

# 視神経脊髄炎に特異的な脳造影 MRI パターン : Cloud-like enhancement

分担研究者 桑原 聡

共同研究者 伊藤彰一、森 雅裕、牧野隆宏、鵜沢顕之

## 研究要旨

視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica: NMO) では、視神経病変や脊髄病変のみならず、高頻度に脳病変がみられることが知られている。しかし、NMO の脳 MRI 所見に関する報告は少なく、特に NMO に特異的な脳病変の造影増強効果は知られていない。われわれは、NMO に特徴的な脳 MRI 所見を見いだすため、当院を受診した NMO 患者 18 例、多発性硬化症 (multiple sclerosis: MS) 患者 39 例を対象とし、1.5T-MRI における脳病変の性状と造影増強効果について検討した。境界不明瞭な複数の造影病変が集簇しているものを cloud-like enhancement とし、境界明瞭な単一の造影病変を isolated enhancement とした。NMO は Wingerchuk 診断基準 (NMO-IgG の代わりに抗 AQP4 抗体[ELISA]を使用)、MS は McDonald 診断基準に基づいて診断し、MS の全例で抗 AQP4 抗体が陰性であることを確認した。NMO の 89%、MS の 97% で何らかの脳病変が認められた。造影病変は NMO の 10 例 (56%)、MS の 13 例 (33%) で認められ、cloud-like enhancement は NMO の 9/10 例 (90%)、MS の 1/13 例 (8%) で認められた ( $p=0.0001$ )。Cloud-like enhancement は NMO に特異的な脳 MRI 所見と考えられ、その形成機序として抗 AQP4 抗体による血液脳関門の破壊や近接部位への炎症の波及が推察された。

## 研究目的

視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica: NMO) は視神経と脊髄を主に障害する疾患であり、水チャンネルである AQP4 に対する抗体 (抗 AQP4 抗体、NMO-IgG) が病態に関与することが知られている。AQP4 は視神経や脊髄のみならず、視床下部などの脳内にも広範囲に発現していることが知られており、NMO を対象とする MRI や病理での検討では、高頻度に脳病変が認められることが報告されている。

NMO は多発性硬化症 (multiple sclerosis: MS) との鑑別が必要になる疾患であり、NMO に特異的な MRI 所見として、3 椎体以上の長さの脊髄病変が広く知られているが、脳病変の特徴については十分に検討されていない。今回、われわれは、NMO に特異的な脳 MRI 所見を見いだすため、MS を疾患対照として、NMO の脳 MRI 所見を後方視的に検討した。

## 研究方法

(1) 対象 : NMO 患者 18 例 (女性 18 例、平均発症年齢 37.6 歳)、MS 患者 39 例 (女性 32 例、平均発症年齢 29.7 歳) を対象とした。NMO は Wingerchuk の診断基準 (2006 年、改訂版) にもとづいて診断し[1]、MS は McDonald 診断基準 (2005 年) にもとづいて診断した[2]。なお、NMO-IgG の代わりに抗 AQP4 抗体 (ELISA 法) を用い[3]、MS の全例で抗 AQP4 抗体が陰性であることを確認した。

(2) 方法 : 千葉大学医学部附属病院の 1.5T-MRI 装置で撮像した画像を後方視的に評価した。ガドリニウム造影後の T1 強調画像において、境界不明瞭な複数の造影病変が集簇しているものを cloud-like enhancement とし、境界明瞭な単一の造影病変を isolated enhancement とした。また、T2 強調画像、FLAIR 画像、T1 強調画像で病変の性状を評価し、extensive、symmetrical、cystic な病変の有無について検討した。なお、判定は疾患名をブラインドとして行った。

---

千葉大学医学研究院神経内科学 (神経内科)

## 倫理面への配慮

本研究に際しては、千葉大学大学院医学研究院および医学部附属病院の倫理規定を遵守して行った。MRI 所見の研究への利用に関しては患者からはインフォームド・コンセントを得た。個人の情報は決して表に出ることがないように細心の注意を払い、プライバシーの保護には十分に配慮した。

## 研究結果

(1) NMO の 89%、MS の 97% で何らかの脳病変が認められた。

(2) NMO の 10 例 (56%)、MS の 13 例 (33%) で造影病変が認められた。造影病変のある症例のうち、NMO の 9/10 例 (90%) で cloud-like enhancement が認められたのに対し、MS で cloud-like enhancement が認められたのは 1/13 例 (8%) のみだった ( $p=0.0001$ )。

(3) 病変の性状については、extensive な病変が NMO の 7 例 (39%) および MS の 6 例 (15%)、symmetric な病変が NMO の 7 例 (39%) および MS の 5 例 (13%) で認められ、これらは NMO で有意に高率だった ( $p<0.05$ )。Cystic な病変は NMO の 7 例 (39%) および MS の 9 例 (23%) で認められ、NMO でより高頻度だったが、統計学的な有意差は認められなかった。

## 考察

本研究では、cloud-like enhancement が NMO に特異的な脳造影 MRI 所見であることが示された。境界不明瞭な複数の造影病変が集簇しているものが cloud-like enhancement であり、神経放射線学的には、造影中心から辺縁へ、あるいは一つの病変から隣接する病変へ炎症が波及している可能性が考えられた。事実、基礎的な研究において、AQP4 はアストロサイトの突起上に多く発現し、特に neuropil 側よりも血液脳関門を形成する足突起側に多く発現することが知られている[4]。すなわち、血中の抗 AQP4 抗体によって血液脳関門が破壊されることにより病変に造影増強効果がみられるようになり、次いで液性因子や炎症性物質が近接部位に波及していくことによって、cloud-like enhancement が認められるようになると推察された。Extensive な病変も近接部位への炎症の波及を示している可能性があると考えられた。

## 結論

Cloud-like enhancement は NMO に特異的な脳造影 MRI パターンである。

## 健康危険情報

なし

## 知的所有権の出願・登録状況

特許取得・実用新案登録：なし

## 文献

1. Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Weinschenker BG. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology* 2006;66:1485-1489.
2. Polman CH, Reingold SC, Edan G, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria." *Ann Neurol* 2005;58:840-846
3. Hayakawa S, Mori M, Okuta A, et al. Neuromyelitis optica and anti-aquaporin-4 antibodies measured by an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Neuroimmunol* 2008;196:181-187.
4. 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.

## MS/NMO での無症候性脳造影病変の出現頻度:3 mm と 5 mm スライスでの検討

研究分担者 田中正美<sup>1)</sup>

共同研究者 田原将行<sup>1)</sup>、松井 大<sup>1)</sup>、小西哲郎<sup>1)</sup>、田中恵子<sup>2)</sup>

### 研究要旨

多発性硬化症(MS)の疾患活動性の指標として、脳MRIでの造影病変(Gd<sup>+</sup>病変)の位置づけは確立していて、臨床試験の重要な指標であり、endpointとして設定されている。昨年度、私たちは日常的に施行されている脳MRIの撮影法で、どの程度に無症候性造影病変が見出されるのかを後方視的に検討し、欧米白人のMS患者でのGd<sup>+</sup>病変頻度に比し、日本人患者では著明に低かった。今年度は、スライス厚の違いによる検討を行った。その結果、臨床試験では3 mm厚スライスを用いるべきではあるが、日常診療上は5 mm厚でも十分に造影病変を検出できることが判明した。また、black holesについて同様に検討したところ、スライス厚に依存して検出頻度が向上することが判明した。

### 研究目的

多発性硬化症(MS)の疾患活動性の指標として、脳MRIでの造影病変(Gd病変)の位置づけは確立しており、臨床試験の endpoint としても取り上げられている。昨年度の本班会議で、日常的に施行されている脳 MRI の撮影法で、どの程度に無症候性造影病変が見出されるのかを後方視的に検討し、欧米白人の MS 患者での Gd<sup>+</sup>病変頻度に比し、日本人患者では著明に低いことが判明した。日常診療に用いられているスライス幅が

厚いことが無症候性造影病変の頻度の低い理由とも考えられたため、スライス厚の違いによる検討を行った。

### 研究方法

2009年1月から同年11月まで、当院を受診したMS患者およびNeuromyelitis optica (NMO)患者を対象に、前方視的検討を行った。脳MRIは1.5Tシーメンスを用い、5 mm厚で10%ギャップと3 mm厚ノーギャップでaxial T1を撮像した。

### 倫理面への配慮

研究への協力を文書で説明し同意を得た。発表に当たっては個人が特定で

<sup>1)</sup> NHO 宇多野病院 MS センター

<sup>2)</sup> 金沢医科大学神経内科

きないように配慮した。

## 研究結果

18例のNMO、1例の clinically isolated syndrome (CIS)を含む95例、延べ188造影スキャンでは、3mm厚、5mm厚での造影病変陽性率はそれぞれ8.5%、8.0%で、延べ造影病変数は23個、21個認められ、すべてMSであった。複数回施行したスキャンを除外し、76例のMSのみを対象とすると、いずれの厚さのスライスでも8例(10.5%)で陽性であった。

次に、両厚スライスでの所見の比較をする上で、より病変数の多いblack holesを計測し、両者の検討を行った。それぞれの患者の直近の頭部MRI T1 axial画像で、CISを除き、18例のNMOを含む93例を対象にblack holesを計測した。46例でblack holesが認められ、7例は5mm厚では検出されなかったが3mm厚でのみ検出された。

black holes数は3mm厚、5mm厚でそれぞれ1から21(平均±標準偏差:  $4.93 \pm 4.69$ , 中央値: 3.0)、1から12( $2.65 \pm 3.02$ , 1.0)と有意な差異が認められた( $p < 0.0001$  Wilcoxonの符号付き順位検定)。10個以上black holes数があった場合、計測が不正確になるので、11個以上認められた8例を除外しても同様の結果であった( $p < 0.0001$ )。

## 考察

直径5mm以下の小さな造影病変の場合、5mm厚より3mm厚スライスのほうがより多く検出されることが判明して( $p < 0.04$ )。今回使用した3mm厚撮影法は国内の臨床試験で施行されている標準的な方法であり、3mmと5mm厚で造影病変数に差異がなかった最も大きな理由は、造影病変数自体がもともと少ないことが多いことによるのではないかと考えられた。

そこで、両者の撮影法での相違を検討する目的で、black holes数を両者で検討した。すると、明らかに3mm厚で有意に多く計測され、上記の仮説が支持されたと考えられた。

## 結論

- 1). 造影病変の陽性率と数はスライス厚3mmと5mmでは前者で多い傾向はあるが有意ではなかった。
- 2). black holes数は3mm厚で有意に多く認められ、変性過程の評価には3mm厚が有効と考えられた。

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

# リンパ球浸潤形態からみた neuromyelitis optica の脊髄病変

分担研究者 西澤正豊<sup>1)</sup>

共同研究者 河内 泉<sup>1)</sup>, 柳川香織<sup>1)</sup>, 佐治 越爾<sup>1)</sup>

豊島 靖子<sup>2)</sup>, 柿田 明美<sup>2)</sup>, 高橋 均<sup>2)</sup>

## 研究要旨

Neuromyelitis optica (NMO) における NMO-IgG・アクアポリン 4 (AQP4) 抗体の発見は、液性免疫機構が NMO の病変形成に重要な役割を果たすことを明らかにした。一方、サイトカインの髄液動態からは髄腔内において盛んな炎症性細胞の集積が推測させるものの、細胞性免疫機構の実態は明らかではない。そこで、本研究ではリンパ球浸潤形態から NMO 脊髄炎病態を明らかにすることを目的とし、NMO spectrum disorders 17 例の臨床像、血清・髄液の免疫学的検討、剖検 7 症例の脊髄病変を解析した。Definite form NMO の髄液では MS に比較して有意に IL-6, IL-1 $\beta$  の上昇を認めた。脊髄 MRI 画像では長椎体中心灰白質病変に加え、造影効果を伴った偏在した周辺白質病変を認めた。剖検脊髄では脱髄病変を超える広範な AQP4 染色性低下の他に、中心灰白質病変と、著明な髄膜の炎症細胞浸潤に接した軟膜下白質病変を認めた。NMO における“炎症細胞浸潤が盛んな髄膜”と近接した“軟膜下脊髄病変”の存在は、T 細胞が重要な役割を果たす実験的自己免疫性脳脊髄炎モデル動物における脊髄脱髄病巣と、病変分布形式や炎症細胞浸潤形式において類似していることから、NMO においても T 細胞をはじめとした細胞性免疫機構が重要な働きを有することが推測される。以上から、NMO では血管ヒアリン化と免疫グロブリン・補体沈着、AQP4 発現消失に代表される液性免疫機構の他に、髄膜側から outside-in 形式で供給される細胞性免疫機構も何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。

## 研究目的

Neuromyelitis optica (NMO) における NMO-IgG・アクアポリン 4 (AQP4) 抗体の発見<sup>(1,2)</sup>は、液性免疫機構が NMO の病変形成に重要な役割を果たすことを明らかにした。一方、IL-17 をはじめとしたサイトカインの髄液動態<sup>(3)</sup>からは、NMO では盛んな炎症性細胞の集積が髄腔内に存在することを推測させるものの、細胞性免疫機構の実態は明らかにされていない。そこで本研究では脊髄病変におけるリンパ球浸潤形態から、NMO における細胞性免疫機構を明らかにすることを目的とした。

## 研究方法

Wingerchuk らによる改訂 NMO 診断基準<sup>(4)</sup>を満たす definite form NMO 9 例と、視神経炎を伴わない AQP4 抗体陽性の脊髄炎、すなわち limited form NMO 8 例からなる NMO spectrum disorders 計 17 症例の臨床像、血清 AQP4 抗体価、髄液サイトカイン、脊髄 MRI

画像を検討した。さらに NMO 剖検 7 症例の脊髄病変を病理学的に解析した。尚、血清 AQP4 抗体陰性で McDonald 診断基準<sup>(5)</sup>を満たす multiple sclerosis (MS) を疾患対象とした。

## 研究結果

Definite form NMO の髄液では MS に比較して有意に IL-6, IL-1 $\beta$  の上昇を認め、病態への炎症性サイトカインの盛んな関与が推測された<sup>(6)</sup>。また NMO の脊髄 MRI 画像では 3 椎体以上にわたる長椎体病変、中心灰白質病変に加え、造影効果を伴った偏在した病変を周辺白質に認めた<sup>(6)</sup>。一方、MS では、長椎体病変や中心灰白質病変を認めないものの、造影効果を伴う脊髄白質病変を認めた<sup>(6)</sup>。NMO 剖検脊髄では、脱髄病変を超える広範な AQP4 染色性の低下の他に、中心灰白質を主体とした central type の脊髄病変と、著明な炎症細胞浸潤を伴った髄膜に接して存在している subpial type の脊髄の周辺白質病変を認めた。尚、NMO の脊髄病変近傍の髄膜には、T 細胞、B 細胞

1) 新潟大学脳研究所神経内科学分野 2) 新潟大学脳研究所病理学分野

胞の盛んな増生が認められた。

### 考察

ミエリン塩基性蛋白特異的 T 細胞を移入した Lewis rat 実験的自己免疫性脳脊髄炎モデル (EAE) を intravital two-photon imaging 法で観察すると、T 細胞は軟髄膜の血管から血管外へ通り抜けることで軟膜表面に到達し、その場で抗原提示細胞と出会い、活性化 T 細胞となって、炎症性分子を産生し、脳実質内に浸潤し、炎症性脱髄病巣を形成する<sup>(7)</sup>。すなわち、軟膜側からの outside-in 形式で供給される T 細胞が、中枢神経脱髄病巣の最初の一撃として、重要であることが知られている。NMO の剖検症例において確認された“炎症細胞浸潤が盛んな髄膜”と近接した“軟膜下脊髄病変”の存在は、EAE における脊髄脱髄病巣<sup>(7)</sup>と、病変分布形式や炎症細胞浸潤形式において類似している。また AQP4 の発現が豊富な脊髄表面の glia limitans と radial vessel に NMO のリンパ球集積部位が近接している事実は、同部位でなんらかの抗原を提示した抗原提示細胞にリンパ球が刺激を受けている可能性が考えられる。以上から NMO においても T 細胞をはじめとした細胞性免疫機構が何らかの働きを有することが推測された。

### 結論

NMO では血管器質化と免疫グロブリン・補体沈着、AQP4 発現消失に代表される液性免疫機構の他に、髄膜側から outside-in 形式で供給される細胞性免疫機構も重要な役割を果たしている可能性がある。

### 文献

1. 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.
2. Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet* 2004;364:2106-2112.
3. 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.
4. Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Weinschenker BG. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology* 2006;66:1485-1489.
5. Polman CH, Reingold SC, Edan G, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann Neurol* 2005;58:840-846.
6. Yanagawa K, Kawachi I, Toyoshima Y, et al. Pathologic and immunologic profiles of a limited form of neuromyelitis optica with myelitis. *Neurology* 2009;73:1628-1637.
7. Bartholomaeus I, Kawakami N, Odoardi F, et al. Effector T cell interactions with meningeal vascular structures in nascent autoimmune CNS lesions. *Nature* 2009;462:94-98.

### 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

# Neuromyelitis optica spectrum disorder の高次脳機能障害

分担研究者 西澤正豊<sup>1)</sup>

共同研究者 佐治 越爾<sup>1)</sup>, 河内 泉<sup>1)</sup>, 柳川香織<sup>1)</sup>

豊島 靖子<sup>2)</sup>, 柿田 明美<sup>2)</sup>, 高橋 均<sup>2)</sup>

## 研究要旨

欧米では多発性硬化症 (multiple sclerosis; MS) 患者の約半数に高次脳機能障害が存在し、社会生活と日常生活に影響を与えている可能性が指摘されている。一方、大脳病変が比較的少ないとされる neuromyelitis optica spectrum disorder (NMOsd) における高次脳機能障害の実態は未だ明らかにされていない。そこで、NMOsd の高次脳機能と精神神経症状を検討した。高次脳機能評価として選択想起試験 (SRT)、視空間認知試験 (SPART)、符号数字モダリティー試験 (SDMT)、連続聞き取り加算試験 (PASAT)、および単語リスト生成試験 (WLG) を施行した。SDMT と PASAT および SRT は、NMOsd、MS とともに健常人と比べ有意な低下を認めた。一方、WLG は MS のみ健常人より有意な低下を認めた。MS では高次脳機能評価試験と EDSS、脳 MRI 異常信号病変の数に相関を認めたが、NMOsd ではこれらとの間に相関を認めなかった。NMOsd において早期より出現する高次脳機能障害は、罹病期間、重症度、conventional MRI における脳病変数と相関しない。NMOsd では再発・寛解という炎症・免疫機転による発作とは別個に、神経変性機転が存在する可能性が示唆された。

## 研究目的

欧米では多発性硬化症 (multiple sclerosis; MS) 症例の約半数に高次脳機能障害が存在し<sup>1)</sup>、就労をはじめとした社会生活と日常生活に影響を与える要素として注目され始めている。一方、本来、大脳病変が比較的少ないとされた NMO spectrum disorder (NMOsd) における高次脳機能障害の実態は未だ明らかにされていない。そこで、高次脳機能障害と精神神経病態の観点から、MS と NMO のスペクトラムの独自性を解析することを目的とした。

## 研究方法

1970 年から 2009 年の間に新潟大学神経内科で診療した MS および NMOsd 患者のうち同意が得られた患者で NMOsd 13 例 (definite NMO 4 例, limited NMO 9 例)<sup>2)</sup>、改訂 McDonald 診断基準<sup>3)</sup>を満たす再発緩解型 MS 15 例、神経疾患の既往のない健常成人 37 例の高次脳機能について検討した。高次脳機能評価スケールとして、選択想起試験 (SRT)、視空間認知試験 (SPART)、符号数字モダリティー試験 (SDMT)、連続聞き取り加算試験 (PASAT)、

単語リスト生成試験 (WLG) を検討した。高次脳機能スクリーニング試験としてアンケート形式の MS Neuropsychological Screening Questionnaire (MSNQ)、疾病と社会生活への影響を評価する目的で The Environmental Status Scale (ESS)、うつ病態を評価する目的でハミルトンうつ病評価尺度試験もあわせて検討した。

## 研究結果

集中力と情報処理速度を評価する SDMT と PASAT、および言語性記憶を評価する SRT では、NMOsd、MS とともに健常人と比較して有意な低下を認めた。一方、単語再生を評価する WLG では、MS のみ健常人より有意な低下を認めた。視空間性記憶を評価する SPART では NMOsd、MS とともに健常人と有意差はなかった。各項目において健常人の 5 パーセントイル値以下の項目が 3 つ以上存在するものを高次脳機能障害ありと判断した場合、MS 53.3%、NMOsd 61.5% に高次脳機能障害が存在した。この機能障害は limited form NMO でも存在していた。また、臨床パラメータとの相関を見ると、MS と異なり NMOsd では罹病期間、

1) 新潟大学脳研究所神経内科学分野 2) 新潟大学脳研究所病理学分野

EDSS および脳 MRI T2 強調画像における高信号病変の数との相関を認めず、年齢との逆相関を認めた。さらに高次脳機能障害と統合失調症類似の精神症状を併発した NMO 症例の病理学的解析では、大脳白質にアクアポリン 4 発現消失を伴う小脱髄病変はごく少数に限られるのみであった。

### 考察

本研究により、欧州<sup>4</sup>だけではなく本邦においても NMOsd 患者には高次脳機能障害が存在することが明らかになった。MS では conventional MRI 検査で異常信号が検出されなくとも、剖検病理標本にて軟膜側からの炎症細胞浸潤により誘導される皮質性脱髄<sup>5</sup>が多数存在し、高次脳機能に影響を及ぼす可能性が指摘されている。一方、本来、大脳病変の少ないとされる NMOsd の高次脳機能障害の機序は明らかではない。近年、magnetization transfer および diffusion tensor MRI 法により、NMOsd の “normal-appearing gray matter” における異常が明らかとなっている<sup>6</sup>。今後、NMOsd における “normal-appearing brain lesion” の詳細な免疫学的、病理学的検索の必要性が考えられた。

### 結論

NMOsd では MS と同様に高次脳機能障害が存在する。NMOsd では、再発・寛解という炎症・免疫機転による発作とは別個に、神経変性機転が存在する可能性が示唆された。

### 文献

1. Chiaravalloti, N.D. & DeLuca, J. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 7, 1139-1151 (2008).
2. Wingerchuk, D.M., Lennon, V.A., Lucchinetti, C.F., Pittock, S.J. & Weinshenker, B.G. The spectrum of neuromyelitis optica. *Lancet Neurol* 6, 805-815 (2007).
3. Polman, C.H., et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann Neurol* 58, 840-846 (2005).
4. Blanc, F., et al. Cognitive functions in neuromyelitis optica. *Arch Neurol* 65, 84-88 (2008).
5. Magliozzi, R., et al. Meningeal B-cell follicles in secondary progressive multiple sclerosis associate with early onset of disease and severe cortical pathology. *Brain* 130, 1089-1104 (2007).
6. Rocca, M.A., et al. Magnetization transfer and diffusion tensor MRI show gray matter damage in neuromyelitis optica. *Neurology* 62, 476-478 (2004).

### 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抗体陽性多発性硬化症/視神経脊髄炎の患者における インターフェロンβ療法の効果についての検討

研究分担者 郡山達男<sup>1)</sup>

共同研究者 越智一秀<sup>2)</sup>, 杉本太路<sup>2)</sup>, 大下智彦<sup>2)</sup>, 中村毅<sup>2)</sup>, 大槻俊輔<sup>2)</sup>,  
山脇健盛<sup>2)</sup>, 松本昌泰<sup>2)</sup>

## 研究要旨

抗アクアポリン4(AQP4)抗体陽性視神経脊髄炎(neuromyelitis optica, NMO)/多発性硬化症(multiple sclerosis, MS)に対するインターフェロン(IFN)β療法の是非を検討するために、抗AQP4抗体陽性と判定された患者において、過去のカルテをreviewした。最終的に解析対象となった17例中IFNβ療法を受けていた患者は12例であった。全例女性で再発寛解型の経過であった。IFNβ以外の再発予防治療として100日以上ステロイドの長期投与が16例/17例(94.1%)、ステロイドを除く免疫抑制薬が10例/17例(58.8%)に施行されていた。平均再発率はIFNβ投与例(12例)では $1.07 \pm 0.43$ 回/年で、IFNβが投与されていない例(5例)では $0.71 \pm 0.70$ 回/年であったが、有意差は認めなかった。IFNβ投与12例にしぼって、IFNβ投与期間中と投与期間外の再発頻度を比較したところ、それぞれの年間平均は $1.76 \pm 1.56$ 回/年と $1.38 \pm 1.28$ 回/年であった(有意差なし)。各症例を個々に検討したところ、12例中7例(58.3%)はIFNβ投与中に再発率が増加していたが、残りの5例(41.7%)では再発率の減少を認めた。最終EDSSへのIFNβ投与の関連は見いだされなかったが、投与開始後早期に再発した例が過半数を占めた。これらの結果から、抗AQP4抗体陽性NMO/OSMS患者に対するIFNβ療法は推奨されないものの、IFNβ治療により再発が抑制されている例ではIFNβ治療の継続が可能と考えられた。

## 研究目的

アクアポリン4(AQP4)は、視神経脊髄炎(NMO)の患者に見いだされるNMO-IgGの標的抗原であり、抗AQP4抗体はいわゆる視神経脊髄型多発性硬化症(OSMS)にも見いだされる頻度が高いことがわかってきた。また、現在のところ、多発性硬化症にはインターフェロンβ(IFNβ)療法が標準治療とされているが、NMOもしくは、抗アクアポリン4抗体陽性多発性硬化症患者においてはIFNβ治療開始後に急性増悪をきたす例が報告されており、治療反応性の違いから抗AQP4抗体の有無によって治療法を使い分ける必要があるのではないかという意見もある。そこで本研究においては、抗

AQP4抗体陽性患者において、過去の治療内容と治療反応性についてretrospectiveに検討を行い、抗AQP4抗体陽性NMO/OSMS患者に対するIFNβによる加療の是非を明らかにする事を目的とした。

## 研究方法

当院に通院歴のある多発性硬化症もしくは視神経脊髄炎の患者で、抗AQP4抗体を測定し陽性と判定された18例を対象とした。当院並びに関連病院のカルテからretrospectiveに臨床情報をreviewし、発症年齢、性別、IFNβの投与履歴の有無とその期間、再発回数、IFNβ療法が中止されていた場合にはその中止理由、最終観察時のEDSS、その他の治療内容を抽出した。抗AQP4抗体については、凍結保存されている血清において東北大学もしくは九州大学に測定を依頼した。統計学的検討はStudent t検定を用いた。

1) 広島市民病院 神経内科

2) 広島大学大学院 脳神経内科学

### (倫理面への配慮)

本研究は「臨床研究に関する倫理指針」に則って実施した。過去のデータを検討する手法であるため、被験者に対しては、直接の影響は出ないものの、匿名化を行った上で解析を行うなど個人情報保護については十分な配慮を行った。

### 研究結果

抗 AQP4 抗体陽性患者 18 例のうち、1 例は得られた臨床情報が不十分であったため除外し、計 17 例を解析対象とした。平均初発年齢は 42.6 ± 13.1 歳 (mean ± SD (以下同様)) で、全例女性であった。最終観察時までの平均全経過期間は 13.98 ± 8.17 年であった。2006 年に改定された Wingerchuk らの NMO 診断基準<sup>1)</sup>に照らし合わせると、12 例が definite NMO に合致した。臨床経過は全例再発寛解型であった。急性期治療として、ステロイドパルス療法が全例、血漿交換は 3 例、IVIg は 2 例が経過中のいずれかの時点でされていた。IFN $\beta$  以外の再発予防治療として、100

日以上ステロイドの長期投与が 16 例/17 例 (94.1%)、ステロイドを除く免疫抑制薬が 10 例/17 例 (58.8%) に施行されていた。内訳はメトトレキサート (MTX) 8 例、アザチオプリン 2 例 (#9, #16)、タクロリムス 2 例 (#10, #16)、サイクロスポリン 1 例 (#7)、シクロフォスファミド 1 例 (#7) であった。

IFN $\beta$  が投与されたことのある患者を 12 例認めた (図 1)。初発から IFN $\beta$  投与開始までの期間は 8.39 ± 7.28 年。IFN $\beta$  の平均投与期間は 3.03 ± 1.83 年 (最短 126 日 ~ 最長 5.65 年) であった。最終観察時までには 8 例は何らかの理由で中止されていた。中止された理由は、症状の増悪 or 再発が 3 例、副作用 (皮膚潰瘍など) が 2 例、本人の希望が 2 例、カルテ記載の上理由が不明であった例が 1 例であった。継続できている 4 例では、3 例でステロイド、1 例で MTX (初期のみ) が IFN $\beta$  投与期間中に併用されていた。

対象症例 17 例の全経過期間中の平均年間再発頻度は 0.96 ± 0.53 回/年であった。IFN $\beta$  投与例

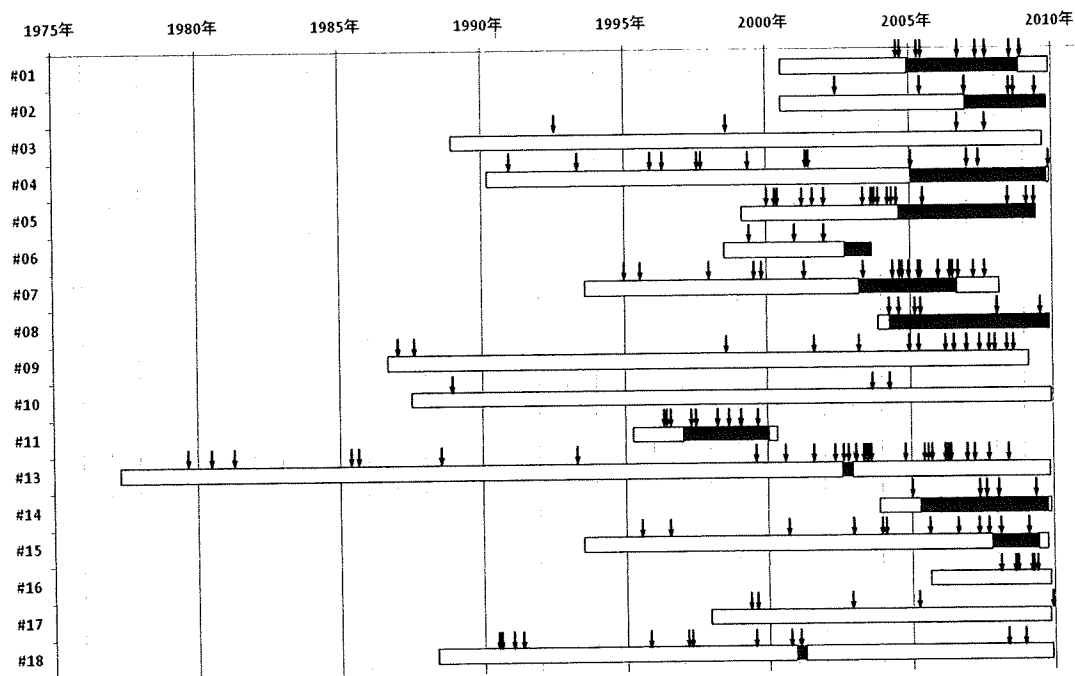


図 1. 各症例の初発から再発までの時間経過並びに再発時期

#12 は臨床情報が不十分であったため除外している。

■ : IFN $\beta$  による治療期間

↓ : 再発

(12例)では $1.07 \pm 0.43$ 回/年であったが、IFN $\beta$ が投与されていない例(5例)では $0.71 \pm 0.70$ 回/年であった。投与例と投与されていない例での有意差は認めなかった。IFN $\beta$ 投与例にしぼって、IFN $\beta$ 投与期間中と投与期間外の再発頻度を比較したところ、それぞれの年間平均は $1.76 \pm 1.56$ 回/年と $1.38 \pm 1.28$ 回/年であった(有意差なし)。各症例を個々に検討したところ、12例中7例(58.3%)はIFN $\beta$ 投与中に再発率が増加していたが、残りの5例(41.7%)では再発率の減少を認めた(図2)。

さらに最終EDSSと罹病期間についてIFN投与のあった群となかった群について、それぞれの直線の傾きを検討したが、有意な関連は認められなかった(図3)。また、IFN $\beta$ 治療開始後、最初の再発までの期間を検討したところ、1例は投与期間中の再発を認めなかったが、残る11例では4~712日(平均230日、中央値77日)と多彩であり、投与100日以内に再発する例が過半数(6例/11例)を占めた。IFN $\beta$ 投与までの期間との相関も検討したが、有意な関連は認めなかった。

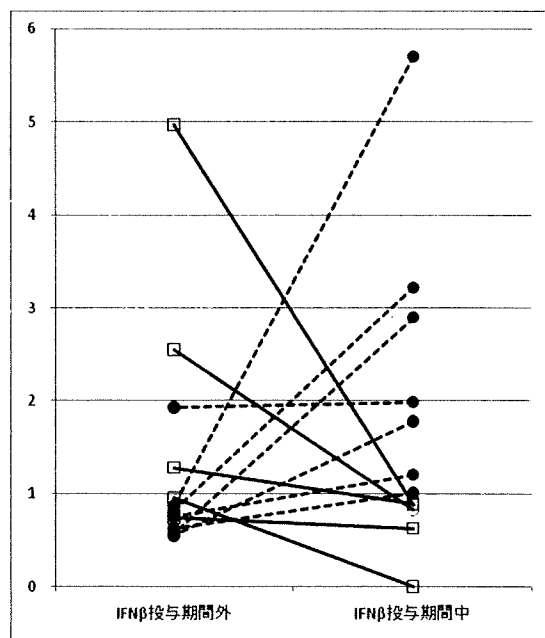


図2. IFN $\beta$ 非投与時と投与時の再発率の比較  
 ●---● : IFN $\beta$ 投与中の方が高い例  
 □---□ IFN $\beta$ 投与中の方が低い例

### 考察

本検討においては、抗AQP4抗体陽性NMO/OSMS患者に対するIFN $\beta$ 治療によって全体には投与期間中の再発率の上昇傾向を認めたが、一部の症例で再発率の減少を認めた。Tanakaら<sup>2)</sup>はIFN $\beta$ 投与を行われた35例のNMOを解析し、IFN $\beta$ 投与によってNMOの再発回数ならびに年間再発率は有意に減少しないことを示している。Okamotoら<sup>3)</sup>も14名の抗AQP4抗体陽性例を検討し、9例がなんらかの理由でIFN $\beta$ 中止に至り、継続できた症例では経口ステロイドもしくはアザチオプリンを併用していたと報告しており、本検討でも半数以上に免疫抑制薬が併用されていた。併用する免疫抑制薬の種類については今回少数例のため検討を行っていないものの、今後検討すべき課題と考えた。

### 結論

抗AQP4抗体陽性NMO/OSMS患者に対するIFN $\beta$ 療法では、中止例の頻度が高く、一部の症例で再発率の低下を認めるものの、全体には再発率の低下は認められなかった。従来から指摘されているように投与早期に再発を生じる症例が散見され、一部は重症化する可能性があるものと思われた。

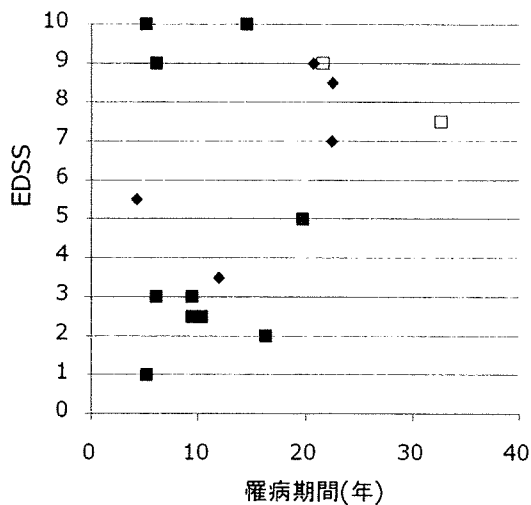


図3. 最終観察時EDSSと罹病期間の関連  
 ■: IFN $\beta$ 投与あり  
 □: IFN $\beta$ 投与あり(副作用で短期間で中止)  
 ◆: IFN $\beta$ 投与なし

したがって、抗AQP4抗体陽性患者に対してはIFN $\beta$ 治療は推奨されない。しかし、IFN $\beta$ 治療により再発が抑制されている例ではIFN $\beta$ 治療の継続が可能と考えられる。

#### 謝辞

抗AQP4抗体を測定していただいた九州大学大学院医学研究院神経内科 松下拓也先生と吉良潤一先生ならびに、東北大学大学院医学系研究科多発性硬化症治療学寄附講座 高橋利幸先生と藤原一男先生に深謝致します。

#### 文献

1) Wingerchuk DM et al. Neurology 66:1485-9, 2006

2) Tanaka M et al. Eur Neurol 62:167-170, 2009  
3) Okamoto T et al. International Symposium New aspects of Neuromyelitis optica, 2009 (Abstract)

#### 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

## IFN $\beta$ は neuromyelitis optica の液性因子を賦活化する

分担研究者 楠 進<sup>1</sup>

共同研究者 ○宮本勝一<sup>1</sup>、三井良之<sup>1</sup>中島一郎<sup>2</sup>、高橋利幸<sup>2</sup>、鈴木千尋<sup>2</sup>

### 研究要旨

視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica: NMO) に対する IFN $\beta$  治療は慎重にすべきという意見が多い。多発性硬化症 (multiple sclerosis: MS) において、IFN $\beta$  は液性因子である B cell activating factor (BAFF) を活性化することが報告されており、NMO においても同様の機序で病態を悪化させる可能性がある。我々は、抗 aquaporin-4 抗体 (抗 AQP4 抗体) 測定系が確立していなかった当時に MS と診断し IFN $\beta$  を導入したが、後に NMO と判明した 2 症例の保存血清を用いて血清学的に検証した。両症例とも IFN $\beta$  開始前から抗 AQP4 抗体陽性であり、BAFF は IFN $\beta$  開始によって上昇し、IFN $\beta$  中止後は徐々に開始前のレベルに戻った。NMO と診断した後は、経口ステロイド薬を主とした免疫抑制薬を開始したところ BAFF もさらに低下した。また、抗 AQP4 抗体価の推移も BAFF とほぼ同様の経過を示した。以上より、IFN $\beta$  によって液性因子が賦活化し、抗 AQP4 抗体価も上昇することが示され、NMO に対する IFN $\beta$  治療は慎重にすべきであることが血清学的にも確認された。

### 研究目的

視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica: NMO) に対する IFN $\beta$  治療については、効果が乏しいばかりではなく病状が増悪する例も報告されており、慎重にすべきという意見が多い。今回我々は、抗 AQP4 抗体測定系が確立していなかった当時に多発性硬化症 (multiple sclerosis: MS) と診断し IFN $\beta$  を導入したが、後に NMO と判明した患者の保存血清を用いて、NMO に対する IFN $\beta$  の影響について血清学的に検証した。

### 研究方法

症例 1 は脳幹と脊髄が主病巣の 35 歳女性。病初期は脳白質病変の再発を繰り返してお

り、当時 MS と診断し IFN $\beta$  を開始した。しかし導入直後に脳に重篤な再発を認めたため IFN $\beta$  を中止したが、それを契機に脊髄病変の再発が目立つようになった。その後、抗 AQP4 陽性が判明し、視神経病変はないものの NMO 不全型と診断した。現在、ステロイド薬内服にて再発回数は激減し、順調に経過している。

症例 2 は 15 歳時から脊髄炎 (長大病変なし) と視神経炎を繰り返している 20 歳女性。当時視神経脊髄型 MS と診断し IFN $\beta$  を導入したが再発頻度は減少しないため無効と判断

---

1) 近畿大学医学部神経内科

2) 東北大学医学部神経内科

し中止した。後に抗 AQP4 抗体陽性が判明し NMO と診断した。種々の治療法を試みたが、少量ステロイド薬と免疫抑制薬（シクロスポリン）の内服併用にて再発は完全に抑制できている。

今回、これら 2 症例の IFN $\beta$  導入前後の保存血清を用い、抗 AQP4 抗体価、液性因子として B cell activating factor (BAFF) を測定し、臨床症状との相関性について解析した。

#### （倫理面への配慮）

患者情報、および血液検体は匿名化し、個人が特定できないように配慮した。個人の情報が表にでることがないように細心の注意を払い、プライバシーの保護には十分に配慮した。

#### 研究結果

いずれの症例も IFN $\beta$  開始前から抗 AQP4 抗体陽性であった。BAFF は IFN $\beta$  開始によって上昇がみられ、IFN $\beta$  中止後は徐々に開始前のレベルに戻った。NMO と診断した後は、経口ステロイド薬を主とした免疫抑制薬を開始したが、BAFF もさらに低下した。また、抗 AQP4 抗体価の推移も BAFF とほぼ同様の経過を示した。

#### 考察

IFN $\beta$  が液性因子である BAFF の産生を促進することが報告されている。NMO における IFN $\beta$  治療の是非については、議論の余地は残されているが、IFN $\beta$  は効果が乏しいという意見が大勢を占めるようになってきた。さらに効果が乏しいばかりでなく、症例 1 のように IFN $\beta$  治療により病状が増悪する例も報告されており、液性因子が病態に深く関与してい

ると考えられる NMO では、液性因子を賦活化させる IFN $\beta$  の使用は慎重にすべきと言える。今回、我々は IFN $\beta$  治療導入によって、BAFF 上昇とともに、抗 AQP4 抗体価が上昇することを示した。また抗 AQP4 抗体価の変動と臨床症状も概ね相関していることから、IFN $\beta$  が間接的に臨床症状悪化につながることも示唆された。その作用機序についてはさらなる検証が必要である。

#### 結論

我々の NMO 2 症例では、IFN $\beta$  によって液性因子が賦活化し、抗 AQP4 抗体価も上昇することが示された。NMO に対する IFN $\beta$  治療は慎重にすべきであることが血清学的にも確認された。

#### 文献

Miyamoto et al. Upregulation of water channel aquaporin-4 in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurol Sci* 2009;276:103-7.

Miyamoto et al. Intermittent plasmapheresis prevents recurrence in neuromyelitis optica. *Ther Apher Dial*. 2009; 13:505-8.

#### 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

# Neuromyelitis optica 発症における感染症の関与

研究分担者 神田 隆<sup>1)</sup>

共同研究者 古賀道明<sup>1)</sup>、川井元晴<sup>1)</sup>、高橋利幸<sup>2)</sup>

尾本雅俊<sup>1)</sup>、小笠原淳一<sup>1)</sup>、根来 清<sup>1)</sup>

## 研究要旨

【目的】視神経脊髄炎（NMO）発症に関与する病原因子を同定する。【対象・方法】抗 AQP4 抗体陽性の NMO 症例などを NMO 関連疾患群（N=19）として用い、計 24 種の病原体に対する血中抗体・抗原を測定した。【結果】対照群（N=33）と比べ NMO 関連疾患群で抗体陽性率が有意に高い病原因子はなかった。しかし、急性期（初発・再発 1 カ月以内）に血清を採取された NMO 関連疾患群 15 例中 3 例（20%）でムンプスウイルス特異 IgM 抗体が陽性であり、対照群（6.1%）と比べ高頻度の傾向を示した（P=0.17）。ムンプスウイルス特異 IgM 抗体陽性 NMO 関連疾患群 3 例のいずれも再発性脊髄炎の症例で、視神経障害はなく、採血時は発症から 2 年以内であった。採血後の経過は、ステロイド内服治療で再発はなく（観察期間：1 年 3 ヶ月-2 年）、EDSS 3.0 以下と比較的軽症例であった。また、NMO 関連疾患群急性期 15 例中 4 例（27%）でヒトヘルペスウイルス（HSV、VZV、CMV、EBV）特異 IgM 抗体が検出され、やはり発症から間もない症例がほとんどであった。【結論】ムンプスウイルスやヒトヘルペスウイルスが病初期の段階で NMO の発症・再発に関与している可能性が示された。今後は多数例を対象に、これらのウイルス感染の既往や症状の有無などを調査することで、NMO におけるウイルス感染の関与について詳細に検討する必要がある。

## 研究目的

多発性硬化症（MS）の発症に感染症が関与することが想定され、様々な感染因子との関連が検討されているが、いまだに特定の感染因子の関与は明らかにされていない。近年 MS から独立した疾患概念として分離された視神経脊髄炎（NMO）でも、15-25%の患者が発症や再発に際して発熱などの先行感染症状がみられ、水痘・帯状疱疹ウイルス（VZV）やサイトメガロウイルス（CMV）感染後に発症した症例の報告が散見される。血中の抗アクアポリン 4（AQP4）抗体に特徴づけられる NMO は、発症機序の点で MS と比べても比較的均一であることが期待され、特定の病原因子が NMO の発症に関与している可能性がある。近

1) 山梨大学大学院医学系研究科・神経内科

2) 国立病院機構米沢病院・神経内科

年、われわれは、HTLV-1 感染を合併した NMO 症例を報告した<sup>1)</sup>。しかし、多数の NMO 症例を対象にした感染因子に関する検討はいまだにない。本研究では、NMO 発症に関与する病原因子を同定することを目的に、NMO 症例および抗 AQP4 抗体陽性の視神経炎や脊髄炎症例を対象に、各種感染症の頻度に関して多数例を対象に血清学的に検討を行った。

## 研究方法

- ・対象：抗 AQP4 抗体陽性の NMO、脊髄炎、視神経炎などを NMO 関連疾患群（N=19）として解析した（15 例は初発ないし再発から 1 カ月以内に採血）。対照として、その他の非自己免疫性神経・筋疾患・健常者群（N=33）を用いた。
- ・抗体測定：計 24 種のウイルス・細菌に対する

血中抗体を測定した (HBVのみ抗原を測定)。測定法は、ELISAでIgM特異抗体 (CMV、VZV、EBウイルス[VCA]、単純ヘルペスウイルス (HSV)、麻疹ウイルス、風疹ウイルス、ムンプスウイルス、パルボウイルス B19) を、PA法で *Mycoplasma pneumoniae* と HTLV-1、CLIA法でHBV [HBs抗原]とHCV、HIV、CF法でアデノウイルスとRSウイルス、A型インフルエンザウイルス、B型インフルエンザウイルス、ロタウイルス、HI法でパラインフルエンザウイルス (1型、2型、3型)、HA法で梅毒 (TPHA) の血中抗体を測定した。

*Campylobacter jejuni* と *Haemophilus influenzae* についてはELISAでIgG/IgM/IgA抗体を測定し2クラス以上検出された場合に陽性と判定した。

- ・倫理面への配慮：患者は全てナンバリングし個人特定できないようにした後に、本研究に用いた。

## 研究結果

・抗体陽性頻度 (Table 1)：対照群と比較し、

NMO関連疾患群で抗体陽性率が有意に高い病原因子はなかった。しかし、急性期 (初発・再発1カ月以内) に血清を採取されたNMO関連疾患15例中3例 (20%) でムンプスウイルス特異IgM抗体が陽性であり、対照群 (33例中2例 [6.1%]) と比べ高頻度の傾向を示した

( $P=0.17$ : Fisherの直接確立法)。また、NMO関連疾患急性期15例中4例 (27%) でヒトヘルペスウイルス (HSV、VZV、CMV、EBV) 特異IgM抗体が検出された (対照群12%;  $P=0.24$ )。

- ・臨床像：ムンプスウイルス特異IgM抗体陽性NMO関連疾患3例のいずれも再発性脊髄炎の症例で、視神経障害はみられていなかった。発症から採血までの期間は2年以内であり、採血後の経過では、プレドニゾン5-15mg/日の内服治療開始で再発はみられておらず (観察期間: 1年3ヶ月-2年)、EDSS 3.0以下と比較的軽症例であった。ヒトヘルペスウイルス特異

IgM抗体陽性NMO関連疾患4例についても、3例では視神経障害はみられておらず、NMOの臨床像を呈していたのは1例のみで、発症1年以内の症例が3例含まれていた。

## 考察

今回、多数のNMO関連疾患症例を対象にした感染因子に関する検討を初めて行った。その結果、症例数が比較的少なかったため統計学的有意性は証明できなかったものの、ムンプスウイルスやヒトヘルペスウイルスがNMO関連疾患の発症・再発に関与している可能性が確認された。特に、これらのウイルスの関与が考えられた症例の多くは、発症早期の症例で、NMOとして臨床像が完成していない症例であった。つまり、NMO発症早期にウイルス感染が関与していると考えられる。今回は1ポイントでの血清学的評価でありその意義付けは慎重に行う必要があるが、今後は多数例のNMO症例を対象に、これらのウイルス感染の既往や症状の有無などを調査することで、NMOにおけるウイルス感染の関与について詳細に検討する必要がある。

## 結論

NMOでは発症早期の段階で、ムンプスウイルスやヒトヘルペスウイルス感染が関与している可能性が考えられる。

## 文献

1. Koga M, Takahashi T, Kawai M, Negoro K, Kanda T. Neuromyelitis optica with HTLV-1 infection: Different from acute progressive HAM? Intern Med 2009; 48: 1157-1159.

## 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



**Table 1** Infectious serology in the patients with neuromyelitis optica (NMO) or the NMO-related conditions

	NMO-related conditions			
	Total	Acute phase <sup>a</sup>	Controls <sup>b</sup>	
Number	19	15	33	
Sex (M:F)	2:17	2:13	20:13	
Median age (range)	53 (16-71)	52 (16-71)	59 (17-77)	
Agents	Methods			
Herpes simplex virus	ELISA	2 (11%)	2 (13%)	1 (3.0%)
Varicella-zoster virus	ELISA	2 (11%)	2 (13%)	0
Cytomegalovirus	ELISA	1 (5.3%)	1 (6.7%)	2 (6.1%)
Epstein-Barr virus	ELISA (VCA)	1 (5.3%)	1 (6.7%)	1 (3.0%)
Parvovirus B19	ELISA	0	0	NE
Rubella virus	ELISA	0	0	NE
Measles virus	ELISA	0	0	NE
Mumps virus	ELISA	3 (16%)	3 (20%)	2 (6.1%)
<i>Campylobacter jejuni</i>	ELISA	0	0	NE
<i>Haemophilus influenzae</i>	ELISA	0	0	NE
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	PA	1 (5.3%)	1/14 (7.1%)	2 (6.1%)
Adenovirus	CF	0	0	NE
Influenzae virus A	CF	4/18 (22%)	4 (27%)	7/32 (22%)
Influenzae virus B	CF	4/18 (22%)	2 (13%)	1/32 (3.1%)
Respiratory syncytial virus	CF	0	0	NE
Rotavirus	CF	0	0	NE
Parainfluenza virus 1	HI	0/18	0/14	NE
Parainfluenza virus 2	HI	3/18 (17%)	3/14 (21%)	4 (12%)
Parainfluenza virus 3	HI	0/17	0/14	NE
HTLV-1	PA	1 (5.3%) <sup>c</sup>	1 (6.7%) <sup>c</sup>	NE
HBV	CLIA (HBsAg)	0/12	0/10	NE
HCV	CLIA (Ab)	1/12 (8.3%)	1/10 (10%)	NE
Human immunodeficiency virus	CLIA	0/12	0/10	NE
<i>Treponema pallidum</i>	HA (TPHA)	1/12 (8.3%)	1/10 (10%)	NE

NE = not examined; Ag = antigen; Ab = antibody

<sup>a</sup> Serum sample was available within 1 month after the onset or the recurrence of the disease

<sup>b</sup> Healthy persons or patients with various neurological muscular diseases except for autoimmune diseases

<sup>c</sup> Previously reported case (Koga et al. Intern Med 2009)

# 視神経脊髄炎の病態における B 細胞の関与の解析

研究分担者 糸山泰人<sup>1)</sup>  
共同研究者 中島一郎<sup>1)</sup>、鈴木千尋<sup>1)</sup>、高井良樹<sup>1)</sup>、三須建郎<sup>2)</sup>、高橋利幸<sup>3)</sup>、  
高野里菜<sup>1)</sup>、黒田宙<sup>4)</sup>、藤原一男<sup>2)</sup>

## 研究要旨

視神経脊髄炎 (NMO) は血清中の抗アクアポリン4 (AQP4) 抗体が病態に関与した自己免疫疾患であるものの、詳細な病態機序は未だ不明である。NMO の再発予防にヒト CD20 モノクローナル抗体であるリツキシマブによる末梢血 B 細胞の除去が有用であるとの報告が相次いでおり、NMO の病態に成熟 B 細胞が深く関与していることが示唆されている。我々は自験例の診療において、副腎皮質ステロイド剤の経口投与を NMO 再発予防に適用しており、著明な効果を認めている。副腎皮質ステロイド剤が末梢血 B 細胞に及ぼす影響を解析することで NMO の病態における末梢血 B 細胞の関与が見出されると考え、副腎皮質ステロイド剤の治療を受けていない NMO と治療中の NMO の末梢血 B 細胞を解析した。NMO の末梢血 B 細胞では CD5 陽性 B 細胞の比率が増しており、他の自己免疫疾患による報告と類似していた。副腎皮質ステロイド剤治療により CD5 陽性 B 細胞の比率は有意に低下し、この細胞群の NMO 病態における関与が示唆された。

## 研究目的

視神経脊髄炎 (NMO) は抗アクアポリン4 (AQP4) 抗体が関与する自己免疫疾患であり、その病態はアストロサイト障害が主体である。NMO では他の自己免疫疾患の合併頻度が比較的高く、慢性甲状腺炎やシェーグレン症候群をはじめ、SLE や重症筋無力症が合併することもある。我々は、NMO の病態に他の自己免疫疾患に共通した B 細胞の異常がないか解析し、副腎皮質ステロイド剤長期内服治療における B 細胞への影響も検討した。

## 研究方法

NMO 患者 13 例 (副腎皮質ステロイド剤治療群 7 例、副腎皮質ステロイド剤非治療群 6 例)、多発性硬化症 (MS) 6 例、健常人 4 例の末梢血より Ficoll-Paque 法を用いて単核球 (PBMC) を分離し、CD19 細胞上の CD27、CD38、CD5、CD72、CD80、CD86、IgG、IgM などの発現をフローサイトメーター (FACSCalibur) を用いて解析した。PBMC における CD19 細胞の割合や CD19 陽性 B 細胞上の各細胞表面抗原の陽性頻度を NMO、MS、健常人で比較し、さらに NMO の副腎皮質ステロイド剤治療群と非治療群で比較した。

- 
- 1) 東北大学医学部神経内科
  - 2) 東北大学多発性硬化症治療学
  - 3) 米沢病院神経内科
  - 4) 東北大学高度救急救命センター

本研究は東北大学医学部倫理委員会の承認を得ており、血液採取に際して健常人を含む全例から予め文章で同意を得た。

## 研究結果

NMO では MS や健常人と比較して PBMC における CD19 細胞の割合に差はなく、CD19 細胞上の CD5 陽性頻度や CD72 陽性頻度が高い傾向にあったが有意差はなかった。NMO の副腎皮質ステロイド剤治療群では PBMC における CD19 陽性細胞の割合の著明な低下があり、NMO の副腎皮質ステロイド剤非治療群と比較して有意差があった。また、CD19 細胞上の CD5 陽性頻度が副腎皮質ステロイド剤治療群で有意に低下しており、病勢を反映している可能性が示唆された。副腎皮質ステロイド剤治療前後で解析した NMO の 1 例において副腎皮質ステロイド剤治療後に CD19 細胞上の CD5 陽性頻度が低下するのを確認した。CD5 陽性 CD19 細胞は CD27 陰性のナイーブ B 細胞で、表面 IgG 陰性、表面 IgD 陽性であったことから、抗 AQP4 抗体の産生には関与していないことを確認した。また、CD5 陽性 B 細胞上の CD80 や CD86 分子の発現も低く、CD5 陽性 B 細胞の抗原提示能の亢進は認められなかった。

## 考察

CD5 陽性 B 細胞は自然免疫に関与し、腸管などで増加していることが知られている。低親和性の自己抗体を産生していることから自己免疫疾患における関与が指摘されており、SLE や慢性関節リウマチなどの血液中での割合が増加していることが知られている<sup>1)</sup>。近年、

CD5 陽性 B 細胞が主に IL-10 などの抑制性のサイトカインを分泌することで、炎症性の病態を抑制している可能性が指摘されており、CD5 陽性 B 細胞は regulatory B 細胞の1つと考えられている<sup>2)</sup>。

本研究において、NMO では副腎皮質ステロイド剤により病態が安定することで CD5 陽性 B 細胞の割合が有意に低下したことは、CD5 陽性 B 細胞が自己免疫を抑制する以外の働きが存在している可能性を示唆している。

今後、NMO における CD5 陽性 B 細胞の役割を解析し、この細胞群が治療ターゲットになりうるかどうかを検討する。

## 結論

NMO の末梢血 B 細胞における CD5 陽性頻度が健常人や MS 群と比較して増加している傾向があった。副腎皮質ステロイド剤による治療により、NMO の末梢血中の CD5 陽性 B 細胞の比率が低下しており、この細胞群が NMO の病態に関与していることが示唆された。

## 文献

- 1) Youinou P, et al. *Autoimmun Rev.* 2007;7(2):149.
- 2) Dalloul A. *Autoimmun Rev.* 2009;8(4):349.

## 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

# Non-NMO MS と NMO における *HLA-DRB1* アリルの epistatic interaction 解析

分担研究者 吉良潤一

共同研究者 磯部紀子, 松下拓也, 松岡健, 米川智, 眞崎勝久

## 研究要旨

これまで、多発性硬化症 (MS) における *HLA-DRB1* アリル間の相互作用について我が国では検討されておらず、今回日本人 MS 症例において解析した。対象は Poser 分類を満たす MS 108 例、健常者 133 例とし、MS 症例は抗 AQP4 抗体陽性または改訂版 NMO 基準を満たす 34 例 (NMO spectrum disorder 群) と、それ以外の 74 例 (non-NMO MS 群) に分類した。Non-NMO MS 群では、*HLA-DRB1\*01*, *HLA-DRB1\*09* は有意に non-NMO MS のリスクを下げ、特に *HLA-DRB1\*09/15* の genotype で有意に強かった。*HLA-DRB1\*04* は non-NMO MS のリスクを有意に増し、特に *HLA-DRB1\*04/04*, *HLA-DRB1\*04/14*, *HLA-DRB1\*04/15* で有意に強かった。NMO spectrum disorders 群では、*HLA-DRB1\*09* は有意に NMO spectrum disorders のリスクを下げ、*HLA-DRB1\*12* は同リスクを有意に増し、特に *HLA-DRB1\*12/15* で顕著であった。

Non-NMO MS 群、NMO spectrum disorders 群の両群における *HLA-DRB1* の作用について、その遺伝学的特徴に共通点と相違点があった。また、*HLA-DRB1* アリルの作用は、特定の対立遺伝子の影響を強く受けていることが明らかになった。

## 研究目的

欧米を中心に多発性硬化症 (MS) における *HLA-DRB1* アリル間の相互作用について解析されている<sup>1),2)</sup>。今回、日本人 MS における *HLA-DRB1* アリル間相互作用の特徴を明らかにすることとした。

す症例を NMO spectrum disorders 群とし、それ以外の MS 症例を non-NMO MS 群と規定し、両群における *HLA-DRB1* アリルの作用について解析した。多重ロジスティック回帰分析における変数の選択はステップワイズ法にて行い、cut off *p* 値は、0.05 とした。

## 研究方法

Poser 分類を満たす MS 108 例、健常者 127 例を対象に、*HLA-DRB1* のタイピングと血清中の抗アクアポリン 4 (AQP4) 抗体の測定を行った。抗 AQP4 抗体の測定は、GFP-AQP4 蛋白を発現させた HEK293 細胞を用い非固定で患者血清を 4 倍、100 倍希釈で反応させ、ヒト IgG に対する間接蛍光免疫染色法にて行った。MS 症例について、血清抗 AQP4 抗体が陽性または 2006 年に規定された改訂版 neuromyelitis optica (NMO) 診断基準を満た

## 研究結果

MS 症例 108 例中、抗 AQP4 抗体陽性例は 27 例 (25.0%) で、うち 21 例 (77.8%) が改訂版 NMO 診断基準を満たした。一方、抗 AQP4 抗体陰性の 81 例中 7 例 (8.6%) が改訂版 NMO 診断基準を満たした。よって、抗 AQP4 抗体陽性または改訂版 NMO 診断基準を満たす 34 例を NMO spectrum disorders 群とし、それ以外、すなわち、抗 AQP4 抗体が陰性かつ改訂版 NMO 診断基準を満たさない 74 例を non-NMO MS 群に分類した。

Non-NMO MS 群では、健常者と比べ、

九州大学大学院医学研究院神経内科学