticotropin Releasing Factor-Like Immunoreactivity in Cerebrospinal Fluid in Neurological Disorders

Kohei OTA, M.D., Hirohiko MURAKAMI, M.D., Itsuro KOBAYASHI, M.D.,
Shoichi MARUYAMA, M.D. and Tamotsu SHIBASAKI, M.D.*Department of Neurology, Neurological Institute and *Department of Medicine, Insutitute of
Clinical Endocrinology, Tokyo Women's Medical College, Tokyo, Japan

Quantitative assay of corticotropin releasing factor-like immunoreactivity (CRF-LI) in cerebrospinal fluid (CSF), which was performed with radioimmunoassay, using rabbit anti-human CRF serum. Thirty four samples were obtained from 32 patients with various neurological disorders.

Considering all samples, the average concentration (mean \pm SD) of CSF CRF-LI was 20.1 ± 8.9 pg/ml and the average concentration of CSF CRF-LI in subjects (patient control), whose neurological and CSF findings were normal, was 22.7 ± 6.1 pg/ml. The measurement of CSF CRF-LI in spinocerebellar degeneration (5 cases) ranged from 8.4 to 32.2 pg/ml with a mean concentration (\pm SD) of 21.9 ± 8.6 pg/ml and there was no significant difference compared with patient control and spinocerebellar degeneration.

In patients associated with dementia (7 cases), CSF CRF-LI ranged from 7.6 to 30.3 pg/ml with the average concentration of 18.2 ± 8.2 pg/ml which was slightly lower than that of patient control. But we needed further examinations and a careful consideration about the relation between the low concentration of CSF CRF-LI and dementia, because in this study patients consisted of various neurological disorders and a number of subjects was not so enough.

目 的

Corticotropin releasing factor (以下 CRF) は視床下部に高濃度に認められる¹⁾²⁾以外に前脳, 脳幹を含む他の脳内にも広く分布し³⁾, 下垂体での ACTH 分泌刺激作用の他, 中枢作用を有する peptide の一つとして運動活動性の増加⁴⁾や摂食の抑制⁵⁾などに関与している可能性が推察されている。一方, Alzheimer 病(以下 AD)や Alzheimer 型老年痴呆(以下 SDAT), 脊髄小脳変性症(以下

SCD)をはじめ神経変性疾患では広汎な脳障害を示し, 特に AD や SDAT では somatostatin の脳内含量の低下が報告され^{6)~9)}, 他の neuropeptide の動態も注目されている。また, SCD ではこれまでに CRF の高濃度分布域である視床下部, 下垂体系の機能異常についていくつかの報告がみられ¹⁰⁾¹¹⁾, これら神経変性疾患の脳内 CRF の動態には興味を持たれる。今回, 我々は脳内 CRF の間接的表現と考えられる髄液 CRF に着目し, 種々

の神経疾患で髄液中 CRF-like immunoreactivity (以下 CRF-LI) を測定し髄液中 CRF-LI の意義について検討した。症例数は少なく統計的処理は不十分であるが、ここに報告した。

対象と方法

症例は SCD(5 例, 7 検体), 運動ニューロン疾

患(4 例), 老年痴呆(2 例), 脳血管障害性痴呆(1 例), Shy-Drager 症候群(以下 SDS: 2 例), 多発神経炎, 脳炎等の炎症性疾患を含む計 32 例(34 検体)である。対照群(4 例)には頸椎症など中枢神経障害の認められない症例を用いた。また, SCD 2 例では TRH 治療前後での髄液中 CRF-

表1 CRF in CSF

Case	Age	Diagnosis	CRF pg/ml	TP mg/dl	Activity	Dementia*	Appetite
1	51	ALS	6.7	41	np	np	np
2	73	ALS	27.7	48	np	np	np
3	11	ALS	n.d.		np	np	np
4	48	ALS	23.8	35	np	np	np
5	58	SCD(LCCA: pre-TRH)	32.2	42	np	np	np
		(post-TRH)	31.4	41			
6	36	SCD(LCCA)	8.4	46	np	np	np
7	46	SCD(OPCA: pre-TRH)	24.2	41	np	np	np
		(post-TRH)	21.8	36			
8	56	SCD(OPCA)	20.8	45	eupholic	27.5	↓
9	44	SCD(OPCA)	23.8	33	np	np	np
10	34	Ramsy-Hunt syndrome	27.8	53	np	(IQ 51)	np
11	73	SDS	n.d.	32	eupholic	np	↓
12	63	SDS	22.8	42	np	np	np
13	63	Senile dementia	30.3	38	↓	28	np
14	50	Dementia(Binswanger type)	17.3	53	↓	5.5	np
15	80	Senile dementia	18.9		↓	28.5	np
16	53	NPH	7.6	67	np	24.5	↑
17	33	Chorea acanthocytosis	8.2	31	np	(IQ69-73)	np
18	37	Parkinson disease	10.8	43	childish	(IQ 97)	np
19	76	Guillain-Barre syndrome	11.7	50	np	np	np
20	44	Guillain-Barre syndrome	7.8	78	np	np	np
21	21	Guillain-Barre syndrome	n.d.	72	manic	np	np
22	21	Herpes simplex encephalitis	24.2	26	childish	27	↑
23	52	Aseptic meningitis	23.9	29	np	np	np
24	34	Neurosyphilis	23.8	36	np	np	np
25	22	Pituitary adenoma	7	29	Hypersomnia	np	↓
26	55	Subarchnoid hemorrhage	21.5	45	↓	np	np
27	64	Subdural hematoma	7.3	19			
28		Meningocele	38.2		np		
29	74	Cervical spondylosis	21.9	40	np	np	np
30	68	Entrapment neuropathy	16.1		np	np	np
31	56	Cervical spondylosis	31.9	48	np	np	↓
32	34	Thoracic outlet syndrome	24.7	40	↑	np	np
average			20.1	43		23.5	

ALS: amyotrophic lateral sclerosis

LCCA: late cortical cerebellar atrophy

NPH: normal pressure hydrocephalus

OPCA: olivo-ponto-cerebellar atrophy

SCD: spinocerebellar degeneration

SDS: Shy-Drager syndrome

*長谷川式簡易痴呆スケールの得点を記載した

表2 CRF & Adrenocortical Function

Case	Age	Diagnosis	CRF pg/ml	ACTH pg/ml	F μ g/dl	Drug
4	48	ALS	23.8	28	10	
5	58	SCD(LCCA)	32.2	87	17	
7	46	SCD(OPCA)	24.2	56	14.5	
8	56	SCD(OPCA)	20.8	27	7.5	
9	44	SCD(OPCA)	23.8	32	8.4	TRH
10	34	Ramsy-Hunt syndrome	27.8	60	24	
14	50	Dementia(Binswanger type)	17.3	42	23.3	
20	44	Guillain-Barre syndrome	7.8			P30mg
21	21	Guillain-Barre syndrome	n.d.	21	4.7	P10mg
22	21	Herpes simplex encephalitis	24.2	15	1.0 \downarrow	H 5mg
25	22	Pituitary adenoma	7	14	1.0 \downarrow	
average			20.6	39.3	14.2	

F : cortisol

P : prednisolone

H : hydrocortisone

LIを測定した。

方法は腰椎穿刺で得られた髄液2ccを採取後直ちに $-20\sim-80^{\circ}\text{C}$ に凍結保存をし測定直前に凍結乾燥, 次いでRIA bufferで溶解後, ウサギ抗ヒトCRF血清を用いた2抗体法によるradioimmunoassayでCRF-LIを測定した。

結 果 (表1)

34検体中CRF-LIの検出できなかった3例を除く31検体のCRF-LIのmean \pm SDは 20.1 ± 8.9 pg/mlであった。同様に中枢神経障害の認めない対照群CRF-LIは 22.7 ± 6.1 pg/mlであった。次に症例数としてまとめた数のみられたSCD, および, SDS群について検討した。SCD群のCRF-LIは 21.9 ± 8.6 pg/mlと対照群に比して推計学的有意差は認められず, また, SCD及びSDSの各病型, 重症度, 臨床症状とCRF-LIとの比較でも特に関連はみられなかった。SCD群のなかで3例でTRH負荷試験を実施し1例(case 7)でprolactinのhypersecretionをみとめたがCRF-LIは特に異常値を示していなかった。また, case 5, 及びcase 7はTRHを治療目的で1 \sim 2mg/日を14日間使用してその前後でCRF-LIの経時的測定をしたが, ほぼ同値ないしは軽度の低下を示していた。

次に視点を変えて全対象の中で症状や下垂体機能とCRF-LIの関連について検討した。まず知能障害, または痴呆をきたした症例について検討し

表3 CRF in human diseases

No.	Reference	Diseases	Results
1	Nemeroff (1984) ¹³⁾	Depression	CSF CRF \uparrow
2	Conte-D (1985) ¹⁴⁾	Parkinson	Hypothalamus CRF \rightarrow
3	Bissette (1985) ¹⁵⁾	Alzheimer	BA10, BA38, Caudate CRF \downarrow
4	Hotta (1986) ¹⁶⁾	Anorexia N.	CSF CRF \uparrow

BA : Brodmann's area

たが, IQの低下, または長谷川式簡易痴呆スケールでsubnormal以下の症例(7例)をまとめるとCRF-LIのmean \pm SDは 18.2 ± 8.2 pg/mlと対照群に比べやや低値を示している。しかし, これらの症候群は単一の疾患群でなく, また, 症例数も少ない事を考えると今後, 多数例におけるより慎重な評価が必要である。活動性とCRF-LIについては活動性の低下した症例(4例)ではCRF-LIのaverageは 22.0 pg/mlであり対照群と同等であった。次にCRF-LIとadrenocortical functionの関連を見るために血中ACTH, cortisolを測定し検討した(表2)。両者に特に有意の相関はなかったが, ACTH, cortisolが低値のcase 22のCRF-LIは正常範囲であった。また, もう1例ACTH, cortisolが低値のcase 25の下垂体腺腫例では臨床的にはhypersomniaなどがみられCRFの低値を考慮すると視床下部に障害がおよ

んでいる事が十分に考えられた。case 20, case 21 のギランバレー症候群では CRF は低値を示しているが、これは steroid 治療による negative feedback がその一因の可能性がある。

考 察

CRF は1981年 Vale ら¹²⁾によりヒツジ視床下部より単離、精製され41コのアミノ酸よりなる一次構造が明らかとなり、その後ラット、ヒトらの CRF も解明されている。さらにこれらが合成された事よりこの方面での研究は急速に進歩しつつある。

CRF は本来、下垂体の ACTH 放出刺激作用のみでなく視床下部や他の脳内にも広くその活性がみとめられ⁹⁾何らかの向神経作用を持つことも明らかとなり、神経疾患においても CRF の意義が検討されつつある。表3はヒトの神経精神疾患での CRF を検討した報告^{13)~16)}のまとめである。Nemeroff 等¹³⁾は1984年 depression の患者で髄液 CRF の増加を報告し、CRF 活性が limbic system に高いこと、CRF の脳室内投与を受けたラットが depression に似た行動を取る事等から CRF の hypersecretion が少なくとも一部の病因として可能性があることを述べている。また、Hotta ら¹⁴⁾も anorexia nervosa の髄液 CRF 上昇が認められたことを報告している。1985年 Bisette ら¹⁵⁾は SDAT の脳を用い、その脳内の CRF-LI を測定し前頭葉、側頭葉(Brodmann' area 10, 38)、及び、caudate で control に比べ有意に低下している事を報告した。それまでは SDAT では somatostatin や choline acetyltransferase activity についての報告はあるが、他の neuropeptide や amine については報告も少なく病態との関連は尚、不明であるが、Bisette らも SDAT の neuropeptide についてはさらに検討の必要があることを述べている。さて一方、今回、測定した対象の中には、特に痴呆を示した例では髄液 CRF が低値をとる場合もあり、その平均も対照群に比べやや低値であった事は CRF の向神経作用という点で興味を持たれ今後、痴呆を呈する神経変性疾患の髄液 CRF について症例を重ねて再検討が必要であると思われた。

本教室では以前に SCD において TRH 負荷、metoclopramide 負荷による TSH, および prolactin の反応異常をみとめ視床下部、下垂体系の障害を示唆される症例があることを報告した¹¹⁾が CRF は視床下部に高濃度に存在している事を考えあわせると今回、SCD 群で髄液 CRF 濃度の何らかの異常も予想された。しかし、今回の髄液 CRF の検討では SCD 群と対照群で有意差は認められずまた、SCD の病型、臨床症状と CRF の間に一定の傾向も見られなかった。しかし、今回測定した SCD の中に視床下部、下垂体系の異常を伴ったと考えられた症例は1例と少なくこの点に関しても今後、症例を増して検討を加える必要があると考えられた。さらに髄液 CRF の由来を明らかにするため髄液 CRF の濃度勾配、加齢的变化についても考慮して髄液 CRF の意義について検討を進めたい。

結 語

1. 種々の神経疾患について髄液 CRF-LI の測定をした。その mean±SD は20.1±8.9pg/ml であった。また、痴呆を呈した症例の髄液 CRF-LI はやや低値をとる傾向が見られ、今後、症例を追加して再検討が必要と思われた。

2. SCD 群では対照群と比較して髄液 CRF-LI は推計学的有意差はみられなかった。また、SCD の病型、及び臨床症状と CRF-LI に相関を示す傾向もみられなかった。

文 献

- 1) Olschowka, J.A., et al.: Hypothalamic and extrahypothalamic distribution of CRF-like immunoreactive neurons in the rat brain. *Neuroendocrinology* 35 305~308 (1982)
- 2) Merchenthaler, I., et al.: Immunocytochemical localization of corticotropin releasing factor (CRF)-like immunoreactivity in the thalamus of the rat. *Brain Research* 323 119~122 (1984)
- 3) Joseph, S.A., et al.: Corticotropin releasing factor: Immunocytochemical localization in rat brain. *Neuroscience Letters* 35 135~141 (1983)
- 4) Sutton, R.E., et al.: Corticotropin releasing factor produces behavioural activation in rats. *Nature* 297 331~333 (1982)

- 5) **Britton, D.R., et al.**: Intraventricular corticotropin-releasing factor enhances behavioral effect of novelty. *Life Sciences* 31 363~367 (1982)
- 6) **Davies, P., et al.**: Reduced somatostatin-like immunoreactivity in cerebral cortex from cases of Alzheimer disease and Alzheimer senile dementia. *Nature* 228 279~280 (1980)
- 7) **Ferrier, I.N., et al.**: Neuropeptides in Alzheimer type dementia. *J Neurol Sci* 62 159~170 (1983)
- 8) **Soininen, H.S., et al.**: Reduced cholinesterase activity and somatostatin-like immunoreactivity in the cerebrospinal fluid of patients with dementia of the Alzheimer type. *J Neurol Sci* 63 167~172 (1984)
- 9) **Beal, M.F., et al.**: CSF somatostatin-like immunoreactivity in dementia. *Neurology* 36 294~297 (1986)
- 10) 鬼頭昭三・ほか: 脊髄小脳変性疾患患者に対する TRH 静注負荷後の血清 TSH, prolactin 分泌について, 厚生省特定疾患脊髄小脳変性調査研究班, 昭和52年度研究業績集, 123~126 (1977)
- 11) 丸山勝一・岡山健次: 脊髄小脳変性症における TRH 負荷. 厚生省新薬開発研究脊髄小脳変性症治療剤開発研究班, 昭和54年度研究業績集, 229~232 (1979)
- 12) **Vale, W., et al.**: Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotripin and β -endorphin. *Science* 213 1394~1397 (1981)
- 13) **Nemeroff, C.B., et al.**: Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science* 226 1342~1344 (1984)
- 14) **Conte-Devolx, B., et al.**: Corticoliberin, somatocrinin and amine contents in normal and parkinsonian human hypothalamus. *Neuroscience letters* 56 217~222 (1985)
- 15) **Bissette, G., et al.**: Corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in senile dementia of the Alzheimer type. *JAMA* 254 3067~3069 (1985)
- 16) **Hotta, M., et al.**: The responses of plasma adrenocorticotropin and cortisol to corticotropin-releasing hormone (CRF) and cerebrospinal fluid immunoreactive CRF in anorexia nervosa patients. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 62 319 (1986)