

機関番号：11301

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790829

研究課題名 (和文) 視神経脊髄炎におけるアクアポリン 4 関連病態の解明

研究課題名 (英文) A pathological study of the Aquaporin 4 associated disease
Neuromyelitis Optica

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

研究成果の概要 (和文)：

NMO は 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示し、さらにアクアポリン 4 抗体が生体内で実際に病原性を有する抗体であることを、中枢特異的 T 細胞移入ラットモデルを用いて明かにした。臨床的には、髄液中 GFAP 濃度が臨床的な重症度や予後を判断する有用なバイオマーカーとなりうることや、アクアポリン 4 抗体によって生じる特徴的な病変像・治療法について報告した。

研究成果の概要 (英文)：

We revealed that anti-AQP4 antibody was pathogenic in vitro and in vivo, and we reported several papers to suggest the clinical features, clinical biomarkers, or therapeutic strategy related to aquaporin 4 autoimmunity of neuromyelitis optica.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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：視神経脊髄炎、多発性硬化症、アクアポリン 4 抗体、アストロサイト、GFAP

1. 研究開始当初の背景

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。さらに、NMO-IgG は星状神経細胞に存在するアクアポリン 4 (AQP4) に特異的に反応することが明らかとなった。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 AQP4 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 AQP4 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/ Brain 2007)。

実際に、この抗 AQP4 抗体に病原性があるかは、In vivo や In vitro における検証実験が必要である。また、アストロサイトの障害をどのように臨床的に評価していくのが課題であり、バイオマーカーの検討を行う必要がある。

2. 研究の目的

NMO における病態解明～In vivo での AQP4 抗体の病原性の病理学的検証を行い、NMO における髄液バイオマーカーを検討する。

3. 研究の方法

(1) NMO 患者血清より抽出した IgG を、MBP 特異的 T 細胞を移入したラット腹腔に注入し、その後脳における AQP4 他の発現を免疫組織学的に検証する。

(2) 髄液中の各種バイオマーカーを、髄液を用いた Sandwich ELISA 法にて測定し、アストロサイト傷害のマーカーを検索する。

4. 研究成果

(1) In vivo の検証において、患者血清から抽出した IgG を用いて実験的自己免疫性脳脊髄炎を誘導し NMO と同様の AQP4 の脱落病変が再現できることがいくつか報告されている。いずれも病原性を確認することができているが、抗体のみでの発症は確認されおらず、髄鞘特異的 T 細胞やミエリン抗原を用いた実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) 等を

用いた炎症モデルにおける抗体移入モデルである。我々の検討では、正常ラットに AQP4 抗体を腹腔内注射しても、血清 AQP4 抗体は確認されるが中枢神経系にはヒトの抗体や補体の沈着は起こらず、病変も認められなかった。さらに、血液脳関門の脆弱な幼若ラットを用いると、脳内の血管周囲からヒト IgG が入ることは確認されるが、それでも NMO 様の AQP4 脱落病変は再現されなかった。このことは、① 脳内に AQP4 抗体が効率的に誘導される機序が必要であるということ、② 相まって何らかの局所の炎症を伴うことで細胞性免疫や補体が効率的に導入される機序が必要であることを示唆している。Levis ラットに MBP 特異的 T 細胞を導入した EAE に AQP4 抗体を注入した系は、初めの兆候である体重減少の起こる 4 日目に抗体を注射し、翌日以後の重症度ならびに組織の検討を行っている。AQP4 抗体の投与により、有意に症状の重症化が認められた。T 細胞を導入することで、AQP4 抗体投与群・非投与群ともにヒト IgG が有意にラット髄液中で増加するが、T 細胞を導入しないと検出されない。この結果からは、AQP4 抗体は確かに生体内で病原性を有し、AQP4 の脱落を起こす抗体であることが示唆された。

(2) 髄液中バイオマーカーの研究

髄液中 GFAP 濃度は、NMO の急性期に極めて著しく上昇することが明らかとなったが^{35, 36}、古典的な MS の再発時には正常対象と同等であることから、NMO において特異的に顕著である (図 6)。この髄液中 GFAP の上昇は、今回の NMO と MS における再発時の重症度 EDSS の変化がそれぞれ 2 前後と同等であることから、単に臨床的な重症度が高いことだけに起因するとは思われない。脊髄病変では特に髄液 GFAP 濃度の上昇が著しく、髄液 GFAP 濃度と脊髄病変長・臨床的障害度が正

の相関を認め、また治療とともに他のマーカー-MBPと比較して早期に正常に復することも明らかとなり、髄液中GFAP濃度は病態に関連して上昇していることが推察された。

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 19 件)

1. Kim W, Park MS, Lee SH, Kim SH, Jung IJ, Takahashi T, Misu T, et al. Characteristic brain magnetic resonance imaging abnormalities in central nervous system aquaporin-4 autoimmunity. *Mult Scler* 2010;16:1229-1236. (査読有り)
2. Takano R, Misu T, Takahashi T, et al. Astrocytic damage is far more severe than demyelination in NMO: a clinical CSF biomarker study. *Neurology* 2010;75:208-216. (査読有り)
3. Sharma R, Fischer MT, Bauer J, Felts PA, Smigh KJ, Misu T, et al. Inflammation induced by innate immunity in the central nervous system leads to primary astrocyte dysfunction followed by demyelination. *Acta Neuropathol* 2010;120:223-36. (査読有り)
4. Suzuki N, Takahashi T, Aoki M, Misu T, et al. Neuromyelitis optica preceded by hyperCKemia episode. *Neurology* 2010;74:1543-5. (査読有り)
5. Nakamura M, Nakazawa T, Doi H, Hariya T, Omodaka K, Misu T, et al. Early high-dose intravenous methylprednisolone is effective in preserving retinal nerve fiber layer thickness in patients with neuromyelitis optica. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010, Epub ahead of print. (査読有り)
6. Bradl M, Misu T, Takahashi T, et al. Neuromyelitis optica: pathogenicity of patient immunoglobulin in vivo. *Ann Neurol* 2009;66:630-43. (査読有り)
7. Nishiyama S, Ito T, Misu T, et al. A case of NMO seropositive for aquaporin-4 antibody more than 10 years before onset. *Neurology* 2009;72:1960-1. (査読有り)
8. Endo K, Suzuki N, Misu T, et al. Dorsal-roots enhancement and Wallerian degeneration of dorsal cord in the patient of acute sensory ataxic neuropathy. *J Neurol* 2009, Epub ahead of print. (査読有り)
9. Nakamura M, Misu T, Fujihara K, et al. Occurrence of acute large and edematous callosal lesions in neuromyelitis optica. *Mult Scler* 2009;15:695-700. (査読有り)
10. Misu T, Takano R, Fujihara K, et al. Marked increase in cerebrospinal fluid glial fibrillary acidic protein in neuromyelitis optica: an astrocytic damage marker. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009;80:575-7. (査読有り)
11. Baba T, Nakashima I, Kanbayashi T, Konno M, Takahashi T, Fujihara K, Misu

- T, et al. Narcolepsy as an initial manifestation of neuromyelitis optica with anti-aquaporin-4 antibody. J Neurol 2009;256:287-8. (査読有り)
12. Suzuki N, Mizuno H, Nezu M, Takai Y, Misu T, et al. Procalcitonin might help in discrimination between meningeal neuro-Behçet disease and bacterial meningitis. Neurology 2009;72:762-3. (査読有り)
13. Tateyama M, Fujihara K, Misu T, et al. CCR7+ myeloid dendritic cells together with CCR7+ T cells and CCR7+ macrophages invade CCL19+ nonnecrotic muscle fibers in inclusion body myositis. J Neurol Sci 2009;279:47-52. (査読有り)
14. 三須建郎. Pathology of Neuromyelitis optica. 臨床神経学第 49 巻 11 号:896-9 (2009. 11) (査読無し)
15. 三須建郎, 藤原一男, 糸山泰人【多発性硬化症・視神経脊髄炎と抗アクアポリン 4 抗体】 視神経脊髄炎の病理学的特徴. あたらしい眼科 26 巻 10 号 : 1307-1314(2009. 10) (査読無し)
16. 西山修平、三須建郎、中島一郎、高橋利幸、中村正史、佐藤滋、藤原一男、糸山泰人。【多発性硬化症・視神経脊髄炎と抗アクアポリン 4 抗体】 視神経脊髄炎の治療法 最新のエビデンスを元に。あたらしい眼科 26 巻 10 号 : 1323~1327 (2009. 10) (査読無し)
17. 三須建郎, 藤原一男, 糸山泰人【多発性硬化症 病態解明と治療戦略の最前線 (NMO を含めて)】 多発性硬化症の病態と治療 多発性硬化症の神経病理. カレン

トセラピー 27 巻 9 号 : 759-763(2009. 09) (査読無し)

18. 三須建郎. 視神経脊髄炎とアストロサイトパチー 髄液中 GFAP の有用性. 東北医学雑誌 121 巻 1 号 : 101-103(2009. 06) (査読無し)
19. 三須建郎, 藤原一男, 糸山泰人. 臨床医のための神経病理 NMO(Neuromyelitis optica) Clinical Neuroscience27 巻 6 号 : 602-603(2009. 06) (査読無し)

[学会発表] (計 5 件)

1. Misu T. Spectrum of MS and NMO Part 1. From Pathological studies. Pathology of MS and NMO. PACTRIMS 2009, 20-21 November 2009, Hong Kong
2. Misu T. Aquaporin-4 Autoimmunity. 19th World Congress of Neurology 2009, 24-30 October 2009, Bangkok Thailand
3. Misu T, Fujihara K, Takahashi H, et al. Pathology of Neuromyelitis Optica. International Symposium New aspects of Neuromyelitis optica (NMO). 2-3 October 2009, Awaji (Osaka)
4. Misu T. Pathology of Neuromyelitis Optica. Symposium "NMO". The 50th Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology, 22th May, 2009 (Sendai)
5. 三須建郎 視神経脊髄炎 (NMO) と多発性硬化症の相違～アクアポリン 4 抗体の意義. 慶応ニューロサイエンス研究会 2009 (慶応大学、2009 年 10 月 31 日)

[図書] (計 1 件)

EBM 神経疾患の治療 2009-2010
三須建郎、他 中外医学社 2010、416-421
 [産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :
 発明者 :
 権利者 :

種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

<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：