

分担研究者：慶應義塾大学  
鈴木則宏

1. 研究目的

重症筋無力症 (MG) や炎症性筋疾患における自己抗体とその臨床的意義の追究

2. 研究方法

アイソトープラベルした横紋筋細胞 (RD) 抽出液蛋白と RNA を抗原とする免疫沈降法により自己抗体を同定している。抗 Kv1.4 抗体や抗 SRP 抗体などの自己抗原を検出し、また未知の自己抗体の同定も可能である。

(倫理面での配慮)

当院ならびに共同研究の施設でも倫理委員会の承認を得ており、検体や患者情報の管理には十分な配慮を行っている。

3. 研究結果および考察

抗 Kv1.4 抗体は MG における重症度、重篤な合併症である心臓病変、カルシニューリン阻害薬の効果判定、胸腺腫関連 MG における長期予後など臨床的意義を明らかにした。

4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

研究成果はすでに英文で報告し、抗 Kv1.4 抗体の認知度は海外でも認知され、Lancet Neurology の総説でも取り上げられた。また抗 SRP 抗体陽性ミオパチーの病型分類を提唱した。検体依頼を多くの施設から受けており、実地の臨床現場にもその成果を還元している。

5. 今後の展望

炎症性筋疾患の自己抗体測定システムを

確立し、今後は筋病理との関連性や多彩な臨床的意義を明確にしていく。

6. 結論

免疫沈降法による自己抗体測定は重要な臨床的意義を有している。

7. 研究発表

(1) 国内

口頭発表：32 件

原著論文による発表：2 件

それ以外：9 件

そのうち主なもの

論文発表

1) 越川翠、菅野義彦、鈴木重明、此枝史枝、川平洋輔、平林則行、又吉徹、鈴木則宏、吉田理、林松彦：新鮮凍結血漿を用いた血漿交換療法により著明な血圧低下を含む合併症を呈した 3 例。日本アフェレーシス学会雑誌 32(3)：218-221, 2013.

学会発表

1) 鈴木重明、馬場彰泰、槍澤公明、長根百合子、鈴木則宏：重症筋無力症に検出される抗 Kv1.4 抗体の心筋に対する影響。第 23 回日本神経免疫学会学術集会、2011(9)東京「ワークショップ 11 重症筋無力症」

2) 鈴木重明、槍澤公明、長根百合子、鈴木則宏：胸腺腫関連重症筋無力症の長期経過における抗 Kv1.4 抗体の意義。第 29 回日本神経治療学会総会、2011(11)福井

3) 逢坂麻由子、鈴木重明、高橋慎一、鈴木則宏：重症筋無力症に合併する甲状腺眼症の臨床像。第 31 日本神経治療学会総会、

2013(11)東京

(2) 国外

口頭発表 : 13 件

原著論文による発表 : 15 件

それ以外 : 2 件

そのうち主なもの

論文発表

- 1) Suzuki S, Utsugisawa K, Nagane Y, Sato T, Kuwana M, Suzuki N: Clinical and immunological differences between early and late-onset myasthenia gravis in Japan. *J Neuroimmunol* 230: 148-152, 2011
- 2) Nagane Y, Utsugisawa K, Suzuki S, Masuda M, Shimizu Y, Utsumi H, Uchiyama S, Suzuki N: Topical naphazoline in the treatment of myasthenic blepharoptosis. *Muscle Nerve* 44: 41-44, 2011
- 3) Suzuki S, Utsugisawa K, Nagane Y, Suzuki N: Three types of striational antibodies in myasthenia gravis (review). *Autoimmune Dis*, 740583, 2011
- 4) Suzuki S, Utsugisawa K, Iwasa K, Satoh T, Nagane Y, Yoshikawa H, Kuwana M, Suzuki N: Autoimmunity to endoplasmic reticulum chaperone GRP94 in myasthenia gravis. *J Neuroimmunol* 237: 87-92, 2011
- 5) Suzuki S, Hayashi YK, Kuwana M, Tsuburaya R, Suzuki N, Nishino I: Myopathy associated with antibodies to signal recognition particle: disease progression and neurological outcome. *Arch Neurol*, 69: 728-732, 2012

- 6) Suzuki S, Utsugisawa K, Suzuki N: Overlooked non-motor symptoms in myasthenia gravis (review). *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 84: 989-994, 2013
- 7) Suzuki S, Nishimoto T, Kohno M, Utsugisawa K, Nagane Y, Kuwana M, Suzuki N: Clinical and immunological predictors of prognosis for Japanese patients with thymoma-associated myasthenia gravis. *J Neuroimmunol* 258: 61-66, 2013
- 8) Suzuki S, Baba A, Kaida K, Utsugisawa K, Kita Y, Tsugawa J, Ogawa G, Nagane Y, Kuwana M, Suzuki N: Cardiac involvements in myasthenia gravis associated with anti-Kv1.4 antibodies. *Eur J Neurol* 21: 223-230, 2014

学会発表

- 1) Suzuki S, Hayashi YK, Kuwana M, Tsuburaya R, Suzuki N, Nishino I: Myopathy associated with antibodies to signal recognition particle: disease progression and neurological outcome. 64th Annual Meeting of the American Academy of Neurology 2012(4) New Orleans
- 2) Suzuki S, K. Utsugisawa, Y. Nagane, Suzuki N: Clinical and immunological predictors of prognosis for Japanese patients with thymoma-associated myasthenia gravis. The 21st World Congress of Neurology 2013(9) Wien.

8. 知的所有研の出願・取得状況  
特になし。

分担研究者:所属施設 名古屋大学環境医学研究所 神経免疫  
氏名 錫村 明生

## 1. 研究目的

多発性硬化症(MS)の発症機序を探索し、治療法を開発する。

## 2. 研究方法

1) 多発性硬化症に対する新規経口治療薬 FTY720 (fingolimod) の中枢神経系における作用の検討:FTY720 (fingolimod) は、スフィンゴシン 1-リン酸 (S1P) 受容体へ作用し、二次リンパ組織からのリンパ球の移出を抑制し、副次的に自己反応性 T 細胞の中枢神経系への浸潤を抑制することにより、多発性硬化症の再発抑制効果を発現すると考えられている。中枢神経系細胞への薬理作用として、これまで動物実験などでの検討により、オリゴデンドロサイトやアストロサイトへの直接作用について報告されているが、それ以外の中枢神経系細胞についての検討は乏しい。23-25 年度は、マウス初代培養を用いて、ミクログリアおよびニューロンに対する FTY720 の直接作用について以下の検討を行った。

(1) ミクログリアにおける S1P 受容体の発現を RT-PCR とフローサイトメトリーで評価した。リポ多糖で活性化させたミクログリアへ FTY720 を投与し、炎症性サイトカインおよび神経栄養因子の発現を RT-PCR、ELISA および Western Blotting で評価した。(2) ニューロンにおける S1P 受容体の発現を RT-PCR、免疫染色および Western Blotting で評価した。さらに、ニューロンへ FTY720 を投与し、神経栄養因子の発現を RT-PCR、ELISA および Western Blotting で評価した。(3) 神経細胞傷害に対する FTY720 の抑制効果を検討した。

2) 多発性硬化症の病態発現における GM-CSF の役割:GM-CSF は骨髄の顆粒球やマクローファージ前駆細胞の増殖を促進するサイトカインである。GM-CSF は主に活性化 T 細胞から産生される。GM-CSF ノックアウトマウスへの MOG 感作や GM-CSF ノックアウトマウス由来の MOG 反応性 CD4 陽性 T 細胞のナイーブマウスへの養子移入は、ともに EAE を誘導しないことが報告されている。したがって、GM-CSF が EAE の病態発現に重要な役割を果たすと考えられるが、その機序に関しては不明な点が多い。我々はこれまでに、中枢神経系における主な GM-CSF 受容体発現細胞がミクログリアであり、GM-CSF がミクログリアの抗原提示関連分子や貪食関連因子 MFG-E8 の発現増強を来すことを明らかとした。さらに、本研究では、GM-CSF を介したミクログリアの神経傷害作用への影響について検討した。

(倫理面への配慮)

動物実験については当大学動物実験委員会により承認を受けた。

### 3. 研究結果および考察

1) FTY720 受容体である S1P 受容体はリンパ球のみならず、ミクログリアおよびニューロンにもあり、FTY720 は神経細胞由来の神経栄養因子の産生を高め、直接的に神経保護作用を発揮するほか、ミクログリアの神経傷害因子を抑制することにより神経保護作用を有することが明らかとなった。

FTY720 は、多発性硬化症における神経傷害のみならず、アルツハイマー病をはじめとする神経変性に対しても有効な経口治療薬となる可能性が示唆された。

2) GM-CSF はミクログリアによる CD11c、MHC class II、CD80、CD86 の発現、IL-6、CCL-2 の産生、アポトーシス細胞の貪食に関与する Milk fat globular protein EGF-8 (MFG-E8) の発現を誘導した。しかし、同じくアポトーシス細胞の貪食に関与する T-cell immunoglobulin domain and mucin domain (Tim-4) の発現は誘導せず、むしろ GM-CSF は IFN- $\gamma$ により誘導された Tim-4 の発現を抑制した。また、GM-CSF は classical PKC や NADPH oxidase 依存的に reactive oxygen species (ROS) の産生を誘導した。このことから、GM-CSF は中枢神経系内でミクログリアに作用し、抗原提示細胞の分化を誘導し、T 細胞を活性化するのみならず、ROS の産生増強を介して、神経細胞傷害を生じ、induction phase と effector phase の二相性に EAE の病態発現に寄与していると考えられた。

### 4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

上記成果は従来、報告されていないものであり、MS の病態を知る上で重要な知見であると考えられ、投稿し、国際誌に掲載が決定した。

### 5. 今後の展望

FTY720 は MS 治療に現在使用されており、MRI など臨床的検査において、実際に神経傷害、軸索傷害に効果があるか否かを検討する。GM-CSF に関しては、MS の発症機序、神経傷害発現機序双方に関与していることが明らかになったことから、このシグナル分子を解析し、有効な治療法開発につなげたい。

### 6. 結論

現在、MS 治療に用いられている FTY720 が免疫系に対する作用のみならず、神経保護的にも働くことを明らかにした。また、GM-CSF が MS の発症とその神経傷害発現に関与している可能性とその機序を明らかにした。

## 7. 研究発表

### (1) 国内

口頭発表 (13) 件

原著論文による発表 (7) 件

それ以外(レビュー等)による発表 (7) 件

そのうち主なもの

学会発表

1. 藺部佳史、Parajuli Bijay、田端宏充、金 世杰、竹内英之、水野哲也、錫村明生: ミクログリアに対するGM-CSFの役割。第24回日本神経免疫学会学術集会、2012、9月(軽井沢)

### (2) 海外

口頭発表 (7) 件

原著論文による発表 (24) 件

それ以外(レビュー等)による発表 (3) 件

そのうち主なもの

発表論文

1. Parajuli B, Sonobe Y, Horiuchi H, Takeuchi H, Mizuno T, Suzumura A. Oligomeric amyloid  $\beta$  induces IL-1 $\beta$  processing via production of ROS: implication in Alzheimer's disease. *Cell Death Dis.* 2013 Dec 19;4:e975.
2. Suzumura A. Interactions between neurons and microglia during neuroinflammation. In Suzumura A and Ikenaka K eds. *Neuron-Glia Interaction in Neuroinflammation*. Springer, 2013; pp63-73.
3. Hirano K, Ohgomori T, Kobayashi K, Tanaka F, Matsumoto T, Natori T, Matsuyama Y, Uchimura K, Sakamoto K, Takeuchi H, Hirakawa A, Suzumura A, Sobue G, Ishiguro N, Imagama S, Kadomatsu K. Ablation of keratan sulfate accelerates early phase pathogenesis of ALS. *PLoS One.* 2013 Jun 25;8(6):e66969
4. Doi Y, Takeuchi H, Horiuchi H, Hanyu T, Kawanokuchi J, Jin S, Parajuli B, Sonobe Y, Mizuno T, Suzumura A. Fingolimod phosphate attenuates oligomeric amyloid  $\beta$ -induced neurotoxicity via increased brain-derived neurotrophic factor expression in neurons. *PLoS One.* 2013 Apr 12;8(4):e61988
5. Suzumura A. Neuron-microglia interaction in neuroinflammation. *Curr Protein Pept Sci.* 2013 Feb;14(1):16-20.

6. Kobayashi K, Imagama S, Ohgomori T, Hirano K, Uchimura K, Sakamoto K, Hirakawa A, Takeuchi H, Suzumura A, Ishiguro N, Kadomatsu K. Minocycline selectively inhibits M1 polarization of microglia. *Cell Death Dis.* 2013 Mar 7;4:e525.
7. Noda H, Takeuchi H, Mizuno T, Suzumura A. Fingolimod phosphate promotes the neuroprotective effects of microglia. *J Neuroimmunol.* 2013 Mar 15;256(1-2):13-8
8. Parajuli B, Sonobe Y, Kawanokuchi J, Doi Y, Noda M, Takeuchi H, Mizuno T, Suzumura A. GM-CSF increases LPS-induced production of proinflammatory mediators via upregulation of TLR4 and CD14 in murine microglia. *J Neuroinflammation.* 2012 Dec 13;9:268.
9. Ma D, Jin S, Li E, Doi Y, Parajuli B, Noda M, Sonobe Y, Mizuno T, Suzumura A. The neurotoxic effect of astrocytes activated with toll-like receptor ligands. *J Neuroimmunol.* 2013 Jan 15;254(1-2):10-8.
10. Subramanian K, Mohideen SS, Suzumura A, Asai N, Murakumo Y, Takahashi M, Jin S, Zhang L, Huang Z, Ichihara S, Kitoh J, Ichihara G. Exposure to 1-bromopropane induces microglial changes and oxidative stress in the rat cerebellum. *Toxicology.* 2012 Dec 8;302(1):18-24
11. Ma D, Doi Y, Jin S, Li E, Sonobe Y, Takeuchi H, Mizuno T, Suzumura A. TGF- $\beta$  induced by interleukin-34-stimulated microglia regulates microglial proliferation and attenuates oligomeric amyloid  $\beta$  neurotoxicity. *Neurosci Lett.* 2012 Oct 31;529(1):86-91.
12. Li E, Noda M, Doi Y, Parajuli B, Kawanokuchi J, Sonobe Y, Takeuchi H, Mizuno T, Suzumura A. The neuroprotective effects of milk fat globule-EGF factor 8 against oligomeric amyloid  $\beta$  toxicity. *J Neuroinflammation.* 2012 9:148
13. Noda M, Suzumura A. Sweepers in the CNS: Microglial Migration and Phagocytosis in the Alzheimer Disease Pathogenesis. *Int J Alzheimers Dis.* 2012;2012:891087.
14. Sonobe Y, Li H, Jin S, Kishida S, Kadomatsu K, Takeuchi H, Mizuno T, Suzumura A: Midkine inhibits inducible regulatory T cell differentiation by suppressing the development of tolerogenic dendritic cells. *J Immunol* 188(6):2602-11, 2012.
15. Parajuli B, Sonobe Y, Kawanokuchi J, Doi Y, Noda M, Takeuchi H, Mizuno T, Suzumura A: Immunoglobulin G<sub>1</sub> immune complex upregulates interferon-gamma induced nitric oxide production via ERK1/2 activation in murine microglia. *J Neuroimmunol* 244(1-2):57-62, 2012.
16. Takeuchi H, Mizoguchi H, Doi Y, Jin S, Noda M, Liang J, Li H, Zhou Y, Mori R, Yasuoka S, Li E, Parajuli B, Kawanokuchi J, Sonobe Y, Sato J, Yamanaka K, Sobue G, Mizuno T, Suzumura A. Blockade of gap junction hemichannel suppresses disease progression in mouse models of amyotrophic lateral sclerosis and Alzheimer's disease. *PLoS One.* 6(6):e21108. Epub 2011 Jun 21, 2011;
17. Li H, Sonobe Y, Tabata H, Liang J, Jin S, Doi Y, Kawanokuchi J, Takeuchi H, Mizuno T and Suzumura A. Tumor necrosis factor- $\alpha$  promotes granulocyte-macrophage colony-stimulating

factor-stimulated microglia to differentiate into competent dendritic cell-like antigen-presenting cells. Clin Exp Neuroimmunol. 2: 1-11, 2011.

18. Yasuoka S, Kawanokuchi J, Parajuli B, Jin S, Doi Y, Noda M, Sonobe Y, Takeuchi H, Mizuno T, Suzumura A., Production and functions of IL-33 in the central nervous system. Brain Res. 2011 Feb 22.
19. Zhou Y, Sonobe Y, Akahori T, Jin S, Kawanokuchi J, Noda M, Iwakura Y, Mizuno T, Suzumura A., IL-9 Promotes Th17 Cell Migration into the Central Nervous System via CC Chemokine Ligand-20 Produced by Astrocytes. J Immunol. 186(7):4415-21, 2011.

