

patchyに障害されている。

まとめ

日本脳炎(JE)の脳幹障害として、黒質、線条体ドーパミンニューロンの障害による固縮、振戦、不随意運動などの錐体外路症候の頻度が高く、一部の症例で眼球回転発作、トリズムス、口蓋ミオクローヌスなどが記載されている。片麻痺、四肢麻痺などの錐体路症候は脳幹、視床、基底核などの散在性病変によると推定された。同じフラビウイルス属ウエストナイル脳炎についても言及した。

文 献

- 1) 松永泰子, 矢部貞雄, 谷口清州, ほか. 日本における近年の日本脳炎患者発生状況. 厚生省伝染病流行予測調査および日本脳炎確認患者調査(1982-1996)に基づく解析. 感染症学誌 1999; 73: 97-103.
- 2) 武谷止孝. 日本夏季脳炎の組織病理. 神経進歩 1962; 6: 75-87.
- 3) Shoji H, Hiraki Y, Kuwasaki N, et al. Japanese encephalitis in the Kurume of Japan: CT and MRI findings. J Neurol 1989; 236: 255-9.
- 4) Shoji H, Murakami T, Murai I, et al. A follow-up study by CT and MRI in 3 cases of Japanese encephalitis. Neuroradiology 1990; 32: 215-9.
- 5) Misra UK, Kalita J, Jain SK, et al. Radiological and neurophysiological changes in Japanese encephalitis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1994; 57: 1484-7.
- 6) Kusuha T, Ayabe M, Hino H, et al. Cerebrospinal fluid levels of monoamines in patients with Japanese encephalitis. Eur Neurol 1996; 36: 236-7.
- 7) Shoji H, Watanabe M, Itoh S, et al. Japanese encephalitis and parkinsonism. J Neurol 1993; 240: 59-60.
- 8) Ogata A, Tashiro K, Nukuzuma S, et al. A rat model of Parkinson's disease induced by Japanese encephalitis virus. J Neurol Virol 1997; 3: 141-7.
- 9) Ogata A, Hamaue N, Terado M, et al. Isatin, an endogenous MAO inhibitor, improves bradykinesia and dopamine levels in a rat model of Parkinson's disease induced by Japanese encephalitis virus. J Neurol Sci 2003; 206: 79-83.
- 10) Kalita J, Misra UK, Pandey S, et al. A comparison of clinical and radiological findings in adults and children with Japanese encephalitis. Arch Neurol 2003; 60: 1760-4.
- 11) Pradhan S, Pandey N, Shashank S, et al. Parkinsonism due to predominant involvement of substantia nigra in Japanese encephalitis. Neurology 1999; 53: 1781-6.
- 12) Rayamjhi A, Singh R, Prasad R, et al. A clinico-laboratory profile and outcome of Japanese encephalitis Nepali children. Ann Trop Paediatr 2006; 26: 293-301.
- 13) Solomon T, Dung NM, Kneen R. Seizures and raised intracranial pressure in Vietnamese patients with Japanese encephalitis. Brain 2002; 125: 1083-93.
- 14) Ayukawa R, Fujimoto H, Ayabe M, et al. An unexpected outbreak of Japanese encephalitis in the Chugoku district of Japan, 2002. Jpn J Infect Dis 2004; 57: 63-6.
- 15) 園田啓太, 遠藤智代子, 田中 薫, ほか. 日本脳炎の後遺症の検討. 神経内科 2007; 67: 479-81.
- 16) Ono Y, Manabe Y, Sakai K, et al. Clonic perseveration in the subacute stage of Japanese encephalitis. J Neurol Sci 2006; 251: 107-9.
- 17) Furiya Y, Hirano M, Nakamuro T, et al. A case of post-Japanese encephalitis with partial hypothalamic dysfunction showing repetitive hyperthermia in summertime. J Infect 2006; 52: e143-6.
- 18) 楠元正志, 野田和人, 三浦史郎, ほか. 中枢性睡眠時無呼吸症候群を呈した日本脳炎の一例[会]. 日本神経学会九州神経地方会. 2007. 6.
- 19) Hamano K, Kumada S, Hayashi M, et al. Laryngeal dystonia in a case of severe motor and intellectual disabilities due to Japanese encephalitis sequelae. Brain Develop 2004; 26: 335-8.
- 20) Chuang Y-M, Kwan S-Y, Lirng JF, et al. Radiological and manometric diagnosis of cricopharyngeal dysphagia in a Japanese encephalitis survivor. Eur J Neurol 2002; 9: 407-11.
- 21) Monnet FP. Behavioural disturbances following Japanese B encephalitis. Eur Psychiatry 2003; 18: 269-73.
- 22) Sejvar JJ, Haddad MB, Tierney BC, et al. Neurologic manifestations and outcome of West Nile vi-

- rus infection. JAMA 2003 ; 290 : 511-5.
- 23) Sejvar JJ. The long-term outcomes of human West Nile virus infection. Clin Infect Dis J 2007 ; 44 : 1617-24.
- 24) Davis LE, DeBiasi R, Goade DE, et al. West Nile virus neuroinvasive disease. Ann Neurol 2006 ; 60 : 286-300.
- 25) Bosanko CM, Gilroy J, Wang AM, et al. West Nile virus encephalitis involving the substantia nigra : neuroimaging and pathologic findings with literature review. Arch Neurol 2003 ; 60 : 1448-52.
- 26) Ali M, Safriel Y, Sohi J, Llave A, et al. West Nile virus infection : MR imaging findings in the nervous system. AJNR Am J Neuroradiol 2005 ; 26 : 289-97.
- 27) Petropoulou KA, Gordon SM, Prayson RA, et al. West Nile virus meningoencephalitis : MR imaging findings. AJNR Am J Neuroradiol 2005 ; 26 : 1986-95.
- 28) Sampson BA, Ambrosi C, Charlot A, et al. The pathology of human West Nile virus infection. Hum Pathol 2000 ; 31 : 527-31.
- 29) Guarner J, Shieh WJ, Hunter S, et al. Clinicopathologic study and laboratory diagnosis of 23 cases with West Nile virus encephalomyelitis. Hum Pathol 2004 ; 35 : 983-90.

* * *

傍腫瘍性神経症候群の診断とその意義

田中 恵子

Key words : paraneoplastic neurological syndrome (PNS), 抗神経抗体, 細胞傷害性T細胞

悪性腫瘍患者には様々な神経障害が合併するが、そのうち腫瘍の転移・化学療法や放射線療法に伴うもの・栄養障害・日和見感染などの原因がなく、自己免疫的機序によると考えられる一群を傍腫瘍性神経症候群(paraneoplastic neurological syndrome : PNS)と称する。PNSの存在を喚起したのは、1948年Denny-Brownの亜急性感覚性ニューロパチーを呈した肺小細胞癌(small cell lung cancer : SCLC)の論文に始まるとされ、1980年代になって神経組織に対する自己抗体の存在が示されたことから免疫学的機序によると考えられるに至った^{1,2)}。

本特集では、悪性腫瘍と密接に関連して生じることが知られている神経障害を広く取り上げており、必ずしも免疫学的機序を背景とするものばかりではないが、多くのPNSで自己免疫的病態が想定されていることから、ここでは自己免疫疾患としてのPNSを中心に概説する。

PNSは悪性腫瘍全体の1%前後に生じる比較的多様な病態と考えられているが、自己抗体の検出方法の進歩に伴い、多彩な神経症状を生じることが知られるようになった。抗体が検出されない場合も多く、実際の頻度はより高いと考えられ、日常臨床でPNSを理解することは極めて重要になっている。

従来、PNSとして記述された典型例は、1) 亜

急性に小脳失調が進行する中高年女性で血清・髄液中に、小脳Purkinje細胞に結合する自己抗体(抗Yo抗体)が検出され、ほどなく子宮癌・卵巣癌・卵管癌・乳癌などが発見される、という亜急性小脳変性症(paraneoplastic cerebellar degeneration : PCD)、2) 亜急性感覚性運動失調型ニューロパチーを呈し、神経細胞の核に反応する自己抗体(抗Hu抗体)が検出される肺小細胞癌の一群、3) Lambert-Eaton筋無力症候群(myasthenic syndrome) (LEMS) を呈し、電位依存性カルシウムチャンネル(voltage-gated calcium channel : VGCC)に対する抗体を伴いSCLCを有する群(最近SCLCを伴うparaneoplastic LEMSでは、抗VGCC抗体に加えてantiglial nuclear antibody (AGNA)が高率に併存するとの報告がある³⁾)、4) 消化器癌などを有する高齢男性に多い皮膚筋炎、などが代表的病型と考えられてきた⁴⁾。しかしながら、中枢神経・末梢神経にわたる広汎かつ多彩な神経症候を呈する例、運動ニューロン病用の筋萎縮や呼吸不全を呈する例、また経過が緩徐で一過性に自然軽快が見られる例など様々な報告があり、神経症候のみから他疾患と鑑別可能なPNSに特異的とされるものはないため、その診断は難しい。また、神経症候と自己抗体と腫瘍原発巣との関連も必ずしも一定ではない。PNSの60%以上の例では、神経症状発現時には悪性腫瘍の存在が捉えられず、数カ月から数年を経て初めて明らかになる例、あるいは

たなか けいこ：金沢医科大学脳脊髄神経治療学（神経内科学）



図. 抗体検出システム

抗 Ma-2 抗体を例に示す, 神経組織・非神経組織ホモジェネートを用いたウェスタンブロットおよび免疫組織化学で, 一定の染色パターンが得られた場合, 対応抗原特異的の反応をリコンビナント抗原蛋白を用いたウェスタンブロットで確認する。

は剖検で初めて小さな腫瘍が発見される例もあり, 神経疾患の日常診療上, 本症は頻りに鑑別疾患の対象に挙げられるものである。一方で, 本症の診断は, 背景に潜む悪性腫瘍の検索に目を向けさせ, 腫瘍早期診断・早期治療に結びつくものであることから, PNSとの診断を確定することは大変重要である。

PNS診断に極めて有用なツールとなるのが, 別項で詳述される自己抗体である。筆者は過去十数年にわたり, 全国諸施設から依頼を受けた約3,000例に及ぶ検体について, PNS関連の抗神経抗体の解析を行ってきた。検体は, ヒトおよびラットやマウスの中樞神経各部位・末梢神経・一般臓器の各ホモジェネートを用いたウェスタンブロットと, 灌流固定したラットの神経組織を用いた免疫組織染色で, 神経組織特異的抗体についてのスクリーニングを行い, Yo/Hu/Ri/Ma-2/amphiphysin/CRMP-5などの既知の抗体に相当する反応パターンを得たものについては, 各抗原蛋白の抗体結合部位を含むリコンビナント蛋白を作成して, 各抗原特異的な反応を確認することで, 抗体診断を行ってきた (図) (抗体陽性率: Hu>Yo>CRMP-5>amphiphysin>Ma-2の頻度で検出された)。なお, これらのスクリー

ニングでは, 細胞表面に発現する受容体やチャネル蛋白など, 存在量が微量な抗原は検出が困難であり, 最近辺縁系脳炎様症状を呈する一群で注目を浴びている, 電位依存性カリウムチャネル (voltage-gated potassium channel: VGKC) に対する抗体や glutamate receptor, NMDA receptor に対する抗体の検出には, アイソトープでラベルした抗原を用いての免疫沈降法や抗原蛋白を細胞に発現させて間接蛍光抗体法で検出するなどの別の方法が必要であり, 国内でもいくつかの施設で行われている。

これらの方法を駆使しても, 抗体が検出できないPNDが40~50%にのぼるとされる (J. Dalmau私信, この母集団の判断基準は明らかではない)。一方, 単独例・少数例で新たに報告された抗体の意義については, その判断に慎重を要するものもある。

2004年, 欧米のグループがPNSの診断基準を提唱した⁵⁾。PNSをdefiniteとpossibleに分けPNSで特徴的とされる, PCD, limbic encephalitis, subacute sensory neuronopathyなどの症候を呈し5年以内に悪性腫瘍が明らかになる場合, あるいは腫瘍の治療に直接的に関係して神経症状の改善がある場合, またはPNS特異的な抗体があ

る場合をdefiniteとしている。

PNSでは腫瘍細胞が神経組織に交差反応する抗原 (onconeural antigen) を発現し、それに対して生じた免疫反応が神経組織を攻撃する機序が考えられる。この場合に産生される抗体の多くは、細胞の生存・維持に関わる重要な蛋白に対するものであることが多く、神経症状発現時にはすでに高力価で、しかも髄腔内での産生が考えられる状況で検出されることから、抗体が神経障害に直接関与する可能性が考えられる。しかしながら、PNSを含む自己免疫疾患で抗体の病態への直接的関与が明らかになったものは、LEMSにおける抗VGCC抗体、neuromyotoniaでの抗VGKC抗体、重症筋無力症での抗AChR抗体、傍腫瘍性網膜変性症での抗recoverin抗体などに限られている。これらの疾患では患者血清を用いて、病態モデルが再現できたことから、その直接的関与が明らかになったものであるが、これらの抗原は、抗体が到達しやすい部位に存在し、抗体除去療法が有効であるなどの特徴がある。その他の多くの抗体、特にYoやHuなどのように細胞内に局在する抗原の場合は抗体の直接的関与は証明されていない。筆者らは、Yo陽性PCDおよびHu陽性群では、様々な検討結果を踏まえ、細胞傷害性T細胞が病態に関与する可能性について報告してきた^{6,7)}。しかしながら、抗原特異的T細胞を用いての動物モデルの作成は困難であり、細胞内抗原に対する抗体を有する一群での病態機序はいまだはっきりしない。

PNSの治療は、チャネルや受容体に対する抗体を有する群では、抗体除去および抗体産生抑制のための治療が有効である。一方、細胞内抗原に対する抗体を有する群では、早期に神経組織傷害が強いことが多く、神経症状に対する治療への反応は不良であることが多い。神経症状出

現早期に併存する腫瘍が発見され、腫瘍に対する治療が速やかに行われれば、神経症状の予後も比較的よいとされる。なお、神経症状で発症し遅れて腫瘍が発見される例が必ずしも腫瘍の予後がよいわけではない⁸⁾。腫瘍発見に至るまでの経過中は、腫瘍に対する免疫反応によりその増大が抑制されていたものが、腫瘍の抗原性の変化や個体側の免疫制御系の変化などにより腫瘍免疫が破綻してしまう可能性も考えられる。

以上、PNSは決して日常診療で遭遇しないまれな疾患ではなく、原因を特定できない神経症状がある場合は常に考慮すべき疾患であることを強調したい。

文 献

- 1) Cunningham J, et al: Partial characterization of the Purkinje cell antigens in paraneoplastic cerebellar degeneration. *Neurology* 36: 1163-1168, 1986.
- 2) Tanaka K, et al: Antibodies to brain proteins in paraneoplastic cerebellar degeneration. *Neurology* 36: 1169-1172, 1986.
- 3) Graus F, et al: Antiglianglular nuclear antibody: marker of lung cancer-related paraneoplastic neurological syndromes. *J Neuroimmunol* 165: 166-171, 2005.
- 4) Voltz R: Paraneoplastic neurological syndromes: an update on diagnosis, pathogenesis, and therapy. *Lancet Neurol* 1: 293-305, 2002.
- 5) Graus F, et al: For the Paraneoplastic Neurological Syndrome Euronetwork. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75: 1135-1140, 2004.
- 6) Tanaka K, et al: Passive transfer and active immunization with the recombinant leucine-zipper (Yo) protein as an attempt to establish an animal model of paraneoplastic cerebellar degeneration. *J Neurol Sci* 127: 153-158, 1994.
- 7) Tanaka M, et al: Cytotoxic T cell activity against the peptide, AYRRALEL, from Yo protein of patients with the HLA A24 or B27 supertype and paraneoplastic cerebellar degeneration. *J Neurol Sci* 188: 61-65, 2001.
- 8) Bataller L, Dalmau JO: Paraneoplastic disorders of the central nervous system: Update on diagnostic criteria and treatment. *Semin Neurol* 24: 461-471, 2004.

抗 Hu · Yo · Ri · Ma 2 抗体陽性辺縁系脳炎

田中 恵子

はじめに

傍腫瘍性神経症候群 (paraneoplastic neurological syndrome: PNS) は癌者に生じる、自己免疫学的機序によると考えられる神経障害である。一般に、神経症状は亜急性に進行し高度の障害を生じる傾向があり、神経症状が腫瘍発見に先行することが多い。多くの場合、腫瘍と神経組織を共通に認識する特異的な自己抗体が存在し、抗体の種類と神経症候および腫瘍原発巣の間にはゆるいながらも一定の傾向があるため、抗体の検出が PNS の診断および腫瘍の早期発見のマーカーとして有用である¹⁾。しかしながら、特異的な抗体が検出されない場合もあり、しばしば診断に難渋する。抗体陰性の場合には、辺縁系脳炎や亜急性小脳失調、亜急性感覚性ニューロパチーなどの特徴的症候を呈して5年以内に悪性腫瘍が明らかになる場合や、腫瘍の治療に直接的に関係して神経症状の改善がある場合は PNS と診断される²⁾。

PNS の代表的一群である傍腫瘍性辺縁系脳炎 (paraneoplastic limbic encephalitis: PLE) は、数日から3ヵ月ほどの経過で急性・亜急性に進行する記憶力・認知機能障害、幻覚・うつ・性格変化などの精神症状、けいれん、意識障害などを呈するものである。潜在する腫瘍は、肺癌(50%)、卵巣癌(20%)、乳癌(8%)、Hodgkin 病、未分化奇形腫、胸腺腫などが多い³⁾。

本症では、脳脊髄液で軽度のリンパ球および蛋白の増加、IgG 上昇がみられる。脳波では徐波や発作性鋭波・棘波を認め、頭部 MRI では、一側または両側の側頭葉内側面に T2 強調画像や FLAIR 画像でしばしば造影効果を伴う高信号病変を認める。てんかん発作を伴う PLE では MRI が正常でも FDG-PET で側頭葉内側面に高信号を呈する場合がある。

病理学的には、扁桃核、海馬の錐体細胞層やアンモン角での神経細胞脱落、血管周囲性リンパ球浸潤、ミクログリアの増殖などがみられる。

たなか けいこ 独立行政法人国立病院機構西新潟中央病院/神経内科神経部長
0289-0585/08/¥500/論文/JCLS

傍腫瘍性辺縁系脳炎に関連する自己抗体

Gultekin らが解析した PLE 50 例では、抗神経自己抗体陽性は 30 例(60%)で、このうち抗 Hu 抗体が 18 例、抗 Ma/Ta 抗体が 12 例で陽性であった。20 例は抗体陰性で 4 例は抗原未同定の抗体が陽性であった³⁾。このほか、CV2/CRMP 5, amphiphysin に対する抗体を有する例もある。これらの細胞内抗原に対する抗体を有する例に加えて、いわゆる“neuropil antibodies”と総称される電位依存性カリウムチャンネル(voltage-gated potassium channel: VGKC)や NMDA 受容体に対する抗体を有する例も報告されている^{4,5)}。これらについては、他項で詳述される。

ちなみに、臨床的に PLE が疑われ、診断のために筆者のもとに寄せられた検体 93 例の解析では、Hu(6/93), amphiphysin(1/93), CRMP 5(1/10), VGKC(3/41), VGCC(5/41)に対する抗体陽性例があった。

以下に与えられたテーマに沿って、細胞内抗原に対する抗体を有する PNS について概説する。

1. 抗 Hu 抗体(図1)

肺小細胞癌(SCLC)に伴う PLE では 50%以上に抗 Hu 抗体が認められ、一方、抗 Hu 抗体陽性の PNS 全体ではその 94%が SCLC に伴うもので、約 30%が辺縁系に限局した脳炎の病像を呈する。SCLC に伴う PLE を抗 Hu 抗体陽性群(8 例)と陰性群(8 例)に分けて比較し、Hu 陽性群では 7 例で辺縁系のみならず広汎な神経障害を呈したとの報告がある⁶⁾。ちなみに Graus らの Hu 抗体陽性 200 例の解析では、平均発症年齢 63 歳で男性が 75.5%を占め、55.5%に SCLC があり、約 60%が感覚性(運動性)ニューロパチー、10.5%が小脳失調、その他、脳炎様症状、脳幹・自律神経症候あるいは multifocal と分類された中に辺縁系脳炎様の症例が含まれると思われる。この病型では、神経障害が死因となる例が 60%とされている⁷⁾。

抗 Hu(type II, ANNA-1)抗体は、免疫組織化学でヒトやラットの中核および末梢神経細胞核に広く反応し、神経細胞を抗原としたウェスタンブロットでは 35~40 kd に複

527

数のバンドが染色される。対応抗原には数種の isotype があり、Hu family (HuD, PLE 21/Hei N 1/HuC, HuR) をなす。いずれも 3 個の RNA recognition motif (RRM) を有し、細胞増殖を制御する分子 (*c-fos*, *c-myc*, Gap 43, GM-CSF など) の mRNA 3'-非翻訳領域 AU-rich element に結合する。抗 Hu 抗体は HuD/HuC/Hei N 1 の第 1・第 2 RRM を認識する⁸⁾。Hu 蛋白は神経発生の早期から神経細胞に発現し、神経細胞の分化増殖などに重要な役割を担うと考えられている。SCLC や神経芽細胞腫その他の腫瘍細胞にも発現している。HuR は神経系以外の組織にも広く分布する。

2. 抗 Yo (type I/anti-Purkinje cell antibody: APCA) 抗体 (図 2)

本抗体陽性例は辺縁系脳炎の病像を呈することは少なく、ほぼ特異的に婦人科癌・乳癌を有する亜急性小脳失調の女性患者に認められる。急性・亜急性の経過で高度な小脳失調を呈し、眼振・深部腱反射亢進などの所見を伴うこともある。まれながら、消化器の腺癌に伴う男性例の報告も散見される。小脳失調は急速に進行し、様々な免疫療法に反応しないことが多いが、まれに、症状の寛解・増悪がみられる二峰性で緩徐な経過を呈する例もある。小脳症状は亜急性に進行した後は安定化するものの、癌そのものが予後を左右し、平均生存期間は乳癌で 100 ヶ月、婦人科癌で 22 ヶ月とされる⁹⁾。しかし、自験卵管癌患者では、癌発見時にはすでに腹腔内播種があったにもかかわらず、原発巣の手術のみで 15 年生存したことから、腫瘍に対する免疫反応もあったのではないかと推測される例であった。

Yo 抗体陽性血清でのヒト小脳切片を用いた免疫組織染色では、選択的に Purkinje 細胞の細胞質が粗顆粒状に染色され (ラット脳では大脳・脳幹の大型神経細胞も染色される)、免疫電顕では粗面小胞体、リボソーム、Golgi 体と反応する。神経細胞を抗原としたウェスタンブロットでは 58 kd (52~62 kd) の付近に反応バンドを認める。補体結合性のポリクローナル IgG 抗体であり、神経症状発症早期から血清・髄液中に高力価で認められ、髄液中での相対力価が高いことから、中枢神経内でも産生されていると考えられる。この 58 kd の対応抗原分子は、ロイシンが 7 アミノ酸毎に繰り返す leucine zipper motif (LZM) 構造を有する¹⁰⁾。LZM 構造は同様の LZM 構造を有する蛋白と結合して 2 量体を形成する性質があり、*c-myc*, *c-fos*, *c-jun* などの proto-oncogene と結合して DNA の転写に影響を及

ぼす可能性が考えられている。Yo 抗原の mRNA は末梢臓器にも広く発現しているが、翻訳後の蛋白としては神経系のみの特異的に発現する。PCD で検出される抗 Yo 抗体はこの LZM 部分を共通に認識する¹¹⁾。

3. 抗 Ri (type II b, ANNA-2) 抗体 (図 3)

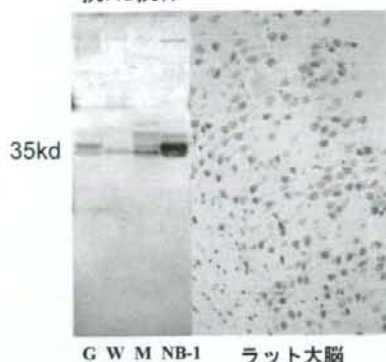
本抗体は乳癌 (腺癌) に伴いオプソクロームスと小脳失調を呈した女性例で見出されたものである。通常、亜急性の体幹失調にオプソクロームスなどの眼球運動の異常を伴い、めまい、嘔気、嚥下障害、聴覚障害、近位筋力低下などを呈する。髄液では軽度の細胞および蛋白増加を認めるが、頭部 MRI は異常所見を認めないことが多い。時に自然経過で症状の軽減がみられることがある。SCLC があり、意識障害を伴って小脳失調、オプソクロームスを呈する例もあり、この場合は抗 Ri 抗体が陰性で抗 Hu 抗体が陽性であることが多い。また、neuroblastoma を伴う小児例ではこれらの抗体を認めないことが多い¹²⁾。抗 Ri 抗体陽性患者血清を用いた免疫組織化学では、中枢神経の神経細胞核が染色されるが後根神経節細胞などの末梢神経細胞核は染まらない。ウェスタンブロットでは 55 および 80 kd のバンドが染色される。対応抗原分子は神経系に特異的に発現する Nova-1 と命名された RNA 結合蛋白であり、抗 Ri 抗体は Nova-1 の RNA 結合活性を阻害することが示された^{13,14)}。

4. 抗 Ma 抗体 (図 4)

抗 Ma-2 (Ta) 抗体陽性例は、数週から 6 ヶ月程度の間進行する過眠・高体温などの視床下部症状 (70%)、辺縁系・上部脳幹症状を呈する。MRI では側頭葉内側面・視床下部・基底核・視床・四丘体領域に信号異常を認め、CSF は軽度の炎症反応を呈する。45 歳以下の男性では睾丸腫瘍、そのほかの群では様々な腫瘍が報告されているが SCLC はまれとされる。癌の摘出・免疫療法により 30% の例で症状の軽快が得られている¹⁵⁾。

抗 Ma/Ta 抗体は、当初脳幹脳炎の症状を呈した肺癌/乳癌/耳下腺癌/大腸癌例で見出された 37 kd の神経細胞核を認識する抗体で、抗 Ma 抗体として報告されたが、Ma 抗原には 5 つの isoform が存在することが知られ、精巣癌の男性例では Ma-2, 3, 4 が、肺癌・耳下腺癌を伴う女性例で Ma-1, 5 の各 isoform が認識抗原になることが報告された。その後精巣癌に伴う傍腫瘍性脳脊髄炎で抗 Ta 抗体として報告されたものの認識抗原が Ma-2 に一致することが明らかとなり、上記 37 kd に反応する抗体は Ma-1 と呼ば

抗Hu抗体

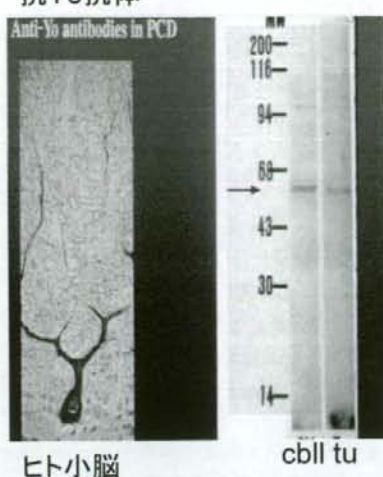


G W M NB-1 ラット大脳

図1 抗Hu抗体

ウェスタンブロットではヒト大脳灰白質(G), ヒト大脳白質(W), マウス小脳(M), 神経芽細胞腫ホモジネート(NB-1)で35 kd付近に複数のバンドを認める。ラット大脳を用いた免疫組織化学染色では神経細胞の核が染色される。

抗Yo抗体



ヒト小脳

cblII tu

図2 抗Yo抗体

ヒト小脳を用いた免疫組織化学染色ではPurkinje細胞の細胞質およびdendriteが粗顆粒状に染色され、マウス小脳(cblII)および腫瘍組織(tu)を用いたウェスタンブロットで58 kd付近に反応バンドを認める。

れるようになった¹⁶⁾。Ma-2は神経細胞核および細胞質・精巣の spermatogenic cell に発現しており、ウェスタンブロットで40 kdのバンドに対応する。

傍腫瘍性辺縁系脳炎の病態機序

PNSの多くの例で特徴的な自己抗体が見出され、これらの抗体と背景癌、神経症状の組み合わせには一定の関連がある。これらの抗体のうち、Lambert-Eaton myasthenic syndrome (LEMS)で検出される抗電位依存性カルシウムチャネル(voltage-gated calcium channel: VGCC)抗体などの細胞表面に存在する抗原を認識する抗体では、抗体陽性血清IgGを用いて実験的に病態を再現できることが示されている。PLEでも抗VGKC抗体陽性例が血漿交換療法により神経症状が改善している。これらの場合は神経組織に反応する抗体が神経症状の発現に一義的な意義を担っていると考えられる。一方、細胞内・核内に存在する抗原を認識する抗Hu・Yo・Ri・Ma/Ta抗体などでは、抗体のみでの組織傷害は生じないと考えられる。

PLEを含め多くのPNSでは、病初期には罹患神経組織および腫瘍内に細胞傷害性T細胞(cytotoxic T cell: CTL)のマーカーであるCD8陽性CD11b陰性Tリンパ球が浸潤しており、髄液中に細胞増多を認めるなど、CTLを介する組織傷害の可能性が考えられる。実際、PNS患者の腫瘍および罹患神経組織に浸潤しているT細胞受容体のレパートアを解析してみると、いずれの組織でも、特定の抗原を

抗Ri抗体



rRi rat cblII

図3 抗Ri抗体

Nova-1のアミノ酸配列から融合蛋白を作成・精製したリコンビナントRi蛋白を用いたウェスタンブロットでRi特異的に反応する抗体を検出した。ラット小脳を用いた免疫組織化学染色では神経細胞の核が染色される。

抗Ma-2抗体



rMa rat cbr

図4 抗Ma-2抗体

Ma-2抗原のリコンビナント蛋白に反応するバンドを検出した血清IgGは、ラット大脳の免疫組織化学染色で、神経細胞の核小体および核、細胞質を染色した。

認識して集積したと考えられる一定の受容体モチーフ構造を持った T 細胞が検出される。CTL が病変形成に関与する場合、細胞内抗原は 8~10 個のアミノ酸からなるペプチドの形で主要組織適合抗原 (major histocompatibility complex; MHC) class I 分子に結合して細胞表面に呈示され、CD 8 陽性 T 細胞の T 細胞受容体 (T cell receptor; TCR) が MHC class I 分子とともに抗原ペプチドを認識して T 細胞が活性化される。この場合、class I 分子に結合するペプチドには一定の規則性があり、2 番目、8、9 番目のアミノ酸が一定であることが必要である。筆者らは、抗 Yo 抗体陽性亜急性小脳失調あるいは抗 Hu 抗体陽性 PNS では CTL が重要な役割を担う可能性を考え、本邦の抗 Yo 抗体陽性亜急性小脳失調症および抗 Hu 抗体陽性 PNS 例の HLA を解析し、Yo 陽性者のほとんどが HLA class I の A 24 が共通であり、Hu 陽性者も B7 superfamily に共通の型を有していることを見出した。そこで HLA A 24 に結合するペプチドモチーフを Yo 抗原蛋白のアミノ酸配列から探しだし、このペプチドを発現させた自己の細胞を標的として、患者の末梢血中の CD 8 陽性 T 細胞分画に CTL 活性が認められることを報告してきた^{17,18)}。以上より Yo/Hu 陽性群の病態は、腫瘍組織内で免疫原性の高い抗原が抗原提示細胞を介して免疫応答を誘導し、活性化さ

れた CD 8 陽性 T 細胞が神経組織に移行して共通抗原を有する神経細胞を攻撃し、一方では CD 4 陽性 T 細胞の活性化を介して B 細胞も刺激され抗体を産生する可能性が考えられる。しかしながら、これらのペプチド特異的に反応する CD 8 陽性 CTL を用いての疾患モデル作成にはまだ至っていないため、さらに直接的な証明が必要である。

PNS の神経障害は一般に急速に進行し、副腎皮質ステロイド、血漿交換療法、免疫抑制剤、大量ガンマグロブリン投与などの積極的な治療にも反応しないことが多い。しかし、抗 VGCC 抗体や抗 VGKC 抗体陽性例、あるいは胸腺腫・Hodgkin 病に伴う例では腫瘍に対する治療や血漿交換療法などにより神経症状が改善する場合がある。特に PLE では抗 VGKC 抗体などがみられない場合でも腫瘍の治療、時には治療と無関係に自然経過と思われる状況で症状の改善をみる場合が他の PNS に比し多いとされる。

PNS は、上述のように腫瘍抗原の呈示が引き金となってその後の免疫応答が神経傷害を引き起こす可能性が高い。腫瘍は原発巣内や転移リンパ組織などに局限してなかなか発見に至らない場合も多く、早期診断の方法についてはさらなる検討が必要であるが、現時点では抗体の検出などを通して早期に診断し、免疫源となる腫瘍に対する治療を速やかに行うことが重要と思われる。

文 献

- Dropcho EJ. Neurologic paraneoplastic syndromes. *J Neurol Sci*. 1998; 153: 264.
- Graus F, et al. for the Paraneoplastic Neurological Syndrome Euro-network. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004; 75: 1135-40.
- Gultekin SH, Rosenfeld MR, Voltz R, et al. Paraneoplastic limbic encephalitis: neurological symptoms, immunological findings and tumour association in 50 patients. *Brain*. 2000; 123: 1481-94.
- Zuliani L, et al. Paraneoplastic limbic encephalitis associated with potassium channel antibodies: value of anti-glial nuclear antibodies in identifying the tumour. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007; 78: 204-5.
- Dalmau J, Tüzün E, Wu HY, et al. Paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with ovarian teratoma. *Ann Neurol*. 2007; 61: 25-36.
- Alamowitch S, Graus F, Uchuya M, et al. Limbic encephalitis and small cell lung cancer. Clinical and immunological features. *Brain*. 1997; 120: 923-8.
- Graus F, Keime-Guibert F, Rene R, et al. Anti-Hu-associated paraneoplastic encephalomyelitis: analysis of 200 patients. *Brain*. 2001; 124: 1138-48.
- Liu J, Dalmau J, Szabo A, et al. Paraneoplastic encephalomyelitis antigens bind to the AU-rich elements of mRNA. *Neurology*. 1995; 45: 544-50.
- Rojas I, Graus F, Keime-Guibert F, et al. Long-term clinical outcome of paraneoplastic cerebellar degeneration and anti-Yo antibodies. *Neurology*. 2000; 55: 713-5.
- Fathallah-Shaykh H, Wolf S, Wong E, et al. Cloning of a leucine-zipper protein recognized by the sera of patients with antibody-associated paraneoplastic cerebellar degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991; 88: 3451-4.
- Sakai K, Ogasawara T, Hirose G, et al. Analysis of autoantibody binding to 52-kd paraneoplastic cerebellar degeneration associated antigen expressed in recombinant proteins. *Ann Neurol*. 1993; 33: 373-80.
- Luque FA, Furneaux HM, Ferziger R, et al. Anti Ri: an antibody associated with paraneoplastic opsoclonus and breast cancer. *Ann Neurol*. 1991; 29: 241-51.
- Buckanovich RJ, Posner JB, Darnell RB. Nova, the paraneoplastic Ri antigen, is homologous to an RNA-binding protein and is specifically expressed in the developing motor system. *Neuron*. 1993; 11: 637-72.
- Buckanovich RJ, Yang YYZ, Darnell RB. The oncofetal antigen Nova 1 is a neuron-specific RNA binding protein, the activity of which is inhibited by paraneoplastic antibodies. *J Neurosci*. 1996; 16: 1114-22.
- Dalmau J, Graus F, Villarejo A, et al. Clinical analysis of anti-Ma2 associated encephalitis. *Brain*. 2001; 127: 1831-44.
- Voltz R, Gultekin SH, Rosenfeld NR, et al. A serologic marker of paraneoplastic limbic and brain-stem encephalitis in patients with testicular cancer. *N Engl J Med*. 1999; 340: 1788-95.
- Tanaka K, Tanaka M, Inuzuka T, et al. Cytotoxic T lymphocyte-mediated cell death in paraneoplastic sensory neuropathy with anti-Hu antibody. *J Neurol Sci*. 1999; 163: 159-62.
- Tanaka M, Tanaka K, Tsuji S, et al. Cytotoxic T cell activity against the peptide, AYRRALEL, from Yo protein of patients with the HLA A 24 or B 27 supertype and paraneoplastic cerebellar degeneration. *J Neurol Sci*. 2001; 188: 61-5.

抗アクアポリン4抗体の解析

田中 恵子

Anti-aquaporin 4-antibody detection system

Keiko Tanaka

Department of Neurology, Nishi-Niigata Chuo National Hospital

Abstract

To clarify the epidemiological and clinicopathological features of Japanese patients previously diagnosed as optic-spinal multiple sclerosis (OSMS)/neuromyelitis optica (NMO), we developed anti-AQP4 antibody assay and NMO-IgG immunohistochemistry and tested the presence of the antibody in a large population of patients. Almost 70% of OSMS/NMO with long spinal cord lesions were positive for this antibody.

Antibody-positive patients were more likely to be female and blind, and had more relapses yearly and 68% of patients showed cerebral lesions on brain MRI and low frequency of oligoclonal bands in cerebrospinal fluid. The antibody titers related closely to the disease activity. The lesions involved were closely related to the areas of abundant AQP4 water channel expression. These evidence suggested the pathomechanical relations of the antibody to this disease.

Key words: anti-AQP4 antibody, optic-spinal MS, long cord lesions, NMO, NMO-IgG

はじめに

従来、視神経脊髄型多発性硬化症(optic-spinal multiple sclerosis: OSMS)は我が国の多発性硬化症(multiple sclerosis: MS)を特徴づける一病型とされてきた。しかしながら、最近の様々な知見を踏まえ、このなかで脊髄に3椎体長以上に及ぶlong cord lesion(LCL)を生じ、以下に述べるNMO-IgG/抗アクアポリン4(AQP4)抗体が陽性の一群は、欧米で疾患概念が提唱されたneuromyelitis optica(NMO)と同一疾患と考えられるようになってきた。この一群の呼称

については、MSとは病態が異なる可能性が高いこと、視神経と脊髄に病変が限局する印象を与えるOSまたはNMOの名称に抵抗を感じる研究者もあることから、まだコンセンサスには至っていない。

抗AQP4抗体が関連するNMO/OSMSは、アジア・アフリカ系人種に多く、中高年女性に高度の視力障害および脊髄病変を生じ、再発が多く機能予後が悪い。病理所見としては、肉眼的に脊髄の腫大、皮質髄質にまたがる軟化壊死、空洞形成などがみられ、microscopicには、中小血管の壁肥厚、好中球や好酸球浸潤、血管壁

への免疫グロブリンや活性化補体の沈着がみられる。また急性期の髄液細胞数の増加、タンパク含量の増加が目立ち、他の全身性自己免疫疾患を合併する頻度が高い。これらの特徴より、本症は抗体などの液性因子が関与する病態が示唆され、Tリンパ球による脱髄病変を主体とする通常型多発性硬化症 (conventional multiple sclerosis: CMS) とは病態機序が異なる可能性が考えられてきた。

2004年、米国の Lennon らは NMO 患者血清中にヒト大脳・小脳の pia, subpia, Virchow-Robin space, microvessel wall に沿って反応する IgG 抗体 (NMO-IgG) が存在することを示し、NMO の 44 例中 33 例 (75%) にみられ、CMS やその他の炎症性神経疾患では認めないことから、本抗体は NMO に特異的であり、診断的価値の高い抗体であることを示した¹⁾。この論文において、東北大学で診療されていた日本人 MS の中で、1999 年の Wingerchuk の診断基準に合致する OSMS 例でも 58% に NMO-IgG が陽性であったことが示されている。2005 年には、NMO-IgG が認識する抗原はアクアポリン 4 水チャネル (AQP4) であることが示された²⁾。

著者も以前から、臨床的に壊死性脊髄炎と診断された例の抗神経抗体を解析する際に、免疫組織化学で NMO-IgG と同様の染色パターンを呈する例を経験していたため、この例の対応抗原の同定も視野に入れて、抗 AQP4 抗体の検出系を構築した。この系で本邦 MS の多数例を検討し、典型的な NMO 症例と臨床的特徴が合致する、我が国で OSMS と診断された多くの例で本抗体が陽性であり、一方、大脳白質に多数の ovoid lesion を有する若年発症の典型的な CMS では陽性例がなく、抗 AQP4 抗体と密接に関連して CMS とは異なる特異的な一群が存在することが明らかになった³⁾。

1. NMO-IgG/抗 AQP4 抗体の検出系

a. NMO-IgG

ラットやマウスの大脳・小脳・脊髄を急速凍結した後、クリオスタット切片を作成し、患者血清を反応させ、蛍光色素をラベルした抗ヒト

IgG を二次抗体として、間接蛍光抗体法による免疫組織染色を行った。後述の抗 AQP4 抗体が陽性となる血清では、既報の NMO-IgG の染色パターンが認められた。

b. 抗 AQP4 抗体

ヒト小脳ライブラリーを用いて AQP4 をクローニングし、ヒト脳 total RNA から RT-PCR によりアクアポリン 4 の全長 cDNA を作製し、発現ベクターに組み込んで、human embryonic kidney (HEK) 細胞にトランスフェクトして発現させ、患者血清を反応させて、蛍光色素をラベルした抗ヒト IgG を二次抗体とした免疫染色を行った。

この際に検索した抗 AQP4 抗体強陽性の 20 例のすべてで、免疫組織化学でも NMO-IgG の染色パターンと一致することを確認している (図 1)。抗体力価の低い血清では、pia, subpia の染色性が弱く microvessel wall のみが染色されて見える検体もある。

その後、九州大学および東北大学で抗 AQP4 抗体の解析が開始された^{4,5)}。検出方法は、著者の施設を含む 3 施設とも基本的には同様であり、ヒト AQP4 cDNA の全長を発現ベクターに組み入れて、HEK 293 細胞にトランスフェクトして、患者血清と反応させ、間接蛍光抗体法で検出する方法を採用している (表 1)。発現ベクターの種類、AQP4 を transient に発現させるか、stable に発現する HEK 細胞を用いるか、血清での反応に際して細胞を前固定して染色するか、後固定するか、cut off 値をどこに設定するか、などに若干の違いはあるものの、抗体力価の高い検体の検出の際には、これらの方法の差違はあまり問題にはならない。治療後などで、抗体価が低い検体でのより鋭敏な抗体検出法については更に検討が必要である。

また、免疫沈降法、ELISA 法、フローサイトメーターを用いての測定法も試みられている。免疫沈降法はヨーロッパのグループが AQP4 全長のリコンビナントタンパクに³⁵S-methionine をラベルして患者血清を反応させ、protein A をつけた microbeads と結合した反応産物をフィルターでトラップして、その放射活性を測定す

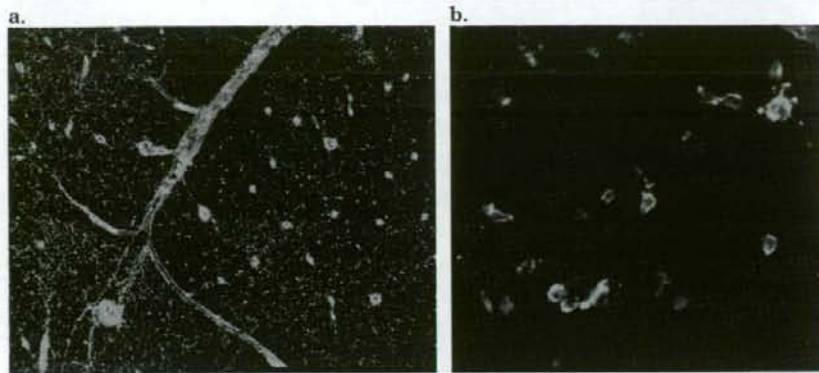


図1 NMO-IgG および抗AQP4抗体の染色パターン

a: ラット大脳に患者血清を反応させ、FITC-抗ヒトIgGで染色。
b: AQP4をtransfectしたHEK293細胞に、患者血清を反応させた免疫染色。

表1 諸施設での抗AQP4抗体検出系

	Lennonら ²⁾	田中ら ³⁾	高橋ら ⁴⁾	松岡ら ⁵⁾
template	ヒト小脳cDNA ↓ ヒト全長AQP4cDNA	ヒト小脳cDNA ↓ ヒト全長AQP4cDNA (isoform a & b)	ヒト小脳cDNA ↓ ヒト全長AQP4cDNA	ヒト脊髄cDNA ↓ ヒト全長AQP4cDNA (isoform a)
vector	pEGFP-C2	pEF-BOS	pTarget T TM	pcDNA-DEST53
transfection	HEK293 GFP-C2/AQP4 (stable)	HEK293 AQP4	HEK293 AQP4 (stable/non-selected)	HEK293 GFP/AQP4
staining	10% formalin 4分固定 ↓ 血清: 60分反応 ↓ Alexa 594-h/IgG	4% paraform/PBS 20分固定 ↓ 血清: 30分反応 ↓ GFP-h/IgG	血清: 60分反応 ↓ GFP-h/IgG ↓ 4% paraform. 固定	10% paraform/PBS 4分固定 ↓ 血清: overnight ↓ Alexa 594-h/IgG
cut off titer		serum: ×100 CSF: ×1	serum: ×4 CSF: ×1	serum: ×400

るものである。多数の検体を定量的に測定するには適するものの、手技がやや煩雑で、アイソトープを扱う施設が必要であること、AQP4をトランスフェクトした細胞を用いる方法に比し、必ずしも感度が高いということでもないようである⁶⁾。

著者らは当初、全長のAQP4タンパクを可溶化後、電気泳動をしてニトロセルロース紙にトランスファーして検出するウエスタンブロット

法で抗体の検出を試みたが、後に抗AQP4抗体陽性と判断できた血清を用いても反応バンドが得られなかった。そこで、可溶化に有利と考えられる小分子量のタンパクを用いることとし、AQP4cDNAを4分割して作製した融合タンパクで同様の試みを行ったが、各融合タンパクへの反応も得られなかった⁷⁾。患者血清がAQP4をトランスフェクトした生細胞の表面に反応することを考え併せると、抗体は細胞膜外部分の

複数のサブユニットを巻き込む立体構造を認識している可能性が高い。したがって、タンパクを可溶化してプレートに結合させる方法を用いる ELISA 法の場合の抗原認識機構は、まだ十分解明されていない。

一方、非固定の生細胞での解析系であるフローサイトメーターを用いる方法も試みたが、細胞の崩壊産物の混入や、AQP4 の細胞膜での発現が全周性に均質にいかない場合があることから、蛍光強度が不安定になる傾向があった。これまでの著者らの検討では、細胞に AQP4 をトランスフェクトして発現させたものに、血清を反応させて、その染色パターンを形態で検鏡する現行の方法が最も安定しているように思われる。

抗 AQP4 抗体関連 NMO の自験 20 例での検討では、抗 AQP4 抗体は IgG1 サブクラスに属した。IgG1 サブクラスは補体結合能を有することから、NMO 症例の病理所見として血管壁への免疫複合体の沈着を伴う血管壁の肥厚などの所見がみられ、活性化補体が沈着していることと関連して、本抗体の関与を支持する所見と考えられる。

抗体価を同一患者の血清と髄液とで比較すると、自験 20 例では血清の方が約 400 倍力価が高かった。Takahashi ら⁴⁾も血清の方が 500 倍力価が高いと報告している。この関係は各検体でほぼ一定であることから、髄液中の抗体は血液からの流入によると考えられ、抗体産生の方は末梢リンパ系であると考えられている。

2. 抗 AQP4 抗体陽性例の特徴

現在この検出系を用いて、約 2,000 検体について解析が終了し、我が国での本抗体陽性例の臨床的特徴が明らかになってきている。諸施設から OSMS または MS の臨床診断のもとに抗体検査を依頼され、集計ができた 508 例での、抗アクアポリン 4 抗体陽性率は 27.6% であったが、大脳・小脳病変を主とする通常型 MS ではすべて陰性であった。対照として検討した、神経症状を認めない Sjögren 症候群や SLE などの膠原病 20 例では陽性例はみられなかった。

表 2 抗 AQP4 抗体陽性例の特徴

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	視神経: 32, 脊髄: 33, 大脳: 5, 脳幹: 5
MRI	long cord lesion(LCL): 95 (84%) (うち萎縮 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%)

アクアポリン 4 抗体陽性例で詳細な臨床情報が得られた 115 例では、陽性例の 88.7% が女性であり、発症年齢の平均が 43.9±15.9 歳、EDSS の平均は 5.6±2.3 と高く、初発部位としては視神経と脊髄が多く、MRI では脊髄に 3 椎体以上にわたる長大な病変を有する例が 84% と多数を占めた。大脳病変も 68% に認めた。高度の視力障害を有する例は約半数あり、年間再発回数も 3.6 回と、再発頻度も高い例が多くみられた。オリゴクローナルバンド陽性率は 13% と低かった(表 2)。

本抗体陽性例の多くが脊髄に 3 椎体長以上に及ぶ long cord lesion(LCL) を有する。LCL を有する例の中で、アクアポリン 4 抗体の陽性例・陰性例を比較すると、陽性例では女性の比率が高く、失明率が高く、再発回数が多い結果であった。一方、オリゴクローナルバンドの陽性率は抗体陽性例で低い傾向があった。

抗体陽性例の脊髄 MRI の代表的所見は、胸髄を中心として上下に長い病変を認め、横断面でみると脊髄中心部に病変の主座があった。経過の長い一部の例では脊髄が長い範囲にわたり高度に萎縮していた。大脳病変は様々であり、視床下部病変があり過眠症が目立った例、大脳白質に空洞を伴う大きな病変を有する例もあった。

視神経病変で始まり、再発を繰り返すたびに脊髄病変が進展していった自験例では、疾患の活動性と並行して抗体価の変動がみられた。また、長期経過で症状が安定している例やメチルプレドニゾンパルス療法などの治療後の例では、抗体価が低く、陰性化する例もあった。

なお、抗AQP4抗体関連NMOの多くの例で、急性期にはメチルプレドニゾンパルス療法が行われており、パルス療法に反応が不良な例では血漿交換療法が加えられて、症状の改善が得られた例がみられる。再発予防には少量のプレドニゾン継続投与に加え、アザチオプリンなどの免疫抑制剤、ミトキサントロン、リツキシマブの投与の試みがなされ、良好な経過をとったとの報告が散見される。

抗AQP4抗体が本症の病態にどのように関わっているかはいまだ明らかではない。アクアポリンは現在13種のアイソタイプが同定され

ており、中枢神経系で発現の多いアイソタイプは1と4である。AQP4は、6回の膜貫通領域をもち細胞表面で4量体の形で存在し、水分子が通過しうるサイズのポアを有し、水分子の両方向性の出入りをコントロールしている。AQP4は脳表の軟膜直下のglia limitans、中小血管の外膜に接する部位、脳室壁上皮細胞に接する部位などでアストロサイトのendfeetに発現し、血液脳関門の機能を担い、脳浮腫に関連することが知られている。抗AQP4抗体関連NMOでは、これらのAQP4の発現が多い部位を病変の好発部位とし、疾患の活動性と並行して抗体価が推移する傾向があること⁴⁾、NMOの病理学的検討で、髄鞘が保たれている早期病変でAQP4の広範な脱落がみられる⁸⁾ことなどの知見から、抗AQP4抗体が本症の病態に深いかわりがあることが推察される。今後は更に直接的な証明が必要と考えられる。

■ 文 献

- 1) Lennon VA, et al: A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet* 364: 2106-2112, 2004.
- 2) Lennon VA, et al: IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *J Exp Med* 202: 473-477, 2005.
- 3) Tanaka K, et al: Anti-aquaporin 4 antibody in Japanese multiple sclerosis with long spinal cord lesions. *Multiple Sclerosis* 13: 850-855, 2007.
- 4) Takahashi T, et al: Anti-aquaporin-4 antibody is involved in the pathogenesis of NMO: a study on antibody titre. *Brain* 130 (Pt 5): 1235-1243, 2007.
- 5) Matsuoka T, et al: Heterogeneity of aquaporin-4 autoimmunity and spinal cord lesions in multiple sclerosis in Japanese. *Brain* 130: 1206-1223, 2007.
- 6) Paul F, et al: Antibody to aquaporin 4 in the diagnosis of neuromyelitis optica. *PLoS Med* 44: e133, 2007.
- 7) 谷 卓ほか: 抗aquaporin4抗体が認識するエピトープの解析. *臨床神経* 47: 1033, 2007.
- 8) Misu T, et al: Loss of aquaporin 4 in lesions of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Brain* 130: 1224-1234, 2007.

＜特集1：抗アクアポリン4抗体関連神経疾患の病態＞

抗体からみた病態

田中 恵子

The role of anti-aquaporin 4 antibody in NMO/OSMS

Keiko Tanaka

Abstract

Anti-aquaporin 4 antibody (AQP4-Ab) is detected specifically with high sensitivity in AQP4-Ab related neurological syndrome. It is not yet clear that AQP4-Ab is directly related to the lesion development, however, several supportive evidence have been accumulating such as loss of AQP4 in the early lesions of NMO, similar location of AQP4 expression and NMO lesions, AQP4-Ab can degenerate AQP4-expressing culture cells together with complement and so on. We have shown the water permeability change of AQP4-expressing cells under AQP4-Ab containing culture conditions in vitro. However it should be clarified that the AQP4-Ab itself directly binds to the AQP4-expressing cells and show the NMO pathology in vivo in the further study.

Key words: NMO-IgG/anti-aquaporin 4 antibody, optic-spinal multiple sclerosis, neuromyelitis optica, pathogenesis

＜はじめに＞

視神経脊髄型多発性硬化症 (optic-spinal multiple sclerosis: OSMS) の多くは neuromyelitis optica (NMO) と相同の疾患と考えられ、高度の視神経炎と、脊髄に3椎体長以上に及ぶ広汎な病変を生じ、再発頻度が高い機能予後不良の一群である¹⁾²⁾³⁾ (以下NMO/OSMSと呼称)。NMO/OSMSの特異的診断マーカーとして、血清中の自己抗体、NMO-IgG/抗aquaporin-4抗体(AQP4-Ab)の存在が明らかにされた⁴⁾⁵⁾。これまで我々は、本邦のOSMSの臨床・疫学的特徴を明らかにし、その病態を検討するため、NMO-IgG/抗AQP4抗体の測定系を確立し、OSMSを含む多数のMSについて、抗体診断を行ってきた⁶⁾。そして、上記臨床的特徴を有するNMO/OSMSの70-80%に本抗体が陽性であり、症状の活動性、治療の経過に並行して抗体価が推移することを示してきた。また、NMO/OSMSでは、血漿交換療法により抗体を除去することで症状が改善する例も多数報告されている。一

方、NMO剖検例の脊髄では早期病巣でも広汎にAQP4の免疫染色性が消失しており、AQP4が病変形成初期の標的になっていると考えられるとの報告がある⁷⁾ことなどから、NMO/OSMSの病態に抗AQP4抗体が密接に関わっている可能性が考えられている。

本抗体はこれまでの解析から、NMO/OSMSに特異的に検出されると考えてよいと思われ、急性期早期から検出されることから、治療戦略を考える上でも重要なマーカーである。しかしながら、一部の症状を呈するのみで比較的軽症で経過する例など、臨床的多様性があることも知られている。また、臨床的にはNMO/OSMSと区別ができない特徴を有しながら抗体が検出されない例もある。この場合、抗体検出系自体の感度の問題、当該症例が充分治療された後であるため活動性が抑制された時期の検体である場合、保存状態が不良であった検体であるなど、様々な可能性が考えられるが、臨床的に極めて類似しながら異なる病態を有するグループが存在する可能

性や、抗体の特異性そのものを再考する必要があるのか、などの点も完全に否定はできないものであり、今後のさらなる検討が必要である。

一方、AQP4抗体が病変形成に一義的意義を有するかという点についても、いまだ直接的な証明がないため、今後の検討が必要である。

<アクアポリン4水チャネル>

NMO-IgG/AQP4-Abの標的となる抗原は、神経系の代表的な水チャネル分子であるaquaporin 4 (AQP4)である。Aquaporinは現在13種の分子種が知られており、各臓器・組織で主に発現する分子種がそれぞれ固有の役割を果たしている⁹⁾。AQP4は中枢神経内での発現が最も多く、脳表膜や脳室壁上皮細胞の脳実質側、血管壁外膜側に接するアストロサイトのendfeetでの発現が多い(図1)⁹⁾。AQP4がこれらの部位で、髄液や血液と直接接触する訳ではなく、AQP4-Abの標的になるためにはその前段階として、血液脳関門の破綻など、何らかの病的過程が必要と考えられるが、一方で、NMO/OSMSの病変の好発部位とも重なるため、AQP4発現部位の特性は、本疾患群の病態形成に深く関わっていると考えられている。

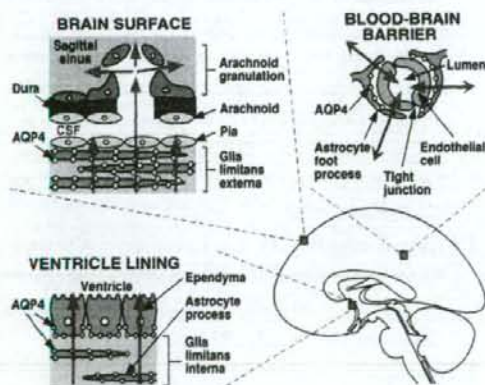


図1. 水チャネルの機能に関連が深いと思われるAQP4発現部位 (文献9)より引用)

<NMO/OSMSと抗アクアポリン4抗体の関係>

これまで、AQP4-Abの病因的意義を支持する見解も考えられている点は、

- 1) AQP4-Abは、NMO/OSMSの病型で特異的かつ高頻度に検出される
- 2) 抗体価と病勢(活動性)が並行して推移する場合が多い
- 3) 抗体を除去する血漿交換療法やB細胞を除去する治療が有効とされる
- 4) 病理学的に、本症の早期病変で、髄鞘がまだ残存する段階でもAQP4が広汎に消失している
- 5) AQP4の発現が多い部位と病変好発部位が一致する
- 6) AQP4-Abの免疫グロブリンサブタイプは、IgG1が主体であり、病理学的に本症病変で観察される、免疫グロブリンおよび活性化補体の沈着する所見を説明できる
- 7) 抗体はAQP4の細胞外ドメインに結合すると考えられ、血液・髄液中の抗体が到達しやすいと考えられる
- 8) 培養系でAQP4発現細胞にAQP4-Abと補体を反応させると、AQP4がdegradationを受け、細胞が傷害される¹⁰⁾

<AQP4-Abの病因的意義の検討>

AQP4は中枢神経系での主たる水チャネル分子であることから、AQP4欠損マウスを用いて脳浮腫の動態に及ぼすAQP4の機能が検討されている。AQP4ノックアウトマウスでは、てんかんの閾値やカリウムチャネル機能に及ぼす影響などが明らかにされているものの、目立った異常症候は呈さず、また病理組織学的にも異常を指摘できないとされる。しかしながら、急性水中毒や虚血モデルでcytotoxic edemaを生じさせると、wild type mouseに比しノックアウトマウスでは脳浮腫の程度が軽減され生存率が上昇する。一方、人工的脳損傷によるvasogenic edemaを発生させると、脳浮腫が高度化し水排泄機能の低下による病態が顕著となる。このように病態によって双方向性の役割ながら、AQP4は脳浮腫との関連で重要な機能を担っていることが示された¹¹⁾¹²⁾。AQP4の機能を病態に応じて調節することを目指して、AQP4チャネルの阻害薬についての研究も進んでおり、将来脳浮腫の治療法が理論的な知見に基づいて構築される期待が持たれている。

NMO/OSMSにおいては、本稿の前段で論じてきたように、NMO-IgG/AQP4-AbがNMO/OSMSの病態形成に深く関わっていることの傍証が集積している。しかしながら、実際、本抗体が神経組織の水チャネル機能に影響を及ぼし、引いては組織の壊死・変性を生じるとの直接的証拠はない。

筆者らは、まずAQP4を発現させた培養細胞にAQP4-Abを反応させるという単純な系で、細胞の水の移動に何らかの影響が生じるか否かを検討した。

すなわち、細胞に低浸透ショックをかけると、細胞内に細胞外液が流入して膨化する現象を利用して、AQP4-Abのある・なしでそのスピードに影響が生じるか否かを検討した。具体的には、発現ベクターに組み込んだヒトAQP4 cDNAをHEK 293細胞にtransfectしてAQP4を細胞表面に発現させ、同時に蛍光色素を細胞に取り込ませて蛍光強度を測定できる系を作り、培養外液を低浸透圧状態にする。この際の細胞内の蛍光強度を経時的に測定し、細胞外液にAQP4-Ab IgGを加えた場合と正常血清IgGを加えた場合とで比較した。その結果、AQP4-IgG存在下でのほうが、速やかに蛍光強度が低下したことから、AQP4-IgGがAQP4のチャネル機能に影響を及ぼし得ることを示した¹⁰⁾。

また、細胞膜上のAQP4が欠損することで、組織の炎症過程に影響が生じるか否かを観察するため、AQP4 knock out mouseを用いて、1) myelin oligodendrocyte glycoprotein:MOGで誘導した実験的脳脊髄炎マウスモデル(experimental allergic encephalomyelitis:EAE)における炎症所見の観察、2) AQP4が筋細胞膜にも存在することから、myosinなどの免疫で筋炎モデルマウスを作成し、筋組織での炎症の状態を観察した。その結果、EAEモデルではAQP4をノックアウトしたマウスのほうが、ワイルド型マウスよりややEAEの発症が早く障害度スコアが高い傾向があったものの、有意な差はみられなかった。筋炎モデルについても同様であった。AQP4ノックアウトマウスでは目立った表現型が得られないことが示されており、もともとAQP4が存在しないノックアウトマウスでは代償機転などによりAQP4本来の機能を担う機構が異なることなどが考えられ、より自然な状態での検討が必要である。

以上のように、AQP4-AbとNMO/OSMSの発症との関連はまだまだ明らかではないが、本抗体の発見および抗体測定系の確立が、多発性硬化症の臨床・疫学・病態解明に与えた影響はきわめて大きい。NMO/OSMSは再発が多く、重篤な視神経・脊髄機能の障害を生じること、従来の再発予防の治療法が異なる可能性が高いことから、本病型の病態に基づいた特異的治療法が開発されることが望まれる。

文 献

- 1) Kira J. Multiple sclerosis in the Japanese population. *Lancet Neurol.* 2003;2:117-127.
- 2) Wingerchuk DM, Lennon VA, Luchinetti CF, et al. The spectrum of neuromyelitis optica. *Lancet Neurol.* 2007;6:805-815.
- 3) Jarius S, Paul F, Franciotta D, et al. Mechanisms of disease: aquaporin-4 antibodies in neuromyelitis optica. *Nat Clin Practice.* 2008;4:202-214.
- 4) Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet.* 2004;364:2106-2112.
- 5) Lennon VA, Kryzer TJ, Pittock SJ, Verkman AS, Hinson SR. IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *J Exp Med.* 2005;202:473-477.
- 6) Tanaka K, Tani T, Tanaka M, et al. Anti-aquaporin 4 antibody in Japanese multiple sclerosis with long spinal cord lesions. *Multiple Sclerosis.* 2007;13: 850-855.
- 7) Misu T, Fujihara K, Kakita A, et al. Loss of aquaporin 4 in lesions of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Brain.* 2007;130:1224-1234.
- 8) Agre P, King LS, Yasui M, et al. Aquaporin water channels - from atomic structure to clinical medicine. *J Physiol.* 2002;542 (pt1):3-16.
- 9) Verkman AS. More than just water channels: unexpected cellular roles of aquaporins. *J cell Sci.* 2005;118:3225-3232.
- 10) Hinson SR, Pittock SJ, Lucchinetti CF, et al. Pathogenic potential of IgG binding to water channel extracellular domain in neuromyelitis optica. *Neurology.* 2007;69:2221-2231.
- 11) Manley GT, Fujimura M, Ma T, et al. Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nat Med.* 2000;6:159-163.
- 12) Marios C, Papadopoulos, Geoffrey T, et al. Aquaporin-4 facilitates reabsorption of excess fluid in vasogenic brain edema. *FASEB J* 2004; express article 10.1096/fj.04-1723je.

- 13) 谷 卓、田中恵子、西澤正豊. 抗アクアポリン4抗体の細胞機能に及ぼす影響についての検討. *Neuroimmunology*. 2007;15:175-178.

要 旨

抗アクアポリン4抗体関連神経疾患(NMO/OSMS)は高度の視神経炎および脊髄に3椎体長以上に及ぶ広汎な病変を生じ、再発頻度が高い機能予後不良の一群であり、NMO-IgG/抗aquaporin-4抗体(AQP4-Ab)が特異的診断マーカーである。

AQP4-Abの病因的意義を支持する知見として、NMO/OSMSで特異的かつ高頻度に検出される、抗体価と疾患活動性が関連する、抗体除去治療が有効、早期病変でAQP4が広汎に消失、AQP4発現が多い部位と病変好発部位が一致、AQP4発現細胞に抗体と補体を反応させると細胞が傷害される、などが示されている。

AQP4は脳浮腫との関連で論じられることが多いが、NMO/OSMSの病態への直接的関与の有無は不明である。我々はAQP4発現培養細胞を用いて、細胞の水分子の流入にAQP4-Ab陽性IgGが影響を及ぼすことを確認した。今後は生体内での動態解明のため、疾患モデルを作製し、詳細な免疫学的解析が必要とされている。

キーワード: NMO-IgG/抗アクアポリン4抗体, 視神経脊髄型多発性硬化症, 病態機序

特集 神経疾患と自己抗体

抗K⁺チャンネル抗体とチャンネル病*

● 渡邊 修** / 有村公良**

Key Words : Isaacs' syndrome, neuromyotonia, anti-VGKC associated limbic encephalopathy, Morvan's syndrome, immune-mediated potassium channelopathy

はじめに

K⁺チャンネルの中で電位依存性カリウムチャンネル(voltage gated potassium channel: VGKC)に対する自己抗体が存在し, 抗VGKC抗体と呼ばれる。抗VGKC抗体は, 後天性ニューロミオトニア(acquired neuromyotonia: NMT, Isaacs症候群とも呼ばれる)の病態に深く関与することが知られている。また, NMTの症状に, 中枢神経症状および自律神経症状を呈するMorvan症候群(MoS)において抗VGKC抗体が疾患マーカーとなることが明らかになり, さらに, 亜急性の経過をたどる辺縁系脳炎の一部にこの抗体が関与し, 抗VGKC抗体関連辺縁系脳炎(VGKC-LE)として認識されるようになった。NMT, MoSおよびVGKC-LEは, 抗VGKC抗体が関与する免疫関連K⁺チャンネル病としてまとめられる¹⁾。

NMTは, 末梢神経の過興奮性によって特徴づけられる。一方VGKC-LEは, 記憶障害, 意識障害およびけいれん発作を主症状とする。MoSは, 末梢神経系, 中枢神経系, および自律神経系にわたり多彩な症状を呈する。この三つの症候群の臨床症状の相違点, 免疫関連K⁺チャンネル病のスペクトラ

ムの一部としての三つの症候群の概念, および抗VGKC抗体の病態生理上の役割について概説する。

疾患概念

1. NMT

NMTは第一に末梢神経の興奮性亢進によって特徴づけられる。末梢神経興奮性亢進という言葉は, NMTを含む以下の疾患や病態を理解するために使われてきた。Isaacs症候群, 持続性筋興奮, 全身性ミオキミア, undulating myokymia,

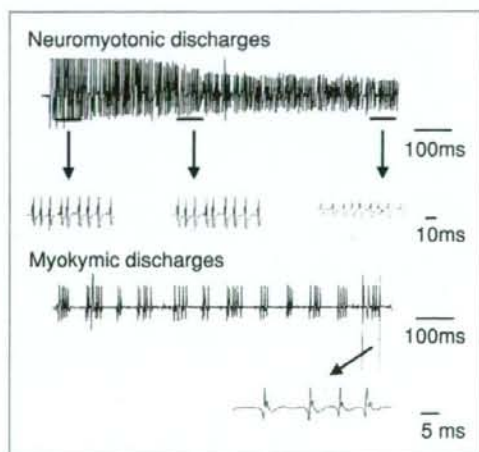


図1 ニューロミオトニア放電とミオキミア放電 抗VGKC抗体陽性の一例で観察された。ニューロミオトニア放電は治療により減衰・消失したが, ミオキミア放電と線維束攣縮電位は残存した。

* Anti-potassium channel antibody associated channelopathy.

** Osamu WATANABE, M.D. & Kimiyoshi ARIMURA, M.D.: 鹿児島大学大学院医学総合研究科神経内科(〒890-8520 鹿児島県鹿児島市桜ヶ丘 8-35-1); Department of Neurology and Geriatric, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima 890-8520, Japan.



図2 VGKC-LEの頭部MRI所見

65歳男性例。VGKC Abs 890 pM。この症例では、両側海馬にFLAIR, T2強調画像高信号が認められ、拡散強調画像では同領域よりやや広範囲に高信号が認められる。

cramp-fasciculation症候群、これらすべては末梢神経興奮性亢進に起因する症候である。神経細胞の過剰興奮という状態は、臨床的には筋痙攣（多くは運動負荷後の）、fasciculation, ミオキミア、疼痛、筋硬直、偽ミオトニア、偽テタニーなど持続性の筋線維活動として観察される。

NMTの筋電図では、不規則性に起こるミオキミアや40~400Hzのインターバルで、doublet, triplet, multipletの自発放電に加えて、fasciculationやfibrillation, neuromyotonic放電が認められる(図1)。NMTそのものは、種々の先天性疾患でも生じうるが、多くは後天性に起こる。重症筋無力症、胸腺腫、肺小細胞癌の合併例が存在し、免疫療法や血漿交換により、臨床症状およ

び電気生理学的所見が改善することより自己免疫的な面と傍腫瘍性神経障害の側面を併せもつ²⁾。

2. VGKC-LE

NMTに対比して、VGKC-LEは末梢での機能異常(筋痙攣など)を合併せず、中枢神経の障害のみを有すると定義づけられる。発症から極期までの期間が平均3カ月と亜急性の経過をたどる。初発症状は、記憶障害、混迷、てんかん、精神症状である。不眠やその他の睡眠障害も一般的である。抗利尿ホルモン不適合併症候群(SIADH)の結果として低ナトリウム血症を高頻度に合併する。髄液検査は、一部の症例で軽微な細胞増多と蛋白の上昇を認める³⁾。神経心理検査で、全般性の記憶障害で程度はさまざまであるが、思考力低下も