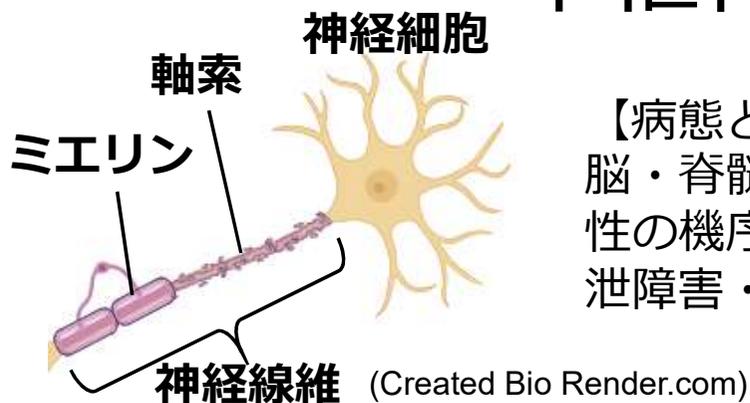


抗MOG抗体関連疾患の バイオマーカーとして用いるSLAMF6

札幌医科大学 内科学講座神経内科学分野
免疫学研究所 免疫制御医学部門
種本 真将

中枢神経の自己免疫性疾患



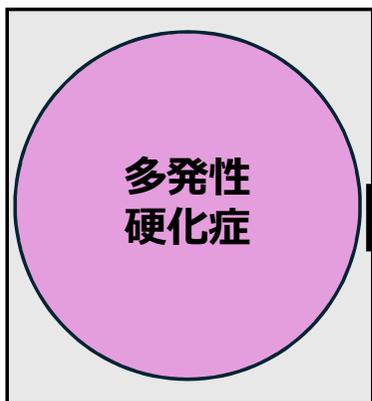
【病態と症状】

脳・脊髄・視神経の神経線維の周りにある髄鞘（ミエリン）が、自己免疫性の機序により破壊される。これにより四肢の麻痺・失明・感覚障害・排泄障害・認知機能低下といった症状を生じ、重篤な障害を来す。

【分類】

中枢神経の自己免疫性疾患は大部分が多発性硬化症（MS）と診断されてきたが、病態を説明可能な自己抗体の発見により、**抗MOG抗体関連疾患（MOGAD）**や視神経脊髄（NMOSD）という疾患概念が誕生した。この3疾患は画像所見や症状などで類似する部分もあるが、治療や疾患予後は大きく異なる。

過去の診断技術



現在の診断・分類



中枢神経の自己免疫性疾患を発症初期に正確かつ迅速に診断することが重要であり、この手法確立が求められている。

抗MOG抗体関連疾患（MOGAD）の有病率



Hor JY, et al. *Front Neurol* 2023.

対100000人比
世界平均 1.3-2.5(人)

MOGAD患者は全世界に存在し、近年増加傾向にある。

MOGADと他疾患との比較

	MOGAD	NMOSD	MS
小児の発症	しばしば	極めてまれ	まれ
性差	F = M	F > M	F > M
経過	単相性または再発	非常に良く再発する	時間的・空間的多発性, 二次進行型
視神経炎	しばしば高度に障害, 両側性	しばしば高度に障害, 両側性か片側性	軽度から中等度に障害, 基本的に片側性
脊髄炎	重症だが改善する, 長大病変が多発	重症で予後不良なことも多い, 1つの長大病変	軽度から中等度に障害, 多発性病変
脳病変	白質脳症のほか, 皮質脳炎を来すこともある	白質脳症, 最後野病変, 視床下部病変	小病変が多発, 無症候性プラークもあり
自己抗体	抗MOG抗体	抗AQP4抗体	なし
OCB	少数で陽性	少数で陽性	ほとんど陽性
IgG index	正常~軽度高値	正常~軽度高値	高値
治療	ステロイド	ステロイド, 免疫抑制薬, 抗CD19抗体, 抗C5抗体, 抗IL-6抗体	抗CD20抗体, 抗α4インテグリン抗体, S1P1受容体調整薬

3疾患のうちMOGADは以下の性質を有する.

「小児も罹患する」, 「男女差がない」, 「ステロイドが奏功する」

Banwell B, et al. *Lancet Neurol* 2023.

MOGADは早期の治療介入で良好な経過となる可能性が高い疾患である。

MOGADの診療における課題

1. MOGAD診断基準
2. 自己抗体測定方法
3. MOGADの病勢指標

1. MOGAD診断基準

IPMOGAD proposed criteria of MOGAD 2023

MOG抗体関連疾患の診断基準（下記の項目A~Cを満たす必要がある）			
A 脱髄の中核的臨床事象	1. 視神経炎		
	2. 脊髄炎		
B MOG抗体検査 陽性	血清（CBA法）	高力価陽性	追加の支持的特徴不要
		低力価陽性	・血清AQP4抗体陰性
		陽性（定性）	かつ
		陰性（髄液陽性）	・支持的臨床・画像的特徴1つ以上
C 多発性硬化症など考え得る他疾患の除外			

Aの臨床事象から**MSではない**ことを鑑別する。



MSの診断は臨床所見や経過、画像診断によるところが大きく、実臨床では経験則に基づいた判断がされている。

Thompson AJ, et al. *Lancet Neurol* 2018.
Banwell B, et al. *Lancet Neurol* 2023.

MSとMOGADを区別可能な指標が求められている。

2. 自己抗体測定方法

IPMOGAD proposed criteria of MOGAD 2023

MOG抗体関連疾患の診断基準（下記の項目A~Cを満たす必要がある）			
A 脱髄の中核的臨床事象	1. 視神経炎 2. 脊髄炎 3. 急性散在性脳脊髄炎 4. 単巢性ないし多巢性病変による脳症状 5. 脳幹ないし小脳による脳症状 6. 痙攣発作をしばしば伴う皮質性脳炎		
B MOG抗体検査 陽性	血清（CBA法）	高力価陽性 低力価陽性 陽性（定性） 陰性（髄液陽性）	追加の支持的特徴不要 ・血清AQP4抗体陰性 かつ ・支持的臨床・画像的特徴1つ以上
C 多発性硬化症など考え得る他疾患の除外			

抗MOG抗体価は培養細胞を用いて測定する(live-cell based assay, CBA)。

CBA法の課題

- ① 保険適用されていない検査。
- ② 実施可能施設が限られているため、結果に時間を要する。
- ③ 抗体価が低い場合や脳脊髄液（CSF）のみ陽性となるMOGAD症例が存在する。

Reindl M, et al. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2020.
 Kwon YN, et al. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2021.
 Banwell B, et al. *Lancet Neurol* 2023.

CBA法による抗MOG抗体の結果を補完可能な指標が必要である。

3. MOGADの病勢指標

	MOGAD
小児の発症	しばしば
性差	F = M
経過	単相性または再発
視神経炎	しばしば高度に障害, 両側性
脊髄炎	重症だが改善する, 長大病変が多発
脳病変	白質脳症のほか, 皮質脳炎を来すこともある
自己抗体	抗MOG抗体
OCB	少数で陽性
IgG index	正常~軽度高値
治療	ステロイド

①MOGAD患者の一部の症例では治療中止後も再発を経験しない事がある。一方, 治療後安定した症例であっても, 治療中止後に24.4%で再発という報告も存在する。

②高いMOG抗体価は発症時の疾患重症度と関連するが, 再発を予測する指標としては不十分である。

Reindl M, et al. *Mult Scler* 2023.
Xu Y, et al. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2024.
Kang YR, et al. *Mult Scler* 2025.

治療経過や再発など, 病勢を反映する指標が求められている。

MOGADの診療における課題と克服

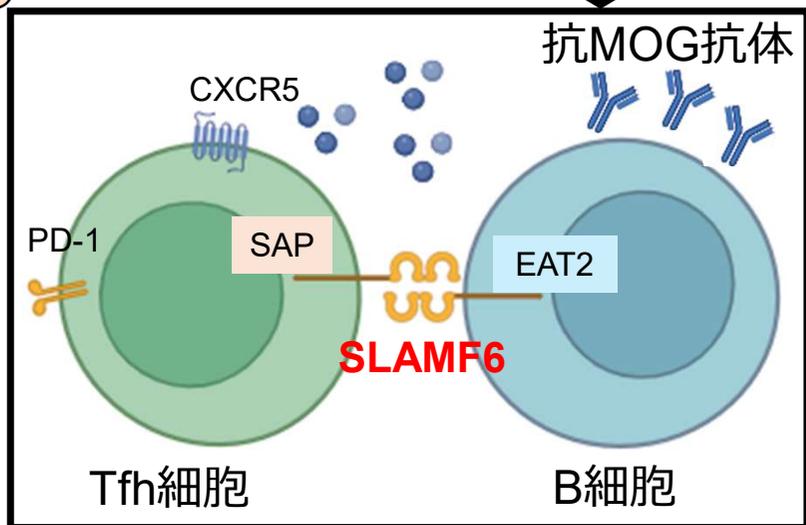
1. MOGAD診断基準
2. 自己抗体測定方法
3. MOGADの病勢指標



- ①MOGADに特異的で
 - ②抗MOG抗体価を補完し
 - ③病勢を反映する
- ①~③を満たす因子を探索

本発明の技術概要

CSF-EV プロテオームと
リンパ球データセットの統合

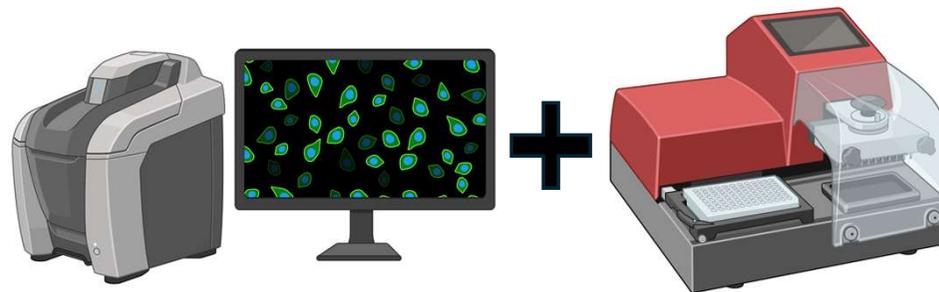


Tfh細胞-SLAMF6-B細胞連関が
MOGADの病態に重要である

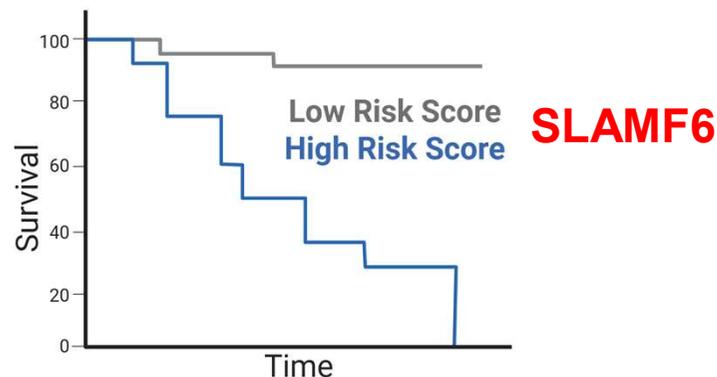
(Created Bio Render.com)

抗MOG抗体の測定

SLAMF6の測定



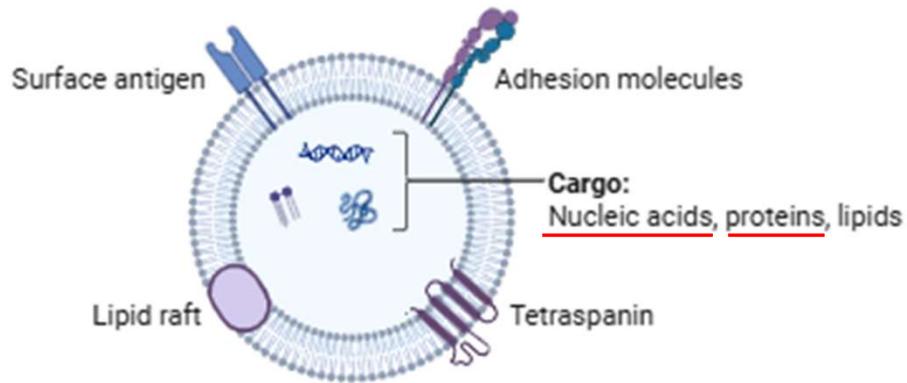
① 診断精度向上, 早期診断・治療へ



② 病勢の把握, 治療方針の個別化へ

(研究デザイン) 細胞外小胞を用いたバイオマーカーの探索

細胞外小胞(extracellular vesicle, EV)の模式図



(Created Bio Render.com)

- 細胞外小胞(EV)は30~150 nmの膜構造体であり、ドナー細胞のタンパク質, RNAなどが含まれている。
- ホスト細胞がEVを受け取ると、EV内容物が作用して遺伝子発現やシグナル伝達の亢進により、細胞の活性化や疾患の進展に寄与する。

Skotland T, et al. *Adv Drug Deliv Rev* 2020.

- 近年アルツハイマー病などの領域ではEV中のプロテオーム解析によるバイオマーカーの検討がなされている。
Muraoka S, et al. *Cells* 2020.
- 多発性硬化症などの自己免疫性神経疾患の領域では、脳脊髄液 (CSF) のプロテオーム解析も行われているが、CSF中のEV (CSF-EV) をターゲットとした研究は、血液中のEVをターゲットとしたものと比べかなり少ない。

Åkesson J, et al. *Nat Commun* 2023.

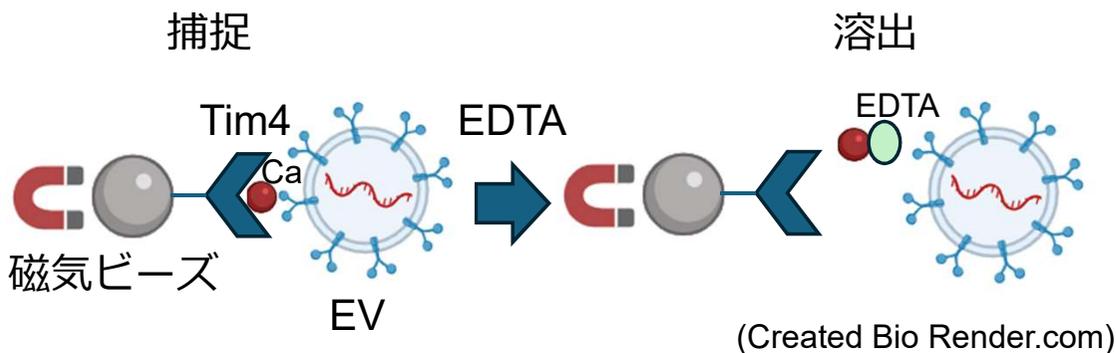
(研究方法①) 患者背景

	OND	MS	MOGAD	<i>p</i> value
症例数	10	10	9	
女性 (%)	40.0	40.0	55.6	ns
年齢 (中央値)	33.5 (23-53)	36.5 (19-48)	35.0 (30-54)	ns
発症時EDSS (中央値)	NA	2.25 (1-5.5)	1 (1-4.5)	< 0.01
最終EDSS (中央値)	NA	5.5 (1-8)	1 (0-8.5)	ns
抗MOG Ab陽性 (n)	0	0	9	
抗AQP4 Ab陽性 (n)	0	0	0	
CSF細胞数 (/μL)	1	2	49	< 0.05 (MOGAD vs OND & MS)
CSFタンパク (mg/dL)	46.1	41	52.4	ns
IgG index	0.49	0.74	0.6	< 0.05 (MS vs OND)
OCB陽性 (n)	1	9	4	ns

OND: 自己免疫性疾患以外の疾患対照群

(研究方法②) CSF-EVの精製とプロテオーム解析の実施

PSアフィニティ法によるEVの単離・精製



EV表面には外向きにホスファチジルセリン (PS) が露出しており, Tim4がCa²⁺イオン依存的にPSと結合する. このTim4を固相化した磁気ビーズを用いることで効率的にエクソソームを回収できる.

Nakai W, et al. *Sci Rep* 2016.

	DDA (Data-Dependent Acquisition) ショットガン法	DIA (Data-Independent Acquisition)
選択バイアス	高	なし
スペクトル複雑度	低~中 (1ペプチド群)	高 (複数ペプチド由来の断片イオンが混在)
定量可能タンパク質群数	2500-3600 (マウス肝臓試料)	≥10000 (同条件)
データマトリクスの完全性	約69% 完全 (欠測値多)	約93% 完全 (欠測値極少)
データの再現性	中程度	定量再現性が非常に高い
解析時間	比較的短い	長い (DIA-NNで高速化)

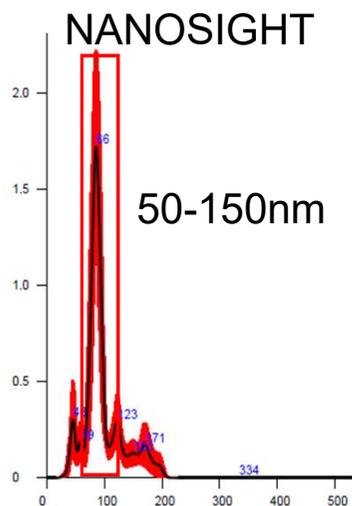
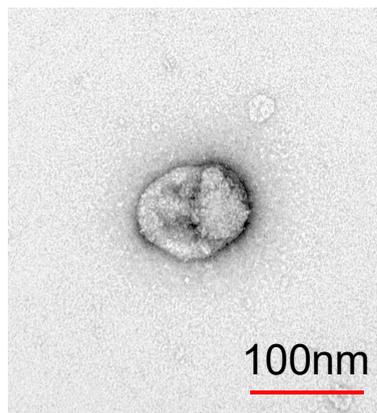
CSF 1 mLから回収したEVをトリプシンによりペプチド断片化後, 次世代質量分析器(Orbitrap fusion lumos, Thermo Scientific)でDIA法により網羅的にMS/MSスペクトルを取得し, タンパク質の同定と定量解析を実施した.

(医薬基盤・健康・栄養研究所との共同研究)

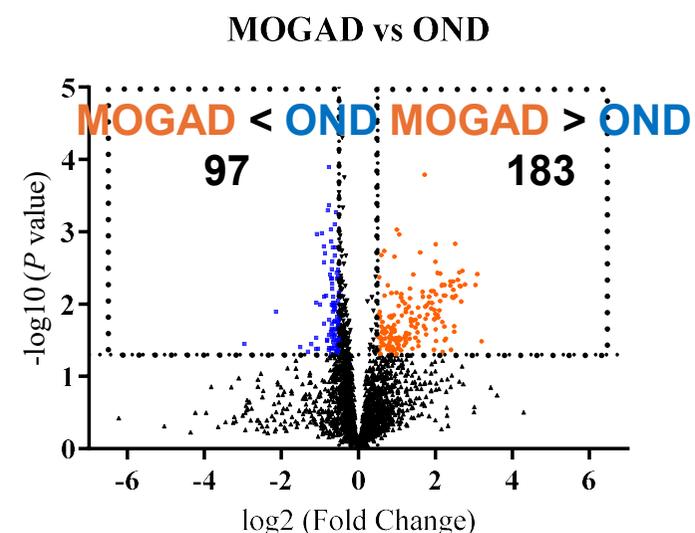
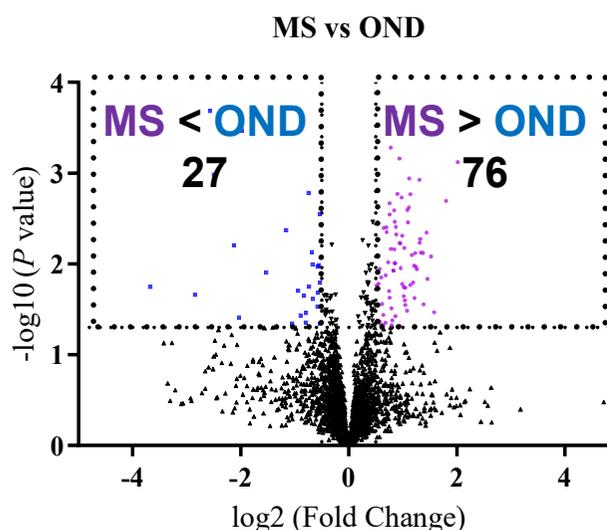
(結果①) CSF-EVから, 3000~4000のタンパク質を同定

A. CSF-EVの大きさ

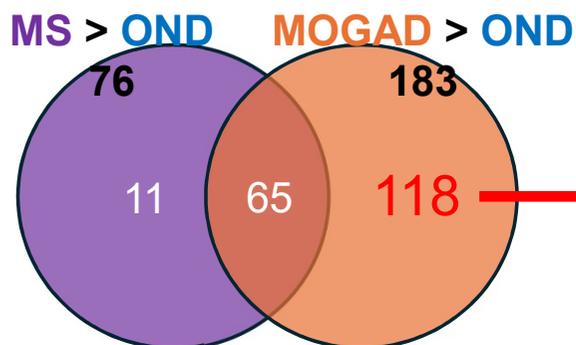
電子顕微鏡



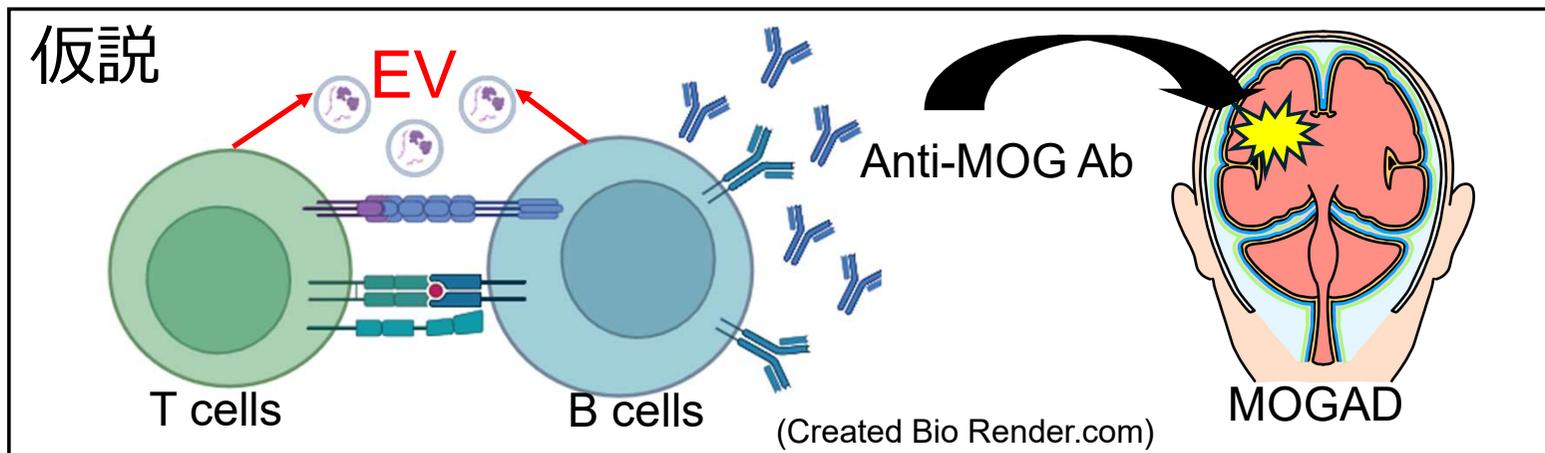
B. CSF-EVタンパク質発現の比較



C. MOGAD特異的タンパク質の探索



MOGADで有意な発現をみとめる118のCSF-EVタンパク質について検討を進めた.



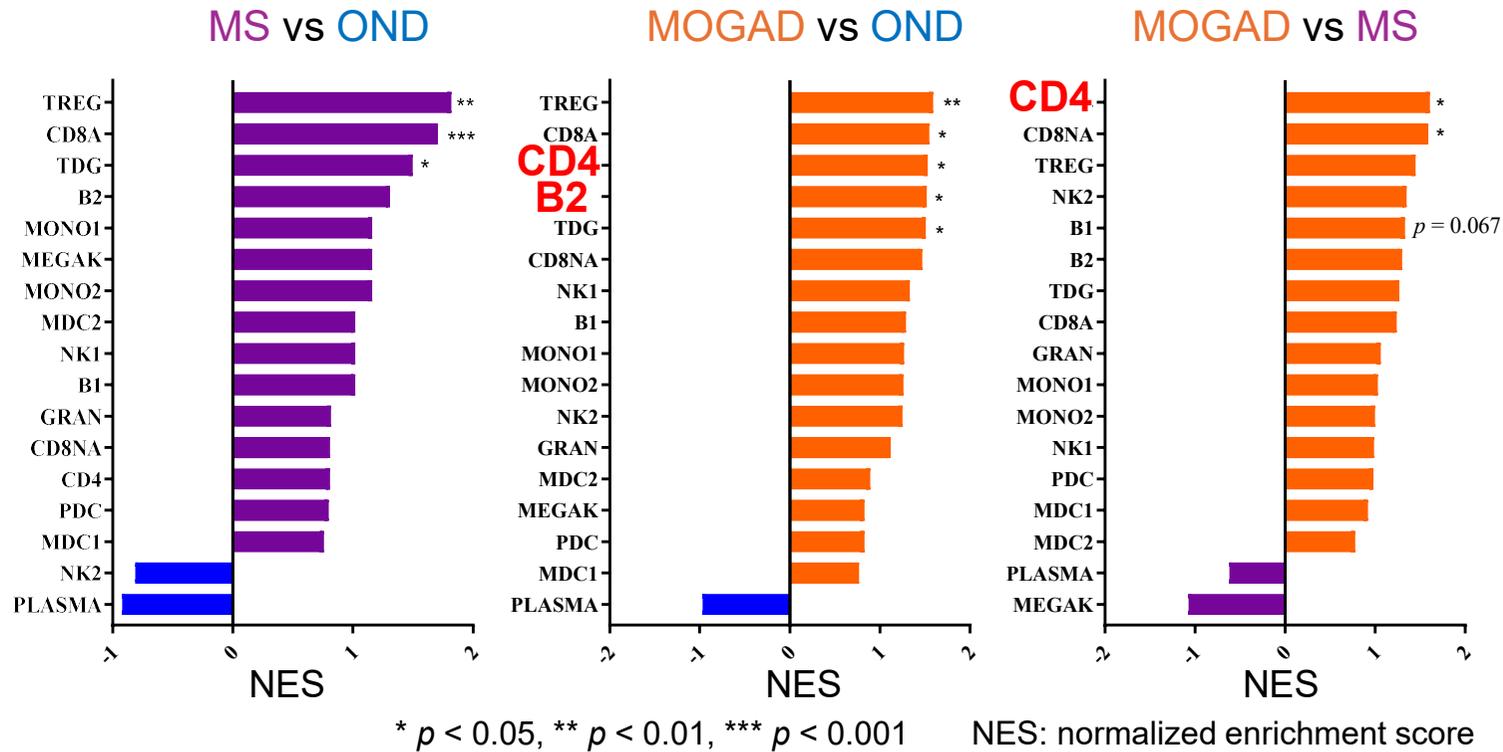
CSF-EVはどのような細胞に由来するのか



リンパ球の特徴的遺伝子発現を用いてGene Set Enrichment Analysis (GSEA)を行い、エンリッチされる集団を同定する。

(結果②A) CSF中の免疫細胞データセットを用いた解析

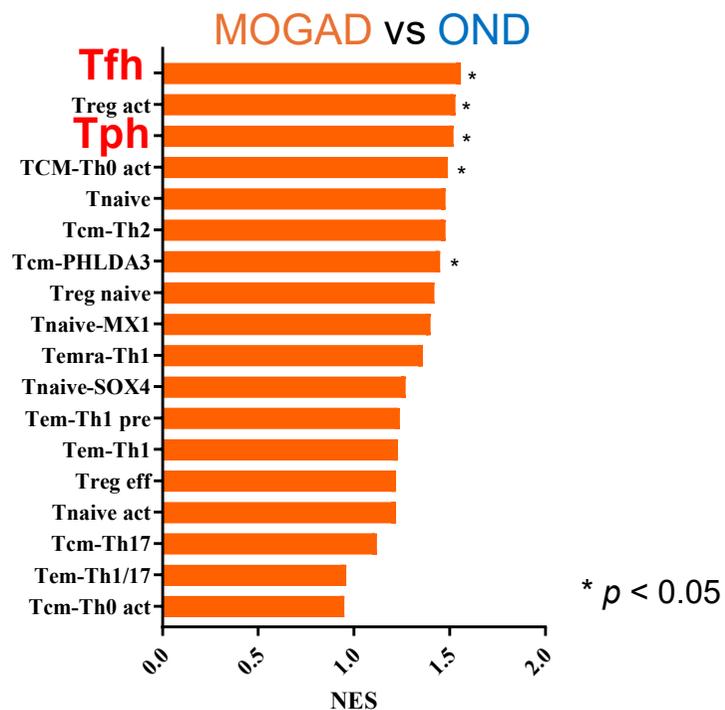
MOGAD-EVからCD4⁺ T細胞とB細胞がエンリッチされた



GSE138266を再解析し, データセットして用いた.

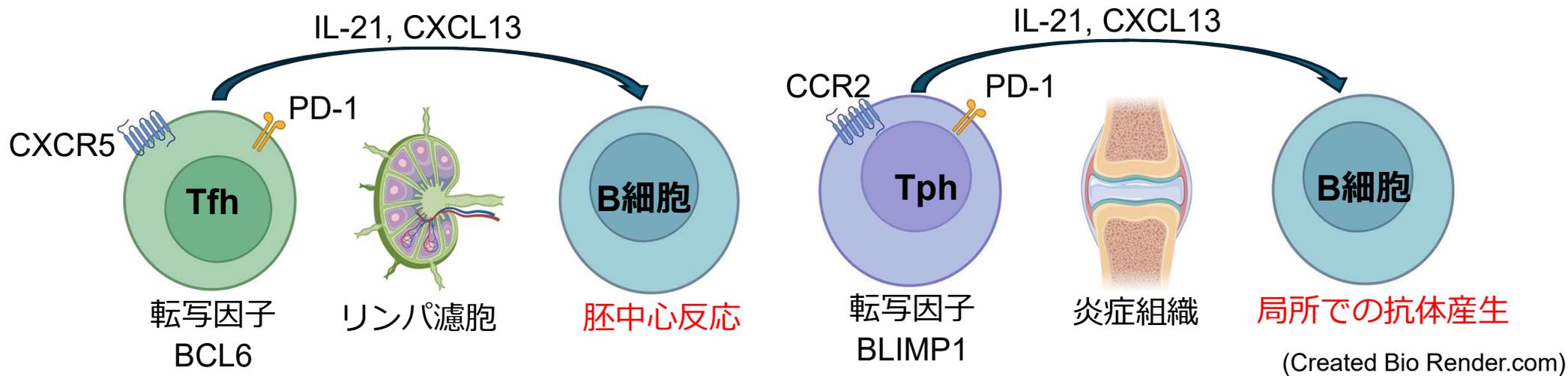
(結果②B) PBMC中のCD4+T細胞データセットを用いた解析

**MOGADではCD4+ T細胞の中で
Tfh細胞とTph細胞がエンリッチされた**



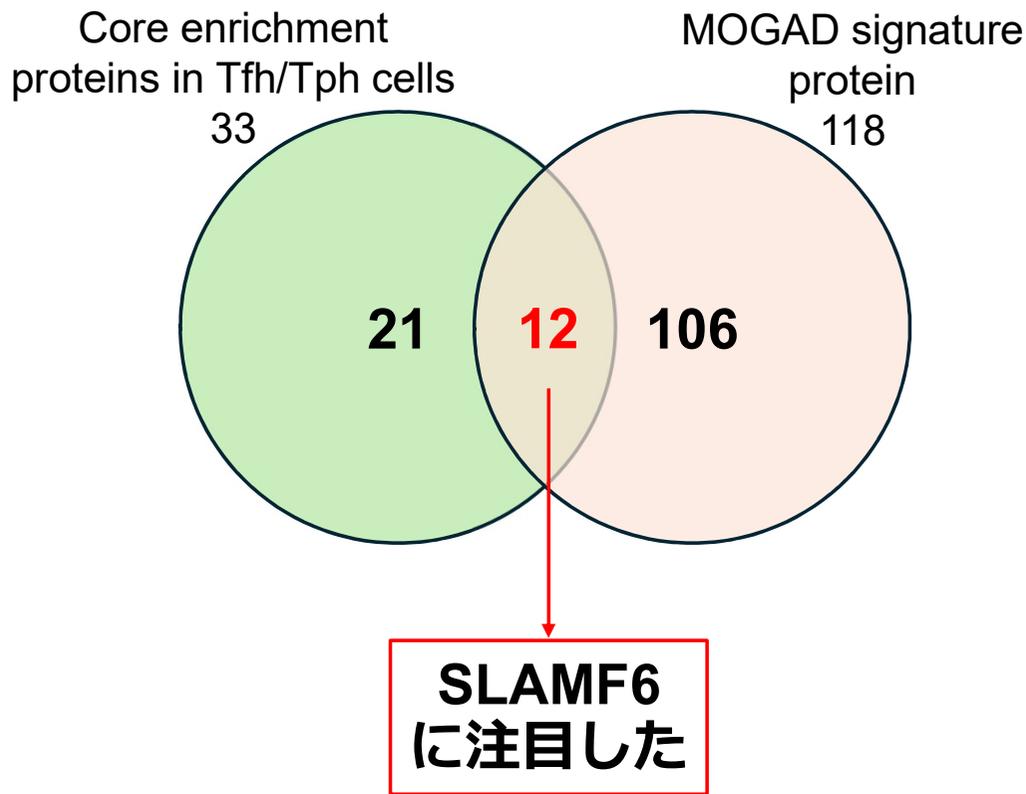
**Tfh細胞とTph細胞に着目して
更に解析を進めた.**

Tfh細胞とTph細胞

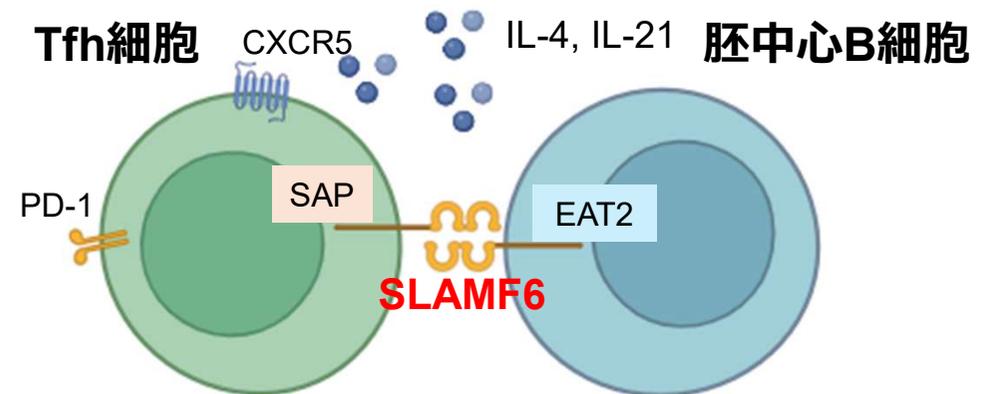


特徴	T follicular helper (Tfh)細胞	T peripheral helper (Tph)細胞
ケモカイン受容体	CXCR5 ^{hi}	CCR2 ⁺ , CCR5 ⁺ , CX3CR1 ⁺ (CXCR5 ⁻)
転写因子	Bcl6 ^{hi}	Bcl6 ^{low} , Blimp1 ^{hi}
免疫調節受容体	PD-1 ^{hi} , ICOS ^{hi}	PD-1 ^{hi} , ICOS ^{hi}
産生サイトカイン・ケモカイン	IL-21 ⁺ , CXCL13 ⁺	IL-21 ⁺ , CXCL13 ⁺
遊走先	二次リンパ器官の濾胞内	炎症組織 (関節リウマチ滑膜など)
主な機能	胚中心形成と高親和性抗体産生促進	局所B細胞リクルート・形質細胞分化誘導

(結果)①, ②の統合によるMOGAD特異的タンパク質の同定



SLAMF6の機能



(Created Bio Render.com)

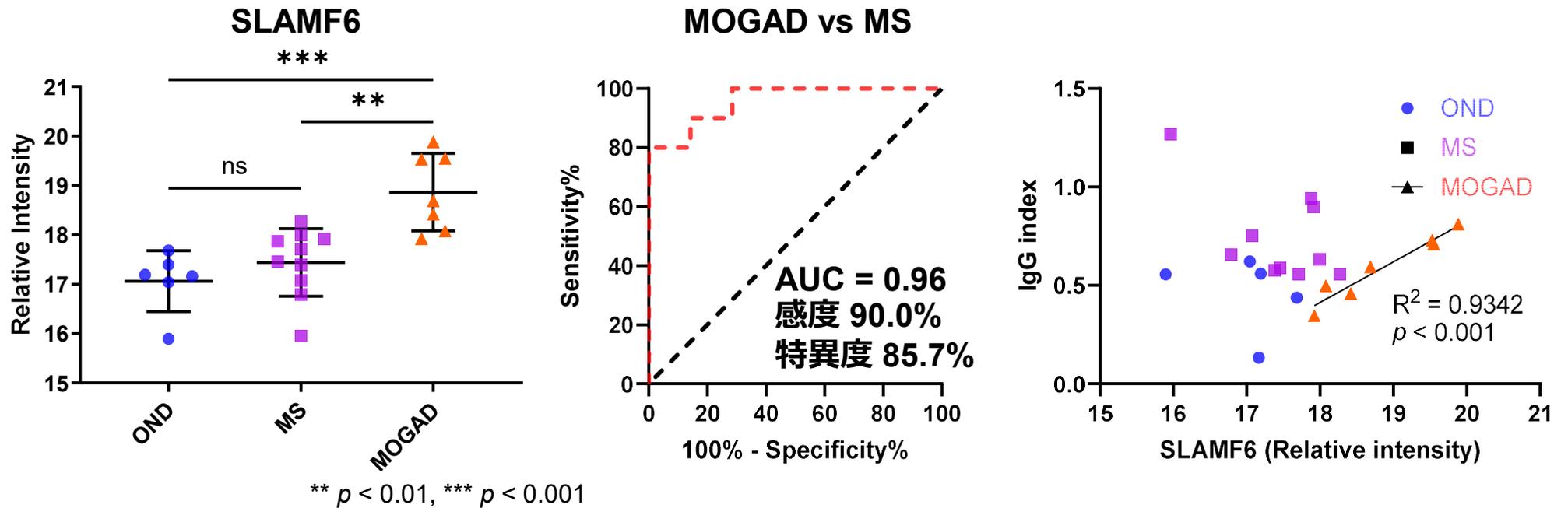
SAP 依存的に SLAMF6 を介して B 細胞と持続的に接触する。これにより免疫シナプスを増強し、T 細胞の活性化に寄与する。

SLAMF6 を介して T 細胞と結合し、これを起点としたシグナルが B 細胞の生存、増殖、クラススイッチ、親和性成熟を亢進させる。

Crotty S, et al. *Immunity* 2014.
Dong L, et al. *Immunology* 2020.
Gartshteyn Y, et al. *Front Immunol* 2021.

(結果③) SLAMF6のMOGAD診断指標としての可能性

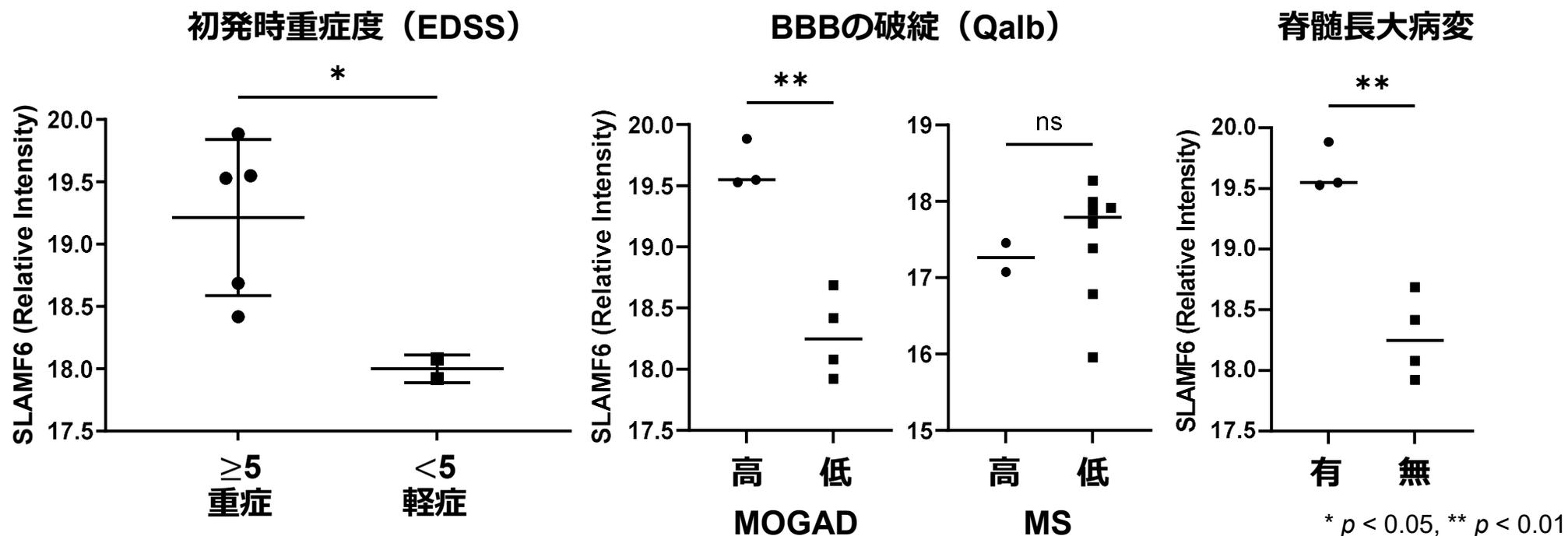
SLAMF6はMOGADとMSを判別するバイオマーカーとなる可能性がある



- ・ CSF-EV中のSLAMF6は高い感度・特異度でMOGADとMSを判別した。
- ・ MOGADにおいてのみ, SLAMF6はIgG indexと強く正に相関した。

(結果④) SLAMF6のMOGAD病態指標としての可能性

SLAMF6はMOGADにおける病勢を反映する因子の可能性が高い



- ・重症で典型的な脊髄炎を生じるMOGADではSLAMF6が高値を示した。
- ・血液脳関門 (BBB) の破綻とSLAMF6の関連が示唆された。

本研究開発の小括

- MOGAD患者とMS患者のCSF-EVのプロテオーム解析を実施し、CSF中免疫細胞プロファイルを参照したところ、MOGADでは**CD4⁺ T細胞**と**B細胞**に由来するタンパク質が多く検出された。
- CD4⁺ T細胞の中でも、特に**Tfh細胞**や**Tph細胞**に由来すると推定されるタンパク質がMOGAD患者のCSF-EVに多く検出された。
- Tfh細胞がB細胞の抗体産生を補助する際に重要である**SLAMF6**が、MOGADとMSを判別する上で有効である可能性が示唆された。
- SLAMF6は**MOGADの重症度**や**臨床病型**と関連を示した。

新技術の特徴・従来技術との比較

- 現在MOGADの診断で唯一用いられているバイオマーカーは抗MOG抗体であるが、これはCBA法で測定するため迅速な診断には不向きである。
- 一方でSLAMF6はELISA法で検出可能であり（未公開データ）、本発明のキット化によりCBA法の実施が困難な施設でもより簡便にSLAMF6の測定が可能となることが期待される。
- 実臨床で多く経験される抗MOG抗体だけではMSとの判別に迷う様な症例において、SLAMF6測定が診断精度の向上に有効な選択肢となり得る。

想定される用途

- EVの回収を要さない形でCSF中のSLAMF6を測定し、MOGADの診断マーカーとして用いる.
- CSFよりも採取しやすい血清中SLAMF6も、MOGADのバイオマーカーとして有効であるか追加検討する.
- 血清中SLAMF6が、疾患発症時の診断だけでなく再発リスクや予後予測、免疫抑制治療の漸減・中止の際に参照可能な病勢指標としての応用可能か検討する.
- 製薬企業との連携により、分子標的薬のコンパニオン診断としての活用も期待される.

実用化に向けた課題

- ELISA法を用いて血清でのSLAMF6の検出が可能であることは確認済みであるが（未公開データ）、一般的に血清中よりもタンパク質が低濃度なCSFでもSLAMF6が検出可能かを検証する。
- CSF-EVでの結果を多施設共同研究により大きな患者集団で検証する。それに加えて、SLAMF6がMOGADの病勢の指標となり得るか検討する。
- 実用化に向けて、SLAMF6を高感度で測定可能な方法を確立する。

企業への期待

- SLAMF6をELISA法やフローサイトメーターを使用したcytometric bead arrayなどの方法で測定可能な検出キットの開発のため、高感度でSLAMF6を検出可能な抗体や、再現性の高いキットの製造・供給が必要である。これらの技術を持つ企業との共同研究を希望。
- また、MOGADやMSの治療薬を開発中の企業、神経免疫分野への展開を考えている企業には、新薬のコンパニオン診断としての活用も期待される。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 診断方法及び診断キット
- 出願番号 : 特願2025-072434
- 出願人 : 北海道公立大学法人 札幌医科大学
- 発明者 : 種本 真将, 岩原 直敏, 久原 真,
池上 一平, 一宮 慎吾, 足立 淳

お問い合わせ先

札幌医科大学附属研究連携推進機構

T E L 011-611-2111 (21570)

F A X 011-611-2185

e-mail chizai@sapmed.ac.jp