#### 8. 知的所有権の出願・取得状況

##### (1) 特許取得

なし

##### (2) 実用新案登録

なし

##### (3) その他      なし

研究分担者：所属施設 帝京大学医学部神経内科  
氏名 園生雅弘

## 重症筋無力症とその診断法に関する研究

### 1. 研究目的

重症筋無力症の診断には神経反復刺激試験 (RNS)、単線維筋電図 (SFEMG) などの生理検査が広く用いられているが、その臨床応用にはまだ多くの改善の余地がある。本研究費で、SFEMG の正常値確立に関する問題点、SFEMG の首下がり呈する MG 症例への応用、MuSK 抗体陽性 MG の診断における RNS の有用性などについて検討した。

### 2. 研究方法

#### 研究 1) SFEMG 正常値確立に関する研究

SFEMG 正常値構築のための日本での多施設共同前向き研究 (Japan SFEMG study) における、施設間差を検討した。

#### 研究 2) 首下がり呈した重症筋無力症についての研究

当施設で経験した首下がり症例について原因疾患を検討し、その多くを占めた、重症筋無力症と考えられた症例について、臨床特徴と板状筋 SFEMG の有用性を検討した。

#### 研究 3) MuSK 抗体陽性 MG における RNS についての研究

MuSK 抗体陽性 MG 6 例と Ach 受容体抗体陽性 MG 25 例とを、小指外転筋、総指伸筋、僧帽筋、三角筋、鼻筋の 5 筋の RNS の結果について比較した。

#### (倫理面への配慮)

それぞれの研究において、当該施設での倫理委員会の承認を得た。各被検者には検査の目的と方法を説明して同意を得た。

### 3. 研究結果および考察

#### 研究 1) SFEMG 正常値確立に関する研究

主要 4 施設間での施設間差を検討したが EDC-V においては有意な差がなく、最も信頼で

きるデータと考えられた。

#### 研究 2) 首下がり呈した重症筋無力症についての研究

27 名が抽出され、原因疾患としては、MG と考えた症例が 12 例と最多であった。MG 或は MG with PD と診断した 14 例では、板状筋で通常の針筋電図検査で安静時活動が乏しいのに、単線維筋電図で強い jitter や blocking がみられた。

#### 研究 3) MuSK 抗体陽性 MG における RNS についての研究

MuSK 抗体陽性 MG は AchR 抗体陽性 MG に比較して、鼻筋の RNS の異常が際立って強かった。MuSK index =  $Nas - (Trap + Del) / 2$  を定義し、カットオフ値を 5% に設定することで感度 100%、特異度 81% という良好な結果を得た。

### 4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

本研究が明らかにした、SFEMG の多施設共同研究による正常値、板状筋 SFEMG による MG 診断、RNS からの MuSK 陽性 MG 診断のパラメータなどは、いずれも世界で始めて提案したものであり、これらに基づく MG 患者の正しい診断とそれに基づく正しい治療に貢献するものであって、その学術的社会的意義は大きい。

### 5. 今後の展望

これらの成果を論文化して広く啓蒙するとともに、各検査法をさらに精緻化・発展させたい。

### 6. 結論

1) SFEMG の正常値を構築し、その施設間差によって信頼性を検証した。

2) 首下がり呈する MG の 1 群があり、後頸部板状筋 SFEMG で診断できることを示した。

3) MuSK index を用いれば MuSK 抗体陽性 MG を容易に推測できることを示した。



## GBS に関する研究

### 1. 研究目的

複合筋活動電位 (CMAP) と F 波の中間に出現する A 波は、脱髄との関連を示唆する報告があるが、これまで十分に検討されていない。本研究では Guillain-Barré 症候群 (GBS) における A 波と電気生理学的分類、抗ガングリオシド抗体、遠位潜時の経時変化の関係について検討することを目的とした。

### 2. 研究方法

対象は GBS 30 例、Ho (1995) の基準を用いて AIDP、AMAN、unclassified に分類した。A 波は上肢のピーク 3 個以上のものを「豊富な A 波」と定義し主たる検討対象とした。発症 2 週以前と 3~6 週に分けて、豊富な A 波と電気生理学的分類、抗ガングリオシド抗体、正中神経の遠位潜時の時間的推移との関係を検討した。

#### (倫理面への配慮)

本研究は既に得られているデータについてのもろ向き研究であったが、当該施設での倫理委員会の承認を得た。

### 3. 研究結果および考察

発症 3~6 週における豊富な A 波は、non-AIDP や抗体陽性者では 1 例も認められなかったが、AIDP の 64%、抗体陰性者の 60% で認めた。

正中神経の遠位潜時は A 波を認めなかった群は早期に正常化したのに比し、豊富な A 波を認めた群では進行性の遠位潜時の高度延長を認めた。これは、電気生理学的分類、抗ガングリオシド抗体の有無で分けた場合より明確な対応であった。

### 4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

A 波のこのような性質は、世界で始めて見出されたものであり、これに基づく GBS 患者の正確なタイプ分けとそれに基づく正しい治療ができれば、その学術的社会的意義は大きい。

## 5. 今後の展望

各成果を論文化し、また綜説などでも啓蒙することを通じて、GBS 診療レベルの向上を図って行きたい。

## 6. 結論

A 波は抗体に媒介されない脱髄性障害をより正確に反映する電気生理学的マーカーとして期待される。

## 7. 研究発表

### 1) 国内

口頭発表	6件
原著論文による発表	0件
それ以外（レビュー等）による発表	2件

そのうち主なもの

#### 論文発表

1. 畑中裕己, 園生雅弘: 筋電図・神経伝導検査の基礎シリーズ (検査編): 神経反復刺激試験. 臨床神経生理, 39(3): 169-176, 2011.
2. 園生雅弘: 感覚伝導路を測る: 体性感覚誘発電位 update. Brain Medical, 23(3): 263-269, 2011.

#### 学会発表

1. 川上真吾, 園生雅弘, 角谷彰子, 北國圭一, 岩波知子, 畑中裕己, 内堀歩, 千葉厚郎, 海田賢一, 清水輝夫: Guillain-Barre 症候群における A 波の意義: 電気生理学的分類と抗ガングリオシド抗体との相関. 第 41 回日本臨床神経生理学会学術大会, 静岡, 11, 2011.
2. 角谷彰子, 園生雅弘, 川上真吾, 内堀歩, 清水潤, 千葉厚郎, 木村文彦, 海田賢一: Guillain-Barre 症候群における A 波: 電気生理学的所見・抗ガングリオシド抗体との相関. 第 53 回日本神経学会総会, 東京, 5, 2012.
3. 小川剛, 園生雅弘, 畑中裕己: 首下がりて発症した重症筋無力症 14 例の検討. 第 43 回日本臨床神経生理学会学術大会, 高知, 11, 2013.

### 2) 海外

口頭発表	6件
原著論文による発表	15件
それ以外（レビュー等）による発表	0件

そのうち主なもの

#### 論文発表

1. Kawakami S, Sonoo M, Kadoya A, et al. A-waves in Guillain-Barré syndrome: correlation with electrophysiological subtypes and antiganglioside antibodies. Clin Neurophysiol, 123(6): 1234-1241, 2012.
2. Kokubun N, Sonoo M, Imai T et al. The Japanese SFEMG Study Group: Reference values for voluntary and stimulated single-fiber EMG using concentric needle electrodes: A multi-center prospective study. Clin Neurophysiol, 123(3): 613-620, 2012.

3. Sonoo M, Kokubun N, Imai T, et al. Reply to "Reference values in concentric needle electrode studies". Clin Neurophysiol 2013; 124: 1256-8.

#### 学会発表

1. Kokubun N, Sonoo M, Imai T et al. Japan SFEMG Study Group: Reference values for single-fibre EMG using concentric needle electrodes. XXth International SFEMG and QEMG Course and XIIth QEMG Conference, Istanbul, 6, 2012.
2. Kawakami S, Sonoo M, Kadoya A et al. A-waves in Guillain-Barre syndrome: correlation with electrophysiologic subtypes and antibodies. XXth International SFEMG and QEMG Course and XIIth QEMG Conference, Istanbul, 6, 2012.
3. Sonoo M, Kobayashi M, Kokubun N et al.: How to determine the percentile value in the outlier analysis of quantitative electromyography. 59th annual scientific meeting of American association of neuromuscular and electrodiagnostic medicine, Orlando, 10, 2012.

## 8. 知的所有権の取得状況

特許取得: なし

実用新案登録: なし

研究分担者： 名古屋大学医学部神経内科  
祖父江 元

## 1. 研究目的

- ・ CIDP の治療反応性を規定する病態の解明
- ・ IgG4 関連ニューロパチーの臨床病理学的特徴の検討
- ・ 本邦における封入体筋炎の臨床的特徴の検討

## 2. 研究方法

### <CIDP>

CIDP 患者の治療反応性別の臨床・電気生理学的特徴を解析するとともに、患者 DNA サンプルより、軸索および髄鞘の構成分子を標的に一塩基多型 (SNPs) 解析を実施し、治療反応性への関与が示唆される transient axonal glycoprotein-1 (TAG-1) をノックアウトしたマウスモデルに実験的自己免疫性末梢神経炎 (EAN) を誘導し、ヒト CIDP の治療反応性と関連する軸索障害の顕在化が誘導できるかを検証。

### <IgG4 関連ニューロパチー>

血清 IgG4 高値かつ同抗体が病変部腓腹神経生検標本に検出されたニューロパチー患者の臨床病理学的特徴を解析。

### <封入体筋炎>

当施設で神経生検による診断を行った 73 症例の発症年齢と年次別の有病数の変化を検討。

## 3. 研究結果および考察

### <CIDP>

ヒト DNA サンプルを用いた SNPs 解析から、TAG-1 の特異的なハプロタイプ・ディプロタイプが治療反応性に相関することを確認するとともに、TAG-1 ノックアウトマウスにおける EAN 誘導により、筋萎縮ならびに軸索障害が顕在化することを明らかにした。

### <IgG4 関連ニューロパチー>

IgG4 関連ニューロパチーは高度の疼痛性ニューロパチーの臨床像を呈し、神経病理学的特徴として、中等度の有髄線維脱落を伴う軸索変性と神経周膜周囲の形質細胞における IgG4 の存在が明らかとなった。疼痛および IgG4 値はステロイドの経口投与により比較的速やかに反応するものの、ステロイド減量とともに再増悪を示し、依存性が示唆された。

### <封入体筋炎>

2002 年を境として封入体筋炎の有病数を検証した結果、2002 年以前 (10 万人当たり  $3.6 \pm 1.6$ ) より以後 ( $4.9 \pm 3.1$ ) の方で有病率は増加した。ただし年齢補正の結果、これは高齢化社会における年齢階層の変化を反映したものであること、封入体筋炎が比較的高齢発症例が多いことと関連すると考えら

れた。

#### 4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

##### <CIDP>

CIDP の治療抵抗性を規定する要因に宿主における遺伝子多型が関与する可能性が示唆された。さらに軸索 - 髄鞘間の相互作用は再髄鞘化機転に不可欠であること、TAG-1 をはじめとする juxtaparanode の分子群が新たな治療ターゲットとなる可能性が示された。

#### 5. 今後の展望

##### <CIDP>

新たな治療抵抗性 CIDP モデルとして、B7-2 KO による自然発症慢性モデルを導入し、疾患類似性の検証を行う。また従来の TAG-1+EAN モデルとともに免疫グロブリンによる効果を検証するとともに免疫グロブリンが免疫調整に作用する機序の解明を目指す。

#### 6. 結論

##### <CIDP>

CIDP の治療反応性には軸索障害が影響することが明らかとなった。さらに juxtaparanode の分子群は再髄鞘化機序にかかわり、この破綻が二次性の軸索障害を助長し得ることを明らかにした。

##### <IgG4>

新たな免疫性ニューロパチーとして、IgG4 関連ニューロパチーを報告した。

#### 7. 研究発表

##### (1) 国内

口頭発表

30 件

原著論文による発表

1 件

それ以外（レビュー等）による発表

3 件

そのうち主なもの

発表論文

1: 橋本里奈、富田稔、川頭祐一、飯島正博、小池春樹、祖父江元. Crow-Fukase 症候群における髄鞘の形態変化の特徴

学会発表

1: .Pure autonomic neuropathy の臨床病理学的特徴. 小池 春樹, 橋本 里奈, 富田 稔, 川頭 祐一, 飯島 正博, 児矢野 繁, 桃尾 隆之, 湯浅 浩之, 三竹 重久, 東原 真奈, 海田 賢一, 山本 大輔, 久原 真, 下濱 俊, 中江 啓晴, 城倉 健, 祖父江 元: 日本神経学会学術集会 (2012)

2: Crow-Fukase 症候群におけるランビエ絞輪部 Na チャネル異常

橋本 里奈, 富田 稔, 川頭 祐一, 飯島 正博, 小池 春樹, 祖父江 元: 日本神経学会学術集会 (2012)

3: 抗 Myelin-Associated-Glycoprotein(MAG) 抗体陽性 IgM-MGUS ニューロパチーにおける重症度と治療効果に影響する因子

川頭 祐一, 橋本 里奈, 富田 稔, 飯島 正博, 小池 春樹, 祖父江 元: 日本神経学会学術集会 (2012)

4: 高度の神経肥厚を特徴とする慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチーの検討

飯島 正博, 両角 佐織, 小池 春樹, 川頭 祐一, 富田 稔, 橋本 里奈, 大山 健, 祖父江

元：日本末梢神経学会 (2012)

5: CIDP における無髄線維に関連した

Schwann 細胞の形態の検討

小池 春樹, 大山 健, 橋本 里奈, 富田 稔,

川頭 祐一, 飯島 正博, 祖父江 元：日本末

梢神経学会 (2012)

## (2) 海外

口頭発表

7 件

原著論文による発表

17 件

それ以外 (レビュー等) による発表

0 件

そのうち主なもの

発表論文

1: Tomita M, Koike H, Kawagashira Y, Iijima M, Adachi H, Taguchi J, Abe T, Sako K, Tsuji Y, Nakagawa M, Kanda F, Takeda F, Sugawara M, Toyoshima I, Asano N, Sobue G. Clinicopathological features of neuropathy associated with lymphoma. *Brain*. 2013;136:2563-78.

2: Ohyama K, Koike H, Iijima M, Hashimoto R, Tomita M, Kawagashira Y, Satou A, Nakamura S, Sobue G. IgG4-related neuropathy: a case report. *JAMA Neurol*. 2013;70:502-5.

3: Nakanishi H, Koike H, Matsuo K, Tanaka F, Noda T, Fujikake A, Kimura S, Katsuno M, Doyu M, Watanabe H, Sobue G. Demographic features of Japanese patients with sporadic inclusion body myositis: a single-center referral experience. *Intern Med*. 2013;52:333-7.

4: Iijima M, Koike H, Katsuno M, Sobue G.

Polymorphism of transient axonal

glycoprotein-1 in chronic inflammatory

demyelinating polyneuropathy. *J*

*Peripher Nerv Syst*. 2011;16 Suppl 1:52-5.

5: Morozumi S, Koike H, Tomita M,

Kawagashira Y, Iijima M, Katsuno M,

Hattori N, Tanaka F, Sobue G. Spatial

distribution of nerve fiber pathology and

vasculitis in microscopic

polyangiitis-associated neuropathy. *J*

*Neuropathol Exp Neurol*. 2011;70:340-8.

学会発表

1: Ohyama K, Koike H, Iijima M,

Hashimoto R, Kawagashira Y, Satou A,

Nakamura S, Sobue G.

CLINICOPATHOLOGICAL FEATURES OF IGG4-RELATED NEUROPATHY

2: Koike H, Takahashi M, Ohyama K,

Hashimoto R, Kawagashira Y, Iijima M,

Sobue G THE SIGNIFICANCE OF

FOLATE DEFICIENCY IN

PERIPHERAL NEUROPATHY

3: Koike H, Hashimoto R, Tomita M,

Kawagashira Y, Iijima M, Koyano S,

Momoo T, Yuasa H, Mitake S,

Higashihara M, Kaida K, Yamamoto D,

Hisahara S, Shimohama S, Nakae Y,

Johkura K, Vernino S, Tanaka F, Sobue

G. THE SPECTRUM OF

CLINICOPATHOLOGICAL FEATURES IN PURE AUTONOMIC

NEUROPATHY

4: Iijima M, Morozumi S, Koike H,

Hashimoto R, Tomita M, Kawagashira Y,

Tanaka F, Sobue G

CHARACTERISTICS OF  
HYPERTROPHIC FORM OF CHRONIC  
INFLAMMATORY DEMYELINATING  
POLYNEUROPATHY

5: Hashimoto R, Tomita M, Kawagashira Y,  
Iijima M, Koike H, Tanaka F, Sobue G.

ELECTRON MICROSCOPIC FINDINGS  
OF POEMS SYNDROME: ANALYSIS  
OF LONGITUDINAL SECTIONS

6: Iijima M, Koike H, Kawagashira Y,  
Tomita M, Hashimoto R, Tanaka F,  
Sobue G.

GENE EXPRESSION ANALYSIS OF  
BIOPSIED NERVES IN JAPANESE  
CHRONIC INFLAMMATORY  
DEMYELINATING POLYNEUROPATHY  
PATIENTS

7: Koike H, Hashimoto R, Tomita M,  
Kawagashira Y, Iijima M, Tanaka F,  
Sobue G.

