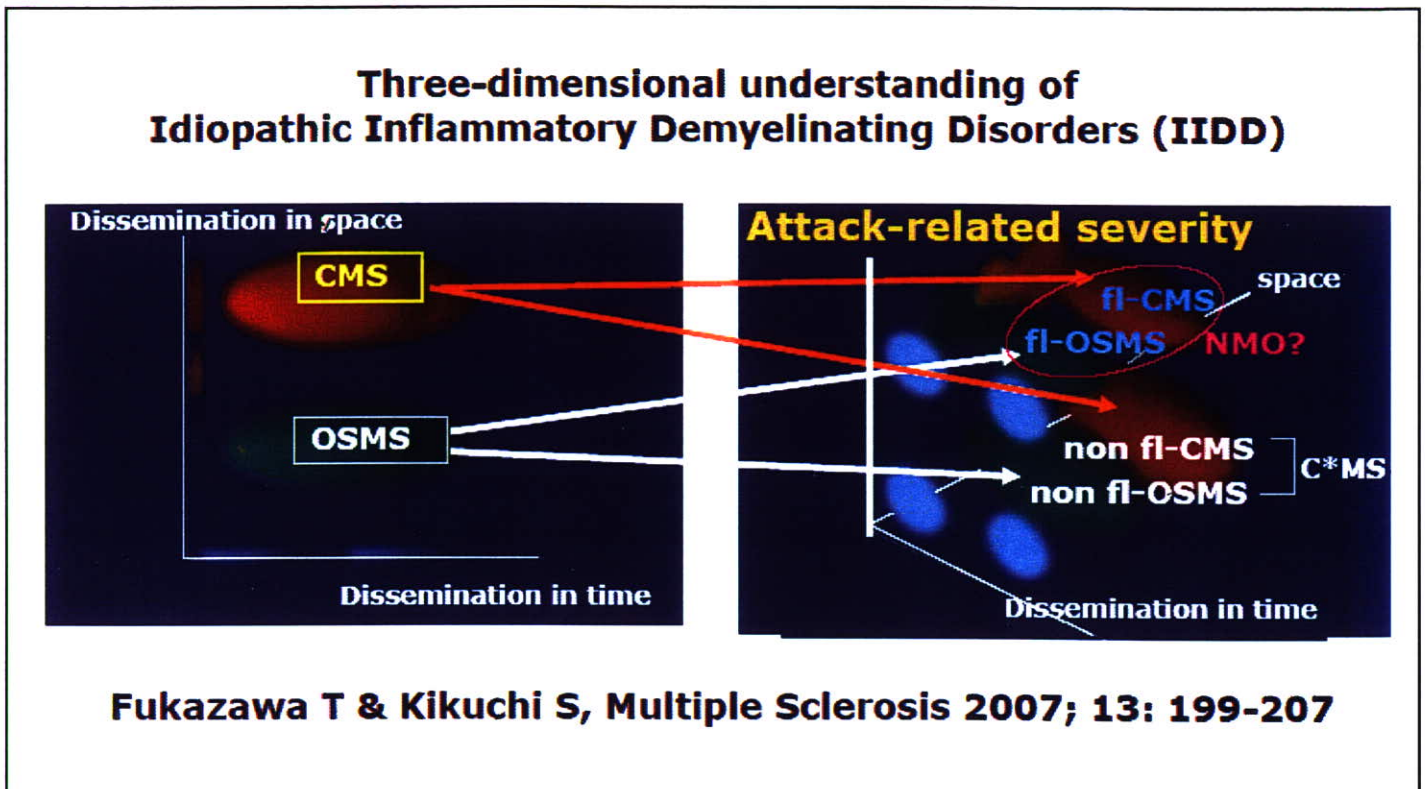


## Attack related severityの重要性



### 解 説

＜目的＞これまで、我々は、「特発性炎症性脱髄疾患(IIDD)」あるいは「MS症候群」を理解する上での“attack-related severity”の重要性を検証し、それを規定する関連因子、特に遺伝的背景としてのHLA及びCTLA-4遺伝子多型との関連の有無を検討した。

＜方法＞三年以上に渡って経過観察が可能であった再発寛解型あるいは二次進行型MS患者を対象に臨床所見、HLAやCTLA-4の遺伝子多型等を検討した。

＜結果＞日本のMSの特徴の多くは“attack-related severity”と強く関連し、少なくとも3椎体以上の病変(LESCL)を有する症例群は、それ以外の群とは異なる病態機序を有していると考えられた。また、それらには、CTLA-4やHLAなどの遺伝子多型が関与している可能性が考えられた。

＜結論＞日本のMSの特異性は、臨床経過及び病変分布、そして“attack-related severity”を含めた3つの軸に基づいた三次元的分類/理解が有用である。

# Neuromyelitis Optica (NMO)における 抗アクアポリン4(AQP4)抗体の意義

## 1) 診断的意義 (NMO特異的自己抗体)

ヒトAQP4発現細胞を用いた高感度抗体検出法の開発

**NMO (3椎体以上の長い脊髄炎、重症視神経炎) の約90%で陽性**

古典的MSは陰性

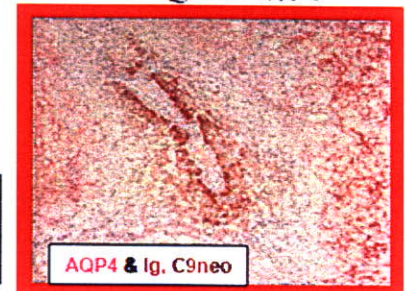
## 2) 病理病態的意義

**NMO病変ではAQP4、GFAPの広範な消失、MBPは比較的残存**

免疫グロブリン及び補体沈着血管周囲 (MSではみられない) Ig & C沈着血管周囲で

AQP4抗体価は病勢に従い変動 → 治療マーカーの可能性

AQP4発現細胞に患者血清中のAQP4抗体が結合



**NMOはAQP4を標的としてアストロサイトを障害する疾患  
(MSと根本的に異なる疾患概念)**

## 解説

<目的> Neuromyelitis Optica (NMO)における抗アクアポリン4(AQP4)抗体の意義を検討した。

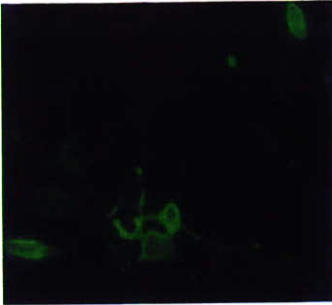
<方法> ヒトAQP4をトランスフェクトしたHEK293細胞に患者血清を添加し、間接蛍光抗体法にてAQP4抗体の有無、抗体価、臨床診断、MRI所見などとの関連を解析した。NMO病変におけるAQP4、GFAP、MBPの免疫染色性を検討した。

<結果> ヒトAQP4発現HEK293細胞を用いて高感度の抗体検出法を開発した。この方法を用いると3椎体以上の長い脊髄炎及び重症視神経炎を呈するNMO症例の約90%が陽性だったが、一方古典的MS症例は陰性だった。NMO病変では、アストロサイトに特異なタンパクであるAQP4及びGFAPの染色性が広範に消失し、特に免疫グロブリンや活性化補体の沈着した血管周囲で顕著だった。一方ミエリンタンパクであるMBPの染色性は比較的残存していた。MSでは逆に、MBPの消失した脱髄病変ではAQP4、GFAPの染色性はやや高まっていた。AQP4抗体値は再発の多い時期に高く、免疫抑制療法により抗体価が低下すると再発が減少する傾向がみられた。したがって治療のマーカーとしての意義が期待される。

<結論> NMOはAQP4に対する自己免疫を基礎にしてアストロサイトを障害する疾患であり、脱髄は二次的障害と考えられる。NMOはMSとは根本的に異なる疾患概念である。

# 抗AQP4抗体測定系の確立と抗体陽性例の臨床的特徴 および抗体の細胞機能に及ぼす影響の検討

ヒトAQP4を発現させたHEK細胞  
を用いた抗AQP4抗体の検出

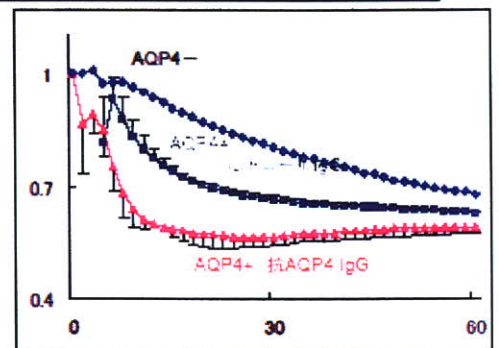


AQP4-Ab 陽性例の 特徴

陽性例 (男性 / 女性)	115 例 (13/102 , 女性 88.7%)
検査時年齢	50.17±15.46
発症時年齢	43.94±15.91
EDSS スコア	5.61±2.30
初発 部位	脊髄 :32, 腎臓 :33, 大脳 :5, 脳幹 :5
MRI	Long cord lesion (LCL):95(84%) (うち 脳幹 23), 大脳 :74(68%), 脳幹 :8(11%)
失明 / 高度視力 障害	49 (46.2%)
年間再発回数 (平均)	3.64
自己 抗体 / 免疫疾患	36 (43.9%)
Oligoclonal band	12 (12.8%)

抗体はAQP4の水チャネルとしての機能を傷害するか？

抗AQP4 IgG存在下でAQP4 / GFP発現細胞に浸透圧負荷をかけると、コントロールIgG存在下に比べ蛍光強度の低下が速やかに生じる。



## 解 説

＜目的＞抗AQP4抗体陽性視神経脊髄型多発性硬化症の臨床的特徴を明らかにし、抗体の神経障害に及ぼす影響を検討するため、抗AQP4抗体測定系を確立する。

＜方法＞ヒトAQP4全長のcDNAを発現ベクターを用いてHEK293細胞に発現させ、患者血清・髄液を反応させて蛍光色素をラベルした抗ヒトIgGで検出する。

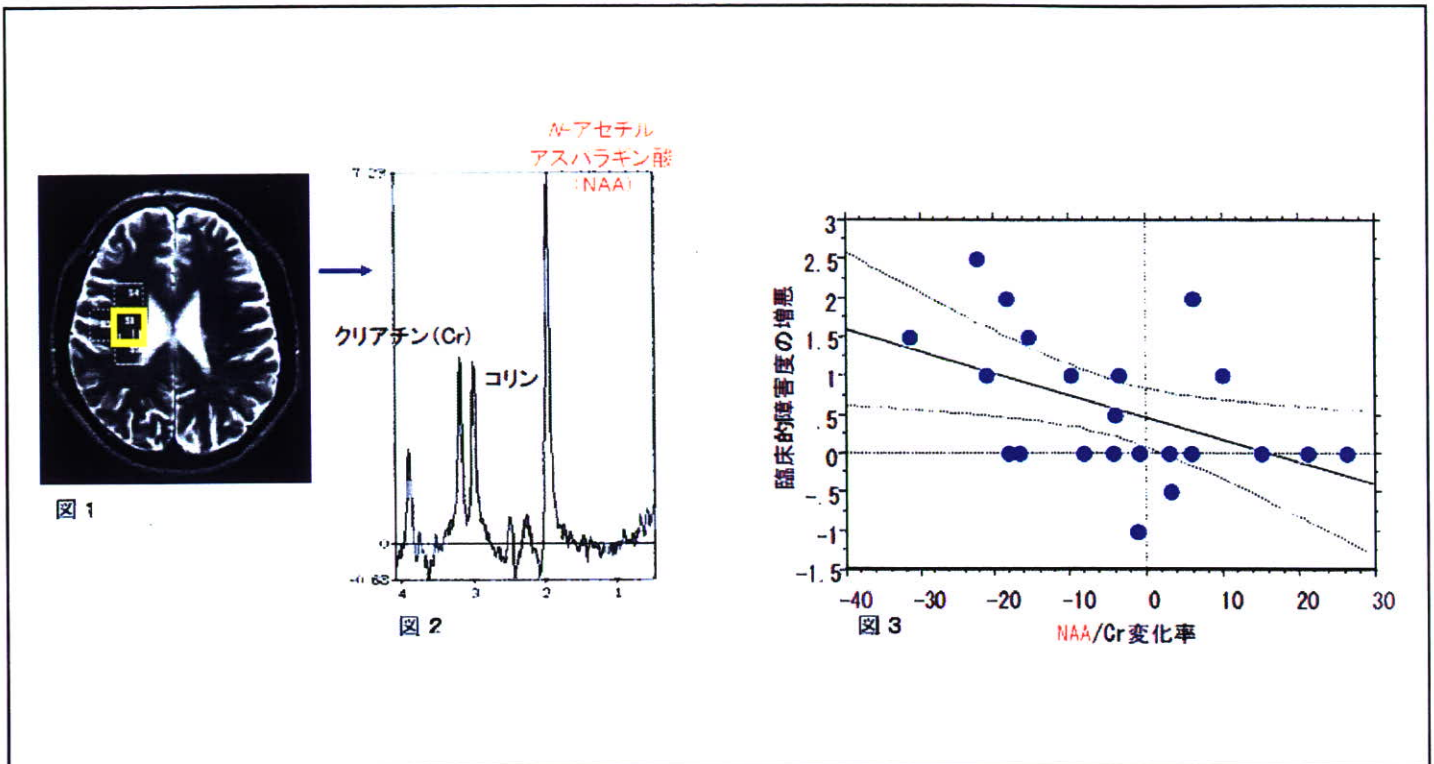
＜結果＞1. 脊髄に3椎体以上の長病変を有するOSMS(L-OSMS)では、約68%で抗AQP4抗体が陽性であった。抗体陽性例は女性に多く、発症年齢が遅く、高度の視神経障害を呈する再発回数の多い一群である。

4. AQP4を発現する細胞にAQP4抗体IgGを作用させることで、細胞膜の水透過性亢進が生じることが認められた。

＜結論＞

抗AQP4抗体陽性例は一定の特徴を有し、NMO/long cord lesionを有するOSMSの特異的マーカーと考えられた。また、AQP4を発現させた細胞に本抗体を直接作用させることにより細胞膜の水透過性に影響を及ぼすことが確認でき、抗体が病態に参与する可能性が示唆された。

## 多発性硬化症のMRSによる経時的評価



### 解説

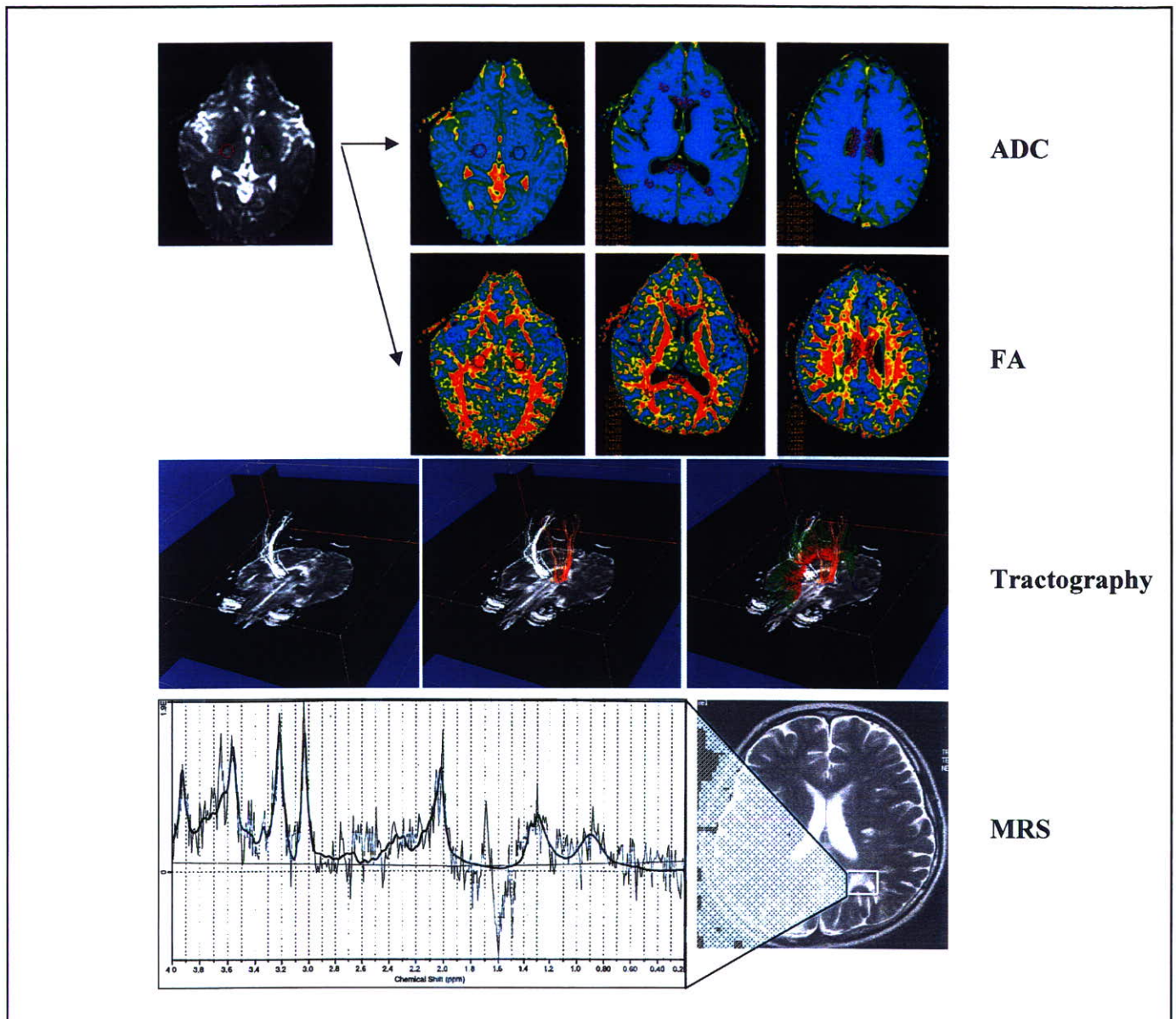
【目的】磁気共鳴スペクトロスコピー(MRS)は多発性硬化症(MS)の脳障害評価法として確立している。本研究では、MRSの経時的変化と臨床経過との関連を調べ、MRSがMSの機能予後を予測するマーカーとなりうるか否かを検討した。

【方法】診断確実なMS患者22名(男性10人、女性12人、平均年齢 33.2 ± 8.5 歳)に対し経時的にMRSを施行し、EDSS、再発回数、脳萎縮との関連性を評価する。

【結果】MRSで得られるN-アセチルアスパラギン酸/クレアチン比(NAA/Cr)は神経細胞のマーカーである(図1, 2)。MS患者に対し、3～5年間の経過観察期間で、MRSを繰り返し施行した。NAA/Crの変化率と障害度の増悪は負の相関を認め、NAA/Crが低くなる患者ほど障害度は著しく進行した(図3)。

【結論】MRSはMSの機能予後の推定に有用である。

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



## 解説

1. 目的:新しい撮像方法を用いてのMSの画像解析.
2. 方法:MS患者, 健常者でDTI, MRSによる撮像を行い, 前者でADC, FA, tractographyの, 後者でMRSによるchemicalのピーク値の比較検討を行った.
3. 結果:MS群でのFA値の低下, tractographyにおける神経線維数の減少を認めた. MRSでもMS群ではNAA(神経軸索を反映)値の低下を認めた.
4. 結論:新しい撮像方法はこれからのMSの臨床モニタリングに有用である.

# 多発性硬化症の疾患活動性マーカーの確立

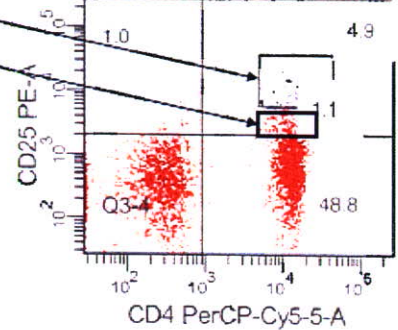
表1

	急性増悪期 n=6	症状安定期 n=6	p value
※疾患			
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> (%)	2.74 ± 1.02	1.85 ± 1.17	NS
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> CD45RO <sup>+</sup> (%)	2.29 ± 0.59	2.15 ± 0.39	NS
※検査			
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup> (%)	mean, 3.9 (n=2)	mean, 2.9 (n=2)	not suitable for analysis
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>low</sup> (%)	5.34 ± 1.61	1.06 ± 0.45	< 0.0001
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> CD45RO <sup>+</sup> (%)	4.05 ± 1.66	2.74 ± 1.02	0.0211
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup> (%)	0.4 (n=2)	mean, 1.07 (n=2)	not suitable for analysis

Values are expressed as mean ± standard deviation. NS = not significant.

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>  
+  
CD4<sup>+</sup>CD25<sup>low</sup>  
= CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>

図1 髄液リンパ球解析結果



•多発性硬化症の疾患活動性の最も有用な免疫学的指標は、図1に示すようなflow cytometry解析による髄液中CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>細胞存在率である。

•この検査により、表1のように現時点での活動性評価のみならず(紫色)、表2のように3ヵ月以内の再発(赤色)を予測することができる。

表2

	Subgroup A Relapse ≤ 3M n=7	Subgroup B 3M < Relapse ≤ 6M n=10	Subgroup C 6M < Relapse ≤ 12M n=6	Subgroup D 12M < Relapse ≤ 24M n=4	Subgroup E Relapse > 24M n=7	Controls n=18	p value
CD3 <sup>+</sup>	88.6	91.6	87.3	89.5	91.7	90.1	NS
CD4 <sup>+</sup>	66.8	63.6	58.6	64.7	71.3	62.0	NS
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	3.7*	4.9*	3.3	1.3	1.8	1.9	0.0024
CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup>	39.4	37.2	37.2	35.8	37.7	41.9	NS
CD4 <sup>+</sup> CD29 <sup>+</sup>	63.4	59.1	57.3	58.7	63.2	54.6	NS
CD4 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup>	22.5	19.8	18.9	19.8	24.8	20.6	NS
CD4 <sup>+</sup> CCR4 <sup>+</sup>	3.6	3.4	1.9	3.8	3.5	NT	NS
CD4 <sup>+</sup> CXCR3 <sup>+</sup>	53.2	48.9	41.1	59.4	57.6	35.9	NS
CD8 <sup>+</sup>	20.0	27.5	29.2	21.6	23.8	26.7	NS
CD8 <sup>+</sup> CD11a <sup>+</sup>	7.4	13.2	28.5	8.7	21.6	19.5	NS
CD8 <sup>+</sup> CXCR3 <sup>+</sup>	27.2	24.6	42.1	21.1	14.9	9.6	NS
CD20 <sup>+</sup>	0.4	2.3	1.0	2.2	0.9	1.7	NS
Cell count (μmL)	1.5**	4.2**	1.4**	1.9**	1.3	0.7	0.0173
IgG (mg/dL)	3.6	4.4	3.1	3.3	2.7	3.2	NS
IgG index	0.76	0.72	0.59	0.51	0.63	0.54	NS
Intra-BBB IgG	2.16	3.09	-1.03	-2.59	-1.45	0.56	NS

Values are expressed as mean ± standard deviation. NT = not tested. NS = not significant.

NT = not tested. NS = not significant.

Comparisons of the 5 subgroups and the controls were performed by Kruskal-Wallis test followed by Mann-Whitney U tests.

\* significantly different when compared with Subgroup: D and E and Controls

\*\* significantly different only when compared with Controls

## 解説

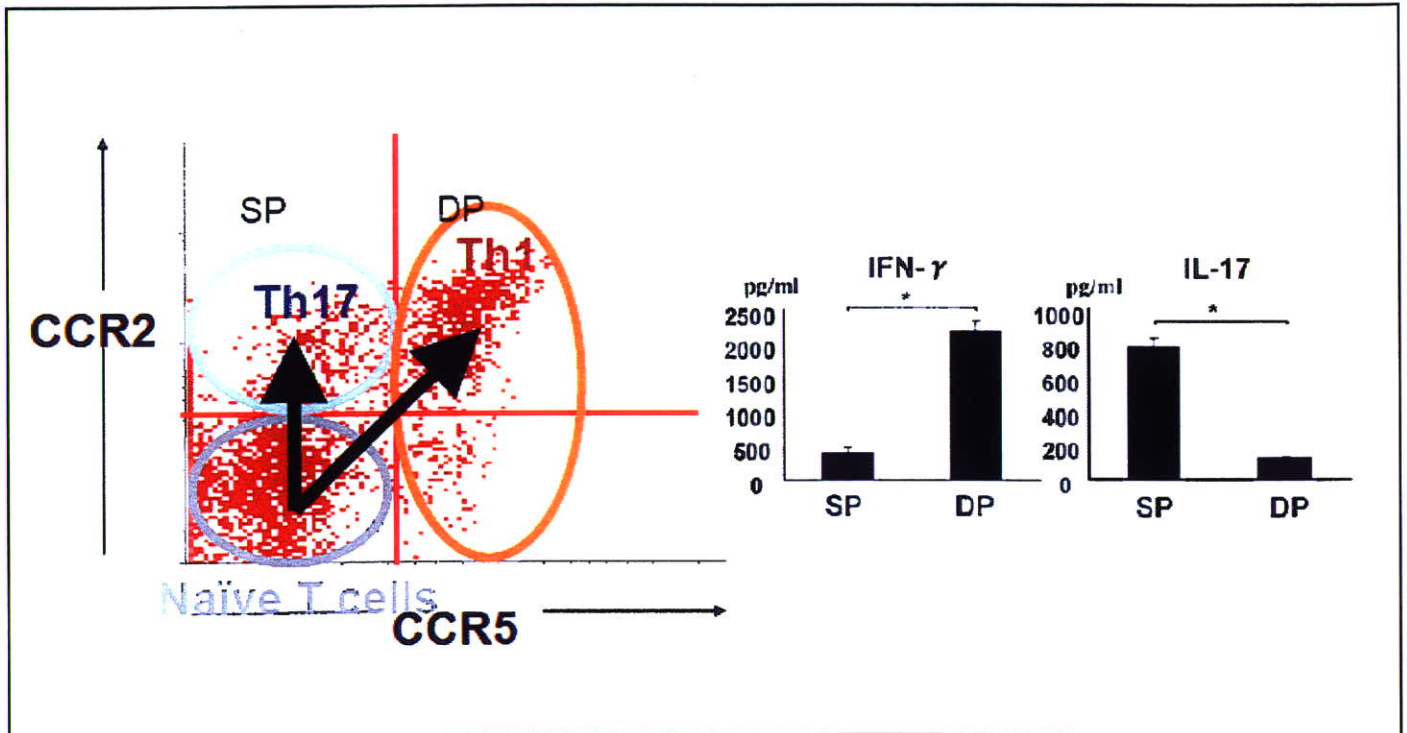
<目的> 多発性硬化症の活動性を反映する免疫学的マーカーの確立を目指す。

<方法> 活動期および安定期の多発性硬化症患者末梢血および髄液検体を同日に採取し、単核球を回収してフローサイトメトリーを用いて表面抗原検索を行った。

<結果> 多発性硬化症患者において、髄液中のCD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>細胞存在率の上昇は、現時点での疾患活動性の上昇とともに、3ヶ月以内の再発リスクの増大という中期的予後の推定手段としても有用であった。

<結論> 多発性硬化症患者の免疫モニタリングには、髄液CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>細胞存在率が有用である。

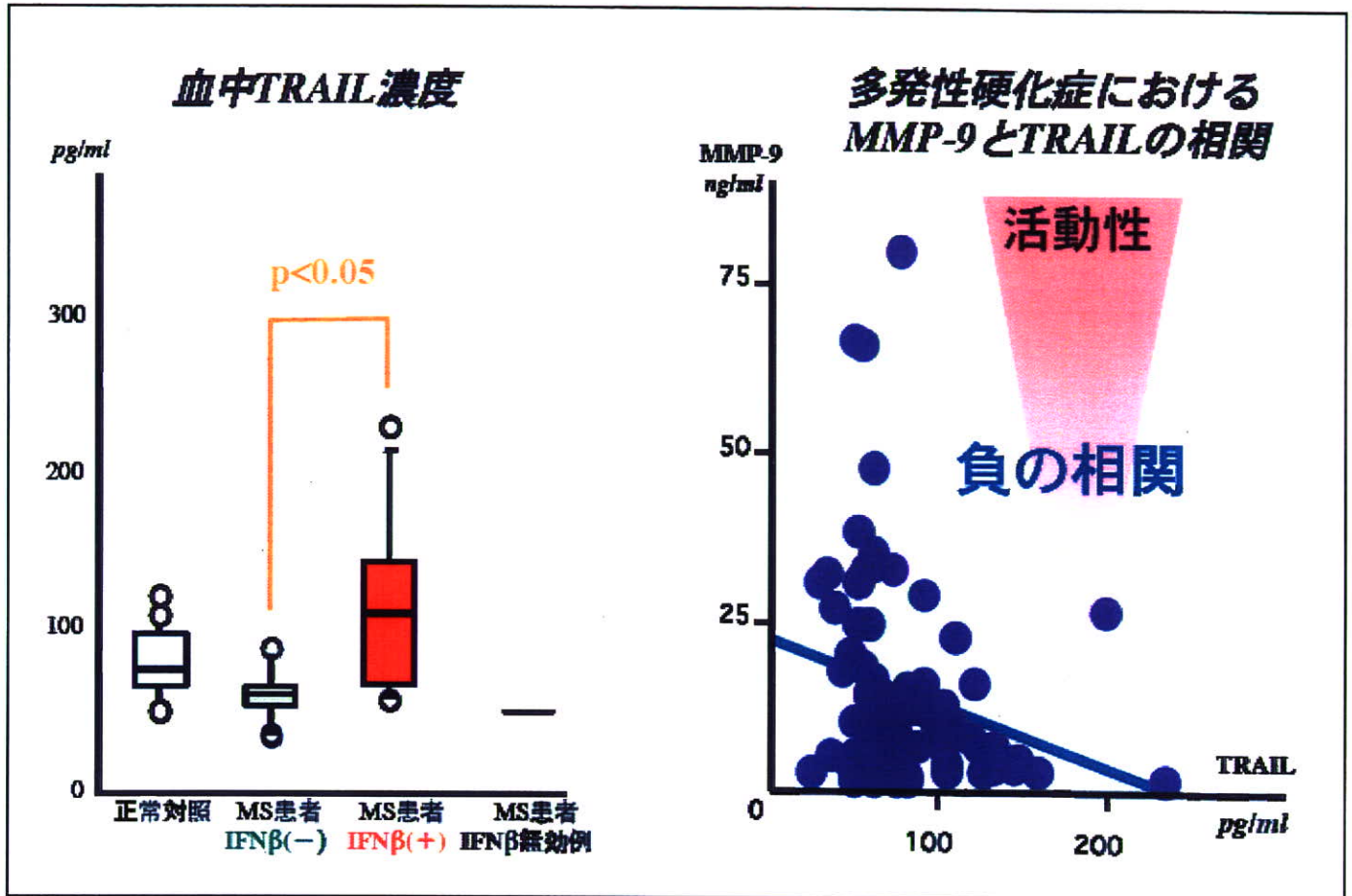
## ヒトTh17細胞の発現するケモカイン受容体の同定: 多発性硬化症研究への応用



### 解 説

Th17細胞はIL-17を産生するリンパ球集団で、自己免疫性炎症を誘導する際立った能力があることから、近年、免疫学で中心的な研究課題になっている。MSの病態を解明するには、Th17細胞を同定する方法の確立が急務である。われわれは、ケモカイン受容体の中でCCR2陽性で、なおかつCCR5陰性の細胞 (single positive; SP) が、IL-17を産生することを示した。この結果は、脳炎組織でCCR2の発現が高いことに対応している。CCR2+CCR5-はTh17細胞のマーカーとして利用できるのもので、多発性硬化症の研究に貢献する発見である。

## 多発性硬化症に対するインターフェロン療法 における血中TRAIL濃度の有用性



### 解 説

＜目的＞多発性硬化症(MS)において、TRAILは、インターフェロン-β (IFNβ)の効果予測のマーカーとしての有効性が指摘されている。IFNβ療法におけるTRAILの意義を、MSの活動性と相関するMMP-9と修復に関与するTIMP-1とを用いて検討した。

＜方法＞IFNβ療法を受けているMS患者血液中においてTRAILとともに、細胞外基質分解酵素のMMP-9とその内因性抑制因子のTIMP-1の動態を解析した。

＜結果＞TRAIL濃度は、IFNβ投与中の患者で有意に高値であった。TRAILはMSの活動性との相関するMMP-9と負の相関を示した。このことから、IFNβ投与によるTRAIL濃度の上昇は、MSの病変形成が抑制され、相対的に病変修復が優位の方向にシフトしていることを示している可能性がある。

＜結論＞日本人のMSにおいて、血清TRAIL濃度の上昇は、IFNβ療法の治療効果の予測因子になりうることを初めて明らかにした。



# IFNβ の脳毛細血管内皮細胞 chemokines, kemokine receptors への作用

**Result I**  
**Chemokine expression with IFN-beta (TNF-alpha -)**

- CXC chemokine
  - Gro/MGSA-α (CXCL1), Gro/MGSA-β (CXCL2), PE-4 (CXCL4), NAP-2 (CXCL7), IL-8 (CXCL8), Mig (CXCL9), IP-10 (CXCL10), SDF-1 (CXCL12), BLN (CXCL13)
- CC chemokine
  - MCP-1 (CCL2), MIP-1α (CCL3), MIP-1β (CCL4), RANTES (CCL5), MCP-3 (CCL7), Eotaxin (CCL11), MCP-4 (CCL13), HCC-1 (CCL14), HCC-4 (CCL16), PARC (CCL18), SLI (CCL24), TECK (CCL25)
- CX3C chemokine
  - Fractalkine (CX3CL1)
- Chemokine receptor
  - CCR1, CCR2, CCR4, CX3CR1, CXCR4

ピンク=発現亢進, 青=発現低下

**Result II**  
**Chemokine expression with IFN-beta (TNF-alpha +)**

- CXC chemokine
  - Gro/MGSA-α (CXCL1), Gro/MGSA-β (CXCL2), PE-4 (CXCL4), NAP-2 (CXCL7), IL-8 (CXCL8), Mig (CXCL9), IP-10 (CXCL10), SDF-1 (CXCL12), BLN (CXCL13)
- CC chemokine
  - MCP-1 (CCL2), MIP-1α (CCL3), MIP-1β (CCL4), RANTES (CCL5), MCP-3 (CCL7), Eotaxin (CCL11), MCP-4 (CCL13), HCC-1 (CCL14), HCC-4 (CCL16), PARC (CCL18), SLI (CCL24), TECK (CCL25)
- CX3C chemokine
  - Fractalkine (CX3CL1)
- Chemokine receptor
  - CCR1, CCR2, CCR3, CX3CR1, CXCR4

ピンク=発現亢進, 青=発現低下

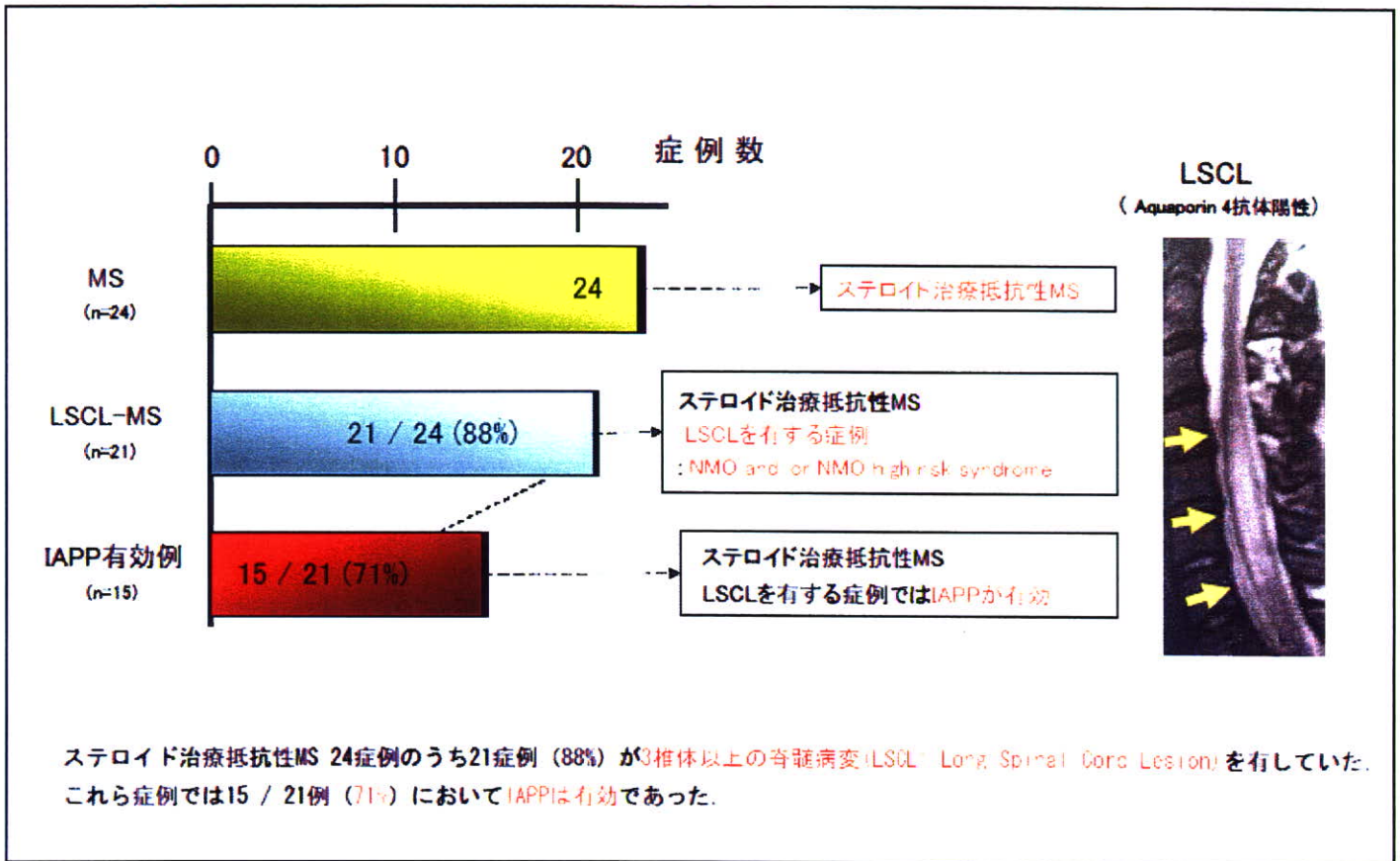
Chemokine Receptors														Chemokine		
Constitutive					Inflammatory											
CXCR5	CXCR4	COR10	CCR9	CCR7	CX3CR1	CCR8	CXCR6	CXCR3	CXCR2	CXCR1	CCR6	CCR5	CCR3		CCR2	CCR1
																MIP-1a
																MIP-1b
																RANTES
																MCP-1
																MCP-4
																Eotaxin
																LARC
																IL-8
																GRO
																IP-10
																Mig
																HCC-1
																Fractalkine
																ELC
																TECK
																SDF-1a
																BCA-1

Chemokine Receptors														Chemokine		
Constitutive					Inflammatory											
CXCR5	CXCR4	COR10	CCR9	CCR7	CX3CR1	CCR8	CXCR6	CXCR3	CXCR2	CXCR1	CCR6	CCR5	CCR3		CCR2	CCR1
																MIP-1a
																MIP-1b
																RANTES
																MCP-1
																MCP-4
																Eotaxin
																LARC
																IL-8
																GRO
																IP-10
																Mig
																HCC-1
																Fractalkin
																ELC
																TECK
																SDF-1a
																BCA-1

## 解説

1. 着色したセルは対応するchemokine, kemokine receptorを示す。赤は発現亢進、青は発現低下、黄色は変化なしを示す。
2. 炎症条件の有無によりIFN-β は異なる作用を有する。
3. IFN-β はTh1, Th2に対し抑制的に作用する。

## 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



### 解 説

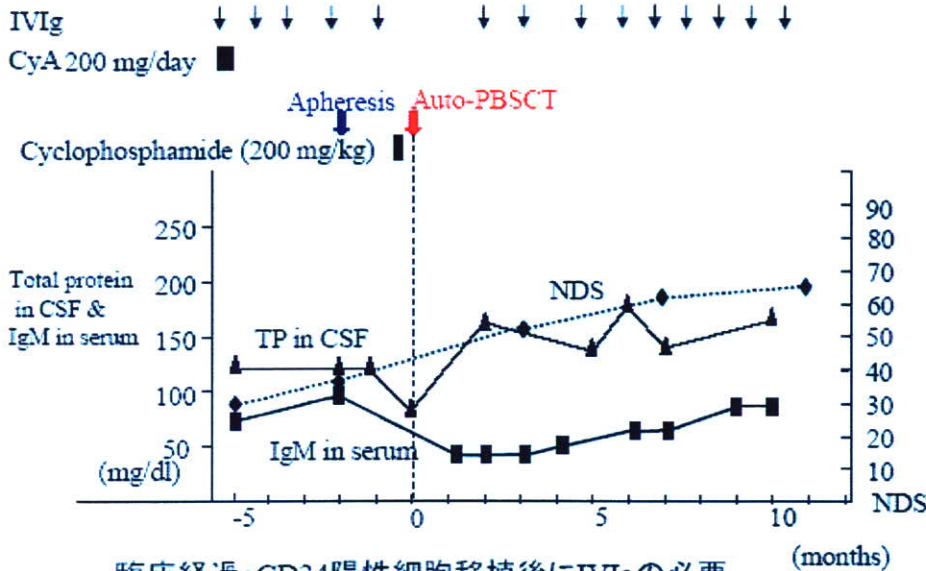
- 【目的】ステロイド治療抵抗性MSに対する免疫吸着療法の有効性を検討する。
- 【対象・方法】MS増悪期にパルス療法にて有効性を認めなかった24症例(ステロイド治療抵抗性MS)に対して免疫吸着療法(IAPP: Immuno Adsorption Plasmapheresis)を2~3回施行し、治療後の神経症候について検討した。
- 【結果】ステロイド治療抵抗性MS 24症例のうち21症例(88%)に3椎体以上の脊髄病変(LSCL: Long Spinal Cord Lesion)を有していた。これら症例の15 / 21例(71%)においてIAPPは有効であった。
- 【結論】IAPPはLSCLを有しステロイド治療抵抗性MSに対して有効である。

# 免疫性神経疾患難治例に対する 新たな治療法の開発

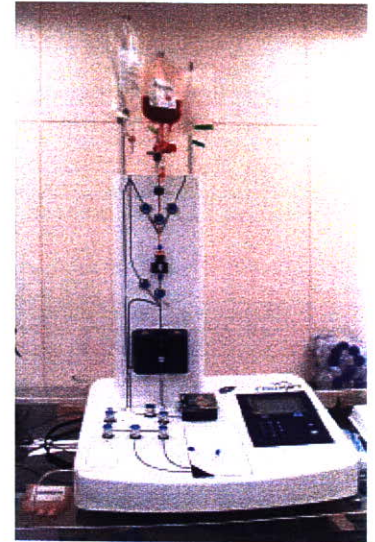
多発性硬化症:ミトキサントロン

慢性炎症性脱髄性多発根神経炎:シクロホスファミド+自家末梢血幹細胞移植(下図)

重症筋無力症:シクロスポリン、タクロリムス



臨床経過: CD34陽性細胞移植後にIVIgの必要回数が減ったが、効果は一過性であった。



CliniMax: CD34陽性細胞を選択的に採取

## 解説

### <目的>

免疫性神経疾患難治例に対する新たな治療法を開発する。

### <方法>

多発性硬化症難治例に対してはミトキサントロン、慢性炎症性脱髄性多発根神経炎難治例(CIDP)に対してはシクロホスファミド+自家末梢血幹細胞移植、重症筋無力症に対してはシクロスポリン、タクロリムスを用いた。

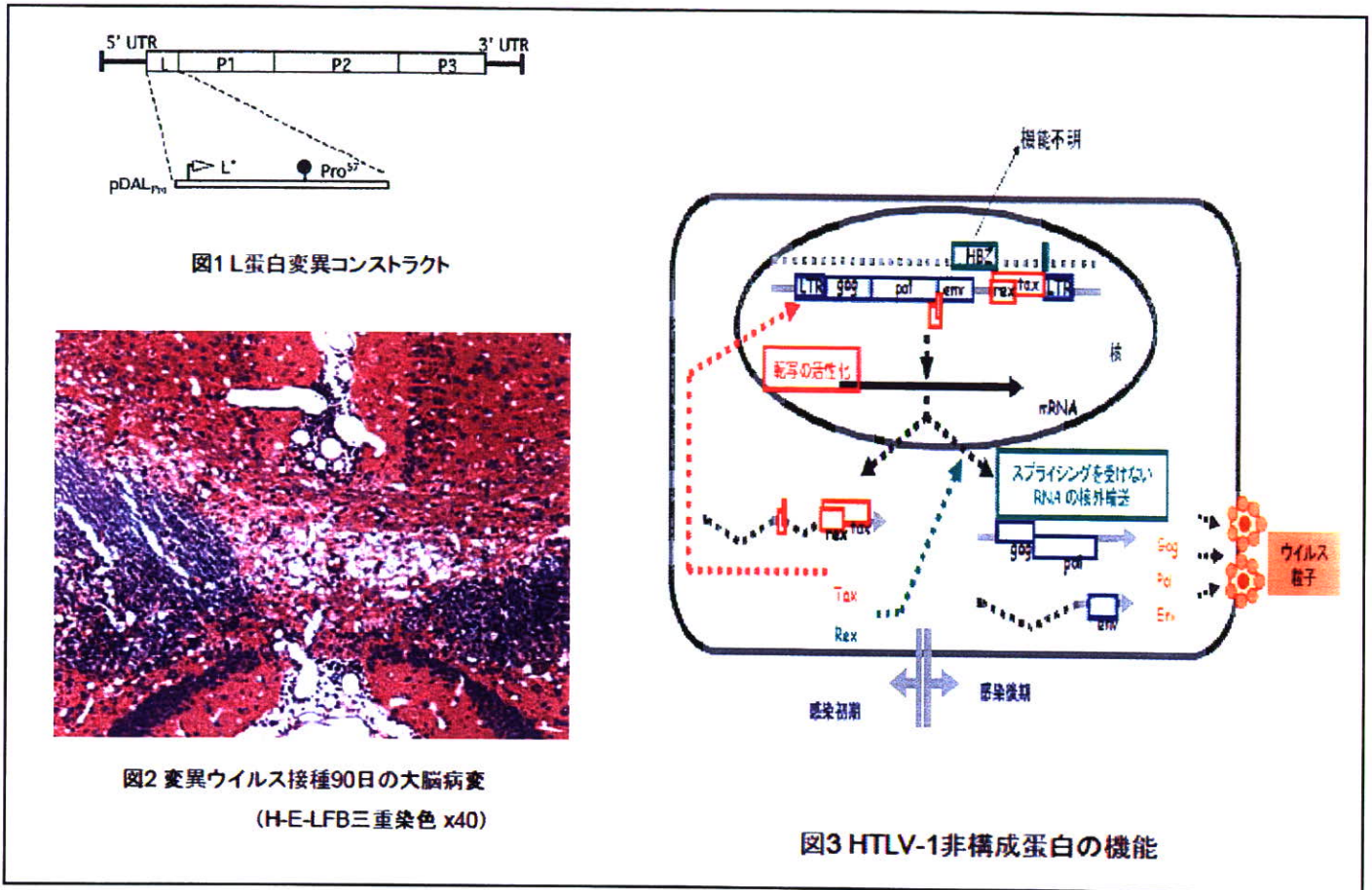
### <結果>

ミトキサントロン、タクロリムス、シクロスポリンについては、難治例に対してそれぞれ一定の効果が得られた。CIDPに対するシクロホスファミド+自家末梢血幹細胞移植は、CliniMaxで精製された骨髄細胞を用いて行なわれた。治療によって神経症状(NDS)と髄液蛋白に改善が見られたが、効果は一過性であった。本患者では長期にわたる罹患歴と高度に肥大した神経根が臨床効果を低減させた大きな原因であると考えられた。

### <結論>

上記のような新たな薬剤や手技は免疫性神経疾患難治例に対する有力な治療手段になりうる。今後はさらに多数例での検討が必要である。

# ウイルス性脱髄疾患におけるウイルス非構成蛋白の役割



## 解説

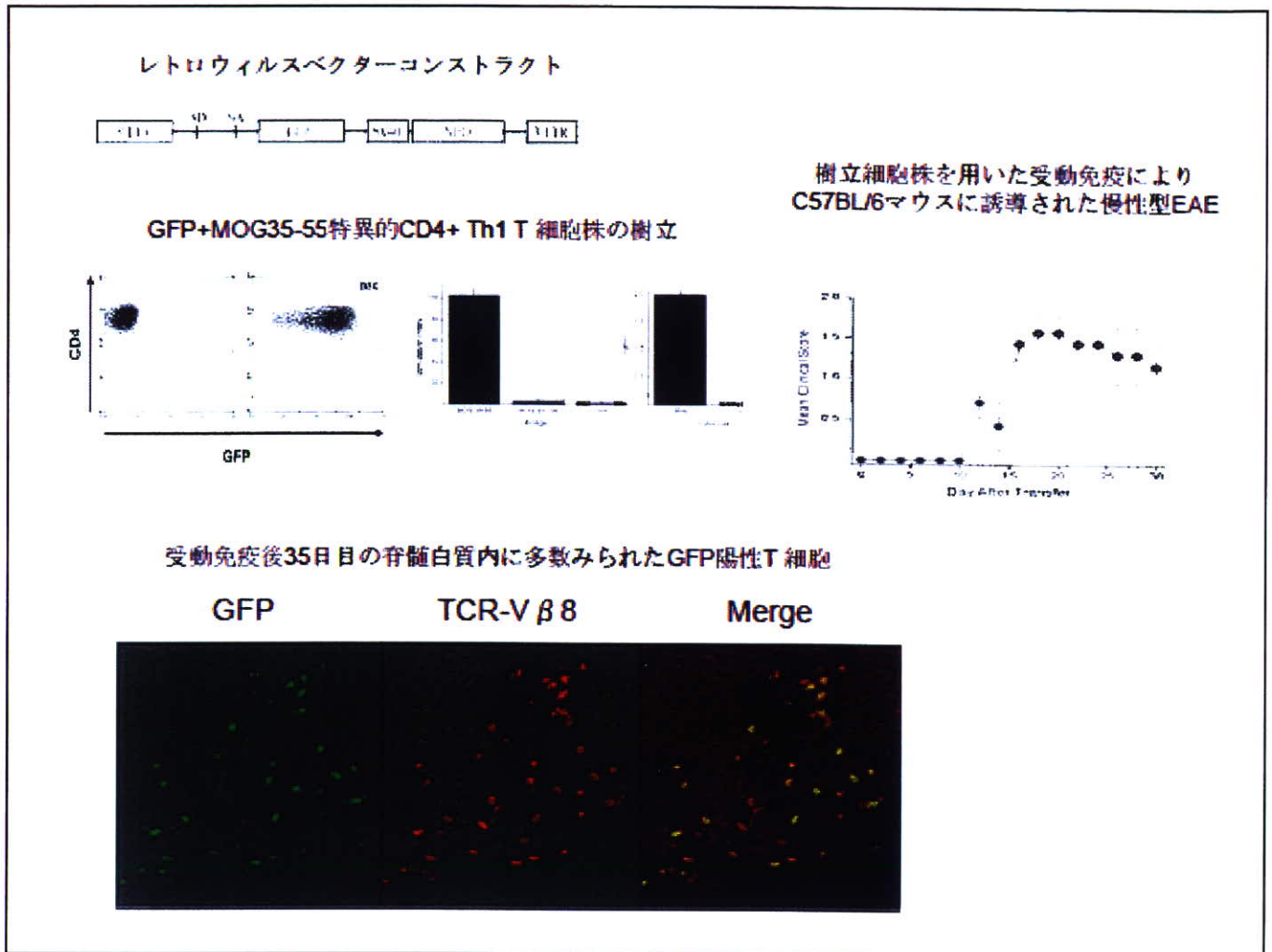
**目的:** Theilerウイルス脱髄モデルおよびHAMにおけるウイルス非構成蛋白の役割を明らかにする。

**方法:** Theiler変異ウイルスを作成し、引き起こされる病理像を検討した。HTLV-1日本株、イラン株由来のTax、Rexサブタイプの機能を比較した。さらにHBZの発現を検討した。

**結果:** ① TheilerウイルスL蛋白の57番目のアミノ酸をプロリンに置換した変異ウイルスは大脳病変も引き起こした。② Taxの転写活性の比較から、炎症性サイトカインなどの細胞性因子の発現に必須なNF-κB経路の活性化能が、HAM発症率の高いイラン株Taxにおいて最も高いことを見いだした。③ HTLV-1の発現を負に制御するRex蛋白の機能（非スプライス型RNAの核外輸送能）が、イラン株Rexでは日本株より低く、ウイルス遺伝子が日本株より効率よく発現することが明らかになった。④ HTLV-1マイナス鎖にコードされる新規の遺伝子HBZの発現が、HAM患者末梢血中に高発現しており、プロウイルス量および重症度と相関することを見いだした。

**結論:** ウイルス性脱髄疾患において、従来注目されていなかったウイルス非構成蛋白が脱髄の分布や発症に大きな役割を果たしていることが示された。

# 多発性硬化症の疾患モデルの慢性型マウス実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)で、ミエリンと反応する炎症性Tリンパ球の解析



## 解 説

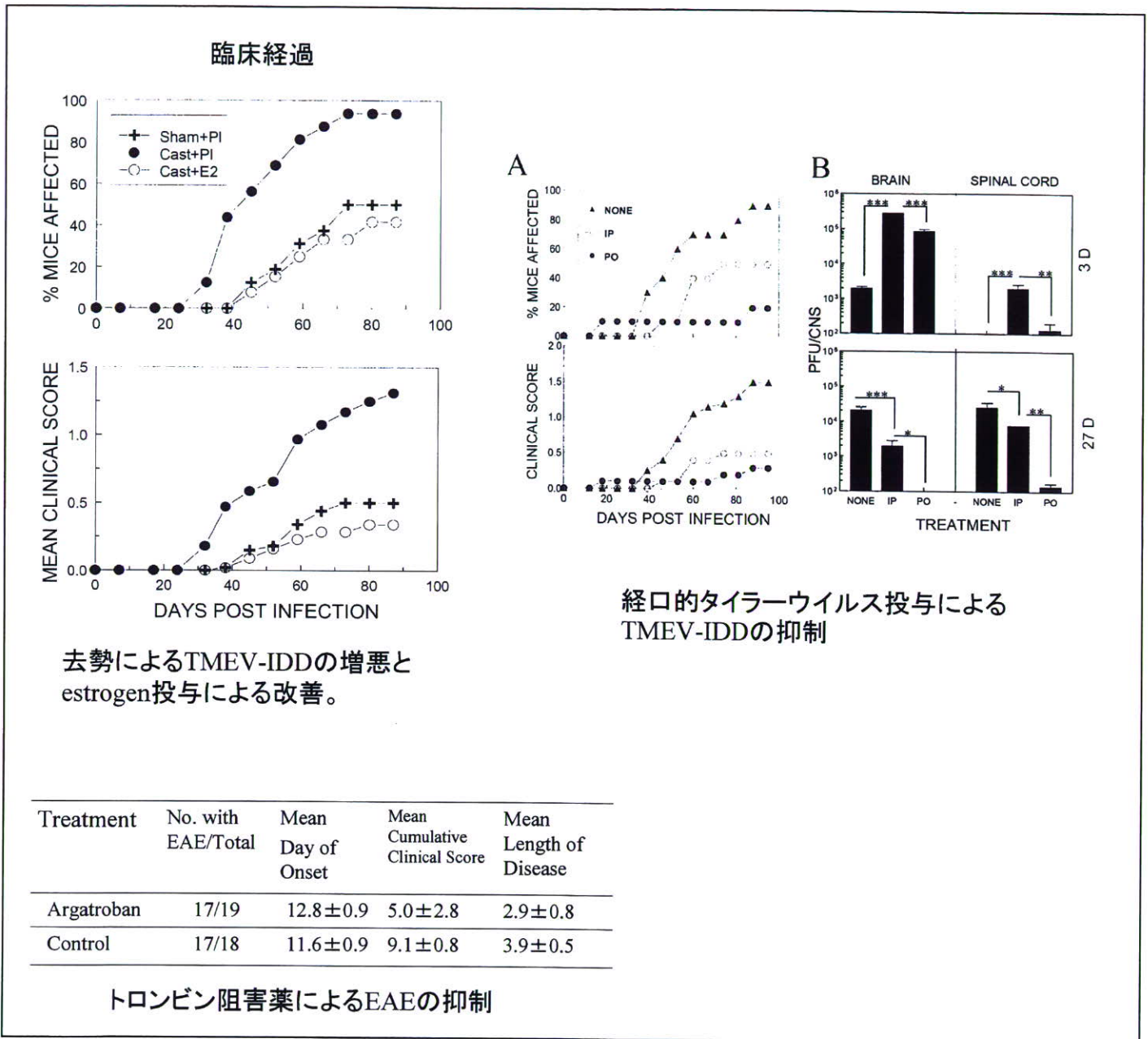
＜目的＞多発性硬化症の慢性期の病態機序の解析のために、慢性型実験的アレルギー性脳脊髄炎の自己免疫メモリーの維持に、脳炎を惹起した中枢神経特異抗原反応性エフェクター/メモリーT細胞の存続が関与している可能性を検討した。

＜方法＞ミエリンに反応し炎症をおこすTリンパ球を他のリンパ球と区別するため、レトロウィルスをもちいて緑色蛍光蛋白(GFP)で標識した後、マウスに注射し慢性型EAEを誘導しました。

＜結果＞緑色蛍光(GFP)を手がかりにEAEの慢性期の脳脊髄を調べた結果、従来考えられていたより多数のミエリン反応性Tリンパ球(GFP陽性)が認められました。

＜結論＞病状の遷延化に脳脊髄のミエリン反応性炎症性Tリンパ球が関係している可能性が考えられました。

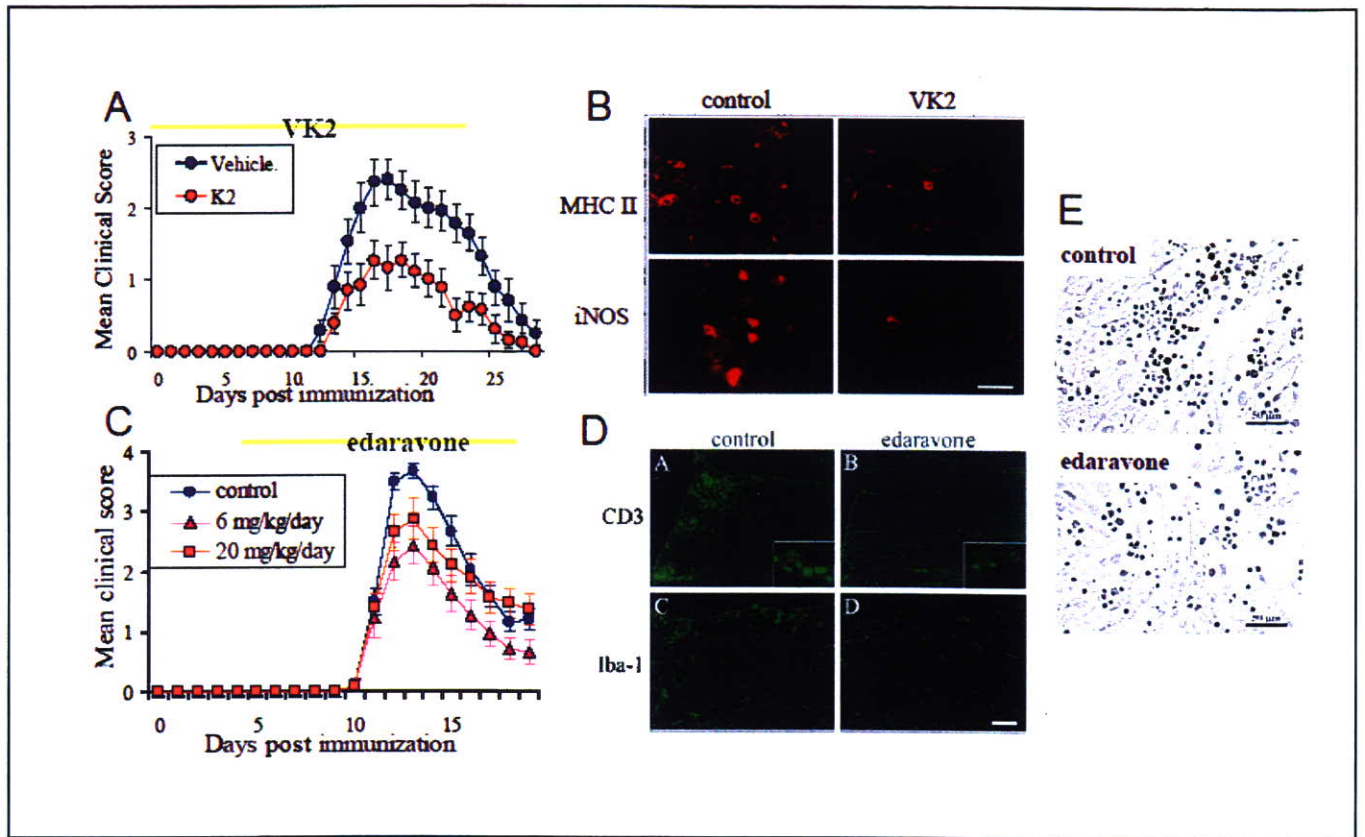
## 脱髄疾患の発症機序とその制御



### 解 説

1. 雄マウスは去勢により、TMEV-IDDの発症率、臨床症状ともに増悪させ、estrogen投与により、これらがシャム手術対照群と同程度にまで改善されることが明らかになった。
2. EAEでは発症に先行して凝固系が亢進しており、トロンビン阻害薬を投与することにより、EAEの症状が抑制されることを明らかにした。
3. トロンビン阻害薬はトロンビンを選択的に阻害するため、出血の副作用が少なく、多発性硬化症急性期の新たな治療薬として有用である可能性がある
4. タイラーウイルスの経口投与によりTMEV-IDDは有意に抑制された。

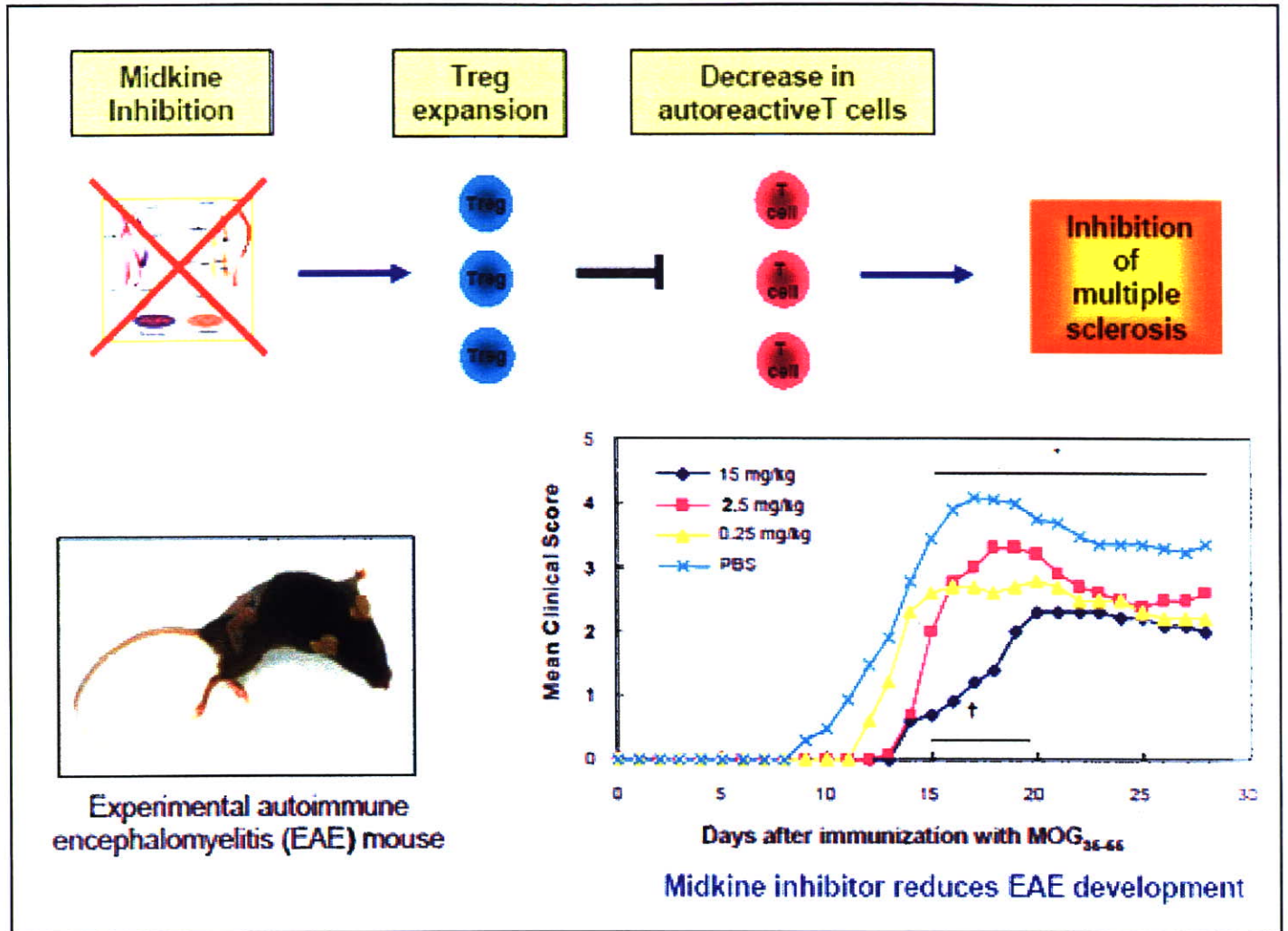
## EAEに対するビタミンK2, エダラボンの効果



### 解説

＜目的＞EAEに対するビタミンK2、エダラボンの効果を検討した。  
 ＜方法＞ビタミンK2あるいはエダラボンをEAEモデルに投与し、その重症度、脊髄における炎症細胞浸潤・炎症性分子の発現などへの効果を評価した。  
 ＜結果＞ビタミンK2はEAE重症度を改善し(A)、脊髄における炎症細胞浸潤、iNOSとMHC II発現を抑制した(B)。エダラボンもまたEAE重症度を改善し(C)、リンパ球・マクローファージの浸潤を抑制し(D)、iNOS, MHC II, VCAM-1の発現を抑制、リンパ球-内皮細胞間接着を抑制した(E)。  
 ＜結論＞ビタミンK2およびエダラボンはEAEに対し有効であった。今後MSの新たな治療として適用できる可能性が示唆された。

# ミッドカインの阻害による多発性硬化症の治療戦略



## 解説

＜目的＞ミッドカイン (midkine, MK) は発癌、炎症、修復の過程で強く発現され、癌の進行、炎症の進展、組織修復に関与している成長因子であり、最近、MK抑制による炎症性病態の抑制効果が報告されている。そこで我々は、神経系の自己免疫性炎症におけるMKの役割を明らかにするため、MK<sup>-/-</sup>およびWTマウスを用いた実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) の誘導およびMKの阻害によるEAE発症抑制効果について検討した。

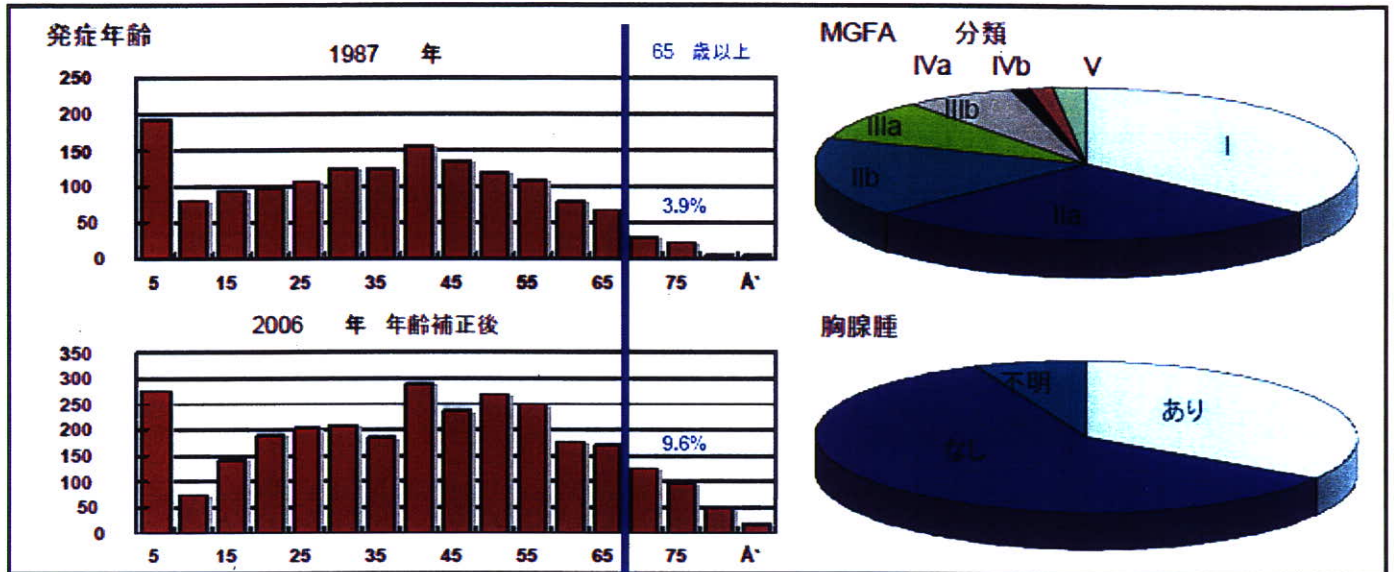
＜方法＞すべての動物実験は、動物愛護の観点より、名古屋大学動物実験委員会の指針に則して行われた。MK<sup>-/-</sup>あるいはWTのC57BL/6マウスにMOG<sub>35-55</sub>ペプチド200mgを完全フロインドアジュバントと共に皮下接種後、百日咳毒素の腹腔内投与にてEAEを誘導し、臨床スコアを経時的に記録した。MK阻害実験においては抗MK中和抗体 (セルシグナルズ社製) は各々0, 0.75, 7.5, 75 mg/kgを週2回経静脈投与し、抗MK RNA aptamer (リボミック社製) は各々0, 0.25, 2.5, 15 mg/kgを隔日腹腔内投与した。

＜結果＞MK<sup>-/-</sup>マウスあるいはMK阻害マウスではEAE発症が顕著に抑制された。これらのマウスでは、Tregの増加によりTh17/Th1優位の自己免疫反応が抑制され、それにより中枢神経系への炎症細胞浸潤が減少した結果、EAE発症が抑制された。

＜結論＞MK阻害がTregの活性化を介して、多発性硬化症を初めとする自己免疫疾患の新たな治療戦略となりうる可能性が示唆された。



## 2006年重症筋無力症 全国臨床疫学調査—中間報告—

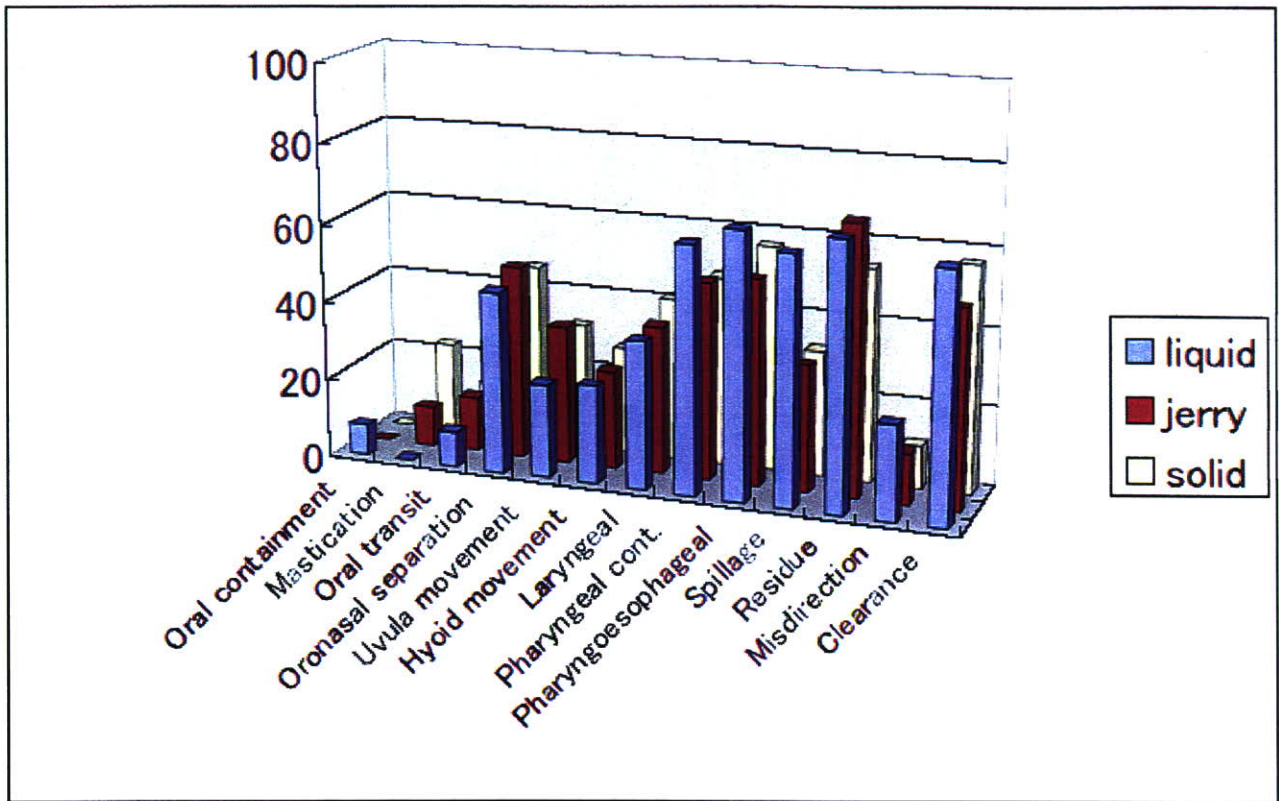


### 解 説

MGの患者数は約15,100人、有病率は11.8人/10万と推定された。  
1987年調査と比較して高齢発症例が増加していた。

(2006年補正前は16.8%、1987年を基準とした補正後で9.6%)  
胸腺腫合併例が33.9%と増加していた。

## 重症筋無力症の嚥下障害パターン



### 解説

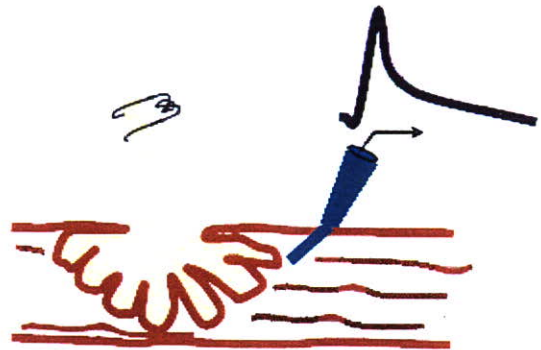
嚥下造影法(VFSS)により重症筋無力症(MG)の嚥下障害パターンを分析した。MGでは口腔期に比して咽頭期、食道期により障害頻度が高い。検査には液体、ゼリー、固形物の形状を用いた。縦軸は障害頻度(%)を表す。

# 抗MuSK抗体が神経筋伝達に及ぼす作用の検討

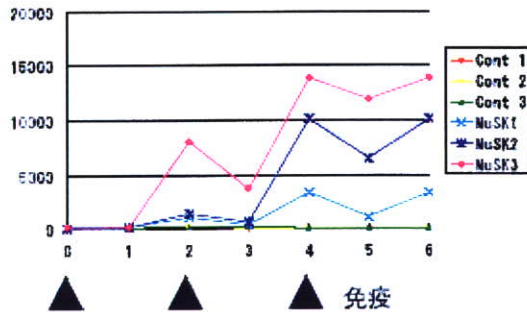
【MuSK-MG患者IgGの吸収実験】

	MEPP振幅 (mV)	EPP quantal content (m)
Control (n=3)	1.35 ± 0.06	35.5 ± 2.9
抗MuSK抗体陽性MG	0.88 ± 0.04*	40.6 ± 1.7
抗MuSK抗体陽性MG + MuSK蛋白	1: 0.99 ± 0.07* 2: 0.72 ± 0.04*	1: 47.2 ± 3.5* 2: n.d

\*P<0.01



【MuSK免疫ラットの抗MuSK抗体価】



【MuSK免疫ラットの微小電極記録】

	MEPP振幅 (mV)	EPP quantal content (m)
Control-1	0.52 ± 0.04	n.d.
Control-2	0.49 ± 0.02	43.0 ± 4.0
MuSK-1	0.49 ± 0.01	n.d.
MuSK-2	0.56 ± 0.02	42.0 ± 3.9
MuSK-3	0.50 ± 0.02	n.d.

## 解 説

＜目的＞精製MuSK蛋白を用いて、抗MuSK抗体が神経筋伝達に及ぼす作用について検討した。

＜方法＞抗MuSK抗体の吸収実験: 1名の抗MuSK抗体陽性MG患者IgG10mgと20-50 μgのMuSK蛋白を混合後遠沈し、上清の抗MuSK抗体が陰性であることを確認し、2匹の8-10週齢のBKTOマウスに静注。静注後36-48時間で横隔膜神経筋標本を作成し微小電極記録を行った。コントロールは3名の健常成人のIgGを用いた。

MuSK免疫ラットの作成: 8-10週齢のLewisラットをMuSK蛋白と完全フロイントアジュバント(CFA)で3回免疫。6ヵ月後に抗MuSK抗体が陽性となったラットと抗MuSK抗体が陰性のコントロールラットの横隔膜神経筋標本を作成し微小電極記録を行った。

＜結果＞抗MuSK抗体を吸収し、抗MuSK抗体が陰性となったヒトIgGをマウスへ passive transferしてもMEPP振幅は低下し、神経筋伝達を阻害していた。

精製MuSK蛋白でラットを免疫すると抗MuSK抗体は陽性となった。抗MuSK抗体が陽性となったラットを用いて微小電極記録をおこなったが、神経筋伝達阻害は証明できなかった。

＜結論＞今回の実験では抗MuSK抗体が神経筋伝達を阻害することを証明できなかった。今後は抗MuSK抗体の作用機序をさらに解明すると共に、抗AChR抗体や抗MuSK抗体以外の重症筋無力症の病因となる抗体についての解明も必要である。

# 抗MuSK抗体陽性重症筋無力症の発症機序の研究

表1 本邦の抗AChR抗体陽性MGと抗MuSK抗体陽性MGの比較

臨床像・免疫学的特徴	抗AChR抗体陽性MG*	抗MuSK抗体陽性MG**
頻度 (%)	80-85	5-10
男女比	1:2	1:3
臨床像	眼症状で発症し全身型へ	発症時より眼筋・球麻痺型
眼筋型の頻度 (%)	20-40	3
筋萎縮の頻度 (%)	10	26
クリーゼ合併率 (%)	10-20	33
コリンエステラーゼ阻害薬	著効	不定
胸腺腫の合併率 (%)	20-30	0
自己抗体IgGサブクラス	IgG1	IgG4
神経筋接合部病理： 補体介在性破壊	あり	なし

\* : 臨床像は、本邦の全国疫学調査の結果を参考にした。

\*\* : 本邦の抗MuSK抗体陽性患者70例とこれまでの報告を参考にした。

図1 Immunofluorescent staining: Down-regulation of AChR and MuSK in MuSK-immunized rat. Bar: 50µm

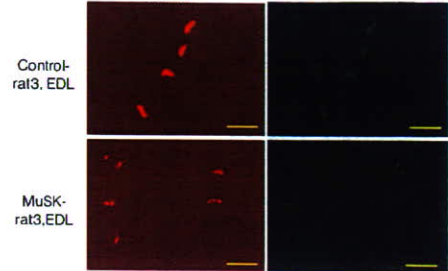
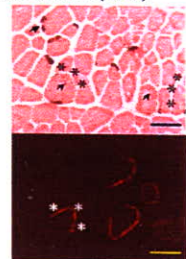


図2 Characteristics of AChR-declustering muscle fibers (ADF)

- The morphological changes of cholinesterase staining
  - fragmentation (→)
  - elongation (↑)
  - appearance inside muscle fiber (⇨)
- The AChR and MuSK at the endplates were reduced.
- Here, we define AChR-declustering muscle fibers (ADF) as length of motor endplate / length of total muscle fiber > 0.3 (mean+3SD of controls) and investigated the frequency of ADF.



## 解説

### <目的>

抗MuSK抗体陽性重症筋無力症の発症機序を研究し、その診断・治療法を開発する。

### <方法>

1) 臨床研究：オックスフォード大学のVincent教授と本邦の神経内科医の御協力を得ながら、本邦の抗MuSK抗体陽性MG患者の臨床像、神経筋接合部の病態、そして、治療法を報告した。

2) 動物モデル実験：可溶性マウスMuSK蛋白を抗原として、抗MuSK抗体がどのようにして神経症状を引き起こしているかを解明するために、動物モデル作製した。

### <結果>

1) 本邦の抗MuSK抗体陽性MGの臨床的・免疫学的特徴が、表1のように明らかになった。特に、自己抗体IgGサブクラスがその病態機序の解明に重要と考察された。

2) このラットでは抗MuSK抗体は上昇し、神経筋接合部では運動終板のAChR、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(図1・2)。

### <結論>

今後、抗MuSK抗体陽性MGの発症機序がさらに解明され、その病態に対応した治療法の開発が望まれる。