

厚生労働科学研究研究費補助金

こころの健康科学研究事業

軸索傷害型ギラン・バレー症候群の抗神経毒素療法
の開発に関する研究

平成 16 年度～18 年度 総合研究報告書

主任研究者 吉良 潤一

平成 19 年 (2007) 年 4 月

目 次

I. 総合研究報告	
軸索傷害型ギラン・バレー症候群の抗神経毒素療法の開発に関する研究	----- 1
吉良潤一	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 22
III. 研究成果の刊行物・別冊	----- 26

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）

総合研究報告書

軸索傷害型ギラン・バレー症候群の抗神経毒素療法の開発に関する研究

主任研究者 吉良 潤一 九州大学医学研究院・神経内科・教授

研究要旨

近年、我々の研究グループでは、ギラン・バレー症候群（GBS）の先行感染病原体である *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) より、ストレス蛋白の一つである DNA-binding protein from starved cells (C-Dps 蛋白) を初めてクローニングした。我々は GBS 病態と C-Dps 蛋白との関連を検討し、これまでに以下の結果を得ている。1) 本蛋白に対する抗体は、*C. jejuni* 感染後 GBS 患者でのみ陽性であり (62.5%)、呼吸器感染後 GBS 患者では認められない、2) C-Dps 蛋白はラットの脊髄前角の運動ニューロンと末梢神経の髄鞘に結合する、3) C-Dps 蛋白は sulfatide と特異的に結合する、4) C-Dps 蛋白は、NGF によりニューロンに分化誘導した PC12 細胞株に対し、濃度依存性に細胞膜を傷害する。これらの *in vitro* での結果は、C-Dps 蛋白が sulfatide を介して神経細胞に結合し、直接的に神経細胞を傷害しうることを示しており、*C. jejuni* 感染後 GBS の病態への C-Dps 蛋白の関与が示唆される。

本研究では、軸索傷害型 GBS における軸索傷害機序の解明のため、C-Dps 蛋白の *in vivo* における作用を中心に検討を行った。まず第一にラット坐骨神経に C-Dps 蛋白を注入し、電気生理学的検討を行った。C-Dps 蛋白を注入したラット坐骨神経では、複合筋活動電位 (cMAP) は注入後 10 分より有意な低下が認められた。コントロールとして、同量の PBS、あるいは熱処理後 (100℃、30 分間) C-Dps 蛋白を注入した坐骨神経では、cMAP の低下は認められなかった。C-Dps 蛋白を注入した坐骨神経では、髄鞘の最外層、並びにランビエ絞輪部への C-Dps 蛋白の沈着が認められた。通常ランビエ絞輪部に高密度に発現する Na チャンネルや paranode に存在する Caspr は、C-Dps 蛋白注入坐骨神経においてその染色性が低下し、局在変化が認められた。さらに、C-Dps 蛋白注入坐骨神経では解きほぐし標本において、軸索変性や paranodal demyelination などの変化を認め、これらの変化は電顕でも確認された。しかしながら、末梢神経のランビエ絞輪に局在する Nav1.6 を発現する海馬 CA1 錐体細胞での活動電位の検討では、C-Dps 蛋白を加えても変化はなく、Na チャンネルへの直接的な作用は認められなかった。以上のことから、C-Dps 蛋白は Na チャンネルへの直接作用ではなく、その発現低下を介して伝導傷害を誘導するものと考えられた。C-Dps 蛋白の受容体である sulfatide は、laminin と結合することで髄鞘と基底膜との間でアンカーとしての機能を有している。髄鞘と基底膜との相互作用の欠落は、Na チャンネルの発現低下や伝導障害を来すことが報告されており、C-Dps 蛋白による末梢神経障害のメカニズムとしての可能性が考えられた。

さらに最終年度には、C-Dps 蛋白の投与経路の検討を行った。静脈内や動脈内への投与では

神経系への C-Dps 蛋白の選択的沈着は認められなかった。しかしながら、髄腔内投与では、神経内注入と同様に馬尾神経への C-Dps 蛋白の沈着とランビエ後輪部での Na チャンネルの染色性の低下が認められた。今後 C-Dps 蛋白の血中での形態や動態を検討し、軸索傷害型 GBS の動物モデルを作製し、軸索傷害機序の究明、並びに C-Dps 蛋白をターゲットとした新規治療法の開発を行いたい。

分担研究者

鍋倉淳一 岡崎国立共同研究機構生
理学研究所・発達生理学研究室・生
体恒常機能発達機構部門・教授

水之江義充 九州大学大学院医学研
究院・細菌学・助教授

平田和穂 九州大学大学院医学研
究院・形態解析学・講師

三野原元澄 九州大学病院・神経内
科学・医員

A. 研究目的

ギラン・バレー症候群（GBS）は末梢神経の脱髄性疾患では最も頻度の高い神経難病である。なかでも、我が国や中国では *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) 感染後に起こる軸索傷害型 GBS の頻度が高く、重篤な後遺症を残すことが知られている。本症の軸索傷害は、*C. jejuni* の lipopolysaccharide (LPS) との交差反応性により抗 GM1 抗体が誘導され軸索を傷害するという立場での研究が主流となっている。しかしながら、抗 GM1 抗体は、*C. jejuni* 感染後 GBS 患者全例で認められるわけではなく、また、抗 GM1 抗体は末梢神経障害のない患者でも認められる。また、抗 GM1 抗体は *In vitro* において、伝導ブロックを誘導しないことが報告されている。これらのことは、*C. jejuni* 感染後 GBS の病態形成が抗 GM1 抗体のみで説明することが不可能であることを示しており、他の因子の関与が考えられる。

近年、我々の研究グループでは *C. jejuni* の産生する DNA-binding protein from starved cells (C-Dps 蛋白) を初めてクローニングした。我々は本蛋白質と GBS 病態との関連を

検討し、以下の結果を報告してきた。1) 本蛋白質に対する抗体は、*C. jejuni* 感染後 GBS 患者においては 62.5% の陽性率で認められるが、呼吸器感染後 GBS 患者や他の炎症性神経疾患では認められず、また、*C. jejuni* 腸炎患者においては 10% の陽性率で、*C. jejuni* 感染後 GBS では、有意に陽性率が高い。このことは、*C. jejuni* 感染後 GBS 患者では、C-Dps 蛋白に暴露される頻度が高いことを示している。さらに 2) C-Dps 蛋白はラット神経系に対し、中枢神経系では神経細胞の胞体、末梢神経では髄鞘に結合する。3) C-Dps 蛋白は sulfatide と結合する。4) NGF によりニューロンに分化誘導した PC12 細胞株に対し、膜障害を誘導する。つまり C-Dps 蛋白は *in vitro* において神経系に結合し、直接的な神経傷害活性を持つこと示している。以上のことから、C-Dps 蛋白は、*C. jejuni* 感染後 GBS における軸索傷害に関与することが考えられる。このことから、本研究では C-Dps 蛋白の *in vivo* における末梢神経への作用の検討を主に行い、本蛋白質による軸索傷害メカニズムの究明を行った。

