

DPB1\*0501 が遺伝的背景因子となっている可能性が考えられた。

(6) AQP4 の第一・第四細胞外ドメインが抗原性に関わっていることが明らかとなった。

(7) FACS による抗 AQP4 抗体の高感度検出系が確立された。

(8) ヒト Th17 細胞の移動・遊走には CCR-CCL2 系が重要であることが明らかとなった。

(9) オープン核内受容体転写因子 NR4A2 が病原性 T 細胞のサイトカイン産生を特異的に制御し、MS の治療標的分子になりうる可能性が示唆された。

(10) エダラボンや安定化ガレクチン9、グルタミン酸毒性阻害薬、また中和抗体や RNA aptamer を用いた midkine 阻害により実験的自己免疫性脳脊髄炎が抑制されることが明らかとなり、新規治療法として期待される。

(11) 脊髄炎症性疾患では、髄液サイトカインプロファイルが疾患ごとに異なることが初めて明らかとなった。OSMS では、抗 AQP4 抗体の有無に関わらず IFN $\gamma$  や IL-17 などの Th1/Th17 サイトカインが上昇し、一方、アトピー性脊髄炎では IL-9 や eotaxin などの Th2 サイトカイン・ケモカインが高値であることが見出された。

(12) アトピー性疾患に伴う脊髄炎・末梢神経炎を同時に全国調査し、アトピー関連脊髄炎と末梢神経炎には両者の合併・移行例があることが明らかとなった。

(13) 血液脳関門および血液神経関門の *in vitro* model が確立された。炎症性中枢神経および末梢神経疾患の病態解明に大きく寄与する。

(14) 抗 VGKC 抗体陽性非ヘルペス性辺縁系脳炎の臨床的特徴が明ら

かとなった。

(15) HTLV-1 関連脊髄症患者に対する minocycline や prosultiamine の有効性が報告され、新規治療法として注目される。

(16) 重症筋無力症 (MG) 全国臨床疫学調査を実施し、患者数 15,100 人、有病率 11.8 人/10 万人と推定された。1987 年の調査時 (患者数 6,000 人、有病率 5.1 人) に比べると約 2.5 倍に増加していることが明らかとなった。

(17) 高齢発症 MG では球症状が多く、重症例が多いことが明らかとなった。

(18) MG における摂食・嚥下障害は、舌骨上筋群や咽頭収縮筋等の嚥下関連筋群の筋力低下に由来する 경우가多く、誤嚥や咽頭残留の原因となっていることが明らかとなった。

(19) 抗リアノジン受容体 (RyR) 抗体と抗骨格筋ジヒドロピリジン受容体 (DHPR) 抗体が神経筋接合部障害に関与していることが示唆された。

(20) 胸腺の免疫学的な活動性は、高齢 MG では若年 MG よりも低いことが明らかとなった。

(21) フィッシャー症候群では IgG 抗 GQ1b 抗体に加え、GM1/GT1a 複合体抗体や GD1c や GalNAc-GM1b に対する抗体も補助診断マーカーとして有用であることが明らかとなった。

(22) Bickerstaff 型脳幹脳炎における抗 GQ1b 抗体は、GQ1b の糖鎖に対する特異性がより強い抗体であることが明らかとなった。

(23) Crow-Fukase 症候群に対する自己末梢血幹細胞移植を伴う高容量化学療法とサリドマイド療法の効果が明らかとなった。

(24) 炎症性筋疾患 (DM・PM・IBM) では、疾患ごとに特徴的な血清サイトカイン・ケモカイン上昇パ

ターンが存在することが明らかとなった。

#### D. 健康危険情報

本年度は特に健康危険情報として報告すべきものはなかった。

#### E. 研究発表

全体をまとめたものは研究成果の刊行に関する一覧表に記載した。

#### F. 知的所有権の出願・取得状況

##### 1) 特許取得

①発明の名称；IL-17 産生抑制物質およびそのスクリーニング方法

発明者；大木伸司、三宅幸子、山村 隆  
他一名

出願日；2007年2月28日

出願人；財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

出願番号または公開番号；出願準備中のためなし

②発明の名称；IL-17 に起因する炎症を改善するための医薬組成物

発明者；大木伸司、三宅幸子、山村 隆  
他一名

出願日；2007年2月28日

出願人；財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

出願番号または公開番号；出願準備中のためなし

③特願 2005-329418 自己免疫疾患治療剤、およびその応用

④米国出願 11/266409 Method and composition for treating multiple sclerosis

⑤国際出願 PCT/JP2006/322659 調節性T細胞の機能異常に基づく疾患の治療剤、およびその応用

⑥HTLV-I 関連脊髄症の予防・治療剤およびアポトーシス促進剤（特許出願中）

⑦特許出願（2007-264623号）；吉川

弘明、丸田高広：ジヒドロピリジン受容体抗体レベルに基づく胸腺腫合併重症筋無力症の診断

##### 2) 実用新案登録

なし

##### 3) その他

なし

## II. 分 担 研 究 報 告

# 日本人多発性硬化症患者の QOL 調査 ～多施設大規模調査～

分担研究者 菊地誠志<sup>1)</sup>  
共同研究者 菊地ひろみ<sup>2)</sup>, 三船恒弘<sup>3)</sup>, 大生定義<sup>4)</sup>

## 研究要旨

多発性硬化症(MS)患者の QOL 向上のため多数例・全国規模で患者 QOL の実態を調査した。評価尺度として、FAMS (MS 特異的 QOL 尺度), NAS-J (心理適応尺度), EQ5D (効用値) を用い、さらにフォーカスグループインタビューで挙げられた項目を加えて調査した。分析対象症例数は、163 名であった。FAMS トータル点数と EDSS とは負の相関があった。しかし、FAMS 下位項目の「社会・家族との関係」と EDSS には有意な相関が認められなかった。「一般的満足度」との相関も極めて小さかった。日常生活に関連が深いと思われる QOL 下位項目では、身体障害度の高さは低い QOL に直結しない。医療スタッフとのコミュニケーション、MS に関する情報の QOL への影響も明らかになった。NAS-J と EDSS は、疾患の受容を除いて関連を認めなかった。一方、NAS-J と FAMS との強い相関から、QOL には心理適応が極めて密接に関与していることが明らかになった。FAMS 下位項目のパス解析から、コミュニケーション、情報などの FAMS への影響は、ほとんどが NAS-J を介していることが明らかになった。今後の介入試験のターゲットとして、心理適応は重要かつ必須の要素である。

## 研究目的

神経難病患者の療養生活を改善するには、医学的治療に加えて、心理的・社会的支援を含めた総合的なサポートが必要である。このような認識が広がるにしたがい、生活の質 (Quality of life; QOL) 研究の必要性が認知され、QOL 研究への関心が増大してきた。同時に、治療研究におけるアウトカム指標として、QOL 評価尺度の開発が盛んに進められている。

MS 患者の QOL 向上のため多数例・全国規模で患者 QOL の実態を調査した。

## 研究方法

目標症例数を 120～180 例 (有効回答数)、調査期間を平成 19 年 3 月～8 月とし、九州大学神経内科、徳島大学神経内科、広島大学脳神経内科、国立病院機構宇多野病院神経内科、名古屋大学神経内科、東京女子医科大学神経内科、新潟大学神経内科、北海道大学神経内科、国立病院機構札幌南病院神経内科 (事務局) で実施した。評価尺度としては、FAMS、

---

1) 国立病院機構札幌南病院  
2) 札幌市立大学看護学部  
3) 北海道大学文学研究科  
4) 立教大学社会学部

NAS-J, EQ5D を用い、その他、フォーカスグループインタビューで挙げられた項目について調査した。

MS 特異的 QOL 尺度の FAMS (Functional Assessment of Multiple Sclerosis) は、従来から MS 患者の QOL 調査において多く用いられている標準的尺度であり、MS 患者の QOL を多面的にとらえることができるとされている。

FAMS は、1) 活動性について、2) 症状について、3) 精神的健康感について、4) 一般的満足度について、5) 思考と疲労について、6) 社会・家族との関係について、7) その他心配な点についての 7 領域 58 項目からなる自記式質問表である。

NAS-J は視覚障害者における心理的適応を判定するために開発された尺度である。視覚障害者への使用のほか、難病患者の心理適応評価も報告されている。NAS-J (MS 用に改変) は、不安・うつ、自尊感情、MS 患者への態度 (MS 患者に対して肯定的な態度か否か)、ローカスオブコントロール (ものごとが自分の行動によって決まるとの確信)、障害の受容、自己効力感 (やれると感じる) の 27 項目からなる自記式質問表である。

(倫理面への配慮)

データは患者の同意を得た上で、匿名化して使用した。

## 研究結果

### A. 患者概要

分析対象症例数は、163 名であった。年齢分布については、平均年齢 42.8±12.3 歳 (全

国疫学調査の平均 42±14 歳) であった。発症年齢分布は、平均発症年齢 31.9±12.6 歳 (全国疫学調査の平均 32±13 歳) であった。

### B. QOL 調査結果

FAMS の結果からは、以下の点が明らかになった。FAMS トータル点数と EDSS とは負の相関があった (重症度が高いほど QOL は低くなる)。しかし、FAMS 下位項目の「社会・家族との関係」と EDSS には有意な相関が認められなかった。「一般的満足度」との相関も極めて小さかった。日常生活に関連が深いと思われる QOL 下位項目では、身体障害度が高いからといって必ずしも QOL が低くなるとはいえないことが明らかになった。

「症状」に関する QOL について、EDSS が大きな効果を持っているが、医師とのコミュニケーションにどれくらい満足しているかによって QOL が変化する。MS に関する情報に恵まれていること、実際に情報を持っていることは、「精神的健康感」・「一般的満足度」・「社会・家族との関係」の QOL に正の効果を持つ。コメディカルスタッフとのコミュニケーションがうまくいっていると「社会・家族との関係」の QOL が改善される。

NAS-J からは、以下の点が明らかになった。FAMS と異なり、NAS-J と EDSS の間に相関を示す項目は少ない (疾患の受容のみ)。情報を持っていること、情報を得る機会に恵まれていることが、「自尊感情」・「障害の受容」・「MS 患者への態度」・「ローカスオブコントロール」に関連性を持っていた。

FAMS と NAS-J の強い相関から、QOL には

心理適応が極めて密接に関与していることが明らかになった。FAMS 下位項目のパス解析から、コミュニケーション、情報などのFAMS への影響は、ほとんどがNAS-Jを介していることが明らかになった。

### 考察

日本人多発性硬化症患者の QOL 研究の今後の課題として、以下の点があげられる。

現有の尺度の簡素化、MS に特有な領域の抽出・確認（一部を詳細化、具体化）を通して、評価尺度の改良を続けることが必要である。一方、結果をどう臨床に生かしていくか（心理サポートなど）、さらには、どう政策提言につなげられるかが問われる。また、今後の治験・治療研究では、QOL 評価を必須のアウトカム項目としていくことが要求される。

### 結論

MS 患者の QOL は、身体障害度によつての

み規定されているわけではなかった。むしろ、医療スタッフとの関係、情報量・情報源によって大きく変わるものであり、かつ、心理的適応がきわめて重要であることが確認された。

今後の介入試験のターゲットとして、心理適応は重要かつ必須の要素である。

### 文献

菊地ひろみ, 菊地誠志, 大生定義, 鈴木直人, 前沢政次. 多発性硬化症患者の生活の質構成要素に関する調査. BRAIN & NERVE 59: 617-622, 2007

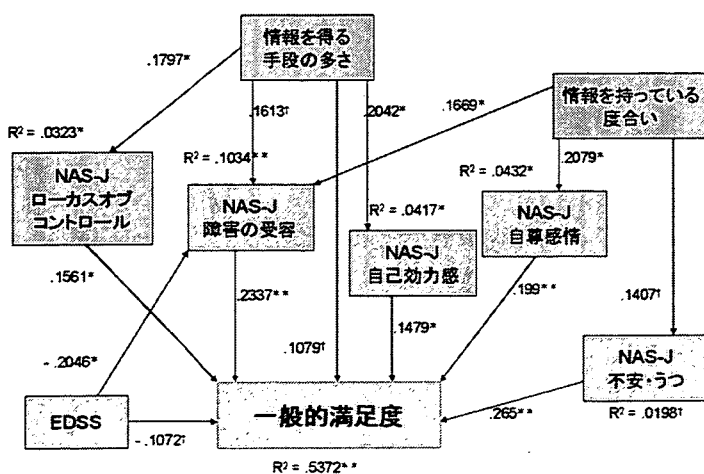
### 健康危険情報

なし

### 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし



【FAMS 下位項目：一般的満足度のパス図】

## OCB 陰性, HLA-DRB1\*0405 陽性の MS 症例の検討

分担研究者 菊地 誠志<sup>1)</sup>

共同研究者 新野 正明<sup>2)</sup>, 深澤 俊行<sup>3)</sup>, 廣谷 真<sup>2)</sup>, 佐々木秀直<sup>2)</sup>

### 研究要旨

多発性硬化症 (MS) におけるオリゴクローナルバンド (OCB) の意義は重要で, 欧米でのデータでは MS の 9 割以上に陽性を示すとされている. しかし, 日本での MS における OCB の陽性率は 50-70%と言われ, 欧米に比べ有意に低い. 一方, MS は多因子疾患といわれ, 遺伝因子の関与も推測されている. これまでの研究では, HLA-DRB1\*1501 との関連が推測されているが, 我々はこれまで, OCB 陰性群では HLA-DRB1\*1501 ではなく HLA-DRB1\*0405 を有することが多いと報告してきた. 今回, 我々は OCB 陰性 DRB1\*0405 陽性の群の臨床的特徴の有無を検討した. その結果, 今回の検討では臨床的特徴は見いだせなかった. 症例数が少ない可能性もあり, 今後も引き続き検討が必要だと思われる.

### 研究目的

オリゴクローナルバンド (OCB) は多発性硬化症 (MS) の McDonald 診断基準にも重要項目として記載されている. しかし, 日本での MS における OCB の陽性率は 50-70%と言われ, 欧米に比べ低い. 現在のところ, この原因は不明である. 一方, MS は多因子疾患といわれ, 遺伝因子の関与も推測されている. これまでの研究では, HLA-DRB1, 特に DRB1\*1501 との関連が推測されている. 我々のこれまでの研究でも, 日本人通常型 MS (conventional type MS : C-MS) において HLA-DRB1\*1501 を有する割合は健常者に比べ有意に高いことを報告している. しかしながら, より詳細な検討により OCB 陰性

群では, HLA-DRB1\*1501 との相関は認められず, HLA-DRB1\*0405 を有する群が多いことを我々は報告してきた<sup>1)</sup>. さらに, 最近, Sweden のグループが, OCB 陰性群では, HLA-DRB1\*0404 を有することが多いことを発表した<sup>2)</sup>. これらのことから, 今回, 我々は, OCB 陰性 DRB1\*0405 陽性群が, 何らかの臨床的特徴を有する可能性があると考え, その検討を行った.

### 研究方法

109 例の Poser の診断基準による clinically definite MS のうち C-MS を対象とし, HLA 及び等電点電気泳動法による OCB の陽性の有無を検討した後, 患者の臨床情報としては, 発症年齢, 臨床型, 重症度 (Progression Index; EDSS/経過年数) 等と検討した.

1) 国立病院機構札幌南病院神経内科

2) 北海道大学医学研究科神経内科学分野

3) さっぽろ神経内科クリニック

## 研究結果

OCB 陰性 HLA-DR4 陽性の群において男性の割合が高かったが (F:M=20:12, それ以外の群では F:M=62:15 : p=0.0472), これは OCB 陰性群ではもともと男性の割合が高い影響があるかもしれない。その他, 今回検討した, 発症年齢, 臨床型, 重症度等の臨床症状においては, OCB 陰性 HLA-DRB1\*0405 陽性, もしくは OCB 陰性 HLA-DR4 陽性の群がこれら以外の群との比較では, 有意な差を認めなかった。

## 考察

HLA-DR4 においては人種差があり, DRB1\*0405 はアジア系民族に特有の対立遺伝子であり, 白人では稀である。一方, 白人では DRB1\*0404 は, 頻度の高い対立遺伝子であるが, 日本人では極めて稀である。我々のデータと Sweden のデータの違いは, このような因子によるものかもしれない。DRB1\*0405 と DRB1\*0404 は, DRβ 鎖の第 3 多様性部分配列に, QRRAA motif を共通に持つとされ, 抗原提示能が近い可能性がある。日本人 RA では, HLA-DRB1\*0405 との相関が, 白人では HLA-DRB1\*0404 との相関が指摘されており, この遺伝子が免疫疾患で何らかの影響を及ぼしている可能性は十分考えられる。今回の検討では, OCB 陰性

HLA-DRB1\*0405 陽性, もしくは OCB 陰性 HLA-DR4 陽性の群の臨床的特徴は確認できなかったが, 症例数が少ない可能性もあり, 今後の検討が必要と思われる。

## 結論

OCB陰性HLA-DRB1\*0405陽性, もしくは OCB陰性HLA-DR4陽性の群の臨床的特徴は確認できなかった。

## 文献

- 1) Kikuchi S, Fukazawa T, Niino M, Yabe I, Miyagishi R, Hamada T, Hashimoto SA, Tashiro K. HLA-related subpopulations of MS in Japanese with and without oligoclonal IgG bands. *Neurology* 2003; 60: 647-51.
- 2) Imrell K, Landtblom AM, Hillert J, Masterman T. Multiple sclerosis with and without CSF bands: clinically indistinguishable but immunogenetically distinct. *Neurology*. 2006; 67: 1062-4.

## 健康危険情報

なし

## 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし



# 多発性硬化症における MxA 調節領域の遺伝型別の臨床的特徴及び MxA 蛋白発現量の検討

分担研究者 千葉 進<sup>1)</sup>  
 共同研究者 古山裕康<sup>1),2)</sup>、岡林環樹<sup>3)</sup>、横田伸一<sup>3)</sup>、久原 真<sup>2)</sup>、野中道夫<sup>2)</sup>、  
 今井富裕<sup>2)</sup>、藤井暢弘<sup>3)</sup>、下濱 俊<sup>2)</sup>

## 研究要旨

**目的:** MxA 調節領域における一塩基変異(SNP)の頻度が多発性硬化症(MS)群と正常群で異なり、IFN 治療反応性および病態進展に影響している可能性は既に報告したところである。今回我々は、遺伝子型別の臨床的特徴及び MxA 発現量について検討した。**方法:** 67名の MS 患者について、MxA 調節領域の nt-88 の SNP に着目して、臨床徴候、画像所見を検討した。MxA の発現量は IFN 治療を受けていない寛解期の MS 患者 12 名および対照群 15 名より末梢血単核球(PBMC)を分離し、定量 PCR にて測定した。**結果:** MS の病態促進因子と目される nt-88 に T を有する遺伝子型群においては、径 3cm 以上の脳病変および側脳室周囲病変が多く皮質直下病変は少ない傾向が見られ、又 IFN 治療への反応性が悪い可能性が示唆された。一方、この群の PBMC における MxA 発現は予想に反して低い傾向にあった。**考察:** MxA 調節領域の SNP は MS の病態修飾因子であると考えられるが、その機構については更なる検討が必要と思われた。

## 目的

Myxovirus resistance protein A (MxA)は I 型 IFN (IFN- $\alpha/\beta$ ) によって誘導される、ダイナミンスーパーファミリーに属する GTPase であり、インフルエンザウイルス等一本鎖 RNA ウイルスの増殖を抑制すると考えられている。MxA 遺伝子あるいは MxA 蛋白の発現量は、多発性硬化症(MS)に対する IFN- $\beta$  治療の効果を減弱せしめる中和抗体の間接指標として有用であり、また MxA 遺伝子の調節領域の SNP によって type I IFN への反応性が異なることが示されている。更に、MxA はアポトーシスを含めたシグナル伝達に影響を及ぼしている可能性も示されている。我々は、昨年までの研究において、MxA 調節領域において-88T と-123A という SNP の頻度が MS において正常対象に比べ有意に高頻度であること<sup>1)</sup>、in vitro の検討においてこれらのハプロタイプをもつ調節領域の活性が相対的に高いこと<sup>1)</sup>、また nt-88 と nt-123 がそれぞれ独立して発現調節にかかわっている可能性<sup>2)</sup>を示した。今回、MS への MxA の関与を更に明確にするため、ハプロタイプ別の臨床的特徴および実際の MxA 蛋白の発現状況について検討を加えた。

## 方法

### < 遺伝子型別臨床的特徴の検討 >

既報告の実験により MxA 調節領域の遺伝子型を明らかにした MS 患者 67 名について、本研究班にお

いて用いられた調査票を用い、調節領域の nt-88 に T を有するか否かでグループ分けし、統計解析を行った。

### < MxA 発現量の測定 >

IFN 治療を受けていない寛解期の MS 患者 12 名と対照群 15 名について、全血より monopoly resolving medium (ICN Biomedicals, Costa Mesa, CA) を用いて末梢血単核球 (PBMC) を分離し、FastLane Cell cDNA kit (QIAGEN, Germantown, MD) にて cDNA を生成した。これを、GAPDH を内部標準とし、各々の cDNA をスタンダードとして TaqMan Gene Expression Master Mix (ABI systems, Foster City, CA) を用い、ABI7700 にて定量 RT-PCR を施行した。

	Whole MS	-88T (+)	-88T (-)	p value
性比 (女性、%)	71.6	76.9	64.3	0.26
発症年齢	35.8±12.5	37.7±13.4	33.1±11.0	> 0.05
病発期間 (月)	149.6±92.7	161.2±99.0	133.4±82.2	> 0.05
最終 EDSS	2.42±1.88	2.58±1.83	2.20±1.96	> 0.05
Optico-spinal form (%)	27.3	23.1	33.3	0.67
径3cm以上の病変 (脳病変、%)	22.4	33.3	7.1	0.01
側脳室病変 3個以上 (%)	55.2	61.5	46.4	0.22
皮質直下病変 (%)	40.3	33.3	50.0	0.17
IFN- $\beta$ 治療患者 (%)	20.9	17.9	25.0	0.49
うち Non-responder (%)	15.4	33.3	0.0	0.20

Table. 遺伝子型別所見

- 1) 札幌山の上病院臨床脳神経研究施設
- 2) 札幌医科大学医学部神経内科
- 3) 札幌医科大学医学部微生物学講座

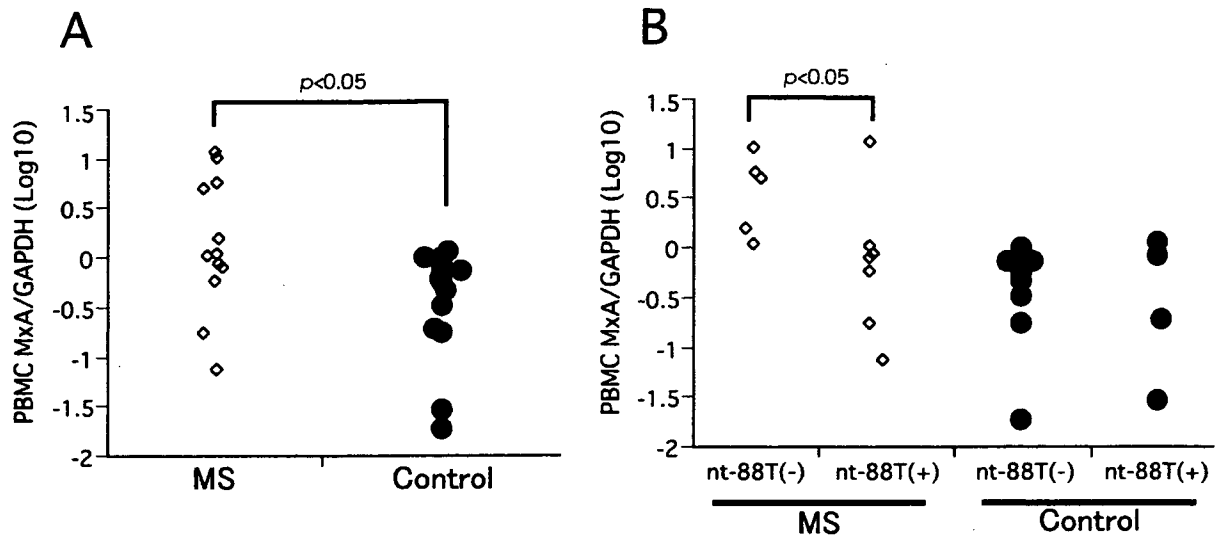


Figure. PBMCにおけるMxA定量PCR(A:各群全体 B:nt-88Tの有無別)

## 結果

Tableに、MS全体およびnt-88がTであるハプロタイプを有するか否かでグループ分けした結果を示す。径3cm以上の脳病変を有する割合はnt-88T(+)の群で有意に高かった。また、有意差はないものの、側脳室周囲病変が多く皮質直下病変は少ない傾向が見られ、又IFN治療への反応性が悪い可能性が示唆された。Figureには定量PCRの結果を示す。全体で見ると、MS群においてMxAは有意に高発現を示していた。これをnt-88にTを有するか否かで見てみると、過去に報告したin vitroの結果に反して、Tを持つ群の発現量は持たない群よりも低下していた。

## 考察

本研究においてはMSにおいてnt-88Tとnt-123Aが高頻度に観察され、更にこのMSで多いハプロタイプはIFN投与下と非投与下いずれにおいてもMxAをより強く発現する事が示された。すなわち、MxAの相対的高発現はMSの危険因子である可能性があるということになる。これを支持するものとして、Cunninghamらの-123AはIFN治療のnon-responderでより高頻度に見られるという所見<sup>2)</sup>、およびMibayashiらが示した、MxAによるアポトーシスの促進作用はMxAの発現程度に依存しているという所見<sup>3)</sup>が得られている。また、Chieuxらは、IFN治療を受けていないMS患者でMxAの発現が増加している事<sup>4)</sup>を蛋白レベルで示している。これらのことから導かれる仮説として、MxAはMSの病態進展において促進的な役割を担っている可能性があり、またIFN治療においてもMxAの過剰誘導がIFNのメリットを低減している可能性がある。そのため、MxAの発現レベルを調節できればIFN治療の反応性のみならず、IFN非治療下のMSの病態をも改善しうる

可能性がある。これらの効果は脳血管閉塞の血管内皮細胞や神経膠細胞のアポトーシス抑制によって達せられると予測される。逆に、免疫担当細胞においてMxAによるアポトーシス促進が誘導された場合はむしろMSを改善させる方向に働くという仮説も考えうるが、MSの脱髄過程のなかにはリンパ球浸潤に依存しない病変も見いだされるなどのデータもあり、現時点においてはMxAはMSの病態促進因子である可能性が強いと考えられる。今後は、多発性硬化症におけるMxAの役割について、in vivoも含め更なる検討が必要である。そこにおいては、病型、病期、組織別の詳細な検討が要求されると考えられる。

## 文献

- 1) Furuyama H, Chiba S, Okabayashi T, Yokota S, Nonaka M, Imai T, Fujii N and Matsumoto H. Single nucleotide polymorphisms and functional analysis of MxA promoter region in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2006;249:153-157.
- 2) 平成18年度本研究班々会議発表
- 3) Mibayashi M et al. Promoted cell death of cells expressing human MxA by influenza virus infection. *Microbiol Immunol* 2002;46:29-36.
- 4) Zang YC et al. Impaired apoptotic deletion of myelin basic protein-reactive T cells in patients with multiple sclerosis. *Eur J Immunol* 1999;29:1692-700.
- 5) Chieux V et al. Increased levels of antiviral MxA protein in peripheral blood of patients with a chronic disease of unknown etiology. *J Med Virol* 2001;65:301-8.
- 6) Fernandez-Arcas N et al. Differential transcriptional expression of the polymorphic myxovirus resistance protein A in response to interferon-alpha treatment. *Pharmacogenetics* 2004;14:189-93.

## 健康危険情報

なし

## 知的財産の出願・登録状況

特許取得、実用新案登録：なし

# 多発性硬化症における神経系レニン・アンジオテンシン系に関する研究

研究協力者 三木哲郎<sup>1)</sup>

共同研究者 川尻真和<sup>1)</sup>, 小原克彦<sup>1)</sup>, 茂木正樹<sup>2)</sup>, 堀内正嗣<sup>2)</sup>, 檜垣暢宏<sup>3)</sup>, 松岡健<sup>4)</sup>, 吉良潤一<sup>4)</sup>

## 研究要旨

【目的】多発性硬化症(MS)における神経系レニン・アンジオテンシン系(RAS)について検討。【対象】MS 20例(再発寛解型の再発期), 非神経疾患(control)17例(非神経疾患の手術時の腰椎麻酔に際して髄液を採取)。【方法】髄液中の Ang II, ACE, ACE2 を ELISA 法で測定し, 有意差を検討。【結果】髄液中 Ang II は, MS 群で control 群に対して有意に低下 ( $p=0.005$ ), ACE は, MS 群で control 群に対して有意に上昇 ( $p=0.010$ ), ACE2 は, MS 群で control 群に対して有意に低下 ( $p=0.017$ )していた。【結論】MS 急性期において, 神経系の RAS は病態に関与している。

## 研究目的

アンジオテンシン II (Ang II) は, レニン・アンジオテンシン系 (RAS) の主要な働きを持つ血管作動性物質であるが, 近年, 様々な組織における“組織 RAS”の働きが注目され, 中枢神経においても何らかの働きを持つことが示唆されている。Ang II は主に1型(AT1)と2型(AT2)の受容体に結合する。中枢神経におけるAT2受容体の機能は不明確であったが, 最近我々は, 血管壁や神経細胞の AT2 受容体刺激が神経損傷を軽減し, 神経分化を促進することを報告した<sup>1)2)</sup>。さらに我々は, 多発性硬化症(MS)の髄液で Ang II が有意に減少していること, また, 髄液中 Ang II が EDSS と逆相関関係にあることを初めて見出し, RAS が MS の病態に関与している可能性を報告した<sup>3)</sup>。今回我々は MS 患者における神経系 RAS についてさらに検討するため, 髄液中の ACE, ACE2の測定を行った。

2) 愛媛大学分子心血管生物薬理学

3) 愛媛大学生体機能管理学

4) 九州大学神経内科

## 研究方法

【対象】多発性硬化症(MS)20例(CMS 14例, OSMS 6例, 男性4例, 女性16例, 15歳~65歳, 平均40.4歳, EDSS 4.25±2.7, 離病期間 36±40ヵ月, 全例再発寛解型。髄液は初発時あるいは再発時で, ステロイド薬や免疫抑制薬による治療前のもの。IFN- $\beta$ 投与例は2例のみ, NMO-IgG陽性例は含まれていない)。Control (非神経疾患)17例(男性10例, 女性7例, 24歳~69歳, 平均49.4歳, 泌尿器科疾患, 婦人科疾患に対する手術あるいは生検時の腰椎麻酔に際して髄液を採取した)。全例とも, 高血圧症の既往はなく, 降圧薬の投与は行われていない。【方法】髄液中の Ang II, ACE, ACE2 を ELISA 法で測定し, Mann-Whitney U test を行い有意差を検討した。

1) 愛媛大学加齢制御内科学

(倫理面への配慮)

愛媛大学および九州大学の倫理委員会において認定を得た。十分な説明のもと同意書を得て髄液採取を行った。

#### 研究結果

髄液中 Ang II は、MS 群で  $3.80 \pm 1.58$  pg/ml, control 群で  $5.93 \pm 2.18$  pg/ml, 髄液中 ACE は、MS 群で  $48.42 \pm 4.48$  ng/ml, control 群で  $44.71 \pm 3.90$  pg/ml, 髄液中 ACE2 は、MS 群で  $2.56 \pm 0.26$  ng/ml, control 群で  $2.78 \pm 0.24$  ng/ml であった。したがって、髄液中 Ang II は、MS 群で control 群に対して有意に低下 ( $p=0.005$ ), 髄液中 ACE は、有意に上昇 ( $p=0.010$ ), 髄液中 ACE2 は、有意に低下 ( $p=0.017$ )していた。

#### 考察

今回得られた結果は、MS 髄液中では Ang II が低下し、ACE が上昇し、ACE2 が低下しているというものであり、これは、神経細胞において、Angiotensinogen (AGT) から Ang II への変換が増大する方向に働いていることを意味している。これが Ang II の低下に対する反応なのか、ATG の低下に対する反応なのかは不明である。最終的に MS 急性期神経系において、2 つの受容体を介してさまざまな働きをする Ang II が低下していることは明らかである。これまでに報告された中枢神経系での神経分化や認知機能における Ang II の役割<sup>4)5)</sup>を考慮すると、髄液中 Ang II の低下は、MS において、AT2 受容体を介した神経保護作用を低下させている可能性がある。

Wosik らは、MS では血管周囲の星状細胞の数が減り、そのため Ang II の産生が落ちて BBB の透過性が亢進し、炎症細胞が進入することにより病態を進めることを報告している<sup>6)</sup>。一方で、Ang II が MS において Th1/Th2 不均衡に関与している可能性もある<sup>7)</sup>。Ang II は AT1 受容体刺激により、Th1 シフトを誘導するので、MS 髄液における Ang II 低下は、Th1/Th2 不均衡を是正するための再発時の生体の反応かもしれない。

いずれにしても、MS 急性期において、AT2 受容体を選択的に刺激することができれば、それは、神経保護、分化促進、Th1/Th2 不均衡是正による新たな治療法となる可能性がある。

#### 結論

MS 急性期において、神経系の RAS は病態に関与している。

#### 文献

1. Iwai, M. et al :Circulation 110, 843-848, 2004
2. Mogi, M. et al : Hypertension 48, 141-148,2006
3. Kawajiri, M. et al : Multiple Sclerosis 2008 in press
4. Li, J. et al : FASEB J 19, 617-619,2005
5. Reinecke, K. et al : FASEB J 17, 2094-2096,2003
6. Wosik, K. et al : Journal of Neuroscience 27(34):9032-9042, 2007
7. Shao, J. et al : Hypertension 42, 31-38,2003

健康危険情報 なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得:なし, 実用新案登録:なし

## 中枢神経組織の炎症時に増加する CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>細胞の意義について

班 員 松井 真<sup>1)</sup>  
共同研究者 荒谷信一<sup>1)</sup>、北川陽子<sup>1)</sup>

### 研究要旨

われわれはこれまでに、急性期多発性硬化症 (MS) 患者髄液中で増加を示す CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>細胞は、検索時点での疾患活動性を反映するとともに、向こう3ヶ月以内の再発リスクも予見し得ることを報告した。今回、Treg のマスター遺伝子とされる Foxp3 の産物に焦点を当て、本来の Treg とされる CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>Foxp3<sup>+</sup>細胞を解析するシステムを完成させ、MS における Treg の意義について検討した。その結果、急性期 MS 患者の末梢血では、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg が対照群よりも有意の増加を、感染症群では有意の低下を示した。一方、髄液 Treg は、対照群に比して感染症群で有意の増加を示し、急性期 MS でも上昇する傾向が認められた。したがって、増加した Treg は、MS の炎症を抑制し得ていないこと、さらに、中枢神経感染症での動態は、中枢神経組織内での過度の炎症を抑制し、全身的には免疫応答を促進するという意味において、合目的的であることが判明した。

### 研究目的

われわれはこれまでに、急性増悪期の多発性硬化症 (以下、MS) 患者髄液中で増加を示す CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>細胞は、検索時点での疾患活動性を反映するとともに、向こう3ヶ月以内の再発リスクも予見し得ることを報告してきた。しかし、IL-2 受容体  $\alpha$  鎖という特殊性から、たとえ CD25<sup>hi</sup> の分画を解析しても、活性化した自己応答性の T 細胞と制御性 T 細胞 (Treg) を識別することは、実際上困難である。今回われわれは、Treg のマスター遺伝子とされる Foxp3 の産物に焦点を当て、本来の Treg とされる CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>Foxp3<sup>+</sup>細胞を解析するシステムを完成させ、MS における Treg の意義について検討した。

### 研究方法

#### 1) 対象

対象は、再発期で治療前の再発寛解型 MS 患者 5 名、疾患対照群として、炎症存在下で別個の病態が存在すると推定される急性期中枢神経感染症患者 (Infection 群) 8 名、

1) 金沢医科大学脳脊髄神経治療学神経内科学

非炎症性神経疾患患者 (Control 群) 11 名である。患者 (MS 群) 34 名と、18 名の非炎症性神経疾患患者 (対照群) である。

#### 2) フローサイトメトリー

同日採取した末梢血および髄液検体について、前者は Ficoll-Paque 比重遠沈法で、後者は低速低温下で遠沈して得た単核球を、CD3-APC, CD4-PerCP-Cy5.5, CD25-PE, Foxp3-FITC 抗体を用いて氷上で染色し、CD25<sup>hi</sup> と CD25<sup>low</sup> 分画における Foxp3 抗原の発現を、flow cytometry (BD 社 Canto) を用いて解析した。

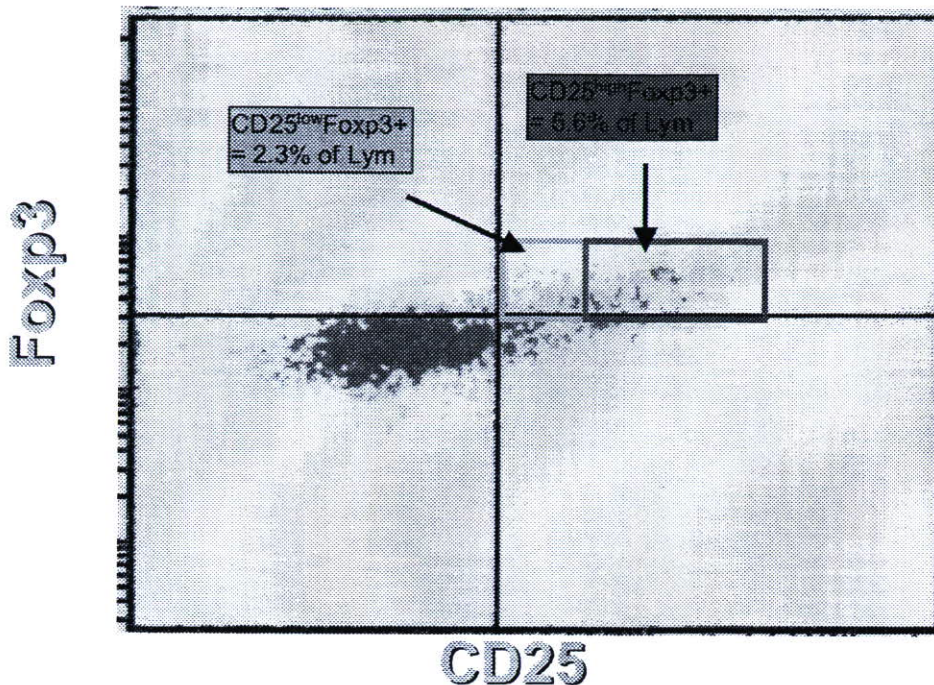
(倫理面での配慮)

本研究の遂行にあたっては、インフォームド・コンセントを得られた場合にのみ検査を行うとともに、プライバシーの保護には十分に配慮した。

### 研究結果

Foxp3 陽性細胞の蛍光は比較的良好に識別され、次頁の図に示すように、CD25<sup>hi</sup> と CD25<sup>low</sup> の分画に分けて解析することが可能であった。





	<b>MS</b> n=5	<b>Infection</b> n=8	<b>Control</b> n=11
<b>PB CD4+CD25<sup>high</sup>Fcγp3+</b>	2.71*	1.04**	1.83
<b>PB CD4+CD25<sup>low</sup>Fcγp3+</b>	2.06	2.03	1.63
<b>CSF CD4+CD25<sup>high</sup>Fcγp3+</b>	2.11	2.4*	1.21
<b>CSF CD4+CD25<sup>low</sup>Fcγp3+</b>	6.22	4.1	4.18

\*Significantly increased as compared with the control group.

\*\*Significantly decreased as compared with the control group.

急性期 MS 患者の末梢血では、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>Fcγp3<sup>+</sup>Treg が対照群よりも有意の増加を示したのに対して、感染症群では有意の低下を示した。一方、髄液 Treg は、対照群に比して感染症群で有意の増加を示した。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>low</sup>Fcγp3<sup>+</sup>細胞は末梢血・髄液のいずれにおいても、3群間で有意差を認めなかった (表)。

#### 結論

Treg は、急性期 MS の末梢血と髄液の両方で増加していることから、進行する炎症を

抑制し得ていない。中枢神経感染症では、末梢血中で低下し、髄液中で増加を示したことから、中枢神経内での過度の炎症を抑制し、全身的には抗ウイルス免疫応答を促進するという意味において、合目的的である。すなわち、MS 患者の Treg は、有効に機能していない可能性が示唆された。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

## 多発性硬化症における CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup> DN T 細胞の特徴 <第 2 報>

分担研究者 田中恵子<sup>1)</sup>

共同研究者 河内 泉<sup>1)</sup>、柳川香織<sup>1)</sup>、荒川武蔵<sup>1)</sup>、西澤正豊<sup>1)</sup>

### 研究要旨

CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup> double-negative T (DNT) は、CD1d 拘束性 Vα24 $\pi$ , MR1 拘束性 Vα7.2 $\pi$ ,  $\gamma\delta$ T をはじめとした innate T ( $\pi$ ) が豊富に含まれる重要な細胞分画である。近年、 $\pi$  は自然免疫と獲得免疫の橋渡しをすることで自己免疫疾患発症に関与する可能性が示唆されており、注目を浴びている。そこで、多発性硬化症 (MS) の発症機序を解明する目的で、 $\pi$  を豊富に含む DNT の機能解析を試みた。MS、その他の炎症性神経疾患、健常者由来の単核球に発現する CD3, CD4, CD8, IFN- $\gamma$ , IL-17, Foxp3 分子を検討してみると、末梢血で T<sub>H</sub>17 と推測される CD4<sup>+</sup>IL-17 産生細胞は各群で差を認めなかったが、DNT 分画に着目すると、MS 群でのみ IL-17 産生細胞頻度が増加していた。また、再発期は寛解期に比較して IL-17 産生 DNT 細胞頻度がさらに増加していた。以上より、IL-17 産生に特化した活性化  $\pi$  が、免疫動態を修飾し、MS を疾患誘導もしくは調節している可能性が示唆された。次に IL-17 産生 DNT の細胞系列を同定する目的で、 $\gamma\delta$ TCR<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>細胞の細胞内サイトカイン染色を行ったが、MS 末梢血で IL-17 産生  $\gamma\delta$ T を同定することはできなかった。今後、他の  $\pi$  系列である CD1d 拘束性 Vα24 $\pi$ , MR1 拘束性 Vα7.2 $\pi$  の詳細な動態を検討する必要がある。

### 研究目的

Innate T ( $\pi$ ) 細胞は、多様性の限定された semi-invariant TCR 鎖を有し、多様性の少ない抗原を認識することで、瞬時に独自の機能を発揮する一群の細胞群である。Conventional T 細胞群とは異なり、a) MHC class Ib 分子に拘束される、b) メモリー活性化マーカーを発現し、瞬時に刺激に反応する、c) 特定組織に分布する、d) auto-reactivity を有する、e) 自然免疫と獲得免疫の橋渡しをすることで免疫バランス制御機能を発揮することが示唆されている。1) TCR mVα14/hVα24 を有す CD1d 拘束性 NKT (NKT/mVα14 $\pi$ /hVα24 $\pi$ ) 細胞、2) TCR mVα19/hVα7.2 を有す MR1 拘束性 mucosal associated invariant T (MAIT/mVα19 $\pi$ /hVα7.2 $\pi$ ) 細胞、3) TCR $\gamma\delta$  を有する一部の  $\gamma\delta$ T 細胞は、 $\pi$  細胞群に属すると考えられ、CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup> double-negative T (DNT) 分画の主体を構成すると考えられる。 $\pi$  細胞のひとつ MAIT/hVα7.2 $\pi$  は多発性硬化症病変局所に浸潤している (Int Immunol 2003;16:223) とする報告からも、 $\pi$  細胞は多発性硬化症の病態形成に深く関与している可能性が強く示唆されている。そこで、我々は  $\pi$  細胞を多く含む DNT 分画に注目し、多発性硬化症における特徴を抽出

することを試みた。

### 研究方法

対象は再燃寛解型多発性硬化症患者 (17 名)、他の炎症性神経疾患患者 (8 名)、健常者 (10 名) とした。対象者からの末梢血を採取し、単核球 (PBMC) を分離し、フローサイトメーターを使用し、CD3, CD4, CD8, IFN- $\gamma$ , IL-17, Foxp3, 各種ケモカイン受容体分子の描出を試みた。DNT 分画の描出に関しては、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>細胞群を使用した。

### 研究結果

今回の実験系で得られた結果は以下の通りである。

- 1) PBMC CD4 陽性分画では、Foxp3 陽性細胞頻度に差を見出すことができなかった。
- 2) PBMC CD4 陽性分画では、IL-17 産生細胞頻度は各群で差を見出すことができなかった。
- 3) PBMC DNT 分画では、IL-17 産生細胞頻度は多発性硬化症群で高値であった。また再発期は寛解期に比較して IL-17 産生 DNT 細胞頻度は増加していた。
- 4) PBMC  $\gamma\delta$ T (TCR $\gamma\delta$ <sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>) は IL-17 を産生していなかった。

### 考察

DNT 分画は、 $\gamma\delta$ T, MAIT/hVα7.2 $\pi$ ,

1) 新潟潟大学脳研究所神経内科学分野

NKT/hV $\alpha$ 24 $\pi$ などの $\pi$ 細胞を多く含む分画であることから、多発性硬化症患者の末梢血にはIL-17を分泌する活性型 $\pi$ 細胞が多く存在する可能性が示唆される。マウスで近年、同定された $T_H17$ 細胞は、IL-17を産生することを特徴とするCD4陽性分画である。しかし、IL-17を産生する細胞は、 $T_H17$ 系列にとどまらない。特に、マウスでは、 $\gamma\delta T$ 細胞、CD1d拘束性NKT細胞の中にIL-17を産生する亜群が存在することが報告されており、IL-17産生 $\pi$ 細胞の持つ独特な機能にも注目が集まりつつある。今後は、ヒトIL-17産生 $\pi$ 細胞のlineageを解明した上で、同細胞の特殊性を描出し、多発性硬化症をはじめとした自己免疫疾患への関与について検討する必要がある。尚、今回、末梢血のレベルでCD4陽性分画に多発性硬化症特異的なIL-17産生細胞分画を描出することができなかったが、本結果は病変局所である中枢神経内脱髄巣での

$T_H17$ の存在を否定するものではない。今後は、 $T_H17$ ヒトホモログの特徴を明らかにするとともに、特に中枢神経内脱髄巣においてどのような挙動を示すのか検討する必要がある。

#### 結論

多発性硬化症におけるCD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> double-negative T細胞分画には、IL-17を産生する特殊な細胞群が存在する。

#### 文献

1. Treiner E, Duban L, Bahram S, Radosavljevic M, Wanner V, Tilloy F, Affaticati P, Gilfillan S, Lantz O. Selection of evolutionarily conserved mucosal-associated invariant T cells by MR1. *Nat* 2003;422(6928):164-169.
2. Kawachi I, Maldonado J, Strader C, Gilfillan S. MR1-restricted V $\alpha$ 19 $\mu$ mucosal-associated invariant T cells are innate T cells in the gut lamina propria that provide a rapid and diverse cytokine response. *J Immunol* 2006;176:1618-1627.
3. Croxford JL, Miyake S, Huang YY, Shimamura M, Yamamura T. Invariant V $\alpha$ 19 $\mu$ T cells regulate autoimmune inflammation. *Nat Immunol*. 2006;9:987-994.

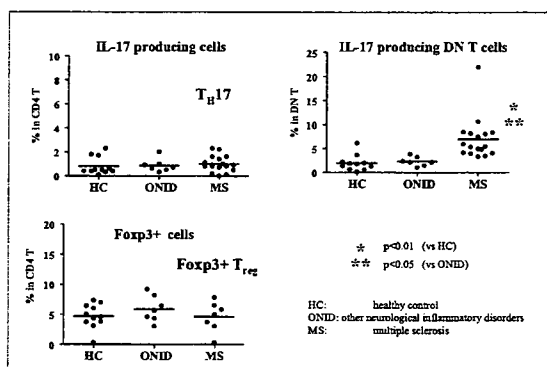
#### 健康危険情報

なし

#### 知的財産権の出願・登録状況

特許取得:なし

実用新案登録:なし





## 多発性硬化症の病原性 T 細胞における NR4A2 の役割

分担研究者 山村 隆<sup>1)</sup>

共同研究者 大木伸司<sup>1)</sup>、土居芳充<sup>1)</sup>、三宅幸子<sup>1)</sup>

### 研究要旨

多発性硬化症(以下 MS)では Th1 細胞や Th17 細胞が脳炎惹起に重要な役割を果たす。近年我々は、DNA マイクロアレイによる MS 患者末梢血 T 細胞の遺伝子発現解析を通じて、MS で健常者に比較して発現亢進する遺伝子群を同定した。その中で最も有意な発現差異を認めた分子 NR4A2 に着目し、病態との関連を解析した。実験的自己免疫性脳脊髄炎(以下 EAE)を発症したマウスの中樞神経に浸潤した炎症性 T 細胞では、NR4A2 が選択的に発現亢進していた。T 細胞株を用いたリポーターアッセイとレトロウイルスによるマウス T 細胞への遺伝子導入により、NR4A2 が IL-17、IFN- $\gamma$ などの炎症性サイトカイン産生を増強することを示した。一方、ヒト末梢血 CD4+T 細胞に NR4A2 の siRNA を導入すると、刺激後の IL-17 産生と IFN- $\gamma$ 産生はともに抑制された。さらに脳炎惹起性 T 細胞の移入により誘導した EAE は、細胞を siRNA で前処理により有意に抑制された。炎症性サイトカインの産生制御を目的とした、NR4A2 を標的分子とする MS の新規治療法の開発が期待される。

### 研究目的

MS の病態形成機構の解明と、新たな治療戦略の探索を目的として、マイクロアレイ等の網羅的解析手法を用いて、病原性 T 細胞の機能解明を進めてきた。その結果、MS 患者由来末梢血 T 細胞で選択的に発現が亢進するオープンファン核内受容体転写因子 NR4A2 を同定した。NR4A2 が T 細胞依存性の病態形成に関わる重要な因子であることを示すために、NR4A2 特異的 siRNA による T 細胞の炎症性サイトカイン産生抑制効果および EAE の病態抑制効果を検討し、MS 新規治療法確立の可能性を検証した。

### 研究方法

cDNA マイクロアレイを用い、MS 患者と健常人との間で末梢血 T 細胞の発現遺伝子の比較解析を行った。EAE を誘導し、中樞神経領域(CNS)に浸潤した T 細胞の NR4A2 発現と、IL-17/IFN- $\gamma$ 産生を解析した。レポーターアッセイを用いて、炎症性サイトカインの遺伝子発現における NR4A2 の機能を調べた。レトロウイルスを用いた NR4A2 遺伝子導入、あるいは NR4A2 特異的 siRNA を用いた NR4A2 遺伝子の抑制によるサイトカイン産生への影響を調べた。さらにミエリン抗原特異的病原性 T 細胞の移入により SJL マウスに EAE を誘導し、siRNA の病態抑制効果を検証した。

(倫理面への配慮)

1) 国立精神・神経センター 神経研究所 免疫研究部

採血に当たっては、ドナーに対して十分な説明を行った後、書面により同意を確認して行った。また個人情報保護についても十分な配慮を払った。動物実験に関しては、当研究所の動物実験規定に従い、実験計画書の承認を受けて行った。

## 研究結果

DNA マイクロアレイ解析で得られたデータを再検証するため、MS 患者由来末梢血 T 細胞と、健常人末梢血 T 細胞における NR4A2 の発現を定量 PCR 法により検討した結果、健常人と比して MS 患者で有意な発現亢進（約 5 倍）を確認した。C57BL/6 マウスに MOG<sub>35-55</sub> ペプチドを免疫することにより EAE を誘導し、脳脊髄 (CNS) 浸潤細胞、所属リンパ節細胞、脾臓細胞から分離した T 細胞の NR4A2 の発現レベルを、定量 PCR 法により比較した。その結果、CNS 浸潤 T 細胞のみで、病勢に相関した選択的な NR4A2 の発現亢進を認めた。CNS 浸潤 T 細胞における再刺激後のサイトカイン産生を検討した結果、約 30% が IL-17 産生細胞であることが判明し、CNS への顕著な Th17 細胞の浸潤が確認できた。IL-17 は EAE 発症に重要なサイトカインであることから、NR4A2 の IL-17 産生に与える影響についてさらに検討を加えた。T 細胞株を用いてルシフェラーゼアッセイを行うと、NR4A 発現プラスミドの導入により、IL-17、IFN- $\gamma$  などの炎症性サイトカイン産生が増強した。レトロウイルスを用いて、T 細胞に NR4A2 分子を過剰発現させると、IL-17 および IFN- $\gamma$  産生の選択的な亢進が誘導された。特異的 siRNA を用いてヒト末梢血 CD4 T 細胞の NR4A2 の発現を選択的に抑制

すると、刺激後の IL-17、IFN- $\gamma$  産生は、いずれも有意に抑制された。さらに、ミエリン抗原特異的病原性 T 細胞に対し、特異的 siRNA を用いて NR4A2 発現を抑制すると、対照 RNA 処理した T 細胞の移入群に比して、移入後の EAE は有意に軽症化することが明らかとなった。

## 考察

MS 患者由来末梢血 T 細胞を用いたマイクロアレイ解析により同定した NR4A2 の挙動は、EAE 誘導時の CNS 浸潤 T 細胞でも同様に認められ、IL-17 産生の亢進と相関していた。レポーターアッセイにより、NR4A2 は炎症性サイトカイン遺伝子の転写制御に直接あるいは間接的に関与することが明らかとなった。レトロウイルスによる強制発現あるいは siRNA による発現抑制により NR4A2 レベルの調節を行うと、IL-17 や IFN- $\gamma$  などの炎症性サイトカインの発現が正の相関をもって変動した。特異的 siRNA を用いて、ミエリン抗原特異的病原性 T 細胞の NR4A2 発現を抑制すると、対照群に比して、T 細胞移入後の EAE は有意に軽症化し、NR4A2 が病態制御のターゲット分子となりうることが示された。本研究で得られた一連の結果から、今後、特異的 siRNA や合成小分子化合物を用いて T 細胞における NR4A2 の発現あるいは機能を制御することにより、IL-17 や IFN- $\gamma$  をはじめとする炎症性サイトカインの再生制御を介した、MS の新規治療法開発の可能性が示されたと考えている。

## 結論

今回、私たちは NR4A2 の発現および機能の選択的な制御を通じて、病原性 T 細胞のサイトカイン産生を特異的にコントロールすることにより、MS の病態制御を図る新たな治療戦略の可能性を示した。

#### 文献

Satoh, J-i et al. Microarray analysis identifies an aberrant expression of apoptosis and DNA damage-regulatory genes in multiple sclerosis. *Neurobiol. Dis.* 18:537-550, 2005

#### 健康危険情報

なし

#### 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：

##### 1) 発明の名称

IL-17 産生抑制物質およびそのスクリーニング方法

発明者：大木伸司、三宅幸子、山村 隆 他  
一名

出願日：2007年2月28日

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

##### 2) 発明の名称

IL-17 に起因する炎症を改善するための医薬組成物

発明者：大木伸司、三宅幸子、山村 隆 他  
一名

出願日：2007年2月28日

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

出願番号または公開番号：出願準備中のため  
なし

実用新案登録：なし

## ヒト Th17 細胞のケモカイン受容体

分担研究者 山村 隆  
研究協力者 佐藤 和貴郎、荒浪 利昌  
国立精神・神経センター神経研究所 免疫研究部

**研究要旨** 多発性硬化症 (MS) の動物実験モデルでは、近年 IL-17 を産生する CD4+T 細胞の病原性が認識されている。IL-17 は MS 患者の病変部位で増加しており、何らかの重要な役割を果たしていると考えられる。我々は、前年度、ヒト Th17 細胞が、CCR2+CCR5-であることを明らかにした。一方で、海外の研究グループは、CCR4+CCR6+ T細胞が Th17 細胞であると報告した。本年度は、これら 2 種の Th17 細胞のフェノタイプ及び機能を比較するとともに、Th17 細胞のケモカインへの遊走特性を解析した。その結果、CCR2+CCR5-T細胞は、CCR4+CCR6+Th17細胞とは異なる分画であることが判明した。また、ヒト Th17 細胞は、CCR2 リガンドである CCL2 へ遊走し、ヒト Th17 細胞の移動、遊走には、CCR2-CCL2 系が重要であると考えられる。今回我々が解析した、2 種の Th17 分画の頻度は、健常者と MS 患者で同等であった。Th17 細胞の MS 病態への関与を明らかにして行く上で、今後は、健常者と MS 患者の Th17 細胞の機能比較が重要であると考えられる。

### A. 研究目的

多発性硬化症 (MS) の動物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 細胞が発症に重要な病原性 T 細胞であると考えられてきた。しかし、近年、IL-17 を産生する CD4+ T 細胞が、より強い病原性を発揮することが示された。その後、この細胞群が、Th1, Th2 細胞とは異なる分化経路を辿る細胞であることがマウスで証明され、Th17 細胞と名づけられた。MS における Th17 細胞の意義はまだ確立していないものの、IL-17 は MS 患者の病変で増加しており、何らかの重要な役割を果たしていると考えられる。ヒトの Th17 細胞は分化に必要なサイトカインの種類などマウスと異なる点が幾つか指摘されており、ヒト T 細胞での研究が重要である。一方マウスではまだ解析が進んでいない領域として、Th17 細胞のケモカイン受容体の研究がある。

ケモカインは特定の細胞 (ケモカイン受容体発現細胞) を遊走・活性化させる作用をもち、免疫反応・炎症反応が「適材適所」でおこるために生体がつメカニズムである。ナイーブ CD4+T 細胞が活性化し、エフェクター細胞に分

化すると、独特の炎症性ケモカイン受容体を発現するようになる。Th1 細胞は CCR5 や CXCR3 を、Th2 細胞は CCR4 や CCR8、CRTh2 を発現する傾向があり、T 細胞の分化とケモカイン受容体の発現は協調して制御されていると考えられる。Th17 細胞が Th1, Th2 細胞とは異なる分化経路を辿る細胞であるならば、Th1 細胞や Th2 細胞とは違った特有のケモカイン受容体を発現している可能性が考えられる。そのような仮説に基づき、我々は前年度、ヒト Th17 細胞が、CCR2+CCR5- T細胞であることを報告した。一方で、他の研究グループが、CCR4+CCR6+ T細胞が Th17 細胞であると報告した。本年度は、これら 2 種の Th17 細胞のフェノタイプ及び機能の比較と、Th17 細胞のケモカインへの遊走特性を明らかにすること、更にはこれらの分画を健常者と MS 患者で比較し、Th17 細胞の MS 病態への関与を解析することである。

### B. 研究方法

- #1. 対象として、健常者 10 例と MS 患者 8 例の末梢血単核球 (PBMC) を用いた。
- #2. 我々とは異なる研究グループから報告のあった、ヒト Th17 細胞集団 (CCR4+CCR6+) と、