

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

MS/NMO 日本人患者の比較

1. 死因 2. CCSVI (予報)

研究分担者 田中正美¹⁾

共同研究者 高坂雅之¹⁾、田原将行¹⁾、松井 大¹⁾、小西哲郎¹⁾、齋田孝彦¹⁾、田原将行¹⁾、松井 大¹⁾、小西哲郎¹⁾、内炭弘嗣²⁾、田中恵子³⁾

研究要旨

日本人 MS/NMO 患者を対象に死因と慢性大脳脊髄静脈循環不全 (CCSVI) について検討した。2006 年から 2010 年までに死亡した 7 例は全例女性で NMO であった。肺炎、呼吸不全が原因であることが多く、人工呼吸器を装着しても ALS ほどには生存しない可能性が示唆された。CCSVI を検討するために頸部エコーを行ったが、狭窄や拡張、流速に異常はなく、Zamboni らが主張するような静脈還流障害は認められなかった。

【目的】 多発性硬化症 (MS) / 視神経脊髄炎 (NMO) の治療はこの数年で大きく変化した。NMO ではステロイドを積極的に投与するようになって劇的に再発回数が減少し、今後、MS に対しても次々に新しい薬剤の治療が国内でも導入されつつある。今後の治療に役立てる目的で、治療環境が変化する前に死亡した患者の死因を解析した。

イタリアのグループにより頸部静

cerebrospinal venous insufficiency 脈の狭窄による、Chronic (CCSVI) が MS の一次的原因で、静脈の循環障害による中枢神経に沈着した鉄に対する二次的な免疫応答が MS を引き起こす、という仮説が提出された。その後、スタンフォード大学で頸部静脈にステントを挿入した患者が死亡したことも注目され、否定的な論文が出る一方で、イタリアグループはその後も活発に論文を発表し、バツファロー大学の画像研究チームからもイタリアグループを支持する報告されるなど、賛否両論がある。日本人 MS/NMO 患者でそもそも当初イタ

1) NHO 宇多野病院多発性硬化症センター

2) 同循環器科

3) 金沢医大神経内科

リアから報告されたような頸部静脈の狭窄があるのかどうかについて検討した。

【対象と方法】 1. 死因 2006年から2010年までに死亡した7例について診療録から死因を推定した。

2. 2010年9-10月に当院を受診した、MS17例、NMO11例(うち9例が抗 AQP4 抗体陽性)、NMO spectrum2例、CIS(脊髄炎)2例、再発性脊髄炎1例を対象とした。頸部エコーは臥位で行い、左右内頸静脈径と流速を測定した。

【結果】 1. 死亡者は全例が NMOであった。再発と死亡との間隔は

最短で2ヶ月で、再発は直接死因にはなっていないなかった。4例は人工呼吸器を装着していたが、ALSほどの生存期間は得られなかった。真菌や pneumocystis carinii といった日和見感染症は認められなかった。

2. MSでの右流速は30-120、左流速は34-80cm/secで、明らかなflowが認められなかったのは1例のみであった。NMOでも異常所見はなかった。

【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

Autoimmune astrocytopathy syndrome (AAS)/ Devic's syndrome(DS)

診断基準の提唱と日本人多発性硬化症(MS) 504 人での適用

齋田孝彦^{1, 2}、高橋利幸³、小森美華⁴、森信人¹、四方祐子¹、中村慎一¹、磯野理¹、藤原一男⁵

京都民医連中央病院神経内科¹、入野医院多発性硬化症クリニック²、NHO 米沢病院³、東北大学神経内科³、京都大学神経内科⁴、東北大学多発性硬化症治療学⁵

【目的】

Neuromyelitis optica(NMO)は Devic らが最初に記載した多発性硬化症 (MS) 類縁疾患または亜型で、病理学的な病巣が脱髄とともに壊死病巣を伴うことが最もMSと異なる点であった。その臨床的診断はMSと重複する点が多く、視神経炎、脊髄炎が強く、回復が乏しい点が強調されてきたが、MSと明確な線を引くことは20世紀末までは困難であった。

一方日本では1960年代のMS研究の初期から、視神経と脊髄での再発が多いのが全般の特徴であるが、中間型ないし移行型が多く、古典的MSとの間に明確に線を引くことは困難であるとされ、Devic 病は单相性の両側視神経炎と横断性脊髄炎を伴う物とするという黒岩らの提唱が長く利用されてきた。その後、臨床的に視神経炎、脊髄炎に限局する症例は古典的MSと異なっているとの指摘があったが、病巣分布の組み合わせによる基準の提唱にとどまり根拠不明瞭であった。

1999年に Mayo Clinic グループがMRI上の長い病巣が診断に有用であることを取り入れた診断基準を提唱し、その後 anti-aquaporin-4 antibody (AQP4-AB) 陽性であることをも取り入れた改訂診断基準が提唱された。現時点ではNMO診断には Mayo Clinic 案が一般に利用されている。

Mayo Clinic 案は有用であり研究の進歩に大きく貢献してきたが、大きな欠点をも内包している。即ち臨床的視神経炎、脊髄炎が共に存在することと、脳MRI-多発性硬化症(MS)診断基準を充たさないという、それらを充たす例と同一病態をもつにも関わらず、一部を欠くためにNMOの診断から排除される例が多く、感度が低い。一方、NMO spectrum disorder は抗 aquaporin-4 抗体(AQP4Ab) 陽性例と同義語で抗体陰性例は診断しえない欠点を有する。こうした NMO, NMO spectrum disorder 診断基準の感度の低さから、NMOと同一病態を持ちながら診断から排除された症例が、MS診断の中に含まれる結果となる。診断上の混乱が基礎的研究の解析の正確性を阻害している例や、治療方針の不正確さを生じて患者に害を及ぼしていると考えられる例が存在する。

本研究ではNMOと同一病態を持つ症例を広く同定できる新診断基準を提唱し、MS診断基準をみだす連続症例に適用し、症例の特徴を解析する。

【対象と方法】

《提唱する新診断基準》

Fulfillment of MS diagnostic criteria and one of the following two conditions:

① Long cord lesion (LCL): LCL is a centrally located, fully contiguous hyper-intense lesion extending ≥ 3 vertebral segments on spinal MRI-T2WI. Dominancy of the central lesion location should be carefully evaluated by reviewing all the axial images throughout each suspected lesion.

② Sero-positivity for anti-aquaporin-4 antibody (AQP4-Ab)

《新提案の根拠》

我々が行った、2004年までに、一応 MS 診断基準を充たし再発あるいは長期進行を呈し、1年以上、平均11年の長期観察しえた342名において、

(1) 上記提唱基準の①を充たす LCL を有する例の63%で AQP4Ab 陽性であった。

(2) 一方、罹病5年以上の期間中 LCL を呈さなかった全例が抗体陰性であった事、

(3) sagittal view で一見長く見える類似病巣でも、axial view で連続性が明確でない、あるいは周辺白質に病巣主座をもち①の基準をみたさず LCL ではないと判定された例では、全例が AQP4Ab 陰性であり、prototypic MS と判定された事にある。

即ち、MS 診断基準を充たす集団においては、①の基準を充たす LCL 陽性と AQP4Ab 陽性との間に非常に強い相関が在り、共に NMO と同一病態を有すると考えられる事実に基づいている。

《対象》

今回の研究において新基準を適用した対象は、

(1) 2007年5月以後に京都民医連中央病院神経内科と入野医 MS クリニックにおいて齋田が診療し、MS の診断基準を充たし他疾患を除外できた症例中、(2) 罹病期間1年以上、(3) 再発が1回以上ある、(4) 脊髄と脳 MRI データおよび (5) aquaporin-4 抗体測定データのある、を充たした、連続504症例。

全例に上記診断基準を適用して分類し、臨床特徴を分析した。

《AQP4Ab の測定・判定方法》

患者情報をマスクし独立して実施した。抗体測定は先に報告された方法に基づいた。

【結果】

患者504人に新基準を適応し分類した結果は、(1) 新基準を充たさず prototypic MS と診断されたのが363人 (72%)、(2) 新基準を充たしたのが141人 (28%) であった (図1)。

新基準を充たした141人のうちわけは (図2)、LCL 陽性135人 (96%)、AQP4 抗体陽性103人 (73%)、LCL・AQP4 抗体二重陽性97人 (69%)、LCL 陽性・AQP4 抗体陰性38人 (27%)、LCL 陰性・AQP4 抗体陽性6人 (4.3%) であった。

LCL 陰性・AQP4 抗体陽性の6人は、延髄と大脳症状1回ずつ1例、大脳症状の2回反復1例、視神経炎のみ2回と14回反復の2例、Brown-Sequard 症候群を2回反

復し脊髄 MRI で 1 椎体長の中心管周辺病巣を呈した 1 例であった。

本診断基準を充たす症例の臨床特徴は、これまで NMO の特徴とされたものと共通性が高い。しかし大脳症状の頻度が高く、視神経炎病歴を欠く症例、視神経炎のみの反復例、脊髄炎のみの例などを含む。

脳 MRI で MS 典型的所見を欠き、虚血性白質病巣様の変化が一般的である。しかし脳 MRI-MS 診断基準を充たす例も多く、MS と AAS/Devic's syndrome の鑑別にあまり有用でない。NMO に特徴的とされる所見である第 3 脳室、中脳水道、延髄中心管周辺をかこむ病巣、視床下部・視床の対称性病巣、錐体路をふくむ大脳半球中心部の縦長の大型病巣、posterior reversible encephalopathy 様の vasogenic edema 病巣、cloud like Gd-enhancement などを欠く例が過半数である。

【結論】

(1) LCL 陽性と AQP4-Ab 陽性は NMO の中核的臨床所見であり、AQP4-Ab 陰性・LCL 陽性例も存在することから、提起した診断基準は prototypic MS との鑑別に高い感度と特異性を示す。脊髄炎急性期の MR I 検査による Centrally located LCL の正確な判定の有用性を重視する必要がある。

(2) しかし AQP4Ab 陰性例で遅れて LCL が出現する例もあり、早期診断困難で MS として分類されるグレー症例が存在する。脳画像所見や他の臨床所見を組み合わせることですうした限界を克服することが今後の課題である。

(3) 1999 年以前の NMO 概念や optic-spinal (opticospinal) MS(視神経脊髄型 MS) などの、臨床的な視神経炎と脊髄炎の存在を疾患亜型概念の中核とする従来の手法は、一定の歴史的価値を有したが、現時点では有用でない。

(4) 最新の病理・免疫組織化学研究、AQP4Ab による passive transfer 実験成功などの結果から、従来の NMO は概念を改変し、広範な臨床表現型を有する autoimmune astrocytopathy syndrome (AAS)/Devic's syndrome として理解するのが適切である。視神経炎か脊髄炎の無い例を含み、脳症状を呈する例も多く、名称による誤解を避けるため NMO の名称は用いないことが望ましいと考える。

(5) MS を heterogenous な chronic or relapsing autoimmune gliopathy syndrome と再定義し、その中核である古典型 MS を autoimmune myelin-oligodendroglialopathy syndrome、AAS を MS syndrome の一亜型として再整理することを提起する。

(6) Clinically isolated syndrome での基準は別途検討が必要である。

References

1. Gault F. De la neuromyéélite optique aiguë. Lyon 1894. 2004;364:2106-2112.
2. Saida T, Tashiro K, Itoyama Y, Sato T, Ohashi Y, Zhao Z. Interferon beta-1b is effective in Japanese RRMS patients: a randomized, multicenter study. Neurology 2005;64:621-630.

3. Wingerchuk DM, Hogancamp WF, O'Brien PC, Weinshenker BG. The clinical course of neuromyelitis optica (Devic's syndrome). *Neurology* 1999;53:1107-1114.
4. Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Weinshenker BG. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology* 2006;66:1485-1489.
5. Wingerchuk DM, Lennon VA, Lucchinetti CF, Pittock SJ, Weinshenker BG. The spectrum of neuromyelitis optica. *Lancet Neurol* 2007;6:805-815.
6. Nakamura M, Miyazawa I, Fujihara K, et al. Preferential spinal central gray matter involvement in neuromyelitis optica. An MRI study. *J Neurol* 2008;255:163-170.
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. Roemer SF, Parisi JE, Lennon VA, et al. Pattern-specific loss of aquaporin-4 immunoreactivity distinguishes neuromyelitis optica from multiple sclerosis. *Brain* 2007.
9. Bradl M, Misu T, Takahashi T, et al. Neuromyelitis optica: Pathogenicity of patient immunoglobulin in vivo. *Ann Neurol* 2009;66:630-643.
10. Saadoun S, Waters P, Anthony Bell B, Vincent A, Verkman AS, Papadopoulos MC. Intra-cerebral injection of neuromyelitis optica immunoglobulin G and human complement produces neuromyelitis optica lesions in mice. *Brain* 2010.
11. Matiello M, Kim HJ, Kim W, et al. Familial neuromyelitis optica. *Neurology* 2010;75:310-315.
12. Pittock SJ, Lennon VA, Krecke K, Wingerchuk DM, Lucchinetti CF, Weinshenker BG. Brain abnormalities in neuromyelitis optica. *Arch Neurol* 2006;63:390-396.

表 1.

