

厚生科学研究費補助金脳科学研究事業

**精神・神経・筋疾患に対する  
画期的な治療法に関する研究**

平成12年度 総括・分担研究報告書

平成13年（2001年）3月

主任研究者 田 中 惠 子

## 目 次

I. 総括研究報告書	
精神・神経・筋疾患に対する画期的な治療法に関する研究	
田中 恵子	1
II. 分担研究報告書	
精神・神経・筋疾患に対する画期的な治療法に関する研究	
田中 正美	7
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	11
IV. 研究成果の刊行物・別刷	14

厚生科学研究費補助金 (脳科学研究事業)  
総括研究報告書

精神・神経・筋疾患に対する画期的な治療法に関する研究

主任研究者 田中恵子 新潟大学脳研究所助教授

研究要旨

傍腫瘍性神経症候群では癌と神経症候および抗体の種類との間に一定の傾向があり、神経症候と抗体出現が癌の発見に先立つことが多いことから、抗体は癌早期発見のマーカーとなる一方、本症の診断にも有力な情報を与える。本症に特異的な抗体を検出することで腫瘍および神経傷害の早期治療を行うために、これまで特異的診断が可能であった抗Yo抗体陽性亜急性小脳変性症、抗Hu抗体陽性感覚性ニューロパチー/辺縁系脳炎に加えて、同様の小脳失調を生じる一群の抗原となるRi蛋白、Ma蛋白のリコンビナント蛋白を作製して診断範囲を広げることができた。

一方、本症の神経傷害は進行性・難治性であり、腫瘍の治療と並行して神経傷害に対する治療が必要である。本症の神経傷害は我々のこれまでの研究により細胞傷害性T細胞(CTL)が関与する機序が考えられる。この場合、標的として認識される抗原ペプチドを明らかにすることは、ペプチドワクチン療法への道を開くものであり、疾患特異的な治療を可能にする。本研究では本症患者のHLAを解析し、HLAに結合しうる候補ペプチドをreverse immunogenetics法によりスクリーニングし、候補ペプチドで患者リンパ球を刺激して自己細胞への傷害活性を調べることにより、候補ペプチドの免疫原性を解析した。その結果、HLA A\*2402に提示されうるペプチドがB27 supertypeにも共通に存在して標的となること、これまで共通のHLAがないとされていたHu抗体陽性例でもB7 supertypeのなかで共有するペプチドに反応するCTL活性を見出した。今後これらのペプチドの神経傷害への関与について動物モデルを用いての解析を行い、ペプチドワクチン療法開発に向け、治療に用いるアナログペプチドの同定、神経組織への効率よい到達法の開発など、基礎的研究を行う。

分担研究者 田中 正美  
国立療養所西新潟中央病院  
神経内科 医長

が癌の発見に先立つことが多く、また癌と神経症候および抗体の種類との間に一定の傾向があることから、抗体は癌早期発見のマーカーとして極めて優れている。各病型に特異的な抗体を検出することにより一定の癌に焦点を絞って検索ができるため、結果として癌の早期発見、治療が可能となる。特異的な抗神経抗体の診断のため、申

A. 研究目的

傍腫瘍性神経症候群とは、担癌患者に特徴的な神経症候と特異的な抗神経抗体が認められる一群である。神経症候と抗体出現

請者はこれまで頻度の高い一部の病型に対応するリコンビナント蛋白抗原を作成し、抗体診断を行ってきたが、本研究ではさらに他の病型を診断するため、それぞれに特異的なリコンビナント抗原蛋白を作成し、より多くの病型を含めた特異的診断システムを確立する。

一方、本症の神経傷害は進行性・難治性であり、腫瘍の治療と並行して神経傷害に対する治療が必要である。この場合の神経障害は我々のこれまでの研究により細胞傷害性T細胞(CTL)が関与する機序が考えられる。神経細胞内の抗原蛋白はペプチドとしてMHC分子上に呈示され、T細胞受容体(TCR)に認識される。ペプチドワクチン療法は病因と深く関連するペプチドをワクチンとして用いることで、疾患特異的な治療法としての期待が高い。CTLが病因に関わる動物モデルでは、MHC分子上に呈示され、TCRが結合するペプチドのアミノ酸を置換することで発症を抑制できるが、実際の患者では抗原エピトープが不明であることが多い。本研究では本症患者のHLAを解析し、HLAに結合しうる候補ペプチドをreverse immunogenetics法によりスクリーニングし、その発症への関与を動物モデルでの再現で確認した上でアミノ酸を置換したアナログペプチドでの発症抑制を試みる。

## B. 研究方法

従来からの免疫組織化学、ウェスタンブロット、リコンビナント蛋白を用いた抗Yo/Hu抗体の特異的診断を継続するとともに、あらたにRi抗原およびMa抗原について、報告された塩基配列からcDNA断片をプラスミドベクターに組み込んで大腸菌にトランスフォーム後、リコンビナント蛋白を作成し、抗体認識部位を含む抗原を精製

する。この抗原を用いた抗体検査用ELISA系を確立する。

ペプチドワクチン療法に向けての病因ペプチド同定については、本症患者のHLAをNIH lymphocyte microcytotoxicity法で解析し、各病型に共通のHLA型を明らかにする。これらのHLA class I分子上に提示されうるペプチドをYoおよびHu抗原のアミノ酸配列から求め、複数のペプチドを合成して、本症患者リンパ球をそれぞれのペプチドで刺激し、同一のclass I分子を発現する本人の線維芽細胞を同ペプチドでパルスした後、感作リンパ球の標的になりうるかを<sup>51</sup>Cr放出試験により確認し、CTLを誘導する候補ペプチドを同定する。

## (倫理面への配慮)

本研究を遂行するに当たってはインフォームドコンセントのもとでおこない、個人のプライバシーの保護には万全を期す。また、動物実験を行う際には、当該施設における動物実験倫理規定に基づいて許可を得て施行するものとする。

## C. 研究結果

これまでYoおよびHu抗原のリコンビナント蛋白を作成して診断に寄与してきたが、本研究でYo/Huに次いで頻度が高いと考えられるRiおよびMa抗原のリコンビナント蛋白を新たに作成した。これにより全国諸施設から診断のために寄せられる検体について、より多くの病型で特異的抗体診断が可能になり、背景癌の的確な早期診断および治療に寄与することとなった。

一方、本症の神経傷害の早期病巣形成にはCTLの関与が考えられる。抗原特異的な治療法を開発するために、本研究ではペプチドレベルでの特異的抗原分子の同定および当該ペプチドの病因関与への検討を行

うために、免疫原性が高いと考えられるペプチドに対するCTLクローンを樹立し動物モデル作成に向けての準備を行った。これまで抗Yoおよび抗Hu抗体陽性患者のHLAにもとづき、A24分子上に提示されるペプチドの一部を明らかにし、患者末梢血リンパ球がこれらのペプチドと反応して細胞傷害性T細胞活性が誘導されることを明らかにしている。本研究では、さらに多数のペプチドについて病因候補ペプチドとしての可能性をスクリーニングした。この結果、Yo抗体陽性例ではA\*2402のみではなくB27 supertypeを有する例でも共通のペプチドに反応すること、これまで共通のHLAが見出されていなかったHu抗体陽性例にも共通のペプチドモチーフを有するHLA supertypeが存在し、共通に反応する候補ペプチドがあることが明らかになった。次いでペプチドモチーフが同一のマウスにCTL活性の高いペプチドで刺激した樹状細胞を移植し、マウスのリンパ球を採取し、細胞傷害能を有するT細胞クローンの樹立を行っている。

#### D. 考察

PCDで見出される抗体としては、抗Hu、抗Yo、抗Ri、抗Tr、抗Ma、抗CV2、抗glutamate receptorが知られている。これらの中で前2者にCTLが存在することを、私たちは証明したが、すべての傍腫瘍性神経症候群でCTLが関与しているわけではない。抗体による細胞機能障害機序が、抗glutamate receptorで唯一証明されている。Hodgkin病と小脳失調を呈した2例のオランダ人患者で見出されたmetabotropic glutamate receptor mGluR1と反応する抗体で、脳内へ患者IgGを投与されたマウスは2時間後には失調のため起き上がれなくなるが、22時間後には棒の上を歩けるように回復する。

病理学的には小脳Purkinje細胞の変化はないので、細胞の変性によるものではなく、細胞表面に露出しているfunctional moleculeに対する抗体の影響によるものと考えられている。受容体の機能を傷害するために症状がおきるせいか、早期にプラスマフェレーシスやステロイドを投与することで抗体価を下げることで2例中1例で完全治療が報告されている。

傍腫瘍性辺縁系脳炎で認められる抗体としては、抗Hu、抗CV2、抗Ma抗体が知られており、他に主にHodgkin病や卵巣癌を背景として10歳代の少女で出現する若年型が知られているが特別な抗体はまだ見出されていない。これらの中で、抗Hu抗体症候群が最も頻度が高い。

抗Hu抗体症候群では抗体が中枢神経内で産生されており、神経組織に抗体が沈着していることが示されている。*in vitro*で抗体による細胞傷害性が示されたが、後に他の研究者により否定された。抗Yo抗体の場合と同じように、抗体による受動免疫やリコンビナント蛋白による能動免疫によっても、動物モデルは作製されていない。組織にCD8陽性T細胞が浸潤しており、私たちの日本人例を対象としたHLAの解析でB7 supertypeが多いことが解ったので、まずリコンビナントHu蛋白をmicroinjectorで挿入した自己線維芽細胞を標的細胞としてCTL活性を証明した。抗Yo抗体の場合と同じ方法でB7 supertypeに結合しうるペプチドモチーフを有するアミノ酸配列をHu蛋白から求め、このペプチドを標的としたCTL活性を今回証明した。抗Yo抗体の場合と同じように、今後これらのペプチドの神経傷害への関与について動物モデルを用いての解析を行い、本症発症機序の解析を目指し、さらに*in vitro*でこのT細胞の反応性を抑制しうるアナログペプチドをスクリーニング

してペプチドワクチン療法開発に向けての基礎的研究を行う。

#### E. 結論

傍腫瘍性神経症候群に特異的な抗体を検出することで腫瘍および神経傷害の早期治療を行うために、これまで特異的診断が可能であった抗Yo抗体陽性亜急性小脳変性症、抗Hu抗体陽性感覚性ニューロパチー/辺縁系脳炎に加えて、同様の小脳失調を生じる一群の抗原となるRi蛋白、Ma蛋白のリコンビナント蛋白を作製して診断範囲を広げることができた。

一方、本症の神経傷害は我々のこれまでの研究により細胞傷害性T細胞 (CTL) が関与する機序が考えられることから、標的として認識される抗原ペプチドを明らかにすることは、ペプチドワクチン療法への道を開くものと考えられ、疾患特異的な治療を可能にするものである。本研究では本症患者のHLAを解析し、HLAに結合しうる候補ペプチドをスクリーニングし、候補ペプチドで患者リンパ球を刺激して自己細胞への傷害活性を調べることにより、候補ペプチドの免疫原性を解析した。その結果、HLA A\*2402に提示されうるペプチドがB27 supertypeにも共通に存在して標的となること、これまで共通のHLAがないとされていたHu抗体陽性例でもB7 supertypeのなかで共有するペプチドに反応するCTL活性を見出した。今後これらのペプチドの神経組織における標的としての可能性について動物モデルを作成して検討を行うとともに、T細胞の反応性を抑制しうるアナログペプチドを明らかにして、治療法開発への検討を行う。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 黒沼幸治, 西山 薫, 村上聖司, 田中宣之, 高橋 守, 小島 弘, 藤嶋卓哉, 田中裕士, 高橋弘毅, 小場弘之, 田中恵子, 阿部庄作: 抗Hu抗体陽性 paraneoplastic neurologic syndrome (PNS) を合併した肺小細胞癌の1例 日本呼吸器学会雑誌 38 (2) : 148-152, 2000
2. Tanaka M, Tanaka K, Miyamoto N, Kamakura K.: A peptide with the binding motif for the HLA B7 supertype reacts with CD8 -positive cytotoxic T cells in anti-Hu syndrome. Biomed Res 21(1) 25-29, 2000
3. Tani T, Piao YS, Mori S, Ishihara N, Tanaka K, Wakabayashi K, Takahashi H.: Chorea resulting from paraneoplastic striatal encephalitis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 69:512-515, 2000
4. Tanaka M, Tanaka K: What is the role of activated Th1 cells in the cerebrospinal fluid on patients with paraneoplastic cerebellar degeneration. Ann Neurol 48 (2):271,2000
5. Sugawara M, Kato K, Komatsu M, Wada C, Kawamura K, Shindo S, Yoshioka N, Tanaka K, Watanabe S, Toyoshima I: A novel de novo mutation in the desmin gene causes desmin myopathy with toxic aggregates. Neurology 55; 986-990, 2000

6. 中野亮一, 田中恵子: 腫瘍随伴性小脳変性症” 神経症候群—その他の神経疾患を含めて—IV 日本臨床 領域別症候群シリーズNo.29 337-340, 2000

7. 田中恵子, 田中正美: 抗Yo抗体陽性傍腫瘍性小脳変性症と細胞傷害性T細胞 ゲノム時代の脳神経医学 ” 分子遺伝学” Molecular Medicine 37; 85-89, 2000

8. 田中正美, 田中恵子: 傍腫瘍性神経症候群の診断基準・病型分類・重症度 内科 85:1592-1594 2000 (6月増大号) 特集: 内科疾患の診断基準・病型分類・重症度 IX. 神経・筋 Nerve・Muscle

9. 田中正美, 田中恵子: 傍腫瘍性神経症候群の最近の話題: 傍腫瘍性神経症候群における細胞傷害性T細胞の同定. 神経内科 53:199-206 2000

10. 田中恵子, 田中正美: 傍腫瘍性神経症候群の最近の話題: 抗体からみた傍腫瘍性神経症候群. 神経内科 53:191-198, 2000

11. 田中正美, 田中恵子: 免疫症候群—その他の免疫疾患を含めて— (上巻): 傍腫瘍性神経症候群 (Paraneoplastic cerebellar degeneration) 日本臨床 領域別症候群シリーズNo.31 65-67, 2000

12. 田中正美, 田中恵子: 免疫症候群—その他の免疫疾患を含めて— (上巻): 傍腫瘍性脳脊髄炎/ 感覚性ニューロパチー (Paraneoplastic encephalomyelitis /sensory neuronopathy) 日本臨床 領域別症候群シリーズNo.31 68-71, 2000

13. 田中正美, 田中恵子, 辻省次, 滝口雅文: 抗Yoおよび抗Hu抗体陽性傍腫瘍性神経症候群における細胞傷害性T細胞 神経免疫学 8: 175-179, 2000.

## 2. 学会発表

1. 田中恵子, 田中正美, 辻 省次: 抗Yoあるいは抗Hu抗体陽性傍腫瘍性神経症候における細胞傷害性T細胞活性と候補ペプチドの同定「免疫性神経疾患に関する調査研究班」(納 班)平成11年度 班会議 2000.2.2  
 および第12回日本神経免疫学会 2000.2.3.

2. 田中恵子, 河内 泉, 田中正美, 辻 省次: Pyruvate kinase M1/M2 peptideはHLA A\*2402ヒト多発筋炎の原因となる候補ペプチドである 「免疫性神経疾患に関する調査研究班」(納 班)平成11年度 班会議 2000.2.2

3. 田中恵子, 田中正美, 登木口 進, 川田明広, 辻 省次: 抗Yo抗体陽性 Paraneoplastic cerebellar degeneration (PCD) における臨床像の多様性第12回日本神経免疫学会 2000.2.3.

4. 河内 泉, 田中恵子, 田中正美, 辻 省次: Pyruvate kinase M1/M2 peptide呈示樹状細胞移植による実験的自己免疫性筋炎作成の試み 第12回日本神経免疫学会 2000.2.3.

5. 河内 泉, 田中正美, 辻 省次, 田中恵子: ELISPOT法を使ったヒト多発筋炎特異的T細胞エピトープ同定の試み 「免疫性神経疾患に関する調査研究班」(納 班)平成12年度 班会議 2001.1.30

6. 田中正美, 望月仁志, 鎌倉恵子, 杉江美穂, 丸山佳重, 田中恵子: 抗Hu抗体陽性傍腫瘍性神経症候群での細胞傷害性T細胞 「免疫性神経疾患に関する調査研究班」(納 班)平成12年度 班会議 2001.1.30

