

る髄液中 OPN 濃度の平均値は 5421.5ng/ml で、サンプル間のばらつきはさほど多くはなかった。SP の MS 患者髄液中の OPN 濃度はコントロールと大きな差は認めなかった。しかしながら、RR の MS 患者髄液中の OPN 濃度は、OND と比較し著しく上昇していた。16049.9ng/ml ($p=0.0014$)

考察

今回、我々の検討した中枢神経における OPN の産生能は、多発性硬化症において、他の神経疾患に比べて亢進していることが、認められた。現在、OPN は、少なくとも 3 つのサブタイプが確認されており、また、OPN はトロンビン、その他によっていくつかのフラグメントに切断されるが、各サブタイプや、切断されたフラグメントが、それぞれ異なる生物活性を示すことが最近、報告されてきている。今後は、多発性硬化症の髄液中で産生が亢進している OPN の、サブタイプ、フラグメントごとの検討が重要と思われる。

結論

1) 増悪寛解型の MS 患者髄液中の OPN 産生は、他の神経疾患に比べて亢進していると考えられた。2) 増悪寛解型の MS 患者髄液中の OPN 産生は、2 次性進行型の MS 患者より亢進していると考えられた。

文献

- 1) Chabas D, et al. The influence of the proinflammatory cytokine, osteopontin, on autoimmune demyelinating disease. *Science* 2001 Nov 23; 294(5547):1731-5
- 2) Kon S, et al. Antibodies to different peptides in osteopontin reveal complexities in the various secreted forms. *J Cell Biochem.* 2000 Apr;77(3):487-98.

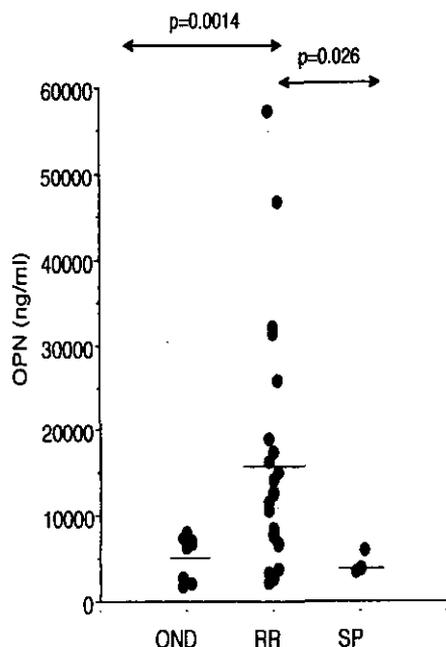
健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：出願準備中

実用新案登録：なし



多発性硬化症患者の髄液 Th1/Th2 バランスとタンパクプロフィール

班 員 糸山泰人¹⁾

共同研究者 藤原一男¹⁾、中島一郎¹⁾、成川孝一¹⁾、三須建郎¹⁾、藤盛寿一¹⁾、馮 娟¹⁾、
宮澤イザベル¹⁾、佐藤 滋²⁾、高瀬貞夫²⁾、藤ノ木政勝³⁾、山岡貞夫³⁾

研究要旨

視神経脊髄型多発性硬化症(OSMS)の通常型 MS(CMS)と異なる免疫病態の有無を検討するため、髄液血清中の可溶性(s)CD26, sCD30濃度を測定した。髄液sCD2はOSMS, CMSで上昇していた。血清sCD26, 髄液血清中の sCD30, sCD26/sCD30 比は両群とも対照群と差はなかった。したがって今回の結果からは OSMS, CMS ともに有意な Th1 反応が起こっていることが示唆された。また CMS の髄液タンパクを網羅的に解析し、疾患特異的のマーカ―を検索するためプロテインチップ解析を行った。その結果 CMS で炎症を反映してアルブミンやβ2-microglobulin が対照群より上昇していた他、両群で 11 種のタンパク量に差が見られた。今後はその同定や OSMS との比較を行う予定である。

研究目的

本邦の多発性硬化症(MS)の代表的な 2 つの病型である視神経脊髄型 MS(OSMS)と通常型 MS(CMS)の免疫病態の相違については詳細不明である。昨年我々は両病型における髄液のケモカイン、ケモカイン受容体、IgG サブクラスの解析からその相違点を報告した。本年は、以下の 2 つの検討を行った。1)CD26, CD30 分子はそれぞれ Th1 細胞、Th2 細胞に発現し、切断されて可溶性分子(sCD26, sCD30)となる。これらの可溶性分子は MS はじめ種々の免疫疾患で Th1/Th2 反応レベルの分析に用いられてきた。今回、両病型において髄液、血清中の sCD26, sCD30 濃度を比較した。2) MS の疾患特異的あるいは病勢を反映する新たな髄液マーカ―分子を探索する目的で、髄液中に存在する比較的分子量 (100kDa 以下) のタンパクをプロテインチップシステムにより解析した。

研究方法

1)対象は OSMS 13 例、CMS17 例及び対照群(非炎症性神経疾患)14 例である。これらの症例の髄-

液、血清(MS では急性増悪期に採取)を用いて、ELISA にて sCD26, sCD30 濃度を測定し、多群検定にて解析した。また臨床及び検査パラメーターと sCD26, sCD30 の相関を Spearman 検定にて解析した。

2)対象は急性増悪期の CMS 4 例及び対照群(心身症)4 例である。髄液タンパクの解析は、プロテインチップシステム(サイファージェン社製)を用いた。カラムクロマトグラフィー担体と同様の性質を有する 4 種類のチップ (陰イオン交換基、陽イオン交換基、逆相基、金属イオン固定基がそれぞれ固定化したもの) 上に髄液 3~5 μl を反応させ、髄液中のタンパクをそれぞれのチップの親和性を利用してチップ表面に捕捉した。陰イオン交換および陽イオン交換チップは各々アルカリ性、中性、酸性で洗浄し、逆相チップでは洗浄液であるアセトニトリル溶液の濃度を 3 種類用い、金属イオンチップは金属イオンに銅およびニッケルを用いた。マトリックス (エネルギー吸収) 分子は高分子と低分子タンパクの解析に各々 2 種類を用いた。以上の 22 種類の異なる条件でチップ表面上に捕捉されたタンパクを飛行時間型質量分析計であるプロテインチップリーダーで測定し、MS と対照群で発現に差のあるタンパクの分子量を専用ソフトウェアで解析した。

- 1)東北大学神経内科
2)広南病院神経内科
3)獨協医科大学生理

研究結果

1) 髄液 sCD26 は、OSMS (93.9±3.0ng/ml, mean ± standard error of the mean 及び CMS(96.1±3.6 ng/ml) では対照群(74.4±16.4 ng/ml)に比べて有意に高値を示した。OSMS と CMS の間に有意差はみられなかった。一方、血清 sCD26、髄液と血清の sCD30、髄液と血清の sCD26/sCD30 比(髄液は OSMS 6.6±0.5 in OSMS, CMS 7.3±1.4, 対照群 11.3±2.8。血清は OSMS 13.0±1.8, CMS 17.7±2., 対照群 14.8±2.7)は 3 群間で差はなかった。MS 群では髄液蛋白と髄液 sCD26 は有意な正の相関を示した。

2) CMS と対照群で発現に差を認めた主なタンパクは、①陰イオン交換チップにおける分子量約 40300Da、②陽イオン交換チップにおける約 12560Da、14550Da、33400Da、40300Da、66400Da、③銅イオン固定チップにおける約 7680Da、④ニッケル固定チップにおける約 3800Da、12560Da、⑤逆相チップにおける約 4180Da、11780Da、11980Da、12560Da のタンパクであった。

考察

過去に CMS では、ステロイドパルス療法による髄液 CD26+CD4 細胞サブセットの低下や、寛解時の髄液 sCD30 濃度の上昇など、CD26 及び CD30 分子と病勢との密接な関連が報告されている。今回 OSMS の髄液 sCD26 が CMS と同程度に上昇していたことから、OSMS では CMS に匹敵する Th1 反応が起こっていると推察された。また髄液 sCD26/sCD30 比は両群で差がなく、これらの結果からは両病型の中樞神経内 Th1/Th2 バランスには大きな相違がないことが示唆された。昨年度我々は OSMS では CMS に比べて髄液 CCR5+CD4+細胞サブセットが低く、髄液 IgG1 の上昇がみられないことから、OSMS では CMS に比べて Th1 反応の関与が少ない可能性を示唆しており、今後今回の結果との分子免疫学的関連を検討する必要がある。

CMS では髄腔内で炎症反応が起こっており、髄液中の主なタンパクのうちアルブミンとβ2 ミクログロブリンが対照群よりも増加していることが予想されたが、実際今回の解析では CMS においてアルブミンに相当する分子量約 66.4kDa およびβ2 ミクログロブリンに相当する分子量約 11.78 kDa 及び 11.98 kDa の高いピークが得られた。その他のピークの中にも MS の疾患マーカータンパクが存在している可能性があり、今後それぞれのタンパクの同定を行っていく予定である。髄液タンパクのプロテインチップによる解析はま

だ少ないのが実状であるが、今後より多数例の CMS での解析や OSMS との比較の大変興味深い点である。

結論

1) 視神経脊髄型多発性硬化症(OSMS)は通常型 MS(CMS)とともに髄液中 sCD26 濃度が上昇しており、両群における Th1 反応が示唆された。一方 Th2 反応を反映する sCD30 には差がみられなかった。

2) プロテインチップにより CMS と対照群の髄液を比較解析し、CMS においてアルブミンとβ2 ミクログロブリンの上昇が見られた他、11 種のタンパクの発現量に差が見られた。示唆された。

文献

- 1) Nakashima I, et al. Absence of IgG1 response in the cerebrospinal fluid of relapsing neuromyelitis optica. *Neurology* 62:144-146, 2004
- 2) Narikawa K, et al. CSF chemokine levels in relapsing neuromyelitis optica and multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* (in press)

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし
実用新案登録：なし

多発性硬化症の髄液中サイトカインの評価

分担研究者 田平 武¹⁾

共同研究者 原 英夫¹⁾、王 軍¹⁾、後藤理奈²⁾、延原康幸²⁾、齋藤峰輝²⁾
宇宿功市郎³⁾

研究要旨

多発性硬化症、CIDP、ギラン・バレー症候群、運動ニューロン疾患、脊髄小脳変性症の髄液中のサイトカイン (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-8, GM-CSF, TNF- α) の濃度を蛍光マイクロビーズアレイシステムを用いて測定した。多発性硬化症の患者髄液中では、TNF- α 、IFN- γ の Th1 cytokine の上昇と IL-6 (Th2 cytokine)の軽度上昇も認められた。多発性硬化症患者で、ステロイド治療に殆ど反応せず、失明に近い状態になった1例の髄液サンプルでは、他の MS 群と比較しても IL-1beta の著明な増加が認められた。

研究目的

多発性硬化症 (MS) は、中枢神経系の炎症性脱髄製疾患であり、その病態は多様である。中枢神経、特に髄液中のサイトカインは、病態を知る上で重要な意味を持つ。昨年に続き、多発性硬化症の髄液中のサイトカインの動態について、Suspension Array Technology (Luminex system) を用いて多因子解析を行った。

研究方法

対象は MS 患者 30 名、CIDP 21 名、ギラン・バレー症候群 25 名、運動ニューロン疾患 10 名、脊髄小脳変性症 22 名。

サイトカイン測定：髄液 50 μ l 中の IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-8, GM-CSF, TNF- α の濃度を蛍光マイクロビーズアレイシステムを用いて測定した。

研究結果

測定の結果、多発性硬化症の患者髄液中では、TNF- α が他の疾患に比べ有意に増加していた。IFN- γ は、多発性硬化症でも上昇していたが、CIDP、

ギラン・バレー症候群の髄液中でも増加傾向を示した。Th2 cytokine では、IL-6 が多発性硬化症で有意に増加していた。Optico-spinal type の MS 患者で、ステロイド治療に殆ど反応せず、失明に近い状態になった1名の患者の髄液サンプルでは、他の MS 群と比較しても IL-1beta の著明な増加が認められた。

結論

多発性硬化症は、heterogeneous な疾患であり、有機的に関連しあうサイトカインを個々に測定しても、全体像を把握することは困難である。Suspension Array Technology (Luminex system) は、多数の検体を少量でしかも 10 種類のサイトカインについて一度に短時間に測定できる特長があり、これまでの ELISA による測定と比べ効率的であり、さらに多くの情報が得られる。今回測定した多発性硬化症の患者髄液中では、TNF- α 、IFN- γ の Th1 cytokine の上昇と IL-6 (Th2 cytokine) の軽度上昇も認められた。また、ステ

1) 国立長寿医療研究センター

2) 鹿児島大・院・神経疾患老年病学講座

3) 鹿児島大・院・医療システム学講座

ロイド治療に反応せず、失明に近い状態になった1例の O-S type MS 患者髄液では、他の MS 群に比べ IL-1beta が著明に増加しており、1例の血清中では、IL-1beta と IFN- γ の増加が認められた。この様に、治療に抵抗性を示す患者の髄液・血清中のサイトカインを総合的に検索することにより、より有効な治療法の選択・実施が

可能になると考えられる。

健康危険情報

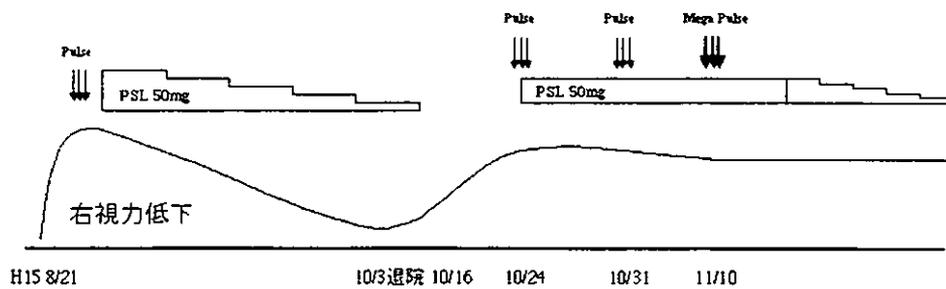
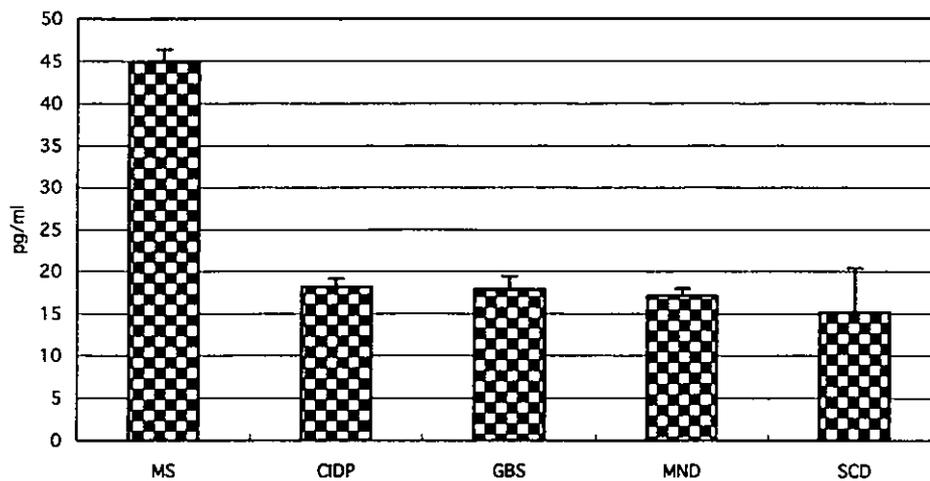
なし

