

陽性の場合には希釈倍率で半定量的に抗体価を測定した。

研究結果

150 例中、13 例の成人例および 16 例の小児例の計 29 例で抗 MOG 抗体が同定された(表)。男女比は 16:13 でやや男性に多かった。平均発症年齢は 20 歳で、平均罹病期間は 6.4 年、平均発作回数は 2.2 回で、最終 EDSS は中央値が 1.0 で平均値が 1.2 と低かったが、ほとんどの症例においてステロイド治療反応性が良いためと考えられた。成人では NMOSD、特に再発性視神経炎や両側性視神経炎での陽性頻度が高く、非典型的な MS でも陽性症例が散見された。典型的な MS では、高度に進行した二次進行型 MS (EDSS 8.0) で 1 人陽性となったのみであった。小児では、ADEM や ADEM 様症状で発症した MS 例で高頻度に陽性となり、抗 MOG 抗体が ADEM の病態に強く関わっていることが示唆された。小児においても視神経炎における陽性頻度は比較的高く、特に両側視神経炎は全例陽性であった。脊髄炎を呈した症例では腰髄病変による排尿障害の頻度が高かった。

考察

抗 MOG 抗体は、小児 ADEM もしくは ADEM 様症状で発症した小児 MS 例で高頻度に陽性になることが示唆された。成人では両側性視

神経炎において陽性頻度が高い傾向にあり、非典型的な MS や、他の seronegative NMO においても病態に関与しているケースがあり得ると考えられる。多くの症例がステロイド治療に反応し、予後良好であるという特徴を有している。一方で、典型的な MS においても陽性になることがあり、その特異性については注意が必要である。

結論

小児 ADEM、ADEM で発症する小児 MS、視神経炎、抗 AQP4 抗体陰性 NMOSD などの炎症性脱髄疾患において抗 MOG 抗体が陽性となり、単一の疾患スペクトラムを形成している可能性が示唆された。今後抗 MOG 抗体が病態にどのように関わっているかを解析する必要がある。

参考文献

1. Sato DK, et al. Distinction between MOG antibody-positive and AQP4 antibody-positive NMO spectrum disorders. Neurology (in press)

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

表. 抗 MOG 抗体測定症例の臨床診断と結果

臨床診断	成人発症		小児発症		計
	陽性	陰性	陽性	陰性	
NMO (ON+LETM)	1	7	1	0	9
NMOSD-ON (両側性、再発性の視神経炎)	4	7	2	0	13
NMOSD-LETM (単相性、再発性の脊髄炎)	1	11	0	0	12
ADEM (単相性、再発性)	1	7	5	8	21
CIS (片側性の単相性視神経炎を含む)	2	3	2	3	10
MS (非典型例を含む)	4	73	6	2	85
計	13	108	16	13	150

* 全症例抗アクアポリン4抗体陰性

NMO, neuromyelitis optica; ON, optic neuritis; LETM, longitudinal extensive transverse myelitis;

ADEM, acute disseminated encephalomyelitis; CIS, clinically isolated syndrome; MS, multiple sclerosis

小児期における治療抵抗性多発性硬化症の臨床的特徴

研究分担者 原 寿郎¹⁾

共同研究者 鳥巢 浩幸^{1,2)}、石崎 義人¹⁾、酒井 康成¹⁾、日本小児免疫性脳炎研究グループ

研究要旨

我々は小児脱髄性疾患の全国調査結果をもとに、頻回の再発を認めた小児 MS と後遺症を残した小児 MS 例を解析し、小児 MS の治療抵抗性を検討した。小児 MS 患者 62 例の年間再発回数は MS 罹患期間とともに低下する傾向を認めた。罹病期間 60 か月以内の小児 MS 39 例のうち再発回数が 1.5 回/年以上の初期高率再発 MS は 13 例（平均発症年齢 10.2 歳）でオリゴクローナルバンド陽性率が高い傾向を認めた。初期の炎症所見や後遺症では低率再発群と明らかな差はなかった。視力障害を後遺症とした MS 17 例（27%）は、視力障害のない MS と比較し、発症年齢、罹病期間、再発回数に差はなかったが、MRI で造影病変を多く認め（ $p = 0.010$ ）、脊髄障害の合併頻度が高かった（ $p = 0.014$ ）。小児 MS では、局所性に強い炎症を示し、少ない再発回数で後遺症を残す症例が存在することから、より有効な治療の検討が必要である。

研究目的

小児の多発性硬化症（MS）は従来、成人 MS と比較して神経学的予後は良好と考えられていたが、近年の調査で小児 MS は進行型 MS に至る年齢が若年であること¹⁾や認知障害や行動異常などの後遺症が認められることが報告され、必ずしも予後良好と言えない知見が集積されるようになった。また、小児 MS は病初期に成人 MS よりも再発頻度が高いこと²⁾や rapidly worsening MS と称されるタイプが存在する³⁾ことが報告されている。今回、我々は小児脱髄性疾患の全国調査の結

果をもとに、病初期に頻回の再発を認めた小児 MS と後遺症を残した小児 MS 例の解析を行い、小児 MS の治療抵抗性を検討した。

研究方法

全国疫学調査は、標準的な疫学手法を用いて、全国の小児科を標榜する病院（950 施設）に対して患者数調査（一次調査）を実施した後、臨床像に関する調査（二次調査）を実施した。対象は 2005 年 1 月 1 日から 2007 年 12 月 31 日の 3 年間に当該施設を受診した小児急性脱髄性疾患患者とした。MS の診断は International pediatric MS Study Group⁴⁾による定義案を用いた。二次調査では、一次調査

1) 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野(小児科)

2) 福岡歯科大学総合医学講座小児科学分野

にて患者ありと回答のあった施設に対し調査票を送付し、患者背景、臨床症候、検査所見、MRI 画像、過去 1 年間の治療方法、障害度、合併症に関して調査した。

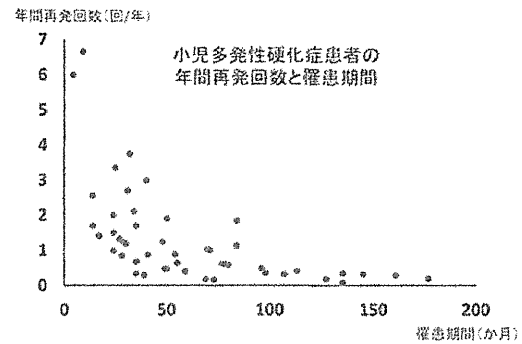
(倫理面への配慮)

本調査研究は、九州大学医学研究院等倫理委員会の承認を得ている (20-64 号)。

研究結果

1) 再発頻度に基づく検討

小児 MS 患者 62 例の年間再発回数と罹病期間の関係は右図のとおりであり、短期的には罹病期間が長くなるにつれて年間再発回数は低下していた。罹病期間 60 か月未満の小児 MS 患者 39 例のうち平均再発回数が 1.5 回/年以上の高率再発 MS 患者は 13 例 (男 6, 女 7) で 36% を占め、高率再発患者では性差のない傾向を認めた ($p = 0.119$)。平均発症年齢は高率再発患者 10.2 歳、低率再発患者 8.4 歳であった ($p = 0.124$)。発症時のけいれんは高率再発患者で有意に少なかった (0 vs. 30%: $p = 0.034$)。髄液検査では高率再発群でオリゴクローナルバンド (OCB) 陽性率が高い傾向を認めた (50 vs. 14%: $p = 0.074$)。MRI 所見では側脳室周囲 ($p = 0.106$)、皮質下白質病変 ($p = 0.061$) を高率再発患者に多く認めた。ガドリニウム (Gd) 増強病変の頻度には差を認めなかった (56 vs. 63%)。両群でステロイド以外の免疫抑制剤使用の割合に差はなかったが、高率再発群で IFN β 1b 導入患者の割合が高い傾向を認めた (54 vs. 17%: $p = 0.056$)。後遺症の検討では、脊髄障害 (8 vs. 9%)、視力障害 (23 vs. 30%)、認知機能



障害 (8 vs. 9%) であり、両群に明らかな差を認めなかった。

2) 後遺症 (視力障害) に基づく検討

小児 MS 患者 62 例のうち視力障害を後遺症として認めた MS は 17 例 (男 3, 女 14) で全患者の 27% を占めた。視力障害のない MS は 45 例 (男 17, 女 28) で、後遺症群で女性が多い傾向を認めた ($p = 0.130$)。平均発症年齢 (8.7 vs. 8.0 歳)、平均罹病期間 (57 vs. 61 か月)、平均再発回数 (1.8 vs. 1.1 回/年) では両群に差はなかった。発症時の症状と血液・髄液所見に明らかな差はなかった。MRI 所見では Gd 増強病変 (83 vs. 39%) を後遺症群に多く認めた ($p = 0.010$)。ガンマグロブリン療法の施行は後遺症群で高い傾向があった (18 vs. 2%: $p = 0.059$) が、ステロイド以外の免疫抑制剤使用の割合は変わらなかった (18 vs. 9%)。後遺症の検討では、脊髄障害の合併頻度が高かった (29 vs. 4%: $p = 0.014$)。

考察

本研究は、我が国の小児 MS が、初期に高頻度に再発し、罹病期間とともに再発頻度が低下する傾向を示し、初期の高頻度再発群は性差を認めず、平均年齢が高く、OCB 陽性

率が高い傾向を認めることを明らかにした。さらに、高頻度の再発と初期の炎症所見との関連性、ならびに高頻度再発と後遺症との関連性は低いことを明らかにした。

一方、小児期に視力障害を残す MS 症例は、女性に多い傾向を認め、平均再発回数や罹病期間と明らかな関連はなく、発症時の症状や検査値に特徴がなかった。しかし、MRI で Gd 増強病変を認める頻度が高く、脊髄障害の合併も高く、多巣性かつ局所での強い炎症が示唆された。

本研究は、小児 MS で、ステロイド反応性は良好であるが、病初期に頻回に再発する、“ステロイド依存性 MS” と、発症初期より強い炎症を示して後遺症を残す、“ステロイド抵抗性 MS” の存在を示唆する。成人では rapidly worsening MS に対して強力な免疫療法を行う治療案があるが、小児 MS では治療方針が確立されていない。本研究では、視力障害を残す MS 症例は、全身性の炎症との関連は低いが、局所での炎症は強く、少ない再発回数で障害を残すことがうかがえた。小児 MS の予後改善に向けて、治療抵抗性を示す症例に対応する、免疫療法や新規治療薬の小児への応用を検討する必要がある。

結論

全国調査の結果から、小児 MS は発症初期の再発頻度が高いが、必ずしも後遺症には結びつかないことが示唆された。しかし、MS には局所性に強い炎症を示すタイプが存在し、少ない回数で後遺症を残すことが示唆さ

れた。小児 MS の予後改善のためには治療法の確立が望まれる。

文献

1. Renoux C, et al. Natural history of multiple sclerosis with childhood onset. N Eng J Med 2007; 356: 2603-13.
2. Gorman MP, et al. Increased relapse rate in pediatric-onset compared with adult-onset multiple sclerosis. Arch Neuro 2009; 66:54-59.
3. Ness JM, et al. Clinical features of children and adolescents with multiple sclerosis. Neurology 2007; 68: S37-S45.
4. Krupp LB, et al. International Pediatric MS Study Group. Consensus definitions proposed for pediatric multiple sclerosis and related disorders. Neurology 2007; 68: S7-12.

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

中枢神経系自己免疫炎症における髄膜リンパ濾胞構造の解析

～髄膜形態からみた視神経脊髄炎と多発性硬化症の免疫病態の相違点～

分担研究者 西澤正豊¹⁾

共同研究者 河内 泉¹⁾, 佐治 越爾¹⁾, 穂刈万李子¹⁾, 横関 明子¹⁾, 荒川武蔵¹⁾,
豊島 靖子²⁾, 柿田 明美²⁾, 高橋 均²⁾

研究要旨

自己免疫疾患では慢性炎症の過程で標的臓器内の異所性 lymphoid neogenesis (LN) が重要な役割を持つ可能性が示唆されている。中枢神経系自己免疫疾患の一つである多発性硬化症 (multiple sclerosis; MS) において、髄膜に LN 構造や B 細胞の集簇が存在し、皮質には強い脱髄と neurites の変性、ミクログリアの活性化を認めることが報告されている。そこで本研究では中枢神経系炎症性自己免疫疾患の中でも視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica; NMO) と anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) 陽性肥厚性硬膜炎 (hypertrophic pachymeningitis; HP) を対象に、髄膜における LN 形態を解析し、各疾患における免疫病態機序の相違点を明らかにすることを目的とした。NMO 剖検脊髄では、脱髄病変を超える広範なアクアポリン 4 (AQP4) 染色性の低下の他に、特に active stage に著明な炎症細胞浸潤を伴った髄膜病変を認めた。この髄膜には CD45RO⁺T 細胞, CD20⁺B 細胞, Ki67⁺CD138⁺形質芽細胞, Ki67^{neg}CD138⁺形質細胞の他に、MHC class II 陽性抗原提示細胞の盛んな増生を認めたが、NMO の髄膜には CD21⁺CD35⁺濾胞樹状細胞を含む germinal center を見出せなかった。これに対して ANCA 陽性 HP では、炎症性肉芽をもつ肥厚した硬膜に、CD21⁺CD35⁺濾胞樹状細胞を含む germinal center 構造を認めた。髄膜におけるリンパ類似濾胞構造の形態学的解析から、自己免疫病態の形成と維持において NMO と MS は異なるスペクトラムを有する疾患である可能性が示唆された。

研究目的

自己免疫疾患では慢性炎症の過程で標的臓器内の lymphoid neogenesis (LN) が重要な役割を持つ可能性が示唆されている¹⁾。古典的に LN は、1) 高内皮細静脈 (high endothelial venules; HEV) を含む T 細胞領域、2) CD21⁺CD35⁺濾胞樹状細胞を含む germinal center (B 細胞領域) で構成されることから、LN が存在することによりリンパ球生存ニッチが確立し、抗原特異的 T 細胞の維持と抗体産生をはじめとした自己免疫病態が加速すると考えられている。Sjögren 症候群では標的臓器である唾液腺に LN が存在し、その場で SSA/Ro, SSB/La に対する抗体を産生している。また中枢神経系炎症性自己免疫疾患の一つである多発性硬化症 (multiple sclerosis; MS) においても、髄膜に LN 構造や B 細胞の集簇が存在し、皮質には強い脱髄と neurites の変性、ミクログリアの活性化を認めることが複数報

告されている^{2,3)}。そこで本研究では、中枢神経系炎症性自己免疫疾患の中でも neuromyelitis optica (NMO) と anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) 陽性肥厚性硬膜炎 (hypertrophic pachymeningitis; HP) を対象に、髄膜における LN 形態を解析し、中枢神経系炎症性自己免疫疾患における免疫病態機序の相違点を明らかにすることを目的とした。

研究方法

NMO 剖検 9 症例 (Wingerchuk らによる改訂 NMO 診断基準を満たす definite form NMO 7 例、長椎体に及ぶ脊髄病変のみを認める limited form NMO 2 例) の髄膜を病理学的に解析した。全例で、NMO に特異的とされる広範なアクアポリン 4 (AQP4) 染色性の低下を示す 'pattern-specific loss of AQP4' を脱髄病変に認めた。さらに、ANCA 陽性 HP の生検・剖検 7 症例 (myeloperoxidase [MPO]-ANCA 陽性 HP 5 症例, proteinase 3 [PR3]-ANCA 陽性 HP

1) 新潟大学脳研究所神経内科学分野 2) 新潟大学脳研究所病理学分野

2 症例) の髄膜を病理学的に解析した。脊髄病変を認めない 6 症例 (アルツハイマー型認知症など) を疾患対象群とした。

研究結果

NMO 剖検脊髄では、脱髄病変を超える広範な AQP4 染色性の低下の他に、中心灰白質を主体とした central type の脊髄病変と、著明な炎症細胞浸潤を伴った髄膜に接する subpial type の脊髄周辺白質病変を認めた。特に active stage の脊髄炎症性脱髄病変には、著明な炎症細胞浸潤を伴った髄膜病変を認めた。この髄膜には CD45RO 陽性 T 細胞, CD20 陽性 B 細胞, Ki67⁺CD138⁺形質芽細胞, Ki67^{neq}CD138⁺形質細胞の他に、MHC class II 陽性抗原提示細胞の盛んな増生を認めたが、NMO の髄膜には CD21⁺CD35⁺濾胞樹状細胞を含む germinal center は見出せなかった。

これに対して ANCA 陽性 HP では、炎症性肉芽をもつ肥厚した硬膜に、CD21⁺CD35⁺濾胞樹状細胞を含む germinal center 構造を認めた。対照疾患症例の髄膜には LN を認めなかった。

考察

NMO は疾患特異抗体 NMO-IgG・AQP4 抗体の発見により、MS とは異なる疾患として分離されてきた。免疫病態学的には、1) NMO で AQP4 抗体・補体を含めた液性免疫機構が病態形成に重要な役割を果たすこと、2) NMO の髄液では IL-6, IL-1 β をはじめとした炎症性サイトカインが高値であること⁴、3) NMO の AQP4 特異的 T 細胞は T_H17 へ偏奇していること、4) NMO の末梢血には形質芽細胞の盛んな増生を認めることなどの MS との相違点が明らかにされつつある。本年度、我々は NMO の髄膜に CD21⁺CD35⁺濾胞樹状細胞を含む germinal center 構造を認めないが、CD45RO 陽性 T 細胞, CD20 陽性 B 細胞, Ki67⁺CD138⁺形質芽細胞, Ki67^{neq}CD138⁺形質細胞, MHC class II 陽性抗原提示細胞の盛んな増生を認めることを明らかにした。特に、形質芽細胞に注目すると、抗体産生能を有す形質芽細胞は増殖能・分化能を維持しながら末梢血だけではなく、CNS にも存在することを病理学的に証明した。NMO では髄液 oligoclonal bands (OCB) が 15-30%と、MS と比較して陽性率が低いこと、NMO では末梢血の AQP4 抗体産生形質芽細胞が増加していることから、AQP4 抗体の産

生部位は主に髄腔外に存在すると考えられてきた。一方で Bennett らは NMO の髄液細胞から抽出された免疫グロブリン配列から AQP4 リコンビナントモノクローナル抗体を作成し、CNS に存在する抗体産生細胞の意義を問うている⁵。本研究結果は Bennett らの観察結果を支持するものである。

以上から、MS の末梢血には形質芽細胞の増加はなく、髄膜に B 細胞濾胞を持つリンパ節類似構造が存在することで、CNS に隔絶された免疫病態を形成するとされる。一方、NMO では MS とは異なる機構で免疫反応が増幅・制御されている可能性が示唆された。

さらに本研究では、ANCA 陽性 HP において炎症性肉芽をもつ肥厚した硬膜に、CD21⁺CD35⁺濾胞樹状細胞を含む germinal center 構造を認めることを明らかにした。Sjögren 症候群と同様に、慢性炎症の過程で標的臓器内に LN が形成され、LN が存在することにより、リンパ球生存ニッチェが確立し、抗体産生をはじめとした自己免疫病態が加速している、すなわち肥厚硬膜において ANCA が産生されている可能性が示唆される⁶。

結論

髄膜におけるリンパ類似濾胞構造の解析から、自己免疫病態の形成と維持において NMO と MS は異なるスペクトラムを有する疾患である可能性が示唆された。

文献

1. Aloisi F et al. Nature reviews Immunology. 2006 Mar;6(3):205-17.
2. Magliozzi R et al. Brain. 2007 Apr;130(Pt 4):1089-104.
3. Lucchinetti CF et al. N Engl J Med. 2011 Dec 8;365(23):2188-97.
4. Yanagawa K et al. Neurology. 2009 Nov 17;73(20):1628-37.
5. Bennett JL et al. Ann Neurol. 2009 Nov;66(5):617-29.
6. Yokoseki A et al. Brain. first published online: 2013 Nov 22 (Accepted Sep 15, 2013), doi: 10.1093/brain/awt314.

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

「脱髄性疾患におけるグルコース・乳酸トランスポーター発現の神経病理学的検討」

研究分担者：吉良潤一 1)

研究協力者：眞崎勝久 1)、鈴木諭 2)、山崎亮 3)、宇根隼人 1)、渡邊充 1)、佐藤眞也 1)、岩城徹 2)

研究要旨

これまで私たちは、多発性硬化症(multiple sclerosis, MS)や視神経脊髄炎(neuromyelitis optica, NMO)、Baló 病の脱髄病巣で広汎に connexin(Cx)蛋白が脱落していることを報告した 1)2)。Cx は細胞間で接合して gap junction (GJ)を形成し、GJ を介した種々の物質の出入によりグリアはシンシチウムを形成している。それ故、私たちは早期からのグリア細胞間の機能的連絡障害(グリアシンシチウムの破綻)が脱髄の病態に重要である可能性を指摘した。しかし、グリアシンシチウムの破綻が、どのような機序で脱髄や軸索障害を起こすかは全く不明である。今回、脳内エネルギー代謝に必須なトランスポーターである facilitated glucose transporter (GLUT)と monocarboxylic acid transporter (MCT)に新たに着目した。中枢神経系における GLUT や MCT の発現パターンを評価し、MS 病巣における変化を免疫組織化学的に検討した。MS 病巣では、炎症細胞浸潤が顕著な血管内皮においても GLUT1 や MCT1 は比較的保たれていた一方、アストロサイトの MCT4 は発現の低下が認められた。アストロサイトを介した軸索までのエネルギー供給が障害されている可能性が示唆され、脱髄や軸索障害の形成や進展に寄与していることが推測された。

研究目的

GLUT は 12 回膜貫通型の膜結合性糖蛋白質で、グルコースの促進拡散型輸送を担う主要蛋白であり、これまで 13 種類のアイソフォームが同定されている。MCT は 14 種類のアイソフォームが報告されているが、乳酸、ピルビン酸などモノカルボン酸の輸送に関わるものは MCT1-4 といわれる 3)。ヒト神経疾患を対象とした GLUT や MCT の研究報告は少なく、脱髄性疾患に関しては未だ検討されていない。ごく最近、オリゴデンドロサイトを介した軸索への乳酸供給が報告され 4)、血液中の栄養を神経細胞まで伝達する際のグリア細胞の役割がより注目されるようになった 5)。

今回、中枢神経系における GLUT や MCT の発現パターンを神経病理学的に評価し、MS の脱髄病巣における変化を検討する。

研究方法

多発性硬化症の剖検標本 6 例を用い、GLUT1、GLUT3、GLUT5 および MCT1、MCT2、MCT4 の免疫染色を施行した。比較のため、アストロサイトマーカーとして AQP4、GFAP、Cx43、オリゴデンドロサイト/ミエリンマーカーとして、Klüver-Barrera 染色および MBP、MOG、MAG、Nogo-A の免疫染色を施行した。さらに、軸索マーカーとして neurofilament や APP の免疫染色を行った。重症筋無力

- 1) 九州大学大学院医学研究院神経内科学
- 2) 同神経病理学
- 3) 同神経治療学寄附講座

症(myasthenia gravis: MG)1例を用いて正常発現パターンを確認した。さらに、虚血やアストログリオシスにおける発現変化を評価するため脳梗塞1例と、脳炎1例を用いた免疫染色も施行した。

研究結果

MG症例では、GLUT1とMCT1は灰白質、白質とも血管内皮細胞に広く発現が確認された。MCT2とGLUT3は神経細胞や軸索に染色性が認められた。MCT4は、灰白質、白質のアストロサイトに豊富に発現を認め、血管周囲足突起や軟膜にも発現が確認された。GLUT5はミクログリアに染色性を認めた。

脳梗塞病巣では、血管内皮細胞におけるGLUT1、MCT1の発現は著明に低下していた。病巣内の障害された軸索の一部にGLUT3の染色性が強く認められた。MCT4は病巣内では発現が低下し、病巣周囲の反応性アストロサイトで染色性が認められた。病巣内のマクロファージや、辺縁部の活性化ミクログリアはGLUT5を強く発現していた。脳炎症例では反応性アストロサイトにおけるMCT4の発現亢進が認められた。

MS急性期脱髄病巣においては、perivascular cuffを認める血管周囲においても、GLUT1やMCT1の発現は比較的保持されていた。一方、血管周囲のアストロサイト足突起におけるMCT4の発現は低下していた。GLUT3は障害された軸索で一部染色性が強調されており、APPの染色パターンに類似していた。GLUT5は、病巣内および病巣辺縁部の活性化ミクログリア/マクロファージで強い染色性が認められた。

MS慢性期病巣においては、MCT4の発現亢進を認め、アストログリオシスを反映した所見と考えられた。

考察

GLUT、MCTのヒト中枢神経系における正常発現パターンと、MSにおける発現変化について検討した。MS病巣では、炎症細胞浸潤が顕著な血管内皮においてもGLUT1やMCT1は比較的保たれていた一方、アストロサイトのMCT4は発現の低下が認められ、アストロサイトを介したエネルギー供給が障害されている可能性が推測された。また、GLUT3が病巣内で一部染色性が亢進していた機序は明らかでないが、興味ある知見と考えられた。

結論

脱髄性疾患では急性期からGLUTやMCTの発現パターンの変化が生じており、グリア細胞を介した軸索までの栄養供給が障害されている可能性が示唆された。今後は症例数を増やして病理学的変化をより詳細に解析するとともに、EAEやin vitro実験を用いてその意義を検討する予定である。

参考文献

- 1) Masaki K, et al. Acta Neuropathol 123: 887-900, 2012
- 2) Masaki K, et al. PLoS One 8: e72919, 2013
- 3) Simpson IA, et al. J Cereb Blood Flow Metab 27:1766-91, 2007
- 4) Lee Y, et al. Nature 487:443-8, 2012
- 5) Saab AS, et al. Curr Opin Neurobiol 23:1065-72, 2013

健康危険情報：なし

知的財産権の出願・登録状況：なし

視神経脊髄炎アストロサイトパチー病変における多様性の検討

研究分担者 藤原一男^{1,2}

共同研究者 三須建郎¹、高井良樹²、西山修平²、中島一郎²、今野秀彦³、糸山泰人⁴、青木正志²

【研究要旨】

視神経脊髄炎 Neuromyelitis optica (NMO) は、抗アクアポリン 4 (AQP4) 抗体が関連する炎症性疾患であり、その標的抗原がアストロサイトの足突起に高発現するアクアポリン 4 (AQP4) であることが報告された。我々は、NMO 病巣の免疫組織学的検討により、AQP4 の欠落とともにグリア線維性酸性蛋白 (GFAP) の欠落を伴う事、一方髄鞘蛋白 (MBP) の染色性は保たれることから、NMO は脱髄を主体とする MS とは基本的に異なるアストロサイトパチーであることを報告した。本研究では、NMO の病態は補体介在性の他にも補体を介さずに生じると解されることを病理学的に明らかにし、その病態意義について報告した¹。

【研究目的】

視神経脊髄炎 Neuromyelitis optica (NMO) は、視神経と脊髄が選択的に障害される中枢神経系の炎症性疾患であり、近年 NMO の患者血清には中枢神経系の微小血管や軟膜に特異的に反応する NMO-IgG が見出され、その標的抗原がアストロサイトの足突起に高発現するアクアポリン 4 (AQP4) であることが報告された。我々は、NMO 病巣の免疫組織学的検討により、AQP4 の欠落とともにグリア線維性酸性蛋白 (GFAP) の欠落を伴う事、一方髄鞘蛋白 (MBP) の染色性は保たれることから、NMO は脱髄を主体とする MS とは基本的に異なるアストロサイト関連疾患であることを報告、2008 年度に本班会議で初めてアストロ

サイトパチーと呼称し発表した。以後アストロサイトパチーは、Balo 病など様々な病態に関連することが報告されている²。今回、NMO 病変の多様性を検討し、その病態について考察することを目的とした。

【研究方法】

NMO 7 例 (うち 3 例は AQP4 抗体陽性)、急性 MS 6 例、二次進行性 MS 6 例、一次進行性 MS 6 例、正常対照例 3 例の剖検標本 (東北大学、ウィーン大学) を用い、Wingerchuk 基準を満たすか、AQP4 抗体陽性をもって NMO と判断された。型の如く標本を作製し HE、KB 染色を施行した。各病巣における免疫グロブリン (IgG, IgM) や活性化補体 (C9neo)、CD68、CD45LCA、AQP4、AQP1、GFAP、MAG、MBP 他の発現を免疫組織学的に検討した。

- 1) 東北大学神経内科
- 2) 東北大学多発性硬化症治療学
- 3) 西多賀病院神経内科
- 4) 国立精神神経医療センター病院

【研究結果と考察】

今回、NMO・MS 剖検脳を含む急性期の疾患群における神経病理学的検索を行い、マクローファージの浸潤が一様に認められる急性期 NMO 病変におけるアストロサイト傷害には少なくとも 6 種の多様性がある事を見出した。主に、1 型・2 型病変は、活性化補体である C9neo の沈着を特徴とし、広範な AQP4 や GFAP 染色性の低下と細胞質有意の TUNEL や補体の陽性像を認める壊死性変化を特徴とする病変であった。3 型は、錐体路のワーラー変性に伴う脱髄変化を特徴とし、4 型は純粋な AQP4 の脱落のみを認め、組織傷害を全く伴わない病変であった。5 型は、補体沈着の無い領域において AQP4 および GFAP の低下を認め、一方脱髄の全くない純粋なアストロサイト病変と思われる、アストロサイト足突起の変性所見 clasmatodendrosis (突起の数珠状変化・崩壊) の特徴を有し、核に局在する TUNEL 陽性所見を認めた。6 型は、補体の沈着しない領域に、アストロサイトの変性と脱髄を特徴とする病変であり、所々に AQP4 の発現と脱落の所見が混在する病変であり、急性 MS 等で比較的に見られるパターンを呈した。これら 1 型～6 型の病変は、同じ患者の同じ病変内においても部位によって多様に認められており、中核となる抗体・補体介在性のアストロサイト傷害に起因する一次性的ないし二次性の病態も含む多様な変化であり、相互に関連する一連の病態であることが推察される⁵⁾。一方、MS においては急性 MS の脱髄病変において部分的に AQP4 の脱落を呈することが見いださ

れたがアストロサイトの広範な脱落は見られず、また慢性 MS ではいずれのアストロサイト脱落も認められなかった。上記 NMO における 6 型と急性 MS 病巣における AQP4 染色性の類似性が見いだされた。

【結論】

NMO の病態機序においては、病理学的には少なくとも補体介在性と補体非介在性の病態機序があると思われる、補体介在性壊死に加えてアポトーシス様の病態が想定される等、アストロサイト傷害における多様性を有している事が示唆された¹⁾。これらの所見は、NMO の治療やアストロサイト関連病態機序を考える上で、また近年明らかになりつつある免疫グロブリンや補体を標的とする分子標的治療の有効性を考察する上で、示唆に飛ぶ所見であると考えられた。また、MAG 病変など NMO と急性 MS には共通する脱髄機序を有することが示唆された。

【引用文献】

1. Misu T, Hoftberger R, Fujihara K, et al. Acta Neuropathol 2013;125:815-27.
2. Masaki K, Suzuki SO, Matsushita T, et al. PLoS One 2013;22:e72919.

【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

視神経脊髄炎におけるヒト化抗 IL-6 受容体モノクローナル抗体 トシリズマブの免疫調節効果について

研究分担者 山村 隆^{1,2}
共同研究者 松岡貴子¹, 千葉麻子^{1,3}, 荒浪利昌¹, 荒木 学², 中村雅一¹,
佐藤和貴郎¹, 三宅幸子^{1,3}

研究要旨

視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica, NMO) は主に脊髄と視神経を侵す自己免疫疾患で、自己抗体として抗アクアポリン 4 (AQP4) 抗体が同定されている。当研究部は、ヒト化抗 IL-6 受容体モノクローナル抗体トシリズマブ (Tocilizumab, TCZ) の NMO における安全性と効果を評価する調査研究を立ち上げた (SET-NMO; UMIN000005889, UMIN000007866)。TCZ 投与後に患者末梢血中の PB と抗 AQP4 抗体価が減少し、また再発回数の減少など臨床効果が認められ²⁾、PB が TCZ の標的である可能性が示唆された。しかし、内因性 IL-6 による NMO の免疫不均衡は PB の数的異常にとどまらず、多様な免疫細胞への直接的あるいは間接的な影響が免疫平衡を崩しうる。従って TCZ 治療により、NMO 患者の制御性細胞および自然免疫様リンパ球の数的異常が正常化する可能性が考えられ、今回解析を行った。TCZ 治療により、活性化 Treg 細胞および CD56^{high} NK 細胞の数が漸増した。また、5 名の NMO/NMOSD 患者のうち 3 名で、MAIT 細胞が増加していた。今回の結果は、TCZ による IL-6 受容体シグナル伝達の遮断により、NMO の免疫不均衡が是正されうることを示唆した。

背景と目的

視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica, NMO) は主に脊髄と視神経を侵す自己免疫疾患で、自己抗体として抗アクアポリン 4 (AQP4) 抗体が同定されている。当研究部は、抗 AQP4 抗体産生能を持つプラズマブラスト (plasmablast, PB) が抗 AQP4 抗体陽性 NMO 患者末梢血中で増加しており、PB の生存が IL-6 受容体シグナル伝達に依存することを示した¹⁾。これに基づき、ヒト化抗 IL-6 受容体モノクローナル抗体トシリズマブ (Tocilizumab, TCZ) の NMO における安全性と効果を評価する調査研究を立ち上げた (SET-NMO; UMIN000005889)。TCZ 投与後に患者末梢血中の PB と抗 AQP4 抗体価が減少し、ま

た再発回数の減少など臨床効果が認められ²⁾、PB が TCZ の標的である可能性が示唆された。

中枢神経系の自己免疫疾患である多発性硬化症 (multiple sclerosis, MS) 患者においては、制御性 T 細胞 (regulatory T cells, Treg) は数的に減少し、制御機能が低下していることが示された³⁾。また、MS 患者へのヒト化抗 CD25 抗体の投与後に、CD56^{high} 制御性ナチュラルキラー細胞 (CD56^{high} regulatory NK cells, CD56^{high} NK) が増加したことが示された⁴⁾。さらに、2013 年にはリウマチ患者への TCZ 投与後に CD56^{high} NK が増加したことが学会報告された⁵⁾。粘膜関連インバリアント T 細胞 (mucosal-associated invariant T cells, MAIT 細胞) は自然免疫と獲得免疫の橋渡しをする自然免疫様リンパ球で、炎症局所に浸潤して自己免疫を含む様々な免疫応答に関与すると

1 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 免疫研究部
2 国立精神・神経医療研究センター病院 多発性硬化症センター
3 順天堂大学医学部 免疫学講座

考えられているが、当研究部では、末梢血中 MAIT 細胞の頻度は MS 患者では健常者コントロール群と比較し低下しており、再発期にはさらに減少し、疾患活動性と逆相関することを示した⁶⁾。

NMO の免疫不均衡は PB の数的異常にとどまらず、内因性 IL-6 は多様な免疫細胞に直接的あるいは間接的に影響し、免疫平衡を崩しうる。従って TCZ 治療により、NMO 患者の制御性細胞および自然免疫様リンパ球の数的異常が正常化する可能性が考えられ、今回解析を行った。

研究方法

対象：2006 年の Neurology vol. 66 の診断基準を満たす NMO 患者 4 名、抗 AQP4 抗体陽性の NMO 関連疾患 (NMOSD) 患者 1 名、計 5 名。8mg/kg の TCZ を毎月一回点滴静注投与し、各回投与前の血液検体を採取した。

フローサイトメトリー：Treg 細胞⁷⁾ (activated Treg : CD3⁺CD4⁺CD45RA⁻FoxP3⁺)、CD56^{high} NK 細胞 (CD3⁻CD56^{high})、MAIT 細胞 (CD3⁺γ δ TCR⁻Vα 7.2⁺CD161⁺) のリンパ球における頻度および 1ul 中の数を算出し、TCZ 治療開始後の経時変化を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究計画は当センター倫理委員会の承認を受け、被検者より書面でインフォームドコンセントを得た。個人情報には連結可能匿名化された後厳重に保管され、データ発表の際は、個人を特定されないよう細心の注意を払った。

研究結果

TCZ 治療により、活性化 Treg 細胞および CD56^{high} NK 細胞の数が漸増した。また、5 名の NMO/NMOSD 患者のうち 3 名で、統計学的有意差には至らなかったが、MAIT 細胞が増加していた。

結論

今回の結果は、TCZ による IL-6 受容体シグ

ナル伝達の遮断により、NMO の免疫不均衡が是正されうることを示唆した。これらの機序については、今後の検討課題である。

参考文献

- 1) Chihara et al. Interleukin 6 signaling promotes anti-aquaporin 4 autoantibody production from plasmablasts in neuromyelitis optica. Proc Natl Acad Sci USA 2011;108:3701-6
- 2) Araki et al. Clinical improvement in a patient with neuromyelitis optica following therapy with the anti-IL-6 receptor monoclonal antibody tocilizumab. Mod Rheumatol 2013;23:827-31
- 3) Venken K. et al. Compromised CD4⁺ CD25^{high} regulatory T-cell function in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis is correlated with a reduced frequency of FOXP3-positive cells and reduced FOXP3 expression at the single-cell level. Immunology 2007;123:79-89
- 4) Bielekova B et al. Regulatory CD56^{bright} natural killer cells mediate immunomodulatory effects of IL-2Rα-targeted therapy (daclizumab) in multiple sclerosis. Proc Natl Acad Sci USA 2006;103:5941-6
- 5) Daien C I et al. presented at European League Against Rheumatism 2013
- 6) Miyazaki Y et al. Mucosal-associated invariant T cells regulate Th1 response in multiple sclerosis. Int. Immunol. 2011;23:529-35
- 7) Miyara M et al. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4⁺T cells expressing the FoxP3 transcription factor. Immunity 2009;30:899-911

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

多発性硬化症を対象とした免疫修飾薬 OCH の医師主導治験

研究分担者 山村 隆^{1,2)}

共同研究者 能登大介¹⁾、荒木学²⁾、佐藤和貴郎¹⁾、岡本智子³⁾、村田美穂³⁾、三宅幸子^{1,4)}

研究要旨

NKT 細胞の合成糖脂質リガンドである OCH は、マウス NKT 細胞の活性化に際して、IL-4 の選択的な産生を誘導し、多発性硬化症 (MS) の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) を抑制する。我々は OCH の多発性硬化症治療薬としての実用化を目指し、2012 年 11 月より OCH First in Human 試験 (OCH の経口単回投与試験) を医師主導試験として開始した。成人健常者を対象とした STEP1 試験において、ヒトでは OCH の経口吸収効率がきわめて高い事が示唆された。また、多発性硬化症病態に関与すると考えられている GM-CSF 産生 T 細胞の抑制や、自己免疫反応に関与すると考えられる遺伝子群の発現変化が認められた。多発性硬化症患者を対象とした STEP2 試験を 2014 年 3 月より開始する予定である。

研究目的

NKT 細胞の合成糖脂質リガンドである OCH は、マウス NKT 細胞の活性化に際して、IL-4 産生を選択的な産生を誘導する。その結果、OCH をマウスに経口投与すると、NKT 細胞の選択的 IL-4 産生を介した Th1 細胞免疫応答の抑制が起こり、多発性硬化症 (MS) の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) は抑制される¹⁾。また関節リウマチのモデルであるコラーゲン誘導関節炎、I 型糖尿病のモデルである NOD (non obese diabetes) マウス糖尿病、炎症性腸疾患のモデルである DDS 誘導腸炎などに対しても、OCH 経口投与は有効で、Th1 細胞の抑制と臨床症状の改善が確認されている。

さらにヒト NKT 細胞に対して Th2 サイトカインの優先的産生誘導が証明されたことから²⁾、

我々は OCH の物質特許を確保した上で、OCH 実用化をめざした臨床治験に必要な前臨床研究を進め、2012 年 11 月より OCH First in Human 試験 (OCH の経口単回投与試験) を医師主導試験として開始した。

研究方法

- 1) 対象: STEP1 試験においては、成人健常者を A ~ E の 5 コホートに各 3 例ずつ割り付け、計 15 例を対象とした。
- 2) フローサイトメトリー: OCH 投与前後の末梢血中の T 細胞、B 細胞、NKT 細胞などのリンパ球亜分画について、フローサイトメーターを用い解析した。
- 3) マイクロアレイ解析: 全血サンプルより RNA を抽出し、マイクロアレイ解析を行い、OCH 投与前後での遺伝子発現変化について、解析を行った。

- 1) 国立精神・神経医療研究センター (NCNP)
神経研究所 免疫研究部
 - 2) NCNP 多発性硬化症センター
 - 3) NCNP 病院 神経内科
 - 4) 順天堂大学医学部 免疫学講座
- ヒト MS の治療薬となることが期待されてきた。

(倫理面への配慮)

本研究計画は当センター治験審査委員会の承認を受けており、被検者より書面にてインフォームドコンセントを得た。個人情報には連結可能匿名化された後厳重に保管され、データ発表の際は、個

人を特定されないよう細心の注意を払った。

研究結果

成人健常者に対する OCH の投与により、2 例に軽度の白血球減少を認めたが、自然回復した。その他重大な副作用は認められなかった。

マウスやカニクイザルを用いた前臨床試験に基づく予想とは異なり、初回用量である A コホートにおいて OCH 血中濃度の測定が可能であり、ヒトでは OCH の経口吸収効率がきわめて高い事が示唆された。

またフローサイトメーター解析の結果、A～E コホートにおいて CD4 陽性メモリーT 細胞および CD8 陽性 T 細胞において、炎症性サイトカインである GM-CSF 産生分画および IFN- γ 産生分画が、投与前値に比べて減少する傾向を認めた。E コホートでは、GM-CSF 産生分画の減少は認められたが、IFN- γ 産生分画の減少は認められなかった。

マイクロアレイ解析を行ったところ、炎症や自己免疫反応に関与すると考えられる遺伝子発現の低下を認めた。

考 察

成人健常人に対する OCH 投与により、末梢血 T 細胞中の、GM-CSF 産生分画が減少する傾向を認めた。多発性硬化症の動物モデルである、EAE 発症には GM-CSF 産生 T 細胞が重要な役割を果たしていると推測されており^{3,4}、OCH 投与による T 細胞中の GM-CSF 産生分画の減少は、多発性硬化症病態の抑制に関与する可能性がある。また、マイクロアレイ解析による遺伝子発現の結果も多発性硬化症治療薬として、期待されるものであった。

結 論

OCH 投与によって、多発性硬化症病態に関与すると考えられている、GM-CSF 産生 T 細胞の抑制や、自己免疫反応に関与すると考えられる遺伝子群の発現変化が認められた。

文 献

1. Miyamoto K, et al. Nature 2001; 413: 531-534.
2. Araki M, et al. Curr Med Chem 2008; 15: 2337-2345.
3. Ponomarev ED, et al. J Immunol 2007; 178: 39-48.
4. El-Behi M, et al. Nat Immunol 2011; 12:568-75.

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：出願中

実用新案登録：なし

日本人多発性硬化症での Fingolimod (FIN) の効果と安全性： 使用前 2 年から使用 6 年迄の観察

関西多発性硬化症センター(1)、京都民医連中央病院神経内科(2)、入野医院めまいセンター(3)、京都博愛会病院(4)

齋田孝彦(1, 2, 3)、郝 琦(1)、森信人(2)、四方祐子(2)、中村慎一(2)、山内三智子(1)、齋田恭子(1, 4)

【目的】 sphingosine-1-phosphate receptor modulator Fingolimod (FIN) は、①CCR7 を介してリンパ節へホーミングしたリンパ球亜群の S1P₁ に結合することで、リンパ管、流血中へと移出されるのを抑制する作用や、②神経組織に結合して髄鞘再生を促進する作用によって、多発性硬化症 (MS) の再発・障害進行や脳萎縮進行を抑制する効果を有することが欧米人での治験で示されている。本研究では国内の第 2 相盲検試験に参加し、FIN を 6 月以上服用した本施設の 35 例の MS 患者を対象とし、投薬 2 年前から投薬 6 年間までの詳細な MRI 効果、臨床効果と安全性を評価した。

【対象】本施設で治験に登録した 43 人全員が centrally located long cord lesion (CLCL) の出現が無く再発寛解型 MS と臨床診断されていたが、盲検試験終了後に初めて実施した抗 aquaporin (AQP)-4 抗体検査で全員陰性であり、その後も一貫して CLCL 陰性、抗 AQP4 抗体陰性である。37 人が偽薬を含む治験薬を服用し、35 人が 6 月以降の実薬投与延長試験に参加し FIN 0.5mg 服用となった。服薬開始時の平均罹病期間 11.3 年、IFN 治療歴を有する患者が 48.6% を占めた。(表)

【方法】脳造影 MRI 撮影評価：少なくとも治験開始 1 年前から治験開始後 18 月の間（偽薬群の場合は FIN 服用開始後 12 月間を含む）は 4 週毎に造影 MRI 撮影した。1 8 月以後 6 年まで 3 か月毎に脳造影 MRI 評価を実施した。

臨床評価：治験開始 2 年前から開始後 6 年以上の今日までの全期間、3 ヶ月毎に実施臨床再発、重症度、有害事象を記録した。

【結果】脳造影病巣出現頻度は 1、2 月目と急速に段階的に減少し、3 月から 6 月目までさらに減少し、7 月目以後は低頻度で安定持続している。

臨床再発頻度は 1-3 月目、4-6 月目と段階的に減少するが、造影病巣数減少の速度より遅れて減少し、7 月目以降は低頻度が持続するが、4、5 年目にはさらに減少する。IFN 治療で年 1 回以上の再発があった約半数の患者でも、活動性 MRI 病巣と臨床再発抑制効果は、治療歴の無い患者とほぼ同様で、高い有効性が示された。

EDSS の変化は FIN 服用開始時の平均値が 1.8 であったが、1 年毎に対応するベースライン集団に比し低値となり、4 年目には 0.91(57%) ($p=0.0002$) と高度に有意な低下が続いている。

【安全性】治験参加登録した 43 人のうち 5 名は不適格（軽度肝機能障害 2 名、徐脈 1 名、軽度肺機能検査低値 1 名、軽度ブドウ膜炎 1 名）1 名は同意を撤回。37 人が治験投薬開始したが、Fingolimod 1.25mg 服用の 1 名は 1 月で肝機能正常上限の 5 倍を超え中止、偽薬投与の 1 名も 2 月で肝機能障害で中止。しかし、6 月目の延長試験以後、今日まで、肝機能検査値異常、初回投

与時の徐脈、房室ブロック、リンパ球数減少などの試験薬関連有害事象は無症候性で海外治験結果と同様であり、これまでFINに基づく有害事象により投薬を中止した例は無い。重篤な感染症も発生していない。ただMS歴12年女性がFIN服用3年で脳原発大型細胞悪性リンパ腫を発症し投与中止し、化学療法により3年後も安定している。また投与4年目に1名に乳腺癌が発生しFINを一時中止したが、術後にMS再発がありFINを再開している。悪性リンパ腫を含む発がん性については全世界でのデータで関連性はほぼ否定されている。2人が妊娠希望により投薬を中止した。

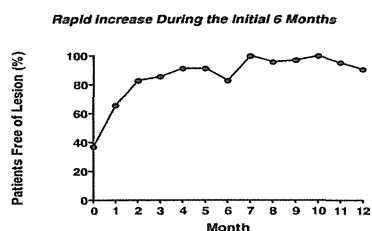
【結論】 FINは日本人MS患者で高い有効性を示すが、活動性抑制効果の十分な発現には3~6月を要する。障害度は5年目までに40%以上の有意な低下を示すことが証明された。0.5mgの長期投与で安全性のために投薬を中止した症例は無かった。

Baseline Characteristics of 35 Patients Followed for 0.5-6Years

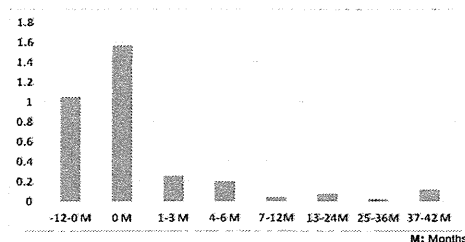
▪ Male/Female	10: 25
▪ Age of MS onset*	25.3 years
▪ Centrally located long cord lesion (CLCL)	0/35 (0%)
▪ AQP4 Ab positivity	0/35 (0%)
▪ Disease duration*	11.3 years
▪ Previous IFNβ usage	17/ 35 (48.6%)
usage duration*	28 months
▪ Annual relapse rate* month -12 to 0	1.63 (±1.17)
month -24 to 0	1.40 (±0.84)
▪ EDSS*	1.8 (±1.77)

* Average numbers

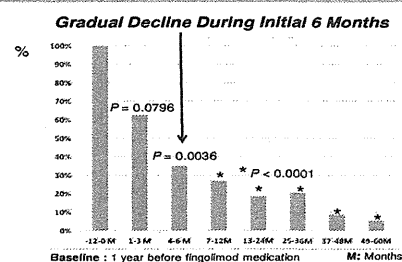
Proportion of Patients Free from Gd-enhancing MRI Lesions During Fingolimod Treatment



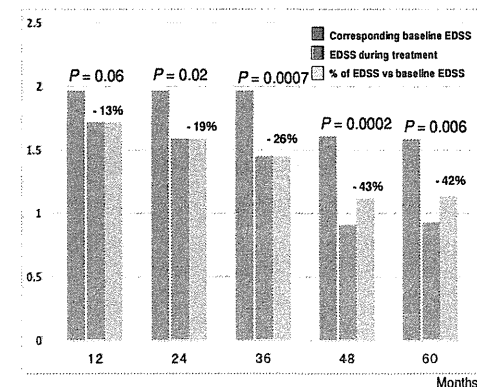
Number of Gd-Enhanced Lesions Before and During Fingolimod Treatment



Annual Relapse Rate Decrease Maintained During 5 Years Fingolimod Treatment



EDSS Change During Fingolimod Treatment



参考文献：

1) Saida T, Kikuchi S, Itoyama Y, et al. A randomized, controlled trial of fingolimod (FTY720) in Japanese patients with multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2012; 18:1269-77.

多発性硬化症の fingolimod 治療

～CCR7 発現サブセットの解析～

分担研究者 西澤正豊¹⁾

共同研究者 横関 明子¹⁾, 河内 泉¹⁾, 佐治 越爾¹⁾, 穂刈万李子¹⁾, 荒川武蔵¹⁾

研究要旨

Fingolimod は多発性硬化症 (multiple sclerosis; MS) の新規経口治療薬であり, MS において重要な役割を果たすと考えられている CCR7 陽性 central memory T (T_{CM}) 細胞を二次リンパ組織に閉じ込めることで, 再発抑制効果をもたらすと考えられている. しかし, その臨床的特徴と末梢血・髄液の免疫動態との関連性の詳細は明らかにされていない. そこで本研究では, 新規に fingolimod 治療を導入した MS 症例の末梢血および髄液リンパ球の細胞表面抗原を縦断的に解析した. 対象症例のうち, fingolimod 治療開始 6 ヶ月以内の臨床再発を 1 例で認めた. 髄液では早期再発患者を除いた fingolimod 治療 MS 症例で, CCR7⁺CD4⁺ T 細胞の減少 ($P < 0.05$) を認めたが, 髄液の減少の程度は末梢血より軽度であった ($P < 0.01$). 興味深いことに, fingolimod 治療開始早期に臨床再発を認めた MS 症例では, fingolimod 治療開始 6 ヶ月間, 末梢血では CCR7⁺CD4⁺ T 細胞の速やかな減少を認めたが, 髄液 CCR7⁺CD4⁺ T 細胞の減少を認めなかった. しかし, 治療開始 6 ヶ月以降は疾患活動性の低下と平行して, 徐々に髄液 CCR7⁺CD4⁺ T 細胞が減少した. Fingolimod 治療は MS 患者において末梢血と髄液で免疫細胞に異なった効果, 異なった時間的影響を及ぼす. さらに MS 患者においては液性免疫だけでなく, 細胞性免疫も中枢神経内での隔絶を部分的に認める可能性がある. Fingolimod 治療下 MS 患者においては, CCR7⁺CD4⁺ T 細胞は疾患活動性と相関している可能性があり, 少なくとも治療開始 6 ヶ月間は MS の臨床再発に注意を払う必要がある.

研究目的

多発性硬化症 (multiple sclerosis; MS) の新規疾患修飾薬である fingolimod は sphingosine-1-phosphate receptor 1 (S1P1) の機能的アンタゴニストであり, リンパ球動態を変化させることにより再発予防効果をもたらすと考えられている¹⁾. MS 患者の髄液 memory T 細胞の 90% は central memory T (T_{CM}) であり, 体循環から中枢神経内に侵入した T_{CM} が中枢神経 (CNS) で再び抗原刺激を受け, effector memory T (T_{EM}) に分化し, 組織障害を引き起こすと考えられている²⁾. さらに炎症促進作用を持つ T_H17 細胞は T_{CM} pool に多く存在する³⁾. 以上から MS では, T_{CM} がその発症に大きな役割を持つと考えられている.

Fingolimod は末梢血の naïve T 細胞や, T_H17 を含む CCR7⁺ T_{CM} 細胞に対して, その機能を変えなく, 二次リンパ組織に隔絶し, CNS への侵入を阻害することで再発抑制効果をもつとされる. 一方, 大規模臨床試験で

fingolimod 投与後の脳 MRI 造影病変数は徐々に改善し, 効果発現までに 6 ヶ月を要すること¹⁾, さらに fingolimod 導入早期に重篤な再発をした症例が報告されているが, その臨床的特徴と末梢血・髄液の免疫動態との関連は解析されていない. そこで本研究では, fingolimod 治療による血液・髄液リンパ球動態変化と臨床像との関連性を検討した.

研究方法

Fingolimod 治療を受けている MS 患者 7 例, interferon (IFN) β 治療を受けている MS 患者 9 例, 無治療の MS 患者 7 例, 計 MS 23 例の末梢血・髄液リンパ球, および健常人 5 例の末梢血リンパ球の細胞表面抗原を flowcytometer にて解析した. さらに臨床症状と画像所見を検討した.

研究結果

対象 MS 症例はすべてアクアポリン 4 抗体

1) 新潟大学脳研究所神経内科学分野

陰性であった。対象症例のうち、fingolimod 治療開始 6 ヶ月以内の臨床再発を 1 例 (14%) で認めた。Fingolimod 治療を受けた MS 7 症例では、末梢血リンパ球の減少に加え、末梢血 CCR7⁺CD4⁺ T 細胞、CD19⁺ B 細胞の速やかな減少を認めた。髄液では早期再発患者を除いた fingolimod 治療 MS 症例で、CCR7⁺CD4⁺ T 細胞の減少 ($P < 0.05$) を認めたが、髄液の減少の程度は末梢血より軽度であった ($P < 0.01$)。

興味深いことに、fingolimod 治療開始早期に臨床再発を認めた MS 症例では fingolimod 治療開始 6 ヶ月間、末梢血では CCR7⁺CD4⁺ T 細胞の速やかな減少を認めたが、髄液 CCR7⁺CD4⁺ T 細胞の減少を認めなかった。しかし、治療開始 6 ヶ月以降は疾患活動性の低下と平行して徐々に髄液 CCR7⁺CD4⁺ T 細胞が減少した。

考察

近年、MS ではその発症早期から晩期にいたるまで、髄膜にリンパ節類似濾胞構造が存在することが報告されている。この髄膜に存在するリンパ節類似濾胞構造は、リンパ球のプライミング・増殖を行う免疫反応の重要な場となり、さまざまな免疫反応を誘導する可能性が指摘されている。その結果、髄液でオリゴクローナルバンド (OCB)、IgG index をはじめとした CNS 独自の免疫反応が形成され、髄腔外とは隔絶された免疫反応が CNS 内に生じると推測されている。これまでに fingolimod による CD4⁺ T 細胞動態は、髄液と末梢血で異なる可能性があること、さらに髄液 IgG index、OCB、B 細胞への影響は乏しいことが報告されている。Fingolimod 治療 MS 患者において、CCR7⁺CD4⁺ T 細胞動態が末梢血と髄液で異なることを示した本研究報告⁴は、MS において液性免疫のみならず、細胞性免疫の一部も CNS 内に隔絶されている可能性を示唆している。また fingolimod 治療開始早期の再発例において、髄液中に CCR7⁺CD4⁺ T 細胞の残存がみられたこと、さらに疾患活動性の低下と共に髄液中の CCR7⁺CD4⁺ T 細胞が減少したことは、髄液中の CCR7⁺CD4⁺ T 細胞が fingolimod 治療下での MS 疾患活動性と相関している可能性を示唆するものと考えた。現在までに 8 例の MS 症例と 5 例の NMO 症

例で fingolimod 投与中の再発が報告され、いずれも投与開始数ヶ月以内の早期に再発している。Fingolimod の CNS への効果が、CNS 外に比較して遅れて発揮されることが MS の疾患活動性に影響している可能性がある。

結論

Fingolimod は MS 患者において末梢血と髄液で免疫細胞に異なった効果、異なった時間的影響を及ぼす。さらに MS 患者においては液性免疫だけでなく、細胞性免疫も中枢神経内での隔絶を部分的に認める可能性がある。髄液中の CCR7⁺CD4⁺ T 細胞は fingolimod 治療下 MS 患者においては疾患活動性と相関している可能性があり、少なくとも治療開始 6 ヶ月間は MS の臨床再発に注意を払う必要がある⁴。

文献

1. Kappos L, et al. The New England journal of medicine. 2006 Sep 14;355(11):1124-40.
2. Kivisakk P, et al. Annals of neurology. 2004 May;55(5):627-38.
3. Kebir H, et al. Nat Med. 2007 Oct;13(10):1173-5.
4. Yokoseki A, et al. Multiple sclerosis. 2013 Aug;19(9):1230-3.

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

多発性硬化症末梢血 B 細胞に対する fingolimod の作用

研究分担者 新野正明¹⁾

共同研究者 宮崎雄生^{1),2)}, 深澤俊行³⁾, 高橋恵里¹⁾, 野中隆行²⁾, 網野 格²⁾, 田代 淳²⁾,
南 尚哉²⁾, 藤木直人²⁾, 土井静樹²⁾, 菊地誠志²⁾

研究要旨

本研究では, fingolimod が多発性硬化症患者末梢血中の B 細胞にどのような作用を及ぼすかを検討した. 11 名の健常者, 17 名の無治療多発性硬化症患者, 15 名の fingolimod 服用多発性硬化症患者から末梢血単核細胞を採取し, フローサイトメーターで B 細胞の亜分画, 表面抗原, サイトカイン産生, 遊走反応を検討した. その結果 fingolimod 服用患者では B 細胞の炎症増強作用の減弱 (CD80 発現低下, tumor necrosis factor α 産生低下, interleukin-10 産生増加) が見られた. これら変化の背景には fingolimod が末梢血中の B 細胞亜分画の割合を変化させること, B 細胞の sphingosin-1-phosphate に対する遊走反応を抑制することが存在した. これら変化は fingolimod の多発性硬化症への効果と関連していると考えられた.

研究目的

Fingolimod は近年多発性硬化症 (multiple sclerosis: MS) の治療薬として承認された免疫調節薬であり, リンパ球を二次リンパ組織にとどめることで病原性リンパ球の中樞神経への遊走を抑制することが主な作用機序であると考えられているが, その効果はリンパ球分画ごとに異なる. B 細胞はサイトカイン産生や抗原提示作用を介して MS の病態に重要な役割を持つ細胞群である. 本研究の目的は MS 患者末梢血 B 細胞に対する fingolimod の作用を明らかにすることである.

研究方法

(1) 対象

健常者 (HC) 11 名, 無治療 MS 患者 (MS-U) 17 名, fingolimod 服用 MS 患者 (MS-F) 15 名.

(2) 方法

静脈血から末梢血単核細胞を分離し, ①B 細胞とその亜分画の数, 頻度, 表面抗原, ② phorbol-myristate-acetate (PMA), ionomycin (IM),

CpG に対する tumor necrosis factor (TNF) α , interleukin (IL)-10 産生, ③ sphingosin-1-phosphate (S1P) に対する遊走反応と fingolimod によるその抑制をフローサイトメーターにて解析した.

(倫理面への配慮)

本研究は北海道医療センターおよびさっぽろ神経内科クリニックの倫理審査委員会の承認を得ており, 被検者から検体を採取する際には十分な説明の上, 文書で自発的同意を得た.

研究結果

1. MS-F は MS-U と比べて末梢血中の B 細胞数が低値であった.
2. MS-F の末梢血では memory, mature naïve, transitional B 細胞, plasmablast すべての亜分画の細胞数が MS-U より低値であった. しかし, 血液中に残存している B 細胞中に占める transitional B 細胞の割合は HC, MS-U に比べ MS-F で増加しており, memory B 細胞の割合は逆に MS-F で低下していた. Mature naïve B 細胞, plasmablast の頻度は HC, MS-U, MS-F で変わりなかった.
3. MS-F の B 細胞は MS-U と比べて CD80 の発

1) 北海道医療センター 臨床研究部

2) 同 神経内科

3) さっぽろ神経内科クリニック

現が低値であった。CD40, CD86 の発現は HC, MS-U, MS-F 間で差がなかった。HC において mature naïve B 細胞は transitional および memory B 細胞と比べて CCR7 の発現が高かったが, transitional と memory B 細胞間では差がなかった。

4. MS-F では PMA+IM+CpG 刺激に対する TNF α 産生細胞頻度が HC, MS-U より低く, IL-10 産生細胞頻度が高かった。
5. HC において memory, mature naïve B 細胞と比べて transitional B 細胞で TNF α 産生細胞頻度が低く, IL-10 産生細胞頻度が高かった。
6. B 細胞は *in vitro* で S1P に対して遊走反応を示し, fingolimod-phosphate はその遊走反応を抑制した。

考 察

B 細胞は中枢神経抗原に対する自己抗体を産生することで MS の病態に関与すると考えられてきたが, B 細胞除去治療が必ずしも免疫グロブリンを減少させずに MS の再発抑制効果を発揮することから, その抗体非依存的作用が注目されている。具体的には B 細胞は二次リンパ組織で, または中枢神経内で炎症性, 抗炎症性サイトカインを産生して T 細胞を含む他の免疫担当細胞の活性を調節したり, T 細胞に抗原提示をすることで免疫制御に関わっている。また, 二次性進行型 MS 患者の髄膜に見られるリンパ濾胞の形成にも B 細胞は能動的に関わっていると考えられている。これらのことから, 本研究で見られた fingolimod 服用 MS 患者 B 細胞の炎症性サイトカイン(TNF α)の産生低下と抗炎症性サイトカイン(IL-10)の産生増加, および共刺激分子 (CD80) の発現低下は, MS において B 細胞による炎症増強作用を抑制する方向に作用すると考えられた。

Fingolimod 服用 MS 患者 B 細胞のサイトカインパターン変化の背景には fingolimod による B 細胞亜分画の変化が存在すると考えられた。MS-F で減

少していた memory B 細胞は炎症性サイトカインを産生する一方で, MS-F で増加が見られた transitional B 細胞はヒトおよびマウスで抗炎症作用を有することが報告されている。興味深いことに抗 CD20 抗体による B 細胞除去, および alemtuzumab 治療後に, 末梢血にはじめに出現する B 細胞は transitional B 細胞であることが報告されており, transitional B 細胞は末梢血から B 細胞を除去する治療の効果と関連しているのかもしれない。

本研究では fingolimod による B 細胞亜分画変化の機序は明らかにすることはできなかった。T 細胞や natural killer 細胞では CCR7 陽性細胞がリンパ組織に抑留されることが示唆されているが, 本研究結果から B 細胞の場合は CCR7 のみでは説明ができない。一方で, 動物実験では骨髄から血液への未熟 B 細胞の移動には S1P 以外の要因が関与することが示唆されており, このことが末梢血中に相対的に transitional B 細胞が増加する一因かもしれない。

結 論

Fingolimod 治療により MS 患者末梢血 B 細胞は著明に減少し, 血液中に残存する B 細胞では炎症性サイトカイン産生低下, 抗炎症性サイトカイン産生上昇, 共刺激分子の発現低下が見られた。この変化の背景には memory B 細胞の相対的減少と transitional B 細胞の相対的増加が存在した。これら変化は fingolimod の MS への効果と関連していると考えられた。

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