B. 研究方法

1) C-Dps 蛋白注入神経での電気生理学的検討：7~8 週齢のメスの Lewis rat を深麻酔下で台座に固定し、背側より両側坐骨神経を露出した。近位部刺激点 (SP) に目印をつけ、そこから 2cm 遠位の遠位部刺激点 (SD) に目印を付けた。SP と SD に電気刺激を加え、腓腹筋の収縮が認められることを確認し記録電極を挿入した。刺激強度は最大上刺激にて行い、刺激間隔は 500msec とした。

C-Dps 蛋白は SP と SD の中間点にマイクロシリンジを用いて注入を行った。C-Dps 蛋白は His-tag の結合したリコンビナント蛋白で、ニッケルカラムを用いて精製を行った。精製後の C-Dps 蛋白には endotoxin が含まれており、ポリミキシン B アガロース (Sigma) を用いて除去を行った。Endotoxin の測定には、Limulus Amebocyte Lysate QCL-1000 (Bio Whittaker) を使用した。コントロールとして PBS、あるいは同濃度の熱処理した C-Dps 蛋白溶液を用いた (熱処理: 100°C、30 分)。坐骨神経への注入は、C-Dps 蛋白 (n=5) は 30 μ l (0.5mg/ml) で行い、PBS (n=5) と同濃度の熱処理後 C-Dps 蛋白 (n=5) も共に 30 μ l 注入した。

電気生理学的検討は、C-Dps 蛋白の注入前、注入後 10 分、60 分、180 分、300 分で行った。伝導速度 (MCV) は、S1 と S2 刺激での潜時を測定し算出した。また、SP と SD 刺激時のそれぞれの複合筋活動電位 (cMAP) を測定し、近位部と遠位部刺激での振幅の比 (近位刺激振幅/遠位刺激振幅: P/D 比) を算出した。

C-Dps 蛋白群、PBS 群、熱処理 C-Dps 群の 3 群において、注入前の MCV、P/D 比と注入後のそれぞれの時間での変化を Wilcoxon 符号順位和にて検定した。

2) C-Dps 蛋白注入神経の病理学的

検討; 7~8 週齢のメスの Lewis rat を深麻酔下で台座に固定し、背側より両側の坐骨神経を露出した。坐骨神経へ C-Dps 蛋白を 30 μ l (0.5mg/ml) 注入し、創部を閉じ、4 時間後に灌流固定し坐骨神経を摘出した。コントロールとして同量の PBS、あるいは熱処理後 (100 度、30 分) C-Dps 蛋白の注入を行った。

摘出した坐骨神経より凍結切片を作製し、免疫染色にて評価した。また、解きほぐし標本の免疫染色を行う場合は、2%PFA in PBS で灌流固定し坐骨神経を摘出した。坐骨神経を 2%PFA in PBS で後固定 (4°C、30 分) し、コラゲナーゼ type4 in PBS (1mg/ml、室温、20 分) で処理し、洗浄後解きほぐし標本を作製し、免疫染色にて評価した。電顕、光顕、通常の解きほぐし標本の作製では、ラットを 4%グルタルアルデヒド in 0.1% phosphate buffer で灌流固定し坐骨神経を摘出した。オスミウム固定後、一部は解きほぐし標本を作製、また、一部はエポン包埋を行い、光顕用、電顕用の切片を作製し観察した。免疫染色での評価は、一次抗体として抗 C-Dps モノクローナル抗体 (25G)、抗 Na チャンネル抗体 (Sigma)、抗 Caspr 抗体 (Dr. Peles, Weizmann Institute より供与)、抗 NF 抗体 (Chemicon)、抗 MBP 抗体 (Acris)、あるいは Biotin 標識 PNA (Vector laboratories) を用いた。二次抗体として Alexa Fluor 488 anti-mouse IgG antibody、Alexa Fluor 594 anti-rabbit IgG antibody、あるいは FITC 標識 streptavidin (Immunotech) を使用し、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。

3) C-Dps蛋白の投与経路の検討

; C-Dps 蛋白の血管内投与では、静脈内投与、動脈内投与の検討を行った。それぞれの投与では、血液神経関門 (BNB; blood-nerve barrier) を開く目的にて、LPS (Lipopolysaccharide; Sigma L6511) の腹腔内投与 (3mg/kg) を行った。静脈内投与の場合、LPSの腹腔内投与後20時間でC-Dps 蛋白を尾静脈より注入した (1mg)。コントロールとして同量のBSAの投与を行った。また、permeabilityの評価のためLPS腹腔内投与23時間後にevans blue-labelled albuminを尾静脈より注

入した。それぞれのラットは、LPS投与後より24時間目に2%PFAにより灌流固定を行い坐骨神経、馬尾神経、脊髄、大脳を摘出し、免疫染色を行い評価した。動脈内投与の場合も、LPS投与後20時間でC-Dpsの動脈内投与を行った。ラットを深麻酔下で左頸動脈を露出し、遠位側と近位側の2カ所を軽く結紮し、その中間点に切れ目を入れ、中枢側に向けてIntramedic polyethylene Tubing (Becton Dickinson)を挿入しチュービングを行った。C-Dps蛋白の注入 (1mg) 4時間後に灌流固定を行い、摘出した各組織より凍結切片を作製、末梢神経に関しては解きほぐし標本を作製し免疫染色を行い評価した。

髄腔内投与では、浸透圧ポンプ (alzet mini-osmotic pump; model 2002) を用いて投与を行った。深麻酔下でラットの背部より棘突起を露出し、下部胸椎の高さで棘突起の一部を破壊しIntramedic polyethylene Tubing を髄腔内に尾側に向け挿入した。チューブの反対側には浸透圧ポンプを接続しており、皮下にポンプを固定した。C-Dps蛋白量は $12 \mu\text{g/day}$ の持続投与とし、コントロールとして同量のBSAの投与を行った。髄腔内投与開始から4日目に、LPSを腹腔内投与し、更に24時間後に2%PFAにて灌流固定を行い評価した。

4) C-Dps蛋白のNaチャンネルへの作用

の検討 ; 出生後12-14日目のWistar ratの海馬CA1錐体細胞を単離し、external solution (140mM NaCl, 2.5mM KCl, 10mM HEPES, 2mM CaCl₂, 10mM glucose: pH 7.4)内でwhole-cell法で検討を行った。ピペット溶液として、5mM KCl, 130mM D-glucuronate, 10mM NaCl, 10mM HEPES, 0.5 EGTA, 4mM Mg-ATP, 0.4mM Na-GTP: pH 7.4を使用した。神経細胞を-60mVに電圧固定して、C-Dps蛋白 (0.5 $\mu\text{g/ml}$) 投与による内向き電流、並びに後過分極

(外向き電流) を観察した。

5) C-Dps蛋白のS16細胞株への作用の検討 ;

medium 1: in DMEM

10% FCS

Penicillin-Streptomycin

N₂-medium: in DMEM/F12 (1:1) media

Insulin 5 $\mu\text{g/ml}$

Human transferrin 100 $\mu\text{g/ml}$

Progesterone 6.3ng/ml

Putrescine 16.11 $\mu\text{g/ml}$

Selenite 5.2ng/ml

Penicillin-Streptomycin

N₂-10 medium: in N₂-medium

10% FCS

シュワン細胞株である S16 を medium 1 で培養した。コラーゲンコートされた 96 穴プレートに細胞をまき、N₂-10 medium で 24 時間培養、その後 N₂-medium でさらに 72 時間培養した。各 well を PBS で洗浄し、endotoxin-free C-Dps 蛋白を 0、0.04、0.2、1、5、25 $\mu\text{g/ml}$ 、positive control として 1% Triton X-100 を加え、1 時間、あるいは 5 時間後に上清を採取し、LDH cytotoxicity detection kit にて遊離 LDH の測定を行った。

S16へのC-Dps蛋白の結合を検討するため、チャンバー付きスライドグラスにS16をまき、N₂-mediumで72時間培養後、PBSで洗浄し、アセトンを加え (4°C、20分) 固定した。5%スキムミルク in TBS-Tでブロッキング (室温、15分) 後、0.5 $\mu\text{g/ml}$ のC-Dps蛋白を加えた (室温、1時間)。洗浄後、抗C-Dps抗体 (25G) でincubate (室温、1時間) し、2次抗体としてAlexa Fluor 488 anti-mouse IgGを使用し、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。

C. 研究結果

1) C-Dps 蛋白注入神経での電気生理学的検討:

注入前の平均 MCV は、PBS 群では 37.2 m/sec、熱処理 C-Dps 群では 45.0 m/sec、C-Dps 群では 42.4 m/sec であった。注入直後はそれぞれ 25.4、29.6、28.7 m/sec と一過性の低下が認められたが、注入後 60 分には改善し、その後は変化は認められなかった。このような一過性の MCV の低下は、坐骨神経への 30 μ l の注入による圧迫負荷が関与すると考えられた。注入前値と比べ注入後 60 分以降のいずれの時間においても、各群とも有意な MCV の低下は認められなかった (図 1)。

一方、cMAP の平均 P/D 比においては、PBS 群では注入前値 1.06、10 分値 1.04、60 分値 1.01、180 分値 0.97、300 分値 0.93 であり、注入前値と比べ注入後のいずれの時間においても有意な低下は認められなかった。熱処理 C-Dps 群においても注入前値 1.02、10 分値 1.04、60 分値 0.97、180 分値 1.03、300 分値 1.01 で有り、注入前値と比べ注入後のいずれの時間においても有意な低下は認められなかった。一方で、C-Dps 注入群においては、注入前値 1.04、10 分値 0.88、60 分値 0.82、180 分値 0.83、300 分値 0.75、420 分値 0.69 であり (図 2)、注入後 10 分から以降、有意な P/D 比の低下が認められた (p 値: 10 分; 0.016、60 分; 0.016、180 分; 0.026、300 分; 0.005、420 分; 0.006)。

2) C-Dps 蛋白注入神経の病理学的検討:

C-Dps 蛋白を注入した坐骨神経においては、凍結切片の免疫染色にて、髄鞘、並びにラン

ビエ絞輪部への C-Dps 蛋白の沈着が認められた (図 3)。

C-Dps 蛋白注入坐骨神経の解きほぐし標本の検討では、C-Dps 蛋白はミエリンの最外層に結合しており、PNA による染色パターンと類似し、抗 MBP 抗体により染色される compact myelin の外側に結合していた。さらに nodal gap へも C-Dps 蛋白の沈着が認められた。

ランビエ絞輪に局在する Na チャンネルの評価を行うため、Na チャンネル、Caspr の免疫染色を行った。コントロールの標本においては、Na チャンネルはランビエ絞輪の軸索上に高密度に発現し、paranode の Caspr に挟まれて局在していた (図 4)。C-Dps 蛋白注入坐骨神経において、C-Dps の沈着部位では Na チャンネルの染色性が低下していた。Na チャンネルと Caspr の二重染色では、Na チャンネルの染色性の低下、並びに Caspr の染色性の低下も認められた。 (図 5)。

さらに、オスミウム固定後に、解きほぐし標本、光顕、電顕にて評価を行った。解きほぐし標本においては、C-Dps 注入坐骨神経において、軸索変性、並びに **paranodal demyelination** が多く確認された (図 6)。これらの異常所見を持つ神経線維の割合は、C-Dps 蛋白注入神経では 6.0%、コントロール群では 0.7%と有意差を認めた ($p=0.0457$)。また、エポン包埋切片では、C-Dps 蛋白注入神経の約 83.3%に軸索変性や **vesiculation** が観察され、コントロール (20.0%) に比べ有意に高率であった ($p=0.0350$) (図 7)。さらに電顕においても **paranodal demyelination** が認められた (図 8)。

3) C-Dps 蛋白の投与経路の検討:

これまでの検討は、ラット坐骨神経内に直

接的に C-Dps 蛋白を注入し、その効果を検討してきたが、全身性投与による効果は不明である。今回、神経内注入以外での方法で C-Dps 蛋白の in vivo での効果を検討した。C-Dps 蛋白の神経系へのアプローチに BNB の破綻は不可欠と考えられ、LPS の腹腔内投与を行った。実際に LPS を腹腔内に投与後 24 時間では、evans blue の末梢神経内への取り込みの上昇が観察された。このため、静脈内投与、並びに動脈内投与では LPS 投与後 24 時間を目指して C-Dps 蛋白の投与を行った。しかしながら、静脈内投与、並びに動脈内投与では、末梢神経や中枢神経に C-Dps 蛋白の明らかな沈着は認められなかった。

一方、C-Dps 蛋白の髄腔内投与では、凍結切片や解きほぐし標本で共に馬尾神経への C-Dps 蛋白の沈着が認められた。この沈着はラット坐骨神経に C-Dps 蛋白を注入したときと同様に、ミエリンの最外層、並びに nodal gap で認められた。解きほぐし標本によるランビエ絞輪に局在する Na チャネルの評価では、C-Dps を髄腔内投与したラットの馬尾神経において、C-Dps の沈着部位で Na チャネルの染色性が低下していた。コントロールの標本においては、Na チャネルはランビエ絞輪の軸索上に高密度に発現していた。このような変化は、C-Dps 蛋白を坐骨神経に直接的に注入した場合と同様の変化であった。

4) C-Dps 蛋白の Na チャネルへの作用の検討；ラット海馬 CA1 錐体細胞のパッチクランプ法を用いた活動電位と後過分極の検討では、C-Dps 蛋白を 5 μ g/ml で加えた前後において、活動電位、並びに後過分極

に差は認められなかった。

5) C-Dps 蛋白の S16 細胞株への作用の検討；C-Dps 蛋白の S16 への結合の有無を検討では、C-Dps 蛋白の S16 への結合が認められた。これは PC12 細胞株と同様であり、C-Dps 蛋白が sulfatide を介して細胞膜に結合しているものと考えられた。しかしながら、C-Dps 蛋白は、前回ニューロンに分化誘導した PC12 細胞株に対しては膜を傷害し LDH の遊離を促進させたが、同濃度での S16 細胞株への傷害作用は認められなかった。さらに C-Dps 濃度を 5 倍に、反応時間も 1 時間から 5 時間に逃した場合においても C-Dps 蛋白の S16 に対する傷害作用は認められなかった。

D. 考察

近年、我々の研究グループにおいて *C. jejuni* の産生する DNA-binding protein from starved cells (C-Dps 蛋白) を初めてクローニングした。Dps 蛋白は、大腸菌などの微生物の産生するストレス蛋白の一つであり、微生物が酸化的ストレスや飢餓ストレスに曝された時に多量に産生される。10 数 kDa の蛋白質が 12 量体を形成しており、鉄結合能、DNA 結合能を持ち、ストレス条件下で DNA を保護する作用を持っている。*C. jejuni* と近縁の菌種である *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) の Dps 蛋白は、好中球を活性化することが知られており、Neutrophil activation protein (HP-NAP) と呼ばれている。HP-NAP は鉄結合能はもつが、他の Dps 蛋白とは異なり DNA 結合能は無い。また、ガングリオシドと結合することが報告されている。C-Dps 蛋

白は、この NAP と 41% のアミノ酸一致（大腸菌の Dps 蛋白とは 24%）があり、鉄結合能はあるが DNA 結合能は無く、より NAP に性質が類似している。

われわれはこれまでに、*C. jejuni* 感染後 GBS 患者が C-Dps 蛋白に生体内において暴露されていること、*in vitro* で C-Dps 蛋白が sulfatide を介して末梢神経に結合し、傷害することを明らかとしてきた。このため本研究では C-Dps 蛋白の末梢神経に対する *in vivo* での作用の検討を行った。電気生理学的検討で、C-Dps 蛋白はラット坐骨神経に対し、伝導速度の低下は起こさないが、伝導ブロックを誘導することが示された。C-Dps 蛋白により誘導される伝導ブロックは、コントロールとしての同量の PBS や熱処理後の C-Dps 蛋白の注入では認められないことから、C-Dps 蛋白特異的な反応と考えられる。また、C-Dps 蛋白注入後の坐骨神経では、C-Dps 蛋白の沈着が髄鞘の最外層、並びにランビエ絞輪部に認められた。これに伴い、C-Dps 蛋白注入神経においては、通常ランビエ絞輪部に集簇する Na チャンネル、並びに paranode に存在する Caspr の染色性が低下した。Caspr はミエリンループと軸索との接着に関わるため、光頭や電頭で認められた paranodal demyelination の所見と一致すると考えられた。このほか C-Dps 蛋白は軸索変性などの変化も誘導しており、電気生理学的検討での伝導ブロックを支持するものと考えられる。パッチクランプ法を用いた、海馬 CA1 細胞に対する作用の検討では、C-Dps 蛋白は Na チャンネルに対する直接的な作用は無く、発現抑制や局在変化により傷害すると推察された。

これまでの検討で、C-Dps 蛋白はニューロンに分化誘導した PC12 細胞に対して、細胞

膜に結合し傷害することが示されているが、今回シュワン細胞株である S16 に対する作用では、C-Dps 蛋白は S16 に対して細胞傷害活性を示さなかった。この理由は不明であるが、現在、他の細胞株や神経細胞の primary culture などで検討を行っている。この C-Dps 蛋白の神経細胞特異的な傷害作用は *C. jejuni* 感染後 GBS での軸索傷害に関与するのかもしれない。

さらに最終年度には、C-Dps 蛋白の投与経路の検討を行った。静脈内や動脈内への投与では神経系への C-Dps 蛋白の選択的沈着は認められなかったが、一方で髄腔内投与を行った場合は、神経内注入と同様に馬尾神経への C-Dps 蛋白の沈着とランビエ絞輪部での Na チャンネルの染色性の低下が認められた。今後さらに C-Dps 蛋白の血中での形態や動態を検討し、本蛋白がどのように末梢神経に到達するかを検討し、軸索傷害型 GBS の新規動物モデルの作製を行い、C-Dps 蛋白をターゲットとした新規治療法の開発を行っていきたい。

E. 結論

C-Dps 蛋白は、*in vivo* において、ラット坐骨神経に作用し、伝導ブロックを誘導した。C-Dps 蛋白は直接的な Na チャンネルへの作用は認めないものの、ランビエ絞輪での Na チャンネルや paranode での Caspr 発現の低下、軸索変性や paranodal demyelination を誘導した。C-Dps 蛋白の髄腔内投与によりラット馬尾神経のランビエ絞輪部での Na チャンネルの集簇を低下させた。C-Dps 蛋白は、*in vitro* において、シュワン細胞株である S16 に対し細胞傷害活性を示さなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tokunaga H, Osoegawa M, Murai H, Ochi H, Minohara M, Taniwaki T, Kira J. Anterior horn cell involvement in myelitis with atopic diathesis (atopic myelitis). *Fukuoka Acta Medica* 95: 36-43, 2004.
- 2) 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* 150: 150-156, 2004.
- 3) 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* 134: 41-48, 2004.
- 4) 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* 222: 65-73, 2004.
- 5) Murai H, Osoegawa M, Ochi H, Kira J. High frequency of allergic conjunctivitis in myasthenia gravis without thymoma. *J Neurol Sci* 225: 27-31, 2004.
- 6) 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* 227: 39-47, 2004.
- 7) 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* 228: 87-92, 2005
- 8) 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* 228: 75-85, 2005.
- 9) 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* 128: 988-1002, 2005.
- 10) 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* 161: 195-198, 2005.
- 11) Osoegawa M, Niino M, Tanaka M, Kikuchi S, Murai H, Fukazawa T, Minohara M, Miyagishi R, Taniwaki T, Tashiro K, Kira J. Comparison of the clinical course of opticospinal and conventional forms of multiple sclerosis in Japan. *Intern Med* 44: 934-938, 2005.

- 12) 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* 44: 68-72, 2005.
- 13) Yano T, Yamada K, Kimura A, Takeshita T, Minohara M, Kira J, Senju S, Nishimura Y, Tanihara H. Autoimmunity against neurofilament protein and its possible association with HLA-DRB1*1502 allele in glaucoma. *Immunol Lett* 100: 164-169, 2005.
- 14) Su J-J, Osoegawa M, Minohara M, Tanaka M, Ishizu T, Mihara F, Taniwaki T, Kira J. Upregulation of vascular growth factors in multiple sclerosis: correlation with MRI findings. *J Neurol Sci* 243: 21-30, 2006.
- 15) Mei F-J, Osoegawa M, Ochi H, Minohara M, Shi N, Murai H, Ishizu T, Taniwaki T, Kira J. Long-term favorable response to interferon beta-1b is linked to cytokine deviation toward the Th2 and Tc2 sides in Japanese patients with multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 246: 71-77, 2006.
- 16) Yokomine K, Nakatsura T, Minohara M, Kira J, Kubo T, Sasaki Y, Nishimura Y. Immunization with heat shock protein 105-pulsed dendritic cells leads to tumor rejection in mice. *Biochem Biophys Res Comm* 343:269-278. 2006.
- 17) Ishizu T, Minohara M, Ichiyama T, Kira R, Tanaka M, Osoegawa M, Hara T, Furukawa S, Kira J. CSF cytokine and chemokine profiles in acute disseminated encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 175: 52-58, 2006.
- 18) Minohara M, Matsuoka T, Li W, Osoegawa M, Ishizu T, Ohyagi Y, Kira J. Upregulation of myeloperoxidase in patients with opticospinal multiple sclerosis: positive correlation with disease severity. *J Neuroimmunol* 178: 156-160, 2006.
- 19) Sun X, Minohara M, Kikuchi S, Ishizu T, Tanaka M, Piao H, Osoegawa M, Ohyagi Y, Shimokawa H, Kira J. The selective Rho-kinase inhibitor Fasudil is protective and therapeutic in experimental allergic encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 180: 126-134, 2006.
- 20) Li W, Minohara M, Su JJ, Matsuoka T, Osoegawa M, Ishizu T, Kira J. Helicobacter pylori infection is a potential protective factor against conventional multiple sclerosis in the Japanese population. *J Neuroimmunol* 187: 227-231, 2007.
- 21) Pineda AAM, Ogata K, Osoegawa M, Murai H, Shigeto H, Tobimatsu S, Kira J. A distinct subgroup of chronic inflammatory demyelinating disease with CNS demyelination and a favorable response to immunotherapy. *J Neurol Sci* 255: 1-6, 2007.
- 22) Matsuoka T, Matsushita T, Kawano Y, Osoegawa M, Ochi H, Ishizu T, Minohara M, Kikuchi H, Mihara F, Ohyagi Y, Kira J. Heterogeneity of aquaporin-4 autoimmunity and spinal cord lesions in Japanese. *Brain* (in press).

- 23) Ohnishi H, Mizunoe Y, Takade A, Tanaka Y, Miyamoto H, Harada M, Yoshida S. *Legionella dumoffii* DjlA, a member of the DnaJ family, is required for intracellular growth. *Infect Immun* 72: 3592-3603, 2004.
- 24) Maeyama R, Mizunoe Y, Anderson JM, Tanaka M, Matsuda T. Confocal imaging of biofilm formation process using fluoroprobed *Escherichia coli* and fluoro-stained exopolysaccharide. *J Biomed Mater Res* 70A: 274-282, 2004.
- 25) Tosukhowong A, Nakayama J, Mizunoe Y, Sugimoto S, Fukuda D, Sonomoto K. Reconstitution and function of *Tetragenococcus halophila* chaperonin 60 tetradecamer. *J Biosci Bioeng* 99: 30-37, 2005.
- 26) Mizunoe Y, Wai SN. Survival and Death in Bacteria: Biofilm formation and entry into viable but nonculturable (VBNC) state -Survival strategy under stress conditions. Yamada M. (eds.) pp225-246 *Research Signpost, Kerala* 2005.
- 27) Maeyama R, Kwon K, Mizunoe Y, Anderson JM, Tanaka M, Matsuda T. Novel bactericidal surface: catechin-loaded surface-erodable polymer prevents biofilm formation. *J Biomed Mater Res* 75: 146-155, 2005.
- 28) Kikuchi T, Mizunoe Y, Takade A, Naito S, and Yoshida S. Curli Fibers Are Required for Development of Biofilm Architecture in *Escherichia coli* K-12 and Enhance Bacterial Adherence to Human Uroepithelial Cells. *Microbiol Immunol* 49:875-884, 2005.
- 29) Balsalobre C, Silván JM, Berglund S, Mizunoe Y, Uhlin BE, and Wai SN. Release of the type I secreted α -haemolysin via outer membrane vesicles from *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 59: 99-112, 2006.
- 30) Kanamaru S, Kurazono H, Mizunoe Y, Terai A, Monden K, Kumon H, Ogawa O, Yamamoto S. Increased biofilm formation in *Escherichia coli* isolated from acute prostatitis. *Int J Antimicrob Agent Suppl* 1: s21-25, 2006.
- 31) Sugimoto S, Yoshida H, Mizunoe Y, Tsuruno K, Nakayama J, Sonomoto K. Structural and functional conversion of molecular chaperone ClpB from the gram-positive halophilic lactic acid bacterium *Tetragenococcus halophilus* mediated by ATP and stress. *J Bacteriol* 188: 8070-8078, 2006.
- 32) Nabekura J, Katsurabayashi S, Kakazu Y, Shibata S, Matsubara A, Jinno S, Mizoguchi Y, Sasaki A, Ishibashi H. Developmental Switch from GABA to glycine release in single central synaptic terminals. *Nat Neurosci* 7: 17-23, 2004.
- 33) Shibata S, Kakazu Y, Okabe A, Fukuda A, Nabekura J. Experience-dependent changes in intracellular Cl⁻ regulation in developing auditory neurons. *Neurosci Res* 48: 211-220, 2004.

- 34) Suzuki H, Kadowaki T, Maeda M, Sasaki H, Nabekura J, Sakaguchi M, Mihara K. Membrane-embedded C-terminal segment of rat mitochondrial TOM40 constitutes protein-conducting pore with enriched β -structure. *J Biol Chem* 279: 50619-50629, 2004.
- 35) Koga H, Ishibashi H, Shimada Y, Nishitani T, Nabekura J. Activation of presynaptic GABA_A receptors increases spontaneous glutamate release on to noradrenergic neurons of the rat locus coeruleus. *Brain Res* 1046: 24-31, 2005.
- 36) Nakamura T, Jeromin A, Smith G, Kurushima H, Koga H, Nakapeppu Y, Wakabayashi S, Nabekura J. Novel role of neuronal Ca²⁺ sensor-1 as a survival factor up-regulated in injured neurons. *J Cell Biol* 172: 1081-1091, 2006.
- 37) Mizoguchi T, Kitamura A, Wake, H, Ishibashi H, Watanabe M, Nishimaki T, Nabekura J. BDNF Occludes GABA_B Receptor-mediated Inhibition of GABA Release in Rat Hippocampal CA1 Pyramidal Neurons. *Eur J Neurosci* 24: 35-44, 2006.
- 38) Wake H, Watanabe M, Moorhouse AJ, Kanematsu T, Horibe S, Matsukawa N, Asai K, Ojika K, Hirata M, Nabekura J. Early Changes In KCC2 Phosphorylation In Response To Neuronal Stress Results In Functional Downregulation. *J Neurosci* 27: 1642-1650, 2007.
- 39) Ishibashi H, Jang LS, Nabekura J. High potassium-induced facilitation of glycine release from presynaptic terminals on mechanically dissociated rat spinal dorsal horn neurons in the absence of extracellular calcium. *Neurosci* (in press).
- 40) Yasuoka K, Hirata K, Kuraoka A, He J, Kawabuchi M. Expression of amyloid precursor protein-like molecule in astroglial cells of the subventricular zone and rostral migratory stream of the adult rat forebrain. *J Anat* 205: 135-146, 2004.
- 41) Hirata K, Masuda, K Morikawa W, He J, Kuraoka A, Kuwano M, Kawabuchi M. N-myc downstream-regulated gene 1 expression in injured sciatic nerves. *Glia* 47: 325-334, 2004.
- 42) Wang S, Kawabuchi M, Zhou CJ, Hirata K, Tan H, Kuraoka A. The spatiotemporal characterization of endplate reoccupation, with special reference to the superposition patterns of the presynaptic elements and the postsynaptic receptor regions during muscle reinnervation. *J Peripher Nerv Syst* 9: 144-157, 2004.
- 43) Matsumoto K, Morisaki T, Kuroki H, Kubo M, Onishi H, Nakamura K, Nakahara C, Kuga H, Baba E, Nakamura M, Hirata K, Tanaka M, Katano M. Exosomes secreted from monocyte-derived dendritic cells support in vitro naive CD4⁺ T cell survival through NF- κ B activation. *Cellular Immunol* 231: 20-29, 2005.
- 44) Hirata M, Hirata K, Hara T, Kawabuchi M, Fukuma T. Expression of TGF- β