知的財産権の出願・登録状況

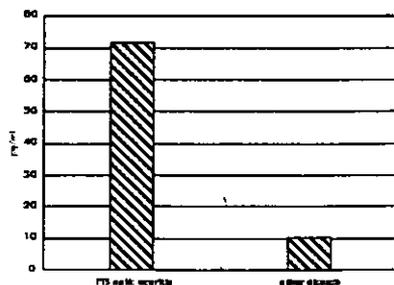
特許取得：なし

実用新案登録：なし

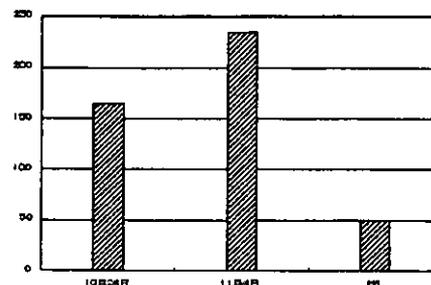
TNF-a



Serum IL-1 β (10.24)



CSF IL-1 β



日本人多発性硬化症の臨床病型ごとの髄液および髄液細胞内サイトカイン解析

分担研究者 吉良潤一

共同研究者 石津尚明、梅風君、小副川学、三野原元澄、村井弘之

研究要旨

視神経脊髄型 MS (OS-MS) と通常型 MS (C-MS) の免疫病態の違いを明らかにすることを目的とし、蛍光ビーズサスペンションアレイシステムを用いた髄液サイトカイン多項目同時測定、および髄液 CD4 陽性 T 細胞の細胞内サイトカイン産生能測定を実施した。髄液サイトカイン多項目測定の結果では、MS 群で再発期 Th1 サイトカインの上昇がみられたが、同時に Th2 サイトカインの中でも上昇しているものが存在した。さらに、OS-MS 群では C-MS 群に比し、IL-8、IL-17、MIP-1 β が高値を示し、OS-MS においては顆粒球系が活性化している可能性が示唆された。髄液細胞内サイトカイン産生能の結果では、OS-MS 群、C-MS 群ともに OND 群より IFN γ ⁺IL-4⁻細胞%が高かったことより Th1 シフトしていると考えられたが、intracellular IFN- γ /IL-4 ratio では C-MS が OS-MS より有意に高値であり、OS-MS と C-MS で Th1 シフトの程度が異なる可能性が考えられた。

研究目的

日本人の多発性硬化症 (MS) は、臨床症候から見た病巣が視神経と脊髄に限られる視神経脊髄型 MS (OS-MS) と、それ以外の中樞神経系にも多巣性に病巣を有する通常型 MS (C-MS) が混在しているが、その免疫病態の違いは依然として不明な点が多い。今回我々は、それぞれの臨床病型における免疫病態の違いを明らかにすることを目的とし、蛍光ビーズサスペンションアレイシステムを用いて髄液サイトカイン多項目同時測定を実施した。また、以前我々が行った髄液 CD4 陽性 T 細胞の細胞内サイトカイン産生能の結果とも併せ比較検討した。

研究方法

活動期の多発性硬化症 (MS) 患者 31 名 (男 4 名、女 27 名、年齢 42.5 \pm 16.5 歳)、脊髄小脳変性症 (SCD) 患者 14 名 (男 7 名、女 7 名、年齢 59.2 \pm 11.6 歳) を対象とした。MS 患者の内訳は、通常型 (C-MS) 16 名 (男 4 名、女 12 名、年齢 34.9 \pm 10.7 歳、髄液採取時 EDSS 4.3 \pm 0.4、罹病期間 7.1 \pm 7.7 年)、視神経脊髄型 (OS-MS) 15

名 (全例女性、年齢 50.5 \pm 18.1 歳、髄液採取時 EDSS 5.4 \pm 2.9、罹病期間 6.2 \pm 6.0 年) である。全例再発 1 ヶ月以内の活動期であり、急性増悪期のステロイドパルス療法後のものは除いた。臨床経過では、C-MS は 14 例が再発寛解型で 2 例が 2 次進行型、OS-MS は 14 例が再発寛解型で 1 例が 2 次進行型である。

髄液サイトカイン測定：蛍光ビーズサスペンションアレイシステム (Bio-Plex) を用いて、-80 $^{\circ}$ C 保存の髄液 50 μ l を使用し、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-13、IL-17、IFN- γ 、TNF- α 、G-CSF、MCP-1、MIP-1 β の 16 種のサイトカイン及びケモカイン濃度を同時測定した。統計学的検討には non-parametric Mann-Whitney U test を用いた。

研究結果

(1) MS 群と SCD 群での比較

MS 群では SCD 群に比し、IL-8 ($p < 0.0001$)、IL-10 ($p < 0.0001$)、IFN- γ ($p = 0.0026$)、TNF- α ($p < 0.001$)、IL-1 β ($p = 0.0053$)、IL-17 ($p < 0.001$)、MIP-1 β ($p = 0.0085$) が有意に高値を示した。

(2) C-MS 群と SCD 群での比較

C-MS 群では SCD 群に比し、IL-4 ($p = 0.026$)、IL-8 ($p < 0.0001$)、IL-10 ($p < 0.001$)、IFN- γ

($p=0.020$)、TNF- α ($p=0.0012$)、IL-17 ($p=0.0016$) が有意に高値を示した。

(3) OS-MS 群と SCD 群での比較

OS-MS 群では SCD 群に比し、IL-6 ($p=0.0229$)、IL-8 ($p<0.0001$)、IL-10 ($p<0.001$)、IFN- γ ($p=0.004$)、TNF- α ($p=0.0067$)、IL-1 β ($p=0.001$)、IL-17 ($p=0.0024$)、MIP-1 β ($p=0.0016$) が有意に高値を示した。

(4) OS-MS 群と C-MS 群での比較

OS-MS 群では C-MS 群に比し、IL-5 ($p=0.0227$) が有意に高値を示した。また、有意差はないものの、IL-8、IL-1 β では OS-MS 群に高い傾向を認めた (それぞれ $p=0.101, p=0.0684$)

考察

再発寛解型 MS は、再発期 Th1 優位の免疫病態であると考えられている。今回の我々の検討でも、MS の再発期において Th1 サイトカインの上昇がみられたが、同時に Th2 サイトカインの中でも上昇しているものが存在した。一方、以前我々が行った髄液細胞内サイトカイン産生能の結果でみると、OS-MS 群、C-MS 群ともに OND 群より IFN γ ⁺IL-4⁻細胞%が高かったが、intracellular IFN- γ /IL-4 ratio では C-MS が OS-MS より有意に高値であった (OS-MS で C-MS より IFN γ ⁻IL-4⁺細胞%が高いため)。以上より、OS-MS、C-MS ともに再発期 Th1 細胞の活性化と髄腔内への浸潤が起こっていると考えられるがそれに加えて、Th2 細胞の活性化も同時に生じており、その Th1/Th2 バランスは OS-MS と C-MS で異なる可能性が考えられた。欧米のグループによる NMO の病理報告によれば、病変部位において NMO 全例で免疫グロブリンや補体の沈着といった液性免疫の関与がみられ、加えて、NMO 9 例中 5 例 (56%) で好酸球、好中球の著しい集簇が確認されている。今回の我々の検討でも OS-MS 群では C-MS 群に比し、好中球の活性化と局所動員に關与する IL-8、IL-17、MIP-1 β といったサイトカインが高値を示し、OS-MS においては顆粒球系が活性化している可能性が考えられた。また一部の OS-MS では IL-5 が高

く、好酸球の動員に關与する可能性も示唆された。

結論

MS では再発期に Th1 のみならず Th2 サイトカインの中でも上昇しているものが存在し、その Th1/Th2 バランスは OS-MS と C-MS で異なる可能性が考えられた。また、OS-MS で好中球や好酸球の活性化・動員に關与するサイトカインの上昇を認め、顆粒球系の活性化が示唆された。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

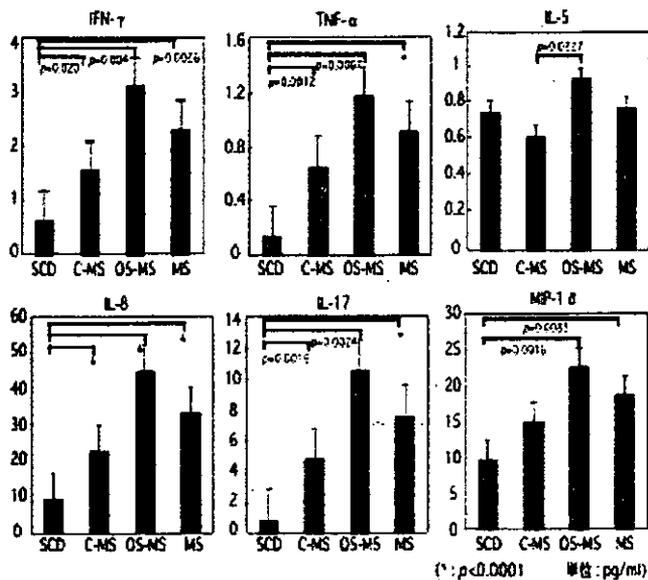


図 髄液サイトカイン (IFN- γ 、TNF- α 、IL-5、IL-8、IL-17、MIP-1 β)

多発性硬化症実験動物モデルにおける髄鞘塩基性蛋白の T細胞抗原性に関する研究

分担研究者 酒井宏一郎¹⁾

共同研究者 北川陽子¹⁾、齋木三鈴¹⁾、齋木臣二¹⁾、垣内無一¹⁾

研究要旨

髄鞘塩基性蛋白(MBP)ペプチド 87-99 は多発性硬化症患者に出現する自己反応性 T 細胞の dominant epitope であり、この部位での altered ligand peptide を用いた多発性硬化症の治療の試みもなされている。最近、この部位に asparagine endopeptidase(AEP)が作用して processing が起こり、脳炎誘起抗原 エピトープの成立に寄与することが明らかになった。我々は多発性硬化症の動物モデルを用い、この MBP ペプチドの T細胞抗原性についてMBPあるいはMBPペプチドで感作し作製したT細胞クローンを検討した。その結果、MBP ペプチドの感作により MBP ペプチドに反応するものの native 抗原に反応せず、非脳炎誘起性エピトープを認識する T細胞クローンが脳炎誘起性エピトープを認識する T細胞クローンに比して優位を占める結果を得た。この結果は MBP ペプチドでは AEP が作用せず、AEP による自己抗原の processing によりペプチド抗原と native 抗原では免疫応答が異なることにより生じたと考えられ、AEP が脳炎誘起に重要な役割を果たしている可能性を裏付けるものである。本研究の結果は AEP の作用を制御することによる多発性硬化症の治療の可能性を示唆する。

研究目的

多発性硬化症の治療戦略を考える上で、自己免疫性 T 細胞と自己抗原の認識の分子機構を理解することは重要である。我々は以前に髄鞘塩基性蛋白(MBP)ペプチド 87-99 が SJL/J マウスの脳炎誘起抗原であることを明らかにした。この部位は Lewis ラットの脳炎誘起抗原でもあり、また、多発性硬化症患者に出現する自己反応性 T 細胞の dominant epitope であることも明らかにされ、この部位の altered ligand peptide(ALP)を用いた EAE や多発性硬化症の治療の試みもなされている。最近、この部位に asparagine endopeptidase(AEP)が作用して MBP の processing が起こり、その結果、脳炎誘起抗原 エピトープの成立に寄与することが明らかにされた。今回、我々はこの MBP の部位の T細胞抗原性について、altered ligand peptide と SJL マウス

の実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)の系を用いて、MBP ペプチド感作と MBP native 蛋白感作による T細胞の抗原認識の差異について検討した。

研究方法

実験動物として6-8週令の雌のSJL/Jマウスを用いた。MBPの合成ペプチドとして87-99、87-98、88-98、90-99、87-99(H88K)、87-98(F90K)、87-99(N92K)、87-98(T95K)を用いた。このうちラット MBP あるいは合成ペプチド 87-99 を完全 Freund's adjuvant と共に免疫し、免疫後にリンパ節細胞を調整して、MBP あるいは 87-99 ペプチドを用いて抗原刺激し、限界希釈法により T 細胞クローンを作製した。これらの T 細胞クローンの MBP あるいはペプチドに対する細胞増殖反応を ³H thymidine の uptake により測定して T細胞の抗原性を検討した。EAE は MBP あるいは合成ペプチドを完全 Freund's adjuvant と共に能動免

1) 金沢医科大学神経内科

疫した後、B.pertussis 毒素を感作直後と 48 時間後に尾静脈より投与して惹起し、その症状を評価した。

研究結果

SJL マウスを MBP native 蛋白を感作することによって得られた脳炎誘起性 T 細胞クローンに対して、87-99 と 90-99 の各ペプチドは T 細胞抗原活性を示すが、87-98 は抗原活性を示さない。87-99 で感作した場合、感作リンパ節細胞に対して感作ペプチドは強い抗原応答を示すが、native MBP の抗原活性は低い。MBP ペプチド 87-99 で感作されたリンパ節細胞から T 細胞クローンを調整すると、その大部分のクローンは、99proline を除いたペプチド 87-98 を認識した。次いで、同様に MBP のアミノ酸置換ペプチドを用いて検討すると、これらの T 細胞クローンの全ては 87-99(H88K)に対して反応を示すが、その大部分の T 細胞クローンは 87-98(F90K)、87-98(N92K)及び 87-98(T95K)に対して反応を認めなかった。さらに、87-98(F90K)、87-98(N92K)及び 87-98(T95K)に反応しないこれらの T 細胞は、native MBP をも抗原として認識することはなかった。MBP ペプチド 87-98 と反応する T 細胞のなかには、87-98(T95K)が抗原活性を示すクローンが存在し、この T 細胞に対しては native MBP も抗原活性を示したが、90-99 は抗原活性を示さなかった。これらの結果は、87-99 ペプチドの感作によって、抗原活性に 99proline の認識を必要とせず、95T 92N 90F を認識を必要とする T 細胞が優位に誘導されることを示している。これらのクローンを in vivo に受身移入を試みたが、脳炎誘起活性は有していない結果であった。一方、native MBP を認識する T 細胞には、99proline を認識するものと 90phenylalanine を認識する 2 種類の T 細胞が少数ながら誘導されることが明らかになった。

MBP ペプチド 87-99 は脳炎を誘起し得るが、

MBP で免疫した場合に比べてその程度は弱く、また 87-98 では脳炎を惹起し得なかった。87-99(H88K)、87-99 (H88K)と 87-99(N92K)では EAE を惹起し得たが、87-98(F90K)と 87-98(T95K)では EAE を惹起することはできなかった。

考察

2002 年に Anderton らは、MBP ペプチド 87-99 の部位には 87-92、90-96、93-99 を core とする 3 つの T 細胞エピトープが存在していることを報告した。MBP で感作した場合には、AEP による MBP の processing を受けて脳炎誘起性を有する 87-92 と 93-99 が抗原性を発現するが、87-99 ペプチドで感作した場合には、AEP による processing を受けずに 87-92、93-99 に加えて cryptic かつ nonpathogenic な 90-96 に対する抗原性が発現し、このエピトープが dominant となることを示し、AEP が native MBP の pathogenic self antigen の出現に重要であることが示唆された。今回の我々の研究にみられた MBP 感作と異なり、87-99 ペプチドで感作することにより 90F、92N、95T を認識する T 細胞クローンが優位を占めたという結果は 90-96 に対する抗原性が優位を示すことに一致する。合成ペプチドで感作した場合に、native な自己抗原とは明らかに異なる免疫原性が発現し、有効な自己免疫の調節を果たせない可能性がある。

髄鞘塩基性蛋白の 87-99 が多発性硬化症の T 細胞が優位に認識するエピトープであることが示され、この部位が抗原の病因における役割の重要性が指摘されている。もし、この部位が多発性硬化症の病原性に直接関与しているとするならば、自然に行われる病的エピトープの産生を抑制することが多発性硬化症の治療に有用である可能性を示唆している。この部位に作用する AEP の働きを抑制し、非病原性のエピトープを優位に働かせ、病

的エピトープの産生を抑制させることが可能となり得る。今後、AEP の阻害剤が多発性硬化症の治療に応用し得る可能性について検討を試みる必要がある。

結論

AEPによるMBPのprocessingへの作用に基づいてペプチド抗原とnative抗原では免疫応答が異なる現象を理解することは、自己抗原に対するtoleranceの破綻や自己免疫のinductionの機序の解明や、合成ペプチドを用いた治療戦略において重要である。

文献

- 1, Sakai K, Sinha A, Mitchell D, Zamvil S, Rothbard J, McDevitt HO and Steinman L. Involvement of distinct murine T-cell receptors in the autoimmune encephalitogenic response to nested epitopes of myelin basic protein, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:8608-8612,1988.
- 2, Anderton SM, Viner NJ, Matharu P, Lowrey PA, Wraith DC. Influence of a dominant cryptic epitope on autoimmune T cell tolerance. Nat Immunol3:175-81,2002.

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得:なし

実用新案登録:なし

Myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) 誘導による実験的自己免疫性脳脊髄炎における activation-induced cytidine deaminase (AID) による抗 MOG 抗体クラススイッチの役割

分担研究者 高 昌星¹⁾

共同研究者 関口幸男²⁾ 市川元基¹⁾ 滝 伸介³⁾ 上松一永³⁾ 村松正道⁴⁾

本庶 佑⁴⁾ 小宮山 淳⁵⁾

研究要旨

多発性硬化症(MS)の動物実験モデルの中でも myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) 感作による実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)は MS の脱髄斑に類似した広汎な脱髄をきたすことが知られている。抗 MOG 抗体は in vitro または in vivo で脱髄を誘導出来ることが報告されているが、C57BL/6 マウスに MOG 感作で誘導した EAE における抗 MOG 抗体の役割については未だ不明である。クラススイッチは抗原に対する特異性を保ったまま抗体のクラスを IgM から IgG や IgE もしくは IgA へと変化させる現象である。クラススイッチの誘導に activation-induced cytidine deaminase (AID)が重要な役割を担っていることが最近明らかとなっており、AID 遺伝子も単離されている。我々は C57BL/6 マウスに MOG 感作で誘導した EAE における抗 MOG 抗体の役割を明らかにするため AID 欠損マウスを用いて検討した。MOG₃₅₋₅₅ 感作による EAE では AID^{-/-}群は、AID^{+/-}および AID^{+/+}とともに全例が発症し、いずれも MS 類似の脱髄性病変を認めた。平均発症日、平均最重症スコアおよび累積臨床スコアにおいても AID^{-/-}群は AID^{+/-}群および AID^{+/+}に比し有意差はみられなかった。AID^{-/-}群においては MOG₃₅₋₅₅ に対する T 細胞特異的増殖反応は AID^{+/-}群および AID^{+/+}に比し同程度にみられ、抗 MOG₃₅₋₅₅ IgM 抗体は高値であった。MOG₃₅₋₅₅ で刺激した AID^{-/-}培養脾細胞のサイトカイン産生能では Th1 系サイトカインの産生がみられた。以上より MOG₃₅₋₅₅ 感作による EAE では抗体は EAE の発症には関与せず、Th1 系免疫応答には AID を要しないことが示唆された。

研究目的

多発性硬化症(MS)の動物実験モデルの中でも myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) 感作による実験的自

免疫性脳脊髄炎(EAE)は MS の脱髄斑に類似した広汎な脱髄をきたすことが知られている。MOG を C57BL/6 マウスに感作した場合には慢性非緩解型の脱髄疾患を誘導することが出来、感作4週後には抗 MOG 抗体が検出される。抗 MOG 抗体は in vitro または in vivo で脱髄を誘導出来ることが報告されているが、C57BL/6 マウスに MOG 感作で誘導した EAE における抗 MOG 抗体の役割については未だ不明である。EAE は Th1 系の自己免

- 1) 信州大学医学部保健学科
- 2) 信州大学医学部救急集中治療医学
- 3) 信州大学大学院移植免疫感染症学
- 4) 京都大学大学院分子生物学
- 5) 信州大学医学部小児科

疫疾患とされているが、B 細胞や髄鞘に対する特異抗体の脱髄におよぼす役割については未だに議論がつかない。クラススイッチは抗原に対する特異性を保ったまま抗体のクラスを IgM から IgG や IgE もしくは IgA へと変化させる現象である。クラススイッチの誘導に activation-induced cytidine deaminase (AID) が重要な役割を担っていることが最近明らかになってきており、AID 遺伝子も単離されている。我々は C57BL/6 マウスに MOG 感作で誘導した EAE における抗 MOG 抗体の役割を明らかにするため AID 欠損マウスを用いて検討した。

研究方法

AID^{-/-}マウスは CBA からバッククロスし C57BL/6 マウスで作成し、動物実験施設で維持した。MOG 抗原としては合成 MOG₃₅₋₅₅ ペプチドを使用した。AID^{-/-}、AID^{+/-}、AID^{+/+} マウスにそれぞれ 100 μg の MOG₃₅₋₅₅ を Freund の完全アジュバントとともに感作し、感作前および感作2日後に 300 ng の百日咳ワクチンを静注した。感作後、毎日臨床症状を観察し、正常:0、尾の麻痺:1、下肢の不全麻痺:2、下肢の完全対麻痺:3、四肢麻痺:4、瀕死または死亡:5、と点数化した。血液は毎週採取し、血清に分離後保存し、抗体の定量に用いた。抗 MOG₃₅₋₅₅ 抗体は ELISA 法を用いて定量した。感作 21 日後にエーテル麻酔下に屠殺し、パラホルムアルデヒドで灌流固定した。固定後、脊髄を採取し、病理組織学的検索に用いた。また感作 2 週後に屠殺し脾細胞を採取、RPMI1640 培養液を用いて培養し、各種抗原に対する T 細胞増殖反応およびサイトカイン産生能を検討した。

研究結果および考察

MOG₃₅₋₅₅ 感作後 AID^{-/-}、AID^{+/-} および AID^{+/+} マウスともに 18 匹全例が発症し、いずれも MS 類似の脱髄性病変を認めた。AID^{-/-} 群の平均発症日は 16.6±6.3 であり、平均最重症スコアは 3.8±1.4、感作日から感作 70 日後までの累積臨床スコアは 157.7±104.4 であった(図1)。AID^{+/+} の平均発症日、平均最

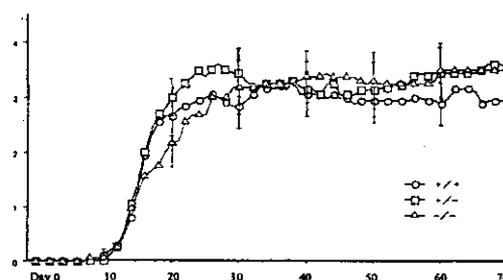


図1

重症スコアおよび累積臨床スコアはそれぞれ 18.6±11.5, 4.0±0.8, 165.5±78.6 であり、AID^{+/-} 群はそれぞれ 17.3±10.0, 4.2±1.0, 171.7±106.6 であり、3 群間で有意差はみられなかった(図1)。感作 0, 4, 8 週後に ELISA 法で抗体を定量した。血清 IgG および IgA は AID^{-/-} 群では検出されなかったが、IgM は最も高値であった(図2)。抗 MOG₃₅₋₅₅ IgG 抗体は AID^{-/-} 群では検出感度以下であり、他の 2 群に比し有意に低値であったが、抗 MOG₃₅₋₅₅ IgM 抗体は他の 2 群に比し有意に高値であった(図2)。3 群ともに抗 MOG₃₅₋₅₅ IgA 抗体は検出されなかった。MOG₃₅₋₅₅ に対する T 細胞特

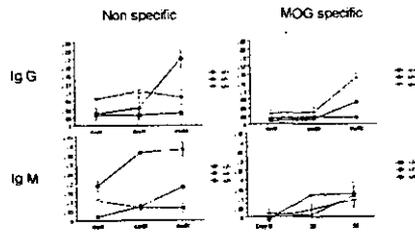


図2

異的増殖反応はいずれも陽性であり、stimulation index (SI)は AID^{-/-}群は 18₊₂, AID^{+/-}群は 20₊₁, AID^{+/+}群は 37₊₁₀ であり、AID^{+/+}群で SI 値が最も高かったが有意差はみられなかった(図3)。MOG35-55で刺激した培

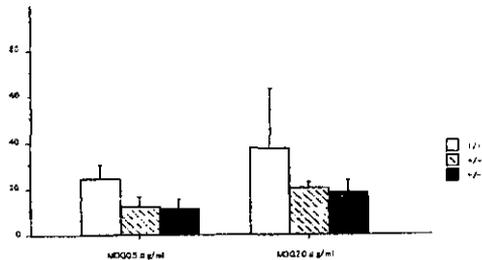


図3

養脾細胞のサイトカイン産生能では AID^{+/-}群および AID^{+/+}群はいずれも同程度の IL-2, IFN- γ および TNF- α を産生した。AID^{-/-}群はやや高い IFN- γ および TNF- α を産生した。IL-4 および IL-5 は AID 遺伝子の有無に関わらず 3

群のいずれにおいても検出されなかった(図4)。

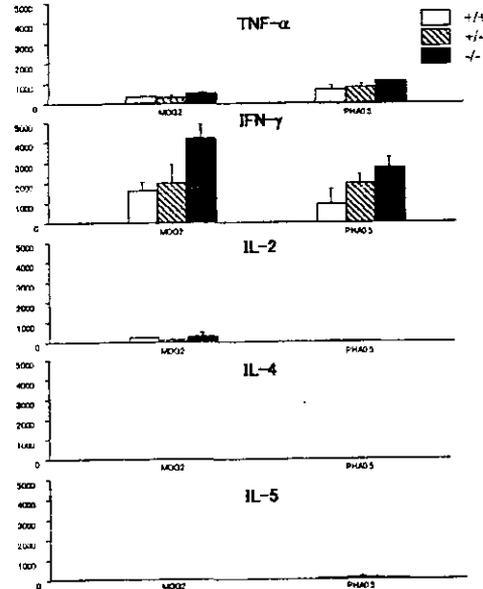


図4

結論

MOG35-55 感作による EAE では AID^{-/-}群は、AID^{+/-}および AID^{+/+}ともに全例が発症し、いずれも MS 類似の脱髄性病変を認めた。平均発症日、平均最重症スコアおよび累積臨床スコアにおいても AID^{-/-}群は AID^{+/-}群および AID^{+/+}に比し有意差はみられなかった。AID^{-/-}群においては MOG35-55 に対する T 細胞特異的増殖反応は AID^{+/-}群および AID^{+/+}に比し同程度にみられ、抗 MOG35-55 IgM 抗体は高値であった。MOG35-55 で刺激した AID^{-/-}培養脾細胞のサイトカイン産生能では Th1 系サイトカインの産生がみられた。以上より MOG35-55 感作による EAE では抗体は EAE の発症には関与せず、Th1 系免疫応答には AID を要しないことが示唆された。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

アストロサイト由来の免疫抑制因子(astrocyte-derived immune suppressor factor, AdIF)による EAE の治療

分担研究者 原 英夫¹⁾

共同研究者 王 軍¹⁾、田平 武¹⁾

研究要旨

これまで我々は、アストロサイト細胞株を IFN- γ で処理した subtracted cDNA ライブラリーを作成し、PLP 反応性 T 細胞にアポトーシスを誘導する因子として、未知の遺伝子の astrocyte-derived immune suppressor factor (AdIF) cDNA をクローニングした。今年度は、昆虫細胞を用いた蛋白合成系を用いて recombinant AdIF 蛋白を作成し、EAE 発症 C57BL/6J マウスに対する治療効果を検索した。rAdIF を投与したマウスでは、コントロールと比べ EAE score の著明な改善が認められた。*in vitro* において MOG ペプチドで刺激したマウス脾細胞から分泌されるサイトカインは、コントロール群では IL-12 と IFN- γ が、治療群では、IFN- γ の分泌が抑えられ、IL-4 が増加しており、Th2 へシフトしていた。

研究目的

これまで我々は、マウス・アストロサイト細胞株 G26-24 を用いて、インターフェロンガンマ処理と未処理の各 cDNA より subtracted cDNA ライブラリーを作成し、PLP 反応性 T 細胞にアポトーシスを誘導する因子として、SPARC/osteonectin と未知の遺伝子の G-7 (astrocyte-derived immune suppressor factor, AdIF) cDNA をクローニングした。今回は、recombinant AdIF protein を作成し、EAE 発症マウスに対する治療効果を検索した。

研究方法

リコンビナント蛋白の作成には、昆虫細胞 (Schneider (S2) cells) を用いた蛋白合成系を採用し、Drosophila expression system を用いた。C57BL/6J マウスに MOG ペプチドで免疫し、7 日後に recombinant AdIF (rAdIF) を静注及び

腹腔内投与した。

コントロール群には同量の PBS を投与した。その後、発症数・EAE score の変動などを観察した。

EAE 発症マウスの脾細胞を *in vitro* において MOG ペプチドと共に培養し、分泌される Th1/Th2 サイトカインを測定した。

さらに脳・脊髄へのリンパ球浸潤などを免疫組織学的に検索した。

研究結果

Schneider (S2) cells に AdIF 発現ベクターを transfection して作成した stable cell line の cell lysate からニッケルカラムで AdIF リコンビナント蛋白を精製した。MOG ペプチドで免疫した C57BL/6J マウスは、約 15 日頃より EAE を発症し、症状は約 2 週間持続し緩解した。rAdIF を静注及び腹腔内投与した B6 マウスでは、コントロールと比べ EAE score および Cumulative

1) 国立療養所中部病院長寿医療研究センター

clinical score の著明な改善 (コントロール: 24.17 ± 13.38 , 治療群: 4.20 ± 5.35) が認められた。

in vitro において MOG ペプチドで刺激した脾細胞から分泌されるサイトカインは、コントロール群では IL-12 と IFN- γ が多く、一方治療群では、IFN- γ の分泌が抑えられ、IL-4 が増加しており、Th2 へシフトしていた。

中枢神経系の免疫組織学的検索では、未治療コントロール群において脊髄に CD86 を発現した CD4+T cell の浸潤が認められた。

結論

AdIF は、アストロサイト由来の未知の因子で、PLP 反応性 T細胞にアポトーシスを誘導する蛋白として同定した。以前 AdIF 発現レトロウイルスベクターを用いて microglia cell line に導入し、EAE の治療を試み、有意に EAE の発症の遅延と症状の改善が認められたことを報告した。

今回は、昆虫細胞を用いた蛋白合成系を用いて recombinant AdIF protein を作成した。C57BL/6J マウスに MOG ペプチドで免疫し EAE を発症させ、recombinant AdIF を投与すると有意に症状が緩和された。各マウスの脾細胞を *in vitro* において MOG ペプチドで刺激し、分泌される Th1/Th2 サイトカインを測定したところ、recombinant AdIF 投与群では、Th2 サイトカインへシフトしていた。

今後は、AdIF の臨床応用を検討しながら、データを蓄積する予定である。

健康危険情報

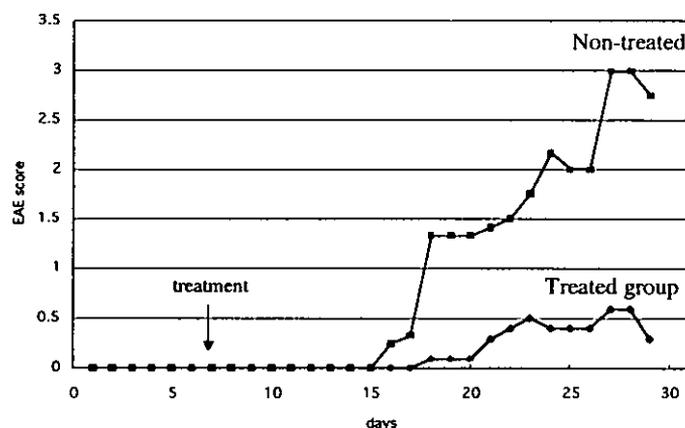
なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

Disease activity of EAE



EAE of C57BL/6J

	Incidence	Maximum score	Cumulative clinical score
control	6/6	3.33 ± 1.63	24.17 ± 13.38
treated	3/6	1.33 ± 0.58	4.20 ± 5.35

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

arundic acid(ONO-2506)の多発性硬化症実験動物（慢性進行性・再発寛解型 EAE）
に対する予防効果の研究

分担研究者 野村恭一 埼玉医科大学神経内科助教授
共同研究者 富岳 亮、滝沢功一、大貫 学、三井隆男
高砂子由佳子、木下俊介、高濱美里、井口貴子

研究要旨

再発寛解型の多発性硬化症（MS）の再発抑制療法として、現在、インターフェロン（INF）療法が行われているが、その治療効果は約 50%であり、INF 治療抵抗性の症例では新たな治療法が求められている。近年、MSの急性増悪時における脳内の astrocyte の役割が重要視されている。今回、我々は astrocyte の機能改善薬である arundic acid（ONO-2506）に注目し、ONO-2506 がMSの再発抑制薬になり得るかについて検討した。慢性進行型 EAE、再発寛解型 EAE モデルに ONO-2506 を連日、隔日に経口投与し、神経症候を観察した。その結果、ONO-2506 は連日、隔日の経口投与により慢性進行型、再発寛解型 EAE の神経症候の抑制効果を示した。ONO-2506 はMSの再発抑制薬になりうる可能性を認めた。

A. 研究目的

astrocyte 機能改善剤である ONO-2506 が多発性硬化症の治療薬になり得るかを検討するために、慢性進行型 EAE・再発寛解型 EAE モデルに ONO-2506 を連日または隔日に経口投与し神経症候の抑制効果を評価した。

B. 研究方法

動物：①慢性進行型 EAE モデル作成には C57BL6 マウス 15 匹、②再発寛解型 EAE モデル作成には NODLT マウス 15 匹を使用した。

EAE モデルの作成：抗原として、MOG のアミノ酸配列 35—55 残基に相当するペプチド（MOG35—55）を用い、EAE を誘導した。100 μ g/マウスを両側の鼠径部皮下に分注、接種した。神経症候の発現を確実に安定化させるために pertussis toxin を尾静脈から注入した。神経症候は臨床スコアを用い、抗原接種

当日より 60 日間、連続観察した。

ONO-2506 の経口投与：確実に固定したマウスの口腔から胃ゾンデを挿入し、ONO-2506 を経口投与した。ONO-2506 投与量は前回の実験結果から 30mg/kg とした。

① 57BL6 マウス（慢性進行型 EAE モデル）は、ONO-2506 を 30mg/kg、抗原接種当日から 30 日間、連日投与（連日投与群）または隔日投与（隔日投与群）を行った。

② NODLT マウス（再発寛解型 EAE モデル）は、ONO-2506 を 30mg/kg、抗原接種当日から 30 日間あるいは 60 日間、それぞれ連日投与（連日投与群）または隔日投与（隔日投与群）を行った。

C. 研究結果

慢性進行型 EAE モデルの検討（C57BL6 マウス）

- ① コントロール群は、抗原接種後 12 日に神経症候を発現し、その後、平均臨床スコアは徐々に増悪を認め、26 日に 3.4 に達し 30 日まで持続した (図 1)。
- ② ONO-2506 連日投与群は、13 日に神経症候を発現し、23 日から 25 日にかけて平均臨床スコアは 2.25 に達し、その後 1.75 に軽減した (図 1)。
- ③ ONO-2506 隔日投与群は、20 日に平均臨床スコア 0.667 の神経症候を発現し、21 日から 0.33 に軽減し、その後 30 日まで持続した (図 1)。
- 再発寛解型 EAE モデルの検討 (NODLT マウス)
- ④ コントロール群は、抗原接種後 14 日に神経症候を発現し、21 日に平均臨床スコア 1.6 のピークを示し、26 日に改善する 1 回目の EAE を認め、抗原接種後 38 日に 2 回目の EAE を発現、48 日に平均臨床スコア 2 のピークを示し、54 日に改善した (図 2)。
- ⑤ ONO-2506 60 日間連日投与群は、抗原接種後 21 日から 25 日にかけて平均臨床スコア 0.6 を示す 1 回目の EAE を認め、抗原接種後 35 日に 2 回目の EAE を発現、48 日に平均臨床スコア 0.4 のピークを示し、55 日に改善した (図 2)。
- ⑥ ONO-2506 60 日間隔日投与群は、抗原接種後 21 日に 1 日のみ平均臨床スコア 0.2 を示す 1 回目の EAE を認め、抗原接種後 36 日から 42 日にかけて平均臨床スコア 0.25 の 2 回目の EAE を認めた (図 2)。
- ⑦ ONO-2506 30 日間連日投与群は、コントロール群で認めた 1 回目の EAE はなく抗原接種後 44 日から 53 日にか

け平均臨床スコア 0.66 を示す EAE を認め、59 日に改善した (図 3)。

- ⑧ ONO-2506 30 日間隔日投与群は、コントロール群で認めた 1 回目なたびに 2 回目の EAE の症状を認めなかった (図 3)。

D. 結論

1. C57BL/6 マウスによる慢性進行型 EAE モデルでは、ONO-2506 を 30mg/kg の連日・隔日経口により EAE の予防効果を認めた。
2. NODLT マウスの EAE モデルでは、ONO-2506 を 30mg/kg の 30 日、60 日間、連日・隔日経口投与により、EAE の予防効果を認めた。
3. ONO-2506 は、慢性進行型・再発寛解型 EAE の予防効果を示した。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

I. 論文発表

1. 野村恭一、三井隆男、高濱美里、柴木謙次、高砂子由佳子、滝澤功一、大貫 学、富岳 亮、大野良三：寛解再発型多発性硬化症に対する免疫吸着療法；平成 14 年度 厚生省免疫性神経疾患調査研究班 23-25, 2003
2. 木下俊介、富岳 亮、野村恭一、島津邦男：多発性硬化症の非活動期における末梢血リンパ球サブセットおよびケモカインレセプターの検討；神経免疫学、11 (1)：57-58. 2003
3. Yamamoto T, Kawai M, Kikuchi S, Nomura K, Yokoyama K, Ota K, Kanda T, Fukazawa T and Yamamura T：Microarray analysis identifies interferon

b-regulated genes in multiple sclerosis. ; J. Neuroimmunol.139 : 109-118. 2003

4. 野村恭一：自己反応性の抗大脳基底核抗体と大脳基底核病変を有するレンサ球菌感染後 ADEM ; Brain & Nerve.12 : 13-14.2003
5. 野村恭一：多発性硬化症 -最新の基礎・臨床研究-血漿浄化療法；日本臨床 61 (8) : 1388-1395. 2003
6. 野村恭一：寛解再発型多発性硬化症に対する Natalizumab の比較試験； Brain & Nerve.12 : 2003
7. 野村恭一、柴木謙次、高砂子由佳子、島津邦男一：過性の軟口蓋・咽頭筋麻痺を呈した 1 小児例；末梢神経； 14 (1) 2003
8. 三井隆男、野村恭一、大熊 彩、茅野秀一、島津邦男：NK 細胞増多症に多発根神経炎を呈した 1 例；末梢神経.14 (1) 2003

II. 学会発表

1. 野村恭一、大島裕紀、三井隆男、大熊 彩、木下俊介、富岳 亮、糸川かおり、島津邦男：IVIg 治療抵抗性となった CIDP に対してタクロリムスが有効であった 1 例；第 2 回 重症筋無力症とプログラム講演会 2003
2. 高砂子由佳子、木下俊介、富岳 亮、野村恭一、島津邦男：多発性硬化症の非活動期における末梢血リンパ球サブセットおよびケモカインレセプターの検討；第 15 回 日本神経免疫学会、2003
3. 木下俊介 富岳 亮 野村恭一 高砂子由佳子 高濱美里 滝澤功一 大島裕紀 島津邦男：第 44 回 日本

神経学会総会 2003

4. 三井隆男、野村恭一、大貫 学、島津邦男：脱髄型・軸索障害型ギラン・バレー症候群の臨床的検討；第 44 回 日本神経学会総会 2003
5. 高濱美里、野村恭一、大貫 学、富岳 亮、島津邦男：免疫吸着療法は寛解再発型の多発性硬化症の免疫異常を調節し再発を抑制する；第 44 回 日本神経学会叢会、2003
6. 三井隆男、野村恭一、大熊 彩、滝澤功一、島津邦男：NK 細胞増多症を伴った多発根神経炎の 1 例；第 14 回 日本末梢神経学会 2003
7. 野村恭一、高砂子由佳子、柴木謙次、島津邦男：一過性の軟口蓋・咽頭筋麻痺を呈した 1 小児例；第 14 回 日本末梢神経学会 2003
8. 高砂子由佳子、野村恭一、高濱美里、大熊 彩、木下俊介、前田晃宏、島津邦男：精神症状で発症し、意識障害・痙攣を呈したコクサッキーウイルス A4 による予後良好な亜急性脳炎の 1 例；第 8 回 日本神経感染症学会、2003
9. 野村恭一、大島裕紀、高砂子由佳子、木下俊介、三井隆男、大貫 学、富岳 亮、島津邦男；第 23 回 日本アフレスニス学会 2003

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

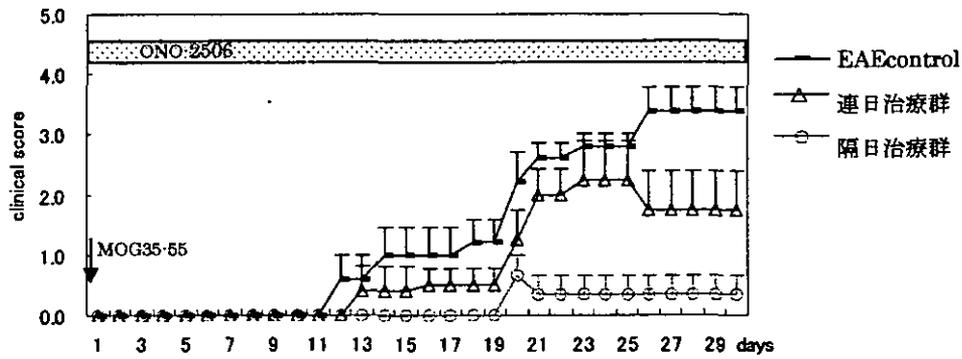


図 1. 慢性進行型 EAE モデルの検討

ONO-2506 を 30mg/kg、連日投与あるいは隔日投与し、神経症候の抑制効果を検討した。隔日投与群においても神経症候の抑制効果を示した。

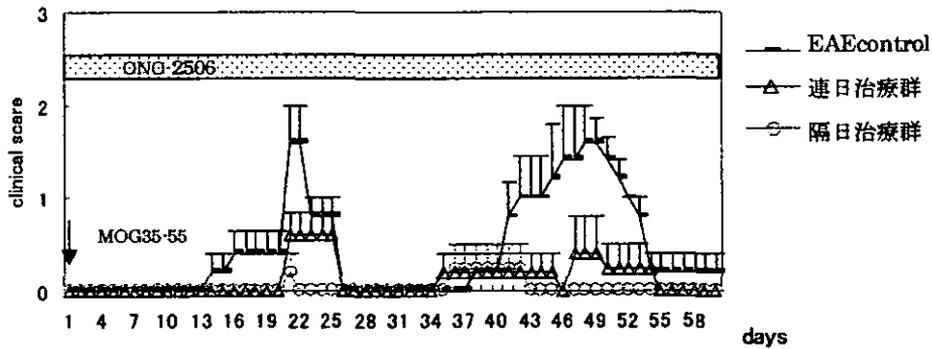


図 2. 再発寛解型 EAE モデルの検討 (60 日間投与群)

ONO-2506 を 30mg/kg、60 日間、連日投与あるいは隔日投与し、神経症候の抑制効果を検討した。隔日投与群においても初回 EAE ならびに再発 EAE の神経症候を抑制した。

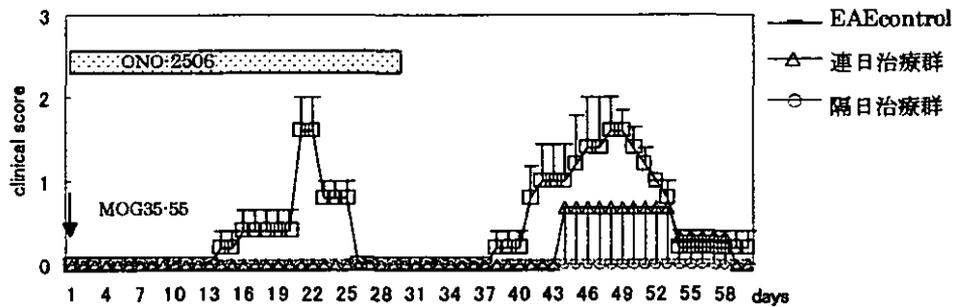


図 3. 再発寛解型 EAE モデルの検討 (30 日間投与群)

ONO-2506 を 30mg/kg、30 日間、連日投与あるいは隔日投与し、神経症候の抑制効果を検討した。隔日投与群においても初回 EAE ならびに再発 EAE の神経症候を抑制した。