

II. 分 担 研 究 報 告

多発性硬化症(MS)治療薬臨床試験の国際的状況と国内でのあり方

【演者】 齋田孝彦

【所属】 神経難病治療研究所、京都民医連中央病院、国立病院機構宇多野病院（名誉院長）、

【目的】 国内外の MS 治療の現状、新薬開発の動きを点検し、日本での今後の MS 治療のあり方を提言する。

【対象・方法】 専門誌論文・レビュー、各製薬企業資料、主要国薬品審査当局公表資料とホームページ記事、主要国 MS 協会資料により、各国の治療の現状と特に疾患予後改善治療（disease modifying therapy: DMT）新薬開発の現況を調査した。

【結果】（１）国際的治療の現況：

全ての先進国で IFN β 1b (Betaferon), IFN β 1a (Avonex, Rebif), Glatiramer acetate (Copaxone), が第一標準治療薬の first line disease modifying therapy (DMT) として使用可能である。こうした治療の効果が不十分あるいは活動性が高い例には Natalizumab (Tysabri) が使われ、2008 年末までに 5 万人が利用している。Mitoxanthrone (Novantrone) も活動性の高い症例に適応があり多数の利用がある。また標準治療では再発進行が抑制できない、あるいは副作用などで利用できない症例には Rescue Therapy として Cyclophosphamide (Endoxane), IVIg 療法などが利用可能となっている。重篤再発から回復しない例には Plasmapheresis も利用されている。多くの途上国でも 2、3 種の DMT 薬利用が可能となっているが、自己負担の割合が高く一般人の利用は容易でない。

（２）国際的治療進行の現状：5 つの有望な新薬の大規模 3 相試験が進行中で、2010 年から続々と市販化が進むと予測される。その他にも多数の治療が進行しつつあり、治療約の選択が大幅に増加するであろう。主な開発中の薬剤で現在の標準薬である IFN より効果が高く、第二、第三世代薬となると考えられるものを直接比較データは無いが推定される有効性の高さの順に列挙すると、Alemtuzumab、(Natalizumab、既に利用中)、Fingolimod、Oxizumab、Daclizumab、Cladribine、Dimethyl Fumarate となる。こうした新薬による早期の強力な治療により再発や障害発生をほぼ完全に抑制しようとの報告が現れている。関節リュウマチで初期のモノクローナル抗体療法により完治に近い長期成績が報告されているように、MS においても今後の 10 年間で、新薬による早期治療により長期予後の画期的改善を計る治療が一般的になり、また病型、病期、固体の特性に応じた薬剤の切り替え利用や併用療法が確立されると予測される。

（３）経口薬の開発状況

Cladribine (3 相進行中。09 年中に申請を予定) Synthetic, purine, nucleoside analogue; hairy cell leukemia に認可; BBB を通過; 再発率は約 1/3 に減少、障害進行も抑制。

Fingolimod (3 相進行中。09 年末に申請を予定) Lypophilic sphingosine 1 phosphate (S1P) analogue, S1P1,3,4,5 receptor の agonist, BBB を通過、リンパ球のリンパ節からの流出を抑制し流血中でリンパ球数が 1/4 に減少し、Th17 細胞などへの抑制効果が示されている。中枢神

経細胞分化促進などの作用との2重作用が想定されている。1年間のIFN β 1aとの比較試験3相試験で再発率はIFNの約1/2と高い有効性が示された。2年間の偽薬対照大規模試験の結果が本年夏に発表される予定。

Dimethyl Fumarate (3相10年終了予定) psoriasis に古くから利用され安全性が非常に高い。抗炎症効果と細胞保護効果がある。

Laquinimod (3相2008開始)NKT活性を亢進する免疫調節薬。心筋障害で開発が放棄されたLinomideの後継薬。

Ibudilast (Phosphodiesterase Inhibitor)(2相終了) 有効性が証明された。

Teriflunomide (2相進行中) hydro-oroate dehydrogenase inhibitor で免疫調節作用ある。CDP323 (2相進行中) 低分子 α 4-integrin inhibitor。Natalizumabと類似効果の経口薬として開発されている。

S1P analogues (1相進行中) S1P receptor サブクラスへの選択性を高め、Fingolimodの効果高め、副作用を減らす目的。

(4) モノクローナル抗体開発状況

Alentuzumab (Anti-CD52) (3相進行中) Cytolytic effect によりT, B, NK細胞と単球、特にT細胞を減少させる。2001年よりCLLに承認。発病3年以内の未治療再発寛解型(RR)MSでのIFN β 1aとの3年間2相比較試験で、年間再発率が本剤0.10, IFN0.36; 持続障害進行が本剤9.0%, IFN26.2%; EDSSの変化が本剤-0.36, IFN+0.38で、障害の長期改善がMS治療薬として初めて報告された。

Oclerizumab (fully humanized Anti-CD20) (3相09年開始予定) 抗CD20モノクローナル抗体としてBリンパ腫に利用されているRituximabのIFNで再発のあったRRMS症例での2相試験結果で、2年間に再発のあった割合が20.3%でplacebo 40.0%であった。一次進行型MSでの有意な効果を示せなかった。

Daclizumab (Anti-CD25) (3相準備中) IL-2Rを持つ活性化T細胞を除去。24週でMRI造影病巣が72%減少。

Anti-LINGO-1 monoclonal antibody (2相09年開始予定) 脱髄ラットで髄鞘を再生する。初めての髄鞘再生薬開発を目指している。

(5) その他の新薬開発状況

PEG-IFN β 1a (3相09年開始)月1回の筋注。

DNA vaccine (2相終了) full length human MBPをencode。28週~48週でplaceboに比しMRI造影病巣が50%減少。

Atacicept(2相開始)B細胞と形質細胞を障害するrecombinant fusion protein。ATX-MS1467 (therapeutic MBP peptide vaccine) (1相終了) 2次進行型MS患者でT細胞のMBP認識を同定し、4種のカクテルでワクチン。

NogoR-Fc fusion protein (1相終了) 動物で神経軸索再生を促進。

CTLA4Ig (1相終了) CD28/B7 Tcell costimulatory pathwayをブロックする免疫効果を

確認。

Gene Transfer (IFN β cDNA) (1相進行中)

(6) 国内治療、治験進行状況

国内ではDMT薬としてIFN β 1a, bの2種のみが利用可能で先進諸国にくらべ遅れが拡大しつつある。

現在Fingolimod (2相試験09年末終了予定)、IVIg(ベニロン)(2相2010年終了予定)の治験が進行中。

Natalizumabの2相試験が09年開始される予定。

しかし、多数の治験が進行中の先進諸国との格差、遅れが一層拡大することが確実である。これまで開発されたMS薬は日本人患者にとり不要であるものは無く、多様な選択が現代医学の恩恵を受ける事が出来ない日本人MS患者の悲劇が一層拡大することを放置しないための仕組みを行政と専門医が協力して作ることが求められている。

また、日本では視神経髄膜炎(Devic's neuromyelitis optica, NMO)患者数が2~30%を占めるが、治療法開発に製薬企業は消極的であり、国の支援が必要である。

(7) 格差拡大打開策の提唱

こうした遅れを解消する方策として、

1) 海外で確立された全治療薬を国内で使用可能とするため、当局と専門家集団の合同会議を設置し情報を収集し、製薬企業の使用申請を促進する。専門医、学会のみにその責任を負わせるのは行政の怠慢である。

2) 今後開始されるGlobal studyに日本も参加する体制を作り、小数例での治験データで使用承認を与える基準を明確にする。生物学的反応の同等性の確認を長期臨床試験での厳密な有効性確認に代える。経済性、企画段階での治験情報収集を行う、行政当局の責任で企業の参加を推進する、等を至急に実施することが必要である。

3) 当局の審査速度の迅速化が必要である。審査速度の遅さがGlobal studyへ日本を含めることを製薬企業が放棄する一原因となっている。完璧主義、重箱の隅をつつく対応により、遅れを生じ、結果として患者国民の被害を拡大している事実を認識し、人員増により能力を強化し速度を上げることを目指すべきである。同時に可能な限りの審査の簡素化を計るべきである。

4) 使用承認後の安全性調査に重点を移すべきである。専門医が少ないこと、MS治験センターの少なさ、治験条件を満たす患者は全体の一部であること、治験薬の一層の増大、企業にとっての採算性の一層の低下、など今後のMS治験は非常に困難が強く予測される。安全性の確認に重点を置いた治験とし、承認後に一層の安全データを集積することに主眼をおくべきである。

5) 北東アジア諸国すなわち日本、韓国、台湾を中心に中国、モンゴル(ベトナムも将来は可能か?)も含めた共同試験が可能となる基盤整理を日本主導で準備するべきである。昨年創設されたアジアMS学会として専門医委員会の立ち上げが決められており、行政への働きかけが今後の課題である。

小児急性散在性脳脊髄炎、多発性硬化症の全国疫学調査（第1報）： 疾患定義と一次調査

研究分担者 原 寿郎¹⁾

共同研究者 山口 結¹⁾、吉良 龍太郎¹⁾、鳥巢 浩幸¹⁾、實藤 雅文¹⁾、石崎 義人¹⁾、
吉良 潤一²⁾、楠 進³⁾、小児神経免疫疾患研究グループ

研究要旨

急性散在性脳脊髄炎 (acute disseminated encephalomyelitis; ADEM) はウイルス感染や予防接種に関連して発症する単相性の脳脊髄炎である。近年、小児 ADEM や多発性硬化症 (Multiple sclerosis; MS) の症例調査報告が散見されるが、国際的に認知された疾患定義や診断基準がなく、報告毎に疾患定義が異なり、その頻度や予後、罹患率にも違いが見られる。一方、わが国では 1984 年以來、小児 ADEM、MS 疫学調査は行われていなかった。

本研究では、日本小児神経学会評議員所属施設、大学附属病院、小児科専門医研修施設を中心として、それ以外の施設では層化無作為抽出を行い、小児 ADEM、MS およびその類縁疾患の全国疫学調査を実施した。疾患定義として、International pediatric MS Study Group による小児 ADEM、MS およびその類縁疾患の定義案¹⁾を使用した。一次調査では、調査票を送付した 977 施設中 572 施設 (58.5%) から回答を得た。計 328 症例が集積され、日本における患者数は ADEM 約 300 人、MS 約 130 人、ADEM 罹患率は 0.8 人/10 万人年と推計された。今後二次調査にて、我が国における実態が明らかとなり、国際比較が可能となることが期待される。

研究目的

International pediatric MS Study Group による小児 ADEM、MS およびその類縁疾患の定義案に基づいて、小児 ADEM、MS およびその類縁疾患の全国疫学調査を実施し、現在の日本における実数把握、臨床的特徴や画像所見、海外の症例との違いを明らかにする。

研究方法

(1)対象：平成 17 年 1 月 1 日～平成 19 年 12 月 31 日に全国の小児科を標榜する病院を受診した ADEM、MS およびその類縁疾患患者 (新入院、繰越入院、新来、再来患者)

(2)方法：一次調査用紙送付後に二次調査用紙を送付する標準的疫学手法を用いた。

一次調査は、平成 20 年 11 月に全国の小児科を標榜する病院 (977 施設) に限定して行った。全国の大学病院、小児神経学会評議員の在籍する病院、小児科専門医研修施設は全て、それ以外の病院は病床数ごとに抽出率を

1) 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野 (小児科)

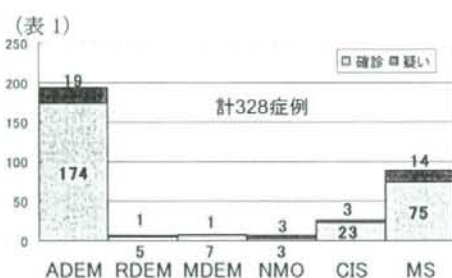
2) 九州大学大学院医学研究院神経内科

3) 近畿大学医学部神経内科

変えて、一次調査用紙を送付し、小児 ADEM、MS およびその類縁疾患患者の実数(疑い例を含む)を把握することとした。二次調査は、平成 21 年 2 月から開始し、一次調査にて患者数ありと回答のあった施設に対し二次調査票を送付し、調査項目として、患者背景(年齢、性)、臨床症候、AQP4 抗体を含む検査所見、MRI 画像、治療方法、障害度(EDSS、視力障害、脊髄機能)、合併症に関して調査する予定である。

(倫理面への配慮)

本調査研究を開始するにあたっては、九州大学倫理委員会の承認を得た。



(表 2)

対象施設	対象数	ADEM		MS	
		患者数	推計患者数	患者数	推計患者数
神経評議員	63	53	95	21	38
大学	117	39	69	20	36
専門	371	65	108	22	36
>500	88	5	13	3	8
400-499	116	4	7	8	11
300-399	286	5	21	1	2
200-299	281	3	7	0	0
100-199	474	0	21	0	0
<99	493	0	0	0	0
計	2289	174	342	75	131

ADEM 罹患率 0.8 人/10 万人・年

研究結果

平成 21 年 1 月 15 日時点で、一次調査について 977 施設中 572 施設 (58.5%) より回答を得た。各疾患の内訳は、単相性 ADEM 174 例(疑い 19 例)、再発性 ADEM 5 例(疑い 1 例)、多相性 ADEM 7 例(疑い 1 例)、NMO 3 例(疑い 3 例)、CIS 23 例(疑い 3 例)、MS 75 例(疑い 14 例)であった(表 1)。本全国疫学調査期間 3 年間における、病床数から換算した小児全体の推計患者数は、単相性 ADEM 約 300 人、多発性硬化症 約 130 人であった。患者数は ADEM、MS とともに小児神経学会評議員のいる施設、大学、小児科専門医研修施設で多く、それ以外の施設での報告は非常に少なかった(表 2)。

考察

これまで ADEM 罹患率に関しては、海外からサンディエゴ地域²、ドイツ³、カナダ⁴の 3 つの報告がある。サンディエゴでは 0.4 人/10 万人年、カナダでは 0.2 人/10 万人年であり、今回明らかになった日本の ADEM 罹患率はこれらよりもやや高かった。我々は福岡県における小児 ADEM、MS の実数調査を行い⁵、ADEM 罹患率 0.6 人/10 万人年と推計しており、今回の調査ではそれよりも若干高い傾向にあった。一方、ドイツでは、0.07 人/10 万人年と極端に頻度が低く、MS の罹患率 0.3 人/10 万人年より低くなっていた。今回の国際比較により、ADEM の罹患率には地域差や人種差があることが示唆された。

結論

小児 ADEM、MS、および類縁疾患について、新たな定義に基づいた全国疫学調査を行い、一次調査の結果、わが国における小児 ADEM の発症頻度は 0.8 人/10 万人年と推定された。海外の報告と比較して、わが国の ADEM 罹患率は高く、地域差、人種差の存在が推測され、今後は二次調査にて詳細に臨床症状、MRI 所見などを検討する予定である。

文献

1. Krupp LB et al., Neurology. 17:68(2007)
2. Leake JA et al., Pediatr Inf DJ. 23(8)(2004)

3. Pohl D et al., Eur J Pediatr 166(5) (2007)

4. Banwell B et al., Neurology 20:72(3) (2009)

5. Torisu H et al., (in submission)

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

抗 AQP4 抗体検査状況および新規検査開発状況

研究分担者 糸山泰人¹⁾

共同研究者 高橋利幸²⁾、笠原砂由子¹⁾、高野里菜¹⁾、宮澤イザベル¹⁾、
金森洋子¹⁾、西山修平¹⁾、鈴木千尋¹⁾、三須建郎¹⁾、中島一郎¹⁾
藤原一男¹⁾、村上昭弘³⁾、樽井俊介³⁾

研究要旨

(1) 国内各地域からの抗 AQP4 抗体検体受入れ状況と、陽性率を確認した。全国的に 20-30%程度の陽性率で地域差は明確ではなかった。[北海道 27.8% 東北 22.6% 関東 23.8% 中部 34.5% 近畿 36.1% 中国 43.9% 四国 九州・沖縄 27.2% 計 26.6%(536/2019)] 症例の選択なく検査される傾向が強い東北～関東圏の数字を考慮すると、20%程度が最も実際に近い可能性が高いと思われた。(2) 現行検査法はルーチン検査に適さない側面がある。このため、精度を保ったより普遍的な検査法確立を目的に、医学生物学研究所 (MBL) と共同研究を行っている。今回、高次構造を保った AQP4 抗原を用いて、ELISA 測定系を構築した。間接蛍光抗体法で抗体価測定した 26 検体と、健常者 20 検体で検討を行い、感度 80.8%、特異度 100%を達成した。間接蛍光抗体法による抗体価との相関も良好で、今後有望な検査の一つであると考えられた。

研究目的

(1) 我々は 2006 年から AQP4 発現細胞を用いた間接蛍光抗体法により抗 AQP4 抗体測定を行ってきた。今回、最近 2 年間の国内各地域からの検体受入れ状況の確認と、陽性率の確認を目的に調査を行った。

(2) 現行検査法は感度・特異度は高いものの、一般臨床で用いられるルーチン検査としては適さない側面を有しており、同じ精度を持ったより普遍的な検査法確立を目的に、自己抗体検査薬メーカーである医学生物学研究所 (MBL) と共同研究を行っている。

研究方法

(1) 2006 年 12 月から 2008 年 11 月までの 2 年間に測定依頼された約 3000 検体のうち、検査前診断が、多発性硬化症、Neuromyelitis optica 及び各疑い例、視神経炎、脊髄炎、原因不明の中樞神経病変であった 2019 例の定性判定結果と依頼施設の地域を確認した。

(2) 高次構造を保った状態で精製された AQP4 抗原を用いて、ELISA 測定系を構築した。第一段階の検討として、東北大学の間接蛍光抗体法で抗体価測定した 26 検体 (抗体価 8 倍～65536 倍) と健常者 20 検体で検討を行った。

倫理面への配慮

本研究は東北大学医学部倫理委員会による認

1) 東北大学神経内科

2) 国立病院機構米沢病院神経内科

3) 医学生物学研究所 (MBL)

可を得て行われた。

研究結果

(1) 抗 AQP4 抗体の地域別陽性率は、以下のものであった。[北海道 27.8%(25/90) 東北 22.6%(84/372) 関東 23.8%(238/999) 中部 34.5%(48/139) 近畿 36.1%(69/161) 中国 43.9%(25/57) 四国 (10/35) 九州・沖縄 27.2%(37/136) 計 26.6%(536/2019)]

(2) 今回構築された ELISA 検査の感度は 80.8%(21/26, 抗体価 64 倍以上は 1 例を除き全て陽性)、特異度は 100%であった。また、間接蛍光抗体法での抗体価と ELISA 測定値の相関も良好であった。

考察

(1) 各地域とも概ね 20~30%程度の陽性率であり、今のところ地域差は明らかではなかった。一般的に NMO 疑い例から優先的に測定されることが多く、測定依頼数が少ない地域の陽性率は高くなる傾向があると考えられる。東北~関東圏では比較的症例の選択なく検査が行われており、20%程度の陽性率が最も実際に近い可能性が高いと思われた。

