

## 多系統萎縮症の病態形成における自然免疫の関与とバイオマーカーの探索

研究分担者：	吉良 潤一	九州大学大学院医学研究院	神経内科学
研究協力者：	山崎 亮	九州大学大学院医学研究院	神経治療学
	山口 浩雄	九州大学大学院医学研究院	神経内科学
	樋渡 昭雄	九州大学大学院医学研究院	臨床放射線科学
	松下 拓也	九州大学大学院医学研究院	神経治療学

### 研究要旨

多系統萎縮症(MSA)のバイオマーカー探索のため、初期症状が類似し鑑別が困難な遺伝性脊髄小脳変性症患者(SCD)とMSA患者の髄液中サイトカイン(27種)を同時測定し、臨床経過やMRI画像所見との関連性を比較検討した。MSA患者髄液では、SCD患者と比較しIL-1 $\beta$ 、IL-1 $\alpha$ およびIFN- $\gamma$ などの炎症性サイトカインレベル上昇を認めた。また、MSA患者において髄液中MCP-1(CCL2)レベルと罹病期間に負の相関を認め、髄液中IL-6レベルと橋底部径にも負の相関を認めた。これらの相関は遺伝性SCD患者では見られなかった。このことから、MSAの初期病態形成において、末梢の炎症細胞が密接に関与し、また橋の萎縮など組織学的変化にIL-6が関与していることが示唆された。

### A. 研究目的

脊髄小脳変性症(SCD)の30%は遺伝性、残りの70%は孤発性であり、そのうち65%は多系統萎縮症(MSA)と考えられている(1)。MSAは中年期以降に発症する孤発性神経変性疾患で、そのうちMSA-Cは初期症状が遺伝性脊髄小脳変性症(hereditary SCD)と類似しているものの経過が早いため、両者の鑑別は治療計画の立案や予後予測の面で重要である。近年の報告では、MSAの病態生理におけるグリア炎症の関与が指摘され(2)、髄液中の炎症性サイトカインレベルが疾患進行と連動していることが予想される。

今回我々は、MSAおよびhSCDにおける髄液サイトカインレベルと、罹病期間や脳萎縮等の疾患進行度とを比較検討し、両疾患の鑑別および疾患進行度を反映するバイオマ

ーカーを探索した。また、MSAの病態生理における炎症性機序を明らかにし、新規治療法開発の足がかりとすることを目標とし研究を行った。

### B. 研究方法

2005年1月から2013年6月に当科に入院しMSA-CあるいはhSCDと診断された患者32名の臨床データ(性別、発症年齢、髄液採取時年齢、罹病期間)およびMRI画像(小脳虫部上下最大径、小脳虫部前後径、橋最大前後径、延髄前後径、延髄横径)と、採取後凍結未解凍の髄液サンプル中の炎症性サイトカインレベル(IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-9、IL-10、IL-12(p70)、IL-13、IL-15、IL-17A、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、CXCL8/IL-8、CXCL10/IP-10、CCL2/MCP-1、CCL3/

MIP-1 $\alpha$ 、CCL4/MIP-1 $\beta$ 、CCL5/RANTES、CCL11/eotaxin、G-CSF、GM-CSF、PDGFbb、bFGF、VEGF、IL-1ra)との関連性を検討した。髄液サイトカインレベルは、蛍光ビーズサスペンションアレイアッセイにて測定した。統計学的解析には、student-t 検定、ANOVA with Tukey's post hoc analysis、linear regression model を用いた。

### (倫理面への配慮)

本研究は、九州大学医系地区部局臨床研究倫理委員会にて承認されている(許可番号 24-218)。

## C. 研究結果

患者背景は発症年齢(MSA-C: 59.1 歳、hSCD: 44.7 歳)と髄液採取時罹病期間(MSA-C: 25.2 ヶ月、hSCD: 125.9 ヶ月)に有意差があったが、その他(年齢、性別)は両疾患群で有意差を認めなかった。髄液サイトカインレベルの単項目比較では、IL-1 $\beta$  ( $p=0.0343$ )、IL-1ra ( $p=0.0213$ )、IFN- $\gamma$  ( $p=0.0361$ )が MSA-C 群で高値であった。また、髄液中 MCP-1 レベルは MSA 群と hSCD 群で有意差を認めなかったが、MSA-C 群における髄液中 MCP-1 レベルは罹病期間と有意な負の相関を示した( $p=0.0088$ ,  $R=0.57$ , 相関係数:  $-0.5$ )。MRI 画像所見の比較では、MSA-C 群で hSCD 群に比し橋前後径の有意な萎縮を認めた(MSA-C: 19.2mm、hSCD: 21.6mm,  $p=0.0008$ )。さらに、MSA-C 群では、橋の萎縮と髄液中 IL-6 レベルが正の相関を呈していた( $p=0.0274$ ,  $R=0.49$ )。