like molecules in the life cycle of *Schistosoma japonicum*. Parasitol Res 95: 1432-1955, 2005.

- 45) Liu W, Hirata K, Kawabuchi K. Occurrence of nitric oxide synthase-containing axonal baskets surrounding large neurons in rat dorsal root ganglia after sciatic nerve ligation. Arch Histol Cytol 68: 29-40, 2005.
- 46) Tan H, He J, Wang S, Hirata K, Yang Z, Kuraoka A, Kawabuchi M. Age-related NADPH-diaphorase positive bodies in the lumbosacral spinal cord of aged rats. Arch Histol Cytol 69: 297-310, 2006.
- 47) Miyazaki M, Nakatsura T, Yomine K, Senju S, Monji M, Hosaka S, Komori H, Yoshitake Y, Motomura Y, Minohara M, Kubo T, Ishihara K, Hatayama T, Ogawa M, Nishimura Y. DNA vaccination of HSP105 leads to tumor rejection of colorectal cancer and melanoma in mice through activation of both CD4 T cells and CD8 T cells. Cancer Sci 96: 695-705, 2005.

2. 学会発表

- 1) 小副川学、越智博文、中村一太、村井広之、三野原元澄、吉良潤一；多発性硬化症における血小板活性化因子受容体遺伝子多型についての検討：第16回 日本神経免疫学会・学術集会（東京）2004, 1月
- 2) 朴華、三野原元澄、石川崇彦、森田大児、石津尚明、小副川学、村井弘之、楠進、水之江義充、吉良潤一；*Campylobacter*

jejuni 由来Dps蛋白と sulfatide との結合：第16回 日本神経免疫学会・学術集会（東京）2004, 1月

- 3) 梅風君、村井弘之、越智博文、小副川学、三野原元澄、吉良潤一；慢性炎症性脱髄性多発神経炎 (CIS) における髄液 CD4 陽性 T 細胞内サイトカインの解析：第16回 日本神経免疫学会・学術集会（東京）2004, 1月
- 4) 三野原元澄、川尻真和、孫曉嘉、石津尚明、小副川学、村井弘之、吉良潤一；Subcortico-optico-myelitis with anti-neuronal autoantibody：第16回 日本神経免疫学会・学術集会（東京）2004, 1月
- 5) 孫曉嘉、荒木令江、三野原元澄、高倉由佳、村井弘之、佐谷秀行、吉良潤一；慢性進行性大脳皮質炎症例の脳自己抗原の二次元免疫プロット法による解析：第16回 日本神経免疫学会・学術集会（東京）2004, 1月
- 6) 朴華、三野原元澄、水之江義充、森田大児、楠進、吉良潤一；*Campylobacter jejuni* 由来 Dps 蛋白のレセプター同定と神経障害作用：第45回日本神経学会総会（東京）2004, 5月
- 7) 梅風君、村井弘之、三野原元澄、小副川学、吉良潤一；多発性硬化症の髄液 CD4 陽性 T 細胞内 TNF α 、IL-2 の測定：第45回日本神経学会総会（東京）2004, 5月
- 8) 孫曉嘉、三野原元澄、荒木令江、吉良潤一；大脳皮質と皮質下直下を侵す炎症性神経疾患の抗神経抗体の解析：第45回日本神経学会総会（東京）2004, 5月
- 9) 小副川学、越智博文、中村一太、村井弘

- 之、三野原元澄、吉良潤一；多発性硬化症における血小板活性化因子受容体遺伝子多型についての検討：第 45 回日本神経学会総会（東京）2004、5 月
- 10) 三野原元澄、朴華、石津尚明、西村泰治、吉良潤一；EAE における hsp105 蛋白に対する免疫応答の解析：第 45 回日本神経学会総会（東京）2004、5 月
 - 11) 石津尚明、村井弘之、小副川学、梅風君、三野原元澄、吉良潤一；多発性硬化症再発期の髄液サイトカイン高感度多項目同時解析：第 45 回日本神経学会総会（東京）2004、5 月
 - 12) T. Ishizu, M. Osoegawa M, M. Minohara, H. Murai, J. Kira : Simultaneous measurement of sixteen cytokines and chemokines in CSF from Japanese multiple sclerosis patients with different clinical subtypes of the disease : 7th International Congress of Neuroimmunology (Venice, Italy) 2004, September
 - 13) M. Minohara, H. Piao, M. Mizunoe, H. Osoegawa, H. Murai, J. Kira : The role of Dps protein from *Campylobacter jejuni* in Guillain-Barre syndrome : 7th International Congress of Neuroimmunology (Venice, Italy) 2004, September
 - 14) 朴華、三野原元澄、李巍、水之江義充、吉良潤一；*Campylobacter jejuni* 由来 Dps 蛋白による神経細胞傷害：グリア研究会（福岡）2004、11 月
 - 15) 李巍、三野原元澄、小副川学、石津尚明、村井弘之、吉良潤一；日本人多発性硬化症における *Helicobacter pylori* 感染の意義：第 17 回 日本神経免疫学会・学術集会（東京）2005、3 月
 - 16) 小副川学、宮岸隆司、越智博文、新野正明、中村一太、菊地誠志、村井弘之、深澤俊行、三野原元澄、田代邦雄、吉良潤一；多発性硬化症の病型と血漿型 PAF-AH/PAF 受容体遺伝子多型についての検討：第 17 回 日本神経免疫学会・学術集会（東京）2005、3 月
 - 17) 朴華、三野原元澄、石津尚明、小副川学、村井弘之、水之江義充、吉良潤一；*Campylobacter jejuni* 由来 Dps 蛋白による末梢神経伝導傷害：第 17 回 日本神経免疫学会・学術集会（東京）2005、3 月
 - 18) 孫曉嘉、三野原元澄、田中正人、石津尚明、小副川学、村井弘之、下川博明、吉良潤一；Rho kinase inhibitor による実験的自己免疫性脳脊髄炎の治療：第 17 回 日本神経免疫学会・学術集会（東京）2005、3 月
 - 19) 蘇真真、小副川学、田中正人、三野原元澄、石津尚明、村井弘之、吉良潤一；多発性硬化症における血管関連因子の関与：VEGF は脊髄病巣の大きさと精巢関する：第 17 回 日本神経免疫学会・学術集会（東京）2005、3 月
 - 20) 三野原元澄、石津尚明、市山高志、吉良龍太郎、田中正人、小副川学、原寿郎、古川漸、吉良潤一；急性散在性脳脊髄炎の髄液サイトカイン・ケモカインプロフィール：第 17 回 日本神経免疫学会・学術集会（東京）2005、3 月
 - 21) 梅風君、小副川学、越智博文、三野原元澄、村井弘之、吉良潤一；多発性硬化症における長期間 IFN β -1b 投与に伴う末梢血 T 細胞内サイトカインの変動の意義：第 17 回 日本神経免疫学会・学術集会（東京）2005、3 月

