

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

難治性疾患の画期的診断・治療法等に関する研究

平成16－18年度 総合研究報告書

主任研究者 山村 隆

平成19年 (2007) 年 3月

# 目 次

## I. 総合研究報告

- 難治性疾患の画期的診断・治療法等に関する研究  
国立精神・神経センター研究所 疾病研究第六部 山村 隆 ----- 1

## II. 分担総合研究報告

- DNAマイクロアレイによる多発性硬化症患者末梢血 T リンパ球  
遺伝子発現の網羅的解析  
明治薬科大学薬学部生命創薬科学科バイオインフォマティクス 佐藤 準一 ----- 17
- 「DNA マイクロアレイを用いて検討した多発性硬化症関連遺伝子」に関する研究  
国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部 三宅幸子 ----- 33
- インターフェロン・ベータ 1b 療法導入及び中止後の問題点について  
国立精神・神経センター武蔵病院神経内科 小川 雅文 ----- 43
- BBB に対するインターフェロン  $\beta$  の有効性に関する研究:  
温度感受性 SV40 ラージ T 抗原を用いた新規 BBB model の確立  
山口大学大学院医学研究科脳神経病態学神経内科学分野 神田 隆 ----- 45
- 「実験的自己免疫性脳脊髄炎を用いた多発性硬化症の病態解明と新規治療法開発」  
に関する研究  
近畿大学医学部神経内科 楠 進 ----- 57
- 多発性硬化症の疾患概念と病態, 治療に関する研究  
国立病院機構札幌南病院神経内科 菊地誠志 ----- 59
- MS に対する IFN-  $\beta$  療法の作用機序に関する免疫学的検討  
京都大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科学 堀 利行 ----- 63

■ 多発性硬化症の病型と治療法に関する検討	
東京理科大学理学部 太田 宏平 -----	69
■ arundic acid (ONO-2506) による慢性進行型・再発寛解型 EAE の抑制 —ONO-2506 は多発性硬化症の予防薬となるか—	
埼玉医科大学総合医療センター 野村恭一 -----	74
■ 日本人 MS の特徴およびインターフェロンβの持つ予防効果に関する研究	
順天堂大学医学部脳神経内科神経免疫部門 横山 和正 -----	82
■ インターフェロンと NK 細胞	
国立国際医療センター研究所 難治性疾患研究部臨床免疫研究室 小笠原康悦 -----	85
III. 班員名簿 -----	89
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	90
V. 研究成果の刊行物・別刷 -----	96

# I. 総合研究報告

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

## 難治性疾患の画期的診断・治療法等に関する研究

主任研究者 山村 隆 国立精神・神経センター神経研究所

疾病研究第六部 部長

### 研究要旨

多発性硬化症(multiple sclerosis; MS)は自己抗原反応性 T 細胞により惹起される時間的・空間的再発を特徴とする中枢神経系の自己免疫疾患である。急性期にはステロイド・パルス療法、慢性期にはインターフェロン療法が推奨されているが、その適用については明確な基準がなく、個々の症例では過剰または不十分な治療になっている可能性が排除できない。その理由として、診療で利用できる適当なバイオマーカーが存在しないことが上げられる。本研究では、MS の病態を正確に把握するバイオマーカーを同定することを一義的な目標とした。三年間の研究で、MS の患者末梢血 NK 細胞の CD11c 分子発現量が、MS の予後を推定する良いマーカーとなることを明らかにした (*J. Immunol.* 177: 5659, 2006)。すなわち、寛解期の MS では CD11c の高いグループ (CD11c high) と低いグループ (CD11c low) に分かれ、CD11c high では4ヶ月以内に再発を来す確率が有意に高いことを示した。今後、CD11c 測定を普及させることで、MS 医療の適正化に貢献することが期待できる。また、MS 患者間の多様性、病期、病勢、治療反応性を規定する分子遺伝学的基盤を解明するため、末梢血 T 細胞の遺伝子発現プロファイルを DNA マイクロアレイで網羅的に解析した。その結果、(1) T 細胞遺伝子発現プロファイルから、MS は疾患活動性・病巣分布・IFN $\beta$ 治療反応性と密接に関連した 4 群に分類されること、(2) CXCR3 や CCR2 のリガンドとなるケモカインが IFN $\beta$ 治療早期の副作用発現に関与していること、(3) 43 種類の遺伝子発現が再発時に変化し、これらは MS 再発を確定するバイオマーカーとなり得ること、(4) MS 再発時には NF- $\kappa$ B 遺伝子発現制御系に異常があること、などを明らかにした。また MS の T 細胞発現の亢進している転写因子 NR4A2 に注目し、NR4A2 には T 細胞の炎症性サイトカイン産生 (IL-17 やインターフェロン・ガンマ) を誘導する活性があることなどを証明した。一連の研究成果は、MS の病態解明に関して国際的にも誇るべき成果であり、新たな診断技術や治療薬開発につながるものである。

### 分担研究者

佐藤準一 明治薬科大学薬学部  
生命創薬科学科 教授

三宅幸子 国立精神・神経センター  
神経研究所免疫研究部 室長

小川雅文	国立精神・神経センター 武蔵病院神経内科 医長
神田 隆	山口大学大学院医学研究科脳神 経病態学神経内科学分野 教授
楠 進	近畿大学医学部神経内科 教授
菊地誠志	国立病院機構札幌南病院 神経内科 部長
堀 利行	京都大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科学 講師
太田宏平	東京理科大学理学部 教授
野村恭一	埼玉医科大学総合医療センター 教授
横山和正	順天堂大学医学部脳神経内科 講師
小笠原康悦	国立国際医療センター研究所 難治性疾患研究部 室長

## A. 研究目的

多発性硬化症(multiple sclerosis; MS)は自己反応性 T 細胞により惹起される時間的・空間的再発を特徴とする中枢神経系の自己免疫疾患である。従来インターフェロン・ガンマ(IFN- $\gamma$ )を産生する Th1 細胞の関与が強調されてきたが、最近では IL-17 を産生する Th17 細胞に強い炎症惹起能の存在することが示され、Th1 細胞および Th17 細胞の関与する疾患と考えられるようになってきている。MS の回復期には髄鞘再生を認めるが、再発を反復し炎症が遷延化することにより髄鞘再生不全・軸索傷害・神経変性を来して不可逆的な機能障害を残す。急性期にはステロイド・パルス療法、慢性期にはインターフェロン療法が推奨されているが、その適用については明確な基準がなく、個々の症例では過剰または不十分な治療になっている可能性が排除できない。その理由として、他の多くの内科疾患の診療で利用できる血液バイオマーカーが MS においては存在しないことが上げられる。本研究では、MS の病態を正確に把握

し予後の推定にも有用なバイオマーカーを同定し、MS の診療レベルを向上させることを一義的な目標とした。

平行して分担研究者の佐藤は、MS 病態に関連する免疫異常を同定する DNA マイクロアレイを用いた研究を展開した。すなわち、平成 16 年度には、MS 病態多様性の分子遺伝学的基盤を解明するために、患者末梢血 T 細胞の遺伝子発現プロフィールを DNA マイクロアレイで網羅的に解析して健常者と比較した。平成 17 年度には、IFN $\beta$  応答遺伝子(IFN $\beta$ -responsive genes; IRG)を網羅的に解析し、IFN $\beta$ の副作用発現に関連する遺伝子を同定した。さらに平成 18 年度には T 細胞遺伝子発現プロフィールを同一患者の再発期と寛解期に経時的に比較解析し、再発期特異的遺伝子(relapse-specific genes; RSG)を同定することを目標とした。

DNA マイクロアレイ研究の過程で MS 患者末梢血中の T 細胞において健常人に比べて上昇している分子を複数同定した。その中で健常人との差における p 値が最も低い分子 Nurr1 (NR4A2) に注目した。同分子は Steroid thyroid receptor superfamily に属するオーファンリセプターで、T 細胞受容体刺激や炎症性サイトカインなどによって発現が誘導される。NR4A2 の機能を解析して、その発現更新が MS 病態に及ぼす影響を検討した(担当三宅)。

IFN- $\beta$ 療法は MS の再発予防に対する治療として確立しているが、副作用やノンレスポンスの存在などいくつかの問題点もある。DNA マイクロアレイ研究の過程で、IFN $\beta$ が炎症を悪化させる IL-6 やケモカインを誘導することがわかった(佐藤ら; BMC Neurology に発表)。IFN $\beta$ に対する T 細胞の反応が炎症促進性のものであるのに、同薬剤が多くの MS

症例に対して有効であることは、大きな謎である。そこで、分担研究者の堀は、IFN $\beta$ を含むI型IFNがマスト細胞(MC)と樹状細胞(DC)という2つのアクセサリー細胞、その中でもとくに不明な点の多い前者への作用を介して免疫を制御する可能性について検討した。また、最終年度には分担研究者の小笠原が、I型IFNのNK細胞に対する影響について基礎的な検討を加えた。また、分担研究者の小川はIFN $\beta$ 療法中止例を検討し、その予後及び中止後にどのような治療をされていたかを検討した。

IFN $\beta$ の主たる作用機序の一つに脳血液関門(BBB)の修復機構が考えられているが、IFN $\beta$ のBBB修復機構の詳細な分子メカニズムについては十分な検討がなされていない。そこで神田班員は、(1)IFN $\beta$ のヒト脳毛細血管内皮細胞への効果の解析、および(2)ヒト脳毛細血管内皮細胞由来の新たな *in vitro* BBB モデル作成を試みた。

日本人MSは欧米人MSと多くの点で異なるが、欧米人の先導するMSの診断基準が存在し、現場を混乱させている。菊地班員は、臨床的に確実と診断された本邦のMSにおいて、McDonaldの診断基準(2001年)で明記された「脊髄MRI病変>3椎体」「髄液細胞数>50」という除外診断のいずれかを有する症例の割合と、それら症例のその他の臨床的特徴の有無を検討し、McDonald診断基準の問題点を検証した。

症例やサンプルの収集には、班員共同でこれに当たった。

## B. 研究方法

B-1: NK細胞CD11cのバイオマーカーとしての有用性に関する研究(担当:山村)

健常者と再発寛解型MS患者の末梢血単核球を用いた。全ての患者は、採血の時点で最低1

ヶ月間、ステロイドまたはIFN $\beta$ 投与を受けていないことを条件とした。T細胞やNK細胞の表面分子(CD11cなど)の発現をフローサイトメトリーにより測定し、120日間患者の臨床経過を追跡し、Kaplan-Meierの生存率により寛解率を算出した。CD11c発現上昇のメカニズムを明らかにするため、健常者のNK細胞を様々なサイトカイン存在下で3日間培養し、CD11c発現量を解析した。また、健常者、MS患者それぞれからNK細胞を磁気ビーズで分離し、定量的RT-PCR法により、IFN- $\gamma$ やIL-5の発現量を定量した。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立精神・神経センター倫理委員会の承認を受け、全ての患者から書面によるインフォームドコンセントを得た上で行った。また、患者から得られた情報は厳重に保管されている。

B-2: DNAマイクロアレイによるMSのT細胞遺伝子発現パターンの同定に関する研究(担当:佐藤)

研究に利用した細胞集団は以下の通りである。

1) 文書同意を取得したIFN $\beta$ 未治療 clinically active MS 72名と健常者22名の末梢血リンパ球から、MACSで分離したCD3<sup>+</sup>T細胞。

2) 健常者PBMCをrecombinant human IFN $\beta$ 、IFN $\gamma$ 、TNF $\alpha$ またはIL-1 $\beta$ (50 ng/ml)の存在下で3時間または24時間培養後のリンパ球

3) 国立精神・神経センター武蔵病院神経内科通院中MS患者で、神経内科専門医診断に基づく急性増悪期(acute relapse)と完全寛解期(remission)に採取したPBMCからMACSで分離したCD3<sup>+</sup>T細胞。

RNAeasy Mini KitでRNAを抽出し、増幅し

た後に cDNA を作成し、Cy5 で標識した。健常者 3 名の pooled cDNA を Cy3 で標識し universal reference とし、1,258 cDNA microarray (Hitachi Life Science) 上で競合的 hybridization を行い、蛍光強度を global normalization で補正した。

上記(1)では R (Bayesian t test)により MS versus CN で有意な発現差異を認めた遺伝子群を抽出し、これを識別遺伝子(discriminator)として GeneSpring 7.2 を用いて階層的クラスター解析と主成分解析を行った。(2)では 2-fold change を cut-off として IFN $\beta$ -induced (upregulated) または repressed (downregulated) genes を同定、LightCycler ST300 による real-time RT-PCR で検証(validation)した。(3)では生物情報統合プラットフォーム KeyMolnet を用いて 43 RSG の分子ネットワークを解析した。

(倫理面への配慮)

「多発性硬化症患者および対照リンパ球遺伝子発現解析研究(申請者山村隆)」は、既に国立精神・神経センター倫理委員会で承認済みである。本研究で解析する患者全員から研究参加に関して文書で同意を取得した。

B-3:NR4A2 の機能に関する研究 (担当:三宅)

MS および健常人末梢血 T 細胞における NR4A2 (Nurr1) の発現を real-time PCR 法を用いて検討した。実験的自己免疫性脳脊髄炎 (Experimental autoimmune encephalomyelitis: EAE) は、C57/BL6 マウスに MOG<sub>35-55</sub> ペプチドを用いて誘導した。脳脊髄(CNS)浸潤細胞、リンパ節細胞、脾臓細胞を採取し、それぞれから T 細胞を分離し real-time PCR を用いて NR4A2 の発現レベルを比較した。T 細胞株に NR4A2 を過剰発現させ、

炎症性サイトカインである IL-17、IFN- $\gamma$ および IL-2 のリポーター・アッセイを行った。ヒト CD4 T 細胞に NR4A2 の siRNA を導入し、抗 CD3 抗体刺激により産生されるサイトカインを ELISA 法にて測定した。

(倫理面への配慮)

採血に当たっては、書面により同意を確認した。また個人情報保護についても十分な配慮を払った。動物実験は当研究所の動物実験規定に従い、実験計画書の承認を受けて行った。

B-4: 1型インターフェロンの作用機序に関する研究 (担当:堀)

臍帯血単核球より分離した CD34+ 細胞を SCF および IL-6 を添加して 8 週間以上培養した細胞を臍帯血由来ナイーブ MC とし、これに IL-3 と IL-6 を加えて 5 日間培養して成熟させた。MC の活性化はヒト IgE とヤギ抗ヒト IgE 抗体で Fc $\epsilon$ RI をクロスリンクすることによって。また、IgE と同時に IFN- $\alpha$ を添加し、Fc $\epsilon$ RI クロスリンク後の TNF- $\alpha$ 、IL-10、TGF- $\beta$ の産生への影響を RT-PCR と ELISA によって解析した。共刺激分子として重要な OX40L の発現をフローサイトメトリーで比較検討した。最後に、IFN $\alpha$ 処理または非処理後 MC を洗浄し、抗 CD3 抗体刺激正常 CD4+ T 細胞と共培養し、5 日後の T 細胞の増殖を [<sup>3</sup>H]TdR の取り込みにて測定した。

健常人末梢血より MACS を用いて CD11+ myeloid DC(mDC) および CD11c-plasmacytoid DC (pDC)を精製し、IFN $\alpha$ 存在下、非存在下に LPS または CpG オリゴ DNA で刺激し、OX40L の発現をフローサイトメトリーにて比較検討した。また、CD4+ T 細胞単



独およびDCの存在下に抗CD3抗体と抗CD28抗体で刺激して活性化抗原の発現させる系でIFN $\alpha$ 添加の影響を比較した。

(倫理面への配慮)

臍帯血および健常人末梢血は、京大学内倫理委員会のガイドラインに従って、提供者のインフォームドコンセントを得て採取し使用したものであり、倫理面の問題はない。

B-5: インターフェロン脱落例に関する臨床的研究 (担当: 小川)

初年度は、武蔵病院受診中のMS患者のうちIFN $\beta$ 療法を導入された41例を対象としてその後に中止された例の中止にいたった理由を検討した。次年度ではIFN $\beta$ 療法導入された51例を対象に中止された例についてその後のMSの経過を検討した。最終年度ではIFN $\beta$ 療法導入された72例について中止例を抽出し中止後に行われた治療法や経過について検討した。

B-6: 日本人MSの診断基準に関する研究 (担当: 菊地)

臨床的な再発・寛解、多発性病変が確認されMS以外の疾患が除外できた症例のうち、急性期において髄液検査および脊髄MRI検査がともに施行された158例の日本人MS患者を対象とした。再発性の視神経炎のみ、再発性の脊髄炎のみ、再発性の脳幹病変のみの患者は除外した。必要な場合には血管造影あるいは脳生検が適宜施行された。脊髄病変の拡がりや再発に関連したT2強調画像所見にて評価した。

(倫理面への配慮)

臨床情報に関しては個人情報が出ないように十分配慮の上解析を行った。

B-7: その他  
各分担研究報告書に記載。

## C. 研究結果

C-1: NK細胞CD11cのバイオマーカーとしての有用性に関する研究

(1) MS寛解期のNK細胞では、健常者に比べ、CD11c発現量(平均蛍光強度、MFI)の有意な増加が認められた。健常者MFIの(平均値+2x標準偏差)を正常上限とすると、寛解期MS患者はCD11c lowおよびCD11c highに分けられた。

(2) 代表的細胞活性化マーカーであるHLA-DR発現を解析したところ、CD11c high MSのNK細胞およびT細胞では、健常者またはCD11c low MSのNK細胞およびT細胞に比べて、有意な発現増強が認められた。

(3) MSの疾患活動性との関連が示唆される種々のサイトカインのうち、IL-15あるいはIL-12+IL-18のみが、NK細胞CD11cの有意な発現上昇を誘導した。

(4) CD11c low MSのNK細胞では、Type2 NK細胞偏倚(GATA-3とIL-5の過剰発現)が認められたが、CD11c high MSでは、認められなかった。

(5) CD11c high MSは、4ヶ月間の寛解率が、CD11c low MSに比べ有意に低いことが判明した。

C-2: DNAマイクロアレイによるMST細胞遺伝子発現パターンの同定に関する研究(佐藤)

(1) IFN $\beta$ 未治療MS72名と健常対照者(CN)22名のCD3<sup>+</sup>T細胞間で発現差異を呈した286遺伝子を指標とする階層的クラスター解析と主成分解析で、MSはCNから独立したA, B, C, D

4 群に分類され、286 遺伝子は 1-5 群(class #1-#5)に分類された。A 群が最も CN に近い遺伝子発現プロフィールを呈し、D 群が最も Expanded Disability Status Scale (EDSS) score が高く、C 群には大脳限局病変を示す患者が集積、B 群はケモカイン遺伝子を多く含む class #5 遺伝子の発現レベルが最高で、最も活動性が高い患者が集積していた。IFN $\beta$  responder は A 群と B 群に集積していた。

(2) インターフェロン反応性遺伝子 (IRG) として CXCR3 のリガンドである SCYB11、SCYB10、SCYB9、CCR2 のリガンドである SCYA10、SCYA2 が top 20 発現上昇遺伝子に含まれており、IFN $\beta$  は PBMC において迅速に炎症性ケモカインの産生を誘導することが明らかになった。

(3) 再発期に特異的な 43 個の RSG を同定し、階層的クラスタ解析で、再発期サンプルと寛解期サンプルを独立したクラスタに分離することが出来た。KeyMolnet による分子ネットワーク解析で MS 再発における最重要ネットワークとして NF- $\kappa$ B 発現制御系の関与を見出した。

#### C-3: NR4A2 の機能に関する研究 (担当: 三宅)

MS と健常人末梢血 T 細胞における NR4A2 発現を real-time PCR 法で検討し、MS で有意に上昇していることを確認した。

EAE を誘導し、CNS 浸潤細胞、リンパ節細胞、脾臓細胞を採取し、それぞれから T 細胞を分離した。NR4A2 は CNS 浸潤 T 細胞において特異的に上昇していた。細胞内染色法による検討では、CNS 浸潤 T 細胞では IL-17

産生細胞が優位であった。そこで NR4A2 の IL-17 産生に与える影響を検討した。T 細胞株を用いてリポーター・アッセイの結果、NR4A2 の過剰発現は IL-17、IFN- $\gamma$ 、IL-2 の産生を増強させることがわかった。マウス CD4 T 細胞に、NR4A2 の siRNA を導入してその機能を抑制すると、抗 CD3 抗体刺激により産生される IL-17、IFN- $\gamma$ 、IL-2 の産生が低下した。以上から、MS 患者の T 細胞で亢進の見られた NR4A2 は炎症の増強や維持に関係している可能性が推測された。

#### C-4: 1 型インターフェロンの作用機序に関する研究 (担当: 堀)

IFN $\alpha$  は MC の生存率や細胞数には影響を及ぼさないことを確認した。IFN $\alpha$  により Fc $\epsilon$ RI クロスリンク後の TNF- $\alpha$  産生が著明に抑制され、逆に IL-10 産生は増加していた。フローサイトメトリ解析の結果、IFN- $\alpha$  処理 MC で OX40L の発現低下が認められた。これらの所見に一致して、抗 CD3 抗体刺激正常 CD4+ T 細胞に対する MC の増殖促進活性が IFN- $\alpha$  処理により有意に抑制された。以上から、IFN- $\alpha$  は MC に作用してサイトカイン産生パターンと共刺激分子発現を変化させることによって T 細胞に対する共刺激活性を低下させることが示された。

一方、IFN- $\alpha$  は mDC および pDC の OX40L の発現を増強した。また、IFN- $\alpha$  は精製した CD4+ T 細胞の活性化に対しては影響を与えなかったが、DC の共存下では活性化抗原である CD25、HLA-DR、OX40 の発現を低下させた。

#### C-5: インターフェロン脱落例に関する臨床的

## 研究（小川）

IFN $\beta$ を導入された MS72 例中、15 例で IFN $\beta$ 療法が中止されていた。中止後は、5 例では再発時のステロイドパルス療法のみで加療された。残りの例の治療方法は、重複を含み免疫抑制剤 6 例、血漿吸着・交換 3 例、少量経口ステロイドの継続投与 4 例、定期的ステロイドパルス 1 例、免疫グロブリン大量静注療法 2 例であった。経口ステロイドが再発頻度の減少に著効を示したと思われる 2 例があった。血症吸着・交換は症状の一定の MS 症状改善をみたが再発予防の効果は判断困難であった。免疫抑制剤、定期的ステロイドパルス、免疫グロブリン大量静注療法の再発予防への効果については判定困難であった。

## C-6：MS の診断基準に関する研究（担当：菊地）

158 例中 32 例（20.3%）において 3 椎体以上にわたる脊髄病変を認め 11 例（7.0%）が 50/mm<sup>3</sup> 以上の髄液細胞増多を示した。全体として 33 症例（20.9%）が「脊髄 MRI 病変>3 椎体」あるいは「髄液細胞数>50」のいずれかの除外基準を有していた。そのうち 21 例は視神経脊髄型 MS（OSMS）と分類され、残りの 12 例の病変分布は視神経と脊髄に限定されず nonOSMS と分類された。一方、McDonald 診断基準を満たし、かつ、上記の除外基準を有さない 125 例の臨床特徴を再検討したところ、10 例（8.0%）が大脳、小脳あるいは脳幹に MRI 上で非典型的に大きな拡がりを有する病変を呈していた。

## C-7：その他

分担研究報告書に記載された通り。

## D. 考察

MS の臨床においては、ステロイド剤やインターフェロン、免疫抑制剤の有効性が示唆されているが、病態を客観的に把握するマーカーが存在しないために、投与開始時期、投与量などの決定は主治医の主観的な判断によっている。過剰の投薬は薬剤副作用を引き起こすだけでなく医療費高騰の原因ともなるので好ましくないが、不十分な投薬も患者の予後を悪化させるものであり容認できない。糖尿病診療における血糖値、あるいは感染症における CRP のような良い MS の病態マーカー（バイオマーカー）の確立が望まれている。

この研究班のもっとも大きな研究成果は、患者末梢血 NK 細胞の CD11c 分子発現量が、MS の病態マーカーになり得ることを示したことである。CD11c の量が健常者と同程度の患者では、病状が安定しており、4 ヶ月以内に再発を起こした例は 15%にとどまった。一方、CD11c 量の高い患者（CD11c high）では、その 60% が 4 ヶ月以内に再発した。CD11c high の患者では、T 細胞が活性化抗原を強く発現し、NK 細胞の NK2 偏倚が消失していた。さらに、NK 細胞に作用する炎症性サイトカイン（IL-15 など）が CD11c 発現を亢進させることも証明できたので、CD11c は MS の免疫病態の活動性を反映する良い指標であると考えられる。

CD11c の検査は、基本的にはフローサイトメーターの利用できる施設であれば可能なので、測定方法や血液処理法などを標準化して全国の専門施設に普及させたいと考えている。なお、この研究に対する MS 患者や家族の期待は高く、論文が米国免疫学会誌に掲載された後、ただちに朝日、毎日、日経などの新聞各紙やインターネットが研究内容を報道した。

末梢血 T 細胞を DNA マイクロアレイで解析する研究では、MS 患者で恒常的に発現の亢進

している遺伝子を複数同定した (Sato et al. *Neurobiol. Dis.* 18:537, 2005)。その中で、転写因子 NR4A2 に焦点を絞って研究を進めたところ、同分子が MS の動物モデル EAE の脳内浸潤細胞で特異的に発現亢進していることを見いだした (論文準備中)。さらに NR4A2 が種々の炎症性サイトカイン産生に決定的な役割を果たすことを、レポーターアッセイや siRNA による阻害実験によって証明できた。この結果は、NR4A2 が新しい治療標的分子になり得ることを意味している (特許出願済み)。

DNA マイクロアレイ検査で、再発期と寛解期を比較したところ、両群の間で有意な発現レベルの差を認める 43 遺伝子からなる遺伝子群 (RSG) を同定した。43 個の RSG は MS 再発をモニターするバイオマーカーとなり得る。また、RSG の分子ネットワーク解析により、NF- $\kappa$ B 遺伝子発現制御系異常の MS 再発への関与が示唆された。NF- $\kappa$ B は TNF $\alpha$ , IL-1 など炎症性サイトカイン発現制御で中心的役割を果たす転写因子である。一方 TNF $\alpha$ , IL-1 は NF- $\kappa$ B の発現上昇を誘導し、positive feedback loop を形成して炎症を遷延化させる。現在まで 150 種類以上の遺伝子が NF- $\kappa$ B ターゲットとして同定されている。既に NF- $\kappa$ B の選択的阻害剤である pyrrolidine dithiocarbamate の投与や脳特異的 NF- $\kappa$ B 発現抑制は EAE を軽症化することが報告されている。今回の研究結果は、NF- $\kappa$ B 制御を適正化する分子が MS 再発治療薬・予防薬になり得ることを確認するものである。

IFN  $\beta$  は導入早期に発熱、頭痛などの感冒症状を誘導するが、最近、視神経脊髄型 MS の一部を悪化させる可能性が指摘されている。今回の DNA マイクロアレイの結果では、IFN  $\beta$  が炎症性ケモカインやサイトカインを強く誘導す

ることが明瞭に示され、同剤の安全性に疑問が投げかけられた。特に注目されるのは、Th17 細胞を誘導する能力を持つ IL-6 が誘導されることで、視神経脊髄型 MS で IL-17 の上昇が見られることと考え合わせて、因果関係が強く推測される。今後、同剤の視神経脊髄型 MS に対する処方、極力控える方向で考えなければならない。また、インターフェロン中止例の予後は予想したよりも良いことが小川によって示され、投与後に副作用などが問題になった場合には、漸減と中止をためらってはならないことも明らかになった。

IFN は抗ウイルス作用、細胞増殖抑制作用以外に様々な免疫調節作用を示すが、今回、MC に作用し TNF- $\alpha$  産生と OX40L 発現を抑制し、逆に IL-10 産生を増加させることが明らかとなった。さらに、DC を用いた実験では、I 型 IFN が活性化 DC の OX40L 発現を増強することを見いだした。IL-12 のない環境下での OX40 シグナルはナイーブ CD4 T 細胞を Th2 に分化させる方向に働く。したがって、IFN- $\alpha$  により IL-12 産生を抑制された mDC に OX40L が発現した場合には、免疫応答を Th1 から Tr または Th2 にシフトさせる方向に働くと推測される。以上の結果から、I 型 IFN は MC および DC を介して Th1 免疫応答を制御する方向に作用することが示唆された。

## E. 結論

MS 患者の末梢血リンパ球をフローサイトメーターや DNA マイクロアレイで調べることによって、MS の病勢評価に有用なマーカー分子が同定された。NK 細胞 CD11c 発現量は、再

発可能性を予測するバイオマーカーとして有用であり、MS 患者に対する適正な治療薬投与を可能にするものである。研究によって、新しい創薬の標的も明らかにされ、今後の研究の展開が大いに期待されるところである。

IFN $\beta$  は Th17 細胞を誘導する効果を示すので、視神経脊髄型 MS への処方控えるべきであり、副作用などの問題が生じた場合には、漸減—中止することが望ましい。

## F. 健康危険情報

IFN $\beta$  は Th17 細胞を誘導する効果を示すので、視神経脊髄型 MS への処方控えるべきである。最近の臨床報告からも、この考え方は妥当と考えられる。厚生労働省で早急に対応すべき問題である。

## G. 研究発表

### 1) 国内

口頭発表	100 件
原著論文による発表	10 件
それ以外（レビュー等）の発表	80 件

そのうち主なもの

#### 論文発表

1. 荒浪利昌, 山村隆: 多発性硬化症の病態 免疫調節機構の破綻. 医学のあゆみ 219: 5047-5050, 2006
2. 荒浪利昌, 山村隆: NK 細胞サブセットと難治性自己免疫疾患. 実験医学, 2007 (印刷中)
3. 佐藤準一, 山村隆: 多発性硬化症におけるインターフェロンベータ応答遺伝子. Bio

Medical Quick Review Net 2004.

4. 佐藤準一: DNA マイクロアレイによる多発性硬化症の免疫病態の解析. 特集 I サイトカイン・ケモカインからみた多発性硬化症の病型と病態. Neuroimmunology 13: 167-178, 2005.
5. 南里悠介, 佐藤準一, 佐藤和貴郎, 山村隆: DNA マイクロアレイによる多発性硬化症の診断とインターフェロンベータ治療反応性予測に関するアンケート調査. 神経内科 64: 319-320, 2006.
6. 佐藤準一: 網羅的遺伝子発現解析による多発性硬化症の病態・薬物反応性. 特集 II 遺伝子チップ解析の現状とその将来に期待される展開. 炎症と免疫 14: 205-216, 2006
7. 佐藤準一: 多発性硬化症のマイクロアレイ診断. 特集 II 多発性硬化症研究・治療の現状 2006. 神経研究の進歩 50: 582-599, 2006.
8. 佐藤準一: 多発性硬化症. インターフェロン治療学. 最新の基礎・臨床. 日本臨床 64: 1297-1309, 2006.
9. 三宅幸子: 多発性硬化症. 最新医学 60(6): 183-92, 2005
10. 三宅幸子: 多発性硬化症における免疫制御細胞の役割とその賦活法. 特集 II 多発性硬化症研究・治療の現状 2006. 神経研究の進歩 50: 636-643, 2006
11. 野村恭一: 多発性硬化症とアフェレシス. 日本アフェレシス学会雑誌 23: 227-233, 2004
12. 野村恭一: 血液浄化療法、多発性硬化症. 日本臨床 61: 1388-1395, 2003

13. 野村恭一：多発性硬化症の治療の進め方：多発性硬化症とインフォームド・コンセント． Modern Physician 24:1875-1881, 2004
  14. 野村恭一：多発性硬化症に対する血液浄化療法．医事新報 2005、日本医事新報． 2005.11. (4255号):89
  15. 高濱美里、野村恭一：多発性硬化症に対する血液浄化療法；日本医事新報． 2005.11. (4255号):89
  16. 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 44:108-110, 2004
  17. 大橋高志、太田宏平、清水優子、大原久仁子、竹内千仙、岩田誠：インターフェロンβ-1b 療法の導入法と副作用の対応に関する検討．神経免疫学 13: 101, 2005.
  18. 清水優子、太田宏平、川畑仁人、大原久仁子、大橋高志、岩田誠：多発性硬化症における調節性 T 細胞と FOXP3 mRNA 発現の検討 (第2報)．神経免疫学 14: 49, 2006.
  19. 大橋高志、太田宏平、清水優子、大原久仁子、竹内千仙、岩田誠：多発性硬化症における免疫吸着療法の実際．神経免疫学 14: 52, 2006.
  20. 太田宏平：多発性硬化症の免疫学・免疫遺伝学． Modern Physician 24: 1824-1828, 2004
- 学会発表
1. 佐藤準一、中西恵美、尾上祐行、古池史子、山村隆：MS におけるアポトーシス関連遺伝子群の発現異常．第 45 回日本神経学会総会．東京、2004. 5.12.
  2. 佐藤準一、山村隆、有馬邦正：多発性硬化症脱髄巢反応性アストロサイトに発現する 14-3-3 蛋白質のアストログリオシスにおける役割．第 21 回神経組織培養研究会東京、2004. 9.11.
  3. 佐藤準一、中西恵美、尾上祐行、古池史子、山村隆：末梢血 T 細胞の DNA マイクロアレイ解析による多発性硬化症の病型分類．第 32 回日本臨床免疫学会総会 東京、2004. 10.8.
  4. 佐藤準一、中西恵美、尾上祐行、古池史子、山村隆：末梢血 T 細胞遺伝子発現プロファイルに基づく多発性硬化症病型分類．第 34 回日本免疫学会総会学術集会 札幌、2004. 12.1.
  5. 佐藤準一：多発性硬化症テラーメイド医療に向けて．DNA マイクロアレイの可能性．こころの健康科学研究推進事業．多発性硬化症フォーラム．医療講演会・研究成果発表会．東京、2004. 12.25.
  6. 佐藤準一、山村隆、尾上祐行、有馬邦正：多発性硬化症脱髄巢反応性アストロサイトにおける Nogo 受容体の発現．厚生労働省特定疾患対策研究事業 免疫性神経疾患に関する調査研究班．平成 16 年度班会議．東京、2005. 1.26.
  7. 佐藤準一、中西恵美、尾上祐行、古池史子、山村隆：T 細胞の DNA microarray 解析による多発性硬化症の病型分類．第 17 回日本神経免疫学会学術集会．福岡、2005. 3.3.
  8. 土居芳充、佐藤準一、山村隆：多発性硬化症の末梢血 T 細胞における NR4A2 発現上昇．第 17 回日本神経免疫学会学術集会．福岡、2005. 3.4.

9. 佐藤準一、尾上祐行、有馬邦正、山村隆：多発性硬化症脱髄巣における Nogo-A・Nogo 受容体の発現. 第 46 回日本神経病理学会総会学術研究会. 宇都宮、2005. 5.13.
10. 佐藤準一、中西恵美、尾上祐行、土居芳充、古池史子、山村隆：DNA microarray 解析による多発性硬化症の病型分類. 第 46 回日本神経学会総会. 鹿児島、2005. 5.25.
11. 土居芳充、佐藤準一、山村隆：多発性硬化症(MS)末梢血 T 細胞における NR4A2 発現上昇. 第 46 回日本神経学会総会. 鹿児島、2005. 5.27.
12. 山村隆、佐藤準一：cDNA マイクロアレイを用いた多発性硬化症の病態解析. 第 26 回日本炎症・再生医学会. ワークショップ 3. 網羅的遺伝子発現解析による炎症性疾患の病態解析と治療効果の予測. 東京、2005. 7.13.
13. 佐藤準一、南里悠介、土居芳充、山村隆：IFN $\beta$ 応答遺伝子群の網羅的解析：副作用との関連性. 第 18 回日本神経免疫学会学術集会. 名古屋、2006. 3.2. (神経免疫学 14: 73, 2006).
14. 山村隆、佐藤準一、三宅幸子：多発性硬化症研究の最前線と治療戦略. 第 79 回日本薬理学会年会. シンポジウム S3B1 進行性神経疾患の研究の最前線および治療の現状と創薬への展望. 横浜、2006. 3.10.
15. 佐藤準一、南里悠介、土居芳充、山村隆：Protein microarray による 14-3-3 結合タンパク質の網羅的解析. 第 47 回日本神経学会総会. 東京、2006. 5.12. (抄録集 199, 2006).
16. 南里悠介、佐藤準一、土居芳充、山村隆：DNA microarray による MS 診断法・IFN $\beta$ 治療効果予測法開発に関するアンケート調査. 第 47 回日本神経学会総会. 東京、2006. 5.13. (抄録集 285, 2006).
17. 佐藤準一：T 細胞の DNA マイクロアレイ解析による多発性硬化症の病型分類とインターフェロンベータ治療反応性. 第 15 回明治薬科大学オープンリサーチセンターセミナー. 東京、2006. 7.13.
18. 大橋高志、太田宏平、竹内千仙、大原久仁子、清水優子、岩田誠：多発性硬化症の診断、McDonald の診断基準をもちいて. 第 45 回日本神経学会総会、2004. 5、東京
19. 清水優子、太田宏平、大原久仁子、大橋高志、岩田 誠：IFN- $\beta$ 1b 療法を行った多発性硬化症患者末梢血の免疫調節細胞および細胞傷害活性の経時的変化. 第 45 回神経学会総会、2004. 5、東京
20. 大橋高志、太田宏平、清水優子、大原久仁子、竹内千仙、岩田誠：インターフェロン  $\beta$ -1b 療法の導入法と副作用の対応に関する検討、第 17 回日本神経免疫学会学術集会、2005. 3、福岡
21. 大橋高志、太田宏平、清水優子、大原久仁子、竹内千仙、岩田誠：インターフェロン  $\beta$ -1b 療法の外来導入に関する検討. 第 46 回日本神経学会総会、2005. 5、鹿児島
22. 清水優子、太田宏平、川畑仁人、大原久仁子、大橋高志、岩田誠：多発性硬化症における調節性 T 細胞と FOXP3 mRNA 発現の検討 (第 2 報). 第 18 回日本神経免疫学会学術集会. 2006. 3、名古屋
23. 大橋高志、太田宏平、清水優子、大原久仁子、竹内千仙、岩田誠：多発性硬化症における免疫吸着療法の実際. 第 18 回日本神経免疫学会学術集会. 2006. 3、名古屋

## 2) 海外

口頭発表 80 件

論文による発表 60 件

そのうち主なもの

論文発表

1. Takahashi T, Mivake S, Endoh M and Yamamura T. The regulatory role of natural killer cells in multiple sclerosis. **Brain** 127, 1917-27, 2004
2. Satoh J, Yamamura T, Arima K: The 14-3-3 protein epsilon isoform expressed in reactive astrocytes in demyelinating lesions of multiple sclerosis binds to vimentin and glial fibrillary acidic protein in cultured human astrocytes. **American Journal of Pathology** 165: 577-592, 2004.
3. Bedoui S, Mivake S and Yamamura T. More sympathy for autoimmunity with neuropeptide Y? **Trends Immunol.** 25(10): 508-12, 2004.
4. Satoh J, Yamamura T: Gene expression profile following stable expression of the cellular prion protein. **Cellular and Molecular Neurobiology** 24: 793-814, 2004.
5. Satoh J, Onoue H, Arima K, Yamamura T: Nogo-A and Nogo receptor expression in demyelinating lesions of multiple sclerosis. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology** 64: 129-138, 2005.
6. Satoh J, Onoue H, Arima K, Yamamura T: The 14-3-3 protein forms a molecular complex with heat shock protein Hsp60 and cellular prion protein. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology** 64: 858-868, 2005.
7. Satoh J-i, Nakanishi M, Koike F, Mivake S, Yamamoto T, Kawai M, Kikuchi S, Nomura K, Yokovama K, Ota K, Kanda T, Fukazawa T and Yamamura T. Microarray analysis identifies an aberrant expression of apoptosis and DNA damage-regulatory genes in multiple sclerosis. **Neurobiol.Dis.** 18(3):537-50, 2005
8. Satoh, J-I., Y. Nanri, and T. Yamamura: Rapid identification of 14-3-3-binding proteins by protein microarray analysis. **J. Neurosci. Methods** 152: 278-288, 2006
9. Satoh, J-i., M. Nakanishi, F. Koike, H. Onoue, T. Aranami, T. Yamamoto, M. Kawai, S. Kikuchi, K. Nomura, K. Yokovama, K. Ota, T. Saito, M. Ohta, S. Mivake, T. Kanda, T. Fukazawa and T. Yamamura: T cell gene expression profiling identifies distinct subgroups of Japanese multiple sclerosis patients. **J. Neuroimmunol.** 174:108-118, 2006. Epub 2006 Mar 27.
10. Satoh, J-i., Y. Nanri, H. Tabunoki, and T. Yamamura: Microarray analysis identifies a set of CXCR3 and CCR2 ligand chemokines as early interferon- $\beta$ -responsive genes in peripheral blood lymphocytes: an implication for IFN- $\beta$  related adverse effects in multiple sclerosis. **BMC Neurology** 6:18, 2006
11. Miyamoto, K., S. Mivake, M. Mizuno, N. Oka, S. Kusunoki, and T. Yamamura: Selective COX-2 inhibitor celecoxib prevents experimental autoimmune encephalomyelitis through COX-2 independent pathway. **Brain** 129(Pt



- 8):1984-92. Epub 2006 Jul 10, 2006
12. Croxford, J.L., S. Mivake, Y-Y. Huang, M. Shimamura, and T. Yamamura: "Invariant V $\alpha$ 19i T cells regulate autoimmune inflammation. **Nat. Immunol.** 7: 895-897, 2006
  13. Aranami, T., S. Mivake and T. Yamamura: Differential expression of CD11c by peripheral blood NK cells reflects temporal activity of multiple sclerosis. **J. Immunol.** 177: 5659-5667, 2006
  14. Satoh, J-i., H. Tabunoki, T. Yamamura, K. Arima, and H. Konno: TROY and LINGO-1 expression in astrocytes and macrophages/microglia in MS brains. **Neuropathol and Applied Neurobiol** 33:99-107, 2007
  15. Onoue, H., J-i. Satoh, M. Ogawa, and T. Yamamura : Detection of anti-Nogo receptor autoantibody in the serum of multiple sclerosis and controls. **Acta Neurologica Scandin** 115:153-160, 2007
  16. Yamamura, T.: Interleukin 17-producing T-helper cells and autoimmune diseases: Time for a paradigm shift? **Current Rheumatology Reports** (in press), 2007
  17. Mivake, S. and T. Yamamura: NKT cells and autoimmune diseases: Unraveling the complexity. **Current Topics in Microbiology and Immunology** (in press)
  18. Yamamura, T. Invariant NKT cells and immune regulation in multiple sclerosis. In **Immune Regulation and Immunotherapy in Autoimmune Disease**. (Editor Jingwu Zhang). Springer, pp139-151, 2007
  19. Yamamura, T. and Aranami, T.: NK cells express a biomarker of multiple sclerosis CD11c. **Current Topics in Neuroimmunology**, Medimond Press, Italy, 2007 (in press)
  20. Satoh J. Protein Microarray Analysis for Rapid Identification of 14-3-3 Protein Binding Partners. In **Functional Protein Microarrays in Drug Discovery**. Edited by Predki PF. CRC Press, Boca Raton, FL, 2007 (ISBN: 0849398096).
  21. Hino, T., T. Yokota, S. Ito, K. Nishina, Y-S. Kang,, S. Mori, S. Hori, T. Kanda, T. Terasaki, and H. Mizusawa: In vivo delivery of small interfering RNA targeting brain capillary endothelial cells. **Biochem Biophys Res Commun** 340: 263-267, 2006.
  22. Fujita, T., N. Kambe, T. Uchiyama and T. Hori. Type I interferons attenuate T cell activating functions of human mast cells by decreasing TNF- $\alpha$  production and OX40 ligand expression while increasing IL-10 production. **J. Clin. Immunol.** 26:512-518, 2006.
  23. Kitawaki, T., N. Kadowaki, N. Sugimoto, N. Kambe, T. Hori, Y. Miyachi, T. Nakahata, and T. Uchiyama. IgE-activated mast cells in combination with pro-inflammatory factors induce Th2-promoting dendritic cells. **Int. Immunol.** 18:1789-1799, 2006.

24. Ogasawara, K. and L.L. Lanier: NKG2D in NK and T cell-mediated immunity. **J Clin Immunol** 25, 534-40, 2005
25. Nomura K, Mitsui T, Iguchi T, Tomioka R, and Shimadzu K: Periodic immunoadsorption plasmapheresis modulates immunological abnormality and reduces relapses in relapsing-remitting multiple sclerosis. **Neurology** (2006 in press)
26. Kanda T, Numata Y, Mizusawa H: Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: decreased claudin-5 and relocated ZO-1. **J Neurol Neurosurg Psychiatry** 75: 765 - 769, 2004
- 学会発表 (主なもの)
1. Satoh J, Nakanishi M, Yamamura T: Microarray analysis identifies an aberrant expression of apoptosis-regulatory genes in multiple sclerosis. 56th Annual Meeting of American Academy of Neurology. San Francisco, 2004. 4.27.
  2. Satoh J, Nakanishi M, Onoue H, Aranami T, Yamamura T: T cell gene expression profiling identifies molecularly and clinically distinct subgroups of multiple sclerosis. 7th International Congress of Neuroimmunology. Workshop I. Genetics of neuroinflammatory diseases. Venice, 2004. 9.29.
  3. Doi, Y., S. Oki, J-i. Satoh, T. Aranami, S. Mivake, and T. Yamamura: NR4A2 (Nurr1), an orphan nuclear receptor, is over-expressed in peripheral blood T lymphocytes of multiple sclerosis. Workshop 14. Pathogenesis of MS. 8<sup>th</sup> International Congress of Neuroimmunology (ISNI 2006), Nagoya, October 18, 2006
  4. Croxford, J.L., S. Mivake, M. Shimamura, and T. Yamamura: Invariant V $\alpha$ 19-J $\alpha$ 33 NKT cells promote ICOS-dependent IL-10 production by B cells which regulate inflammation in a model of multiple sclerosis. Oral Session 1B: CNS inflammation and regulatory mechanism. 8<sup>th</sup> International Congress of Neuroimmunology (ISNI 2006), Nagoya, October 16, 2006
  5. Aranami, T., S. Mivake and T. Yamamura: CD11c on NK cells mirrors the disease activity of multiple sclerosis. Oral Session 4B. Immunological Studies of MS (2). 8<sup>th</sup> International Congress of Neuroimmunology (ISNI 2006), Nagoya, October 16, 2006
  6. Satoh, J-i., H. Tabunoki, Y. Nanri, T. Yamamura, K. Arima, and H. Konno: Both aquaporin-1 (AQP1) and aquaporin-4 (AQP4) are expressed in cultured human astrocytes and non-hypertrophic astrocytes in brains of multiple sclerosis. Poster Session 11. MS-pathology and experimental models. 8<sup>th</sup> International Congress of Neuroimmunology (ISNI 2006), Nagoya, October 18, 2006
  7. Onoue, H., J-i. Satoh, M. Ogawa, and T. Yamamura: Anti-Nogo receptor autoantibody in the serum of multiple sclerosis. Poster Session 12. MS-immunological studies. 8<sup>th</sup> International Congress of Neuroimmunology (ISNI 2006), Nagoya, October 18, 2006

8. Satoh, J-i., Y. Nanri, W. Sato, and T. Yamamura: DNA microarray analysis identifies CXCR3 and CCR2 ligand chemokines as early IFN-responsive genes in peripheral blood lymphocytes. 14. MS-therapy. 8<sup>th</sup> International Congress of Neuroimmunology (ISNI 2006), Nagoya, October 18, 2006
9. Nanri, Y., J-i. Satoh, W. Sato, and T. Yamamura: Questionnaire on the expediency of DNA microarray analysis for differential diagnosis of multiple sclerosis and prediction of therapeutic response to interferon-beta. 14. MS-therapy. 8<sup>th</sup> International Congress of Neuroimmunology (ISNI 2006), Nagoya, October 18, 2006
10. Satoh J: Nogo, Nogo receptor, and TROY expression in demyelinating lesions of multiple sclerosis. 8th International Congress of Neuroimmunology. International Symposium: Alzheimer's disease, neurodegeneration and immunity. Nagoya, 2006.10.17. (Journal of Neuroimmunology 178: 21 IS03-05, 2006).
11. Satoh J: Microarray analysis clarifies the immunopathogenesis and therapeutic rationale for IFNB in MS. 8th International Congress of Neuroimmunology. Concurrent Symposium: Proteomics, transcriptomes and disease markers in MS. Nagoya, 2006.10.17.
12. Iguchi T, Mitui T, Takasago Y, Tomioka R, and Nomura K : Periodical immunoadsorption plasmapheresis modulates immunological abnormality and reduces relapses in relapsing-remitting multiple sclerosis ECTRIMS (スペイン 2006 9)
13. Takizawa K, Tomioka R, Kinoshita S, Shimadu K, Nomura K : Aroudic acid (ONO-2506) prevents chronic progressive and relapsing remitting EAE. ECTRIMS (スペイン 2006 9)
14. Takeuchi C, Ota K, Shimizu Y, Ohashi T, Ohara K, Ono Y, Iwata M: Interferon  $\beta$  1-b treatment may reverse the axonal dys-function in multiple sclerosis. 7<sup>th</sup> Inter-national Congress of Neuroimmunology, 2004. 10, Venice.
15. Shimizu Y, Ota K, Ohara K, Ohashi T, Iwata M: Induction of CD4+CD25+ high regulatory T cells and expression for FOXP3 mRNA by Interferon- $\beta$  1b in multiple sclerosis patients. XVIIth World Congress of Neurology, 2005. 11, Sydney.
16. Ohashi T, Ota K, Shimizu Y, Ohara K, Takeuchi C, Iwata M: Immunoabsorption plasma pheresis therapy for the treatment of refractory attacks of multiple sclerosis. The 8th International Congress of Neuroimmunology, 2006. 10, Nagoya.
17. Shimizu Y, Ota K, Kawahata K, Ohara K, Ohashi T, Iwata M: Modification of Interferon-b1b on CD4+CD25+high regulatory T cells and expression of FOXP3 mRNA in multiple sclerosis. The 8th International Congress of Neuroimmunology, 2006. 10, Nagoya.
18. Ohara K, Ota K, Shimizu Y, Ohashi T,

Iwata M: Depression score in multiple sclerosis patients. The 8th International Congress of Neuroimmunology, 2006. 10, Nagoya.

19. Takeuchi M, Ota K, Ohashi T, Shimizu Y, Mochizuki A, Kimura Y, Iijima M, Masuda Y, Ubano M, Iwata M: Peripheral neuropathy in patients with multiple sclerosis. The 8th International Congress of Neuroimmunology, 2006. 10, Nagoya

## H. 知的所有権の取得状況

### 特許出願

#### 国内特許取得 1 件

発明の名称：多発性硬化症に対するインターフェロン・ベータ薬物治療の有効性予測方法  
国内出願日 2002 年 6 月 28 日 (特願 2002-188932)

2006.9.22 登録 (特許番号 03856734)

#### 国内出願 3 件

1) 発明の名称：多発性硬化症の再発予測法  
国内出願 2006 年 4 月 7 日 (特願 2006-105825)

2) 発明の名称：IL-17 産生抑制物質及びそ

のスクリーニング方法

国内出願 2007 年 2 月 28 日 (特願 2007-49768)

3) 発明の名称：IL-17 に起因する炎症を改善するための医薬組成物

国内出願 2007 年 2 月 28 日 (特願 2007-49769)

2. 実用新案登録  
なし

3. その他：GenBank 登録

1) Satoh J, Kuroda R, Yamamura T, Anezaki T, Terada T, Yamazaki K, Obi T, Mizoguchi K: Homo sapiens TYROBP gene for TYRO protein tyrosine kinase binding protein, exon 3, partial sequence, DNA Data Bank of Japan, AB280796, 2006.

2) Satoh J, Kuroda R, Yamamura T, Anezaki T, Terada T, Yamazaki K, Obi T, Mizoguchi K: Homo sapiens TYROBP gene for TYRO protein tyrosine kinase binding protein, exon 4, partial sequence, DNA Data Bank of Japan, AB280795, 2006.