九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

# 神経難病の謎を紐解く分子を求めて

吉良，潤一
国際医療福祉大学大学院医学研究科トランスレーショナルニューロサイエンスセンター福岡薬学部

https://doi.org/10.15017/4150461

出版情報：福岡醫學雜誌. 111 (3), pp.93-112, 2020-09-25. 福岡医学会
バージョン：
権利関係：

総　　説

# 神経難病の謎を紐解く分子を求めて

国際医療福祉大学大学院医学研究科トランスレーショナル
ニューロサイエンスセンター・福岡薬学部
福岡中央病院脳神経センター脳神経内科
九州大学名誉教授（神経内科学分野）

吉　良　潤　一

## はじめに

九州大学神経内科は，1963 年の九州大学医学部附属脳神経病研究施設内科部門の設立以来，神経難病の病態解明に挑んできた．神経難病は，神経変性疾患と神経免疫疾患が主要なものである．私は 1979 年に九州大学医学部を卒業して，1980 年 12 月から多発性硬化症（multiple sclerosis, MS）の臨床研究を始めた．これは神経内科の設立以来の全 MS 入院例のステロイド治療効果を，カルテをめくって評価するという根気のいるものだった[1]．これにより先達のカルテ記載を学ぶことができ，振り返ってみると若い時期に臨床研究の視点を鍛えられたことは後に役立った．以来，40 年が過ぎた．当時は神経難病の研究は困難を極め，病態分子は全く見えなかった．私の最初の基礎研究は，髄鞘塩基性蛋白（myelin basic protein, MBP）のアミノ酸配列を蛋白レベルで決定するという地味で忍耐を要するテーマだった[2]．この研究を通じて分子をみていこうとする気持ちが育まれた．

この 40 年の間に，神経免疫疾患では MS をはじめとして再発を効果的に抑える疾患修飾薬（disease-modifying drug, DMD）が臨床に導入された．しかし，MS においても根治療法はなく，長期的な障害の進行を防ぐことは難しい．また神経変性疾患に関しては，遺伝性脊髄性進行性筋萎縮症の遺伝子治療などを除き，障害の進行を変える DMD は開発されていない．その理由は，病態の解明が十分になされていないことに尽きる．したがって，神経難病の病態を紐解く分子の探索が，世界中で活発に行われてきた．たとえば遺伝性神経疾患の原因遺伝子の探索から多くの重要な病因分子が発見されたし，また新たな自己抗体の発見によりその標的となる神経系の重要な機能分子が見出された．発見された鍵となる分子が，それぞれピースのようにつながって，病態の全貌が次第に明らかになりつつあり，神経難病の解明はアトラクティブな時代を迎えている．本稿では，臨床的な視点からクリニカル・クエスチョンを立て，分子レベルでいかにしてその解答を得るかを追求してきた私たちの歩みとそこで発見した神経難病の鍵となる分子に焦点を当てて紹介したい．

## 1．中枢神経脱髄疾患の鍵となる分子の発見と神経・軸索変性への展開

神経難病は，神経免疫疾患と神経変性疾患が主要なものである．いずれも不可逆性の障害の進行は，神経細胞・軸索の進行性の脱落による．近年では，神経変性疾患においても，神経細胞死にはニューロン自体よりもグリア細胞の寄与が極めて大きいこと（non-cell autonomous cell death）が判明している．私たちは，中枢神経脱髄疾患を対象にして，グリア機能の破綻とグリア炎症が病態進行に重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた．

Corresponding author : Jun-ichi Kira
Department of Neurology, Brain and Nerve Center, Fukuoka Central Hospital, 2-6-1 Yakuin, Chuo-ku, Fukuoka 810-0022, Japan
Tel : + 81-92-741-0300　Fax : + 81-92-781-2563
E-mail : junkira@iuhw.ac.jp

### 1.1. 中枢神経脱髄性疾患の Clinical question

#### 1.1.1. 再発はなぜ起こるか

MS は代表的な中枢神経脱髄疾患で，世界中に約 300 万人の患者が存在する[3]．髄鞘が豊富に存在する中枢神経白質を主に侵す非化膿性炎症性疾患である．血管周囲性に T 細胞，マクロファージを主体とする炎症細胞浸潤がみられ，脱髄は血管周囲性に拡がる[3]．髄鞘が脱落した病巣でも軸索が比較的残存していることから，一次的な脱髄炎が局所性・多巣性に生じているとされる．中枢神経のみが障害され末梢神経は障害されないことから，中枢神経髄鞘抗原を標的とする自己免疫疾患と考えられているが，証明はされていない．末梢血で複数の中枢神経髄鞘抗原の複数の部位に反応する epitope spreading を呈する自己反応性 T 細胞が増加しているので，中枢神経髄鞘抗原に感作された状態であるといえる[3]．抗 $\alpha$4 インテグリンモノクローナル抗体であるナタリズマブは T 細胞が血管内皮に接着するのを阻止することで，フィンゴリモドはセントラルメモリー T 細胞を局所リンパ節にトラップすることで，自己反応性 T 細胞が中枢神経内へ浸潤するのを防ぎ，再発を防止する．つまり，再発においては T 細胞の中枢神経への浸潤が，重要なステップといえる．しかし，MBP などに反応する T 細胞は，急性散在性脳脊髄炎（acute disseminated encephalomyelitis, ADEM）でも存在するが[4]，ADEM では再発は起こらない．ADEM でも MS でも，免疫制御系が作動して再発は自然に寛解し得る．では，なぜ MS では ADEM とは異なり頻回に中枢神経炎症が再発するのだろうか．この点は明確な回答が得られていない．

#### 1.1.2. 障害はなぜ進行するか

MS は自然経過より，急性増悪で発症する再発寛解型（relapsing remitting MS, RRMS），発症時から再発なく緩徐に障害が進行する一次進行型（primary progressive MS, PPMS），そして RRMS から移行する二次進行型（secondary progressive MS, SPMS）に分類される（図 1）．MS の約 90% を占める RRMS は，二次進行期に移行すると，再発と無関係に次第に障害が進行するようになる．未治療では RRMS から SPMS への移行は，発症 6〜10 年で 30〜40%，20 年で約 80% とされる[5]．現在使用可能な DMD は，RRMS の再発を 30〜70%，障害進行を 10〜40%減らすとされるが[6]，PPMS や SPMS における障害の慢性的な進行を抑制する作用は乏しい．SPMS では，経口薬の siponimod（選択的なスフィンゴシン 1-リン酸受容体 1 及び 5 型の機能的アンタゴニストで，フィンゴリモドと同様な作用機序）が，プラセボ対照二重盲検比較試験でプラセボ群と比較し，3 カ月以上続く障害の進行リスクを約 20%減らした[7]．PPMS では，抗 CD20 抗体である ocrelizumab による抗 B 細胞療法が，24 週時点で障害が進行している患者の割合を，プラセボ群の 35.7%から 29.6%へ 6.1%低下させた[8]．治療法のなかった進行型 MS 患者にとっては福音だが，その治療効果は全く不十分と言わざるを得ない．これらの薬剤は，ガドリニウムで造影される病巣があって，免疫系の関わる炎症が存在する場合に進行抑制効果が高い[7][8]．つまり，免疫系を標的とした治療薬では，再発によらない障害の慢性的な進行を防ぐのが困難といえる．

このような障害の不可逆性の進行は，ニューロンや軸索が次第に脱落することによる．MS では，初回発作の時期から，RRMS，SPMS まで，さらには PPMS においても，正常下限（-0.4%）[9]を超える脳萎縮が持続的に起こっている[10]．急性病巣では軸索切断を意味する多数の axonal（terminal）ovoid がみられ，主には CD8 陽性 T 細胞が軸索を切断する[3]．一方，慢性病巣では，炎症細胞浸潤は減少しグリオーシスが強くなり，脱髄に加えて軸索の変性・脱落が顕著になる[3]．脱髄軸索の切断や変性が起こると，神経機能は恒久的に回復しない．MS の全経過を通じて，また全ての病型に共通する進行性の脳萎縮は，急性期には軸索切断が，慢性期には軸索変性が主となっている（図 1）[3]．慢性期の軸索変性には，活性化ミクログリアによる軸索障害や酸化ストレス，またミトコンドリア障害による軸索のエネルギー不足などの寄与が示唆されている[11]．しかし，急性期では血管周囲性の限られた炎症細胞浸潤が，Baló 病や MS の tumefactive lesion（腫瘍様病巣），類縁疾患で NMO の長大な脊髄病巣など巨大な脱髄病巣や広汎な組織破壊をきたす機序は明らかではない．さらに，慢性期では障害進行の原因となる進行性の脱髄と軸索変性がなぜ起こるかという問いには，明確な回答が得られていない．私たちは，脳の恒常性を保つ役割を担うグリアシ

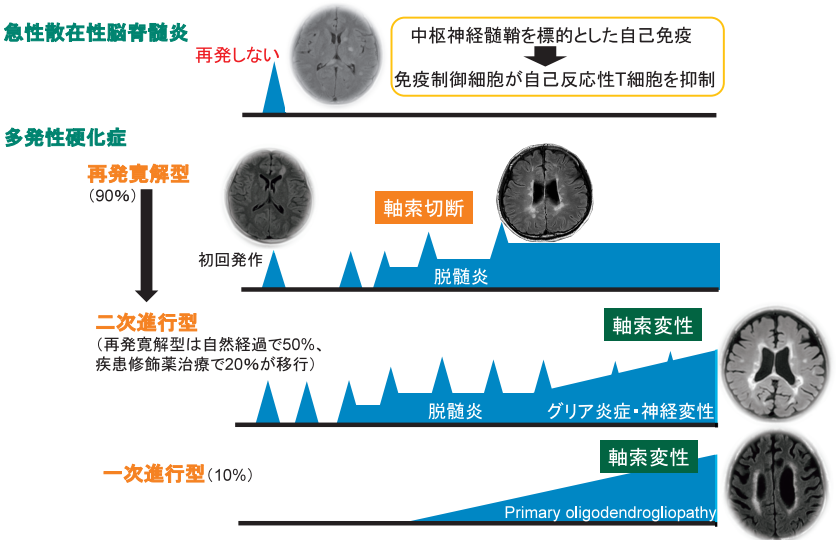


**図 1**　MS（多発性硬化症）の自然経過から見た病型と病態
ADEM（急性散在性脳脊髄炎）は，髄鞘抗原に対する自己免疫機序によるが，基本的に再発しない．MS の大きな特徴は，再発することと障害が進行性に増悪することである．

ンシチウムに着目して，これらの問いの回答を追求した．

### 1.2. グリアシンシチウム

中枢神経グリアには，軸索を被覆する髄鞘を作るオリゴデンドログリア，ニューロンに栄養を供給するアストログリア，胎生期の卵黄嚢由来で脳の免疫担当細胞であるミクログリアがある．アストログリアとオリゴデンドログリアは，gap junction（GJ）チャネル（ギャップ結合）によって接合され，全体としてグリアシンシチウム（glia syncytium）を構成している．GJ チャネルは，コネキシン（Connexin, Cx）によって形成される．Cx はほぼ全ての細胞に発現している 4 回膜貫通型蛋白質で，細胞内ドメインと C 末端のアミノ酸配列の違いにより分子量が異なる（図 2）[12]．ヒトでは 21 種類のコネキシンが同定されている．分子量により 43 kDa の Cx は Cx43 というように命名される．Cx は 6 量体を形成することで細胞表面に hemi-channel（connexon）を構築し，この hemi-channel 同士が結合することで GJ チャネルが形成される[13]．アストログリアは Cx30，Cx43，オリゴデンドログリアは Cx32，Cx47 を発現する．同種グリア間で GJ チャネルを形成するとともに，異種グリア間でも，アストログリアの Cx30 とオリゴデンドログリアの Cx32，アストログリアの Cx43 とオリゴデンドログリアの Cx47 が GJ チャネルを形成する（図 3）[14][15]．オリゴデンドログリアの Cx32 は主にランビエ絞輪部近傍に存在する．一方，Cx47 は主に細胞体近位部でアストロの Cx43 と GJ チャネルを形成する．アストログリアの Cx43 は白質より灰白質に豊富に存在し，白質では主に血管周囲の足突起に局在する．またグリア限界膜にも豊富に発現している．Cx30 は，灰白質ニューロン周囲のアストログリアに主に発現している．

細胞間の GJ チャネルは，約 1,000 kDa までの分子が通過でき，選択性がないといわれていた．しかし，細胞内ドメインのリン酸化状態により GJ チャネルの開閉や透過性が変化することが示されている[16]．たとえば，Cx32 は Cx43 と比較しアデノシンを 10 倍透過させる．一方，Cx43 は Cx32 と比較しアデノシン三リン酸（ATP）を約 100 倍透過させる．グリアの Cx GJ チャネルは，水，電解質，アミノ酸のみならず，グルコース，乳酸などをも通過させる．グルコースなどのエネルギー源は毛細血管から血管内皮の glucose transporter-1（GLUT-1）とアストログリア足突起の monocarboxylate transporter（MCT1-4）を介してアストログリアに取り込まれ，Cx43/Cx47 GJ チャネルを介してオリゴデンドログリアへ伝達される．オリゴデンドログリアでは解糖系でピルビン酸・乳酸を産生し，乳酸は軸索のエネルギーが不足した際に，

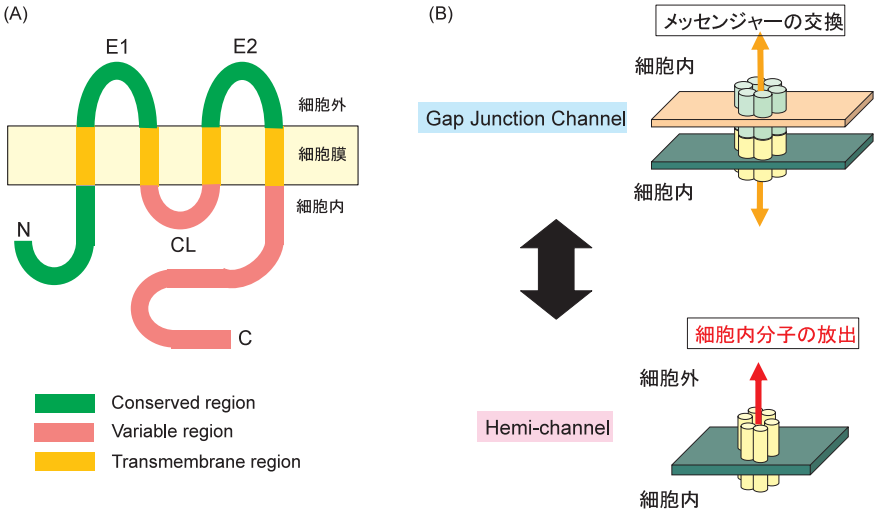


**図 2**　コネキシンの一般的な構造
(A) Cx（コネキシン）は 4 回膜貫通型蛋白質で，N 末端と細胞外ドメイン（E1, E2）はほぼ全てのコネキシンで保持されている．一方，細胞内ループ（CL）と C 末端（C）は，各 Cx により変化し分子量を決定する．
(B) Cx の 6 量体は，hemi-channel（connexon）を形成し，これらが隣り合う細胞同士で結合することで gap junction（GJ）channel を形成する．GJ channel はクラスターを形成し細胞同士を接着する．

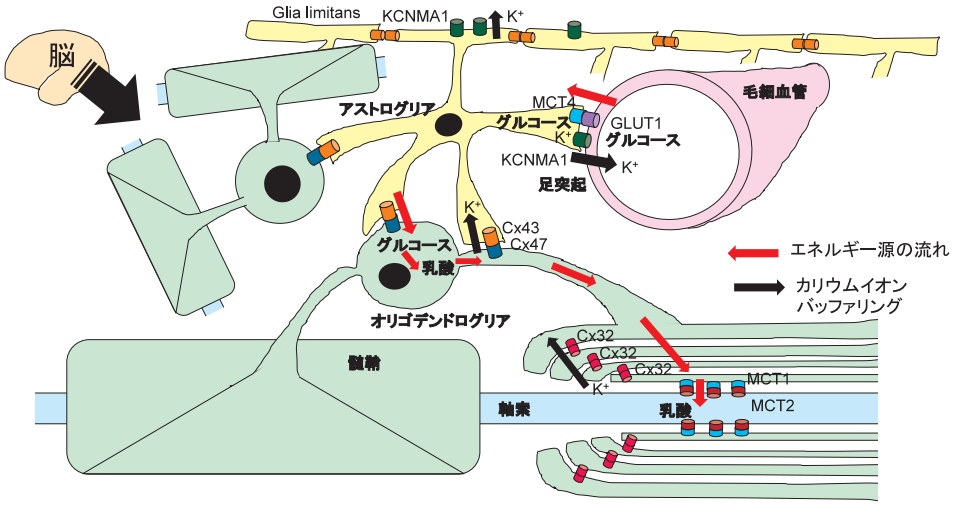


**図 3**　グリアシンシチウムによる脳の恒常性維持機構
グルコースなどのエネルギー源は毛細血管から血管内皮の GLUT1 とアストログリア足突起の MCT4 を介してアストログリアに取り込まれる．さらに，Cx43/Cx47 GJ チャネルを介してアストログリアからオリゴデンドログリアに運ばれる．オリゴデンドログリアでは，グルコースがピルビン酸・乳酸に代謝され，乳酸は軸索のエネルギーが不足した際に，オリゴデンドログリアの MCT1 と軸索の MCT2 を経由して軸索・ニューロンへと供給される．
他方，神経活動により軸索から細胞外に放出されたカリウムイオンは，Cx32/Cx32 GJ チャネルを介してオリゴデンドログリアに取り込まれる．Cx43/Cx47 GJ チャネルを介してオリゴデンドログリアからアストログリアへ運ばれ，アストログリアの足突起の KCNMA1 から毛細血管へ，またはアストログリアの glia limitans から髄腔内へと放出される．

オリゴデンドログリアのMCT1と軸索のMCT2を介して軸索・ニューロンへと供給される（図3）[17]．

一方，軸索興奮により細胞外に大量に放出されたカリウムイオンは，髄鞘間のCx32を介してオリゴデンドログリアの細胞体に運ばれ，アストログリアとのCx47/Cx43 GJチャネルを経てアストログリアの細胞体へ運ばれ，potassium calcium-activated channel subfamily M alpha 1（KCNMA1）を介してアストログリアの足突起から毛細血管へ，あるいはglia limitansから髄腔内へと放出される（図3）[18]．カリウムイオンのバッファリング機能は，軸索の反復する発火を可能にするために不可欠な機構である．たとえば，その中枢脱髄炎における意義を支持する重要な知見を，私たちはMSの類縁脱髄疾患でアストログリアのaquaporin-4（AQP4）に対する特異抗体によって生じる視神経脊髄炎（neuromyelitis optica, NMO）の大規模全ゲノム関連解析で得ている[19]．NMOでは，グリアシンシチウムにおいてカリウムイオンの血管への排出を担うKCNMA1の発現を低下させる多型が，NMOの横断脊髄炎による重度の障害のリスク遺伝子となっていた[19]．NMOの脊髄病巣でもKCNMA1の発現が顕著に低下していた[19]．つまり，カリウムイオンのバッファリング機能の喪失は，軸索機能を阻害し障害を重くしている．このように，Cxを介するグリアシンシチウムは，グルコースや乳酸などのエネルギー源やアミノ酸，さらにはカリウムイオンなどの電解質を，脳実質全体に分配し脳内環境の恒常性維持に極めて重要な役割を果たしている．なお，細胞膜上に単独で存在するhemi-channelは，電解質，アミノ酸，ATP，さらにはサイトカインなどの細胞内外の物質交換経路としての役割がある．

### 1.3. 中枢脱髄疾患の病巣ではグリアコネキシンはどうなっているか

RRMSの急性期病巣は，血管周囲性炎症はT細胞やマクロファージから成る炎症細胞浸潤を伴い，病巣内で泡沫状マクロファージに髄鞘崩壊産物の貪食像がみられる場合は，活動性脱髄（active demyelination）と記述される[3]．オリゴデンドログリアは，個々の症例や病期により異なり，初期には数は保たれるという報告から顕著に脱落するという報告まである．アストログリアは，HE染色で赤く肥大した胞体を示すhypertrophic astrocyteの形態を呈し，中間径フィラメントのglial fibrillary acidic protein（GFAP）やvimentin，nestinなどの発現が亢進する[3]．また軸索切断が様々な程度で生じている[3]．慢性期病巣は境界が明瞭で，髄鞘が完全に脱落しているが，髄鞘貪食マクロファージはみられない[3]．線維性アストログリオーシスが著明で，成熟オリゴデンドログリアは認めない．軸索脱落・軸索障害が様々な程度でみられる．血管周囲性には少数のリンパ球やマクロファージが残存する．SPMSの脱髄病巣は，血管周囲性炎症細胞浸潤や髄鞘貪食マクロファージは乏しく，局所的な活動性脱髄はまれにしかみられない[20]．病巣辺縁部には活性化ミクログリア，活性化補体の沈着がみられ，進行性の脱髄の拡大を呈するのが特徴である．血管周囲性炎症細胞浸潤を伴わない進行性脱髄が，慢性進行性の経過に寄与していることが示唆される．

私たちは，MSの最重症亜型であるBaló病（同心円硬化症）の同心円状脱髄巣では，脱髄層でも髄鞘残存層でもアストログリアのAQP4やCx43，さらにオリゴデンドログリアのCx32やCx47が広汎に脱落していることを報告した（図4，図5）[21]．Baló病の最外層（leading edge）では，オリゴデンデログリアの最遠位部に位置する髄鞘最内側のinner loopに存在するmyelin-associated glycoprotein（MAG）のみが低下し，それ以外の髄鞘蛋白が保たれるdistal oligodendrogliopathyの所見を呈する．このleading edge部位では，MAGよりも顕著にCx43やAQP4が脱落する．しかし，抗体や活性化補体の血管周囲性沈着はみられず，Baló病では抗AQP4抗体や抗Cx43抗体は陰性であることから[19]，抗体や補体の関与しないアストログリア障害（Cx astrocytopathy）が存在することを指摘した[22]．Leading edge部位では，オリゴデンドログリアのCx32/Cx47は外側では保たれ，内側で染色性が低下しているのみだったので，アストログリアのCx43の脱落が先行すると考えた．MSの急性脱髄病巣でも，同様のアストログリアのCx43やオリゴデンドログリアのCx32/Cx47の広汎な脱落がみられた[23]．アストログリアのCx43の脱落は，発症2年以内の死亡とdistal oligodendrogliopathyの存在と関連していた[23]．したがって，Cx43やAQP4などアストロサイト足突起に発現する一部の機能的膜蛋白が，抗体・補体非依存性に早期から脱落することが，MSやBaló病の急性期病態に関与していることが示唆された．

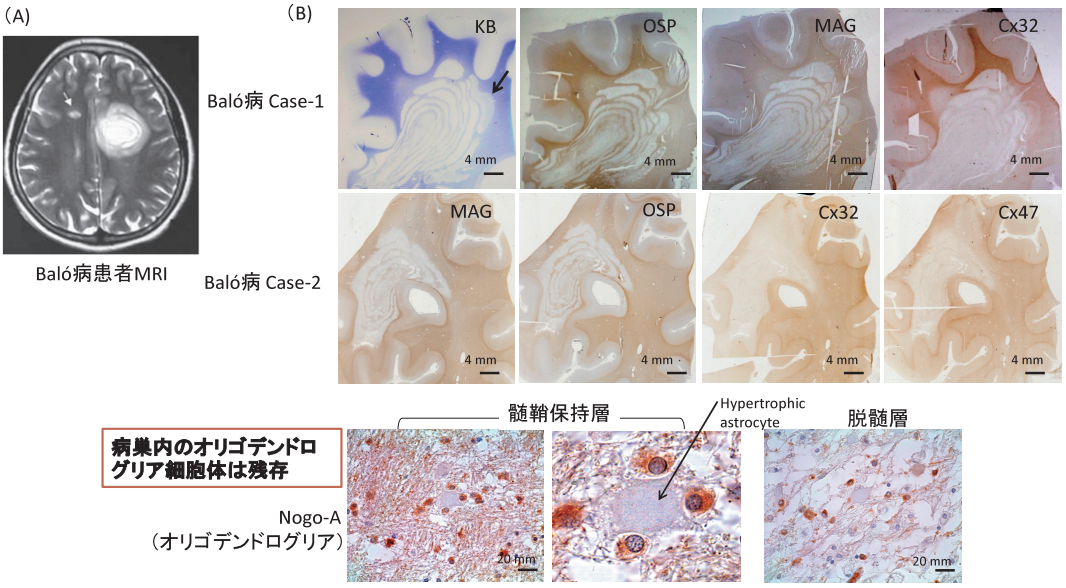


**図 4**　Baló 病（同心円硬化症）の層状脱髄巣でのオリゴデンドログリアの Cx32・Cx47 の広汎な脱落
（A）Baló 病の脳 MRI（中華人民共和国江西人民医院　呉暁牧教授提供）.
（B）Baló 病の巨大な層状脱髄巣では，脱髄層でも髄鞘保持層でも Nogo-A 陽性のオリゴデンドログリアの細胞体は存在しているものの，Cx32 も Cx47 も広汎に脱落している．文献 19）より引用.

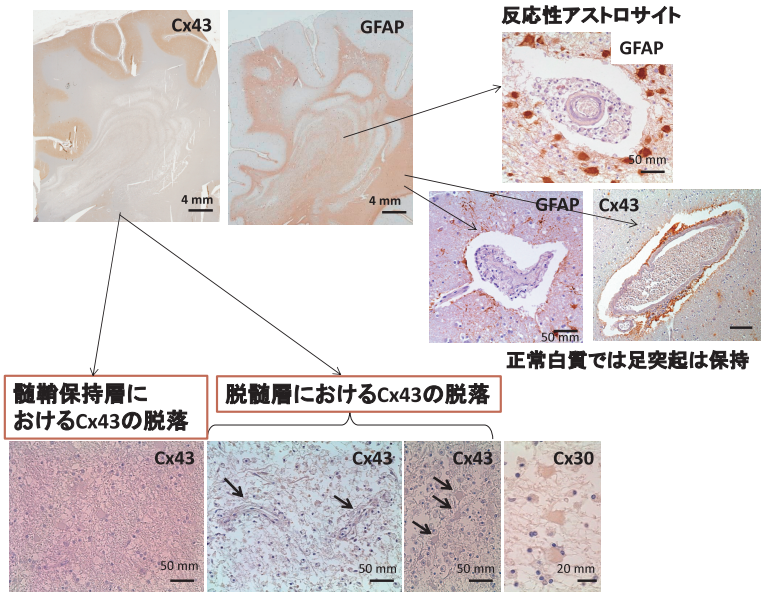


**図 5**　Baló 病（同心円硬化症）の層状脱髄巣におけるアストログリア Cx43 の広汎な脱落
Baló 病の巨大な層状脱髄巣では，脱髄層でも髄鞘保持層でも GFAP 陽性のアストログリアは存在しているものの，Cx43 は広汎に脱落している．文献 19）より引用.

興味深いことに，MS の類縁疾患で抗 AQP4 抗体によって生じる NMO でも，血管周囲性病巣において AQP4 の脱落と同様に最も早期からアストログリアの Cx43 が脱落していた[23)24)]．またオリゴデンドログリアの Cx32/Cx47 も広汎に脱落していた[23)24)]．NMO でも脳病巣では，MAG が早期から脱落する distal oligodendrogliopathy の所見がみられ，アストログリアにおける Cx43 の脱落とよく相関していた[23)24)]．NMO では抗体や補体の沈着と，MS では T 細胞浸潤と関連して，アストログリアの Cx43 が脱落していた．すなわち，NMO では抗 AQP4 抗体と MS では T 細胞とトリガーは違っていても，急性病巣では共通して Cx43 の脱落を伴う astrocytopathy が生じていると考えられた．

一方，MS の慢性期病巣では，種々の程度の髄鞘再生が生じ，myelin oligodendroglia glycoprotein（MOG）や oligodendroglia-specific protein（OSP）などの髄鞘蛋白が再発現する．そのような部位においても，オリゴデンドログリアの Cx32/Cx47 は持続的に喪失していた[23)]．他方，アストログリアの Cx43 は，アストログリオーシスを反映して顕著に発現が亢進していた[23)]．

要約すると，MS の急性期から慢性期にかけて，オリゴデンドログリアの Cx32/Cx47 は脱落したままで回復しない．他方，アストログリアの Cx43 は急性期にはもっとも早期に広い範囲で脱落するが，慢性期にはアストログリオーシスを反映して顕著に発現が亢進する．共通するグリア Cx の変化が NMO や Baló 病でも認められ，中枢脱髄疾患に共通した変化といえる．グリア Cx の広汎な脱落は，グリアシンシチウムを介したエネルギー供給機能を破綻させ，髄鞘や軸索の脱落に寄与すると考えられる．特に慢性期に髄鞘が再生しても，オリゴデンドログリアの Cx32/Cx47 が脱落したままであるため，カリウムイオンのバッファリング機能がなくなり，軸索の反復する発火を難しくさせるとともに，軸索への乳酸などのエネルギー源の供給不足を起こし軸索機能を障害すると推定される．

### 1.4. アストログリア Cx43 が脱落するメカニズム

MS の急性期病巣では，leading edge でアストログリアの Cx43 の脱落がみられることから，最初に生じるイベントと考えられる．Cx43 は白質では，血管周囲のアストログリアの足突起に豊富に存在する．MS 剖検例の解析から，血管周囲性 T 細胞浸潤とアストログリアの Cx43 脱落の程度が相関していたので，血管周囲に浸潤しアストログリアの足突起にまず接する T 細胞が Cx の脱落に関わっていると考えた．そこで，T 細胞の分泌するサイトカインの作用を，アストログリアの単独培養系とアストログリアとミクログリアの共培養系で検討した[25)]．マウス末梢血ナイーブ T 細胞を CD3 抗体と各種サイトカインで Th1 細胞，Th17 細胞，制御性 T 細胞に分化させ，これらの細胞の培養上清を作用させたところ，Th1 細胞培養上清のみがアストログリアとミクログリアの共培養系でのみ Cx43 の発現を低下させた[25)]．Th1 細胞培養上清には IFN-$\gamma$ が豊富に含まれていることから，IFN-$\gamma$ を作用させたところ，アストログリアの単独培養系では Cx43 の発現は低下せず，アストログリアとミクログリアの共培養系でのみ Cx43 の発現が低下した．この状態では，scrape loading dye transfer assay により GJ チャネル機能が有意に低下していることを証明できた[23)]．IFN-$\gamma$ 刺激ミクログリア培養上清中に含まれる炎症性サイトカインを測定したところ，IL-1$\beta$，IL-6，TNF-$\alpha$ が顕著に上昇していた．そこで，これらの炎症性サイトカインをアストログリアの単独培養系に作用させたところ，IL-1$\beta$ が有意に Cx43 の発現を低下させた[25)]．

以上より，抗体・補体非依存性にアストログリアの Cx43 を低下させる機序として，末梢血から中枢神経内に浸潤した Th1 細胞が分泌する IFN-$\gamma$ が，ミクログリアを活性化させ，活性化ミクログリアが産生する IL-1$\beta$ がアストログリアに作用して Cx43 の発現を低下させると考えられた．

### 1.5. グリア Cx の持続的な異常は何をもたらすか：グリア Cx の脳内炎症における新たな役割の発見

#### 1.5.1. 想定されていたグリア Cx の脱髄炎における役割

病理学的解析から，MS 急性期にはアストログリアの Cx43 の脱落とオリゴデンドログリアの Cx32・Cx47 の脱落によりグリアシンチウムは破綻している．慢性期にはアストログリアの Cx43 発現は亢進するものの，オリゴデンドログリアの Cx32・Cx47 は脱落したままで，グリアシンチシウムの破綻は持続し

ている．グリアシンシチウムの破綻は，グルコースや乳酸などのエネルギー源を毛細血管からアストログリアを経由して，オリゴデンドログリアやニューロン・軸索に運ぶことを難しくする．このため，オリゴデンドログリアやニューロン・軸索は，慢性的なエネルギー不足に陥り，機能障害や細胞死が進行すると想定される．また，反復する軸索発火時に細胞外に増えるカリウムイオンのバッファリング効果がなくなるので，軸索機能は損なわれる．グリア Cx の脱落は，このようなエネルギー不足とカリウムイオンのバッファリング効果の喪失という主に代謝的な面で神経機能障害に寄与することが想定される．

グリア Cx の脱髄炎における役割を明らかにするには，グリア Cx を脱落させると脱髄炎がどう変化するかを in vivo で観察するしかない．先行研究では，全身で Cx43 を欠失させた Cx43 knockout（KO）マウス及び全身で Cx43 と Cx30 を欠失させた Cx43/Cx30 double KO マウスにおいては，MOG の免疫で惹起した実験的自己免疫性脳脊髄炎（experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE）は急性期では変化がないと報告されていた[26]．また，全身の Cx32 KO マウスでは，MOG による急性・慢性 EAE が増悪し，それは炎症の悪化というより Cx32 を欠失した代謝的な面での有髄線維の脆弱性によると報告されていた[27]．これらは，いずれも全身の Cx30，Cx32，Cx43 の髄鞘形成以前からの欠失マウスなので，よりヒトでの実態に近づけるためには，オリゴデンドログリア特異期に Cx47 を，アストログリア特異的に Cx43 を，髄鞘形成期以降に時限的に欠失させる必要がある．そこで，タモキシフェン投与後にそれぞれのグリアのみで特異的かつ時限的に Cx47，Cx43 を欠失させることができる，inducible conditional knockout（icKO）マウスを作成した．そのようなマウスに MS のモデルである EAE を誘導し，グリア Cx の喪失の影響を検討した結果，グリア Cx は脳内炎症環境を調整しているという全く意外な機能が見出された．

### 1.5.2. オリゴデンドログリアの Cx 脱落は脱髄炎に何をもたらすか

野生型マウスの EAE では，脊髄白質に主に発現するオリゴデンドログリア・アストログリア間の主要な GJ チャネルを形成するオリゴデンドログリアの Cx47 とアストログリアの Cx43 は，ともに急性期のピーク時には免疫前の 1/10 程度に著減し，慢性期には免疫前の 50～60％のレベルまで回復した[28]．

次いで Cx47 をオリゴデンドログリア特異的，かつ時限的にタモキシフェン投与後に欠失させることができる Cx47 icKO マウス（独自作成の *Plp1-Cre*$^{ERT}$ ; *Cx47*$^{fl/fl}$ マウス）を樹立した[28]．このマウスではタモキシフェン投与後に脳・脊髄でのオリゴデンドログリアの Cx47 が 75％程度減少したが，それだけでは脱髄は起こらず，臨床的にも病理学的にも変化は認めなかった．アストログリアの Cx43 の発現にも変化はなかったので，オリゴデンドログリア・アストログリア間の Cx47/Cx43 GJ チャネルは多くで破綻し，アストログリアで残存する Cx43 は hemi-channel 化していると考えられた．

Cx47 icKO マウスを MOG で免疫すると，急性期から EAE の発症が早くなり，ピークスコアが顕著に悪化し脱髄範囲が有意に拡大した[28]．このマウスは C57BL/6 の遺伝的背景をもち，野生型は chronic stable EAE の経過を示す（慢性期は障害が持続するものの進行性にならず再発もあまりみられない）．これに対し，Cx47 icKO マウスは慢性期に再発率が有意に増え，障害が進行性に増悪した．野生型では慢性期には髄鞘再生により脱髄範囲が縮小する一方，Cx47 icKO マウスでは脱髄範囲が拡大した[26)~28]．意外なことに急性期・慢性期を通じて CD3 陽性 T 細胞浸潤が Cx47 icKO マウスでは野生型より有意に高度だった．脊髄から精製した浸潤 T 細胞では，Cx47 icKO マウスでは野生型より IL-17 を産生している pathogenic な Th17 細胞が有意に増加していた[28]．さらに，急性期には Iba1 陽性活性化ミクログリアが，Cx47 icKO マウスでは野生型より有意に多く浸潤していた．つまり，Cx47 icKO マウスは，急性期に Th17 細胞浸潤が高度で強い脱髄炎を生じるのみならず，慢性期には再発性進行性の経過を呈し進行性に脱髄炎が拡大することがわかった．

次になぜこのマウスで中枢神経系での T 細胞性炎症が増強したかを検討した．Cx47 icKO マウスは，脾臓 T 細胞の MOG 特異的増殖応答や IL-17A，IFN-$\gamma$，G-CSF，MCP-1 等の炎症性サイトカイン産生は野生型と差がなかった[28]．したがって，Cx47 icKO は免疫系自体には作用していないと考えた．中枢神経内では，ミクログリアやアストログリアが免疫機能を担っている．ミクログリアは，遺伝子発現プロフィー

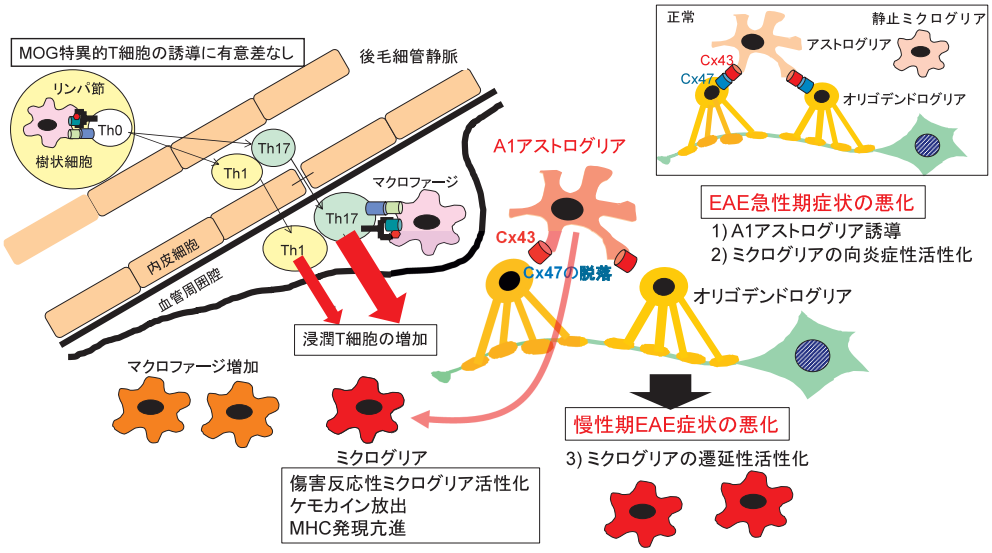


**図 6**　オリゴデンドログリア Cx47 の脱落による脱髄炎増悪の機序
（枠内）アストログリアの Cx43 やオリゴデンドログリアの Cx47 は，代謝的な機能ばかりでなく，脳内の炎症環境を制御する重要な機能をも担っている．
オリゴデンドログリアの Cx47 が脱落してアストログリアの Cx43 が hemi-channel 化すると，pro-inflammatory A1 astrocyte に偏倚する．ミクログリアは，pro-inflammatory/injury responsive なフェノタイプとなり，脳内が炎症性の環境となる．活性化ミクログリアは CCR5 などのケモカインを多量に産生するようになり，Th17 細胞が浸潤しやすくなるため T 細胞性炎症が増強される．この結果，再発性・進行性の経過となる．したがって，Cx43 hemi-channel 化をブロックすることが，治療手段となり得る．

ルにより pro-inflammatory microglia，anti-inflammatory microglia，さらに injury-responsive（IR）microglia などに大別される．アストログリアも，（pro-inflammatory）A1 astrocyte と（anti-inflammatory）A2 astrocyte，そして pan-reactive astroglia に分類される．全脊髄組織の RNA のマイクロアレイ解析により，Cx47 icKO マウスでは，野生型に比し急性期には A1 astroglia と pan-reactive astroglia が増加し，より炎症性に偏倚していた[28]．組織免疫染色でも A1 astroglia マーカーの C3 を発現するものが増加し，A2 astroglia マーカーである S100A10 陽性のものには差がなかった[28]．急性期に脊髄から単離したミクログリアのアレイ解析では，急性期・慢性期を通じて Cx47 icKO マウスでは野生型より pro-inflammatory microglia，IR microglia が増加し，CCL2 や CCL5 などの炎症性ケモカインの発現が亢進していた[28]．組織免疫染色でも Cx47 icKO マウスでは，NOS2 や MHC クラスⅡ抗原を発現するミクログリアが，急性期・慢性期を通じて野生型より多かった[28]．つまり，Cx47 icKO マウスでは，アストログリアが炎症性の A1 astrocyte に偏倚して，活性化ミクログリアが炎症性ケモカインを産生することで，末梢から Th17 細胞などを遊走させやすい脳内環境となっていた（図 6）．したがって，MS の剖検例で認めた急性期・慢性期を通じての Cx47 の脱落は，脳内炎症環境を悪化させ持続させる重要な役割を演じていることが初めて示された．

### 1.5.3.　アストログリアの Cx 脱落は脱髄炎に何をもたらすか

**Cx30 の欠失**：MS でも EAE でも慢性期にはアストログリオーシスを反映してアストログリアの Cx の発現は亢進するので，Cx30 KO マウスで MOG-EAE の慢性期の作用を観察してアストログリアで発現亢進する Cx30 の役割を検討した．急性期 EAE は，既報と同様に野生型と Cx30 KO で差はなかったが，慢性期 EAE では症状が有意に軽症化し，脱髄が縮小した[29]．急性期・慢性期を通じて CD3 陽性 T 細胞の浸潤程度に差はなかったが，意外なことに Cx30 KO マウスでは Iba1 陽性ミクログリアが有意に増加していた．これらの活性化ミクログリアは arginase 1 や brain-derived neurotrophic factor（BDNF）の発現が

亢進し anti-inflammatory なフェノタイプだった[29]．アストログリアは慢性期には A2 astrocyte に偏倚し S100A10 の発現が有意に亢進した．慢性期には軸索がより多く残存し，残存軸索では IL-34 の発現が有意に亢進していた[29]．したがって，Cx30 がないと，アストログリアは anti-inflammatory な A2 astrocyte に偏倚し，ミクログリアを神経保護的に活性化させ，残存軸索からの分泌される IL-34 が抗炎症性ミクログリアを増殖・維持させると考えられた．その結果，末梢からの T 細胞浸潤には差がないものの，慢性期の脱髄炎が軽症化する．したがって，慢性病巣でのアストログリオーシスによる Cx 発現亢進は，慢性期の脱髄炎を悪化させることが示唆された．

**Cx43 の欠失**：次に脊髄白質で GFAP を発現するアストログリア特異的かつ時限的に Cx43 を欠失させることができるマウスの樹立を試みたが，残念ながら脊髄白質での Cx43 脱落はうまくいかず，今後の検討課題として残された．一方，大脳や小脳皮質の GLAST を発現する皮質アストログリア特異的，かつタモキシフェン投与後に時限的に Cx43 を欠失させる Cx43 icKO マウス（独自作成の *GLASTCre*$^{ERT}$ ; *Cx43*$^{fl/fl}$ マウス）は樹立することができた．驚いたことに，脳皮質 Cx43 icKO マウスに MOG-EAE を誘導すると，急性期，慢性期ともに EAE が軽症化し，脱髄範囲が縮小した[30]．脳皮質では anti-inflammatory astroglia が活性化し，遠隔部位の脊髄白質で anti-inflammatory microglia が活性化していた．脳皮質 Cx43 icKO マウス EAE の髄液では，IL-6 や IL-1$\beta$ などの炎症性サイトカインが野生型より減少していた．これまでに急性 EAE 発症前に大脳アストログリアが活性化することが示されていたが，その意義はよくわかっていなかった．私たちの研究で，脳皮質アストログリアは Cx43 が発現した状態では，炎症性に偏倚して，髄液中への炎症性サイトカインなどの放出を介して遠隔性に脊髄の脱髄炎を制御しているという思いがけない作用が示された．

### 1.5.4. グリアシンシチウムの破綻は脱髄炎に何をもたらすか：課題と展望

以上の研究成果から，オリゴデンドログリアやアストログリアの Cx は，従来想定されていた GJ チャネルを介したグリアシンシチウムの代謝面での役割に加えて，脳内炎症を制御するという重要な役割を果たしていることが判明した．オリゴデンドログリアの Cx47 は，アストログリアの Cx43 と GJ チャネルを形成することで，アストログリアの Cx43 が hemichannel 化して A1 astrocyte に偏倚し炎症性サイトカインを放出することを防いでいる（図 6）．Cx47 が脱落したり，アストログリオーシスが起こったりすると，アストログリアの Cx43 や Cx30 は hemi-channel 化し，inflammatory な A1 astrocyte に偏倚し，脳内炎症を悪化させる．その細胞内機構は不明であるが，グリア Cx は細胞の遺伝子発現を調整していることも示されており，今後の研究課題である．

したがって，再発がなぜ MS で頻回に起こるかという問いに対しては，グリアシンシチウムの破綻により脳内環境が炎症性に傾いている点が答えとなろう．また軸索や髄鞘の慢性進行性の脱落がなぜ生じるかには，グリアシンシチウムの代謝面での役割と脳内炎症環境を制御する面での役割の破綻が関わっている．したがって，中枢脱髄炎では髄鞘を再生させるだけでは不十分で，Cx GJ チャネルを介するグリアシンシチウムを再生させない限り，代謝面でも脳内炎症環境という面でも真の再生とはいえない．私たちは，神経変性疾患でも MS と同様なグリア Cx の異常を見出している．たとえば，筋萎縮性側索硬化症ではヒト剖検標本とモデル動物で広汎なグリア Cx の発現異常（オリゴデンデログリアの Cx47/Cx32 の高度脱落とアストログリア Cx43 の発現亢進）を認めている[31]．神経変性症でもグリア炎症が病態の進行に深く関わっていることが示されてきているので，グリア Cx を標的とした治療薬は，神経免疫疾患・神経変性疾患を通じて，治療薬としての今後の開発が期待される．

## 2. 末梢神経脱髄疾患の鍵となる分子の発見

末梢神経の髄鞘は，Schwann 細胞により産生され，中枢神経髄鞘とは構成蛋白質などの成分が異なっている．したがって，中枢神経髄鞘を標的とする ADEM や MS があるように，末梢神経髄鞘を標的とする脱髄疾患が存在する．それは，急性単相性の経過をとる Guillain-Barré syndrome（GBS），慢性進行性ある

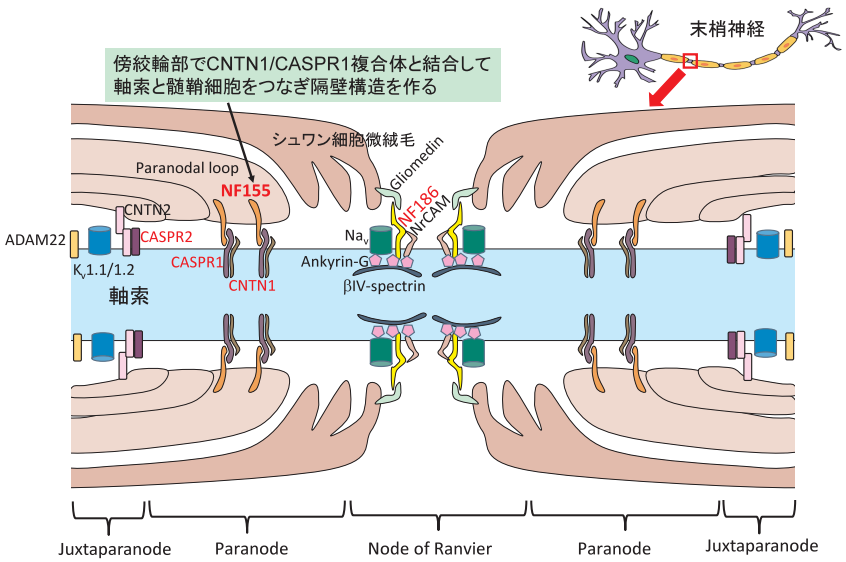


**図 7**　末梢神経有髄線維のランビエ絞輪部（Node of Ranvier）の模式図
自己抗体の存在が報告されている代表的な蛋白分子を赤字で示している．これらは，NF（neurofascin）155，NF186，CNTN1（contactin 1），CAPSR1（contactin-associated protein 1），CAPSR2（contactin-associated protein 2）などである．

いは再発性の経過をとる慢性炎症性脱髄性多発神経炎（chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, CIDP）であり，それぞれ中枢神経を侵す ADEM，MS に対応している．GBS やその亜型で外眼筋麻痺，運動失調，四肢腱反射の低下を三徴とする Miller Fisher syndrome（MFS）では，高率に GQ1b などのガングリオシドに対する抗糖脂質抗体が存在し，pathogenic と考えられている．他方，CIDP では最近まで特異性の高い自己抗体は見出されていなかった．CIDP は病因的に heterogeneous な疾患と考えられており，MS で有効なフィンゴリモドも治験が行われたが，有効ではなかった．

しかし，最近，CIDP の一部でランビエ絞輪部（nod e of Ranvier）を標的とする自己抗体が相次いで発見され，大きな注目を集めている．ランビエ絞輪部には様々な機能を有する蛋白が局在する．たとえば，軸索膜蛋白では neuofascin 186（NF186），contactin 1（CNTN1），contactin-associated protein 1（CASPR1），シュワン細胞膜蛋白では neurofascin 155（NF155）が代表的なものである（図 7）．それらを標的とする主に IgG4 クラスの自己抗体が CIDP の一部で見出され，抗体陽性例は極めて特徴的な病像を呈することが判明し，autoimmune nodopathy という新たな疾患概念が生まれつつある．しかも，これらの抗体保有者は，CIDP で有効な免疫グロブリン大量静注療法が単独では無効であるため，免疫機序に基づく CIDP の再分類と治療アルゴリズムの確立が喫緊の課題となっている．次に末梢神経の主たる脱髄疾患である CIDP への私たちの取り組みを紹介したい．

### 2.1.　中枢末梢連合脱髄症の新規自己抗原分子の発見

MS は中枢神経を，CIDP は末梢神経を侵す脱髄疾患で，両者では責任抗原が違っているため，障害部位が異なると考えられている．しかし，稀に両者が合併する例があり，様々な病名が付けられている．私たちは，まず中枢末梢連合脱髄症（Combined central and peripheral demyelination, CCPD）の名称で，世界初の全国調査を実施した[32]．CCPD は，主に感覚障害（95%），脱力（93%），視力障害（48%）を呈し，髄液検査で蛋白高値（83%），細胞増多（28%），蛋白細胞解離（58%）を認め，MS で高率に陽性となる髄液 oligoclonal bands 陽性率が 7.4% と低値という特徴があった．MRI では大脳病巣 76%，脊髄病巣 75% を認めている．中枢・末梢神経分散発症型が約 80% と多く，20% は中枢・末梢神経同時発症型である．分散発症型は再発寛解の経過をとりやすく（66%），視力障害（63%）や視覚誘発電位の異常が高率（82%）

という特徴がみられた．

私たちは，CCPD では末梢および中枢神経に共通して存在する蛋白が抗原になっている可能性が高いと考え，患者血清を用いた坐骨神経標本の免疫組織染色を実施した．その結果，CCPD 患者血清中にランビエ絞輪部に特異的に反応する IgG4 クラスの自己抗体の存在を見出し，その責任抗原が末梢および中枢神経に共通してランビエ絞輪部に局在する NF155 であることを突き止めた[33]．末梢神経ではシュワン細胞が，中枢神経ではオリゴデンドログリアが NF155 を産生し，いずれも terminal loop に局在し，軸索側の膜蛋白である CNTN1/CASPR1 complex と相互作用して傍絞輪部で隔壁構造を形成する．この隔壁構造により，ナトリウムやカリウムチャネルの局在が保たれている．その構造が標的と考えられた．

### 2.2. 抗 NF155 抗体の CIDP への展開

私たちは CCPD で抗 NF155 抗体を発見したが，欧米人の CIDP 症例で抗 NF155 抗体が数%陽性とする報告があったので，日本人 CIDP で調査したところ，約 20%で IgG4 抗 NF155 抗体が陽性であることが判明した[34]．私たちは，抗 NF155 抗体陽性 CIDP/CCPD の世界初の全国調査を実施した．抗 NF155 抗体陽性例は，発症年齢は平均 29 歳（13～56 歳）と抗体陰性 CIDP の平均 49 歳（13～81 歳）より有意に若い．男女比は 2 対 1 で，抗体陰性例と同様である．下肢遠位からの発症が大部分で（上肢発症は 7%に過ぎない），左右対称性の運動感覚障害を呈し慢性進行性の経過をとることが多い．四肢の筋脱力は全例でみられ遠位優位（89%）で，筋萎縮も遠位優位（97%）である．深部感覚障害が 93%と抗体陰性例（68%）より有意に高率で，四肢運動失調（63% vs. 28%）や振戦（48% vs. 14%）が有意に多い．髄液蛋白が高度に上昇する（抗体陽性例で平均 323 mg/dl，抗体陰性例で 104 mg/dl，200 mg/dl を超える頻度は 74% vs. 10%と有意に多い）[34]．末梢神経伝導検査で高度の脱髄パターンを呈し，抗体陽性例は抗体陰性 CIDP と比較しても，さらに遠位潜時や F 波潜時の延長が顕著である（抗体が侵入しやすい神経終末や神経根での強い障害を示唆する）．際立った特徴として，ほぼ全例で MRI neurography で高度の神経根肥厚を呈し，経過年数が長くなるほど顕著である[34]．加えて，三叉神経など脳神経の顕著な肥厚も見られる．

脳 MRI でも一部の例で，MS 様の脱髄を示唆する periventricular ovoid lesion を認める．重要な点は，視覚誘発電位検査で約 2/3 の症例が，中枢神経に属する視神経の脱髄パターンを呈し，潜在的な中枢神経脱髄が高率に生じていることが示唆された[35]．つまり，CIDP では視力低下の訴えは少数にとどまるため，欧米の CIDP の報告では視神経を侵す中枢神経脱髄が見過ごされており，実際には抗 NF155 抗体は末梢神経脱髄のみならず高率に中枢神経脱髄を引き起こしていると考えられた．

末梢血抗 NF155 抗体価は，臨床症状や神経伝導検査所見の改善や悪化に並行または先行して変動したことから[36]，pathogenic な抗体と考えられ縦断的な抗体価の測定は治療マーカーとしての意義が高い．IgG4 抗 NF155 抗体陽性 CIDP は免疫グロブリン単独では効果が乏しく，ステロイド薬や免疫抑制薬を早期から併用することで治療効果を期待できるので，抗体価を見ながら長期にステロイド薬・免疫抑制薬で寛解を維持することが望ましい．

### 2.3. 抗 NF155 抗体陽性 CIDP/CCPD の病態機序をめぐって

病態をめぐっては，今まで抗 NF155 抗体陽性例の剖検はないので，私たちは生検腓腹神経を検討した．その所見では，炎症細胞浸潤はなく神経周膜下の浮腫が強い．経過が長くなっても軸索の脱落は軽微にとどまり，少数の線維で傍絞輪部の節性脱髄が見られるのみだった[34]．電子顕微鏡による観察では，傍絞輪部でのシュワン細胞の terminal loop が軸索から detachment している所見が認められた[37]．

IgG4 は補体結合活性がないため，それ単独では強い炎症を惹起しない．また，in vivo では half molecular exchange を起こして monovalent bispecific な抗体として存在するため，抗原をクロスリンクして内在化させることもない．したがって，IgG4 抗 NF155 抗体は血液神経関門（blood nerve barrier, BNB）の疎な神経終末や神経根から侵入し，炎症を惹起することなくランビエ絞輪部で NF155 と CNTN1/CASPR1 の蛋白間相互作用を阻害することにより，軸索膜からシュワン細胞の terminal loop を

はがす．これによりランビエ絞輪部の隔壁構造が破壊されるため，高度の神経伝導障害をきたすと考えられる．これは腓腹神経生検病理で，炎症細胞浸潤がなくシュワン細胞膜と軸索膜の離開が見られるだけという所見をよく説明する．

しかし，これだけでは顕著な神経肥厚がなぜ起こるかという点が疑問として残る．そこで，髄液サイトカインの網羅的解析を行ったところ，抗 NF155 抗体陽性例では，抗体陰性 CIDP でも共通してみられる IFN-γ などの Th1 サイトカイン上昇に加えて，IL-13 や CCL11/eotaxin などの Th2 サイトカインも上昇し，むしろ Th2 サイトカイン値が髄液蛋白量や髄液細胞数と正の相関を示していた[38]．このことは Th2 細胞の関わる神経根部の炎症により浮腫やそれに伴った肥厚が起こっていることを示唆する．驚いたことに，抗 NF155 抗体陽性 CIDP 患者は，全て *HLA-DRB1*15 : 01-DRB5*01 : 01-DQA1*01 : 02-DQB1*06 : 02* または *-(A*24 : 02)-B*52 : 01-C*12 : 02-DRB1*15 : 02-DRB5*01 : 02-DQA1*01 : 03-DQB1*06 : 01* のいずれかの HLA ハプロタイプを有していた[39]．DRB1*15 : 01 と DRB1*15 : 02 分子はアミノ酸 1 個が異なるだけなので，DRB1*15 分子が NF155 抗原を Th2 細胞や follicular helper T 細胞等に抗原提示し，IgG4 クラスの自己抗体産生や神経根部や中枢神経での T 細胞性炎症を惹起している可能性が高い．高度の神経肥厚や中枢神経脱髄の合併は抗 NF155 抗体陽性例に好発することから，他と異なるユニークな病態機序が働いていることが示唆される．

### 2.4. 軸索側蛋白を標的とした autoimmune nodopathy

それではシュワン細胞側の NF155 が結合するカウンターパートの軸索側蛋白 CNTN1/CASPR1 複合体に対する自己抗体は，どのような病像・病態を引き起こすのだろうか．

抗 CNTN1 抗体陽性 CIDP は，CIDP の 2.4%[40]，6.5%[41] で見られている．抗体のサブクラスは IgG4 が主体である．私たちは自験例と過去の報告を合わせた 20 例を文献調査し，以下の特徴を見出した[42]．発症年齢は，平均 63 歳（33～81 歳）で 60 歳以上の発症が 80%と高く，急性発症が 35%に達する[42]．遠位優位の脱力・筋萎縮が 70%でみられたが，同時に深部感覚障害/感覚失調も 75%の頻度だった．髄液蛋白は平均 253 mg/dl（79～693 g/dl）と上昇するが，MRI neurography での神経肥厚は顕著でない．自験例も含めて膜性腎症によるネフローゼ症候群を合併することがあり，neuro-renal syndrome と呼称している報告もある．自験例では腎糸球体基底膜に沿って IgG4 の沈着を認めたものの，膜性腎症の特異抗体である抗 phospholipase A2 receptor 抗体や抗 thrombospondin type 1 domain containing 7A 抗体は陰性だった[42]．CNTN1 は腎臓でも mRNA の発現が確認されているので，抗 CNTN1 抗体自体が腎障害に寄与している可能性もある．このように NF155 のカウンターパートである CNTN1 に対する自己抗体は，一部は共通するものの，発症年齢も含めて大きく異なる病像を呈するのは不思議という他はない．抗 NF155 抗体と抗 CNTN1 抗体は，同じ IgG4 クラスの自己抗体で，NF155 と CNTN1 間の相互作用を阻害する点で同じなのに病像が異なるのは，それぞれシュワン細胞側と軸索側に結合した抗体により異なる病的シグナルが伝達されるためではないかと想像されるが，今後の重要な検討課題といえよう．なお，抗 CASPR1 抗体は，1 例の CIDP で当初報告され神経障害性疼痛を伴うことが特徴とされたが[43]，その後の他施設から報告では神経障害性疼痛はみられておらず，まだ臨床像は確立していない．

## 3. 神経障害性疼痛の鍵となる分子の発見と自己抗体介在性神経障害性疼痛

神経障害性疼痛は，heterogeneous な病態で生じる難治性疼痛で，我が国だけでも約 600 万人の患者数と推定されている．末梢神経から中枢神経に至る痛覚の伝導路の様々な部位の障害で生じ，病因診断がしばしば困難で，病態が不明であるため十分な鎮痛が得られないことが多い．

私たちは，1997 年にアトピー性皮膚炎と高 IgE 血症をもつ成人で，四肢のジンジン感と痛みを主徴とする頸髄炎症例をアトピー性脊髄炎（atopic myelitis, AM）の病名で報告した[44]．2 回の全国臨床疫学調査[45][46] を経て，2015 年 7 月 1 日より「難病の患者に対する医療等に関する法律」施行下での「指定難病」になっている．AM では，神経障害性疼痛や異痛症（Allodynia）が最も特徴的かつ高頻度（約 90%）にみ

られる[45)46)]．AM 患者では血漿交換が最も有効性が高く[47)]，免疫系のバランスが Th2 にシフトしている[48)] ことから，何らかの自己抗体が神経障害性疼痛の出現に関与している可能性を考えた．

### 3.1. 神経障害性疼痛を引き起こす抗 plexin D1 抗体の発見

後根神経節（dorsal root ganglion, DRG）は，一次痛覚ニューロンの細胞体が存在し，BNB が存在しないことから，末梢血中の自己抗体が容易にアクセスできる．そこで，私たちは，DRG が標的と考え，マウス DRG とそれが終止す脊髄後角標本を用いた組織免疫染色による血中抗体スクリーニング法を開発した．患者血清を用いた免疫組織化学染色により，特異的に DRG の isolectin B4 陽性 S100$\beta$ 陰性の小型一次痛覚ニューロンと，痛覚ニューロンが終止する脊髄後角第 1 層・第 2 層と反応することを見出した（図 8A）．免疫沈降法とガスクロマトグラフ質量分析により反応抗原が plexin D1 であることを突き止めた[49)]．抗 plexin D1 抗体は神経障害性疼痛患者の約 10％で陽性で，基礎疾患としてはアトピー疾患や膠原病，悪性腫瘍がみられた．若年成人が多いが，幅広い年齢で陽性者が存在した．特徴的な点として，灼熱痛，温熱性痛覚過敏，電流知覚閾値検査での無髄 c 線維の閾値の異常を認めた．

### 3.2. 抗 plexin D1 抗体の作用機序

Plexin D1 は，神経軸索伸長や免疫に関わるシグナル伝達分子である semaphorin 3，および 4A の受容体で，神経系，B 細胞，血管内皮細胞，皮膚表皮に発現するとされる[50)]．しかし，plexin D1 の DRG や脊髄後角での正常発現分布についての報告はなく，神経障害性疼痛との関連も報告されていなかった．私たちは，組織免疫染色により，plexin D1 が無髄小径 DRG ニューロンと脊髄後角浅層に特異的に発現していることを見出した（他臓器では血管内皮にのみ弱い発現を認めた）[49)51)]．

抗 plexin D1 抗体は，IgG2 サブクラスが主体だった．IgG2 は糖鎖を認識し，補体結合活性が弱く，強い炎症は惹起しない．AM 患者はダニアレルゲンの糖鎖を認識する IgE 抗体を保有する例が多く，IgG2 クラスの抗体も報告されている．したがって，抗 plexin D1 抗体保有の背景疾患としてアトピーが多かったのは，糖鎖を認識する抗体の交叉反応性の可能性があり，現在，認識する糖鎖構造を解析している．患者血清を培養 DRG ニューロンに作用させると，補体非存在性に DRG ニューロンの膜透過性亢進と細胞腫脹をきたした[49)]．さらに，マウスに患者抗 plexin D1 IgG を髄注すると，von Frey test での機械的刺激や温熱刺激に対して痛覚過敏反応を引き起こした．したがって，抗 plexin D1 抗体は，BNB のない DRG や脊髄炎などで破壊された血液脳関門を通過して脊髄後角浅層の小型痛覚ニューロンに作用し，強い炎症を惹起することなく神経障害性疼痛を引き起こす pathogenic な抗体と考えられた（図 8B）．なお，私たちは，アトピー性皮膚炎や気管支喘息を起こしたマウスモデルでは，皮膚や肺などアトピー炎症組織から endothelin-1（ET1）が産生されて，脆弱になった血液脳関門を通過し，endothelin receptor type B（EDNRB）を発現する脊髄後角のミクログリアやアストログリアを活性化すること，そして活性化したミクログリアやアストログリアは二次痛覚ニューロンの過興奮を引き起こし，さらに神経障害性疼痛が増強されることを明らかにしている[52)]．したがって，AM では，抗 plexin D1 抗体による自己抗体介在性神経障害性疼痛と ET1/EDNRB 経路を介したグリア介在性神経障害性疼痛の二つの機序で神経障害性疼痛が惹起されていることがわかった（図 8）．

### 3.3. 抗 plexin D1 抗体の神経障害性疼痛における新たな展開

神経内科領域では，疼痛のみを呈して神経学的診察や通常の末梢神経の電気生理学的検査では異常が検出されず，生検皮膚を神経線維マーカーの protein gene product 9.5 で免疫染色すると，表皮内無髄神経線維密度のみが有意に低下している病態は，小径線維ニューロパチーと呼ばれている．線維筋痛症は全身の様々な部位の難治性疼痛を主徴とする．本症でも表皮内無髄神経線維密度が低下し，痛覚誘発電位の低下，温覚・冷覚閾値の上昇，C 線維侵害受容器（C nociceptor）の過興奮がみられ[53)54)]，線維筋痛症では小径線維ニューロパチーが存在すると考えられている．

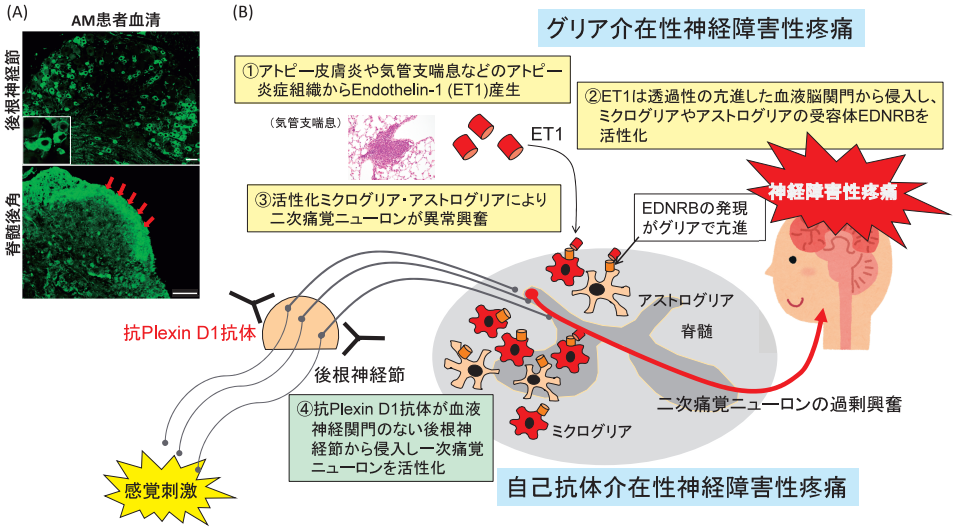


**図 8**　アトピー性脊髄炎での神経障害性疼痛発生の二つの機序
（A）AM（アトピー性脊髄炎）患者血清中には，後根神経節（DRG）小型一次痛覚ニューロンとそれが終止する脊髄後角浅層に特異的に反応する自己抗体が存在する．マウス DRG と脊髄切片の患者血清による組織免疫染色．
（B）AM では，抗 plexin D1 抗体が，血液神経関門のない DRG から侵入し，一次痛覚ニューロンを障害して疼痛を惹起する（自己抗体介在性神経障害性疼痛）．一方，アトピー性皮膚炎や気管支喘息を起こしたマウスモデルでは，脊髄後角のミクログリアが活性化し，二次痛覚ニューロンの過興奮を引き起こし神経障害性疼痛が増強される．アトピー性皮膚炎や気管支喘息のアトピー炎症組織から endothelin-1（ET1）が産生され，脆弱になった血液脳関門を通過し，endothelin receptor type B（EDNRB）を発現するミクログリアやアストログリアを活性化し，グリア介在性神経障害性疼痛を惹起する．

私たちは，抗 plexin D1 抗体を AM 患者で発見したが，その後に疼痛のみを呈する小径線維ニューロパチーや線維筋痛症，顔面痛を呈する painful trigeminal neuropathy でも陽性になることが判明した[51]．

これまでに神経障害性疼痛に関連する抗体として，電位依存性カリウムチャネル（voltage-gated potassium channel, VGKC）複合体に対する自己抗体が知られている．抗 VGKC 複合体抗体は，海馬などを侵す辺縁系脳炎，末梢神経の過興奮をきたす Isaacs 症候群，両者を合併した Morvan 症候群で認められる[55)56]．実際には VGKC（Kv 1.1，1.2，及び 1.6）に結合している leucine-rich glioma-inactivated 1（LGI1）と contactin-associated protein-like 2（CASPR2）の細胞外ドメインに対する抗体が病原性を持つ．LGI1 は，海馬など中枢神経系のシナプスに局在し，CASPAR2 は中枢神経のシナプスや末梢神経線維の juxtaparanode に存在する．そのため，抗 LGI1 抗体陽性者は辺縁系脳炎を，抗 CASPR2 抗体陽性者は末梢神経障害の過興奮を呈しやすい．抗 CASPR2 抗体陽性例では，多彩な症候に加えて疼痛を伴うことが多い（約 50%）という特徴がある[57]．また，最近，小径線維ニューロパチーの一部（15%）で，抗 fibroblast growth factor receptor 3（FGFR3）抗体が陽性になることが報告された[58)59]．しかし，抗 FGFR3 抗体陽性例は神経障害性疼痛のみを呈するわけではなく，むしろ運動感覚ニューロパチー（主に下肢遠位優位の脱力）を示すことが最も多い[60]．また FGFR3 は神経細胞以外にも広く存在し，抗 FGRR3 抗体は抗原の細胞内ドメインと反応するため，ニューロパチーや神経障害性疼痛を起こす機序は，全くわかっていない．

したがって，抗 plexin D1 抗体は，神経障害性疼痛を主徴とし，標的分子が DRG の一次痛覚ニューロンに特異的に存在し，しかも in vivo で痛覚過敏が再現できる点で意義が大きい．近年，自己抗体と神経障害性疼痛の関連を示す報告が蓄積されてきたため，自己抗体介在性神経障害性疼痛という新しい概念が出来つつある．抗 plexin D1 抗体の発見は，本概念の形成を大きく促進するものといえる．

## おわりに

神経難病は，多くの研究者の忍耐強い研究の積み重ねにより，病態の謎を解くブレークスルー分子が相次いで発見され，分子レベルで病態機序が解明されつつある．本稿でも紹介したように，九州大学神経内科では，分子免疫学的解析，分子神経病理学的解析，ゲノムバイオインフォマティクス解析，さらに遺伝子改変マウスを用いたモデル作成など様々な手法によって，神経難病の鍵となる分子を見出してきた．これからも続々と神経難病の謎を紐解く新しい分子が見出されよう．ここで臨床の研究者として大事な点は，出発点となるクリニカル・クエスチョンを見つけ出すことだ．それは臨床の現場での緻密な観察によるしかない．病態機序に基づいて heterogeneous な疾患群が再分類され，それぞれに最適の治療アルゴリズムを構築していくことができる時代の到来を期待したい．

## 謝辞

本稿で述べた数々の発見は，九州大学大学院医学研究院神経内科学分野の教室員の長年にわたる研究によるものです．また，神経病理学的研究では九州大学大学院医学研究院神経病理学分野の岩城徹教授，鈴木諭准教授に，臨床神経生理学的研究では同医学研究院臨床神経生理学分野の飛松省三名誉教授に，抗原分子の同定では同大学生体防御医学研究所脳機能制御学分野の中別府雄作教授に大変お世話になりました．ここに深謝申し上げます．

## 参 考 文 献

1) 吉良潤一，糸山泰人，田平武，柴崎浩，黒岩義五郎：日本人多発性硬化症患者の自然経過とステロイド治療についての臨床的研究，臨床神経 23：646-654，1983.
2) Kira J, Deibler GE, Krutzsch HC and Martenson RE : Amino acid sequence of porcine myelin basic protein. J. Neurochem. 44 : 134-142, 1985.
3) Kira J and Isobe N : Multiple sclerosis. In Mitoma H, Manto M, (ed) : Neuroimmune diseases ; from cells to the living brain. pp. 487-521. Springer. Cham, 2019.
4) Lisak RP and Zweiman B : In vitro cell-mediated immunity of cerebrospinal-fluid lymphocytes to myelin basic protein in primary demyelinating diseases. N. Engl. J. Med. 297 : 850-853, 1977.
5) Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, Noseworthy J, Carriere W, Baskerville J and Eberset GC : The natural history of multiple sclerosis : a geographically based study. I. clinical course and disability. Brain 112 : 133-146, 1989.
6) Sorensen PS : New management algorithms in multiple sclerosis. Curr. Opin. Neurol. 27(3) : 246-259, 2014.
7) Kappos L, Bar-Or A, Cree BAC, Fox RJ, Giovannoni G, Gold R, Vermersch P, Arnold DL, Arnould S, Scherz T, Wolf C, Wallström E, Dahlke F and EXPAND Clinical Investigators : Siponimod versus placebo in secondary progressive multiple sclerosis (EXPAND) : a double-blind, randomised, phase 3 study. Lancet 391 : 1263-1273, 2018.
8) Montalban X, Hauser SL, Kappos L, Arnold DL, Bar-Or A, Comi G, de Seze J, Giovannoni G, Hartung H-P, Hemmer B, Lublin F, Rammohan KW, Selmaj K, Traboulsee A, Sauter A, Masterman D, Fontoura P, Belachew S, Garren H, Mairon N, Chin P, Wolinsky JS and ORATORIO Clinical Investigators : Ocrelizumab versus placebo in primary progressive multiple sclerosis. N. Engl. J. Med. 376 : 209-220, 2017.
9) De Stefano N, Strmillo ML, Giorgio A, Bartolozzi ML, Battaglini M, Baldini M, Portaccio E, Amato MP and Sormani MP : Establishing pathological cut-offs of brain atrophy rates in multiple sclerosis. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 87 : 93-99, 2016.
10) De Stefano N, Giorgio A, Battaglini M, Battaglini M, Rovaris M, Sormani MP, Barkhof F, Korteweg T, Enzinger C, Fazekas F, Calabrese M, Dinacci D, Tedeschi G, Gass A, Montalban X, Rovira A, Thompson A, Comi G, Miller DH and Filippi M : Assessing brain atrophy rates in a large population of untreated multiple sclerosis subtypes. Neurology 74(23) : 1868-1876, 2010.
11) Lassmann H, van Horssen J and Mahad D : Progressive multiple sclerosis : pathology and pathogenesis. Nat. Rev. Neurol. 8 : 647-656, 2012.
12) Saez JC, Retamal MA, Basilio D, Bukauskas FF and Bennett MVL : Connexin-based gap junction

hemichannels : gating mechanisms. Biochim. Biophys. Acta 1711(2) : 215-224, 2005.
13) Willebrords J, Maes M, Yanguas SC and Vinken M : Inhibitors of connexin and pannexin channels as potential therapeutics. Pharmacol. Ther. 180 : 144-160, 2017.
14) Nagy JI, Ionescu AV, Lynn BD and Rash JE : Coupling of astrocyte connexins Cx26, Cx30, Cx43 to oligodendrocyte Cx29, Cx32, Cx47 : Implications from normal and connexin32 knockout mice. Glia 44(3) : 205-218, 2003.
15) Kleopa KA, Orthmann JL, Enriquez A, Paul DL and Scherer SS : Unique distributions of the gap junction proteins connexin29, connexin32, and connexin47 in oligodendrocytes. Glia47(4) : 346-357, 2004.
16) Goldberg GS, Valiunas V and Brink PR : Selective permeability of gap junction channels. Biochim. Biophys. Acta 1662(1-2) : 96-101, 2004.
17) Fünfschilling U, Supplie LM, Mahad D, Boretius S, Saab AS, Edgar J, Brinkmann BG, Kassmann CM, Tzvetanova ID, Möbius W, Diaz F, Meijer D, Suter U, Hamprecht B, Sereda MW, Moraes CT, Frahm J, Goebbels S and Nave K-A : Glycolytic oligodendrocytes maintain myelin and long-term axonal integrity. Nature 485 : 517-521, 2012.
18) Kamasawa N, Sik A, Morita M, Yasumura T, Davidson KGV, Nagy JI and Rash JE : Connexin-47 and connexin-32 in gap junctions of oligodendrocyte somata, myelin sheaths, paranodal loops and Schmidt-Lanterman incisures : implications for ionic homeostasis and potassium siphoning. Neuroscience 136 : 65-86, 2005.
19) Matsushita T, Masaki K, Isobe N, Sato S, Yamamoto K, Nakamura Y, Watanabe M, Suenaga T, Kira J and the Japan Multiple Sclerosis Genetic Consortium : Genetic factors for susceptibility to and manifestations of neuromyelitis optica. Ann. Clin. Transl. Neurol. (in press).
20) Prineas JW, Kwon EE, Cho ES, Sharer LR, Barnett MH, Oleszak EL, Hoffman B and Morgan BP : Immunopathology of secondary-progressive multiple sclerosis. Ann. Neurol. 50 : 646-657, 2001.
21) Masaki K, Suzuki SO, Matsushita T, Yonekawa T, Matsuoka T, Isobe N, Motomura K, Wu XM, Tabira T, Iwaki T and Kira J : Extensive loss of connexins in Baló's disease : evidence for an auto- antibody-independent astrocytopathy via impaired astrocyte-oligodendrocyte/myelin interaction. Acta Neuropathol. 123 : 887-900, 2012.
22) Kira J : Astrocytopathy in Balós disease. Mult. Scler. 17 : 771-779, 2011.
23) Masaki K, Suzuki SO, Matsusita T, Matsuoka T, Imamura S, Yamasaki R, Suzuki M, Suenaga T, Iwaki T and Kira J : Connexin 43 astrocytopathy linked to rapidly progressive multiple sclerosis and neuromyelitis optica. PLOS ONE 22 : 8(8) : e72919, 2013.
24) Hayashida S, Masaki K, Yonekawa T, Suzuki OS, Hiwatashi A, Matsushita T, Watanabe M, Yamasaki R, Suenaga T, Iwaki T, Murai H and Kira J : Early and extensive spinal white matter involvement in neuromyelitis optica. Brain Pathol. 27(3) : 249-265, 2017.
25) Watanabe M, Masaki K, Yamasaki R, Kawanouchi J, Takeuchi H, Matsushita T, Suzumura A and Kira J : Th1 cells downregulate connexin 43 gap junctions in astrocytes via microglial activation. Sci. Rep. 6 : 38387, 2016. doi : 10.1038/srep38387.
26) Luts SE, Raine CS and Brosnan CF : Loss of astrocyte connexins 43 and 30 does not significantly alter susceptibility or severity of acute experimental autoimmune encephalomyelitis in mice. J. Neuroimmunol. 245 (1-2) : 8-14, 2012.
27) Markoullis K, Sargiannidou I, Gardner C, Hadjisavvas A, Reynolds R and Kleopa KA : Disruption of oligodendrocyte gap junctions in experimental autoimmune encephalomyelitis. Glia 60(7) : 1053-1066, 2012.
28) Zhao Y, Yamasaki R, Yamaguchi H, Nagata S, Une H, Cui Y, Masaki K, Nakamuta Y, Iinuma K, Watanabe M, Matsushita T, Isobe N and Kira J : Oligodendroglial connexin 47 regulates neuroinflammation upon autoimmune demyelination in a novel mouse model of multiple sclerosis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 117(4) : 2160-219, 2020.
29) Fang M, Yamasaki R, Li G, Masaki K, Yamaguchi H, Fujita A, Isobe N and Kira J : Connexin 30 deficiency attenuates chronic but not acute phases of experimental autoimmune encephalomyelitis through induction of neuroprotective microglia. Front. Immunol. 9 : 2588, 2018.
30) Yamasaki R : Novel animal model of multiple sclerosis : The glial connexin gap junction as an environmental tuner for neuroinflammation. Clin. Exp. Neuroimmunol. 2020. https : //doi.org/10.1111/cen3.12568
31) Cui Y, Masaki K, Yamasaki R, Imamura S, Suzuki SO, Hayashi S, Sato S, Nagara Y, Kawamura MF and Kira J : Extensive dysregulations of oligodendrocytic and astrocytic connexins are associated with disease progression in an amyotrophic lateral sclerosis mouse model. J. Neuroinflamm. 11 : 42-57, 2014.

32) Ogata H, Matsuse D, Yamasaki R, Kawamura N, Matsushita T, Yonekawa T, Hirotani M, Murai H and Kira J : A nationwide survey of combined central and peripheral demyelination in Japan. J. Neurol. Neurosurg, Psychiatry 87 : 29-36, 2016.

**33)** Kawamura N, Yamasaki R, Yonekawa T, MatsushitaT, Kusunoki S, Nagayama S, Fukuda Y, Ogata H, Matsuse D, Murai H and Kira J : Anti-neurofascin antibody in patients with combined central and peripheral demyelination. Neurology 81 : 714-722, 2013.

**34)** Ogata H, Yamasaki R, Hiwatashi A, Oka N, Kawamura N, Matsuse D, Kuwahara M, Suzuki H, Kusunoki S, Fujimoto Y, Ikezoe K, Kishida H, Tanaka F, Matsushita T, Murai H and Kira J : Characterization of IgG4 anti-neurofascin 155 antibody-positive neuropathy. Ann. Clin. Transl. Neurol. 2 : 960-971, 2015.

**35)** Ogata H, Zhang X, Inamizu S, Yamashita K, Yamasaki R, Matsushita T, Isobe N, Hiwatashi A, Tobimatsu S and Kira J : Optic, trigeminal and facial neuropathy related to anti-neurofascin 155 antibody. Ann. Clin. Transl. Neurol. (in press)

36) Fujita A, Ogata H, Yamasaki R, Matsushita T and Kira J : Parallel Fluctuation of anti-neurofascin 155 antibody levels with clinico-electrophysiological findings in patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. J. Neurol. Sci. 384 : 107-112, 2018.

37) Koike H, Kadoya M, Kaida K, Ito H, Hattori N, Umehara F, Arimura K, Ikeda S, Ando Y, Nakazato M, Kaji R, Hayasaka K, Nakagawa M, Sakoda S, Matsumura K, Onodera O, Baba M, Yasuda H, Saito T, Kira J, Nakashima K, Oka N and Sobue G : Paranodal dissection in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with anti-neurofascin 155 and anti-contactin 1 antibodies. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 88 (6) : 465-473, 2017.

**38)** Ogata H, Zhang X, Yamasaki R, Fujii T, Machida A, Morimoto N, Kaida K, Masuda T, Ando Y, Kuwahara M, Kusunoki S, Nakamura Y, Matsushita T, Isobe N and Kira J : Intrathecal cytokine profile in neuropathy with anti-neurofascin 155 antibody. Ann. Clin. Transl. Neurol. 6(11) : 2304-2316, 2019.

39) Ogata H, Isobe N, Zhang X, Yamasaki R, Fujii T, Machida A, Morimoto N, Kaida K, Masuda T, Ando Y, Kuwahara M, Kusunoki S, Nakamura Y, Matsushita T and Kira J : Unique HLA haplotype associations in IgG4 anti-neurofascin 155 antibody-positive chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. J. Neuroimmunol. 339, 577139, 2020.

40) Miura Y, Devaux JJ, Fukami Y, Manso C, Belghazi M, Wong AHY, Yuki N and CNTN1-CIDP Study Group : Contactin 1 IgG4 associates to chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with sensory ataxia. Brain 138(Pt 6) : 1484-1491, 2015.

41) Querol L, Nogales-Gadea G, Rojas-Garciaet R, Martinez-Hernandez E, Diaz-Manera J, Suárez-Calvet X, Navas M, Araque J, Gallardo E and Illa I : Antibodies to contactin-1 in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. Ann. Neurol. 73(3) : 370-380, 2013.

42) Hashimoto Y, Ogata H, Yamasaki R, Sasaguri T, Ko S, Yamashita K, Zhang X, Matsushita T, Tateishi T, Akiyama S, Maruyama S, Yamamoto A and Kira J : Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with concurrent membranous nephropathy : an anti-paranode and podocyte protein antibody study and literature survey. Front. Neurol. 9 : 997, 2018.

43) Doppler K, Appeltshauser L, Villmann C, Martin C, Peles E, Krämer HH, Haarmann A, Buttmann M and Sommer C : Auto-antibodies to contactin-associated protein 1 (Caspr) in two patients with painful inflammatory neuropathy. Brain 139(Pt 10) : 2617-2630, 2016.

**44)** Kira J, Yamasaki K, Kawano Y and Kobayashi T : Acute myelitis associated with hyper IgE emia and atopic dermatitis. J. Neurol. Sci. 148 : 199-203, 1997.

45) Osoegawa M, Ochi H, Minohara M, Murai H, Umehara F, Furuya H, Yamada T and Kira J : Myelitis with atopic diathesis : a nationwide survey of 79 cases in Japan. J. Neurol. Sci. 209 : 5-11, 2003.

46) Isobe N, Kira J, Kawamura N, Ishizu T, Arimura K and Kawano Y : Neural damage associated with atopic diathesis : a nationwide survey in Japan. Neurology 73 : 790-797, 2009.

47) Murai H, Arahata H, Osoegawa M, Ochi H, Minohara M, Taniwaki T, Tobimatsu S, Mihara F, Tsuruta Y, Inaba S and Kira J : Effect of immunotherapy in myelitis with atopic diathesis. J. Neurol. Sci. 227 : 39-47, 2004.

48) Tanaka M, Matsushita T, Tateishi T, Ochi H, Kawano Y, Mei F-J, Minohara M, Murai H and Kira J : Distinct CSF cytokine/chemokine profiles in atopic myelitis and other causes of myelitis. Neurology 71 : 974-981, 2008.

**49)** Fujii T, Yamasaki R, Iinuma K, Tsuchimoto D, Hayashi Y, Saitoh B, Matsushita T, Kido MA, Aishima S, Nakanishi M, Nakabeppu Y and Kira J : A novel autoantibody against plexin D1 in patients with neuropathic pain. Ann. Neurol. 84(2) : 208-224, 2018.

50）Worzfeld T and Offermanns S : Semaphorins and plexins as therapeutic targets. Nat. Rev. Drug Discov. 13 : 603-621, 2014.
51）Fujii T, Yamasaki R, Miyachi Y, Iinuma K, Hashimoto Y, Isobe N, Matsushita T and Kira J : Painful trigeminal neuropathy associated with anti-Plexin D1 antibody. Neurology : Neuroimmunology & Neuroinflammation (in press).
**52）**Yamasaki R, Fujii T, Wang B, Masaki K, Kido MA, Yoshida M, Matsushita T and Kira J : Allergic inflammation leads to neuropathic pain via glial cell activation. J. Neurosci. 36（47）: 11929-11945, 2016.
53）Üçeyler N, Zeller D, Kahn A-K, Kewenig S, Kittel-Schneider S, Schmid A, Casanova-Molla J, Reiners K and Sommer C : Small fibre pathology in patients with fibromyalgia syndrome, Brain 136（Pt 6）: 1857-1867, 2013.
54）Serra J, Collado A, Solà R, Antonelli F, Torres X, Salgueiro M, Quiles C and Bostock H : Hyperexcitable C nociceptors in fibromyalgia. Ann. Neurol. 75（2）: 196-208, 2014.
55）Klein CJ, Lennon VA, Aston AP, McKeon A and Pittock SJ : Chronic pain as a manifestation of potassium channel-complex autoimmunity. Neurology 79（11）: 1136-1144, 2012.
56）Binks SNM, Klein CJ, Waters P, Pittock SJ and Irani SR : LGI1, CASPR2 and Related Antibodies : A Molecular Evolution of the Phenotypes. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 89（5）: 526-534, 2018.
57）Xu M, Bennett DLH, Querol LA, Wu L-J, Irani SR, Watson JC, Pittock SJ and Klein CJ : Pain and the immune system : emerging concepts of IgG-mediated autoimmune pain and immunotherapies. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 91 : 177-188, 2019.
58）Levine T, Kafaie J, Zeidman LA, Saperstein DS, Massaquoi R, Bland RJ and Pestronk A : Cryptogenic small-fiber neuropathies : serum autoantibody binding to trisulfated heparan disaccharide and fibroblast growth factor receptor-3. Muscle Nerve 61（4）: 512-515, 2020.
59）Thorance Y, Moritz CP, Rosier C, Ferraud K, Lassablière F, Reynaud-Federspiel E, França Jr MC, Martinez ARM, Camdessanché J-P, Antoine J-C and anti-FGFR3 antibody Study Group : Clinical characterisation of sensory neuropathy with anti-FGFR3 autoantibodies. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 91（1）: 49-57, 2020.
60）Kovvuru S, Cardenas YC, Huttner A, Nowak RJ and Roy B : Clinical characteristics of fibroblast growth factor receptor 3 antibody-related polyneuropathy : a retrospective study. Eur. J. Neurol. doi : 10.1111/ene.14180, 2020.

（特に重要な文献については，番号をゴシック体で表記している.）

著者プロフィール

吉良　潤一（きら　じゅんいち）
国際医療福祉大学教授（大学院医学研究科トランスレーショナルニューロサイエンスセンター・福岡薬学部）．福岡中央病院脳神経センター長．医学博士.

**◆略歴**　1954 年大分県佐伯市に生まれる．1979 年九州大学医学部医学科卒業．1982 年米国国立衛生研究所 visiting fellow．1985 年九州大学医学部附属病院助手．1991 年九州大学医学部附属病院講師．1995 年九州大学医学部神経内科助教授．1997 年九州大学医学部神経内科教授．2000 年九州大学大学院医学研究院神経内科学分野教授．2020 年より現職.

**◆研究テーマと抱負**　難治性神経疾患の分子メカニズムの解明と治療開発．特に多発性硬化症や慢性炎症性脱髄性多発神経炎などの神経免疫疾患を対象としている．臨床の現場での診察に基づいた気づきから分子レベルの病態解明をめざしている．新しい病気を発見すること，新しい病因を解明すること，新しい治療法を開発することが，今でも夢です.

# Key Molecules to Decipher the Mechanisms of Intractable Neurological Diseases

Jun-ichi Kira

*Translational Neuroscience Center, Graduate School of Medicine and School of Pharmacy at Fukuoka, International University of Health and Welfare*
*Department of Neurology, Brain and Nerve Center, Fukuoka Central Hospital*
*Professor Emeritus, Kyushu University*

**Abstract**

Intractable neurological diseases encompass neuroimmunological and neurodegenerative diseases. Recently, many disease-modifying drugs that significantly decrease acute exacerbations have been used in clinical practice for neuroimmunological diseases such as multiple sclerosis (MS) ; however, none have been reported to ameliorate progressive disease. Since its establishment in 1963, the Department of Neurology at Kyushu University has focused on deciphering the mechanisms of intractable neurological diseases. Recently, key molecules with critical roles in disease cascades of intractable neurological diseases have been discovered. We used molecular immunopathology of autopsied materials to identify marked alterations in glial connexins (Cxs) in acute and chronic demyelinating lesions of MS as well as neuromyelitis optica (NMO) and Baló's concentric sclerosis. Similar changes were also observed in acute and chronic experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), an animal model of MS. Glial Cxs form gap junction (GJ) channels, which connect glial cells constituting the glial syncytium. The glial syncytium is critical for maintaining brain homeostasis by supplying energy and buffering potassium ions via Cx GJ channels. We established oligodendroglial Cx47-inducible conditional knockout (Cx47 icKO) mice and induced EAE by immunization with myelin oligodendrocyte glycoprotein. Cx47 icKO mice showed a marked exacerbation of acute and chronic EAE with progressive demyelination. Microarray and immunohistochemistry demonstrated Cx47 icKO mice had markedly increased numbers of proinflammatory A1 astrocytes and proinflammatory and injury-responsive microglia producing inflammatory chemokines, which attracted T-helper 17 cells that potentiated autoimmune demyelination. By contrast, astroglial Cx30 KO mice had attenuated chronic EAE with preserved myelin and axons. These findings suggest a novel role for glial Cxs in regulating brain inflammation in addition to metabolic functions that maintain brain homeostasis. Our large scale genome-wide association studies identified a single nucleotide polymorphism in potassium calcium-activated channel subfamily M alpha 1 (KCNMA1), which can reduce its expression in cells, was the largest genetic risk for severe disability caused by transverse myelitis in NMO. KCNMA1 expression in NMO lesions was markedly diminished. KCNMA1 in astrocyte endfeet is critical for potassium ion buffering mediated by the glial syncytium by discharging potassium ions to blood vessels. Therefore, the decreased expression of KCNMA1 may disturb axonal functions by impairing potassium buffering necessary for repeatable axonal excitability in NMO. The exploration of autoantibodies against neural tissues revealed that neurofascin 155 (NF155) in the nodes of Ranvier is a target antigen in combined central and peripheral demyelination (CCPD) /chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP). This finding has contributed to the establishment of the novel concept of autoimmune nodopathy. We also found that plexin D1, expressed by pain-conducting small dorsal ganglion neurons, is a target antigen in neuropathic pain. Intrathecally-administered anti-plexin D1 antibody successfully reproduced mechanical and thermal allodynia in experimental animals, suggesting this antibody is pathogenic. These observations have contributed to the establishment of the disease concept of autoantibody-mediated neuropathic pain, which can be treated by immunotherapy. Through further pathological, immunological, and genetic studies, key molecules in intractable neurological diseases will be discovered and enable us to reclassify intractable neurological diseases based on their molecular pathomechanisms and hopefully eradicate intractable neurological diseases in the future.

**Key Words** : demyelinating disease, neuropathic pain, connexin, neurofascin 155, plexin D1