

# 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

図1. CD69陽性T細胞の頻度(再発時Day 2)

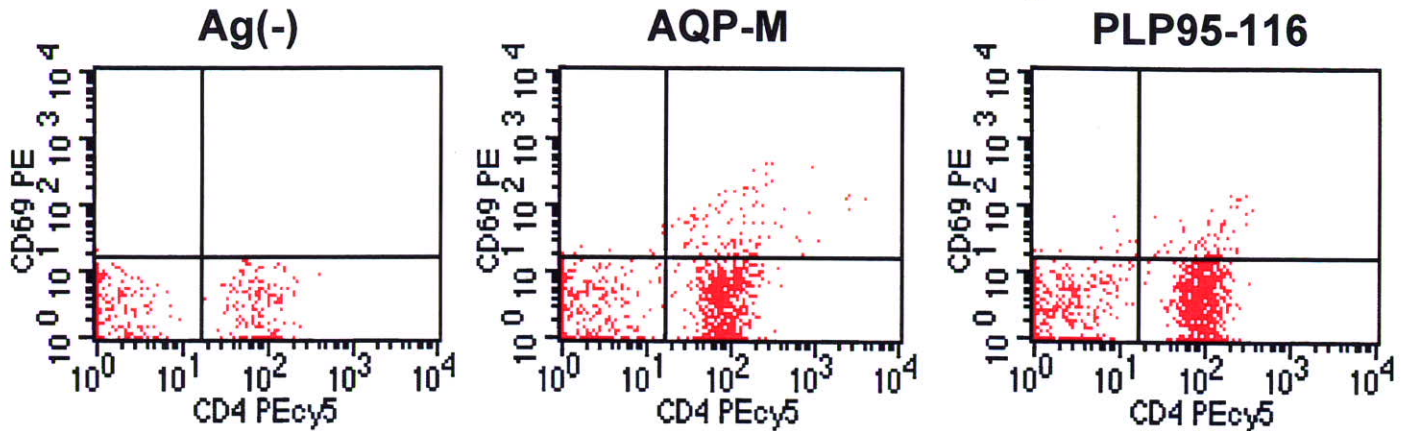
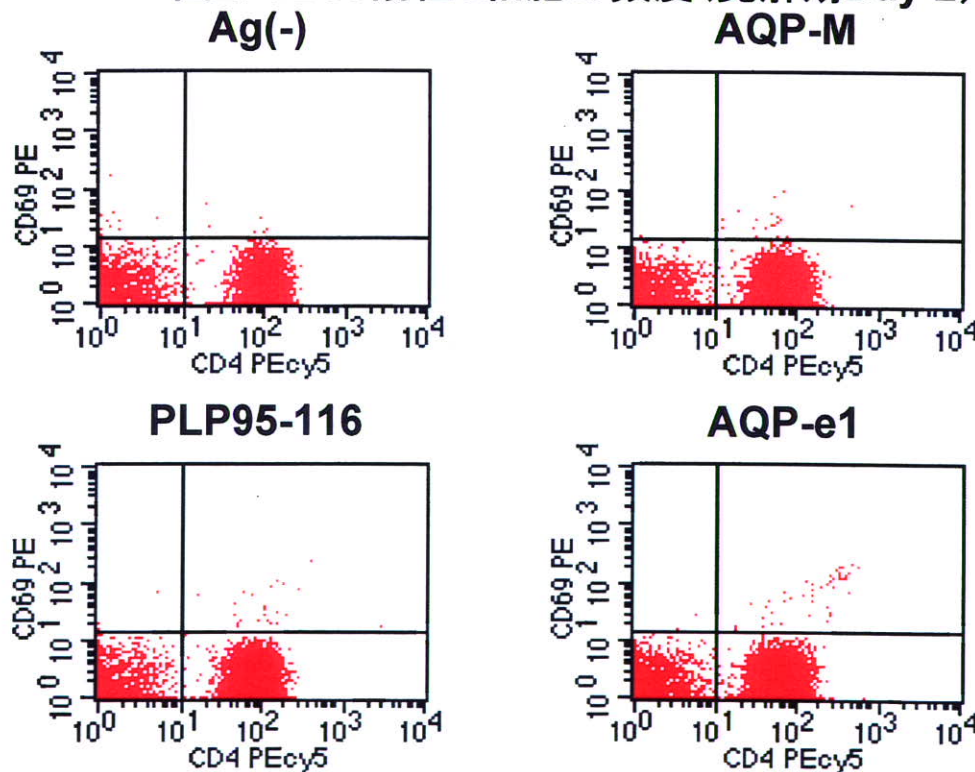


図2. CD69陽性T細胞の頻度(寛解期Day 2)



## 解説

1. 抗AQP4抗体陽性MSの1症例において、再発時(図1)に分離後2日間培養したPBMCではCD4 T細胞上のCD69はほぼ消失する(左)が、AQP-M(中央)、PLP95-116(右)で刺激するとCD69陽性CD4 T細胞の増加が認められた。
2. 同症例の寛解期(図2)に分離し2日間培養したPBMCをAQP4由来のオーバーラッピングペプチドの1つAQP-e1で刺激(右下)すると、未刺激(左上)に比してCD4 T細胞上のCD69の頻度が増加した。AQP-M(右上)、PLP95-116(左下)で刺激した場合も再発時と同様にCD69陽性CD4 T細胞の増加傾向がみられた。

## 視神経脊髄炎と抗アクアポリン4抗体

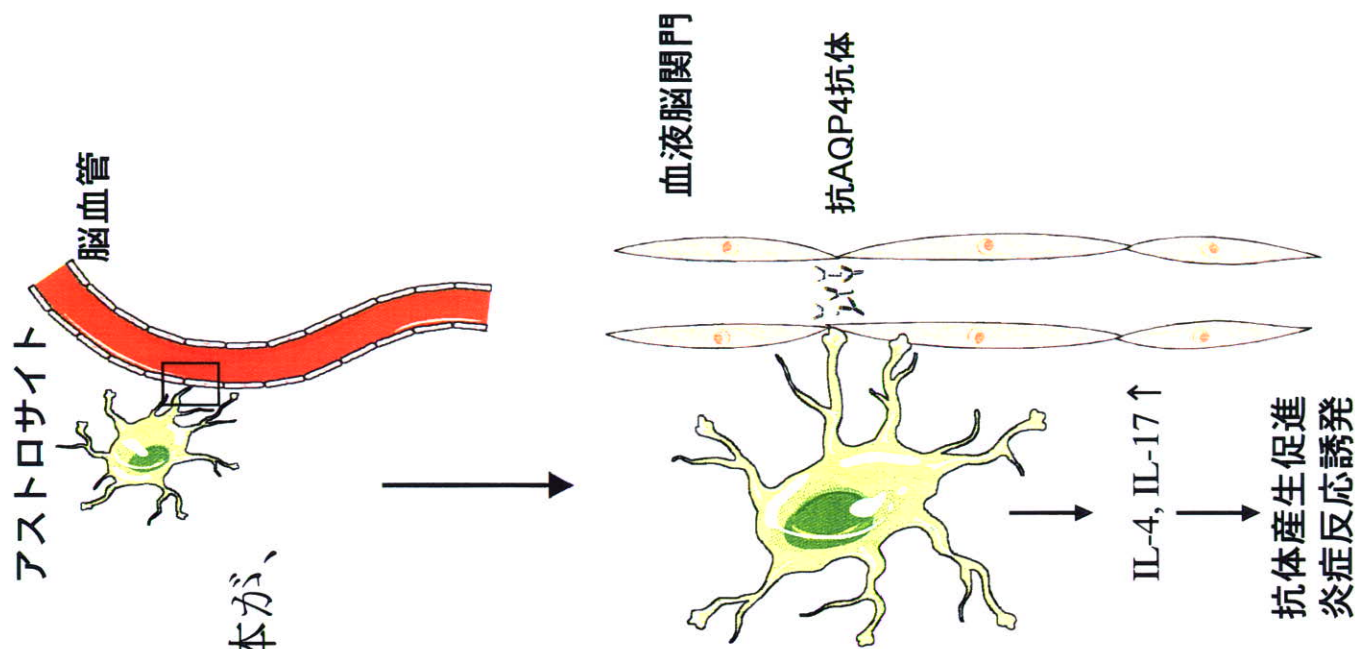
視神経脊髄炎患者血清中の抗アクアポリン4抗体が、どのような病態を起しているか解析をしました。

水チャネルのアクアポリン4は、アストロサイトの足突起に発現しています。

アストロサイト細胞株に対して視神経脊髄炎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ました。

その結果、抗アクアポリン4抗体がアストロサイトを刺激して、アストロサイトから炎症を誘発するIL-17というサイトカインと抗体産生を促進するIL-4を分泌することが分かりました。

