

MMP-15, TACE(TNF  $\alpha$  converting enzyme), ADAM-9 (a disintegrin and metalloproteinase domain-9)の上昇、MMP-3, MMP-7, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-19, TIMP-2 (tissue inhibitor of metalloproteinase-2)の低下を認めた。

また、IFN  $\beta$ にて刺激した HBMEC では MMP-3, MMP-9, MMP-12, MMP-13, MMP-16, MMP-19 の低下、MMP-15、 TACE の上昇を認めた。

Chemokine では CXCL1, CXCL2, IL-8, Mig, MCP-1, MCP-3, TECK, fractalkine の上昇、MIP-1  $\alpha$ , CCL11, CCL13, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21 の低下を認めた。Chemokine receptor の解析では CCR1, CCR2, CCR4, CXCR4 の発現低下を認めた。

## 考察

MMPs は血管内皮下の基底膜や細胞外基質を破壊するエンドペプチダーゼであり、MS 及び EAE の中枢病変の炎症細胞の近傍に発現が認められ、病変の発現に関与していると考えられている。臨床的には MS 患者の血中 MMP-9 量は健常者よりも高値で MRI 上の造影病変と相関する報告、MS 患者髄液中の MMPs 濃度と病勢とが関連する報告、また、MS 増悪期の末梢血リンパ球の MMP-9 mRNA の発現亢進などの報告がある。免疫組織化学的には MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-9 が脱髄斑周囲にみられることが報告されている。一方、EAE では臨床症状のピークに一致して MMP-7 及び MMP-9 の転写産物が増加することが確認されている。

さらに In vitro BBB モデルを用いた解析では、IL-2 刺激により MMP-2, MMP-9 を介した T 細胞の transmigration が認められ、この migration は MMP 阻害薬によりブロックされることが報告されている。MMP 阻害薬による作用は MMPs への直接のブロックや TACE を介したものだけでなく TNF  $\alpha$  及び FasL を介した作用も想定されている。

今回の検討では IFN  $\beta$ によって BBB の内皮細胞側でも MMP-9 をはじめとする MMPs の減少、TACE の上昇がみられており、内皮細胞のレベルで MMPs の発現抑制が認められた。IFN  $\beta$ は MS の炎症細胞の transmigration に MMPs の発現低下を介して抑制性に働くことが示唆された。

## 演題名：自己免疫疾患早期診断アレイに関する研究

分担研究者：国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部 三宅幸子

A. 研究目的:これまで多発性硬化症患者のタイプ I インターフェロンに対するレスポンドの予測に有効なマイクロアレイの研究を行う過程で、末梢血のリンパ球は多発性硬化症では健常人と比較して異なる遺伝子発現パターンをとることがわかってきた。そこで、これらの変化が他の自己免疫疾患でもみられるかどうかを検討し、診断に役立つカスタムアレイの開発を目的とした。

B. 方法:対象として、早期診断が治療に重要な、早期関節リウマチ(RA)を選択した。RA に対しては、近年続々と新規治療薬が開発・発売され、早期から積極的に抗リウマチ薬を使用することによって軟骨・骨破壊が予防するという治療法が推称される様になった。現在、早期 RA の診断に関しては、熟練したリウマチ専門医の臨床診断が最も信頼性が高く、リウマチ因子や炎症反応等の比較的非特異的な検査を補助的に用いているのが現状である。そこで、リウマチを専門としない一般医師が専門医に紹介するかどうかの判断材料として使用するのに適当な診断試薬が発達すると、より効率的に早期診断が可能になると考えられる。初診時に RA が強く疑われ、初診時から 6 ヶ月後に RA の診断が確定した患者さんの初診時の末梢血リンパ球の遺伝子プロファイルを、変形性関節症と診断された症例、健常人と比較し、発現に優位に差がある遺伝子を抽出する。これらの解析で、発現に優位に差がある遺伝子のみを測定できるチップを作製し、実際に早期 RA の診断に役立つかどうかの検討を開始する。RNA は全血から抽出し、Affimetrix 社の Human Genome U133Plus2 を用いて解析する。さらに、RA と診断された症例については、6 ヶ月後の検体についてもマイクロアレイでの解析を施行し、初診時との比較を行う。

C. 結果・結論:健常例 6 例、初診時に強く RA が疑われる症例 8 例について、検体を収集し、現在マイクロアレイによる検討を開始している。

## 多発性硬化症患者における TRAIL および TRAIL レセプター遺伝子多型の検討

分担研究者 菊地誠志<sup>1)</sup>

共同研究者 ○宮岸隆司<sup>2)</sup>、宮崎雄生<sup>1)</sup>、深沢俊行<sup>3)</sup>

1) 北海道大学神経内科 2) 西円山病院神経内科 3) 北祐会神経内科病院

### 目的

TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) /APO2L は TNF ファミリーに属する II 型細胞表面蛋白質であり、TRAIL レセプターを発現する細胞にアポトーシスを誘導するリガンド分子である。TRAIL は腫瘍に対して選択的に細胞死を誘導する分子として注目をあびているが、最近、多発性硬化症(MS)患者においてインターフェロン $\beta$ の治療効果の予測マーカーとして報告された。TRAIL 遺伝子は第3染色体長腕に位置し、MS においては TRAIL プロモーター遺伝子の遺伝子多型が検討されているが疾患感受性との関連は認められていない。TRAIL-R1(DR4)は第8染色体短腕に位置し遺伝子多型と肺癌などとの関連が指摘されている。今回我々は MS 患者において TRAIL および TRAIL-R1(DR4)の遺伝子多型について PCR-RFLP 解析を行い疾患感受性、臨床像との関連を検討した。

### 対象と方法

対象は1年以上経過観察している臨床的に診断確実な通常型MS 122 例および健常者 158 名。MS 患者は男性 42 名、女性 80 名、発症年齢  $26.4 \pm 9.2$  歳、再発寛解型 85 例、二次進行型 37 例、EDSS  $3.3 \pm 2.8$ 、progression index  $0.46 \pm 0.76$  である。MS 患者と対照群にて男女比、年齢などの差は認めない

TRAIL 遺伝子多型は、プロモーター領域-665T/CsSNP、-597A/GsSNP、exon1 の A/GcSNP、exon3 の T/CcSNP、および exon5 (3'非翻訳領域) の 1525A/GsSNP、1595C/TsSNP について、TRAIL-R1(DR4)は exon3 の 422G/AcSNP、exon4 の 626T/CcSNP について検討した (図1)。

### 結果

TRAIL 1595C/TsSNP の genotype frequency, allele frequency は通常型 MS 患者群では CC genotype の出現頻度が高く有意差を認めた (図2)。発症年齢、経過、重症度に関しては有意差は認められなかった。ロジスティック解析でも通常型MS と CC genotype との有意な相関を認め、これは DRB1\*1501 と交絡されない独立した有意性であることが示された(図3)。さらに IFN $\beta$  治療の反応性と遺伝子多型について検討した。IFN $\beta$  治療反応症例 (responder) 17 例、IFN $\beta$  治療非反応症例 (non-responder) 16 例で 1595C/T 多型を検討したが両群間にて有意差は認めなかった。1525A/GsSNP は通常型 MS 患者と対照群にて有意差は認めなかった。プロモーター領域の-665C/TsSNP、-597A/GsSNP、および exon1 の A/GcSNP、exon3 の T/CcSNP は MS および対照群にて多型は認められなかった。

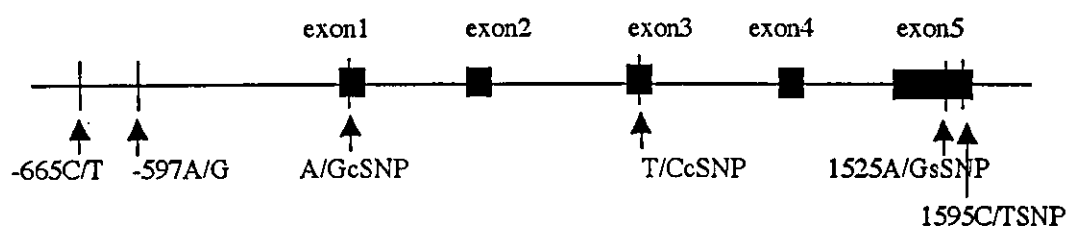
TRAIL-R1(DR4) 422G/AcSNP は MS 群で GG97.5%、GA2.5%。対照群では GG96.1%、GA3.9%。  
626T/CcSNP は MS 群では CC95.6%、CG4.4%。対照群では CC95.7%、CG4.3%であり、い  
ずれも有意差は認めなかった。

#### 考察

多発性硬化症患者における TRAIL およびに TRAIL-R1(DR4)の遺伝子多型について検討した。TRAIL 遺伝子第 5 exon 上の 3'非翻訳領域 1595CC 多型は多発性硬化症患者にて有意に高かった。EAE では TRAIL によるシグナルを阻害することにより重症化することが示されており TRAIL は自己反応性 T 細胞の活性化を抑制する可能性が指摘されている。最近、MS 患者では IFN $\beta$  responder では治療早期に TRAIL の上昇がみられることが示され MS の疾患感受性や治療反応性に関して重要な因子と考えられる。1595CC 多型が MS 発症のリスク因子であることが示されたが、その機序は明らかでない。また IFN-responder と non-responder にて多型を比較したが症例数も少なく有意な結果には至っていない。日本人では欧米人と比較して genotype として CT を有する割合が高く、日本における有病率が低いことと関連している可能性も考えられる。

図 1

TRAIL chromosome 3q26



TRAIL receptor1(DR4) chromosome 8p 21-22

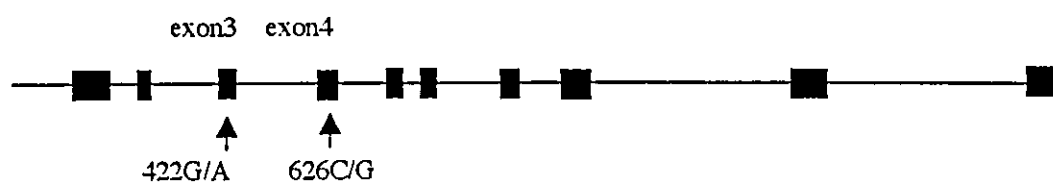


图 2 TRAIL 1595C/T 遗传子多型

	MS(n=128)	Control(n=158)
Genotype frequency		
CC	66(51.6%) <sup>a</sup>	51(32.3%) <sup>a</sup>
CT	45(35.2%) <sup>a</sup>	85(53.8%) <sup>a</sup>
TT	17(13.3%) <sup>a</sup>	22(13.9%) <sup>a</sup>
Allele frequency		
C	177(69.1%) <sup>b</sup>	187(59.2%) <sup>b</sup>
T	79(30.9%) <sup>b</sup>	129(40.8%) <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $p=0.0027$     <sup>b</sup> $p=0.0138$ ,

ORs (odds ratio) =1.546

95% CI (confidence interval) = 1.092 -2.188

图 3 Odds ratio and 95%CI from multiple logistic analysis

	pvalues	OR	95%CI
1595CC (+ vs -)	0.0006	2.39	1.45-3.943
DRB1*1501 (+ vs -)	0.0025	2.435	1.363-4.331

## インターフェロン使用による多発性硬化症髄液組成、 アミノ酸変化の検討続報

分担研究者 : 横山和正  
所 属 : 順天堂大学医学部脳神経内科

### 目的

前年度まではインターフェロンの効果発現と脳内アミノ酸代謝の関連性を判定するためにインターフェロン使用前後における髄液アミノ酸組成について検討し他の炎症性疾患との比較を行った。今回はさらに症例を増やし多発性硬化症の病型による違い、インターフェロン中止後の変化についても検討した。

