

# 多発性硬化症 (MS) 発生率は上昇しているか

—北海道十勝地区における 2001 年, 2006 年疫学調査より—

分担研究者 菊地誠志<sup>1)</sup>

共同研究者 保前英希<sup>2)</sup>、佐々木秀直<sup>3)</sup>

## 研究要旨

近年、我が国において MS 患者の増加が指摘されており、この原因を究明する目的で北海道十勝地区（人口 36 万人）における MS 疫学調査を 2001 年と 2006 年の 2 回にわたり実施した。その結果、同地区における MS 有病率（人口 10 万人あたり）は 2001 年の 8.6 から 2006 年の 13.1 へと著明な増加を呈した。MS 発生率の推移もあわせて検討したところ、1990 年以降に増加傾向がみられ、90 年から 04 年までの平均年間発生率は 0.7 人/10 万人/年であり、この発症率の上昇が有病率増加の原因と考えられた。また、MS 患者の臨床像を検討したところ視神経脊髄型 (OS-MS) は 2006 年時点で全患者の 13% と少数であった。さらに 3 椎体以上の脊髄病変を有する患者比率は 19% と欧米の報告と比べ多かった。

## 研究目的

2001 年 3 月に MS 疫学調査<sup>1)</sup>を実施した北海道十勝地区（人口約 36 万人；過去 50 年間人口の増減なし）において、初回から 5 年後に当たる 2006 年 3 月に 2 回目の調査を実施した。MS 患者が増加している背景を解明するために、有病率の推移を調べるとともに MS 発生率の算出を試みた。また、通常型 MS(C-MS)、OS-MS、3 椎体以上の脊髄病変 (LESCL) を有する病型の各比率を算出し、日本人 MS の臨床病型の一般像を明らかにする。

## 研究方法

初回の疫学調査と同様に、神経内科、脳外

科、内科、眼科など有する十勝地区内外の医療機関に調査協力をを行い、初回に登録された患者のその後の状態および新たに医療機関を受診した疑い例を含む MS 患者の詳細をケースカードに記入してもらい回収した。また、発生率算出のために、北海道内近隣地区の神経内科も含め可能な限り診療録等をレトロスペクティブに調査し、十勝地区にて初発症状が出現した患者（含死亡者）を検索した。診断基準には、Poser らの診断基準に加え、McDonald らの診断基準（2005 年改訂版）も使用した。（倫理面への配慮）本研究は帯広厚生病院の倫理規定を遵守して行った。イニシャル、生年月日など個人の特定につながる情報は複数の医療機関にまたがった重複登録の検出にのみ利用し、解析の際にはそれらの情報を削除したデータを用いて解析することにより、プライバシー保護に十分な配慮を行なった。

1) 国立病院機構札幌南病院神経内科

2) 帯広厚生病院神経内科

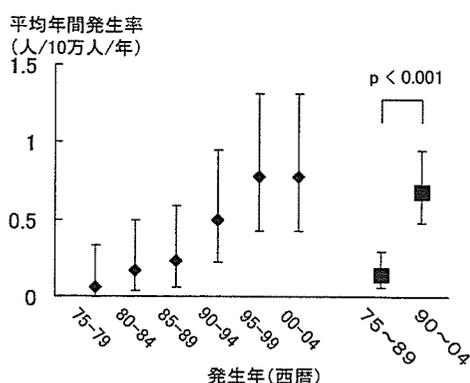
3) 北海道大学大学院医学研究科神経内科

## 研究結果

### (1) 有病率

2006年3月末のMS患者数は47名（臨床確実例44名、検査確実例3名）であった。時点有病率（粗有病率）は13.1人/10万人（十勝地区人口；358,439人、95%CI 9.6-17.4）男性7.0人/10万人（3.6-12.3）、女性18.8人/10万人（13.1-26.1）。標準化有病率は13.4人/10万人（北海道）、13.6人/10万人（全国）であった。2001年の有病率8.6<sup>1)</sup>と比べ著明な増加を認めた。

### (2) 発生率



### (3) 出生年代別の病型分類

出生年	患者数	C-MS : OS-MS	LESCL(-) : (+)
1940-49	6	4 : 2	5 : 1
1950-59	8	7 : 1	7 : 1
1960-69	13	12 : 1	10 : 3
1970-79	15	13 : 2	13 : 2
1980-89	3	3 : 0	2 : 1

### (4) 病型別の患者比率

	C-MS 41名	OS-MS 6名
LESCL(-) 38名	7.2% (34名)	9% (4名)
LESCL(+)	1.5% (7名)	4% (2名)

## 考察

75~89年の平均発生率(0.15)に比べ90~04年の平均発生率は0.7人/10万人/年と有意な上昇を示した。75年以降の発生者はその診断においてほぼ全例MRIによる補助検査が実施されており、MRI普及という要素は発生率の上昇にあまり関与しないと考えられた。また、過去30年間の発生率が0.7前後で均一であったならば、発症後平均余命を30年と仮定すると、現在の有病率は21となり、今回の調査で明らかとなった有病率(13.1)と解離が生じる。このことから過去の発生率が現在よりも低かったと考えるのが妥当と思われる。

## 結論

OS-MSやLESCL(+)患者は出生年に関わらずほぼ一定の発生がみられるが、1960年以降の出生者ではC-MSやLESCL(-)患者が増加している傾向があった。1990年以降の発生率は0.7人/10万人/年でそれ以前と比べ有意な上昇があり、このことが有病率の著明な上昇に寄与したと考えられた。

## 文献

1) Houzen H, Niino M, Kikuchi S, et al :  
The prevalence and clinical characteristics of MS in northern Japan. J Neurol Sci 2003;211:49-53.

## 健康危険情報

なし

## 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

多発性硬化症 (MS) 2004 年全国臨床疫学調査結果第 4 報：  
—MS 病像の緯度と出生年代による違いについての検討—

分担研究者 吉良潤一<sup>1)</sup>、菊地誠志<sup>2)</sup>、糸山泰人<sup>3)</sup>、山村隆<sup>4)</sup>、松井真<sup>5)</sup>  
郡山達男<sup>6)</sup>

共同研究者 小副川学<sup>1)</sup>、越智博文<sup>1)</sup>、深澤俊行<sup>7)</sup>、藤原一男<sup>3)</sup>、道勇学<sup>8)</sup>  
斎田孝彦<sup>9)</sup>、坂田清美<sup>10)</sup>、玉腰暁子<sup>10)</sup>、稲葉裕<sup>10)</sup>

### 研究要旨

1989 年以来 15 年ぶりに実施された多発性硬化症 (MS) 全国臨床疫学調査において緯度および出生年代に分けてその特徴を解析すると、北に行くほど CMS が多く、Barkhof MRI 診断基準をみたす症例が多く、より典型的な MS が多いと考えられる。またその傾向は若年になるほど顕著に認められた。

### 研究目的

2004 年に施行された多発性硬化症 (MS) の全国臨床疫学調査表を用いて、日本人 MS における病像の緯度および出生年代による違いを明らかにすることを目的とした。

### 研究方法

特定疾患の疫学に関する研究班 (主任研究者 稲葉裕 順天堂大学衛生学教授) と共同で実施した 2004 年 MS 全国臨床疫学調査二次調査にて集積された MS 確診症例 1493 例において、出生地、現住所および出生年代により分類し解析した。MS は臨床症候からみた病巣分布により視神経および脊髄に局限した視神経脊髄型 MS (OSMS)、大脳または小脳を含む多巣性の病変を有する通常型 MS (CMS) およびその

<sup>10)</sup>特定疾患の疫学に関する研究班

他 (OBSMS、SMS、BSMS) に分類した。

出生地および現住所の緯度によりそれぞれ北日本 (北緯 37 度以北)、南日本 (北緯 37 度以南) とに分け、出生地および現住所の関係より北日本→北日本、北日本→南日本、南日本→北日本、南日本→南日本の 4 群に分類した。

(1) 各群において CMS/OSMS の割合を比較すると同時に、出生年代による変化を検討する、

(2) 各群において各臨床症状を呈した症例の割合を出生年代別に検討する、(3) 各群において Barkhof MRI 診断基準をみたす症例の割合を比較すると同時に、出生年代による変化を検討する、(4) 各群において 3 椎体以上の長さを有する脊髄病巣 (LESCL) を有する症例の割合を比較すると同時に、出生年代による変化を検討することとした。

(倫理面への配慮) 本研究は九州大学医学部倫理委員会の承認を得て行われている。

### 研究結果

(1) 北日本→北日本群では南日本→南日本群と比べ、有意に CMS/OSMS の割合が高値

<sup>1)</sup>九州大学神経内科

<sup>2)</sup>北海道大学神経内科

<sup>3)</sup>東北大学神経内科

<sup>4)</sup>国立精神・神経センター

<sup>5)</sup>金沢医科大学神経内科

<sup>6)</sup>広島大学神経内科

<sup>7)</sup>西円山病院神経内科

<sup>8)</sup>名古屋大学神経内科

<sup>9)</sup>宇多野病院神経内科

であった ( $p<0.001$ ) (図 1)。また出生年代で分けた場合、北日本→北日本群および南日本→南日本群ともに若年である程、CMS/OSMS の割合が高くなっていったが、その傾向はより北日本で顕著であった (図 2)。

(2) 経過中に視神経萎縮および横断性脊髄炎を呈した症例の割合は出生年代が若い程、低くなっていることがわかった減少していた。それに比べ、経過中に四肢失調および片麻痺を呈した症例の占める割合は出生年代が若い程、多かった。

(3) Barkhof MRI 診断基準をみたす症例の割合は CMS において、北日本→北日本群で北日本→南日本群および南日本→南日本群と比べ、有意に高値であった (それぞれ  $p<0.001$ 、 $p=0.02$ ) (図 3)。OSMS において Barkhof MRI 診断基準をみたす症例は少なく、同様の傾向は得られなかった。また、Barkhof MRI 診断基準をみたす症例の割合は出生年代が若い程増加しており、北日本→北日本群でより顕著であった (図 4)。

(4) CMS において LESCL を有する症例の割合は、南日本→南日本群で北日本→北日本群と比べ高くなっていったが ( $p=0.01$ )、OSMS においては同様の傾向は得られなかった。LESCL を有する症例の割合は出生年代が若

い程減少していた (図 4)。また OSMS に限定しても LESCL を有する症例の割合は出生年代が若い程減少していた。逆に LESCL を有さないあるいは Barkhof MRI 診断基準をみたす OSMS の割合は出生年代が若い程増加していた。

## 考察

北日本→北日本群では CMS が多く、その CMS 群に限定しても Barkhof MRI 診断基準をみたす症例が多く、より典型的な MS が多いと考えられる。またその傾向は出生年代が若い程、より顕著になっており、日本人 MS の病像は緯度と出生年代の違いにより大きく異なる可能性が示唆された。

## 結論

緯度と出生年代の違いにより日本人 MS の病像に差異を認めた。

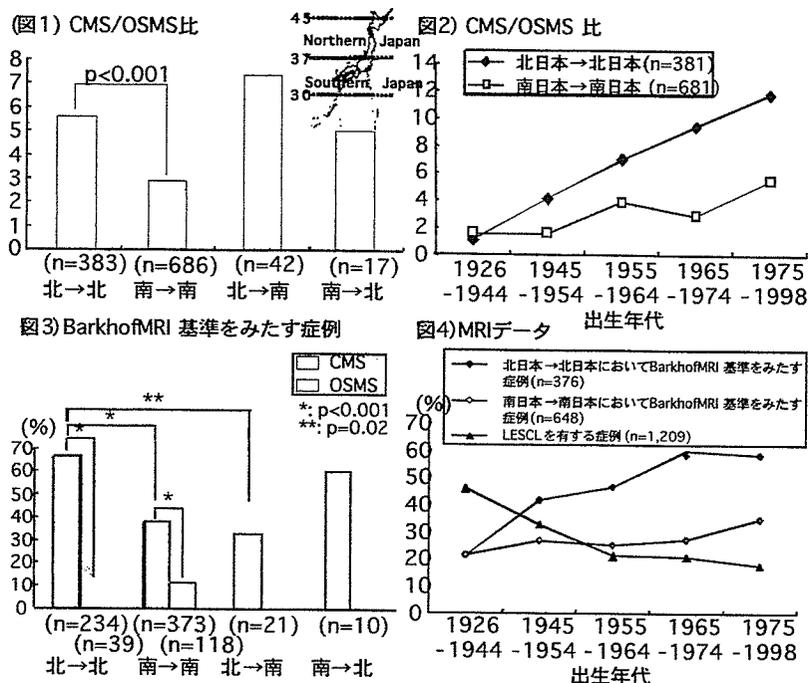
## 健康危険情報

なし

## 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし



# 日本人多発性硬化症患者の画像所見と HLA との相関： 連続 121 例の解析結果

分担研究者 吉良潤一

共同研究者 松岡健，三野原元澄，松下拓也，河野祐治，小副川学，越智博文

## 研究要旨

1987～2006 年間に当科で精査された MS 患者 121 例の *HLA-DRB1*, *DPB1 allele* のタイピングを行い、*HLA* と MRI 所見との関連、特に長大な脊髄病巣(LESCLs)との関連を評価した。LESCLs を伴う OSMS は多変量解析によって *HLA-DPB1\*0501* との有意な正の関連が明らかになった。その臨床像は重度な視神経炎や横断性脊髄炎を呈する頻度が高く、重症化する OSMS であった。LESCL を伴う CMS では EDSS が高値で 2 次性進行型への移行が多く、やはり重症化する CMS と思われたが、*HLA* との有意な関連はなかった。Barkhof の脳 MRI 診断基準を満たさず LESCLs も伴わない MRI 病巣が最小の MS は *DRB1\*0405 allele* と有意な正の関連を示した。LESCLs は *HLA* との関連においても臨床病型毎に差異を認め、その多様性が示唆された。また、日本人 MS には *HLA* クラス II に関連した亜群が存在すると思われた。

## 研究目的

日本人多発性硬化症において臨床病型と *HLA* クラス II 遺伝子多型との関連についてはこれまでも報告されている。また臨床病型と頭部脊髄 MRI 所見の関連についても我々はこれまでに報告してきた。しかし、*HLA* と MRI 所見との関連、特に長大な脊髄病巣(LESCLs)との関連は明らかにはなっていない。今回、我々は日本人 MS の LESCLs の多様性やその生成機序を検証するために、*HLA-DRB1*, *DPB1 allele* のタイピングを行い、その関連を明らかにすることを目的とした。

## 研究方法

1987～2006 年に当科で精査された clinically definite MS(Poser 診断基準)患者を対象とし、臨床症候で視神経脊髄型 MS(OSMS)と通常型 MS(CMS)に分類した(Kira らの基準)。診療録をレトロスペクティブに解析して EDSS や再発症状を評価した。OSMS 50 症例、CMS 71 症例について、PCR-SSOP 法による *HLA* クラス II 遺伝子多型の検討を行った。脊髄症状での再発期に撮影した脊髄 MRI 42 症例 (OSMS

27 症例、CMS 15 症例)、寛解期に撮影した脊髄 MRI 98 症例 (OSMS 38 症例、CMS 63 症例)を対象として、LESCLs を有するか解析した。また再発期の頭部 MRI 71 症例 (OSMS 31 症例、CMS 40 症例)、寛解期に撮影した頭部 MRI 114 症例 (OSMS 43 症例、CMS 71 症例)について Barkhof の脳 MRI 診断基準に基づいて解析した。これら MRI 画像所見と *HLA* クラス II 遺伝子との関連を精査した。

## 研究結果

1)LESCLs は OSMS においては頸髄から中位胸髄にかけて広く分布し、軸位では中心灰白質から辺縁白質にまで及ぶ病巣(holocord involvement)がみられた。CMS では LESCLs は頸髄の白質に限局する(peripheral white matter involvement)異なった特徴を呈した。頭部病巣においても両群で異なった特徴がみられた。CMS では Barkhof の脳 MRI 診断基準を満たす症例が有意に多く存在する。  
2)MS 患者 121 例を MRI 所見に基づいて、LESCLs を伴う OSMS 33 例と CMS 23 例、LESCLs を伴わないが Barkhof の脳 MRI 診断

基準を満たす脳病巣を有する(Barkhof 脳病巣)MS 33 例, LESCLs も Barkhof 脳病巣もみられない MS 32 例に分類した。LESCLs を伴う OSMS では他の 3 群に比べて女性優位で発症年齢が高い傾向にあり, 再発率や重度な視神経炎, 横断性脊髄炎を呈する頻度が有意に高かった。また LESCLs を伴う CMS に比べて髄液細胞増多が有意に多くみられた。LESCLs を伴う CMS は LESCLs を伴わず脳病巣をもつ MS より EDSS が高値で, 横断性脊髄炎や 2 次性進行性への移行が有意に多くみられた。

3) *HLA-DRB1\*0901* は健常者に比べて MS で有意に低かった(8.3% vs 30.1%,  $P^{corr} < 0.0001$ )。

LESCLs や Barkhof 脳病巣を伴わない群では *DRB1\*0405* が有意に多くみられ(62.5% vs 27.4%,  $P^{corr} = 0.0174$ ), *DRB1\*0901* も有意に低かった(3.1% vs 30.1%,  $P^{corr} = 0.0232$ )。LESCLs を伴わず Barkhof 脳病巣を有する MS では *DRB1\*1501 allele* の頻度が高かったが有意ではなかった(30.3% vs 14.2%,  $P^{uncorr} = 0.0409$ ,  $P^{corr} > 0.1$ )。LESCLs を伴う OSMS と CMS には *DRB1 allele* との有意な関係はなかった。

4) *HLA-DPBI\*0501* は LESCLs を伴う OSMS において多くみられ(84.8% vs 63.0%,  $P^{uncorr} = 0.0276$ ,  $P^{corr} > 0.1$ ), *DPBI\*0901* は少ない結果が得られたが(6.1% vs 25.0%,  $P^{uncorr} = 0.0217$ ,  $P^{corr} > 0.1$ ), 有意差はなかった。その他, *DPBI allele* との有意な関係はなかった。

5) 多変量解析にて, LESCLs を有する OSMS は著明な髄液細胞増多(OR=31.112,  $P = 0.0023$ ), *HLA-DPBI\*0501 allele* (OR=6.303,  $P = 0.0345$ ), 再発回数 (OR=1.142,  $P = 0.0043$ ), 発症年齢 (OR=1.057,  $P = 0.0121$ )と有意な正の関連を示した。一方, Barkhof 脳病巣も LESCLs も伴わない, MRI load が最小の MS は *DRB1\*0405 allele* と有意な正の関連を示した(OR=3.330,  $P = 0.0312$ )。

## 考察

これまで日本人 OSMS と *DPBI\*0501 allele* との有意な正の関係が報告されてきたが, 今回, 多変量解析によって LESCLs を有する OSMS との有意な正の関連が明らかになった。*DPBI\*0501 allele* は, 軽症な OSMS ではなく重篤な視神経炎や横断性脊髄炎を呈して重症化する OSMS の感受性遺伝子であると思われる。また MRI 病巣が最も少ない MS と有意な正の関係にある *DRB1\*0405* が見出された。なお, *DRB1\*0405*, *DRB1\*0901*, *DPBI\*0501* は東洋人に特有の *allele* であり, 他の人種の MS における関連は明らかにはなっていない。

## 結論

日本人 MS における LESCLs は臨床病型毎に MRI 上の特徴が異なるのみではなく *HLA* との相関においても同様に差異を認め, その多様性が示唆された。また, 日本人 MS には *HLA* クラス II に関連した MRI 上の特徴を有する亜群が存在すると思われる。

## 健康危険情報

なし

## 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

# 多発性硬化症の磁気共鳴スペクトロスコピーによる経時的評価

分担研究者 太田宏平<sup>1)</sup>

共同研究者 竹内千仙<sup>2) 3)</sup>、大橋高志<sup>3)</sup>、清水優子<sup>3)</sup>、大原久仁子<sup>3)</sup>、岩田誠<sup>3)</sup>、  
小野由子<sup>4)</sup>

## 研究要旨

磁気共鳴スペクトロスコピー (Magnetic Resonance Spectroscopy : MRS) は大脳機能障害の評価法として確立されている。本研究では、多発性硬化症 (Multiple Sclerosis, MS) の臨床経過と、MRS の経時的な変化について検討した。22 例の診断確実な MS 患者を対象とし、大脳白質で繰り返し MRS を施行、再発回数、Expanded Disability Status Scale (EDSS)、脳萎縮との関連を検討した。平均 4.4 年の経過観察期間中、EDSS の悪化と NAA の低下には負の相関があり、EDSS 悪化群では、年間平均 -2.54 % の NAA の低下を認めた。これに対し、再発回数、脳萎縮との相関は認めなかった。MRS は MS の臨床経過を反映し、機能予後を予測する有用なマーカーとなりうる可能性が示唆される。

## 研究目的

磁気共鳴スペクトロスコピー (Magnetic Resonance Spectroscopy : MRS) で測定される *N*-acetylaspartate (NAA) は神経細胞のマーカーであり、*in vivo* の神経機能障害の最も確実な評価法として確立されている。これまで私どもは、MS の Expanded Disability Status Scale (EDSS) と NAA の値が相関し、また治療により改善する可能性があることを報告した<sup>1)</sup>。本研究では、MRS の経時的な変化と、MS の臨床経過との関連を検討、機能予後との関連について検討する。

## 研究方法

Poser の診断基準に従い、診断確実な MS 患者 22 名 (男性 10 名、女性 12 名、平均年齢 33.2±8.5 歳、通常型 (C) MS 18 例、視神経脊髄型 (OS) MS 4 例) を対象とした。MRS 撮像シーケンスは PRESS 法、TR/TE=2000 /136、水抑制パルスは CHESS 法を用いた。Single voxel 法で、両側放線冠の任意の大脳白質に 2×2×2 cm<sup>3</sup> の関心領域を設定し、*N*-acetyl- aspartate (NAA)、creatine (Cr) の各ピークを検出した。各患者において年次的に繰り返し MRS を施行、得られた NAA/Cr 比と、疾患重症度、臨床経過との関連を検討した。また、Brain Parenchymal Fraction (BPF)<sup>2)</sup> を用いて脳萎縮を評価、同様に疾患重症度、臨床経過との関連を検討した。コントロールには健康ボランティア 19 人 (男

---

1) 東京理科大学理学部  
2) 東京女子医科大学女性医学研究者支援室  
3) 東京女子医科大学神経内科  
4) 東京女子医科大学神経放射線科

性10人、女性9人、平均年 32.4±8.7歳)を用いた。

#### (倫理面への配慮)

本研究は東京女子医科大学の倫理委員会において承諾を得た。患者本人へ十分に説明を行い、同意の得られた場合にのみ研究を行った。個人情報保護には十分に配慮した。

#### 研究結果

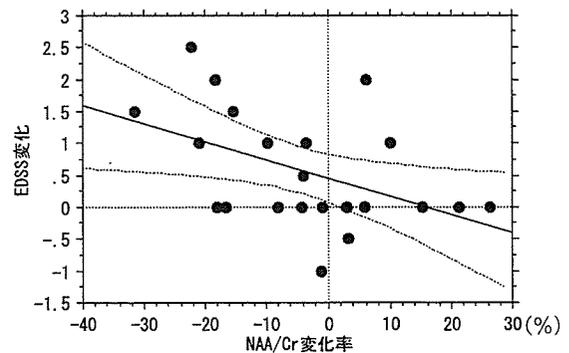
CMS (男性9名、女性9名、平均年齢31.9±7.3歳)では、NAA/Cr=2.08±0.24で、OSMS (男性1名、女性3名、平均年齢39±11.7歳)ではNAA/Cr=2.01±0.22であった。コントロールではNAA/Cr=2.42±0.29であり、通常型MS、視神経脊髄型MSのいずれにおいてもNAA/Crの有意な低下 ( $p<0.01$ ) を認めた。平均観察年数は4.2年であり、各患者において複数回のMRSを施行した。経過観察期間中のNAA/Crの低下とEDSSの悪化には、負の相関を認めた(図、 $p=0.03$ )。経過中にEDSSの低下を認めたものが10名あり、NAA/Crの有意な減少 ( $-2.54\pm 3.1\%$ /年、 $p=0.03$ ) を認めた。EDSSが不変、または上昇した群(12名)では、NAA/Crに有意な変化はなかった ( $+0.86\pm 3.3\%$ /年)。また、再発回数とNAA/Crの変化には、明らかな相関はなかった。脳萎縮に関しては、CMSのBPFは $0.82\pm 0.07$ 、OSMSでは $0.86\pm 1.24$ 、コントロールが $0.89\pm 0.04$ であり、CMSにおいて有意な脳萎縮を認めた ( $p<0.01$ )。脳萎縮とEDSSの変化に明らかな相関は認めなかった。

#### 考察

これまで MS の臨床的障害度においては、

脳萎縮との相関が強調されてきたが、今回の検討では、EDSSの悪化は脳萎縮とは相関せず、MRSのNAA/Crの低下と相関することが明らかとなった。MRSは非侵襲的であり、比較的簡便に施行でき、今後の臨床応用が期待される。

図



#### 結論

MRSで得られるNAA/Crの低下と、MSのEDSSの悪化には密接な関係があり、MRSは予後と相関するマーカーとなりうることを示唆される。

#### 文献

- 1) C.Takeuchi, K.Ota, et al. (2004) Interferon beta 1-b treatment may reverse the axonal dysfunction in multiple sclerosis. J Neuroimmunol 154:1-2, 218.
- 2) Rudick et al. (1999) Use of the brain parenchymal fraction to measure the whole brain atrophy in relapsing-remitting MS. Neurology 53:1698-1704

#### 健康危険情報

なし

#### 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

# 拡散テンソル画像, MR スペクトロスコピーを用いた多発性硬化症の画像解析

班員 梶 龍児<sup>1)</sup>

共同研究者 中根俊成<sup>1)</sup>, 古谷かおり<sup>2)</sup>, 松井尚子<sup>1)</sup>, 三ツ井貴夫<sup>1)</sup>, 和泉唯信<sup>1)</sup>, 原田雅史<sup>3)</sup>

## 研究要旨

多発性硬化症(MS)は, その診断および病態の把握に MRI の寄与が大きいことが知られた疾患である. MS の拡散テンソル画像(DTI), MR スペクトロスコピー(MRS)については, 通常の MRI に付加する情報が期待されている. 今回, われわれは再発寛解型 MS と健常対照群を用いて DTI, MRS による比較検討を行った. その結果, DTIにおける FA (fractional anisotropy)の正常に見える白質, 脳梁部分での低下と, MRSにおける NAA の低下をそれぞれ MS 群に認めた. これらは両方とも軸索障害の程度を表すものと期待されており, その評価を行うツールとして有用な可能性が示された. OSMS 群と CMS 群では異なった傾向も示されており, 今後はこれらを精査していきたい. なお拡散テンソル tractography は病変の可視化には有用なソフトウェアであるが, 今後は定量化も含めてさらに技術的向上を目指す.

## 【目的】

多発性硬化症(MS)は, その診断および病態の把握に MRI の寄与が大きいことが知られた疾患である. MS の拡散テンソル画像(DTI), MR スペクトロスコピー(MRS)については, 通常の MRI に付加する情報が期待されている. 今回, DTIによる ADC (apparent diffusion coefficient)および FA (fractional anisotropy), 脳白質路の描出(DT Tractography), MRSにおける各 chemical のデータと MS の症状経過の関連を解析し, さらに健常コントロールとの差異を検討することにより, それが臨床的有用性を評価した.

## 【対象・方法】

再発寛解型 MS43 例と年齢性別のほぼ一致した健常コントロール(HC)群を対象に頭部 MRI を撮像した. 頭部 MRI 検査にあたっては 3T MR 装置として GE 社製 Signa 3.0T VH/i 頭部用標準コイル, データ処理には GE 社製 AW4.2 を用いた.

なお, MS 群は吉良の診断基準に従い, 視神経脊髄型 MS(OSMS)20 例と大脳型 MS(CMS)23 例に分類して下記の解析を行った. とくに検討した部位は MS 病変部, 正常に見える白質(NAWM), 正常に見える脳梁(NACC)である.

1) テンソル画像の撮像条件は  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$ , slice 厚 4mm, MPG 6 軸, matrix 128x128, INEX とした. 得られた拡散テンソル画像をもとに ADC map, FA map を作成して数値を求めた. これらは従来行われてきた頭部 MRI 検査(T1 強調画像, T2 強調画像, FLAIR, ガドリニウム増強 T1 強調画像)に追加して施行された. Tractography 作成には dTV2.0(東京大学医学部附属病院放射線科画像情報処理・解析研究室開発, MR 拡散テンソル解析ソフトウェア(増谷ら))を使用し, 錐体路については追跡開始点(Seed)を中脳大脳脚レベルに, 関心領域(Target)を大脳皮質運動野に設定して白質路描出を行った. 脳梁についても追跡開始点, 関心領域を設定して白質路描出を試みた. なお, これらの定量では描出された神経線維の数を到達率とした.

2) MRS ではデータは single voxel 法および CSI

1) 徳島大学 神経内科

2) 徳島大学 放射線科

3) 徳島大学医学部保健学科診療放射線技術学

(chemical shift imaging) にて関心領域を設定した部位より収集した。Single voxel 法では各々  $15 \times 15 \times 15 \text{ mm}^3$  の関心領域を脱髄巣に設定した。得られたスペクトラムより Choline, Creatin, N-acetyl aspartate (NAA), Lactate and Lipid のピークを同定し、今回は NAA と Cr との相対比を算出した。

### 【結果】

上記の検討を NAWM と NACC (計 20 箇所) および MS 病巣にて行った。結果は下記のとおりである。

- 1) FA 値は内包後脚を除く NACC, NAWM では MS 群 (CMS 群, OSMS 群) で HC 群に比しての低下を有意に認めた。内包後脚では OSMS 群での低下が CMS 群, HC 群に比して有意であり、プラークでの FA 値低下は著明であった。
- 2) ADC 値は内包後脚, 白質では MS 群 (CMS 群, OSMS 群) で HC 群に比しての低下を有意に認めた。慢性期プラークでは ADC 値上昇を CMS 群で認めた。
- 3) NAA/Cr 値は後頭葉白質において OSMS 群で CMS 群に比しての低下を有意に認めた。プラーク (慢性期) では著明な低下を両群で認めた。
- 4) OSMS 群のうち 3 椎体以上の病変を有する群は、それを有しない CMS 群と比べて FA 値の内包後脚における低下を CMS 群, HC 群に比しての低下を有意に認めた。なお、後頭葉白質における NAA/Cr の低下が有意であった。
- 5) Tractography における神経線維数 (drawn lines) は MS 群で明らかに減少していた。

### 【考察】

- 1) NAWM (とくに前頭葉・後頭葉白質) における FA, ADC 両方の低下は MS (= CMS 群, OSMS 群) グループで認めたが、CMS 群 - OSMS 群

間では差異を認めなかった。これまでの報告 (CMS 群 - OSMS 群間で相違があるのか) の検証が必要である。

- 2) DTI (FA) - Tractography - MRS (NAA/Cr) は MR 画像において軸索障害を評価するのに有用なツールと考えられた。今回の study では OSMS 群 (とくに 3 椎体以上の病変を有する群) では内包後脚, 後頭葉白質での軸索障害が推測される。これらは OSMS における脊髄病変による錐体路障害, 視神経病変による影響を反映している可能性がある。

### 【結論】

今回の検討では MS における DTI 解析では ADC より FA が鋭敏かつ有用性が高いことが示された。Tractography 描出における神経線維数 (drawn lines) は MS 群で明らかに減少しており、これは FA 解析と組み合わせることにより臨床的意義がより高まると考えた。DT Tractography は MS プラークと白質路の位置関係を 3 次的に描出し、MS においては早期より、またプラークの局在に関わらず、白質路の神経線維の connectivity が弱まっている可能性が示唆された。これら DTI および MRS による撮像は病態の把握、モニタリングへの有用性も含め、今後、新しい画像解析のツールとしての開発、データの集積が望まれる。

### 【健康危険情報】

なし

### 【倫理面への配慮】

現在、当院倫理委員会提出中。

### 【知的財産権の出願・登録状況】

特許取得: なし

実用新案登録: なし

## 抗 aquaporin-4 抗体陽性多発性硬化症患者の臨床的特徴

分担研究者 桑原 聡  
共同研究者 森 雅裕、早川 省、吉山 容正、服部 孝道

### 研究要旨

ELISA 法による抗 aquaporin 4 (AQP4) 抗体測定系を開発し、多発性硬化症 (MS) 患者における陽性率と抗体陽性例の臨床的特徴について検討した。MS 患者 43 名中において、12 名(27.9%) の患者血清で抗 AQP4 抗体が陽性となった。正常対照 19 名のうち陽性となったのは 1 名 (5.2%) であった。抗 AQP4 抗体陽性 MS 患者は陰性 MS 患者に比し、発症年齢、男女比における女性の比率、重症度、視神経炎をきたす割合などが高く、髄液細胞数が多く、3 椎体以上にわたる脊髄病変を有する割合が高かった。抗 AQP4 抗体陽性 MS は比較的均質な特徴を有し、特別なサブグループを形成するものと考えられた。

### 研究目的

Mayo clinic のグループにより neuromyelitis optica (NMO) の診断基準が提唱され、さらに同じグループにより患者血清中に疾患特異的な抗体である NMO-IgG が発見された。NMO-IgG は、マウスの微小血管、軟膜、軟膜下、Virchow-Robin 腔などに結合することが明らかにされるとともに、北アメリカの NMO 患者だけでなく日本の視神経脊髄型多発性硬化症 (OSMS) 患者においても血清中にこの抗体がかなりの頻度で認められ、その特異度も高いことから、「OSMS は NMO であって、多発性硬化症でない」と結論付けられたが、この点に関しては今尚、議論されている。最近、同グループにより、NMO-IgG の認識する抗原が水分子のチャンネルである、aquaporin 4 (AQP4) であることが報告され、その病態への関与に関心が集まっている。これまで、抗 AQP4 抗体は主に間接蛍光抗体法で測定されてきたが、客観性、定量性、一度に測定できるサンプル数などに限度があり、ELISA 法による測定系の確立が望まれてきた。

このため、今回、我々は ELISA 法による血清抗 AQP4 抗体測定のを確立するとともに、

千葉大学大学院医学研究院神経内科学

抗体陽性者がいれば抗 AQP 4 抗体陽性 MS 患者の臨床的特徴を明らかにすることを目的に本研究を行った。

### 研究方法

(1) 対象：2000 年から 2006 年の間に当科で診療し、Poser の診断基準の「臨床的に確実な MS」に該当する再発寛解型 MS 43 名を対象とし、全例の急性期血清とそのうち 25 名の寛解期血清を採取保存した。健康成人 19 名の血清を正常対照として用いた。診断基準に関しては 2001 年の McDonald の診断基準に関しても、三椎体以上の長い脊髄病変の除外規定を除き、診断基準を満たした。

(2) 方法：rat aquaporin 4 cDNA から plasmid DNA を作成し、バキュロウイルス発現系を用い、組み替え体蛋白を発現させ、抽出、精製したものを抗原とし、以下のような ELISA 法を施行した。抗原を ELISA プレートに固定し、ブロッキング後、1000 倍希釈した患者血清を一次抗体として反応させ、二次抗体に抗ヒト IgG 抗体を用いて、抗体価を吸光度として測定した。正常対照の OD 値の平均 + 2 SD をカットオフ値とした。臨床情報を retrospective に収集し、抗 AQP 4 抗体陽性 MS 患者と陰性 MS 患者でその臨床的特徴を比較した。

## 倫理面への配慮

本研究は、千葉大学医学部附属病院の倫理規定を遵守して行った。血清保存とその研究への利用に関しては患者さんからはインフォームド・コンセント・同意を得た。個人の情報は決して表に出ることがないように細心の注意を払い、プライバシーの保護には十分に配慮した、同意を得られた場合にのみ研究をおこなった。

## 研究結果

(1) 43名のMS患者のうち、12名(27.9%)の患者血清で抗AQP4抗体が陽性となった。正常対照19名のうち陽性となったのは1名(5.2%)であった(図左)。急性期と寛解期のペアでの抗体価の比較に関しては、急性期と寛解期で有意な差は認めなかった(図右)。

(2) 抗AQP4抗体陽性MS患者は以下に述べるように比較的均一な臨床・検査上の特徴を有した。抗AQP4抗体陽性MSは陰性MSに比し発症年齢、男女比における女性の比率、重症度、視神経炎をきたす割合などが高く、髄液細胞数が多く、3椎体以上にわたる脊髄病変を有する割合が高かった。

## 考察

これらの特徴はNMOやNMO-IgG陽性のMS、OSMSの特徴と重なるものであった。ただし比較的多く大脳・脳幹病変が経過中に見られた。

## 結論

新規に開発したELISA法による抗AQP4抗体測定系により抗AQP4抗体価を測定した。抗AQP4抗体陽性MSはMSの中で比較的均質な特徴を有し、特別なサブグループを形成するものと考えられた。

## 健康危険情報

特になし

## 知的所有権の出願・登録状況

特許取得・実用新案登録：なし

# 臨床病型と抗 AQP4 抗体からみた日本人多発性硬化症の heterogeneity

分担研究者 吉良潤一

共同研究者 松岡健, 松下拓也, 河野祐治, 小副川学, 三野原元澄, 越智博文

## 研究要旨

1987~2006 年の間に当科で精査された MS 患者 113 例の抗 AQP4 抗体を測定し, 臨床病型および諸検査所見との関連を評価した. 抗 AQP4 抗体陽性率は OSMS において 27.1%, CMS で 5.6% であった. 抗 AQP4 抗体陽性 MS は抗体陰性 CMS とは異なる臨床病像であるが, CMS 類似の頭部病巣も少なからずみられた. 多変量解析では抗 AQP4 抗体陽性であることに長大な脊髄病巣 (LESCL) や OSMS という病型には関連がみられなかった. 一方で, LESCL を有する抗体陰性 OSMS が存在した. これは抗体陽性例とは LESCL の分布が異なり, IFN $\beta$ -1b も有効と思われた. 抗体陰性 CMS では LESCL は短い脊髄病巣と共通の分布を呈しており, conglomeration type と考えられた. 日本人 MS で LESCL を形成する要因は抗 AQP4 抗体だけではなく多様性をもつことが示唆された.

## 研究目的

日本人の視神経脊髄型多発性硬化症 (OSMS) は, 欧米の再発寛解型 neuromyelitis optica (NMO) と類似しており, 両者とも長大な脊髄病巣 (LESCL) を有することを特徴としている. 近年, NMO に特異的な自己抗体 (NMO-IgG) が発見され, aquaporin-4 (AQP4) を対応抗原とすることが明らかになった. NMO-IgG が OSMS に多く見出されることから NMO と OSMS が同一疾患であるとする見方もある. 今回, 我々は抗 AQP4 抗体を測定することで, 日本人 MS において臨床病型および諸検査所見と抗 AQP4 抗体の関連を明らかにすることを目的とした.

## 研究方法

1987~2006 年に当科で精査された clinically definite MS (Poser 診断基準) 患者を対象とし, 臨床症候で視神経脊髄型 MS (OSMS) と通常型 MS (CMS) に分類した (Kira らの基準). 脳幹および脊髄症候のみの患者は脳幹脊髄型 MS (BSMS) とした. 診療録を解析して EDSS や再発症状を評価した. OSMS 48 症例, CMS 54 症例, BSMS 11 症例, idiopathic recurrent transverse myelitis (IRTM) 4 症例, その他の神経疾患 52 症例, 健常群 35 症例の抗 AQP4 抗

体を GFP-AQP4 fusion protein を遺伝子導入した HEK-293T cell を用いて蛍光抗体法により測定した. 同じ血清を用いて OSMS 46 症例, CMS 51 症例の NMO-IgG を Mayo Clinic で測定した. 脊髄症状での再発期に撮影した脊髄 MRI 42 症例 (OSMS 26 症例, CMS 16 症例), 寛解期に撮影した脊髄 MRI 97 症例 (OSMS 39 症例, CMS 49 症例, BSMS 9 症例) を対象として, 病巣の長さとその分布を解析した. また再発期の頭部 MRI 69 症例 (OSMS 30 症例, CMS 35 症例, BSMS 4 症例), 寛解期に撮影した頭部 MRI 104 症例 (OSMS 42 症例, CMS 52 症例, BSMS 10 症例) について Barkhof および Paty の脳 MRI 診断基準に基づいて解析した.

## 研究結果

1) 我々の抗 AQP4 抗体測定法は Mayo Clinic での NMO-IgG 判定に対して感度 83.3%, 特異度 100.0% であった. 抗 AQP4 抗体陽性率は OSMS において 27.1%, CMS で 5.6% であった. IRTM では 25.0% であったが, BSMS やその他の神経疾患, 健常群には抗 AQP4 抗体はみられなかった. Barkhof の MRI 診断基準を満たす頭部病巣と LESCL を併せ持つ OSMS 群において 55.6% と最も高頻度にみられた.

2) 多変量解析では、抗 AQP4 抗体が陽性であることには再発率のみが有意に相関し、臨床病型が OSMS であることや LESCL の出現とは関連がなかった。

3) 抗 AQP4 抗体陰性 CMS に比べて、抗体陽性 MS と抗体陰性 OSMS はともに EDSS が高い傾向にあり、重度の視神経炎や横断性脊髄炎を有意に多く呈した。

4) 頭部脊髄 MRI を比較したところ、有意差には至らなかったが、抗 AQP4 抗体陽性 MS は抗体陰性 OSMS に比べて約 2 倍の症例で Barkhof 診断基準を満たし、LESCL も多く呈した。

5) LESCL は、抗 AQP4 抗体陽性 MS においては上位～中位胸髄を主座とし、抗体陰性 OSMS で上位頸髄から中位胸髄に拡がっており、両群の LESCL の分布には有意な違いを認めた。抗体陰性 CMS では LESCL も短い病巣も頸髄に多く出現していた。軸位では抗体陽性 MS の LESCL は中心灰白質に限局する例が多く (central gray matter pattern)、抗体陰性 OSMS では中心灰白質だけでなく辺縁の白質も侵していた (holocord pattern)。抗体陰性 CMS では再発期 MRI の LESCL は中心灰白質に限局する例 (peripheral white matter pattern) が多かったが、寛解期 MRI では白質に限局する例が多かった。

6) 抗 AQP4 抗体陽性 MS で NMO 診断基準を満たす 14 症例と抗体陰性 OSMS で LESCL を有する 18 症例を比較したところ、抗体陰性 CMS に比べて EDSS が高く、重篤な視神経炎や横断性脊髄炎を多く呈する点は共通していた。抗体陰性 OSMS/LESCL に比べて抗体陽性 MS/NMO で有意に再発率が高く、発症年齢や抗 SSA/SSB 抗体などの自己抗体陽性率、Barkhof および Paty の脳 MRI 診断基準を満たす頻度が高い傾向にあった。髄液細胞増多は抗体陰性 OSMS/LESCL で多くみられた。両群において IFN  $\beta$ -1b 開始後 2 年間の再発率を intention-to-treat 分析した。抗体陽性 MS/NMO では再発率は増加したが、抗体陰性 OSMS/LESCL では再発率は有意に減少し、ま

た再発率が 50%以上減少した症例も有意に多かった。

7) NMO-IgG 抗体価は罹病期間、再発回数、再発率とは有意な相関はなかったが、progression index と EDSS とは負の相関を認めた。

#### 考察

抗 AQP4 抗体陽性 MS/NMO は抗体陰性 CMS とは異なった臨床像を呈しており、MS とは一線を画した病態と思われた。しかし、しばしば CMS に類似する脳病巣をも伴っていた。多変量解析では抗 AQP4 抗体陽性であることに LESCL や OSMS という病型には関連がみられなかった。一方で、LESCL を有する抗体陰性 OSMS は抗体陽性例とは LESCL の分布も異なり、IFN  $\beta$ -1b も有効と思われた。アジア人種においては、抗 AQP4 抗体陽性例の病態は、OSMS と完全に一致はしないので、むしろ CNS aquaporinopathy と分類するのが適当かもしれない。但し、NMO-IgG 抗体価は progression index と逆相関を示したことから修飾因子に過ぎない可能性も残されている。

抗 AQP4 抗体陰性 CMS では LESCL は短い脊髄病巣と共通の分布を呈しており、欧米での MS 脊髄病巣とその特徴が一致していた。CMS の LESCL は短い病巣が塊状になったもの (conglomeration type) である可能性がある。欧米白人に比べてアジア人種で CMS に LESCL を伴う頻度が高いのは遺伝的背景の差によるものか今後の検討を要する。

#### 結論

抗 AQP4 抗体の有無や臨床病型で LESCL は異なった特徴を呈した。日本人 MS には CMS とは異なる抗 AQP4 抗体陽性 MS があり、一方で LESCL を有する抗体陰性 OSMS が存在していた。これは LESCL を形成する要因が抗 AQP4 抗体だけではなく多様性をもつことを示唆すると思われた。

#### 健康危険情報

なし

#### 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

## 連続 128 例の多発性硬化症患者での抗アクアポリン 4 抗体の検討

分担研究者 田中正美<sup>1)</sup>

共同研究者 小森美華<sup>1)</sup>、齋田孝彦<sup>1)</sup>、田中恵子<sup>2)</sup>

### 研究要旨

昨年、当班会議で抗アクアポリン 4(AQP4)抗体の測定結果を報告したが、自験例を増やして、抗体陽性群と陰性群の比較検討を行った。2005 年秋から 2006 年春まで当院で診療を行った連続 128 例の血清中の抗体を測定し、3 椎体以上の長さの脊髄病変を有する多発性硬化症(LCL-MS)45 例中 25 例で抗体が見いだされた。抗体陽性群では陰性群に比し、再発率が高かった。5 年以上経過し、視神経と脊髄以外に症状を認めず、LCL も抗体も陰性の一群が認められた。以上から、抗 AQP4 抗体は再発頻度の高い指標となりうること、また、日本人視神経脊髄型多発性硬化症は Neuromyelitis optica とは LCL と抗体の動態からも異なる一群が含まれることが示唆された。

### 研究目的

抗アクアポリン 4(AQP4)抗体は Neuromyelitis optica (NMO)と日本人視神経脊髄型多発性硬化症(OSMS)患者の疾患マーカーであることが報告された。昨年、当研究班で田中恵子が世界で 2 番目に抗 AQP4 抗体の測定系を樹立したことを報告したが、今回は自験例を増やして、抗体陽性群と陰性群の比較検討を行ない、抗 AQP4 抗体の意義について検討を行った。

### 対象と方法

対象は 2005 年秋から 2006 年春まで当院で診療を行った連続 128 例であるが、脊髄型と一次進行型は除外した。男性 36 例、女性 92 例で、年齢は 21 歳から 75 歳で、全

例再発緩解型であり、McDonald の診断基準を満足した。発症から採血までの期間は 1 から 35 年であった。

連続した 3 椎体以上の長さの脊髄病変が T2 高信号病変として、あるいは segmental な脊髄萎縮として認められた場合を long spinal cord lesion (LCL)とし、LCL を伴う MS 患者を LCL-MS とした。

抗 AQP4 抗体の測定はヒト AQP4 の cDNA 全長を組み込んだ HEK-293 細胞を標的とした間接蛍光抗体法で行い、測定者(KT)は臨床情報を blind で抗体の有無を判定した。

有意差検定は Mann-Whitney U 検定でおこなった。

本研究は宇多野病院の倫理委員会の承認の下で行われた。

---

1) 宇多野病院神経内科

2) 新潟大学脳研究所神経内科学分野

## 結 果

45 例の LCL-MS 患者(男性 5 例、女性 40 例)中、25 例(男性 2 例、女性 23 例)で抗 AQP4 抗体が陽性であった。LCL-MS 以外の MS 患者では抗体は認められなかった。segmental な脊髄萎縮陽性例では 17 例中 12 例(70.6%)で抗体が陽性で、脊髄萎縮陰性例では 13/28(46.4%)で抗体が陽性であり、脊髄萎縮の有無により抗体陽性率には Fisher の正確確率検定により差は認められなかった( $p=0.135$ )。128 例中 11 例で失明しており、うち 9 例で LCL が認められ、9 例中 7 例で抗体が陽性で抗体と失明との間に関連が認められた( $p<0.001$ )。採血前 1 年間の再発回数について、抗体陽性群と陰性群とで検討した。再発の記載が十分に確認された抗体陽性の LCL-MS22 例での再発回数は、抗体陰性の LCL-MS18 例より再発回数が有意に多かった( $p=0.0004$ )。発症 5 年を経過し、LCL も抗 AQP4 抗体も認められず、視神経と脊髄以外に症状が認められなかった 9 例が見いだされた。発症年齢は 7 から 51 歳で、罹病期間は 5 から 24 年であった。Kurtzke の EDSS は 0 から 4.0 で、LCL-MS(0 から 9.5)より軽症であった( $p<0.0001$ )。

## 結 論

連続 128 例の血清中の抗体を測定し、LCL-MS45 例中 25 例で抗体が見いだされた。抗体陽性群では陰性群に比し、再発率が高かった。5 年以上経過し、視神経と脊髄以外に症状を認めず、LCL も抗体も陰性の一群が認められた。以上から、抗 AQP4 抗体は再発頻度の高い指標となりうること、また、日本人視神経脊髄型多発性硬化症は、

Neuromyelitis optica とは LCL と抗体の動態からも異なる一群が含まれることが示唆された。

## 健康危険情報

なし

## 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

## Neuromyelitis optica の脊髄病巣におけるアクアポリン 4 の欠落

分担研究者 糸山泰人<sup>1)</sup>

共同研究者 三須建郎<sup>1)</sup>、藤原一男<sup>1)</sup>、中島一郎<sup>1)</sup>、柿田明美<sup>2)</sup>、高橋均<sup>2)</sup>

### 研究要旨

視神経脊髄炎 Neuromyelitis optica (NMO) は、本邦では OSMS と言われ、長い間 MS との異同が問題となってきた。今回の NMO における病理学的検討の結果、急性活動期の NMO 病巣において、アクアポリン 4 (AQP4) は欠落し、正常コントロールおよび MS 病巣で発現が認められるのと対照的な結果であった。また、同部位においてグリアマーカーである GFAP 染色も低下しており、グリア細胞の障害を示唆している。さらに急性期病巣における AQP4 の欠落と比較して、脱髄は比較的保たれる傾向があり、NMO 病巣は MS における脱髄とは異なった病態を有することが明らかとなった。NMO は AQP4 抗体を介するグリア細胞の障害に起因する、MS と全く異なる新しい疾患概念を有する疾患と考えられる。

### 研究目的

視神経脊髄炎 Neuromyelitis optica (NMO) は、視神経と脊髄が選択的に障害される炎症性疾患であるが、長い間多発性硬化症 (MS) との異同が問題となってきた。本邦では、特に視神経脊髄型多発性硬化症 (OSMS) と呼ばれ、比較的脊髄病変が長く、女性優位に発症し、オリゴクローナルバンドが陰性である点などが特徴として挙げられており、OSMS と NMO は同様の病態を有する疾患であると考えられてきた。近年、NMO や OSMS の患者血清には中枢神経系の微小血管や軟膜に特異的に反応する NMO-IgG が見出され標的抗原がアクアポリン 4 (AQP4) であることが報告されたことから (1,2)、同様の免疫学的機序による疾患であることが示唆されている。AQP4 は水チャンネルの一つで生体の水輸送に重要な働

きをしており、中枢神経系では主にアストログリアの足突起に好発現している。しかし、抗 AQP4 抗体がどのように疾患の発症に関わるかは不明であり、病理学的に解析する必要があると思われた。

### 研究方法

NMO 12 例 (平均 59.3 才、経過 8.0 年、女性 8 例、男性 4 例)、MS 6 例 (平均 36.7 才、経過 10.3 年、女性 3 例、男性 3 例) の剖検脊髄を用い、正常対照との比較検討を行った。各症例の脊髄標本を用いて、病巣における免疫グロブリン (IgG, IgM) や活性化補体 (C9neo) の発現を免疫組織学的に検討した。また AQP4, ミエリン塩基性蛋白 (MBP), グリア繊維細胞酸性蛋白 (GFAP) の発現を免疫組織学的に検討した。本研究は、東北大学の倫理規定を遵守して行った。患者家族からインフォームド・コンセントを得、同意を得られた場合にのみ研究をおこなった。

---

1) 東北大学神経内科学

2) 新潟大脳研究所

個人の情報は決して表に出ることがないように細心の注意を払い、プライバシーの保護には十分に配慮した。

## 研究結果

健常者脊髄では、灰白質に AQP4 の発現が認められ、また白質における主に微小血管や軟膜に発現が認められた。NMO の病変は、壊死・脱髄を伴い、血管の増生と肥厚性変化、マクロファージの浸潤を伴う特徴を有している。NMO 全例において、病巣における AQP4 の発現低下が認められた。特に活動期には脊髄中心部を含む広範な AQP4 発現の低下が認められ GFAP 染色も低下が認められた。一方、AQP4 および GFAP の発現低下部位において、髄鞘の構成蛋白 MBP が比較的保たれる傾向が認められた。補体・免疫グロブリンの証明される活動期病巣の血管周囲では AQP4 欠損が明らかで、GFAP も陰性であった。一方、MS では NMO で見られる広範な AQP4 欠損は証明されず、AQP4 は GFAP 陽性の反応性グリアに高発現していた。

## 【考察】

今回、NMO では病巣部位で AQP4 は発現が低下し、MS では発現が亢進していることから、NMO はアストロサイトに発現する AQP4 の低下に起因する MS とは異なる疾患であることが示唆される。また、AQP4 の発現低下と GFAP の発現パターンは比較的一致しており、アストロサイトの障害が病態に関与していると推察される (3)。脊髄における AQP4 の発現部位が灰白質および白質の血管周囲

に認められることは、NMO の病巣が比較的灰白質優位・血管周囲に起こりやすい、血管周囲の免疫グロブリン・補体の沈着や血管壁の肥厚などの特徴を有することと矛盾しない。さらに、AQP4 の発現部位は、臨床的に NMO の病巣が起こる場所と一致していることもあり、AQP4 が NMO の標的抗原として確からしいと思われる。

## 【結論】

NMO 病巣の AQP4 および GFAP の発現低下は、NMO がアストロサイトの障害に起因し、MS とは異なる病態を有する疾患であることを示唆している。

## 文献

1. Lennon VA, Kryzer TJ, Pittock SJ, et al. IgG marker of optic spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *JEM* 2005; 202: 473-7.
2. Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet* 2004; 364: 2106-12.
3. Misu T, Fujihara K, Nakamura M, et al. Loss of aquaporin-4 in active perivascular lesions in neuromyelitis optica: a case report. *Tohoku J Exp Med* 2006; 209: 269-75.

## 健康危険情報

なし

## 知的財産権の出願・登録状況

特許取得:なし

実用新案登録:なし

# 抗アクアポリン4抗体陽性患者血清 IgG の AQP4 発現培養細胞に及ぼす影響についての検討

班 員 田中 恵子<sup>1)</sup>

共同研究者 谷 卓<sup>1)</sup>, 西澤 正豊<sup>1)</sup>, 山崎 真弥<sup>2)</sup>, 崎村 建司<sup>2)</sup>

## 研究要旨

脊髄に長い病変を有する多発性硬化症(MS)に高い特異性を持つ aquaporin4(AQP4)に対する自己抗体が近年注目を集めているが、この抗体が AQP4 分子自体に与える影響を評価するために、AQP4/EGFP 共発現 HEK293 細胞に患者血清から抽出した抗 AQP4 IgG を作用させ、低浸透圧負荷をかけながら共焦点レーザー顕微鏡で EGFP 蛍光強度を経時的に観察した。その結果、抗 AQP4 IgG 存在下ではコントロール IgG 存在下に比べ蛍光強度の低下が速やかであった。このことは、抗 AQP4 IgG が存在することにより AQP4 を発現した細胞膜の水透過性が亢進した可能性を示唆した。

## 研究目的

近年、視神経脊髄型 MS のなかでも長軸方向に長い脊髄病変を持つ群に高い特異性を持って検出される抗 aquaporin4(AQP4)抗体が、重要な疾患マーカーとして注目を集めている。AQP4 は、中枢神経系では血管周囲や軟膜下、上皮細胞下などのアストロサイトに出出されている水チャンネル分子で、AQP4 K.O.マウスなどを用いた検討により、様々な病態の脳浮腫との関連が明らかにされている。しかし、本抗体が AQP4 分子に与える影響についての報告はこれまでにないことから、AQP4 をトランスフェクトした HEK293 細胞に患者血清から抽出した IgG を反応させることにより、本抗体が水透過性に影響をあたえるかどうかを検討した。

## 研究方法

抗 AQP4 陽性 IgG ; 抗 AQP4 抗体陽性血清から MabTrap Kit で IgG を抽出した。

AQP4/EGFP 共発現細胞 ; Lipofectamine LTX および Plus Reagent (Invitrogen) を用いて HEK293 細胞に hAQP4 と EGFP を co-transfect したものをを用いた。抗 AQP4 抗体陽性血清を用いた免疫蛍光染色の結果、EGFP 発現細胞のうち AQP4 も発現している細胞の割合は 95.1%であった。コントロールとして AQP4 を挿入していない vector のみと EGFP を同様に co-transfect したものをを用いた。

観察 ; 抗 AQP4 陽性 IgG および同様の方法で抽出した対照 IgG を、AQP4/EGFP 共発現細胞に反応させた後、共焦点レーザー顕微鏡 OLYMPUS FV500 で 1.5~3 秒間隔で撮像しながら、培地に PBS を加え低浸透圧負荷をかけ、細胞内 EGFP の蛍光強度の経時的変化を解析ソフト Fluoview により解析した。

---

1) 新潟大学脳研究所 神経内科学分野

2) 同 細胞神経生物学分野

## 研究結果

### 1. AQP4 発現の有無による EGFP 蛍光強度の経時的变化

低浸透圧負荷前の蛍光強度を  $F_0$ 、時間  $t$  における蛍光強度を  $F_t$  として、AQP4 発現/非発現細胞における  $F_t/F_0$  をグラフで比較した (Fig.1). AQP4 発現細胞では、AQP4 非発現細胞より蛍光強度の低下が速やかだった。AQP4 による細胞膜水透過性亢進によることが推測され、蛍光強度低下の経時的測定による比較定量的解析が可能であると考えられた。

### 2. 抗 AQP4 IgG 添加による EGFP 蛍光強度の経時的变化

AQP4 発現細胞に、抗 AQP4 IgG、コントロール IgG それぞれ同量を培地に添加し、同様に測定した。抗 AQP4 IgG 存在下では、コントロール IgG 存在下よりも蛍光強度が速く低下していた。

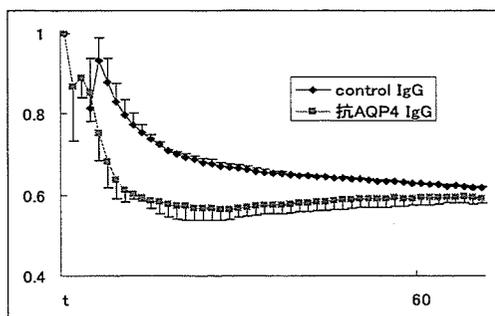


Fig. 2 ; 抗 AQP4 IgG による EGFP 蛍光強度の変化  
1.5 秒毎 72 秒の経過。

## 考察

脊髄に長い病変を有する MS 患者血清中の抗 AQP4 抗体が AQP4 分子に与える影響を検討するため、hAQP4 を発現させた HEK293 細胞に患者血清から抽出した IgG を作用させたうえで低浸透圧負荷をかけ、細胞内 EGFP 濃度や細胞形態の変化を共焦

点レーザー顕微鏡で解析した。その結果、抗 AQP4 IgG 存在下で EGFP 蛍光強度の低下が速くなった。このことは、患者血清中の抗 AQP4 IgG が AQP4 の水透過性を亢進させる可能性を示唆した。

AQP の水透過性を測定する手法としては、*Xenopus oocyte* に AQP を発現させ低浸透圧負荷をかけ腫大、形態異常を観察する方法がよく用いられるが、試料の準備などが煩雑で時間がかかる。本法は比較的簡便に比較定量ができるという利点がある。

## 結論

AQP4 を発現した細胞膜の水透過性が、抗 AQP4 IgG により亢進した可能性が示唆された。

## 健康危険情報

なし

## 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし