

200833065 A

厚生労働科学研究費補助金  
こころの健康科学研究事業

脱髄性ニューロパチーの病態解明と神経保護分子の解析

平成20年度 総括研究報告書

研究代表者 馬場 広子

平成21(2009)年 4月

## 目 次

### I. 総括研究報告

|                                |   |
|--------------------------------|---|
| 脱髄性ニューロパチーの病態解明と神経保護分子の解析----- | 1 |
| 馬場 広子                          |   |

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）  
総括研究報告書

脱髄性ニューロパチーの病態解明と神経保護分子の解析  
研究代表者 馬場 広子 東京薬科大学教授

研究要旨 急性・慢性に経過する免疫性脱髄性ニューロパチーの症例の多くは未だに抗原の同定がなされず、病態も明らかではない。そこで本研究では、1) 脱髄原因分子の探索と病態機序の解明、2) 脱髄に伴う2次性軸索障害の病態解明、3) 脱髄保護分子の探索を行い、脱髄性ニューロパチーの病態解明と予後改善を目指すことを目的とした。1) に関して岐阜大学医学部神経内科のニューロパチー患者および正常人血清中の抗神経抗体を解析した結果、患者血清では高率に神経組織中の膜画分の分子に対する抗体が存在することが明らかとなった。2) 髄鞘異常に伴う軸索側のミトコンドリア異常を解析した。3) マウス脱髄モデルにおける脱髄からの保護候補分子を見出した。これらのヒトの病態での関与に関して次年度以降に解析を予定している。

研究分担者 犬塚 貴・岐阜大学医学部教授  
(患者血清提供および臨床情報の提供)

A. 研究目的

軸索障害が主体の免疫性ニューロパチーでは、抗神経抗体の関与が知られている。しかし、急性・慢性に経過する脱髄性ニューロパチーの多くの症例で、未だ抗原は同定されず、病態も明らかではない。また、予後や重症度、治療の反応性などの臨床的個人差に対する有効なマーカーも存在しない。そこで本研究では、1) 脱髄原因分子の探索と病態機序の解明、2) 脱髄に伴う2次性軸索障害の病態解明、3) 脱髄保護分子の探索を行うことによって、脱髄性ニューロパチーの病態解明と予後の改善を目指すことを目的とした。

B. 研究方法

1) ラット坐骨神経および脳ホモジネートを SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動し、岐阜大学神経内科のニューロパチー患者（臨床型や個人情報プライバシー）および正常人血清20例のウエスタンブロット解析を行った。さらにこれらの組織の膜画分・可溶性画分に対して陽イオン界面活性剤を用いた2次元電気泳動を行った後ウエスタンブロット解析し、

血清が反応する蛋白スポットを決め、質量分析法によって抗原を同定した。スポット同定後、研究分担者犬塚（岐阜大学医学部）と共に各症例の臨床的特徴と抗原の関連性について解析した。

2) 髄鞘異常を伴うマウスで軸索側に集積する巨大ミトコンドリアの ATP 産生および融合・分裂や移動に関わる分子との関連をウエスタンブロット解析した。

3) 脱髄誘導マウスを作製し、アネキシン II (AXII) siRNA を導入することによる脱髄巣の変化を免疫組織学的解析、ウエスタンブロット解析、超薄切片の組織解析法を用いて調べた。

(臨床面への配慮)

患者血清は岐阜大においてすべて匿名化し、東京薬科大で解析した。解析結果を元に岐阜大において臨床型との関連性を検討した。本研究は東京薬科大学ヒト組織等を研究活用するための倫理規程に則って倫理審査を受け承認されている。動物実験は、東京薬科大学動物実験指針に則って審査の上承認されている。

C. 研究結果

1) ニューロパチー患者血清では、正常人に比して神経構成タンパク質に対する抗体が高

率に検出された。アルコール性ニューロパチーでは可溶性画分に含まれる酵素類に対する抗体が多く検出されるのに対して、脱髄性ニューロパチー患者血清では膜画分に存在する種々の蛋白分子に対する抗体が見出された。複数の患者血清が反応する蛋白抗原も見出された。現在まだ抗原スポットの質量分析を継続中であるが、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase など神経系に豊富に存在し興奮発生に重要な膜蛋白や Charcot Marie Tooth 病の原因遺伝子の一つである periaxin などが抗原として同定され、病態との関連性が示唆された。2) 髄鞘異常に伴って出現する軸索のミトコンドリア異常に対して、ミトコンドリアの移動に関わる分子に変化が認められた。3) 脱髄誘導されたマウス坐骨神経組織では、AXII は脱髄周囲の一見正常な髄鞘に増加する。SiRNA で AXII の発現増加を抑えた場合、脱髄巣が明らかに広範囲に広がることを示され、AXII の脱髄保護効果が示唆された。

#### D. 考察

今回の解析結果から、脱髄性ニューロパチーと診断された患者血清中の抗体の多くは神経組織に存在する膜画分の蛋白分子を抗原とすることが明らかとなった。膜画分蛋白には髄鞘など細胞表面にある分子が存在することから患者血清中の抗体が結合することによる蛋白分子の機能阻害や脱髄の誘導が起きうると考える。これらの抗体の病態への関与は、今後抗原の局在部位を明らかにし、動物の神経内への投与などで解析していく必要がある。また、IVIG 治療や臨床病型との関連性に関して、症例を増やして解析することが重要と考えられる。脱髄保護の役割が示唆された AXII に関して、ヒトの病態との関連性を解析することが重要と考え、生検組織等における解析のための準備を開始している。

#### E. 結論

脱髄性ニューロパチー患者血清中には正常人血清と比較して神経を構成する膜画分蛋白などを抗原とする抗体が高率に存在する。複

数の患者血清によって反応する抗体も存在するため今後症例を増やし、抗原の種類と臨床的特徴との関連性を解析する必要がある。また、これらの抗体の病態への影響を検討することが重要である。また、脱髄保護分子の候補分子を見出した。ヒトの免疫性ニューロパチーでも関与する可能性があるかを今後生検材料の解析も視野に入れて検討していく予定である。開始1年目のため論文は準備中であるが、有用な知見が得られてきている。次年度以降臨床に役立つ成果を出すべく本研究を継続する予定である。

#### F. 健康危険情報

特に該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Katakabe T, et al. Role of Annexin 2 in Lysolecithin induced demyelination of the mouse sciatic nerve. in preparation

##### 2. 学会発表

- 片伯部哲也他 リゾレシチン誘導坐骨神経脱髄モデルマウスにおける Annexin2 の役割。第 51 回日本神経化学学会大会 口頭発表 (2008 年 9 月、富山)
- 児玉明子他 末梢神経系パラノーダル・ジャンクション形成異常における軸索ミトコンドリアの変化。第 51 回日本神経化学学会大会 口頭発表 (2008 年 9 月、富山)
- 宮城雄大他 二次元電気泳動法を用いた脱髄性疾患モデルラット (dmy) の解析。第 51 回日本神経化学学会大会 口頭発表 (2008 年 9 月、富山)
- 石川詩帆他 末梢神経疾患患者の自己抗体に反応するタンパク質の解析。第 129 回日本薬学会年会 (2009 年 3 月、京都)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし