

MS・NMOSD 患者の活動性指標としての髄液リンパ球亜分画

班 員 松井 真¹⁾

共同研究者 内田信彰¹⁾、森健太郎¹⁾、藤田充世¹⁾、中西恵美¹⁾、真田 充¹⁾、長山成美¹⁾、
杉山 博²⁾、梶 龍兒²⁾

研究要旨

疾患修飾薬（DMD）による治療を受けていない再発寛解型の MS 患者（RRMS）25 名と、副腎皮質ステロイド薬（ス薬）や免疫抑制薬が未投与の視神経脊髄炎スペクトラム患者（NMOSD）13 名の急性増悪期において、中枢神経内で進行中の炎症性病態に相違があるのか、非炎症性神経疾患患者 15 名を対照群として、髄液中に存在するリンパ球の flow cytometry を行った。その結果、MS および NMOSD とともに組織傷害に至る免疫応答の最終段階は、CD4 陽性のヘルパー T 細胞のうち、CD29+CD45RO+ の effector 細胞群によって担われていた。一方、両疾患で異なる急性期中枢神経内の病態としては、CD4+CD25high Treg が NMOSD で上昇しているのに対し、免疫調節機能を有する CD8+CD11a- 抑制性 T 細胞は MS に比して NMOSD で有意に低下していた。このように、中枢神経系炎症性疾患では、髄液のリンパ球をモノクローナル抗体で染色し flow cytometry による解析を行うことで疾患活動性の判定や治療手段を開発する際の標的となるリンパ球亜分画や免疫応答を見出す一助となる可能性が示唆された。

研究目的

多発性硬化症（MS）の再発予防に使用される疾患修飾薬（DMD）は、1993年の米国における IFN- β 皮下注射製剤の認可を端緒に、現在では本邦においても 6 つの DMD が使用可能な時代を迎えている。一方、視神経脊髄炎スペクトラム（NMOSD）では、副腎皮質ステロイド薬（ス薬）やアザチオプリンなどの免疫抑制薬の使用で比較的良好なコントロールを得る。このように、MS や NMOSD 患者の予後を改善し得る治療手段が複数存在し、また広く使用される状況が確立するにつれ、病初期に患者の免疫病態を詳細に調べて疾患の病因に迫ろうとする研究は困難になりつつある。MS と NMOSD において、後者における抗 AQP4 抗体以外にも組織傷害に至る過程に免疫学的な相違が存在するか否かを検証するために、再発予防手段未実施の患者に生じた急性増悪の際に採取し得た髄液を比較検討することを試みた。

研究方法

MS 患者は 2010 McDonald 基準で診断された再発寛解型 25 名（平均 32.9 歳）、NMOSD 患者は、2015 国際診断基準の診断に適合し且つ抗 AQP4 抗体陽性の患者 13 名（平均 54.4 歳）、対照群は、診断のために腰椎穿刺を施行された非炎症性神経疾患患者 15 名（平均 44.7 歳）である。いずれの患者も、MS の DMD、ス薬、免疫抑制薬による治療を過去も現在も受けていない。MS および NMOSD 患者は、急性増悪期（再発期）に髄液を採取し、また対照群では診断目的で入院時に髄液を採取した。髄液ルーチン検査、IgG index 算出を行うとともに、髄液を摂氏 4 度で低速（800rpm）遠心して回収した髄液細胞を対象に、氷上でモノクローナル抗体を用いて染色し、機能的亜分画存在率を測定した。（倫理面への配慮）
連結可能匿名化データを後方視的に解析する本研究は、施設 IRB の承認を得て実施された。

			MS	NMOSD	Controls
CD4+ (%)	helper T (Th)	↑	68.3	69.1	60.0
CD4+CCR4+ (%)	Th2	↓	8.2	4.5	14.4
CD4+CCR5+ (%)	Th1	↓	20.3	14.7	29.1
CD4+CD29+ (%)	helper inducer T	↑	60.4	58.9	49.5
CD4+CD45RO+ (%)	activated/memory Th	↑	61.7	66.7	54.1
CD8+ (%)	suppressor/CTL	↓	25.0	20.9	33.9
CD8+CD11a+ (%)	cytotoxic T (CTL)	↓	15.8	14.6	26.1
CD8+CXCR3+ (%)	incl. regulatory cell	↓	21.9	21.7	32.6

表1: MSとNMOSD急性期を特徴づける共通の細胞性因子

			MS		NMOSD	Controls
CD4/8			3.03	vs.	3.87 ↑	1.83
CD4+CXCR3+ (%)	Th1		51.2	vs.	45.9 ↓	53.7
CD4+CD25 ^{high} CD127 ^{low} (%)	Treg		0.88	vs.	2.12 ↑	0.55
CD8+CD11a- (%)	incl. suppressor T		5.3	vs.	3.3 ↓	3.5
CD8+CD28- (%)	incl. suppressor T		4.4	vs.	2.0 ↓	7.2

表2: MS と NMOSD を識別する細胞性因子

研究結果

MSとNMOSDの急性増悪時には、表1(矢印は、対照群に対してMSとNMOSDの両者に認められた変化を示す)のようなfinal common mechanismの存在が明らかにされた。MSとNMOSDでは、急性増悪時に表2(矢印は、MSに比してNMOSDで認められた相違点を示す)に示すような細胞性免疫の相違が認められた。

考察と結論

1) MSおよびNMOSDともに中枢神経内の炎症病態の最終段階は、CD4+CD29+CD45RO+ effector helper T細胞が担当していると考えられた。また、対照群に比して、免疫調節性の分画が含まれるCD8細胞群は両疾患で低下していた。

2) CD4+CD25^{high} TregがNMOSDで有意に上昇しているのに対し免疫調節を担うCD8陽性亜分画はMSに比して有意に低下していた。
3) したがって、急性期にス薬パルス療法を用いてCD4 effector細胞を強力に抑制することは、進行中の炎症性病態を阻止するには有用である。一方、両疾患の急性期髄液におけるCD8亜分画の相違は、炎症性中枢神経疾患の髄液リンパ球のflow cytometry解析を行うことにより、疾患活動性の判定や、治療薬剤を開発すべき標的を明らかにする一助となる可能性を示唆している。

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