

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患克服研究事業)

免疫性神経疾患に関する調査研究
(H14-難治-16)

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 吉 良 潤 一
(九州大学大学院医学研究院神経内科学 教授)

平成 17 年 (2005) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告	3
主任研究者：九州大学大学院医学研究院神経内科学 吉良 潤一	
II. 分担研究報告	
McDonald 診断基準の日本人 MS への適用とその課題	
1. アジアにおける多発性硬化症の特徴と疾患分類・診断の問題点 —新たな診断基準 (McDonald 2001) における「除外基準」の妥当性を中心に—	17
北海道大学大学院医学研究科神経内科学 菊地 誠志、他	
2. 視神経脳幹脊髄型多発性硬化症診断基準と脊髄 MRI 病変	20
国立病院機構宇多野病院 齋田 孝彦、他	
3. 新潟大学で経験した多発性硬化症 clinically isolated syndrome	23
新潟大学脳研究所神経内科学 田中 恵子、他	
MSの検査・治療	
4. インターフェロンβ導入後の多発性硬化症の再発に関する臨床的検討	26
山口大学大学院医学研究科脳神経病態学 神田 隆、他	
5. 多発性硬化症における事象関連電位	29
東京理科大学理学部 太田 宏平、他	
6. 3 tesla MRI/MRS による optospinal MS の normal-appearing gray/white matter の機能評価	31
新潟大学脳研究所神経内科学 田中 恵子、他	
MSの病理	
7. 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	34
国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部 山村 隆、他	
8. 共焦点レーザー顕微鏡を用いたバリアー浸潤の解析： 急性期多発性硬化症患者リンパ球では Th1 細胞優位の浸潤がみられる	37
山口大学大学院医学研究科脳神経病態学 神田 隆、他	
9. 視神経脊髄型及び通常型多発性硬化症剖検例の病理学的比較解析	40
東北大学大学院医学系研究科神経内科学 糸山 泰人、他	

MSの免疫機序

10. *Helicobacter pylori* 感染の日本人多発性硬化症における意義..... 42
九州大学大学院医学研究院神経内科学
吉良 潤一、他
11. 視神経脊髄型多発性硬化症における髄腔内 IL-17/IL-8 系の活性化..... 44
九州大学大学院医学研究院神経内科学
吉良 潤一、他
12. 視神経脊髄炎/視神経脊髄型多発性硬化症に特異な血清自己抗体 (NMO-IgG) 47
東北大学大学院医学系研究科神経内科学
糸山 泰人、他
13. 多発性硬化症における血管関連因子の検討..... 49
九州大学大学院医学研究院神経内科学
吉良 潤一、他
14. 血清 MMP-3 は多発性硬化症の疾患活動性と相関する..... 52
千葉大学医学部附属病院神経内科
桑原 聡、他

MSの免疫調節

15. 活動期多発性硬化症患者髄液中に増加する CD4⁺CD25⁺細胞の解析..... 54
国立病院機構宇多野病院臨床研究部
松井 真、他
16. 多発性硬化症と調節性 NK 細胞 : CD95 high CD11c + NK 細胞の役割..... 56
国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部
山村 隆、他
17. 多発性硬化症患者における TRAIL および TRAIL レセプター遺伝子多型の検討..... 59
北海道大学大学院医学研究科神経内科学
菊地 誠志、他

脳脊髄炎の免疫病態

18. 小児神経疾患患者の髄液中神経栄養因子の検討—急性散在性脳脊髄炎を中心に—..... 61
九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野小児科学
原 寿郎、他
19. 急性散在性脳脊髄炎の髄液サイトカイン・ケモカインプロファイル 64
九州大学病院神経内科
村井 弘之、他
20. 非ヘルペス性辺縁系脳炎の髄液中サイトカインの検討 67
山口大学医学部生殖・発達・感染医科学
古川 漸、他

21. 免疫性疾患に合併した辺縁系脳炎 3 例の特異的抗神経抗体の検討.....	70
北里大学医療衛生学部リハビリテーション科	
齋藤 豊和、他	
22. 末梢血および髄液リンパ球細胞内サイトカイン同時検索の臨床的意義.....	74
国立病院機構宇多野病院臨床研究部	
松井 真、他	
23. 神経 Sweet 病について (続報)	76
国立病院機構宮城病院臨床研究部	
久永 欣哉、他	
24. Neuro Sweet 病の一部検例.....	79
北里大学医療衛生学部リハビリテーション科	
齋藤 豊和、他	
EAEの制御機構と新規治療薬の開発	
25. 実験的自己免疫性脳脊髄炎における低分子ヘパリンの効果.....	81
信州大学医学部保健学科	
高 昌星、他	
26. 実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) における プロスタグランジン D 合成酵素の誘導とその制御	84
信州大学医学部保健学科	
高 昌星、他	
27. Rho kinase inhibitor による実験的自己免疫性脳脊髄炎の治療.....	88
九州大学病院神経内科	
村井 弘之、他	
28. 実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) における ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤の治療効果.....	90
金沢医科大学神経内科	
酒井 宏一郎、他	
脱髄モデルにおけるグリアの役割	
29. 脱髄性自己免疫疾患の病態におけるアストロサイト由来液性因子とその制御.....	93
国立長寿医療センター研究所	
田平 武、他	

30. アストロサイト由来の免疫抑制因子による EAE の治療 II;
組織学的解析と ligand の検索 96
国立長寿医療センター研究所
原 英夫、他
31. 中枢神経系の自己免疫性炎症性脱髄におけるミッドカインの役割について 99
名古屋大学環境医学研究所神経免疫
錫村 明生、他
32. 活性化 microglia により誘導される neuritic beading は神経細胞機能不全の一表象である 101
名古屋大学環境医学研究所神経免疫
錫村 明生、他
33. ウイルス性脱髄モデルを用いた免疫性脱髄関連分子の探索 103
金沢医科大学微生物学
大原 義朗、他

MGの臨床免疫

34. 重症筋無力症のクリーゼ予測因子に関する検討 105
金沢大学保健管理センター
吉川 弘明、他
35. 重症筋無力症の難治症例に対する cyclosporinA (ネオーラル) の使用経験 108
名古屋市立大学大学院医学研究科腫瘍・免疫外科学
藤井 義敬、他
36. 重症筋無力症のシグナル解析 111
東北大学大学院医学系研究科神経内科学
糸山 泰人、他

MGの IgG 抗体の作用

37. コンプリメンタリーペプチドモノクローナル抗体による
重症筋無力症患者血清中の idiotype 抗体の測定-第2報- 114
藤井政雄記念病院
荒賀 茂、他
38. Seronegative (抗 AChR 抗体陰性・抗 MuSK 抗体陰性) MG の passive transfer 116
国立病院機構長崎神経医療センター神経内科
松尾 秀徳、他
39. 重症筋無力症 IgG が骨格筋培養細胞の遺伝子発現ならびに
アセチルコリン受容体クラスター形成に及ぼす影響 118
金沢大学保健管理センター
吉川 弘明、他

HAM/TSPの発症機序

40. HAM/TSP 発症を規定するウイルス因子・宿主因子の異なる民族間での比較検討
—イランと鹿児島における解析— 120
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科神経内科・老年病学
納 光弘、他
41. HTLV-I キャリアーにおける
HTLV-I 関連脊髄症 (HAM/TSP) 発症リスク計算式の有用性の検討 124
鹿児島大学医学部難治ウイルス病態制御研究センター
出雲 周二、他
42. HAM における CTL の多様性と HTLV-I ウイルス量およびウイルス変異の検討 127
鹿児島大学医学部難治ウイルス病態制御研究センター
出雲 周二、他
43. HTLV-I 関連脊髄症における IFN- γ 産生亢進に關与する IL-2 シグナリングの解析 129
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染分子病態学
中村 龍文、他

免疫性神経疾患全国調査

44. 多発性硬化症全国臨床疫学調査 132
九州大学大学院医学研究院神経内科学
吉良 潤一、他
45. 多発性硬化症患者の QOL 構成要素に関する予備調査 136
北海道大学大学院医学研究科神経内科学
菊地 誠志、他
46. 重症筋無力症全国臨床疫学調査計画案 139
九州大学病院神経内科
村井 弘之、他

Crow-Fukase 症候群の全国症例調査と治療法の開発

47. Crow-Fukase 症候群の全国疫学調査 2004 141
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科神経内科・老年病学
納 光弘、他
48. M 蛋白血症を伴う多発神経炎における骨髄内形質細胞の検討 145
信州大学医学部第三内科
池田 修一、他
49. Crow-Fukase 症候群に対する自己末梢血幹細胞移植を伴う高用量化学療法 147
千葉大学医学研究院神経病態学
桑原 聡、他

GBS 及び関連疾患の臨床免疫

50. Fisher 症候群と Bickerstaff 脳幹脳炎の異同：多数例での検討..... 149
独協医科大学神経内科
結城 伸泰、他
51. *Campylobacter jejuni* が分離された神経疾患の臨床像..... 152
独協医科大学神経内科
結城 伸泰、他
52. 自己免疫性ニューロパチーにおける血中 TRAIL 濃度の検討 155
広島大学病院脳神経内科
郡山 達男、他
53. 免疫性神経疾患における種々熱ショック蛋白に対する
血清・髄液中特異抗体の検出とその意義..... 159
札幌医科大学医学部神経内科
松本 博之、他

GBS 及び関連疾患における抗脂質抗体

54. 免疫性ニューロパチーにおける血中の抗糖脂質抗体活性に及ぼすリン脂質の影響..... 163
近畿大学医学部神経内科
楠 進、他
55. Ganglioside complex に対する抗体をもつ Guillain-Barré 症候群の臨床的解析..... 165
近畿大学医学部神経内科
楠 進、他
56. 抗 GM1b, 抗 GalNAc-GD1a 抗体陽性患者の疾患スペクトラム..... 168
独協医科大学神経内科
結城 伸泰、他

CIDP の臨床免疫と治療法の開発

57. 呼吸障害を呈した慢性炎症性脱髄性多発根神経炎の臨床的検討..... 172
広島大学病院脳神経内科
郡山 達男、他
58. 慢性炎症性脱髄性多発根神経炎における脊髄神経根の臨床放射線学的検討..... 177
信州大学医学部第三内科
池田 修一、他
59. 慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチーの IVIg 治療反応性を規定する遺伝子背景
—HLA 多型を中心に— 179
名古屋大学大学院医学系研究科脳神経病態制御学
祖父江 元、他
60. 治療抵抗性 CIDP5 例のタクロリムス使用経験：
タクロリムス治療による血清サイトカインの変動 181
埼玉医科大学総合医療センター神経内科
野村 恭一、他

末梢神経障害の基礎的研究

61. 末梢神経における slow K⁺ channel の in vivo 評価法..... 184
徳島大学医学部神経内科
梶 龍兒、他
62. *Campylobacter jejuni* 由来蛋白による末梢神経伝導障害..... 187
九州大学病院神経内科
村井 弘之、他
63. ボツリヌス毒素の抗原性に関する検討..... 189
金沢大学保健管理センター
吉川 弘明、他

筋炎の臨床免疫

64. 多発筋炎 (PM) /皮膚筋炎 (DM) の臨床像と病理像の関連性の解析..... 191
東京大学医学部神経内科
清水 潤、他
65. C型肝炎ウイルスと多発筋炎・皮膚筋炎の関連性に関する検討..... 193
東京大学医学部神経内科
清水 潤、他

抗神経抗体を介する免疫性神経疾患の発症機構

66. 傍腫瘍性小脳変性症関連抗原の ataxin-3 との相互作用 196
金沢医科大学神経内科
酒井 宏一郎、他
67. 橋本脳症の自己抗体の α -enolase における抗原認識部位の検索 199
福井大学医学部第二内科
米田 誠、他

- Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表 203

I. 總 括 研 究 報 告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

免疫性神経疾患に関する調査研究

主任研究者 吉良潤一 九州大学大学院医学研究院神経内科学教授

研究要旨

本研究班は、新しいメンバー構成で平成14年度に発足したものである。平成16年度はその第3年次にあたり、多くの成果をあげることができた。そのなかで、15年ぶりの多発性硬化症(MS)全国臨床疫学調査を実施し、全国の患者数を9,900人と推定し、視力低下で発症する患者が減少していることを示した。さらに、クロー・フカセ症候群の全国臨床疫学調査を行い、診断基準として血清 VEGF 高値を加えることで診断率が向上することを明らかにした。重症筋無力症(MG)も全国臨床疫学調査の調査項目を検討した。研究においては、以下のような成果が挙げられた。(1) ごく微量の髄液を用いて16種のサイトカイン・ケモカインを同時測定することが可能になり、これによりアジア人種に多発する視神経脊髄型MSではIL17/IL-8経路の髄腔内での活性化が病態形成に深く関わっていることを明らかにした。(2) 髄液細胞の細胞内サイトカイン産生能の解析法を樹立し、視神経脊髄型MSと通常型MSの免疫動態の差や、活動期MSの特徴を明らかにした。(3) rho kinase 阻害薬、新規糖脂質 OCH、新規にクローニングした astrocyte-derived immune suppressor factor, COX, 5-LOX の阻害薬 phenidone, prostaglandin D 合成阻害薬 HQL79 による EAE の治療効果を見出した。(4) ヒト脳血管内皮細胞培養系を用いてMS患者由来リンパ球ではTh1細胞が内皮細胞下に特異的に浸潤することを初めて明らかにした。(5) MG患者IgGがAChR clusterに与える影響は病型ごとに異なることを示した。(6) GBS患者血清中の抗ガングリオシド抗体が、ガングリオシドとリン脂質の複合体や複数のガングリオシド複合体を認識することを初めて明らかにした。(7) CIDPは髄液でIL-17などのTh1サイトカインが、血清ではTh1系に関連したTRAILが上昇し、Th1細胞の病態への関与が大きいことを明らかにし、治療抵抗性CIDPでのシクロスポリンの有効性を示した。(8)多数のHAM患者における網羅的な遺伝子解析により、新たに発症促進因子や発症抑制因子を同定し、さらにHAMのTh1偏向を起こすT細胞シグナル伝達異常としてIL-12R/STAT4およびp38MAPK系の異常な活性化が重要であることを明らかにした。(9) 傍腫瘍性神経症候群の抗原ペプチド特異的細胞傷害性T細胞をin vivoで誘導し得るシステムを確立し、さらにRi, Ma-2, CRMP-5のリコンビナント融合蛋白を作成し、一回の検査で迅速にスクリーニングが可能なシステムを樹立した。

分担研究者

糸山泰人 (東北大学大学院医学系研究科神経内科学), 納 光弘 (鹿児島大学大学院医歯学総合研究科神経内科・老年病学), 斎田孝彦 (国立病院機構宇多野病院), 田平 武 (国立長寿医療センター研究所), 荒賀 茂 (藤井政雄記念病院), 池田修一 (信州大学医学部第三内科), 出雲周二 (鹿児島大学医学部難治ウイルス病態制御研究センター), 太田宏平 (東京理科大学理学部第一部), 大原義朗 (金沢医科大学微生物学), 梶 龍兒 (徳島大学医学部附属病院神経内科), 神田隆 (山口大学大学院医学研究科脳神経病態学), 菊地誠志 (北海道大学大学院医学研究科神経病態学講座神経内科学), 楠 進 (近畿大学医学部神経内科), 桑原 聡 (千葉大学大学院医学研究院神経病態学), 高 昌星 (信州大学医学部保健学科生体情報検査学), 郡山達男 (広島大学病院脳神経内科), 斎藤豊和 (北里大学医療衛生学部リハビリテーション科), 酒井宏一郎 (金沢医科大学神経内科), 清水潤 (東京大学医学部附属病院神経内科), 錫村明生 (名古屋大学環境医学研究所神経免疫), 祖父江元 (名古屋大学大学院医学系研究科脳神経病態制御学), 田中恵子 (新潟大学脳研究所神経内科学), 中村龍文 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染分子病態学), 野村恭一 (埼玉医科大学総合医療センター神経内科), 原 寿郎 (九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野小児科学), 原 英夫 (国立長寿医療センター研究所), 久永欣哉 (国立病院機構宮城病院臨床研究部), 藤井義敬 (名古屋市立大学大学院医学研究科腫瘍・免疫外科学), 古川 漸 (山口大学医学部生殖・発達・感染医科学), 松井 真 (国立病院機構宇多野病院臨床研究部), 松尾秀徳

(国立病院機構長崎神経医療センター神経内科), 松本博之 (札幌医科大学医学部神経内科), 村井弘之 (九州大学病院神経内科), 山村 隆 (国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部), 結城伸泰 (獨協医科大学神経内科), 吉川弘明 (金沢大学保健管理センター), 米田 誠 (福井大学医学部第二内科)

A. 研究目的

本研究班では指定対象疾患である多発性硬化症 (MS), 重症筋無力症 (MG), ギラン・バレー症候群 (GBS), フィッシャー症候群 (FS), 慢性炎症性脱髄性多発神経炎 (CIDP), ルイス・サムナー症候群, クロウ・フカセ症候群, 並びに関連する免疫性神経疾患 (HAM, アトピー性脊髄炎, 傍腫瘍性神経症候群, 特発性筋炎等)について 1) 全国調査に基づいて疫学的特徴, 臨床像, 免疫遺伝学的背景, 現状の治療成績を明らかにすること, 2) 全国調査の分析結果からみた発症機序の解明をすること, 3) 発症機序に立脚した新しい画期的な治療法を開発すること, 及び 4) 発症予防法を発見することを目的とした。

B. 研究方法, 研究結果及び考察

研究全般を通して倫理的課題については以下のように取り扱った。患者の臨床検査データやサンプルを使用したり, 治療薬を投与したりするすべての臨床研究において十分なインフォームドコンセントを得た。さらに, 疫学調査では患者のプライバシーの保護に十分配慮し, 個人情報が出ないように細心の注意を払った。また, それぞれの施設内での倫理委員会での許可を得て研究を行った。動物を使用する研究は, 動物愛護の観点より各施設の動物実験に関する指針・マニユ

アルを遵守した。

(1) 多発性硬化症 (MS)

臨床・疫学・環境要因：吉良(九大)らは2003年に医療機関を受診したMS患者を対象に2004年にMSの全国臨床疫学調査を15年ぶりに実施した。わが国のMS患者数は総数9,900人と推定された。二次調査では1919例の詳細な調査データが集積された。今回は臨床病型の同定、一次性進行型MS、総合障害度調査(EDSS)、MRI所見、IFN β に対する治療反応性、末梢神経障害やシェーグレン症候群などの合併症の有無も含めた詳細な調査を行い、現在様々な角度から解析中である。

また菊地(北大)はMS患者のQOL調査の実施を目指して、様々なQOL尺度を用いた予備調査(FAMS, SF-36, NAS-J, SOC, EQ5D, SEIQOL-DW, EDSS)を20名のMS患者を対象に実施した。この結果、FAMSとSF-36は症状や疾患活動性と相関があり、EQ5Dは治療的介入などに対する効用値を測定するうえで有用であった。

菊地(北大)はMSのMcDonald診断基準を158例の日本人MS患者で検討し、アジア人種における同基準の適用の問題点を指摘した。斎田(宇多野病院)は視神経脳幹脊髄型MS 82例を含むMS 190例の脊髄MRIを調べ、欧米の診断基準を適用することの問題点を指摘した。田中(新潟大)はclinically isolated syndromeの概念は大脳病変を持つ患者の診断には有用であるが、脳幹や脊髄病変が主体の症例には適応が難しいことを示した。

Helicobacter pylori (HP)は生活の近代化に伴い感染率が減少するため、吉良(九大)は抗HP抗体陽性率を検索した。その結果、健常者、OS-MSに比し、C-MSで有意に低いことが示された。特に1950年代以降生まれでその傾向

が顕著であり、HPはC-MSの発症と進展に対して防御的に作用していることが明らかとなった。さらに、HPの産生するneutrophil activating protein (NAP)に対する抗体がOS-MSでのみ12.5%に陽性であり、OS-MSはHP-NAPに暴露されていることが示された。OS-MSの病巣には好中球の浸潤がみられることから、NAPによる好中球活性化がOS-MSの重度な病巣形成に寄与していることが示唆された。

検査法の進歩：田中(新潟大)は3テスラMRIを用いてMS患者大脳皮質・白質を非侵襲的に評価し、C-MS、OS-MSともにnormal appearing white matterでMRI拡散テンソル解析にてfractional anisotropy値の有意な低下と、磁気共鳴スペクトロスコピー(MRS)でのNAA/Cr値の有意な低下を認めた。このことはC-MSのみならずOS-MSでもMRI画像で異常の見られない時期にすでに大脳皮質・白質の障害が生じていることを示唆する。太田(東京理科大)はMSにおける事象関連電位を測定し、臨床的には軽度の症例でも高率に異常を検出でき、MSの大脳機能評価に有用であることを示した。

免疫病態に関する新知見：吉良(九大)は蛍光ビーズサスペンションアレイシステムを用いて、少量の髄液中の多種類のサイトカイン・ケモカインの多項目同時測定に成功した。16種類のサイトカイン・ケモカインを測定し、OS-MSではその他の非炎症性神経疾患(OND)、C-MSに比し、IL-17、IL-8、IL-5が有意に高値であることが初めて明らかとなった。しかも、IL-17、IL-8濃度は、EDSS、髄液蛋白値、髄液/血液アルブミン比、脊髄MRIでの病巣の長さとは有意な正の相関を示した。IL-17/IL-8系は好中球を活性化し局所に遊走させる。OS-MSでは病巣への好中球の浸潤が顕著であることから、髄

腔内での IL-17/IL-8 系の活性化が組織破壊に重要である可能性が考えられた。

山村(精神・神経センター)により MS 寛解期の約 75%で、CD95 陽性細胞の NK 細胞が健常者の平均値+2SD を越えることが判明した (CD95⁺NK-high 群)。この CD95⁺NK-high 群では MBP 反応性 memory T cell の頻度が高く、疾患活動性が高い状態と考えられた。

松井(宇多野病院)は髄液中の CD4⁺CD25⁺細胞の増加は、3 ヶ月以内に再発がみられた群でみられなかった群より有意に高く、活動期に増加する本細胞は CD25^{high} であること、制御性 T 細胞であることを明らかにした。また、髄膜脳炎の症例 2 例で末梢血と髄液において TNF α と IL-2 を測定したところ、末梢と髄腔内ではサイトカインの産生パターンが異なること、髄液では TNF α と IL-2 の両者を産生する細胞と TNF α のみ産生する細胞とに大別されることが明らかとなった。

MS ではこれまで MMP-9 が発症に関与していると考えられてきたが、桑原(千葉大)は BBB を分解しうる MMP-3 が再発後に有意に上昇し、疾患活動性評価の指標として応用できる可能性を示した。

糸山(東北大)により OS-MS の 60-70%に陽性で C-MS では検出されない血清自己抗体 NMO-IgG が発見された。本抗体の抗原はいまだ不明であるが、脳微小血管や軟膜を免疫染色することから血液脳関門に関連した分子が抗原となっている可能性がある。

菊地(北大)は TRAIL および TRAIL レセプター遺伝子多型の検討を行い、TRAIL exon5 の 1595CC 多型が MS 発症のリスク因子であることを示した。

MS の病理と血液脳関門の破綻機序: 糸山(東北大)は OS-MS の剖検例の検討を行ったところ、血管肥厚や硝子

化、免疫グロブリンや活性化補体の沈着など血管病変が高頻度にみられた。吉良(九大)は MS において毛細血管増殖や血管透過性を亢進させる血管関連因子を検索したところ、VEGF のみが MS の再発期で健常対照より有意に高値であった。VEGF は脊髄病巣の長さとの正の相関を示し、OS-MS では年齢との正の相関を示した。このことは OS-MS で発症年齢が高く脊髄病巣が高度であることをよく説明する。

さらに神田(山口大)は *in vitro* の血液脳関門(BBB)のモデルである、コラーゲン上に単層培養したヒト培養脳毛細血管由来内皮細胞上に健常者および多発性硬化症急性期患者から得られたリンパ球を播種し BBB を越える細胞群を検索したところ、健常者では Th2 が優位に浸潤したが、MS 急性期患者では Th1 細胞が優位に浸潤することが初めて観察された。したがって、MS の BBB の破綻には VEGF や MMP9 が寄与し主として Th1 細胞が BBB を越えることが考えられた。

山村(精神・神経センター)は MS 脱髄巣における Nogo 受容体の発現を検討した。Nogo は神経突起伸展抑制活性を呈する蛋白質であり、Nogo-A はオリゴデンドロサイトで、Nogo 受容体は反応性アストロサイトで高発現を認めた。

MS の治療効果のマーカー: 神田(山口大)は IFN β 導入後の再発を MS13 例で検討したところ、全身性エリテマトーデスや関節リウマチの診断基準は満たさないが、自己抗体やリウマチ因子が陽性の群で再発率が高く、同群で IFN β 治療効果が低い可能性があることを示した。

MS の動物モデルである実験的自己免疫性能脊髄炎(EAE)における新規治療法の開発: 村井(九大)、吉良(九大)は Rho kinase 阻害薬である fasudil の腹

腔内投与により EAE の発症が臨床的にも病理学的にも有意に抑えられることを見出した。Rho kinase 阻害薬は、アクチンやミオシンを介した細胞骨格の再編成に基づく細胞反応を制御することで血管系、免疫系に作用するのみならず軸索伸張作用も *in vitro* で報告されている。本薬剤はくも膜下出血術後の脳血管攣縮にわが国では既に使用され安全性が確立している薬剤であり、MS への臨床応用が今後期待される。

高(信州大)は EAE におけるリポカリン型プロスタグランジン D 合成酵素(L-PGDS)の発現を検討した。その結果、EAE 脊髄において L-PGDS の発現が亢進しており、選択的 L-PGDS 阻害薬 HQL-79 の投与で発症が有意に低下することを発見した。また、EAE の臨床症状の発現に先行して TAT が上昇し、回復に先行して TAT が低下することを明らかにした。これにより TAT 活性と臨床症状との間に正の相関があり、血漿中の TAT レベルが EAE の重症度のマーカーとなることを示した。EAE に低分子ヘパリンを投与することで EAE が抑制されること、血管周囲のフィブリン沈着が軽度となることを明らかにした。これらは MS の新規治療薬となり得ることが期待される。

ヒストンアセチル化酵素と脱アセチル化酵素(HDAC)のバランスにより T 細胞を含む細胞の活性化は制御されている。そこで、酒井(金沢医大)は HDAC 阻害剤の治療効果を EAE を用い検討したところ、EAE の最大平均臨床経過スコアが有意に抑制された。感作リンパ節細胞の抗原特異的増殖反応は抑制され、抗原刺激によるリンパ節細胞の INF- γ 産生も抑制された。したがって、HDAC 阻害剤は MS に治療効果がある可能性が示唆された。また

原(長寿医療センター研究所)は新規にクローニングされたアストロサイト由来の免疫抑制蛋白 (AdIF) を EAE に投与し、発症が抑制されることを観察し、そのリガンドを同定した。田平(長寿医療センター研究所)はマウスアストロサイト培養液を LPS 刺激し、上清中に分泌されるサイトカインを蛍光ビーズアレイシステムで測定し、LPS 刺激後の上清に炎症促進性・グリオシス誘導性サイトカインの増加を認めた。

錫村(名古屋大)は、ミッドカイン(MK)ノックアウトマウスを用いて EAE を誘導し、野生型との差を検討した。MK⁺マウス EAE では臨床症状が抑制されることを示した。さらにミクログリア由来のグルタミン酸が培養系で神経細胞の突起のビーズ様変性(neuritic beading)を起こし神経細胞障害因子となっていることを明らかにした

ウイルス性脱髄モデルを用いた脱髄機序の基礎的研究：大原(金沢医大)は免疫機序を介する脱髄を起こすタイラーウイルスの L 蛋白と相互作用を示す標的分子として clathrin-associated protein AP50 をクローニングした。*in vitro*, *in vivo* のいずれにおいても L 蛋白と AP50 の会合が証明された。AP50 はエンドサイトーシスに関与する分子で、免疫系の重要な負の調節因子である CTLA-4 の turnover に関連している。今後 L 蛋白、AP50, CTLA-4 の免疫機序を介するウイルス性脱髄における役割が明らかにされることで、MS においてウイルスの果たす役割を解明できる可能性が考えられる。

(2) 重症筋無力症 (MG)

MG の臨床免疫：村井(九大)らは、18 年ぶりとなる全国臨床疫学調査の計画案を作成した。対象患者は、平成

17年に診療した全てのMG患者とし、一次調査票の発送は平成18年1月、二次調査票の発送は平成18年4月と計画した。重点調査項目は、小児MGの臨床像の把握、抗AChR抗体陰性MGにおける治療効果の評価、術式の差による胸腺摘除術の効果、抗MuSK抗体陽性MGの臨床的特徴の把握、とした。吉川(金沢大)は140例のMGを対象に、クリーゼ予測因子に関する検討を行った。その結果、初診時の重症度、胸腺腫の有無、また胸腺腫例では初診時の抗AChR抗体価がクリーゼ予測因子として重要であることが示された。藤井(名古屋市大)は治療抵抗性MGにシクロスポリンA(ネオーラル)を使用して、良好な成績と安全性を確認できた。タクロリムスを何らかの理由で使用できないMG患者に対して使用することが可能となれば、治療の幅が広がると考えられる。糸山(東北大)は末梢血のT細胞依存性抗体産生能をケモカインCXCR5発現から、またMG胸腺の遺伝子発現をマイクロアレイを用いて正常胸腺と比較した。CXCR5陽性CD4⁺T細胞(TFH)は未治療MG患者で有意に増加しており、また重症例およびAChR抗体高値例で有意に増加していた。治療後THFは徐々に減少しており、MGではT細胞依存性抗体産生系が変調しており治療により正常化に向かうことが示された。MG過形成胸腺と正常胸腺をマイクロアレイで比較した結果、神経筋接合部関連遺伝子の発現異常は無く、アポトーシス関連分子の発現も正常であった。

MGにおけるIgG抗体の作用:荒賀(藤井政雄記念病院)はMGの自己抗体のエピトープAChR α の61-76に対するコンプリメンタリーペプチド抗体を用いてMG患者の抗イディオタイプ抗体測定を行い、抗AChR抗体陽性

MGの約1/3が陽性であり、一方、seronegative MGは全例陰性であることが示された。さらに抗AChR抗体活性を中和する抗イディオタイプ抗体をコンプリメンタリーペプチドを用いてヒト抗体産生マウスで誘導することに成功した。誘導された抗イディオタイプ抗体はヒト由来であるため安全に臨床応用が可能であることから、エピトープを標的としたオーダーメイド治療としての手段となり得ることが考えられた。松尾(長崎神経医療センター)は抗AChR抗体陰性・抗MuSK抗体陰性MG患者IgGのマウスへのpassive transferを行った。その結果、正常コントロールと比べMEPP振幅は低下していたがquantal contentの低下はなく、抗AChR抗体陽性MG患者IgGと類似した神経筋伝達障害を呈することが示唆された。

吉川(金沢大)は、MGの自己抗体による筋細胞機能への影響を調べるため、IgGを精製し、ラット骨格筋培養細胞に添加して共焦点レーザー顕微鏡によるAChR clusterの観察を行い、DNAマイクロアレイによる遺伝子発現の解析を行った。その結果、抗AChR抗体陽性MGのIgGはAChR clusterを減少させたが、抗AChR抗体陰性MGのIgGはAChR clusterを減少させる群とさせない群とがあった。遺伝子発現変化を階層型クラスター解析すると、抗AChR抗体陽性MGと同陰性MGとは別の群に分類されることが明らかとなった。

吉川(金沢大)はボツリヌス毒素A型(BTA)およびその中和抗体の作用課程解明を目的として、BTAの神経終末結合部位を同定した。その結果、神経終末結合部位はBTA H鎖上のN末端側とC末端側の両者に存在することが明らかとなった。

(3)ギラン・バレー症候群(GBS)・フ

イッシャー症候群 (FS) ・ 類縁疾患

結城(獨協医大)は FS 100 例と Bickerstaff 脳幹脳炎(BBE) 100 例で臨床像の比較を行い、FS と BBE の臨床像には強い相関がみられ、BBE は FS の亜型として位置付けられることを示した。

楠(近畿大)は GBS の急性期には、単一のガングリオシドではなく、二種類のガングリオシド分子の複合体を認識する例があることを初めて示した。なかでも、GD1a/GD1b 複合体を特異的に認識する抗体は人工呼吸管理の必要な重症例で有意に高いことが明らかとなった。また GBS の抗 GM1 IgG 抗体は、リン脂質(PA, PS, PI など)の共存下で抗体活性が増強し、一方、FS の抗 GQ1b IgG 抗体はそのような活性の増強はないことも証明した。

松本(札幌医大)は GBS, CIDP, MS において複数の抗 HSP 抗体を測定した。GBS および CIDP では全ての HSP 抗体が高値であったが、血清では有意な変化を認めなかった。MS では HSP 70 family に対する髄液抗体が高値を示し、免疫性神経疾患では疾患ごとに異なる特定の抗 HSP 抗体が免疫応答を修飾している可能性が示唆された。

結城(獨協医大)は *C. jejuni* が分離された神経疾患 105 例を系統的に調べた。その結果、GBS が 69%, FS 13%, GBS+FS 8% などであり、急性単相性で男性に多く、下痢が先行し、軸索障害を呈し、抗ガングリオシド抗体が認められる症例が多かった。また、微量ガングリオシドである GM1b および GalNAc-GD1a に対する抗体に関連した神経疾患のスペクトラムを多数例で検討した。診断は GBS が 69%, 腱反射の保たれた非典型的な GBS が 13% であった。FS とその関連疾患は合計 15% であった。

村井(九大)は *C. jejuni* 由来蛋白

C-Dps に対する抗体を多種類の神経疾患で測定したところ、抗体は *C. jejuni* 感染後 GBS でのみ陽性であり、さらに抗 C-Dps 抗体陽性率は *C. jejuni* 腸炎患者の陽性率よりも有意に高いことを観察し、C-Dps は sulfatide と特異的に結合することを見出した。また、Nerve growth factor (NGF)によりニューロンに分化させた PC12 細胞株に対して、C-Dps は膜表面に結合し細胞膜を傷害すること、C-Dps を *in vivo* で末梢神経に注入すると有意に伝導ブロックを起こすことを証明した。

(4) 慢性炎症性脱髄性神経炎 (CIDP) ・ ルイス・サムナー症候群、クロー・フカセ症候群

CIDP: 郡山(広島大)は GBS と CIDP の血中 TRAIL 濃度を ELISA で測定し、GBS では正常対照よりも有意に低値であるのに対し、CIDP では高値傾向であった。このことより血中 TRAIL 濃度はこの両者の鑑別に役立つことと、CIDP において TRAIL が病態機序に関与している可能性を示唆した。CIDP の発症には Th1 細胞の関与が大きいことがさらに支持された。

CIDP の IVIG に対する反応性を規定する要因の解析では、祖父江(名古屋大)が臨床的極期にある症例の生検神経を用いたマイクロレイ解析を施行して治療反応別の遺伝子発現量を検討した。遺伝子多型解析では一塩基多型 (SNP) 解析と HLA アリル多型解析を施行し、現時点で少なくとも 8 つほどの SNPs で治療反応別の有意な差が示された。

野村(埼玉医大)は難治性 CIDP 5 例において、タクロリムスを経口で投与した。タクロリムスはステロイド剤の治療効果を増強し、ステロイド剤の減量効果を有し、CIDP の再発抑制効果を示した。また、サイトカインの検討では、CIDP で増加している Th1 系サ

イトカインの IFN- γ を減少させた。難治性 CIDP の新たな治療法となり得る可能性がある。

池田(信州大)は頸部・腰部 MRI STIR 法にて CIDP 患者の神経根を観察し、これが電気生理学的伝導障害の程度を反映していることを明らかにした。

郡山(広島大)は呼吸障害を呈した CIDP の症例を検討し、その頻度は 35 例中 3 例(8.6%)とまれではないこと、予後不良例が多いこと、抗糖脂質抗体陽性率が高いこと、などの特徴があることを見いだした。

ルイス・サムナー症候群：末梢神経に遅い K⁺チャンネルがあることは知られていたが、最近 K⁺チャンネルの一つである KCN2-3 がランビエ絞輪に存在することが明らかにされた。梶(徳島大)はラットに KCN2-3 阻害薬 XE991 を投与し、前後で臨床的・電気生理学的に比較したところ、臨床的にラットは fasciculation 様の異常を呈し、電気生理学的にも持続時間の長い連続放電が認められたことより、チャンネルの機能低下が末梢神経の異常興奮を引き起こす可能性を指摘した。

クロウ・フカセ症候群：納(鹿大)は全国症例調査を実施した。2002 年の Dispenzieri らの診断基準では、多発神経障害と M 蛋白の存在が必須になっているが、わが国では M 蛋白は 75% にしか陽性でなく、本邦での患者にはこの診断基準はあてはまらず、むしろ診断基準として主要徴候に加えて血清 VEGF 値(>500 pg/ml)を用いることで、診断感度が上がることを明らかにし、新しい診断基準を作成した。二次調査で集積された 84 例の解析により、主要症状の頻度が明らかになるとともに末梢血幹細胞移植が有効であることが示された。

桑原(千葉大)は 4 名のクロウ・フカセ症候群に対し自己末梢血幹細胞移

植を伴う高用量化学療法を行い、その短期効果を検討した。その治療後の臨床症状の改善は劇的であり、浮腫や胸水の消失や神経症状の改善が 1-6 ヶ月で得られた。重篤な副作用はなく、本治療法はクロウ・フカセ症候群の第一選択の治療法となる可能性が示された。

池田(信州大)は M 蛋白血症を伴う多発神経炎における骨髄内異常形質細胞とその分化度をフローサイトメトリ法で検討した。その結果、患者群で CD45⁺MPC-1⁺CD49e⁺細胞が有意に増加していた。M 蛋白血症の産生に骨髄内の成熟型異常形質細胞が重要な役割を果たしていることが示唆された。

(5) HAM

納(鹿大)はすでに多数例の HTLV-I 感染者の遺伝的背景の検索により、HAM 発症の促進因子として、HLA-DRB1*0101, B*5401, TNF- α 893A/C SNP: A allele, Aggrecan VNTR 1630bp allele, MMP-9 promotor d(CA)n repeat の延長、発症抑制因子として、HLA-A*02, Cw*08, IL-10 promotor -592 A/C SNP: A allele, Vitamin D receptor exon 9 ApaI 多型, SDF-1 -801A3' UTR を同定していたが、今回はこれが民族的背景が異なるイランの発症者でも当てはまるかを検討した。イランのコホートでは、HLA-A*02, Cw*08 の抑制効果は認められないものの、HLA-DRB1*0101 の発症促進効果は認められた。

出雲(鹿大)は過去に報告した HAM 発症リスク計算式の有用性を検討するべく、無症候性キャリアに適應して、HAM 発症の Odds 比を算出した。Odds 比の高い群では下肢腱反射亢進、腹壁反射の消失を示す症例の割合が有意に高いことを見いだした。また、ウイルス排除に働く HTLV-I 特異的細胞傷

害性 T リンパ球(CTL)の頻度, 機能的多様性などを検討した. その結果, HTLV-I ウイルス量と CTL の機能的多様性とは正の相関傾向を示し, 構造的多型性とは負の相関を示すことを見いだした.

中村(長崎大)は IL-2/IL-2R から p38 MAPK に至るまでのシグナル伝達系が HAM 患者における IFN- γ , HTLV-I p19 の発現にどう関与しているかを解析した. その結果, IFN- γ , HTLV-I p19 の発現は IL-2, p38 MAPK の阻害では抑制されたが, IL-2R のすぐ下流の JAK3 の阻害では抑制されず, シグナリングの課程で JAK シグナルとは別のシグナルが関与していることを証明した.

(6) 傍腫瘍性神経症候群・その他の抗神経抗体を介する神経障害

傍腫瘍性神経症候群: 酒井(金沢医大)は抗 Yo 抗体が出現する傍腫瘍性小脳変性症(PCD)において, PCD 関連抗原が ataxin-3 との間に相互作用を示すことを明らかにした. PCD 関連抗原は, 正常型及び変異型 ataxin-3 との間の異なる親和性の相互作用を介して, これらの蛋白の細胞質と核における局在に調節的作用を示している可能性がある.

その他の抗神経抗体を介する神経障害: 斎藤(北里大)はシェーグレン症候群や重症筋無力症に合併した辺縁系脳炎 3 例の抗神経抗体を検討した. 既知の抗神経細胞抗体は陰性であったが, 免疫染色にて症例により神経細胞や神経線維が染色され, 未知の抗体の存在が考えられた.

ブレインプロテオミクスアプローチにより橋本脳症の自己抗原が α -enolase であることを当研究班では明らかにしているが, 今年度米田(福井大)は α -enolase における抗原認識部位を検索し, 患者血清中の自己抗体は

α -enolase の N 末端部位を抗原として認識することを明らかにした.

(7) 急性散在性脳脊髄炎, 関連する脳脊髄炎

急性散在性脳脊髄炎(ADEM): 原(九大)は小児の中樞神経系の炎症性神経疾患 54 例における髄液中神経栄養因子(BDNF, NGF, LIF)の検討を行った. その結果, BDNF は無菌性髄膜炎の 50%, 細菌性髄膜炎の 29%で上昇, NGF, LIF は全例陰性であった. 村井(九大)は急性期 ADEM の髄液の 16 種のサイトカイン・ケモカインの同時測定をおこない, ADEM 群(14 例)は OND 群(20 例)に比し, IL-2, IFN- γ , TNF- α などの Th1 サイトカインのみならず, IL-4, IL-5, IL-10, G-CSF などの Th2 サイトカインの有意な上昇がみられた. 他方, IL-12 や IL-17 などのメモリー Th1 細胞が産生するサイトカインの産生はみられず MS との免疫病態の差を反映していると考えられた. さらに ADEM 髄液では可溶性 TNF- α 受容体 (sTNFR1) の上昇がみられ, sTNFR1 上昇群のミエリン塩基性蛋白 (MBP) は sTNFR1 正常群の値に比して有意に高値だった. したがって, ADEM では Th1 細胞が炎症を起こすことに寄与していると考えられたが, 同時に Th2 細胞も髄腔内で活性化されており, Th2 細胞は防御的に働いている可能性と液性免疫の促進を介して組織障害的に働いている可能性の両者が考えられた.

非ヘルペス性辺縁系脳炎: 古川(山口大)はヘルペス性辺縁系脳炎と非ヘルペス性辺縁系脳炎において髄液サイトカインを測定し比較したところ, 両者ともに IL-6 の増加が見られたが, IFN- γ はヘルペス性では 75%で増加していたのに, 非ヘルペス性では増加はまったく見られなかった. このことより非ヘルペス性辺縁系脳炎はウイル

スの直接侵襲によるのではないことが示唆された。

神経 Sweet 病：久永(宮城病院)は多数例の解析に基づき、神経 Sweet 病の診断基準を完成させた。斎藤(北里大)は貴重な神経 Sweet 病の一部検例を報告した。本例は髄膜脳炎、脳梗塞様発作を繰り返し、紅斑、アフタなどの皮膚症状、精神症状、痴呆を呈し、大腸癌、舌癌、食道癌を合併して死亡した。ステロイドは皮膚症状、髄膜脳炎症状に奏功した。

(8) 特発性筋炎

清水(東大)は多発筋炎(PM)と皮膚筋炎(DM)の鑑別を臨床像、筋病理像をもちいて検討した。PM 8 例、DM 89 例、分類不能 53 例であり、PM は高齢で CK が低値の傾向、DM 群のみに発熱、間質性肺炎や悪性腫瘍の合併を認めた。また、C 型肝炎ウイルスと PM/DM の関連性について検討したが、HCV 陽性率は 9.3% で疾患対照群と有意差を認めなかったが、陽性例では経過が慢性化し、ウイルスは浸潤リンパ球の中に存在することが確認された。

C. 結論

①15 年ぶりの MS 全国症例調査を実施し、わが国の MS 患者数は 9,900 人と推定され、戦後世代での著しい増加が明らかにされた。

②ごく微量の髄液を用いて 16 種のサイトカイン・ケモカインを同時測定することが可能になり、これによりアジア人種に多発する OS-MS では C-MS と異なり特異的に IL-17、IL-8 が髄液で高値をとり、その値が総合障害度や MRI 上の脊髄病巣の長さとは有意に相関することを発見し、IL17/IL-8 経路の髄腔内での活性化が病態形成に深く関わっていることを初めて明らかにした。

③髄液細胞の細胞内サイトカイン産

生能の解析法を樹立し、OS-MS と C-MS の免疫動態が髄腔内と末梢血では大きく異なることを初めて明らかにした。両者ともに再発期には髄液では Th1 細胞が増加しているが、Th2 細胞は C-MS では髄液で末梢血より低下する一方 OS-MS では髄液で末梢血より増加することを見出した。

④OS-MS の重症化を規定する遺伝的因子が、アジア人種に多い platelet activating factor (PAF) acetylhydrolase を不活化する変異であることを世界で初めて発見した。一方、C-MS では新たに osteopontin, estrogen 受容体, vitamin D 受容体が疾患感受性遺伝子であることを発見した。

⑤rho kinase 阻害薬、新規糖脂質 OCH, 新規にクローニングした astrocyte-derived immune suppressor factor, アストロサイト機能改善薬 arundic acid, COX, 5-LOX の阻害薬 phenidone, prostalgandin D 合成阻害薬 HQL79 による EAE の治療効果を見出した。

⑥MS において病期・病型ごとに多数の血管関連因子の変動を測定し、血清 VEGF が再発期に特異的に高値となり脊髄病巣の大きさと有意に相関することを明らかにした。

⑦ヒト脳血管内皮細胞培養系を用いて MS 患者由来リンパ球のなかでは Th1 細胞が内皮細胞下に特異的に浸潤することを初めて明らかにした。

⑧MG では CXCR5 陽性 CD4 T 細胞は未治療 MG 患者で、また重症例および AChR 抗体高値例で有意に増加していた。治療後 THF は徐々に減少しており、MG では T 細胞依存性抗体産生系が変調しており治療により正常化に向かうことが示された。

⑨抗 AChR 抗体陽性 MG の IgG は AChR cluster を減少させたが、抗 AChR 抗体陰性 MG の IgG は AChR cluster

を減少させる群とさせない群とがあった。

⑩ *Campylobacter jejuni* 由来 C-Dps 蛋白に対する抗体が消化器感染後 GBS で特異的に出現することを発見し、しかも本蛋白が sulfatide を介してニューロンに特異的に結合し細胞膜傷害を起こし、神経伝導ブロックをきたすことを証明した。この結果、菌体由来蛋白 C-Dps および抗 C-Dps 抗体による軸索障害という全く新しい軸索障害機序の可能性が示された。

⑪ GBS 患者血清中の抗ガングリオシド抗体が、ガングリオシドとリン脂質の複合体や複数のガングリオシド複合体を認識することを初めて明らかにした。

⑫ CIDP は髄液で IL-17 などの Th1 サイトカインが、血清では Th1 系に関連した TRAIL が上昇し、Th1 細胞の病態への関与が大きいことを明らかにした。治療抵抗性 CIDP でのシクロスポリンの有効性を示した。

⑬ クロウ・フカセ症候群の全国症例調査を行い、診断基準として血清 VEGF 高値を加えることで診断率が向上すること、末梢血幹細胞移植が有用であることを明らかにした。

⑭ 多数の HAM 患者における網羅的な遺伝子解析により、新たに発症促進因子として HLA-DRB1*0101, B*5401, Aggrecan VNTR 1630bp allele 等が、発症抑制因子として HLA-A*02, -Cw*08, IL10 promotor -592A/C SNP: A allele を同定した。さらに HAM の Th1 偏向を起こす T 細胞シグナル伝達異常として IL-12R/STAT4 および p38MAPK 系の異常な活性化が重要であることを明らかにした。

⑮ 橋本脳症の抗神経抗体の自己抗原が α -enolase であることを発見し、自己抗体は N 末端を特異的に認識することを明らかにした。

D. 健康危険情報

本年度は特に健康危険情報として報告すべきものはなかった。

E. 研究発表

全体をまとめたものは研究成果の刊行に関する一覧表に記載した。

F. 知的所有権の出願・取得状況

1) 特許取得

なし

2) 実用新案登録

なし

3) その他

なし