7. 河内 泉、田中正美、辻 省次、田中恵子：ヒト筋炎標的臓器におけるV $\alpha$ 24+NKT細胞の解析

第13回日本神経免疫学会 2001.2.1

8. 田中正美、望月仁志、鎌倉恵子、杉江美穂、丸山佳重、田中恵子：抗Hu抗体陽性傍腫瘍性神経症候群での細胞傷害性T細胞（第二報）

第13回日本神経免疫学会 2001.2.2

9. 新井亜希、田中恵子、小林 央、池内健、辻 省次：Rimmed vacuole型遠位型ミオパチーの候補遺伝子解析

第41回日本神経学会総会 2000.5

10. 田中恵子、河内泉、辻省次、田中正美：抗Yo抗体陽性傍腫瘍性小脳変性症モデルマウス作成に向けての細胞傷害性T細胞誘導法の検討

第41回日本神経学会総会 2000.5

11. 新保淳輔, 小野寺 理, 原 賢樹, 田中 恵子、辻 省次：PranlukustはChurg-Strauss Syndrome (CSS)の誘因となるか

第41回日本神経学会総会 2000.5

12. 河内 泉、田中恵子、辻 省次、田中正美：ヒト筋炎標的臓器におけるV $\alpha$ 24+NKT細胞の性状と分布についての検討

第30回日本免疫学会総会 2000.11

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし



厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）  
分担研究報告書

精神・神経・筋疾患に対する画期的な治療法に関する研究

分担研究者 田中正美 国立療養所西新潟中央病院神経内科

研究要旨 二種類の傍腫瘍性神経症候群において、私たちがおこなった日本人患者でのHLA解析をもとに、対応抗原のアミノ酸配列からHLAに結合するペプチドモチーフを有するペプチドを合成し、これに対するHLA class I拘束性細胞傷害性T細胞活性を証明した。

A. 研究目的

傍腫瘍性神経症候群ではさまざまな抗体が末梢血や脊髄液中で証明される(Neurology. 46(6):1777-1778, 1996; Neurology. 47:606-607, 1996)。しかし、受動免疫や対応抗原のリコンビナント蛋白を用いた能動免疫によって高い抗体価が得られても動物モデルの作製には成功しておらず(Clin.Neurol. Neurosurg. 97:95-100, 1995)、抗体が神経細胞を傷害するという確かな証拠はin vitroでもない。発症間もない抗Yo抗体陽性小脳変性症(PCD)患者では、小脳にCD8陽性細胞が浸潤していることが示されている。

われわれはPCDのHLAを解析し、全例でHLA A24を見い出し(Neurology 47:606-607, 1996)、reverse immunogeneticsにより、世界で初めて抗Yo抗体陽性PCD患者末梢血の細胞傷害性T細胞(CTL)が認識するペプチドを同定した(J. Neuroimmunol, 90: 102, 1998; J. Neurol. Sci. 168:28-31, 1999)。また、抗Hu

抗体陽性症候群でも組織にCD8陽性細胞が浸潤しており、われわれはHLA B7 supertypeが重要であることを示した(Neurology, 52:431, 1999)。リコンビナントHu蛋白をmicroinjectorで挿入した自己線維芽細胞を標的としたCTL活性が末梢血中に存在していることを証明した(J. Neurol. Sci. 163:159-162, 1999)。PCDと同様の方法により、1例の患者でCTLが認識するペプチドを既に見出している(Biomed. Res. 21: 25-29, 2000)。また、脳脊髄液中でTH1型ヘルパーT細胞の活性化が示されているが、病変形成への関与の可能性として、1). 細胞傷害性T細胞の誘導、2). 抗体産生のヘルプ、3). HLA class I分子の発現誘導が挙げられることを示した(Ann Neurol., 48:271, 2000; Ann. Neurol., in press)。

本研究では二種類の傍腫瘍性神経症候群で、CTLが認識するペプチドを同定することを目的とする。抗Yo抗体陽性PCDでは、HLA A\*2402の遺伝子を組み込んだトラン

スフェクタントを用いて、我が国で初めて見出された、A24を持たずA2を有する抗Yo抗体陽性PCDも対象に加えてCTL活性を検討した。また、抗Hu抗体陽性症候群では、より多くのB7 supertype結合モチーフを有するペプチドに対する反応性を3例で検討し、さらにHLA B7 supertypeを有しているが神経症状のない肺小細胞癌3例についても、Hu蛋白由来ペプチドに対するCTL活性を検討した。

## B. 研究方法

HLA A24を有する抗Yo抗体陽性PCD3例、A2を有する抗Yo抗体陽性PCD患者1例、HLA B7 supertypeを有する抗Hu抗体陽性症候群3例、B7 supertypeを有し抗Hu抗体陰性で神経症状のない肺小細胞癌患者3例を対象とした。抗Yo抗体は免疫組織学的方法、ウエスタンブロット法およびELISAで、抗Hu抗体は前2者で証明した。

CTL活性は抗Yo抗体陽性PCDではHLA A\*2402の遺伝子を組み込んだトランスフェクタントを標的とし、抗Hu抗体陽性症候群では自己線維芽細胞を標的とした<sup>51</sup>Cr放出試験で施行した。細胞は末梢血単核球を各種抗原ペプチドで培養し、24時間後にIL-2を添加して5日間培養した。CTL活性測定時に、Magnetic Cell Sorting (MACS) systemで2回処理をしてほぼ純粋なCD8陽性細胞を効果細胞とした。CTL活性は<sup>51</sup>Cr放出試験により、4時間培養後に上清に遊離されてくる<sup>51</sup>Crをγカウンターで測定した。

