

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 難治性疾患実用化研究事業  
(英語) Practical Research Project for Rare/Intractable Diseases
- 研究開発課題名： (日本語) 多発性硬化症生体試料バンクを活用したアジア人特有の遺伝環境因子探索による病態解明  
(英語) Identification of Asian-specific genetic and environmental factors for multiple sclerosis by the constructed biobank of Japanese and elucidation of the pathogenesis
- 研究開発担当者 (日本語) 九州大学大学院医学研究院 教授 吉良 潤一  
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Professor, Jun-ichi Kira
- 実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日
- 分担研究 (日本語) 多発性硬化症・視神経脊髄炎患者のMSバンクへの登録  
開発課題名 (英語) Registration of patients with multiple sclerosis and neuromyelitis optica to MS biobank
- 研究開発分担者 (日本語) 九州大学病院神経内科 講師 松下拓也  
所属 役職 氏名： (英語) Department of Neurology, Kyushu University Hospital, Clinical Lecturer, Takuya Matsushita
- 研究開発分担者 (日本語) 国立病院機構北海道医療センター臨床研究部 部長 新野正明  
所属 役職 氏名： (英語) Department of Clinical Research, National Hospital Organization Hokkaido Medical Center, Director, Niino Masaaki
- 研究開発分担者 (日本語) 埼玉医科大学総合医療センター 神経内科 准教授 深浦彦彰  
所属 役職 氏名： (英語) Department of Neurology, Saitama Medical Center, Associate Professor, Hikoaki Fukaura

研究開発分担者 (日本語) 京都保健会京都民医連中央病院 神経内科 嘱託医 田中正美  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Kyoto Miniren Chuo Hospital, Doctor,  
Masami Tanaka

研究開発分担者 (日本語) 愛媛大学大学院医学系研究科老年・神経・総合診療内科学 講師 越知  
博文  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology and Geriatric Medicine, Ehime University,  
Senior Assistant Professor, Hirofumi Ochi

研究開発分担者 (日本語) 山口大学大学院医学系研究科神経内科学 教授 神田隆  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology and Clinical Neuroscience, Yamaguchi  
University Graduate School of Medicine, Professor, Takashi Kanda

研究開発分担者 (日本語) 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 脳神経病態学分野 教授  
横田隆徳  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology and Neurological Science, Tokyo Medical  
and Dental University, Professor, Takanori Yokota

研究開発分担者 (日本語) 金沢医科大学医学部神経内科 教授 松井真  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Kanazawa Medical University, Professor,  
Makoto Matsui

研究開発分担者 (日本語) 近畿大学医学部神経内科 教授 楠進  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Kinki University, Professor, Susumu  
Kusunoki

研究開発分担者 (日本語) 岩手医科大学医学部内科学講座神経内科・老年科分野 教授 寺山靖夫  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology and Gerontology, Iwate Medical  
University School of Medicine, Professor, Yasuo Terayama

研究開発分担者 (日本語) 新潟大学医歯学総合病院 講師 河内泉  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Niigata University Medical and Dental  
Hospital, Lecturer, Kawachi Izumi

研究開発分担者 (日本語) 東京女子医科大学八千代医療センター神経内科 准教授 大橋高志  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, School of Medicine, Tokyo Women's  
Medical University Yachiyo Medical Center, Associate Professor,  
Takashi Ohashi

研究開発分担者 (日本語) 東京女子医科大学神経内科 准教授 清水優子  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, School of Medicine, Tokyo Women's Medical University, Associate Professor, Yuko Shimizu

研究開発分担者 (日本語) 富山大学附属病院神経内科 教授 中辻裕司  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Toyama University Hospital, Professor, Yuji Nakatsuzi

研究開発分担者 (日本語) 広島大学病院脳神経内科 診療講師 越智一秀  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Hiroshima University, Assistant Professor, Kazuhide Ochi

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所難病資源研究室 技術補助員 樋野村亜希子  
 所属 役職 氏名 : (英語) Laboratory of Rare Disease Biospecimen, National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition, Technical Assistant, Akiko Hinomura

研究開発分担者 (日本語) 国立病院機構大牟田病院神経内科 部長 河野祐治  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, National Hospital Organization Omuta Hospital, Director, Yuji Kawano

研究開発分担者 (日本語) 東京大学医学部附属病院神経内科 教授 辻省次  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, The University of Tokyo Hospital, Professor, Shoji Tsuji

研究開発分担者 (日本語) 札幌医科大学医学部神経内科学講座 教授 下濱俊  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Sapporo Medical University School of Medicine, Shun Shimohama

分担研究 (日本語) 遺伝子関連解析  
 開発課題名 (英語) Genetic association studies  
 研究開発分担者 (日本語) 九州大学病院神経内科 講師 松下拓也  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Kyushu University Hospital, Clinical Lecturer, Takuya Matsushita

研究開発分担者 (日本語) 国立病院機構北海道医療センター臨床研究部 部長 新野正明  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Clinical Research, National Hospital Organization Hokkaido Medical Center, Director, Niino Masaaki

研究開発分担者 (日本語) 久留米大学医学部医化学講座 教授 山本健  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Medical Biochemistry, Kurume University School of  
Medicine, Professor, Ken Yamamoto

研究開発分担者 (日本語) 国立病院機構大牟田病院神経内科 部長 河野祐治  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, National Hospital Organization Omuta  
Hospital, Director, Yuji Kawano

研究開発分担者 (日本語) 東京大学医学部附属病院神経内科 教授 辻省次  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, The University of Tokyo Hospital,  
Professor, Shoji Tsuji

研究開発分担者 (日本語) 近畿大学医学部神経内科 教授 楠進  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Kinki University, Professor, Susumu  
Kusunoki

分担研究 (日本語) バイオマーカー探索  
開発課題名 (英語) Research for biomarker

研究開発分担者 (日本語) 富山大学附属病院神経内科 教授 中辻裕司  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Toyama University Hospital, Professor,  
Yuji Nakatsuzi

研究開発分担者 (日本語) 山口大学大学院医学系研究科神経内科学 教授 神田隆  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology and Clinical Neuroscience, Yamaguchi  
University Graduate School of Medicine, Professor, Takashi Kanda

研究開発分担者 (日本語) 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 脳神経病態学分野 教授  
横田隆徳  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology and Neurological Science, Tokyo Medical  
and Dental University, Professor, Takanori Yokota

研究開発分担者 (日本語) 金沢医科大学医学部神経内科 教授 松井真  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Kanazawa Medical University, Professor,  
Makoto Matsui

研究開発分担者 (日本語) 愛媛大学大学院医学系研究科老年・神経・総合診療内科学 講師 越知  
博文  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology and Geriatric Medicine, Ehime University,  
Senior Assistant Professor, Hirofumi Ochi

分担研究 (日本語) 環境因子探索  
開発課題名 (英語) Research for environmental factors

研究開発分担者 (日本語) 九州大学病院神経内科 講師 松下拓也  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Kyushu University Hospital, Clinical  
Lecturer, Takuya Matsushita

研究開発分担者 (日本語) 国立病院機構北海道医療センター臨床研究部 部長 新野正明  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Clinical Research, National Hospital Organization  
Hokkaido Medical Center, Director, Niino Masaaki

研究開発分担者 (日本語) 埼玉医科大学総合医療センター 神経内科 准教授 深浦彦彰  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Saitama Medical Center, Associate  
Professor, Hikoaki Fukaura

研究開発分担者 (日本語) 京都保健会京都民医連中央病院 神経内科 嘱託医 田中正美  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Kyoto Miniren Chuo Hospital, Doctor,  
Masami Tanaka

研究開発分担者 (日本語) 愛媛大学大学院医学系研究科老年・神経・総合診療内科学 講師 越知  
博文  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology and Geriatric Medicine, Ehime University,  
Senior Assistant Professor, Hirofumi Ochi

研究開発分担者 (日本語) 山口大学大学院医学系研究科神経内科学 教授 神田隆  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology and Clinical Neuroscience, Yamaguchi  
University Graduate School of Medicine, Professor, Takashi Kanda

研究開発分担者 (日本語) 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 脳神経病態学分野 教授  
横田隆徳  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology and Neurological Science, Tokyo Medical  
and Dental University, Professor, Takanori Yokota

- 研究開発分担者 (日本語) 金沢医科大学医学部神経内科 教授 松井真  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Kanazawa Medical University, Professor, Makoto Matsui
- 研究開発分担者 (日本語) 近畿大学医学部神経内科 教授 楠進  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Kinki University, Professor, Susumu Kusunoki
- 研究開発分担者 (日本語) 岩手医科大学医学部内科学講座神経内科・老年科分野 教授 寺山靖夫  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology and Gerontology, Iwate Medical University School of Medicine, Professor, Yasuo Terayama
- 研究開発分担者 (日本語) 新潟大学医歯学総合病院 講師 河内泉  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Niigata University Medical and Dental Hospital, Lecturer, Kawachi Izumi
- 研究開発分担者 (日本語) 東京女子医科大学八千代医療センター神経内科 准教授 大橋高志  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, School of Medicine, Tokyo Women's Medical University Yachiyo Medical Center, Associate Professor, Takashi Ohashi
- 研究開発分担者 (日本語) 東京女子医科大学神経内科 准教授 清水優子  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, School of Medicine, Tokyo Women's Medical University, Associate Professor, Yuko Shimizu
- 研究開発分担者 (日本語) 富山大学附属病院神経内科 教授 中辻裕司  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Toyama University Hospital, Professor, Yuji Nakatsuzi
- 研究開発分担者 (日本語) 広島大学病院脳神経内科 診療講師 越智一秀  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Hiroshima University, Assistant Professor, Kazuhide Ochi
- 研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所難病資源研究室 技術補助員 樋野村亜希子  
所属 役職 氏名 : (英語) Laboratory of Rare Disease Biospecimen, National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition, Technical Assistant, Akiko Hinomura

研究開発分担者 (日本語) 国立病院機構大牟田病院神経内科 部長 河野祐治  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, National Hospital Organization Omuta Hospital, Director, Yuji Kawano

研究開発分担者 (日本語) 東京大学医学部附属病院神経内科 教授 辻省次  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, The University of Tokyo Hospital, Professor, Shoji Tsuji

研究開発分担者 (日本語) 札幌医科大学医学部神経内科学講座 教授 下濱俊  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Sapporo Medical University School of Medicine, Shun Shimohama

分担研究 (日本語) 動物・細胞モデル作成  
 開発課題名 (英語) Animal model and cell biology of MS/NMO

研究開発分担者 (日本語) 九州大学病院神経内科 講師 松下拓也  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Kyushu University Hospital, Clinical Lecturer, Takuya Matsushita

研究開発分担者 (日本語) 九州大学大学院医学研究院神経内科学 准教授 山崎亮  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Graduate School of Medical Sciences Kyushu University, Associate Professor, Ryo Yamasaki

研究開発分担者 (日本語) 札幌医科大学医学部神経内科学講座 教授 下濱俊  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Sapporo Medical University School of Medicine, Shun Shimohama

分担研究 (日本語) モデルでの治療  
 開発課題名 (英語) Treatment in animal model of MS/NMO

研究開発分担者 (日本語) 九州大学病院神経内科 講師 松下拓也  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Kyushu University Hospital, Clinical Lecturer, Takuya Matsushita

研究開発分担者 (日本語) 九州大学大学院医学研究院神経内科学 准教授 山崎亮  
 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Neurology, Graduate School of Medical Sciences Kyushu University, Associate Professor, Ryo Yamasaki

研究開発分担者 (日本語) 札幌医科大学医学部神経内科学講座 教授 下濱俊  
所属 役職 氏名: (英語) Department of Neurology, Sapporo Medical University School of  
Medicine, Shun Shimohama

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

### ・ 研究開発代表者による報告の場合

(和文)

- 1) 日本人多発性硬化症 (multiple sclerosis: MS)、視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica: NMO) を対象とした DNA、血清、血漿、臨床情報のバイオバンク、レジストリを構築し、日本人における希少疾患の研究の基盤を作った。
- 2) 日本人 MS 及び NMO についてゲノムワイドに疾患関連領域を探索し、複数の欧米人とは異なる遺伝関連領域を同定した。
- 3) Gene-ontology 解析に基づき、MS と NMO と関連する生物学的機能が異なっていることを発見した。
- 4) MS の発症リスクを高める copy number variation (CNV) として T 細胞受容体  $\alpha$  鎖と  $\gamma$  鎖領域の deletion type を見出した (Sato S, et al. Ann Neurol 2015)。また CNV を有する MS 患者において V $\delta$ 2 および V $\gamma$ 9 が陽性の  $\gamma$   $\delta$  型 T 細胞が著減していることを明らかにした。
- 5) MS 再発期では TLR4 シグナルと CD40 シグナルのクロストークによって IL-10 産生 B 細胞が誘導され、寛解の誘導に作用している可能性が考えられた。また、IFN $\beta$  治療効果には、CD40 シグナルを介した B 細胞からの IL-10 産生が重要である可能性が考えられた。
- 6) MS 発症者と非発症者対照者からなる一卵性双生児 2 組 4 名における全ゲノムシーケンスの比較ではレトロエレメントの挿入部位の相違を検討し、患者群のみで挿入が予想される部位が抽出された。
- 7) 中枢神経マトリックスの主要構成因子であるコンドロイチン硫酸の糖鎖合成酵素 ChGn-1 遺伝子において男性 MS 例の臨床経過の悪化を軽減する多型を見出した (Saigoh K, et al. Neurosci Res 2016)。
- 8) MS の障害度進行と関わる遺伝領域として *LPA*、*Leptin*、発症年齢と関わる領域として *NTRK2* を見出した。またオリゴクローナルバンド陽性にもっとも関連する遺伝領域は、ヨーロッパ系人種と同様に HLA であることを明らかにした。
- 9) Double inversion recovery 法で同定される皮質病巣はヨーロッパ系人種と同様に日本人においても障害度と関連し、進行型に多く見られるが、相対的にはヨーロッパ系人種よりもその頻度は低く、また HLA-DRB1\*04:05 保因者は皮質病巣が少ないことを明らかにした (Shinoda K, et al. Mult Scler 2017)。
- 10) 脊髄 MRI による測定で、MS では頸髄、NMO では胸髄の断面積が障害度と逆相関することを明らかにした。
- 11) 環境要因の影響として、冬季のビタミン D 低値が MS の障害度の悪化や二次性進行に寄与していることを見出した (Niino M, et al. J Neuroimmunol 2015;279:40-45)。



- 12) 緯度と HLA-DRB1\*04:05 が独立してオリゴクローナルバンドの陽性(Niino M, et al. *Mult Scler* 2015)、障害度の進行 (Nakamura Y, et al. *J Neuroinflamm* 2016) に有意に相関することを明らかにした。
  - 13) 二次性進行性 MS (secondary progressive multiple sclerosis: SPMS) 患者に存在する血液脳関門 (blood-brain barrier) 構成内皮細胞に対する自己抗体 (抗内皮抗体) の標的抗原をプロテオーム解析で同定した。SPMS 患者で 7 つの候補抗原を同定し、再発寛解型多発性硬化症 (relapsing-remitting MS: RRMS) 患者では抗内皮抗体の標的抗原が SPMS と異なっていること、MS と視神経脊髄炎患者に健常人には存在しない共通した抗内皮抗体が存在することを見出した。以上のことから、MS 病期毎に BBB 破綻機序が異なっている可能性に加えて、自己免疫性中枢神経疾患に共通した BBB 破綻メカニズムが存在する可能性を示した (Nishihara H, et al. *Mult Scler* 2017)。
  - 14) マウス胎児脳から取り出した OLG 前駆細胞(O-2A)にいくつかの SIRT ファミリーに対する siRNA を作製してこれを電気穿孔法で細胞内に導入したところ、短期間に OLG が非常に効率よく分化し、微細な突起の伸長が著明であることを見出した。さらに SIRT 分子をノックダウンすることで tubulin ファミリー分子や関連分子が OLG の微細な突起に広範に分布することを見出した。すなわち SIRT ファミリーがこれらの分子の局在を変化させることで OLG の分化を制御していることが示唆された。
  - 15) MS、NMO における血中マイクロ RNA (miRNA) 発現解析を行い、その解析結果と欧米からの既報告との比較検討を行った。MS 群では、50%の miRNA で既報告と同様の傾向を示す結果が得られた。NMO 群でも、約 70%の miRNA で既報告と同様の傾向を示す結果が得られた。本邦においても、MS や NMO のバイオマーカー候補となり得る miRNA の一部が既報告と類似した挙動を示すことが示唆された。
  - 16) Th1 細胞由来の IFN $\gamma$  がミクログリアを活性化し、活性化ミクログリアから産生された IL-18 を含む炎症性サイトカインがアストロサイトに作用して、Cx43 発現を低下させることが明らかにした。そのことから Th1 優位の炎症反応により、グリア間の細胞間伝達が破綻し、中枢神経脱髄疾患の病巣形成・拡大につながることを示唆された。(Watanabe et al. *Sci Rep*, 2016)
  - 17) 私たちが初めて報告した MS の疾患抵抗性遺伝子 NOTCH4 が langerin 陽性の樹状細胞でのみ発現し、NOTCH4 ノックアウトマウスでは EAE が重症化することを発見した。これは NOTCH4 が重要な免疫制御分子であることを意味する。
  - 18) 関節リウマチの治療薬であるイグラチモドを EAE マウスに予防投与すると発症抑制と軽症化がみられ、さらに発症後の治療的投与により慢性進行型 EAE が軽症化することを発見した。マウス腹腔マクロファージを抽出し LPS で刺激した後、イグラチモドを添加すると、NF- $\kappa$ B の活性化を抑制した。
- 1) We constructed biobank including DNA, sera, plasma and clinical information for the study of Japanese patients with MS and NMO.
  - 2) We identified novel genetic loci associated with MS and NMOSD in the Japanese by genome-wide association study.
  - 3) We found the difference of biological background between MS and NMO by gene-ontology analysis based on the genetic associations.

- 4) We identified deletion type copy number variations (CNV) at *T cell receptor  $\alpha$*  and  $\gamma$  as potent risk factors for MS and NMO in the Japanese (Sato S, et al. Ann Neurol 2015). MS patients with the CNV had significantly lower percentage of V $\delta$ 2 and V $\gamma$ 9 positive  $\gamma\delta$ T cells comparing with the patients without the CNV.
- 5) TLR4-mediated IL-10 production by B cells derived from MS patients increased at relapse in the presence of CD40 co-stimulation. This result indicates that cross-talk between TLR4 and CD40 signaling is essential for regulatory function of B cells during MS relapse, which promotes the recovery from relapse. CD40 signaling in B cells is involved in the response to IFN $\beta$  treatment in MS.
- 6) We found genetic positions where a retroelement was inserted only in cases of discordant twins.
- 7) We found a variance in *ChGN-1* ameliorating the progression of disability in male patients with MS (Saigoh K, et al. Neurosci Res 2016).
- 8) We identified variances in *LPA* and *leptin* influencing progression of disability and a variance in *NTRK2* associating with earlier onset of MS in Japanese patients with MS. *HLA* is strongly associated with the positivity of IgG oligoclonal bands in the Japanese as well as population of European descent.
- 9) Cortical lesions were associated with disability and more common in progressive patients than in non-progressive patients in Japanese patients with MS. However, the frequency was relatively lower in the Japanese than in European, and HLA-DRB1\*04:05 was negatively associated with presence of cortical lesions (Shinoda K, et al. Mult Scler 2017).
- 10) Cervical cord area was negatively correlated with disability in patients with MS. On the other hand, thoracic cord area was negatively correlated with disability in patients with NMO.
- 11) Vitamin D values in winter were associated with disability and secondary progression in MS. (Niino M, et al. J Neuroimmunol, 2015)
- 12) Latitude and HLA-DRB1\*04:05 were independently associated with positivity of IgG oligoclonal bands (Niino M, et al. Mult Scler 2015) and progression of disability (Nakamura Y, et al. J Neuroinflamm 2016).
- 13) We identified 7-target antigens of anti-brain microvascular endothelial cell antibodies (BMECs) in patients with secondary progressive MS (SPMS). The target antigens of anti-BMECs antibodies of relapsing-remitting MS were different. Moreover, we found that MS patients and neuromyelitis optica patients had same anti-BMECs antibodies. These results suggest that BBB disrupting mechanisms are different regarding disease stage of MS, however, some common mechanism underlies among autoimmune central nervous system diseases (Nishihara H, et al. Mult Scler 2016).
- 14) We performed introducing deacetylase SIRT-specific siRNA by electroporation in primary cultured oligodendrocyte (OLG) progenitor cells (O-2A) derived from mouse embryonic brain. We found that knockdown of SIRT X and SIRT Y resulted in promoting extension of fine processes of OLG and increasing primary processes, thereby facilitating differentiation of OLG. Distribution of OLG specific  $\alpha$ IV tubulin and tubulin polymerization promoting protein

(TPPP) were expressed broadly, thus we concluded that SIRT family play a pivotal role for differentiating of OLG via alteration of distribution of OLG-specific cytoskeleton molecules that involve myelination and remyelination.

- 15) We conducted the microRNA (miRNA) expression profiling of the patients with multiple sclerosis (MS) and neuromyelitis optica (NMO), and then compared the results of our analysis with previous reports on miRNA biomarkers of MS and NMO from Western countries. Serum samples obtained from MS and NMO patients and control subjects were analyzed using 3D-Gene® Human miRNA Oligo Chip (Toray Industries, Inc., Kanagawa, Japan), which is designed to detect 2565 miRNA sequences registered in miRBase release 21. Patients with relapsing-remitting MS and anti AQP-4 antibody positive NMO in remission phase were included. In MS group, the results showed the same trend as previously reported in 50% miRNA examined. In NMO group, the results showed the same trend as previously reported in about 70% miRNA examined. In Japanese patients, a part of MS or NMO miRNA biomarkers showed the same trend as previously reported from Western countries.
- 16) IFN $\gamma$ -treated microglia-conditioned media and IL-1 $\beta$ , which was markedly increased in IFN $\gamma$ -treated microglia-conditioned media, reduced Cx43 protein levels in astrocyte-rich cultures and Th1 cell-conditioned medium decreased Cx43 protein levels in mixed glial cell cultures. These findings suggest that Th1 cell-derived IFN $\gamma$  activates microglia to release IL-1 $\beta$  that reduces Cx43 gap junctions in astrocytes. Thus, Th1 dominant inflammatory states disrupt astrocytic intercellular communication and may exacerbate MS. (Watanabe et al. Sci Rep, 2016)
- 17) We had identified a variance in *NOTCH4* as a protective genetic factor for MS. Notch4 was expressed only in Langerin-positive cells and EAE in NOTCH4 knock out mouse demonstrated more severe CNS inflammation. This suggests NOTCH4 has an important role in regulation of inflammation.
- 18) Igaratimod, a drug for rheumatoid arthritis, suppressed onset of EAE and ameliorated the severity. Treatment with iguratimod after EAE onset mitigated the severity of EAE at chronic phase. NF-kB activation of peritoneal macrophages by LPS was inhibited by treatment of iguratimod.

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 件、国際誌 件)

1. Yamasaki R, Matsushita T, Fukazawa T, Yokoyama K, Fujihara K, Ogino M, Yokota T, Miyamoto K, Niino M, Nomura K, Tomioka R, Tanaka M, Kawachi I, Ohashi T, Ken-Ichi Kaida K, Matsui M, Nakatsuji Y, Ochi H, Fukaura H, Kanda T, Nagaishi A, Togo K, Mizusawa H, Murai H, Kira JI. Efficacy of intravenous methylprednisolone pulse therapy in patients with multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *Mult. Scler.* 2016; 22(10): 1337-1348
2. Fujii C, Kondo T, Ochi H, Okada Y, Hashi Y, Adachi T, Shin-Ya M, Matsumoto S, Takahashi R, Nakagawa M, Mizuno T. Altered T cell phenotypes associated with clinical relapse of multiple sclerosis patients receiving fingolimod therapy. *Sci Rep* 2016,18:6:35314.doi: 10.1038/srep35314
3. Ochi H and Fujihara K. Demyelinating diseases in Asia. *Curr Opin Neurol.* 2016, 29(3):222-8.
4. Ochi H. B-cell-targeted therapy in multiple sclerosis. *Clin Exp Neuroimmunol.* 2016, 7: 260-271.
5. Nishihara H, Shimizu F, Kitagawa T, Yamanaka N, Akada J, Kuramitsu Y, Sano Y, Takeshita Y, Maeda T, Abe M, Koga M, Nakamura K, Kanda T. Identification of galectin-3 as a possible antibody target for secondary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2017 **23**(3): 382-394
6. 大橋高志. 小児の多発性硬化症. *健康教室* 2016, 67, 80-1.
7. Saigoh K, Yoshimura S, Izumikawa T, Miyata S, Tabara Y, Matsushita T, Miki T, Miyamoto K, Hirano M, Kitagawa H, Kira JI, Kusunoki S. Chondroitin sulfate  $\beta$ -1,4-N-acetylgalactosaminyltransferase-1 (ChGN-1) polymorphism; association with progression of multiple sclerosis. *Neurosci Res* 2016; 108:55-59.
8. Moriguchi K, Miyamoto K, Tanaka N, Ueno R, Nakayama T, Yoshie O, Kusunoki S. C-C chemokine receptor type 4 antagonist Compound 22 ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 2016; 291: 54-58
9. Yokokawa K, Hisahara S, Matsuura Y, Ikeda K, Tsuda E, Saitoh M, Nakamichi K, Saijo M, Kamihara Y, Sato T, Kawamata J, Shimohama S. Progressive multifocal leukoencephalopathy after autologous peripheral blood stem cell transplantation in a patient with multiple myeloma treated with combination therapy. *Journal of Neurological Sciences.* 2016: 368: 304-306
10. Miyazaki Y, Niino M, Kanazawa I, Suzuki M, Mizuno M, Hisahara S, Fukazawa T, Takahashi E, Amino I, Ochi R, Nakamura M, Akimoto S, Minami N, Fujiki N, Doi S, Shimohama S, Terayama Y, Kikuchi S. Fingolimod suppresses bone resorption in female patients with multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology* 2016: 298: 24-31
11. Yamamoto D, Imai T, Tsuda E, Hozuki T, Yamauchi R, Hisahara S, Kawamata J, Shimohama S. Impaired post-tetanic potentiation of muscle twitch in myasthenia gravis.

12. Nakamura Y, Matsushita T, Sato S, Niino M, Fukazawa T, Yoshimura S, Hisahara S, Isobe N, Shimohama S, Watanabe M, Yoshida K, Houzen H, Miyazaki Y, Yamasaki R, Kikuchi S, Kira J. Latitude and HLA-DRB1\*04:05 independently influence disease severity in Japanese multiple sclerosis: a cross-sectional study. *Journal of Neuroinflammation* 2016; 13: 293
13. Hokari M, Yokoseki A, Arakawa M, Saji E, Yanagawa K, Yanagimura F, Toyoshima Y, Okamoto K, Ueki S, Hatase T, Ohashi R, Fukuchi T, Akazawa K, Yamada M, Kakita A, Takahashi H, Nishizawa M, Kawachi I. Clinicopathological features in anterior visual pathway in neuromyelitis optica. *Annals of Neurology* 2016;79(4):605-624.
14. Ogino M, Kawachi I, Otake K, Ohta H, Otsuka Y, Iwasaki K, Hiroi S. Current treatment status and medical cost for multiple sclerosis based on analysis of a Japanese claims database. *Clinical and experimental neuroimmunology* 2016;7(2):158-167.
15. Kawachi I, Lassmann H. Neurodegeneration in multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2017; 88: 137-145.
16. Kawachi I. Clinical characteristics of autoimmune optic neuritis. *Clinical and Experimental Neuroimmunology*. 2017;8(Suppl.1):8–16.
17. 河内泉, 西澤正豊. 「多発性硬化症の病因・病態から診断・治療まで」(3) 多発性硬化症の早期診断と早期治療の UP-TO-DATE. *神経治療学* 2016;33:475-477.
18. 河内泉. III. 各種疾患. 7. 脱髄・免疫性疾患. 2. 多発性硬化症の「炎症・変性」と進行型多発性硬化症に対する治療の最新動向. *Annual Review 神経* 2017. 2017年1月30日発行. 206-214. 中外医学社.
19. Watanabe M, Masaki K, Yamasaki R, Kawanokuchi J, Takeuchi H, Matsushita T, Suzumura A, Kira J-I. Th1 cells downregulate connexin 43 gap junctions in astrocytes via microglial activation. *Sci Rep* 2016, 6: 38387.
20. Shinoda K, Matsushita T, Nakamura Y, Masaki K, Yamasaki R, Yamaguchi H, Togao O, Hiwatashi A, Kira J-I. HLA-DRB1\*04:05 allele is associated with intracortical lesions on three-dimensional double inversion recovery images in Japanese patients with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2017: DOI: 10.1177/1352458517707067
21. Hayashida S, Masaki K, Yonekawa T, Suzuki SO, Hiwatashi A, Matsushita T, Watanabe M, Yamasaki R, Suenaga T, Iwaki T, Murai H, Kira J-I. Early and extensive spinal white matter involvement in neuromyelitis optica. *Brain Pathol*. 2017, 27: 249–265.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Early and Extensive Spinal White Matter Pathology in Neuromyelitis Optica. Hayashida S, Masaki K, Yonekawa T, Suzuki S, Hiwatashi A, Matsushita T, Watanabe M, Yamasaki R, Suenaga T, Iwaki T, Murai H, Kira J-I. ポスター, 第 57 回日本神経学会学術大会, 2016/5/18, 国内.

2. Clinical and immunological analysis of multiple sclerosis with deletion type of copy-number variation. Guzailiyi M, Shinoda K, Nakamura Y, Song Z, Matsushita T, Yamasaki R, Kira JI. ポスター, 第 57 回日本神経学会学術大会, 2016/5/19, 国内.
3. Clinical and genetic factors associated with disability in Japanese patients with multiple sclerosis. Matsushita T, Sato S, Yamamoto K, Zhuang J, Liu Z, Nakamura Y, Shinoda K, Hiwatashi A, Kira JI, Japan Multiple Sclerosis Genetics Consortium, Japan Multiple Sclerosis Consortium. ポスター, 第 57 回日本神経学会学術大会, 2016/5/20, 国内.
4. 日本人多発性硬化症・視神経脊髄炎の脊髄レベルによる脊髄萎縮と重症度の相関. 劉志文, 中村優理, 篠田紘司, 松下拓也, 樋渡昭雄, 吉良潤一. 口演, 第 57 回日本神経学会学術大会, 2016/5/21, 国内.
5. Genetic and environmental factors associated with multiple sclerosis: Similarities and dissimilarities between Japanese and Southern Han. Kira JI. 口演, 第四届岭南国事际神经病学与神经免疫学大会, 2016/7/9, 国外.
6. Genetic factors associated with clinical phenotypes of multiple sclerosis in the Japanese. Matsushita T, Sato S, Yamamoto K, Zhuang J, Nakamura Y, Kira JI, Japan Multiple Sclerosis Genetics Consortium. ポスター, 32<sup>nd</sup> Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (London), 2016/9/14, 国外.
7. Detection of cortical lesions by 3D-double inversion recovery imaging in Japanese patients with multiple sclerosis and neuromyelitis optica spectrum disorder. Shinoda K, Matsushita T, Nakamura Y, Masaki K, Hiwatashi A, Kira JI. ポスター, 32<sup>nd</sup> Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (London), 2016/9/14, 国外.
8. Differences in brain MRI features between Japanese and Caucasian patients with multiple sclerosis. Nakamura Y, Gaetano L, Matsushita T, Radue EW, Altermatt A, Sprenger T, Bauer L, Amann M, Würfel J, Saida T, Kappos L, Kira JI. ポスター, 32<sup>nd</sup> Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (London), 2016/9/14, 国外.
9. IFN $\gamma$  reduces expression of connexin43 in astrocytes via activation of microglia. Watanabe M, Masaki K, Yamasaki R, Kawanokuchi J, Takeuchi H, Suzumura A, Kira JI. ポスター, 32<sup>nd</sup> Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (London), 2016/9/14, 国外.
10. 多発性硬化症において血中レチノール結合蛋白値は脳容積減少率と相関する. 横手裕明, 鎌田智幸, 三條伸夫, 横田隆徳. 第 57 回日本神経学会学術大会 2016.05.19 神戸, 国内, ポスター
11. 多発性硬化症における認知機能障害に対する脳萎縮パラメータの有用性の検討. 能勢裕里江, 三條伸夫, 田中宏明, 椎野顯彦, 松田博史, 横田隆徳. 第 57 回日本神経学会学術大会 2016.05.19 神戸, 国内, ポスター
12. 多発性硬化症(MS) 患者における経時的な脳容積変化に関わる因子. 馬嶋貴正, 三條伸夫, 横田隆徳. 第 57 回日本神経学会学術大会 2016.05.19 神戸, 国内, ポスター
13. 多発性硬化症における視神経炎後の視神経径の変化と網膜視神経線維層の菲薄化の関係. 浅見裕太郎, 三條伸夫, 横田隆徳. 第 57 回日本神経学会学術大会 2016.05.19 神戸, 国内, ポスター
14. 注意障害から見た多発性硬化症, 視神経脊髄炎患者に対する看護師に必要な視点の考察. 橋口愛, 三條伸夫, 小宮亜弓, 前田早紀, 畑崎萌衣, 中山ちひろ, 三浦和香菜, 櫻井美穂, 沼沢祥行, 馬嶋

- 貴正, 能勢裕里江, 松本裕希子, 浅見裕太郎, 塚原良子, 横田隆徳. 第 57 回日本神経学会学術大会 2016.05.20 神戸
15. 多発性硬化症における視神経炎発症部位と慢性期の視神経萎縮の関係. 浅見裕太郎, 横手裕明, 三條伸夫, 横田隆徳. 第 28 回日本神経免疫学会学術集会 2016.09.30 長崎, 国内, ポスター
  16. NEDA-3 を満たすが NEDA-4 を満たさない多発性硬化症患者の臨床的特徴～病態修飾薬との関連性～. 横手裕明, 融衆太, 鎌田智幸, 三條伸夫, 横田隆徳. 第 28 回日本神経免疫学会学術集会 2016.09.30 長崎, 国内, 口演
  17. 多発性硬化症における NEDA-5 達成率の推移と各指標の相関について. 能勢裕里江, 三條伸夫, 馬嶋貴正, 伊藤陽子, 横手裕明, 横田隆徳. 第 34 回日本神経治療学会総会 2016.11.04 米子, 国内, 口演
  18. Paradoxical effects of TLR4 stimulation to B cells in multiple sclerosis. Poster. Okada Y, Kondo T, Fujii C, Hashi Y, Ochi H, Nakagawa M, Mizuno T, Matsumoto S, Urushitani M and Takahashi R. 32<sup>nd</sup> Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (London), September 14-17, 2016.
  19. CD56 positivity of T cells as a candidate of a predictive biomarker for relapse of multiple sclerosis under fingolimod therapy. Poster. Fujii C, Kondo T, Ochi H, Okada Y, Hashi Y, Matsumoto S, Takatashi R, Nakagawa M and Mizuno T. 32<sup>nd</sup> Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (London), September 14-17, 2016.
  20. Identification of anti-hBMECs antibodies in patients with autoimmune central nervous system diseases, ポスター, Nishihara H, Sano Y, Takeshita Y, Maeda T, Koga M, Kanda T, 第 57 回神経学会総会. 神戸, 2016/5/19 国内
  21. 神経免疫学会はいかに若手を育て, 共に成長していくか～自己免疫性神経疾患患者に存在する血液脳関門破綻に関与する抗内皮抗体の検索～, シンポジウム口頭, 西原秀昭, 佐野泰照, 神田隆: 第 28 回日本神経免疫学会学術集会, 長崎, 2016/9/30 国内
  22. 多発性硬化症患者のうつ症状 –疾患修飾薬との関連についての検討–, 口頭, 大橋高志, 第 26 回日本神経免疫学会学術集会, 2014/9/5, 国内.
  23. “非典型的”MS に対する fingolimod の使用経験, 口頭, 大橋高志, 第 12 回千葉 MS フォーラム, 2014/10/9, 国内.
  24. ナタリズマブによる多発性硬化症の治療, 口頭, 大橋高志, 第 44 回日本神経放射線学会 名古屋市, 3. 7, 2015/3/7, 国内.
  25. 多発性硬化症診療アップデート ～リスク・ベネフィットを意識した薬剤選択～, 口頭, 大橋高志, 第 34 回日本神経治療学会総会. 2016/11/3, 国内.
  26. 視神経脊髄炎治療の最近の進歩, 口頭, 大橋高志, 第 51 回 日本脊髄障害医学会, 2016/11/11, 国内.
  27. ナタリズマブ PML の臨床, 口頭, 大橋高志, 第 36 回日本画像医学会, 2017/2/25, 国内.
  28. Role of proteoglycan in experimental autoimmune encephalomyelitis. Ueno R, Miyamoto K, Moriguchi K, Kadomatsu K, Igarashi M, Kusunoki S. The 3<sup>rd</sup> International Symposium on Glyco-Neuroscience. Awaji Yumebutai International Conference Center, Japan, January 14-16, 2016 国内 ポスター

29. Role of proteoglycan in the pathogenesis of EAE. Ueno R, Miyamoto K, Moriguchi K, Kadomatsu T, Kusunoki S. 第 56 回日本神経学会学術大会 (2015 年 5 月 20 日～23 日, 新潟) 国内 ポスター
30. Progression of multiple sclerosis is associated with ChGn-1 polymorphism.西郷和真, 吉村 怜, 泉川友美, 松下拓也, 磯部紀子, 小池敏靖, 宮本勝一, 平野牧人, 田原康玄, 三木哲郎, 北川 裕之, 吉良潤一, 楠 進. 第 56 回日本神経学会学術大会 (2015 年 5 月 20 日～23 日, 新潟) 国内 ポスター
31. C-C chemokine receptor4 antagonist Compound 22 ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. 森口幸太, 宮本勝一, 田中紀子, 上野莉乃, 中山隆志, 義江修, 楠 進. 第 57 回日本神経学会学術集会 (2016 年 5 月 18 日～21 日, 神戸) 国内 口演
32. Deacetylase SIRT6 regulates distribution of cytoskeleton-related proteins in cultured oligodendrocyte (ポスター) Hisahara S, Iwahara N, Suzuki S, Matsumura A, Manabe T, Fujikura M, Kawamata J, Shimohama S. 第 57 回日本神経学会学術大会 2016.5.18 国内
33. Fingolimod Suppresses Bone Resorption in Patients with Multiple Sclerosis. Miyazaki Y, Niino M, Kanazawa I, Suzuki M, Mizuno M, Hisahara S, Fukazawa T, Takahashi E, Amino I, Ochi R. 68 th Annual Meeting of the American Academy of Neurology: 2016 Apr 16-21, Vancouver, Canada. 国外
34. Rare Disease Bank in Japan: To Progress Drug Development Researches. (Poster) Hinomura A, Hirata M, Tada M, Tanaka S, Sakate R, Kohara A, Matsuyama A, The 8<sup>th</sup> Asian Network of Research Resource Centers (ANRRC) International Meeting, Sep.20-22 2016, Kyoto

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 多発性硬化症と視神経脊髄炎の最新情報 (2016 年) , 河内泉, 第 15 回新潟 MS の会 (患者会), 2016/10/9, 国内.
2. 多発性硬化症の基礎知識と治療について, 松下拓也, 福岡市難病講演会, 2016/12/7, 国内
3. 画像と病型から考える日本人 MS における DMD の使い方, 吉良潤一, 南大阪難病ケア・レジデントカンファレンス, 2016/6/25, 国内
4. 多発性硬化症生体試料バンクを活用した日本人特有の遺伝環境因子探索, 吉良潤一, 松下拓也, 新野正明, 深浦彦彰, 田中正美, 越智博文, 神田隆, 横田隆徳, 松井真, 楠進, 寺山靖夫, 河内泉, 大橋高志, 下濱俊, 西山和利, 中辻裕司, 越智一秀, 錫村明生, 山本健, 山崎亮, 河野祐治, 辻省次, 樋野村亜希子, 松山晃文, 清水優子, 永石彰子, 岡田和将, 中村優理, 篠田紘司, 迫田礼子, 林史恵, グザリアイ・ママティジャン, 林田翔太郎, 眞崎勝久, 厚生労働省難治性疾患 (神経免疫疾患) 政策および実用化研究班 平成 28 年度合同班会議, 2017/1/18, 国内
5. MS/NMO 患者における血中 miRNA プロファイルに関する検討, 横田隆徳, 八木洋輔, 西田陽一郎, 能勢裕里江, 馬嶋貴正, 三條伸夫, 厚生労働省難治性疾患 (神経免疫疾患) 政策および実用化研究班 平成 28 年度合同班会議, 2017/1/18, 国内



6. 視神経脊髄炎，多発性硬化症患者由来免疫グロブリン G が血液脳関門に及ぼす影響の解析，神田隆，清水文崇，佐野泰照，浜本優佳，前田敏彦，竹下幸男，西原秀昭，藤川晋，高橋詩織，石口絵梨，厚生労働省難治性疾患（神経免疫疾患）政策および実用化研究班 平成 28 年度合同班会議，2017/1/18，国内
7. 3D-double inversion recovery 法により明らかとなった日本多発性硬化症における質病巣の意義と HLA-DRB1\*04:05 との関連，吉良潤一，篠田紘司，松下拓也，中村優理，眞崎勝久，山崎亮，厚生労働省難治性疾患（神経免疫疾患）政策および実用化研究班 平成 28 年度合同班会議，2017/1/18，国内
8. コネキシン 30 欠損マウスにおける慢性進行期 EAE の軽症化 - 治療標的としての Cx30 の意義 - ，吉良潤一，山崎亮，方梅，李広瑞，篠田紘司，松下拓也，厚生労働省難治性疾患（神経免疫疾患）政策および実用化研究班 平成 28 年度合同班会議，2017/1/18，国内

#### （4）特許出願