

態に関与していることが示唆される。その他、進行型にはシュワン細胞移植や神経幹細胞移植などの可能性も研究されている。

現在、抗 CD25 抗体や抗 CD40L 抗体などのさまざまな免疫応答を調節する生物製剤の開発がさかんに行われているが、これまで試されて、治療薬まで達しなかったものについても、治験の過程を通して多くの情報を得た。T細胞の中樞神経への浸潤を抑制する抗 VLA-4 抗体は、その有効性から新薬として最も期待されていた。しかし、IFN β との併用で、致命的な副作用である進行性多巣性白質脳症を発症した症例が出たため、現在一時使用中止になっている。しかしその効果の高さは MS の病態におけるリンパ球の重要性を再確認させるものであった。脳炎惹起性 T細胞の抗原となるペプチドの一部を変えた変異ペプチド (Altered peptide ligand: APL) は EAE を抑制することから、ヒト MBP の 83-99 残基を変えた APL が MS 患者に投与され、抗原特異的治療として注目された。Th2 偏倚を誘導できた症例もあったが、一部の患者で MBP 特異的 T細胞の著しい増殖を認めて再発を誘導してしまった。またペプチド投与によりアレルギー反応が見られる例があった。これらのことから、髄鞘抗原特異的 Th1 細胞の病態への関与を確認するとともに、ペプチド治療の困難性を示す結果となった。クローン病や関節リウマチでその有効性が高く評価されている抗 TNF 療法は、初めに MS で試されたが、むしろ悪化し中止された。リウマチやクローン病は、Th1 優位の臓器特異的自己免疫疾患として病態の類似性が指摘されてきたが、抗 TNF 療法の失敗は中枢神経の組織特異性をあらためて示す事例となった。

おわりに

免疫学の進歩により、病態解明と新規治療法の開発は盛んであるが、診断・治療両面において、いまだ決定的なツールはなくさらなる研究が必要である。また、MS は自己免疫疾患としての病態、治療研究が重要であることは疑いないが、オリゴデンドロサイトの再生を促す研究など、進行型の治療法開発に向けても今後さらなる発展が期待される。

文 献

- 1) Sospedra M, et al: Immunology of multiple sclerosis. *Annu Rev Immunol* 23: 683-747, 2005.
- 2) Hafler D A, et al: Immunologic mechanisms and therapy in multiple sclerosis. *Immunol Review* 144: 75-107, 1995.
- 3) 小野寺淳一, 他: わが国の多発性硬化症の病型. *Clin Neurosci* 22: 798-799, 2004.
- 4) Lucchinetti C, et al: Heterogeneity of multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 47: 707-717, 2000.
- 5) Kuchroo V K: T cell response in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *Annu Rev Immunol* 20: 101-123, 2002.
- 6) Araki M, et al: Th2 bias of CD4+ NKT cells derived from multiple sclerosis in remission. *Int Immunol* 15: 279-288, 2003.
- 7) Miyamoto K, et al: A synthetic glycolipid prevents autoimmune encephalomyelitis by inducing Th2 bias of natural killer T cells. *Nature* 413: 531-534, 2001.
- 8) Takahashi K, et al: Natural killer type 2 bias in remission of multiple sclerosis. *J Clin Invest* 107: R23-29, 2001.
- 9) Takahashi K, et al: The regulatory role of natural killer cells in multiple sclerosis. *Brain* 127: 1917-1927, 2004.
- 10) Hhfeld R, et al: Autoimmune concepts of multiple sclerosis as a basis for selective immunotherapy: From pipe dreams to (therapeutic) pipelines. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 14599-14606, 2004.

Multiple Sclerosis

Sachiko Miyake

Department of Immunology, National Institute of Neuroscience, NCNP

MS の臨床・臨床免疫

インターフェロンβ-1b療法の導入法と副作用の対応に関する検討

大橋高志¹、太田宏平²、清水優子¹、大原久仁子¹、竹内千仙¹、岩田 誠¹¹東京女子医科大学神経内科、²東京理科大学理学部

目的

インターフェロン (IFN) β-1b は国内外の多くの臨床試験によるエビデンスを持ち、本邦においては多発性硬化症 (MS) の再発予防・進行抑制を適応に持つ唯一の薬剤である。しかし、とりわけ導入初期に副作用が起こりやすく、この時期に治療が中断される例が多い。

なかでも皮膚症状が強く起こる場合には IFN β-1b 療法の継続が困難となることが多いが、注射手技を正確に行い、自己注射用補助器具を使用することで注射部位反応はかなり軽減できることが報告されている。

さらに、IFN β-1b 療法の導入時に IFN β-1b を少量より漸増することで導入初期の副作用の発現を抑えられる可能性がある。

そこで、IFN β-1b の導入法と副作用の対応に関する検討を行い、IFN β-1b 療法を安全に導入、継続するためのシステムを構築することが重要である。

方法

当科に通院中の MS 患者のうち、IFN β-1b 療法を施行中の患者 27 例、および導入後に中止となった患者 4 例について、経過中に認められた副作用とその対応について調査した。

IFN β-1b 療法を施行中の患者 10 名 (男性 4 名、女性 4 名、薬剤使用期間平均 16 ヶ月) にアンケート調査を行い、自己注射用補助器具の効果について検討した。

平成 15 年 12 月以降の IFN β-1b 療法の導入時に IFN β-1b を 200 万単位から漸増する方法をとり、副作用の発現頻度とその程度を評価した。

結果

IFN β-1b 療法が中止となった 4 例のうち、副作用が理由となったのは 2 例であり、いずれも全身性の皮膚症状のためであった。その他に、問題となる皮膚症状がみられたのは 1 例であったが、IFN β-1b を一時中断後に漸増し、注射補助器具を使用することによって皮膚症状は低減し、IFN β-1b 療法は継続可能となった。

アンケート調査の結果からは、注射用補助器具の使用により、注射針に対する恐怖感が払拭され、自己注射が困難な部位への投与が可能になることが示された。

IFN β-1b 療法を漸増法によって導入した症例では、発熱、

注射部位の発赤、白血球減少などの副作用がみられたが、全例とも症状は軽微であり、IFN β-1b 療法は問題なく継続できた。

考察

IFN β-1b による注射部位反応は、皮膚および皮下組織への薬液の接触を減らすことで低減できるとされている。皮下注射時に新しい針を使い、さらに注射用補助器具を用いることで、従来の方法に比べて注射部位反応が 59.8% 減少することが報告されている。

実際に注射手技に特に問題のないようにみえる患者でも、注射用補助器具の使用により注射部位反応が低減することが確認された。また、アンケート調査の結果からも、注射用補助器具を使用することで、注射針に対する恐怖感が払拭されるのみではなく、確実に皮下に注射をすることができるようになること、自己注射が困難な部位への投与が可能になることで注射部位反応の低減が期待できることがわかった。しかし、薬液が 1 ml 未満の状態での注射用補助器具の使用は注射器の破損を招く恐れがあるため、導入初期には用いることができない。今後の改良が期待される。

また、IFN β-1b 療法の導入時には、本邦では最初から常用量である 800 万単位もしくは最初の数回のみ 400 万単位を投与することが一般的であるが、欧米では 1/4 量、200 万単位から開始し、2週間毎に漸増することが推奨されている。当院でもこの方法をとっており、良好な結果を得ている。IFN β-1b を漸増法によって導入した症例は全例とも副作用が軽微なものに留まっており、IFN β-1b 導入初期にみられる副作用の発現を抑えられる可能性があると考えられた。

結論

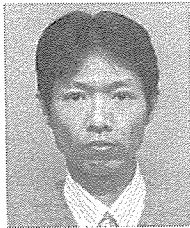
IFN β-1b 使用時には、注射用補助器具を用いることで、注射部位反応の低減が期待できる。

さらに IFN β-1b 療法を導入する際に IFN β-1b を 1/4 量からの 2週間毎に漸増する方法をとることで、導入初期にみられる副作用の発現が抑えられる可能性がある。

多発性硬化症の病態

——免疫調節機構の破綻

The pathology of multiple sclerosis —— Breakdown of immune regulatory mechanisms



荒浪利昌(写真) 山村 隆

Toshimasa ARANAMI and Takashi YAMAMURA

国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部

◎多発性硬化症(MS)は中枢神経系の慢性炎症性脱髄性疾患であるが、その病態は中枢神経のミエリン蛋白に対するTh1細胞による自己免疫反応であると考えられている。これに対して自己反応性T細胞に対して抑制的に働く免疫系細胞が存在し、免疫調節細胞とよばれる。MSへの関与が示唆されている免疫調節細胞としては、CD25陽性CD4陽性T細胞、NK細胞、NKT細胞などがあるが、MSの病態は自己反応性T細胞とこれら免疫調節細胞のバランスによって決定されると考えられる。本稿では、MSの病因・病態と治療を考えるうえで重要な免疫調節細胞に関する最近の知見を概説するとともに、これら拮抗する免疫系細胞のバランスという観点からMSの病態を論じる。

Key word : 多発性硬化症(MS), 免疫調節細胞, 自己反応性T細胞, CD25陽性CD4陽性T細胞, NK細胞, NKT細胞

多発性硬化症(multiple sclerosis: MS)は中枢神経系に炎症性脱髄性病巣が時間的・空間的に多発する疾患で、若年成人に好発する。多彩な神経症状を示し、多くの例で再発と寛解を繰り返すが、その病因は中枢神経のミエリン蛋白に対する自己免疫反応であると考えられている。自己免疫反応は、CD4陽性ヘルパーT細胞、CD8陽性キラーT細胞、B細胞、樹状細胞、マクロファージなどの免疫系細胞によって惹起されるが、中心的役割を果たしているのがCD4陽性ヘルパーT細胞である。末梢リンパ組織において活性化された自己反応性CD4陽性T細胞は中枢神経系に浸潤し、ミエリン塩基性蛋白(MBP)などのミエリン蛋白に特異的に反応して活性化され、IFN- γ 、TNF- α などさまざまな炎症性サイトカインやケモカインを産生する。炎症性ケモカインによって樹状細胞、マクロファージなどが末梢血より動員され、さらに炎症が持続、拡大する¹⁾。

これに対して、自己反応性T細胞や病的な免疫

系の活性化に対して抑制的に働く免疫系細胞の存在が知られており、免疫調節細胞とよばれる。免疫調節細胞は炎症性サイトカインに拮抗的に働く、IL-4、IL-10、TGF- β 1などの調節性サイトカインを産生し、直接的に、あるいは樹状細胞やマクロファージなどの抗原提示細胞の抑制を介して間接的に、自己反応性CD4陽性T細胞の反応を抑制すると考えられる。したがって、MSの病態は自己反応性T細胞と免疫調節細胞のバランスによって決定されると考えられる。

本稿では、MSに関与する病原性自己反応性T細胞と免疫調節細胞に関する最近の知見を紹介するとともに、再発と寛解という臨床経過がこれら拮抗する免疫系細胞のバランスという観点から理解できることを論じる。

自己反応性T細胞——Th1細胞とTh17細胞

免疫反応を統括するCD4陽性T細胞のもっとも重要な機能のひとつはサイトカイン産生能であ

る。CD4 陽性 T 細胞は産生するサイトカインの種類によって、IFN- γ 、TNF- α などを産生する Th1 細胞と、IL-4、IL-5、IL-13などを産生する Th2 細胞に大別される。Th1 と Th2 細胞はそれぞれが産生するサイトカイン自体によりたがいに拮抗的に働くという制御機構をもつ。MS およびそのマウス実験モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) においてはこれまで、Th1 細胞が病原性 T 細胞であると考えられてきた。しかし最近、あらたな系列の T 細胞として、IL-17 を産生する Th17 細胞が同定された。この T 細胞は EAE においては Th1 細胞よりも強力な自己免疫惹起能をもつと報告されており、また視神経脊髄型 MS 患者脳脊髄液中での IL-17 濃度上昇が報告され²⁾、MS においても Th17 細胞が病原性 T 細胞のひとつとして注目されつつある。

さまざまな免疫調節細胞

これまで EAE あるいは MS においてさまざまな免疫調節細胞が報告されている。CD4 陽性 CD25 陽性 T 細胞、IL-10 産生性 T regulatory type 1 (Tr1) 細胞、ナチュラルキラー (NK) 細胞、NKT 細胞、B 細胞などである。EAE、MS に関するさまざまな免疫調節細胞について概説する。

1. CD25陽性CD4陽性T細胞

ヒト末梢血 CD4 陽性 T 細胞の数~10%を占め、末梢性免疫寛容における重要な役割を果たしている。マウスにおいては抗 CD25 抗体によりこの細胞を除去すると、さまざまな臓器特異的自己免疫疾患を発症する³⁾。さらに、この細胞の生成および機能に必須である Foxp3 蛋白の遺伝子に変異を持つヒトおよびマウスでは、自己免疫疾患を自然発症する。すなわち、この調節細胞はつねにさまざまな臓器に対する自己反応性 T 細胞を抑制していると考えられる。EAE においてもこの細胞の除去により EAE が重症化することから⁴⁾、免疫調節細胞として重要な役割を果たしていることが示唆される。さらに MS においては、CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞の機能異常⁵⁾、および Foxp3 発現の減少⁶⁾が報告されており、MS の病因のひとつとしての可能性も示唆されている。

2. NK細胞

NK 細胞はウイルス感染細胞、腫瘍細胞などを殺す免疫細胞として知られているが、そのほかサイトカイン産生を介してさまざまな免疫反応に関与している。T 細胞の分化と同様に NK 細胞においても、NK1 および NK2 細胞という分化経路が知られている⁷⁾。NK1 細胞は IFN- γ 、IL-10 など、NK2 細胞は IL-5、IL-13などを産生する。著者らは、NK 細胞除去により EAE が重症化すること⁸⁾、MS 寛解期の NK 細胞が高い IL-5 産生能をもち (NK2 偏倚)、自己反応性 Th1 細胞に対して抑制的に働きうることから^{9,10)}、NK 細胞が免疫調節細胞として機能していることを提唱している。

3. NKT細胞

マウスにおいて、NK 細胞表面マーカーと T 細胞抗原受容体 (TCR) を共に発現するユニークな細胞群として同定され、TCR α 鎖に多様性のほとんどないインバリエント鎖をもつことから、NKT 細胞、とくに invariant NKT 細胞 (iNKT 細胞) とよばれる。iNKT 細胞はペプチド抗原ではなく、糖脂質抗原により活性化され、迅速に IFN- γ と IL-4 を産生する。当研究室では OCH という糖脂質を合成し、この新規合成糖脂質が iNKT 細胞を活性化させ、選択的に IL-4 のみを産生させることを報告した。EAE においては OCH の投与により生体内で iNKT 細胞より選択的に IL-4 が産生され、症状が改善されることを示した¹¹⁾。ヒト末梢血中にも iNKT 細胞は存在し、MS 寛解期においては、この細胞は IL-4 を優位に産生する¹²⁾。このことは iNKT 細胞が IL-4 産生を介して寛解期の維持に関与している可能性を示唆する。

4. V α 19i T細胞

第 2 のインバリエント鎖を発現する NKT 細胞であり、ヒトおよびマウスの腸管粘膜固有層に存在することから、mucosal-associated invariant T (MAIT) cells とよばれる¹³⁾。当研究室では V α 19i TCR トランスジェニックマウスでは、V α 19i T 細胞が多量の IL-10 産生誘導を介して、EAE を抑制し、逆に V α 19i T 細胞を欠損するマウスにおいては EAE が増悪することを示し、この細胞が EAE における重要な免疫調節細胞であることを証明した¹⁴⁾。

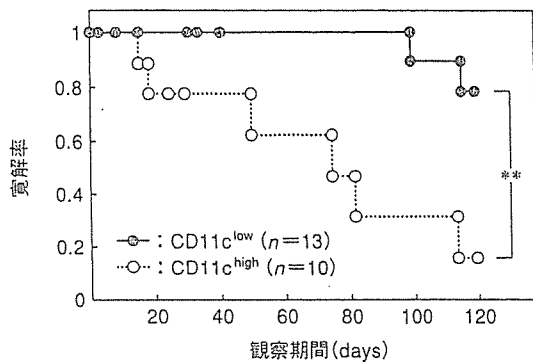


図1 調節性NK細胞の表現型とMSの疾患活動性の相関

免疫抑制剤未投与寛解期 MS 患者 23 名の末梢血 NK 細胞上の CD11c の発現量をフローサイトメトリーで解析した。個々の患者は CD11c の発現量に従い、CD11c^{high}MS と CD11c^{low}MS に分けられる。末梢血サンプリング後 120 日間の再発の有無を追跡し、Kaplan-Mayer の生存分析に従い、寛解率を算出した。また、寛解率の有意差検定にはログランクテストを用いた。その結果、本図に示すとおり、CD11c^{high}MS 群は、CD11c^{low}MS 群に比べ有意に寛解率が低いことが分かった。**p*<0.01。

免疫調節細胞と自己反応性T細胞のバランスの破綻

MBP などミエリン蛋白に対する試験管内での T 細胞の反応性は健常人においても認められる。しかし、これが MS を惹起しないのは、生体内では免疫調節細胞によって抑制されているからであると考えられる。つまり MS の生体内では自己反応性 T 細胞とさまざまな免疫調節細胞がつねに拮抗しており、それぞれの細胞群がさまざまな外的要因による影響を受け、その機能が変化するために、再発と寛解という病態が形成されると考えられる。自己反応性 T 細胞の増強、あるいは免疫調節細胞の減弱のいずれもがバランス破綻(再発)の契機となりうる。外傷、過労、感染、精神的ストレスなどが MS の増悪因子となりうると思われているが、感染などを契機に産生される IFN- γ などの Th1 サイトカインが、NK2 細胞、Th2 細胞などの免疫調節細胞の生成に抑制的に働くことが考えられる。また、精神的ストレスなどは免疫系細胞に対して抑制的に働くことが報告されており、免疫調節細胞の機能低下の引き金になる可能性がある。MS 患者における CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞の機能低下は容易なバランス破綻の一因となりう

る。このような免疫調節細胞の機能的変化と再発の関連を示すデータとして著者らは最近、MS の NK 細胞表面分子のひとつである CD11c 発現が MS の NK 細胞の調節能低下と相関し、早期の再発率の上昇と関連することを見出した¹⁵⁾。MS 患者は末梢血 NK 細胞上の CD11c の発現に従い、CD11c^{high}MS と CD11c^{low}MS に分けられる(図 1)。CD11c^{high}MS においては、MS の調節性 NK 細胞の特徴である NK2 偏倚が消失していた。重要なことに、CD11c^{high}MS は CD11c^{low}MS に比べ、その後の 4 か月間での有意な再発率の上昇が認められた。このことは、調節性 NK 細胞をはじめとする、免疫調節細胞の機能減弱が再発の誘因となることを示唆すると考えている。

おわりに

MS は自己反応性 T 細胞によって惹起される自己免疫疾患であるが、生体内には免疫調節細胞も存在し、この両者がバランスを保ちつつ、つねに拮抗していると考えられる。このバランスは自己反応性 T 細胞の増強あるいは免疫調節細胞の減弱によって破綻すると考えられ、ストレス、感染などがその契機となりうると思えられるが、そのメカニズムの詳細はいまだ不明である。このメカニズムの解明と、免疫調節細胞の機能を強化する治療法の開発が重要であると思えられる。

文献

- 1) Sospedra, M. and Martin, R. : Immunology of multiple sclerosis. *Ann. Rev. Immunol.*, 23 : 683-747, 2005.
- 2) Ishizu, T. et al. : Intrathecal activation of the IL-17/IL-8 axis in opticospinal multiple sclerosis. *Brain*, 128 : 988-1002, 2005.
- 3) Sakaguchi, S. : Naturally arising Foxp3-expressing CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat. Immunol.*, 6 : 345-352, 2005.
- 4) Montero, E. et al. : Regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by CD4⁺, CD25⁺ and CD8⁺ T cells : analysis using depleting antibodies. *J. Autoimmun.*, 23 : 1-7, 2004.
- 5) Vigiotta, V. et al. : Loss of functional suppression by CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in patients with multiple sclerosis. *J. Exp. Med.*, 199 : 971-979, 2004.
- 6) Huan, J. et al. : Decreased FOXP3 levels in multiple sclerosis patients. *J. Neurosci. Res.*, 81 : 45-52,

- 2005.
- 7) Peritt, D. et al. : Differentiation of human NK cells into NK1 and NK2 subsets. *J. Immunol.*, 161 : 5821-5824, 1998.
- 8) Zhang, B. et al. : Regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by natural killer(NK) cells. *J. Exp. Med.*, 186 : 1677-1687, 1997.
- 9) Takahashi, K. et al. : The regulatory role of natural killer cells in multiple sclerosis. *Brain*, 127 : 1917-1927, 2004.
- 10) Takahashi, K. et al. : Natural killer type 2 bias in remission of multiple sclerosis. *J. Clin. Invest.*, 107 : R23-R29, 2001.
- 11) Miyamoto, K. et al. : A synthetic glycolipid prevents autoimmune encephalomyelitis by inducing TH2 bias of natural killer T cells. *Nature*, 413 : 531-534, 2001.
- 12) Araki, M. et al. : Th2 bias of CD4⁺ NKT cells derived from multiple sclerosis in remission. *Int. Immunol.*, 15 : 279-288, 2003.
- 13) Treiner, E. et al. : Selection of evolutionarily conserved mucosal-associated invariant T cells by MR1. *Nature*, 422 : 164-169, 2003.
- 14) Croxford, J.L. et al. : Invariant V(α)19i T cells regulate autoimmune inflammation. *Nat. Immunol.*, 7 : 987-994, 2006.
- 15) Aranami, T. et al. : Differential expression of CD11c by peripheral blood NK cells reflects temporal disease activity of multiple sclerosis. *J. Immunol.*, 2006. (in press)

●お知らせ●

■真菌症フォーラム第8回学術集会

日時：2007年2月10日(土曜日)11:00~18:00

場所：ニューオータニ神戸ハーバーランド
〒650-0044 神戸市中央区東川崎町 1-3-5
TEL. 078-360-1111

会長：竹末芳生(兵庫医科大学感染制御学)

テーマ：改訂 深在性真菌症ガイドライン

内容：

1. 招待講演

「Fungal Infections : Pre-emptive Therapy and Prophylaxis in Surgical Patients」

座長：竹末芳生(兵庫医科大学感染制御学)

演者：Pamela, A. Lipsett, MD, FACS, FCCM (Johns Hopkins University)

2. シンポジウム「深在性真菌症改訂ガイドライン」

座長：河野 茂(長崎大学大学院感染免疫学)

山口英世(帝京大学医真菌研究センター)

①「血液系の立場から」

田村和夫(福岡大学医学部内科学第一)

②「外科系の立場から」

木内哲也(名古屋大学医学部移植外科)

③「内科系の立場から」

宮崎義継(長崎大学医学部・歯学部附属病院第二内科)

④「基礎の立場から」

渋谷和俊(東邦大学医学部病院病理学講座)

3. ランチョンセミナー「ICDが知っておきたい真菌感染症の画像診断」

座長：二木芳人(倉敷第一病院呼吸器センター)

演者：酒井文和(東京都立駒込病院放射線科)

4. 一般演題(口演発表・ポスター発表)

※講演会終了後、情報交換会を予定しております。

事務局：真菌症フォーラム第8回学術集会事務局 株式会社協和企画 コンベンション事務局内(〒105-0004 東京都港区新橋 2-20 新橋駅前ビル 1号館 5階, TEL. 03-3573-2060, FAX. 03-3573-2064, E-mail : t_tanabe@kkt-kyowa.co.jp)

網羅的遺伝子発現解析による多発性硬化症の 病態・薬物反応性

佐藤準一*,**

MSの発症は多数の遺伝因子と環境因子の複雑な相互作用により規定されており、臨床経過・病巣分布・治療反応性・病理学的所見の観点から多様な病態(clinical heterogeneity)を呈する。遺伝子アレイ(DNA microarray/GeneChip)は基盤上に数万遺伝子が貼りつけてあるチップである。遺伝子アレイによるMS患者末梢血リンパ球・脳組織の網羅的遺伝子発現解析は、MS分子遺伝学的発症機序の解明に威力を発揮する。従来の研究方法では予期しなかった遺伝子群のMS病態における重要な役割を発見したり、インターフェロン応答遺伝子群(IFN-responsive genes: IRG)を同定して治療反応性や副作用を事前に予知することが可能になりつつある。最近われわれは階層的クラスター解析(hierarchical clustering analysis)により、MSがT細胞の遺伝子発現プロファイルにもとづき4群に分類され、各群は疾患活動性・病変分布・IFN- β 治療反応性と密接な対応を認めることを見出した。遺伝子アレイ解析はMSのテーラーメイド医療の樹立に役立つと思われる。

はじめに

多発性硬化症(multiple sclerosis: MS)は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をくり返して進行する難病である。MS発症機序は十分解明されていないが、遺伝的要因と環境因子の相互作用を背景に、脳炎惹起性髄鞘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し活性化した自己反応性CD4⁺ Th1 T細胞が、血液脳関門を通過して中枢神経系組織

内に浸潤し、マクロファージ・ミクログリアを活性化して腫瘍壊死因子- α (tumor necrosis factor- α : TNF- α)などの炎症増強因子の産生を誘導し脱髄(demyelination)が惹起されると考えられている(自己免疫機序)¹⁾。回復期には髄鞘再生を認めるが、炎症が遷延化すると髄鞘再生不全・軸索傷害・神経変性をきたして不可逆的機能障害を残す。近年欧米およびわが国における大規模臨床試験により、インターフェロン(IFN)- β のMS再発抑制効果が立証され、現在では急性増悪期に副腎皮質ステロイド短期間大量静脈内投与(intravenous methylprednisolone pulse: IVMP)をおこない、回復期にIFN- β の継続的皮内・筋肉内投与をおこなう方法が、最も一般的な治療法として選択されている。しかしIFN- β がまったく効果を示さない症例も多い²⁾。すなわちMSは均一な疾患ではなく多様な病態を呈する疾患群である可能性が高い。実際MSは臨床経過から再発寛解

(キーワード)
DNAマイクロアレイ
遺伝子発現プロファイル
階層的クラスター解析
多発性硬化症
テーラーメイド医療

* SATOH Jun-ichi/国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部

** 明治薬科大学薬学部生命創薬科学科生命情報解析学

型(relapsing-remitting MS : RRMS), 二次進行型(secondary-progressive MS : SPMS), 一次進行型(primary-progressive MS : PPMS), 病巣分布から脳型(conventional MS : CMS), 視神経脊髄型(opticospinal MS : OSMS), IFN- β 治療反応性からレスポナー(応答)(responder MS : RMS), ノンレスポナー(非応答)(nonresponder MS : NRMS)に分類される。病理学的には T 細胞浸潤, 抗体沈着, オリゴデンドログリアのアポトーシス(apoptosis)の所見により 4 型に分類される³⁾。

近年 MS の免疫病態の多様性(heterogeneity)を解析する手段として遺伝子アレイ(DNA microarray/GeneChip)が用いられている。ヒトゲノムプロジェクトによりヒト全遺伝子塩基配列が解明され, 遺伝子アレイを用いて個々の細胞における数万遺伝子(ヒト全遺伝子約 30,000)の発現情報を包括的・網羅的・系統的に解析することが可能になった。RNA 発現解析をトランスクリプトーム解析, 蛋白質発現解析をプロテオーム解析とよぶ。このような網羅的発現解析(global expression analysis)により, 従来の研究方法では予期し得なかった遺伝子群の MS 病態における役割がますます明らかにされた⁴⁾。また治療に反応する遺伝子群の変動を経時的に解析することにより, 薬物反応性や副作用を予知することが可能になりつつある(薬理ゲノミクス, pharmacogenomics)。本稿では DNA マイクロアレイによる MS の免疫病態・薬物反応性の解析に関する最近の知見を概説する。

