

## 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： 山口 浩雄 九州大学大学院医学研究院 神経内科学  
グザリアイ ママティジャン 九州大学大学院医学研究院 神経内科学  
山崎 亮 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 神経内科学

### 研究要旨

今回、多系統萎縮症(MSA)および遺伝性脊髄小脳変性症(hSCD)両疾患の鑑別および疾患進行度を反映する MSA の末梢血バイオマーカーを探索するため、MSA および hSCD における患者末梢血単球の分類および機能解析をフローサイトメーターで行なった。その結果、健常者と hSCD 患者では、Classical、Intermediate、Non-classical それぞれの単球の比率は同比率であった。CD62L<sup>+</sup>/Intermediate 単球の比率は、健常者に比べ hSCD 患者では低い傾向であった。今後、症例数を増やし、特に MSA-C の疾患進行度を反映する末梢血単球バイオマーカーを探索する。MSA-C 疾患初期における末梢血単球を中心とした炎症性機序を抑制できれば、疾患の進行抑制治療につながる可能性がある。

### 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<sup>(1)</sup>。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ている<sup>(2)</sup>。

これまでに私たちは、MSA-C 患者髄液では、hSCD 患者と比較し炎症性サイトカインレベルが上昇していること、MSA-C 患者髄液中 MCP-1(CCL2)レベルと罹病期間に負の相関を認めること、MSA-C 患者髄液中 IL-6 レ

ベルと橋底部径に負の相関を認めることを見出した。MSA-C 患者髄液で上昇している炎症性サイトカインは、末梢性炎症細胞とくに単球の活性化を促すものであり、このことは、MSA-C の初期病態形成において、末梢の単球が密接に関与していることが示唆された。今回、MSA-C および hSCD 両疾患の鑑別および疾患進行度を反映する MSA-C の末梢血バイオマーカーを探索するため、MSA-C および hSCD における患者末梢血単球の分類および機能解析をフローサイトメーターで行い、MSA-C 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う。

### B.研究方法

当科の入院および外来患者で、MSA-C あるいは hSCD と診断された患者の末梢血より単球を分離し、それらの表面マーカー(CD14, CD16, CX3CR1, CCR2, CD62L, CD64)を標識し、フローサイトメトリー法で評価する。MSA-C、hSCD 患者末梢血において、Classical (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>)、Intermediate (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>)、Non-classical (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup>) それぞれの単球の比率を比較する。また、Classical、Intermediate、Non-classical それぞれの単球で表面マーカー(CX3CR1, CCR2, CD62L, CD64)を発現している比率を比較する。さらに患者の臨床データ(性別、発症年齢、採血時年齢、罹病期間)と、フローサイトメーターで得られた患者末梢血単球の解析結果との関連性を検討する。健常者 20 例、MSA-C 20 例、hSCD 20 例を目標に計測を実施する。

#### (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 26-398)。

#### C.研究結果

健常者 2 名、hSCD 4 名の比較では、末梢血における Classical、Intermediate、Non-classical それぞれの単球の比率は同比率であった。Classical、Intermediate、Non-classical それぞれの単球で、表面マーカー(CX3CR1, CCR2, CD62L, CD64)を発現する比率の比較では、健常者に比べ hSCD 患者で、Intermediate 単球の CD62L を発現する比率(CD62L<sup>+</sup>/Intermediate 単球)が低い傾向であった。

#### D.考察

ヒト末梢血単球は表面マーカーである CD14、CD16 の発現割合により 3 つのサブタイプに分類される。CD14 は自然免疫系の構

成要素の一つであり、共受容体として TLR4 あるいは MD-2 と共に働き、細菌に由来する LPS を認識する。CD16 は IgG 型抗体の Fc レセプターであり、IgG 型抗体と結合し NK 細胞を活性化する。3 つのサブタイプのうち、Classical 単球は CD14 を強く発現し(CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>)、Non-classical 単球は CD16 を強く発現する(CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup>)。Intermediate 単球は CD14、CD16 とともに発現する(CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>)。末梢血での割合は Classical 単球が 80-95%を占める。また 3 つのサブタイプの単球は、異なる比率でケモカイン受容体、Fc レセプターである CD64、細胞接着分子である CD62L を発現する。MCP-1(CCL2)のケモカイン受容体である CCR2 は Classical 単球で強く発現し、一方 fractalkine receptor である CX3CR1 は Non-classical 単球で強く発現する。CD64、CD62L は Classical 単球で強く発現する。

私たちは次のような仮説を立て研究を進めている。MSA-C の脳内では、神経変性に伴いグリア炎症が生じ、私たちが見出した炎症性サイトカインの上昇をきたす。その中の一つである MCP-1(CCL2)は、その受容体である CCR2 を高発現する Classical 単球に作用し、末梢血の Classical 単球は blood-brain barrier の破綻部位より、脳内に侵入する。この時 Classical 単球に高発現する細胞接着分子である CD62L が血管内皮に接着し、脳内への侵入に促進的に作用する。脳内に侵入した単球は一部マクロファージとなり、脳実質内にも侵入しグリア炎症、神経変性を増悪させる。

私たちは、これまでに ALS 患者の MCP1(CCL2) 髄液レベルは健常者に比べ上昇していること<sup>(3)</sup>、CCR2<sup>+</sup>/Classical 単球と、CD62L<sup>+</sup>/Classical 単球の比率は、健常者に比べ ALS 患者で低下していることを報告した<sup>(4)</sup>。今回の私たちの研究結果では、CD62L<sup>+</sup>/Intermediate 単球の比率が、健常者に

比べ hSCD 患者では低い傾向であった。私たちは ALS 患者で、CCR2<sup>+</sup>/Classical 単球と、CD62L<sup>+</sup>/Classical 単球の比率が低下している原因として、脳内の炎症に伴い MCP1(CCL2) 髄液レベルが上昇し、末梢血の CCR2<sup>+</sup>/Classical 単球と CD62L<sup>+</sup>/Classical 単球が脳内に移行したため末梢血のこれら単球の割合が低下した、Classical 単球が末梢血より炎症部位へ移行するのを抑制するための生体の防御機構が働いた可能性を考えた。

今後、症例数を増やし、特に MSA-C の末梢血単球の解析を行い、疾患進行度を反映する末梢血単球バイオマーカーを探索する。MSA-C 疾患初期における末梢血単球を中心とした炎症性機序を抑制できれば、疾患の進行抑制治療につながる可能性がある。

## E. 結論

MSA および hSCD 両疾患の鑑別および疾患進行度を反映する MSA の末梢血バイオマーカーを探索するため、MSA および hSCD における患者末梢血単球の分類および機能解析をフローサイトメーターで行なった。今後、症例数を増やし、特に MSA-C の疾患進行度を反映する末梢血単球バイオマーカーを探索する。MSA-C 疾患初期における末梢血単球を中心とした炎症性機序を抑制できれば、疾患の進行抑制治療につながる可能性がある。

## [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) Tateishi T, Yamasaki R, Tanaka M, et al. CSF chemokine alterations related to the clinical course of amyotrophic lateral sclerosis. J Neuroimmunol. 2010; 222: 76–81.

(4) Cui Y, Kawano Y, Yamasaki R et al. Decreased CCR2 and CD62L expressions on peripheral blood classical monocytes in amyotrophic lateral sclerosis. Clinical and Experimental Neuroimmunology 5 (2014) 92–96.

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表 (2015/4/1~2016/3/31 発表)

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

吉良 潤一, 山口 浩雄, グザリアイ ママティジャン, 山崎 亮, 樋渡 昭雄, 松下 拓也. 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 27 年度運動失調班合同研究報告会. 東京. 2016 年 1 月 7-8 日.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし