

## NMOsd 増悪期に対する治療法の検討

- 1) early combined treatment (ECT)の治療効果 (平成 23 年度)
- 2) ステロイドパルス療法の有効性を予測する因子に関する検討 (平成 24 年度)

## 重症筋無力症における T・B リンパ球サブセットの検討 (平成 25 年度)

研究分担者 埼玉医科大学総合医療センター 神経内科

野村 恭一

共同研究者 久保田 昭洋、深浦 彦彰、田中 覚、古谷 真由美、宮内 敦生、  
石塚 慶太、鈴木 理人、齋藤 あかね、原 渉、成川 真也、田島 孝士、  
伊崎 祥子、小島 美紀、吉田 典史、王子 聡、山里 将瑞、三井 隆男

## 研究要旨

### NMOsd 増悪期に対する治療法の検討 (平成 23 年、24 年報告)

#### 1) early combined treatment (ECT)の治療効果:

NMOsd 増悪期に対して、早期よりステロイドパルス療法 (IVMP) と免疫吸着療法 (IAPP) を併用する早期併用療法 (ECT) を前向きに試み、従来治療である IVMP 療法と比較検討した。ECT は IVMP500mg/日、6 日間連日、第 1, 2, 4 日目に IAPP を IVMP 直前に併用した。治療効果の検討は、治療後 1, 2 週間後における視機能、運動機能、感覚機能、括約筋機能の障害について QOSI (Quantification of optic and spinal cord impairment) スコアを用いて評価した。検討症例数は、ECT 群 4 例、IVMP 群 4 例。ECT 群と IVMP 群の治療前後の QOSI スコアの変動比較では、ECT 群の 2 週間後における運動、感覚機能の改善が IVMP 群に比較して改善傾向を認めた。ECT は NMO 増悪期における新たな治療法となる可能性を示した。

#### 2) ステロイドパルス療法の有効性を予測する因子に関する検討 (平成 24 年):

NMOsd 増悪期における治療の第一選択はステロイドパルス療法 (IVMP) であるが、IVMP の治療効果は症例によって大きく異なる。本研究では NMOsd 増悪期に対する IVMP の治療効果を予測し、ステロイド治療抵抗性症例では早期からの血液浄化療法 (アフエレシス) の施行が可能となるために、ステロイド治療抵抗性の様々な臨床的因子を検討した。IVMP の治療効果の判定には EDSS を用い、治療前、治療後 7 日までににおいて  $\Delta$ EDSS が 0.5 以上を治療反応群 (R-NMOsd)、0.5 未満を治療無反応群 (nonR-NMOsd) に後ろ向きに検討した。臨床的因子として、1) 年齢、2) 性別、3) 再発回数、4) EDSS、5) 病巣部位、6) 他の自己抗体の合併の有無、7) PSL 内服量、8) IVMP 量、9) 増悪から IVMP 開始までの期間 (日)、10) 髄液細胞、11) 髄液蛋白、12) 髄液 LDH、13) IgG ind.

14) 髄液／血清 Alb 比 (QA1b)、15) 髄液／血清 IgG 比 (QIgG) について比較検討した。R-NMOsd10例、nonR-NMOsd11例であり、nonR-NMOsdはR-NMOsdに比較して、EDSS (P<0.05)、髄液蛋白 (P<0.01)、QA1b (P<0.01)、QIgG (P<0.01) であった。Univariate Logistic regression analysis の検討では EDSS、髄液蛋白、QA1b、QIgG (各々、P<0.01) は IVMP 治療抵抗性を有意に説明する変数であった。さらに、Stepwise Logistic regression analysis の検討では QIgG (Odds ratio 4.08, 95% confidence interval (95%CI) [1.356-12.253] が最も治療抵抗性を示す因子であることが示された。QIgG は BBB 破綻を有する NMOsd 増悪期における重症度と IVMP 治療抵抗性の有無を判断するための定量的な指標として有用である。

### 重症筋無力症における T・B リンパ球サブセットの検討 (平成 25 年報告)

我々は従来より末梢血 T リンパ球サブセットの研究を行っており、近年では B リンパ球の分化過程より B リンパ球サブセットを設定、検討を追加している。今回我々は、重症筋無力症を Early-onset・Late-onset・Thymoma-associated (E-L-T) の 3 群に分類し、T リンパ球ならびに B リンパ球サブセットの比較を行った。結果:T リンパ球サブセットの E-L-T 群の多群比較では有意差は認めなかった。B リンパ球サブセットの E-L-T 群の多群比較では、memory B のみにおいて有意差を認めた (E 群 3.8±1.9%、L 群 1.7±0.5%、Thymoma 群 2.4±1.1%)。L 群 vs. E 群、L 群 vs. T 群の比較ではいずれも L 群において明らかな低値を認めた (各々 p<0.05)。他の B リンパ球サブセットの検討では明らかな有意差はなかった。また、Late-onset MG では memory B の低値が病態・発症メカニズムとの関連が示唆された。plasmablast において MG の 11% で高値例を認め、病態との関連性が示唆された。

### 研究目的

Neuromyelitis optica spectrum disorders (NMOsd) に対する治療方針は、増悪期と安定期の治療に分けられる。NMOsd 増悪期に対する治療は、ステロイドパルス療法 (IVMP; intravenous methylprednisolone) と血漿浄化療法 (アフェレシス療法) が主に用いられる。多くの場合では、第一療法として IVMP が行われ、IVMP 治療抵抗性の症例においてアフェレシス療法が施行されている。これまで我々の再発寛解型の多発性硬化症 (RR-MS) と NMO の増悪期の治療経験では、RR-MS では IVMP の治療効果が約 75% において得られ、一方、NMO では IVMP 治療に抵抗性でアフェレシス療

法を要する場合は約 60% と多いことを報告してした。以上のことから、NMOsd 増悪期に対する治療法として、早期から IVMP とアフェレシス療法併用する治療 (early combined treatment: ECT) を前向きに試みている。

今回我々は、NMOsd 増悪期に対する ECT 効果について、従来の IVMP 単独治療と比較し、後ろ向きに検討した。(平成 23 年報告書)

NMOsd 増悪期の治療では、IVMP が第一選択であり、IVMP 治療抵抗性の症例では血漿浄化療法が施行される。IVMP 治療効果は症例によって治療反応性が異なり、その治療効果を予測する因子に関する検討は殆ど行われていない。増悪期の初期において IVMP 治療効果を予

測することは血液浄化療法の必要性を含めた増悪期の治療計画を立てる上で有用である。

今回我々は、NMOsd 増悪期における IVMP 治療効果の有無を早期から予測し、IVMP 治療抵抗性症例での血漿浄化療法を含めた治療の必要性を判断する因子について明らかなることを目的とした（平成 24 年報告書）。

重症筋無力症は、胸腺腫合併 MG は非胸腺腫合併 MG とは病態が異なる。後期発症 MG（Late-onset MG）は、早期発症 MG（Early-onset MG）と比較し、臨床的に違いがあり、Late-onset MG は「抗 Ach-R 抗体の陽性率が高い」、「重症化しやすいが免疫治療に反応性は比較的良好である」との報告がある。以前より B リンパ球は抗体産生機能が言われていたが、近年サイトカインなどを介して T・B リンパ球などの調節機能があることが判明した。その分化過程より B リンパサブセットを測定することが可能となった。

今回我々は、重症筋無力症において末梢血中の T・B リンパ球サブセットを測定し、Early、Late、Thymoma-associated（E-L-T 分類）各群間で比較することで MG の病態、発症メカニズムの相違を検討することを目的として研究を行った（平成 25 年報告書）。

#### 研究方法（平成 23 年報告書）

1. 対象：増悪期 NMOsd 8 例（脊髄炎 8 例）、NMOsd 診断は、血清 AQP4 抗体が陽性、かつ視神経、脊髄のうち少なくとも 1 領域に急性の障害を認めるものとした。

2. 方法：ECT は、IVMP 500mg/日を 6 日間施行し、そのうち第 1, 2, 4 日目に計 3 回の IAPP を IVMP の直前に併用した。IAPP は TR-350 を使用、1 回の血漿処理量は 1,500ml とした。IVMP 治療は、methylprednisolone 500mg/日を計 6 日間、あるいは 1,000mg/日を計 3 日間施行した。治療効果は、IVMP 療法、ECT の施行後 1、2 週間後において神経症候について、視機能、運動機能、感覚機能、括約筋機

能の障害の個々を定量化した。QOSI（quantification of optic and spinal cord impairment）スコアを用いて評価した。IVMP 治療群では治療から 1 週間程度で改善度が、上記のいずれかの項目で 2 点以上の改善が無い場合、IVMP 治療抵抗性と判断し、その後に血液浄化療法（IAPP）を併用した。なお、血清 AQP4 抗体は東北大学、千葉大学で測定した。

#### 研究結果・考案

ECT 群 4 例、IVMP 群 4 例であった。2 群間には再発から治療までの期間、QOSI スコアを含めて ECT 群と IVMP 群の神経症候に差を認めなかった。ECT 群での QOSI スコアの変動検討では、治療前と比較して 2 週間後には運動機能と感覚機能の改善傾向（各々、 $P < 0.07$ ）を認めたが、括約筋機能の明らかな変動を認めなかった。ECT 群と IVMP 群それぞれにおける治療前と比較した 1.2 週間後 QOSI スコアの変動の検討では、治療前と比較した 1 週間後 QOSI スコア、2 週間後 QOSI スコアの差をそれぞれ  $\Delta$  運動機能 1.2 週間、 $\Delta$  感覚機能 1.2 週間、 $\Delta$  括約筋機能 1.2 週間、IVMP 単独と比較して ECT 群では 2 週間後において運動機能、感覚機能が改善する傾向（ $p < 0.08, 0.06$ ）がみられた。括約筋機能にはともに明らかな改善をみなかった。ECT 群と IVMP 群における入院期間の検討では、IVMP 群に比較して ECT 群では有意に入院期間が短縮した。ECT は NMOsd 増悪期における入院期間を短縮する可能性が示された。

現在、NMOsd 増悪期における血液浄化療法の位置づけは、IVMP 治療抵抗性の症例に対する第二選択治療とされるが、ECT は従来の治療方法と比較し、より早期から増悪期の速やかな脱却と重症度の軽減に有用である可能性が示された。

#### 研究方法（平成 24 年報告書）

1. 対象：NMOsd 増悪期 21 例、NMOsd 診断は、

Wingerchuk 診断基準を満たし、かつ血清 AQP4 抗体が陽性である症例とした。

2. 方法：治療方針は IVMP を第一選択とし、IVMP 治療抵抗性症例 (nonR-NMOsd) では血漿浄化を施行する方針とした。治療効果の判定は EDSS の変動を用いて評価した。3.0g 以上の IVMP 治療後 7 日までに於いて  $\Delta$ EDSS が 0.5 以上を治療反応群 (R-NMOsd)、0.5 未満を治療無反応群 (nonR-NMOsd) と定義した。 $\Delta$ EDSS から nonR-NMOsd と R-NMOsd との 2 群に分け、1) 年齢、2) 性別、3) 再発回数、4) EDSS、5) 病巣部位、6) 他の自己抗体の合併の有無、7) PSL 内服量、8) IVMP 量、9) 増悪から IVMP 開始までの期間 (日)、10) 髄液細胞、11) 髄液蛋白、12) 髄液 LDH、13) IgG ind. 14) 髄液/血清 Alb 比 (QA1b)、15) 髄液/血清 IgG 比 (QIgG) について後ろ向きに比較検討した。IVMP 治療効果の予測の検討では、これらの項目を説明変数、IVMP 治療効果の有無を目的変数として解析した。なお、血清髄液は解析から除外した。

## 研究結果・考案

R-NMOsd10 例、nonR-NMOsd11 例であった。2 群間の比較では、nonR-NMOsd は R-NMOsd に比較して、EDSS ( $P<0.05$ )、髄液蛋白 ( $P<0.01$ )、QA1b ( $P<0.01$ )、QIgG ( $P<0.01$ ) であった。さらに、15 項目の各変数と IVMP 治療効果の有無を目的変数、14 変数を説明変数として Univariate Logistic regression analysis を用いて解析した IVMP 治療効果を有意に説明しうる変数として EDSS、髄液蛋白、QA1b、QIgG (各々、 $P<0.05$ ) を示した。これらの 4 変数が nonR-NMOsd に寄与する Odds ratio (OR) [95%CI, p-value] はそれぞれ EDSS 1.539 [1.006-2.353, 0.047]、髄液蛋白 1.188 [1.015-1.390, 0.032]、QA1b 2.008 [1.113-3.623, 0.021]、QIgG 4.076 [1.156-12.253, 0.012] であり、QIgG が最も高値であった。これら 4 項目のうち最も

IVMP 治療効果の有無に関連する変数を multivariate Logistic regression analysis を用いて検索した。EDSS、髄液蛋白、QA1b、QIgG を説明変数とした変数増加法 Stepwise Logistic regression analysis は IVMP 治療抵抗性の有無を説明しうる変数として

QIgG (Odds ratio 4.08, 95% confidence interval (95%CI) [1.356-12.253,  $p=0.012$ ]) が最も関連する因子であることが示された。QIgG は BBB 破綻を有する NMOsd 増悪期における重症度と IVMP 治療抵抗性の有無を判断するための定量的な指標として有用である。

本研究の目的は NMOsd 増悪期に対する IVMP 治療効果の有無を早期から予測する因子を明らかにすることである。NMO の病態は明らかにされていないが、AQP4 抗体、補体をはじめとする液性免疫とリンパ球をはじめとする細胞性免疫が複雑に関与し、その病態を形成すると想定される。

## 研究方法 (平成 25 年報告書)

1. 対象：当科に受診した MG 全 48 名を設定した。それを上記 Early-onset・Late-onset・Thymoma-associated (E-L-T) 各群に分類した。Early は 50 歳未満、Late は 50 歳以上とした。

(E-L-T の順にて) 症例数は 17、18、13 人、発症年齢は  $30.1 \pm 13$ 、 $70.8 \pm 9.1$ 、 $53.5 \pm 14.8$  歳、罹病期間は  $10.4 \pm 9.6$ 、 $2.7 \pm 4.9$ 、 $7.6 \pm 7.0$  年であった。抗 Ach-R 抗体陽性率は 41.2%、77.8%、100% であった。MG-ADL スコアは  $4.1 \pm 2.8$  ( $n=12$ )、 $6.8 \pm 4.8$  ( $n=12$ )、 $5.8 \pm 5.2$  ( $n=9$ ) であった。

2. 測定方法：患者から採取した末梢血約 2ml を用いて、赤血球は除去せずに全血のまま各種リンパ球 (前述の T・B リンパ球サブセットについて) の表面マーカーにつき染色。赤血球を溶血後、BD 社 FACS Canto II を用いて、フローサイトメトリー法にて測定した。(図 2)

3. 測定項目：T リンパ球は、cytotoxic-T、suppressor-T、活性化 CD8、活性化 CD4、

regulatory T、NK 細胞に分けた。さらに、B リンパ球は、transitional B、naive B、memory B、plasmablast の全 10 項目を設定した。

### 研究結果・考案

1) T リンパ球サブセット・NK 細胞の E-L-T 群の多群比較では有意差を認めなかった。

2) B リンパ球サブセットの E-L-T 群の多群比較では、memory B のみにおいて有意差を認めた (E 群  $3.8 \pm 1.9\%$ 、L 群  $1.7 \pm 0.5\%$ 、Thymoma 群  $2.4 \pm 1.1\%$ )。E 群 vs. L 群、L 群 vs. T 群の比較ではいずれも L 群において明らかな低値を認めた。他の B リンパ球サブセットの検討では明らかな有意差は認めなかった。Thymoma 群を除いた E 群と L 群の 2 群において発症年齢と Memory B に逆相関関係を認めた ( $n=35$ ,  $r=-0.58$ ,  $p=0.0002$ )。 (図 4)

3) PB は各 3 群の平均値において有意差を認めなかったが、全 46 例中 5 例 (11%) のみ高値を認めた。

MG の E-L-T 各群における末梢血中の T・B リンパ球サブセットを検討したところ、memory B のみ有意差を認め、Late-onset 群が他群と比較し低値であった。MG における「memory B」の割合は、発症年齢との逆相関を認めた。発症が高齢になるほど低値に収束する結果を得た。Late-onset MG では、「memory B」が低値であることがその発症メカニズムに関連していることが示唆された。今後サイトカインや memory B のさらなる分画などの検討を加えたい。plasmablast は、NMO にて陽性報告がある。当科では AQP4 陽性の NMO/NMOsd の 16 例中 5 例 (40%) で陽性。今回 MG にて 46 例中 5 例 (11%) で陽性を認めた。一部の MG では Plasmablast の病態への関与が示唆された。Late-onset MG は、Memory B が低値であった。病態への関与が示唆された。MG の 11% に plasmablast の高値例が確認された。

健康危険情報 なし

### 研究発表

#### 1)国内

口頭発表 (78) 件  
原著論文による発表 (31) 件  
それ以外(レビュー等)による発表 (1) 件

そのうち主なもの

#### 論文発表

1. 野村恭一. MS におけるインターフェロン  $\beta$  治療の有効性を再考する。MS Frontier 2:47-51,2013.

2. 野村恭一. 【免疫性神経疾患・基礎・臨床研究の最新知見・】 視神経脊髄炎(NMO) NMO の治療戦略(解説/特集)・日本臨床 71:829-838,2013.

3. 野村恭一. ギラン・バレー症候群、フィッシャー症候群診療ガイドライン作成委員会. ギラン・バレー症候群、フィッシャー症候群 診療ガイドライン 2013. 日本神経学会 監修、治療総論、82-92.

4. 野村恭一. ギラン・バレー症候群、フィッシャー症候群診療ガイドライン作成委員会、ギラン・バレー症候群、フィッシャー症候群 診療ガイドライン 2013. 日本神経学会 監修、血漿浄化療法、93-110.

5. 野村恭一. ギラン・バレー症候群、フィッシャー症候群診療ガイドライン作成委員会、ギラン・バレー症候群、フィッシャー症候群 診療ガイドライン 2013. 日本神経学会 監修、経静脈的免疫グロブリン療法、111-121.

6. 野村恭一. 多発性硬化症とアフエレスス 日本アフエレスス学会誌 2013;32(3):162-169.

7. 野村恭一. GBS と CIDP: New standards. 治療とリハビリテーション

Clinical Neuroscience 2014; 32(3): 印刷中

8. 野村恭一. MS と NMO の急性増悪期の最新治療、多発性硬化症 (MS) と視神経脊髄炎 (NMO) の最新情報. Pharma Medica 2013; 31(6); 37-45.

9. 三井隆男、野村恭一. Guillain-Barre 症候

群. 神経・筋疾患の病態と診断・治療 (III). 医学と薬学 2012;68(3);413-420.

10. 野村恭一. 神経症候群 Churg-Strauss 症候群、好酸球性多発血管炎肉芽腫症、アレルギー性肉芽腫性血管炎. 2013;26 日本臨牀

11. 野村恭一. 血液浄化療法 (アフエレス療法), 今日の神経疾患 治療指針 第2版 編集水澤英洋ら 医学書院 東京 pp193-198, 2013

12. 伊崎 祥子, 成川 真也, 久保田 昭洋, 三井隆男, 深浦 彦彰, 野村 恭一. フィンゴリモド投与 10 日後に多巣性白質病変を呈し急性増悪を示した視神経脊髄炎関連疾患(NMOSD)の 1 例. 臨床神経学 2013;53(7);513-517

13. 伊崎祥子、田中 覚、斎藤あかね、田島孝士、深浦彦彰、中道一生、野村恭一. CD4+リンパ球減少症の関連が示唆された小脳脳幹型の進行性多巣性白質脳症の 1 例. 臨床神経 2014 投稿中

14. 王子 聡, 石塚 慶太, 成川 真也, 吉田 典史, 三井 隆男, 高木 大輔, 山田 拓己, 野村 恭一. 四肢脱力と排尿障害で発症した Guillain-Barre 症候群 66 歳男性例. 末梢神経 2012;23(2);351-352.

15. 久保田 昭洋、田島 孝士、成川 真也、山里 将瑞、深浦 彦彰、高橋 幸利、田中 恵子、清水 潤、野村 恭一. 短期記憶障害を呈し抗 Ma2 抗体、抗 NMDAR 抗体、抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体陽性で、後に精巣腫瘍をみとめた傍腫瘍性辺縁系脳炎の 1 例. 臨床神経学 2012;52(9);666-671

16. 野村恭一. ギラン・バレー症候群のアフエレス治療の概要。日本医事新報 2012;4586:56-58

17. 野村恭一. 神経筋疾患の血液浄化療法, 今日の治療指針 Vol.54 2012, 総編集 山口 徹ら, 医学書院 東京 p749-750, 2012

18. 野村恭一. 多発性硬化症の治療として注射療法, 経口薬療法どちらを選択する. 臨床のあゆみ. 2012;90:16-17.

19. 野村恭一. 神経筋疾患の血漿浄化療法. 今

日の治療指針. 医学書院, 東京. pp749-750, 2012.

20. 富岳 亮, 野村恭一, 森 雅裕ら. Tacrolimus の併用により再発抑制と抗 AQP-4 抗体値の低下を認めた Neuromyelitis optica の 1 例 - 1 症例の 20 年間の治療経験から -. 神経治療学. 2011 ; 28(3): 279-282.

21. 野村恭一. Churg-Strauss 症候群と免疫グロブリン療法. 神経内科 74:372-382, 2011.

#### 学会発表

1. 野村恭一. 教育講演: Guillain -Barre 症候群 Up to Date 第 25 回日本神経免疫学会学術集会 (2013 年 11 月 29 日、下関)

2. 野村恭一. シンポジウム:アフエレスの適応 第 34 回日本アフエレス学会学術大会 (2013 年 11 月 1-3 日、軽井沢)

3. 野村恭一. 教育講演: Guillain -Barre 症候群: Up to Date, 2013 GBS ガイドライン 2013: 免疫グロブリン療法の最新知見 第 25 回日本神経免疫学会学術集会 (2013 年 11 月 29 日、下関) 神経免疫学 2013: 18(1); 86.

4. 成川真也、三井隆男、吉田典史、王子 聡、野村恭一. Charcot-Marie-Tooth 病 1 A 型と CIDP の横隔神経 M 波の検討. 第 24 回日本末梢神経学会学術集会 (2013 年 8 月 24 日、新潟)

5. 田中 覚、伊崎祥子、斎藤あかね、田島孝士、深浦彦彰、野村恭一. 非 HIV の小脳脳幹型進行性多巣性白質脳症を呈し、Mefloquine が効果を示した 77 歳女性例. 第 31 回日本神経治療学会総会 (2013 年 11 月 21-24 日、東京)

6. 小島美紀、野村恭一. 重症筋無力症クリーゼにたこつぼ型心筋症を呈した 79 歳女性例. 第 2 回東京西部神経免疫フォーラム (2013 年 7 月 25 日、立川)

7. 田島孝士、伊崎祥子、石塚慶太、遠藤綾亮、鈴木理人、齋藤あかね、久保田昭洋、原渉、成川真也、小島美紀、吉田典史、王子聡、山里将瑞、三井隆男、深浦彦彰、野村恭一. S1P 受容体アゴニスト治療開始後に神経症候の増悪を認

めた2症例. 第4回関東MS研究会(2013年1月26日、東京)

8. 久保田昭洋、田中覚、宮内敦生、古谷真由美、石塚慶太、鈴木理人、齋藤あかね、原 涉、成川真也、田島孝士、伊崎祥子、小島美紀、吉田典史、王子聡、山里将瑞、三井隆男、深浦彦彰、野村恭一. 重症筋無力症におけるTリンパ球サブセットの検討. 第54回日本神経学会学術大会(2013年5月29日~6月1日、東京)

9. 石塚慶太、久保田昭洋、田中覚、宮内敦生、古谷真由美、鈴木理人、齋藤あかね、原 涉、成川真也、田島孝士、伊崎祥子、小島美紀、吉田典史、王子聡、山里将瑞、三井隆男、深浦彦彰、野村恭一. 細菌性・無菌性髄膜炎における髄液中の酸化ストレス(d-ROM)の検討. 第54回日本神経学会学術大会(2013年5月29日~6月1日 東京)

10. 鈴木理人、久保田昭洋、石塚慶太、遠藤綾亮、齋藤あかね、原 涉、成川真也、田島孝士、伊崎祥子、小島美紀、吉田典史、王子聡、山里将瑞、三井隆男、深浦彦彰、野村恭一. 一過性全健忘における臨床症候と酸化ストレス(d-ROM)・抗酸化力(BAP)の検討. 第54回日本神経学会学術大会(2013年5月29日~6月1日 東京)

11. 田島孝士、久保田昭洋、田中 覚、宮内敦生、古谷真由美、石塚慶太、齋藤あかね、原 涉、成川真也、伊崎祥子、小島美紀、吉田典史、王子 聡、山里将瑞、三井隆男、深浦彦彰、野村恭一. フィンゴリモド治療開始後に神経症候の増悪を認めた2症例. 第12回MSワークショップ(2013年8月4日)

12. 成川真也、古谷真由美、久保田昭洋、伊崎祥子、小島美紀、東 守洋、佐々木惇、野村恭一. CLIPPERSの62歳男性例 臨床・病理・免疫学的な検討. 第207回日本神経学会関東・甲信越地方会(2013年11月30日、東京)

13. 田島孝士、久保田昭洋、田中 覚、宮内敦生、古谷真由美、石塚慶太、齋藤あかね、原 涉、成川真也、伊崎祥子、小島美紀、吉田典史、王

子聡、山里将瑞、三井隆男、深浦彦彰、野村恭一. S1P受容体アゴニスト治療開始後に神経症候の増悪を認めた2症例. 第40回埼玉中枢神経画像診断研究会(2013年7月5日 大宮)

14. 石塚慶太、王子聡、久保田昭洋、深浦彦彰、佐々木裕介、本島 智子、永峯大輔、伊佐裕也、山口由美子、小暮裕太、木場藤太、清水泰輔、金山由紀、小川智也、松田昭彦、野村恭一. 重症筋無力症に対する免疫吸着療法による抗アセチルコリン受容体抗体とIgGサブクラスの除去能. 第34回日本アフェレシス学会学術大会(2013年11月1-3日、軽井沢)

15. 久保田昭洋、石塚慶太、佐々木裕介、山口由美子、金山由紀、王子聡、三井隆男、小川智也、松田昭彦、深浦彦彰、野村恭一. 重症筋無力症における血漿吸着療法前後でのT・Bリンパ球サブセットの変動. 第34回日本アフェレシス学会学術大会(2013年11月1-3日、軽井沢)

16. 久保田昭洋、原 涉、吉田典史、三井隆男、深浦彦彰、野村恭一. アルツハイマー型認知症における末梢血リンパ球サブセットの検討. 第32回日本認知症学会学術集会(2013年11月8~10日、松本)

17. 王子聡、原 涉、鈴木理人、深浦彦彰、野村恭一. 免疫グロブリン療法施行中にも拘らず呼吸管理を要し、免疫吸着療法にて速やかに改善した重症筋無力症の1例. 第30回日本神経治療学会総会(2012年11月28~30日 北九州)

18. 王子聡、久保田昭洋、野村恭一、永峯大輔、本塚旭、齋藤雅樹、本島智子、佐々木裕介、山口由美子、金山由紀、木場藤太、岩永みずき、野入千絵、小川智也、松田昭彦: NMOsdに対するIVMP・IAPP早期併用療法(ECT)とIVMP単独療法との治療効果の比較検討. 日本アフェレシス学会第21回関東甲信越地方会(2012年4月21日)

19. 王子聡、遠藤綾亮、久保田昭洋、小島美紀、伊崎祥子、三井隆男、深浦彦彰、野村恭一. NMOとアフェレシス IAPPを用いた新たなNMOの

増悪期治療のプロトコルの提案. 第 47 回日本神経免疫学会学術集会 (2011 年 09 月 23 日)

20. 久保田昭洋、鈴木理人、齋藤あかね、成川真也、田島孝士、原 渉、吉田典史、王子 聡、山里将瑞、三井隆男、前田忠昭、小川智也、松田昭彦、野村恭一. 血清サイトカインと酸化ストレスからみた免疫吸着療法と二重膜濾過血漿交換療法の比較, 第 52 回日本神経学会総会 (2011 年 5 月 19 日、名古屋)

21. 原 渉、鈴木理人、齋藤あかね、田島孝士、成川真也、久保田昭洋、伊崎祥子、小島美紀、吉田典史、王子聡、山里将瑞、三井隆男、高濱美里、野村恭一. 神経疾患における血中エイコサペンタエン酸(EPA)/アラキドン酸(AA)比. 第 52 回日本神経学会総会 (2011 年 5 月 19 日、名古屋)

22. 王子 聡、鈴木理人、齋藤あかね、原 渉、田島孝士、久保田昭洋、成川真也、伊崎祥子、小島美紀、吉田典史、山里将瑞、三井隆男、野村恭一. 再発寛解型多発性硬化症に対する血液浄化療法の必要性. 第 52 回日本神経学会総会 (2011 年 5 月 19 日、名古屋)

23. 王子 聡、三井隆男、成川真也、吉田典史、深浦彦彰、山元敏正、野村恭一. QT 延長がある急性期 Guillain-Barre 症候群では、球麻痺により気管挿管を要する. 第 22 回日本末梢神経学会学術集会 (2011 年 9 月 2 日、沖縄)

4. 王子 聡、深浦彦彰、野村恭一. NMOsd 増悪期に対する髄液/血清 IgG 比と早期併用療法 (ECT) 第 24 回日本神経免疫学会学術集会 (2012 年 9 月 20 日、軽井沢)

25. 野村恭一. シンポジウム: 免疫グロブリン大量静注療法の基本と pitfall. 第 31 回日本神経治療学会総会 (2011 年 11 月 21 日、東京)

## 2) 海外

口頭発表 (3) 件  
原著論文による発表 (2) 件  
それ以外(レビュー等) による発表 ( ) 件

そのうち主なもの

### 論文発表

1. Watanabe M, Murakata K, Kageyama T, Shibata Y, Takahashi T, Nomura K, Matsumoto S, Kondo T. Antibodies to neural and non-neural autoantigens in Japanese patients with CNS demyelinating disorders. *Multi Scler*. 2013 (in press)

### 学会発表

1. Kubota A, Fukaura H, Kozima M, Ohji S and Nomura K. Comparison of plasma exchange, methylprednisolone pulse therapy and intravenous immunoglobulin in oxidative stress. 65th Annual Meeting of the American Academy of Neurology, March 16-23, 2013, San Diego, USA.

2. Tajima T, Izaki S, Ohji S, Mitsui T, Hukaura H and Nomura K. Developed multifocal white matter lesions following Fingolimod treatment in two patients : NMOsd & NSD. 12th MS Workshop 2013, fukuoka, Japan

3. Ishizuka K, Ohji S, Kojima M, Kubota S, Fukaura K, Nomura K. Therapeutic efficacy of plasmapheresis in MS and NMO. 6th congress of the PACTRIMS. 6-8 November, 2013, Kyoto, Japan

### 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



研究分担者：所属施設 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野（小児科）

氏 名 原 寿郎

### 1. 研究目的

小児脱髄性疾患の全国疫学調査結果をもとに、我が国の小児多発性硬化症 (Multiple sclerosis; MS)患者と小児視神経脊髄炎(Neuromyelitis optica; NMO)患者の臨床的特徴を明らかにする。

### 2. 研究方法

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 (950 施設)を受診した小児脱髄性疾患患者。方法：患者数調査(一次調査)を行い、その後、調査票を用いて臨床像に関する調査(二次調査)を行った。二次調査では、発症年齢、性、臨床症候、検査所見、MRI 所見、治療、予後を調査した。

(倫理面への配慮)

本調査研究を開始するにあたっては、九州大学医学研究院等倫理委員会の承認を得た (20-64 号)。

### 3. 研究結果および考察

#### (1)小児 NMO の臨床的特徴

小児 NMO 症例 10 例 (小児脱髄性疾患患者全体の 4.9%) が集積された。小児 NMO の有病率は小児 10 万人当たり 0.07 人と推計され、まれな疾患と考えられた。また、10 例中 8 例が女兒であり、発症年

齢の中央値は 9.5 歳で、10 例中 9 例が 8 歳以降に発症していた。女兒の割合が高く、平均年齢が高いことは海外の報告でも認められ、人種や民族によらない臨床的特徴と考えられた。

診断時の MRI では Tent 上 (9 例) や 脳幹 (6 例)にも病変を認め、6 例で NMO に特徴的な脳病変<sup>1)</sup>を認めた。NMO-IgG は 6 例で測定され、3 例が陽性であった。再発予防として、4 例で経口ステロイド、4 例で免疫抑制剤が使用されていた。後遺症として 4 例で重度視力障害を認め、うち 2 例は NMO-IgG 陽性例で、陰性例はなかった。NMO-IgG 陽性は、小児 NMO の予後不良因子であることが予想された。

小児 NMO spectrum disorders (NMOSD)<sup>1)</sup> 症例は 12 例で、男女比は 1:1 であった。発症年齢の中央値は 9 歳で、4～13 歳に幅広く分布した。平均経過観察期間は 2.7 年で再発例はなかった。全例が NMO の限局型であり、8 例が脊髄長大病変を有する脊髄炎 (longitudinal extensive transverse myelitis; LETM)、4 例が視神経炎であった。診断時の MRI では、3 例で NMO に特徴的な脳病変<sup>1)</sup>を認めた。NMO-IgG は全例未測定であった。再発予防として経口ステロイドや免疫抑制剤を使用した症例はなく、重度視力障害を残した症例はいな

かった。小児 NMOSD12 例のうち LETM を呈した 8 例は男児の割合が高く、全て単相性であり、脳病変の合併はなく、本研究で得られた小児 NMO の特徴と異なり、NMO に移行しない LETM の一群が存在することが示唆された。

## (2) 年少小児 MS の臨床的特徴

10 歳以下で発症した年少小児 MS は 39 例 (男 13 女 26)、11 歳以上で発症した年長小児 MS は 19 例 (男 7 女 12) であった。発症時の症候は、けいれんを年少小児 MS で 14 例 (36%)、年長小児 MS で 3 例 (19%) に認めた ( $p=0.13$ )。小脳症状は年少小児 MS で 6 例に認めたが、年長小児 MS では認めなかった。視力障害は、年少小児 MS 21 例 (54%)、年長小児 MS 9 例 (47%) に認めた。髄液細胞数や蛋白は両群に差を認めなかったが、オリゴクローナルバンド(OCB)は、年少小児 MS で 32 施行例中 1 例 (3%)、年長小児 MS では 17 例中 7 例 (41%) と明らかな相違を認めた ( $p=0.0014$ )。MRI では、皮質下白質病変を示す割合が、年少小児 MS で 28 例 (85%) に対し、年長小児 MS は 9 例 (56%) であった ( $p=0.040$ )。視神経病変は、年少小児 MS 9 例 (29%)、年長小児 MS 11 例 (58%) に認められた。平均 EDSS は、年少小児 MS 1.3、年長小児 MS 0.6 であった。平均再発回数は、年少小児 MS で 0.74 回/年、年長小児 MS で 0.98 回/年であった。

我が国の 10 歳以下発症の小児 MS の男女比は 1:2 であり、年長小児とほぼ同じ比

率であることが明らかとなった。欧米では年少小児 MS では性差が認められなかったという報告<sup>2)</sup>があり、その原因として年少児では性ホルモンの影響が少ないことが考察されている。しかし、我が国の年少小児 MS では性差を認めることから、小児 MS に認める性差は思春期に伴う性ホルモンの変化のみでは説明できないと考えられた。

我が国の 10 歳以下発症の小児 MS 患者の特徴として、けいれん出現の頻度が高く、MRI 上皮質下白質病変を認める頻度が高く、髄液 OCB の出現頻度が低いことが明らかになった。この特徴は、年少小児の有する、けいれん閾値の低さ、脳の解剖学的未熟性、免疫応答の未熟性が関与していると考えられた。

## (3) 小児 MS の治療抵抗性

### 3-1) 再発頻度に基づく検討

小児 MS 患者は罹病期間が長くなるにつれて年間再発回数が低下する傾向を認めた。罹病期間 60 か月未満の小児 MS 患者 39 例のうち年間再発回数が 1.5 回/年以上の高率再発 MS 患者は 13 例 (男 6, 女 7) で 36% を占め、性差のない傾向を認めた。平均発症年齢は高率再発患者 10.2 歳、低率再発患者 8.4 歳であった。発症時のけいれんは高率再発患者で有意に少なく ( $p=0.034$ )、髄液検査では、高率再発群で OCB 陽性率が高い傾向を認めた ( $p=0.074$ )。MRI 所見では、皮質下白質病変 ( $p=0.061$ ) を高率再発患者に多く認めた。ガ

ドリニウム (Gd) 増強病変の頻度には差を認めなかった。治療では、高率再発群で IFN  $\beta$  1b 導入患者の割合が高い傾向を認めた ( $p=0.056$ )。後遺症に関しては脊髄障害、視力障害、認知機能障害ともに明らかな差を認めなかった。

### 3-2) 後遺症 (視力障害) に基づく検討

小児 MS 患者のうち視力障害を後遺症として認めた MS は 17 例 (男 3, 女 14) で全患者の 27% を占め、視力障害のない MS と比較して、後遺症群で女性が多い傾向を認めた ( $p=0.130$ )。発症年齢、罹患期間、再発回数では両群に差はなかった。発症時の症状と血液・髄液所見に明らかな差はなかったが、MRI 所見では、Gd 増強病変 (83 vs. 39%) を後遺症群に多く認めた ( $p=0.010$ )。ガンマグロブリン療法の実行は後遺症群で高い傾向があった ( $p=0.059$ ) が、ステロイド以外の免疫抑制剤使用の割合は変わらなかった。視力障害後遺症群では、脊髄障害の合併頻度が高かった ( $p=0.014$ )。

初期の高頻度再発小児 MS は性差を認めず、平均年齢が高く、OCB 陽性率が高い傾向が認められた。再発頻度と初期検査での炎症所見との関連性、および再発頻度と後遺症との関連性は示されず、小児 MS は初期に強い炎症所見を示す症例が再発するわけではないこと、また初期の頻回の再発が後遺症につながるわけではないことを示唆すると考えられた。

一方、小児期に視力障害を残す MS は、女性に多い傾向を認め、再発回数や罹病

期間と明らかな関連はなく、発症時の症状や検査値に特徴はなかった。しかし、MRI では Gd 増強病変の頻度は高いことから、局所での強い炎症が示唆され、脊髄障害の合併が高いことから、多巣性の炎症を呈することが示唆された。視力障害を残す症例は、全身性の炎症との関連は低い、局所での炎症は強く、少ない再発回数で障害を残すことが予想された。

## 4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

患者数が少ないために実態が明らかでなかった、我が国の小児 MS および NMO の臨床的特徴を診療の現場に提供するとともに、取り組むべき問題点を明らかにした。同時に成人患者・海外小児患者との比較検討を行い、脱髄性疾患の病態研究に有用な知見をもたらした。

## 5. 今後の展望

平成 20-21 年に我が国で実施した「小児急性散在性脳脊髄炎、多発硬化症の全国疫学調査」の結果から、我が国の小児脱髄性疾患の臨床的特徴は欧米の症例と必ずしも同じではないことが示された。このため、臨床経過や治療成績について詳細な実態調査を行い、情報を集積し、解析を行う必要があると考えられる。

## 6. 結論

1) 我が国の小児 NMO 有病率は小児 10 万人当たり 0.07 人と推計され、小児脱髄性

疾患全体の 4.9%を占めた。小児 NMO10 例中 8 例が女児であり、9 例が 8 歳以降の発症であり、海外と同様の傾向を認めた NMO-IgG 陽性は予後不良因子である可能性が示唆された。小児 NMOSD12 例には 8 例の単相性 LETM を認め、その臨床的特徴は NMO と異なっていた。

2) 我が国の 10 歳以下発症の小児 MS の男女比は 1:2 であり、海外の小児 MS の報告と異なる結果であった。一方、年少小児 MS 患者は、けいれんの出現頻度や MRI での皮質下白質病変の頻度が高く、髄液中の OCB の出現率が低く、海外の年少 MS で認める傾向と一致していた。

3) 我が国の小児 MS は発症初期の再発頻度が高いが、必ずしも後遺症には結びつかないことが示唆された。我が国の小児 MS には、多巣性で局所性に強い炎症を示し、少ない回数で後遺症を残すタイプが存在することが示唆された。

#### 参考文献

1. Wingerchuk DM, et al. The spectrum of neuromyelitis optica. *Lancet Neurol* 2007; 6: 805-15.
2. Mikaeloff Y, et al. Prognostic factors for early severity in a childhood multiple sclerosis cohort. *Pediatrics* 2006; 118:1133-9.

#### 7.研究発表

1) 国内  
口頭発表

(17)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(6)件

そのうち主なもの

論文発表

1. 原 寿郎。急性散在性脳脊髄炎 (ADEM) の診断基準と治療。日本臨牀 71: 887-92, 2013.
2. 原 寿郎。中枢神経系感染症 その他の中中枢神経系感染症 急性散在性脳脊髄炎 (ADEM)。別冊日本臨牀 25: 144-7, 2013
3. 磯部菜摘、石崎義人、原 寿郎。特集クローズアップ脳炎・脳症・髄膜炎：脳炎脳症と自己免疫。小児内科 45:179-182, 2013.

学会発表

1. 山口結、愛波秀男、石垣景子、市山高志、木村重美、久保田雅也、高梨潤一、高橋幸利、玉井浩、夏目淳、浜野晋一郎、平林伸一、水口雅、皆川公夫、原 寿郎。我が国の小児多発性硬化症の臨床的特徴。第 53 回日本小児神経学会総会。(2011 年 5 月 26~28 日、横浜)
2. 山口結、愛波秀男、市山高志、岸崇之、木村重美、久保田雅也、高梨潤一、高橋幸利、玉井浩、夏目淳、浜野晋一郎、平林伸一、水口雅、皆川公夫、原 寿郎。小児多発性硬化症の思春期前後における臨床的特徴の比較。第 54 回日本小児神経学会総会。(2012 年 5 月 17~19 日、札幌)

3. 山口結、愛波秀男、市山高志、岸崇之、木村重美、久保田雅也、高梨潤一、高橋幸利、玉井浩、夏目淳、浜野晋一郎、平林伸一、水口雅、皆川公夫、原 寿郎。我が国の小児 NMO/NMO spectrum disorders について。第 54 回 日本小児神経学会総会。(2012 年 5 月 17~19 日、札幌)

2) 海外

口頭発表 (16)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

論文発表

1. Sanefuji M, Torisu H, Kira R, Yamashita H, Ejima K, Shigeto H, Takada Y, Yoshida K, Hara T. A case of childhood stiff-person syndrome with striatal lesions: A possible entity distinct from the classical adult form. *Brain Dev* 2013; 35: 575-8.
2. Lee S, Sanefuji M, Watanabe K, Uematsu A, Torisu H, Baba H, Kira R, Takada Y, Ishizaki Y, Toyoshima M, Aragaki F, Hata D, Hara T. Clinical and MRI characteristics of acute encephalopathy in congenital adrenal hyperplasia. *J Neurol Sci* 2011; 306:91-93.
3. Ishimura M, Yamamoto H, Mizuno Y, Takada H, Goto M, Doi T, Hoshina T, Ohga S, Ohshima K, Hara T. A non-

invasive diagnosis of histiocytic necrotizing lymphadenitis by means of gene expression profile analysis of peripheral blood mononuclear cells. *J Clin Immunol* 2013; 33: 1018-26.

4. Nishio H, Kanno S, Onoyama S, Ikeda K, Tanaka T, Kusuhara K, Fujimoto Y, Fukase K, Sueishi K, Hara T. Nod1 ligands induce site-specific vascular inflammation. *ATVB* 2011; 31: 1093-99.

学会発表

1. Hara T, Ishimura M, Tahada H. Autoimmune diseases in patients with primary immunodeficiency diseases. The 2nd International Congress on Controversies in Rheumatology and Autoimmunity, April 4-6, 2013, Budapest, Hungary.
2. Hara T. A critical role of the innate immune system to host defense in infants. The 8th Congress of Asian Society for Pediatric Research. May 17-19, 2012, Seoul, Korea.

8. 知的財産権の出願・登録状況

- (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:名古屋市立大学医学研究科腫瘍・免疫外科  
藤井義敬

## 重症筋無力症における、基礎的、臨床的研究

### 1. 研究目的

重症筋無力症は抗アセチルコリン受容体抗体によって引き起こされる自己免疫疾患である。他の自己免疫疾患にみられない特徴として重症筋無力症には胸腺の胚中心や胸腺腫といった胸腺の異常が高率にみられ、免疫の中心臓器としての胸腺と重症筋無力症の関わりが注目される。

臨床的にはステロイド、免疫抑制剤が用いられるが、とくに免疫抑制剤については長期投与の報告は少なく、投与方法に関する一定のガイドラインもない。今回は重症筋無力症における特に長期の免疫抑制剤投与例について検討した。また重症筋無力症の発生に関わると考えられるT細胞の抑制因子PD-1の遺伝子多型について検討した。

### 2. 研究方法

タクロリムス、あるいはシクロスポリンを投与した50例について検討した。長期(5年以上)投与した症例につき、免疫抑制剤の血中濃度、症状、血清抗アセチルコリンリセプター抗体の変化について後方視的に検討した。重症筋無力症合併(胸腺腫非合併)胸腺32例あるいは重症筋無力症合併胸腺腫40例からDNAを抽出し、そのPD-1遺伝子のSNP (rs36084323)をTaqmanPCRにより解析した。ヒト材料を用いた研究は名古屋市立大学医学研究科および名古屋市立大学病院のIRBによる審査をへて書面による同意を得て行った。

### 3. 研究結果および考察

5年以上タクロリムスと投与したものは20例であった。タクロリムスの投与量は概ねその血中濃度と相関した(24年度検討では28例)が、中に低い投与量(3mg)で研究中濃度が高値20ng/Lになるものがあり、タクロリムスの投与量はその血中濃度にしたがって決めるべきである。

タクロリムス投与中のステロイド投与量は変動がなかったが、多くの症例(78%)で重症筋無力症の症状の改善が見られた。これに伴って血清中抗アセチルコリン受容体抗体値も減少した。タクロリムス投与に伴う抗アセチルコリン受容体抗体値の変化はほとんど報告されたことがなく、今後のタクロリムス投与の参考になると思われる。

合併症は腎機能の低下が2例に見られたが重篤になったものはなかった。また易感染性を示した症例はなかった。

胸腺腫におけるPD-1の遺伝子多型は健常人のものとは差がなかった。しかし胸腺腫非合併重症筋無力症ではGGのタイプが15.6%と胸腺腫合併のもの28.4%に比較して低く、これが重症筋無力症に何らかの形で関与している可能性が考えられる。

### 4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

タクロリムス、ネオーラルについては保険適応となってから投与例が増えているが長期投与についての指針がなかった。今回の臨床研究において安全な免疫抑制剤の投与方法、重症筋無力症の症状管理について重要な知見が得られ、今後の重症筋無力症治療についてのガイ

ドライン設定に役立つと思われる。PD-1遺伝子多型は重症筋無力症の発症そのものに影響している可能性がある。

#### 5. 今後の展望

臨床で得られた知見をガイドライン策定に生かしていく。PD-1遺伝子多型についてはさらに基礎的実験を積み重ねる必要がある。

#### 6. 結論

重症筋無力症におけるタクロリムス、ネオオラルなどの免疫抑制剤の長期投与の歳の症状の変化、抗アセチルコリン受容体抗体値について臨床研究を行い、今後の研究および患者管理に役立つ知見を得た。またPD-1 遺伝子多型は重症筋無力症の発症に関わっている可能性がある。

#### 7. 研究発表

##### 1) 国内

口頭発表 2件  
原著論文による発表 1件  
それ以外（レビュー等）の発表 1件

##### 論文発表

1. 横田圭右, 藤井義敬, 矢野智紀, 佐々木秀文, 森山 悟, 彦坂 雄. 抗アセチルコリン受容体抗体陽性重症筋無力症患者に生まれた新生児の臍帯血抗アセチルコリン受容体抗体. 日呼外会誌 2012;26(1):7-9.

##### 学会発表

1. 矢野智紀, 藤井義敬. 胸腺内に限局する胸腺腫に対する胸腺腫切除術：多施設共同研究(JART02)中間解析. 第 29 回日本呼吸器外科学会総会. (2012 年 5 月 18 日, 秋田)
2. 横田圭右, 矢野智紀, 佐々木秀文, 森山悟, 彦坂 雄, 奥田勝裕, 設楽将之, 藤井義敬. 胸腺癌を疑い胸腔鏡下胸腺亜全摘術を施行した高齢者胸腺腫の 1 例. 第 55 回関西胸部外科学会学術集会. (2012 年 6 月 21 日, 大阪)

##### 2) 海外

口頭発表 2件  
原著論文による発表 2件  
それ以外（レビュー等）の発表 1件

##### 論文発表

1. Sasaki H, Yano M, Kawano O, Hikosaka Y, Fujii Y. Thymoma associated with fatal myocarditis and polymyositis in a 58-year-old man following treatment with carboplatin and paclitaxel: A case report. *Oncol Lett* 2012;3(2):300-2.
2. Fujii Y. The thymus, thymoma and myasthenia gravis. *Surg Today* 2013 May;43(5):461-6.
3. Sasaki H, Tatematsu T, Shitara M, Hikosaka Y, Okuda K, Moriyama S, Yano M, Tanahashi M, Mizuno K, Endo K, Fujii Y. PD1 gene promoter polymorphism in thymoma and myasthenia gravis. *J Immunol Clin Res* 2014 Jan 20;2(1):1011(1-5) Epub.

##### 学会発表

1. Yokota K, Yano M, Moiryama S, Hikosaka Y, Okuda K, Shitara M, Okumura M, Yokoi K, Fujii Y. Clinicopathological analysis of small-sized thymoma with podoplanin and Ki67 expression analysis. 3rd International Thymic Malignancy Interest Group Annual Meeting. Nov 25, 2012, Fukuoka, Japan.
2. Fujimoto K, Hara M, Tomiyama N, Kusumoto M, Sakai F, Fujii Y. A proposal of a new method for mediastinal compartment classification of transverse plane image based on the Japanese Association for Research on the Thymus (JART) general rules for study of mediastinal tumors. 3rd International Thymic Malignancy Interest Group Annual Meeting. Nov26, 2012, Fukuoka, Japan.
8. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）なし

分担研究者:所属施設 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

氏名 藤原一男

### 1. 研究目的

視神経脊髄炎スペクトラム疾患 (NMOSD) は、主に重症の視神経炎と横断性脊髄炎を呈する炎症性中枢神経疾患であり、抗アクアポリン 4 (AQP4) 抗体が診断に有用なバイオマーカーであり、アストロサイトパチーという特異な病態である。我々は NMO の病理像の多様性及び AQP4 抗体陰性 NMOSD におけるミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク (MOG) 抗体について検討した。

### 2. 研究方法

#### 1) NMO の病理像の多様性に関する検討

NMO 7 例 (うち 3 例は AQP4 抗体陽性)、急性 MS 6 例、二次進行性 MS 6 例、一次進行性 MS 6 例、正常対照例 3 例の剖検標本を用い、Wingerchuk 基準を満たすか、AQP4 抗体陽性により NMO と診断された。HE、KB 染色と共に各病巣における免疫グロブリン (IgG, IgM) や活性化補体、GFAP、MAG、MBP その他分子の発現を免疫組織学的に検討した。

#### 2) MOG 抗体陽性 NMOSD の検討

NMOSD を中心に AQP4 抗体陰性の 150 例 (成人 121 例、小児 29 例) の血清を用い、MOG 抗体を測定した。MOG 抗体は、ヒト MOG 全長 cDNA を移入した HEK293 細胞を用いて間接蛍光抗体法で測定した。

(倫理面への配慮)

被験者には本研究の目的と内容について説明して同意を得た。

### 3. 研究結果および考察

#### 1) NMO の病理像の多様性

NMO の病変には 6 種の多様性がある事を見出した。これらの病変は、同じ患者の同じ病変内においても

部位によって多様に認められており、中核となる抗体・補体介在性のアストロサイト傷害に起因する一次性的ないし二次性の病態も含む多様な変化であり、相互に関連する一連の病態であることが推察される<sup>5</sup>。一方、MS においてはアストロサイトの広範な脱落は見られず、また慢性 MS ではいずれのアストロサイト脱落も認められなかった。

#### 2) MOG 抗体陽性 NMOSD 症例及び小児例

13 例の成人例および 16 例の小児例の計 29 例で抗 MOG 抗体が同定された。MOG 抗体陽性 NMOSD 例は AQP4 抗体陽性例に比べて、女性優位性がない、両側視神経、下部脊髄炎が多く、再発が少なく予後良好だった。小児 ADEM 例にも陽性例が見られた。

### 4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義

NMO の病理の多様性は、アストロサイトの一次性障害を支持しており、治療法開発にも示唆を与える。MOG 抗体陽性 NMOSD 例は、今後 AQP4 抗体陽性例との臨床、病態、治療の相違が注目される。

### 5. 今後の展望

AQP4 及び MOG の NMOSD における病態及び治療的意義を臨床的解析に加えて、動物、細胞及び分子レベルで実験的にも解明していく必要がある。

### 6. 結論

NMO の病理では、補体介在性壊死に加えてアポトーシス様の病態も想定され、アストロサイト傷害における多様性が示唆された。また AQP4 抗体陰性 NMOSD の一部に AQP4 抗体陽性例とは異なる臨床的特徴を持つ MOG 抗体陽性症例を見出した。



## 7 研究発表

### 1) 国内

口頭発表	62件
原著論文による発表	1件
それ以外（レビュー等）の発表	26件

### そのうち主なもの

#### 論文発表

1. 福與なおみ、高橋利幸、萩野谷和裕、植松 貢、土屋 滋、藤原一男. 小児期発症の抗アクアポリン4抗体陽性症例の臨床像. 脳と発達 43:359-365, 2011.

#### 学会発表

1. 藤原一男. 教育講演：視神経脊髄炎(NMO)の疾患概念と治療, 第21回日本神経治療学会総会, 福井, November 11, 2011.
2. 藤原一男. 視神経脊髄炎(NMO)の治療をめぐる(免疫疾患学会連合同シンポジウム), 第23回日本神経免疫学会学術集会, 東京, September 16, 2011.
3. Fujihara K. Apheresis in Neuromyelitis Optica (NMO) (Asian Session: Current Status of Apheresis in Asia), 第33回日本アフエレシス学会総会、佐世保、November 9, 2012.
4. 藤原一男. 教育講演11:多発性硬化症(MS)と視神経脊髄炎(NMO), 第110回日本内科学会総会講演会, 東京, April 13, 2013.
5. Fujihara K. Neuropathology of NMO: a nosological consideration (Symposium S(3)-5 11:Pathogenesis and Treatment of NMO), 第54回日本神経学会総会、東京、May 31, 2013.

### 2) 海外

口頭発表	53件
原著論文による発表	31件
それ以外（レビュー等）の発表	13件

そのうち主なもの

### そのうち主なもの

#### 論文発表

1. Kitley J, Leite MI, Nakashima I, Waters P, McNeillis B, Brown R, Takai Y, Takahashi T, Misu T, Elson L, Woodhall M, George J, Boggild M, Vincent A, Jacob A, Fujihara K, Palace J. Prognostic factors and disease course in 106 aquaporin-4 antibody-positive neuromyelitis optica spectrum disorder patients from the United Kingdom and Japan. Brain 135:1834-1849, 2012.
2. Misu T, Höftberger R, Fujihara K, Wimmer I, Takai Y, Nishiyama S, Nakashima I, Konno H, Bradl M, Garzuly F, Itoyama Y, Aoki M, Lassmann H. Presence of six different lesion types suggests diverse mechanisms of tissue injury in neuromyelitis optica. Acta Neuropathol 125:815-827, 2013.
3. Sato DK, Callegaro D, Lana-Peixoto, Waters PJ, PhD4; Jorge FMdH, Takahashi T, Nakashima I, Apostolos-Pereira SL, Talim N, Simm RF, Lino AMM, Misu T, Leite MI, MD, Aoki M, Fujihara K. Distinction between MOG antibody-positive and AQP4 antibody-positive NMO spectrum disorders. Neurology (in press)

#### 学会発表

1. Fujihara K. Pathogenesis of NMO in Teaching Course 11 NMO, a practical approach, The 28<sup>th</sup> Congress of The European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS), Lyon (France), October 10, 2012.

### 8 知的所有権の出願・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

分担研究者：金沢医科大学神経内科学  
松井 真

## 1. 研究目的

多発性硬化症 (MS) は、中枢神経系の炎症性脱髄疾患であり、いまだ十分な疾患治療を行っている状況にはないため、実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) を用いて急性期や慢性期の治療介入が試みられている。既にわれわれは本学会議において、従来薬をそのような目的に使用し得る可能性を追究し、Na<sup>+</sup>チャネル阻害薬であるフェニトイン (PHT) が急性期および慢性期の症状軽減に有効である可能性を見出し報告した。

そこで次の3年間は、抗炎症作用があることが知られている漢方薬3種を選定し、EAE マウスへの経口投与の効果を検証することを試みた。また、京都大学ウイルス研究所との共同研究により、レドックス制御がMS治療に有効である可能性を想定し、関連蛋白であるTBP-2のノックアウトマウスにおいてEAEの作製を試みた。

他方、MS以外の神経免疫疾患対象として、近年注目が集まっているNMDA型グルタミン酸受容体に対する抗体が引き起こす脳炎の発症機序を基礎的な面から解明する作業を進めた。さらに、最近10年間で組織傷害に免疫機序の関与が提唱されつつある虚血性脳血管障害において、実際にヒトのマクロファージ機能の解析をパイロット研究として行なった。

## 2. 研究方法

EAE：[漢方薬] C57BL/6J♀7週齢マウスにミエリンオリゴデンドロサイト糖蛋白 (MOG) 35-55をCFAとともに腰背部に皮下注射し、当日と2日後に、PTXを2回腹腔内注射することで作製した。体重1kg当たり100mg、300mg、1000mgの桂枝湯・柴苓湯・柴胡桂枝湯を発症時期である10日目から週3回、ゾンデで確実に経口投与した。

[TBP-2 ノックアウトマウス] 同様の方法でEAEを作製し、対照群は雌雄を揃えて施行した。

抗NMDAR抗体：当施設で治療した33歳女性

のNMDAR抗体陽性患者髄液の*ex vivo*での効果を見る目的で、髄液サンプルが海馬スライス標本での長期増強誘導に与える影響を生理学的方法で解析した。

脳血管障害：脳血管障害患者の解析対象は、2010年8月から11月に入院した急性期脳梗塞患者16名である。コントロールは、脳梗塞の既往のない神経変性疾患患者9名とした。入院第0～2病日、第3～7病日、第12～16病日、退院時、の計4回、末梢血を採取し、全単球数をモニタリングすると同時に、フローサイトメトリーを用いて、単球の表面マーカー(CD14、CD16)とケモカイン受容体(CCR2、CX3CR1)を検知して、単球の機能的亜分画(CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>、CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>、CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup>)を同定し、その存在率の推移をモニタリングした。

(倫理面での配慮)