(2) 今回直接得られた感度は、80.8%であったが、主に陰性と判定されたのは 32 倍以下の低抗体価の検体であった。臨床的に一般的な提出検体になると思われる急性期検体に限れば、抗体価 32 倍以下の検体は陽性例全体の 1 割程度と推定され、今回の ELISA 測定の実質的な検査感度は 90%程度と考えられた。また、従来の間接蛍光抗体法で得られた抗体価との相関も良好で、今後、ELISA で得られ

る抗体価と、過去の間接蛍光抗体法の抗体価を、おおよそではあっても比較検討できる可能性もある。総じて、今回の精度でもルーチン検査として十分通用する可能性が高いと思われるが、現在、より高感度を目指して開発を継続している。

結論

1. 国内各地域の抗 AQP4 抗体測定依頼状況と陽性率を確認し、全国的に 20~30%程度の陽性率であり地域差は明確でないことを確認した。

2. 医学生物学研究所との共同研究により、ELISA による抗 AQP4 抗体測定系を構築し、感度 80.8%、特異度 100%を達成した。

3. 本 ELISA 系の実質的な感度は 90%近いと考えられ、間接蛍光抗体法による抗体価との相関も良好で、今後有望な検査の一つであると考えられた。

文献

なし

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

FACSを用いた抗 AQP4 抗体の検出法の 高感度化と IgG サブクラス解析

研究協力者 三木哲郎

班 員 吉良潤一

共同研究者 河野祐治, 磯部紀子, 松下拓也, 松岡健, 河村信利, 三野原元澄
愛媛大学大学院医学系研究科加齢制御内科学
九州大学大学院医学研究院神経内科学

研究要旨

【目的】FACSは従来法よりも高感度な抗 AQP4 抗体測定系である。本年は IgG subclass の解析を行い、また、さらなる高感度化も試みた。【方法】GFP-AQP4 発現 293 細胞を標的とした。4 倍希釈の一次抗体(血清)で抗体陽性例では IgG subclass を検討し、陰性例と炎症性末梢神経障害例については、感度を上げるために血清を無希釈で使用した。【結果】subclass 解析では、大部分(97.7%)で IgG1 が検出され、多くは IgG1 優位であった。一方 IgG2 優位例も 3 例見られた。高感度化では MS 113 例中 9 例、NMO 9 例中 5 例、再発性脊髄炎 11 例中 2 例、その他の神経疾患 52 例中 2 例で陽性、PPMS 10 例、シェーグレン症候群 8 例、再発性視神経炎 4 例、健常者 8 例、炎症性末梢神経障害 34 例は陰性であった。高感度法での IgG subclass 解析では、MS 9 例中 2 例、NMO 5 例中 3 例にて IgG1 優位で、その他は IgG2 優位であった。【考察・結論】大部分で IgG1 優位であった。さらに高感度化により新たな抗体陽性例も発見できた。それでもなお抗体陰性 NMO 例があった。また高感度法で検出された抗体の多くは Th1 依存性の IgG2 優位であり、多くの NMO でみられる Th2 依存性の IgG1 抗体とは免疫学的背景が異なる可能性もあり、検討課題である。

研究目的

抗 AQP4 抗体は視神経脊髄炎(NMO)に特異的とされる。また NMO と日本人の視神経脊髄型多発性硬化症(OSMS)との異同にも議論がある。昨年は細胞外ドメインに対する抗体のみを検出できる FACS 法を開発し、従来法よりも高感度であることを示した。しかし NMO 診断基準を満たしながら抗体陰性例が存在した。本年度は高感度になったことにより安定して可能となった IgG subclass の解析を行い、また、さらなる高感度化も試みた。

研究方法

GFP-AQP4 融合蛋白発現細胞株と、非発現細胞株を混合したものに対して、4 倍希釈ヒト血清を一次抗体、PE 標識抗ヒト IgG を二次抗体とした FACS を行った。抗 AQP4 抗体の判定には MFI 比 (GFP-AQP4 融合蛋白発現細胞集団での PE 蛍光強度/非発現細胞集団での PE 蛍光強度) を用いた。陽性の例では、次に IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 のそれぞれの subclass に対する抗体を二次抗

体として同様に FACS を行った。4 倍希釈血清での検討で陰性であった例は、無希釈の血清を一次抗体として FACS を行い、それにより陽性となった例では IgG subclass も解析した。

NMO の診断は 2006 年の Wingerchuk らの基準から抗体の有無に関らず診断できたものとした。ここで、発症時の MRI が存在せず、その後の MRI では Paty の MRI 基準を満たした例は NMO の診断とはしなかった。また抗体が陽性であったことで初めて NMO 診断基準を満たしても、診断はその後の解析でも元のままとした。

(倫理面への配慮)本研究は個人の情報は決して表に出ることが内容に最新の注意を払い、プライバシーの保護には十分に配慮した。

研究結果

4 倍希釈血清を一次抗体とした検討では、NMO 19 例中 10 例(52.6%)、MS 140 例中 27 例(19.3%)、再発性脊髄炎 15 例中 4 例(26.7%)、再発性視神経炎 6 例中 1 例(16.7%)、一時進行型 MS (PPMS) 11 例中 1

例(9.1%), Sjögren 症候群(SjS)9 例中 1 例(11.1%)で陽性であった。健常者, その他の神経疾患ではすべて陰性であった。

subclass 解析では, 大部分(97.7%)で IgG1 が検出され, MFI 比から判断する限り, IgG1 は高抗体価と推定された。また IgG2, IgG3, IgG4 もそれぞれ 43.2%, 11.4%, 11.4% で検出された。また MFI 比で比較した場合, IgG1 が優位の症例は 41 例(44 例中)であった。残りの 3 例では IgG2 のみあるいは IgG2 優位で, 1 例は視神経炎も長い脊髄病変もない MS, 1 例は PPMS, 1 例のみが NMO であった。

次に 4 倍希釈血清では検出できなかった例において, 感度を上げるために無希釈の血清を一次抗体として FACS を行った。MS 113 例中 9 例, NMO 9 例中 5 例, 再発性脊髄炎 11 例中 2 例, その他の神経疾患 52 例中 2 例で陽性, PPMS 10 例, SjS 8 例, 再発性視神経炎 5 例, 健常者 8 例, 炎症性末梢神経障害 34 例は陰性であった。また GBS/CIDP/MMN 34 例での検討も追加し, 全て陰性であった。subclass 解析では, 抗体陽性 MS9 例中 IgG1 のみ 2 例, IgG2 のみ 7 例, 抗体陽性 NMO 5 例中 3 例にて IgG1 優位, 2 例にて IgG2 優位であった。再発性脊髄炎では IgG2 のみ 1 例, IgG1 優位 1 例, その他の神経疾患では脊髄小脳変性症 1 例において IgG1-4 全てが陽性, アトピー性脊髄炎 1 例において IgG2 のみ陽性であった。

考察

昨年までの検討において FACS 法は従来の NMO-IgG/抗 AQP4 抗体検出法より検出感度が高く有用と思われた。IgG subclass 解析により, 大部分が IgG1 であり, これまでの報告を裏付けるものであった。一方, IgG2 が優位であった 3 症例中 2 例では, これまで

の NMO/high risk syndrome の範疇に該当しない例であった。この IgG2 は Th1 依存性で補体結合能が弱く, ADCC 活性が弱い特徴があり, NMO で想定される抗体依存性の細胞障害とは異なる病態, あるいは組織破壊に伴った二次性の抗体である可能性が残される。したがって, IgG2 優位の抗体陽性例は, 抗体の存在意義が IgG1 優位の抗体陽性例と異なる可能性が考えられた。その後の感度を上げた解析により, 新たな抗体陽性例も発見できた。それでも NMO 診断基準を満たす 5 例が抗体陰性であった。そのような抗体陰性例は IgG1-抗 AQP4 抗体陽性 NMO とは異なる病態の可能性もあり, NMO とは別に区分するほうが適当かもしれない。また検出系の高感度化により IgG1 優位の例も見つかるが, IgG2 優位の例がより多くみつかっており, それは MS 症例や, その他の神経疾患に高頻度であった。病態解明や診断には total IgG だけでなく, IgG subclass の検討も重要と考えられる。

結論

FACS による抗 AQP4 抗体検出法の高感度化と subclass 解析実験系が確立できた。IgG2 のみ, あるいは IgG2 優位の例と, IgG1 優位の抗 AQP4 抗体陽性 NMO との免疫学的, 臨床的な相違の解明, 抗体陰性 NMO, 抗体陽性 MS の位置付け, が検討課題である。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得:なし

実用新案登録:なし

FACSを用いた抗AQP4抗体の検出法の 高感度化とIgGサブクラス解析

抗AQP4抗体(IgG)陽性例での各IgG subclassの陽性例数

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
NMO (n=10)	10 (100.0%)	3 (30.0%)	3 (30.0%)	1 (10.0%)
MS(NMO以外) (n=27)	26 (96.3%)	12 (44.4%)	2 (7.4%)	4 (14.8%)
(MS(NMO) (n=20))	20 (100.0%)	9 (45.0%)	2 (10.0%)	1 (5.0%)
(MS(no-NMO) (n=7))	6 (85.7%)	3 (50.0%)	0	3 (50.0%)
PPMS (n=1)	1	1	0	0
再発性視神経炎 (n=1)	1	1	0	0
再発性脊髄炎 (n=4)	4 (100%)	2	0	0
Sjögren症候群 (n=1)	1	0	0	0
total (n=44)	43 (97.7%)	19 (43.2%)	5 (11.4%)	5 (11.4%)

MS(NMO): 抗体陽性により初めてNMO診断基準を満たした例

MS(no-NMO): 抗体陽性でもNMO診断基準を満たさない例

高感度抗AQP4抗体測定結果

4倍希釈血清での検討で抗体陰性であった例と、
炎症性末梢神経障害での検討

	高感度FACS
健常者	0/8
NMO(抗体を判定に使用せず)	5/9 (55.5%)
MS(NMO以外)	9/113 (8.0%)
再発性脊髄炎	2/11 (18.2%)
PPMS	0/10
再発性視神経炎	0/5
Sjögren症候群	0/8
GBS/CIDP/MMN	0/34
その他の神経疾患	2/52 (3.8%)

解説

1. IgG subclass解析可能となった
抗AQP4抗体は大部分の症例でIgG1優位
IgG2は約40%, IgG3, IgG4も約10%で陽性 (ただし低抗体価と推定)
2. IgG2優位の例もある
3. IgG1優位でありながら現行の診断基準ではNMOとできないMS例あり
抗体陽性MSの病態的な位置づけは(?)
4. さらなる高感度化により新たな抗体陽性例の発見が可能となった
それでもNMO診断基準を満たして抗体が検出できない例があった
5. 高感度化で初めて検出できた抗体は、特にMS(NMO以外)例において
IgG2のみ、あるいはIgG2優位であることが多かった
6. NMO診断基準を満たす例では、低抗体価であってもIgG1優位が大部分
---> 病原性抗体(?)
7. NMO診断基準を満たさない例では低抗体価またはIgG2優位が多い
---> 組織破壊による二次的な抗体(?)

Sf9 細胞を用いた抗 AQP4 抗体の測定系の確立

および Neural network を用いたヒト血清中抗 AQP4 抗体判定法の検討

研究分担者 清水 潤¹⁾

共同研究者 長島 優¹⁾、岩田 淳¹⁾、肥田 あゆみ¹⁾、辻 省次¹⁾

研究要旨

膜蛋白である AQP4 は、in vitro の検出系では立体構造や抗原性を保つのが難しく、従来、その抗体検出は免疫染色試料を検者が主観的に判定する部分が大きかった。また免疫染色試料の準備においては、培養細胞への AQP4 遺伝子導入操作が必要であるが、従来よく行われてきた一過性の遺伝子導入法は遺伝子導入効率が不安定で、系の quality を一定に保つことが困難であるという欠点があった。

今回我々は、バキュロウィルスと Sf9 細胞の系を使用することで、抗原性を保ちつつ大量の安定した AQP4 膜発現を得た。また免疫染色画像の特徴量を定量することにより、抗体判定の為の客観指標を確立した。またこの客観指標に基づき、機械学習器による自動判定を行った。

研究目的

Lennon らの報告以来、Neuromyelitis Optica の疾患マーカーとして、血清中抗 AQP4 抗体が注目されている。

膜蛋白である AQP4 は、in vitro の検出系では立体構造や抗原性を保つのが難しく、従来、その抗体検出は免疫染色試料を検者が主観的に判定する部分が大きかった。

また免疫染色試料の準備において、培養細胞への AQP4 遺伝子導入操作が必要であるが、系のセットアップが簡便で迅速な一過性の遺伝子導入法は遺伝子導入効率が不安定で、定量性の評価が必要な臨床検査においては、系の quality を一定に保つことが困難であるという欠点があった。

これらを踏まえ、本研究ではヒト血清中抗 AQP4 抗体の“客観的な”検出方法を確立することを目的とした。

研究方法

- (1) 対象：当施設で過去に MS と診断された症例のうち、治療前血清を得られた 36 例を対象とした。
- (2) 遺伝子組み換えバキュロウィルスにより、ヒト AQP4 を強制発現させた Sf9 細胞に、一律で 100 倍希釈の対象血清を反応させ、抗ヒト IgG(二次抗体)で蛍光染色した。
- (3) 蛍光顕微鏡により一症例につき計 10 視野の写真を撮影した。
- (4) 蛍光顕微鏡画像から輝度分布図を作成し、その画像特徴を定量した。

1) 東京大学医学部神経内科

- (5) この指標を学習させた feed-forward neural network により、血清中の抗 AQP4 抗体の有無を自動判定した。

(倫理面への配慮)

通常の臨床検査に準じた。

研究結果

- (1) バキュロウィルスと Sf9 細胞の系を使用することで、抗原性を保ちつつ大量の安定した AQP4 膜発現を得た。
- (2) 蛍光顕微鏡画像の輝度分布図のパターンは、二つの特徴を持ち、抗体判定のための客観指標となり得ると考えられた。
- (3) この指標を学習させた feed-forward neural network の正答率は約 90%であった。一症例の画像撮影数を 10 視野程度確保することにより、判定に十分な程度までエラーの確率を低減できた。

考察

膜蛋白である AQP4 は、in vitro の検出系では立体構造や抗原性を保つのが難しく、培養細胞・組織の免疫染色や flow cytometry など、

膜に埋まった状態の AQP4 を抗体と反応させるなんらかの工夫が必要である。

従来行われてきたヒト培養細胞を用いた AQP4 一過性発現系における免疫染色では、遺伝子発現が不安定であり、また画像の判定も検者の主観が入る余地を排除できなかった。

抗 AQP4 抗体検査においては、抗原性を保った AQP4 の安定供給と抗体判定の客観評価が求められている。

結論

1. バキュロウィルスと Sf9 細胞の系を使用することで、抗原性を保ちつつ大量の安定した AQP4 膜発現を得た。
2. 抗 AQP4 抗体判定のための客観指標となり得る画像特徴量を発見した。
3. この客観指標を用いて機械学習器による自動判定を行った。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

抗アクアポリン4抗体の抗原結合特性についての検討

研究分担者 松井 真¹⁾
共同研究者 田中恵子¹⁾、永石彰子¹⁾、谷 卓²⁾、西澤 正豊²⁾、
辻田実加³⁾、中田 力³⁾、崎村 建司⁴⁾

研究要旨

抗アクアポリン4抗体(AQP4-Ab)が結合する抗原部位の同定は、より鋭敏な抗体検出系の構築やチャネル機能の解析、病変分布特性の検討に有用であるとともに、抗体が本症病態に及ぼす影響を直接的に解析するツールになると考えられること、また、テーラーメイドの治療法開発などにも有用であることから、AQP4抗体の抗原認識部位の同定を進めてきた。AQP4細胞外ドメインの動物種によるアミノ酸配列の違いを利用して、それぞれのアミノ酸置換をしたAQP4発現系を作成し、AQP4-Ab結合部位を検討した結果、NMO患者血清IgGはAQP4 loopEを認識すること、抗原をラットAQP4とした場合、loop CおよびEに結合し、より強い結合が得られることが明らかになった。

研究目的

抗aquaporin 4抗体(AQP4-Ab)が検出される視神経脊髄炎では、抗体が本症の病態に深く関わっていると考えられる。しかしながら、抗体陽性例と陰性例の臨床像にはオーバーラップする点も多く、抗体の意義についてはさらに直接的な証明が必要である。AQP4-Abが結合する抗原部位の同定は、より鋭敏な抗体検出系の構築やチャネル機能の解析、病変分布特性の検討に有用であるため、我々は、AQP4細胞外ドメインの動物種によるアミノ酸配列の違いを利用してAQP4抗体の抗原認識部位の検討を行った。

研究方法

AQP4細胞外各ドメインの3カ所のアミノ酸をそれぞれ置換したヒト、マウスおよびラットのAQP4 cDNAプラスミドベクターを構築してHEK293細胞にトランスフェクトし、NMO典型例の血清中AQP4-Abの結合効率を抗体力価を一定にした上で比較検討した。また、AQP4抗体陽性血清を用いて、マウスおよびラットの神経組織および腎などの内臓器の凍結切片を抗原として間接蛍光抗体法による免疫組織染色を行った。

(倫理面への配慮)

抗AQP4抗体測定のための血液採取は、該当患者にその意義を説明した上で、同意を得て行った。動物の組織採取には、実験動物取り扱い規定に基づき、十分な麻酔を施した上で脱血屠殺の上、各組織を採取し

-
- 1) 金沢医科大学脳脊髄神経治療学(神経内科学)
 - 2) 新潟大学脳研究所 神経内科学分野
 - 3) 同 統合脳機能センター
 - 4) 同 細胞神経生物学分野

た。

研究結果

1. AQP4-Ab は、ヒト AQP4 に比し、マウス AQP4 には極めて弱い結合特性を有する。マウス AQP4 細胞外ドメインの E loop をヒト型に替えることにより、その結合能が回復することから、患者血清中の AQP4-Ab は E loop を認識すると考えられた。ラット AQP4 はヒトより強い結合能を有するが、これまでの結果から、ラットの AQP4 が認識される場合は loop C にも及ぶより広い結合部位を有することが予測された。ラットの脳・小脳・脊髄・腎などの凍結切片を用いた免疫組織化学では、実質内の小血管周囲が強く染色されたが、マウスの組織を用いた場合の染色性は極めて弱く、AQP4 結合特性が AQP4 発現細胞を用いた場合と一致した。

考察

AQP4-Ab が結合する抗原部位の同定は、より鋭敏な抗体検出系の構築やチャネル機能の解析、病変分布特性の検討に有用であるとともに、抗体が本症病態に及ぼす影響を直接的に解析するツールになると考えられること、また、テーラーメイドの治療法開発などにも有用であることから、我々は、AQP4 細胞外ドメインの動物種によるアミノ酸配列の違いを利用して AQP4 抗体の抗原認識部位の同定を行った。その結果、NMO 患者の抗 AQP4 抗体が結合するヒト AQP4 蛋白の主たる認識部位は、細胞外ドメインの loop E に存在することが明らかになった。

抗 AQP4 抗体関連疾患は、視神経および脊髄に炎症性病変を反復する典型的な NMO 型に加え、脊髄炎のみを反復する例、視神経炎

のみを反復する例、大脳に顕著な病変を有する例、視床下部病変が目立つ例など、様々な clinical variant がある。患者血清中の抗体はポリクローナルであると考えられ、病型によっては認識部位が異なる抗体を有する可能性も考えられることから、これらの病型を規定する抗体側の要因について明らかにすることができれば、本抗体の病態への関与についての意義が深まると考えられる。

結論

NMO 患者血清抗 AQP4 抗体が結合する AQP4 蛋白細胞外ドメインの認識部位を明らかにした。今後は、病型との関連、傷害組織分布との関連、チャネル機能の解析などを進める。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

抗 AQP4 抗体のアストロサイト細胞株への影響— 形態およびシグナル伝達の解析

研究分担者 武藤多津郎¹⁾

共同研究者 原 英夫¹⁾、朝倉邦彦¹⁾、三原貴照¹⁾、植田晃広¹⁾、

研究要旨

視神経脊髄炎 (Neuromyelitis optica; NMO) は視神経と脊髄が選択的に障害され、抗 AQP4 抗体と補体によるアストロサイトの細胞傷害が報告されている。我々は、抗 AQP4 抗体が如何なる機能的障害をアストロサイトに引き起こしているかを解明するために、アストロサイト細胞株に NMO 患者血清を加えて刺激し、アストロサイトの形態的变化と細胞内シグナル伝達を解析した。その結果、抗 AQP4 抗体はアストロサイトの形態的变化を引き起こし、細胞内セリン・スレオニンリン酸化が惹起され、MAPK の活性化反応が認められた。

研究目的

視神経脊髄炎 (Neuromyelitis optica; NMO) 患者血清中には水チャンネルのアクアポリン 4 (AQP4) に対する抗体 (NMO-IgG) が認められ、病態の発症に関与していると考えられている。現在では抗 AQP4 抗体と補体によるアストロサイトの細胞傷害が主要な病態と考えられているが、抗 AQP4 抗体が機能的障害もアストロサイトに引き起こしている可能性が考えられ、その機序を解明するために、アストロサイト細胞株に NMO 患者血清を加えて刺激し、アストロサイトの形態的变化と細胞内シグナル伝達を解析した。

研究方法

1. コントロールおよび NMO 患者血清の補体不活化処理を行った。
2. アストロサイト細胞株 (G26-24) を 10%FCS/DMEM-F12 培養下に患者血清を 2%濃

度で添加し、細胞の形態を顕微鏡で経時的に撮影した。

3. アストロサイト細胞株 (G26-24) にコントロール・患者血清を 2%濃度で添加後、0、1、5、10、30、60 分後に細胞を PBS で洗浄した後に細胞溶解バッファーで溶解し、SDS-PAGE ゲルで電気泳動後、PVDF 膜にプロットした。シグナル伝達の解析のため、抗セリン・スレオニン抗体、抗リン酸化チロシン抗体、抗リン酸化 MAPK 抗体、抗 MAPK 抗体を用いて Western blot 解析を行った。また細胞に MAPK 阻害剤の PD98059 を 5 μ M 濃度存在下で患者血清を (2%) 加え、細胞の形態および MAPK のリン酸化反応を解析した。

(倫理面への配慮)

研究対象となる血液を提供していただく人には、この研究の目的、危険性や個人情報に関する配慮などについての説明を十分に

1) 藤田保健衛生大学神経内科

し、インフォームド・コンセントを得た上で行った。

研究結果

NMO 患者血清を加えた後、アストロサイト細胞の形態を経時的に観察した。30分後より細胞の膨化が起こった。その後細胞は接着性を消失して浮遊したが、トリパンブルー染色で細胞死は認められなかった。

アストロサイト細胞株 (G26-24) に NMO 患者血清を 2%濃度で添加したところ、シグナル伝達は、刺激早期に細胞内セリン・スレオニンリン酸化が惹起され MAPK の活性化反応が観察された。さらに、正常血清にはこれら反応は一切認められなかった。

MAPK の特異的阻害剤である PD98059 で細胞を前処理した細胞では形態学的変化も MAPK の活性化反応も阻害された。

考察

視神経脊髄炎の病巣では AQP4 と GFAP の発現が低下しており、アストロサイトの障害が強く起こっている。我々は抗 AQP4 抗体が如何なる生物学的影響をアストロサイトに引き起こしているかを解明するために、アストロサイト細胞株に NMO 患者血清を加えて刺激し、アストロサイトの形態的变化と細胞内シグナル伝達を解析した。

NMO 患者血清でアストロサイトを刺激したところ、形態的に細胞の膨化と接着性の消失が認められた。細胞内シグナル伝達の解析結果、早期よりセリン・スレオニンリン酸化反応が惹起された。細胞内セリン・スレオニンリン酸化される蛋

白の中で細胞の増殖・生存のシグナル伝達に主要な役割を果たす MAPK に注目し、その活性化状態を調べた。その結果、患者血清は著明な MAPK の活性化反応を惹起した。

このことは AQP4 への抗体の攻撃が細胞内キナーゼである MAPK との間で何らかのシグナルのクロストークを引き起こすことを意味し、MAPK を介する細胞内キナーゼカスケードが上記のような細胞の形態学的変化をもたらしている可能性が示唆された。今後、MAPK の上流及び下流に位置するキナーゼの解析が本抗体の分子機序を解明する手がかりとなる可能性が高いと考えられた。

結論

抗 AQP4 抗体はアストロサイトの形態的变化を引き起こし、細胞内セリン・スレオニンリン酸化が惹起され、MAPK の活性化反応が認められたが、MAPK の特異的阻害剤でこれら反応はすべて阻害された。この事実は、MAPK が本抗体の細胞生物学的効果をもたらす細胞内情報伝達系として利用されていることを強く示唆している。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし。

実用新案登録：なし。

抗 aquaporin-4 (AQP4) 抗体陽性例における T 細胞内サイトカイン・脳脊髄液中サイトカインの動向

分担研究者 吉良潤一¹⁾

共同研究者 松下 拓也¹⁾, 磯部 紀子¹⁾, 松岡 健¹⁾, 史 楠¹⁾, 三野原元澄¹⁾, 河野 祐治¹⁾

研究要旨

NMO-IgG の対応抗原である AQP4 に対する抗体 (抗 AQP4 抗体) を測定し, 抗体の存在を含めて, 従来型多発性硬化症 (CMS) と OSMS, もしくは NMO のサイトカインバランスの相違を検討した。髄液中 T 細胞では抗体陰性例より陽性例で有意に IFN- γ IL-4⁺細胞の比率が高く, 末梢血では抗体陰性 OSMS の IFN- γ IL-4⁺細胞の比率, IFN- γ /IL-4 比が健常対照群より有意に高かった。髄液中サイトカインの測定では IL-17, IL-8, IFN- γ , G-CSF の濃度が抗体の有無に関わらず, CMS およびその他の炎症性中枢神経疾患より OSMS で有意に高かった。抗 AQP4 抗体陰性 OSMS は Th1 シフト, 抗体陽性群は Th2 シフトを特徴とし, OSMS では抗体の有無に関わらず IL-17 を中心とした炎症反応を認める。

