

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 5日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22590928

研究課題名（和文）

脱髄性ニューロパチーにおける軸索障害と分子基盤：予後と治療反応性

研究課題名（英文）

Association between axonal damage and molecular basis in demyelinating neuropathies: prognosis and response to treatment

研究代表者

川頭 祐一 (YUICHI KAWAGASHIRA)

名古屋大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：40569779

研究成果の概要（和文）：Axon-myelin interaction に関与する構造としてはランビエ絞輪から juxtapanode に分布する分子群の重要性が指摘されている。ヒト生検腓腹神経のときほぐしから各種分子（チャンネル、TAG-1, CNTN1, Caspr, Caspr2 など）の分布と発現を免疫組織学的により解析した。光顕レベルの形態は保持されているにもかかわらず、node におけるチャンネルの発現変化が観察され、正常例に比べて著明な低下を示した。TAG-1 をノックアウトしたマウスの解析では、homologous に TAG-1 がノックアウトされた場合、顕著な出産効率の低下とともに、出産後も明らかな発育不全が惹起されることを確認した。このことから TAG-1 をはじめとする axon-myelin interaction にかかわる分子は、主に発生段階でチャンネルを介して機能を発現するとともに、脱髄後の修復機転に対しても重要な機能を有することが示された。

研究成果の概要（英文）：The association between axon-myelin interaction and functional several molecules which are distributed from node of Ranvier to juxtapanode is well recognized. In this study, we analyzed immunohistochemically the distribution and expression of those molecules, including sodium channel, TAG-1, CNTN1, Caspr and Caspr2, using by teased-fiber preparation in patients with demyelinating neuropathies. The expression of sodium channel in demyelinating neuropathies showed markedly decrease compared with normal control although no morphological changes are observed in light microscopic study. In addition, we confirmed that homologous TAG-1 knockout mice resulted in significant ateliosis. These results may suggest that several molecules which is associated with axon-myelin interaction, including TAG-1, express their function in the development phase and play an important role in repair after demyelination.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学

キーワード：脱髄性ニューロパチー、軸索障害、Axon-myelin interaction、治療反応性、イオ

## 1. 研究開始当初の背景

脱髄が主体と考えられてきた慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー (CIDP, chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy) や Charcot-Marie-Tooth disease (CMT)1A などでは、脱髄性病変とともに軸索障害を合併することが示されている (Iijima M, et al. *Neurology*, 2005: 64: 1471-5, Hattori N, et al. *Brain*, 2003: 126: 134-51, Meyer zu Horste G, et al. *Ann Neurol*, 2007: 61-72)。特に予後不良例や治療抵抗・難治例において、軸索障害が高頻度に合併することが知られており、軸索障害の発現が重要な病態を担うことが考えられる。一方、軸索と髄鞘は相互に影響して機能を維持する axon-myelin interaction を裏付ける幾つかの新規分子が、近年になって明らかになりつつある。例えば TAG-1 やその関連分子 Caspr2、カリウムチャネル分子などである。これらの axon-myelin interaction にかかわる分子の脱髄性ニューロパチーにおける役割を解明することは、有髄線維の機能・形態維持という学術的な興味のみならず、脱髄性ニューロパチーの病態機序の解明や、治療反応性を説明する重要な鍵となりうる。

## 2. 研究の目的

我々は、免疫性の脱髄性ニューロパチーである CIDP の治療反応性に関する臨床電気生理的解析から、治療薬である IVIg (intravenous immunoglobulin therapy) に対し効果無効、または反応性の乏しい non-responder の特徴として軸索障害の合併があることを報告した (Iijima M, et al. *Neurology*, 2005: 64: 1471-5)。一方、PMP22 の duplication が特徴である CMT1A は、軸索障害の合併の程度が予後や重症度に関与していることが知られているが、詳細なメカニズムについては未だ不明である。CIDP について我々の行った SNPs 解析から、TAG-1 が axon myelin interaction 障害から軸索障害に関与し、その結果として治療反応性を修飾する可能性を考えている (Iijima M, et al. *Neurology*, 2009)。Axon-myelin interaction の中心的役割を果たしている部

位は paranode、juxtaparanode であり、ここに分布する分子群が数多く知られるようになってきている (Spiegel I, et al. *Nat Neurosci*, 2007, 10: 861-9)。一次性的脱髄性ニューロパチーでなぜ軸索障害が惹起されるのかは長く未解決の問題であるが、axon myelin-interaction にかかわる分子の機能を明らかにすることによって、この病態に迫ることができるのではないかと考える。

## 3. 研究の方法

難治性脱髄性ニューロパチーとして、免疫介在性の CIDP と抗 myelin-associated glycoprotein (MAG) 抗体陽性ニューロパチー、および遺伝性の CMT において、治療抵抗性に関与する臨床病理的な要因である一次性的軸索障害機序について、axon myelin interaction に着目した病態解明を行った。Axon-myelin interaction に関与する構造としてはランビエ絞輪から juxtaparanode に分布する分子群の重要性が指摘されているが、これらの分子の発現および分布の変化と治療反応性や予後との関連性は今まで明らかにされていない。

第一に上記脱髄性ニューロパチー患者の腓腹神経生検サンプルを用い、TAG-1 や Na channel、Caspr、Neurofascin (NF) など、axon-myelin interaction に関与する分子群と軸索障害の形態学的・免疫学的解析を行った。第二に、CIDP (慢性 EAN)、CMT1A モデルマウスと、TAG-1 のトランスジェニックマウスやノックアウトマウスをかけ合わせ、その表現型 (軸索障害、脱髄など) を臨床的・免疫学的に解析することで、axon-myelin interaction の解明とともに、脱髄性ニューロパチーにおける軸索障害発現機序を明らかにし、治療法開発展開への基盤としたい。

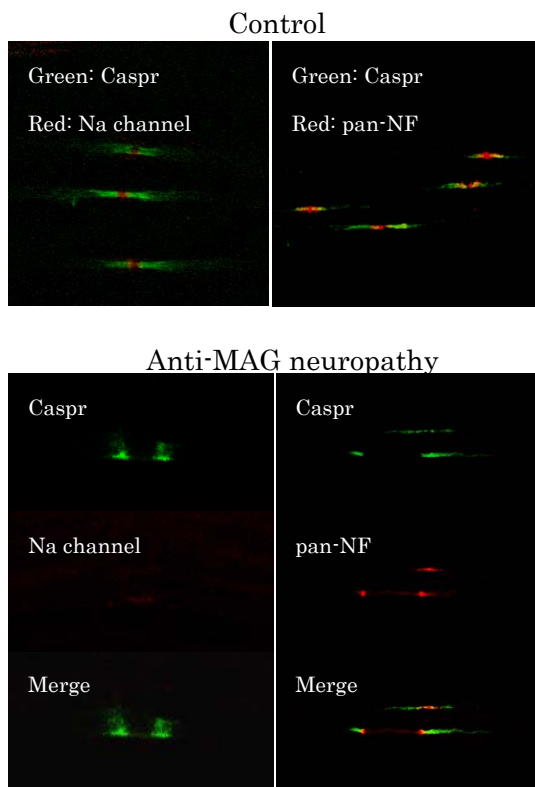
## 4. 研究成果

### (1) ヒト生検神経を用いた解析

ヒト生検腓腹神経のときほぐし標本を作製し、各種分子 (チャネル、TAG-1, CNTN1, Caspr, NF など) の分布と発現を免疫組織学的により解析した。これらは光顕レベルの形態が保持されているにもかかわらず、node

におけるチャンネルの発現変化が観察され、正常例に比べて著明な低下を示した。CIDPと同様に免疫介在性の脱髄性ニューロパチーである抗MAGニューロパチーにおけるチャンネル、各種分子の分布異常を図1に示す。抗MAG抗体陽性ニューロパチーでは、脱髄の進行に伴って傍絞輪部にあるcasprとNF155は側方へ拡散し、ランビエ絞輪部に集積しているNa channelは集積が乏しくなった。

図 1



## (2)TAG-1 ノックアウトマウスの解析

Internode 側に分布するチャンネルの発現を支配する TAG-1 をノックアウトした実験動物を用いた解析から、homologous に TAG-1 がノックアウトされた場合、顕著な出産効率の低下とともに、出産後も明らかな発育不全が惹起されることを確認した。このことから TAG-1 をはじめとする axon-glia interaction にかかわる分子は主に発生段階でチャンネルを介して機能を発現するとともに、脱髄後の修復機転に対しても重要な機能を有することが示された。

## 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 17 件)

① 各種疾患 末梢神経障害 抗 MAG 抗体陽性 IgM-MGUS ニューロパチーのリツキシマブによる新規治療の可能性

川頭 祐一(名古屋大学 大学院医学系研究科 神経内科), 飯島 正博, 小池 春樹, 祖父江 元

Annual Review 神経 2013 巻

Page223-229(2013.01) 査読無

② Koike H, Hashimoto R, Tomita M, Kawagashira Y, Iijima M, Nakamura T, Watanabe H, Kamei H, Kiuchi T, Sobue G.

Impact of aging on the progression of neuropathy after liver transplantation in transthyretin Val30Met amyloidosis.

Muscle Nerve. 2012;46:964-70. 査読有

③ Kawagashira Y, Koike H, Fujioka Y, Hashimoto R, Tomita M, Morozumi S, Iijima M, Katsuno M, Tanaka F, Sobue G.

Differential, size-dependent sensory neuron involvement in the painful and ataxic forms of primary Sjögren's syndrome-associated neuropathy. J Neurol Sci. 2012;319:139-46. 査読有

④ Koike H, Hama T, Kawagashira Y, Hashimoto R, Tomita M, Iijima M, Sobue G.

The significance of folate deficiency in alcoholic and nutritional neuropathies: analysis of a case. 2012;28:821-4. 査読有

⑤ 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, Sobue G.

The spectrum of clinicopathological features in pure autonomic neuropathy. J Neurol. 2012;259:2067-75. 査読有

⑥ Koike H, Tanaka F, Hashimoto R, Tomita M, Kawagashira Y, Iijima M, Fujitake J, Kawanami T, Kato T, Yamamoto M, Sobue G.

Natural history of transthyretin Val30Met familial amyloid polyneuropathy: analysis of late-onset cases from non-endemic areas. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2012;83(2):152-8. 査読有

⑦ Koike H, Tanaka F, Hashimoto R, Tomita M, Kawagashira Y, Iijima M, Fujitake J, Kawanami T, Kato T, Yamamoto M, Sobue G.

Natural history of transthyretin Val30Met familial amyloid polyneuropathy: analysis of late-onset cases from non-endemic areas. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2012;83(2):152-8. 査読有

⑧ Koike H, Tanaka F, Hashimoto R, Tomita M, Kawagashira Y, Iijima M, Fujitake J, Kawanami T, Kato T, Yamamoto M, Sobue G.

Natural history of transthyretin Val30Met familial amyloid polyneuropathy: analysis of late-onset cases from non-endemic areas. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2012;83(2):152-8. 査読有

⑨ Koike H, Tanaka F, Hashimoto R, Tomita M, Kawagashira Y, Iijima M, Fujitake J, Kawanami T, Kato T, Yamamoto M, Sobue G.

Natural history of transthyretin Val30Met familial amyloid polyneuropathy: analysis of late-onset cases from non-endemic areas. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2012;83(2):152-8. 査読有

⑦ Crow-Fukase 症候群における髄鞘の形態変化の特徴  
橋本 里奈(名古屋大学 神経内科), 小池 春樹,  
富田 稔, 川頭 祐一, 飯島 正博, 祖父江 元  
末梢神経(0917-6772)23 卷 1 号  
Page95-101(2012.06) 査読有

⑧ Koike H, Hashimoto R, Tomita M,  
Kawagashira Y, Iijima M, Nagamatsu M,  
Sobue G. The wide range of clinical  
manifestations in leprous neuropathy: two  
case reports. Intern Med.  
2011;50(19):2223-6. 査読有

⑨ 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(5):340-8.  
査読有

⑩ 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.  
Amyloid. 2011;18(2):53-62. 査読有

⑪ Hashizume A, Koike H, Kawagashira Y,  
Banno H, Suzuki K, Ito M, Katsuno M,  
Watanabe H, Tanaka F, Naganawa S,  
Kaneko R, Ishii A, Sobue G. Central  
nervous system involvement in n-hexane  
polyneuropathy demonstrated by MRI and  
proton MR spectroscopy. Clin Neurol  
Neurosurg. 2011;113(6):493-5. 査読有

⑫ Koike H, Kiuchi T, Iijima M, Ueda M,  
Ando Y, Morozumi S, Tomita M,  
Kawagashira Y, Watanabe H, Katsuno M,  
Shimoyama Y, Okazaki Y, Kamei H, Sobue  
G. Systemic but asymptomatic  
transthyretin amyloidosis 8 years after  
domino liver transplantation. J Neurol  
Neurosurg Psychiatry. 2011;82(11):1287-90.  
査読有

⑬ Kawagashira Y, Koike H, Tomita M,  
Morozumi S, Iijima M, Nakamura T,  
Katsuno M, Tanaka F, Sobue G.  
Morphological progression of myelin  
abnormalities in IgM-monoclonal  
gammopathy of undetermined significance

anti-myelin-associated glycoprotein  
neuropathy. J Neuropathol Exp Neurol.  
2010;69(11):1143-57. 査読有

⑭ Kawagashira Y, Kondo N, Atsuta N,  
Iijima M, Koike H, Katsuno M, Tanaka F,  
Kusunoki S, Sobue G. IgM MGUS  
anti-MAG neuropathy with predominant  
muscle weakness and extensive muscle  
atrophy. Muscle Nerve. 2010;42(3):433-5.  
査読有

⑮ Kawagashira Y, Watanabe H,  
Morozumi S, Iijima M, Koike H, Hattori N,  
Sobue G. Differential response to  
intravenous immunoglobulin (IVIg)  
therapy among multifocal and  
polyneuropathy types of painful diabetic  
neuropathy. J Clin Neurosci.  
2010;17(8):1003-8. 査読有

⑯ Koike H, Koyano S, Morozumi S,  
Kawagashira Y, Iijima M, Katsuno M,  
Hattori N, Vernino S, Sobue G. Slowly  
progressive autonomic neuropathy with  
antiganglionic acetylcholine receptor  
antibody. J Neurol Neurosurg Psychiatry.  
2010;81(5):586-7. 査読有

⑰ Tomita M, Watanabe H, Morozumi S,  
Kawagashira Y, Iijima M, Nakamura T,  
Katsuno M, Koike H, Hattori N, Hirayama  
M, Kusunoki S, Sobue G. Pyramidal tract  
involvement in Guillain-Barré syndrome  
associated with anti-GM1 antibody. J  
Neurol Neurosurg Psychiatry.  
2010;81(5):583-5. 査読有

〔学会発表〕(計 8 件)

- ① 抗 Myelin-associated-glycoprotein 抗体  
陽性 IgM-MGUS ニューロパチーにおけ  
る Rituximab 療法の有用性  
川頭祐一(名古屋大学 神経内科), 大山健,  
橋本里奈, 富田稔, 飯島正博, 小池春樹,  
祖父江元  
日本神経免疫学会学術集会抄録集 24 回  
Page117(2012.09) (日本神経免疫学会、  
軽井沢、9/20-21, 2012 年)
- ② 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臨床病理  
学的検討  
飯島 正博(名古屋大学 神経内科), 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  
日本神経免疫学会学術集会抄録集 24 回  
Page117(2012.09) (日本神経免疫学会、  
軽井沢、9/20-21, 2012 年)

- 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(名古屋大学 神経内科), 橋本里奈, 富田稔, 飯島正博, 小池春樹, 祖父江元

末梢神経(0917-6772)23 巻 2 号  
Page233-234(2012.12) (日本末梢神経学会、福岡、8/31-9/1, 2012 年)

- 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(名古屋大学 神経内科), 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  
末梢神経(0917-6772)23 巻 2 号  
Page233-234(2012.12) (日本末梢神経学会、福岡、8/31-9/1, 2012 年)

- ⑤ Characteristics of hypertrophic form in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. Inflammatory Neuropathy consortium. Masahiro Iijima, Ken Ohyama, Rina Hashimoto, Minoru Tomita, Yuichi Kawagashira, Haruki Koike, Gen Sobue. Inflammatory Neuropathy Consortium. (Rotterdam, Netherland., 24-27, June, 2012)

- ⑥ Gene expression analysis of biopsied nerve in Japanese CIDP patients. Masahiro Iijima, Haruki Koike, Yuichi Kawagashira, Minoru Tomita, Rina Hashimoto, Gen Sobue. Peripheral Nerve Society. (Washington DC., U.S.A., 25-29, June, 2011)

- ⑦ Rituximab 療法を施行した抗 Myelin-Associated-Glycoprotein (MAG)抗体陽性 IgM-MGUS ニューロパチーの 4 例  
川頭祐一(名古屋大学 神経内科), 橋本里奈, 富田稔, 飯島正博, 小池春樹, 祖父江元

末梢神経(0917-6772)21 巻 2 号  
Page233-234(2010.12) (日本末梢神経学会、  
仙台、9/3-9/4, 2010 年)

- ⑧ シェーグレン症候群に伴うニューロパチー: Ataxic form と Painful form の病理学的特徴  
川頭祐一(名古屋大学 神経内科), 藤岡祐介, 富田稔, 両角佐織, 飯島正博, 小池春樹, 祖父江元  
日本神経免疫学会学術集会抄録集 22 回  
Page117(2010.03) (日本神経免疫学会、  
東京、3/17-19, 2010 年)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

川頭祐一 (YUICHI KAWAGASHIRA)  
名古屋大学・医学部附属病院・医員  
研究者番号：40569779

### (2)研究分担者

飯島正博 (MASAHIRO IIJIMA)  
名古屋大学・大学院医学系研究科・COE  
特任助教  
研究者番号：40437041

小池春樹 (HARUKI KOIKE)  
名古屋大学・大学院医学系研究科・病院助教  
研究者番号：80378174

祖父江元 (GEN SOBUE)  
名古屋大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：20148315

### (3)連携研究者 なし