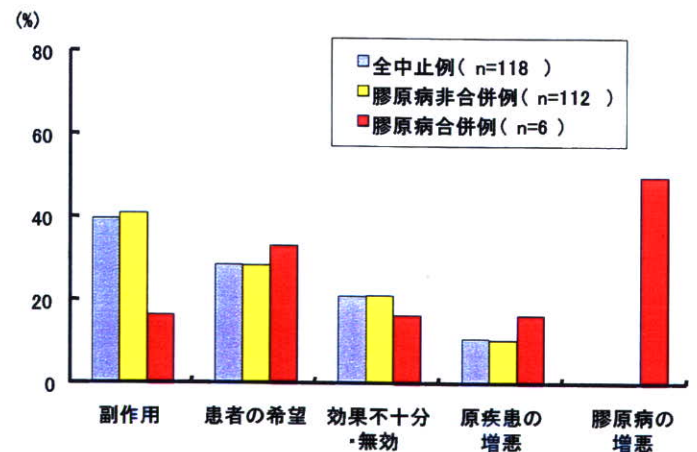
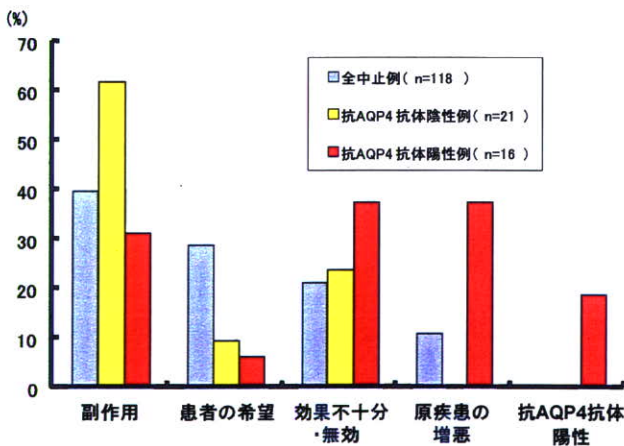
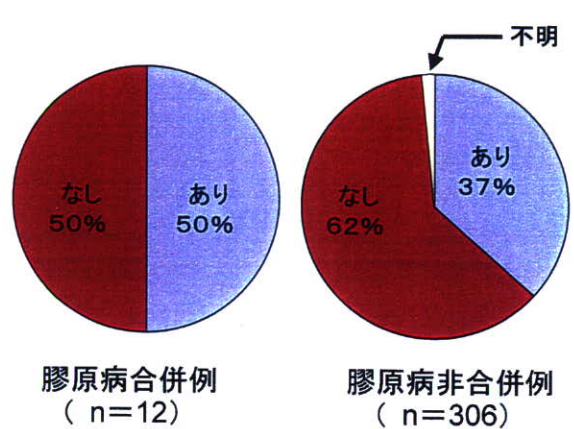
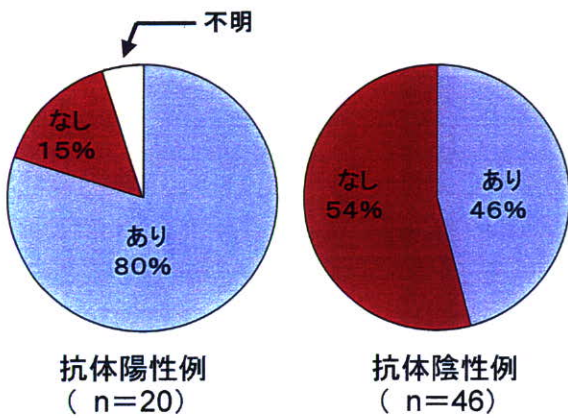
視神経脊髄炎は、この2つのサイトカインにより病態が起こっている可能性が考えられました。



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

## 抗AQP4抗体／NMO-IgGの有無 中止の割合（上段） 中止の理由（下段）

## 膠原病合併の有無 中止の割合（上段） 中止の理由（下段）



## 解 説

1. MS患者全体ではIFN $\beta$  の治療中止が37%に認められ、中止の理由として副作用（40%）と患者の希望（30%）が多かった。
2. 抗AQP4抗体／NMO-IgG陽性群では中止例が多く（82%）、中止の理由として原疾患の増悪（36%）、効果不十分・無効（29%）、副作用（29%）が多かった。
3. 膠原病合併例でも治療中止が多く（55%）、中止の理由として膠原病の悪化（50%）、効果不十分・無効（33%）が多かった。
4. 膠原病合併例や抗AQP4抗体／NMO-IgG陽性群ではIFN $\beta$  への治療反応性が異なることが考えられた。

## 脊髄長大病変を有するNMO/OS - MSに対するIFN $\beta$ 治療

症例	年齢	性別	病変部位			OCB	抗 AQP4 抗体	IFN $\beta$ 治療			現治療
			脳	視神経	脊髄			導入法	併用	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 $\beta$
5	40	F	-	+	C, Th	-	-	標準	FK 506	有効 (3.9 $\rightarrow$ 0.8/年)	IFN $\beta$ FK506
6	34	F	+	-	Th	-	+	漸増	-	増悪 (大脳病変)	PSL

### 解説

脊髄長大病変を有するMS(6例)に対するIFN $\beta$  治療を導入したところ、

1. 抗AQP4抗体陽性例(4例)はいずれもIFN $\beta$  治療は無効だった。

2. 抗AQP4抗体陰性例(2例)はいずれもIFN $\beta$  治療は有効だった。

今後、さらなる症例の蓄積が必要である。

## IFN $\beta$ 1b投与90日以内に再発頻度は増加するか？

治療前後3ヶ月間の再発頻度を比較した。

	MS (n=71)	NMO (n=38)
	再発回数	再発回数
治療前	36	19
治療後	14	10
	$p < 0.00001$	$p = 0.0636$

**NMOでは抗アクアポリン4抗体の有無で再発回数の変化に差異はなかった**

### 解説

- 1). 当院でインターフェロン  $\beta$  1bを投与された71例の古典型MSと38例のNMOで、治療前後3ヶ月間での再発頻度の差を検討した。
- 2). MSでは3ヶ月という短い期間でも再発は有意に減少したが、NMOでは有意に減少はしなかったものの、決して増加するとは言えなかった。
- 3). NMOの84%で、発症1.5年以内に3椎体以上の長い脊髄病変が出現することが当院での検討で判明している。NMOでは再発頻度が元々高いことを考えると、3ヶ月以内に重篤な再発が認められるという他の施設との違いは、当院では発病から時間が経過して投与している患者が多いためではないかと考えられた。
- 4). NMOでは抗アクアポリン4抗体の有無で再発回数の変化に差異はなかった。

# 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とAQP4抗体価の変動

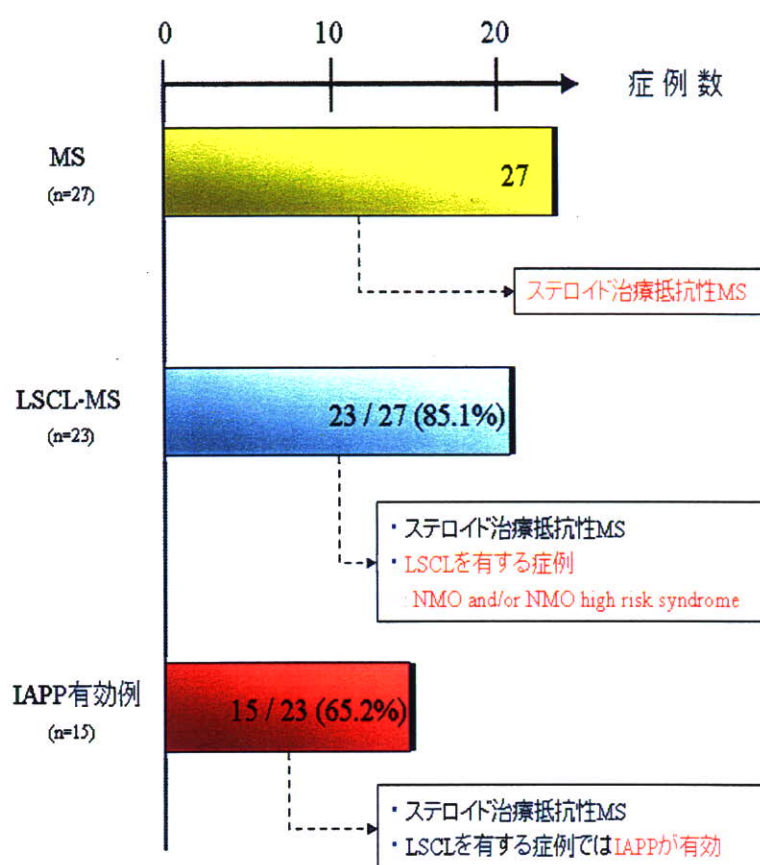


図1. ステロイド治療抵抗性MSに対するIAPP療法の有効性

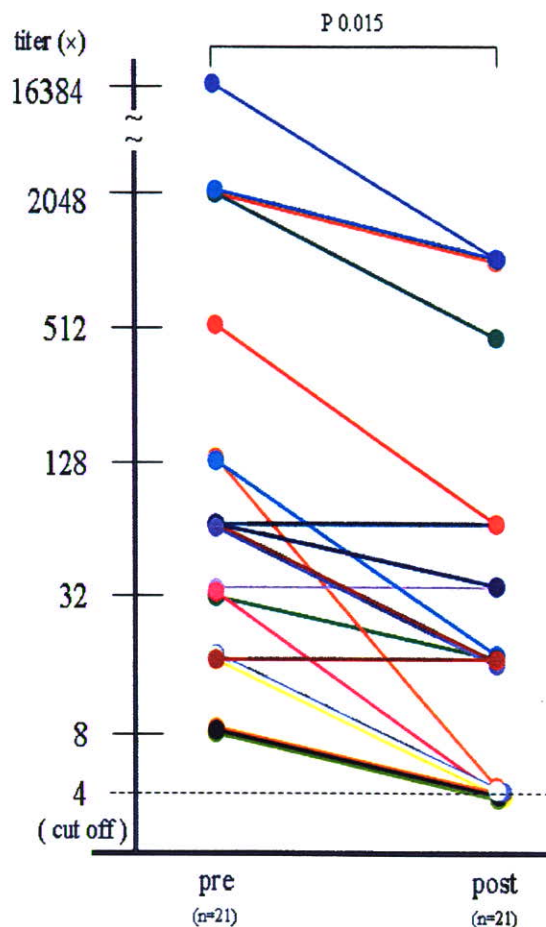


図2. 血液浄化療法の治療前後におけるAQP4抗体価の変動

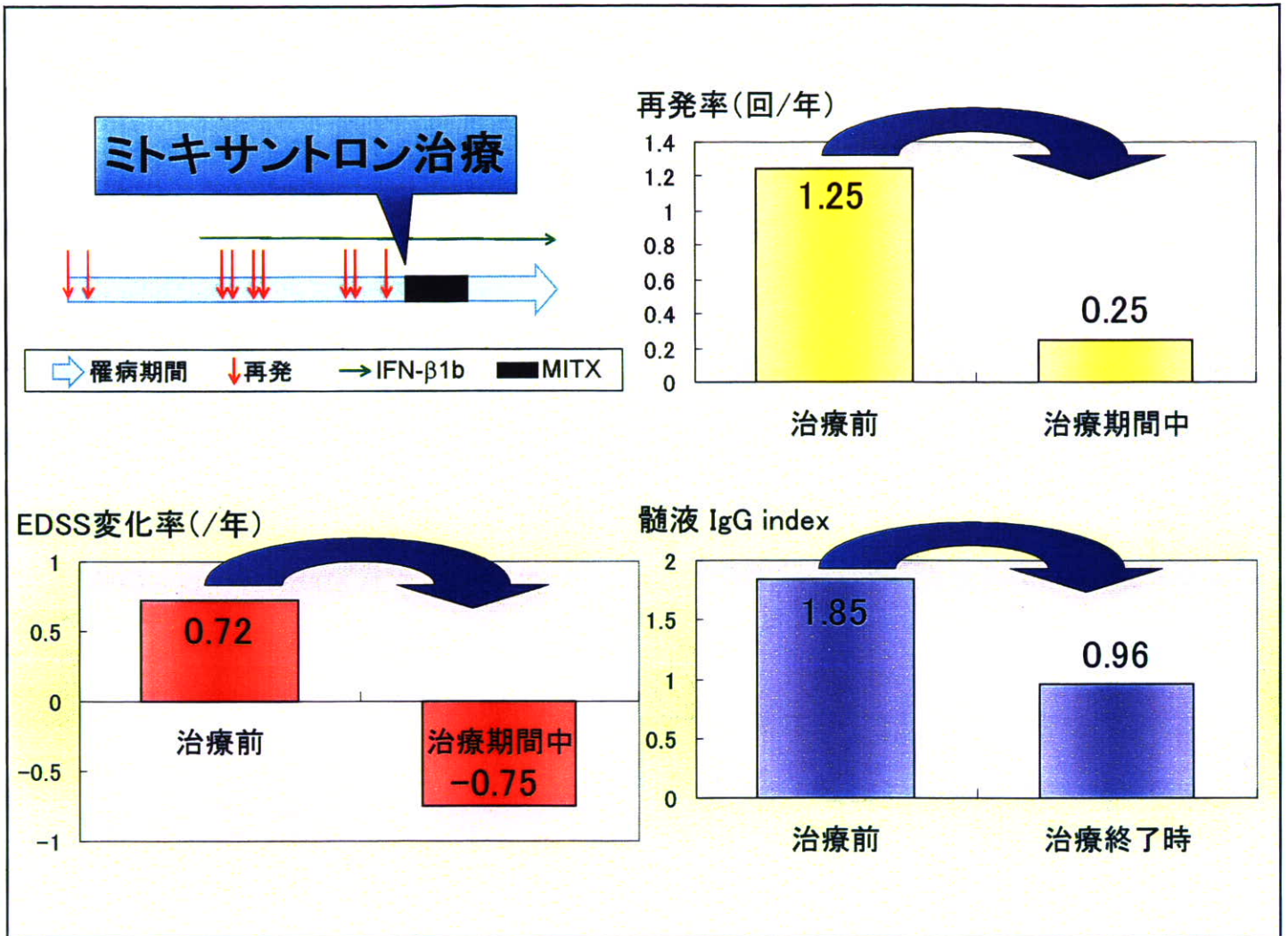
AQP4 抗体測定 … 東北大学 神経内科

MS : multiple sclerosis, NMO : neuro myelitis optica, LSCL : long spinal cord lesion  
IAPP : immuno adsorption plasmapheresis, AQP4 : aquaporin 4

## 解 説

- ・ ステロイド治療抵抗性MS 27症例のうち23症例(85.1%)がLSCLを有していた。
- ・ これら症例では15 / 23例(65.2%)においてIAPPは有効であった(図1)。
- ・ LSCLを有する症例においてAQP4抗体が関与している可能性が報告されている。
- ・ 血液浄化療法の治療前後でAQP4抗体価は有意に低下する(図2)。

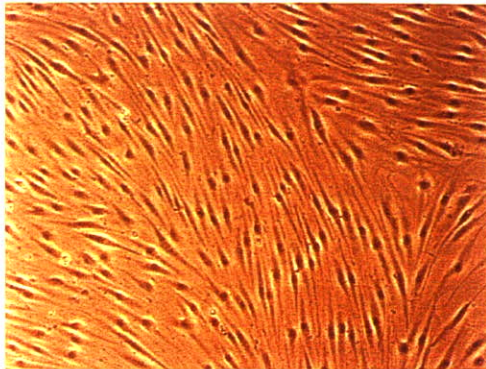
# ミトキサントロン治療の有効性



## 解説

1. 多発性硬化症患者に対してミトキサントロン治療を施行した。
2. 再発率、重症度(EDSS)、髄液所見はいずれも改善傾向を示した。
3. 本治療は本邦多発性硬化症患者に対しても有効である。