【研究目的】

日本人の視神経脊髄型多発性硬化症 (OSMS) と再発寛解型 neuromyelitis optica (NMO) は視神経・脊髄障害を主体とし 3 椎体以上に及ぶ長大な脊髄病巣 (LESCL) を有するなど, その病像に類似性が認められる。近年, NMO に特異的な NMO-IgG が同定され, また日本人 OSMS においても同抗体が多く認められることから両者が同じ病態機序を共有している可能性が示唆されている。一方で我々は NMO-IgG 陽性と陰性 OSMS 群の間では画像, 臨床像, 治療反応性に異なった特徴が認められること, また脳脊髄液中サイトカインの検討において, IL-17, IL-8 が CMS と比較して OSMS で高濃度であったことを報告している。今回, NMO-IgG の対応抗原である AQP4 に対する IgG 抗体 (抗 AQP4 抗体) の抗体価を測定し, 抗 AQP4 抗体の存在を含めて, サイトカインプロファイルの特徴を検討した。

【研究方法】

Poser の診断基準を満たす, 臨床的に確実な MS 患者 148 例を対象とした。GFP-AQP4 蛋白を発現させた HEK293 細胞を用い, 非固形で患者血清を 4 倍希釈で反応させ, 間接蛍光免疫法により抗 AQP4 抗体の存在を確認した。抗 AQP4 抗体の陽性が確認された例については, 血清を 2 倍段階希釈し, 抗体価を確定した。抗体陽性例 7 例を含む OSMS 8 例, CMS 7 例について脳脊髄液中 CD4 陽性 T 細胞を PMA/ionomycin 刺激後, 細胞内 IFN- γ , IL-4 をフローサイトメトリー法により測定, 同様に末梢血 CD4 陽性 T 細胞についても抗体陽性例 15 例, 抗体陰性 OSMS 11 例, 抗体陰性 CMS 15 例, 正常健常者群 20 例において比較を行った。また抗体陽性例 12 例を含む OSMS 20 例, CMS 24 例, その他の炎症性中枢神経疾患 (other inflammatory neurological disease: OIND) 20 例, 非炎症性中枢神経疾患 20 例の脳脊髄液を対象に, 蛍光ビーズサスペンションアレイシステム (BioPlex) を用いて脳脊髄液中 27 種のサイトカイン, ケモカイン, 成長因子濃度を同時

1) 九州大学大学院医学研究院神経内科学

測定した (IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, IFN- γ , TNF- α , G-CSF, GM-CSF, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF, bFGF, VEGF, RANTES, eotaxin, IP-10)。

【結果】

髄液中 CD4 陽性 T 細胞については、抗 AQP4 抗体陰性例と比較して抗体陽性例において有意に IFN- γ IL-4 細胞の比率が高いことが示された。末梢血 CD4 陽性 T 細胞内のサイトカイン産生の測定では、抗 AQP4 抗体陰性 OSMS の IFN- γ IL-4 細胞の比率、および IFN- γ /IL-4 比が健常対照群と比較して有意に高い一方、抗 AQP4 抗体陽性群では健常者群との比較で有意な違いを認めなかった。抗 AQP4 抗体中～高力価群 (抗体価 1:512 以上, n = 10) と低力価群 (抗体価 1:256 以下, n = 4) との比較では低力価群は IFN- γ IL-4 細胞の比率が高く、抗体陰性 OSMS と同様の傾向を示した。

脳脊髄液中サイトカイン濃度の測定では、IL-17, IL-8, IFN- γ , 顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) 濃度が抗体の有無に関わらず、CMS および OIND 群より OSMS で有意に高かった (いずれも $P^{***} < 0.05$)。

【考察】

抗 AQP4 抗体陽性患者では脳脊髄液中の CD4 陽性 T 細胞内サイトカインについて IL-4 産生細胞の比率が上昇しており、Th2 シフトの傾向を認めた。一方末梢血では抗体陰性 OSMS において IFN- γ IL-4 細胞の比率が高く Th1 シフトの傾向を認めた。脳脊髄液中サイトカイン濃度では、OSMS では IL-17, およびその下流に位置する IL-8, G-CSF の濃度が上昇していたが、抗 AQP4 抗体の有無によっては有意な差を認めなかった。

以上の点から、OSMS 全体としては抗 AQP4 抗体の有無に関わらず、IL-17 産生が高いという特徴を共有し、CMS とは異なる炎症性機序が存在すると考えられた。抗 AQP4 抗体の産生に関しては、Th2 シフトによる液性

免疫の亢進、逆に抗体陰性 OSMS については Th1 シフトが影響していることが示唆された。抗 AQP4 抗体陽性群では HLA-DPBI*0501 を有する頻度が高く、サイトカインプロファイルの特徴を生む、遺伝学的背景として関与している可能性がある。

【結論】

抗 AQP4 抗体陰性 OSMS は Th1 シフトを、抗 AQP4 抗体陽性群は Th2 シフトと液性自己免疫傾向を特徴とし、OSMS では抗 AQP4 抗体の有無に関わらず IL-17 を中心とした炎症反応に特徴がある。

【文献】

1. Ishizu T, Osoegawa, M, Mei FJ, et al. Intrathecal activation of the IL-17/IL-8 axis in opticospinal multiple sclerosis. *Brain* 2005;128:988-1002.
2. Matsuoka T, Matsushita T, Kawano Y, et al. Heterogeneity of aquaporin-4 autoimmunity and spinal cord lesions in multiple sclerosis in Japanese. *Brain* 2007;130:1206-23.
3. Matsushita T, Matsuoka T, Isobe N, et al. Association of the HLA-DPBI*0501 allele with anti-aquaporin-4 antibody positivity in Japanese patients with idiopathic central nervous system demyelinating disorders. *Tissue Antigen* (in press)
4. Tanaka M, Matsushita T, Tateishi T et al. Distinct CSF cytokine/chemokine profiles in atopic myelitis and other causes of myelitis. *Neurology* 2008;71:974-81.

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし