

抗 CLDND1 抗体陽性多発性硬化症患者の 特徴と抗 AQP4 抗体の関連

分担研究者 越智博文

共同研究者 三野原元澄、松下拓也、松岡健、河村信利、吉良潤一

研究要旨

claudin domain containing 1 (CLDND1) は、ヒトにおいては中枢神経系に発現が高く、特に白質での発現が高いことが報告されている。今回我々は、アジア人の多発性硬化症 (MS) 患者血清を用いて抗 CLDND1 抗体を測定し、その臨床的意義を検討した。MS は抗 AQP4 抗体陽性 MS、抗 AQP4 抗体陰性視神経脊髄型 MS (OSMS)、通常型 MS (CMS) に分類し検討した結果、抗 AQP4 抗体陽性 MS でのみ有意に陽生率が高かった。また、MS 全体で見た場合には、抗 CLDND1 抗体陽性群はその重症度が有意に高く、横断性脊髄炎を呈する割合も有意に高率であった。このことより、抗 CLDND1 抗体は抗 AQP4 抗体陽性 MS での強い組織破壊を反映していると考えられた。

研究目的

Claudin は、細胞間の tight junction の形成に関わる蛋白質であり、20 種類以上の遺伝子ファミリーよりなる。Claudin-11 は、oligodendrocyte-specific protein として知られており、多発性硬化症 (MS) の自己抗原としても認知されている。claudin domain containing 1 (CLDND1) の発現は、ヒトの組織において、中枢神経系に限局している。我々はヒト CLDND1 蛋白 (全長 253aa) の細胞外ドメインである 25-143aa のリコンビナント蛋白を作製し、この蛋白に対する MS 患者での抗体価を測定した結果、視神経脊髄型多発性硬化症 (OSMS) でのみ健常者と比べ、抗 CLDND1 抗体陽性率が上昇していること、抗 CLDND1 抗体陽性群は陰性群に比べ、重症度が高く、3 椎体以上におよぶ長大な脊髄病巣 (LESCL) や横断性脊髄炎 (ATM) を呈する割合が有意に高いことを報告している。今回は、抗 AQP4 抗体の有無により臨床病型を分類し、抗 CLDND1 抗体の臨床的意義を検討したので報告する。

研究方法

日本人 MS における抗 CLDND1 抗体の意義

対象は、McDonald の診断基準により診断確実な再発寛解型 MS 98 名、健常者 31 名。MS は抗 AQP4 抗体陽性 MS 17 例、抗 AQP4 抗体陰性 OSMS 35 例、抗 AQP4 抗体陰性 CMS 46 例に分類した。ELISA 法にて測定した抗 CLDND1 抗体のデータをもとに、各群間における陽性率の比較を行った。また、抗 CLDND1 抗体陽性群と陰性群に分類し、最終診察時の重症度、LESCL の割合、ATM の割合、Barkhof の MRI 診断基準を満たす割合など臨床的特徴を検討した。

抗 CLDND1 抗体測定

hCLDND1 蛋白の細胞外ドメインである 25-143aa のリコンビナント蛋白を作製した。96 穴 ELISA プレートに固相化し、ELISA 法を用いて抗 CLDND1 抗体の測定を行った。Cut-off 値は健常者平均+2SD とした。

抗 AQP4 抗体測定

GFP-AQP4 fusion protein を発現させた HEK293 細胞株を用い、非固定で患者血清と反

¹⁾九州大学神経内科

応させ、関節蛍光抗体法にて検出した。

倫理面への配慮

本研究は、九州大学の倫理委員会において承認を受けた。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。

研究結果

抗 CLDND1 抗体陽性率は MS 全体では 18.4%、健常者では 3.2% で、有意に MS 群で高かった ($p=0.042$)。さらに、抗 AQP4 抗体陽性 MS では 41.2%、抗 AQP4 抗体陰性 OSMS では 17.1%、抗 AQP4 抗体陰性 CMS では 10.9% の陽性率であり、健常者と比較した場合、抗 AQP4 抗体陽性 MS でのみ抗 CLDND1 抗体陽性率の有意な上昇が認められた ($p=0.010$) (図)。また、抗 CLDND1 抗体価の平均値の検定では、抗 AQP4 抗体陽性 MS は、他の 3 群に比べ有意に高値であった。各群において抗 CLDND1 抗体の有無で分類し、陽性群と陰性群で ATM の有無や LESCL の有無、Barkhof の MRI 診断基準を満たす割合を比較した場合、MS 全体においては、抗 CLDND1 抗体陽性群は陰性群に比べ有意に EDSS が高く、ATM の割合も高かった ($p=0.0079$, $p=0.0142$)。しかし、LESCL の割合、Barkhof の MRI 診断基準を満たす割合は、抗 CLDND1 抗体の有無で差は認められなかった。

考察

今回、抗 AQP4 抗体陽性 MS 群で抗 CLDND1 抗体陽生率の上昇が認められた。抗 AQP4 抗体陽性 MS 群では、抗核抗体や抗 SS-A 抗体、抗 SS-B 抗体などの他の自己抗体を併せ持つ傾向があり、この群での抗 CLDND1 抗体陽生率の有意な上昇は、液性免疫の亢進を示唆していると考えられる。CLDND1 蛋白は、細胞レベルでは、ニューロンやオリゴデンドロサイトで発現し、アストロサイトには認められない。今回の検討で、抗 CLDND1 抗体陽性群では重症度が高く、ATM の割合が高かったことから、本抗体が軸索傷害を含む強い組織破壊を反映していると考えられた。現在、更に他の自己抗体との関連について検討を行っている。

結論

抗 AQP4 抗体陽性 MS 群で抗 CLDND1 抗体陽生率の上昇が認められた。抗 CLDND1 抗体陽性群では、陰性群に比べ重症度が高く、ATM の割合も高かった。

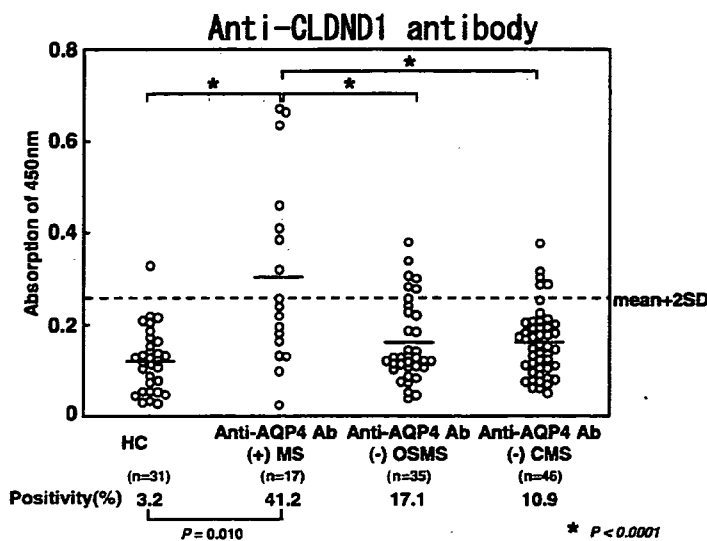
健康危険情報

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



抗 AQP4 抗体の FACS を用いた高感度検出法の 開発とその意義

分担研究者 吉良潤一

共同研究者 河野祐治, 松下拓也, 松岡健, 河村信利, 三野原元澄

(九州大学大学院医学研究院神経内科学)

研究要旨

【目的】FACS では細胞外ドメインの native な構造に対する抗体のみを検出できる。従来の免疫染色や ELISA では、蛋白の変性や非特異的染色などにより感度・特異度の低下が生じる。【方法】GFP-AQP4 発現 HEK293 細胞と非発現細胞を混合したものを標的とし、患者血清を一次抗体として、両細胞群の蛍光強度(MFI)を FACS で測定し、その比を用いて判定した。【結果】Mayo での NMO-IgG 検査で MS 以外の陰性血清 16 例で検討し、MFI 比は 0.93 ± 0.07 であったため、cut off を 1.2 と設定した。1999 年の NMO 診断基準を満たす例では FACS 陽性 46.4%(n=28)、NMO-IgG 陽性 37.5%(n=24)、McDonald の MS 診断基準を満たす CMS 例では FACS 陽性 10.9%(n=64)、NMO-IgG 陽性 7.4%(n=54) であった。NMO では抗体陽性、CMS では抗体陰性と仮定すると、FACS は感度 46.4%、特異度 89.0%、NMO-IgG は感度 37.5%、特異度 92.6% であった。【結論】FACS は従来法より高感度である。抗体陰性 NMO(OSMS)や抗体陽性 CMS 症例の病態解明が重要である。

研究目的

抗 AQP4 抗体は視神経脊髄炎(NMO)や日本人の視神経脊髄型多発性硬化症(OSMS)で検出される。その検出方法にはラット小脳や AQP4 発現細胞を用いた免疫染色が用いられる。また精製蛋白を使った ELISA 法でも検出されるとの報告がある。しかし、既存の方法では標的となる蛋白は部分的にせよ変性してしまうことや、膜貫通部や細胞内ドメインに対する抗体も検出してしまいう可能性などによる感度、特異度低下の問題が残る。一方 FACS では細胞外ドメインの native な構造に対する抗体のみを検出できるため、FACS で検出される抗体は生体内でも native な AQP4 を認識可能と考えられ、病態解析により有用と思われる。そこで、FACS を用いた高感度抗 AQP4 抗体検出法の開発を目指した。

研究方法

GFP-AQP4 融合蛋白発現ベクターを HEK293 細胞に導入し、GFP 高発現クローンを選択した。その GFP-AQP4 融合蛋白発現細胞株と、非発現細胞株を混合したものに対して、4 倍希釈ヒト血清を一次抗体、PE 標識抗ヒト IgG を二次抗体とした FACS を行った。抗 AQP4 抗体の判定には MFI 比

(GFP-AQP4 融合蛋白発現細胞集団での PE 蛍光強度/非発現細胞集団での PE 蛍光強度)を用いた。以前の Mayo での NMO-IgG 検査にて陰性であった MS 以外の血清(16 例)を陰性コントロールとして cut off 値を決定した。次に NMO、OSMS、通常型 MS(CMS)患者血清について検討し、以前の Mayo での NMO-IgG 検査と比較した。NMO の診断は 1999 年の Wingerchuk らの基準に従った。また McDonald の診断基準を満たす MS 患者を臨床症候で CMS と OSMS に分類した。ただし一次進行型 MS は除外し、脊髄炎のみや脊髄炎と脳幹症状のみの例は CMS、OSMS のどちらにも分類し難いため除外した。(倫理面への配慮)本研究は個人の情報は決して表に出ることが内容に最新の注意を払い、プライバシーの保護には十分に配慮した。

研究結果

陰性コントロールでは、MFI 比は 0.93 ± 0.07 であったため、cut off を 1.2(mean +5SD)と設定した。NMO では、FACS 法陽性 46.4%(n=28)、NMO-IgG 陽性 37.5%(n=24) であった。NMO-IgG 陰性例 17 例中 2 例 FACS 法陽性であった。CMS では FACS 法陽性 11.4%(n=61)、NMO-IgG 陽性 7.4%(n=54) であった。NMO-IgG 陰性例 50 例中 FACS 法陽性は 2 例であった。CMS で抗体

陽性例で 2006 年の NMO 診断基準を満たす例が 57%あった。OSMS では FACS 法陽性 41.8%(n=55), NMO-IgG 陽性 31.8%(n=44)であった。NMO-IgG 陰性例 30 例中 FACS 法陽性は 4 例であった。これらの検討において、NMO-IgG 陽性例は全て FACS 法陽性であった。図には代表的な例を示した。CMS でも抗体陽性者は他報告でも 5%程度存在するため、特異度の厳格な検定は困難であるが、仮に NMO では抗体陽性、CMS では抗体陰性と仮定すると、FACS は感度 46.4%, 特異度 88.5%, NMO-IgG は感度 37.5%, 特異度 92.6%であった。

考察

今回の検討では既存の方法での陽性例はすべて FACS 法陽性であり、native な蛋白に対する抗体が含まれていることが確認された。さらに FACS 法は NMO-IgG 検出法より

検出感度が高く有用と思われた。また本法を用いても 1999 年の NMO 診断基準を満たす抗体陰性 NMO や抗体陰性 OSMS が明らかに存在し、一方、臨床的には CMS でも新しい NMO 診断基準を満たす例も存在した。このような抗体陰性 NMO や抗体陽性 CMS 症例の病態解明が重要と考えられる。

結論

FACS による高感度な抗 AQP4 抗体検出系が確立できた。この方法を用いた多数例での検討が必要である。

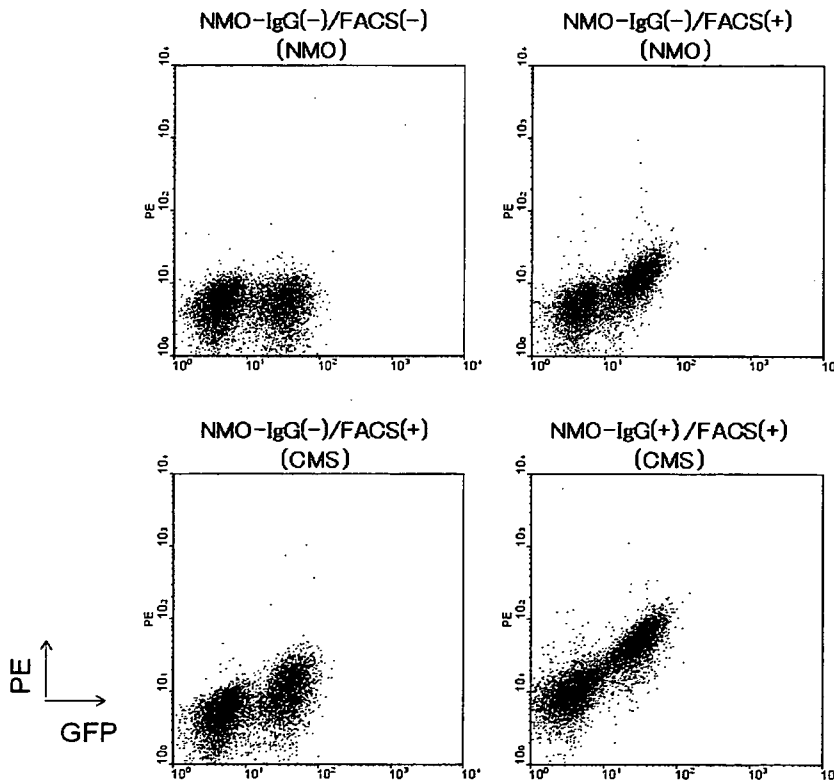
健康危険情報

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



抗 aquaporin-4 抗体 ELISA 測定系の開発：

疾患活動性マーカーとしての抗体価の意義

分担研究者 桑原 聡

共同研究者 森 雅裕、早川 省、澤井 摂、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、および抗体価の経時的変化と疾患活動性 (再発) の関連について検討した。MS 患者 67 名中において、17 名 (25%) の患者血清で抗 AQP4 抗体が陽性となった。正常対照 46 名のうち陽性者はいなかった。抗 AQP4 抗体陽性患者は陰性 MS 患者に比し、高齢発症で女性に多く、重症視神経炎をきたす割合、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 は特別なサブグループを形成するものと考えられた。また抗体価は発症時から高く、再発時に上昇する傾向が認められた。免疫治療 (副腎皮質ステロイド、血漿交換) により抗体価は速やかに低下するものの、1 ヶ月以内に再度上昇することが多く、必ずしもこの上昇と再発は関連しなかった。再発は抗体価のみで規定されているわけではなく、さらなる発症機序の解明が期待される。

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 である」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、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 抗体は間接蛍光抗体法で測定されてきたが、客観性、定量性などに限度があり、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 抗体測定の系を確立するとともに、

抗 AQP4 抗体陽性 MS 患者の臨床的特徴を明らかにすること、抗体価が疾患活動性のマーカーとして臨床応用できるかを明らかにする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 67 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

千葉大学大学院医学研究院神経内科学

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+2SDをカットオフ値とした。臨床情報を retrospective に収集し、抗AQP4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。また抗体陽性者7名において発症時から最大4年間の経時的抗体価を測定し臨床的再発との関連を検討した。

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、同意を得られた場合にのみ研究をおこなった。

研究結果

67名のMS患者のうち、17名(25%)の患者血清でIgG抗AQP4抗体が陽性となった。正常対照46名のうち陽性者はいなかった。急性期と寛解期のペア血清で抗体価を比較すると、寛解期には有意な低下が認められた。

(1) 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抗体陽性者は陰性MSに比し発症年齢が高く、女性が多く、より重症度が高く、3椎体以上にわたる脊髄病変を有する割合が高くNMOの特徴によく一致した。

(2) 抗AQP4抗体価は初発時から高値であり、再発時には上昇する傾向を示したが、再発を規定する絶対値は存在しなかった。ステロイドパルス療法、血液浄化法後に抗体価は速やかに低下したが約1ヶ月で再上昇し、必ずしも臨床的再発には関連しなかった。血液浄化法においては単純血漿交換、免疫吸着法とも速やかに抗体価を低下させた。

考察

ELISA法を用いて測定した抗AQP4抗体陽性者はMS患者の25%を占め、その臨床的特徴はNMOの特徴と重なるものであった。抗体価測定は疾患活動性を反映すると思われるが、再発を規定する絶対値は認められなかった。免疫治療

開始後には速やかに抗体価の低下が認められた。血液浄化法の方法として血漿交換法、免疫吸着法で抗体除去率は大きくは変わらず、より副作用の少ない免疫吸着法を用いても抗体除去の面からも妥当であることが示唆された。

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はの臨床的特徴はほぼNMOの特徴と一致した。抗体価はある程度病勢と相関するが、再発を規定する抗体価の絶対値は認めがたく、抗体価のみで再発は規定されず、さらなる発症機序の解明が望まれる。

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

NMO/OSMS 患者血清抗 AQP4 抗体が認識するエピトープの検討

班 員 田中 恵子¹⁾
共同研究者 谷 卓¹⁾, 西澤 正豊²⁾, 辻田 実加³⁾, 崎村 建司⁴⁾

研究要旨

近年 NMO/OSMS 患者血清中に抗 AQP4 抗体が疾患特異的抗体として発見され、その病態との関わりが注目を集めている。抗 AQP4 抗体の認識するエピトープは、蛋白の一次構造ではなく、より高次の構造や蛋白間の構造である可能性が考えられる。そのため、エピトープマッピング法による認識構造の決定が困難であり、現時点でそのエピトープは明らかにされていない。そこで、ヒトおよびマウス AQP4 の細胞外ドメインに変異を導入した蛋白を発現させることで、患者血清が認識する構造を検討し、第一、四細胞外ドメインが抗原性に関わっている可能性を示唆する結果を得た。

研究目的

近年 NMO/LCL-OSMS 患者血清中に抗 AQP4 抗体が疾患特異的抗体として発見され、その病態との関わりが注目を集めている。患者血清中抗 AQP4 抗体のウェスタンブロットによる検出は困難とされており、この原因としては抗体の認識するエピトープが蛋白の一次構造ではなく、より高次の構造である可能性が考えられている。患者血清が認識する AQP4 エピトープを確立することは、治療への応用、臨床型との関連の検討、アッセイ系の単純化への応用などにつながる可能性があり、重要であると考えられる。しかし、エピトープが AQP4 の細胞外ドメインであるということを示唆する報告はあるものの、通常エピトープ決定

に用いられる小フラグメントによるエピトープマッピング法が有効な手段とならないことから、現時点でそのエピトープは明らかにされていない。ここでは、NMO/LCL-OSMS 患者血清抗 AQP4 抗体が認識するエピトープを明らかにするため、ヒトおよびマウス AQP4 の細胞外ドメインに変異を導入した蛋白について患者血清が認識する構造を検討した。

研究方法

マウス AQP4 の細胞外ドメインにヒト型のシークエンスを導入したベクターおよびヒト AQP4 にマウス型のシークエンスを導入した変異 AQP4 を作製し、それぞれを HEK293 細胞に発現させ、患者血清と抗マウス AQP4 抗体で免疫染色し、染色性を比較した。患者血清は新潟大学脳研究所神経内科の測定法で AQP4 高力価を示した血清を使用した。また、抗マウス AQP4 抗体は、ウサギにマウス AQP4 を免疫して得られた

- 1) 国立病院機構西新潟中央病院
- 2) 新潟大学脳研究所 神経内科学分野
- 3) 同 脳機能解析学分野
- 4) 同 細胞神経生物学分野

抗体を使用した。

研究結果

患者血清はヒト AQP4 発現細胞を、抗マウス AQP4 抗体はマウス AQP4 発現細胞を、それぞれ強く認識し、患者血清、抗マウス AQP4 抗体ともわずかな交差性を示した。

第一、第四細胞外ドメインにヒト型の変異を導入したマウス AQP4 発現細胞では、変異のないマウス AQP4 発現細胞に比べ患者血清による染色性が向上したが、第二細胞外ドメインに導入したマウス AQP4 では、染色性に明らかな変化がなかった。

逆に、第一細胞外ドメインにマウス型の変異を導入したヒト AQP4 発現細胞では、変異のないヒト AQP4 発現細胞に比べ染色性に明らかな変化がなかった。第四細胞外ドメインに導入したヒト AQP4 では、患者血清による染色性が低下した。

考察

ヒト AQP4(b)とマウス AQP4(b)はアミノ酸配列で 95%と高い相同性を持ち、15 アミノ酸残基しか異ならないが、患者血清抗 AQP4 抗体は、ヒト AQP4(b)を強く認識する。また、細胞免疫蛍光染色や機能解析の報告から、患者血清抗 AQP4 抗体は AQP4 の細胞外ドメインを認識していると考えられる。すなわちヒトとマウスで異なるアミノ酸配列の中でも、細胞外ドメインに位置する部位がエピトープに関連している可能性が高いと考えられた。

今回の検討では、第一ドメインに近接して存在する 2 カ所の変異をほぼ同一のエピトープ候補部位として扱い、マウス AQP4 の第一、第二、第四細胞外ドメインに一カ

所ずつヒト型のアミノ酸配列を導入し、第一、第四細胞外ドメインへの導入で抗原性の上昇を認めたことから、この 2 カ所がエピトープに関与している可能性を疑わせた。また、同じ箇所ヒト AQP4 にマウス型の配列を導入したところ、第一細胞外ドメインでは明らかな抗原性の変化は認めなかったが、第四細胞外ドメインでは抗原性の低下を認め、この部位がエピトープに関与している可能性を補完した。

立体構造上でもテトラマー上でもこの 2 カ所の変異は離れた部位に存在することから、同一エピトープとして働いている可能性は低く、現時点でエピトープに関連している可能性が高いのは第四細胞外ドメインであると考えられる。

結論

患者血清抗 AQP4 抗体が認識するエピトープには第四細胞外ドメインの変異点に関与している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

抗アクアポリン 4 抗体陽性多発性硬化症における T 細胞性免疫応答の関与

分担研究者 松尾秀徳¹⁾

共同研究者 松屋合歓¹⁾、溝田貴光¹⁾、川村和之¹⁾、近藤誉之¹⁾、田中恵子²⁾、野村恭一³⁾

抗アクアポリン 4(AQP4)抗体陽性多発性硬化症(MS) (あるいは neuromyelitis optica) の 1 症例において、再発時および寛解期の CD4 T 細胞上の CD69 発現の頻度や抗原刺激による変化を Flow cytometry を用いて解析し、抗 AQP4 抗体陽性 MS における T 細胞性免疫応答の関与について検討した。

再発時の末梢血単核球(PBMC)では採取直後の解析で活性化 CD4 T 細胞の著明な増加がみられるが、これを 2 日間培養すると CD69 は細胞表面からほぼ消失する。しかし AQP4 由来のオーバーラッピングペプチドの混合物を添加し刺激すると CD69 陽性 CD4 T 細胞の増加がみられ、抗原特異的 T 細胞性免疫応答の亢進が示された。また単一の AQP4 由来ペプチドの解析により本症例における AQP4 の T 細胞エピトープを同定した。抗 AQP4 抗体陽性 MS では抗体とともに T 細胞が病態に関与している可能性が示唆された。

研究目的

本邦で従来多発性硬化症(MS)と診断された症例のなかに、抗アクアポリン 4 (AQP4) 抗体が存在し、病変分布、治療反応性など臨床的に通常型 MS と異なる一群が存在することが判明している。これまでにこの抗 AQP4 抗体陽性 MS (あるいは neuromyelitis optica=NMO) における T 細胞性免疫応答の関与については解析されていない。我々は抗 AQP4 抗体陽性 MS 患者 1 名の CD4 T 細胞上の CD69 発現の頻度や、抗原刺激による変化を Flow cytometry を用いて解析した。

研究方法症例：

39 歳女性。28 歳時に発症しこれまでに

- 1) 国立病院機構長崎神経医療センター神経内科・臨床研究部
- 2) 新潟大学脳研究所神経内科学分野
- 3) 埼玉医科大学総合医療センター神経内科

18 回以上の再発が確認されている。現在の症状として超皮質性運動失語、両側視力低下 (30cm/指数)、軽度の仮性球麻痺、上肢不全麻痺、完全対麻痺、胸部以下の全感覚脱失がある。プレドニゾロン 15mg/日内服中で、プレドニゾロン減量で再発傾向がみられ、インターフェロンβ-1b による再発抑制効果は明らかでなかった。抗 AQP4 抗体は陽性であった。

方法：再発時、寛解期に PBMC を分離。刺激ペプチドとして AQP4 由来のオーバーラッピングペプチド 32 のうち可溶化し得た 28 種と、その混合物(AQP-M)、従来より MS の発症に関与するとされるミエリンペプチド 6 種 (MOG13-28、MOG145-160、PLP95-116、PLP139-150、PLP185-209、MBP83-99)を用いた。PBMC 分離直後にペプチド刺激したもの (Day 0) と分離後 2 日間培養しペプチド刺激したもの (Day 2) について、それぞれペプチド添加 4 時間後に抗 CD3-FITC、抗 CD69-PE、

表 1. 抗 AQP4 抗体陽性 MS 患者（再発時）の CD69 陽性 CD4 T 細胞

再発時	Ag(-)	AQP-M	MOG 13-28	MOG 145-160	PLP 95-116	PLP 139-154	PLP 185-209	MBP 83-99
Day0	42.6	16.3	18.5	18.3	22.5	17.7	15.8	20.5
Day2	0.0	13.9	0.2	0.8	7.8	0.9	0.0	1.4

抗 CD4-PEcy5 で染色し Flow cytometry にて CD4 T 細胞上の CD69 の発現頻度を解析した。

研究結果

表 1 に示すように、再発時では Day 0 で未刺激状態の CD4 T 細胞の 42.6% に CD69 の発現を認め、活性化 T 細胞の増加が確認された。しかしペプチド刺激後は一様に CD69 陽性細胞の頻度が減少しており、Day 0 の細胞は抗原特異的反応を解析するのに不相当と考えられた。

一方、2 日間培養後の Day 2 では、未刺激状態で CD69 は CD4 T 細胞表面からほぼ消失していた。これをペプチド刺激すると、AQP-M を添加した場合に CD69 陽性 CD4 T 細胞の頻度が 13.9% と上昇した。

その他、PLP95-116 で刺激した場合も 7.8% と CD4 T 細胞上の CD69 発現頻度が増加していた。

寛解期の PBMC においても、Day 2 に AQP-M ないし PLP95-116 で刺激すると CD69 陽性 CD4 T 細胞の増加傾向がみられた。

表 2. 寛解期に AQP4 由来のオーバーラッピングペプチドで刺激した場合の CD69 陽性 CD4 T 細胞

寛解期	Ag(-)	AQP-e1	AQP-e2	AQP-e3
Day2	0.2	1.6	0.1	0.1

寛解期の PBMC を用いて AQP-M に含まれる個々のオーバーラッピングペプチド 28 種

についても同様の解析を行った。表 2 に 28 種のうち 3 種のペプチド (AQP-e1、e2、e3 とする) での結果を示す。Day 2 において AQP-e1 で刺激すると、未刺激あるいは他のペプチド (ここでは例として AQP-e2、e3) で刺激した場合に比して CD69 陽性 CD4 T 細胞の増加がみられた。さらに 1 か月後の解析でも同様の増加が認められ、本症例においては AQP-e1 が AQP4 の T 細胞エпитープであると考えられた。

まとめ

抗 AQP4 抗体陽性 MS の再発時に AQP4 特異的 T 細胞性免疫応答の亢進を認めた。

本症例における AQP4 の T 細胞エпитープを同定した。

抗 AQP4 抗体陽性 MS では抗体ともに T 細胞が病態に関与している可能性が示唆された。

健康危険情報

なし

知的財産の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

AQP4 抗体によるアストロサイト細胞株への影響 —サイトカイン解析—

分担研究者 原 英夫¹⁾

共同研究者 朝倉邦彦¹⁾、三原貴照¹⁾、植田晃広¹⁾、武藤多津郎¹⁾、藤原一男²⁾

研究要旨

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、患者血清中には水チャンネルのアクアポリン 4 (AQP4) に対する抗体 (NMO-IgG) の存在が報告されている。AQP4 はアストロサイトの足突起に発現しているが、我々は、アストロサイト細胞株に対して NMO 患者血清 (NMO-IgG 陽性) を加えて刺激し、アストロサイトから分泌されるサイトカインを検索し、抗 AQP4 抗体がどのような病態を引き起こしているか解析を行った。その結果、炎症を誘発し自己免疫に関与する IL-17 と Th2 サイトカイン (IL-4) の増加が認められた。これらのサイトカインによる NMO 病態発症への複合的な関与が推察された。

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、視神経脊髄型多発性硬化症との異同が問題となっている。NMO 患者血清中には水チャンネルのアクアポリン 4 (AQP4) に対する抗体 (NMO-IgG) が認められ、病態の発症に関与していると考えられている。AQP4 はアストロサイトの足突起に発現しているが、抗 AQP4 抗体がどのような病態を引き起こしているか不明である。我々は、アストロサイト細胞株に対して NMO 患者血清を加えて刺激し、アストロサイトから分泌されるサイトカインを検索した。

1) 藤田保健衛生大学神経内科

2) 東北大学医学部神経内科

研究方法

1. 対象は NMO 患者 (NMO-IgG 陽性) 13 名、MS 9 名 (C-MS 8 名、OS-MS 1 名。NMO-IgG 陰性)。
2. NMO 患者血清を用いて、マウス脳組織およびアストロサイト細胞株の免疫組織染色を行った。
3. アストロサイト細胞株 (G26-24、10%FCS/DMEM-F12) 培養に患者血清を 2% または 5% 濃度で添加し、12 時間刺激後、培養上清を解析した。
4. サイトカイン測定: 培養上清 50 μ l 中の FGFbasic, GM-CSF, IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IFN- γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-13, IL-17, IP-10, KC, MCP-1, MIG, MIP-1 α , TNF- α , VEGF の濃度を ELISA 法にて測定した。

(倫理面への配慮)

研究対象となる血液を提供していただく人には、この研究の目的、危険性や個人情報に関する配慮などについての説明を十分にし、インフォームド・コンセントを得た上で行った。

研究結果

NMO 患者血清 (NMO-IgG 陽性) を用いてアストロサイト細胞株を免疫染色したところ、足突起に高い染色性を認めた。

サイトカイン測定の結果、NMO 患者血清 (NMO-IgG 陽性) を加えて刺激したアストロサイト培養上清には、IL-4, IL-17 が MS 患者血清 (NMO-IgG 陰性) 刺激に比ベ有意に増加していた ($p < 0.05$)。

他の炎症性サイトカイン (IFN- γ , IL-13) や、Th2 サイトカイン (IL-6, IL-10), MIP-1 α , VEGF 等は有意差を認めなかった。

考察

AQP4 はアストロサイトの足突起に高発現しており、血液脳関門に近い部位であり血清中の抗体がアクセスしやすいと考えられる。AQP4 は生体の水輸送に重要な働きをしているが、AQP4 に対する抗体がアストロサイトにどのような影響を与えるかは不明である。昨年度の田中等の報告では、AQP4 チャンネルでの水分子の取り込み促進、または細胞外への排出をブロックすることで細胞の水透過調節機構を阻害する可能性を指摘している。

我々は抗 AQP4 抗体がアストロサイト細胞内の水の動態に影響を与え、サイトカインの分泌に何らかの変化を起こすのではないかと想定し、上記実験を行った。測定の結果、NMO 患者血清 (NMO-IgG 陽性) で刺激した場合にアストロサイトから IL-4, IL-17 の分泌増加が認められた。特に IL-17 の分泌増加が NMO 患者血清 5% 刺激で認められた。このことは、MS では T 細胞による IL-17 の分泌 (Th17) と炎症の誘発が起こっている事象との対比で興味深い。NMO の病態として、抗 AQP4 抗体によりアストロサイトから分泌される IL-17 に加え、Th2 サイトカイン (IL-4) による抗体産生促進などが、複合的に病態を形成している可能性が示唆された。

結論

NMO 患者血清でアストロサイトを刺激したところ、IL-4, IL-17 の増加が認められた。これらのサイトカインによる NMO 病態発症への複合的な関与が推察された。

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。

日本人 MS 患者における IFN β 製剤の使用実態に関する全国調査—中間報告—

分担研究者 越智博文、吉良潤一

研究要旨

インターフェロン β (Interferon-beta ; IFN β) 治療を受けた日本人多発性硬化症 (multiple sclerosis ; MS) 患者の臨床的特徴と治療開始前後の臨床経過を検討し、IFN β の治療効果に及ぼす諸因子を明らかにすることで、わが国における適切な IFN β 製剤の使用指針作成に役立てることを目的に、2004 年 MS 全国臨床疫学調査を補遺する形で、MS に対する IFN β 療法の実態を調査した。MS 患者全体では、IFN β の治療中止が 37% に認められ、理由として副作用 (40%) と患者の希望 (30%) をあげたものが多かった。一方、抗 AQP4 抗体 / NMO-IgG 陽性群では中止例が多くみられ (82%)、その理由として原疾患の増悪 (36%) と効果不十分ないしは無効 (29%)、副作用 (29%) をあげたものが多かった。また、膠原病合併例でも治療中止が多く (55%)、膠原病の悪化 (50%)、効果不十分ないしは無効 (33%) を理由にあげたものが多かった。膠原病合併例や抗 AQP4 抗体 / NMO-IgG 陽性群では IFN β への治療反応性が異なることが考えられた。

研究目的

多発性硬化症 (multiple sclerosis ; MS) の長期的な再発予防と進行抑制を目的としたインターフェロン β (Interferon-beta ; IFN β) 製剤による治療は、disease-modifying therapy として国際的に標準的な治療法となっている。我が国でも 2000 年 11 月からベタフェロン[®] (IFN β -1b) が保険適応となり、また 2006 年 11 月からはアボネックス[®] (IFN β -1a) が発売開始となり、多くの MS 患者に使用されるようになった。しかし、IFN β 療法の普及により恩恵を受ける患者がいる一方で、治療開始後に症状が増悪した例や、かえって再発が増えた例の報告が散見される。IFN β 治療を受けた日本人 MS 患者の臨床的特徴と治療開始前後の臨床経過を明らかにし、日本

指針を作成することは極めて重要であると考えられる。そこで今回、日本人 MS 患者に対する IFN β の治療効果に及ぼす諸因子を検討し、適切な IFN β 製剤の使用指針を作成することを目的に、2004 年 MS 全国臨床疫学調査を補遺する形で、我が国の MS に対する IFN β 療法の実態を調査した。

研究方法

(1) 本臨床調査は、九州大学倫理委員会の承認のもとに実施した。一次調査用紙送付後に二次調査用紙を送付するという標準的な疫学的手法を用いた。

(2) 一次調査：神経学会教育施設、教育関連施設、2 名以上の神経学会専門医所属施設、および 500 床以上の病院を対象に一次調査を実施した。一次調査では、2003 年 1 月 1 日～2003 年 12 月 31 日までの期間に IFN β 治療歴のある MS 患者の有無とその数をアンケート形式で調査し、

九州大学神経内科

人 MS 患者を対象とした IFN β 製剤の使用

葉書にて回答いただいた。

(3) 二次調査：一次調査にて“IFN β 治療歴のある患者あり”と回答のあった施設に対して二次調査用紙（調査個人票）を送付した。二次調査では、IFN β 治療を受けたMS患者の臨床的特徴や膠原病合併の有無、治療開始前後の臨床経過などを詳細に調査した。

研究結果

(1) 全国 977 施設に一次調査用紙を送付し、402 施設より回答を得た（回収率 41%）。402 施設のうち 143 施設からは“IFN β 治療歴のある患者あり”との回答があり、計 630 例の二次調査対象を得た。二次調査対象のいる施設に対して二次調査用紙（調査個人票）を送付し、計 319 例の調査個人票が登録された（回収率 51%）。うち 11 例は記載不備のため解析から除外し、308 例を解析の対象とした。

(2) IFN β 治療の中止は 308 例中 114 例（37%）であった。抗 AQP4 抗体/NMO-IgG は 62 例（20%）で測定されており、測定の有無で中止の割合を検討すると、抗 AQP4 抗体/NMO-IgG 未測定群（n=246）は 33%で、抗 AQP4 抗体/NMO-IgG 測定群（n=62）では 55%であった。抗 AQP4 抗体/NMO-IgG 測定群について抗体の有無で検討すると、IFN β 治療の中止は抗体陽性群（n=17）で 82%、抗体陰性群（n=45）で 44%であり、抗体陽性群で有意に高率であった。膠原病合併の有無でみると、中止は膠原病合併群（n=11）で 55%、非合併群（n=297）で 35%であった。

(3) IFN β 治療を中止した理由（複数回答のため、合計は 100%にならない）では、副作用をあげたものが 40%と最も多く、次いで患者の希望が 30%であった。IFN

β 治療の効果が不十分ないしは無効をあげたものは 19%、原疾患の増悪は 11%であった。一方、抗 AQP4 抗体/NMO-IgG 陽性群では中止の理由として原疾患の増悪が 36%と最も多く、効果不十分ないしは無効、副作用がともに 29%であった。また本抗体が陽性であることを中止の理由としたものが 21%にみられた。抗体陰性群では中止の理由として副作用をあげたものが 55%と最も多く、次いで効果不十分ないしは無効が 25%であった。膠原病合併例では、膠原病の悪化が 50%、効果不十分ないしは無効は 33%、原疾患の増悪は 17%であった。

結論

IFN β 治療歴のあるMS患者を、IFN β 治療中止の有無と中止の理由の観点から解析した。抗 AQP4 抗体/NMO-IgG 陽性群では IFN β 治療中止例が多くみられ、その理由として原疾患の増悪と効果不十分ないしは無効をあげたものが多かった。膠原病合併でも治療中止例が多く、膠原病の悪化や効果不十分ないしは無効を理由にあげたものが多かった。この両群では IFN β への治療反応性が異なることが考えられた。今後さらに、治療開始前後の臨床経過など詳細な解析を進め、IFN β 治療効果に及ぼす諸因子明らかにし、適切な IFN β 製剤の使用指針を作成することが必要と考えられた。

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

脊髄長大病変を有する NMO/OS-MS に対する IFN β 治療

分担研究者 楠 進¹⁾

共同研究者 宮本勝一¹⁾、高田和男¹⁾、松下拓也²⁾、吉良潤一²⁾

研究要旨

IFN β は多発性硬化症 (MS) の再発予防の第一選択薬であるが無効例も稀ではない。特に脊髄に3椎体以上の長大病変 (LCL) を有する症例で、その傾向が強いとされている。われわれは MS と診断され IFN β を使用した LCL を有する6例について、抗 aquaporin-4 (AQP4) 抗体の結果と合わせて IFN β の治療効果について検討した。その結果、4例で抗 AQP4 抗体が陽性であった。そのうちの2例は IFN β 開始後に再発回数が増加、残りの2例は開始直後に重篤な再発 (1例は失明、もう1例は広範囲の大脳病変) を起こしたため治療を中止した。一方、抗 AQP4 抗体陰性の2例は、IFN β 開始後に再発回数が減少し、再発時の症状も軽減したため治療有効と判断した。今回の検討では、LCL を有し抗 AQP4 抗体陽性の症例では IFN β 治療が無効であった。今後症例を積み重ねて、さらなる検討を行うことが必要である。

研究目的

IFN β は多発性硬化症 (MS) の再発予防の第一選択薬として世界中で広く使用されている。しかし、本邦では無効例も多く、治療による病状の悪化が示唆される例も稀ではない。なかでも視神経や脊髄に主病変を有する症例 (OS-MS) で、その傾向が強く、IFN β の適応について議論されている。最近、neuromyelitis optica (NMO) に高率で陽性となる NMO-IgG の対応抗原が aquaporin-4 (AQP4) であることが明らかになった。従来 OS-MS とされていた症例の中にも抗 AQP4 抗体陽性例が多数含まれている可能性がある。NMO は病変の主座が視神経と脊髄であるが、脊髄病変は3椎体以上の長大病変 (LCL) を有することが特徴の一

つである。われわれは MS と診断され IFN β を使用した LCL を有する6例の患者について、その後測定された抗 AQP4 抗体の結果とも合わせて、IFN β の治療効果について検討したので報告する。

研究方法

近畿大学医学部神経内科にて、2003年以降に MS と診断され IFN β を使用した症例の中で LCL を有する6症例について、発症時の保存血清を用いて抗 AQP4 抗体を測定した。

(倫理面への配慮)

患者情報、および血液検体は匿名化し、個人が特定できないように配慮した。個人の情報は決して表にで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。

1) 近畿大学医学部神経内科

2) 九州大学医学部神経内科

研究結果

6例中4例で抗AQP4抗体が陽性であった(表参照)。いずれもIFN β 無効と判断し、投与を中止している。そのうちの2例はIFN β 開始後に再発回数が増加したため中止し、代わりにMTXを開始したところ再発回数が減少した。残りの2例は、開始直後に重篤な再発(1例は失明、もう1例は広範囲の脳病変)を起こしたため治療を中止した。幸い、ステロイド治療や血漿交換治療にて、ほぼ元のレベルにまで回復した。いずれもプレドニン経口治療を開始したが、1例は種々の免疫抑制薬が無効であり、最終的には血漿交換を定期的に繰り返すことでようやく再発を抑制することができた。

一方、抗AQP4抗体陰性の2例は、IFN β 開始後に再発回数が減少し、再発時の症状も軽減したため、治療有効と判断した。そのうちの1例は、重症筋無力症(MG)の既往があり、胸腺摘出によってMGは完全寛解したが、その後にMSを発症した。その機序については不詳である。他の膠原病との合併はみられなかった。しかし、抗AQP4抗体陽性例の中には、診断基準は満たさないがSLE様の皮疹を有する例や、角膜乾燥症状を有する症例が見られた。今後の経過観察が必要である。

結論

LCLを有し、抗AQP4抗体陽性の症例ではIFN β 治療が無効であった。一方LCLを有していても、抗AQP4抗体陰性例ではIFN β が有効であった。今後症例を積み重ねて、さらなる詳細な検討を行うことが必要である。

表

症例	年齢	性別	病変部位			抗AQP4抗体	IFN β 治療		現治療
			脳	視	脊髄		導入方法	効果	
1	57	F	+	+	C, Th	+	標準	再発回数 \uparrow (3.4 \rightarrow 4.8/年)	MTX
2	55	F	+	+	C, Th	+	標準	再発回数 \uparrow (0.9 \rightarrow 2.6/年)	MTX
3	49	F	+	+	C, Th, L	+	漸増	増悪 視力障害	PE PSL
4	55	F	-	-	Th	-	標準	有効 (2.3 \rightarrow 1.8/年)	IFN β
5	40	F	-	+	C, Th	-	標準	有効 (3.9 \rightarrow 0.8/年)	IFN β
6	34	F	+	-	Th	+	漸増	増悪 大脳病変	PSL

文献

- 1) 田中正美ら. 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. 免疫性神経疾患に関する調査研究班 平成18年度 班会議
- 2) Matsuoka et al. Heterogeneity of aquaporin-4 autoimmunity and spinal cord lesions in multiple sclerosis in Japanese. Brain 2007; 130: 1206-23.

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

IFN β 1b で Neuromyelitis optica は増悪するか？

班 員 宇多野病院神経内科 ○田中正美

共同研究者 宇多野病院神経内科 松井 大、田原将行、小森美華、今村久司、大野美樹、村元恵美子、大江田知子、齋田孝彦、小西哲郎

NHO 西新潟中央病院神経内科 田中恵子

研究要旨

IFN β 治療は古典型多発性硬化症 (classic multiple sclerosis: CMS)の標準的治療として確立しているが、Neuromyelitis optica (NMO)では一般的に治療効果がないといわれる。しかし、その効果については十分に検討されているとは言えない。また、投与直後に再発頻度が増加するのではないかとの報告もある。連続 100 例あまりを対象に検討し、NMO では治療直後に増悪しないこと、1 年後の効果は群としては認められなかったことを見いだした。

研究目的

IFN β 治療は古典型多発性硬化症 (classic multiple sclerosis: CMS)の標準的治療として確立しているが、Neuromyelitis optica (NMO)では一般的に治療効果がないといわれる。しかし、その効果については十分に検討されているとは言えない。また、投与直後に再発頻度が増加するのではないかとの報告もある¹⁾。

NMO では IFN β 治療により投与直後に再発するか否か、1 年間治療することで再発頻度や EDSS を改善しうるかについて、CMS と比較検討した。

対象と方法

1). 当院で IFN β 治療を行った連続 109 例の RR 型 CMS(71 例)と NMO(38 例)を対象に、診療録で投与前後 90 日間の再発の有

無について retrospective に調査した。87 例が女性(53 CMS, 34 NMO)で、年齢は 16 から 78 歳。再発の頻度と統計解析は CMS での報告と同じ方法²⁾を用いた。90 日以内に治療が途中で中止された例はなかった。180 日の観察期間中に免疫抑制剤の併用はなかった。

2). 当院で加療中の連続 104 例 (69 例の RRMS、35 例の NMO)を対象に、治療開始前後 1 年間の再発回数と投与時と治療 1 年後の EDSS とにつき、それぞれで検討した。19 例の NMO 患者で、血中に抗 AQP4 抗体が認められた。

抗アクアポリン 4 抗体は田中恵子の既報の方法^{3), 4)}により測定した。

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。

結果

投与直後の3ヶ月以内の再発率はNMOで増加せずむしろ減少傾向を示した($p=0.064$)。治療1年後でCMSでは再発率が低下したが($p<0.00001$)、NMOでは認めず($p=0.56$)、EDSSはNMOのほうがより進行した($p=0.0225$)。

結論

NMOでは治療直後に増悪しない。1年後の治療効果は認められなかった。

文献

- 1). 田中正美、田原将行、田中恵子: インターフェロン β 1a投与3ヶ月以内に再発した3例の多発性硬化症-IFN β 1bからの変更をきっかけとした2例を含む-。神経内科 2007; 67: 200.
- 2). Khan OA, Hebel JR. Incidence of exacerbations in the first 90 days of treatment with recombinant β -1b in patients with relapsing-remitting multiple

sclerosis. Ann Neurol 1998; 44: 138-9.

3). Tanaka K, Tani T, Tanaka M, , et al. Anti-aquaporin 4 antibody in Japanese opticospinal multiple sclerosis. Mult Scler 2007; 13: 850-855.

4). Tanaka M, Tanaka K, Komori M, et al. Anti-aquaporin4 antibody in Japanese multiple sclerosis: The presence of optic-spinal multiple sclerosis without long spinal cord lesions and anti-aquaporin4 antibody. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2007; 78: 990-992.

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

Table 1. Frequency of exacerbation during 90 days before and after treatment with IFN β 1b.

	MS (n=71)	NMO (n=38)
before treatment	33 patients (46.5%)*, 36**	14 (36.8%), 19
after treatment	14 (19.7%), 14	10 (26.3%), 10
<i>p</i>	<0.00001	0.0636

* patients with exacerbation

** number of exacerbation events

LSCL を有しステロイド治療抵抗性 MS に対する免疫吸着療法の有効性

— 血清サイトカイン, 抗 AQP4 抗体の変動 —

班 員 埼玉医科大学 総合医療センター 神経内科 野村 恭一

共同研究者 埼玉医科大学 総合医療センター 神経内科

王子 聡, 久保田 昭洋, 田島 孝士, 原 渉, 成川 真也, 小島 美紀

伊崎 祥子, 吉田 典史, 高濱 美里, 井口 貴子, 山里 将瑞

三井 隆男, 大貫 学

埼玉医科大学 総合医療センター 人工腎臓部

金山 由紀, 小川 智也, 松田 昭彦, 松村 治

【要 旨】

多発性硬化症(MS : multiple sclerosis)の基本治療方針として, RR-MS (Relapsing-Remitting MS)の増悪期においてステロイド・パルス療法が第一選択となるが, ステロイド治療抵抗性 MS では血液浄化療法が有効である症例を認める. 近年の抗アクアポリン 4 抗体(AQP4 抗体)の発見により, LSCL を有する MS に AQP4 抗体が大きく関与している可能性が指摘されている. ステロイド治療抵抗性 MS に対する免疫吸着療法(IAPP : immuno adsorption plasmapheresis)の有効性, 施行中の副作用, IAPP 治療前後における血清サイトカイン値・AQP4 抗体価の変動, IAPP 各血漿処理量における AQP4 抗体・IgG サブクラスの変動・吸着率について検討した.

【目 的】

MS 増悪期における治療はステロイド・パルス療法が第一選択であるが, ステロイド治療に対して抵抗性を示す症例があり, このようなステロイド治療抵抗性 MS に対して血液浄化療法が有効である症例を認める. 近年の抗アクアポリン 4 抗体(AQP4 抗体)の発見により, LSCL を有する MS に AQP4 抗体が大きく関与している可能性が指摘されている. 今回我々は, ステロイド治療抵抗性 MS に対する IAPP の有効性, 施行中の副作用, IAPP 治療前後における血清サイトカイン値・AQP4 抗体価の変動, IAPP 各血漿処理量における AQP4 抗体・IgG サブクラスの変動・吸着率について検討した.

【方 法】

ステロイド治療抵抗性 MS 27 症例に対して IAPP を施行し, IAPP の治療効果について検討した. IAPP は血漿分離機 Plasmaflow (OP05W, 旭化成クラレメディカル), 吸着カラム Immusorba-TR (TR350, 旭化成クラレメディカル)を使用し, 1 回 IAPP の処理血漿量は 2000ml を目標とした. 有効性の判定は, 施行後 1 週間における神経徴候について検討し, 著効・有効・不変・増悪の 4 段階で評価した.

IAPP, 二重膜ろ過血漿交換療法 (DFPP : double filtration plasmapheresis) を含む PP 療法 (plasmapheresis) 施行に伴う副作用のうち施行中の血圧低下は, 1) 収縮期血圧 20 mmHg 以上の低下, または 2) 収縮期血圧 90 mmHg 以下 (前値 90 台を除く) のものとした. PP 療法治療前後における血清サイトカイン値・AQP4 抗体価の変動の検討で

埼玉医科大学 総合医療センター 神経内科

〒350-8550 埼玉県川越市鴨田辻道町 1981

は、血清サイトカイン (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IFN- γ , TNF- α) は Cytometric Bead Array 法 (BD バイオサイエンス) を用いて測定し、AQP4 抗体の測定は東北大学医学部 神経内科 高橋利幸先生により盲検で施行した。1回のIAPP各血漿処理量におけるAQP4抗体・IgG サブクラスの変動・吸着率の検討では、血漿処理量 500ml 毎における吸着カラム前後の AQP4 抗体価と各 IgG サブクラスを測定した。

【結果】

ステロイド治療抵抗性 MS 27 症例のうち 23 症例 (85.1%) が 3 椎体以上の脊髄病変(LSCL : long spinal cord lesion)を有し、tumefactive lesion 1 例、脳幹部病変 1 例、視神経炎 1 例であった。IAPP の有効性の検討では LSCL を有する症例に対して 15/23 例 (65.2%) において有効であり (図 1), その他 tumefactive lesion 1/1 例(100%), 脳幹部病変 1/1 例(100%), 視神経炎 1/1 例(100%)で有効であった。

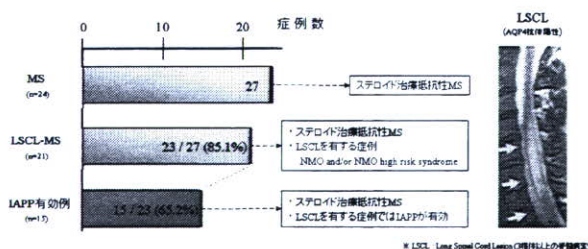


図 1. LSCL を有するステロイド治療抵抗性 MS に対する IAPP の有効性

MS を含む各種免疫性神経疾患に対する血液浄化療法 PP 施行に伴う副作用としては、施行中の血圧低下が最も多く見られる(31.8 %). 疾患別の頻度はギラン・バレー症候群 GBS 53.3 %, MS 36.8 %, 重症筋無力症 MG 17 %などであった(図 2). また施行中の血圧低下に関して、開始からの経過時間別の検討は、GBS では開始から 60 分以内に最も多く見られたが、MS ではいずれの時間においても認められた(図 3).

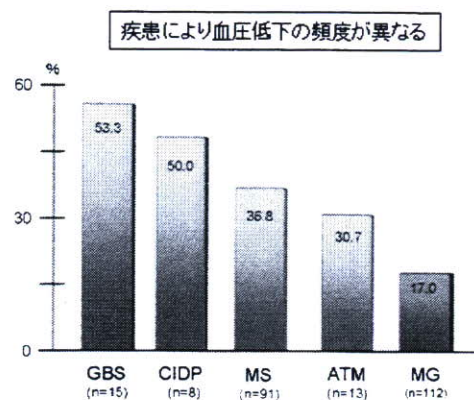


図 2. 血液浄化療法における施行中血圧低下の疾患別頻度

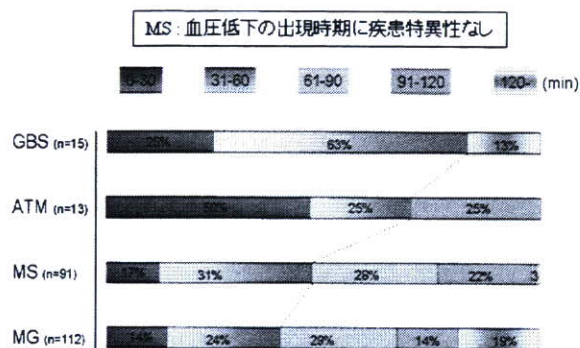


図 3. 血液浄化療法における施行中血圧低下の経過時間別の出現頻度

IAPP 治療前後における血清サイトカインの変動の検討では治療後において血清 TNF- α の低下、血清 IFN- γ の低下、および血清 IL-10 の有意な上昇を認めた(図 4).

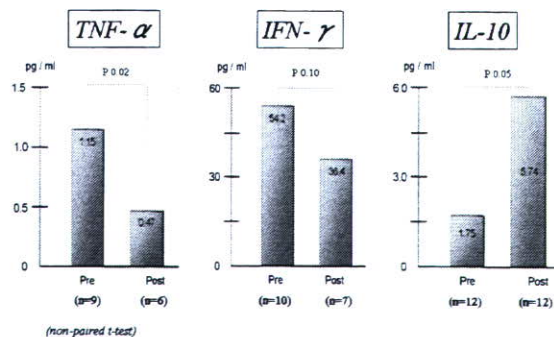


図 4. IAPP 治療前後における血清サイトカイン値の変動

IAPP 治療前後における AQP4 抗体価の変動の検討では、治療後において有意な低下を認めた(p < 0.015). さらに IAPP, DFPP の方法別におけるの