

平成 21 年 5 月 14 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19790599
 研究課題名（和文）多発性硬化症の免疫病態におけるアクアポリン4抗体の意義に関する臨床・病理学的検討
 研究課題名（英文）Clinicopathological study of the immunopathological roles of the anti-Aquaporin4 antibody in multiple sclerosis.
 研究代表者
 三須 建郎（MISU TATSURO）
 東北大学・大学院医学研究科・助教
 研究者番号：00396491

研究成果の概要：

19 世紀半ばに多発性硬化症（MS）の概念が発表されて以来、視神経脊髄炎（NMO）は MS との異同が不明であったが、脱髄疾患である MS とは異なりアクアポリン4抗体によるアストロサイト障害を起因として生じる疾患である事を解明し、NMO における脱髄は二次的であることを報告した。その成果は国際誌 **Brain** に相次いで掲載し国際学会にて発表するとともに、AQP4 抗体の病原性を知る手掛かりを得て国内外から高い評価を得た。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2007 年度 | 2,200,000 | 0 | 2,200,000 |
| 2008 年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 330,000 | 3,630,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：多発性硬化症、アクアポリン 4、視神経脊髄炎、アストロサイト、ウォーターチャンネル、神経病理、神経免疫

1. 研究開始当初の背景

多発性硬化症（以下 MS）は有史以来 100 有余年に渡って原因不明であり、近年は中枢神経の髄鞘に関連した炎症性脱髄性疾患と考えられてきたが、多様な疾患が含まれていると考えられている。特に、日本やアジアにおける MS は、1960 年頃から視神経と脊髄に病巣が特異的に出現する視神経脊髄型多発性硬化症（OS-MS）が多いことが知られていたが、欧米で症例が少ないこともあり充

分に認知されてこなかった。OS-MS は従来の古典型 MS と比較して重症化し、従来の治療に抵抗性であることが多く臨床の現場で問題となっており、その診断、治療、病態機序が世界的に注目されるに至っている。

近年、当科と Mayo Clinic との共同研究により、特に視神経と脊髄に病巣が出現する OS-MS の患者の中に中枢神経の血管周囲や軟膜に特異的に反応する抗体（NMO-IgG）

が存在することが見いだされた (Lennon V, Lancet, 2004)。さらに、NMO-IgG は星状神経細胞に存在するアクアポリン4に特異的に反応することが明らかとなった

(Lennon V, JEM, 2005)。我々は2006年7月、世界に先駆けてOS-MSの剖検脊髄におけるアクアポリン4の免疫組織学的検討を行い、OS-MS剖検脊髄の活動期病変においては、免疫グロブリンおよび補体の血管周囲への沈着がみられ、その周囲ではアクアポリン4の発現が欠落していること、MSで欠落する髄鞘蛋白はOS-MSでは比較的保たれていること、抗体・補体依存性の障害が関与するであろうことを報告した (Misu T, et al. TJEM, 2006)。

MSはMyelin basic protein (MBP)などの髄鞘の構成蛋白を抗原とする自己免疫疾患とされてきたが、OS-MSでは髄鞘や髄鞘を構成する乏突起膠細胞ではなく、星状神経細胞を標的とする可能性があり、新たな治療法の確立に向けて疾患概念の根本的な転換が必要と思われ早期の解析が急務である。

2. 研究の目的

(1) 病理学的にOS-MS病巣におけるアクアポリン4の発現変化を検討するとともに、星状神経細胞 (GFAP蛋白) や乏突起膠細胞の髄鞘蛋白との発現の相違を詳細に検討し、アクアポリン4、星状神経細胞と髄鞘蛋白との発現比較解析を施行する。

(2) 我々は血清抗アクアポリン4抗体の精密測定法を独自に確立し、現在抗体価と臨床症状の発現との関連解析を行っている。今後、疾患活動性 (再発時や寛解時) や症状の出現との関連など多数例での詳細な検討を行い、アクアポリン4に関連した疾患であることを実証し、疾患概念の確立・診断基準の提案などを行っていく。

3. 研究の方法

病理学的検討・・・我々は世界に先駆けて既にOS-MS病巣においてアクアポリン4が欠落していることを報告したが、さらに症例を増やした検討や、また古典型MSとの比較解析も行う。特に既知のMS抗原候補蛋白である髄鞘蛋白 (MBP, PLP, MOG等) との発現比較解析や、アクアポリン4の発現とアストログリア (GFAP) の関連解析を行う予定である。また、免疫二重染色法や電子顕微鏡による微細構造における抗体の役割を併せて検討する。

臨床的検討・・・我々は、既にHEK-293培養株に遺伝子導入ベクターを用いたアクアポリン4強発現培養系による患者血清アクアポリン4抗体の血清学的診断法の開発に成功し、患者血清および髄液中の抗アクアポリン4抗体の解析を行っている。平成18年度に診断法を確立するとともに、アクアポリン4抗体陽性例の臨床的特徴を検討する。脳MRIによる脳、脊髄の病巣局在を検討し、抗体陽性例における病巣部位とアクアポリン4の脳内局在、予後などの臨床的特徴との関連を解析する。

4. 研究成果

我々は、AQP4強制発現させたHEK293細胞に対する患者血清の反応を見る系で、AQP4抗体の測定を行い、NMO患者における感度・特異度は90%を超え、非常に高い疾患特異性を有することを明らかにした。AQP4抗体価は、NMO患者の再発時の脊髄病変の長さ に比例する事、ステロイド治療後には有意に抗体価は減少することなどを明らかにした。これらの結果から、NMOは抗アクアポリン4抗体に関連して発症している事が強く示唆され、その事実を発信し大きくこの分野に貢

献できた。

<病理学的解析>

NMO病巣においては、AQP4およびGFAPは、病変の早期から慢性期にかけて染色性が低下もしくは消失していたが、髄鞘は早期病変においては比較的保たれていた。一方、多発性硬化症 (MS) においては、AQP4、GFAPともに脱髄病変部でむしろ発現は亢進しており、明らかにNMOとMSの病理学的特徴は相反するパターンであった。この結果NMOの免疫病態としては、早期からアストロサイトが障害を受けるのに対して、脱髄は二次的に生じている可能性が示唆された。NMOはMSとは異なり、アストロサイトの障害を起因として生じる疾患である事が示唆され、その成果は2007年5月号のBrain誌に掲載された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 14 件・英文のみ査読有り)

(英文)

- ① Takano R, Misu T, Takahashi T, Izumiyama M, Fujihara K, Itoyama Y. A prominent elevation of glial fibrillary acidic protein in the cerebrospinal fluid during relapse in neuromyelitis optica. *Tohoku J Exp Med* 2008;215:55-59.
- ② Takahashi T, Miyazawa I, Misu T, Takano R, Nakashima I, Fujihara K, Tobita M, Itoyama Y. Intractable hiccup and nausea in neuromyelitis optica with anti-aquaporin4 antibody: a herald of acute exacerbations. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008;79:1075-8.
- ③ Shimizu Y, Yokoyama K, Misu T, Takahashi T, Fujihara K, Kikuchi S, Itoyama Y, Iwata M. Development of extensive brain lesions following interferon beta therapy in relapsing neuromyelitis optica and longitudinally extensive myelitis. *J Neurol* 2008;255:305-307.
- ④ Nakamura M, Miyazawa I, Fujihara K, Nakashima I, Misu T, Watanabe S, Takahashi T, Itoyama Y. Preferential spinal central gray matter involvement in neuromyelitis optica. An MRI study. *J Neurol* 2008;255:163-170.
- ⑤ Watanabe S, Misu T, et al. Low-dose corticosteroids reduce relapse in neuromyelitis optica: a retrospective analysis. *Mult Scler* 2007;13:968-74.
- ⑥ Takahashi T, Fujihara K, Nakashima I, Misu T, et al. Anti-aquaporin-4 antibody is involved in the pathogenesis of NMO: a study on antibody titre. *Brain* 2007;130:1235-43.
- ⑦ Misu T, Fujihara K, et al. Loss of aquaporin 4 in lesions of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Brain* 2007;130:1224-34.
- ⑧ 三須建郎、藤原一男、糸山泰人 視神経脊髄炎(NMO)とアクアポリン4抗体 *BRAIN and NERVE* 2008;60(5): 527-537.
- ⑨ 藤原一男、三須建郎、高橋利幸、中島一郎、糸山泰人 アクアポリン4抗体と視神経脊髄炎(NMO) *神経内科* 2008;69(4):367-371
- ⑩ 藤原一男、三須建郎、高橋利幸、中島一

郎、中村正史、佐藤滋、糸山泰人 NM
Oの診断と病態におけるアクアポリン4抗
体の意義 Neuroimmunol 2008;16
(2):155-159

- ⑪ 藤原一男、中島一郎、三須建郎、高橋利
幸、渡辺承平、中村正史、佐藤滋、糸山
泰人 神経治療学 2008;25(6):
701-706
- ⑫ 三須建郎 視神経脊髄炎とアクアポリン
4抗体～アストログリア病との出会い(日本
神経免疫学会賞) 東北医学雑誌 2008;
120:58-61
- ⑬ 三須建郎、藤原一男、糸山泰人 NMOと
アクアポリン4抗体の病理学的意義—アス
トロサイトに注目して Clinical Neurosci
ence 2008;26:770-773
- ⑭ 三須建郎 多発性硬化症における
rituximabを用いたB細胞標的療法の有効
性 内科 2008;102(5):1023-1025(査読
なし)

[学会発表] (計7件)

- ① 2008年11月21日—11月22日 1st Pa
n-Asian Comittee of Treatment
and Research in Multiple Sclero
sis (PACTRIMS2008), Malasia.
Misu T, Takano R, Fujihara K, Takahashi T,
Sato S, Itoyama Y. Marked increase of CSF
GFAP in neuromyelitis optica- an
astrocytic damage marker.
- ② 2008年11月8日 第13回グリア研究会
(東京) 三須建郎 視神経脊髄炎におけ
る抗アクアポリン4抗体の病理学的意義—
続報
- ③ 2008年11月7日 第3回川棚神経科学の

会(長崎県川棚) 三須建郎 抗アクアポ
リン4抗体の病理学的意義～その研究の
進歩

- ④ 2008年8月3日 第7回MSワークショップ
(大阪) 三須建郎 Heterogeneity vs
Homogeneity ~ MS pathology re
view up-to-date
- ⑤ 2008年8月2日 第7回MSワークショップ
(大阪) 三須建郎 NMOの病理とアク
アポリン4自己免疫の実験モデル
- ⑥ 2008年5月21日 第49回日本神経病理
学会(東京) 三須建郎、藤原一男、柿
田明美、今野秀彦、高橋均、糸山泰人.
Neuromyelitis opticaの病巣における
Aquapo4inrの欠落とアストロサイト障害
の関連:MSとの相違
- ⑦ 2008年5月16日 第49回日本神経学会
(横浜) 三須建郎、藤原一男、高野里奈、
高橋利幸、柿田明美、高橋均、糸山泰人.
Neuromyelitis opticaの病巣における
アストロサイト障害の検討

[図書] (計1件)

- ① 三須建郎、藤原一男、糸山泰人 I. 多発
性硬化症の特殊型と類縁疾患 ②Neuro
myelitis optica(NMO)とアクアポリン4
抗体. 多発性硬化症の診断と治
療.105-115. (2008年発刊 新興医学出
版社)

[その他]
ホームページ等
<http://neuro.med.tohoku.ac.jp/index.html>
<http://www.ms.med.tohoku.ac.jp/index.html>

6. 研究組織
(1)研究代表者
三須 建郎 (MISU TATSURO)

東北大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：00396491

(2)研究分担者 ()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：