

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）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：若手研究(B)

研究期間：2011 ~ 2012

課題番号：23790987

研究課題名（和文）

難治性ニューロパチーの軸索 - 髄鞘間相互作用からみた病態機序の解明

研究課題名（英文）

Investigation into the pathogenesis of refractory neuropathies focusing on axon-myelin interaction.

研究代表者

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

研究成果の概要（和文）：

炎症性機転を主因とする脱髄性末梢神経疾患において、治療への抵抗性や難治化に軸索障害の合併が関与する可能性が指摘されている。本研究は軸索脆弱性をきたすメカニズムに軸索-髄鞘間相互作用の破綻の関与を推定のもと、代表的な構成要素である TAG-1 のノックアウトマウスに実験的自己免疫性神経炎 (experimental autoimmune neuritis, EAN) を誘導し、臨床・電気生理学的、免疫組織学的な解析を試みた。その結果、軸索-髄鞘間相互作用の異常が、炎症性脱髄に伴う軸索脆弱性に関連するとともに、臨床的にも重症化をもたらす可能性が明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

Axonal damage concomitant of inflammatory demyelination is one of the major factors for refractory or therapy-resistant peripheral neuropathies. In this study, we focused into transient axoglial glycoprotein-1 (TAG-1) which is related to axon-myelin interaction. We induced experimental autoimmune neuritis (EAN) on TAG-1 knockout (KO) mice and investigated phenotypes by clinicoelectrophysiological, and pathological analysis. As a result, the breakdown of the axon-myelin interaction could be associated to vulnerability of axonal function as well as refractory characteristics in inflammatory demyelinating neuropathies.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	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：難治性ニューロパチー、軸索-髄鞘間相互作用、transient axoglial glycoprotein-1 (TAG-1)、脱髄、軸索障害

1. 研究開始当初の背景

自己免疫性機序による脱髄を特徴とする慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチー (chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy, CIDP) には、副腎皮質ステロイド薬、経静脈的免疫グロブリン療法、血漿浄化療法による各種免疫療法の有効性がランダム化比較対照試験により確立し

ているが、いずれの治療にも反応しない治療抵抗性・難治化症例が一定の割合で存在することが知られている。我々は治療反応性からみた臨床・電気生理学的解析から、軸索障害を反映する筋萎縮ならびに電気生理学的な CMAP 減弱が治療反応性不良群と関連することを明らかにした。さらに神経特異的な軸索構成分子である transient axoglial

glycoprotein-1 (TAG-1) の common variant である一塩基多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) について、アミノ酸置換をきたす部位が治療反応性と相関を示すことを明らかにした。TAG-1 は軸索-髄鞘間相互作用に関わる主要な分子であり、本分子の喪失は軸索脆弱性をきたし得ることが期待される。

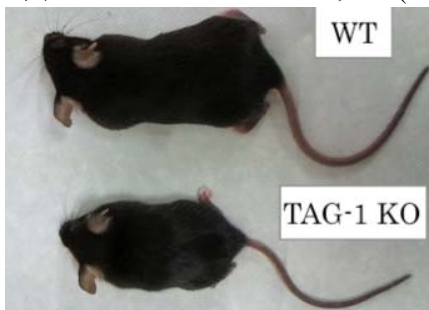
2. 研究の目的

本研究の目的は、脱髄の条件下における軸索-髄鞘間相互作用を担う分子である TAG-1 の機能喪失・欠損がもたらす軸索脆弱性の機序解明である。これが明らかにされるならば、CIDP やギラン・バレー症候群など広く炎症性脱髄をきたす疾患に対して施行される各種免疫療法の治療抵抗性・難治性を呈する症例に、さらなる免疫抑制を目的とした治療法を追加する妥当性を検証することが可能となる。また軸索-髄鞘間相互作用やそれに付随する軸索脆弱性など、宿主要因が治療反応性を規定する可能性も本研究の主要な目的である。仮に軸索脆弱性、すなわち宿主要因が治療抵抗性・難治性を規定するのであれば、従来とは全く異なる次元の新規治療法の開発に資する分子標的を開拓する基盤として期待できる。

3. 研究の方法

百日咳毒素の尾静脈からの投与により免疫賦活を行った生後 8-15 週齢の C57BL/6 マウスの背部皮下に、完全フロイントアジュバントと PO ペプチド (180-199) のエマルジョンを投与した。サンプル数は TAG-1 ノックアウト (knockout, KO) 18 例と野生型 (wild type, WT) 8 例。評価項目は、rotarod analysis, cage activity 等による運動機能と、sciatic nerve の神経伝導検査、同部位の病理所見 (トルイジンブルー染色とときほぐしによる形態評価、免疫組織学的評価) とした。

図 1 TAG-1 KO と WT マウス (10w)



4. 研究成果

TAG-1 KO 個体は、ヘテロ同士の交配により採取した凍結胚の、仮腹への移植による産出に加え、通常交配繁殖から得た。いずれも

ノックアウト個体の出生比率はメンデル比による理論値より顕著に低い傾向 (9 vs. 16.25) を示した。出産後のノックアウト個体は外見上の奇形はないものの、出生後も低体重化の傾向を示した (図 1)。

EAN 誘導後の運動機能障害は、TAG-1 KO は rotarod (post-EAN, WT:127.2 sec, TAG-1 KO: 33.9 sec), cage activity (post-EAN, WT: 4,709/12h, TAG-1 KO: 3,269/12h), foot printing analysis のいずれも WT より高度の運動障害を呈した (図 2)。また総合的な clinical score も TAG-1 KO は WT に比べて重症化の傾向を示した。

図 2 Foot printing による運動機能評価

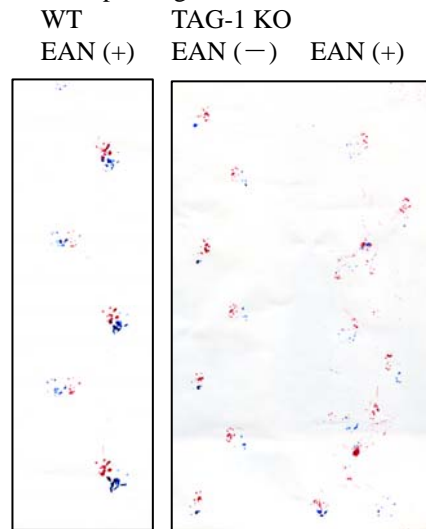
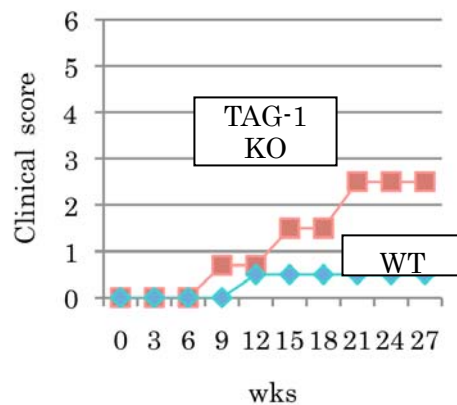


図 3 EAN 誘導後の clinical score の推移



EAN 後の sciatic nerve の病理所見は WT では特徴的な変化が乏しい一方、TAG-1 KO は軸索萎縮ならびに軸索変性を示唆する所見が得られた (図 4)。さらに EAN 誘導後に施行した sciatic nerve の電気生理所見は、TAG-1 KO で振幅低下 (図 5) が示され、同部位の病理所見と同様の傾向が示された。

以上より、TAG-1 が胎生期より重要な役割

を担う可能性が高いこと、さらに炎症性脱髄を誘導することにより、野生型と比較して顕著な運動機能障害の増悪を示すことが臨床的、電気生理学的、形態学的に示された。TAG-1は末梢神経ではjuxtaparanodeへの特異的な分布が知られているが、詳細な役割は明らかになっていない。今回の研究成果はTAG-1を含むjuxtaparanodeが脱髄と再髄鞘化機転とにある病態に関わる可能性を示している。また今回作成した動物モデルはCIDPをはじめとする脱髄性ニューロパチーの難治モデルとして利用し得ることから、新たな治療標的探索への応用が期待される。

図4 EAN誘導後のsciatic nerve病理所見
WT, EAN (+) TAG-1 KO, EAN (+)

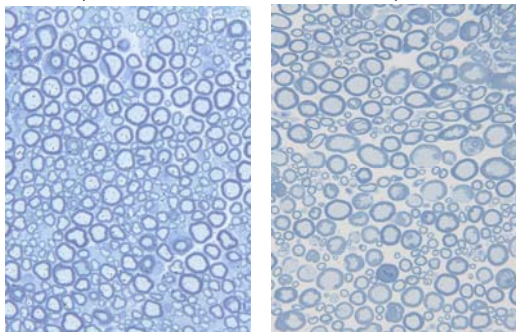
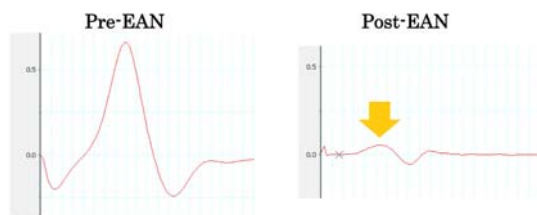


図5 EAN後の振幅低下 (sciatic nerve)



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 22 件)

- 1: Ohyama K, Koike H, Masuda M, Sone J, Hashimoto R, Tomita M, Kawagashira Y, Iijima M, Nakamura T, Watanabe H, Sobue G. Autonomic manifestations in acute sensory ataxic neuropathy: A case report. *Auton Neurosci*. 2013 (epub ahead of print).
- 2: Ohyama K, 1: Ohyama K, Koike H, Iijima M, Hashimoto R, Tomita M, Kawagashira Y, Satou A, Nakamura S, Sobue G. IgG4-Related Neuropathy: A Case Report. *JAMA Neurol*. 2013;70:502-5. 査読有
- 3: 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
- 4: 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
 - 5: 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. Page223-229(2013.01) 査読無
 - 6: 【Guillain-Barre 症候群とその類縁疾患】 Guillain-Barre 症候群の亜型「純粋感覚型」飯島 正博(名古屋大学 医学部神経内科), 小池 春樹, 祖父江 元. *神経内科* (0386-9709)78 巻 1 号 Page50-56(2013.01) 査読無
 - 7: 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. *Nutrition*. 2012;28:821-4. 査読有
 - 8: 免疫性末梢神経障害 Update 慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー(CIDP) 最近の知見. 飯島 正博. *臨床神経学*(0009-918X)52 巻 11 号 Page917-919(2012.11) 査読無
 - 9: 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
 - 10: CIDP 治療におけるIVIg療法の有用性 飯島 正博(名古屋大学 大学院医学系研究科神経内科), 小池 春樹, 祖父江 元. *日本臨床* (0047-1852)70 巻 4 号 Page715-721(2012.04) 査読無
 - 11: 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 巻 1 号 Page95-101(2012.06) 査読有
 - 12: 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(10):2067-75. 査読有

13: 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

14: 【免疫性神経疾患の治療:標準的治療とトピックス】 慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー. 飯島 正博, 小池 春樹, 祖父江 元 *神経治療学*(0916-8443)29 巻 1 号 Page29-34(2012.01) 査読無

15: 難治性末梢神経疾患の治療戦略 慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチーの治療反応性. 飯島 正博. *臨床神経学*(0009-918X)51 巻 11 号 Page1012-1014(2011.11) 査読無

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

17: Iijima M, Koike H, Katsuno M, Sobue G. Polymorphism of transient axonal glycoprotein-1 in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Peripher Nerv Syst*. 2011;16 Suppl 1:52-5. 査読無

18: 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

19: 【末梢神経障害の治療の進歩】 慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチーの治療反応性. 飯島 正博. *神経治療学*(0916-8443)28 巻 2 号 Page105-109(2011.03) 査読無

20: 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

21: 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

22: 各種疾患 末梢神経障害 CIDP の遺伝子多型と治療反応性. 飯島 正博, 小池 春樹, 祖父江 元. *Annual Review 神経* 2011 巻 Page300-309(2011.01) 査読無

〔学会発表〕(計 7 件)

1. 免疫反応と輸血 免疫グロブリン大量療法と慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチー 飯島 正博(名古屋大学 医学部神経内科) *臨床病理*(0047-1860)60 巻補冊 Page18(2012.10) (臨床検査医学会、京都、11/29-12/2, 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, 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. 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, 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)

4. 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)

5. CIDP CIDP の治療反応性を規定する因子 飯島 正博. 日本神経免疫学会学術集会抄録集 23 回 Page39(2011.09) (日本神経免疫学会、東京、9/15-17, 2011 年)

6. 炎症性末梢神経疾患 GBS/CIDP の診断と治療 update. 飯島 正博, 祖父江 元. *小児科診療*(0386-9806)74 巻 3 号 Page511(2011.03) (小児神経筋疾患懇話会、東京、8/27, 2011 年)

7. 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)

〔図書〕(計 1 件)

整形外科臨床パサージュ 10
p.255-271、中山書店、2011年9月1日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし