



Title	Pathogenicity of anti-aquaporin-4 antibody in neuromyelitis optica
Author(s)	木下, 允
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54210
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	木 下 允
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 3 6 5 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 22 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Pathogenicity of anti-aquaporin-4 antibody in neuromyelitis optica (Neuromyelitis opticalにおける抗アクアポリン4抗体の病原性)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 佐古田三郎 (副査) 教 授 平野 俊夫 教 授 竹田 潔

論 文 内 容 の 要 旨

【 目 的 】

Neuromyelitis optica (NMO) は、視神経および脊髄を中心に炎症を来し、以前まで脱髄疾患に属する多発性硬化症の一亜型と考えられていた。しかし、2004年にNMO患者血清中に疾患特異的自己抗体、抗アクアポリン4抗体（抗AQP4抗体）が発見され、標的抗原はアストロサイト足突起に高発現する水チャンネルの一つAQP4であることが報告された。NMO病巣では髄鞘蛋白が保たれている一方、AQP4およびグリア繊維性蛋白（GFAP）が欠落していることから、抗AQP4抗体を介したアストロサイト障害がNMO病態の中心と推測されるようになったが、抗AQP4抗体の病原性を直接的に示した報告は未だなかった。以上を踏まえ、本研究では抗AQP4抗体の病原性を *in vitro* および *in vivo* にて検討を行った。

【 方法ならびに成績 】

まず抗AQP4抗体の病原性有無を *in vitro* の系にて検証するため、ラット新生仔より調製したアストロサイトに、抗AQP4抗体陽性患者血清を添加し、細胞障害性を形態学的観察およびWST-8アッセイにて評価した。コントロール群には健康者および多発性硬化症 (MS) 患者血清を使用した。また使用する血清は1) 無処理、2) 補体の非動化および3) 非動化後に補体を添加した3群で検討を行った。無処理の抗AQP4抗体陽性患者血清群では、顕著なアストロサイトの膨化が観察され、WST-8アッセイにて生細胞数はコントロール群と比較し約70%減少した。また同障害は補体非動化によって軽減し、さらに補体を添加することで再現されることから補体依存性反応と考えられた。これらの抗AQP4抗体陽性患者血清によるアストロサイ

トの障害は、siRNAによりAQP4発現量を低下させたアストロサイトでは約40%減少しており、抗AQP4抗体を介した特異的障害であると確認された。このように無処理抗AQP4抗体陽性血清を添加したアストロサイト群では、免疫染色にて細胞膜上にIgG1および補体活性化最終産物 (C5b-9) の沈着が認められ、障害されたアストロサイトの約80%がアネキシンVおよびPI共に陽性であった。これらの結果より、抗AQP4抗体の病原性が *in vitro* の系にて示唆され、その機序としては補体古典的経路を介したネクローシス誘導が考えられた。

上記の結果より示唆された抗AQP4抗体の病原性を次に *in vivo* にて検証するために、患者の治療目的にて使用した免疫吸着カラムより抗AQP4抗体陽性NMO患者IgGを精製し、ミエリン塩基性蛋白 (MBP) にて誘導した実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) ラットに投与した。コントロール群には、健康者および抗AQP4抗体陰性MS患者より精製したIgGを使用した。その結果、抗AQP4抗体陽性IgGを投与された群ではclinical scoreが有意に上昇し、脊髄病巣ではコントロール群と比較し著明な炎症細胞浸潤が観察された。この *passive transfer* により作成された動物モデルはNMO患者に極めて類似した病理像を呈し、免疫組織学的検討では、脊髄灰白質を中心としたGFAPおよびAQP4の染色性低下がAQP4高発現部位である血管周囲に観察され、同部位ではhuman IgGおよびC5b-9の沈着がみられた。以上の結果は、抗AQP4抗体の病原性を強く支持するものであり、同抗体を介したアストロサイト障害における補体経路の関与を示唆している。

【 総 括 】

今回我々は、rat primary astrocyteを使用した *in vitro* の系にて、抗AQP4抗体が補体依存性にアストロサイトのネクローシスを誘導することを示し、また抗AQP4抗体陽性NMO患者のIgG分画をラットに移入することで、NMO病巣と同様の著明なアストロサイト脱落が生じることを報告した。これらの結果は、NMOにおける抗AQP4抗体の病原性を強く支持するものである。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者は、以前まで多発性硬化症の一亜型と考えられていたNeuromyelitis optica (NMO) 患者血清中に存在する疾患特異的自己抗体、抗アクアポリン4抗体（抗AQP4抗体）の病原性有無について研究を行った。

申請者は、rat primary astrocyteを使用した *in vitro* の系にて、抗AQP4抗体が補体依存性にアストロサイトのネクローシスを誘導することを示し、また抗AQP4抗体陽性NMO患者のIgG分画をラットに移入することで、NMO病巣と同様の著明なアストロサイト脱落が生じることを報告した。これらの結果は、NMOにおける抗AQP4抗体の病原性を強く支持するものであり、同抗体のNMO病態機序における中心的役割を示すものである。

本研究はNMOにおける病態研究の進歩に多大な貢献を行うものであり、学位の授与に値すると考えられる。