Frequency of AAS/Devic's syndrome and MS in 504 Japanese Patients satisfying MS criteria

Diagnosis	Diagnostic Criteria	No of patients (n=504)	%	Age	Male : Female
MS	LCL(-) and AQP4 A b (-)	363	72 %	41.2 y (13-83)	1: 2.2
AAS/ Devic's syndrome	LCL(+) and/or AQP4Ab (+)	141	28 %	52.4 y (6-84)	1: 7.1

表 2.

Frequency of subgroups of AAS/Devic's syndrome in 141 Japanese patients

LCL	AQP4 Ab	No of patients	% (n=141)	Age	Male: Female
(+)		135	95.7 %	51.4 (6-84)	1:7.0
	(+)	103	73.0 %	52.0 (20-80)	1:12.7
(+)	(+)	97	68.8 %	51.8 (26-80)	1:13.5
(+)	(-)	38	27.0 %	50.0 (6-84)	1:2.7
(-)	(+)	6	4.3 %	54.7 (20-78)	1:5

MSとCIDPの自己抗体プロファイル解析

研究協力者 三木哲郎

班員 吉良潤一

共同研究者 河野祐治

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】本研究では、多発性硬化症(MS)と慢性炎症性脱髄性多発根神経炎(CIDP)の病態解明、バイオマーカー開発、再発・予後予測を目的とする。具体的には自己抗体プロファイルと新規自己抗体の検索を行う。【方法】無細胞タンパク質合成系で作製された蛋白ライブラリとアルファスクリーンを用いた。初期スクリーニングでは典型的なMS患者の再発期の血清を用いた。実際の蛍光強度を、標的抗原蛋白質なしのコントロールと比較し、その比(蛍光強度比)を解析に用いた。【結果】これまでのところ2181蛋白を用いて、MS3検体、健常者3検体を行った。蛍光強度比2以上をカットオフとした場合、健常者との陽性の割合の比較では、27蛋白質でMS患者での陽性率が高く、逆に76蛋白質では健常者での陽性率が高かった。【考察・結論】MS患者で自己抗原となりやすい、反対になりにくい蛋白質の候補が得られ、引き続き後期スクリーニングの選定が進んだ。今後、NMO、Balo病、CIDPでの検討も行う予定である。

研究目的

本研究では、免疫性神経疾患、特に多発性硬化症(MS)、慢性炎症性脱髄性多発根神経炎(CIDP)の病態解明、バイオマーカー開発、再発・予後予測を目的とする。具体的にはミエリン抗原に限定せずに広く抗原を選択し、自己抗体プロファイルと新規自己抗体の検索を行う。

MS、CIDP共に患者間での臨床型や組織学的にも多様性が大きく、単一疾患ではないと考えられてきた。これまでにMSでは抗Aquaporin-4(AQP4)抗体が、日本では視神経脊髄型MSとされてきた病型の多数で証明され、補体依存性のastrocyteの脱落に伴った間接的脱髄機序が推定されている。一方CIDPからも抗MAG抗体、IgM抗GM1抗体などを持つ特有の病態が分離され、自己抗体の検討は病型分類、病態機序の解明に有効と考えられる。先行研究としてはQuintanaらが、わずかに362の、ミエリンと炎症に関連した抗原のみで自己抗体プロファイルを検討している。しかし前述のAQP4は

ミエリン関連抗原ではなく、抗原を最初から限定する方法では数多くの重要な抗原を見落としている可能性が高い。そこで網羅的に抗原を検索することとした。

研究方法

愛媛大学無細胞生命科学工学研究センターとの共同研究で行なった。小麦胚芽を用いた無細胞タンパク質合成系で作製された蛋白ライブラリとアルファスクリーンにより自己抗体プロファイルの作成と新規自己抗体の検索を行なった。画像的にBarkhofのMRI診断基準をみたま典型的な寛解再発型のMS3例の再発期血清と、健常者3例の既知の感染症のない時期の血清、2181種類の蛋白質を用いて検討した。実際の蛍光強度を、標的抗原蛋白質なしのコントロールと比較し、その比(蛍光強度比)を解析に用いた。将来的にはヒトの全cDNAを用いて蛋白ライブラリを作製し、検討を行うことを考えている。そこで患者と健常者にて抗体価に差の見られた抗原を100から200選択する。

次に症例を増やし、典型例、非典型例の再発期と寛解期、慢性進行型、その他の炎症性、非炎症性神経疾患、での検討を行う。

(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

蛍光強度比 2 以上をカットオフとした場合、1 蛋白質で MS 3 例とも陽性、12 蛋白質で 2 例にて陽性、41 蛋白質で 1 例でのみ陽性であった。健常者との陽性の割合の比較では、27 蛋白質で MS 患者での陽性率が高く、逆に 76 蛋白質では健常者のほうが陽性率が高かった。5 蛋白質では MS と健常者で同じ陽性率であった。カットオフを蛍光強度比 1.5 以上に下げた場合、5 蛋白質で MS 3 例とも陽性、28 蛋白質で 2 例にて陽性、139 蛋白質で 1 例でのみ陽性であった。91 蛋白質で MS 患者での陽性率が高く、逆に 190 蛋白質では健常者の方が陽性率が高かった。18 蛋白質では MS と健常者で同じ陽性率であった。さらに以前に行った重症筋無力症(MG)と、Guillain-Barre 症候群(GBS)患者血清での結果との比較検討で、MS 患者に多い自己抗原として exonuclease 1 transcript variant 2, transmembrane protein 37 などが、反対に MS 患者で自己抗原となりにくい蛋白質として、methyltransferase like 1 transcript variant 1, high-mobility group nucleosome binding domain 1 などが得られた。

考察

MS 患者での陽性率の高い自己抗体、逆に低い自己抗体が判明した。MS 患者では自己抗原となった蛋白質数が健常者よりも少なかったが、MS 患者には健常者とは異なり、さらに MG や GBS と一致しない自己抗体のパターンが見られた。MS での細胞性免疫亢進などの特殊な基礎的な免疫状態と、MS 特有の免疫の偏りを反映したものと推測している。ミエリンや炎症関連抗原に限定せずに広く抗原を検討することにより、非ミエリン抗原や、病的状態でのみ発現するような抗原に対する自己抗体が検出できると想定され、各病型、寛解期、再発期における詳細な自己抗体プロファイルの作製、および新規自己抗体の検出あるいはバイオマーカーとしての利用が可能となる。それは診断精度の向上と最適な治療法開発、選択につながると思われる。次に症例を増やし、典型例、非典型例の再発期と寛解期、慢性進行型、Balo 病、視神経脊髄炎(NMO)、その他の炎症性疾患として CIDP を、そして非炎症性神経疾患も含めての検討を予定している。

結論

蛋白ライブラリのスクリーニング系が確立できた。MS 患者に多い自己抗原、健常者に多い自己抗原が分類でき、多数例での検討に用いる抗原の選定が進んだ。

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

Intravascular large B-cell lymphoma (IVL) の髄液サイトカイン・ケモカインプロファイル解析

分担研究者 渡邊 修¹⁾

共同研究者 高田良治¹⁾、松浦英治¹⁾、道園久美子¹⁾、高嶋 博¹⁾

研究要旨

Intravascular large B-cell lymphoma (IVL)では、発症早期より髄液 B cell attracting factor (BCA)-1 の上昇を認める。髄液 BCA-1 の診断マーカーとしての有用性を明らかにする目的で、IVL 群 3 例の髄液サイトカイン・ケモカインプロファイル解析を行い、他の有用なバイオマーカーの有無を検討した。また、抗 BCA-1 抗体を用いた脳生検の免疫組織化学にて、髄液 BCA-1 高値の機序を検討した。IVL 群 3 症例に共通して、髄液より sICAM-1, PAI-1 が検出されたが、Asian variant 1 症例を除き、髄内特異的な上昇を示さなかった。免疫組織化学では、血管内 CD20 陽性 B 細胞の一部による BCA-1 発現に加え、astrocyte や macrophage にも BCA-1 の発現を認めた。IVL に共通する髄内特異的な異常である髄液 BCA-1 は、診断マーカーとして有用である可能性がある。

研究目的

Intravascular large B-cell lymphoma (IVL)は、悪性リンパ腫の中で、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL)の一亜種であり、リンパ腫細胞が主に全身の小・中血管内でのみで増殖する比較的まれなリンパ腫とされる。浸潤臓器の虚血症状を主体とする多彩な臨床症状を呈するため、早期診断が困難で、予後不良とされていた。

これまで我々は、IVL 群において、発症早期より髄液 BCA-1 が著明に上昇していることを明らかにしてきた。今回我々は、IVL 群の髄液サイトカイン・ケモカインプロファイル解析を行い、診断マーカーとして有用な髄液 BCA-1 以外のバイオマーカーの有無に関する検討を行った。加えて、抗 BCA-1 抗体を用いた脳生検の免疫組織化学にて、髄液 BCA-1

高値の機序を検討した。

研究対象および方法

最終的に病理学的に確診された IVL 群 3 症例の血清・髄液について検討した。また、対照疾患群として B 細胞型の中枢神経系悪性リンパ腫 (CNSL) 4 症例を抽出した。

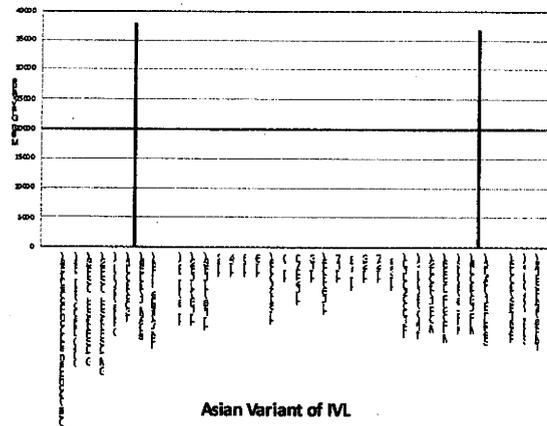
血清および髄液サイトカイン・ケモカインプロファイル解析は、The Proteome Profiler Human Cytokine Array Panel A (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)を用いて測定した。

Classical IVL 1例に関しては、脳生検パラフィン包埋標本を用いて、抗 BCA-1 抗体 (polyclonal, ProteinTech, 1:50)による免疫組織化学で検討した。

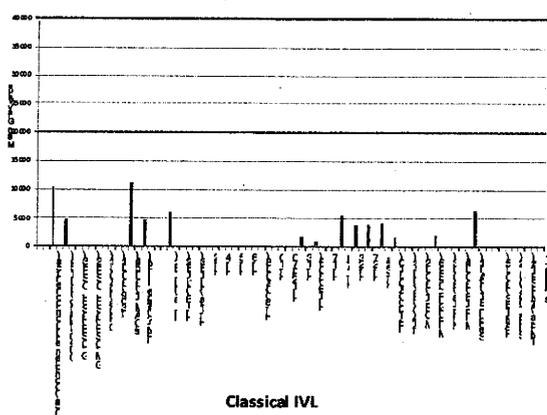
本研究は、鹿児島大学の倫理規定を遵守して行った。

1) 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科

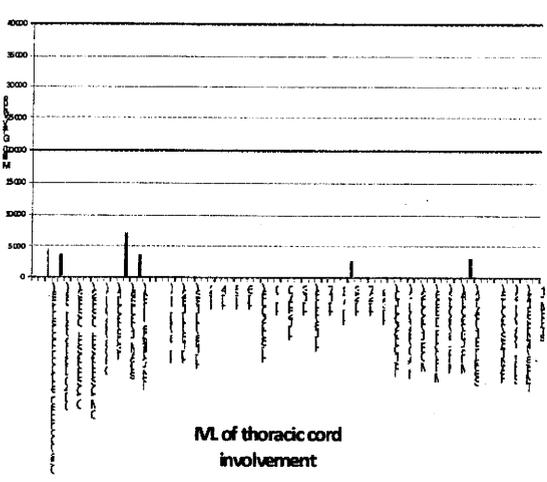
神経病学・老年病学



Asian Variant of IVL



Classical IVL



MS of thoracic cord involvement

研究結果

1. 髄液サイトカイン・ケモカインプロファイル解析では、IVL 群 3 症例に共通する疾患特異的異常を見出せなかった。
2. IVL群3例に共通して、髄液よりsICAM-1, PAI-1が検出されたが、Asian variant 1症例を除き、いずれも血清より低濃度であった。
3. 併せて行った血清サイトカイン・ケモカインプロファイル解析では、IVL群及び

CNSL群全例に共通して血清sICAM-1, RANTES (CCL5)の発現を認めた。

4. 免疫組織化学では、血管内CD20陽性B細胞の一部よりBCA-1発現を認めたことに加え、astrocyteやmacrophageにもBCA-1の発現を認めた。

考察

IVLは多彩な臨床症状を呈するため、早期診断が困難とされてきたが、これまでの検討により、発症早期より髄液 BCA-1 の上昇を認めることが明らかとなってきた。髄液 BCA-1 の測定は、IVL スクリーニングの一助となり、ランダム皮膚生検などの病理学的検索が積極的に行われることで、早期治療介入による予後改善も期待される。今回、髄液 BCA-1 以外の診断に有用なバイオマーカーの有無に関する検索を行ったが、検索の限りにおいてはIVL 群 3 症例に共通する髄内特異的な診断マーカーを見出せなかった。また、IVL 群 3 例に共通して、髄液より sICAM-1, PAI-1 が検出されたが、Asian variant における PAI-1 高値を除き、いずれも血清より低濃度であるため、髄内特異的な異常とは言えない。従って、classical, Asian variant に共通する髄内特異的な異常である髄液 BCA-1 の有用性が再確認された。

髄液BCA-1高値の機序としては、血管内異常Bリンパ球からの発現に加えて、CNSに局在するastrocyteがBCA-1を発現していることも一因と推測される。病変部位は軟膜の中小血管に及んでおり、血液脳脊髄液関門の破綻を介して髄液に漏出した可能性が示唆される。

結論

髄液サイトカイン・ケモカインプロファイル解析では、IVL群3症例に共通する髄内特異的な診断マーカーを見出せなかった。髄液BCA-1はIVLスクリーニングに有用である可能性がある。

文献

1. Masaki Y, Dong L, Nakajima A, et al. Intravascular large B cell lymphoma: proposed of the strategy for early diagnosis and treatment of patients with rapid deteriorating condition. Int J Hematol. 2009;89:600-610.
2. Fischer L, Korfel A, Pfeiffer S, et al. CXCL13 and CXCL12 in central nervous system lymphoma patients. Clin Cancer Res. 2009;15:5968-5973.

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

若年性女性の卵巣における NMDAR 関連抗原の発現に関する免疫組織化学的検討

研究分担者：池田修一¹⁾

研究協力者：立花直子²⁾、石井恵子³⁾、高橋幸利⁴⁾、田中恵子⁵⁾、有馬邦正⁶⁾

研究要旨

抗 NMDAR 脳炎の抗体産生の機序を明らかにする目的で、本症発症者の卵巣奇形腫、脳炎を伴わない正常卵巣、および正常精巣を対象に、抗 NMDAR 抗体を用いて免疫組織化学的検討を行った。本症発症者の卵巣奇形腫では NR2B、GluR2/3 抗原が広範囲かつ強く発現しており、正常卵巣では卵胞の胞体内に NR2B 抗原の発現が見られた。一方、3 例の精巣には明らかな抗 NMDAR 関連抗原の発現は見られなかった。抗 NMDAR 脳炎では軽微な感染症が前駆症状として多くの患者で確認されている。この感染症が契機となり、卵巣奇形腫や正常卵巣に発現している抗 NMDAR 関連抗原が自己抗体として提示され本症を発症する可能性が考えられた。

研究目的

抗 NMDAR 脳炎は若い女性に多く発症する辺縁系脳炎で、劇症ながら長期予後は比較的良好である。また、本症では高率に卵巣奇形腫を合併し、診断には血清・髄液中の抗 NMDAR 複合体抗体の証明が必須である。しかし本症の認知度の広がりにより、小児例を含めて卵巣奇形腫を伴わない発症者が多く報告されるようになり¹⁾、また、少数ながら男性患者の存在も明らかになってきている²⁾⁴⁾。このため、NMDAR の抗原提示を含めた本症の発症機序は未だ不明な点が多い。我々は抗 NMDAR 脳炎患者における抗 NMDAR 関連抗原の提示過程を明らかにする目的で以下の検討を行った。

研究方法

対象は抗 NMDAR 脳炎患者 (23 歳) の卵巣奇形腫、脳炎を伴わない女性 10 例 (年齢 18 歳から 29 歳) の正常卵巣、および

3 例 (年齢 19 歳、24 歳、34 歳) の正常精巣を対象に連続パラフィン切片を用いて免疫組織化学的検討を行った。使用した抗体は市販の抗 NMDAR 複合体抗体である抗 GluR2/3 抗体と各 subunit の抗体である抗 NR1、NR2A、NR2B 抗体、抗 GFAP 抗体で、免疫組織化学的染色は ABC 法を用いた。

対象とした正常卵巣は他疾患により合併切除摘出した卵巣組織を使用した。摘出時には研究目的での使用について、信州大学での規定に従い書面で同意を得ている。精巣は同じく他疾患で死亡し剖検された際に摘出された組織を使用した。

(倫理面への配慮)

本研究は信州大学医学部倫理委員会の承認を得て行われた。

研究結果

卵巣奇形腫では NR2B、GluR2/3 抗原が広範囲かつ強く発現しており、この分布は GFAP 陽性組織の範囲を大きく超えていた (図 1)。正常卵巣では 5 例において卵胞の胞体内に NR2B 抗原の発現がみられた (図 2)。一方、3 例の精巣では明らかな上記抗原の発現は確認できなかった。

¹⁾ 信州大学脳神経内科、²⁾ 市立岡谷病院神経内科、³⁾ 同 病理科、⁴⁾ 国立静岡てんかん・神経医療センター臨床研究部、⁵⁾ 金沢医科大学神経内科、⁶⁾ 国立精神・神経医療研究センター病院

考 察

抗 NMDAR 脳炎は自己免疫性辺縁系脳炎の一型で、神経細胞膜表面抗原に対する自己抗体 *N-methyl-D-aspartate receptor* (NMDAR) 抗体を介して生じる。本邦では 1997 年の西村・亀井ら⁵⁾の若い女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎 (AJFNHE) の報告があり、本症が注目されるようになった。一方、2007 年に Dalmau ら⁶⁾が卵巣奇形腫に合併した脳炎を抗 NMDAR 脳炎として報告し、2008 年には Iizuka⁷⁾らが本邦の AJFNHE と抗 NMDAR 脳炎がほぼ同一の疾患であると示している。以降、Dalmau ら^{2,8)}、Kamei ら⁹⁾、Irani¹⁰⁾らがそれぞれ大規模な調査を行っている。

これらの結果、本症は比較的頻度の高い自己免疫性脳炎であることがわかり、また、発症者の約 80%は女性でその多くが生産年齢であること、卵巣奇形腫の合併率は当初考えられていたほど多くなく、40-50%であることが明らかになってきた。特に小児例では卵巣奇形腫を含めた腫瘍の合併がより少ないことがわかっている¹⁰⁾。一方、多くの例で神経症状発症の 7-10 日前に感冒様の前駆症状を認めており、一部にワクチン接種後や抗体価の変動を伴う感染症後の本症発症例も報告されている。Tojo ら¹¹⁾もギランバレー症候群発症後に本症を合併した男性例を報告しており、何らかの自己免疫異常の起こりやすい状態で抗 NMDAR 抗体が出現する傾向があると考えられる。

今回我々が行った免疫組織化学的検索では、①脳炎合併例の卵巣奇形腫では NR2B、GluR2/3 抗原が広範かつ強く発現していた ②正常卵巣では卵胞内に NR2B 抗原の発現が見られたが、奇形腫と比較してその抗原量は少なかったという結果を得ている。卵巣奇形腫は卵細胞を発生母地とする胚細胞性腫瘍であり、生殖年齢の女性において卵細胞は周期的に成熟し排卵するというメカニズム上、常に外界に接し感染を起こしやすい状態に

あるといえる。したがって、正常卵巣に卵巣炎を発症した場合には卵胞内の NMDAR 関連抗原が露出し抗体産生の契機となる可能性が考えられる。神経組織を含む卵巣奇形腫を合併した場合には、多量の NMDAR 抗原が提示され、より容易で多量の抗体産生に結びつく可能性が推測された。

今回、比較的本症を発症しやすい若年女性を対象に卵巣組織の検討を行ったが、男性例や小児例での抗原提示、抗体産生のメカニズムについては明らかにはできなかった。前述のようにワクチン接種後の本症発症例もあり、一元的なメカニズムでの抗体産生の説明は難しいが、今後も新たな検討を加え、本症の発症機序を明らかにしていきたい。

結 論

1. 抗 NMDAR 脳炎合併の卵巣奇形腫には、NMDAR 関連抗体の強い発現を認めた。一方、正常卵巣では卵胞内に抗 NR2B 抗原の発現を認めたが、正常精巣には NMDAR 関連抗原の発現は見られなかった。

2. 抗 NMDAR 脳炎の発症には、卵巣奇形腫の存在は必須ではなく、正常卵巣の卵胞細胞自体が NMDAR 関連抗原を提示している可能性が考えられた。

3. 本疾患の認知と共に男性例や小児例が増加しており、NMDAR 関連抗原の抗原提示についてはさらなる検討が必要である。

健康危険情報

なし。

知的財産権の出願・登録

特許取得 なし。

実用新案登録 なし。

文 献

- 1) France NR, Davis RL, Lam C, et al. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) encephalitis in children and adolescents. *Ann Neurol* 2009 ; 66:11-8
- 2) Dalmau J, Gleichman A, Hughes EG, et al. Anti-NMDA-receptor encephalitis: case series and analysis of the effects of antibodies. *Lancet Neurol* 2008 ; 7:1091-8
- 3) Eker A, Sake E, Dalmau J, et al. Testicular teratoma and anti-N-methyl-D-aspartate receptor associated encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008 ; 79 : 1082-3
- 4) Novillo-Lopez ME, Rossi J, Dalmau J, et al. Treatment-responsive encephalitis and NMDA receptor antibodies in man. *Neurology* 2008;70:728-9
- 5) Nishimura T, Miki K, Ogawa K, et al. Pathogenesis of aseptic acute non-herpetic encephalitis: young adult female patients with acute non-herpetic encephalitis who presented with severe prolonged coma, but achieved a good recovery. *Neuroinfection* 1997;2: 74-6 (in Japanese).
- 6) 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
- 7) Iizuka T, Sakai F, Ide T, et al. Anti-NMDA receptor encephalitis in Japan: long-term outcome without tumor removal. *Neurology* 2008; 70: 504-11
- 8) Dalmau J, Lancaster E, Martinez-Hernandez E, et al. Clinical experience and laboratory investigations in patients with anti-NMDAR encephalitis. *Lancet Neurol* 2011;10:63-74
- 9) Kamei S, Kuzuhara S, Ishihara M, et al. Nationwide survey of acute juvenile female non-herpetic encephalitis in Japan: relationship to anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *Intern Med* 2008;7:1091-8
- 10) N-methyl-D-aspartate antibody encephalitis : temporal progression of clinical and paraclinical observation in a predominantly non-paraneoplastic disorder of both sexes. *Brain* 2010;133:1655-67
- 11) Tojo K, Nitta K, Ishii W, et al. A young man with anti-NMDAR encephalitis following Guillain-Barré syndrome. *Case Rep Neurol* 2011;3:7-13

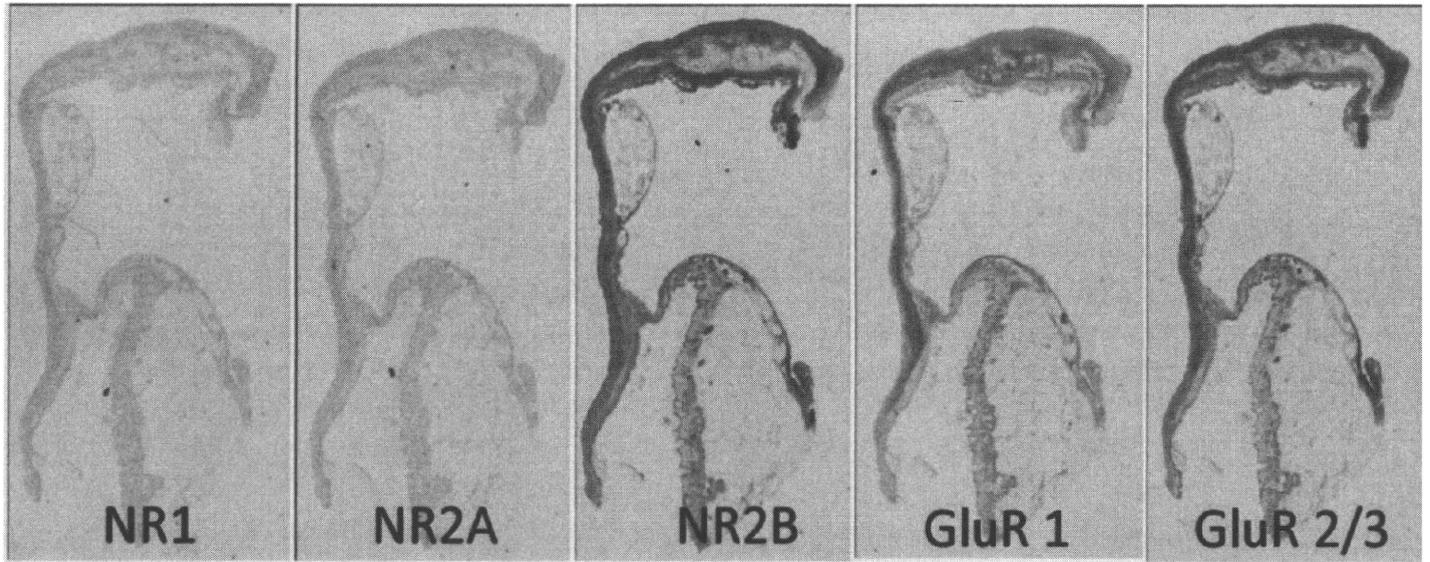


図1. 抗NMDAR脳炎合併卵巣奇形腫におけるNMDAR関連抗原の発現

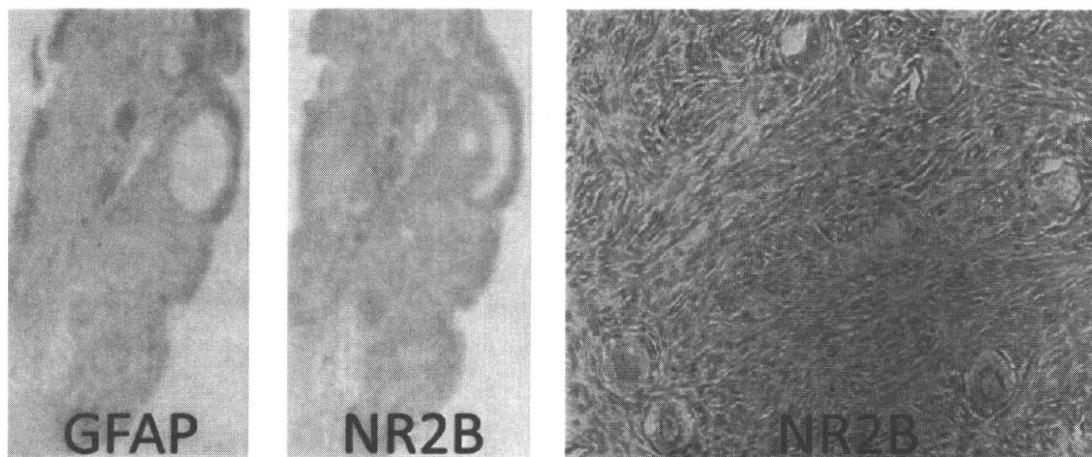


図2. 正常卵巣におけるGFAPおよびNR2B抗原の発現

小脳失調型橋本脳症の臨床免疫学的検討と自己抗体によるプロテオーム変化の解析

研究協力者 米田 誠¹⁾

共同研究者 松永晶子¹⁾、井川正道¹⁾、藤井明弘¹⁾、栗山 勝²⁾

研究要旨

これまでに我々は、橋本脳症患者血清中に、 α -enolase の NH₂ 末端に対する自己抗体 (抗 NAE 抗体) が特異的に存在し、血清診断の有用なマーカーとなることを報告してきた。また、国内外の多施設橋本脳症の臨床・免疫学的検討を行い、橋本脳症の約 1 割を小脳失調型が占めることが明らかとなった。慢性の失調症状を呈し、甲状腺機能や髄液所見が正常で、脊髄小脳変性症が疑われる症例であっても、特に眼振を欠き、脳波の徐波化を伴い、頭部 MRI で小脳の萎縮が乏しい場合は、治療可能な橋本脳症の可能性も念頭に置く必要があると考えられた。

また、抗 NAE 抗体陽性小脳失調型橋本脳症の血清をヒト由来培養細胞に添加したところ、エネルギー代謝に関わる酵素が有意に減少し、脳内の細胞の機能異常を来たす可能性が示唆された。

研究目的

我々は、橋本脳症患者では、急性脳症型を呈する症例が半数以上を占めることをこれまでに報告してきた。しかし、橋本脳症の臨床像は多彩であり、小脳失調症状を主徴とする病型も約 1 割存在する。そこで、小脳失調型橋本脳症の臨床・免疫学的特徴を検討した。

また、抗 NAE 抗体を含む血清添加による培養細胞のプロテオーム変化を解析した。

研究方法

1. 対象症例

小脳失調症状を主徴とし、抗甲状腺抗体が陽性、ステロイドなどの免疫療法に対する反応性を有し、橋本脳症と診断された多施設 10 例 (自験例 1 例) を対象とした。また、いずれも他の失調をきたすような原因が除外されており、小脳失調の遺伝歴がないものを対象とした。

2. 方法

免疫プロット: NH₂ 末端側の α -enolase (NAE) (1-157 アミノ酸) cDNA をヒト由来培養細胞 (HEK293) に導入し組み換え蛋白として精製、免疫プロットにより血清中の自己抗体の有無を検討した。

臨床像の解析: 発症様式、自己免疫性甲状腺疾患の既往、臨床徴候 (小脳症状 [眼振、構音障害、四肢・体幹失調]、意識障害、痙攣、認知症、精神症状、不随意運動)、検査所見 (甲状腺機能、脳脊髄液、脳波)、頭部 MRI、脳血流シンチ、免疫療法に対する治療反応性等について検討した。

血清添加によるプロテオーム変化の解析:

ヒト由来培養細胞に抗 NAE 抗体陽性の小脳失調型橋本脳症血清と対照血清を 24 時間添加し、それぞれ蛋白質を抽出し、プロテオーム変化を蛍光標識二次元ディファレンス電気泳動、MALDI-TOF MS 法にて解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は福井大学の倫理委員会において承認を受け、患者本人への十分な説明を行い、文書での

1) 福井大学医学部第二内科 (神経内科)

2) 脳神経センター 大田記念病院

同意を得ている。個人の情報の保護に留意し、プライバシー保護には十分に配慮した。

研究結果

1. 小脳失調型の臨床・免疫学的特徴の解析

抗 NAE 抗体陽性例が 5 例、陰性例が 5 例。平均年齢は、51 歳/59 歳（以下、陽性群/陰性群の順）、男女比 1 : 4/3 : 2 であった。

甲状腺機能は正常 3 例/5 例と正常例が多く、橋本病の既往 3 例/1 例。また、抗 GAD 抗体、抗グリアジン抗体はいずれも陰性であった。

発症様式は、亜急性 1 例/2 例、慢性 4 例/3 例と慢性に経過している症例が半数以上を占めた。

小脳症状は、眼振 0 例/2 例、構音障害 3 例/3 例、体幹失調 全例/全例、四肢失調 2 例/4 例。失調以外の症状は、軽度意識障害 1 例/0 例、痙攣無し、軽度認知機能低下・精神症状 3 例/1 例、不随意運動 1 例/1 例。

脳波で基礎波の徐波化 3 例/1 例、髄液中蛋白上昇 0 例/1 例であった。頭部 MRI は、陽性例では 4 例で小脳萎縮なく正常、陰性例では 2 例で小脳萎縮を認めなかった。脳血流シンチで小脳の血流低下を認めたものは 0 例/3 例であった。

治療反応性は、著効 3 例/0 例、中等度効果 0 例/3 例、軽度効果 2 例/1 例であり、治療内容はステロイドパルス療法、経ロプレドニゾン、大量免疫グロブリン静注療法、免疫抑制剤などが使用されていた。

2. 血清添加によるプロテオーム変化の解析

抗 NAE 抗体陽性の小脳失調型橋本脳症血清を添加したプロテオームが、対照血清添加したものよりも有意に減少しているスポットが存在し、そのスポットから質量分析を行ったところ、methylcrotonoyl CoA carboxylase というロイシン代謝、エネルギー代謝に関与す

