

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患克服研究事業)

免疫性神経疾患に関する調査研究
(H17—難治—一般—016)

平成17年度～19年度 総合研究報告書

主任研究者 吉良 潤一
(九州大学大学院医学研究院神経内科学 教授)

平成20年(2008年)3月

目 次

I. 総合研究報告	3
免疫性神経疾患に関する調査研究 吉良 潤一 (九州大学大学院医学研究院神経内科学)	
II. 研究成果解説資料	57

I. 総 合 研 究 報 告

【研究要旨】

本研究班は、新しいメンバー構成で平成14年度に発足したものである。平成17年度から19年度の3年間、本研究班ではさまざまな成果をあげることができた。特に着目される成果としては、(1) 15年ぶりの多発性硬化症 (MS) 全国疫学調査を実施し、画像所見を含めた日本人 MS の臨床像を明らかにしたこと、(2) MS 患者の QOL 調査を初めて実施したこと、(3) 日本人 MS 患者に対する IFN β 製剤の使用実態に関する全国調査を実施し、抗 AQP4 抗体/NMO-IgG 陽性例では IFN β への治療反応性が異なることを明らかにしたこと、(4) 抗 AQP4 抗体の検出方法を確立し、抗 AQP4 抗体/NMO-IgG 陽性例の臨床的特徴を明らかにしたこと、(5) MS 患者の一部に慢性炎症性脱髄性多発神経炎 (CIDP) の診断基準を満たす症例があることを明らかにし、中枢神経と末梢神経に共通するエピトープに対する自己免疫応答が生じている可能性を指摘したこと、(6) 末梢血及び髄液を用いた MS の免疫学的疾患活動性指標を確立したこと、(7) IFN β 治療反応性の免疫マーカーを見出したこと、(8) MS 患者の画像所見と HLA クラス II 遺伝多型との相関を明らかにしたこと、(9) 臓器特異的自己免疫疾患の発症に重要とされるヒト Th17 細胞のケモカイン発現様式を明らかにしたこと、(10) アストロサイト機能改善薬 arundic acid、トロンビン阻害薬、ビタミン K2 (VK2)、エダラボン、安定化ガレクチン9、グルタミン酸毒性阻害剤、必須脂肪酸また中和抗体や RNA aptamer を用いた midkine 阻害により実験的自己免疫性脳脊髄炎の治療効果を見出したこと、(11) 重症筋無力症 (MG) 全国臨床疫学調査を実施したこと、(12) 小児発症 MG や高齢発症 MG の特徴を明らかにしたこと、(13) MG における嚥下・摂食障害の機序を明らかにしたこと、(14) 抗体 MuSK 抗体陽性 MG の臨床的特徴を明らかにしたこと、(15) MG におけるサイトカイン・ケモカインシグナルの変調を明らかにしたこと、(16) 抗 AchR 抗体や抗体 MuSK 抗体以外の自己抗体として、抗 Kv1.4 抗体や、ヒト胎盤由来アルカリフォスファターゼやリアノジン受容体、骨格筋ジヒドロピリジン受容体に対する抗体を見出し、MG 病態への関与を明らかにしたこと、(17) 抗 MuSK 抗体陽性 MG ラットの作成に成功したこと、(18) ギラン・バレー症候群 (GBS) 疫学調査を実施し、わが国では軸索型 GBS が多いことを明らかにしたこと、(19) 血液神経関門 *in vitro* モデルを確立したこと、(20) GBS やフィッシャー症候群 (FS) における抗ガングリオシド複合抗体の重要性を明らかにしたこと、(21) FS では IgG 抗 GQ1b 抗体に加え、GMI/GT1a 複合抗体や GD1c や GalNAc-GM1b に対する抗体も補助診断マーカーとして有用であることを明らかにしたこと、(22) Bickerstaff 型脳幹脳炎における抗 GQ1b 抗体は、GQ1b の糖鎖に対する特異性がより強い抗体であることを明らかにしたこと、(23) *C. jejuni* 由来 Dps 蛋白 (C-Dps) により、軸索障害が惹起されることを明らかにしたこと、(24) CIDP の全国疫学調査を実施し、慢性進行型や軸索に障害があるものは ADL の改善が乏しいことなどを明らかにしたこと、(25) CIDP の約 30% に潜在的な中枢病変が存在し、このような例は IVIg などの免疫療法に対する反応性が高いことを明らかにしたこと、(26) クロウ・フカセ症候群に対する自己末梢血幹細胞移植を伴う高容量化学療法とサリドマイド療法の効果を明らかにしたこと、(27) HAM 発症に関わる宿主因子を明らかにしたこと、(28) 封入体筋炎 (IBM) の一部で HTLV-1 感染が発症に関与していることを明らかにしたこと、(29) HAM 患者に対する乳酸菌飲料や minocycline、proslutiamine の有効性を明らかにしたこと、(30) 脊髄炎症性疾患では、髄液サイトカインプロフィールが疾患ごとに異なることを明らかにしたこと、(31) アトピー性疾患に伴う脊髄炎・末梢神経炎を同時に全国調査し、アトピー関連脊髄炎と末梢神経炎には両者の合併・移行例があることを明らかにしたこと、(32) 急性散在性脳脊髄炎 (ADEM) の疫学調査を実施し、日本人 ADEM の臨床像を明らかにしたこと、(33) 筋炎では、MCP-1、eotaxin、MIP-1 β 、IP-10 の発現が亢進し、特にレセプター分子では多発筋炎 (PM) で CCR3、皮膚筋炎 (DM) で CCR5 が重要であることを明らかにしたこと、(34) 炎症性筋疾患 (DM・PM・IBM) では、疾患ごとに特徴的な血清サイトカイン・ケモカイン上昇パターンが存在することを明らかにしたこと、などがあげられるが、他にも多くの成果をあげることができた。

分担研究者

糸山泰人（東北大学大学院医学系研究科神経内科学）、有村公良（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科神経内科・老年病学）、池田修一（信州大学医学部内科（脳神経内科・リウマチ・膠原病内科））、出雲周二（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科附属難治ウイルス病態制御研究センター）、太田宏平（東京理科大学理学部教養）、大原義朗（金沢医科大学微生物学）、荻野美恵子（北里大学医学部神経内科学）、越智博文（九州大学病院神経内科）、梶 龍兒（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部神経情報医学分野（神経内科））、神田 隆（山口大学大学院医学系研究科神経内科学）、菊地誠志（国立病院機構札幌南病院）、楠 進（近畿大学医学部神経内科）、桑原 聡（千葉大学大学院医学研究院神経内科学）、高 昌星（信州大学医学部保健学科生体情報検査学）、郡山達男（広島大学大学院脳神経内科学）、佐古田三郎（大阪大学大学院医学系研究科神経内科学）、清水 潤（東京大学医学部附属病院神経内科）、鈴木則宏（慶應義塾大学医学部神経内科）、錫村明生（名古屋大学環境医学研究所神経免疫）、祖父江元（名古屋大学大学院医学系研究科脳神経病態制御学）、田中恵子（国立病院機構西新潟中央病院）、田中正美（国立病院機構宇多野病院）、中村龍文（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染免疫学）、野村恭一（埼玉医科大学総合医療センター神経内科）、原 寿郎（九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野小児科学）、原 英夫（国立長寿医療センター研究所血管性認知症研究部）、久永欣哉（国立病院機構宮城病院臨床研究部）、藤井義敬（名古屋市立大学大学院医学研究科腫瘍・免疫外科学）、古川 漸（山口大学医学部生殖・発達・感染医科学）、松井 真（金沢医科大学神経内科）、松尾秀徳（国立病院機構長崎神経医療センター神経内科）、水澤英洋（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学）、本村政勝（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学講

座）、山村 隆（国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部）、吉川弘明（金沢大学保健管理センター）、米田 誠（福井大学医学部病態制御医学講座内科学（2））

研究協力者

田平 武（国立長寿医療センター研究所）、斎田孝彦（国立病院機構宇多野病院）、荒賀茂（藤井政雄記念病院）、小野寺宏（国立病院機構西多賀病院）、野村芳子（瀬川小児神経学クリニック）、大生定義（立教大学社会学部社会学科）、三木哲郎（愛媛大学大学院医学系研究科加齢制御内科学）、千葉進（札幌山の上病院神経内科・脳神経研究施設）

A. 研究目的

免疫性神経疾患は近年増加が著しく、2004年に実施した多発性硬化症(MS)全国臨床疫学調査においても顕著な増加(全国推定有病率約7.7人/100,000人)が示された。重症筋無力症(MG)をはじめとして治療法は大きく進歩し軽快者も多くみられるようになってきてはいるものの、MG以外では根治的な治療法は開発できておらず、たとえばMSでインターフェロンベータ(IFN β)により約30%再発を減らし長期的な障害の進行をわずかに抑えることが可能になっているに過ぎない。そこで本研究班は、このような根治的な治療法がなく重篤な後遺症を残すことが多い免疫性神経疾患のうち、MS、MG、ギラン・バレー症候群(GBS)、フィッシャー症候群(FS)、慢性炎症性脱髄性多発神経炎(CIDP)、ルイス・サムナー症候群、クロウ・フカセ症候群の7指定対象疾患並びに関連する免疫性神経疾患(HAM、アトピー性脊髄炎、傍腫瘍性神経症候群、特発性筋炎等)を対象に全国規模での調査研究班を組織し、臨床疫学調査と分子神経免疫学的研究を実施し、疾患サブタイプ個別の治療指針の作成、独創的な新規治療法の開発を行うことを目的とした。すなわち、1) 全国臨床疫学調査に基づいて疫学的特徴、臨床像、免疫遺伝学的背景、現状の治療成績

を明らかにすること、2) 全国調査の分析結果から、病態および発症機序を解明すること、3) 病態や発症機序に立脚した診断・治療ガイドラインの作成及び新しい画期的な治療法を開発すること、および 4) 発症予防法を発見することを目的とした。

a. 指定対象疾患

具体的な目的として以下をあげた。

(1) MS :

全国調査プロジェクト : 全国臨床疫学調査により集積された 2000 例近い症例のデータを解析した結果、MS のサブグループ (視神経脊髄型 MS、MRI 上 3 椎体以上の長大な脊髄病巣を有する群、脳 MRI 病巣を欠く群、膠原病合併 MS 群、IFN β 投与による悪化群など) の特徴が明らかにされた。本データをもとに MS サブタイプ個別的な治療指針を作成するとともに、MS サブグループごとの疾患感受性遺伝子、髄液免疫動態、自己抗原に対する免疫応答を多施設共同研究で検討する。また、治療上重要な IFN β による悪化群、膠原病合併 MS 群については追加調査を実施する。前年度までに実施した予備調査をもとに、MS 患者 QOL 調査を実施する。さらに発症・進行予防をめざして、比較的 MS 病像の均一な西日本地域で regional WG を結成し、個々の日本人 MS 患者を免疫遺伝学的特徴ごとに、その自然経過を観察する長期前向き研究をスタートする。

新規治療薬開発プロジェクト : rho kinase inhibitor、arundic acid、新規糖脂質 OCH 等、従来報告のない新しい治療法の開発や作用機序の解析を進め臨床応用へつなげる。

分子免疫学的解析プロジェクト : わが国をはじめとしてアジア人種に多い視神経脊髄型 MS (OS-MS)、及び近年増加の著しい通常型 MS (C-MS) において、疾患感受性や重症度を規定する遺伝因子や IFN β 等に対する治療反応性を決定する因子の同定、病巣分布を規定する自己抗原の発見、病型特異的な髄液サイトカイン・ケモカインおよびリンパ球サブセットの変動等を解析し、疫学調

査結果とも併せて MS サブタイプ特異的な治療法の開発をめざす。

(2) MG :

全国調査プロジェクト : MG ワーキング・グループを結成し、疫学班とともに臨床疫学調査項目を作成し全国臨床疫学調査を実施する。これにより最新の患者数や有病率を把握するのみならず、本邦における小児 MG の臨床像、難治性 MG の現況、胸腺摘除の術式による治療効果の差、抗 MuSK 抗体陽性 MG の特徴などを明らかにする。また、合併症についても詳細な質問項目を設け、サブタイプ別の MG の特徴を明らかにし、この調査結果をもとに MG の新しい治療ガイドラインの作成をめざす。

自己抗体解明プロジェクト : 動物モデルや培養細胞を用いた抗 MuSK 抗体の作用機序の解析や抗 AChR 抗体以外の自己抗体の研究を推進する。

(3) ギラン・バレー症候群 (GBS)、フィッシャー症候群 (FS) :

全国調査プロジェクト : GBS の全国臨床疫学調査を実施し、本邦に多く予後の不良な軸索型 GBS の臨床的特徴を明らかにする。

GBS 軸索障害解明プロジェクト : *Campylobacter jejuni* の菌体蛋白成分による直接的な神経伝導ブロック作用を発見したことから、先行感染微生物由来のガングリオシドのみならず微生物由来蛋白と宿主との相互作用の解析を通じた病態解明を進めるとともに、*Campylobacter jejuni* 由来 Dps 蛋白やガングリオシド/リン脂質複合抗原に対する免疫応答の軸索障害への関与を解析する。また、GBS 軸索障害動物モデルを用いて治療法の開発を目指す。

(4) CIDP、ルイス・サムナー症候群、ク

ロウ・フカセ症候群 : クロウ・フカセ症候群の全国臨床調査を実施し、骨髄移植が有効な治療成績をあげていることを明らかにできた。これをもとに新しい治療ガイドラインを作成するとともに、VEGF トランスジェニックマウスを用いた動物モデル作りと新規治療法の開発を推進する。また、CIDP 全国臨床調査結果をもとに CIDP やルイ

ス・サムナー症候群で免疫グロブリン大量静注療法 (IVIG 治療) 効果を規定している遺伝的背景の検索や髄液サイトカイン動態を解明するとともに、タクロリムスやシクロスポリン等の免疫抑制剤による難治性 CIDP 治療法の開発を目指す。

b. 関連重要疾患

(5) HAM: 多数例の遺伝学的解析による疾患感受性遺伝子の同定、および T 細胞内シグナル伝達の異常の発見により HAM 発症に至る経路が解明されつつあり、この解析を一層推進し、新規治療法の開発をめざす。

(6) 傍腫瘍性神経症候群: 抗原ペプチド特異的細胞傷害性 T 細胞の効率よい誘導システムが確立されたので、これを用いた動物モデルの開発を行い、病態解明を進める。傍腫瘍性神経症候群の全国調査を実施する。

(7) アトピー性脊髄炎: アトピー性脊髄炎症例での髄液サイトカイン・ケモカインおよび髄液細胞内サイトカイン産生の解析を行い、脊髄障害機序の解明に取り組む。2000 年に第 1 回目の全国調査を実施しているので、疾患概念の普及を受け、2005 年を目途に第 2 回目の全国臨床調査を実施する。

(8) その他: その他、①培養神経細胞やウイルス性脱髄モデルを用いた炎症性脱髄機序・軸索障害機序の解析、②VEGF 関連神経免疫疾患 (クロウ・フカセ症候群や血管炎など) の研究、③各種末梢神経炎 (GBS, FS, CIDP, ルイス・サムナー症候群、Isaacs 症候群、neuromyotonia) の臨床神経生理学的所見からみた自己抗体の作用機序の解析、④傍腫瘍性神経症候群の動物モデルの作成と標的抗原の神経系における機能解析、⑤神経 Sweet 病の病態解明、⑥各種難治性神経疾患における新規自己抗原の探索、⑦筋炎・神経変性疾患の免疫学的側面の解析、⑧急性散在性脳脊髄炎の遺伝的背景と髄液免疫動態の解析等も行う。

B. 研究方法

(1) MS

臨床・疫学・環境要因: 2004 年 MS 全国臨床疫学調査のデータをさらに解析し、緯度

と出生年代による病像の違いや、脳脊髄 MRI 画像所見からみた日本人 MS 特徴を解析するとともに、IFN β 治療効果との関連について解析した。また、3 椎体以上の長い脊髄病変 (LESCL) をもつ MS 患者の臨床的特徴を解析するとともに、“attack-related severity (attack-related lesion expansion) ”、臨床経過および病変分布に基づいた 3 次元的病像把握の重要性を検証した。また同時に遺伝的背景との関連について検討した。北海道十勝地区 (人口 36 万人) においては、2001 年に引き続いて 2006 年に MS 疫学調査を実施し、同地区における MS 有病率 (人口 10 万人あたり) の変化を検討した。MS 患者、患者家族、調査者よりなるフォーカスグループミーティングを組織、実施し、運動機能や日常生活動作のみならず、心理社会的状況など様々な要因が MS 患者の QOL に関与している事を確認した上で、MS 患者の QOL 大規模調査を行った。

MS における抗 AQP4 抗体の意義:

Neuromyelitis optica (NMO) の患者血清中に疾患特異的に認められる NMO-IgG の認識する抗原が AQP4 と同定・報告された。そこで、ELISA 法あるいは間接蛍光抗体法による同抗体の測定法を確立し、日本人 MS 患者での血清 NMO-IgG/抗 AQP4 抗体の有無、抗体陽性例と陰性例の臨床的、免疫遺伝学的特徴を検討した。視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica; NMO) の脊髄病巣における AQP4、GFAP、MBP の発現を検討し、正常対照や MS 病巣での発現と比較検討した。AQP4 を発現させた HEK293 細胞を用いて、抗 AQP4 IgG 抗体が AQP4 分子に与える影響を検討した。また抗 AQP4 抗体が認識するエピトープの解析を行なった。

検査法: MS 患者の臨床症状や障害度

(Expanded Disability Status Scale: EDSS)、MRI、事象関連電位 (P300)、定量的脳波解析に加え磁気共鳴スペクトロスコピー (Magnetic Resonance Spectroscopy: MRS) を同じ患者で年余にわたって行い、MRS の経時間的な変化と、MS の臨床経過との関連や機能予後との相関について検討した。同

時に諸検査の脳機能の客観的評価法としての有用性を検討した。定量的脳波解析を試み、脳機能の評価を行った。MRI 拡散テンソルトレースヒストグラムにより normal appearing gray/white matter の機能評価を行い、その経時的変化の解析を行なった。また拡散テンソル画像 (DTI) により ADC (apparent diffusion coefficient) や FA (fractional anisotropy) を評価することで、MS の病態把握やモニタリングが可能か検討した。

遺伝的背景：再発寛解型あるいは二次進行型 MS を対象に、臨床所見と HLA や CTLA-4 などの遺伝子多型との関連を検討した。また脳脊髄 MRI 所見と HLA との関連についても検討した。

免疫病態の解析：好中球の一次顆粒に多く含まれる myeloperoxidase を血清中で測定する事で、LESCL の形成と好中球との関与について検討した。central memory T cell (TCM) および effector memory T cell (TEM) が MS の活動性や病型を規定する因子である可能性を検証した。また、CD4 陽性 NKT 細胞や CD4+CD25^{high} 制御性 T 細胞、II 型樹状細胞の前駆細胞である natural interferon-producing cell (IPC)、CD28-CD4⁺ T 細胞、CD69⁺ T 細胞、Th17 細胞がヒト MS 病態におよぼす影響について検討した。脳炎惹起性 T 細胞が発現するケモカイン受容体に着目し、CCR2、CCR5 などの発現細胞をセルソーターで分離し、サイトカイン産生能を評価した。MS 髄液中のアンジオテンシン II 濃度を測定し、MS 病態におけるレニン-アンジオテンシン系の関与を検討した。

病理学的検索・血液脳関門についての検討：血液脳関門 (blood-brain barrier; BBB) における炎症関連分子 (ケモカイン、ケモカイン受容体、MMP、TLR/IL-1R) に対する IFN β の作用を検討した。脳毛細血管内皮細胞 (brain microvascular endothelial cells: BMECs) を用いて IFN β の homing 関連分子への作用、特に (1) chemokine、chemokine receptor 及びその関連分子、

(2) MMPs とその関連分子、(3) TLR/IL-1R ファミリー及びその関連分子、の動態を検討した。NMO および MS の剖検症例を用いて、免疫組織染色法により AQP4、glial fibrillary acidic protein (GFAP)、myelin basic protein (MBP) の染色パターンを比較検討した。

各種免疫療法の作用機序の検討と治療効果のマーカ-の検索

DNA マイクロアレイを用いて末梢血リンパ球における IFN β 反応性遺伝子を網羅的に解析した。抗 AQP4 抗体陽性で 3 椎体以上の脊髄病変を有する難治性 MS 例に対するリツキシマブ投与 (B 細胞除去療法) の安全性・有効性を検討した。また IFN β 無効例や副作用などの理由で IFN β が使用できない患者を対象に、mitoxatorone 治療を行ない、有効性と安全性を検討した。

MS 増悪期においてステロイド・パルス療法にて有効性を認めなかった 27 症例 (ステロイド治療抵抗性 MS) に対して免疫吸着療法 (IAPP ; immuno absorption plasmapheresis) を 2~3 回施行し、有効性と安全性について検討した。

動物モデルを用いた解析：Midkine (MK) は、発癌や炎症、修復の過程で強く発現し、炎症の進展や組織修復に関与している成長因子である。そこで MK ノックアウトマウスを作成し、同マウスに EAE を誘導することで、EAE 発症に及ぼす MK の役割を検討した。また、ガングリオシド合成酵素欠損マウスを用いて、複合型ガングリオシドが EAE 発症を制御している可能性について検討した。MS 病巣内で産生される IFN γ の神経細胞傷害作用、グルタミン酸神経毒性に対する増強作用を検討し、IFN γ が神経細胞変性に関与している可能性について検討した。同時にグルタミン酸毒性阻害剤の EAE に対する効果を検討した。

MS の新規治療法の開発を目指して、その動物モデルである EAE において、アストロサイト機能改善薬 arundic acid、トロンビン阻害薬、ビタミン K2 (VK2)、エダラボン、グルタミン酸毒性阻害剤、さらに必須

脂肪酸の投与を行い、治療効果を検討した。また、EAEの病態におけるアストロサイト由来因子の関与を調べるためGFAPプロモーター制御下にEGFPを強発現するトランスジェニックマウスを作成し、EAEの臨床経過に伴う脊髄の炎症像やサイトカイン発現を解析した。

免疫機序を介する脱髄を起こすタイラーウイルス由来のL蛋白の標的分子AP50を同定し、AP50とL蛋白の相互作用がウイルスの持続感染・脱髄に及ぼす影響をAP50との結合モチーフを改変した組み換えウイルスを作成して検討した。タイラー脳脊髄炎ウイルス(Theiler's murine encephalomyelitis virus: TMEV)による免疫性脱髄疾患の動物モデル(TMEV-induced demyelinating disease: TMEV-IDD)を用い、凝固線溶系の関与および性差と性ホルモンの影響を検討し、さらにウイルス経口投与による予防効果を検討した。

(2) MG

臨床疫学研究: MGの臨床調査個人票データベースを用いて、患者の年齢分布や治療状況を中心とした解析を行った。平成17年度よりMGの全国臨床疫学調査を開始し、我が国におけるMGの最新の動向を明らかにするとともに、小児MGの臨床像、難治性MGの現況、胸腺摘除の術式による治療効果の差、抗MuSK抗体陽性MGの特徴など、日本人MGの臨床的特徴を検討した。また、小児期発症MGの長期治療例を対象に、病型の特徴、治療効果、免疫学的背景について検討した。

臨床病態: 抗MuSK抗体陽性患者の臨床的検討を行ない、その臨床的特徴を検討した。眼筋型MGの全身型移行因子を検討した。また、MGにおける嚥下障害の機序について分析した。

MGの免疫動態: MGにおけるT細胞依存性自己抗体産生には、関連するT細胞およびB細胞の活性化・抗体産生の場合の局在が必要である。そこでMGにおけるリンパ球のホーミング関連シグナル解析を末梢血と胸腺にて行ない、リンパ球局在化シグナルの異

常について検討した。autoimmune regulatory element (AIRE)の発現低下はnegative selectionで消去されるべき自己反応性T細胞の生存を許すことになり自己免疫性疾患発症との関連が考えられる。そこで末梢血と胸腺におけるAIREの発現を検討し、MG自己抗体産生との関連を検討した。MGおよびMG以外の疾患で摘出された胸腺組織において、抗CD21抗体や抗Ki-67抗体などを用いて免疫組織学的検討を行った。

MGの自己抗体: 可溶性マウスMuSK蛋白を抗原として抗MuSK抗体陽性MGラットを作製し、その免疫・電気生理学的解析を行なうことで抗MuSK抗体MGの発症機序の解析を行なった。抗AchR抗体や抗MuSK抗体以外の自己抗体を検索し、骨格筋リアノジン受容体(RyR)結合抗体と骨格筋ジヒドロピリジン受容体(DHPR)抗体、抗ヒト胎盤由来アルカリフォスファターゼ抗体を同定し、それぞれの抗体価と臨床像との関連を検討した。また、抗Kv1.4抗体と臨床症状との関連についても検討した。

MGの治療: タクロリムスの長期投与の有効性について多数例で検討した。胸腺腫合併MGにおいて、組織型別に術前ステロイドパルス療法の効果を比較し、どの組織型でより有効かを検討した。

(3) GBS、FS

臨床疫学研究: GBSの臨床疫学調査をワーキング・グループ構成員の所属する6施設と12の協力施設を加えた計18施設にて実施し、日本人GBSの臨床的・電気生理学的特徴を検討した。

臨床病態: GBS/FS多数例を解析し、先行感染や臨床症状と抗ガングリオシド抗体との関連、治療効果、長期予後などを検討した。また、急性感覚性ニューロパチーの臨床免疫学的検討をおこない、その位置づけについて検討を加えた。抗GD1b抗体単独陽性GBSにおいて血清のガングリオシド複合体への反応特異性と失調症状との相関を検討した。

免疫病態: 先行感染の病原体の違いによつ

て抗体活性に対するリン脂質の影響が異なるか検討した。同時に、GM1 または GM1 とホスファチジン酸 (PA) の混合抗原をウサギに接種して抗体の反応性を検討した。*C. jejuni* 菌体抗原感作による実験的神経炎の作製を行ない、GBS など炎症性末梢神経障害の発症機序の解析を行なった。

FS 血清について、GM1、GQ1b など7種の ganglioside に対する IgG 抗体、およびそのうち2種を1:1の割合で混合した複合体抗原に対する IgG 抗体活性を ELISA 法で測定した。GBS 急性期血清について11種の抗原に対する IgG 抗体を測定し、抗 GD1b 抗体単独陽性を示した血清について、GD1b とその他の抗原を1:1の比率で混合して作成した抗原に対する IgG 抗体活性を測定した。BBE の抗 GQ1b 抗体陽性血清について、ganglioside 複合体との反応を検討し、FS や GBS と比較した。IgG 抗 GQ1b 抗体陰性 FS 24 例を対象に、ganglioside 複合体、およびカンピロバクター・リポオリゴ糖 (LOS) に対する IgG 抗体を測定し、IgG 抗 GQ1b 抗体以外の新たな抗体の有無を検討した。

病理: 抗 GD1b 抗体が陽性であった感覚失調性ニューロパチーを病理学的に検討した。

血液神経関門の検討: 炎症性ニューロパチーの病態に大きくかわる血液神経関門 (BNB) を構成する神経内膜内微小血管内皮細胞の初代培養を行い、*in vitro* BNB モデルを確立し、その細胞学的特徴を検討した。

(4) CIDP、ルイス・サムナー症候群、クロウ・フカセ症候群

CIDP の全国臨床疫学調査を行ない、我が国での有病率を明らかにするとともに、臨床的特徴と長期予後について検討した。治療抵抗性 CIDP の臨床的特徴を検討するとともに、シクロスポリンの有効性を検討した。多巣性運動ニューロパチー (ルイス・サムナー症候群) をはじめとする免疫性ニューロパチーの診断における神経超音波検査の有用性を検討した。また、CIDP における潜在的な中枢神経病変について誘発電位検査を含めて検討した。

クロウ・フカセ症候群の新規治療法の確

立を目的に、自己末梢血幹細胞移植療法およびサリドマイド療法を実施し、その効果と安全性を検討した。効果は臨床症状、血清 VEGF 値、末梢神経伝導検査によった。

(5) HAM

多数例の HAM 患者を含む HTLV-1 感染者において、ウイルス側および宿主側の HAM 発症促進因子および発症抑制因子を分子生物学的・免疫遺伝子学的に解析した。新規治療法の開発として、Minocycline hydrochloride (Minomycin[®]) と Prosultiamine の安全性と臨床効果を検討した。

(6) 傍腫瘍性神経症候群

担癌患者でも傍腫瘍性神経症候群を発症する症例は限られていることから、そこに存在する宿主要因・免疫動態の異常を検討するため、リンパ球サブセットと Foxp3 の発現を検討した。

(7) ADEM、アトピー性脊髄炎、その他の脳脊髄炎

多施設共同で急性散在性脳脊髄炎 (acute disseminated encephalomyelitis, ADEM) 症例を集積し、調査票により臨床データ (病歴、症状、検査、画像、治療、予後) を集計し、その臨床像を検討した。また、ADEM への関連が予想される遺伝子について多型解析を行ない、疾患感受性遺伝子の同定を試みた。また、ADEM の特殊型と考えられる多発性の灰白質病変を主体とする急性脳炎の多施設での解析を行ない、その臨床的特徴を検討した。ADEM の血清 MMP-9、TIMP-1 を測定し、BBB 機能の評価を行った。抗 VGKC 抗体陽性辺縁系脳炎の臨床的特徴を明らかにするため、非ヘルペス性辺縁系脳炎患者の BBB 機能を血清 MMP-9 と TIMP-1 の動態で解析するとともに、血清抗 VGKC 抗体を ¹²⁵I-alpha-dendrotoxin (IaDTX) を用いた免疫沈降法で測定し、陽性例における臨床像および経過を検討した。神経 Sweet 病の診断基準を作成し、その MRI 画像所見の特徴を他の炎症性脳疾患 (MS、辺縁系脳炎、ベーチェット病など) と比較検討した。多数の橋本脳症患者における α -enolase の NH₂

末端に対する自己抗体（抗 NAE 抗体）と臨床徴候を検討し、本抗体の疾患特異性とともにも臨床的特徴との関連を検討した。

アトピー性脊髄炎・末梢神経炎の全国臨床疫学調査を実施し、アトピー性疾患に関連した脊髄炎と末梢神経炎の病像と両者の関係を検討した。視神経脊髄型 MS とアトピー性脊髄炎、HAM、シェーグレン症候群関連脊髄炎の髄液中のサイトカイン、ケモカイン、成長因子などの同時測定を行ない、疾患特異的な変化を解析した。

（8）特発性筋炎

炎症性筋疾患におけるケモカインおよびその受容体の発現を ELISA 法と免疫染色にて解析した。また、血清サイトカインを蛍光ビーズサスペンションアレイシステムで測定した。多発筋炎および封入体筋炎では、浸潤細胞中の granulysin の発現を検討し、治療反応性との相関を検討した。

（倫理面への配慮）

患者の臨床検査データやサンプルを使用したり、治療薬を投与したりするすべての臨床研究において十分なインフォームドコンセントを得た。さらに、疫学調査では患者のプライバシーの保護に十分配慮し、個人情報が出ないように細心の注意を払った。また、それぞれの施設内での倫理委員会での許可を得て研究を行った。動物を使用する研究は、動物愛護の観点より各施設の動物実験に関する指針・マニュアルを遵守した。

C. 研究結果及び考察

（1）MS

臨床・疫学・環境要因：「多発性硬化症 2004 年全国臨床疫学調査」の解析の結果、日本人の MS 推定患者数は 9,900 人とされ、1972 年の第 1 回調査時に比べ 4 倍に増加していることが示された。特に女性の比率が第 1 回調査時に比べ倍増し、発症年齢のピークも 20 歳代へと若年化していた。OSMS では CMS に比べ有意に McDonald の診断基準を満たす症例の割合が少なく (8.2% vs 45.5%)、

一方、3 椎体以上の長大な脊髄病変 (LESCL) を有する割合が高い (41.2% vs 16.1%) ことが明らかとなった。LESCL を有する症例はより重症で、女性に多く、高度の視力障害や脊髄障害を有することが明らかとなった。合併症からみると、膠原病合併例は女性に多く、高齢発症であり OSMS が多かった。膠原病合併例では IFN β の治療効果は非合併例よりも劣っており、悪化例の割合が多かった (31.6% vs 4.9%)。北日本（北緯 37 度以北）で出生し、現在も北日本に在住しているものでは、南日本で出生し南日本に在住しているものに比較して、通常型多発性硬化症 (CMS) が多く、Barkhof の MRI 診断基準を満たす症例が有意に多いことも明らかとなった。その傾向は出生年代が若いほどより顕著であり、日本人 MS の病像は緯度と出生年代により異なる可能性が示唆された。

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、同地区における MS 有病率（人口 10 万人あたり）が 2001 年の 8.6 から 2006 年の 13.1 へと著明に増加していることが明らかとなった。発病率の増加が有病率増加の原因と考えられた。

日本人 MS 患者の頭部 MRI 所見の特徴を解析した結果、OSMS では McDonald/Barkhof の MRI 診断基準を満たす例は少なく、LESCL を有することが特徴であった。側脳室周囲病巣に着目すると、OSMS では MRI および病理所見にて側脳室に沿って帯状に分布するのに対し、CMS では白質深部へ進展する ovoid lesion が特徴であった。また画像所見と HLA との間に相関があることが初めて明らかとなった。LESCL を伴う OSMS は DPB1*0501 と正の相関を示し、高度な視神経炎と横断性脊髄炎を呈し重症化する頻度が高かった。Barkhof の MRI 診断基準を満たさず、LESCL も伴わない、MRI 病巣が最も少ない MS 群は DRB1*0405 と正の相関を示すことが明らかとなった。

MS 患者の一部に CIDP の基準を満たす多巣性脱髄所見を認めることが明らかとなっ

た。MS 経過中に中枢髄鞘と末梢髄鞘に共通するエプトープに対する自己免疫応答が生じている可能性が考えられた。

長大な脊髄病変の有無は attack-related lesion expansion の指標として重要であり、少なくとも一部は遺伝的に規定された CTLA4 分子の関与が考えられた。

QOL 調査：評価尺度として、FAMS (MS 特異的 QOL 尺度)、NAS-J (心理適応尺度)、EQ5D (効用値) を用いた。MS 患者の QOL は、身体障害度によってのみ規定されるのではなく、むしろ、医療関係者との関係、社会・家族との関係、情報量・情報源によって大きく変わるものであり、かつ、心理的適応がきわめて重要であることが明らかとなった。患者の療養生活を改善するためには極めて重要な知見であり、今後の介入試験のターゲットとして、心理適応は重要かつ必須の要素であると考えられる。

MS における抗 AQP4 抗体の意義：血清 NMO-IgG/抗 AQP4 抗体は、OSMS の 40~60% で陽性であり、陽性例は陰性例に比べ、横断性脊髄炎や失明に至る頻度が高く、より重症化しやすい特徴があった。また LESCL を有する割合が高く、特異な病像を呈することが明らかとなった。抗体陽性例は、90% が女性、平均 40 歳代で発症、年間再発回数が多く、高度の視神経・脊髄病変を呈する例が多かった。また、抗核抗体など他の自己抗体の保有率は高かったが、髄液オリゴクローナルバンド (OB) の陽性率は低かった。抗 AQP4 抗体の抗体価はステロイドパルス療法後に低下し、また経時的検討により免疫抑制療法により抗体価が低下すると再発が減少し、臨床経過に相関する可能性が示唆された。また、血液浄化療法によっても低下することが明らかとなった。画像所見では、日本人 MS には LESCL を有するも抗体陰性の OSMS が存在し、抗 AQP4 抗体陽性 MS の LESCL は上位から中位胸髄を主座に中心灰白質に限局するのに対し、抗体陰性 OSMS の LESCL は頸髄から中位胸髄の中心灰白質から白質に拡大することが明らかとなった。抗体陰性 CMS の LESCL は頸髄に分布

し、再発期は灰白質に、寛解期には白質に限局することも明らかとなった。

間接蛍光抗体法や ELISA 法に加え、抗 AQP4 抗体の新たな検出システムとして FACS による高感度検出系を確立した。この系を用いることで生体内の native な AQP4 を認識することが可能となり、感度・特異度ともに向上することが期待される。また、抗 AQP4 抗体が認識するエプトープを検討した結果、AQP4 の第一・第四細胞外ドメインが抗原性に関わっていることが明らかとなった。

抗 AQP4 抗体価と免疫動態を検討した結果、低力価群は抗 AQP4 抗体陰性 OSMS と同様に Th1 シフトを示し、一方、高力価群は液性免疫が優位な傾向を示すことが明らかとなった。高力価群は、低力価群や抗体陰性で LESCL を伴う OSMS 群に比し高度の視力障害の頻度は同様に高い一方、横断性脊髄炎や車椅子生活になる頻度は有意に少なく、また非典型的な脳病巣 (extensive brain lesion) の頻度が有意に高かった。このような extensive brain lesion は、MRI 拡散強調画像で拡散の亢進を示すことから vasogenic edema であると考えられた。また抗 AQP4 抗体産生には HLA-DPB1*0501 が遺伝的背景因子となっている可能性が考えられた。抗 AQP4 抗体の有無と誘発電位異常との関連を検討し、抗 AQP4 抗体陽性者では抗体陰性 MS に比し視覚誘発電位での誘発不能例が有意に多いことから視神経障害が高度で、かつ体性感覚誘発電位の検討から頸髄後索路楔状束の障害が軽度であることが明らかとなった。抗 CLND1 抗体陽性率は抗 AQP4 抗体陽性 MS で高く、強い組織破壊を反映しているものと考えられた。

IgG の添加による細胞機能への影響については、抗体陽性 IgG で細胞内への液体流入の亢進が認められ、病態への本抗体の関与が示唆された。また本抗体は、培養アストロサイトからの IFN γ や IL-4 の産生を誘導し、これらのサイトカイン産生が病態形成に関与している可能性が考えられた。

MS 病変の脱髄巣では MBP が消失していた

が、同部位では AQP4, GFAP の染色性は保持されていた。一方 NMO 病変では、免疫グロブリンや活性化補体が沈着した小血管周囲を中心に AQP4 と GFAP が広範に消失していたが、MBP の染色性は比較的保たれており、両者の病理学的相違が明らかとなった。

MS とインターフェロン治療：DNA マイクロアレイを用いて末梢血リンパ球における IFN β 反応性遺伝子を網羅的に解析し、IFN β は IFN response/signaling 関連遺伝子群の他に多彩な遺伝子を素速く誘導することを見出した。また、proinflammatory chemokine/cytokine burst が IFN β 副作用の中心的な役割を果たすことが明らかとなった。

IFN β 治療開始後に予想できない急性増悪を生じた 7 例が報告された。1 例は後にシェーグレン症候群が判明し、6 例は視神経炎と 3 椎体以上の脊髄病変を有する MS であった。多数例での検討により IFN β 使用により症状増悪を認める一群の特徴を明らかにすることが急務と考えられたため、2007 年 7 月、IFN β 製剤の使用に関する全国臨床調査を緊急に開始した。その結果、IFN β 治療中止は 308 例中 114 例 (37%) で認められ、中止の理由としては副作用が 40% と最も多く、次いで患者の希望が 30% であった。抗 AQP4 抗体/NMO-IgG の有無で検討すると、治療中止は陽性群 (n=17) で 82%、陰性群 (n=45) で 44% と陽性群で有意に高率であった。また、陽性群では中止の理由として原疾患の増悪をあげたものが 36% と最も多く、次いで効果不十分ないしは無効、副作用がともに 29% であった。抗 AQP4 抗体/NMO-IgG 陽性例では IFN β への治療反応性が異なることが考えられる。

抗 AQP4 抗体陽性例に対する IFN β の治療効果に関して、単一施設での検討により以下の報告があった。(1) 3 椎体以上の長大な脊髄病変を有する OSMS 症例に対する IFN β の治療効果を、抗 AQP4 抗体の有無により比較検討したところ、抗体陽性例は IFN β 治療が無効であった。一方、抗体陰性例では IFN β 治療開始後に再発回数の減少が認

められた。(2) 抗 AQP4 抗体陽性例に対する IFN β 治療の長期効果を検討したところ、治療開始 3 ヶ月以内の再発率は陽性例でも増加せずむしろ減少傾向であったが、治療一年後では、通常型 MS で再発率が有意に低下したのに比べ、陽性例では再発率の低下が認められなかった。

各種免疫療法の作用機序の検討：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、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。また IAPP により抗 AQP4 抗体も除去できることが明らかとなり、抗 AQP4 抗体陽性例で有効な治療法である可能性が考えられた。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 の上昇を認めた。主な副作用として施行中の血圧低下であり頻度は 28/76 回 (37%) であった。抗 AQP4 抗体陽性で 3 椎体以上の脊髄病変を有する難治性 MS 3 例に対してリツキシマブ投与 (B 細胞除去療法) を行い、再発頻度が減少したことが報告された。少数例での検討であり、安全性・有効性を検討するには更なる症例の蓄積が必要である。IFN β 無効あるいは副作用により治療継続が困難であった MS 4 例に対して mitoxantrone 治療を行い、再発率の減少を認め、重篤な副作用が認められなかったことが報告された。少数例の検討であり、症例の蓄積とともに、投与期間や投与量を含めた日本人に最適な投与方法の確立が必要である。

検査法：MRS で測定される神経細胞のマーカーである N-acetylaspartate (NAA) は *in vivo* の神経機能を反映するといわれているが、MS の観察期間中の NAA/Cr の低下と EDSS の悪化には、負の相関を認めた。経過中に

EDSS の低下を認めたものでは、NAA/Cr の有意な減少があり、EDSS が不変、または上昇した群では、NAA/Cr に有意な変化はなかった。また事象関連電位や定量的脳波解析は日常の診察では見いだすことが困難な大脳機能障害を把握することが可能であった。MRI 拡散テンソルトレースヒストグラムにより normal appearing gray/white matter の機能評価を行なった結果、IFN β 未使用の患者で認められたヒストグラムの右方移動が使用患者では認められないことが示され、IFN β により MS の障害進行が抑制されることが示唆された。また、MS 脳では拡散テンソル画像 (DTI) による ADC (apparent diffusion coefficient) が低下 (浮腫を反映) し、FA (fractional anisotropy) も低下 (神経線維の破壊) していることも明らかとなった。Tractography では白質路の神経線維の connectivity の脆弱性が指摘され、通常の MRI 撮像に加え、MRS や DTI による撮像が MS の病態把握やモニタリングに有用であることが示唆された。

遺伝的背景: MS 患者の *MxA* 遺伝子調節領域の SNP 頻度を検討したところ、nt-88T アレルと nt-123A アレルが高頻度であることが明らかとなった。nt-88 の SNP に着目して、臨床画像的特徴を検討した。nt-88 に T を有する遺伝子型群では、径 3cm 以上の脳病変および側脳室周囲病変が多く、皮質下病変が少ない傾向がみられ、また IFN β への治療反応性も悪い可能性が示唆された。*MxA* 遺伝子調節領域の SNP は MS の病態修飾因子である可能性があり、その発現制御が MS の治療標的になると考えられた。

免疫病態の解析: 再発期 MS 患者では、髄液の CD4+CD25+細胞の増多が最も鋭敏な指標であったが、末梢血の同細胞は再発を検知し得なかった。また、検体採取後 1 年以内に疾患活動性の上昇を示した患者において、再発までの期間でサブグループを設定し群間解析をすると、髄液 CD4+CD25+細胞存在率と髄液細胞数のみが有意であり、対照群の平均値+2SD 値を越えると、3ヶ月以内の再発リスクが増すことが明らかとなり、

再発の予知に有用である可能性が示唆された。この細胞分画の表現型は制御性 T 細胞に属していた。また、IFN β 投与後は、CD4+CD25^{high} 制御性 T 細胞が増加し、内在性制御性 T 細胞のマーカーである Foxp3 遺伝子発現も増加していた。IFN β 治療の制御性 T 細胞機能への影響が明らかとなった。急性期 MS 髄液では、CD4+CD25+Foxp3+制御性 T 細胞が増加しているが、増加している制御性 T 細胞の機能不全が示唆された。

MS 患者末梢血でも CD28-CD4+T 細胞が増加し、しかも健常者に比べ有意に IFN γ の産生率が高く、CD28-CD4+T 細胞が病態の増悪に関与している可能性が考えられ、同細胞を標的とした治療法開発につながる可能性がある。

マウスで同定された臓器特異的自己免疫疾患の発症に重要な IL-17 産生 CD4+T 細胞 (Th17 細胞) が MS 患者末梢血の CD4-CD8-double-negative T 細胞分画に存在することが明らかとなり、ヒト MS でも Th17 細胞が病態に関与している可能性が考えられた。脳炎惹起性 T 細胞が発現するケモカイン受容体に着目して解析した結果、CCR2 陽性 CCR5 陰性 T 細胞はヒト IL-17 産生細胞 (Th17) であり、ヒト Th17 細胞の移動、遊走には CCR2-CCL2 系が重要であることが明らかとなった。一方、CCR2 陽性 CCR5 陽性の集団には Th1 細胞が含まれることも明らかとなった。これらの知見は MS の免疫病態を解析にきわめて有用な情報を与えるものである。

IL-2 を介して IL-5 を主とした Th2 優位のサイトカインを産生する CD4 陽性 NKT 細胞クローンの一群が存在することを明らかにし、これらが Th1 偏倚を是正する調節細胞として働きうる可能性が指摘された。MS の病態への関与が考えられ、今後の治療標的になりうると期待される。

MS 患者由来末梢血 T 細胞を用いたマイクロアレイ解析により同定したオーファン核内受容体転写因子 NR4A2 が、病原性 T 細胞のサイトカイン産生を特異的に制御することが明らかとなった。NR4A2 を標的分子と

する MS の新規治療法の開発に繋がる可能性がある。

MS 髄液中では Angiotensin II が低下、ACE が上昇、ACE2 が低下していることが示された。これは Angiotensinogen (AGT) を含有する血管周囲性アストログリアが病勢の進行とともに減少するため Angiotensin II が減少することによる。ACE の上昇はその代償機構と考えられる。Angiotensin II は血液脳関門 (BBB) の tight junction protein である claudin の発現を増強させるため、Angiotensin II の減少は BBB の透過性亢進を促している可能性がある。また AT2 受容体刺激が神経損傷を軽減し神経分化を促進することから、髄液中 Angiotensin II の低下は AT2 受容体を介した神経保護作用を低下させている可能性があり、今後治療の標的となりうる可能性が考えられた。

OSMS の病巣形成機序：血清 myeloperoxidase (MPO) は OSMS であれ CMS であれ再発期、寛解期 とも高値を示す。特に OSMS で長大な脊髄病巣を伴う例でより高い傾向があり、重症度との相関が認められた。髄液 IL-17/IL-8 が OSMS の再発期に上昇し、脊髄病巣の長さとは有意な正の相関を示すことから、脊髄病変には Th17 細胞とその下流の IL-8 やそれが遊走を促す好中球の関与が示唆された。このような IL-17 の上昇は、HAM やシェーグレン症候群関連脊髄炎やアトピー性脊髄炎では全くみられないことから、この結果は MS における Th17 細胞の関与を強く示唆するものとして極めて重要である。また MS では血清 VEGF が OSMS で特に高値となり、脊髄病巣の長さとは有意な正の相関を示すことが明らかにされた。これは血管透過性の亢進が長大な脊髄病巣の形成に寄与することを示すと考えられる。

血液脳関門についての検討と治療効果のメーカーの検索：脳毛細血管由来血管内皮細胞は IFN β によって、CCR1、CCR2、CCR4、CXCR4 などの chemokine receptor が down-regulation され、IFN β はリンパ球の接着に関して抑制的に作用することが示唆された。TLRs に関しては、TLR2 の亢進と

TLR2 関連遺伝子として MyD88, TRAF ファミリーの発現を増強することが明らかとなった。血清中の TRAIL 濃度は、IFN β 投与中の MS 患者で有意に高値であり、TRAIL は MS の活動性と相関する MMP-9 と負の相関を示した。このことから、IFN β が BBB レベルにおいても MS の再発予防効果を発揮していることが明らかとなった。

動物モデルを用いた新規治療法の開発：Midkine (MK) ノックアウトマウスを作成し EAE との関連を検討した。MK 欠損マウスでは EAE 発症が抑制され、CD4+CD25+制御性 T 細胞が有意に増加しており、Th1 優位の自己免疫反応が抑制されていた。また MK に対する RNA アプタマーも EAE を有意に抑制し、さらに EAE 発症後に MK アプタマーを投与することによっても、EAE 臨床症状の改善が見られた。これらの結果は MK が制御性 T 細胞を抑制しており、MK に対する抗体あるいはアプタマーにより MK を抑制することにより、MK による制御性 T 細胞の抑制を解除し、制御性 T 細胞を増加させることが出来、自己免疫機序の発現を抑制したものと考えられる。MK の抑制が MS をはじめとする自己免疫疾患の治療薬になりうる可能性があり期待される。

その他、アストロサイトの機能改善薬 arundic acid や トロンビン阻害薬、ビタミン K2、エダラボン、 ω 6 系の必須脂肪酸、ギャップ結合阻害剤 carbenoxolone (CBX) や グルタミンナーゼ阻害剤 6-Diazo-5-oxo-L-norleucine (DON) といったグルタミン酸毒性阻害剤にも EAE 発症あるいは再発予防効果があることが確認され、今後の作用機序解明とともに臨床応用が期待される。

また TMEV-IDD を用いた EAE の系において、エストロゲン投与はウイルス複製および NF κ -B 機能の抑制を介した活性化免疫担当細胞の中枢神経系内への浸潤の抑制と同様に免疫応答の誘導にその効果を発揮することが明らかとなった。経口的にタイラーウイルスを投与する事により、TMEV-IDD が抑制される事が明らかになった。

MS モデルを用いた病態解析：EAE の慢性化にはアストロサイト由来の IL-12 が関与し、抗原特異的メモリーT 細胞の中樞神経内存続が病状の遷延に関与している可能性が示された。Theiler ウイルス非構成蛋白 L はウイルス増殖に関与しており、57 番目のアミノ酸がその役割を担っていることを明らかにした。さらにこのアミノ酸（セリン）をプロリンに置換した変異ウイルス DALpro 作成し、DALpro を SJL/J マウス脳内に接種することで、組織破壊性の強い壊死病変が形成されることを明らかにした。野生株 DA に比較して DALpro 接種群は、慢性期の脳において白質の海綿状変化や壊死などの変化が強くなるとともに活性型ミクログリアと CD8+リンパ球が増加しており、病変の形成にこれらの免疫担当細胞の関与があるものと考えられた。

(2) MG

臨床疫学研究：2005 年 MG 全国臨床疫学調査の結果、患者数は 15,100 人(男 5,600 人、女 9,500 人)と推定された。男女比は 1:1.7 で、人口 10 万人当たりの有病率は 11.8 人と計算された。1987 年の調査時(患者数；6,000 人、有病率；5.1 人/10 万人)に比べ、患者数・有病率ともに 2 倍以上に増加している現状が明らかとなった。また、65 歳以上発症例は 1987 年には 3.9%にすぎなかったが、2006 年調査では年齢補正前で 16.8%、1987 年を基準とした年齢補正後で 9.6%と、1987 年調査時と比べて高齢発症例が増加していることが明らかとなった。胸腺腫合併例も 33.8%と増加していた。

MG の臨床調査個人票データベースを用いて患者の年齢分布や治療状況を中心とした解析を行った。データが入力されていた患者数は 5,881 人であり、胸腺摘除術は 63.6%、ステロイド治療は 60.4%が受けておりタクロリムスは 13.4%に投与されていた。

75 歳以上の高齢発症 MG の臨床像を検討し、女性の比率が高く、球症状が高率で重症例が多いことが明らかとなった。副腎皮質ステロイド剤による治療を要する症例が多く、副作用の合併率も高いことが明らか

となった。副作用の少ない治療法確立が望まれる。

臨床病態：seronegative MG 患者血清を用いて RIA 法による抗 MuSK 抗体測定を行い、抗 MuSK 抗体陽性 MG 患者 70 症例を集積した。その臨床的特徴は下記の通りに要約される。

(1) 男女比は約 1:3 で女性優位。眼症状、球症状が初発症状として多く、頸部筋力低下、呼吸不全が進行する。クリーゼを来しやすい。(2) 約 30%に筋萎縮を伴う。(3) 胸腺腫を合併しない。抗 AChR 抗体陽性 MG と比べると抗 MuSK 抗体陽性 MG ではバセドウ病の合併が非常に少なかった。(4) 治療はステロイド薬が第一選択と考えられる。抗コリンエステラーゼ薬は効果が乏しい症例、fasciculation などの副作用がみられる症例もあり、その投与には慎重を期すべきであると考えられた。重症・難治例にはステロイドパルス療法、血漿交換療法、免疫抑制薬投与を考慮する必要が考えられた。

(5) 胸腺摘除術の適応は少ないと考えられた。しかし、以上のような臨床像とは異なり、ミオパチーや運動ニューロン病様の経過をとり診断に苦慮した症例など、抗 AChR 抗体陽性 MG とは非常に異なる症例もしばしばみられることも明らかとなった。Seronegative MG が疑われた場合には、顔面筋まで含めた電気生理学的検査に加え、抗 MuSK 抗体測定が必要であると考えられる。治療については現時点ではステロイド薬が第一選択と考えられ、胸腺摘除術の適応は少ないと考えられる。今後の課題として、更なる症例の集積とともに、これらの知見に基づいた治療指針作成が挙げられる。

眼筋型 MG の全身型移行因子を検討した結果、抗 AChR 抗体が陽性であり、かつ誘発筋電図における反復刺激試験での異常所見が 2 筋以上で陽性であることが、全身型への移行因子として重要であることが明らかとなった。また、MG における嚥下障害は咽頭相・食道相の異常が主体であり、舌骨上筋群や咽頭収縮筋等の嚥下関連筋群の筋力低下に由来するケースが多く、誤嚥や咽頭残留の原因となっていることが明らかとなっ

た。

MGの免疫動態: MGの過形成胸腺ではリンパ球と樹状細胞の遊走に重要なケモカイン受容体CCR7のリガンドCCL21の発現が上昇していることが明らかとなった。また抗体産生を制御するケモカイン受容体CXCR5を発現するCD4+T細胞が末梢血で優位に増加していた。これらの変調は治療後に正常化することも明らかとなった。

正常胸腺に比較して胸腺腫ではAIREの発現は低かった。しかしAIREの発現は組織型間で差はなく、抗AChR抗体の陽性、陰性の胸腺腫の間にもAIRE発現の差はなかった。AIRE発現低下の意義を今後明らかにする必要がある。

胸腺組織面積率は、MG群においても対照群と同様に、年齢に逆相関して低下する傾向を認めた。60歳後半以上では、胸腺組織面積率はMG群と対照群に差を認めず、またCD21陽性あるいはKi-67陽性の胚中心形成もほとんど認めなかった。これらの結果から、高齢MGでは若年MGよりも胸腺の病態への関与が低いことが示唆された。

MGの自己抗体: 可溶性マウスMuSK蛋白を抗原として抗MuSK抗体陽性MGラットを作製することに成功した。このラットでは抗MuSK抗体価は上昇し、神経筋接合部では運動終板のAChRやMuSK量の減少、形態異常が高頻度にみられ、抗MuSK抗体が運動終板に対して病原性を有することが示された。抗MuSK抗体陽性MGの病態解明に役立つモデルである。しかしこのモデルでは神経筋伝達阻害は証明できず、また抗MuSK抗体の吸収実験で神経筋伝達を阻害する抗MuSK抗体以外の液性因子が存在する可能性も示唆され、抗MuSK抗体が神経筋伝達を阻害しない可能性も考えられた。今後の解析が期待される。抗MuSK抗体がアセチルコリンエステラーゼ(AChE)に及ぼす作用について微小電極法を用いて検討し、抗MuSK抗体がAChEの作用を阻害してAChRの開口時間を延長することを明らかにした。この作用は抗AChR抗体では認められず抗MuSK抗体に特徴的な作用と考えられ、抗MuSK抗体陽性

のMG患者の発症機序の一つである可能性がある。その機序として、運動終板でAChEが減少してAChが過量になることでAChRチャンネルが開口を繰り返し、その結果、脱分極性ブロックを生じて筋力低下を引き起こす、またAChがシナプス間隙で過量になることでAChRチャンネルは脱感作を生じて開口しなくなり筋力低下を引き起こすことなどが考えられる。

胸腺腫を合併したMG患者の血清中の、リアノジン受容体(RyR)に対する自己抗体を検出する測定系を確立した。また胸腺腫を合併したMG患者の血清中には、ジヒドロピリジン受容体(DHPR)に対する自己抗体が存在することを見出し、胸腺腫合併MGでは、興奮収縮連関をも障害する自己抗体が産生されていることが明らかとなった。両抗体ともIgG subclass 1が多く、補体介在性障害を助長していると考えられる。胸腺腫合併例には非合併例と異なる病態が存在している可能性があり、胸腺腫合併MGの治療には、非合併例とは別のアプローチが必要なが考えられる。

抗AChR抗体陽性MGの約9%に、ヒト胎盤由来アルカリフォスファターゼに対する抗体が特異的に出現することが明らかとなった。本抗体陽性群は眼筋型が含まれない、重症例が多いなどの特徴を有しており、MGの新しい自己抗体として重要である。また、抗Kv1.4抗体は球症状やクリーゼを合併する重症型MGに関連する可能性が示唆された。

MGの治療: タクロリムスの長期投与の有効性について多数例で検討した結果、治療初期よりタクロリムスを使用した群ではステロイドの使用量が少ない傾向にあった。有害事象も適切な対応で改善し、長期的観点からも安全に使用しうることが示された。また小児期発症MGでも、成人発症例と同様にタクロリムスは十分な臨床効果とステロイド減量効果を示した。

タクロリムスとプレドニゾロン併用によりTh1細胞は抑制されTr1細胞の活性化が惹起されることが明らかとなった。

胸腺腫合併 MG で術前ステロイドパルス療法の効果を検討した結果、組織型が B1 型である胸腺腫がもっとも術前ステロイドパルス療法により腫瘍の縮小率が大きいことを明らかになった。

(3) GBS、FS

臨床疫学研究：GBS の疫学調査を行い、集積された 221 例の解析を行った。その結果、わが国における AIDP は 46%、AMAN は 16% であり、欧米に比べて AMAN の頻度が有意に高いことが明らかとなった。

臨床病態：急性運動失調型ニューロパチー (AAN) の位置づけを検討した。AAN は若干の臨床的差異を除けば急性感覚性ニューロパチー (ASAN) との類似性が高く、連続性のある疾患と考えられた。また急性感覚性ニューロパチーの臨床像を検討したところ、上気道感染が先行し自己免疫学的機序の関与が推測されたが、抗ガングリオシド抗体との関連は見られなかった。

口咽頭・頸部・上腕型 GBS (PCB) の臨床像を多数例 (n=92) で解析した。その結果、PCB でも *C. jejuni* が主要な先行感染病原体であり、抗 GT1a 抗体がもっとも高頻度で認められ、FS の合併例では抗 GQ1b 抗体の関与が考えられた。PCB/GBS 群では呼吸障害が有意に多かった。また FS に対する免疫グロブリン療法など免疫療法の効果を検討した。その結果、免疫グロブリン治療群、血漿交換治療群、無治療群のいずれも 6 ヶ月～1 年後には寛解に至っており、治療群間に有意差はなく、FS は予後良好であることが示唆された。

免疫病態：*C. jejuni* 菌体抗原感作による実験的神経炎の作製に初めて成功した。臨床的には発症率は約 70% であり、GBS など炎症性末梢神経障害の発症機序の解明に役立つことが期待される。

IgG 抗 GQ1b 抗体陰性 FS 24 例を対象に、ガングリオシド複合体、およびカンピロバクター・リポオリゴ糖 (LOS) に対する IgG 抗体を測定した結果、GM1/GT1a 複合体抗体 (24 例中 4 例 ; 17%) や GD1c 様 LOS ないしは GalNAc-GM1b 様 LOS に対する IgG 抗体 (24

例中 6 例 ; 25%) が陽性である症例が存在することが明らかとなった。FS では IgG 抗 GQ1b 抗体に加え、GM1/GT1a 複合体抗体や GD1c や GalNAc-GM1b に対する抗体も補助診断マーカーとして有用である可能性がある。

FS12 例中 4 例は GQ1b 特異的、5 例は GQ1b/GM1 複合体特異的、2 例は GQ1b/GD1a 複合体特異的抗体を有し、1 例は抗体陰性であった。GBS の抗 GD1b 単独陽性抗体の活性は、GD1a、GT1a、GT1b、GQ1b、GalNAc-GD1a との複合体に対して 50% 以上の低下を示した。また失調群 (9 例) において、非失調群 (6 例) と比較して抗体活性の減少の程度は有意により大きかった。Bickerstaff 型脳幹脳炎 (BBE) では GQ1b 特異的抗体の頻度が MFS や GBS に比して高かった。GBS のみでなく FS でもガングリオシド複合体抗体の存在が明らかになり、複合体の標的としての重要性が示唆された。単独抗原に特異性の高い抗体が複合体に対して反応が弱くなったことは、相互作用によりガングリオシドの構造変化をきたすとの仮説に合致するものである。GBS の失調や BBE の病態には GD1b や GQ1b に特異性の高い抗体が重要と考えられた。

Campylobacter jejuni の産生する Dps 蛋白 (C-Dps) の末梢神経に対する *in vivo* の作用を検討するために、ラット髄腔内に C-Dps を持続注入し、馬尾神経を免疫組織病理学的に検討した。その結果、C-Dps 注入群では、軸索変性や脱髄などを呈する神経線維を 6.36% に、コントロールでは 3.05% に認め、C-Dps 群で有意に高かった ($p=0.0048$)。また C-Dps 注入群の一部ではマクロファージの浸潤を認めた。解きほぐし標本では、C-Dps の沈着と、ランビエ絞輪部での Na チャネルの染色性の低下を認めた。C-Dps の髄腔内注入により、軸索 (Ranvier node) ・ paranode の障害が惹起されることが確認された。

病理：ホスファチジン酸添加下で抗 GD1b 抗体が陽性であった感覚失調性ニューロパチーを病理学的に検討した。後根と脊髄後索に脱髄を認め、抗 GD1b 抗体の関与が考えら

れた。

血液神経関門についての検討：自己免疫性末梢神経障害において鍵となる血液神経関門 (blood-nerve barrier ; BNB) を構成する神経内膜内微小血管内皮細胞の初代培養を行い、BNB *in vitro* model を確立し、血液脳関門 (blood-brain barrier ; BBB) との比較を行った。その結果、BNB の首座である微小血管内皮細胞は BBB 構成内皮細胞と共通な性質を多く保持するバリアに特化した内皮細胞群であると思われるが、OAT3 などのトランスポーターは発現しておらず、BBB 構成内皮細胞とは異なる側面をもった細胞であると考えられた。今後は難治性自己免疫性末梢神経疾患の新たな治療法開発への応用が期待できる。

(4) CIDP、ルイス・サムナー症候群、クロー・フカセ症候群

CIDP の全国疫学調査を行った。その結果、有病率は 1.61/10 万人であり、発症率は 0.48/10 万人であった。地域偏倚性は認められなかった。高齢にともない有病率・発症率は増加傾向を示した。性差では中年・高齢群で男性の優位性が示されたが若年群では同等～女性の優位性が示された。長期予後的には慢性進行型、および筋萎縮が予後不良である因子であり、ADL の改善に乏しいことが明らかとなった。

CIDP の約 30% に潜在的な中枢神経病変が存在し、このような例はむしろ IVIg などの免疫療法に対する反応性がよいことが明らかとなった。また、MG や CIDP などの難治性の免疫性神経疾患に対するシクロスポリンの有効性が示された。

検査では、多巣性運動ニューロパチー (ルイス・サムナー症候群) をはじめとする免疫性ニューロパチーの診断における神経超音波検査の有用性が示唆され、非侵襲的な検査として期待される。

最大随意収縮後の活動依存性伝導ブロック (ADCB) が神経根磁気刺激で検出されることが証明された。本検査法は、多巣性運動ニューロパチー (MMN) と筋萎縮性側索硬化症 (ALS) との鑑別に有用で、神経伝導検

査で明らかな伝導ブロックを認めずとも IVIg に反応する可能性のある MMN 患者を検出できる可能性があり注目される。

クロー・フカセ症候群の新規治療法の確立を目的に、自己末梢血幹細胞移植療法およびサリドマイド療法を実施した。自己末梢血幹細胞移植療法を行った 9 名全員に劇的な臨床症状の改善、VEGF の低下、神経伝導検査所見の改善を認めた。重篤な副作用は認められなかった。サリドマイド療法を行った 9 名中 7 名で臨床症状の改善と VEGF の低下を、2 名で症状の進行抑制がみられた。1 名で中等度薬疹がみられたが重篤な副作用は認められなかった。

(5) HAM

HAM 発症に関わる宿主因子の研究において、IL-10、aggrecan の遺伝子多型が HAM 発症に関与することが明らかとなった。また、イランにおける HAM 患者と日本の HAM 患者では、宿主側の遺伝的多型が異なることが明らかになった。

HAM 患者では無症候性キャリアと比較して末梢血リンパ球中の HTLV-1 env 特異的 CD4+ T 細胞が高頻度に検出されること、CD8+CD28-細胞が HAM 患者で低いことが明らかとなった。

HAM では HTLV-I のみならず CMV 特異的 CTL の頻度が高く、Foxp3 の発現が低下していることを見出した。Foxp3 の発現低下がこれらのウイルスに対する CTL 反応の異常に関与している可能性が示唆された。

HAM では脊髄内に HTLV-I 特異的 CTL が集積して発症に関与していることを *in situ* pentamer 法にて証明した。HTLV-I 感染細胞と HTLV-I 特異的 CTL が末梢血から脊髄に流入し炎症を惹起し、局所で炎症性サイトカイン等を産生し HAM の脊髄傷害が起こっていることが考えられた。HAM では 3 個のエピトープ部位に CTL の淘汰圧がある、すなわち CTL がウイルス排除に働いているにもかかわらず、ウイルス自身の変異株は経過中優位になっていないことが明らかとなった。このエピトープは CTL ワクチンの候補となりえる。

HAM 患者の生体内感染細胞は、ほとんどが高分化したエフェクター・メモリー細胞であり、一部は制御性 T 細胞に感染していることが明らかとなった。HLA-A24 はウイルス量を減少させるが、HAM 発症のリスクとなることが明らかとなった。さらに HLA-A24 特異的 CTL は、HAM 発症に関与している可能性が推定された。

HAM 患者由来 HTLV-I 感染 T 細胞株では対照 HTLV-I 感染 T 細胞株と比較して、pull-down assay において small GTPase である Rho、Rac、Cdc42 に強い活性化が認められることが明らかとなった。さらに Rap1 でも同様の結果であった。integrin blocking 抗体による HTLV-I 産生抑制実験では対照 HTLV-I 感染 T 細胞株では抑制効果がみられなかったにもかかわらず、HAM 患者由来 HTLV-I 感染 T 細胞株では HTLV-I tax mRNA の発現に影響を及ぼすことなく、強い抑制効果がみられた。これらの結果は HAM 患者由来の細胞株では integrin/ligand signaling の活性化が HTLV-I の産生、すなわち HTLV-I の細胞外放出において重要な役割を果たしていることを示している。

HTLV-I は integrin/ligand を介して cell-to-cell で感染を伝播するが、HAM 患者 HTLV-I 感染細胞では integrin/ligand signaling の活性化を通して HTLV-I の効率のいい伝播を生じさせている可能性が示唆された。

HTLV-1 bZIP factor (HBZ) 遺伝子の発現を検討し、HBZ mRNA の発現量が、HAM 患者では無症候性キャリアより有意に高値であること、HTLV-1 プロウイルス量のみならず HAM の運動障害度、髄液中ネオプテリン濃度の双方と有意な正の相関を示すことが明らかとなった。HAM 発症に HBZ 遺伝子が関与する可能性が考えられる。

南九州在住の HTLV-I 陽性封入体筋炎の疫学、病態解析を行い、全例に炎症細胞浸潤、rimmed vacuole を認め、proviral DNA を helper inducer T cell で証明し得た。HTLV-I 感染が封入体筋炎の発症に関与していることが明らかとなった。

Minocycline 投与により歩行状態の改善が見られ、末梢血 HTLV-I proviral DNA 量の有意な減少、血清 TIMP-1 の増加 (MMP-9/TIMP-1 は減少傾向)、血清 MMP-2 の増加が認められた。Minocycline が HAM 治療において、副腎皮質ステロイド剤や IFN α の代替または補完になりうる可能性がある。また、Prosultiamine 投与により HAM 患者の末梢血 HTLV-1 プロウイルス量は減少し、HTLV-1 感染細胞に対して抗ウイルス薬として作用することが明らかとなった。HAM に対する新規治療薬と成り得る可能性がある。

(6) 傍腫瘍性神経症候群

担癌患者でも傍腫瘍性神経症候群を発症する症例は限られていることから、そこに存在する宿主要因、免疫動態の異常を検出すべくリンパ球サブセットと Foxp3 の発現を調べた結果、傍腫瘍性神経症候群では Foxp3 発現が減少していることが明らかとなり、傍腫瘍性神経症候群では自己免疫寛容が障害されている可能性が示唆された。

(7) ADEM、アトピー性脊髄炎、その他の脳脊髄炎

ADEM: 多施設共同で ADEM 症例を集積し、臨床データを解析した。発症年齢の中央値は 7 歳 (11 か月～51 歳) で、24 例が感染後、4 例が予防接種後であった。74% に発熱を認め、歩行障害 (58%)、意識障害 (45%) で発症し、軽度の炎症所見 (白血球数平均 $11,000/\mu\text{l}$ 、CRP 平均 0.84mg/dl) と髄液細胞増多 (平均 $92/\mu\text{l}$) を認めた。病変は皮質下白質 (57%)、脳室周囲白質 (63%)、脳幹 (43%)、小脳 (33%)、脊髄 (27%) に認められた。また、灰白質病変を主体とする ADEM4 例 (上記 ADEM には含まれていない) の解析では、全例が散在性の灰白質病変を持ち、可逆性で单相性の経過であり、臨床像の特徴、画像上の特徴ともに典型的 ADEM 症例と類似していた。この一群は ADEM の特殊型と考えられ、典型的 ADEM と同様、自己免疫応答が関与すると考えられた。MS との関連が報告されている *HLA-DRA* 遺伝子、*IL2RA* 遺伝子、*IL7R* 遺伝子、*CTLA4* 遺伝子