### 方法

多発性硬化症寛解増悪型患者の寛解期、再発時、インターフェロン使用後再発時の患者さらにはインターフェロンによる副作用で投与中止となった患者の再発時の髄液を採取した。髄液は直ちに遠心分離を 1500 回転/分、5 分間行い-80 度で保存した。一方、慢性進行性患者からも同様に髄液 IgG index を計算し、アミノ酸組成の変化、NO 代謝に関しては HPLC を利用して測定しコンピューター解析を行った。

### 結果

インターフェロン使用により IgG index の低値化、一部のアミノ酸組成の変化を認めた。慢性進行性患者における IgG index の高値化が明らかであった。副作用によるインターフェロンの中止後の再発患者髄液 IgG index は一様ではなかった。アミノ酸組成、NO 代謝産物に関し相関は明らかではなかった。

### 結論

多発性硬化症患者における IgG index は高値を示すことが多く疾患、病態との関係、インターフェロンの効果の指標となりうると考えられた。アミノ酸、NO代謝は患者の治療状況による統計的処理では有意な変化を来さなかったが、一部の患者で変化が目立つ例がありアミノ酸代謝と病態の変化を経時的に追跡するためさらなる症例の蓄積が必要である。

## 多発性硬化症の血清及び髄液中の神経髄鞘成分に対する抗体の検討

分担研究者： 楠 進、 研究協力者： ○宮本 勝一

所属施設： 近畿大学医学部神経内科

### 目的

多発性硬化症 (MS) の病態は、主に自己抗原特異的 T 細胞による中枢神経髄鞘の傷害と考えられている。その標的抗原については不明の点が多いが、Myelin basic protein (MBP) や proteolipid protein (PLP) などの中枢神経髄鞘蛋白がその候補として挙げられている。一方、これらの蛋白に対する血液中、あるいは髄液中の抗体価の上昇する症例も報告されている。抗体価と病態との関係については従来から検討されているが、明確な結論には達していない。また、これらは欧米からの報告がほとんどである。MS の臨床像や疫学については、人種間で大きな差があることが知られており、欧米人と日本人では特徴は異なる。本研究では、日本人の MS 症例において、神経髄鞘に対する抗体を検討し、抗体の種類や抗体価と病型との相関を検証して、病態解明および診断に役立てることを目的とする。

### 方法

近畿大学医学部神経内科にて、2003 年以降に MS と診断された患者 30 名を対象とした。検体は血清および髄液を用いた。検体採取は症状のピーク時、つまり発症直後、あるいは再燃時に行った。抗体は MBP 83-99、PLP 183-199、myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) 35-55 の各ペプチドを抗原とし、ELISA 法を用いて IgG、および IgM 抗体価を測定した。異常値の判定は、正常コントロールの OD 値の mean+3SD 以上を陽性とした。

### 結果

2 症例で血清抗体価が陽性であった。1 例は MBP、PLP、MOG の全抗体で IgG 陽性。他症例は全抗体で IgM 陽性であった。髄液ではすべての症例で陰性であった。

### 結論

抗体陽性 2 症例のうちの 1 例は、脊髄病変の再発寛解を繰り返す 43 歳女性であった。他方は外転神経麻痺で発症した 23 歳女性であった。現時点では、症例数が少なく病型と抗体価についての相関関係を述べることは困難である。今後測定法をさらに検討し、症例数を積み重ねて解析する予定である。

## インターフェロンβ-1b療法の外来導入に関する検討

分担研究者： 太田 宏平<sup>1)</sup>

研究協力者： ○大橋 高志<sup>2)</sup>、清水 優子<sup>2)</sup>、大原 久仁子<sup>2)</sup>、竹内 千仙<sup>2)</sup>、  
岩田 誠<sup>2)</sup>

1) 東京理科大学 理学部

2) 東京女子医科大学 神経内科

目的：インターフェロン (IFN) β-1b は、とりわけ初期に感冒様症状などの副作用が多いため、導入時には2週間程度の入院が望ましいとされている。しかし、多発性硬化症 (MS) は若年から壮年期に好発する疾患であり、2週間の入院期間を捻出するのが困難なことが多い。そのため、IFN β-1b を安全に外来で導入するためのシステム作りが重要である。

対象および方法：IFN β-1b の外来導入のための医療者用プロトコール、患者用クリニカルパス (CP) を作成し、IFN β-1b 外来導入のためのシステムを構築した。IFN β-1b は 1/4 量 (200 万単位) から 2 週間毎に漸増した。リスクの低い MS 患者を対象とし、現在までに 3 例に IFN β-1b の外来導入を行って、その安全性や患者満足度を評価した。

結果：5 回に渡る看護師の入念な指導より、自己注射手技は確立でき、不安なく施注できるようになった。1~2 週毎の外来受診で、臨床検査上の異常所見の有無や、注射部位反応の変化は早期に確認できた。急な症状にも電話、E メールなどで対応できるようにすることで、患者の不安を軽減できた。いずれの症例も感冒様症状は軽く、注射部位反応も発赤程度の軽微なものに留まった。日常生活を続けながら IFN β-1b を導入することができ、患者の QOL を高めることができた。

考察：IFN β-1b は 1/4 量より漸増することで導入初期にみられる副作用の発現を抑えることができるため、外来導入が可能である。安全に外来導入を行うためには、医師、看護師間の連携を深めることが重要である。そのために医療者用プロトコール、患者用 CP を作成し、活用したことはたいへん有用であった。また、患者毎に担当の看護師を決めて、継続的に指導・ケアを行うこと、緊急時の連絡先を明確にして急な症状にも対応できる体制をとることなども、患者の不安を軽減するには必要であると思われた。現在、病棟との連携を深め、外来への引き継ぎをスムーズにするために、IFN β-1b の入院導入用のプロトコール、CP を作成し、検討を行っている。



## 多発性硬化症インターフェロン・ベータ療法ドロップアウト例の検討

分担研究者 川井 充 (国立病院機構東埼玉病院 神経内科)  
研究協力者 ○小川 雅文 (国立精神・神経センター武蔵病院 神経内科)  
山村 隆 (国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第六部)

「はじめに」 多発性硬化症 (MS) に対するインターフェロン・ベータ (IFN -  $\beta$ ) 療法は、再発抑制の有効性が証明されているが、治療効果がないノンレスポnderや副作用の問題点がある。今回は、IFN -  $\beta$  を導入したもののその後、副作用で治療を中止されたドロップアウト例について検討した。

「患者と方法」 当院で IFN -  $\beta$  療法を導入しその後 6 ヶ月以上経過観察しえた MS 患者 41 例。男性 15 例、女性 26 例、導入時年齢  $41.1 \pm 10.6$  歳。拳児希望等、副作用が原因でない中止例は除外した。後ろ向きに病歴調査をおこなった。

「結果」 41 例中 6 例が副作用のため IFN -  $\beta$  療法を中止されていた。内訳は、導入後の再発部位の変化 2 例、導入直後の比較的軽度の再発 1 例、痙性の増悪 1 例、網膜静脈閉塞症 1 例、肝機能障害 1 例。精神症状の増悪のために中止された例はなかった。再発部位の変化をみた例は、1 例は発症 29 歳、導入時 36 歳女性。脊髄のみに頻回に再発していた再発寛解型。導入 1 ヶ月、2 ヶ月、3 ヶ月後と連続してこれまでなかった視神経病変で再発。その後 IFN -  $\beta$  中止、再発はその後しばらくなかったが 1.5 年度に視神経病変で再発。もう 1 例は発症 16 歳、導入時 19 歳女性。視神経+脊髄病変で初発。その後脊髄病変再発を繰り返す再発寛解型。MRI では頭部にも小プラークは認めていたが症状なし。導入 2 ヶ月後に大脳半球に非常に大きな病変で再発。すぐ IFN -  $\beta$  は中止した。中止後は脊髄病変のみで再発している。導入後の軽度の再発をみた例は初発 41 歳、導入時 47 歳女性再発寛解型。視神経、脊髄、大脳ともに病変あり。導入 2 ヶ月後にこれまでと同様の脊髄病変で再発したが軽度で回復も悪かった。偶発的である可能性も大きい IFN -  $\beta$  中止。痙性が増悪した例は、初発 31 歳、導入時 39 歳男性。視神経病変で発症。大脳病変もあるが脊髄病変の再発が主体の再発寛解型。導入後、再発ではないが特に投与翌日毎に下肢の痙性が一過性に増悪し 13 ヶ月後に中止。発熱は認めずそのための増悪とは考えにくい。さらに IFN -  $\beta$  療法継続症例中の発症 40 歳、導入時 51 歳の男性 1 例では導入までは、脊髄病変主体の 2 次進行型の経過をとっていたが、導入後は脊髄病変の再発寛解型の臨床経過に変化した。

「考察」 少数例の検討ではあるが通常の副作用以外に IFN -  $\beta$  導入により MS の再発部位や病型が変化したと考えられる例が存在した。原因は不明であるが IFN -  $\beta$  中止により改善する例があり因果関係があると考えられる。症例の蓄積によりどのような症例でこのような再発部位・病型の変化の可能性が高いかを予測することが重要である。

「結論」 IFN -  $\beta$  により少数例ではあるが再発部位や病型が変化する MS が存在しうる。

## 平成 16 年度 厚労省難治性疾患克服研究事業

### 「難治性疾患の画期的診断・治療法に関する研究」

演題：アジアにおける多発性硬化症（以下MS）の特徴と疾患分類・診断の問題点—新たな診断基準（McDonald 2001）における「除外基準」の妥当性を中心に—

所属・氏名：菊地誠志、宮崎雄生、佐々木秀直（北海道大学神経内科）、宮岸隆司（西円山病院）、○深澤俊行（北祐会神経内科病院）

**【背景】**近年、国際委員会の議論を経て多発性硬化症（multiple sclerosis; MS）に対する新しい McDonald の診断基準（2001 年）が提唱されたが当該委員会にアジアの神経学者は含まれていない。本邦を含めたアジアにおける MS の臨床像が欧米のそれと異なることは従来から指摘されており、新たな診断基準を「国際的」な基準として臨床応用するためには少なくともアジア諸国での検証が必須である。特に、McDonald の診断基準で明記された除外基準は、これまでアジアのMSに特徴的とされた所見をむしろ反映しており、したがって多くのMS症例が除外される可能性が高い。**【目的】**臨床的に確実と診断された本邦MS自験例において、McDonald の診断基準（2001 年）で明記された「脊髄 MRI 病変 $\geq 3$  椎体」「髄液細胞数 $\geq 50$ 」という除外診断のいずれかを有する症例の割合とそれら症例のその他の臨床的特徴の有無を検討する。その結果をもとに国際的基準としての McDonald 診断基準の妥当性および疾患分類自体の問題点を検証する。さらに、髄液 oligoclonal IgG bands (OCB) の診断的有用性についても再検証する。**【方法】**臨床的な再発・寛解、他覚的な多発性病変が確認され、MS 以外の疾患が除外できた症例のうち、急性期において髄液検査および脊髄 MRI 検査がともに施行された 158 例の日本人MS患者を対象とした。再発性の視神経炎のみ、再発性の脊髄炎のみ、あるいは再発性の脳幹病変のみの患者は除外した。鑑別診断のため、必要な場合には血管造影あるいは脳生検が適宜施行された。脊髄病変の拡がりは再発に関連した T2 強調画像所見にて評価した。髄液 OCB はすべて等電点電気泳動法を用いて検討した。**【結果】**158 例中 32 例 (20.3%) において再発に関連した 3 椎体以上にわたる脊髄病変を認め、11 例 (7.0%) が  $50/\text{mm}^3$  以上の髄液細胞増多を示した。

結局 33 症例 (20.9%) が「脊髄 MRI 病変 $\geq$ 3 椎体」あるいは「髄液細胞数 $\geq$ 50」のいずれかの除外基準を有していた。それら 33 例のうち 21 例は視神経脊髄型 MS (OSMS) と分類され、残りの 12 例の病変分布は視神経と脊髄に限定されず nonOSMS と分類された (症例供覧)。いっぽう、McDonald 診断基準を満たし、かつ、上記の除外基準を有さない 125 例の臨床特徴を再検討したところ、10 例 (8.0%) が大脳、小脳あるいは脳幹に MRI 上で非典型的に大きな拡がりを有する病変を呈していた (症例供覧)。昨年度の本会議で我々が提唱した optico-spinal fulminant MS (OS-FIMS)、nonOS-FIMS、nonFIMS の分類に当てはめると、今回の検討で除外基準を満たした OSMS21 例は OS-FIMS に、nonOSMS で除外基準を満たした 12 例および大脳、小脳あるいは脳幹に MRI 上で非典型的に大きな拡がりを示す病変を呈していた 10 例の計 22 例は nonOS-FIMS に、それ以外の 115 例は nonFIMS に適合・分類され、nonFIMS に分類された症例の臨床像は欧米での classical MS と相同であった。OS-FIMS と nonOS-FIMS における OCB の陽性率はそれぞれ 11.1%、15.0%と極めて低値であり、また、臨床像は欧米でいう classical MS とまったく相同と考えられる nonFIMS における OCB 陽性率も 64.9%と欧米の報告に比してかなり低率であった。【考察】脊髄に大きな拡がりを有する症例は MS と診断することができず、大脳、小脳あるいは脳幹にそのような所見を有する場合には MS と診断されることは非論理的であり、しかも、これらの特徴を有する症例が本邦を初めとしたアジア諸国に比較的多い。nonFIMS の臨床像は欧米でいう classical MS とまったく相同と考えられるが OCB 陽性率も 64.9%と欧米の報告に比して低い。これに関連して我々は以前、通常型 MS には HLA-DR15 に相関して OCB 陽性の群と DR4 に相関して OCB 陰性の群の少なくとも 2 群があることを報告したが、最近、スウェーデンから全く同様の報告がなされた。臨床像は同じであっても OCB が陰性である通常型/古典型の MS が本邦を含めたアジアに多いことが確認されたわけであり、言い換えれば、MS 診断における OCB 検査の有用性は国際的には必ずしも高くない。臨床的多様性と人種差との関連を考慮した診断基準の改訂が必要である。【結論】McDonald の診断基準 (2001) の適応はアジアの MS には問題がある。アジアにおける髄液 OCB 検査の有用性は通常型においても欧米に比して著しく低い。特発性炎症性脱髄性疾患という広い視野からの疾患概念理解が診断ひいては病体解明・治療戦略には重要である。

#### IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍名、 書籍全体の 編集者名	巻・頁・ 出版社・出版年 出版地
佐藤 進一、 山村 隆	サイトカインの生理活性-神経系. Overview.	別冊・医学のあ ゆみ. サイトカイン -state of arts. (編集 宮坂信之、 宮島 篤)	pp 119-122 医歯薬出版 2004 東京
宮本 勝一、 山村 隆	サイトカインの病態への関与. 多発性硬化症.	別冊・医学のあ ゆみ. サイトカイン -state of arts. (編集 宮坂信之、 宮島 篤)	pp 245-247 医歯薬出版 2004 東京

### 雑誌

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・頁・出版 年
Satoh, J-i., M. Nakanishi, F. Koike, S. Miyake, T. Yamamoto, M. Kawai, S. Kukuchi, K. Nomura, K. Yokoyama, K. Ota, T. Kanda, T. Fukazawa and T. Yamamura	Microarray analysis identifies an abberant expression of apoptosis and DNA damage-regulatory genes in multiple sclerosis	<i>Neurobiol. Dis.</i>	(印刷中) 2004
Satoh, J-i., M. Nakanishi, F. Koike, H. Onoue, T. Yamamoto, M. Kawai, S. Kukuchi, K. Nomura, K. Yokoyama, T. Ohashi, K. Ota, T. Saito, M. Ohta, S. Miyake, T. Kanda, T. Fukazawa and T. Yamamura	T cell gene expression profiling identifies distinct subgroups of multiple sclerosis.	<i>Annals Of Neurology</i>	(投稿中)

Satoh, J-i., T. Yamamura, and K. Arima	The 14-3-3 protein $\epsilon$ isoform, expressed in reactive astrocytes in demyelinating lesions of multiple sclerosis, binds to vimentin and glial fibrillary acidic protein in cultured human astrocytes	<i>Am.J.Pathol</i>	165:577-592, 2004
Takahashi, K., T. Aranami, M. Endoh, S. Miyake, and T. Yamamura	The regulatory role of natural killer cells in multiple sclerosis.	<i>Brain</i>	127:1917-1927, 2004
Yakushiji, Y., J. Satoh, M. Yukitake, K. Yamamuchi, I. Nakamura, I. Nishino, and Y. Kuroda	Interferon $\beta$ -responsive inclusion body myositis in a hepatitis C virus carrier.	<i>Neurology</i>	63:587-588, 2004
Satoh J, Nakanishi M, Yamamura T:	Dysregulation of apoptosis-regulatory genes in multiple sclerosis.	Immunology 2004	1: 501-504, 2004
Satoh, J-i., H. Onoue, K. Arima, and T. Yamamura	Nogo-A and Nogo receptor expression in demyelinating lesions of multiple sclerosis	<i>J. Neuropathol. Exp. Neurol.</i>	64(2) : 1-10, 2005
Fukazawa T, Kikuchi S, Niino M, Yabe I, Miyagishi R, Fukaura H, Hamada T, Tashiro K, Sasaki H.	Attack-related severity: a key factor in understanding the spectrum of idiopathic inflammatory demyelinating disorders.	<i>J Neurol Sci</i>	225; 71-78, 2004
Fukazawa T, Kikuchi S, Miyagishi R, Niino M, Yabe I, Hamada T, Sasaki H.	CTLA-4 gene polymorphism is not associated with conventional multiple sclerosis in Japanese.	<i>J Neuroimmunol</i>	159:225-229, 2005
Fukazawa T, Kikuchi S, Miyagishi R, Miyazaki Y, Fukaura H, Yabe I, Hamada T, Tashiro, K, Sasaki H.	CSF pleocytosis and expansion of spinal lesions in Japanese MS: A special reference to the new diagnostic criteria.	<i>J Neurol</i>	(in press)