る酵素蛋白の有意な減少が認められた。

考察および結論

1. 小脳失調型橋本脳症の特徴

①体幹失調が主徴、②眼振を欠く、③頭部 MRI で小脳萎縮に乏しい。

2. 抗 NAE 抗体陽性小脳失調型橋本脳症の特徴

①眼振を欠く、②軽度の認知症・精神症状を伴う、③脳波の徐波化、④頭部 MRI で小脳萎縮に乏しい、⑤脳血流シンチで小脳血流低下に乏しい。

3. 脊髄小脳変性症との共通所見

①慢性の失調症状、②甲状腺機能正常、③髄液蛋白正常。

4. エネルギー代謝に関わる酵素が、抗 NAE 抗体陽性血清の培養細胞への添加により有意に減少し、脳内の細胞の機能異常を来す可能性が示唆された。しかし、1 例のみの検討であり、症例数を増やした検討や代謝産物の変化を確認する必要がある。また、今回は、HEK293 を用いて実験を行ったが、今後は血管内皮細胞や神経細胞などを用いた検討の必要がある。

（謝辞）橋本脳症患者の抗体の解析の機会を頂き、臨床徴候の情報提供を頂いた多施設の先生方に感謝致します。

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

抗神経抗体のシナプス伝達に対する作用

研究分担者 水澤英洋¹⁾

共同研究者 三苫 博²⁾、斎藤文仁³⁾、鈴木秀典³⁾、米田 誠⁴⁾、石橋 哲¹⁾

研究要旨

小脳失調を示した橋本脳症 6 例の髄液の、ラット小脳のシナプス伝達に対する作用を、スライスパッチクランプ法で検討した。対照例では、1Hz30 発の連続刺激を行うと、興奮性シナプス電流の振幅が増大する促進現象が起きるが、髄液でスライス標本を前処理した所、1 例において、興奮性シナプスの促進現象が消失していた。この結果は、橋本脳症の病因が多様であり、一部の症例においては、小脳興奮性シナプスのグルタミン酸放出機構に障害が起きていることが小脳失調の原因になっている可能性を示唆する。

A. 研究目的

免疫的な機序によって発症する非腫瘍性（自己免疫性）の免疫性小脳疾患は、出現する抗体の種類によって、抗 GAD 抗体陽性小脳失調症、抗グリアジン抗体陽性小脳失調症、橋本脳症が知られている。我々はシステム生理学的な解析手法を導入して、1) 脊髄小脳変性症では小脳フィードフォワード制御機能が喪失しているのに対して、自己免疫性小脳疾患では、小脳フィードフォワード制御機能が不正確ながら保たれていること、さらに、2) この差異は、障害の重症度では説明できないこと、

を見出した（図 1）。この結果は、機能的な障害によって自己免疫性小脳疾患が発症している可能性を示唆する。

一方、我々は、抗 GAD 抗体が小脳抑制性シナプス伝達を阻害することを明らかにし、抗 GAD 抗体によるシナプス伝達の障害が小脳失調の原因である可能性を提唱してきた。この考えは、患者髄液をラット小脳に注入すると小脳機能が障害されたという *passive transfer* 実験によって、現在支持されている。

そこで今回は、機能障害の原因になりうるシナプス伝達の阻害が、小脳失調を呈する橋本脳症で起きているかどうかを検討した。

- 1) 東京医科歯科大学大学院 神経脳機能病態
- 2) 東京医科大学 医学教育学
- 3) 日本医科大学 薬理学
- 4) 福井大学医学部 病態制御医学内科学 2

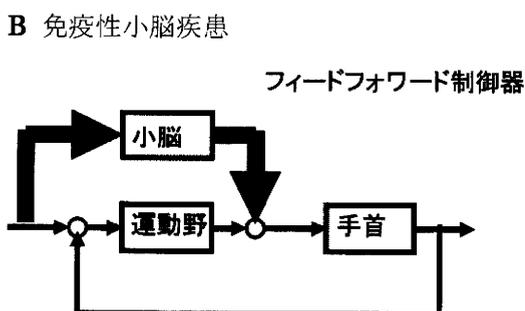
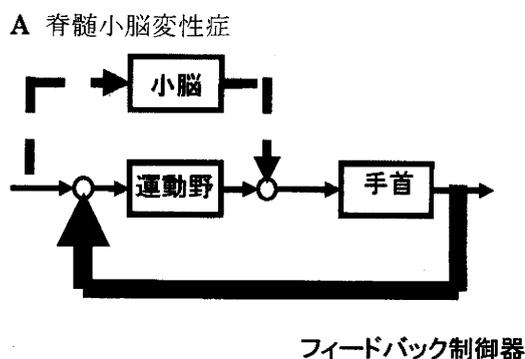


図1 脊髄小脳変性症 (A) と免疫性小脳疾患 (B) における、指標追跡運動の制御様式の差

B.研究方法

1 解析方法

日齢 14 日前後のラットから、200 μm の小脳スライス標本を作製し、スライスインプッチクランプ法による電気生理学的な解析を行った。すなわち、スライス標本を人工脳脊髄液で灌流しながら、顕微鏡下にプルキンエ細胞から whole-cell voltage clamp 法で記録を行い、周囲をガラス電極で微小刺激をして、平行線維からの興奮性シナプス電流を誘発した。

あらかじめ、100 倍に希釈した患者髄液中に、スライス標本を 1 時間プレインキュベーションし、対照群との興奮性シナプス電流の差を比較検討した。ラットは、2 個体を用い、それぞれにおいて、最低 9 例ずつの記録を行

った。

2 症例

各施設から福井大学に送られた検体のうち 6 例について解析した (表)。いずれの症例も、抗甲状腺抗体陽性で小脳失調を示し、ステロイドの効果が認められた。実験はブラインドで行い、検者には患者情報が実験後に知られるようにした。

(倫理面への配慮) 被験者からインフォームドコンセントを得た上で、日本医科大学の倫理委員会の承認を得た。

C.研究結果

平行線維からの興奮性シナプス電流 (EPSC) は 2 発刺激を行うと、対照では 1 発目よりも 2 発目が大きくなる促進現象が認められる (図 2)。そこで、この振幅の比 $S2/S1$ (2 発目の EPSC の振幅の、1 発目の EPSC の振幅に対する比) を検討した。

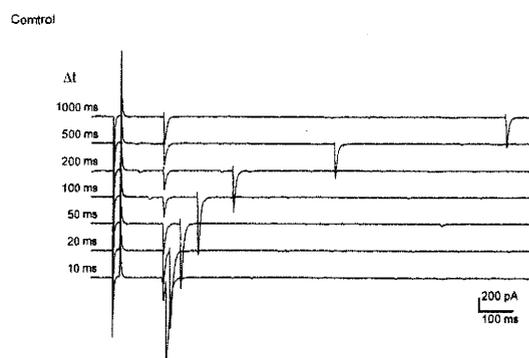


図 2 平行線維シナプスで認められる促進現象。2 発刺激を行うと、2 発目の EPSC の振幅が増大している。

橋本脳症の 6 例の中では、1 例において (#