

11) 神田 隆：糖尿病性神経障害の病理。
日本臨床別冊 糖尿病性最小血管症。
2005.

II 学会発表

国内学会

1. 山脇正永、神田 隆、大和田 潔、岡本尚子、水澤英洋：IFN β による培養脳毛細血管由来内皮細胞の遺伝子発現変化。第 16 回日本神経免疫学会学術集会、東京
2. 神田 隆：シンポジウム：免疫性神経疾患の画像診断—類縁疾患との鑑別のポイント：多発性筋炎。第 16 回日本神経免疫学会学術集会、東京
3. 神田 隆、石橋 哲、山脇正永、沼田幸代、金 紅蓮、水澤英洋：免疫性神経疾患における BBB 浸潤細胞の解析。第 45 回日本神経学会総会、東京
4. 松本 卓、沼田幸代、神田 隆、水澤英洋、清水潤：抗 HLA class I antigen 抗体への IBM と RVDIM の免疫反応性の検討。第 45 回日本神経学会総会、東京
5. 石橋賢士、山南文香、石川欽也、松永高志、神田 隆、水澤英洋：非ケトン性高浸透圧性糖尿病昏睡における片麻痺の神経放射線学的検討。第 45 回日本神経学会総会、東京
6. 服部 亮、袖山信幸、神田 隆、水澤英洋：CK 上昇を認めない非典型的炎症性筋疾患における筋 MRI の有用性。第 45 回日本神経学会総会、東京
7. 竹尾一寿、藤ヶ崎浩人、日野太郎、神田 隆、水澤英洋：腫瘍様病変を呈した多発性硬化症 5 例の検討。第 45 回日本神経学会総会、東京
8. 山脇正永、神田 隆、大和田潔、水澤英洋：脳毛細血管内皮細胞に対するインターフェロン β の作用：DNA microarray

を用いた解析。第 45 回日本神経学会総会、東京

9. 木村正道、前田敏彦、川井元晴、根来清、神田 隆：グリチルリチン過剰投与による偽性アルドステロン症に伴う低カリウム性ミオパチーの一例。第 16 回日本老年医学会中国地方会、米子

10. 前田敏彦、小笠原淳一、能村友紀子、川井元晴、根来 清、神田 隆：経過中に明かな左右差を呈した多発筋炎の 74 歳女性例。第 77 回日本神経学会中国・四国地方会、広島

11. 能村友紀子、木村正道、川井元晴、根来 清、神田 隆、足立秀光、加藤祥一、鈴木倫保：右内頸動脈領域の脳動静脈奇形を合併した高位頸髄硬膜動静脈瘻の 77 歳男性例。第 77 回日本神経学会中国・四国地方会、広島

12. 安部真彰、小笠原淳一、川井元晴、根来 清、神田 隆：エンテロウイルスの関与が考えられた非ヘルペス性辺縁系脳炎の 1 例。第 9 回日本神経感染症学会、弘前

13. 安部真彰、小笠原淳一、川井元晴、根来 清、神田 隆：嚥下障害、拘束性換気障害を呈した DISH (Diffuse idiopathic skeletal hyoerostosis) の 1 例。第 91 回日本内科学会中国地方会、米子

14. 清水文崇、小笠原淳一、川井元晴、根来 清、神田 隆：特発性硬膜下血腫後に出現した低髄液圧による頭痛の 1 例。第 32 回日本頭痛学会総会、鹿児島

H. 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

厚生労働科学研究費補助金(こころの健康科学研究事業)
分担研究報告書

多発性硬化症脱髄巣反応性アストロサイトにおける
Nogo 受容体の発現

佐藤 準一、山村 隆、尾上祐行、有馬 邦正

国立精神・神経センター神経研究所 免疫研究部
国立精神・神経センター武蔵病院 臨床検査部

研究要旨 多発性硬化症(multiple sclerosis; MS)は視神経・大脳・脊髄など中枢神経系白質に炎症性脱髄巣が多発し、様々な神経症状が再発と寛解を繰り返して進行する難病である。病理学的には急性期に CD4⁺ T 細胞やマクロファージを主体とするリンパ球浸潤と髄鞘形成細胞であるオリゴデンドロサイト(oligodendrocytes; OL)の細胞死と脱髄を認める。回復期には髄鞘再生も見られるが、炎症が遷延化すると軸索傷害(axonal injury)を来して不可逆的な後遺症を残す。Nogo は神経突起伸展抑制活性を呈する新しい蛋白質 family で3種類の isoform A, B, C が存在する。Nogo-A はOL 特異的に発現している。Nogo-A の C 末端部分(Nogo-66)は神経細胞・軸索上の特異的受容体(NgR)と結合し、p75^{NTR}-RhoA 系を介して突起伸長抑制シグナルを伝達する。脊髄損傷動物に Nogo-A 中和抗体、NgR 阻害ペプチド、soluble NgR を投与して Nogo-A/NgR interaction を遮断すると、軸索再生・機能的回復が飛躍的に促進される。MS は軸索傷害の蓄積により進行するので、Nogo を標的とする神経再生促進治療法の開発が重要である。本研究ではその前段階として MS 脱髄巣における Nogo-A, NgR の発現を免疫組織化学的に解析した。Nogo-A は MS 慢性活動性脱髄巣に残存している surviving OL で高発現を認め、NgR は反応性アストロサイト(astrocytes; AS)やミクログリア(microglia; MCG)で高発現を認めた。MS 脱髄巣では OL 上の Nogo-A と AS, MCG 上の NgR を介した glia-glia interaction が存在する可能性が示唆された。

A. 研究目的

MS は中枢神経系白質炎症性脱髄(inflammatory demyelination)と軸索変性(axonal degeneration)を主徴とする自己免疫性疾患である。現在まで MS の軸索傷害に対する治療法は開発されていない。Nogo は神経突起伸展抑

制活性を呈する新しい蛋白質 family で3種類の isoform A, B, C が存在する。Nogo-A はオリゴデンドロサイト(oligodendrocytes; OL)特異的に発現し、endoplasmic reticulum, Golgi complex, plasma membrane に局在している。Nogo-A の C 末端部分 Nogo-66 は神経細胞・軸索上の特

異的受容体 Nogo receptor (NgR) と結合する。NgR はさらに LINGO-1 と結合し、p75^{NTR} および下流の RhoA を介して突起伸長抑制シグナルを伝達する。脊髄損傷動物に Nogo-A 中和抗体 IN-1, NgR 阻害ペプチド NEP1-40, soluble NgR(310)ecto など を投与して Nogo-NgR interaction を block すると、軸索再生・機能的回復が飛躍的に促進される。従って Nogo-NgR interaction の存在が成体における神経再生不全の主要因とされている。本研究では Nogo を標的とする軸索再生促進薬開発の前段階として、MS 脱髄巣における Nogo-A, NgR の発現を免疫組織化学的に解析した。

B. 研究方法

1) 症例: MS 症例は死亡時 29 歳女性 secondary progressive MS (#791), 40 歳女性 secondary progressive MS (#744), 43 歳女性 primary progressive MS (#609), 33 歳男性 secondary progressive MS (#544) の 4 症例を解析した。全例 conventional form で、#744, #609, #544 は終末期は寝たきり状態。また 47 歳男性 acute cerebral infarction (#719), 84 歳男性 acute cerebral infarction (#786), 62 歳男性 chronic cerebral infarction (#789), 56 歳男性 chronic cerebral infarction (#807), 36 歳女性 schizophrenia (#523), 61 歳男性 schizophrenia (#826), 79 歳女性 hepatic cancer (#G6), 75 歳女性 breast cancer (#G7), 60 歳女性 external auditory canal cancer (#G8), 74 歳女性 gastric and hepatic cancers (#G9), 83 歳女性 gastric cancer and myocardial infarction (#A2623), 65 歳男性 liver cirrhosis and bronchopneumonia

(#A2647) を対照とした。

2) 免疫組織化学: ホルマリン固定大脳・脳幹・脊髄・視神経の組織切片を脱パラフィンおよび microwave 処理後に抗 Nogo-A 抗体(sc-25600, 1:2000; Santa Cruz Biotechnology), 抗 NgR 抗体(AB5615, 1:2000; Chemicon) で染色し、2 次抗体は Histofine Simple Stain kit (Nichirei) を用いて DAB で発色した。また隣接切片を anti-GFAP antibody (Dako), anti-MBP antibody (Dako), anti-CD68 antibody (Dako), anti-neurofilament antibody (Nichirei), anti-p75^{NTR} antibody (Sigma), anti-amyloid precursor protein (APP) antibody (Chemicon) で染色した。抗体特異性は脳組織および Nogo-A, NgR 遺伝子導入 HEK293 細胞の Western blot で確認した。

3) ヒトアストロサイト(AS)純培養: 無血清培養で継代したヒト胎児脳由来神経前駆細胞を 10% FBS 添加 DMEM で培養することにより、AS 純培養(GFAP⁺ >95%)を樹立した。一部は IL-1 β , TNF α を添加して培養した。また AS を phosphatidylinositol-specific phospholipase C (PI-PLC) 存在下で培養し、上清中に放出された GPI-anchor 蛋白質を centricon-10(Millipore) で濃縮した。

C. 研究結果

1) 免疫組織化学的解析: 健常者脳に比較し、Nogo-A は MS 慢性活動性脱髄巣および脳梗塞巣辺縁に残存している surviving OL で高発現を認め(図 1a)、NgR は MS 脱髄巣や脳梗塞巣に集積している reactive AS, MCG で高発現を認めた(図 1b)。また全例で大脳皮質・脊髄前角神経

細胞ではNogo-AとNgRの共発現(co-expression)を認めたが、NgR coreceptorであるp75^{NTR}の発現はsubstantia gelatinosa, tractus solitariusなどに限局しており、OL, AS, MCGでは発現を認めなかった。またMS慢性活動性病巣では、acute axonal injuryのmarkerとされているAPP陽性軸索の所見はほとんど見られなかった。

2) 培養ヒトASにおけるNgRの発現: Western blotで、培養ヒトASにおけるNgR蛋白質の発現を認めたが、IL-1 β やTNF α による刺激ではその発現量は変動しなかった。またWestern blotで、PI-PLC処理AS培養上清中にNgR蛋白質を確認した。しかし培養ヒトASでは免疫細胞化学的にはNgRは主として細胞質に発現していた。

D. 考察

既報(Satoh J et al. Neuropathol Appl Neurobiol 2002;28:95-106)に一致して、本研究ではNgRの発現が神経細胞に特異的ではないことを確認した。本研究の結果は、MS脱髄巣においてはOL上のNogo-AとAS, MCG上のNgRが結合し得ることを示唆している。すなわちNogo-A/NgRを介する新しいglia-glia interactionの可能性はある。ASおよびMCGでは免疫組織化学的にはNgR coreceptor p75の発現は見られなかったことより、AS, MCG上のNgRはdecoy receptor (non-functioning receptor)として働いている可能性がある。すなわち脱髄時にOL細胞外に放出されたNogo-Aを吸着したり、AS, MCGの増殖・肥大・活性化および炎症性cytokine産生を(おそらく負に)制御している可

能性が示唆される(Satoh J et al. J Neuropathol Exp Neurol, in press, 2005)。

E. 結論

MS脱髄巣ではOL上のNogo-AとAS, MCG上のNgRが結合する、新しいglia-glia interactionが成立する。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 佐藤準一、山村隆: 多発性硬化症におけるインターフェロンベータ応答遺伝子. Bio Medical Quick Review Net 2004.
2. 佐藤準一、山村隆: 神経系 1. オーバービュー. 別冊・医学のあゆみ サイトカイン state of arts 119-122, 2004.
3. 佐藤準一: 特集 II: 疾患モデルにおける最新の知見「自己免疫性脳脊髄炎」. Neuroimmunology 12: 151-161, 2004.
4. Maraganore DM, Lesnick TG, Elbaz A, Chartier-Harlin M-C, Gasser T, Krüger R, Hattori N, Mellick GD, Quattrone A, Satoh J, Toda T, Wang J, Ioannidis JPA, de Andrade M, Rocca WA, the UCHL1 Global Genetics Consortium: UCHL1 is a Parkinson's disease susceptibility gene. Annals of Neurology 55: 512-521, 2004.
5. Satoh J, Yamamura T, Arima K: The 14-3-3 protein epsilon isoform expressed in reactive

astrocytes in demyelinating lesions of multiple sclerosis binds to vimentin and glial fibrillary acidic protein in cultured human astrocytes. *American Journal of Pathology* 165: 577-592, 2004.

6. Yakushiji Y, Satoh J, Yukitake M, Yamamuchi K, Nakamura I, Nishino I, Kuroda Y: Interferon β -responsive inclusion body myositis in a hepatitis C virus carrier. *Neurology* 63: 587-588, 2004.
7. Satoh J, Nakanishi M, Yamamura T: Dysregulation of apoptosis-regulatory genes in multiple sclerosis. *Immunology* 2004 1: 501-504, 2004.
8. Satoh J, Yamamura T: Gene expression profile following stable expression of the cellular prion protein. *Cellular and Molecular Neurobiology* 24: 793-814, 2004.
9. Satoh J, Nakanishi M, Koike F, Miyake S, Yamamoto T, Kawai M, Kikuchi S, Nomura K, Yokoyama K, Ota K, Kanda T, Fukazawa T, Yamamura T: Microarray analysis identifies an aberrant expression of apoptosis and DNA damage-regulatory genes in multiple sclerosis. *Neurobiology of Disease* 2004, in press.
10. Satoh J, Onoue H, Arima K, Yamamura T: Nogo-A and Nogo receptor expression in demyelinating lesions of multiple sclerosis. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 2004, in press.

2. 学会発表

国際学会

1. Satoh J, Yamamura T: Microarray analysis identifies an aberrant expression of DNA damage and apoptosis-regulatory genes in multiple sclerosis. The First International Symposium. Cellular Responses to Genome Damage and Chromatin Dynamics. Hiroshima, 2004. 2. 13.
2. Satoh J, Yamamura T, Kawai M, Arima K: The 14-3-3 protein epsilon isoform is expressed in reactive astrocytes in demyelinating lesions of multiple sclerosis. Gordon Research Conference. Biology of 14-3-3 Proteins. Ventura, 2004. 2.25.
3. Satoh J: The 14-3-3 protein epsilon isoform expressed in reactive astrocytes in demyelinating lesions of multiple sclerosis: Its binding to vimentin and GFAP in cultured human astrocytes. Special Symposium. Recent Progress in Neuroimmunology and NKT Cell Research. Tokyo, 2004. 3. 9.
4. Satoh J, Nakanishi M, Yamamura T: Microarray analysis identifies an aberrant expression of apoptosis-regulatory genes in multiple sclerosis. 56th Annual Meeting of American Academy of Neurology. San Francisco, 2004. 4.27.
5. Nakanishi M, Satoh J, Aranami T, Yamamura T: Exacerbation of experimental autoimmune encephalomyelitis in apolipoprotein-E knockout mice. 12th International Congress of Immunology and 4th Annual Conference of

FOCIS. Montréal, 2004. 7.21.

6. Satoh J, Nakanishi M, Yamamura T: Dysregulation of apoptosis-regulatory genes in multiple sclerosis. 12th International Congress of Immunology and 4th Annual Conference of FOCIS. Montréal, 2004. 7.21.
 7. Satoh J, Onoue H, Yamamura T: Gene expression profile of human cells following stable expression of the cellular prion protein. The Awaji international forum on Infection and Immunity. Awaji, 2004. 9.1
 8. Satoh J, Nakanishi M, Onoue H, Aranami T, Yamamura T: T cell gene expression profiling identifies molecularly and clinically distinct subgroups of multiple sclerosis. 7th International Congress of Neuroimmunology. Workshop I. Genetics of neuroinflammatory diseases. Venice, 2004. 9.29.
 9. Nakanishi M, Satoh J, Aranami T, Hirose G, Yamamura T: Lack of apolipoprotein E (ApoE) exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis. 7th International Congress of Neuroimmunology. Venice, 2004. 9.30.
 10. Satoh J, Nakanishi M, Koike F, Onoue H, Yamamura T: T cell gene expression profiling identifies molecularly and clinically distinct subgroups of multiple sclerosis. The 13th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience. Genome Analysis and Medicine. Tokyo, 2004. 12.7.
1. 佐藤準一、川井充、有馬邦正、山村隆：多発性硬化症脱髄巣反応性アストロサイトにおける 14-3-3 蛋白質各アイソフォームの発現。厚生労働省特定疾患対策研究事業免疫性神経疾患に関する調査研究班。平成 15 年度班会議。東京、2004. 1.28.
 2. 佐藤準一、中西恵美、尾上祐行、古池史子、山村隆：MS 患者と健常者の末梢血リンパ球遺伝子発現プロファイルの差異：MS におけるアポトーシス関連遺伝子群の発現異常。第 16 回日本神経免疫学会学術集会。東京、2004. 1.30.
 3. 中西恵美、佐藤準一、荒浪利昌、広瀬源二郎、山村隆：MS 患者と健常者の末梢血リンパ球遺伝子発現プロファイルの差異：ApoE 欠損マウスにおける実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)の重症化。第 16 回日本神経免疫学会学術集会。東京、2004. 1.31.
 4. 佐藤準一、中西恵美、尾上祐行、古池史子、山村隆：MS におけるアポトーシス関連遺伝子群の発現異常。第 45 回日本神経学会総会。東京、2004. 5.12.
 5. 中西恵美、佐藤準一、荒浪利昌、広瀬源二郎、山村隆：ApoE 欠損マウスにおける EAE の重症化。第 45 回日本神経免疫学会学術集会。東京、2004. 5.12
 6. 佐藤準一、尾上祐行、山村隆：培養ヒトアストロサイトにおいて 14-3-3 蛋白質は vimentin および GFAP と結合する。第 45 回日本神経病理学会総会学術研究会。前橋、2004. 5.26
 7. 佐藤準一、山村隆、有馬邦正：多発性硬化

国内学会

症脱髄巢反応性アストロサイトに発現する
14-3-3 蛋白質のアストログリオシスにお
ける役割. 第 21 回神経組織培養研究会 東
京、2004. 9.11.

8. Satoh J, Onoue H, Yamamura T: Upregulation of cerebellar degeneration-related genes in HEK293 cells following stable expression of the cellular prion protein. 第 47 回日本神経化学学会大会(第 27 回日本神経科学大会合同大会). Neuro2004. 大阪、2004. 9.22.
9. 佐藤準一、中西恵美、尾上祐行、古池史子、山村隆：末梢血 T 細胞の DNA マイクロアレイ解析による多発性硬化症の病型分類. 第 32 回日本臨床免疫学会総会 東京、2004. 10.8.
10. 佐藤準一、中西恵美、尾上祐行、古池史子、山村隆：末梢血 T 細胞遺伝子発現プロフィールに基づく多発性硬化症病型分類. 第 34 回日本免疫学会総会学術集会 札幌、2004. 12.1.
11. 佐藤準一、中西恵美、尾上祐行、古池史子、山村隆：末梢血 T 細胞の DNA microarray 解析による多発性硬化症の病型分類とインターフェロンベータ治療反応性. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 難治性疾患の画期的診断・治療法等に関する研究班. 平成 16 年度班会議. 東京、2004. 12.13.
12. 佐藤準一：多発性硬化症テラーメイド医

療に向けて. DNA マイクロアレイの可能性.
こころの健康科学研究推進事業. 多発性硬
化症フォーラム. 医療講演会・研究成果発
表会. 東京、2004. 12.25.

13. 佐藤準一：The 14-3-3 zeta isoform binds to heat shock protein HSP60 in human neural cells: a possible implication in prion diseases. 科学研究費補助金特定領域研究・感染の成立と宿主応答の分子基盤. 平成 16 年度 2 回全体班会議. 東京、2005. 1. 8
14. 佐藤準一、山村隆、尾上祐行、有馬邦正：多発性硬化症脱髄巢反応性アストロサイトにおける Nogo 受容体の発現. 厚生労働省 特定疾患対策研究事業 免疫性神経疾患に関する調査研究班. 平成 16 年度班会議. 東京、2005. 1.26.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

- 1) 多発性硬化症に対するインターフェロン・ベータ薬物治療の有効性予測法(特開 2004-28926)
- 2) 多発性硬化症特異的遺伝子発現プロフィールの解析(出願中)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

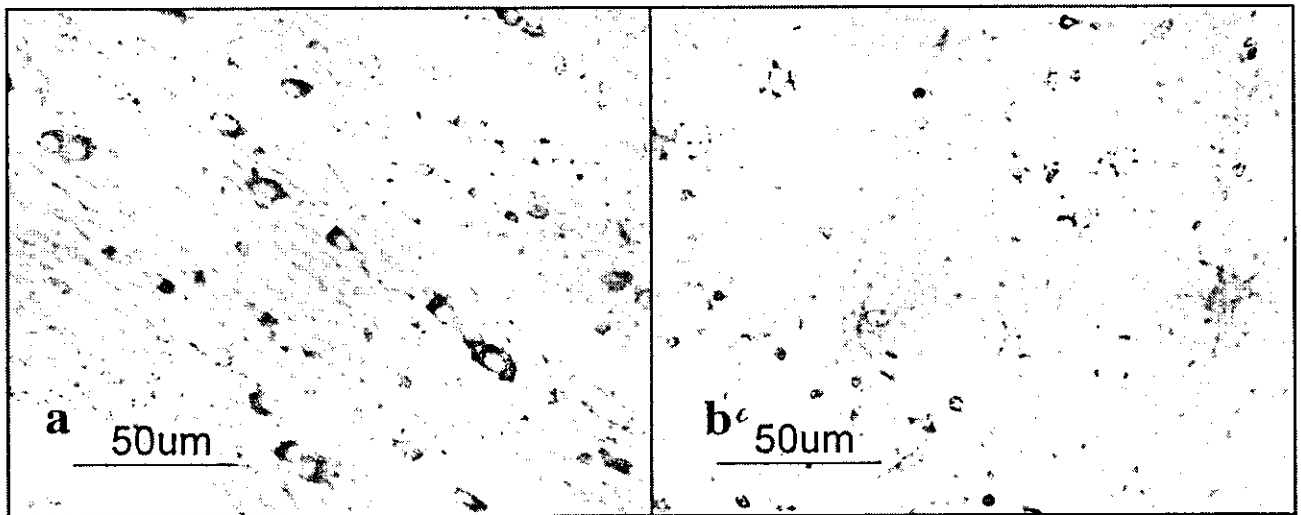


図1. 脱髄巣 surviving oligodendrocytes (a), reactive astrocytes (b)における Nogo-A (a), NgR (b)の発現.

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍名、 書籍全体の 編集者名	巻・頁・ 出版社・出版年 出版地
佐藤 準一、 山村 隆	サイトカインの生理活性-神経系. Overview.	別冊・医学 のあゆみ. サイトカイン -state of arts. (編集 宮坂信之、 宮島 篤)	pp 119-122 医歯薬出版 2004 東京
宮本 勝一、 山村 隆	サイトカインの病態への関与. 多発性硬化症.	別冊・医学 のあゆみ. サイトカイン -state of arts. (編集 宮坂信之、 宮島 篤)	pp 245-247 医歯薬出版 2004 東京

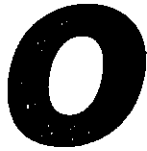
雑誌

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・頁・出版年
Oki, S., A. Chiba, T. Yamamura and S. Miyake	The clinical implication and molecular mechanism of preferential IL-4 production by modified glycolipid- stimulated NKT cells.	<i>J. Clin. Invest</i>	113: 1631-1640, 2004
Satoh, J-i., T. Yamamura, and K. Arima	The 14-3-3 protein ϵ isoform, expressed in reactive astrocytes in demyelinating lesions of multiple sclerosis binds to vimentin and glial fibrillary acidic protein in cultured human astrocytes.	<i>Am. J. Pathol</i>	165:577-592, 2004
Takahashi, K., T. Aranami, M. Endoh, S. Miyake, and T. Yamamura	The regulatory role of natural killer cells in multiple sclerosis.	<i>Brain</i>	127:1917-1927, 2004
Mizuno, M., M. Masumura, C. Tomi, A. Chiba, S. Oki, T. Yamamura and S. Miyake	Synthetic glycolipid OCH prevents insulinitis and diabetes in NOD mice.	<i>J. Autoimmun.</i>	23:293-300, 2004

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・頁・出版年
Hashimoto, D., S. Asakura, S. Miyake, T. Yamamura, L. Van Kaer, C. Liu, M. Tanimoto, and T. Teshima	Stimulation of host natural killer T cells by synthetic glycolipid regulates acute graft-versus-host disease by inducing Th2 polarization of donor T cells.	<i>J. Immunol.</i>	174:551-556, 2005
Ueno, Y., S. Tanaka, M. Sumii, S. Miyake, S. Tazuma, M. Taniguchi, T. Yamamura and K. Chayama	Single dose of OCH improves mucosal T helper type 1/T helper type 2 cytokine balance and prevents experimental colitis in the presence of V α 14 natural killer T cells in mice.	<i>Inflamm. Bowel Dis.</i>	11:35-41, 2005
Satoh, J., and T. Yamamura	Gene expression profile following stable expression of the cellular prion protein.	<i>Cell. Mol. Neurobiol.</i>	24:793-814, 2004
Yu, K.O.A., J.S. Im, A. Molano, Y. Dutronc, P.A. Illarionov, C. Forestier, N. Fujiwara, I. Arias, S. Miyake, T. Yamamura, Y.T. Chang, G.S. Besra, and S.A. Porcelli	Modulation of CD1d-restricted NKT cell responses by using N-acyl variants of α -galactosylceramides.	<i>Proc Natl Acad Sci USA</i>	102:3383-3388, 2005
Shimamura, M., K. Kobayashi, H. Watanabe, Y.-Y. Huang, N. Okamoto, O. Kanie, H. Goji, and M. Kobayashi	Generation of V α 14 NKT cells in vitro from hematopoietic precursors residing in bone marrow and peripheral blood.	<i>Eur.J.Immunol</i>	34:735-742, 2004
Kanda, T., Y. Numata, and H. Mizusawa	Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: decreased claudin-5 and relocated ZO-1.	<i>J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry</i>	75:765-769, 2004
Kanda, T., T. Ariga, H. Kubodera, H.L. Jin, K. Owada, T. Kasama, M. Yamawaki, and H. Mizusawa	Glycosphingolipid composition of primary cultured human brain microvascular endothelial cells.	<i>J. Neurosci. Res.</i>	78:141-150, 2004

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・頁・出版年
山村 隆	NKT 細胞のリガンドと Th1/Th2 バランス.	臨床免疫	41:14-17,2004
宮本 勝一, 山村 隆	多発性硬化症の新しい治療薬の開発.	Clinical Neuroscience	22:847-850, 2004
三宅 幸子	ナチュラルキラーT 細胞を標的とした多発性硬化症の糖脂質治療.	医学のあゆみ	208:449-453, 2004
神田 隆	血液脳関門の機能.	日本医事新報	4164:107-108, 2004

IV. 研究成果の刊行物・別刷


Key point

- ◎脳の炎症の場で活性化ミクログリア・アストロサイトは多彩な炎症性・抗炎症性サイトカインを産生する。
- ◎サイトカインは相互にネットワークを形成して Th1/Th2 バランス、炎症の増悪・寛解、脱髄・軸索傷害・神経再生を巧妙に制御している。

脳は免疫学的特権部位ではない

サイトカインは細胞が外界からの刺激に反応して産生・分泌する生理活性分子で、インターロイキン (interleukins : IL), インターフェロン (interferons : IFN), ケモカイン (chemokines), 栄養因子 (growth factors) などの総称である。長い間、中枢神経系はリンパ装置を欠くため、免疫学的特権部位 (immunoprivileged site) と考えられてきた。しかし、近年、グリア細胞・神経細胞が炎症・外傷・虚血に迅速に反応し種々のサイトカインを産生することがわかった¹⁾。また、外界からの刺激は末梢神経系・自律神経系を介して脳に入力され、視床下部・下垂体・副腎系 [hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis] を介して免疫系を制御することが解明され、脳は免疫応答回路の主要な部位に位置していることが明らかになった。さらに、最近、脳における免疫応答は Alzheimer 病・Parkinson 病での神経変性機序にも関与することが示唆されている²⁾。

本稿では多発性硬化症 (multiple sclerosis : MS) の発症機序の考察を通して脳におけるサイトカインの役割を概説する。MS 病態におけるサイトカインの役割の詳細は本書中、宮本・山村の「多発性硬化症」の項を参照のこと。

MS は視神経・大脳・脊髄など中枢神経系白質に炎症性脱髄巣が多発し、さまざまな神経症状が再発と寛解を繰り返して進行する難病である。急性期病巣では T 細胞・マクロファージ (macrophages : MPH) の浸潤を認める。回復期には髄鞘再生もみられるが、炎症が遷延化すると軸索傷害をきたし不可逆的な後遺症を残す。実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis : EAE) (サイドメモ) との臨床病理学的類似点から MS では未知の脳炎惹起性抗原に分子相同性を示すウイルスなどの外来抗原を認識する自己反応性 CD4⁺ 1 型ヘルパー T (Th1) 細胞が血液脳関門 (blood-brain barrier : BBB) を通過して中枢神経系組織内に浸潤すると考えられている³⁾。Th1 細胞はミクログリア (microglia : MCG)・アストロサイト (astrocytes : AST) により抗原提示を受けて再活性化され、Th1 サイトカイン (IFN- γ , IL-2, TNF- β) やケモカインを大量に産生する。IFN- γ により活性化された MPH, MCG は、TNF- α , nitric oxide (NO) を産生し、髄鞘形成細胞オリゴデンドロサイト (oligodendrocytes : OLG) の細胞死を誘導する。一方、2 型ヘルパー T (Th2) 細胞は、Th2 サイトカイン (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) を産生して Th1 細胞の機能を抑制する。また、活性化 Th1 細胞は自ら activation-induced cell death に陥り炎症は終息へと向かう。MS 急性増悪期は Th1/Th2 バランスが Th1 優勢に偏倚している (Th1 shift)。Th2 サイトカインを産生して自己反応性 T 細胞を制御する調節性細胞には Th2 細胞のほかに、CD4⁺

CD25⁺ T細胞, Th3細胞, Tr1細胞, natural killer (NK)細胞, NKT細胞が存在する。CD4⁺ CD25⁺, Th3, Tr1は, IL-1, TGF- β を, NKはIL-5を, NKTはIL-4を産生してTh1の機能を抑制する。また, 活性化MCG, ASTは, 多彩な炎症性・抗炎症性サイトカイン, 神経傷害因子・栄養因子を産生する。これらはネットワークを形成して炎症増悪・回復を制御する(図1)⁴⁾。

MCG, ASTによるTh1/Th2バランスの調節

一般にCD4⁺ T細胞への抗原提示には抗原提示細胞におけるclass II MHC抗原・副刺激分子の発現が必須であるが, 正常脳ではclass II MHC抗原の発現はほとんどみられない。培養系ではIFN- γ , TNF- α 刺激によりMCG, AST上にclass II MHC抗原とICAM-1の発現が誘導される。このうち外来抗原を細胞内に取り込みプロセッシングできるのはMCGだけである。MCGはペプチド抗原をTh1細胞とTh2細胞に提示可能であるが, ASTがペプチド抗原を提示可能なのはTh2細胞のみで, Th1細胞に対してはその増殖を抑制する⁵⁾。さらに, Th1細胞の分化・活性化にはT細胞上のCD40LとMCG上のCD40の結合およびMCGからのIL-12産生が必須である。ASTは, IL-12産生を欠き, PGE2を産生してMCGによるIL-12産生を抑制し, TGF- β 1, IL-10を産生してMCGのclass II MHC抗原とICAM-1の発現を抑制する⁵⁾。以上よりMCGは, Th1細胞を活性化して炎症増悪化に働き, 一方, ASTはTh2細胞を活性化してTh1 shiftを是正し, さらにMCGの機能を抑制して炎症寛解へと導くという図式が成立する。

OLG分化制御因子・傷害因子・神経栄養因子としてのサイトカイン

MS脱髄巣で髄鞘再生を担うのはOLG分化能を有する前駆細胞(OLG progenitor cells; OPC)である。OPCは成体脳グリアの5~8%を占め, PDGF, bFGFに反応して増殖する。TGF- β 1は脱髄巣反応性AST上にNotch ligand Jagged 1の発現を誘導し, これがOPC上のNotch 1と結合すると転写因子Hes5の発現を誘導してOLG分化を抑制する⁶⁾。また, 炎症性病巣のTNF- α , NO, reactive oxygen species (ROS), プロテアーゼはOLG傷害因子・軸索傷害因子として働く。TNF- α トランスジェニックマウス脳では脱髄とグリオシスを認める。脱髄巣の残存OLGはFasを高発現しており, これがMCG, AST, リンパ球上のFasLと結合するとOLGの細胞死が加速される。さらに, FasLは活性化T細胞のFasと結合するとT細胞のアポトーシスを誘導する。また, 反応性ASTが産生するCNTF, LIFはTNF- α によるOLGのアポトーシスを抑制する。CNTF欠損マウスではEAEが重症化する⁷⁾。MPH, MCG, ASTは炎症性サイトカインに反応して誘導型NO合成酵素(inducible NO synthase: iNOS)

サイド メモ

実験的自己免疫性脳脊髄炎

(experimental autoimmune encephalomyelitis: EAE)

感受性を示す系統のマウス, ラット, モルモット, ウサギ, サルを中枢神経系髄鞘蛋白質抗原で感作することにより発症を惹起できる脳脊髄炎である。経過は急性一過性または慢性再発寛解型を示し, 病理学的に著明な脱髄を認める系統もあり, MSの動物モデルとして解析されている。EAEを惹起する抗原としてはmyelin basic protein (MBP), proteolipid protein (PLP), myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG), S100beta, butyrophilinが知られている。EAEはそれぞれの抗原の脳炎惹起性ペプチド部分(encephalitogenic epitopeともよぶ, たとえばS/JLマウスではMBP89-101, PLP139-151, B6マウスではMOG35-55)に特異的に反応するCD4⁺ Th1細胞を介して誘導される。再発時には異なるエピトープを認識するT細胞も誘導される(epitope spreading)。脱髄機序には抗体や補体の関与も示唆されている。

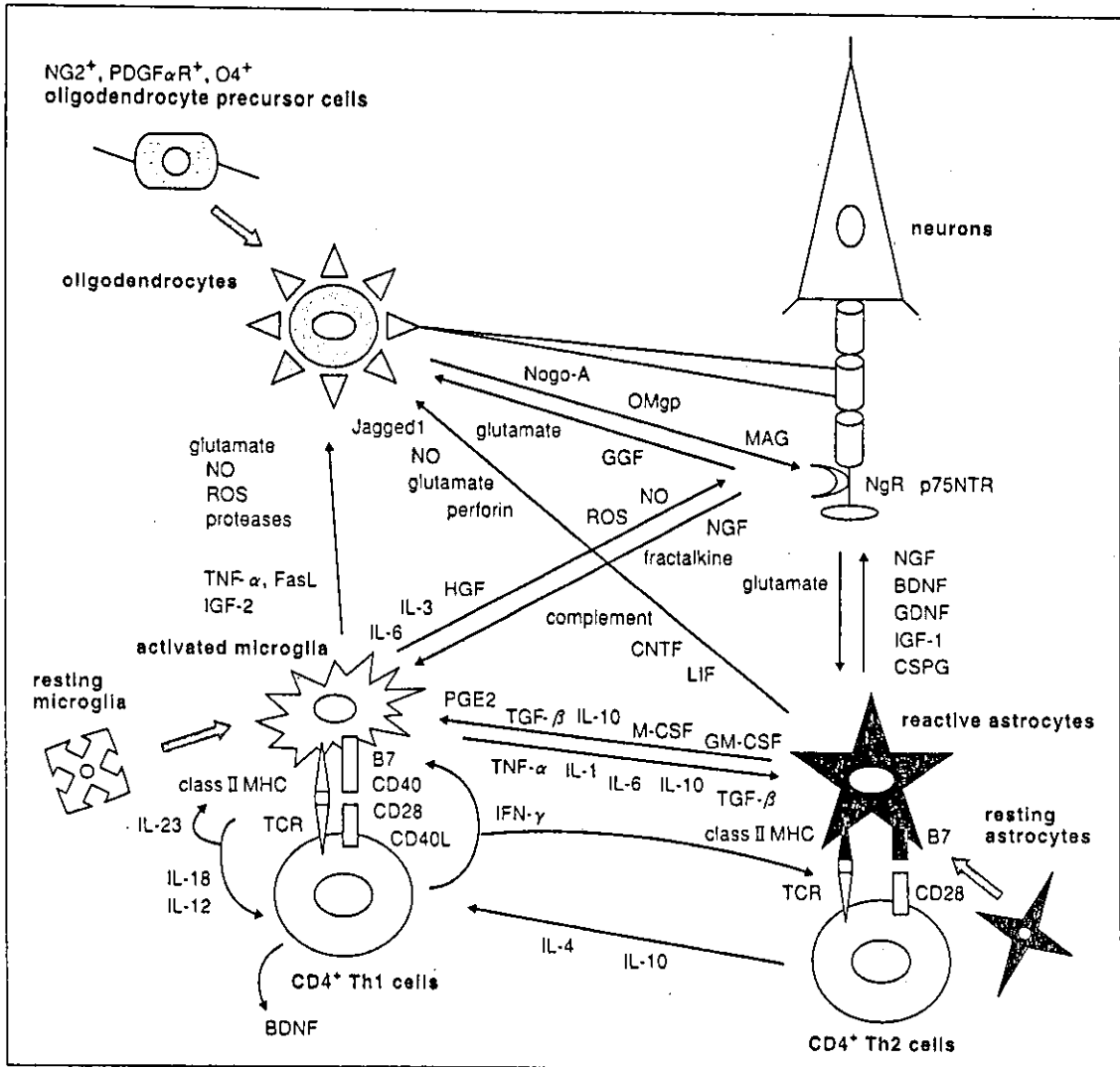


図1 脳の炎症の場合におけるサイトカインネットワーク (文献⁹⁾より改変)

活性化ミクログリアと反応性アストロサイトは、TNF- α 、IL-1、IL-6などの炎症性サイトカイン、IL-10、TGF- β などの抗炎症性サイトカイン、神経傷害因子と神経栄養因子を産生して、Th1/Th2バランス、炎症増悪・寛解、脱髄・軸索障害・神経再生を制御している。

OMgp : oligodendrocyte-myelin glycoprotein, MAG : myelin-associated glycoprotein, Ngr : Nogo receptor, p75NTR : p75 neurotrophin receptor, 他の省略形は本文参照。

を高発現しNO産生を増強する、NOはスーパーオキシド(O₂^{•-})と反応し活性窒素peroxynitrite(ONOO⁻)を生成してミトコンドリア電子伝達系障害を引き起こし、OLG細胞死や軸索傷害を増強する。

さらに、炎症巣のリンパ球やMPHはグルタミン酸を放出する。通常グルタミン酸はトランスポーターEAAT1(GLAST)、EAAT2(GLT-1)を介してASTに取り込まれるが、酸化ストレス下では細胞外へ逆行輸送され、グルタミン酸受容体を発現する神経細胞やOLGに対して細胞毒性を呈する⁸⁾。傷害神経細胞は、fractalkineを放出しMPH、MCGの遊走を促進する。また、陳旧性脱髄巣のASTは、TNF- α 、IL-1、IL-6、IFN- γ に反応して増殖・肥大化しグリア瘢痕を形成する。瘢痕はchondroitin sulphate proteoglycan(CSPG)に富み、軸索伸長に対して障壁となる。一方、反応性ASTは、NGF、BDNF、GDNF、IGF-Iを産生して神経細胞の生存や髄鞘再生を促進する。MS病巣の浸潤リンパ球はBDNFを産生し、gp145trkBを発現する神経細胞の生存を促進する⁹⁾。また、視神経損傷部位に移植した活性化MPHは神経再生を促進する。さらに、ミエリン塩基性蛋白質特異的T細胞は傷害神経細胞の電氣的活動を抑制して細胞死から防御する。

文献

- 1) Allan, S. M. et al. : *Nat. Rev. Neurosci.*, **2** : 734-744, 2001.
- 2) Nguyen, M. D. et al. : *Nat. Rev. Immunol.*, **3** : 216-227, 2002.
- 3) Wingerchuk, D. M. et al. : *Lab. Invest.*, **81** : 263-281, 2001.
- 4) 佐藤準一 : *BRAIN MEDICAL*, **15** : 15-20, 2003.
- 5) Aloisi, F. et al. : *Immunol. Today*, **21** : 141-147, 2000.
- 6) John, G. R. et al. : *Nat. Med.*, **8** : 1115-1121, 2002.
- 7) Linker, R. A. et al. : *Nat. Med.*, **8** : 620-624, 2002.
- 8) Matute, C. et al. : *Trends Neurosci.*, **24** : 224-230, 2001.
- 9) Hohlfeld, R. et al. : *J. Neuroimmunol.*, **107** : 161-166, 2000.

* * *

サイトカインの病態への関与

自己免疫疾患・アレルギー

多発性硬化症

Multiple sclerosis

Key point

- 多発性硬化症 (MS) は代表的な自己免疫疾患であり、自己反応性 Th1 細胞が病態に深く関与している。
- IFN- γ , IL-12, IL-23 など Th1 細胞を活性化するサイトカインは病態を増悪させ、IL-4, IL-10, IL-13 などの Th2 サイトカインは病態を改善させる方向に作用すると考えられる。
- しかし、すべての症例において Th1 制御が有効であるか確証はない。
- なお、関節リウマチと異なり MS には TNF- α 阻害剤は無効である。

多発性硬化症 (multiple sclerosis : MS) は、大脳、脊髄、視神経などに炎症性脱髄病変を多発する疾患であり、代表的な中枢神経系の炎症性疾患である¹⁾。これまで日本では視神経と脊髄に病変の限局する症例が多いといわれてきた。しかし、近年大脳に病変の多発する“欧米型 MS”が 80% 以上を占めるようになってきており、すくなくとも若年者については欧米の MS と大きな違いがないようである。病因についてはミエリン塩基性蛋白 (myelin basic protein : MBP) などの自己抗原に対する免疫反応 (T 細胞および B 細胞) が関与する自己免疫疾患であり、とくに Th1 細胞が脳内炎症の引き金を引く重要な細胞成分であると考えられている。一卵性双生児の研究などから発症には遺伝因子と環境因子の双方が複雑に作用すると考えられている。治療法としては急性期にはステロイドパルス療法を行うが長期的な予後を改善する治療として最近では慢性期のインターフェロンベータ (IFN- β) 自己注射が推奨されている。

MS の病態

実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis : EAE → サイドメモ) の研究から MS においても中枢神経髄鞘を標的とする Th1

宮本勝一, 山村 隆 / 国立精神・神経センター神経研究所・免疫研究部

Katsuichi Miyamoto and Takashi Yamamura

細胞の役割が推測されてきた。患者末梢血 T 細胞を利用した研究結果や治療薬に対する反応性の解析結果はこの仮説を支持している。

Th1 細胞は病原体を貪食したマクロファージの活性化に必須であり、IFN- γ , IL-2 などの Th1 サイトカインを産生する。MS の病変部位で活性化 CD4 陽性 T 細胞が検出できること、MS 治療薬コポリマー I の投与によって Th2 シフトが起こることなど、MS が Th1 細胞を介する病気であることを支持する知見が数多くみられる。また、治療効果が期待された MBP アナログの投与が一部の症例で激しい再発を誘導した事実も、MS における Th1 自己反応性 T 細胞の重要性を示唆する²⁾。しかし、病理所見で補体の沈着が顕著な症例、CD8 陽性細胞がめだつ症例、血漿交換が有効な症例もあり、“MS は Th1 病”という単純なとらえ方には無理がある。脳内の炎症を惹起するには脳血管液関門が破綻する必要がある。Th1 細胞はその最初のプロセスに重要な役割を果たす。しかし、ひとたび炎症がはじまれば抗体やマクロファージがさまざまなレベルで関与すると考えられる。

MS 病態に関与するサイトカイン

他稿でも詳述されているが、Th 細胞はサイトカイン産生パターンによって Th1 細胞と Th2 細胞に区別される。Th1 細胞は、IFN- γ や IL-2、Th2 細胞は IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 などをおもに産生する。IL-12 は Th1 細胞の誘導を促進し、IL-4 は Th2 細胞への分化に重要である。Th1 細胞と Th2 細胞は産生サイトカインによってたがいに制御しあっており、健常時には Th1 と Th2 の平衡が保たれている。Th1/Th2 バランスという観点で MS の病態を考えた場合、IFN- γ , IL-2, IL-3, IL-12, IL-18 など Th1 細胞の働きを補助するサイトカインは、MS の病態を増悪させる方向に働き、IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, IL-21 などの Th2 サイトカインは脳炎惹起性 Th1 細

サイドメモ

実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE)

中枢神経系の炎症病変に起因する麻痺症状を引き起こす MS の動物モデルである。ミエリン塩基性蛋白や MOG などの髓鞘蛋白を感作抗原としてアジュバントとともに接種することによって誘導される。感作後 10 日前後で尻尾の麻痺が現れ、その後不安定な歩行、下肢麻痺、上肢麻痺と症状が進行するが、自然に回復することが多い。抗原特異的な Th1 細胞が炎症の引き金を引き、Th2 偏倚を誘導するような操作によって症状が軽快する。

サイトカインの病態への関与

自己免疫疾患・アレルギー

胞を制御する方向に働くものと理解される。一方、治療薬として処方されている IFN- β には脳血液関門を安定化させて MS の再発を低下させる効果がある。以下に MS の病態に関与するおもなサイトカインについて論じる。

1. IFN- γ

T細胞依存性のマクロファージ活性化の中樞を担う代表的な Th1 サイトカインであり、抗原刺激された Th1 細胞の生成を促進し Th2 細胞を抑制する。MS 患者の血液、髄液中での増加が確認されており、病態の進展に関与すると考えられる。サイトカインの機能に関する情報の乏しい 1980 年代に、IFN- γ を患者に投与する臨床試験が行われた。しかし、病状の悪化する患者が多く中止された³⁾。この不幸な臨床試験の結果は MS が Th1 細胞を介する病気であることを裏書きする事実として、しばしば引用されている。

2. IFN- β

MS がウイルス性疾患であると信じられた時代に、その抗ウイルス作用を期待されて IFN- β の試験が行われた。その結果、再発回数の減少、MRI で描出される病変数の低下などの効果が確認され、MS の病態を修復する薬剤 (disease modifying agent) として認可された。現在では内外で広く処方されているが、その作用機構については諸説ある。Th1/Th2 バランスの Th2 偏倚を強調する論文もあるが、著者らの DNA マイクロアレイを使った研究では確認できなかった⁴⁾。むしろ、IFN- β による抗炎症性蛋白の誘導やケモカインの抑制によって治療効果の一部が説明できるかもしれない。

3. TNF- α

TNF- α は、IFN- γ と同様に MS 患者の血液、髄液中において増加している炎症性サイトカインである。TNF- α を過剰発現させたマウスではマクロファージ浸潤やグリオシスを伴った脱髄病変を自然発症し、また EAE を誘導すると通常マウスよりも重症化する。培養細胞の実験では TNF- α がオリゴデンドロサイトを傷害することが明らかになっており、MS においても脱髄病変形成に関与していることが推測される。しかし、TNF- α の中和抗体や受容体阻害剤は、MS を抑制しないばかりか、MS 発症の誘因になることが示唆されている。その理由はまだ明らかになっていない。

4. Transforming growth factor (TGF)- β

細胞増殖や分化の抑制に働くサイトカインであり、MS 脳内病変ではアストロサイトに強く発現している。回復期の炎症終結に関与していると考えられている。また、抗原の経口免疫寛容を担う細胞を Th3 細

胞とよび、その細胞が産生する TGF- β が重要な役割を果たしているという報告もある。

5. IL-4

Th2 の増殖や分化を促進する重要なサイトカインで、その結果、IL-4 や IL-5 の産生を促す。また、マクロファージの活性化を抑えて IFN- γ 産生を抑制し、IFN- γ の作用自体に拮抗して Th1 免疫応答を阻害する。MS ではコポリマー I 投与後に抗原特異的 T 細胞の IL-4 産生亢進が確認されている。MS の寛解期では CD4 陽性の NKT 細胞において IL-4 産生能が亢進している⁵⁾。IL-4 は MS の寛解維持に関与するサイトカインと考えられる。

6. IL-5

MS 寛解期の患者から分離した NK 細胞では健常人のものに比べて CD95 弱陽性細胞の比率が増加しており、IL-5 mRNA 発現レベルが著明に上昇していることがわかっている。その NK 細胞を PMA/ionomycin で刺激すると培養上清中の IL-5 濃度は健常人群に比べて有意に亢進している⁶⁾。このような性格をもつ NK 細胞は NK2 細胞と分類されるようになってきたが、MS 再発時には NK2 の傾向は消失している。NK2 細胞には Th1 細胞の誘導を抑制する働きがあり、抗 IL-5 抗体でその働きが中和される。以上より、MS 寛解維持には NK 細胞が NK2 の働きを示して Th1 を抑制しており、この抑制に IL-5 が重要な役割を果たしているものと推測される。

7. IL-10

IL-4 と同様、Th2 細胞が産生するサイトカインで Th1 細胞の IFN- γ 産生を抑制する。MS 病変では血管周囲のマクロファージで強く発現しており、病変の炎症終結に重要な役割を果たしていると考えられている。IL-10 欠損マウスでは EAE が重症化する。また、低容量抗原を用いた経粘膜免疫寛容では IL-10 が重要な役割を果たす。このように、Th1 細胞の関与する自己免疫疾患において IL-10 は重要な制御因子である。

8. IL-12

抗原提示細胞由来の IL-12 は Th1 への分化に必須であり、MS の病態に深く関与していると考えられる。活動期 MS の病変部位では IL-12 が強く発現しており、髄液中 IL-12 も上昇している。IL-12 は p35 と p40 のヘテロダイマーとしてはじめて生理活性を示す。機能的 IL-12 は浸潤マクロファージや活性化ミクログリアから産生されていると考えられている⁷⁾。

9. IL-18

IL-18 は多様な細胞から産生され、おもに Th1 サイトカイン産生に関与する。IL-18 単独では T 細胞

やNK細胞に少量のIFN- γ を産生させるのみであるが、IL-12の存在下では大量のIFN- γ 産生を促す。EAE誘導時にIL-18を投与するとEAE症状は悪化する。逆にIL-18に対する抗体を投与すると、IFN- γ やTNF- α の産生抑制とIL-4の産生亢進を伴ってEAEは抑制される⁸⁾。MSでは末梢白血球のmRNAレベルにおいてIL-18が増加しており、とくに二次進行型の症例において顕著であった。また、血清や髄液中のIL-18もMS患者で増加しているという報告もある。

10. IL-23

IL-23はIL-12のファミリーであり、メモリーT細胞、マクロファージ、樹状細胞などから産生される。IL-12とはすこし異なり、IL-23はp19とp40で構成されている。これらサブユニットのノックアウトマウスを用いたEAEの実験ではp19KOではTh1細胞の分化やIFN- γ 産生が正常であるにもかかわらずEAEがまったく誘導されなかった。しかし、p19KOにEAE感作8日目にIL-23を投与するとEAEは発症し、IL-12の投与ではまったく発症しなかった。一方、p40KOではEAEはまったく生じず、IFN- γ 産生は低下していた。これらの結果からIL-23はEAEにおいて重要であり、とくに中後期の炎症維持に必要であると考えられる⁹⁾。MSにおいてもIL-23をターゲットにした治療法が今後期待される。

MS治療とTh2サイトカイン

脳炎惹起性Th1細胞のかかわる病態を是正するという観点から、種々のMS治療の試みがなされている。IL-4を直接投与する方法はEAEでは有効であったが、MS患者では副作用の問題から失敗に終わった。また、自己抗原を投与し免疫寛容を誘導するという方法はEAEではIL-10やIL-13などTh2サイトカイン産生が促され、治療効果をもたらした。Weinerらはbystander suppressionという抗原非特異的な抑制効果を期待して、MSに中枢神経ミエリンを経口投与したが、有意な治療効果は証明できなかった。

著者らが開発した新規糖脂質リガンドによる治療はnatural killer T (NKT)細胞を介して選択的にTh2サイトカインであるIL-4を産生させるという方法である。EAEの誘導時にその糖脂質(OCHと命名)を経

口投与するとTh1/Th2バランスが是正されEAEは有意に軽症化した¹⁰⁾。幸いマウスとヒトのNKT細胞は同じリガンドに反応するため、このEAEの成果がMS治療に応用できる可能性が期待できる。

おわりに

本稿で述べたように、MSの病態にはさまざまなサイトカインが関与している。従来MSはTh1病であるという考え方が主流で、Th1サイトカインは悪玉で、Th2サイトカインは善玉とされてきた。しかし、生体内での作用は複雑であり、同じサイトカインが状況によっては増悪にも保護的にも作用しうる可能性があり、また抑制的に働くはずのTh2免疫応答が症例や病期によっては有害であることも報告されている。Th1細胞がおもに関与するようなEAE類似の病態と抗体の関与の大きい病態を切り離して議論する必要が生じている。すなわち、MSの免疫分子論的な亜分類が今後の研究の焦点のひとつになっている。また、サイトカインとMSの病態を考えると、単にTh1/Th2バランスという観点だけではなく、Th細胞以外の免疫系細胞も含めた病態との相関関係を考慮しながらサイトカインの解析を進めていく必要がある。一度に多数の分子発現を解析するDNAマイクロアレイなどの導入によって、これまでに注目されていないサイトカイン、またはサイトカイン様物質の重要性が今後明らかになる可能性も十分にある。

文献

- 1) McDonald, W. I. et al. : *Ann. Neurol.*, 50 : 121-127, 2001.
- 2) Bielekova, B. et al. : *Nat. Med.*, 6 : 1167-1175, 2000.
- 3) Panitch, H. S. et al. : *Neurology*, 37 : 1097-1102, 1987.
- 4) Koike, F. et al. : *J. Neuroimmunol.*, 139 : 109-118, 2003.
- 5) Araki, M. et al. : *Int. Immunol.*, 15 : 279-288, 2003.
- 6) Takahashi, K. et al. : *J. Clin. Invest.*, 107 : R23-29, 2001.
- 7) Suzumura, A. et al. : *Brain Res.*, 787 : 139-142, 1998.
- 8) Shi, F. D. et al. : *J. Immunol.*, 165 : 3099-3104, 2000.
- 9) Cua, D. J. et al. : *Nature*, 421 : 744-748, 2003.
- 10) Miyamoto, K. et al. : *Nature*, 413 : 531-534, 2001.