DIAGNOSIS OF SPORADIC  
TRANSTHYRETIN  
VAL30MET FAMILIAL AMYLOID  
POLYNEUROPATHY: A PRACTICAL  
ANALYSIS

8. 知的所有権の出願・取得状況（予定を  
含む）

- (1) 特許取得  
なし
- (2) 実用新案登録  
なし
- (3) その他  
なし

研究分担者:所属施設 NHO 宇多野病院多発性硬化症センター

氏名 田中正美

### 1. 研究目的

日本人多発性硬化症(MS)および視神経脊髄炎(NMO)患者の診断と治療を行う上での臨床的な問題点を明らかにするとともに、これらに対する対策を立案することを目的とする。

### 2. 研究方法

当院を受診する患者を対象とし、診療記録の記載を解析した。上記 2 疾患の鑑別上最も重要な血清中抗アクアポリン(AQP)4 抗体測定を全例で施行した。抗 AQP4 抗体測定は金沢医科大学神経内科・総合医学研究所の田中恵子により cell-based assay で行った。

(倫理面への配慮) 臨床研究に当たっては対象となる患者に説明をし、同意書を得た。医療機関外への臨床情報の提供や検体の輸送に当たっては、連結可能な匿名方式を用いて、個人情報の管理を行った。これら情報は 24 時間施錠された部屋で管理を行った。

### 3. 研究発表および考察

前回までの研究で、NMO 患者では失明率が高いことを報告した(J Neurol Neurosurg Psychiatry, 78:990-992, 2007)が、当院で死亡したのは全例が NMO で、主な死因は肺炎であることを明らかにした。このことは早期からのステロイド治療の重要性を物語っている。また、MS との鑑別診断の上では脳 MRI ではなく、脊髄 MRI 所見とともに抗 AQP4 抗体測定が重要であることを示唆する症例報告も行った。

MS に対する Fingolimod 治療が始まり、さまざまな有害事象が目撃されたが、NMO 患者への投与の危険性など使用上の注意点について繰り返して解説した。また、リンパ球数減少により中断しなくても済む方法を開発し、提案した。

### 4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

抗 AQP4 抗体測定の必要性の普及と脊髄 MRI の重要性についてはある程度周知されたと言えるが、紹介患者を診察している限り、MS と NMO の鑑別については未だに充分とはいえないので、今後は広報活動も必要となってくると思われる。NMO へのステロイドの必要性は周知されてきたが、容量がむしろ多すぎる傾向があり、免疫抑制剤の普及も充分とはいえない。治療指針をより明確に提案してゆく必要があるように思われる。

MS に対する Fingolimod 減量療法は他の類似薬剤の国際共同治験法にも影響を与えた。中止しなくとも済む方法として、より多くの患者に治療する機会を提供できるようになったが、減量法への誤解もあるようなので、長期経過も含めて今後も報告してゆく。

## 5. 今後の展望

NMO に対する治療法は年々改良されている。ステロイド内服薬で治療を開始し、早期に Tacrolimus を中心とする免疫抑制剤への切り替えを提案してきたが、より具体的な治療法と成果を公表していきたい。Fingolimod 減量療法の長期経過について報告する。Natalizumab が市販されるようになるので、適応など薬剤の使い方について検討していきたい。

## 6. 結論

## 7. 研究発表

### (1) 国内

原著論文 17 件

総説論文 17 件

#### そのうち主な発表論文

田中正美、内炭弘嗣、田中恵子. 多発性硬化症・視神経脊髄炎患者での頸静脈還流障害の検討。臨床神経 2011;51:430-2.

田中正美、高坂雅之、田原将行、松井 大、田中恵子. 日本人多発性硬化症・視神経脊髄炎患者の死因。神経内科 2011;74:604-6.

田中正美、朴 貴瑛、本山りえ、田中恵子. フィンゴリモドを投与した多発性硬化症患者における末梢血リンパ球の変化-CD62L 陽性細胞の著減-. 神経内科 2012;77:109-13.

大封昌子、木下真幸子、田中恵子、田中正美: 多発性硬化症・視神経脊髄炎日本人患者での脳脊髄液オリゴクローナルバンドの解析。神経内科 2012;77:537-541.

朴 貴瑛、小森美華、田中恵子、田中正美: 多発性硬化症に典型的な脳



MRI 病変を呈した視神経脊髄炎関連疾患。神経内科 2013;78:477-479.

朴 貴瑛、田原将行、田中恵子、田中正美。視神経脊髄炎 (NMO)/NMO spectrum disorder-日本人患者における水平性半盲-。神経内科 2013;78:118-21.

田中正美:新島八重の実兄、山本覚馬の視神経脊髄障害。神経内科 2013;78:609.

田中正美、朴 貴瑛、本山りえ、田中恵子。多発性硬化症へのフィンゴリ  
モド治療-どのように使用するか? 神経内科 2012;76:390-7

田中正美。NMO spectrum について。神経内科 2012;76:531-6.

田中正美、田中恵子:多発性硬化症の治療。日内会誌 2013;102:1971-7.

田中正美:多発性硬化症の発症リスクとしての環境因子-ビタミン D、  
Epstein-Barr ウイルス、喫煙歴に関する最近の疫学研究の進歩-  
神経内科 2013;79:275-84

田中正美:フィンゴリモドの多発性硬化症への治療の進歩-2013 年。神  
経内科 2013;79:400-10.

朴 貴瑛、小森美華、田中恵子、田中正美:多発性硬化症に典型的な脳  
MRI 病変を呈した視神経脊髄炎関連疾患。神経内科 2013;78:477-479.

(2) 海外

原著論文 11 件

総説論文 1 件

そのうち主な発表論文

Masami Tanaka, Masaru Matsui, Masayuki Tahara, Keiko Tanaka: Low  
incidence of asymptomatic contrast-enhancing brain lesions in Japanese  
patients with multiple sclerosis. Eur Neurol 2011; 65:119-122.

Kikuchi H, Mifune N, Niino M, Ohbu S, Kira J, Kohriyama T, Ota K, Tanaka M, Ochi H, Nakane S, Maezawa M, Kikuchi S. Impact and characteristics of quality of life in Japanese patients with multiple sclerosis. *Qual Life Res.* 2011 Feb;20(1):119-31.

Nagaishi A, Takagi M, Umemura A, Tanaka M, Kitagawa Y, Matsui M, Nishizawa M, Sakimura K, Tanaka K. Clinical features of neuromyelitis optica in a large Japanese cohort: comparison between phenotypes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2011 Dec;82(12):1360-4

Komori M, Matsuyama Y, Nirasawa T, Thiele H, Becker M, Alexandrov T, Saida T, Tanaka M, Matsuo H, Tomimoto H, Takahashi R, Tashiro K, Ikegawa M, Kondo T. Proteomic pattern analysis discriminates among multiple sclerosis-related disorders. *Ann Neurol.* 2012 May;71(5):614-23

Nakano H, Tanaka M, Kinoshita M, Tahara M, Matsui M, Tanaka K, Konishi T. Epileptic seizures in Japanese patients with multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *Epilepsy Res.* 2012; 104(1-2):175-80.

Akiko Nagaishi, Takashi Tani, Mineo Takagi, Masami Tanaka, Kenji Sakimura, Makoto Matsui and Keiko Tanaka. Anti-aquaporin 4 antibody binding character in clinical subtypes of neuromyelitis optica. *Clin Exp Neuroimmunol* 2012;3:109-15.

Tanaka M, Park K, Tanaka K. Reduced fingolimod dosage treatment for patients with multiple sclerosis and lymphopenia or neutropenia. *Mult Scler.* 2013;19:1244-5.

Carroll W, Saida T, Kim H, Kira J, Kermode A, Tsai C, Fujihara K, Kusunoki S, Tanaka M, Kim K, Bates D. A guide to facilitate the early treatment of patients with idiopathic demyelinating disease (multiple sclerosis and neuromyelitis optica). *Mult Scler* 2013; 19(10):1371-80.

Kikuchi H, Mifune N, Niino M, Kira JI, Kohriyama T, Ota K, Tanaka M, Ochi H, Nakane S, Kikuchi S. Structural equation modeling of factors contributing to quality of life in Japanese patients with multiple sclerosis. *BMC Neurol.* 2013 Jan 22;13(1):10.

Masami Tanaka, Miki Oono, Rie Motoyama, Keiko Tanaka: Longitudinally extensive spinal cord lesion after initiation and multiple extensive brain lesions after cessation of fingolimod treatment in a patient with recurrent myelitis and anti-aquaporin 4 antibodies. *Clin Exp Neuroimmunol*, 2013;4:239-40.

8. 知的所有権の出願・取得状況

特許取得、実用新案登録なし

分担研究者:所属施設 大阪大学医学部神経内科  
氏名 中辻裕司

## 多発性硬化症(MS)の治療選択 バイオマーカーとしての Sema4A

### 1. 研究目的

再発寛解型多発性硬化症(RRMS)患者の一部では血清中のクラスIVセマフォリン Sema4A が著明高値を示し、この高値群の多くは IFN- $\beta$  治療抵抗性であることを報告した。この結果から Sema4A 高値 MS 患者の治療選択について従来の第一選択治療薬である IFN- $\beta$  療法が適切でないことが考えられる。Sema4A 高値例は IFN- $\beta$  治療抵抗性であることを前向き研究で検証することは増悪が懸念され倫理的に遂行できない。そこで MS のモデル動物 EAE を利用して Sema4A の IFN- $\beta$  治療抵抗性に関する検証と機序を明らかにすることを目的とした。

### 2. 研究方法

・EAE は、C57BL/6 マウスに、MOG ペプチドで免疫誘導した。①コントロール群、②IFN- $\beta$ -1b 治療群、③Sema4A 投与群、④IFN- $\beta$ -1b 治療 + Sema4A 投与群の 4 群に分け検証した。IFN- $\beta$  は免疫時より  $1 \times 10^4$  単位を 10 日目まで隔日に腹腔内投与し、リコンビナント Sema4A を免疫後 0、1、3、5、7、10 日目に静脈内投与した。

・臨床症状の評価と MOG 特異的 T 細胞のサイトカイン産生評価。所属リンパ節より CD4 陽性 T 細胞を採取し IFN- $\gamma$ 、IL-17 産生能を評価した。

・接着アッセイ: マウス血管内皮細胞株 bEnd.3 を Sema4A、IFN- $\beta$  あるいはその両方で刺激し、細胞層上に蛍光ラベルした T 細胞をおき、内皮への接着性を評価した。

(倫理面への配慮)

本研究は大阪大学医学部附属病院臨床研究倫理審査委員会および医学部動物実験委員会の承認の下行われた。

### 3. 研究結果および考察

(1) IFN- $\beta$  治療にて EAE の重症度は軽症化するが、IFN- $\beta$  治療に Sema4A 投与を行うと、IFN- $\beta$  の治療効果が打ち消される、あるいはむしろ症状が増悪し、Sema4A が IFN- $\beta$  の治療効果を打ち消すことが明らかとなった。この結果は Sema4A 高値 MS 患者は IFN- $\beta$  治療抵抗性であることがモデル動物においても確認されたことを意味する。

(2) IFN- $\beta$  治療群では MOG 特異的 T 細胞からの IFN- $\gamma$ 、IL-17 の産生は抑制されるが、Sema4AFc 投与によりその効果は打ち消された。

(3) 血管内皮細胞 bEnd.3 をリコンビナント Sema4A で刺激すると T 細胞の内皮への接着が亢進した。

(2)(3)の結果から Sema4A が IFN- $\beta$  治療抵抗性を惹起する機序として、Sema4A が IFN- $\beta$  存在下でも Th1、Th17 分化を促進することや、細胞接着因子の発現を更新することが推測された。

### 4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

IFN- $\beta$  は MS の第一選択治療薬であるが、その治療効果を予測できるバイオマーカーはこれまで確立したものは無かった。血清 Sema4A が高値の場合 IFN- $\beta$  治療抵抗性である可能性が高く、高値患者には初期から IFN- $\beta$  治療以外の治療法を選択すべきであるという治療選択のバイオマーカーとなる。