

論文の内容の要旨

- 1 申請者
防衛医科大学校 山崎 啓史
- 2 論文題目
抗 Neurofascin155 抗体関連疾患における中枢神経障害に関する研究
- 3 論文の内容の要旨（博士：2,000 字程度）

【背景・目的】

Neurofascin(NF)155 は、Schwann 細胞上の Ranvier 傍絞輪部に発現して軸索髄鞘間接着に働く蛋白である。近年、これら末梢神経絞輪部/傍絞輪部蛋白を標的とした自己抗体による、autoimmune nodopathy (AN)の疾患概念が確立された。抗 NF155 抗体は受動免疫実験での末梢神経障害惹起も確認され、AN の代表的な病原抗体と認識されている。

一方、抗 NF155 抗体陽性例は時に AN と中枢神経病変を併存させ中枢末梢連合脱髄症(combined central and peripheral demyelination: CCPD)の臨床表現型をとることが知られる。NF155 がオリゴデンドロサイトにも発現することから、同抗体による中枢/末梢神経系両者の障害がその病態として想定されてきた。しかし、中枢病変に対する同抗体の病的意義は確立しておらず、同抗体陽性例が CCPD と AN の病型の別を生じる要因も未解明である。

本研究では、抗 NF155 抗体の中枢神経障害作用に着目し、患者脳脊髄液(cerebrospinal fluid: CSF)中の同抗体と臨床像の相関の検討、および患者 IgG 髄腔内受動免疫マウスの作成を行った。これにより、同抗体陽性例における中枢神経障害合併の規定因子を解明することを目的とした。

【対象並びに方法】

2014 年から 2020 年間に収集した抗 NF155 陽性血清検体のうち、同時期に採取した CSF 検体を評価し得た 7 検体を対象とした。enzyme-linked immunosorbent assay により CSF 中の抗 NF155 抗体活性を測定し、各検体由来症例の臨床情報との相関を解析した。

続いて、マウスを用いた慢性髄腔内試料投与実験系を確立した。抗 NF155 抗体陽性 CCPD・AN 症例および同抗体陰性 healthy control (HC)血清から取得した精製 IgG 溶液、CCPD 血清 IgG から抗 NF155 抗体を吸収除去した IgG 溶液を作成した。各試料を上述の実験系により 28 日間持続投与し、この髄腔内受動免疫がマウスに与える影響を、行動学的、組織学的に比較した。

加えて、各血清 IgG 中の抗 NF155 抗体以外の抗マウス脳組織蛋白抗体を western blot assay により検索した。

【結果】

(1) 抗 NF155 抗体の中枢神経曝露と臨床病型の関連の解析

AN 5 症例、CCPD 2 症例の血清/CSF 検体を解析した。CSF 中の抗 NF155 抗体補正吸光度値(CSF-NF155 抗体 cOD 値)は、CCPD 例で AN 例に比し高い傾向を認めた。単回帰分析による各臨床検査値との相関の解析では、CSF-NF155 抗体 cOD 値は髄液蛋白量、および血液脳・神経関門破綻の指標である Q albumin 値との有意な正の相関を示した。

(2) 髄腔内受動免疫モデルによる抗 NF155 抗体陽性 IgG の中枢神経障害作用の解析

CCPD、AN、HC 血清 IgG 投与群(各 n=7)の行動表現型の比較では、試料投与 day28 時点の foot print test で後肢歩隔の 3 群間有意差を認めた。事後解析では、CCPD 血清 IgG 投与群の後肢歩隔が HC 血清 IgG 投与群に比し有意に拡大していた。一方、AN 血清 IgG 投与群では同様の有意差はなかった。

各 IgG 投与個体脳組織の免疫染色では、CCPD 血清 IgG 投与群で、ミクログリアマーカー ionized calcium binding adapter protein 1 (Iba1)の染色性と明瞭に共局在するヒト IgG 沈着を認めた。一方、他 2 群では同様の所見はなかった。さらに、抗 NF155 抗体吸収処理を加えた CCPD 血清 IgG の投与個体脳組織においても、ミクログリアへのヒト IgG 沈着が確認された。

(3) 各血清 IgG 中の抗脳由来蛋白抗体の検索

マウス全脳蛋白可溶化液の泳動による western blot assay にて、NF155 の分子量に一致しない、70~80 kDa および約 40 kDa の蛋白に対する CCPD 血清 IgG の反応を認めた。一方、AN、HC 血清では同様の反応はなかった。

【考察】

前述(1)の検討より、抗 NF155 抗体は CCPD、AN 両者において血液脳/神経関門破綻の程度に応じ CSF に出現することを示した。CCPD で CSF-NF155 抗体活性がより高かったことから、一定量の抗 NF155 抗体が髄腔へ移行した場合に中枢神経病変を合併することが推察された。

しかし前述(2)の検討では、等量の CCPD、AN 血清 IgG を髄腔内投与した際、両者は異なる病的作用を示した。また、CCPD 血清 IgG の脳組織沈着は抗 NF155 抗体非依存的な現象であり、前述(3)の検討では同抗体以外の IgG 型抗脳組織蛋白抗体が CCPD 血清中より検出された。これらの結果から、CCPD 血清 IgG は AN 血清 IgG と異なり抗 NF155 抗体以外の併存抗体を介してマウス中枢神経組織に障害を及ぼすものと考えた。

以上より、抗 NF155 抗体関連疾患においては、同抗体以外の病原抗体併存の有無が CCPD と AN の病型を分ける要因である可能性があること、実患者での CSF-NF155 抗体の出現は血液脳/神経関門破綻に伴う副次的な現象であり中枢神経病変には直接関与していないこと、以上の 2 点が示唆された。

【結論】

①抗 NF155 抗体は、CCPD、AN 両者において血液脳/神経関門破綻の程度に応じ CSF に出現する。②髄腔内投与された CCPD 症例 IgG は、抗 NF155 抗体

非依存的にミクログリアへ沈着し、AN 症例 IgG と異なる病原性を示す。③ CCPD 症例血清は AN 症例血清と異なり、抗 NF155 抗体以外の IgG 型抗脳組織由来蛋白抗体を含有する。④ 抗 NF155 抗体陽性症例の CCPD/AN の病型の別は、同抗体以外の抗中枢神経組織抗体の有無により分けられるものと考えられる。

4 キーワード（5 個程度）

「Ranvier 絞輪」「neurofascin155」、「autoimmune nodopathy」、「中枢末梢連合脱髄症」、「受動免疫モデル」