

# 视神经脊髓炎相关性视神经炎实验模型的建立及应用

韩梦雨<sup>1</sup>, 王志军<sup>2</sup>, 金明<sup>2</sup>

引用: 韩梦雨, 王志军, 金明. 视神经脊髓炎相关性视神经炎实验模型的建立及应用. 国际眼科杂志 2021;21(1):53-56

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (No.81574029)

作者单位: <sup>1</sup>(100029) 中国北京市, 北京中医药大学; <sup>2</sup>(100029) 中国北京市, 中日友好医院眼科

作者简介: 韩梦雨, 在读博士研究生, 研究方向: 中西医结合防治眼底血管性及免疫炎性疾病。

通讯作者: 金明, 主任医师, 二级教授, 研究方向: 中西医结合防治眼底血管性及神经眼科性疾病. [jinmingyk@163.com](mailto:jinmingyk@163.com)

收稿日期: 2020-02-24 修回日期: 2020-11-26

## 摘要

视神经脊髓炎(NMO)为亚裔人群高发、神经眼科交叉、体液免疫主导的炎症性中枢神经系统星形胶质细胞病,因其高致病性、高复发风险和预后差而备受关注。NMO相关性视神经炎(NMO-ON)患者很难从常规治疗中获益,多遗留不同程度的视神经萎缩。NMO-ON研究的一个局限是实验模型的不足,故本文就NMO及NMO-ON实验模型的研究进展及应用作一综述,旨在探究NMO视功能损害的病理学机制及可能的治疗方法。

**关键词:** 视神经脊髓炎; 视神经炎; 动物实验; 细胞实验; 实验模型

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2021.1.10

## Advances in the establishment and application of experimental models of optic neuritis associated with neuromyelitis optica

Meng-Yu Han<sup>1</sup>, Zhi-Jun Wang<sup>2</sup>, Ming Jin<sup>2</sup>

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (No.81574029)

<sup>1</sup>Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

<sup>2</sup>Department of Ophthalmology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

**Correspondence to:** Ming Jin. Department of Ophthalmology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China. [jinmingyk@163.com](mailto:jinmingyk@163.com)

Received: 2020-02-24 Accepted: 2020-11-26

## Abstract

• Neuromyelitis optica (NMO) is an inflammatory central nervous system (CNS) astrocytic disease with high incidence, neuro-ophthalmic intercross, and humoral immune-dominated in Asian population. It has attracted much attention due to its high pathogenicity, high risk of

recurrence, and poor prognosis. It is difficult for patients with NMO-associated optic neuritis (NMO-ON) to benefit from routine treatment, and they are often left with different degrees of optic nerve atrophy. One limitation of the study of NMO-ON is the deficiency of the experimental model. Therefore, the progress and application of NMO and NMO-ON experimental model are reviewed in this paper, aiming to explore the pathological mechanism and possible treatment of NMO visual impairment.

• **KEYWORDS:** neuromyelitis optica; optic neuritis; animal experiment; cell experiment; experimental models

**Citation:** Han MY, Wang ZJ, Jin M. Advances in the establishment and application of experimental models of optic neuritis associated with neuromyelitis optica. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2021;21(1):53-56

## 0 引言

视神经脊髓炎(neuromyelitis optica, NMO)是一种神经眼科交叉、高发于亚裔人群、体液免疫主导的中枢神经系统(central nervous system, CNS)星形胶质细胞病,以视神经炎(optic neuritis, ON)和急性横贯性脊髓炎为典型临床表现<sup>[1]</sup>。与NMO相关的特发性视神经炎称为NMO相关性视神经炎(NMO-associated optic neuritis, NMO-ON), NMO-ON患者很难从常规治疗中获益,多遗留不同程度的视神经萎缩<sup>[2-3]</sup>。抗水通道蛋白4抗体(aquaporin-4 immunoglobulin G, AQP4-IgG)的发现与确认使得NMO及NMO-ON在发病机制、诊断及治疗上取得显著的进步<sup>[4]</sup>。视神经在NMO中的特殊敏感性提示有必要研究视神经特异性NMO模型的发病机制和治疗反应。然而,目前广泛应用的NMO实验模型是建立在已有的AQP4-IgG致病作用基础上,只能部分模拟NMO病变。尤其是缺乏关注NMO-ON本身病理改变和发病机制的研究。本文将论述近年来关于NMO-ON及NMO实验模型的研究进展,期望为NMO-ON发病机制的深入了解及开发新型诊断和治疗方法提供帮助。

## 1 动物实验模型

### 1.1 伴或不伴有炎症介质的AQP4-IgG诱导的动物模型

人和啮齿动物AQP4蛋白结构相似,利用人AQP4-IgG建立了基于AQP4的NMO或NMO-ON啮齿动物模型。但单一静脉输注或腹腔被动注射AQP4-IgG不足以产生NMO样病变及临床特征<sup>[5]</sup>,主要是因为AQP4-IgG无法通过完整的血-脑屏障(blood-brain barrier, BBB)进入CNS,故早期该类模型的建立多采用破坏或绕过BBB和在CNS产生抗原特异性T细胞的策略。如AQP4-IgG经完全弗氏佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)处理后,可破坏BBB,即可在部分大鼠体内产生NMO样致病作用<sup>[6]</sup>。

其它炎症介质如趋化因子(如 CXCL2)和促炎性细胞因子(如白细胞介素-6和干扰素- $\gamma$ 等)在纹状体中的立体定向注射可诱导 CNS 炎症前状态,促进 AQP4-IgG 进入注射半球并在注射部位附近诱发 NMO 样病变。该模型为研究单个细胞因子或趋化因子在 NMO 和 NMO-ON 大鼠模型中损伤起始和演变中的作用提供了机会<sup>[6-7]</sup>。Sagan 等<sup>[8]</sup>则论述了 AQP4 特异性 T 细胞诱导小鼠瘫痪及视觉系统损伤模型的详细构建过程及其意义。

此外,以实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)为基础,采用 AQP4-IgG 系统注射法构建了大鼠主动和被动 NMO/EAE 模型<sup>[7,9]</sup>,该模型原理为利用 EAE 破坏 BBB 并营造 CNS 炎症环境,随后注射 AQP4-IgG。不同点在于主动 NMO/EAE 模型将 AQP4-IgG 腹腔注射到预先用 CFA 乳化的牛髓鞘碱性蛋白免疫的大鼠<sup>[9]</sup>;被动 NMO/EAE 则将在体外抗原活化产生的反应性 T 细胞再灌注正常大鼠,接着腹腔注射 AQP4-IgG<sup>[9]</sup>。如腹腔注射纯化的人 AQP4-IgG 或杆状病毒表达法产生的高亲和力抗 AQP4 单克隆抗体(monoclonal antibodies, mAbs),可导致 EAE 模型 Lewis 大鼠视交叉、脊髓和脑干出现严重的 NMO-ON 和 NMO 样病变<sup>[10]</sup>。Jones 等<sup>[11]</sup>则利用此类 NMO 大鼠模型证明了 CXCR2 抑制剂可阻断 EAE 时中性粒细胞向脊髓的迁移,但对该模型的炎症或 AQP4 损伤没有明显的减轻作用。受限于大鼠、AQP4-IgG 需求量大、实验结果易受 EAE 本身病理变化影响和脊髓内的病变呈现离散的小斑片状等是 NMO/EAE 模型的缺陷。因此,与以往在 EAE 基础上构建的模型不同,Yiek 等<sup>[12]</sup>使用细菌预处理的小鼠腹腔注射高剂量(4mg/d, 8d, 每只小鼠 32mg/d) AQP4-IgG,也成功构造出 AQP4-IgG 诱发的补体无关的脊髓病变,包括星形细胞病变、神经炎症、脱髓鞘和轴突损伤/丢失。Lee 等<sup>[13]</sup>在小鼠 L5~L6 鞘内注射 AQP4-IgG 和补体,构建 NMO/EAE 小鼠新模型,模拟 NMO 患者临床表现与病理改变之间的关联性。

另一种 NMO 或 NMO-ON 动物模型的构造方式则是在大鼠鞘膜内或者脑内局部注射 AQP4-IgG,不需要人补体及炎症前状态且避开 BBB 的屏障作用。如 Lewis 大鼠反复鞘膜内注射人 AQP4-IgG,可建立缓解复发 NMO 病变的过程<sup>[14]</sup>。将纯化的 AQP4-IgG 慢性注入大鼠脑脊液,也可导致脊髓和视神经出现 NMO 和 NMO-ON 样病变<sup>[15]</sup>。但重复性及诱发率低、实验者操作技术要求高、AQP4-IgG 需求量更大等限制了使用大鼠构建此类模型。

**1.2 AQP4-IgG 和人补体共同诱导的动物模型** 与大鼠不同的是,AQP4-IgG 并不能激活小鼠体内本身活性较低的补体系统,且小鼠血清对经典补体系统的激活具有天然较强的抑制作用<sup>[16]</sup>,故人类补体的注入是建立此类小鼠模型的必要条件。该类实验模型使得无炎症前状态的 AQP4-IgG 介导的发病机制中补体激活的研究和临床前治疗方法的测试成为可能。在缺乏 T 细胞的裸鼠脑内注射 AQP4-IgG 和人的补体也能产生和野生型鼠相类似的 NMO 病灶,提示本模型不需要 T 细胞参与<sup>[17]</sup>。利用该类实验模型证明了中性粒细胞<sup>[18]</sup>及抗体依赖性细胞毒性<sup>[19]</sup>在 NMO 或 NMO-ON 发病过程中的关键病理作用。Zhu 等<sup>[20]</sup>利用脑内 AQP4-IgG 和人补体注射构建的小鼠 NMO 模型证明补体 C5 特异性单链抗体 C5B3 中和补体激活途径中的 C5,预防 AQP4 和星形胶质细胞的丢失,减少

脱髓鞘、炎症浸润和膜攻击复合物的形成。Zhang 等<sup>[21]</sup>利用同类方法构建的 NMO 大鼠模型证明 C16 肽联合血管生成素-1 可通过改善炎症环境来减轻 NMO 动物模型的进行性失明和瘫痪。

Matsumoto 等<sup>[22]</sup>将 AQP4-IgG 阳性患者血清直接注射到 SD 大鼠的视神经鞘内,首次建立了 NMO-ON 模型。该类模型的病变局限于 ON,排除其它病灶的干扰,为探讨 NMO-ON 的作用机制和评价其潜在的治疗作用提供了有价值的实验模型。如 CD59 敲除鼠视神经病理改变明显加重,提示补体调节因子在 NMO-ON 模型中的重要作用<sup>[16]</sup>。受此类研究方法影响,近期也有学者将 AQP4-IgG 阳性血清注入大鼠视神经蛛网膜下腔,构建一种视神经和视觉功能缺陷的 NMO-ON 模型,首次对活体 NMO-ON 动物模型的视觉功能和视神经变化进行纵向研究,创新性地用以探讨视神经结构及视功能的进行性变化<sup>[23]</sup>。

### 1.3 AQP4-IgG 阴性转基因鼠模型的建立

**1.3.1 TCR 转基因小鼠模型** 用 AQP4 胞外环免疫的致病性 AQP4 反应性 T 细胞建立小鼠 AQP4-IgG 血清阴性 NMO 模型。AQP4 特异性 T 细胞分化为 Th17 表型,转入野生型小鼠,即构建特异性 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)转基因小鼠模型,出现 NMO 样表现,如尾肢无力,病理改变包括 T 细胞浸润和在脑、脊髓和视神经的脱髓鞘。因此,即使在无 AQP4-IgG 的情况下,AQP4 反应性 T 细胞在触发小鼠 NMO 样反应中也起着关键作用<sup>[24]</sup>。

**1.3.2 MOG 特异性 BCR/TCR 转基因小鼠** 通过在 C57BL/6 基因背景下建立能在视神经内自发产生炎症的转基因小鼠,在理解 ON 的免疫发病机制方面取得了显著进展。Bettelli 等<sup>[25]</sup>首先构建少突胶质细胞糖蛋白(myelin oligodendrocyte glycoprotein - immunoglobulin G, MOG)特异性 TCR 转基因鼠和特异性 B 细胞受体(B cell receptor, BCR)转基因鼠杂交形成的双转基因的“2D2”小鼠模型,具备表达 MOG<sub>35-55</sub>的 TCR 的 T 细胞大于 98%、自发形成 ON、模拟体内 B 细胞和 T 细胞免疫应答等特点,是目前研究 NMO-ON 免疫病理及视功能改变的热点动物模型,该类模型能帮助认识出现 NMO 典型症状但 AQP4-IgG 血清阴性的 NMO 或 NMO-ON 患者致病性。该模型缺点是未发现血管周围 AQP4-IgG 和补体成分的沉积、粒细胞浸润等<sup>[24]</sup>,并且对于 2D2 小鼠视神经的优先靶向性还没有令人满意的答案。但该模型制备不受实验室及操作者技术水平影响,模型成功率较高的优势。因此,双 MOG 转基因小鼠尽管不能完全复制 NMO 病理学特征,但其有助于了解抗原特异性 B 细胞在调节自身反应性 T 细胞致病性方面的功能<sup>[25]</sup>。与 MOG 特异性 BCR 和 TCR 双转基因小鼠相似,用 AQP4 特异性 BCR 和 TCR 转基因小鼠建立 AQP4-IgG 阴性免疫鼠模型有助于阐明免疫介导的脱髓鞘发生机制。但只有 60% 的实验动物表现出 NMO 样病理特征,包括大脑、视神经和脊髓的 T 细胞浸润和脱髓鞘<sup>[24,26]</sup>。总之,在转基因小鼠模型中检测和操作视神经的炎症脱髓鞘是神经眼科免疫学研究的一个非常有价值的资源。

### 2 离体组织实验模型

用含有 NMO 患者 AQP4-IgG 的血清或纯化的 AQP4-IgG 等处理体外培养的鼠脊髓、视神经或海马切片,可构建 NMO 的离体组织或器官模型,用于 NMO 或 NMO-ON 的病理机制研究或治疗药物筛选。第一个离体 NMO 器官

模型是由 Verkman 的小组构建的<sup>[27]</sup>,在该模型中,横断脊髓切片在多孔的跨孔支架上培养数天,当切片暴露于带有补体的 AQP4-IgG 中 1~3d 时,会发生 NMO 样病变。这类模型的主要局限性在于不能提供有关该疾病全身效应的信息及不能评估 BBB 在 NMO 发病中的作用。然而,其具有 NMO 和 NMO-ON 的其他病理特征<sup>[6]</sup>,如视神经或视网膜培养物暴露于 AQP4-IgG 和补体可导致视神经和视网膜中 AQP4 和 GFAP 的表达显著减少<sup>[28-30]</sup>,这种病理过程可明显地被溶酶体酸化或内吞抑制剂阻止。因此,AQP4-IgG 被动转移诱导的视神经和视网膜病理改变是不依赖于补体的<sup>[29]</sup>。Tradtrantip 等<sup>[31]</sup>则利用 NMO 脊髓切片模型证明重组 IgG1-Fc 六聚体对 NMO 病理形成过程中的预防作用。

### 3 细胞实验模型

细胞实验模型主要用于研究基于 AQP4-IgG 介导的星形胶质细胞病变,可用于筛选维持星形胶质细胞存活、阻断 AQP4-IgG 介导的星形胶质细胞表型改变和细胞死亡的药物作用。构建方式包括从不同组织直接获取星形胶质细胞培养或用质粒转染构建能稳定表达不同 AQP4 的细胞模型。Kinoshita 等<sup>[32]</sup>首次证明,NMO 患者血清中 AQP4-IgG 通过经典的补体依赖途径诱导大鼠星形胶质细胞坏死,为模拟在 NMO 发展过程中自身抗体介导的星形胶质细胞的丢失提供了细胞模型。Sun 等<sup>[33]</sup>开发了一种稳定表达人 M23-AQP4 的中国仓鼠肺成纤维 V79 细胞的 NMO 治疗药物的高通量筛选模型,用于鉴定 AQP4-IgG 和 AQP4 结合的小分子抑制剂,并提出中药成分丹防己碱通过阻断 AQP4-IgG 与 AQP4 的结合降低 NMO 星形胶质细胞的细胞毒性。Hinson 等<sup>[34]</sup>报道 AQP4 及其连接的谷氨酸转运体-2 的内化需要 AQP4-IgG 与 AQP4 和星形胶质细胞 Fc $\gamma$  受体结合,该实验结果为开发治疗 NMO 或 NMO-ON 的新药物提供了上游靶点证据。近年来也开发出抑制补体依赖性细胞毒性 (complement-dependent cytotoxicity, CDC) 的细胞模型<sup>[31]</sup>。由于 AQP4-IgG 能识别 NMO 中 AQP4 的胞外结构域 (extracellular domains, ECDs),因此用抗 AQP4 的 mAbs 也建立了小鼠 NMO 细胞模型。杆状病毒表达法可产生两个抗 AQP4-mAbs,称为 E5415A (识别 M1 和 M23 AQP4 亚型) 和 E5415B (仅识别 M23 亚型)。E5415A 通过增强星形胶质细胞表面 AQP4 簇形成所触发的 M1 和 M23 的内吞作用诱导表达 AQP4 的星形胶质细胞降解,而 E5415B 的损伤明显减轻。这项研究表明,抗 AQP4-ECD 抗体能够交联多个 AQP4 阵列,形成一个 AQP4 大簇,导致 AQP4 内吞和溶酶体降解<sup>[35]</sup>。

### 4 结语

本文从细胞、离体组织及动物等不同层面论述了 NMO 及 NMO-ON 的实验模型的建立及应用,相关实验模型的构建已为 NMO-ON 和 NMO 相关的发病机制、开发有效治疗等方面做出重大贡献。但复杂的病理学和视觉系统的特殊性导致了难治性 NMO-ON 及其实验模型的构建。因此,在 NMO 实验模型基础上开发更特异性、能直接评价活体动物的视功能和视神经形态的 NMO-ON 实验模型需要进一步的研究。期望本文能为未来 NMO 和 NMO-ON 的发病机制、诊断及治疗等研究提供帮助。

### 参考文献

1 Huda S, Whittam D, Bhojak M, et al. Neuromyelitis optica spectrum

disorders. *Clin Med (Lond)* 2019; 19(2): 169-176

2 Drori T, Chapman J. Diagnosis and classification of neuromyelitis optica (Devic's syndrome). *Autoimmun Rev* 2014; 13(4-5): 531-533

3 Hu SJ, Lu PR. Retinal ganglion cell-inner plexiform and nerve fiber layers in neuromyelitis optica. *Int J Ophthalmol* 2018; 11(1): 89-93

4 Yang X, Ransom R, Ma JF. The role of AQP4 in neuromyelitis optica: more answers, more questions. *Neuroimmunol* 2016; 298: 63-70

5 Asavapanumas N, Verkman AS. Neuromyelitis optica pathology in rats following intraperitoneal injection of NMO-IgG and intracerebral needle injury. *Acta Neuropathol Commun* 2014; 2(4): 48

6 Li M, Yan Y. Experimental models of neuromyelitis optica: current status, challenges and future directions. *Neurosci Bull* 2015; 31(6): 735-744

7 Bradl M, Lassmann H. Experimental models of neuromyelitis optica. *Brain Pathol* 2014; 24(1): 74-82

8 Sagan SA, Cruz-Herranz A, Spencer CM, et al. Induction of Paralysis and Visual System Injury in Mice by T Cells Specific for Neuromyelitis Optica Autoantigen Aquaporin-4. *J Vis Exp* 2017; 126: 56185

9 Kinoshita M, Nakatsuji Y, Kimura T, et al. Neuromyelitis optica: Passive transfer to rats by human immunoglobulin. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 386(4): 623-627

10 Kurosawa K, Misu T, Takai Y, et al. Severely exacerbated neuromyelitis optica rat model with extensive astrogliopathy by high affinity anti-aquaporin-4 monoclonal antibody. *Acta Neuropathol Commun* 2015; 3(12): 82

11 Jones MV, Levy M. Effect of CXCR2 Inhibition on Behavioral Outcomes and Pathology in Rat Model of Neuromyelitis Optica. *J Immunol Res* 2018; 2018: 9034695

12 Yick LW, Ma OK, Ng RC, et al. Aquaporin-4 Autoantibodies From Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder Patients Induce Complement-Independent Immuno-pathologies in Mice. *Front Immunol* 2018; 9: 1438

13 Lee CL, Wang KC, Chen SJ, et al. Repetitive intrathecal injection of human NMO-IgG with complement exacerbates disease severity with NMO pathology in experimental allergic encephalomyelitis mice. *Mult Scler Relat Disord* 2019; 30: 225-230

14 Geis C, Ritter C, Ruschil C, et al. The intrinsic pathogenic role of autoantibodies to aquaporin 4 mediating spinal cord disease in a rat passive-transfer model. *Exp Neurol* 2015; 265: 8-21

15 Marignier R, Ruiz A, Cavagna S, et al. Neuromyelitis optica study model based on chronic infusion of autoantibodies in rat cerebrospinal fluid. *J Neuroinflammation* 2016; 13(1): 111

16 Asavapanumas N, Ratelade J, Papadopoulos MC, et al. Experimental mouse model of optic neuritis with inflammatory demyelination produced by passive transfer of neuromyelitis optica-immunoglobulin G. *J Neuroinflammation* 2014; 11(1): 16