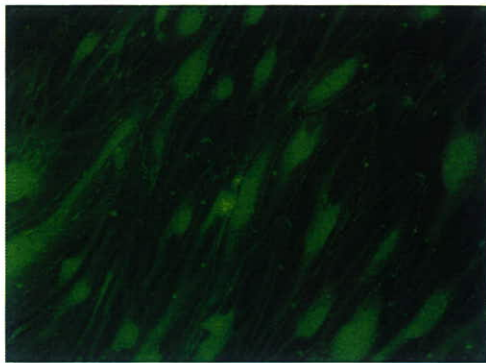
## ヒト *in vitro* BBB model



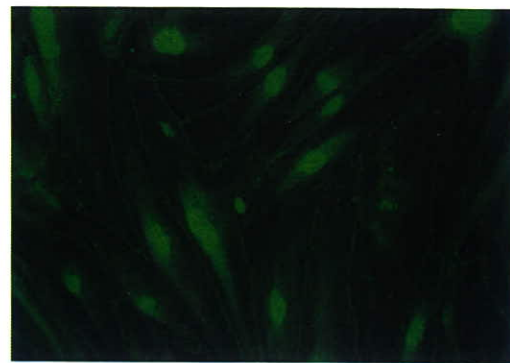
Spindle-fiber状の形態



Claudin-5



Occludin



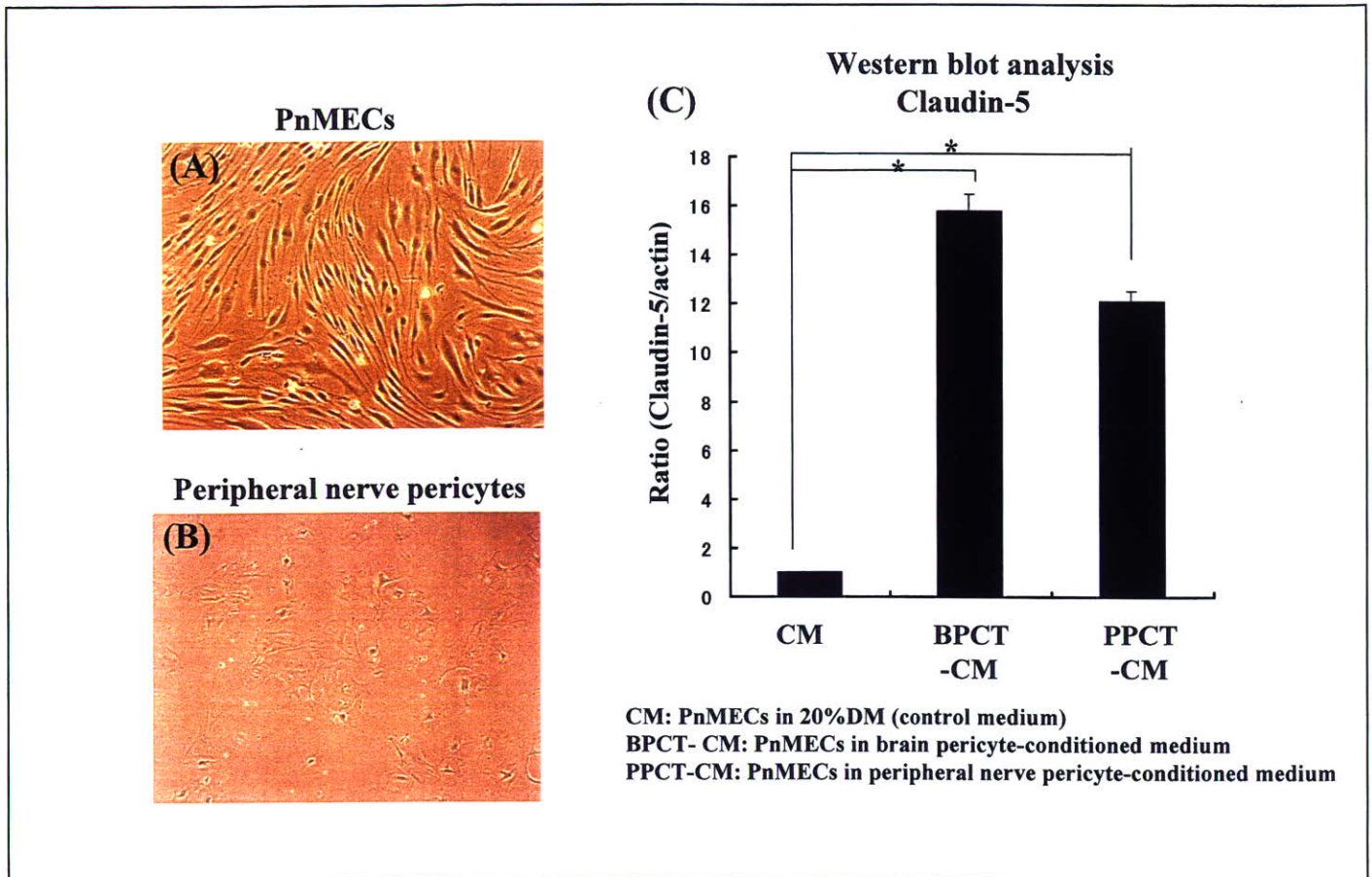
ZO-1

### 解 説

1. 樹立した *in vitro* BBB model は BBB 構成内皮の特徴である spindle-fiber 状の形態を有していた。
2. Claudin-5, occludin, ZO-1 など tight junction 蛋白は tight junction が存在する細胞と細胞の境界に存在していた。
3. GLUT-1 や p-glycoprotein などのトランスポーターも幅広く発現しており、免疫性神経疾患研究に有用な BBB モデルであると考えられた。



## ヒト *in vitro* BNB model



### 解 説

1. ヒト脳・坐骨神経からBBB由来のpericyte, ならびBNB構成細胞であるperipheral nerve microvascular endothelial cells (PnMECs) (A), pericyte (B) を単離した.
2. pericyteにより放出されている液性因子がPnMECsのclaudin-5の発現を増加させ (C), BNBのバリア機能を高めている可能性が考えられた.
3. pericyteから放出されるBNBのバリア機能を高める物質を同定することで, 神経免疫疾患においてBNBを直接的に制御するという新規治療戦略を立てることが可能である.

# 健常者及び多発性硬化症患者における免疫グロブリンGの樹状細胞分化の修飾

MS9例と健常人8例の末梢血単球培養系にモノカインを添加し、免疫グロブリンG(IgG)の樹状細胞(DC)の分化などへの影響を解析した。

## 結果

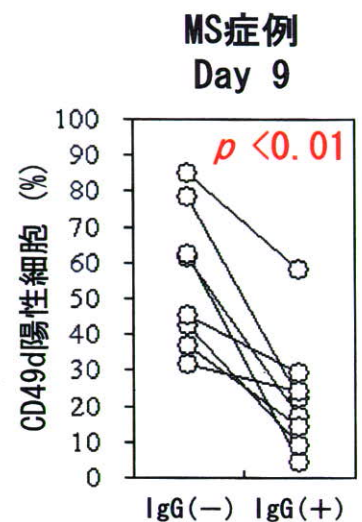
IgGはMS及び健常人において

(1) CD1a、CD40、CD80の発現誘導を部分的に抑制、  
HLA-DR、CD86の発現には影響せず  
→ T細胞活性化を部分的に抑制

(2) CD49d発現の抑制 (右図)  
→ DCの中枢神経への移動を抑制

(3) IL-12産生を部分的に抑制、IL-10産生には影響せず  
→ Th1型免疫応答の誘導を部分的に抑制

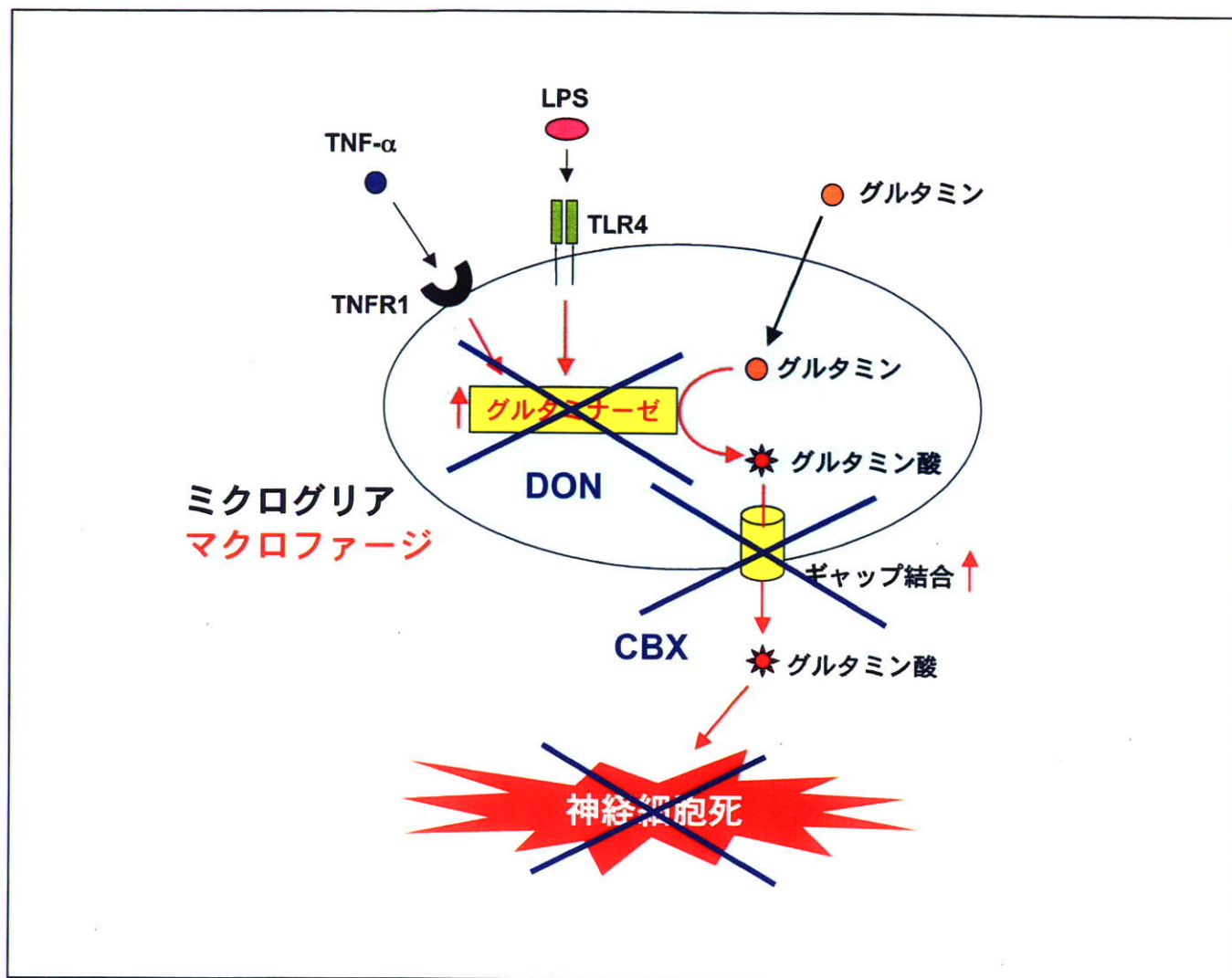
(4) CD83の発現誘導を促進  
→ さらに検討を要する



## 解説

IgGはDCの分化を制御し、免疫細胞の中枢神経内への浸潤抑制とサイトカイン調節を介してMSの再発を抑制する可能性がある。

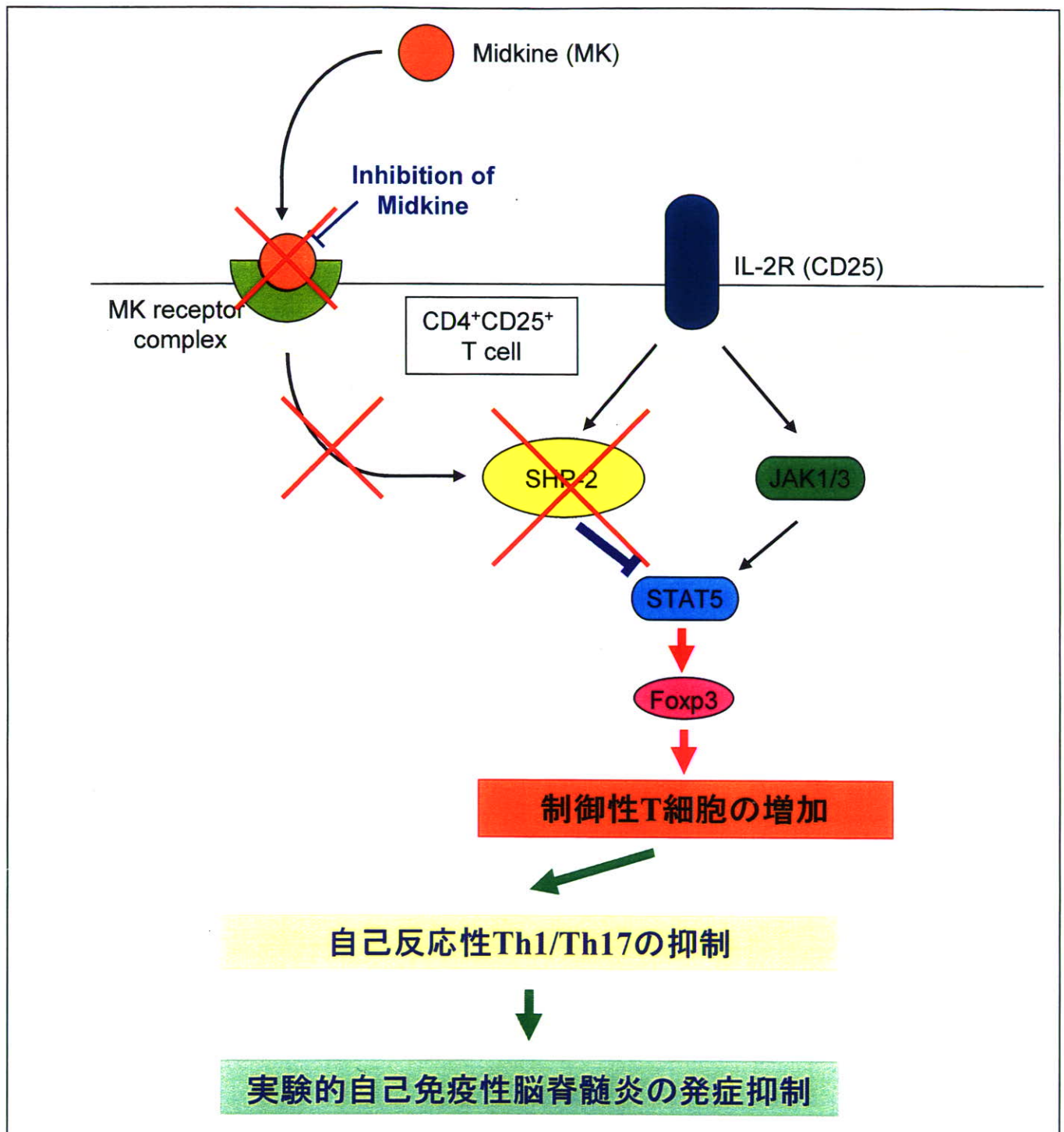
ギャップ結合阻害剤およびグルタミンナーゼ阻害剤は  
 活性化ミクログリア/マクロファージ由来のグルタミン酸神経毒性を抑制し  
 実験的自己免疫性脳脊髄炎の症状を軽減させる



解説

1. ミクログリア/マクロファージは通常の生理状態での自身の恒常性維持の経路とは別に、病態下では、活性化に伴い誘導されたグルタミンナーゼにより細胞外のグルタミンを基質にしてグルタミン酸を大量に合成し、ギャップ結合を介して細胞外へ放出する。
2. ギャップ結合阻害剤およびグルタミンナーゼ阻害剤は、正常の神経活動を妨げず、活性化ミクログリア/マクロファージ由来のグルタミン酸神経毒性を抑制し、実験的自己免疫性脳脊髄炎の症状を軽減させる
3. ギャップ結合阻害剤およびグルタミンナーゼ阻害剤は、多発性硬化症に対する新たな治療法となりうる。

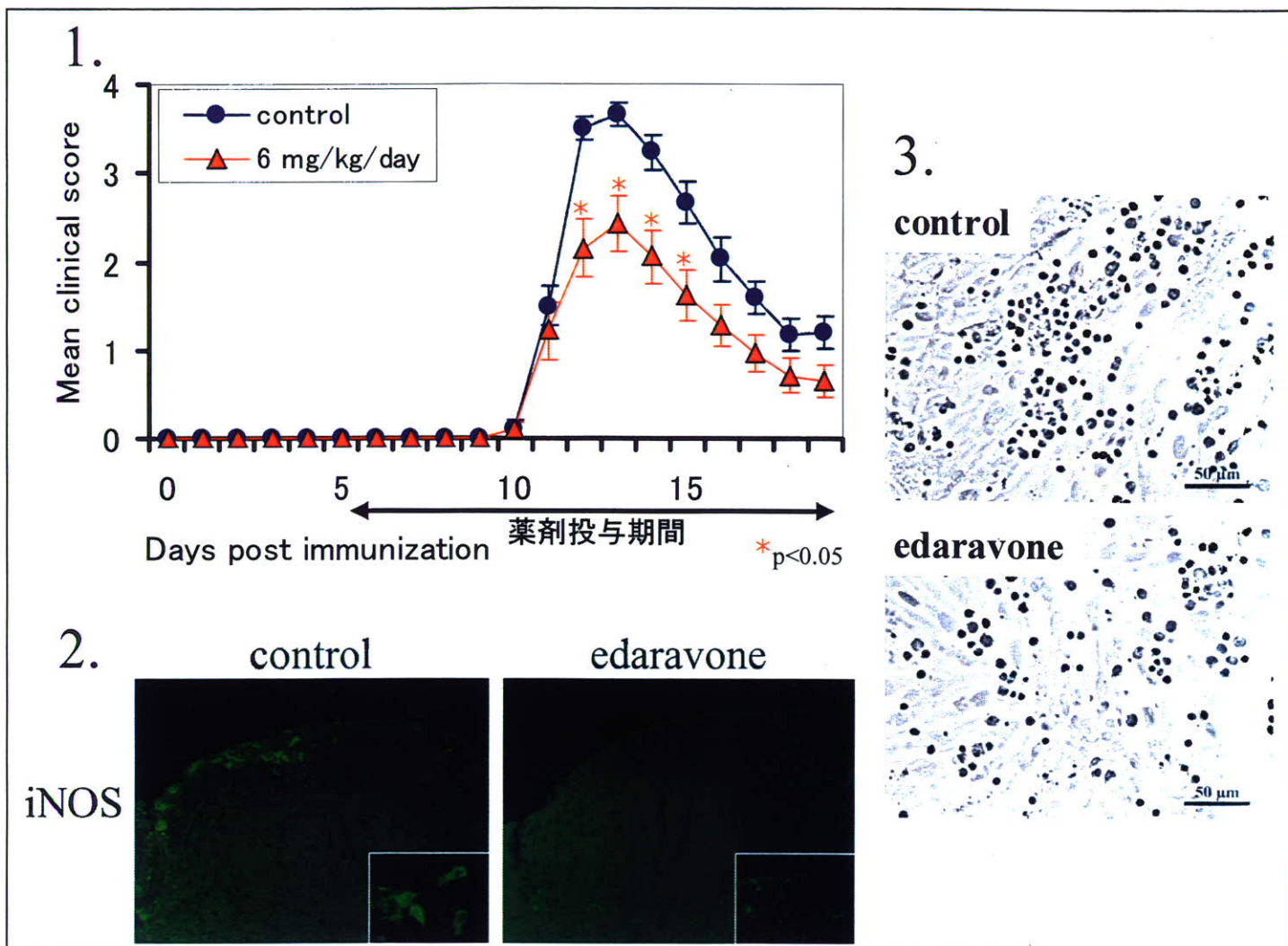
# ミッドカイン阻害は制御性T細胞の増加を介して 実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症を抑制する



## 解 説

1. ミッドカインの阻害により、制御性T細胞が増加し、自己免疫反応を抑制する結果、実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症を抑制させる。
2. アプタマーを含むミッドカイン阻害剤は、多発性硬化症をはじめとする自己免疫疾患の新たな治療法となりうる。

# EAEに対するEdaravoneの効果

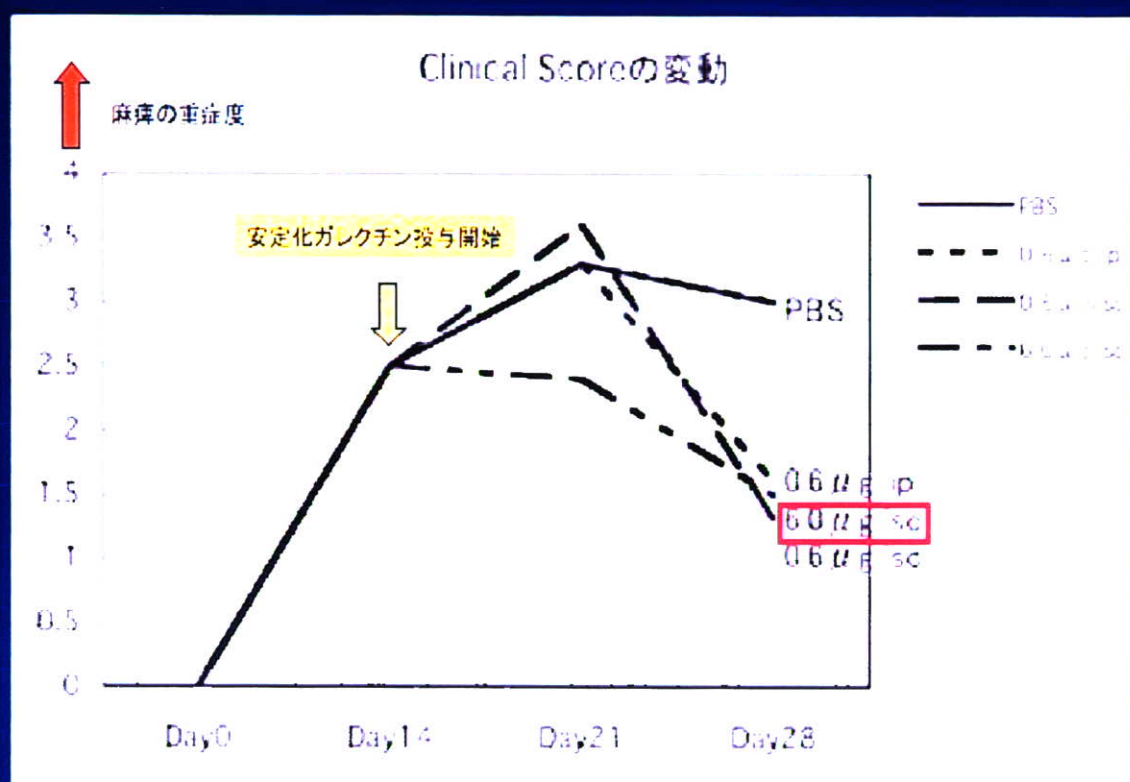


## 解説

1. Edaravone投与によりEAE重症度が改善する。
2. Edaravone投与により脊髄におけるiNOS発現が減少する。
3. Edaravoneにより血球-内皮細胞間の接着が抑制される。

# 実験的自己免疫性脳脊髄炎に対する安定化ガレクチン9療法の試み

## ガレクチン9投与によるEAEの軽症化

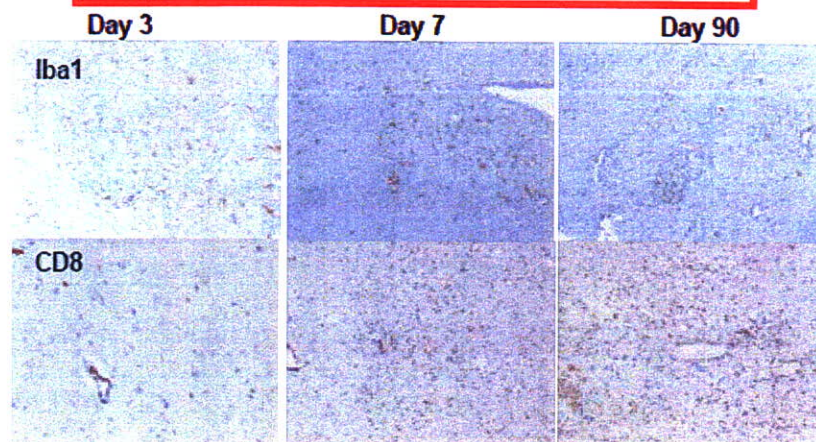


### 解説

- 1) 多発性硬化症の動物モデルであるMOGペプチド感作EAEは、約14日前後で尾部から下肢麻痺を生ずる。
- 2) 安定化ガレクチン9は、発症後に投与を開始しても、6  $\mu$ g連日皮下注射で症状を軽症化させた。

# ウイルス性脱髄モデルの中中枢神経病変における免疫担当細胞および病変の推移に関する検討

DAL<sub>Pro</sub> 大脳病変におけるミクログリア, CD8+Tリンパ球の推移



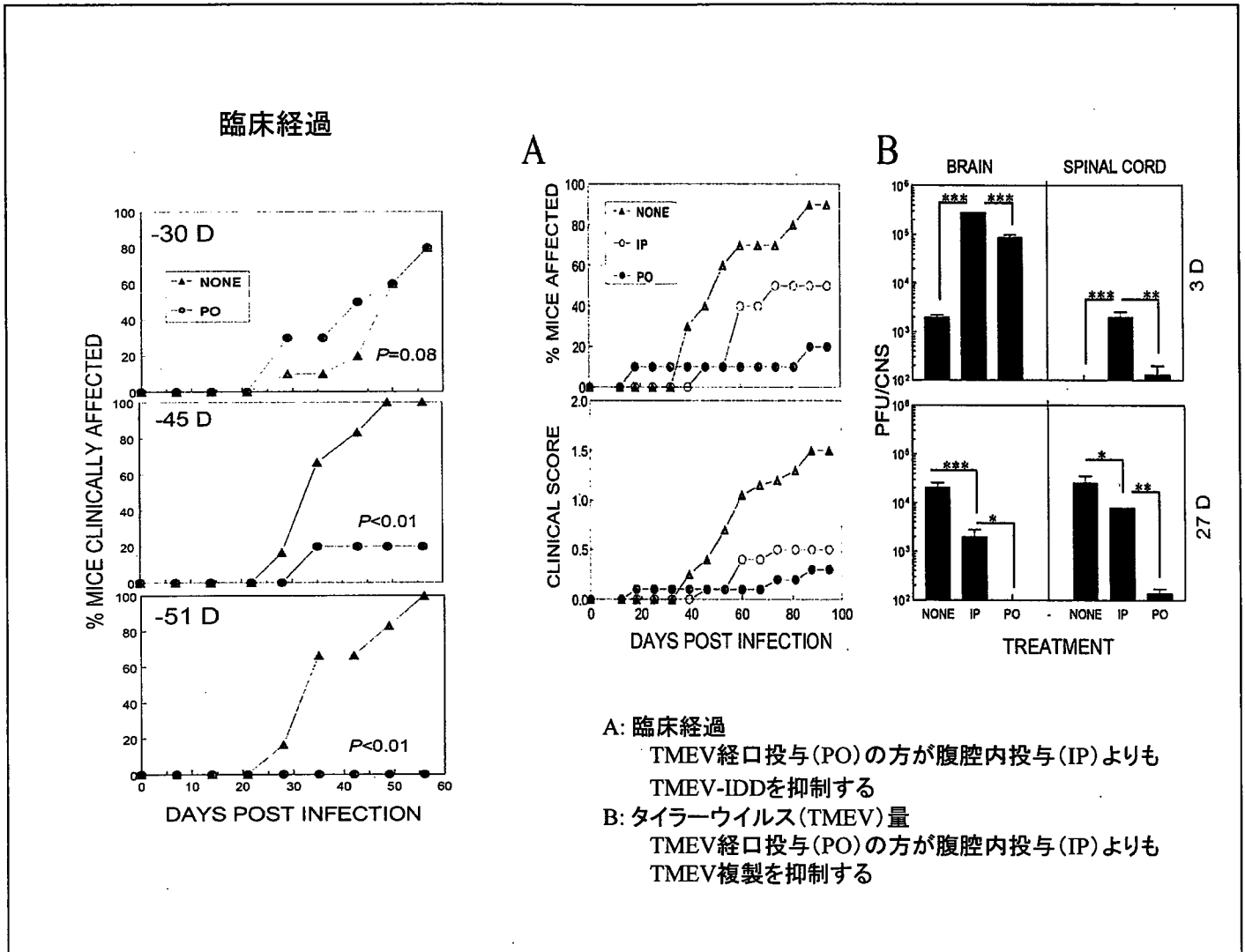
細胞浸潤(ミクログリア, CD8+Tリンパ球)からみた病変の空間的分布および強さの推移

	DAL <sub>Pro</sub>			DA			GDVII		
	大脳	脳幹部	脊髄	大脳	脳幹部	脊髄	大脳	脳幹部	脊髄
3日	++	+	+	++	+	+	++	++	++
7日	++	++	++	+	++	++	++	+++	++
45, 90日	+++ 白質の壊死	++	++	+/- 脳幹部軽度脱髄細胞浸潤	++	++			

## 解説

1. タイラーウィルスDA亜群のL蛋白に変異を導入したDALProとDA亜群, GDVII亜群の病変の推移をミクログリアおよびCD8+リンパ球を中心に検討した。
2. DALPro, DAでは接種直後にはミクログリアの反応が見られ, その後CD8+リンパ球が出現した。
3. DALProとDAを比較すると脳幹部, 脊髄の病変には差はなかった。DALProの大脳では慢性期にむかってミクログリア, CD8+リンパ球の浸潤が強くなり, これらの細胞の大脳白質壊死性病変形成への関与が示唆された。

# ウイルス誘導の多発性硬化症動物モデルであるタイラーウイルス誘導による脱髄疾患の経口的ウイルス摂取による抑制



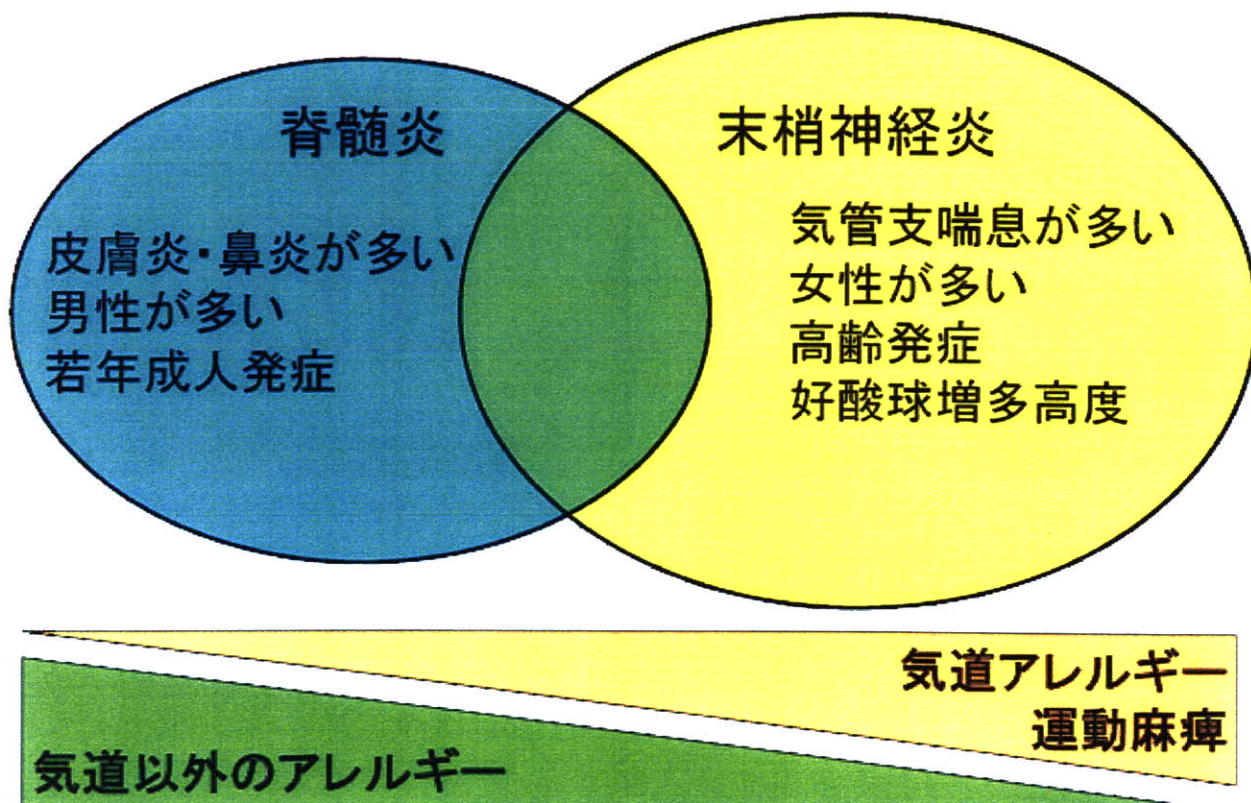
## 解説

1. TMEV脳内接種(IC)45日以上前に生ウイルスを経口投与(PO)した群ではTMEVを腹腔内投与(IP)した群に比し有意にTMEV-IDDを抑制した( $p < 0.01$ )。
2. POではTMEV脳内接種後の慢性持続感染が著明に低下していた。
3. POでは初期に中枢神経系内にB細胞の浸潤がTMEV特異的CD4+およびCD8+T細胞と同様にみられた。
4. TMEV-IDDの発症予防には経口投与が効果的であり、十分な防御的免疫応答を得るにはある一定の期間(45日以上)を要する。
5. 本研究によりMSの予防法が拓かれることが期待される。



# アトピー性脊髄炎・アトピー関連末梢神経炎 全国疫学調査

脊髄炎の20%, 末梢神経炎の10%程度に重複あり



## 解 説

1. アトピー関連脊髄炎・末梢神経炎の合併例が存在した。
2. アトピー関連脊髄炎では、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎の先行が多く、アトピー関連末梢神経炎では、気管支喘息の先行が有意に多かった。脊髄炎は、若年男性に多く、末梢神経炎は高齢女性に多かった。
3. 脊髄炎、末梢神経炎の両者とも気道アレルギーの先行があると、有意に運動麻痺を来しやすかった。
4. アトピー関連脊髄炎では、気道アレルギーの存在下では、動揺性に経過し、運動麻痺を来しやすかった。

# 急性散在性脳脊髄炎におけるMS疾患感受性遺伝子の検討

## 目的

**ADEMの臨床像の特徴と発症・病態に關与する遺伝要因を明らかにする。**

## ADEM患者数 31名(男:女 15:16)

発症年齢 中央値7.0歳(11か月~51歳)  
 亜分類 感染後23例、ワクチン接種後4例  
 症状 発熱(74%)、頭痛(48%)  
 歩行障害(58%)、意識障害(45%)  
 検査所見 白血球数 平均 11,000/ $\mu$ l  
 CRP 平均 0.84mg/dl  
 髄液細胞数 平均 92/ $\mu$ l  
 病変 皮質下白質(57%)、  
 脳室周囲白質(63%)、脳幹(43%)、  
 小脳(33%)、脊髄(27%)

## 遺伝子解析

## 結論

**ゲノムワイド研究でMS疾患感受性が示されているHLA-DRA遺伝子、IL2RA遺伝子、IL7R遺伝子のSNPsの解析を行い、相関解析を行ったが、遺伝子型頻度とアレル頻度に有意な相違は認められなかった。**

HLA-DRA				allele			
rs7192	ADEM	Control	p値	T	ADEM	Control	p値
TT	8(0.18)	18(0.21)	0.88	T	24(0.38)	60(0.40)	0.9
TC	12(0.38)	24(0.33)	0.95	C	38(0.81)	76(0.80)	
CC	18(0.42)	28(0.41)	0.95				
	31	68	0.96*		62	128	

IL2RA				allele			
rs2104288	ADEM	Control	p値	A	ADEM	Control	p値
AA	28(0.94)	48(0.82)	0.84	A	67(0.92)	102(0.81)	0.95
AC	6(0.18)	10(0.18)		C	6(0.08)	10(0.09)	
CC	0	0					
	31	58			62	112	

rs12722488				allele			
rs12722488	ADEM	Control	p値	G	ADEM	Control	p値
GG	28(0.94)	51(0.84)	0.97	G	67(0.92)	112(0.92)	0.98
GA	6(0.18)	10(0.18)		A	6(0.08)	10(0.08)	
AA	0(0)	0(0)					
	31	61			62	122	

rs1484556				allele			
rs1484556	ADEM	Control	p値	T	ADEM	Control	p値
TT	11(0.36)	16(0.26)	0.28	T	36(0.58)	68(0.48)	0.3
TC	19(0.42)	28(0.47)	0.87	C	27(0.44)	62(0.62)	
CC	7(0.23)	17(0.28)	0.68				
	31	60	0.68*		62	120	

rs8697932				allele			
rs8697932	ADEM	Control	p値	T	ADEM	Control	p値
TT	0(0)	2(0.08)		T	7(0.11)	20(0.16)	0.98
TC	7(0.23)	18(0.28)	0.7	C	66(0.89)	102(0.84)	
CC	24(0.77)	48(0.70)	0.48				
	31	61			62	122	

rs887108				allele			
rs887108	ADEM	Control	p値	T	ADEM	Control	p値
TT	18(0.58)	28(0.50)	0.47	T	48(0.77)	82(0.71)	0.34
TA	12(0.38)	24(0.41)	0.81	A	14(0.23)	34(0.29)	
AA	1(0.03)	6(0.09)	0.88				
	31	58	0.68*		62	118	

(\*)内は相違

## 解説

- 急性散在性脳脊髄炎の臨床像と遺伝要因の解明を目的に、多施設共同で31例を集積し、検討を行った。
- 発症年齢の中央値は7歳で、23例が感染後、4例がワクチン接種後であった。74%に発熱を認め、歩行障害や意識障害で発症し、軽度の炎症所見と髄液細胞増多を認めた。
- ゲノムワイド研究で示されたMSの疾患感受性遺伝子HLA-DRA 遺伝子、IL2RA 遺伝子、IL7R遺伝子の一塩基多型に関し、ADEM群と対照群で相関解析を行ったが、有意な相違は認められなかった。

# 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎における 髄液サイトカイン解析

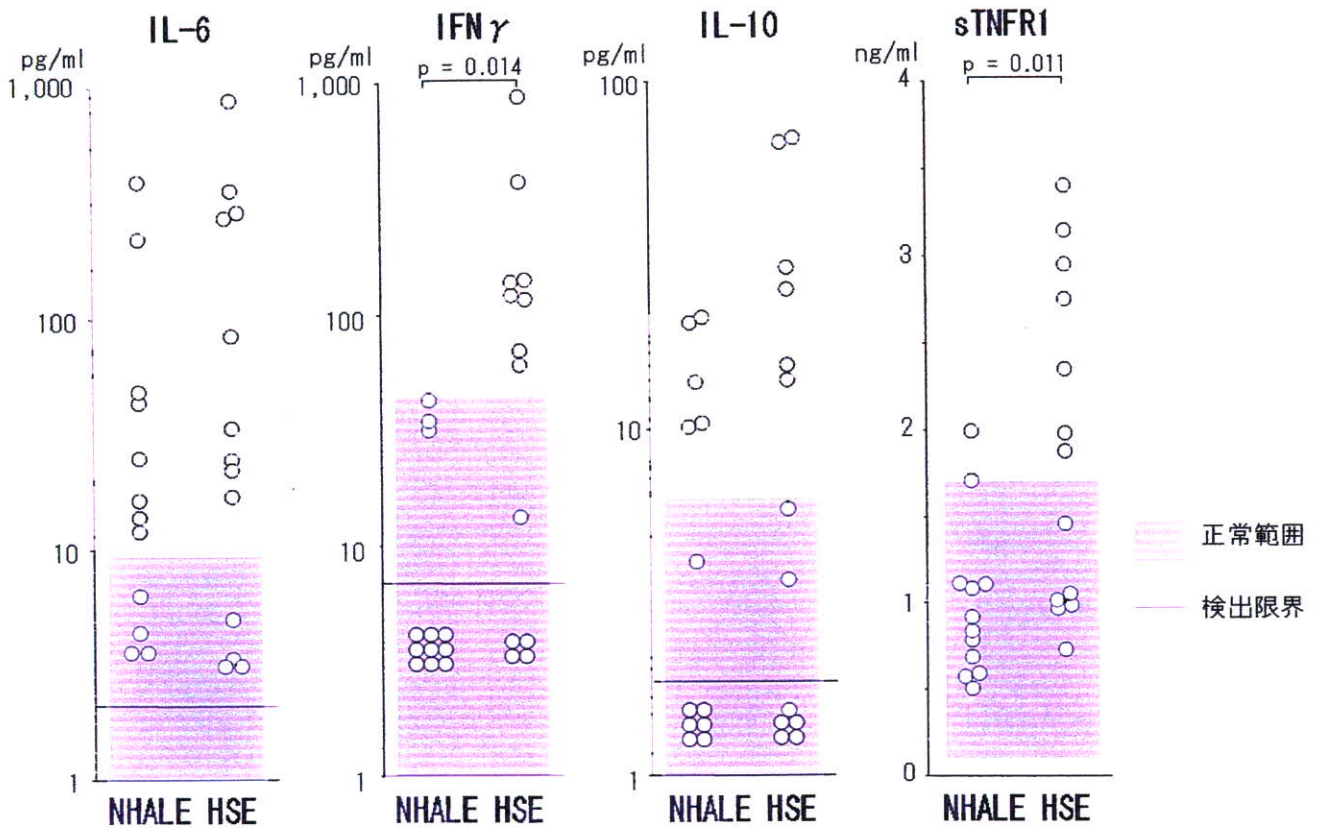
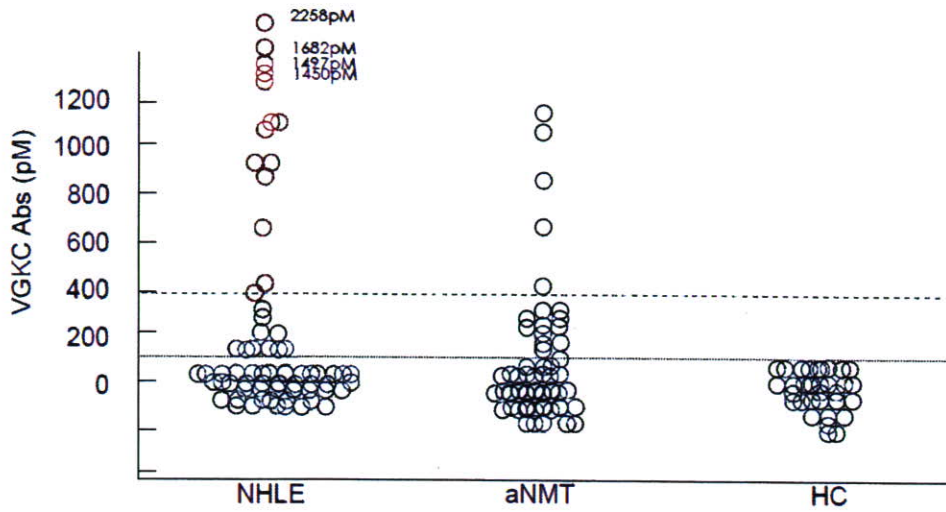


図1. NHALEとHSEにおける髄液IL-6, IFN $\gamma$ , IL-10, sTNFR1値

## 解 説

1. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎 (NHALE) と単純ヘルペス脳炎 (HSE) の髄液サイトカイン解析を行った。
2. NHALEではinterleukin-6 (IL-6)、IL-10の、HSEではIL-6、interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、IL-10、soluble tumor necrosis factor receptor 1 (sTNFR1) の上昇を認めた。
3. NHALEではウイルス主体でない病態が示唆された。

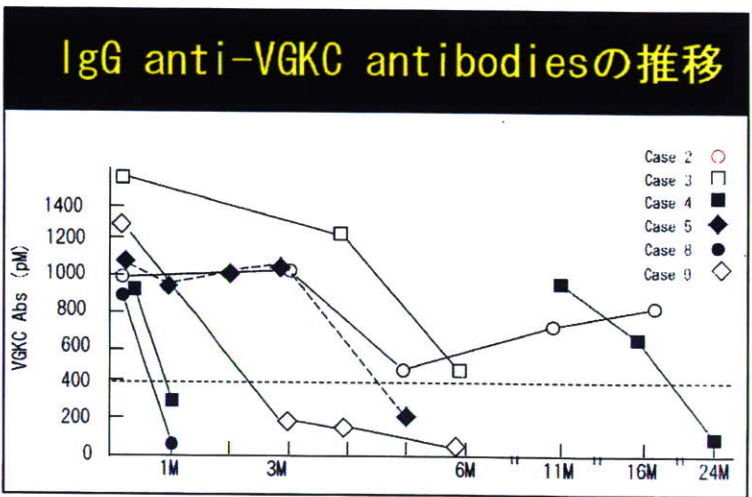
# 抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎



NHLE群では、75例中、25例で陽性。そのうち14例は400pM を超えるHigh titerを呈した。

抗VGKC抗体High Titer (>400pM)NHLEの臨床症状

症例	年齢	性別	発症時期	発症経過	意識障害	低Na血症	髄液IgG濃度	髄液蛋白	MRI	EEG	合併症	VGKC Ab (pM)		
1	40	F	1M	-	+	+	+	4	32	bilateral	N	allergy	2258	
2	52	M	4M	-	+	+	+	5	23	bilateral	diffuse	Thymoma	940	
3	58	M	2M	-	+	+	+	1	61	bilateral	focal		1682	
4	61	F	10D	-	+	+	-	1	60	bilateral	N	Thymoma*	895	
5	50	F	9M	+	+	+	generalized	+	1	43	N	focal	Thymoma* AChRAB+	1054
6	34	F	14D	+	+	+	generalized	-	7	68	N	diffuse	ML	418
7	43	F	3M	-	+	+	generalized	-	0	38	bilateral	focal		1497
8	65	M	5M	-	+	-	-	+	1	26	unilateral	N		890
9	52	F	1M	-	+	+	generalized	+	0	30	bilateral		asthma	1345
10	58	M	3M	-	+	+	-	?	?	?	?	MG/Thymoma	401	
11	62	M	3M	-	+	+	generalized	+	2	25	bilateral	focal		1138
12	82	F	2M	-	+	+	-	+	?	?	?	sGluR2IgM	660	
13	40	F	6M	-	+	+	generalized	+	29	114	bilateral	?	hyperhydrosis	1136
14	60	F	2M	-	+	+	-	+	0	30	bilateral	focal	Thymoma*	1450



## 解説

抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎は以下の特徴をもつ単一の疾患である

1. 壮年期に発症し、亜急性の経過をたどる。
2. 髄液所見は、激しい炎症像を示さない。
3. 低ナトリウム血症の原因はSIADH。
4. 胸腺腫合併例など、自己免疫的側面あり。
5. パルス療法・プレドニゾン漸減療法に反応する
6. 再発・再燃症例やIsaacs症候群への移行例も存在する。