

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14年度～16年度 総合研究報告書

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
免疫性神経疾患に関する調査研究	
吉良 潤一（九州大学大学院医学研究院神経内科学）	
II. 研究成果解説資料	33

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総合研究報告書

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14年度から16年度の3年間、本研究班ではさまざまな成果をあげることができた。とくに着目される成果としては、①15年ぶりの多発性硬化症(MS)全国症例調査を実施したこと、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こと、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、視神経脊髄型MSと通常型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こと、④視神経脊髄型MSの重症化を規定する遺伝的因子が、platelet activating factor (PAF) acetylhydrolaseを不活化する変異であることを発見したことや、通常型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こと、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こと、⑥MS において血清 VEGF が再発期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こと、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こと、⑧MG において侵襲の少ない縦隔鏡下胸腺摘除術の免疫学的作用を初めて明らかにし、その短期的・中期的治療効果が従来の胸骨切開法と遜色ないことを示したこと、⑨抗 MuSK 抗体陽性 MG 患者血清の passive transfer によりその神経筋伝達阻害作用を明らかにし、この過程には補体が関与していないことから抗アセチルコリン受容体抗体とは作用機序が異なることを示したこと、⑩Campylobacter 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、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こと、⑪GBS 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こと、⑫CIDP 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こと、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こと、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こと、⑮アトピー性脊髄炎の髄液では IFN- γ などの Th1 サイトカインが上昇し、末梢血とは異なる免疫異常を示すこと、本症では免疫療法のうち血漿交換がもっとも有効であることを明らかにしたこと、⑯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こと、⑰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こと、などがあげられるが、他にも多くの大きな成果が得られた。

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科神経病態学), 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

本研究班の指定対象疾患である免疫性神経疾患は、病態の解析は急速に進展しつつあるもののいまだ発症機序の解明にはほど遠く、根治的な治療法はごく限られている。しかも、これらの免疫性神経疾患は若年成人を侵すことが多く、患者は終生進行性の難病に苦しめられ、数十年にわたって重篤な後遺症に悩んでいる現状である。疾病の悲惨さ、重篤さに

加えて、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、クロー・フカセ症候群の7指定対象疾患は、全国的にみても患者数が限られているので、全国規模での調査研究が必要とされる。そこで本研究班では、全国的な調査研究班を組織することにより、これらの指定対象疾患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。

a. 指定対象疾患

(1) MS: 具体的な目的として以下をあげた。

① 全国臨床疫学調査を実施し、わが国をはじめとしてアジア人種に多い視神経脊髄型 MS (OS-MS) の疫学的・臨床的特徴を明らかにし、通常型 MS (C-MS) と異なる病態を解明すること、MS に特異な疾患感受性・抵抗性遺伝子や重症度を規定する遺伝因子、環境要因を同定する。② 責任自己抗原の同定や髄液の免疫動態の解析手法を確立して、病型特異的な髄液サイトカイン・ケモカインおよびリンパ球サブセットの動態を解明すること、MS の血液脳関門破綻機序を明らかにする。③ 治療効果をモニターする画像検査・免疫学的検査を開発し、インターフェロンベータ (IFN β) などの免疫療法の作用機序を明らかにする。④ 独創的な治療法として、rho kinase 阻害剤、アストロサイト由来免疫抑制因子・合成糖脂質リガンドによるサイトカインバランスの是正、フォスホジエステラーゼ阻害薬による炎症抑制、などの開発をめざす。

(2) MG: 以下の具体的な目的をあげた。① MG

胸腺の免疫異常を解明し、胸腺摘除術が免疫系へ及ぼす影響を解明する。② 抗 AChR 抗体陰性 MG、抗 MuSK 抗体陽性 MG の病態機序を解明し、有効な治療の確立をめざす。③ 抗 AChR 抗体を中和する抗イディオタイプ抗体による新治療法の開発をする。④ MG の内視鏡下胸腺摘出術の治療効果を調査し、従来法 (胸骨正中切開) との比較を行うとともに、手術前後の免疫動態を解析することで、低侵襲で治療効果の高い治療法を確立する。⑤ ステロイド剤投与の胸腺腫への作用を明らかにする。⑥ 治療抵抗性 MG に対する新規治療法を開発する。

(3) GBS、FS、類縁疾患: ① FS および

Bickerstaff 脳幹脳炎の多数例の臨床調査を行い、その病態を整理し、両者の位置付けを明確にする。②GBS における抗ガングリオシド抗体の解析を進め、ガングリオシド複合体やリン脂質との複合体に対する免疫応答を解明する。③*Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*)の菌体由来の C-Dps 蛋白や *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)の空胞化蛋白の GBS 病態への関与を明らかにする。このように先行感染微生物由来のガングリオシドのみならず微生物由来蛋白等と宿主との相互作用の解析を通じた病態解明を進める。さらに、④新しい電気生理学的手法を開発し GBS の伝導障害をイオンチャンネルレベルで解明する。また、⑤微生物菌体由来脂質による動物モデルの作成やモデルにおいて FK506 などの免疫抑制薬の効果を探索し、新しい治療法を開発する。

(4) CIDP、ルイス・サムナー症候群、クロウ・フカセ症候群：①CIDP の髄液サイトカイン動態を明らかにする。②CIDP の治療反応群・非反応群について電気生理学的・免疫学的・遺伝学的検討を行い、早期に両者を鑑別できるようにし、IVIG 治療効果を規定している遺伝的背景の探索を進める。③治療抵抗性の症例に対してシクロスポリンなどの免疫抑制薬の応用を検討し治療方針を確立する。④ルイス・サムナー症候群においては電気生理学的にイオンチャンネルの解析を行い、運動神経障害機序を明らかにする。⑤クロウ・フカセ症候群の全国臨床調査を実施し、全国規模で治療法の選択や予後を調査する。これをもとに新しい診断基準と治療ガイドラインを作成する。

b. 関連重要疾患

(5) HAM：HAM の疾患感受性・抵抗性遺伝子の同定と、ウイルス側因子からみた発症リスクの解明、細胞傷害性 T 細胞(CTL)の特徴とウイルス量の関連、T 細胞内シグナル伝達の異常を解明し、新しい治療法の開発を目指す。

(6) 傍腫瘍性神経症候群：抗神経抗体のスクリーニングシステムを確立する。血清や髄液に出現する自己抗体の認識抗原の神経細胞における機能を解明する。抗 Yo/Hu 抗体陽性傍腫瘍性神経症候群の神経傷害因子と考えられる抗原特異的 CTL の誘導法を確立する。橋本脳症をはじめとする抗原が未知の自己抗体を介する神経疾患の責任自己抗原を同定する。

(7) 急性散在性脳脊髄炎(ADEM)、アトピー性脊髄炎、関連する脳脊髄炎：ADEM、アトピー性脊髄炎、寄生虫性脊髄炎、神経 Sweet 病、辺縁系脳炎などで、診断基準を作成し全国症例調査による臨床像の解明し、現状の治

療成績、免疫病態を明らかにする。

(8) 特発性筋炎：多発筋炎/皮膚筋炎 (PM/DM) および封入体筋炎 (IBM) における C 型肝炎ウイルス(HCV)の関与を明らかにする。

B. 研究方法

(1) MS

臨床・疫学・環境要因：MS の全国臨床疫学調査を実施し、全国症例数を把握し、臨床像、MRI 所見、臨床病型、IFN β などに対する治療反応性、合併症の種類などを解析した。環境の近代化の影響を明らかにするために *H. pylori* の感染と臨床像の関連を調査した。

検査法：MS の病態を 3 テスラ MRI/MRS 画像を通して解析した。任意の脳白質に関心領域を設定し、各代謝物のスペクトル解析を行った。さらに、拡散強調画像による拡散テンソル解析を行い MS 患者の脳皮質・白質の潜在的な機能障害を評価した。

遺伝的背景：MS の疾患感受性・抵抗性候補遺伝子についての患者・対照解析による関連検索を幅広く実施した。また OS-MS、C-MS の臨床病型ごとに同様の解析を行った。

免疫病態の解析：OS-MS と C-MS の免疫病態の比較を、髄液細胞内サイトカインの分析、髄液上清の多数のサイトカイン・ケモカインの蛍光ビーズサスペンションアレイシステムによる多項目同時測定、髄液細胞の表面マーカーの検索、IgG サブクラスの測定により行い、病型間での Th1/Th2 バランスの差異を検討した。MS 寛解期の末梢血において CD95 陽性細胞の NK 細胞における割合を調べ、MS 患者の髄液、剖検脳よりインバリアント鎖を発現する V α 7.2-J α 33 T 細胞の発現をみることで MS 病期ごとの免疫調節機能を解析した。

病理学的検索・血液脳関門についての検討：OS-MS 剖検症例の免疫病理学的解析を施行し、抗体、補体の関与を検討した。間接蛍光抗体法により OSMS に特異な血清自己抗体の検出を試みた。また、MS の血管関連因子として、vascular endothelial growth factor (VEGF)、acidic & basic fibroblast growth factor (FGF)、platelet-derived growth factor AA、AB、BB を血清で ELISA 法により測定した。単球/マクロファージの血管外遊走に関連する因子として、MMP-9、TIMP-1、VE-cadherin、MCP-1、M-CSF、hepatocyte growth factor (HGF) を ELISA 法で測定した。ヒト培養脳毛細血管由来内皮細胞と、健常者および急性期 MS 患者から得られたリンパ球を共培養し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて内皮細胞を通過するリンパ球のサブセットを解析した。

各種免疫療法の作用機序の検討と治療効果のマーカーの検索：IFN β 投与前後での末梢血リンパ球の細胞内サイトカイン産生能を継続的に測定した。再発頻度の高いMS例において、定期的に免疫吸着療法 (IAPP) を施行し、治療前後における年間再発頻度、末梢血リンパ球サブセット、サイトカインを比較した。

動物モデルを用いた検索：MSの新規治療法の開発を目指して、その動物モデルであるEAEにおいて、rho kinase 阻害剤、cyclooxygenase (COX)および5-lipoxygenase (5-LOX)の選択的阻害薬であるphenidone、合成糖脂質OCH、アストロサイト由来の免疫抑制因子 (AdIF)、アストロサイト機能改善薬arundic acid、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC)阻害剤、prostaglandin D合成酵素阻害薬HQL79、さらに低分子ヘパリン投与を行い、治療効果を検討した。培養ミクログリアにおいてIFN β 添加時の炎症性サイトカイン産生亢進作用に対するフォスホジエステラーゼ阻害薬の影響を検討した。免疫機序を介する脱髄を起こすタイラーウイルス由来のL*蛋白と直接相互作用する分子を同定し、L*蛋白との相互作用を解析した。

(2) MG

未治療時および胸腺摘除後継時的に末梢血免疫細胞 (リンパ球, NK細胞) のケモカイン受容体、胸腺細胞サブセットを解析した。またMGおよび対照胸腺においてマイクロアレイ法による網羅的遺伝子発現解析を行った。Myoid cell 感作リンパ節細胞を用いてpassive transferを行い、抗AChR抗体産生、胸腺異常の検討を行った。

抗AChR抗体陰性MGにおいて、神経筋伝導を評価するのにもっとも鋭敏とされる単一筋線維筋電図法を用いて評価を行った。抗MuSK抗体陽性、seronegative MG患者のIgGをマウスにpassive transferし、神経筋伝達障害の機序について微小電極法により解析した。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患者のイディオタイプ抗体を測定した。さらにヒト抗体を産生するマウスにおいて抗イディオタイプ抗体の誘導を試みた。

内視鏡的拡大胸腺摘除術を施行されたMG患者の手術前後で末梢血リンパ球を分離し、その細胞内サイトカインを測定した。MGの胸腺組織別治療予後を検討しステロイド剤投与の影響を解析した。治療抵抗性MGに対してシクロスポリンAを投与して治療効果を評価した。また、免疫抑制薬(タクロリムス)が骨格筋の細胞内カルシウム動態に及ぼす影響を検討するため、ヒト横紋筋肉腫由来培養細胞TE671/RDにfluo-3AMを負荷して細胞

内カルシウム濃度を測定した。

(3) GBS、FS

FSとBickerstaff脳幹脳炎 (BBE) について、それぞれ100例ずつを対象に臨床解析を行った。GBS血中の抗ガングリオシド抗体について、標的となるガングリオシドが複合した場合、さらにリン脂質が共存した場合の活性の増減を調べた。

*H. pylori*由来空胞化蛋白(リコンビナントVacA)に対する血中抗体をGBS患者で調べた。さらに、髄液中抗VacA抗体陽性患者の胃粘膜を採取し、*H. pylori*の分離・培養を行いDNAクローニングを試みた。GBS患者における抗C.jejuni-IgG抗体と抗C-Dps-IgG抗体の関連を調べた。C-Dps蛋白と各種糖脂質との結合をELISA法、thin layer chromatogramの免疫染色にて検討した。また、nerve growth factor (NGF)によりニューロンに分化させたPC12細胞に対するC-Dps蛋白の作用を検討した。さらに坐骨神経への注入実験によりC-Dpsの神経伝導に及ぼすin vivoの作用を検討した。

新しい電気生理学的手法 (threshold tracking法) を用いてGBS急性期におけるNaチャンネル機能を評価した。

肺炎マイコプラズマ菌体の脂質成分をウサギに接種して、抗Gal-C抗体の上昇の有無を検討した。実験的アレルギー性末梢神経炎 (EAN) においてFK506を投与し、臨床症状、電気生理学的所見、末梢神経病理所見の改善がみられるかを検討した。

(4) CIDP、ルイス・サムナー症候群、クロー・フカセ症候群

髄液細胞内サイトカイン(IL-4, IFN γ)と上清中の16種類のサイトカイン・ケモカインを測定した。IVIgによる治療反応性とサイトカインとの関連を調べた。また、TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL)を病期ごとに測定した。IVIg治療反応群と非反応群のそれぞれについて、臨床症状、電気生理学的所見、遺伝子発現、遺伝子多型を検索した。治療抵抗性のCIDPに対して、シクロスポリンAまたは抗CD20抗体(リツキシマブ)を投与して治療効果を判定した。

ルイス・サムナー症候群患者において、電気生理学的方法 (TROND法) を用いて、末梢神経の電気特性やイオンチャンネル機能を検討した。記録筋の最大随意収縮前後での電気生理学的パラメータを比較した。

クロー・フカセ症候群の全国疫学調査を行い、臨床像をまとめ、治療成績を解析し、新しい診断基準の作成を試みた。

(5) HAM

多数例のHAM患者を含むHTLV-1感染者において、ウイルス側および宿主側のHAM

発症促進因子および発症抑制因子を遺伝子解析した。さらに、ウイルス量によりHAM発症を予測できるかを検討した。これまでに蓄積されている多数のHAM患者、HTLV-Iキャリアーの臨床記録、剖検組織、末梢血試料を用いて、HAM発症や病態に関与する接着分子の発現、EBウイルスの感染状態などHAM発症に関連すると思われる内的・外的因子を追求した。HAM患者末梢血単核球を用いて、Th1/Th2サイトカイン発現に関与するシグナル分子発現の動態をreal-time RT-PCR法を用いて解析した。HAM患者由来HTLV-I感染T細胞株およびHAM患者末梢血CD4陽性T細胞を用いて、HAM患者におけるIFN γ 、HTLV-I発現に関与するシグナル分子を同定した。ウイルス量とHTLV-I特異的CTLの抗原認識エピトープの関連を探索した。

(6) 傍腫瘍性神経症候群

傍腫瘍性神経症候群の特異的スクリーニングシステムの構築のためにRi、Ma-2、CRMP-5のcDNAを作成し、融合蛋白を作成し、ウェスタンブロットおよびELISAの抗原として用いて血清・髄液中の抗体を測定した。傍腫瘍性小脳変性症にみられる抗Purkinje細胞質抗体の標的抗原(pcd-17)遺伝子をプラスミドベクターに組み換え、リコンビナント蛋白を精製し、two hybrid systemにより相互作用する蛋白を同定した。さらに同定された蛋白を培養細胞で発現させpcd-17との相互作用を探索した。特定のHLA class I分子に結合可能で、本症抗原蛋白に含まれるペプチドのうち、抗原性およびclass I分子結合能の高いものを選定し、CTLの誘導を実験動物で試みた。

橋本脳症において、血清・髄液に含まれる疾患特異性の高い自己抗体のスクリーニングを脳抗原の二次元免疫ブロットにより行い、MALDI-TOF/MSを用いたプロテオミクス解析によって抗原候補蛋白を決定した。さらに哺乳類培養細胞で発現・精製した抗原候補の組み替え蛋白を用いた免疫ブロットによって疾患特異性を検証した。その他の抗神経抗体を介する神経障害についても同様な検討を行った。

(7) ADEM、アトピー性脊髄炎、その他の脳脊髄炎

ADEMに関しては、福岡県で小児を対象に多施設共同の疫学調査を行った。またADEM髄液の16種のサイトカイン・ケモカインの多項目同時測定を行った。さらに可溶性TNF- α 受容体(sTNF α 1)の測定を施行した。アトピー性脊髄炎、寄生虫性脊髄炎において、非圧迫性ミエロパチー症例での頻度を検討す

るとともに、臨床像・画像所見・治療への反応性を検討した。髄液の細胞内サイトカイン、髄液上清中のサイトカイン・ケモカインを測定し比較を行った。

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の比較を行った。悪性腫瘍に伴う辺縁系脳炎において臨床像の解析を行った。

神経Sweet病の全国症例調査を行い、臨床像、HLAの解析を行い、診断基準を作成した。また剖検例の病理学的検索を行った。

(8) 特発性筋炎

PM/DMおよびIBMにおけるHCV陽性率を検索し、HCV陽性例、陰性例の臨床的・病理学的特徴を比較検討した。また、生検筋組織を用いてHCVの関与をRT-PCR法、サザンブロット法および4種類の抗体を用いた免疫組織化学染色法にて検討した。

(倫理面への配慮)

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・マニュアルを遵守した。

C. 研究結果及び考察

(1) 多発性硬化症 (MS)

臨床・疫学・環境要因：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実施した。今回は1989年以来15年ぶりの全国症例調査である。一次調査の報告患者数は3978例(疑い例を除く)であり、わが国のMS患者数は男3,000人(95%CI: 2,600-3,300人)、女6,900人(95%CI: 6,400-7,500人)、総数9,900人(95%CI: 9,100-10,700人)と推定された。これは現在、MSの特定疾患受給者数が1万人を越えていることとよく合致する。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)、脳および脊髄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。今後、数種類の有用な尺度を選択して、より大規模はQOL調査を実施する予定である。

Helicobacter pylori (HP)は生活の近代化に伴い感染率が減少するため、抗HP抗体陽性率を検索したところ、健常者(45.5%)、OS-MS(45.0%)に比し、C-MSで23.3%と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、C-MSではHP陽性群で陰性群より有意にEDSSが低かった。したがって、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、C-MS(0%)、健常者(0%)より有意に高値であった。したがって、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：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。

遺伝的背景の同定：九州地区と北海道地区の多数例のMS患者の遺伝子解析により、DRB1*1501とDPB1*0301がC-MSの、DPB1*0501がOS-MSの疾患感受性遺伝子であることが証明された。さらに、C-MSではosteopontin, estrogen receptor (HLA-DRB1*1501と関連)、vitaminD-受容体、C-C chemokine receptor 2, TRAIL遺伝子多型が疾患感受性遺伝子、CTLA4がMSの経過に影響を与える遺伝子他型であることを発見した。

他方、OS-MSについては、そ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を不活化する遺伝子変異(G994T)であることを世界で初めて発見した。GT/TT遺伝子型は女性の重症OS-MSでは51.7%に見られるのに対し健常者では26.6%に過ぎなかった(P=0.0087)。一方、PAF受容体のシグナル伝達を阻害する遺伝子変異(A224D)は、C-MSで健常者より有意に高率であった(29.7%対

10.2%、P=0.0429)が、OS-MSではそのような傾向はみられなかった(17.6%、P>0.1)。したがって、OS-MSではPAF-AHを不活化しPAFを増やすことが重症化に寄与するのに対して、C-MSではPAFを阻害することが発症に寄与するという対照的な機序が働いていることが明らかとなった。

免疫病態に関する新知見：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での病巣の長さとの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、髄空内での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。

髄液細胞は脆弱で数も少ないため、その細胞内サイトカイン産生能の測定は極めて困難であったが、末梢血と髄液の細胞内サイトカインの同時測定に初めて成功した。末梢血ではOS-MS、C-MSともに再発期には健常者に比しIFN- γ を産生するTh1細胞が有意に増加し、IL-4を産生するTh2細胞が有意に減少しTh1シフトが見られた。再発期の髄液ではOS-MS、C-MSともにONDに比しTh1細胞の有意な増加を認めた。C-MSではTh2細胞は末梢血より髄液で有意に低下していたが、OS-MSではむしろ増加していた。このため、C-MSではIFN- γ /IL-4比の有意な低下がみられたが、OS-MSではこのような低下はみられなかった。したがって、両者は再発期の髄腔内で異なった免疫動態をとることが初めて明らかとなった。OS-MSではTh1細胞(IL-17を産生する)のみならずTh2細胞も再発に関与している可能性が示唆された。また髄液細胞の表面マーカーの検索では、OS-MSはC-MSよりケモカイン受容体のうちTh1関連のCCR5陽性CD4細胞の割合が有意に低値だった。またC-MSではTh1優位の疾患で見られるIgG1%の上昇がみられたが、OS-MSではみられなかった。このことは細胞内サイトカイン産生能の差異とよく一致する。

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。MS 患者の髄液、剖検脳では高頻度に V α 7.2-J α 33 T 細胞の発現がみられ、この細胞が MS の脳病変に関与している可能性が示唆された。また髄液中の 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、本細胞の割合は中期予後を予測するマーカーとなりえることが示唆された。

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。

MS の病理と血液脳関門の破綻機序：OS-MS の剖検例では血管肥厚や硝子化、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。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。

また単球/マクロファージの血管外遊走に関連する因子は、活動期 MS 患者で血清 matrix metalloproteinase 9 (MMP9) 濃度が有意に上昇しており M-CSF 濃度と有意に相関していた。MMP9 の抑制因子である血清 tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) は M-CSF および MCP-1 と有意の相関を示した。このことから MS において、M-CSF はマクロファージを活性化することによりマクロファージからの MMP-9 の産生を促進して BBB の破綻と組織傷害に寄与し、TIMP-1 は MCP-1 と協力して病変の修復に関与する可能性が示された。

さらに *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。

MS の免疫療法の作用機序と治療効果のマーカー：IFN β 使用患者では治療開始 2 年後の NAA/Cr 比が増加し、軸索障害は IFN β により一部可逆性であることが示された。IFN β 投与前後での末梢血 CD4 陽性 T リンパ球細胞内サイトカイン産生能を継時的に測定したとこ

ろ、投与開始 1 週後より IL-4 などの Th2 サイトカイン産生が刺激され、12 週以降の遅い時期では IFN- γ の産生が低下することが明らかとなった。このため 1 週後から 48 週まで継続して Th1 シフトが是正され Th2 へバランスが傾き、このことが IFN β の治療効果をよく説明すると考えられた。また IFN β 投与にもかかわらず、再発を起こしてくる患者では 24 週以降の IFN- γ 産生細胞%の減少が見られないことから、病的な Th1 シフトの是正の有無が再発の予測因子となる可能性が示された。

年 1.2 回以上頻回に再発を起こしたか、IFN β 投与開始後も 6 ヶ月間に 2 回以上再発を起こした MS 患者 8 例を対象として 3~4 ヶ月ごとに定期的に免疫吸着療法(IAPP)を実施しところ、年平均再発回数が 2.0 回から 0.2 回に減少し、IAPP は有効と考えられた。施行前後でのリンパ球サブセットの検討では、IAPP 施行後に活性化 CD4 細胞、helper-inducer 細胞は有意に低下し、NK 細胞は上昇を示し、免疫異常の改善効果があるものと考えられた。

MS の動物モデルである実験的自己免疫性脊髄炎(EAE)における新規治療法の開発：Rho kinase 阻害薬である fasudil の腹腔内投与により PLP ペプチド p139-151 で誘導した 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。免疫 14 日目のリンパ節細胞の PLP に対する増殖応答やサイトカイン産生は完全に抑えられていた。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。

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、HDAC 阻害剤の治療効果を MOG で惹起した EAE モデル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。HDAC 阻害剤を投与されたマウスでは、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)、アストロサイト機能改善薬 arundic acid の投与でも EAE の発症が著明に抑制された。本蛋白投与マウスでは MOG 刺激脾細胞のサイトカインバラ

ンスが Th2 へシフトしており、このことが治療効果に関与すると考えられた。さらに、EAE の治療薬として合成糖脂質によりサイトカインバランスを Th2 へシフトさせることが有用であることが示された。

現在 MS の唯一の治療薬である IFN β は投与初期に炎症性サイトカイン産生を増強することにより感冒様症状などの副作用が高率に出現し、MS 患者の一部での投与早期の増悪にも関係している可能性がある。フォスフォジエステラーゼ阻害薬(イブジラスト)は炎症性因子の産生を抑制する作用が喘息などで報告されているので、培養ミクログリアの IFN β による炎症性サイトカイン産生能への影響を調べた。イブジラストは IFN β による TNF- α などの炎症性サイトカイン産生増強作用を顕著に抑制した。したがって、IFN β の理想的な併用薬となる可能性が示唆された。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)を起し神経細胞障害因子となっていることを明らかにした。

EAE 脊髄病巣で 5-lipoxygenase(5-LOX)、cyclooxygenase-1(COX-1)、COX-2 の発現が亢進していることを発見し、これらの抑制薬である Phendione 投与を行うと、EAE が有意に抑制されることを見出した。この結果、EAE の発症には COX-1、COX-2、5-LOX が炎症性メディエーターとして重要な役割を果たしていることが明らかとなった。さらに EAE 発症マウス脊髄では prostaglandin D 合成酵素(PGDS)の発現レベルが病変部で上昇していた。そこで選択的 PGDS 阻害薬である HQL-79 を投与したところ EAE の発症が著明に抑制された。本剤は MS の新たな治療薬として有用である可能性が示唆された。

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。このことは EAE の発症に凝固系が関与していることを示唆する。そこで、低分子ヘパリンを EAE に試み、その発症が抑制されることを見出した。

ウイルス性脱髄モデルを用いた脱髄機序の基礎的研究：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 がクローニングされた。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 における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)

発症機序に関する基礎的研究：過形成 MG 胸腺では、リンパ球ホーミング関連ケモカイン CCL21 の発現が正常の 100 倍に増加し、リンパ球遊走能も著明に亢進していた。DNA マイクロアレイ法により、MG 胸腺において選択的に変化している遺伝子が見いだされた(サイトカイン、ケモカイン、転写因子)。myoid cell で感作したリンパ節細胞の passive transfer では胸腺の病理学的変化は確認できなかった。MG の胸腺異常には末梢で活性化された AChR 反応性 T 細胞だけでなく胸腺内での何らかの免疫異常の関与が必要であることが示唆された。

単一筋線維筋電図法により seronegative MG では抗 AChR 抗体陽性例と同様の臨床的重症度を有するにも関わらず、神経筋シナプス伝達の障害は軽度であり、興奮収縮連関の異常が示唆された。抗 MuSK 抗体陽性 MG 患者 IgG のマウスへの passive transfer は、MEPP 振幅低下と quantal content の低下を引き起こし、この過程には補体が関与していないことから、抗 AChR 抗体陽性 MG 患者 IgG とは異なる機序で神経筋伝達阻害を呈する可能性が示唆された。

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的手段となり得ることが考えられた。

治療法に関する検討と新しい治療法の開発：MG の新しい治療法として縦隔鏡下拡大胸腺摘除術を導入した。短期的・中期的予後は、胸骨正中切開法と比較して有意な差はなく、しかも、①手術侵襲が少ない、②出血量が少ない、③疼痛が少ない、④入院期間が短い、⑤美容上術創が小さい、などのメリットがあることが示された。本手術後には抗 AChR 抗体値が低下するとともに末梢血 CD4 陽性 T 細胞内サイトカインの比である IFN- γ /IL-4 (IFN- γ ⁺IL-4⁺/IFN- γ IL-4⁺) は上昇し、Th2

方向へのシフトが是正されることが証明された。また、通常の胸腺摘除術前後では、未治療時に低下していた末梢血 CD4 陽性 T 細胞の Th1 型ケモカイン受容体 CXCR3 の発現は、術後徐々に正常化することが示された。さらに MG 患者末梢血で有意に増加していた、B 細胞による抗体産生を制御する T 細胞

(follicular B helper T cell) の発現が、治療後は徐々に正常化した。

胸腺組織別治療後の検討では、臨床重症度は胸腺組織別で変わりはないが、ステロイド投与量は胸腺腫合併例では、2年後、3年後で他群に比べて有意に多かった。胸腺腫合併 MG では、長期的に大量の副腎皮質ステロイド剤が寛解維持に必要であることが明らかとなった。また、胸腺腫合併例に対して術前メチルプレドニゾンパルス療法を施行し、胸腺腫の縮小効果を検討したところ、リンパ球を多く含む type B1 で縮小効果が著しく、アポトーシスによるものと考えられた。

治療抵抗性 MG にシクロスポリン A (ネオオラル) を使用して、良好な成績と安全性を確認できた。免疫抑制薬タクロリムスはアセチルコリン添加による細胞内カルシウム濃度上昇を増加させるが、プレドニゾン、アザチオプリンはカルシウム濃度を減少させることがわかった。タクロリムス服用後、MG 患者では早期に筋力回復をみる例があり、細胞内カルシウム濃度増加が関与している可能性が示唆された。

(3) ギラン・バレー症候群 (GBS) ・ フィッシャー症候群 (FS) ・ 類縁疾患

FS100 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た。

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が初めて示された。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かった。

脱髄型 GBS 患者の髄液中に *H.pylori* の空胞化毒素 (VacA) を認識する特異的抗体を高頻度に検出し得た。髄液中抗 VacA 抗体陽性患者から得られた VacA の homology 解析により、VacA とヒト Na⁺-K⁺ ATPase α subunit、ミエリン P0 蛋白に部分的相同性をもつ配列が存在することを明らかにした。したがって、脱髄型 GBS の病態に髄液中抗 VacA 抗体が

関与する可能性が示された。

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かった。C-Dps は sulfatide と特異的に結合することを見出した。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を発見した。C-Dps を *in vivo* で末梢神経に注入すると PBS 注入時に有意に伝導ブロックを起こすことを証明した。

新しい電気生理学的手法 (threshold tracking 法) により、軸索型 GBS では神経伝導の安全因子が低下しており、ランビエ絞輪部 Na チャネルの機能障害が起きていることが考えられた。

動物モデルでは、マイコプラズマ菌体の脂質成分を接種したウサギ血清に抗 Gal-C 抗体上昇がみられ、血清は脱髄活性を有していた。GBS の抗ガングリオシド抗体の病因的意義を解明するには、細胞膜におけるガングリオシドの存在様式を考慮する必要がある。マイコプラズマ肺炎後の神経障害では、菌体の糖脂質成分に対する免疫反応として抗 Gal-C 抗体が産生され脱髄機序に関わると考えられた。

また実験的自己免疫性末梢神経炎 (EAN) において運動麻痺発症早期に FK506 を投与して運動麻痺の進行の抑制と改善の迅速化、神経伝導速度遅延の改善、病理所見の軽減化がみられた。

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

CIDP : CIDP 髄液では OND 群に比し、IL-17、IL-8、IL-6 などの Th1 サイトカインの有意な上昇、IL-4、IL-5 などの Th2 サイトカインの有意な低下がみられた。また、髄液細胞内サイトカイン産生では、IFN- γ ⁺IL-4⁻ CD4⁺T 細胞%が有意に増加し Th1 シフトを示した。IFN- γ ⁺IL-4⁺ 産生 CD4⁺T 細胞%は IVIG 治療無効群では IVIG 治療反応群より有意に低く、治療反応性のマーカーになると考えられた。CIDP における IVIG 有効例では Th1 系サイトカインである TNF α の血中濃度が一過性に上昇し、IVIG の作用機序に Th1 系の up-regulation に引き続いて生じる down-regulation を介した免疫調整が関与している可能性があると考えられた。また CIDP では Th1 系の活動が亢進したときに上昇する TRAIL が有意に上昇しており、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、臨床/電気生理所見からは発症からの症状の進行がより遅いもの、発症早期から筋萎縮を合併しているもの、またそのわりに ADL の障害が比較的軽微なもの、cMAP がより低下しているものが IVIG 非反応群の特徴としてあげられた。このことから、少なくとも発症早期の軸索障害の存在が治療反応性を規定する重要な因子であると考えられた。遺伝子発現解析では臨床的極期にある症例の生検神経を用いたマイクロア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ており、現在も解析は進行中である。遺伝子多型解析では一塩基多型 (SNP) 解析と HLA アレル多型解析を現在施行し、現時点で少なくとも 8 つほどの SNPs で治療反応別の有意性が判明している。

難治性 CIDP において、シクロスポリンを経口で投与し、血漿中トラフ濃度を 100-150 ng/ml にコントロールすることで、多くの症例で副作用なく臨床症状の改善が見られることが明らかとなった。またシクロスポリンに対しても抵抗性の症例に対しては、抗 CD20 抗体が有効である場合があることがわかった。シクロスポリンと抗 CD20 抗体は難治性 CIDP における治療の選択肢として有力と考えられた。

ルイス・サムナー症候群：電気生理学的に随意運動後には脱髄所見は増悪した（運動依存性伝導ブロック）。TROND 法により、脱髄巣周辺部で過分極に傾いていることが分かった。その原因として、運動により軸索内に流入した Na⁺イオンをくみ出すために活性化された Na⁺-K⁺-ATPase が却って軸索を過分極方向に傾けるが、Na⁺-K⁺-ATPase は感覚神経では活性が強いため速やかに Na⁺イオンをくみ出すが、運動神経ではその発現が低く、脱髄周辺の Na⁺-K⁺-ATPase をも動員してくみ出しを行うために過分極になりやすい。その結果、運動後に脱力が生じると思われた。

クロウ・フカセ症候群：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。

(5) HAM

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 を同定した。特に IL-10 プロモーター領域の 1 塩基置換多型は、HTLV-I プロウイルス量を介して HAM 発症に関与していることを明らかにした。

HTLV-I ウイルス量は最大のリスクファクターであり、感染細胞が 2% で感度・特異度ともに 80% 以上で HAM 群と未発症者群を区別できた。また多変量解析により HAM 感染未発症者からの HAM 発症を 88% の確率で予測することが可能となった。

HAM 患者末梢血の Th1/Th2 シグナル伝達に関与する分子の real time PCR 解析により、HAM では Th1 に関与するシグナル分子の発現亢進がみられ、その中でも最も Th1 の特徴を表している IL-12 レセプター β 2 の発現は HTLV-I tax の発現と相関が認められた。HAM 患者の HTLV-I 感染細胞では p38 MAPK が活性化しており、このことが HAM 患者末梢血での IFN- γ の発現亢進と高い HTLV-I プロウイルス量の双方を規定していると考えられた。

HAM 脊髄病巣の形成に末梢血リンパ球の VLA-4 の cleavage と脊髄局所の VCAM-1 の発現パターンの差が関与していることを明らかにした。また HAM では高頻度に EB ウイルスの慢性活動性持続感染の状態が生じており、活動性感染群では陰性群に比し有意に髄液炎症反応が強く、治療 7 年後の運動障害がより増悪していた。したがって、慢性活動性 EB ウイルス感染は HAM の病態を増悪させる因子になっていると考えられた。

HAM 患者末梢血 HTLV-I ウイルス量と HTLV-I 特異的細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) の抗原特異度の多様性を検討し、Tax11-19 に対する抗原認識が緩い (機能的多様性が高い) CTL を持っている HAM 患者では HTLV-I ウイルス量が低いことが示された。さらに CTL の CDR3 スエペクトラタイピングの検討では、CTL の構造的多様性が高い CTL を持つ患者でよりウイルス量が低いことが判明した。この結果、ウイルス制御には HTLV-I に対する特異度を高めるよりも、抗原認識の多様な CTL 集団を増やすほうが効果的であると考えられた。

(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：Ri、Ma-2、CRMP-5 の融合蛋白の作成に成功し、1 回の測定で傍腫瘍性神経症候群特異抗原のスクリーニング

が可能なシステムを構築した。これにより各施設から依頼を受けた検体の迅速な解析が可能になっている。

傍腫瘍性小脳変性症関連抗原 pcd-17 は、MORF ファミリー蛋白の MRG15 と leucine zipper を介して結合することを証明した。MRG15 は B-myb プロモーターに対して活性化作用を示すが、pcd-17 の共発現下で、この活性が抑制され、抗 Purkinje 細胞質抗体を細胞内に移入することにより脱抑制の現象が観察された。このことから、傍腫瘍性小脳変性症関連抗原は MRG15 との相互作用により b-myb プロモーター活性を制御している可能性が示唆された。

特定の HLA class I 分子に結合可能で、本症抗原蛋白に含まれるペプチドの選定は ELISPOT 法などにより T 細胞活性化に有用なものを選定し得た。樹状細胞の誘導条件・成熟条件は整えることができたものの、in vivo でモデル動物で神経症状を再現するには、これらの条件で誘導した CD8+T 細胞の CTL 活性の増強にさらなる工夫が必要と考えられる。

その他の抗神経抗体を介する神経障害：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 であることを発見した。自己抗体は N 末端部位を特異的に認識することを証明し、血清診断が可能となった。また、自己免疫性下垂体炎や悪性リンパ腫に伴う傍腫瘍性神経症候群、Rasmussen 脳炎においても新規自己抗原が同定された。

(7) 急性散在性脳脊髄炎、アトピー性脊髄炎、関連する脳脊髄炎

急性散在性脳脊髄炎(ADEM)：福岡県で小児における ADEM と MS の罹患率を多施設共同疫学調査した。ADEM の罹患率は 0.64 人/小児 10 万人・年、MS は 0.21 人/10 万人・年であった。ADEM はやや男児に多い傾向を認め、発症平均年齢が 5-6 歳であることが示された。また、臨床症状、検査所見、治療、予後に関する疫学的特徴を、類縁疾患を含めて明らかにした。この結果、小児の ADEM と MS の相違が明らかとなり、異なる病態で発症することが考えられた。また、日本人小児における ADEM が諸外国例と比べてけいれんや発熱が多いことから、遺伝的または地域的な他の因子が ADEM の臨床像に関与する可能性が考えられた。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により、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。

アトピー性脊髄炎(atopic myelitis, AM)・寄生虫性脊髄炎(parasitic myelitis, PM)：最近 5 年間に九州大学に入院した脊髄炎患者連続 108 例の病因を解析した。AM(アトピー性疾患に伴う脊髄炎)は 30%、PM(ブタ回虫・イヌ回虫の幼虫の脊髄への迷入に伴う脊髄炎)は 5%を占め、現代日本の非圧迫性ミエロパチーの中で少なくないと考えられた。AM 26 例に 42 回の免疫療法を施行した結果、神経学的所見の改善率においても電気生理学的・MRI 画像的所見の改善率においても、血漿交換(89%、57%)がステロイドパルス療法(72%、15%)や IVIG (60%、0%)より良好な成績が得られた。このことは AM と MS の病態の差を反映していると考えられた。

PM 連続 7 例の検討では、その特徴として、①血清および髄液抗寄生虫抗体が陽性、②MRI 病巣が広汎なわりに症状が軽微、③MRI 上 T2 高信号病巣が比較的大きいわりにそのごく一部がガドリニウムで造影されるにすぎない、などの特徴を有していた。PM はアルベンダゾールに良好な反応性を示した。また末梢血で好酸球増多を伴わないこともあり、原因不明のミエロパチーの鑑別診断上注意が必要と考えられた。

髄液細胞内サイトカインの検索では、AM は MS 同様に髄液細胞では末梢血よりも Th1 ヘシフトしていた。一方、PM は INF- γ IL-4⁺細胞%が有意に OND より増加し、大きく Th2 ヘシフトしていた。髄液上清中のサイトカイン・ケモカインの測定では、AM は INF- γ が有意に増加している一方、PM は IL-5 が有意に増加しており、両者は末梢血では Th2 シフトを共通して示すものの髄液では異なった免疫病態を示し、AM は Th1、PM は Th2 が病巣形成に寄与していると考えられた。

辺縁系脳炎：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%で増加していたが、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。

また専門医により臨床的に辺縁系脳炎が疑われ、悪性腫瘍を随伴した症例 22 例の検討では、肺小細胞癌が 10 例、その他の肺癌と乳癌が 3 例、悪性リンパ腫が 2 例などであった。臨床的な症状としては記憶力障害 28 例、意識障害 15 例、譫妄・不穏・幻覚 14 例、けいれん発作 14 例、見当識障害 10 例、人格変化 2 例であった。Hu 抗体の陽性症例は 3 例で、全例肺小細胞癌を随伴していた。乳癌を随伴する辺縁系脳炎症例 1 例において脳脊髄液中に Ma2(Ta)抗体を検出した。

神経 Sweet 病：Sweet 病に伴って脳炎・髄膜炎を起こす神経 Sweet 病が存在することを明らかにした。本症は 30-70 歳に男女ほぼ同等にみられ、脳の様々な部位に病巣が出現し多彩な神経症状を再発寛解する。Behcet 病と異なり HLA-B54 陽性で B51 陰性である。またステロイド剤に比較的良好に反応するという特徴がある。本症の剖検を初めて行い、神経病理所見は、大脳灰白質(一部白質)の毛細血管周囲性リンパ球浸潤と神経線維の変性、白質のびまん性萎縮とグリオーシスであり、血管炎はみられないことを明らかにした。以上の成績をもとに本症の診断基準を作成した。

本診断基準に基づいて、神経 Sweet 病の全国症例調査を実施し、基準該当症例は既報例 26 例を含めて 56 例にのぼった。その解析により、神経合併症の多くが良性再発性脳炎・髄膜炎であり、HLA-Cw1 と強い相関を示すことなどが明かとなった。

(8) 特発性筋炎

PM/DM 150 例と IBM 46 例における HCV 感染の検討により、IBM では疾患対照と比べて陽性率が有意に高率であることが示された。一方、PM/DM では対照群と有意差はなかった。HCV(+)PM/DM では筋力低下の分布が遠位の例を高頻度で認めた。病理所見では、慢性を示唆する肥大線維像、筋線維内の自己食空隙である rimmed vacuole をもつ筋線維像、非壊死筋線維へのリンパ球浸潤像の項目で HCV 陽性群が有意に高頻度であった。IBM に関しては、HCV 陽性例と陰性例で臨床像、病理所見の出現頻度には明らかな差がなかった。以上より、HCV が特発性筋炎へ何らかの形で関与していることが示唆された。

D. 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世界で初めて樹立し、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、prostaglandin 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 において侵襲の少ない縦隔鏡下胸腺摘除術の免疫学的作用を初めて明らかにし、その短期的・中期的治療効果が従来の胸骨切開法と遜色ないことを示した。

⑨抗 MuSK 抗体陽性 MG 患者血清の passive transfer によりその神経筋伝達阻害作用を明らかにし、この過程には補体が関与していないことから抗アセチルコリン受容体抗体とは作用機序が異なることを示した。

⑩Campylobacter 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。

⑩GBS 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。

⑪CIDP 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。

⑫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。

⑬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。

⑭アトピー性脊髄炎の髄液では IFN- γ などの Th1 サイトカインが上昇し、末梢血とは異なる免疫異常を示すこと、本症では免疫療法のうち血漿交換がもっとも有効であることを明らかにした。

⑮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た。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。

⑯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。

E. 研究発表

平成 14 年度から 16 年度の 3 年間の研究発表について記す。

和文論文

1. 吉良潤一：アレルギー性疾患に伴う中枢神経障害。日本内科学会雑誌 2004;93:1938-45.
2. 吉良潤一：わが国における多発性硬化症の診断と治療はどのように変わってきたか。モダンフィジシャン 2004;24:1817-20.
3. 吉良潤一：多発性硬化症の臨床疫学—環境要因と遺伝要因—。日本臨床 2003;61:1300-10.
4. 吉良潤一：平山病とアトピー素因の関係について。脊髄脊椎ジャーナル 2002;15:521-6.
5. 吉良潤一、三野原元澄：アジア型多発性硬化症の免疫遺伝学的背景と責任自己抗原の追求。神経免疫学 2002;10:191-5.
6. 荒賀茂：重症筋無力症における Immune Network による新しい治療法の展望。神経治療学 2004;21:41-47
7. 荒賀茂：多発性硬化症の治療，再発予防経口トレランス。Clinical Neuroscience 2004;22:842-843.
8. 荒賀茂：先天性重症筋無力症候群。Clinical Neuroscience (in press)
9. 太田宏平：多発性硬化症の免疫学・免疫遺伝学。Modern Physician 2004;24:1824-1828.
10. 中村智美、太田宏平、丹羽直樹、竹内恵、内山真一郎、岩田誠：眼球挫傷をともなう頭部外傷後に大脳白質散在性病変が出現した 1 例。臨床神経学 2004;44:108-110.
11. 太田宏平：重症筋無力症の内視鏡的胸腺摘出術。柳澤信夫、篠原幸人、岩田誠、清水輝夫、寺本明編，Annual Review 2004 神経，中外医学社，東京，2004，pp293-300
12. 清水潤：多発筋炎／皮膚筋炎と筋MRI。神経内科 2004;60:240-246.
13. 三井純、杉本泉、加納聡子、三方崇嗣、村田美穂、清水潤、宇川義一、藤田敏郎、辻省次：疼痛とSLADHにて急性発症し2ヶ月後に筋力低下を指摘されたCIDPの1例。臨床神経 2004;44:438-442.
14. 清水潤：Hepatitis C 感染症と神経筋合併症。Annual Review 神経 2004;117-125.
15. 野村恭一：多発性硬化症とアフエレス。日本アフエレス学会雑誌 2004;23:227-233.
16. 野村恭一：血液浄化療法、多発性硬化症。日本臨床 2003;61:1388-1395.
17. 武本環美、原寿郎：急性散在性脳脊髄炎。小児内科 2003;36:1007-12.
18. 原英夫：Alzheimer 病のワクチン療法。日本臨床 2004;62:254-258.
19. 原英夫：ワクチン療法。アルツハイマー病—早期診断と治療研究の最前線。カレントセラピー 2004;22:71-75.
20. 原英夫：ワクチン療法。メディカル・サイエンス・ダイジェスト 2004;30:212-214.
21. 原英夫：アルツハイマー病の A β ワクチン療法。最新医学別冊：新しい診断と治療の ABC 22. 神経 3 「アルツハイマー病」。2004;158-165.
22. 原英夫、田平武：アルツハイマー病の A β ワクチン療法。Annual Review 神経

- (印刷中)
23. 原英夫、田平武：アルツハイマー病のAβワクチン療法。病態の分子生物学脳神経疾患 南山堂、(印刷中)
 24. 原英夫：多発性硬化症－免疫機能検査。最新医学 2003;47:527-533.
 25. 原英夫：Alzheimer病に対する経口ワクチン療法の開発。医学のあゆみ 2003;206:990.
 26. 久永欣哉：神経 Sweet 病－神経 Behçet 病の類縁疾患。21世紀の神経免疫学－展望。2001;147-151
 27. 松尾秀徳：アフェレシスによる重症筋無力症の治療。神経治療 2004;21:55-60.
 28. 松尾秀徳、澁谷統壽：重症筋無力症の血漿交換。神経内科 2003;59:249-254.
 29. 松尾秀徳：重症筋無力症と胸腺異常。医療 2002;56:131-136.
 30. 村井弘之、梅 風君、小副川学、越智博文、吉良潤一：CIDPの髄液CD4陽性T細胞内サイトカインの解析。末梢神経 2003;14: 147-149
 31. 村井弘之、吉良潤一：多発性硬化症の現状と治療の展望。難病と在宅ケア 2003;9: 49-52
 32. 村井弘之：重症筋無力症の胸腺摘出療法。神経内科 2003;59: 260-264
 33. 吉川弘明：Lambert-Eaton 症候群。脊椎脊髄ジャーナル 2004;17:911-915.
 34. 吉川弘明：重症筋無力症における免疫療法の現状と展望－tacrolimusを中心に－。神経治療学 2004;21:31-40.
 35. 吉川弘明：重症筋無力症の病態 病因と発症のメカニズム 重症筋無力症の臨床－最近の進歩 Clinical Neuroscience (印刷中)
 36. 吉川弘明、山田正仁：実践 診断指針 重症筋無力症 日本医師会雑誌 2002;128:S204-S205.
 37. 吉川弘明：神経難病 重症筋無力症 モダンフィジシャン 2002;22:563-571.
 38. 栗山 勝、米田 誠、藤井明弘：橋本脳症の臨床病態－報告例127症例の臨床像を中心に－。Annual Review 神経 2005 (印刷中).
- 英文論文
1. Osoegawa M, Niino M, Ochi H, Kikuchi S, Murai H, Fukazawa T, Minohara M, Tashiro K, Kira J: Platelet-activating factor acetylhydrolase gene polymorphism and its activity in Japanese patients with multiple sclerosis. J Neuroimmunol 2004;150:150-6.
 2. Ochi H, Osoegawa M, Murai H, Wu X-M, Taniwaki T, Kira J: Presence of IgE antibodies to bacterial superantigens and increased IL-13-producing T cells in myelitis with atopic diathesis. Int Arch Allergy Immunol 2004;134:41-48.
 3. Ochi H, Mei F-J, Osoegawa M, Minohara M, Murai H, Taniwaki T, Kira J: Time-dependent cytokine deviation toward the Th2 side in Japanese multiple sclerosis patients with interferon beta-1b. J Neurol Sci 2004;222:65-73.
 4. Tokunaga H, Osoegawa M, Murai H, Ochi H, Minohara M, Ohyagi Y, Kira J: Anterior horn cell involvement in myelitis with atopic diathesis (atopic myelitis). Fukuoka Acta Medica 2004;95:36-43.
 5. Murai H, Osoegawa M, Ochi H, Kira J: High frequency of allergic conjunctivitis in myasthenia gravis without thymoma. J Neurol Sci 2004;225:27-31.
 6. Ikezoe K, Nakagawa M, Osoegawa M, Kira J, Nonaka I: Ultrastructural detection of DNA fragmentation in myonuclei of fatal reducing body myopathy. Acta Neuropathol 2004;107:439-42.
 7. Tsuruta Y, Ikezoe K, Nakagaki H, Shigeto H, Kawajiri M, Ohyagi Y, Kira J: A case of dermato-fascitis: amyopathic dermatomyositis associated with fasciitis. Clin Rheumatol 2004;23:160-162.
 8. Watanabe A, Kawajiri M, Ikezoe K, Osoegawa M, Murai H, Ochi H, Taniwaki T, Kira J: HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis accompanied with psoriasis. J Neurol Sci 2004;221:95-97.
 9. Yamada T, Ohyagi Y, Shinnoh N, Kikuchi H, Osoegawa M, Ochi H, Kira J, Furuya H: Therapeutic effects of normal cells on ABCD1 deficient cells *in vitro* and hematopoietic cell transplantation in the X-ALD mouse model. J Neurol Sci 2004;218:91-97.
 10. Osoegawa M, Ochi H, Mei F-J, Minohara M, Murai H, Taniwaki T, Kira J: Th2 shift in juvenile muscular atrophy of distal upper extremity: a combined allergological and flow cytometric analysis. J Neurol Sci (in press)
 11. Murai H, Arahata H, Osoegawa M, Ochi H, Minohara M, Taniwaki T, Tobimatsu S, Mihara F, Tsuruta Y, Inaba S, Kira J: Effect of immunotherapy in myelitis with atopic diathesis. J Neurol Sci 2004;227:39-47
 12. Mei F-J, Ishizu T, Murai H, Osoegawa M,

- Minohara M, Zhang K-N, Kira J: Th1 shift in CIDP versus Th2 shift in vasculitic neuropathy in CSF. *J Neurol Sci* 2005;228;75-85
13. Ishizu T, Osoegawa M, Mei F-J, Kikuchi H, Tanaka M, Takakura Y, Minohara M, Murai H, Mihara F, Taniwaki T, Kira J: Intrathecal activation of the IL-7/IL-8 axis in opticospinal multiple sclerosis. *Brain* (in press)
 14. Osoegawa M, Miyagishi R, Ochi H, Nakamura I, Niino M, Kikuchi S, Murai H, Fukazawa T, Minohara M, Tashiro K, Kira J: Platelet-activating factor receptor gene polymorphism in Japanese patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* (in press)
 15. Matsuse D, Ochi H, Tashiro K, Nomura T, Murai H, Taniwaki T, Kira J: Exacerbation of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy during interferon- β -1b therapy in a patient with childhood-onset multiple sclerosis. *Intern Med* (in press)
 16. Kira J : Etiology of multiple sclerosis. *WFN Seminars in Clinical Neurology*. Edited by Oger J, Al-Aragi A. Demos Medical Pub. Inc. (New York) (in press).
 17. Matsuse D, Ochi H, Tashiro K, Nomura T, Murai H, Taniwaki T, Kira J: Exacerbation of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy during interferon beta-1b therapy in a patient with childhood-onset multiple sclerosis. *Intern Med* (in press)
 18. Osoegawa M , Ochi H, Mei F-J, Minohara M, Murai H, Taniwaki T, Kira J: Th2 shift in juvenile muscular atrophy of distal upper extremity: a combined allergological and flow cytometric analysis. *J Neurol Sci* (in press)
 19. Mei F-J, Ishizu T, Murai H, Osoegawa M, Minohara M, Zhang K-N, Kira J: Th1 shift in CIDP versus Th2 shift in vasculitic neuropathy in CSF. *J Neurol Sci* (in press)
 20. Ohyagi Y, Asahara H, Chui D-H, Tsuruta Y, Miyoshi K, Sakae N, Yamada T, Kikuchi H, Ikezoe K, Taniwaki T, Murai H, Furuya H, Shoji M, Kawarabayashi T, Checler F, Iwaki T, Makifuchi T, Takeda K, Kira J, Tabira T: Intracellular A β 42 activates p53 promoter: a pathway to neurodegeneration in Alzheimer's disease. *FASEB J* (in press)
 21. Kubo I, Doh-ura K, Ishikawa K, Kawatake S, Sasaki K, Kira J, Ohta S, Iwaki T: Chemicals with a quinoline ring are therapeutic candidates for transmissible spongiform encephalopathies. *J Virol* (in press)
 22. Yamasaki T, Taniwaki T, Tobimatsu S, Arakawa K, Kuba H, Maeda Y, Kuwabara Y, Shida K, Ohyagi Y, Yamada T, Kira J: Electrophysiological correlates of associative visual agnosia lesioned in the ventral pathway. *J Neurol Sci* (in press)
 23. Ohyagi Y, Asahara H, Chui D-H, Tsuruta Y, Miyoshi K, Sakae N, Yamada T, Kikuchi H, Ikezoe K, Taniwaki T, Murai H, Furuya H, Shoji M, Kawarabayashi T, Checler F, Iwaki T, Makifuchi T, Takeda K, Kira J, Tabira T: Intracellular A β 42 activates p53 promoter: a pathway to neurodegeneration in Alzheimer's disease. *FASEB J* (in press)
 24. Yamasaki T, Goto Y, Taniwaki T, Kira J, Tobimatsu S: Left hemisphere specialization for rapid temporal processing: a study with auditory 40Hz steady-state responses. *Clin Neurophysiol* (in press)
 25. Furuya H, Shinnoh N, Ohyagi Y, Ikezoe K, Kikuchi H, Osoegawa M, Fukumaki Y, Nakabeppu Y, Hayashi T, Kira J: Some flavonoids and DHEA-S prevent the *cis*-effect of expanded CTG repeats in a stable PC12 cell transformant. *Biochem Pharmacol* (in press)
 26. Kawamura N, Ohyagi Y, Yoshiura T, Kawajiri M, Furuya H, Kira J: Time-course diffusion-weighted MRI imaging in a patient with Wilson's disease with acute onset hemichorea. *J Neurol Sci* (in press)
 27. Osoegawa M, Ochi H, Kikuchi H, Shirabe S, Nagashima T, Tsumoto T, Tamura Y, Yamabe K, Takahashi H, Iwaki T, Kira J: Eosinophilic myelitis associated with atopic diathesis: a combined neuroimaging and histologic study. *Acta Neuropathol* 2003;105:289-295.
 28. Osoegawa M, Ochi H, Minohara M, Murai H, Umehara F, Furuya H, Yamada T, Kira J: Myelitis with atopic diathesis: a nationwide survey of 79 cases in Japan. *J Neurol Sci* 2003;209:5-11.
 29. Ochi H, Murai H, Osoegawa M, Minohara M, Inaba S, Kira J: Juvenile muscular atrophy of distal upper extremity associated with airway allergy: Two cases successfully treated by plasma exchange. *J Neurol Sci*

- 2003;206:109-114.
30. Kira J: Multiple sclerosis in Japanese. *Lancet Neurology* 2003;2:117-127.
 31. Kikuchi H, Yamada T, Furuya H, Doh-ura K, Ohyagi Y, Iwaki T, Kira J: Involvement of cathepsin B in the motor neuron degeneration of amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol* 2003;105:462-468.
 32. Ikezoe K, Furuya H, Ohyagi Y, Osoegawa M, Nishino I, Nonaka I, Kira J: Dysferlin expression in tubular aggregates: their possible relationship to the ER stress. *Acta Neuropathol* 2003;105:603-609.
 33. Kira J, Osoegawa M, Horiuchi I, Murai H, Minohara M, Ohyagi Y, Furuya H, Tobimatsu S, Ochi H: History of allergic disorders in common neurologic diseases in Japanese patients. *Acta Neurol Scand* 2002;105:215-220.
 34. Osoegawa M, Ochi H, Yamada T, Horiuchi I, Murai H, Furuya H, Tobimatsu S, Kira J: High incidence of subclinical peripheral neuropathy in myelitis with hyperIgEaemia and mite antigen-specific IgE (atopic myelitis): an electrophysiological study. *Intern Med* 2002;41:684-691.
 35. Ochi H, Osoegawa M, Wu X-M, Minohara M, Horiuchi I, Murai H, Furuya H, Kira J: Increased IL-13 but not IL-5 production by CD4-positive T cells and CD8-positive T cells in multiple sclerosis during relapse phase. *J Neurol Sci* 2002;201:45-51.
 36. Ochi H, Horiuchi I, Araki N, Toda T, Araki T, Sato K, Murai H, Osoegawa M, Yamada T, Okamura K, Ogino T, Mizumoto K, Yamashita H, Saya H, Kira J: Proteomic analysis of human brain identifies alpha-enolase as a novel autoantigen in Hashimoto's encephalopathy. *FEBS Lett* 2002;528:197-202.
 37. Kira J: Atopy and neural damage. *Intern Med* 2002;41:169-174.
 38. Tsuruta Y, Furuta A, Taniguchi N, Yamada T, Kira J, Iwaki T: Increased expression of manganese superoxide dismutase is associated with that of nitrotyrosine in myopathies with rimmed vacuoles. *Acta Neuropathol (Berl)* 2002;103:59-65.
 39. Ikezoe K, Nakagawa M, Yan C, Kira J, Goto Y, Nonaka I: Apoptosis is suspended in muscle of mitochondrial encephalomyopathies. *Acta Neuropathol (Berl)* 2002;103:531-540.
 40. Nakashima I, Fujihara K, Fujimori J, Narikawa K, Misu T, Itoyama Y: Absence of IgG1 response in the cerebrospinal fluid of relapsing neuromyelitis optica. *Neurology* 2004;62:144-146.
 41. Narikawa K, Misu T, Fujihara K, Nakashima I, Sato S, Itoyama Y: CSF chemokine levels in relapsing neuromyelitis optica and multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2004;149:182-186.
 42. Fujimori J, Nakashima I, Fujihara K, Feng J, Yamamoto M, Yamamoto N, Begum N, Sagara Y, Shiraki H, Shiga Y, Onodera J, Sato S, Takase S, Asano M, Endo M, Itoyama Y: Epitope analysis of the cerebrospinal fluid IgG in HTLV-I associated myelopathy patients using phage display method. *J Neuroimmunol* 2004;152:140-146.
 43. Feng J, Misu T, Fujihara K, Misawa N, Koyanagi Y, Shiga Y, Takeda A, Sato S, Takase S, Kohnosu T, Saito H, Itoyama Y: Th1/Th2 balance and HTLV-I proviral load in HAM/TSP patients treated with interferon-alpha. *J Neuroimmunol* 2004;151:189-194.
 44. Feng J, Misu T, Fujihara K, Saito H, Takahashi T, Kohnosu T, Shiga Y, Takeda A, Sato S, Takase S, Itoyama Y: Interferon-alpha significantly reduces cerebrospinal fluid CD4 cell subsets in HAM/TSP. *J Neuroimmunol* 2003;141:170-173.
 45. Matsumoto Y, Yoon WK, Jee Y, Fujihara K, Misu T, Sato S, Nakashima I, Itoyama Y: Complementarity-determining region 3 spectratyping analysis of the TCR repertoire in multiple sclerosis. *J Immunol* 2003;170:4846-4853.
 46. Nakashima I, Fujihara K, Misu T, Fujimori J, Sato S, Takase S, Itoyama Y: A comparative study of Japanese multiple sclerosis patients with and without oligoclonal IgG bands. *Mult Scler* 2002;8:459-462.
 47. Misu T, Fujihara K, Nakashima I, Miyazawa I, Okita N, Takase S, Itoyama Y: Pure optic-spinal form of multiple sclerosis in Japan. *Brain* 2002;125:2460-2468.
 48. Umehara F, Nagatomo S, Yoshishige K, Saito M, Furukawa Y, Usuku K, Osame M: Chronic progressive cervical myelopathy with HTLV-I infection: Variant form of HAM/TSP? *Neurology* 2004;63:1276-1280.

49. Sabouri AH, Saito M, Lloyd AL, Vine AM, Witkover AW, Furukawa Y, Izumo S, Arimura K, Marshall SE, Usuku K, Bangham CR, Osame M: Polymorphism in the interleukin-10 promoter affects both provirus load and the risk of human T lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis* 2004;190:1279-1285.
50. Saito M, Nakagawa M, Kaseda S, Matsuzaki T, Jonosono M, Eiraku N, Kubota R, Takenouchi N, Nagai M, Furukawa Y, Usuku K, Izumo S, Osame M: Decreased human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) provirus load and alteration in T cell phenotype after interferon-alpha therapy for HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis* 2004;189:29-40.
51. Igakura T, Stinchcombe JC, Goon PK, Taylor GP, Weber JN, Griffiths GM, Tanaka Y, Osame M, Bangham CR: Spread of HTLV-I between lymphocytes by virus-induced polarization of the cytoskeleton. *Science* 2003;299:1713-1716.
52. Saito M, Higuchi I, Saito A, Izumo S, Usuku K, Bangham CR, Osame M: Molecular analysis of T cell clonotypes in muscle-infiltrating lymphocytes from patients with human T lymphotropic virus type I polymyositis. *J Infect Dis* 2002;186:1231-1241.
53. Osame M: Pathological mechanisms of human T-cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy (HAM/TSP). *J Neurovirol* 2002;8:359-364.
54. Saida T, Tashiro K, Itoyama Y, Sato T, Ohashi Y, Zhao Z, and The Interferon Beta-1b Multiple Sclerosis Study Group of Japan: Interferon beta-1b is effective in Japanese RRMS patients: A randomized, multicenter study. *Neurology* (in press)
55. Suto Y, Araga S, Sakuma K. et al: Myasthenia gravis with thymus hyperplasia and pure red cell aplasia. *J Neurological Science* 2004;224:93-95.
56. Araga S, Sakuma K, Nakano T, Nakashima K: Analysis of anti-acetylcholine receptor antibodies in myasthenia gravis using reverse isoelectric focusing. *FASEB Journal* 2004;18:835.
57. Araga S, Sakuma K, Tahara T, Ishida I, Nakashima K: Production of monoclonal antibodies (mAb) against a-acetylcholine receptor using KM mice™. *FASEB Journal* 2002;16:1218.
58. Matsuda M, Hoshi K, Gono T, Morita H, Ikeda S: Cyclosporin A in treatment of refractory patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Neurol Sci* 2004;224:29-35.
59. Dohi-Iijima N, Sekijima Y, Nakamura A, Morita H, Matsuda M, Haniuda M, Hashimoto T, Ikeda S: Retrospective analyses of clinical features and therapeutic outcomes in thymectomized patients with myasthenia gravis at Shinshu University. *Intern Med* 2004;43:189-193.
60. Gono T, Matsuda M, Shimojima Y, Ishii W, Yamamoto K, Koyama J, Sakashita K, Koike K, Itoh S, Isaka T, Ikeda S: IgM AL amyloidosis due to B cell lymphoproliferative disorder: efficacy of high-dose melphalan followed by autologous stem cell transplantation. *Amyloid* 2004;11:130-135.
61. Gono T, Matsuda M, Shimojima Y, Koyama J, Sakashita K, Koike K, Hoshii Y, Ikeda S: VAD with or without subsequent high-dose melphalan followed by autologous stem cell support in AL amyloidosis: Japanese criteria for patient selection and our experiences. *Amyloid* (in press)
62. Matsuda M, Hosoda W, Sekijima Y, Hoshi K, Hashimoto T, Itoh S, Ikeda S: Neutropenia as a complication of high-dose intravenous immunoglobulin therapy in adult patients with neuroimmunological disorders. *Clin Neuropharmacol* 2003;26:306-311.
63. Gono T, Matsuda M, Dohi N, Hoshi K, Tada T, Sakashita K, Koike K, Aizawa M, Ikeda S: Nephrotic syndrome due to primary AL amyloidosis, successfully treated with VAD and subsequent high-dose melphalan followed by autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Intern Med* 2003;42:72-77.
64. Sabouri AH, Saito M, Lloyd AL, Vine AM, Witkover AW, Furukawa Y, Izumo S, Arimura K, Marshall SE, Usuku K, Bangham CR, Osame M: Polymorphism in the interleukin-10 promoter affects both provirus load and the risk of human T lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J*