- 22) 水之江義充、高出明美；大腸菌の新溶血素 ClyA (pore-forming cytolysin)の分泌とアセンブリの機構：第 78 回 日本細菌学学会（東京）2005, 4 月
- 23) 高屋明子、水之江義充（他 5 名）；サルモネラの 0MV を介したマクロファージ内増殖機構：第 78 回 日本細菌学学会（東京）2005, 4 月
- 24) 田中正人、石津尚明、小副川学、三野原元澄、菊池仁志、吉良潤一；運動ニューロン疾患患者髄液中のサイトカイン/ケモカインの多項目同時測定による解析：第 46 回 日本神経学会総会（鹿児島）2005. 5 月
- 25) 朴華、三野原元澄、後藤純信、水之江義充、吉良潤一；*Campylobacter jejuni* 由来 Dps 蛋白による末梢神経障害の検討：第 46 回 日本神経学会総会（鹿児島）2005. 5 月
- 26) 三野原元澄、石津尚明、小副川学、田中正人、梅風君、吉良潤一；多発性硬化症における髄液 IL-17, IL-8 と総合障害度・MRI 脊髄病巣の相関：第 46 回 日本神経学会総会（鹿児島）2005. 5 月
- 27) 蘇真真、小副川学、三野原元澄、田中正人、石津尚明、村井弘之、吉良潤一；多発性硬化症における血管関連因子の検討：第 46 回 日本神経学会総会（鹿児島）2005. 5 月
- 28) 李巍、三野原元澄、小副川学、吉良潤一；日本人多発性硬化症における *Helicobacter pylori* に対する免疫応答の検討：第 46 回 日本神経学会総会（鹿児島）2005. 5 月
- 29) 孫曉嘉、三野原元澄、下川宏明、吉良潤一；Rho-kinase 阻害薬による実験的自己免疫性脳脊髄炎の治療効果：第 46 回 日本神経学会総会（鹿児島）2005. 5 月
- 30) 石津尚明、三野原元澄、市山高志、吉良龍太郎、田中正人、小副川学、吉良潤一；急性散在性脳脊髄炎での髄液サイトカイン・ケモカイン多項目測定による免疫病対の検討：第 46 回 日本神経学会総会（鹿児島）2005. 5 月
- 31) 和気弘明、渡部美穂、鍋倉淳一；神経特異的 KCC2 (K^+-Cl^- cotransporter) のリン酸化と神経細胞酸化ストレス時における GABA 作用の経時的変化：第 52 回 中部日本生理学会（名古屋）2005, 9 月
- 32) Mizunoe Y； Bio-safety and microorganisms. Second International Conference of Bio-terrorism (Moscow) 2005, October
- 33) Minohara M, Sun X, Tanaka M, Ishizu T, Shimokawa H, Kira J； Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis by Rho kinase inhibitor. 18th World Congress of Neurology (Sydney, Australia) 2005, November
- 34) Pineda A, Kira J, Tobimatsu S, Ogata K, Osoegawa M； The role of evoked potentials in detecting subclinical CNS involvement in CIDP. 18th World Congress of Neurology (Sydney, Australia) 2005, November
- 35) Pineda A, Kira J, Minohara M； The effect of Rho-kinase inhibitor Fasudil in the clinical course of EAN (experimental autoimmune neuritis). 18th World Congress of Neurology (Sydney, Australia) 2005, November
- 36) Watanabe M, Wake H, Nabekura J； Phosphorylation by tyrosine kinase regulates the functional expression of

- neuron-specific K^+Cl^- cotransporter, KCC2. Society for Neuroscience 35th Annual Meeting (Washington, DC, USA) 2005, November
- 37) Wake H, Watanabe M, Nabekura J; Time course of the functional loss of KCC2 in neuronal damage. Society for Neuroscience 35th Annual Meeting (Washington, DC, USA) 2005, November
- 38) Yamada K, Wake H, Watanabe M, Takada K, Matsukawa N, Yamawaki T, Nabekura J, Ojika K; Neuronal expressions of hippocampal cholinergic neurostimulating peptide precursor protein follow hippocampal neuronal damage in vitro. Society for Neuroscience 35th Annual Meeting (Washington, DC, USA) 2005, November
- 39) 朴華、三野原元澄、石津尚明、小副川学、村井弘之、水之江義充、吉良潤一；*Campylobacter jejuni* 由来 Dps 蛋白による Na チャネルの障害：第 18 回 日本神経免疫学会・学術集会（名古屋）2006, 3 月
- 40) 三野原元澄、李巍、松岡健、石津尚明、小副川学、村井弘之、吉良潤一；日本人多発性硬化症における血清 myeloperoxidase 値の上昇：第 18 回 日本神経免疫学会・学術集会（名古屋）2006, 3 月
- 41) 孫曉嘉、三野原元澄、菊池仁志、田中正人、石津尚明、下川宏明、吉良潤一；Rho kinase 阻害剤による実験的自己免疫性脳脊髄炎の再発抑制：第 18 回 日本神経免疫学会・学術集会（名古屋）2006, 3 月
- 42) Arnold Pineda、三野原元澄、孫曉嘉、石津尚明、下川宏明、吉良潤一；実験的自己免疫性神経炎に対する Rho kinase inhibitor の作用：第 18 回 日本神経免疫学会・学術集会（名古屋）2006, 3 月
- 43) 三野原元澄、孫曉嘉、石津尚明、吉良潤一；実験的自己免疫性脳脊髄炎の Rho-kinase 阻害薬による治療効果の病理学的検討：第 47 回 日本神経学会総会（名古屋）2006. 5 月
- 44) 李巍、三野原元澄、松岡健、小副川学、吉良潤一；日本人多発性硬化症における血清 myeloperoxidase (MPO) 上昇の意義：第 47 回 日本神経学会総会（名古屋）2006. 5 月
- 45) Pineda Arnold、三野原元澄、石津尚明、吉良潤一；実験的自己免疫性神経炎における、Rho-kinase 阻害薬の治療効果の検討：第 47 回 日本神経学会総会（名古屋）2006. 5 月
- 46) 朴華、三野原元澄、水之江義充、吉良潤一；*Campylobacter jejuni* 由来 Dps 蛋白末梢神経内注入による Na チャネル発現の低下：第 47 回 日本神経学会総会（名古屋）2006. 5 月
- 47) 河野祐治、小副川学、李巍、三野原元澄、吉良潤一；日本人多発性硬化症における抗アクアポリン 4 抗体の意義：第 47 回 日本神経学会総会（名古屋）2006. 5 月
- 48) Nishimaki T, Jang IS, Nabekura J；外側上オリーブ核に入力する抑制性シナプス前終末における代謝型グルタミン酸受容体の発達変化：第 83 回日本生理学会大会（前橋）2006. 3 月
- 49) Nishimaki T, Jang IS, Nabekura J；Developmental decrease of presynaptic

- GABAB receptor function in rat LSO neurons : 第 29 回 日本神経科会 (京都) 2006. 7 月
- 50) 水之江義充 ; バイオフィルム形成と阻害 : 第 79 回日本細菌学総会 (金沢) 2006. 3 月
- 51) Hirata K, Kanemaru T, Minohara M, Kira J. Expression of nestin in glial cells of the rat olfactory system after olfactory epithelium lesion. : 第 29 回 日本神経科会 (京都) 2006. 7 月
- 52) Minohara M, Piao H, Mizunoe Y, Osoegawa M, Murai H, Kira J; Effect of Dps from *Campylobacter jejuni* on nerve conduction and nodal sodium channel in vivo. 8th International Conference of Neuroimmunology (Nagoya, Japan) 2006, October
- 53) Pineda A, Minohara M, Sun X, Ishizu T, Shimokawa H, Kira J; The effect of rho-kinase inhibitor fasudil in experimental autoimmune neuritis. 8th International Conference of Neuroimmunology (Nagoya, Japan) 2006, October
- 54) Li W, Minohara M, Matsuoka T, Osoegawa M, Murai H, Kira J; Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Japanese patients with multiple sclerosis. 8th International Conference of Neuroimmunology (Nagoya, Japan) 2006, October
- 55) Nishimaki T, Jang IS, Ohno K, Nabekura J; Physiological Role of GABAB Receptor at Inhibitory synapses in Developing Rat LSO neurons. Society for Neuroscience 36th Annual Meeting (Atlanta, USA) 2006, October
- 56) Wake H, Watanabe W, Nabekura J; Early Changes In KCC2 Phosphorylation In Response To Neuronal Stress Results In Functional Downregulation. Society for Neuroscience 36th Annual Meeting (Atlanta, USA) 2006, October
- 57) Tan H, He J, Wang S, Hirata K, Kuraoka A, Yang Z, Kawabuchi M; Age-related spheroidal structures visualized by NADPH-diaphorase in the central nervous system of the aged rats. Society for Neuroscience 36th Annual Meeting (Atlanta, USA) 2006, October
- 58) 石川秀人、高屋明子、水之江義充、高出明美、磯貝恵美子、吉田真一、山本友子 ; サルモネラの OMV による病原性発現調節 : 第 80 回 日本細菌学会総会 (大阪) 2007. 3 月
- 59) 北川良、高屋明子、水之江義充、高出明美、磯貝恵美子、吉田真一、山本友子 ; 腸管出血性大腸菌毒素の分泌調節における AAA+protease の関与 : 第 80 回 日本細菌学会総会 (大阪) 2007. 3 月

H.知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

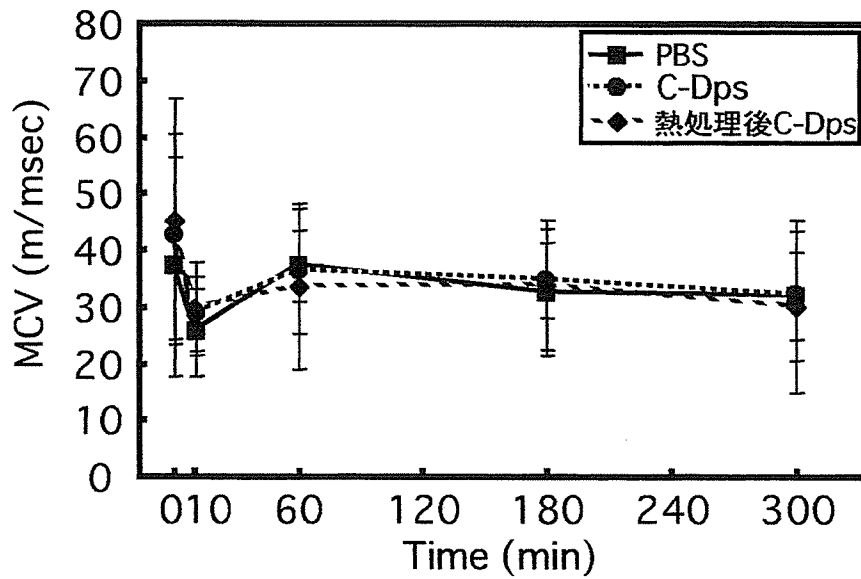


図1 C-Dps蛋白によるMCVの変化

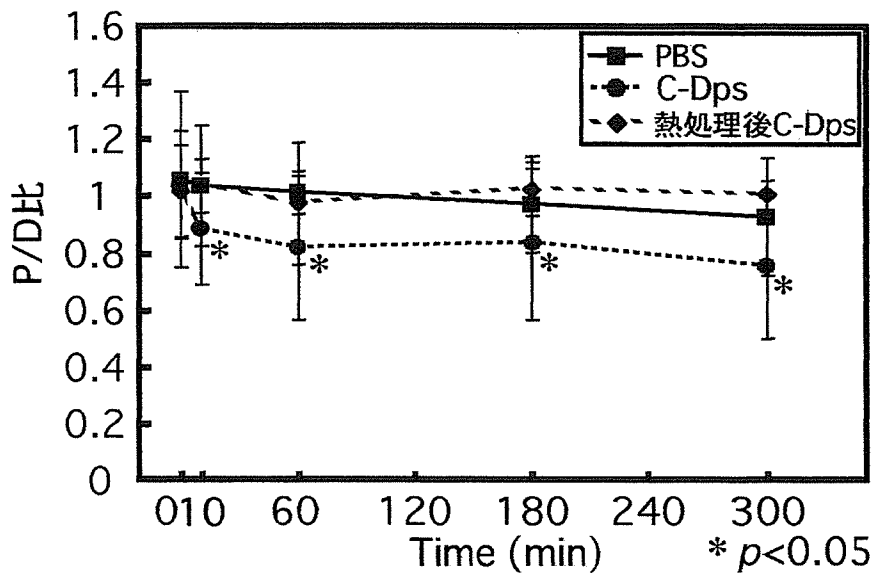


図2 C-Dps蛋白によるP/D比の変化