Fukazawa T, Kikuchi S, Miyagishi R, Miyazaki Y, Yabe I, Hamada T, Sasaki H.	HLA-DPB1*0501 is not uniquely associated with opticospinal multiple sclerosis in Japanese patients. Important role of DPB1*0301.	<i>Multiple Sclerosis</i>	(in press)
Kanda, T., Y. Numata, and H. Mizusawa	Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: decreased claudin-5 and relocated ZO-1.	<i>J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry</i>	75:765-769, 2004
Kanda, T., T. Ariga, H. Kubodera, H.L. Jin, K. Owada, T. Kasama, M. Yamawaki, and H. Mizusawa:	Glycosphingolipid composition of primary cultured human brain microvascular endothelial cells	<i>J. Neurosci. Res</i>	78:141-150, 2004
荒木 学, 三宅幸子, 山村 隆	多発性硬化症における NKT 細胞減少は長期ステロイド治療により補正される。	Neuroimmunology	12:175-179, 2004
山村 隆	NKT 細胞のリガンドと Th1/Th2 バランス。	臨床免疫	41(1): 14-17, 2004
宮本勝一, 山村 隆	多発性硬化症の新しい治療薬の開発。	Clinical Neuroscience	22:847-850, 2004
山村 隆	多発性硬化症の DNA マイクロアレイ解析。	Current Insights in Neurological Science.	Vol.12, No.3, pp10-11, 2004
佐藤進一	特集 II: 疾患モデルにおける最新の知見「自己免疫性脳脊髄炎」	Neuroimmunology	12(2):151-161, 2004
山本敏之、尾方克久、片岸美帆、清水 宏、小川雅文、山村 隆、川井 充	日本語版 Multiple Sclerosis Quality of Life-54 の信頼性の検討。	臨床神経学	44 (7): 417-421, 2004
山本敏之、藤原由貴、横田真知子、中村治雅、清水宏、片岸 美帆、尾方克久、竹嶋光代、山村 隆、川井 充	多発性硬化症の interferon- $\beta$ 1b 治療導入におけるクリティカルパスの検討。	神経治療	21(2):175-182, 2004

石橋哲、 神田 隆	多発性硬化症の鑑別診断.	モダン フィジシャ ン	24 : 1856-1859, 2004
野村恭一	多発性硬化症とアフゼレシス.	日本アフゼレシス学 会雑誌	23 (3): 227-233, 2004
太田宏平	多発性硬化症の免疫学・免疫遺伝学	Modern Physician	24:1824-1828, 2004
中村智美、太田宏 平、丹羽直樹、竹 内 恵、内山真一 郎、岩田 誠	眼球挫傷をともなう頭部外傷後に大 脳白質散在性病変が出現した1例	臨床神経学	44(2):108-110, 2004
西郷和真、 楠 進	IgG, oligoclonal band, myelin basic protein.	内科	93 : 1465 2004
高田 和男、 楠 進	急性散在性脳脊髄炎.	Clinical Neuroscience	22:824-825 2004



## V. 研究成果の刊行物・別刷


**Key point**

- ◎脳の炎症の場で活性化ミクログリア・アストロサイトは多彩な炎症性・抗炎症性サイトカインを産生する。
- ◎サイトカインは相互にネットワークを形成して Th1/Th2 バランス、炎症の増悪・寛解、脱髄・軸索傷害・神経再生を巧妙に制御している。

**脳は免疫学的特権部位ではない**

サイトカインは細胞が外界からの刺激に反応して産生・分泌する生理活性分子で、インターロイキン (interleukins : IL), インターフェロン (interferons : IFN), ケモカイン (chemokines), 栄養因子 (growth factors) などの総称である。長い間、中枢神経系はリンパ装置を欠くため、免疫学的特権部位 (immunoprivileged site) と考えられてきた。しかし、近年、グリア細胞・神経細胞が炎症・外傷・虚血に迅速に反応し種々のサイトカインを産生することがわかった<sup>1)</sup>。また、外界からの刺激は末梢神経系・自律神経系を介して脳に入力され、視床下部・下垂体・副腎系 (hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis) を介して免疫系を制御することが解明され、脳は免疫応答回路の主要な部位に位置していることが明らかになった。さらに、最近、脳における免疫応答は Alzheimer 病・Parkinson 病での神経変性機序にも関与することが示唆されている<sup>2)</sup>。

本稿では多発性硬化症 (multiple sclerosis : MS) の発症機序の考察を通して脳におけるサイトカインの役割を概説する。MS 病態におけるサイトカインの役割の詳細は本書中、宮本・山村の「多発性硬化症」の項を参照のこと。

MS は視神経・大脳・脊髄など中枢神経系白質に炎症性脱髄巣が多発し、さまざまな神経症状が再発と寛解を繰り返して進行する難病である。急性期病巣では T 細胞・マクロファージ (macrophages : MPH) の浸潤を認める。回復期には髄鞘再生もみられるが、炎症が遷延化すると軸索傷害をきたし不可逆的な後遺症を残す。実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis : EAE) (サイドメモ) との臨床病理学的類似点から MS では未知の脳炎惹起性抗原に分子相同性を示すウイルスなどの外来抗原を認識する自己反応性 CD4<sup>+</sup> 1 型ヘルパー T (Th1) 細胞が血液脳関門 (blood-brain barrier : BBB) を通過して中枢神経系組織内に浸潤すると考えられている<sup>3)</sup>。Th1 細胞はミクログリア (microglia : MCG) ・アストロサイト (astrocytes : AST) により抗原提示を受けて再活性化され、Th1 サイトカイン (IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\beta$ ) やケモカインを大量に産生する。IFN- $\gamma$  により活性化された MPH, MCG は、TNF- $\alpha$ , nitric oxide (NO) を産生し、髄鞘形成細胞オリゴデンドロサイト (oligodendrocytes : OLG) の細胞死を誘導する。一方、2 型ヘルパー T (Th2) 細胞は、Th2 サイトカイン (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) を産生して Th1 細胞の機能を抑制する。また、活性化 Th1 細胞は自ら activation-induced cell death に陥り炎症は終息へと向かう。MS 急性増悪期は Th1/Th2 バランスが Th1 優勢に偏倚している (Th1 shift)。Th2 サイトカインを産生して自己反応性 T 細胞を制御する調節性細胞には Th2 細胞のほかに、CD4<sup>+</sup>

CD25<sup>+</sup> T細胞, Th3細胞, Tr1細胞, natural killer (NK)細胞, NKT細胞が存在する。CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, Th3, Tr1は, IL-1, TGF- $\beta$ を, NKはIL-5を, NKTはIL-4を産生してTh1の機能を抑制する。また, 活性化MCG, ASTは, 多彩な炎症性・抗炎症性サイトカイン, 神経傷害因子・栄養因子を産生する。これらはネットワークを形成して炎症増悪・回復を制御する(図1)<sup>4)</sup>。

### MCG, ASTによるTh1/Th2バランスの調節

一般にCD4<sup>+</sup> T細胞への抗原提示には抗原提示細胞におけるclass II MHC抗原・副刺激分子の発現が必須であるが, 正常脳ではclass II MHC抗原の発現はほとんどみられない。培養系ではIFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ 刺激によりMCG, AST上にclass II MHC抗原とICAM-1の発現が誘導される。このうち外来抗原を細胞内に取り込みプロセッシングできるのはMCGだけである。MCGはペプチド抗原をTh1細胞とTh2細胞に提示可能であるが, ASTがペプチド抗原を提示可能なのはTh2細胞のみで, Th1細胞に対してはその増殖を抑制する<sup>5)</sup>。さらに, Th1細胞の分化・活性化にはT細胞上のCD40LとMCG上のCD40の結合およびMCGからのIL-12産生が必須である。ASTは, IL-12産生を欠き, PGE2を産生してMCGによるIL-12産生を抑制し, TGF- $\beta$ 1, IL-10を産生してMCGのclass II MHC抗原とICAM-1の発現を抑制する<sup>5)</sup>。以上よりMCGは, Th1細胞を活性化して炎症増悪化に働き, 一方, ASTはTh2細胞を活性化してTh1 shiftを是正し, さらにMCGの機能を抑制して炎症寛解へと導くという図式が成立する。

### OLG分化制御因子・傷害因子・神経栄養因子としてのサイトカイン

MS脱髄巣で髄鞘再生を担うのはOLG分化能を有する前駆細胞(OLG progenitor cells; OPC)である。OPCは成体脳グリアの5~8%を占め, PDGF, bFGFに反応して増殖する。TGF- $\beta$ 1は脱髄巣反応性AST上にNotch ligand Jagged 1の発現を誘導し, これがOPC上のNotch 1と結合すると転写因子Hes5の発現を誘導してOLG分化を抑制する<sup>6)</sup>。また, 炎症性病巣のTNF- $\alpha$ , NO, reactive oxygen species (ROS), プロテアーゼはOLG傷害因子・軸索傷害因子として働く。TNF- $\alpha$ トランスジェニックマウス脳では脱髄とグリオーシスを認める。脱髄巣の残存OLGはFasを高発現しており, これがMCG, AST, リンパ球上のFasLと結合するとOLGの細胞死が加速される。さらに, FasLは活性化T細胞のFasと結合するとT細胞のアポトーシスを誘導する。また, 反応性ASTが産生するCNTF, LIFはTNF- $\alpha$ によるOLGのアポトーシスを抑制する。CNTF欠損マウスではEAEが重症化する<sup>7)</sup>。MPH, MCG, ASTは炎症性サイトカインに反応して誘導型NO合成酵素(inducible NO synthase; iNOS)

#### サイド メモ

#### 実験的自己免疫性脳脊髄炎

(experimental autoimmune encephalomyelitis : EAE)

感受性を示す系統のマウス, ラット, モルモット, ウサギ, サルを中枢神経系髄鞘蛋白質抗原で感作することにより発症を惹起できる脳脊髄炎である。経過は急性一過性または慢性再発寛解型を示し, 病理学的に著明な脱髄を認める系統もあり, MSの動物モデルとして解析されている。EAEを惹起する抗原としてはmyelin basic protein (MBP), proteolipid protein (PLP), myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG), S100beta, butyrophilinが知られている。EAEはそれぞれの抗原の脳炎惹起性ペプチド部分(encephalitogenic epitopeともよぶ, たとえばS100betaマウスではMBP89-101, PLP139-151, B6マウスではMOG35-55)に特異的に反応するCD4<sup>+</sup> Th1細胞を介して誘導される。再発時には異なるエピトープを認識するT細胞も誘導される(epitope spreading)。脱髄機序には抗体や補体の関与も示唆されている。

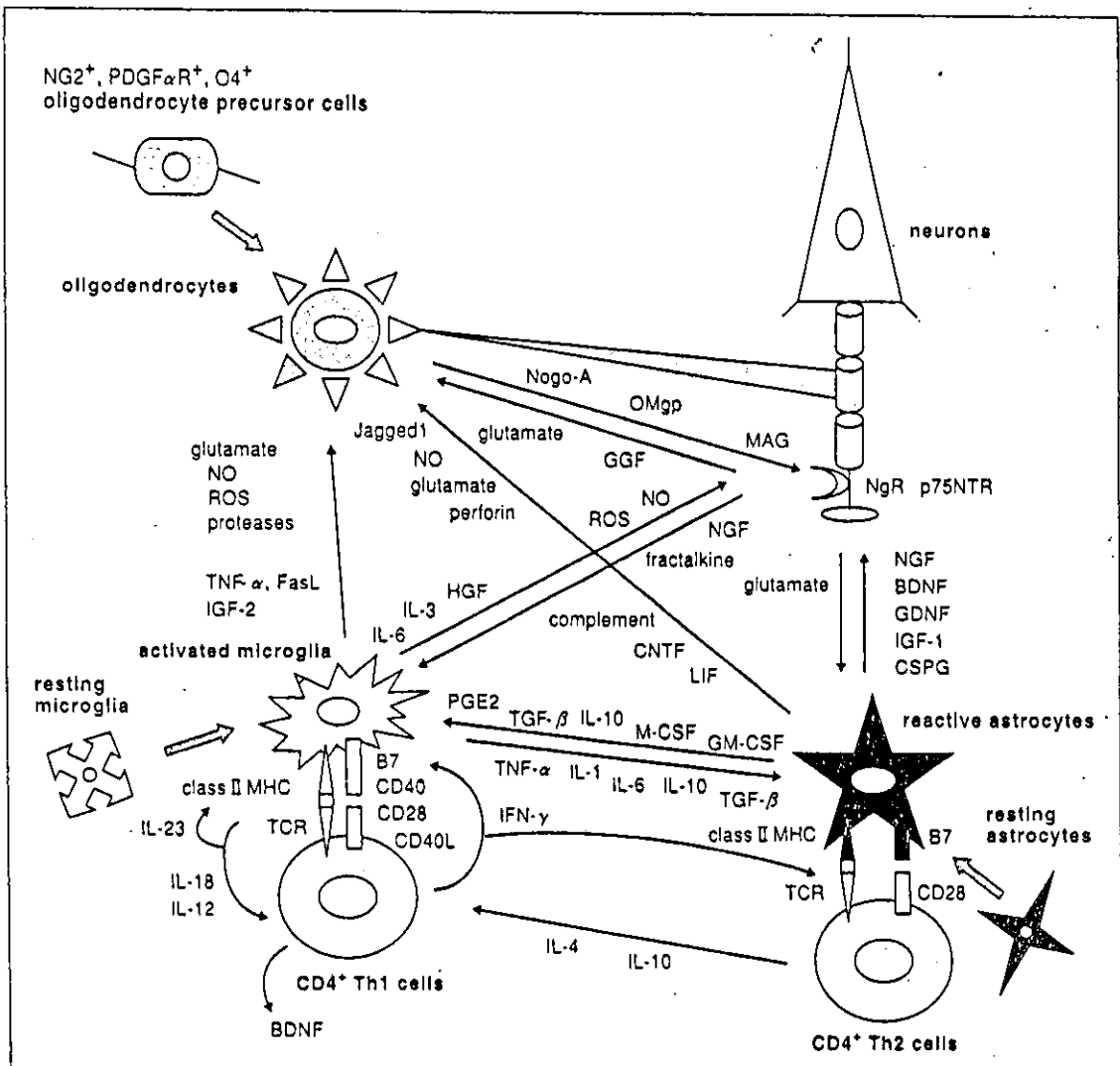


図1 脳の炎症におけるサイトカインネットワーク (文献より改変)

活性化ミクログリアと反応性アストロサイトは、TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6などの炎症性サイトカイン、IL-10、TGF- $\beta$ などの抗炎症性サイトカイン、神経傷害因子と神経栄養因子を産生して、Th1/Th2バランス、炎症増悪・寛解、脱髄・軸索障害・神経再生を制御している。

OMgp : oligodendrocyte-myelin glycoprotein, MAG : myelin-associated glycoprotein, NgR : Nogo receptor, p75NTR : p75 neurotrophin receptor. 他の省略形は本文参照。

を高発現し NO 産生を増強する。NO はスーパーオキシド (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) と反応し活性窒素 peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>) を生成してミトコンドリア電子伝達系障害を引き起こし、OLG 細胞死や軸索傷害を増強する。

さらに、炎症巣のリンパ球や MPH はグルタミン酸を放出する。通常グルタミン酸はトランスポーター EAAT1 (GLAST), EAAT2 (GLT-1) を介して AST に取り込まれるが、酸化ストレス下では細胞外へ逆行輸送され、グルタミン酸受容体を発現する神経細胞や OLG に対して細胞毒性を呈する<sup>8)</sup>。傷害神経細胞は、fractalkine を放出し MPH, MCG の遊走を促進する。また、陳旧性脱髄巣の AST は、TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6、IFN- $\gamma$  に反応して増殖・肥大化しグリア瘢痕を形成する。瘢痕は chondroitin sulphate proteoglycan (CSPG) に富み、軸索伸長に対して障壁となる。一方、反応性 AST は、NGF、BDNF、GDNF、IGF-I を産生して神経細胞の生存や髄鞘再生を促進する。MS 病巣の浸潤リンパ球は BDNF を産生し、gp145trkB を発現する神経細胞の生存を促進する<sup>9)</sup>。また、視神経損傷部位に移植した活性化 MPH は神経再生を促進する。さらに、ミエリン塩基性蛋白質特異的 T 細胞は傷害神経細胞の電氣的活動を抑制して細胞死から防御する。