17 Saadoun S, Waters P, Macdonald C, et al. T cell deficiency does not reduce lesions in mice produced by intracerebral injection of NMO-IgG and complement. *J Neuroimmunol* 2011; 235(1-2): 27-32

18 Saadoun S, Waters P, Macdonald C, et al. Neutrophil protease inhibition reduces neuromyelitis optica-immunoglobulin G-induced damage in mouse brain. *Ann Neurol* 2012; 71(3): 323-333

19 Ratelade J, Asavapanumas N, Ritchie AM, et al. Involvement of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in inflammatory demyelination in a mouse model of neuromyelitis optica. *Acta Neuropathol* 2013; 126(5): 699-709

20 Zhu W, Wang Z, Hu S, et al. Human C5-specific single-chain variable fragment ameliorates brain injury in a model of NMOSD. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2019; 6(3): e561

21 Zhang Y, Tian K, Jiang H, et al. Combination Treatment of C16 Peptide and Angiotensin II Alleviates Neuromyelitis Optica in an Experimental Model. *Mediators Inflamm* 2018; 2018: 4187347

22 Matsumoto Y, Kanamori A, Nakamura M, et al. Sera from patients

with seropositive neuromyelitis optica spectral disorders caused the degeneration of rodent optic nerve. *Exp Eye Res* 2014; 119(2):61-69

23 Zhang Y, Bao Y, Qiu W, et al. Structural and visual functional deficits in a rat model of neuromyelitis optica spectrum disorders related optic neuritis. *Exp Eye Res* 2018; 175(10): 124-132

24 Graber DJ, Levy M, Kerr D, et al. Neuromyelitis optica pathogenesis and aquaporin 4. *J Neuroinflammation* 2008; 5(1): 22

25 Bettelli E, Baeten D, Jäger A, et al. Myelin oligodendrocyte glycoprotein-specific T and B cells cooperate to induce a Devic-like disease in mice. *J Clin Invest* 2006; 116(9): 2393-2402

26 Jones MV, Huang H, Calabresi PA, et al. Pathogenic aquaporin-4 reactive T cells are sufficient to induce mouse model of neuromyelitis optica. *Acta Neuropathol Commun* 2015; 3(5): 28

27 Zhang H, Bennett JL, Verkman AS. *Ex vivo* spinal cord slice model of neuromyelitis optica reveals novel immunopathogenic mechanisms. *Ann Neurol* 2011; 70(6): 943-954

28 Levin MH, Bennett JL, Verkman AS. Optic neuritis in neuromyelitis optica. *Prog Retin Eye Res* 2013; 36(9): 159-171

29 Felix CM, Levin MH, Verkman AS. Complement-independent retinal pathology produced by intravitreal injection of neuromyelitis optica immunoglobulin G. *J Neuroinflammation* 2016; 13(1): 275

30 Wu Y, Zhong L, Geng J. Neuromyelitis optica spectrum disorder: Pathogenesis, treatment, and experimental models. *Mult Scler Relat Disord* 2019; 27: 412-418

31 Tradtrantip L, Felix CM, Spirig R, et al. Recombinant IgG1 Fc hexamers block cytotoxicity and pathological changes in experimental *in vitro* and rat models of neuromyelitis optica. *Neuropharma* 2018; 133(5): 345-353

32 Kinoshita M, Nakatsuji Y, Moriya M, et al. Astrocytic necrosis is induced by anti-aquaporin-4 antibody-positive serum. *Neuroreport* 2009; 20(5): 508-512

33 Sun M, Wang J, Zhou Y, et al. Isotetrandrone Reduces Astrocyte Cytotoxicity in Neuromyelitis Optica by Blocking the Binding of NMO-IgG to Aquaporin 4. *Neuroimmunomodulation* 2016; 23(2): 98-108

34 Hinson SR, Clift IC, Luo N, et al. Autoantibody-induced internalization of CNS AQP4 water channel and EAAT2 glutamate transporter requires astrocytic Fc receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017; 114(21): 5491-5496

35 Huang P, Takai Y, Kusano-Arai O, et al. The binding property of a monoclonal antibody against the extracellular domains of aquaporin-4 directs aquaporin-4 toward endocytosis. *Biochem Biophys Res* 2016; 7(5): 77-83