1. マイクロアレイ解析の基本原則

遺伝子アレイはスライドガラスやナイロン膜などの基盤上に, 数千~一万の cDNA またはオリゴヌクレオチドが貼りつけてあるチップである。cDNA をスポッターで基盤上にスポットしてある DNA マイクロアレイと, 基盤上で直接高密度オリゴヌクレオチドをフォトリソグラフ合成して

いる GeneChip(Affymetrix)に分類される。スライドガラスをマイクロアレイ, ナイロン膜をマイクロアレイと総称する。まず遺伝子発現レベルが異なる 2 種類以上の細胞・組織, たとえば IFN- β 投与前後の細胞などから mRNA を抽出し増幅する。DNA マイクロアレイでは別々の蛍光色素(Cy 3, Cy 5)で標識した cDNA または cRNA を作成して同一チップ上で競合的ハイブリダイゼーションをおこなう(2 色法)。GeneChip では *in vitro* transcription により cDNA から biotin 標識 cRNA を作成, 断片的に切断してハイブリダイゼーションをおこない, streptavidin-phycoerythrin(SAPE)を添加して蛍光標識する(1 色法)。GeneChip は 1 サンプルに 1 枚のアレイが必要でアレイ間の比較になる。どちらの場合もスキャナーで蛍光シグナルを検出, 得られたデータを正規化(normalization)し, 統計学的解析(R 解析: www.cran.r-project.org など)をおこない, サンプル間の遺伝子発現プロフィール(gene expression profile)を比較する。したがって RNA の質(quality)が結果に非常に影響する。有意な発現差異を示す遺伝子はリアルタイム RT-PCR で定量・検証することが重要である(validation)。同定した遺伝子の機能・構造に関する情報(annotation)は, Web 上でデータベース(NCBI Entrez: www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez/index.htm など)を検索する。すでにさまざまな遺伝子発現データが Gene Expression Omnibus(GEO: www.ncbi.nlm.nih.gov/geo)に登録されておりダウンロードできる。末梢血リンパ球(peripheral blood mononuclear cells: PBMC)の遺伝子アレイ解析の問題点は, 遺伝子発現レベルが年齢・性・喫煙・飲酒・常用薬・嗜好品・精神的ストレスなどの個人差や採血時刻(日内変動)の影響を受けることである(interindividual and intraindividual variation)⁵⁾。また脳組織の解析では死後脳凍結までに要する時間(RNA degradation time)が問題であり, 組織 pH が参考になる。

複数サンプルの場合はデータセットの要素特性を抽出し分類するため、解析ソフト(GeneSpring: Silicon Genetics-Agilent など)を用いて、階層的クラスター解析(hierarchical clustering analysis)をおこなう。すなわちサンプルに関する事前情報なしに、類似発現パターンを呈する遺伝子やサンプルをグループに分類し、樹状図(dendrogram)と発現レベルの二次元マトリックスで表示する(教師なし法: unsupervised method)。またグループを特徴づける指標遺伝子(discriminator genes)を抽出して三次元に投射する主成分解析(principal component analysis: PCA)をおこなう。さらに指標遺伝子抽出に用いたデータを training set として機械学習し、新規データセットにおけるサブグループを高次元空間上で線形判別可能な超平面(hyperplane)を同定するサポートベクターマシン(support vector machine: SVM)解析をおこなう(教師あり法: supervised method)。

2. DNA マイクロアレイによる多発性硬化症の免疫病態の解析(表1)

1) MS 脳組織の網羅的遺伝子発現解析

Whitney ら⁶⁷⁾は独自の cDNA マイクロアレイを用いて MS 急性期炎症性病巣と正常様白質(normal-appearing white matter: NAWM)を比較し、MS 病巣におけるインターフェロン制御転写因子(interferon-regulatory factor: IRF)-2, 5-lipoxygenase 発現上昇を報告した。Chabas ら⁶⁸⁾は MS 脳 cDNA ライブラリーの網羅的シークエンス解析により osteopontin(OPN)発現上昇を認め、ラット実験的自己免疫性脳脊髄炎(experimental autoimmune encephalomyelitis: EAE)モデルの脊髄を用いたカスタムオリゴヌクレオチドマイクロアレイ解析で OPN 上昇を確認した。OPN 遺伝子欠損マウスは EAE 惹起に対して抵抗性を示す⁶⁹⁾。Lock ら⁶⁹⁾は GeneChip を用いて MS 急性炎症性病巣と慢性非活動性病巣を比較し、

前者の G-CSF 上昇と後者の IgG Fc レセプター、IgE レセプター、ヒスタミンレセプタータイプ1 上昇を報告した。また G-CSF 投与で EAE 軽症化を認め、イムノグロブリン FcR γ 鎖遺伝子欠損マウスでは EAE 慢性化が抑制されることを報告した⁹⁾。

Mycko ら¹⁰⁾は cDNA マイクロアレイ(Clontech)を用いて SPMS 慢性活動性病巣と非活動性病巣、脱髄巣辺縁部と中心部を比較し、活動性病巣辺縁部における免疫応答関連遺伝子群(TNF- α など)の上昇を報告した。Graumann ら¹¹⁾は cDNA マクロアレイ(Clontech)を用いて MS の NAWM における脳虚血関連遺伝子群(HIF-1 α など)の上昇を見出した。Lindberg ら¹²⁾は GeneChip を用いて SPMS 活動性病巣でのイムノグロブリン産生亢進を見出した。Tajouri ら¹³⁾は独自の cDNA マイクロアレイを用いて SPMS 急性・慢性活動性病巣における α B-crystallin, SOD 1 の上昇を報告した¹³⁾。これら一連のマイクロアレイによる MS 脳組織の解析は症例数・サンプル数が少なく、RNA 抽出部位が全体像を反映していない可能性が残る。

2) MS とコントロールの末梢血リンパ球の比較解析

Ramanathan ら¹⁴⁾は GeneFilter membrane array (Research Genetics)を用いて、MS と健常人の monocyte-depleted PBMC を比較し、MS における lymphocyte-specific protein tyrosine kinase (LCK), IL-7 R の発現上昇を報告した。LCK は Air1a ら¹⁵⁾の cDNA マクロアレイ(Clontech)解析で、RRMS の PBMC において IVMP 治療により低下する遺伝子として報告されている。Bomprezzi ら¹⁶⁾は独自の cDNA マイクロアレイを用いて、RRMS と健常人の PBMC で発現差異を呈する 53 遺伝子を同定した。MS では T 細胞活性化関連遺伝子群 IL-7 R, ZAP 70, TNFRSF 7(CD 27)の上昇およびサイトカイン

表 1. MS の免疫病態のマイクロアレイ解析

Authors (Reference No.)	Year	No of MS Patients and Controls	RNA Samples	Type of Microarray	No of Genes on Microarray	Key Findings
Whitney <i>et al</i> ⁽⁶⁾	1999	PPMS (n=1)	acute lesion vs NAWM	Original cDNA Array	1,344 or 5,000	Upregulation of IRF-2 and TNFRp75 in acute lesions
Ramanathan <i>et al</i> ⁽¹⁴⁾	2001	RRMS (n=15) vs HC (n=15)	monocyte-depleted PBMC	GeneFilters GF211 Membrane Array (Research Genetics)	5,184	Upregulation of LCK, IL-7R and MMP-19 and downregulation of CCR6 and DFFA in MS
Wandinger <i>et al</i> ⁽²⁵⁾	2001	RRMS (n=1) plus HC (n=2)	PBMC incubated with IFN β <i>in vitro</i>	Mini-Lymphochip cDNA Array	6,432	Upregulation of proinflammatory genes such as CCR5, IP-10, and IL-15RA by IFN- β treatment
Whitney <i>et al</i> ⁽⁷⁾	2001	PPMS (n=1), RRMS (n=1), EAE vs HC (n=3)	acute or chronic lesions of MS and EAE vs white matter of non-MS controls	Original cDNA Array	2,798	Upregulation of 5-lipoxygenase in MS and EAE lesions
Lock <i>et al</i> ⁽⁹⁾	2002	CPMS and SPMS (n=4)	acute or chronic active lesions vs chronic silent lesions	HuGene FL Oligonucleotide Array (Affymetrix)	7,026	Upregulation of G-CSF in active lesions and upregulation of IgG FcR in silent lesions, and amelioration of EAE in FcR γ -KO mice and by treatment with G-CSF
Mass <i>et al</i> ⁽²²⁾	2002	RA (n=20), SLE (n=24), IDDM (n=5), and MS (n=5) vs HC before and after influenza vaccination (n=9)	PBMC	GeneFilters GF211 Membrane Array (Research Genetics)	4,329	Indistinguishable profiles between MS and IDDM and downregulation of apoptosis-regulatory genes in autoimmune diseases
Bomprezzi <i>et al</i> ⁽¹⁶⁾	2003	RRMS (n=18), SPMS (n=6) vs HC (n=21)	PBMC (fresh or frozen)	Original cDNA Array (Modified Lymphochip)	6,500 or 7,500	Upregulation of PAFAH1B1, IL-7R, ZAP70, and TNFRSF7 (CD27) and downregulation of HSPA1A (HSP70) and CKS2 in MS
Graumann <i>et al</i> ⁽¹¹⁾	2003	SP/PP/RRMS (n=10) vs neurological controls (n=7)	NAWM vs control white matter	Atlas Human cDNA Membrane Array 1.2 (Clontech)	3,528	Upregulation of ischemic preconditioning genes such as HIF-1 α in NAWM of MS
Koike <i>et al</i> ⁽²⁶⁾	2003	RRMS (n=13) before and at 3 and 6 months after IFN- β treatment	T and non-T cells separated from PBMC	Human cDNA Array (Hitachi Life Science)	1,258	Upregulation of 15 IFN- β responsive genes in MS after IFN- β treatment
Mycko <i>et al</i> ⁽¹⁰⁾	2003	SPMS (n=4)	chronic active vs silent lesions and the lesion margin vs center	Atlas Human 1.0 Glass Microarray (Clontech)	588	Upregulation of inflammation/immune-related genes in the margin of active lesions

Stürzbecher et al ⁽³⁴⁾	2003	RRMS before and after IFN- β treatment for 6 months(n=10, 6 responders vs 4 non-responders)	frozen PBMC <i>ex vivo</i> or incubated with IFN- β <i>in vitro</i>	Mini-Lymphochip cDNA Array	6,432 or 12,672	Downregulation of IL-8 in responders after IFN- β treatment
Tajouri et al ⁽¹³⁾	2003	SPMS(n=5)vs non-MS	acute and chronic active lesions	Custom-made cDNA Glass Array	5,000	Upregulation of α B-crystallin and SOD in acute lesions
Weinstock-Guttman et al ⁽³²⁾	2003	RRMS before and at 1, 2, 4, 8, 24, 120, and 160h after IFN- β treatment(n=8)	monocyte-depleted PBMC	GeneFilters GF211 Membrane Array(Research Genetics)	5,184	Time-dependent upregulation of IFN-responsive genes
Achiron et al ⁽¹⁹⁾	2004	RRMS(n=26, 14 with treatment)vs HC(n=18)	PBMC	Human U95A v2 Oligonucleotide Array (Affymetrix)	12,000	Upregulation of T cell activation genes and downregulation of IL-1 and TNF signaling genes in MS
Achiron et al ⁽²⁰⁾	2004	RRMS treated(n=13) vs untreated(n=13)	PBMC	Human U95A v2 Oligonucleotide Array (Affymetrix)	12,000	Identification of SCYA4, IL2RG, and TNFRSF6(Fas) as immunomodulatory treatment-associated genes
Airla et al ⁽¹⁵⁾	2004	RRMS(n=6)before and after IVMP	PBMC	Atlas Human Hematology/Immunology Membrane Array (Clontech)	448	Downregulation of LCK, TCF7, CD5, and ISGF3 by IVMP
Hong et al ⁽³⁵⁾	2004	RRMS/SPMS treated with IFN- β (n=18), GA(n=12) or untreated(n=15)	PBMC	Original Membrane Array	36	Distinct gene expression profile between MS patients treated with IFN- β and GA
Iglesias et al ⁽²⁵⁾	2004	RRMS(n=17)vs HC(n=7)	PBMC	HuGene FL Oligonucleotide Array(Affymetrix)	6,800	Upregulation of E2F transcription factor pathway genes in MS
Lindberg et al ⁽¹²⁾	2004	SPMS(n=6)vs non-neurological controls(n=12)	active lesions vs NAWM	Human U95A Oligonucleotide Array(Affymetrix)	12,633	Upregulation of genes related to Ig synthesis in active lesions of MS
Mandel et al ⁽²¹⁾	2004	RRMS(n=13)vs SLE(n=5)vs HC(n=18)	PBMC	Human U95A v2 Oligonucleotide Array (Affymetrix)	12,000	Downregulation of NR4A1 and NR4A3 as the autoimmunity-specific signature
Mayne et al ⁽¹⁷⁾	2004	RRMS(n=21)vs HC(n=19)	CD4+T cells	Immune Membrane Array(National Institute on Aging)	1,152	Upregulation of CYFIP2 in MS
Satoh et al ⁽¹⁸⁾	2005	RRMS(n=65)plus SPMS(n=7)vs HC(n=22)	T and non-T cells separated from PBMC	Human cDNA Array (Hitachi Life Science)	1,258	Aberrant expression of apoptosis and DNA damage-regulatory genes in MS

Abbreviations : RRMS : relapsing-remitting MS, SPMS : secondary progressive MS, PPMS : primary progressive MS, CPMS : chronic progressive MS, HC : healthy controls, IDDM : insulin-dependent diabetes mellitus, NAWM : normal appearing white matter, PBMC : peripheral blood mononuclear cells, IFN : interferon, GA : glatiramer acetate, IVMP : intravenous methylprednisolone pulse

mRNA の分解制御因子 HSPA 1 A (HSP 70) の低下を認めた。Mayne ら¹⁷⁾は RRMS と健常人の末梢血から CD 4⁺ T 細胞を negative selection で分離, cDNA membrane array (NIA) を用いて解析し, MS における cytoplasmic FMR 1 interacting protein 2 (CYFIP 2) の上昇を報告した。

われわれ¹⁸⁾は明確な annotation 付き 1,259 遺伝子を掲載した cDNA マイクロアレイ (Hitachi Life Science) を用いて, 72 例の IFN- β 未治療活動性 MS (65 RRMS, 7 SPMS) と 22 名の健常人の末梢血から AutoMACS (Miltenyi Biotec) で分離した CD 3⁺ T 細胞, CD 3⁻ non-T 細胞の遺伝子発現プロフィールを解析した。両群間で T 細胞 173 遺伝子, non-T 細胞 50 遺伝子の発現差異を認めた。上位 30 遺伝子では T 細胞 25 遺伝子 (NR 4 A 2, TCF 8 上昇と MAPK 1, SMARCA 3, HSPA 1 A, TRAIL, TOP 1, CCR 5, BAG 1, DAXX, TSC 22, PARP 低下など), non-T 細胞 27 遺伝子 (ICAM 1, CDC 42, RIPK 2, SODD, TOP 2 A 上昇と BCL 2, RPA 1, NFATC 3, HSPA 1 L, RBBP 4, PRKDC 低下など) がアポトーシス制御遺伝子の範疇に属していた。MS でアポトーシス促進遺伝子 (proapoptotic genes) と抑制遺伝子 (antiapoptotic genes) の発現上昇・低下 (拮抗的バランス counterbalance) を認め, MS におけるアポトーシス制御異常の存在が示唆された。

Achiron ら¹⁹⁾は GeneChip を用いて 26 例の RRMS と 18 名の健常人で PBMC の遺伝子発現プロフィールを比較解析した。両群間で 1,109 遺伝子の発現差異を認め, MS で T 細胞活性化関連遺伝子群 (LEF 1, TCF 3, SLAM, ITGB 2, CTSB) 上昇と IL-1 β /TNF- α シグナル伝達系遺伝子群の低下を認めた。われわれの結果¹⁸⁾に反して MS における orphan nuclear receptor NR 4 A 2 の低下を報告した。しかし彼らの研究では MS 14 例は採血時に治療薬 IFN- β , glatiramer acetate (GA), intravenous immunog-

lobulins (IVIg) を投与中で, 遺伝子発現に影響した可能性がある。Achiron ら²⁰⁾は上記の症例を治療群 13 例と未治療群 13 例に分けて比較し, 治療関連 7 遺伝子群 (TNFRSF 6, Fas など) を同定した。また 13 例の RRMS と 5 例の SLE を 18 名の健常人と比較し, 自己免疫特異的プロフィール (autoimmunity-specific signature) としてアポトーシス制御遺伝子群の発現異常を報告した²¹⁾。Maas ら²²⁾は 20 例の RA, 24 例の SLE, 5 例の IDDM, 5 例の MS, 9 名のインフルエンザワクチン接種前後の健常人の PBMC を解析した。ワクチン免疫応答と自己免疫疾患の遺伝子発現パターンはまったく異なるが, RA と SLE 間, MS と IDDM 間はきわめて類似していた。彼らも自己免疫疾患に共通してアポトーシス制御遺伝子群の発現低下を認めた。Iglesias ら²³⁾は GeneChip で RRMS と健常人の PBMC を比較解析し, MS における E 2 F transcription factor pathway 遺伝子上昇を認め, E 2 F 1 遺伝子欠損マウスでは EAE が軽症化することを報告した。

3) MS における IFN- β 治療反応性の解析

われわれ²⁴⁾は cDNA マクロアレイ (Clontech) を用いて, ヒト胎児脳アストロサイト純培養で IFN により変動する遺伝子を解析し, IFN- β による IRF-7 と pleiotrophin の上昇, IFN- γ による IRF-1 と ICAM-1 の上昇を報告した。Wandinger ら²⁵⁾は RRMS と健常人の PBMC を *in vitro* で IFN- β により刺激して cDNA マイクロアレイ (Mini-Lymphochip) で解析し, CC chemokine receptor 5 (CCR 5) と interferon-inducible cytokine IP-10 (CXCL 10) の上昇を認めた。われわれ²⁶⁾は 1,259 遺伝子 cDNA マイクロアレイ (Hitachi) を用いて, 13 例の RRMS で IFN- β 治療開始前後に採血し, 末梢血 CD 3⁺ T 細胞と CD 3⁻ non-T 細胞で発現変動した遺伝子群 (IFN-responsive genes : IRG) を同定した。T 細胞で 8 遺伝子 (IRF-7, ISG 15, IFI 56, IFI 6-

16, IFI 60, IFI 30, ATF 3, TLR 5)の上昇と IL-3, monokine induced by IFN- γ (MIG)の低下, non-T細胞で12遺伝子(IRF-7, ISG 15, IFI 56, IFI 6-16, IFI 27, IFI 17, TAP 1, TNFAIP 6, TSC 22, SULT 1 C 1, RPC 39, RAB 11 A)の上昇, IL-3の低下を認めた. ISG 15, IFI 56, IFI 6-16, IFI 27, TSC 22, SULT 1 C 1は治療開始後3~6ヵ月において持続的上昇を認めた. 一方統計学的有意差はなかったが, 治療後にTh1関連遺伝子CCR 5(T), IFN- γ (T), TNF- α (non-T)の上昇傾向を認めた. この所見はIFN- β 治療はMSでは必ずしも明確なTh2シフトを誘導しないという見解²⁹⁾を支持する. 上記の9遺伝子(IRF-7, ISG 15, IFI 56, IFI 6-16, IFI 60, IFI 17, TAP 1, TNFAIP 6, MIG)はプロモータ領域にIFN-stimulated response element (ISRE)やIRF element (IRF-E)が同定されている既知IRGであり, 治療に直接反応し治療効果に深く関与していると考えられる. IRF-7はウイルス感染時にIFN- α/β 産生を増幅する正の制御因子である²⁷⁾. IFI 30はクラスII MHC拘束性抗原提示の際, はたらくチオール還元酵素で, IFI 30遺伝子欠損マウスでは抗原呈示能低下をきたす²⁸⁾. TAP 1はクラスI MHC拘束性抗原提示の際, はたらくペプチド輸送因子で, TAP 1遺伝子欠損マウスではCD 8⁺ T細胞を介する結核菌抵抗力が減弱する²⁹⁾. TNFAIP 6はTNF- α , IL-1 β により誘導される分泌蛋白質で抗炎症作用を呈する³⁰⁾. 以上のようにMSでIFN- β はantiviral and antiinflammatory mediatorsの発現を誘導することが明らかになった. 興味深いことにSLEでは治療の種類にかかわらずPBMCにおけるIRGの発現レベルが高い³¹⁾.

Weinstock-Guttmanら³²⁾はGeneFilter membrane arrayを用いて, IFN- β 治療前後の8例のRRMSでmonocyte-depleted PBMCを経時的に解析してIRGを同定した. 多くはわれわれの同定したIRG²⁶⁾とオーバーラップしている.

Liangら³³⁾はWeinstock-Guttmanらのデータ³²⁾を再解析し, IRGはearly-onset(8時間以内), intermediate-onset(24時間), late-onset(48時間)の3群に分類されることを見出した. Stürzebecherら³⁴⁾はcDNAマイクロアレイ(Mini-Lymphochip)を用いてIFN- β 治療前後の10例のRRMSでPBMCの遺伝子発現プロフィールを解析した(*ex vivo*解析). 治療前6ヵ月から開始12ヵ月後まで毎月Gd造影MRIを撮影して活動性病巣数を算出, 治療により病巣数が60%以上減少した症例をレスポンドーと定義した. ノンレスポンドー群を当初から効果のみられないnon-responder from initiation of therapy(INR)と, 開始後一定期間は効果を認めたが中和抗体(neutralizing antibody : NAb)の出現に伴い効果が減弱したnonresponder with development of NAb(NAbNR)の2群に分類した. また培養PBMCをIFN- β 刺激して*in vitro*解析もおこなった. レスポンドーで治療後2倍以上変動した遺伝子は*ex vivo* 25遺伝子(IFI 17, OAS, Stat 1上昇とIL-8, CD 69, c-fos, TSC 22低下など)で, このうちIL-8発現低下はレスポンドーの指標となる可能性が示唆された. 一方*in vitro* IRGは87遺伝子で, レスポンドー, ノンレスポンドー間で発現差異を認めなかった. 彼らの結果と反して, われわれ²⁶⁾はIFN- β 治療後のnon-T細胞におけるTGF- β -stimulated protein TSC 22上昇を報告している. 彼らの研究は症例数が少なく, 凍結保存したPBMCを解凍して用いており, 実験操作で遺伝子発現が変化する点が問題である. また1例のレスポンドーでは治療前に約90個のGd造影病巣を呈しているが, これほど多数の造影病巣を示す症例は日本人MSでは異例である. Hongら³⁵⁾は主要免疫応答36遺伝子を掲載したcDNAマイクロアレイを用いて, 未治療MSとIFN- β , GA治療MSのPBMCを解析し, 治療反応性遺伝子群の相違を明らかにした. 興味深いことに活性化T細胞の血液脳関門通過に重要な

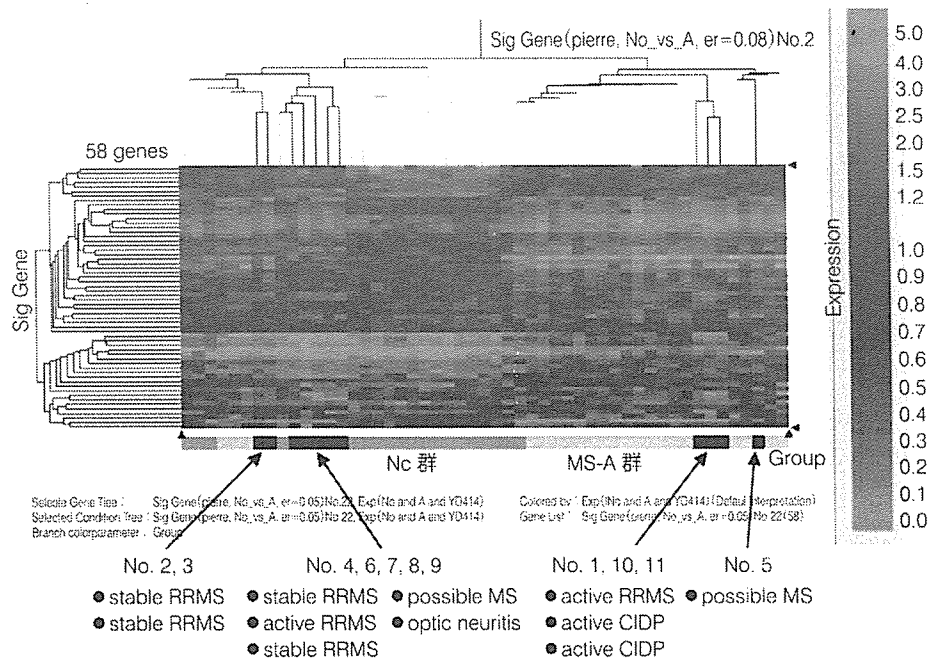


図 1. 階層的クラスター解析

未治療 MS (n=72) と健常人 Nc (n=22) の T 細胞の cDNA マイクロアレイ (1,259 遺伝子) 解析で発現差異を認める 286 遺伝子を指標遺伝子 (discriminator genes) とする階層的クラスター解析 (hierarchical clustering analysis) で、MS 群は Nc 群と分離され A, B, C, D の 4 群に分類された。A 群は遺伝子発現プロフィールが最も Nc 群に類似し、群間検定で両者を識別する 58 遺伝子を抽出した。新規 11 症例 (2 例の活動性 MS, 4 例の非活動性 MS, 2 例の possible MS, 1 例の視神経炎, 2 例の活動性慢性炎症性脱髄性多発神経炎) を適合させると、非活動性 MS は全例健常人群に分類され、一方慢性炎症性脱髄性多発神経炎 (chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy : CIDP) は MS-A 群に分類された。

MMP-9 は IFN- β により低下, GA では上昇した。

van Boxel-Dezire ら³⁶⁾ は IFN- β 治療を受けた 26 例の RRMS の PBMC におけるサイトカイン遺伝子発現レベルを半定量的 RT-PCR で経時的に解析した。治療前後 2 年間の再発回数・IVMP 回数・Extended Disability Status Scale (EDSS) スコアを集計し比較して 16 例のレスポンドーと 10 例のノンレスポンドーに分けると、レスポンドーは治療前に IL-12 p 35 発現レベルが低い傾向を呈した。Wandinger ら³⁷⁾ は IFN- β 治療を受けた RRMS で治療後 1 年間再発がなく EDSS スコア悪化のみられない症例をレスポンドー、再発した症例をノンレスポンドーと定義した。20 例の

レスポンドーと 19 例のノンレスポンドーを比較すると、レスポンドーでは TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL, TNFSF 10) が持続的高値を示すことを見出した。TRAIL は IRG の 1 つで、われわれ¹⁸⁾ は MS T 細胞における発現低下を報告している。TRAIL 遺伝子欠損マウスは胸腺細胞アポトーシスに異常をきたし、コラーゲン関節炎に高感受性になる³⁸⁾。Baranzini ら³⁹⁾ は IFN- β 治療を受けた 52 例の RRMS で PBMC における 70 遺伝子の発現レベルを経時的に定量的 RT-PCR で解析した。治療後 2 年間 1 度も再発がなく EDSS スコア悪化のない症例をレスポンドー、2 回以上再発した症例をノンレス

表 2. SVM 解析によるグループ分類

Case No.		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11	
Age/Sex		40 F		57 F		30 M		37 M		36 F		48 F		61 F		37 F		22 F		16 M		18 M	
Clinical Diagnosis		Active RRMS		Stable RRMS		Stable RRMS		Stable RRMS		Possible MS		Active RRMS		Stable RRMS		Possible MS		Optic Neuritis		CIDP		CIDP	
Clustering by 58 genes		A		Nc		Nc		Nc		A		Nc		Nc		Nc		Nc		A		A	
SVM No.	Gene Set	Gene Selection Method	No. of Predictor Genes	Kernel Function		SVM Classification																	
1	58	All genes	—	PDP(Order 1)	A	Nc	A	A	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
2	58	All genes	—	PDP(Order 2)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
3	58	All genes	—	PDP(Order 3)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
4	58	All genes	—	Radial basis(Gaussian)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
5	286	All genes	—	PDP(Order 1)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
6	286	All genes	—	PDP(Order 2)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
7	286	All genes	—	PDP(Order 3)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
8	286	All genes	—	Radial basis(Gaussian)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
9	286	Fisher's Exact Test	50	PDP(Order 1)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
10	286	Fisher's Exact Test	50	PDP(Order 2)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
11	286	Fisher's Exact Test	50	PDP(Order 3)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
12	286	Fisher's Exact Test	50	Radial basis(Gaussian)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
13	286	Golub Method	50	PDP(Order 1)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
14	286	Golub Method	50	PDP(Order 2)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
15	286	Golub Method	50	PDP(Order 3)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
16	286	Golub Method	50	Radial basis(Gaussian)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
17	286	Fisher's Exact Test	30	PDP(Order 1)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
18	286	Fisher's Exact Test	30	PDP(Order 2)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
19	286	Fisher's Exact Test	30	PDP(Order 3)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
20	286	Fisher's Exact Test	30	Radial basis(Gaussian)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
21	286	Golub Method	30	PDP(Order 1)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	Nc		
22	286	Golub Method	30	PDP(Order 2)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	Nc		
23	286	Golub Method	30	PDP(Order 3)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	Nc		
24	286	Golub Method	30	Radial basis(Gaussian)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	Nc		
25	286	Fisher's Exact Test	10	PDP(Order 1)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
26	286	Fisher's Exact Test	10	PDP(Order 2)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
27	286	Fisher's Exact Test	10	PDP(Order 3)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
28	286	Fisher's Exact Test	10	Radial basis(Gaussian)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
29	286	Golub Method	10	PDP(Order 1)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	Nc		
30	286	Golub Method	10	PDP(Order 2)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	Nc		
31	286	Golub Method	10	PDP(Order 3)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	Nc		
32	286	Golub Method	10	Radial basis(Gaussian)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	Nc		
33	1259	All genes	—	PDP(Order 1)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
34	1259	All genes	—	PDP(Order 2)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
35	1259	All genes	—	PDP(Order 3)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
36	1259	All genes	—	Radial basis(Gaussian)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
37	1259	Fisher's Exact Test	50	PDP(Order 1)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
38	1259	Fisher's Exact Test	50	PDP(Order 2)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
39	1259	Fisher's Exact Test	50	PDP(Order 3)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
40	1259	Fisher's Exact Test	50	Radial basis(Gaussian)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
41	1259	Golub Method	50	PDP(Order 1)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
42	1259	Golub Method	50	PDP(Order 2)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
43	1259	Golub Method	50	PDP(Order 3)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
44	1259	Golub Method	50	Radial basis(Gaussian)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
45	1259	Fisher's Exact Test	30	PDP(Order 1)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
46	1259	Fisher's Exact Test	30	PDP(Order 2)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
47	1259	Fisher's Exact Test	30	PDP(Order 3)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
48	1259	Fisher's Exact Test	30	Radial basis(Gaussian)	A	Nc	A	A	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
49	1259	Golub Method	30	PDP(Order 1)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
50	1259	Golub Method	30	PDP(Order 2)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
51	1259	Golub Method	30	PDP(Order 3)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
52	1259	Golub Method	30	Radial basis(Gaussian)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
53	1259	Fisher's Exact Test	10	PDP(Order 1)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
54	1259	Fisher's Exact Test	10	PDP(Order 2)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
55	1259	Fisher's Exact Test	10	PDP(Order 3)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
56	1259	Fisher's Exact Test	10	Radial basis(Gaussian)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		
57	1259	Golub Method	10	PDP(Order 1)	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	Nc		
58	1259	Golub Method	10	PDP(Order 2)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	Nc		
59	1259	Golub Method	10	PDP(Order 3)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	Nc		
60	1259	Golub Method	10	Radial basis(Gaussian)	A	Nc	A	Nc	A	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	Nc	A	A		

未治療 MS(n=72)と健康人 Nc(n=22)のT細胞のcDNAマイクロアレイ(1,259 遺伝子)解析で発現差異を認める 286 遺伝子を指標遺伝子(discriminator genes)とする階層的クラスター解析(hierarchical clustering analysis)で、MS 群は Nc 群と分離され A, B, C, D の 4 群に分類された。A 群は遺伝子発現プロファイルが最も Nc 群に類似し、群間検定で両者を識別する 58 遺伝子を抽出した。Gene Set: SVM 実行に使用された遺伝子セット、Gene Selection Method: predictor genes を選定した検定法、Kernel Function: グループ・クラス判別に使用された Kernel 関数の種類

ポンダーと定義し、両者は3遺伝子 [caspase 2, caspase 10, FLICE inhibitory protein (FLIP)] の発現レベルの三次元マッピングで86%区別可能と報告した。

最近、われわれ¹⁾は72例のIFN- β 未治療活動性MS(46例は初回採血後2年間IFN- β 治療開始)と22名の健常人の末梢血CD3⁺T細胞を1,259遺伝子cDNAマイクロアレイ(Hitachi)で解析したデータに関して、両群間で発現差異を示す286遺伝子を指標遺伝子(discriminator genes)にして階層的クラスター解析を施行した[MS classification database(MSCD), Satoh *et al*, Manuscript in preparation]。286遺伝子は5クラス(クラス#1~#5)に分類され、MS群は健常人群から分離され、さらに4グループ(A, B, C, D)に分類された。A群は遺伝子発現プロフィールが最も健常人に類似し、B群は最も臨床的活動性が高く、ケモカイン遺伝子の多いクラス#5の発現レベルが高く、C群は脳限局病変を呈する患者が多く、D群は最もEDSSスコアが高値であった。さらに群間検定で健常人とMS A群を識別する58遺伝子を抽出した。治療前後2年間の再発回数・IVMP日数・入院日数・EDSSスコア・MRI T2強調画像病巣数と患者満足度から治療評価スコアを算出すると、レスポナーはA群とB群に集積していた。レスポナーではノンレスポナーに比較して、治療開始後6ヵ月のIRG(ISG 15, IFI 27, MCP-1, TNFRp 75)発現レベルが高く維持されていた。

このMSCDに新規11症例(2例の活動性MS, 4例の非活動性MS, 2例のpossible MS, 1例の視神経炎, 2例の活動性慢性炎症性脱髄性多発神経炎)を適合させると、286遺伝子, 58遺伝子を指標遺伝子とする階層的クラスター解析により、非活動性MSは全例健常者群に分類された(図1)。一方慢性炎症性脱髄性多発神経炎(chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: CIDP)はMS A群に分類された。MSCDを

58 (214)

training setとして施行したSVM解析でも同様のグループ分類が支持された(表2)。症例数は少ないがわれわれの結果は末梢神経抗原に対する自己免疫機序が関与するCIDPと中枢神経抗原に対する自己免疫機序が関与するMSではT細胞遺伝子発現レベルで類似性があり、CIDPはDNAマイクロアレイ解析だけではMSと鑑別できないことを示唆する。

おわりに

遺伝子アレイ解析は臨床所見や画像のみでは鑑別困難な疾患の補助診断のツール、腫瘍悪性度や予後の予測、薬物反応性や副作用の予測、治療効果の判定など幅広い臨床応用が期待されている。われわれはDNAマイクロアレイ解析でMSがT細胞遺伝子発現プロフィールにもとづき4群に分類され、各群は疾患活動性・病変分布・IFN- β 治療反応性と密接な対応を認めることを報告した(MS classification database: MSCD)。今後MSCDを礎にしてテーラメイド医療樹立に向けて研究を進める予定である。

謝辞: 本稿で紹介した研究は、国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部山村 隆部長、古池史子先生、中西恵美先生、尾上祐行先生、土居芳充先生、南里悠介先生、佐藤和気郎先生、荒浪利昌先生、および難治性疾患の画期的診断・治療法などに関する研究班の班員諸氏との共同研究でなされ、平成17年度厚生労働科学研究費補助金こころの健康科学(遺伝子アレイによる多発性硬化症再発予測法樹立に関する研究: H17-こころ-020)および平成17年度創薬などヒューマンサイエンス総合研究事業(DNAマイクロアレイによる多発性硬化症の迅速診断法の樹立に関する研究: KH 21101)の補助を受けた。

文献

- 1) Sospedra M *et al*: Immunology of multiple sclerosis. *Annu Rev Immunol* 23: 683-747, 2005
- 2) Waubant E *et al*: Clinical characteristics of

炎症と免疫 vol.14 no.2 2006

- responders to interferon therapy for relapsing MS. *Neurology* 61 : 184-189, 2003
- 3) Lucchinetti C *et al* : Heterogeneity of multiple sclerosis lesions : implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 47 : 707-717, 2000
 - 4) Steinman L *et al* : Transcriptional analysis of targets in multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol* 3 : 483-492, 2003
 - 5) Whitney AR *et al* : Individuality and variation in gene expression patterns in human blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 100 : 1896-1901, 2003
 - 6) Whitney LW *et al* : Analysis of gene expression in multiple sclerosis lesions using cDNA microarrays. *Ann Neurol* 46 : 425-428, 1999
 - 7) Whitney LW *et al* : Microarray analysis of gene expression in multiple sclerosis and EAE identifies 5-lipoxygenase as a component of inflammatory lesions. *J Neuroimmunol* 121 : 40-48, 2001
 - 8) Chabas D *et al* : The influence of the proinflammatory cytokine osteopontin on autoimmune demyelinating disease. *Science* 294 : 1731-1735, 2001
 - 9) Lock C *et al* : Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis. *Nat Med* 8 : 500-508, 2002
 - 10) Mycko MP *et al* : cDNA microarray analysis in multiple sclerosis lesions : detection of genes associated with disease activity. *Brain* 126 : 1048-1057, 2003
 - 11) Graumann U *et al* : Molecular changes in normal appearing white matter in multiple sclerosis are characteristic of neuroprotective mechanisms against hypoxic insult. *Brain Pathol* 13 : 554-573, 2003
 - 12) Lindberg RL *et al* : Multiple sclerosis as a generalized CNS disease-comparative microarray analysis of normal appearing white matter and lesions in secondary progressive MS. *J Neuroimmunol* 152 : 154-167, 2004
 - 13) Tajouri L *et al* : Quantitative and qualitative changes in gene expression patterns characterize the activity of plaques in multiple sclerosis. *Mol Brain Res* 119 : 170-183, 2003
 - 14) Ramanathan M *et al* : *In vivo* gene expression revealed by cDNA arrays : the pattern in relapsing-remitting multiple sclerosis patients compared with normal subjects. *J Neuroimmunol* 116 : 213-219, 2001
 - 15) Airla N *et al* : Suppression of immune system genes by methylprednisolone in exacerbations of multiple sclerosis. Preliminary results. *J Neurol* 251 : 1215-1219, 2004
 - 16) Bomprezzi R *et al* : Gene expression profile in multiple sclerosis patients and healthy controls : identifying pathways relevant to disease. *Hum Mol Genet* 12 : 2191-2199, 2003
 - 17) Mayne M *et al* : CYFIP 2 is highly abundant in CD4⁺ cells from multiple sclerosis patients and is involved in T cell adhesion. *Eur J Immunol* 34 : 1217-1227, 2004
 - 18) Satoh J *et al* : Microarray analysis identifies an aberrant expression of apoptosis and DNA damage-regulatory genes in multiple sclerosis. *Neurobiol Dis* 18 : 537-550, 2005
 - 19) Achiron A *et al* : Blood transcriptional signatures of multiple sclerosis : unique gene expression of disease activity. *Ann Neurol* 55 : 410-417, 2004
 - 20) Achiron A *et al* : Understanding autoimmune mechanisms in multiple sclerosis using gene expression microarrays : treatment effect and cytokine-related pathways. *Clin Dev Immunol* 11 : 299-305, 2004
 - 21) Mandel M *et al* : Autoimmunity gene expression portrait : specific signature that intersects or differentiates between multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 138 : 164-170, 2004
 - 22) Maas K *et al* : Cutting edge : molecular portrait of human autoimmune disease. *J Immunol* 169 : 5-9, 2002
 - 23) Iglesias AH *et al* : Microarray detection of E2F pathway activation and other targets in multiple sclerosis peripheral blood mononuclear cells. *J Neuroimmunol* 150 : 163-177, 2004
 - 24) Satoh J *et al* : Differing effects of IFN β vs IFN γ in MS. Gene expression in cultured astrocytes. *Neurology* 57 : 681-685, 2001
 - 25) Wandinger KP *et al* : Complex im-

- munomodulatory effects of interferon- β in multiple sclerosis include the upregulation of T helper 1-associated marker genes. *Ann Neurol* 50 : 349-357, 2001
- 26) Koike F *et al* : Microarray analysis identifies interferon β -regulated genes in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 139 : 109-118, 2003
- 27) Taniguchi T *et al* : The interferon- α/β system in antiviral responses : a multimodal machinery of gene regulation by the IRF family of transcription factors. *Curr Opin Immunol* 14 : 111-116, 2002
- 28) Maric M *et al* : Defective antigen processing on GILT-free mice. *Science* 294 : 1361-1365, 2001
- 29) Behar SM *et al* : Susceptibility of mice deficient in CD1D or TAP1 to infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *J Exp Med* 189 : 1973-1980, 1999
- 30) Bárdos T *et al* : Anti-inflammatory and chondroprotective effect of TSG-6(tumor necrosis factor- α -stimulated gene-6)in murine models of experimental arthritis. *Am J Pathol* 159 : 1711-1721, 2001
- 31) Baechler EC *et al* : Interferon-inducible gene expression signature in peripheral blood cells of patients with severe lupus. *Proc Natl Acad Sci USA* 100 : 2610-2615, 2003
- 32) Weinstock-Guttman B *et al* : Genomic effects of IFN- β in multiple sclerosis patients. *J Immunol* 171 : 2694-2702, 2003
- 33) Liang Y *et al* : Differential and trajectory methods for time course gene expression data. *Bioinformatics* 21 : 3009-3016, 2005
- 34) Stürzebecher S *et al* : Expression profiling identifies responder and non-responder phenotypes to interferon- β in multiple sclerosis. *Brain* 126 : 1419-1429, 2003
- 35) Hong J *et al* : Gene expression profiling of relevant biomarkers for treatment evaluation in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 152 : 126-139, 2004
- 36) van Boxel-Dezaire AH *et al* : Contrasting response to interferon β -1 b treatment in relapsing-remitting multiple sclerosis : does baseline interleukin-12 p35 messenger RNA predict the efficacy of treatment ? *Ann Neurol* 48 : 313-322, 2000
- 37) Wandinger KP *et al* : TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) as a potential response marker for interferon-beta treatment in multiple sclerosis. *Lancet* 361 : 2036-2043, 2003
- 38) Lamhamedi-Cherradi SE *et al* : Defective thymocyte apoptosis and accelerated autoimmune diseases in TRAIL $^{-/-}$ mice. *Nat Immunol* 4 : 256-260, 2003
- 39) Baranzini SE *et al* : Transcription-based prediction of response to IFN β using supervised computational methods. *PLoS Biol* 3 : e 2, 2005

特集 多発性硬化症研究・治療の現状2006

多発性硬化症のマイクロアレイ診断*

佐藤 準 —1,2)

多発性硬化症 (multiple sclerosis : MS) は再発を繰り返す中枢神経系炎症性脱髄疾患である。MS の病因は未だ明らかではないが、発症は多数の遺伝因子と環境因子の複雑な相互作用により規定されている。再発予防のため、インターフェロンベータ (IFN β) が投与されるが無効例 (non-responder) も多い。MS は臨床経過・病巣分布・治療反応性・病理学的所見の観点から、多様な病態 (clinico-pathological heterogeneity) を呈する。遺伝子アレイ (DNA microarray/GeneChip) は基盤上に数万遺伝子が固定されているチップである。遺伝子アレイによる MS 患者末梢血リンパ球・脳組織の網羅的遺伝子発現解析は、MS 免疫病態多様性の解明に威力を発揮する。すなわち従来の研究方法では予期しなかった遺伝子群の、MS 病態形成における重要な役割が次々解明され、治療の新しい分子標的 (molecular target) となる可能性が示唆されている。また薬物応答遺伝子を系統的に解析することにより、個々人の遺伝的背景 (genetic background) に応じた治療反応性や副作用を事前に予測することも可能になりつつある。最近筆者らは遺伝子アレイを用いて、MS が末梢血 T 細胞の遺伝子発現プロファイルの階層的クラスター解析 (hierarchical clustering analysis) により 4 サブグループに分類され、各群は疾患活動性・病変分布・IFN β 治療反応性と密接な対応を認めることを見出した。遺伝子アレイ解析は、MS のテーラーメイド医療 (personalized medicine) 樹立に役立つと思われる。

キーワード：DNA マイクロアレイ、階層的クラスター解析、多発性硬化症、テーラーメイド医療

はじめに

多発性硬化症 (multiple sclerosis : MS) は中枢神経系白質に炎症性脱髄巣が多発し、様々な神経症状が再発を繰り返して進行する難病である。MS では遺伝的要因と環境因子の相互作用を背景に、髄鞘抗原を認識し活性化した自己反応性 CD4⁺Th1 T 細胞が、血液脳関門を通過して脳・脊髄に浸潤し、マクロファージやミクログリアを活性化して、炎症増強因子 (TNF α) など

の産生を誘導し、脱髄 (demyelination) が惹起される (自己免疫機序)³²⁾。回復期には髄鞘再生 (remyelination) を認めるが、炎症が高度で遷延化すると軸索傷害 (axonal degeneration) を来して不可逆的機能障害を残す。近年、欧米・本邦での大規模臨床試験により、インターフェロンベータ (interferon- β : IFN β) の MS 再発抑制効果が class I evidence で立証され^{29,37)}、現在では急性増悪期 (acute relapse) に副腎皮質ステロイド短期間大量静脈内投与 (intravenous methylprednisolone pulse : IVMP)

2005年11月21日受稿

* Microarray analysis classifies multiple sclerosis subgroups.

1) 国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部 (〒187-8502 東京都小平市小川東町 4-1-1) Jun-ichi SAROH : Department of Immunology, National Institute of Neuroscience, NCNP, 4-1-1 Ogawahigashi, Kodaira, Tokyo 187-8502, Japan.

2) 明治薬科大学薬学部生命創薬科学科生命情報解析学 (〒204-8588 東京都清瀬市野塩 2-522-1) Jun-ichi SAROH : Department of Bioinformatics and Neuroinformatics, Meiji Pharmaceutical University, 2-522-1 Noshio, Kiyose, Tokyo 204-8588, Japan.

0001-8724/06/ ¥ 500/論文/JCLS