抗原となるペプチドは、抗Yo抗体陽性PCDでは"AYRARALEL"を合成し、抗Hu抗体陽性患者にはHu蛋白からHLA B7 supertypeのモチーフを有する5種類のペプチドを合成した。標的細胞はそれぞれの疾患で、HLA A\*2402遺伝子を挿入したトランスフェクタント(C1R\*2402)、あるいは自

己線維芽細胞を用いた。

## C. 研究結果

抗Yo抗体陽性PCD3例中2例でペプチド"AYRARALEL"に対するCTL活性が認められた。HLA A2陽性患者でも同じペプチドに対して同様にCTL活性が認められた。5例のHLA A24と2例のA2陽性のその他の神経疾患ではCTL活性は認められなかった。

抗Hu抗体陽性症候群3例で5種類のHu蛋白由来ペプチドに対するCTL活性が認められた。一定のパターンは認められなかった。また、B7 supertypeを有し抗Hu抗体陰性で神経症状のない肺小細胞癌患者3例では、CTLは認められなかった。

これら二種類の疾患で認められたCTL活性は、抗HLA class I抗体で消失した。

## D. 考察

患者から精製した抗Yo抗体陽性IgGを動物の脳内へ投与すると、小脳Purkinje細胞に取り込まれるが細胞は変性脱落しない。実験的アレルギー性脳脊髄炎(EAE)のように、SJLに免疫して得られたリンパ節細胞を*in vitro*でリコンビナントYo蛋白で刺激した後に静脈あるいは脳内へ投与しても何も起きなかった。SCIDマウスへ患者末梢血単核球や脊髄液細胞を投与しても変化は起きなかった。ラットにadoptive transferによるEAEを起こして血液脳関門を破壊しておいて、精製した抗Yo IgGを腹腔投与しても細胞変性は起きなかった。SJLマウスにリコンビナントYo蛋白で免疫し抗体が産生されていることを確認後、妊娠させて長期間、血液脳関門の未熟な胎児に抗体を暴露させても発症しなかった。リコンビナントYo蛋白をアジュバントと共に免疫すると、高力価の抗体が産生されるが神経細胞に変化はなく、発症しなかった。核蛋白や細胞質蛋

白と抗体が結合する可能性も条件によってはあり得ることが示されているが、本症候群では証明されてはいない。抗体が中枢神経内で産生されていることが示唆されているが、抗体により神経細胞が障害を受けるという確かな証拠は未だにない。Yo蛋白は細胞質内にあり、細胞表面には出てはいないため、抗体が抗原に巡り合える機会は少ない。

私たちは、抗Yo抗体陽性PCD日本人患者9例のHLAを解析し、全例でA24を持っていることを見出した。A24は日本人には多いが、それにしても全例有していたことは驚きであった。そこで、HLA class I拘束性免疫応答を解析する必要を感じ、自己線維芽細胞を標的としたCTL活性を測定する系を樹立し、Yo蛋白由来ペプチドに対するCTL活性を患者で証明し、1997年第27回日本免疫学会で報告した。この直後に、事故で亡くなった発症後間もない患者の小脳にCD8陽性T細胞が浸潤していることが証明された。この時に用いた方法はreverse immunogeneticsと言ひ、元来はワクチン製造のために住民のHLA class Iポピュレーションに最も効果的なペプチドカクテルを選択するために考案された方法である。HLA class IIに結合しているペプチドをはがして解析すると、特定の部位に特定のアミノ酸が多く認められる(peptide motifs)ことが解ったので、逆にCTLが認識する特定のHLA class IIに結合しうる候補ペプチドを類推できるようになった。その後、米国人でも同じ方法により、HLA A2.1に結合するペプチドに反応するCTL活性が証明された。本症患者で認められるCTLは単純ではなく、短期培養後ではあるがCD4陽性細胞でもCTL活性が認められているし、CD8陽性細胞の場合でも反応するペプチドは単一ではない。今回の方法は自己線維芽細胞をあ

らかじめ培養しておく必要がないので、短時間で結果が判明する利点がある。今後は、この方法を用いて、より多数例の解析をおこなってゆきたい。ただ、CTLが神経細胞障害を起こしている証拠はまだないので、この点についても研究する必要がある。本症ではマクロファージが活性化していることを私たちは見出しており、免疫組織を構成する他の細胞の役割についても研究する必要があるだろう。

## E. 結論

二種類の傍腫瘍性神経症候群、抗Yo抗体陽性傍腫瘍性小脳変性症および抗Hu抗体陽性症候群患者末梢血において、それぞれの抗体が対応する抗原のアミノ酸配列のうち、特定のHLA class Iに結合するpeptide motifsを有するペプチド刺激で誘導される、HLA class I拘束性CD8陽性細胞傷害性T細胞活性が証明された。このことは、急性期の組織に浸潤しているリンパ球がCD8陽性細胞であることを考えると、神経細胞変性消失機序に深く関与していることが示唆される。また、疾患を診断する上で、抗体とともに細胞傷害性T細胞活性の測定が必要となると思われる。

## F. 健康危険情報

特に、人体や環境に及ぼす危険性はない。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Masami Tanaka, Keiko Tanaka, Norikazu Miyamoto and Keiko Kamakura: A peptide with the binding motif for the HLA B7 supertype reacts with CD8 positive cytotoxic T cells in anti-Hu

syndrome. Biomed. Res. 21(1): 25-29, 2000.

2) Masami Tanaka, Keiko Tanaka: What is the role of activated Th1 cells in the cerebrospinal fluid of patients with paraneoplastic cerebellar degeneration? Ann Neurol 48(2) 271, 2000.

3) 田中恵子、田中正美: 抗Yo抗体陽性傍腫瘍性小脳変性症と細胞傷害性T細胞. Molecular Medicine(臨時増刊号 ゲノム時代の脳神経医学), 85-89, 2000.

4) 田中正美、田中恵子: 傍腫瘍症候群の診断基準・病型分類・重症度。内科, 85(6): 1592-1594, 2000.

5) 田中正美、田中恵子、辻省次、滝口雅文: 抗Yoおよび抗Hu抗体陽性傍腫瘍性神経症候群における細胞傷害性T細胞。神経免疫学, 8: 175-179, 2000.

6) 田中正美、田中恵子: 傍腫瘍性神経症候群における細胞傷害性T細胞の同定。神経内科, 53: 199-206, 2000.

7) 田中恵子、田中正美: 抗体からみた傍腫瘍性神経症候群。神経内科, 53: 191-198, 2000.

8) 田中正美、田中恵子: 傍腫瘍性小脳変性症  
日本臨床(免疫症候群- その他の免疫疾患を含めて- ), 65-67, 2000.

9) 田中正美、田中恵子: 傍腫瘍性脳脊髄炎/感覚性ニューロパチー. 日本臨床(免疫症候群- その他の免疫疾患を含めて- ), 68-72, 2000.

10) 斎藤正明、斎藤泰晴、遠藤耕太郎、田中正美: ステロイド治療に抵抗性でヒト免疫グロブリン静注(IVIg)治療の併用が奏効した多発性筋炎の1例。臨床神経, 40: 181-183, 2000

## 2. 学会発表

1) 田中正美、田中恵子、辻省次: HLA A24あるいはA2を有する抗Yo抗体陽性傍腫瘍性小脳変性症で細胞傷害性T細胞が認識するペプチド。第12回日本神経免疫学会。

2) 田中正美、田中恵子、辻省次: A24あるいはA2を有する抗Yo抗体陽性傍腫瘍性小脳変性症で細胞傷害性T細胞が認識するペプチド。第41回日本神経学会総会。

3) 田中恵子、田中正美、辻省次: 抗Yo抗体陽性傍腫瘍性小脳変性症モデルマウス作成へ向けての細胞傷害性T細胞誘導法の検討。第41回日本神経学会総会。

4) 河内 泉、田中恵子、田中正美、辻省次: Pyruvate kinase M1/M2 peptideはHLA A\*2402ヒト多発筋炎の原因となる候補ペプチドである。第41回日本神経学会総会。

5) 田中正美、原 賢寿、鈴木 隆、田中恵子、高橋 均: 心病変を伴い、原発性胆汁性肝硬変を合併し、きわめて緩徐なけいかを示した多発性筋炎の1例。第154回日本神経学会関東地方会。