動物実験では、金沢医科大学実験動物取り扱い規定を遵守した。ヒト対象の研究は、当学倫理委員会の承認を受け、個人情報保護に配慮してデータの匿名化を行い解析した。

## 3. 研究結果および考察

EAEの柴苓湯治療群では、対照群に比して感作後2週の急性期から5週以降の慢性期におけるEAEスコアの改善を認めた。桂枝湯や柴胡桂枝湯治療群では明らかな効果は認められなかった。大きい投与量では死に至る個体が10%程度存在するため、今後は柴苓湯のみに絞り、ヒトでの投与量に合わせ、kg体重あたり50mg以下の投与量を複数設定して実験を行う必要がある。

TBP-2ノックアウトマウスで作製したEAEは雄雌ともに、対照群よりも有意に軽症であった。本効果の免疫学的な側面を今後、脾細胞の機能解析や中枢神経の病理像で追究する必要がある。

一方、抗NMDAR抗体陽性脳炎については、海馬スライス標本での長期増強誘導は患者髄液添加で抑制され、抗体をNMDAR蛋白で吸収すると

その抑制は解除されたため、髄液中の抗体が実際に神経機能障害を生じる可能性が示唆された。

脳梗塞においては、CD14<sup>high</sup>CD16+通常型単球は、経過に関わらず早期より増加する傾向が認められ、とくに症状進行群では、コントロールに比して、早期より統計学的有意差が認められた。また重症度とは、全単球数と CD14<sup>high</sup>CD16+中間型単球が正の相関傾向を、CD14<sup>dim</sup>CD16+分画は負の相関傾向を示した。

#### 4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義

柴苓湯は将来の MS 急性期あるいは慢性期再発予防のための補助薬候補である可能性が示された。脳梗塞では中間型単球が組織傷害に関与している可能性を世界に向けて発信した。

#### 5. 今後の展望

柴苓湯は少量で用量をふって投与し、実際にヒトでの応用に近づける可能性がある。TBP-2 抗体を使用して、C57BL/6 マウスの EAE 治療を試みる意義がある。ヒト中間型単球は基礎的研究によりその機能を明らかにできれば、阻害薬などが脳梗塞治療に使用できる可能性がある。

#### 6. 結論

柴苓湯投与やレドックス制御は今後の MS 治療に新たな可能性をもたらす。将来、脳梗塞急性期の組織保護治療として免疫療法を選択し得る可能性がある。抗 NMDAR 抗体陽性脳炎において、本抗体は病因的意義を有しているため、血漿交換やステロイドパルス療法などを施行する根拠があることが明らかにされた。

#### 7. 研究発表

##### 1) 国内

- 口頭発表 (21) 件
- 原著論文による発表 (1) 件
- それ以外 (レビューなど) の発表 (9) 件

##### そのうち主なもの

###### 論文発表

1. 松井 真: 多発性硬化症の新規疾患修飾薬: Disease activity free status を目指して. 神経治療 2013;30:109-112.
2. 松井 真, 長山成美: 多発性硬化症の診断. 日本臨床 2013;71:811-816.
3. 長山成美, 松井 真: 多発性硬化症と視神経脊髄炎. 神経治療 2012;29:11-14.

#### 学会発表

1. 富岳亮, 帆足福子, 長山成美, 松井真: 柴苓湯投与による実験的自己免疫性脳脊髄炎治療効果の検証. 第 25 回日本神経免疫学会学術総会, 下関, 2013
  2. 松井真, 荒谷信一, 帆足福子, 長山成美, 増谷弘: レドックス制御関連蛋白 TBP-2 発現修飾による実験的自己免疫性脳脊髄炎治療の試み. 第 24 回日本神経免疫学会学術集会, 軽井沢, 2012
  3. 松井真, 荒谷信一, 帆足福子, 長山成美: 抗炎症作用を有する漢方薬投与による実験的自己免疫脳脊髄炎治療の試み. 第 53 回日本神経学会総会, 東京, 2012
- 2) 海外
- 口頭発表 (7) 件
  - 原著論文による発表 (5) 件
  - それ以外 (レビューなど) の発表 (0) 件

##### そのうち主なもの

###### 論文発表

1. Kaito M, Araya S-i, Gondo Y, Fujita M, Minato N, Nakanishi M, Matsui M: Relevance of distinct monocyte subsets to clinical course of ischemic stroke patients. PLOS One 2013; 8: e69409.
2. Zhang Q, Tanaka K, Sun P, Nakata M, Yamamoto R, Sakimura K, Matsui M, Kato N. Suppression of synaptic plasticity by cerebrospinal fluid from anti-NMDA receptor encephalitis patients. Neurobiol Dis 2012; 45: 610-615.
3. Hashiba N, Nagayama S, Araya S-i, Inada H, Sonobe Y, Suzumura A, Matsui M. Phenytoin at optimum doses ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis via modulation of immunoregulatory cells. J Neuroimmunol 2011; 223: 112-119.

#### 学会発表

1. Matsui M: Fingolimod in MS: special reference to Asian patients. Educational course. The 6<sup>th</sup> PACTRIMS. Kyoto, Japan, 2013.
2. Nakata-Fujita M, Tomioka R, Tanaka K, Nakanishi M, Nagayama S, Takahashi R, Machiya T, Hamada T, Matsui M: Intractable cough may be characteristic symptom of neuromyelitis optica. The 6<sup>th</sup> PACTRIMS. Kyoto, Japan, 2013.
3. Matsui M, Araya S-i, Hoashi F, Nakanishi M, Nagayama S: Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis with oral administration of traditional Japanese herbal medicine. The 11<sup>th</sup> International Congress of Neuroimmunology. Boston, USA, 2012.

#### 8. 知的所有権の出願・取得状況

該当するものなし

## 抗 ganglionic アセチルコリン受容体抗体測定系の確立と 免疫異常の介在する自律神経障害について

研究分担者 松尾秀徳<sup>1)</sup>  
共同研究者 中根俊成<sup>1,2)</sup>, 樋口 理<sup>2)</sup>, 酒井和香<sup>1)</sup>,  
東原真奈<sup>3)</sup>, 海田賢一<sup>3)</sup>, 濱田征宏<sup>4)</sup>, 楠 進<sup>4)</sup>

### 研究要旨

抗 ganglionic アセチルコリン受容体 (gAChR) 抗体は自己免疫性自律神経節障害の病態において主たる役割を担っていると推測されている。我々は簡便、高感度、且つ定量性を備えた新規の抗 gAChR 抗体測定系確立を報告し、全国からの抗体測定依頼を受ける態勢を整備した。抗 gAChR 抗体陽性症例の臨床像解析を行い、自律神経症状が多様であること、自己免疫疾患・炎症性疾患を合併し得ること、を明らかにした。ギラン・バレー症候群など自律神経障害を呈するニューロパチーやシェーグレン症候群などの膠原病や重症筋無力症や脳症の症例において本抗体陽性症例が存在し、ほかの nicotinic AChR (gAChR を含む) のサブユニットに対する抗体など測定対象を拡げていくことを計画している。

### 研究目的

抗 ganglionic アセチルコリン受容体 (gAChR) 抗体は自己免疫性自律神経節障害 (AAG) の病態において主たる役割を担っていると推測されている。本邦におけるまとまった AAG の調査検討は十分ではなく、それには新しい自己抗体測定系の確立が急務であった。我々はこの自己抗体の新規測定系樹立を目指し、本研究の目的は 1) AAG を始めとする抗 gAChR 抗体陽性症例の臨床的特徴、免疫治療に対する反応性を明らかにする、2) 自律神経障害を呈する疾患については臨床診断別の抗体陽性頻度を検討し、さらにその臨床的特徴を把握する、の 2 つとした。

### 研究方法

1. 長崎川棚医療センター 神経内科
2. 長崎川棚医療センター 臨床研究部
3. 防衛医科大学校 内科 3 神経内科
4. 近畿大学 神経内科

- 対象：当院における抗 gAChR 抗体測定依頼のあった自律神経障害を呈する 195 症例 (256 検体)。
- 測定期間：当院で抗 gAChR 抗体測定受付を開始した 2012 年 1 月 27 日から 2014 年 1 月 10 日まで。
- 方法：本研究では生物発光を利用したタンパク質間相互作用解析法であるカイアシルシフェラーゼ免疫沈降 (GLIP) を応用した検出法にて抗 gAChR 抗体 (・3 サブユニット, ・4 サブユニット) 測定系を確立し、抗体測定系として活用する。
- 臨床像解析：臨床診断のほか、通常の疫学的項目のほか、経過、先行感染の有無、自律神経症状、自律神経機能検査、合併症、治療内容などの項目について調査した。なお臨床診断については送付された書類中の担当医の記載によった。  
(倫理面への配慮)  
当院倫理委員会にて承認を得て実施した。