

## 研究結果

- 安全, 簡便, 高感度, 且つ定量性を備えた GLIP 法による抗 gAChR 抗体測定系を確立した. 健康人サンプルの測定結果よりカットオフ (mean+3SD) を設定し, 実際の測定に際しては米国・Vernino 研究室で抗体測定され, 陽性と判定されたサンプルも同時に測定している.
- 現在までに抗 gAChR 抗体陽性症例は 35 症例存在した (17.9%). 臨床診断別にみると, AAG で 44.4% (16/36 症例), acute pandysautonomia (APD) では 50.0% (3/6 症例) であり, 慢性偽性腸閉塞症の症例, 起立性低血圧 (OH) のみの症例でも各 1 例陽性であった.
- 抗 gAChR 抗体陽性 AAG/APD および OH のみの計 20 症例は起立性低血圧で発症するケースが多く, 消化管障害や排尿障害を高率に認めた. 内分泌障害 (無月経, SIADH など) や発作性咳嗽を呈した症例もそれぞれ 5 症例, 4 症例みられ, 7 症例において自己免疫疾患や炎症性疾患の合併を認めた.
- AASN/AASMN における抗 gAChR 抗体陽性の頻度は 30.0% (6/20 症例) であり, 自律神経症状の出現パターンは上記 20 症例と類似していた. また無月経などの内分泌障害も 2 例で認めた.
- ギラン・バレー症候群 (GBS) でも抗 gAChR 抗体陽性例が存在 (9/80 症例, 11.3%). 抗糖脂質抗体 (+) GBS (自律神経障害+) 群で最も多く抗 gAChR 抗体陽性例が存在した (5/26 症例, 19.2%). 抗 gAChR 抗体陽性 GBS 症例に共通の抗糖脂質抗体は認めなかった.
- 他の疾患において自律神経症状を呈し

た症例における抗 gAChR 抗体陽性の頻度は重症筋無力症で 16.7% (1/6 症例), 脳症で 33.3% (2/6 症例), シェーグレン症候群で 55.6% (5/9 症例) であった.

## 考察・結論

1. 本邦において初めての抗 gAChR 抗体測定系の樹立を行った. 本抗体陽性症例では抗体価は治療に反応して推移し, self-limited ではない可能性が示されている. 自律神経障害を呈する疾患の診断・治療に有用と考えられる.
2. 抗 gAChR 抗体陽性 AAG/APD では多様な自律神経症状のほか, 他の免疫疾患や腫瘍の合併・先行など, 自己免疫や腫瘍免疫の介在も示唆された. 症例蓄積継続が改めて重要であり, これまでの症例報告についても review が必要であろう.
3. この gAChR は自律神経節だけではなく, 後根神経節にも存在することが近年多数報告されている. 抗 gAChR 抗体陽性症例において感覚障害が発現する機序として, 本抗体が自律神経節と後根神経節において作用していることが推察される.
4. 自律神経障害を呈する神経疾患だけでなく, 原因不明の自律神経症状や疼痛を呈する内科疾患においても本抗体の測定は重要と考える. gAChR については他のサブユニット (・5・・2 サブユニットなど) に対する抗体, また脳症などを呈する場合には中枢神経系に存在する nicotinic AChR のサブユニット (・4・・2・・6・・7 サブユニットなど) 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

**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

# カイアシルシフェラーゼ免疫沈降 (GLIP) 法を利用した 多発性硬化症関連自己抗体の解析

研究分担者 松尾秀徳<sup>1)</sup>  
共同研究者 樋口 理<sup>2)</sup>, 中根俊成<sup>1,2)</sup>, 白石裕一<sup>3)</sup>, 福田卓<sup>3,4)</sup>, 成田智子<sup>1)</sup>,  
本村政勝<sup>3,5)</sup>, 新野正明<sup>6,7)</sup>, 菊地誠志<sup>7)</sup>, 深澤俊行<sup>8)</sup>

## 研究要旨

数多くある自己抗体の検出法の中で、その検出感度から近年支持を集めているのが cell-based assay (CBA)である。しかしながら、その解析結果の定量性と再現性、さらには、手技の煩雑さ等改良すべき点は少なくない。我々は、CBA が有する多くの利点を受け継ぐとともに、よりユーザーフレンドリーな新規自己抗体検査法としてカイアシルシフェラーゼ免疫沈降法 (GLIP 法)を開発した。視神経脊髄炎 (NMO) 関連自己抗体・抗 AQP4 抗体を解析対象として、GLIP 法と ELISA 法 (RSR 社製キット)間で検査結果の比較検討を実施し、GLIP 法が同抗体検出法として十分に有効であることを確認した。この結果をもとに、ATP 感受性内向き整流性カリウムチャネル (KIR4.1) に対する自己抗体と本邦の多発性硬化症 (MS) との関連性を明らかにする目的で、GLIP 法と既報の ELISA 法による抗 KIR4.1 抗体検査を実施した結果、対象とした MS 群および NMO 群の双方で当該抗体の陽性率は極めて低く、本邦の MS 症例と抗 KIR4.1 抗体の関連を強く支持する結果は得られなかった。

## 研究目的

下記の3つが本研究計画の目的である。

1. RSR 社製 ELISA Kit で抗 AQP4 抗体陽性もしくは陰性と判定されたヒト血清を対象にして、GLIP 法の有効性を確認する。
2. 本邦における典型的 MS 症例における抗 KIR4.1 抗体陽性率とそれら症例の臨床上的特徴を明らかにする。

- 
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. 長崎大学医学部 第一内科
  4. 東福岡和仁会病院
  5. 長崎総合科学技術大学 医療電子コース
  6. 北海道医療センター 臨床研究部
  7. 北海道医療センター 神経内科
  8. さっぽろ神経内科クリニック 神経内科

## 研究方法

### 【対象】

<抗 AQP4 抗体研究>

抗 AQP4 抗体研究に関しては、長崎大学医学部第一内科にて集積された 13 名の NMO 患者より採取した血清 18 検体と 21 名の健常人より採取した血清 21 検体を用いた。

<抗 KIR4.1 抗体研究>

抗 KIR4.1 抗体研究に関しては、McDonald 診断基準を満たす MS より得られた免疫治療前血清:57 例 (いずれも DMT 使用なし)、抗 AQP4 抗体陽性の NMO および NMOSD 例各 25 検体 (合計 50 検体)、さらには、健常人より得られた血清 50 検体を用いた。

### 【方法】

<抗 AQP4 抗体研究>

RSR社製ELISA kitによる抗AQP4抗体の測定に関しては、長崎大学の本村らがCosmic corporationに検査依頼して得られた測定結果を利用した。一方、GLIP法による抗AQP4抗体の測定については以下の通りである。ヒトAQP4(全長)のC末端にGLが融合したリポーター分子(AQP4-GL)をヒト培養細胞293Fに強制発現させ、AQP4-GLを可溶性画分として調製した。次に、可溶性画分とヒト血清を一定時間反応させた後、プロテインGセファロースによる免疫沈降を実施し、免疫沈降物中GL活性をルミノメータにより測定した。カットオフ値は健常人21例の血清の測定結果を基に設定した。

#### <抗KIR4.1抗体研究>

GLIP法で用いるリポータータンパク質として、ヒトKIR4.1とGLを融合したKIR4.1-GLを作製した。カットオフについては、健常群の血清から得られた測定値を基に、(平均値+4 x 標準偏差)を設定した。ELISA法に関しては、Hemmerらにより既報の論文(Srivastava et al. NEJM 2012)を参考にして系を構築した。なお、Hemmerらが構築したELISAシステムを我々が同様に構築できていることを確認するために、彼らを用いた合成ペプチドを特異的に認識する抗ペプチド抗体を作製し、陽性コントロールとして使用した。

臨床像の解析としては通常の疫学項目のほか、初発症状・症状・EDSS・MRI所見・髄液所見・合併症などを調査項目とした。なお、本研究に使用された患者血清については、各医療施設に設置された倫理委員会において承認された臨床研究計画書に基づき、本研究の主旨を十分に説明した上で同意書を取得済みである。

(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。

## 研究結果

### <抗AQP4抗体研究>

RSR社のELISA法で抗体陽性と判定された血清に関しては、GLIP法においても100%陽性という結果であった。一方、健常21血清に関してはいずれも陰性であった。本結果を受け、少なくとも、抗AQP4抗体に関してGLIP法はRSR社製ELISAキットと同程度に有効であることを確認した。

### <抗KIR4.1抗体研究>

MS群57症例60検体のうちGLIP法で抗KIR4.1抗体が陽性と判定されたのは2検体(2/60検体、臨床的感度3.3%)で、いずれも20歳代で発症したRRMSであり、臨床的には他のMS症例と比して際立った特徴を有していなかった。一方、ELISA法では1検体が陽性であった(1/60検体、臨床的感度1.7%)。本症例は43歳発症例のSPMSであり、他のMS症例と比しても際立った臨床的特徴を有していなかった。なお、対象として検査したNMO/NMOSD群ではGLIP法では全例陰性、ELISA法で1例の陽性検体を認めた。健常群ではいずれの検査法でも全例陰性であった。

## 考察・結論

### <抗AQP4抗体研究>

我々が開発した新規抗体検査技術であるGLIP法はELISA法とCBA法のそれぞれの長所を兼ね備えていることから、特に膜複数貫通蛋白質を抗原とする自己抗体検出に際しては威力を発揮する技術であると考えられる。

### <抗KIR4.1抗体研究>

本研究では、GLIP 法以外にも Hemmer らが論文内で発表している合成ペプチドを利用した ELISA 系も再試しており、本邦の MS 症例における抗 KIR4.1 抗体の陽性率が極めて低値であるという研究結果は、MS と抗 KIR4.1 抗体の関連性には人種差や地域差が存在する可能性を示唆する。

#### **健康危険情報**

なし

#### **知的財産権の出願・登録状況**

特許取得:なし

実用新案登録:なし

研究分担者： 東京医科歯科大学大学院 脳機能病態学

水澤 英洋

## 1 研究目的

非腫瘍随伴性免疫性小脳失調症は 1980 年代から知られるようになり、抗 GAD 抗体陽性小脳失調症、橋本脳症、そして、抗グリアジン抗体陽性小脳失調症の 3 病型がある。いずれも、50 歳以降に歩行失調を中心に発症し、症状に比して軽度の小脳しか示さず、免疫療法に効果がある点が特徴である。我々は、これらの疾患で出現する自己抗体の生理的な作用を検討し、病因としての可能性を検討した。

## 2. 研究方法

ラット・マウスの小脳スライス標本でのパッチクランプ法を用いて、患者髄液もしくはモノクローナル抗体の、シナプス伝達への作用を検討した。

(倫理面での配慮)

実験を行った日本医科大学の倫理委員会で、その承認を得た。

## 3. 研究結果および考察

1) 抗 GAD 抗体陽性小脳失調症は、抗 GAD 抗体が GABA の放出を阻害することで神経症状を発現すると考えられている。我々は、抗 GAD 抗体の標的分子と GABA 放出障害の生理機構を明らかにすることを目的とし、GAD65 ノックアウトマウス (KO) とワイルドタイプマウス (WT) を用いたスライスパッチクランプ法で、抗 GAD 抗体の作用を検討した。WT で見られた抗 GAD 抗体による抑制性シナプス伝達障害は、KO では消失していた。この結果は、抗 GAD 抗体は抑制性ニューロンの終末部の GAD を標的分子として作用していることを示唆する。

2) 抗 GAD 抗体陽性失調症は、上記の高力価型に加え、低力価型も知られている。そこで、抗 GAD 抗体が低力価陽性で小脳失調症を示した 6 症例の臨床像と抗 GAD 抗体の作用をスライスパッチクランプ法にて検討した。低力価陽性の小脳失調症は、高力価陽性の小脳失調症と比較して、臨床経過が緩徐であり、患者髄液中の抗 GAD 抗体もシナプス伝達を阻害しなかった。この結果は、両者において抗 GAD 抗体の認識部位が異なる可能性を示唆するものであり、低力価と高力価の小脳失調症は異なる機序で小脳失調症が生じている可能性が考えられた。

3) 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所、1 例において興奮性シナプス伝達が阻害された。その場合、1) 2 発刺激で起きる促通がより顕著になり、また、2) 終末部のグルタミン酸を枯渇させるような頻回刺激を行うと、興奮性電流の振幅が顕著に低下した。これらの結果は、小脳興奮性シナプスのグルタミン酸放出が阻害されたことを示している。橋本脳症の一部において、液性因子、おそらく抗体によるグルタミン酸放出障害が、小脳失調の原因になっている可能性が示唆される。

## 4. 研究結果の学際的・国際的・社会的意義について

今回の結果は、免疫性疾患の一部において、自己抗体が病因として作用している点を示すものである。抗体が小脳シナプス伝

達を阻害することを示すという今回の結果は、初めて得られた知見であり、国際的にも学術的価値が高い。また、小脳失調の一部が *treatable ataxia* であることを示し、社会的にも、その知見が還元されることが期待される。

## 5. 今後の展望

英国の調査によれば、孤発性小脳失調の中で免疫性小脳疾患が、占める割合は約30%という。本邦でも、広く全国調査を行い、頻度、病型分類等の疫学的な調査も行う予定である。

## 6. 結論

非腫瘍性免疫性小脳失調の一部では、抗体が小脳シナプス伝達を阻害し、これにより、小脳失調が発現する。

## 7. 研究発表

### 1) 国内

レビュー等による発表 1件

1 三苫 博、水澤英洋. 抗 GAD 抗体と神経疾患 日本臨床 2013; 71: 921-6.

### 2) 海外発

原著論文による発表 2件

1 Nanri k, Niwa H, Mitoma H, Takei A, Ikeda J, Harada T, Okada M, Takeguchi M, Taguchi T, Mizusawa H. Low-titer anti-GAD-antibody-positive cerebellar ataxia. *Cerebellum* 2013; 12: 171-175.

2 Mitoma H, Nanri K, Mizusawa H. Is anti-gliadin antibody pathogenic in gluten ataxia ? Analysis using rat

*cerebellar slices and patch-clamp recording. Brain Disorder and Therapy* 2013; 2: issue 2.

8. 知的所有権の出願・取得状況  
なし

研究分担者：長崎大学大学院医歯薬学総合研究科第一内科・神経内科)  
本村政勝

### 1. 研究目的

重症筋無力症 (MG) の発症機序を研究し、その診断・治療法を開発する。また、動眼神経炎症候群の提唱を行った。

### 2. 研究方法

今回は、以下の3つの研究方法を用いた。

(1) 本邦 MuSK 抗体陽性重症筋無力症の実態：JAMG-R 多施設共同コホート研究：筋特異的受容体型チロシンキナーゼ (muscle-specific receptor tyrosine kinase, MuSK) 抗体陽性の重症筋無力症 (myasthenia gravis; MG) は症例数が少なく、その頻度に関しては報告によってばらつきがある。我々はMGに関する多施設共同研究グループである Japan MG registry 研究会 (JAMG-R) の症例のコホートで、MuSK 抗体測定を行い、AChR 陽性MGと比較検討した。

(2) 当科における眼筋型重症筋無力症の治療成績：ステロイドパルス療法の有用性：眼筋型重症筋無力症 (myasthenia gravis: MG) の治療は一定していない。我々は眼筋型MGに対するステロイド治療の有効性を検討するため、当科の眼筋型MG患者に対する治療についてretrospectiveに解析を行った。

(3) 動眼神経炎症候群の提唱：自己抗体、MRI 画像、及びステロイド反応性の検討：動眼神経麻痺の原因として脳動脈瘤、糖尿病、バセドウ眼症、重症筋無力症などがあるが、未だ大部分は原因不明である。脳動脈瘤は生命予後と直結しており、緊急の鑑別が必要となる。また、動眼神経麻痺で生じる複視は、クオリティ・オブ・ライフ (Quality of Life, QOL) の低下を招き、入院治療を要する。今回、我々は、自験例を解析し、動眼神経炎症候群を提唱する。

(倫理面への配慮)

患者の血清サンプルや筋生検標本を用いる研究であるので、その取り扱いに関しては、倫理委員会を通じて患者情報保護を徹底する。

### 3. 研究結果および考察

(1) 本邦 MuSK 抗体陽性重症筋無力症の実態：JAMG-R 多施設共同コホート研究：AMG-R 多施設共同コホート研究その結果、1) 国内11施設に通院中の539例中 MuSK 抗体陽性は15例 (2.8%)、AChR 抗体陽

性は459例 (85.2%) だった。2) AChR 抗体陽性MGと比較して、MuSK 抗体陽性MGは女性が多く、発症年齢が若く、眼筋型が少なく、クリーゼ症例が多かった。また MuSK 抗体陽性MGでは胸腺異常は認めなかった。MuSK 抗体陽性MGの頻度はMG全体の2.8%で、これまでの報告と比べて少なかった。さらには、MuSK 抗体価と重症度には相関は認められなかった。今後は、治療反応と予後などに関しても検討していく。

(2) 当科における眼筋型重症筋無力症の治療成績：ステロイドパルス療法の有用性：24例の対象に対して12例でステロイドパルス療法を行っており、そのいずれでもステロイドパルス療法により症状の改善を認め、重篤な副作用を生じた例はなかった。また、当科を眼症状を主訴に受診したMG患者に対しステロイドパルスを行った症例の初期増悪について検討したところ14例中2例に初期増悪と思われる症状の増悪を認め、うち1例は球症状が出現したが、クリーゼには至らなかった。ステロイドパルス療法が治療抵抗性の眼筋型MGの寛解導入に有用である可能性が示唆された。

(3) 動眼神経炎症候群の提唱：自己抗体、MRI 画像、及びステロイド反応性の検討：今回、我々は、MRI 画像で動眼神経に形態学的に異常を呈し、ステロイドパルスが著効した4症例を経験した。以上より、MRI 撮像法を工夫することと自己抗体を検索することで、これまで原因不明と考えられていた特発性動眼神経麻痺の病態解明と治療方針の決定に大いに貢献すると考え、動眼神経炎症候群を提唱する。

### 4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

神経内科グループは、本邦の重症筋無力症 (MG)・Lambert-Eaton筋無力症候群 (LEMS) を診断・治療・研究する上で、センターとしての役割を担っている。現在、この疾患のネットワークを活用し、MG、LEMSなどの自己抗体病を中心とした研究を行なっている。また、本邦では、このように継続的に神経筋接合部疾患の研究を行っている施設はほとんど無い。

### 5. 今後の展望

(1) 本邦 MuSK 抗体陽性重症筋無力症の実態：JAMG-R 多施設共同コホート研究：これまでの研究は、



後ろ向きであったので、今後は前向き研究を行い、得られた結果のエビデンスレベルを高くしていきたい。

(2) 当科における眼筋型重症筋無力症の治療成績：ステロイドパルス療法の有用性：今回の結果を受けて、論文作製を行う。

(3) 動眼神経炎症候群の提唱：自己抗体、MRI 画像、及びステロイド反応性の検討：今回の結果を受けて、論文作製を行う。

## 6. 結論

今後、新しい自己抗体測定法を開発し、MG の診断・治療に役立てたいと考えている。

## 6. 研究発表

### 1) 国内

口頭発表 (18) 件  
原著論文による発表 (3) 件  
それ以外 (レビューなど) の発表 (17) 件

### 1) 国内

口頭発表 62 件  
(2013 年:16 2012 年:23 2011 年:23)  
原著論文による発表 4 件  
(2013 年:2 2012 年:1 2011 年:1)  
それ以外 (レビュー等) の発表 24 件  
(2013 年:9 2012 年:10 2011 年:5)  
そのうち主なもの (5 件程度)

#### 論文発表

1) 本村政勝, 樋口理: 重症筋無力症の進歩: Lrp4 抗体陽性 MG の発見. 臨床神経 52(11):1303-1305, 2012

2) 本村政勝: 重症筋無力症治療の基本. 神経治療学, 29(5):596, 2012

#### 学会発表

1) 第 54 回 日本神経学会学術大会  
2013. 5. 29-6/1

本村政勝, 吉村俊祐, 吉村俊郎, 成田智子, 中田るか, 向野晃弘, 宮崎禎一郎, 中嶋秀樹, 福田 卓, 川上 純, 江口円俊, 樋口 理, 辻畑光宏  
受動免疫性重症筋無力症ラットの神経筋接合部分分子病態

2) 第 54 回 日本神経学会学術大会  
2013. 5. 29-6/1

中田るか, 本村政勝, 成田智子, 吉村俊祐, 向野晃弘, 中嶋秀樹, 宮崎禎一郎, 吉村俊郎, 川上 純  
本邦の小児 MuSK 抗体陽性重症筋無力症の検討

3) 第 300 回 日本内科学会 九州地方会  
2013. 1. 12

宮崎禎一郎, 本村政勝, 成田智子, 中嶋秀樹, 中田るか, 吉村俊祐, 向野晃弘, 中村龍文, 川上 純  
当科における眼筋性重症筋無力症の治療成績: ステロイドパルスを含めたステロイド治療の有用性

## 2) 海外

口頭発表 6 件  
(2013 年:2 2012 年:3 2011 年:1)  
原著論文による発表 16 件  
(2013 年:3 2012 年:5 2011 年:8)  
それ以外 (レビュー等) の発表 0 件  
そのうち主なもの (5 件程度)  
論文発表

1) Takamori M, Nakamura T, Motomura M. Antibodies against Wnt receptor of muscle-specific tyrosine kinase in myasthenia gravis. J Neuroimmunol. 254(1-2):183-186, 2013.

2) Nakata R, Motomura M, Masuda T, Shiraishi H, Tokuda M, Fukuda T, Ando T, Yoshimura T, Tsujihata M, Kawakami A. Thymus histology and concomitant autoimmune diseases in Japanese patients with muscle-specific receptor tyrosine kinase-antibody-positive myasthenia gravis. Eur J Neurol. 20(9):1272-1276, 2013.

3) Masuda T, Motomura M, Utsugisawa K, Nagane Y, Nakata R, Tokuda M, Fukuda T, Yoshimura T, Tsujihata M, Kawakami A: Antibodies against the main immunogenic region of the acetylcholine receptor correlate with disease severity in myasthenia gravis. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 83(9):935-940, 2012

#### 学会発表

1) Yoshimura T, Motomura M, Iwanaga H, Hukuda T, Tujino A, Masuda T, Yoshimura S, Kawakami A, Tsujihata M: MORPHOMETRIC ANALYSIS OF MOTOR END-PLATES IN PATIENTS WITH CIBENZOLINE SUCCINATE OVERDOSE AND LAMBERT EATON MYASTHENIC SYNDROME.

12<sup>th</sup> International Conference on Myasthenia Gravis and Related Disorders. (ポスター発表) 2012. 5

2) Yoshimura S, Yoshimura T, Motomura M, Myazaki T, Nakata R, Nakajima H, Fukuda T: FINE STRUCTURE OF THE NEUROMUSCULAR JUNCTION IN PATIENTS WITH ANTI-LRP4 ANTIBODY-POSITIVE MYASTHENIA GRAVIS. 12<sup>th</sup> International Conference on Myasthenia Gravis and Related Disorders. (ポスター発表) 2012. 5

3) Motomura M, Masuda T, Utsugisawa K, Nagane Y, Tokuda M, Yoshimura T, Tsujihata M, Kawakami A: ANTI-BODIES BINDING TO THE MAIN IMMUNOGENIC REGION OF THE NICOTINIC ACETYLCHOLINE RECEPTORS CORRELATE MYASTHENIA GRAVIS SEVERITY. 12<sup>th</sup> International Conference on Myasthenia Gravis

and Related Disorders. (ポスター発表) 2012.5

なし

(2) 実用新案登録

なし

8. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

(3) その他

(1) 特許取得

なし

分担研究者：(独)国立精神神経医療研究センター  
神経研究所 免疫研究部  
：氏名 山村 隆

## 研究目的

Neuromyelitis Optica (NMO)は重症の視神経炎や3椎体以上の長い脊髄炎病巣を特徴とする中枢性の炎症性脱髄疾患であり、抗Aquaporin-4 (AQP4)抗体が高率に検出される。再発抑制治療や疼痛に対する治療に抵抗性の一部の症例が問題となっている。過去に我々は抗AQP4抗体の産生細胞としてPlasmablast (PB)を同定し、その増殖維持にIL-6が重要な役割を担うことを明らかにした。この結果よりIL-6シグナルを抑える薬理効果を有する抗IL-6受容体抗体tocilizumab(TCZ)を新規のNMO治療薬の候補として定め、その臨床効果と安全性および免疫学的機序を検討した。

## 2. 研究方法

NCNP倫理委員会の承認を得て、通常治療に抵抗性を示す、または副作用のため通常治療の継続が困難な患者に対して月1回TCZ 8mg/kg投与の効果を評価する臨床研究を実施した(SET-NMO; UMIN00005889, UMIN00007866)。臨床効果は、再発回数(Annualized relapse rate; ARR)、総合障害度評価尺度(Expanded disability status scale; EDSS)、痛みと疲労の評価尺度(Numerical rating scale; NRS)を用いて評価した。また抗AQP4抗体価などの免疫学的指標についても検討した。

(倫理面への配慮)倫理委員会の審査を経て、文書による同意を得て行った。

## 3. 研究結果および考察

1年以上投与を行った8名の患者のARRは $2.8 \pm 1.0$ から $0.4 \pm 0.7$ に減少し、EDSSは $4.9 \pm 1.7$ から $4.1 \pm 1.5$ に有意に改善した。慢性疼痛と疲労もNRSで各々 $3.5 \pm 2.0$ から $1.6 \pm 2.4$ ,  $6.0 \pm 1.9$ から $3.3 \pm 1.5$ に有意に改善した。免疫学的パラメーターの解析では、TCZ初回投与後にPB頻度が速やかに低下する症例を認め、抗AQP4抗体価はTCZ投与前に比して全患者で低下した。以上の結果から、IL-6受容体シグナルを阻止するTCZにより治療効果を示したことが証明された。有害事象については、感染症(急性胃腸炎, 上気道炎, 急性腎盂炎)、白血球・リンパ球減少、貧血を認めたが、いずれも重篤ではなかった。

## 4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

TCZは他の免疫治療で治療効果が得られなかった難治症例への効果が見られた点に加え、慢性の神経障害性疼痛に対して効果を示した。IL-6阻害剤の他の疾患への応用が期待される。

## 5. 今後の展望

今後は、長期試験での有効性と安全性を確認する必要がある。また、NMOと類似した免疫病態を呈する患者への効果を検討するため、「再発寛解型多発性硬化症における抗インターロイキン6受容体抗体治療の有効性と安全性に関する研究(UMIN000012705)」が現在進行中である。

## 6. 結論

TCZは難治性NMOに対する治療オプションとして有用である。病態改善に加え難治性疼痛に効果を示した。今後、他疾患への応用が期待できる。

## 7. 研究発表

### 国内

口頭発表 (98) 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 (6) 件

### そのうち主なもの

#### 発表論文

1. 三宅幸子, 山村隆: 多発性硬化症. 実験医学 29(10)増刊:180-186, 2011
2. 千原典夫, 山村隆: ここまでわかった自己免疫疾患-多発性硬化症・視神経脊髄炎. 臨床検査 55:1241-1248, 2011
3. 千原典夫, 山村隆: 視神経脊髄炎 (NMO) における自己抗体産生細胞. 医学のあゆみ. 24:534-535, 2012
4. 山村隆: 多発性硬化症. 神経疾患最新の治療 2012-2014, 南江堂 (編集 小林祥泰, 水澤英洋), 166-169, 2012
5. 山村隆: 最近の多発性硬化症 (MS) の動向. 質疑応答 QA 日本医事新報. 4590: 56-57, 2012
6. 千原典夫, 山村隆: 多発性硬化症および関連疾患における IL-6 の役割. 感染炎症免疫 42: 12-19, 2012
7. 荒木学, 山村隆: NMO における免疫バランス. 神経内科 76: 576-583, 2012
8. 山村隆: 総論 神経免疫疾患の現状と課題. Medical Science Digest 38:638-639, 2012
9. 荒木学, 山村隆: NMO における免疫バランス. 神経内科 76:6, 576-583, 2012
10. 山村隆, 佐藤和貴郎: 多発性硬化症の炎症病態と CCR2+CCR5+ Th1 細胞. 最新医学 68:866, 1344-1353, 2013
11. 佐藤和貴郎, 山村隆: MS と NMO の発症メカニズムはどこまでわかったか. Pharma Medica 31:6, 23-26, 2013

#### 学会発表

1. 山村隆: 多発性硬化症と消化管免疫. ホットトピックス 2-2. 多発性硬化症の最新の病態と治療. 第 52 回日本神経学会学術大会. 名古屋 (2011 年 5 月 18 日)
2. 山村隆: MS/NMO に対する抗体療法の可能性. シンポジウム「神経疾患に対する抗体療法」第 52 回日本学術大会. 名古屋 (2011 年 5 月 20 日)

3. 千原典夫, 荒浪利昌, 林幼偉, 岡本智子, 小川雅文, 戸田達史, 山村隆: 視神経脊髄炎 (NMO) における未熟形質細胞の関与. 第 52 回日本神経学会学術大会. 名古屋 (2011 年 5 月 20 日)
4. 山村隆: 中枢神経系自己免疫病態の多様性. 第 35 回阿蘇シンポジウム 自己免疫疾患 - その病態解明と治療の進歩- 阿蘇 (2011 年 7 月 30 日)
5. 山村隆, 荒浪利昌, 大木伸司, 三宅幸子, : 多発性硬化症: 自己免疫病仮説の再検証. 第 39 回日本臨床免疫学会総会・学術集会 6 学会合同特別シンポジウム, 東京 (2011 年 9 月 16 日)
6. 千原典夫, 荒浪利昌, 林幼偉, 岡本智子, 小川雅文, 戸田達史, 山村隆: 視神経脊髄炎 (NMO) における plasmablasts の関与. 第 23 回日本神経免疫学会, 東京 (2011 年 9 月 17 日)
7. 荒木学, 荒浪利昌, 松岡貴子, 中村雅一, 三宅幸子, 岡本智子, 村田美穂, 山村隆: Tocilizumab が著効した Neuromyelitis Optica の 1 例. 第 24 回日本神経免疫学会学術集会, 軽井沢 (2012 年 9 月 20 日)
8. 荒木学, 荒浪利昌, 松岡貴子, 中村雅一, 三宅幸子, 岡本智子, 村田美穂, 山村隆: Tocilizumab が著効した Neuromyelitis Optica の 1 例. 第 24 回日本神経免疫学会, 軽井沢 (2012 年 9 月 20 日~21 日)
9. Takashi Yamamura: The role of IL-6 dependent plasmablasts in the pathogenesis of NMO. 第 54 回日本神経学会. 東京 (2013 年 5 月 31 日)
10. 荒木学, 松岡貴子, 中村雅一, 三宅幸子, 岡本智子, 村田美穂, 荒浪利昌, 山村隆: 視神経脊髄炎に対する Tocilizumab 療法. 第 41 回日本臨床免疫学会総会, 下関 (2013 年 11 月 27 日~29 日)
11. 荒木学, 松岡貴子, 荒浪利昌, 中村雅一, 岡本智子, 村田美穂, 三宅幸子, 山村隆: 難治性 Neuromyelitis Optica に対する抗 IL-6 受容体抗体 tocilizumab の臨床効果の検討. 第 25 回日本神経免疫学会学術集会. 下関 (2013 年 11 月 27 日~29 日)

### (2) 海外

口頭発表 (56) 件

原著論文による発表 (20) 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  
発表論文

1. Miyazaki Y, Miyake S, Chiba A, Lantz O, Yamamura T: Mucosal-associated invariant T cells regulate T helper type 1 response in multiple sclerosis. *Int Immunol* 23:529-535, 2011
2. Sanvito L, Tomita A, Chihara N, Okamoto T, Ogawa M, Gran B, Aranami T. Yamamura T: Increase of Ki-67+ natural killer cells in multiple sclerosis patients treated with interferon- and interferon-β combined with low-dose oral steroids. *J Neuroimmunol* 236: 111-117, 2011
3. Chiba A, Tajima R, Tomi C, Miyazaki Y, Yamamura T, Miyake S: Mucosal-associated invariant T cells promote inflammation and exacerbate disease in murine models of arthritis. *Arthritis Rheum* 64: 153-161, 2012
4. Ichikawa D, Mizuno M, Yamamura T, Miyake S: Gene related to anergy in lymphocytes (GRAIL) regulates cytoskeletal reorganization through ubiquitination and degradation of Arp2/3-5 and coronin 1A. *J Biol Chem* 286:43465-74, 2011
5. Chiba A, Mizuno M, Tomi C, Tajima R, Alloza I, di Penta A, Yamamura T, Vandenbroeck K, Miyake S: A 4-trifluomethyl analogue of celecoxib inhibits arthritis by suppressing innate immune cell activation. *Arthritis Res Ther* 14:R9, 2012
6. Toba T, Murata K, Futamura J, Nakanishi K, Takahashi B, Takemoto N, Tomino M, Nakatsuka T, Seiichi Imajo S, Goto M, Yamamura T, Miyake S, Annoura H: Synthesis and biological evaluation of truncated α-galactosylceramide derivatives focusing on cytokine induction profile. *Bioorg & Medic Chem* 20:2850-2859, 2012
7. Yamamura T, Miyake S: Editorial. B-cell-directed therapy. Which B cells should be targeted and how? *Immunother* 4:1-3, 2012
8. Kawazoe T, Araki M, Lin Y, Ogawa M, Okamoto T. Yamamura T, Wakakura M, Murata M: new-onset type 1 diabetes mellitus and anti-aquaporin-4 antibody positive optic neuritis associated with type 1 interferon therapy for chronic hepatitis C. *Intern Med* 51: 2625-2629, 2012
9. Sato W, Tomita A, Ichikawa D, Lin Y, Kishida H, Miyake S, Ogawa M, Okamoto T, Murata M, Kuroiwa Y, Aranami Yamamura T: CCR2+CCR5+ T cells produce matrix metalloproteinase-9 and osteopontin in the pathogenesis of multiple sclerosis. *J. Immunol.* 189: 5057-5065, 2012
10. Araki M, Aranami T, Matsuoka T, Nakamura M, Miyake S, Yamamura T: Clinical improvement in a patient with neuromyelitis optica following therapy with anti-IL-6 receptor monoclonal antibody tocilizumab. *Mod Rheum* 23.4: 827-831, 2013
11. Ayzeberg I, Kleiter I, Schroder A, Hellwig K, Chan A, Yamamura T, Gold R: Interleukin-6 receptor blockade in neuromyelitis optica patients non-responsive to anti-CD20 therapy. *JAMA Neurol* 70:394-397, 2013
12. Raveney BJE, Oki S, Yamamura T: NR4A2 orchestrates pathogenic Th17 development and initiates autoimmune inflammation. *PLOS ONE* 8: e56595, 2013
13. Noto D, Sakuma H, Takahashi K, Saika R, Saga R, Yamada M, Yamamura T, and S Miyake: Development of a culture system to induce microglia-like cells from hematopoietic cells. *Neuropathol Appl Neurobiol* Epub ahead of print 2013
14. Chihara N, Aranami T, Oki S, Matsuoka T, Nakamura M, Kishida H, Yokoyama K, Kuroiwa Y, Hattori N, Okamoto T, Murata M, Toda T, Miyake S, and Yamamura T: Plasmablasts as migratory IgG producing cells in the pathogenesis of neuromyelitis optica. *PLOS One* 8:12, e83036, 2013
15. Nakamura M, Matsuoka T, Chihara N, Miyake S, Sato W, Araki M, Okamoto T, Lin Y, Ogawa M, Murata M, Aranami T, and

Yamamura T: Differential effects of fingolimod on B-cell populations in multiple sclerosis. *Mutiple Sclerosis J*, Epub ahead of print, 2014

#### 学会発表

1. Chihara N, Aranami T, Sato W, Miyazaki Y, Miyake S, Okamoto T, Ogawa M, Yamamura T: Interleukin 6 signaling enhances anti-aquaporin 4 autoantibody production from plasmablasts in neuromyelitis optica. FOCIS 11th annual meeting, Washington DC, USA, 6.24, 2011
  2. Yamamura T: IL-6 targeting therapy in neuromyelitis optica (NMO). Neuromyelitis optica round table conference. A rare approach to a rare disease. Hilton LA Airport. Los Angeles, CA, USA, 11.7, 2011
  3. Yamamura T: State of the Art: Mechanisms of Neuroinflammation in Neuromyelitis Optica. TS Srinivasan Knowledge Conclave 2012, Neuroinflammation: A global approach, Chennai, India, 2.10, 2012
  4. Yamamura T: IL-6 signaling as therapeutic target in CNS autoimmunity. Member Society Symposium: Understanding Pathways of Immune-mediated Injury. Sponsored by JSI. FOCiS 2012, Vancouver, Canada, 6.20, 2012
  5. Chihara N, Oki S, Matsuoka T, Sato W, Lin Y, Okamoto T, Ogawa M, Toda T, Miyake S, Aranami T. Yamamura T: Activated plasmablasts migrate to the central nervous system. 12<sup>th</sup> Annual Conference of FOCIS. Vancouver, Canada, 6.20, 2012
  6. Yamamura T: IL-6 signaling as therapeutic target in CNS autoimmunity. FOCiS 2012 Vancouver, Canada 6.20, 2012
  7. Araki M, Aranami T, Matsuoka T, Nakamura M, Okamoto T, Murata M, Miyake S, Yamamura T: Clinical efficacy of anti-IL-6 receptor monoclonal antibody tocilizumab in three patients with neuromyelitis optica ECTRIMS 2012, Lyon, France, 10.12, 2012
  8. Yamamura T: Efficacy of Tocilizumab for neuromyelitis optica (NMO). 2012 Neuromyelitis optica roundtable conference. A rare approach to a rare disease. Hilton LA Airport. Los Angeles, USA, 10.23, 2012
  9. Yamamura T: Identifying therapeutic target in the CNS autoimmune disease: The case of neuromyelitis optica (NMO). 2012 International Conference of Inflammation, Cancer, and Metabolic Syndrome, Academia Sinica, Taipei, Taiwan, 11.3, 2012
  10. Araki M, Matsuoka T, Aranami T, Nakamura M, Okamoto T, Murata M, Miyake S, Yamamura T: Exploring anti-IL6 receptor monoclonal antibody tocilizumab in neuromyelitis optica. ECTRIMS 2013 Copenhargen, Denmark, 10.4, 2013
  11. Araki M, Matsuoka T, Aranami T, Nakamura M, Okamoto T, Murata M, Miyake S, Yamamura T: Clinical Efficacy of Anti-IL-6 Receptor Monoclonal Antibody Tocilizumab in Patients with Neuromyelitis Optica. PACTRIMS 2013, Kyoto, Japan, 11.7, 2013
8. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）  
特許取得：  
再発寛解型多発性硬化症（RRMS）患者の治療予後予測方法、及び新規治療適応判断方法  
特願 2013-122845  
実用新案登録 なし  
その他 なし

研究分担者： 金沢大学保健管理センター  
吉川弘明

## 1. 研究目的

重症筋無力症 (MG) 患者の発症に関わる自己抗体の役割解明とバイオマーカーの示す意味を明らかにするとともに、MGの臨床症状の推移に及ぼす環境因子の関与を疫学的見地から解明する。

## 2. 研究方法

1)  $\alpha 3$  サブユニットより構成される神経型アセチルコリン受容体を安定過剰発現しているヒト胎児腎臓由来培養細胞 HEK293 に対して、ラット由来抗  $\alpha 3$  抗体を処置して受容体機能障害の機序を検討した。

2) MG 患者における血中 GFR78 (glucose-regulated protein 78) 濃度の測定を行った。

3) 金沢大学附属病院通院中の MG 患者のアセチルコリン受容体抗体 (AChR Ab) 価の推移を長期的に解析し、その変動に因果関係があるのかを疫学的に解析した。

4) 平成 19 年の能登半島震災後の神経難病患者の心理状態をアンケートにより調査した。

(倫理面への配慮)

本研究は、金沢大学医学倫理審査委員会の承認を得て行った。

## 3. 研究結果および考察

1) ラット由来抗  $\alpha 3$  抗体は HEK293 細胞表面に発現する  $\alpha 3$  への結合とエンドサイトーシスを誘起した。さらに、細胞表面に発現する機能性神経型アセチルコリン受容体数が減少した。以上より、抗  $\alpha 3$  自己抗体が神経節におけるシナプス伝達障害を引き起こすことで、臨床症状が発現している可能性が示唆された。

2) MG では血中 GRP78 が上昇していることがわかり、さらに GRP78 濃度が高い症例は免疫抑制薬により AChR Ab が速やかに低下することがわかった。治療反応性の評価に有用であると考えられた。

3) 2007 年から 2012 年の 5 年間で、AChR Ab の上昇現象は 2 回認められた。また、抗体価の上昇と症状悪化、ならびに新規入院患者の増加には関連があることがわかった。

4) 平成 19 年の能登半島地震の際には、自己免疫疾患よりも変成疾患が、末梢神

経疾患よりも中枢神経疾患が、患者の心理的障害が大きいことがわかった。

## 4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

本研究は実験結果においても疫学調査の面でも国内外でこれまで発表されていなかった新しい知見であり、学術的な意味は高く、また英文誌に掲載されたため海外の研究の発展にも貢献するものと思われる。また、震災後の患者の心理状態の解析は、今後おこりうる災害に対する備えをする上で、有用な知見を提供してくれ、その社会的意義は高いと思われる。

## 5. 今後の展望

さらに研究を進め、抗体依存性自己免疫疾患の病態とその診断・重症度マーカーの解明、利用をすすめるとともに、疫学調査の中から、疾患の診断・治療に対して医療リソース・社会福祉をどのように活用していくかの、有効な方策を探っていきたい。

## 6. 結論

MG の病態に関わる自己抗体の役割と、治療反応性を知るバイオマーカーを見つけることに貢献できた。また、MG の症状を誘発する環境因子の推定ならびに災害発生時の患者対応について、重要な因子を疫学的に検討することが出来た。

## 7. 研究発表

(1) 国内  
口頭発表 (5) 件  
原著論文による発表 (3) 件  
それ以外 (レビュー等) の発表 (9) 件  
そのうち主なもの  
発表論文

1. 吉川弘明：重症筋無力症と妊娠・出産 神経内科 78, 5: 514-519, 2013
2. 吉川弘明：抗アセチルコリン受容体抗体 検査値を読む 2013 内科 111, 6: 1388-1389, 2013  
学会発表
1. 岩佐和夫、吉川弘明、古川裕、本崎裕子、山田正仁：重症筋無力症における血清中 BiP/GRP78 蛋白濃度。第 52 回日本神経学会学術大会 2011.5.20 名古屋

2. 岩佐和夫、吉川弘明、小野賢二郎、濱口 毅、篠原もえ子、佐村木美晴、中村裕之、山田正仁：重症筋無力症通院患者における 2012 年上半期の抗アセチルコリン受容体抗体価の上昇現象。第 54 回日本神経学会学術大会、東京、2013.5.29
3. 岩佐和夫、吉川弘明、小野賢二郎、濱口 毅、篠原もえ子、佐村木美晴、中村裕之、山田正仁：重症筋無力症患者における抗アセチルコリン受容体抗体価の 5 年間にわたる時系列推移。第 25 回日本神経免疫学会学術集会、下関、2013.11.27
  - (2) 海外
 

口頭発表	(4) 件
原著論文による発表	(8) 件
それ以外（レビュー等）の発表	(0) 件

 そのうち主なもの  
発表論文
  1. Yoshikawa H, Kiuchi T, Saida T, Takamori M. Randomised, double-blind, placebo-controlled study of tacrolimus in myasthenia gravis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011;82:970-977.
  2. Kobayashi S, Yokoyama S, Maruta T, Negami M, Muroyama A, Mitsumoto Y, Iwasa K, Yamada M, Yoshikawa H. Autoantibody-induced internalization of nicotinic acetylcholine receptor  $\alpha 3$  subunit exogenously expressed in human embryonic kidney cells. *J Neuroimmunol.* 2013;257(1-2):102-6.
  3. Kobayashi S, Yokoyama S, Maruta T, Muroyama A, Yoshikawa H, Mitsumoto Y. Attenuation of nicotine-evoked  $Ca^{2+}$  influx by antibody to the nicotinic acetylcholine receptor  $\alpha 3$  subunits in human embryonic kidney cells. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2013, 4, 1-14.
  4. Negami M, Maruta T, Takeda C, Adachi Y, Yoshikawa H. Sympathetic skin response and heart rate variability as diagnostic tools for the differential diagnosis of Lewy body dementia and Alzheimer's disease: a diagnostic test study. *BMJ Open* 2013;3:e001796.
  5. Iwasa K, Yoshikawa H, Samuraki M, Shinohara M, Hamaguchi T, Ono K, Nakamura H, Yamada M. Myasthenia gravis: Predictive factors associated with the synchronized elevation of anti-acetylcholine receptor antibody titer in Kanazawa, Japan. *J Neuroimmunol* 2014; 267, 97-101.
    - 学会発表
      1. Iwasa K, Kato-Motozaki Y, Furukawa Y, Maruta T, Ishida C, Yoshikawa H, Yamada M.: UP-REGULATION OF MHC CLASS I AND CLASS II IN THE SKELETAL MUSCLES OF MYASTHENIA GRAVIS 12th International Conference on Myasthenia Gravis and Related Disorders New York, USA May 21-23, 2012
      - 8 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）
        - (1) 特許取得
          1. 胸腺腫合併重症筋無力症の診断方法 特許番号 4734647 登録年月日 2011/05/13
          2. レビー小体型認知症の判定方法、判定装置並びにプログラム 特許番号 5252345 登録年月日 2013/04/26
          3. 心筋障害の検査方法 特許番号 5370969 登録年月日 2013/09/27
        - (2) 実用新案登録  
なし
        - (3) その他  
なし



研究分担者： 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 神経内科・老年病学  
渡邊 修

## 【抗 VGKC 複合体抗体の疫学・病態解析】

### 1. 研究目的

抗 VGKC 複合体抗体 (VGKC-Ab) が関連する疾患は、末梢神経の過剰興奮症状による Isaacs 症候群 (IS) から、亜急性の自己免疫性辺縁系脳炎 (VGKC-LE) まで、多岐にわたる。また、末梢神経の過剰興奮症状に加え、不整脈に伴う失神や重篤な便秘など自律神経症状、不眠や失見当識などの中枢神経症状を合併する稀な疾患である Morvan 症候群 (MoS) もこれに含まれる。これらの疾患の我が国における発生頻度など疫学は明らかになっていない。抗 VGKC 複合体抗体のスクリーニングを依頼された検体・臨床情報から、頻度などを明らし、それぞれにおける自己抗体の真の標的抗原を明らかにする。IS については、臨床像、電気生理所見、血清学的診断を中心とした暫定診断基準を作成する。

### 2. 研究方法

平成 21 年以降、25 年 10 月までに依頼を受けた延べ 1085 件を対象とした。抗 VGKC 複合体抗体 >400pM で抽出を行った。ラット海馬初代培養神経細胞表面に反応する自己抗体を認めた場合は、質量分析を用いて、新規標的抗原を同定した。対照も含め 246 検体で、既知の LGI-1、Caspr-2 に加え、新たに同定した標的抗原のうち主要なもの (DCC および DPP10) に対して、Cell-Based を用いた免疫生化学的定性試験と Cell-Based ELISA による定量試験を行った。本研究は、鹿児島大学の倫理規定を遵守して行った。

### 3. 結果および考察

Isaacs症候群 抗VGKC複合体抗体の陽性率 (H21年1月-H25年10月)				
	抗体測定依頼件数	Isaacs症候群検体数	抗体陽性検体数	抗体陽性率%
H21年	255	31	10	32.3
H22年	229	48	21	43.8
H23年	283	47	13	27.7
H24年	318	59	18	30.5
H25年	439	72	19	26.4
合計	1085	257	81	32.1

陰性検体は、単回測定に止まり、陽性検体は、経過を追うために複数回測定依頼がある。

H21 年以降の当科にスクリーニング検査依

頼があった 1085 検体中、Isaacs 症例検体は 257 で、うち 81 検体 (32.1%) のみが抗体陽性であった。IS について下記の暫定診断基準を作成した。

#### 【Isaacs 症候群診断基準 (暫定案)】

##### 主要症状・所見

1. 睡眠時も持続する四肢・軀幹の持続性筋けいれんまたは筋硬直 (必須)
2. myokymic discharge, neuromyotonic discharge など筋電図で末梢神経の過剰興奮を示す所見
3. 抗 VGKC 複合体抗体 (抗 Kv 抗体、抗 Caspr2 抗体、抗 LGI1 抗体など) が陽性
4. ステロイド療法やその他の免疫療法、血漿交換などで症状の軽減が認められる。

##### 支持症状・所見

1. 発汗過多
2. 四肢の痛み・異常感覚
3. 胸腺腫の存在
4. 皮膚色調の変化
5. 自己抗体の存在 (抗 AChR 抗体、抗核抗体、抗甲状腺抗体など)

##### 診断

##### 確定 (definite)

主要症状・所見のうちすべてを満たす。

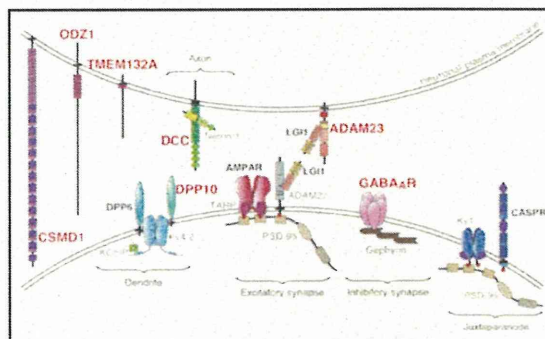
##### 可能性が大きい (probable)

主要症状・所見のうち、1 と 2 または 1 と 3 または 1 と 4 を満たす。

##### 疑い (possible)

主要症状・所見のうち 1 を満たし、かつ支持症状・所見の 1 つ以上が見られる。

抗 VGKC 複合体抗体関連疾患において、6 つの新規抗原 (DCC、DPP10、TMEN132A、ODZ1、CSMD1、GABA<sub>A</sub>R、ADAM23) を同定した。



新たに開発した Cell Based ELISA による各抗体の定量により、臨床徴候の関連を明らかにした。LGI-1 抗体は、記憶障害と強くリンクし、Caspr-2 抗体は、筋けいれんと胸腺腫に関連していた。DCC 抗体は、胸腺腫と重

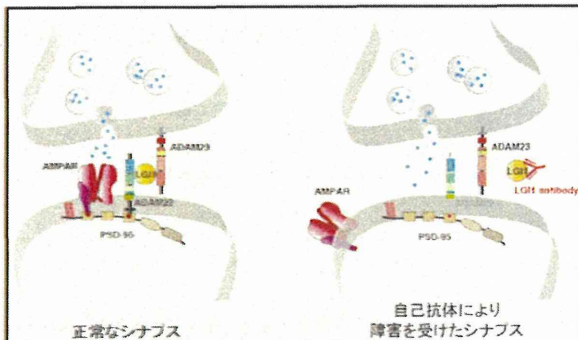
症筋無力症の合併例に認められた。

さらに LGI-1 抗体の機能解析を行ったところ、この抗体により、LGI-1 とその受容体で

	LGI-1		LGI-1 antibody		CASPR-2		DCC		DFP10		
	n=365	n=34	n=28	n=28	n=12	n=12	n=12	n=5	n=5	n=5	
<b>臨床徴候</b>											
記憶障害	27	21	0.0004	25	0.0006	4	NS	5	NS	3	NS
視覚	32	29	0.0006	22	0.0187	4	NS	5	NS	3	NS
てんかん	32	29	0.0052	21	0.0002	2	NS	1	NS	1	NS
ニューロジェネシス	42	6	NS	7	NS	11	<0.0001	7	0.0004	4	0.0255
四肢麻痺	38	6	0.0372	3	NS	10	<0.0001	10	<0.0001	4	0.0038
遠近視力減	5	1	NS	0	NS	3	0.004	5	<0.0001	2	0.0002
自律神経障害	27	6	NS	4	NS	6	0.0173	5	NS	3	NS
VGKC-Ab (+/42%)	39	32	<0.0001	26	<0.0001	11	0.0016	11	0.0016	4	NS
<b>診断</b>											
辺縁系脳炎	39	29	<0.0001	26	<0.0001	3	NS	4	NS	1	NS
MS/MS	35	5	NS	7	NS	9	<0.0001	7	0.0006	3	NS
その他	31	0	NS	0	NS	0	NS	1	NS	1	NS

ある ADAM22 との結合が阻害されることを明らかにした。その結果、AMPA 型グルタミン酸受容体の数の減少が引き起こされることを明らかにした。

IS 症例での抗 VGKC 複合体抗体陽性率は、約 3 割であるが、抗体陽性者のうち 7 割弱が、未知の抗原に対しての自己抗原を有している。



また 2 割強で、中枢神経症状に関与する抗 LGI-1 抗体が陽性であった。IS においては、感度のよい疾患マーカーなど未解明な部分も多い。VGKC-LE 群では、約 8 割で抗 LGI-1 抗体が陽性であり、この抗体が病態と強く関連している。AMPA 受容体を介したシナプス伝達の制御機構は記憶、学習の根幹を成すと考えられていることから、LGI1 抗体による AMPA 受容体機能制御の破綻は辺縁系脳炎の記憶障害やてんかん症状を引き起こすと考えられる。

#### 4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

自己抗体の疾患マーカーとしての有用性のみならず、LGI-1 抗体が、間接的にシナプスでの AMPA 型受容体の機能を損なうという知見は、自己抗体による記憶障害やてんかん発症の病態を明らかにするのである。

#### 5. 今後の展望

IS については、今回作成した診断基準をもとに疫学を進展させることが出来る。また今回の新規抗原を同定した手法を用いて、他の神経系についても新規抗原を同定することが出来る。

#### 6. 結論

IS は少なくとも年間 300 例程度発症していると推定される。

抗 VGKC 複合体関連疾患においては、LGI-1 や Caspr-2 以外に多彩な標的抗原が存在することが明らかになった。

LGI1 抗体による AMPA 受容体機能制御の破綻は辺縁系脳炎の記憶障害やてんかん症状を引き起こすと考えられる。

#### 【HAM の病態解析】

##### 1. 研究目的

HTLV-1 ウイルスの関連する病態には脊髄の障害される HAM をはじめぶどう膜炎 (HU) や肺障害、筋障害、関節炎、皮膚障害などが報告されており、HTLV-1 感染患者は全身のさまざまな症状を訴える。一方、無症状ではあるが、HAM 患者の頭部 MRI 検査では、大脳深部白質に異常信号がよく認められる。近年、これらの病変は炎症性細胞の浸潤であるとする病理学的報告がなされた。しかしながらこの炎症が HTLV-1 感染に反応して惹起された炎症であるのかどうか詳細は不明である。そこで我々は HAM 患者の大脳を用いてリンパ球の浸潤している病変部に HTLV-1 特異的な細胞障害性リンパ球が存在するか検討を行った。

HAM の発症には遺伝的背景が強く関係していることが知られており、現在までに HLA をはじめ様々な発症促進因子と発症抑制因子が報告されてきた。また、HAM 患者は、末梢血中 HTLV-1 プロウイルス量が無症候性キャリアに比べて高いことに加えその家族においてもプロウイルス量が優位に上昇していることが知られている。このことは、HAM を発症する家系にはプロウイルス量に影響を与える遺伝的背景があることを示唆している。そこで、今回われわれは、家族内に複数の HAM を発症している症例 (家族性 HAM) を調査し、臨床的解析を行った。

##### 2. 研究方法

HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の剖検症例で新鮮凍結された大脳白質を保存している症例の HLA-A2 あるいは A24 陽性を調べ、陽性患者の大脳白質を免疫染色した。CD8 陽性リンパ球が浸潤している部分について HTLV-1

Tax11-19-HLA-A2(あるいは A24) peptide complex テトラマーを用いて Tax11-19 特異的な細胞障害性 T 細胞 (HTLV-1-specific CTL) の検出を行った。評価には共焦点レーザー顕微鏡を用いた。

また 1987 年から 2012 年までに登録された HAM784 患者で、家族内に複数例 HAM を発症した症例について (家族性 HAM) について臨床症状・検査データを解析した。この家族性 HAM の臨床データを、2002 年から 2012 年までの 10 年間に入院した連続孤発例 HAM124 症例の解析結果と比較検討した。

本研究は、鹿児島大学の倫理規定を遵守して行った。

### 3. 研究結果および考察

- 大脳皮質および大脳白質の新鮮凍結されたケースで A2 あるいは A24 陽性のサンプル 1 例のみであった。
- 同患者の大脳サンプルの検討では大脳皮質には浸潤細胞はそれほど認められなかったが大脳白質には炎症細胞の浸潤がより多く認められた。
- CD8 陽性細胞は血管周囲に多数認められたほか、脳実質内にも浸潤が認められた。
- HTLV-1 特異的な CTL は、血管周囲腔および脳実質内のどちらにも認められた。

HAM 発見当初から指摘されてきた大脳 MRI 検査での異常信号は、近年、炎症細胞の浸潤を伴った病変であることが報告されている。我々はこの病変が HTLV-1 感染に関連する炎症であるかどうか確認するために HTLV-1 特異的 CTL の免疫組織学的検出を行った。

我々の検討では大脳白質の主に血管周囲に CD8 陽性細胞浸潤を容易に確認できたが、顕著な集簇を認めた訳ではなかった。そのなかで HTLV-1 特異的 CTL をも多数認めたことは大脳白質に浸潤する炎症細胞における HTLV-1 特異的 CTL の関与がおおきいことを示唆している。先の病理学的検討の報告も併せてわれわれは HAM においては HTLV-1 特異的 CTL をふくめた炎症細胞浸潤が大脳でも起こっていると考えているが、画像上の異常信号を呈した部分を直接検討したわけではない。

HAM784 例中に家族性 HAM は 40 例 (5.1%) 存在した。40 例の内訳は兄弟例が 67.5% で親子例が 25.0% であった。対照として検討する 10 年間の連続孤発性 HAM の症例は 124 人であった。

家族例では、孤発例と比較して、①発症年齢が低く (41.3 vs. 51.6 歳,  $p < 0.001$ )、②急速進行例が少なく (10.0% vs. 28.2%,  $p = 0.019$ )、③観察期間が長いにもかかわらず (14.3 vs. 10.2 年,  $p = 0.026$ ) 納の運動機

能障害度 (OMDS) が低く (4.4 vs. 5.3,  $p = 0.040$ )、④発症から車いす使用に至った期間が長く (18.3 vs. 10.0 年,  $p = 0.025$ )、⑤髄液蛋白が優位に低かった (29.9 vs. 42.5 mg,  $p < 0.001$ )。一方、初発症状に差は無く、血清・髄液 HTLV-1 抗体価 (PA 法) や末梢血 HTLV-1 プロウイルス量、髄液細胞数・ネオプテリン値に優位差はなかった。

家族例 HAM の臨床症状が軽い傾向が明らかとなったが、結果的に車いす生活になっている方々の割合は両群でかわりなかったことを考えると発症から間もない早期の段階では家族性 HAM の症状が軽度であったことが推察された。逆に、孤発例 HAM では早期から症状が進行しやすい可能性が考えられた。この HAM の臨床症状の進行具合を比較するために観察期間 2 年の間に OMDS で 3 段階以上進行した症例を急速進行例としてその割合を比較した。この結果、急速に進行する HAM は年齢依存的に増加し、50 歳以上の発症例は家族例、孤発例ともに 5 割前後以上が急速に進行することが明らかとなった。急速進行例と緩徐進行例は、炎症の違いを反映してか検査結果も有意な差を呈する項目が増えた。意外なことに急速進行例では緩徐進行例と比べて末梢血中のプロウイルス量が有意に低かった。

我々は、本解析により家族内に HAM の集積する家系が 5.1% あること、罹患同胞相対危険率 ( $\lambda_s$ ) は 8.3 倍であることを明らかにし、家族内に HAM 患者がいることが HAM 発症のリスクであることを確認した。また家族性 HAM は、孤発例と比較して、発症年齢がより若い進行の速度は緩徐であるという臨床的特徴を明らかにしたが、その理由については今後の課題である。また、急速進行例が年齢に因って増加することと、急速進行例が発症から 1.5 年で車いすを必要とすることが明らかとなり、HAM 患者の臨床経過が患者によって大きな開きがあることが明らかとなった。年齢とともにウイルスに対する免疫学的反応が変化することも考えられたが、我々のデータだけでは年齢とともに筋力低下を呈しやすくなっているのが筋骨格系の脆弱性に起因する可能性も否定できない。急速進行例で血中のプロウイルス量が低かったことに関しては、必ずしも患者の急速進行期の検査値ではないため結果の解釈には慎重を要するが、強い免疫反応の結果、免疫監視機構が強くなりプロウイルス量が一時的にも低下した可能性も考えられた。今後の更なる解析が必要である。

### 4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

臨床的に特徴付けられるサブグループが明

らかとなったことで、遺伝子解析などの手法をあわせて用いることでさらに新しい HAM 発症、経過に関わる因子を明らかにすることが出来ると考えられる。

## 5. 今後の展望

今回の大脳への炎症細胞浸潤の程度は軽度であり、虚血性変化に関する検討を行っていないため、画像上の変化を来す原因としていかどうか確実ではない。また、大脳においてこのような炎症性変化が MRI で検出されるにもかかわらず HAM の脊髄においては逆に画像変化がほとんどない理由も疑問である。今後の検討が必要である。

## 6. 結論

HAM 患者の MRI 検査でよく見られる大脳病変は、HTLV-1 特異的 CTL の関与した炎症である可能性が示唆された。

また今回の研究により家族内発症者がいることが HAM 発症に関わる因子であることが明らかとなった。また、発症年齢が HAM の臨床経過に影響を与えることも明確となった。

## 7. 研究発表

### (1) 国内

口頭発表	16 件
原著論文による発表	5 件
それ以外（レビュー等）による発表	12 件
そのうち主なもの	

#### 発表論文

1. 渡邊 修. 抗 LGI-1(leucine rich glioma inactivated 1 protein) 抗体関連脳炎. Annual Review 2012 神経. 鈴木則宏ら編. 122-129. 中外医学社
2. 渡邊 修. Isaacs 症候群と Morvan 症候群. 免疫性神経疾患ハンドブック. 楠進編. 2013. 南江堂
3. 渡邊 修. VGKC 関連抗体. Brain and Nerve 2013 65(4) 401-411
4. 渡邊 修. 抗 VGKC 複合体抗体と免疫性神経疾患. 日本臨牀 2013 71(5) 915-920
5. 村田佳子, 渡邊修ら (8 人中 2 番目) Faciobrachial dystonic seizures を呈した抗電位依存性カリウムチャンネル複合体(LGI-1)抗体関連辺縁系脳炎の 1 例. てんかん研究 2012 30 巻 1 号 Page43-50

#### 学会発表

1. 渡邊 修. シンボジウム受容体・イオンチャネルに対する抗体を生じる神経疾患 VGKC 関連抗体と神経疾患. 第23回 日本神経免疫学会. 2011.9. 東京
2. 渡邊 修. シンボジウム自己免疫性脳炎とてんかん VGKC 複合体 (LGI-1,Caspr-2) 抗体関連脳炎とてんかん. 第43 回日本てんかん学会. 2012.10. 東

3. 京 渡邊 修. シンボジウム神経疾患診療の進歩 自己免疫性脳炎の広がりとその進歩. 第52 回日本心身医学会学術集会. 2012. 5. 鹿児島
4. 渡邊 修. シンボジウム免疫性神経疾患の新しい展開: 脳から自律神経障害まで Isaacs 症候群とその周辺疾患. 第54回日本神経学会総会. 2013.5. 東京
5. 渡邊 修. シンボジウム難治性神経筋疾患におけるアフェレシス療法 VGKC 複合体抗体関連疾患におけるアフェレシス療法の有用性: up-to-date. 第34回日本アフェレシス学会学術大会. 2013.11. 軽井沢

### (2) 海外

口頭発表	3 件
原著論文による発表	5 件
それ以外（レビュー等）による発表	

そのうち主なもの

#### 発表論文

1. Ohkawa T, Watanabe O, et al(9 人中 8 番目 :co-corresponding author). Autoantibodies to epilepsy-related LGI1 in limbic encephalitis neutralize LGI1-ADAM22 interaction and reduce synaptic AMPA receptors. J Neurosci 2013 33(46): 18161-18174.
2. Irani SR, Watanabe O, et al (11 人中 8 番目). Morvan syndrome: Clinical and serological observations in 29 cases. Ann Neurol 2012 72(2): 241-55.
3. Fujita K, Watanabe O, et al. (8 人中 3 番目). Voltage-gated potassium channel complex antibodies in Creutzfeldt-Jakob disease. J Neurol. 2012 259:2249-50.
4. Kaneko K, Watanabe O, et al. (10 人中 8 番目). Anti-voltage-gated potassium channel antibody is associated with chronic autonomic and sensory neuropathy. J Neurol. 2012 260: 315-317.
5. Nozuma S, Watanabe O, et al. (7 人中 4 番目) Familial clusters of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. PLOS ONE 2014 (in press)

#### 学会発表

1. Osamu Watanabe, Masaki Fukata, et al. Target antigen analysis in anti-VGKC-complex-antibody-positive spectrum disorders. 20th World Congress of Neurology. 2011. 11. Marrakesh.
2. Osamu Watanabe, Masaki Fukata, et al. Target antigen analysis of acquired neuromyotonia (Isaacs' syndrome). 13th Asia Oceanian Congress of Neurology. 2012. 6. Melbourne.
3. Osamu Watanabe, Kimiyoshi Arimura, et al. Two cases of POEMS syndrome: initially misdiagnosed as CIDP. 20th World Congress of Neurology. 2013.9. Vienna.

### 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    |