6) 河内 泉、田中恵子、田中正美、辻省次: ヒト筋炎標的臓器におけるV $\alpha$ 4+NKT細胞の性状と分布についての検討。第30回日本免疫学会。

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得あるいは実用新案登録はない。

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
黒沼幸治, 西山 薫, 村上聖司, 田中宣之, 高橋 守, 小島 弘, 藤嶋卓哉, 田 中 裕士, 高橋弘毅, 小場 弘之, 田中恵子, 阿部 庄作	抗Hu 抗体陽性 paraneoplastic neurologic syndrome (PNS) を合併し た肺小細胞癌の1例	日本呼吸器学 会雑誌	38	148-152	2000
Tanaka M, <u>Tanaka K</u> , Miyamoto N, Kamakura K	A peptide with the binding motif for the HLA B7 supertype reacts with CD8-positive cytotoxic T cells in anti-Hu syndrome.	Biomed Res	21	25-29	2000
Tani T, Piao YS, Mori S, Ishihara N, <u>Tanaka K</u> , Wakabayashi K, Takahashi H	Chorea resulting from paraneoplastic striatal encephalitis	J Neurol Neurosurg Psychiatry	69	512-515	2000
Tanaka M, <u>Tanaka K</u>	What is the role of activated Th1 cells in the cerebrospinal fluid on patients with paraneoplastic cerebellar degeneration	Ann Neurol	48	271	2000
Sugawara M, Kato K, Komatsu M, Wada C, Kawamura K, Shindo S, Yoshioka N, <u>Tanaka K</u> , Watanabe S, Toyoshima I	A novel de novo mutation in the desmin gene causes desmin myopathy with toxic aggregates	Neurology	55	986-990	2000
中野亮一, 田中恵子	腫瘍随伴性小脳変性症”神経 症候群—その他の神経疾患を 含めて	日本臨床	29	337-340	2000
田中恵子, 田中正美	抗 Yo 抗体陽性傍腫瘍性小脳	Molecular	37	85-92	2000

	変性症と細胞傷害性 T 細胞	Medicine			
田中正美、田中恵子	傍腫瘍性神経症候群の診断基準・病型分類・重症度	内科	85	1592-1594	2000
田中正美、田中恵子	傍腫瘍性神経症候群の最近の話題：傍腫瘍性神経症候群における細胞傷害性 T 細胞の同定	神経内科	53	199-206	2000
田中恵子、田中正美	傍腫瘍性神経症候群の最近の話題：抗体からみた傍腫瘍性神経症候群	神経内科	53	191-198	2000
田中正美、田中恵子	免疫症候群—その他の免疫疾患を含めて—（上巻）：傍腫瘍性神経症候群（Paraneoplastic cerebellar degeneration）	日本臨床	31	65-67	2000
田中正美、田中恵子	免疫症候群—その他の免疫疾患を含めて—（上巻）：傍腫瘍性脳脊髄炎/感覚性ニューロパチー（Paraneoplastic encephalomyelitis/sensory neuronopathy）	日本臨床	31	68-71	2000
田中正美、田中恵子、辻省次、滝口雅文	抗 Yo および抗 Hu 抗体陽性傍腫瘍性神経症候群における細胞傷害性 T 細胞	神経免疫学	8	175-179	2000
Masami Tanaka, Keiko Tanaka, Norikazu Miyamoto and Keiko Kamakura	A peptide with the binding motif for the HLA B7 supertype reacts with CD8 positive cytotoxic T cells in anti-Hu syndrome	Biomed. Res	21	25-29	2000
Masami Tanaka, Keiko Tanaka	What is the role of activated Th1 cells in the cerebrospinal fluid of patients with paraneoplastic cerebellar degeneration?	Ann Neurol	48	271	2000
田中恵子、田中正美	抗 Yo 抗体陽性傍腫瘍性小脳	Molecular	37	85-89	2000

	変性症と細胞傷害性T細胞	Medicine(臨時増刊号 ゲノム時代の脳神経医学)			
田中正美、田中恵子	傍腫瘍症候群の診断基準・病型分類・重症度	内科	85	1592-1594	2000
田中正美、田中恵子、辻省次、滝口雅文	抗 Yo および抗 Hu 抗体陽性傍腫瘍性神経症候群における細胞傷害性T細胞	神経免疫学	8	175-179	2000
田中正美、田中恵子	傍腫瘍性神経症候群における細胞傷害性T細胞の同定	神経内科	53	199-206	2000
田中正美、田中恵子	抗体からみた傍腫瘍性神経症候群	神経内科	53	191-198	2000
田中正美、田中恵子	傍腫瘍性小脳変性症	日本臨床	31	65-67	2000
田中正美、田中恵子	傍腫瘍性脳脊髄炎/感覚性ニューロパチー	日本臨床	31	68-72	2000
斎藤正明、斎藤泰晴、遠藤耕太郎、田中正美	ステロイド治療に抵抗性でヒト免疫グロブリン静注(IVIG)治療の併用が奏効した多発性筋炎の1例	臨床神経	40	181-183	2000

20000460

以降のページは雑誌／図書等に掲載された論文となりますので  
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。