## D. 考察

髄液中炎症性サイトカインレベル上昇については、MSA-C 群で上昇しており、同様に運動失調症を呈する遺伝性 SCD や、 $\alpha$  シヌクレイノパチーであるパーキンソン病では上昇

を示さなかった。このことは、MSA の病態形成に炎症性機序が特に重要な役割を担っていることを示唆する。既報告でも、MSA 患者血清中の炎症性サイトカイン上昇(1)や剖検脳における泡沫状マクロファージ浸潤(2)など、MSA 病態における炎症性機序を支持している。また、興味深いことに、髄液中 MCP-1 レベルについては、各疾患間では明らかな有意差を認めなかったが、MSA でのみ罹病期間と負の相関を認め、また IL-6 は橋の萎縮と相関関係が見られた。MCP-1 レベルは、疾患初期は正常値より高値で、慢性期には正常値を下回っていたことから、MCP-1 による末梢の CCR2(MCP-1 の受容体)発現細胞(単球、T 細胞、NK 細胞、B 細胞など)の病変部への動員は疾患初期に行われ、慢性期にはこれらの末梢炎症細胞の関与は少ないことが考えられる。また、IL-6 は主に単球系細胞から放出され、脳内ではグリア細胞が主要な産生細胞として知られている(3)。疾患初期に脳内へ浸潤した単球とともに、脳内で活性化したミクログリアも IL-6 を産生し、これらの炎症性サイトカインがグリア炎症に寄与している(3)可能性が考えられる。

MSA に対する抗炎症治療はすでに試みられている。MSA マウスモデルにミノサイクリンを投与すると、ミクログリアの活性化抑制を介して症状が改善する(4)。実際の患者でも、免疫グロブリン静注療法によって日常生活動作(UMSARS-1)の改善が見られた(5)。このように抗炎症治療は MSA に一定の効果があると思われるが、患者へのミノサイクリンによる治療は効果がなかったとする報告もある(6)。これについては、投与時期が遅きに失したのが原因と考察されており、より疾患早期に IVIg やミノサイクリンなどによる抗炎症治療を行うことが望まれる。そのためにも、初診時の髄液検査で炎症性サイトカインや MCP-1、IL-6 を測定し、これらの値が高値で

あれば抗炎症治療を行うことで症状の改善や進行抑制が得られる可能性が高い。

## E. 結論

今回の研究結果は、MSA-C 初期の病態における炎症性機序の重要性を示しており、炎症性サイトカインの代用マーカーとしての利用とともに、疾患初期における抗炎症性治療の可能性を強く示唆するものであった。今後は、多施設共同研究による結果の確認と、既存薬剤による治療効果の確認が必要である。

## [参考文献]

1. Kaufman E, Hall S, Surova Y et al. Proinflammatory cytokines are elevated in serum of patients with multiple system atrophy. PLoS One. 2013;23;8(4):e62354.
2. Yokoyama T, Hasegawa K, Horiuchi E, Yagishita S. Multiple system atrophy (MSA) with massive macrophage infiltration in the ponto-cerebellar afferent system. Neuropathology. 2007;27(4):375-7.
3. Erta M, Quintana A, Hidalgo J. Interleukin-6, a major cytokine in the central nervous system. Int J Biol Sci. 2012;8(9):1254-66.
4. Stefanova N, Reindl M, Neumann M, Kahle PJ, Poewe W, Wenning GK. Microglial activation mediates neurodegeneration related to oligodendroglial alpha-synucleinopathy: implications for multiple system atrophy. Mov Disord. 2007;15;22(15):2196-203.
5. Novak P, Williams A, Ravin P, Zurkiya O, Abduljalil A, Novak V. Treatment of

multiple system atrophy using intravenous immunoglobulin. BMC Neurol. 2012;1;12:131.

6. Dodel R, Spottke A, Gerhard A et al. Minocycline 1-year therapy in multiple-system-atrophy: effect on clinical symptoms and [(11)C] (R)-PK11195 PET (MEMSA-trial). Mov Disord. 2010;15;25(1):97-107.

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表 (2014/4/1~2015/3/31 発表)

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

- 1) 山崎亮、松下拓也、大八木保政、樋渡昭雄、吉浦敬、山口浩雄、吉良潤一。系統萎縮症と脊髄小脳変性症の鑑別における髄液サイトカインの意義。第26回日本免疫学会。金沢。2014年9月4-6日。
- 2) Ryo Yamasaki, Takuya Matsushita, Akio Hiwatashi, Takashi Yoshiura, Yasumasa Ohyagi, and Jun-ichi Kira. Distinct value of cerebrospinal fluid cytokines in patients with multiple system atrophy and spinocerebellar degenerations. ANA 2014. Baltimore. Oct. 12-14, 2014.
- 3) 山崎亮、山口浩雄、樋渡昭雄、松下拓也、吉良潤一。多系統萎縮症の病態形成における自然免疫の関与とバイオマーカーの探索。平成26年度運動失調班合同研究報告会。東京。2015年1月14-15日。

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。