

MS・NMOSD 患者の活動性指標としてのリンパ球亜分画の検討（第2報）

班 員 松井 真¹⁾

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

研究要旨

今年度は疾患修飾薬治療を受けていないMSおよびNMOSD患者の急性増悪期において、髄液リンパ球亜分画偏倚と同日採血した血液のリンパ球亜分画の状態が連動しているのか、また、末梢血および髄液リンパ球亜分画の不均衡がパルス療法前後にどのように変化するかという点について解析した。末梢血では、NMOSD群特異的にCD4+CCR2+ effector memory Th細胞およびCD4+CCR3+ Th2細胞の有意な上昇が認められ、後者はパルス療法で減少した。パルス療法後のMS髄液ではCD4+CD29+ helper inducer T細胞が有意に減少し、CD8分画は増加した。一方、パルス療法はNMOSD髄液におけるalbuminとIgGの低下をもたらした。以上から、同治療はMSでは細胞性免疫の修飾を介し、NMOSDでは血液脳関門の透過性抑制を介して治療効果をもたらしている可能性が示唆された。末梢血と髄液でのリンパ球亜分画は独立した動きを示し、急性期評価には髄液が有用であったが、NMOSDの疾患活動性制御に寄与する薬剤開発の標的候補として、末梢血CD4+CCR2+細胞を抽出することができた。

研究目的

多発性硬化症（MS）および視神経脊髄炎スペクトラム（NMOSD）では、診断確定時から疾患修飾薬（DMD）や副腎皮質ステロイド薬（ス薬）などの治療を開始することで良好な予後が確保されることが広く知られるようになり、病初期の患者が呈している免疫異常を追究し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。そこで昨年度は、DMDやス薬未治療の患者に生じた両疾患の急性増悪の際に採取した髄液について、主に細胞性免疫のマーカーとして髄液リンパ球のフローサイトメトリーを行った結果を発表した。今回は、新たに加わった症例を含め、末梢血リンパ球についても髄液と同日に解析を行った患者について検討するとともに、急性期の病態形成に関与している可能性のあるリンパ球亜分画がス薬のパルス療法前後でどのように変化するか、後方視的に調査した。

研究方法

MS患者は2010 McDonald基準で診断された

再発寛解型MS患者29名（女性19名、男性10名、平均年齢33.2歳）。NMOSDは、2015国際診断基準に適合し且つ抗AQP4抗体陽性患者13名（女性12名、男性1名、平均年齢は54.4歳）。いずれも、MSのDMD、ス薬、免疫抑制薬の投与は受けていない。MSおよびNMOSD患者は、急性増悪期（再発期）に末梢血と髄液を採取した。このうちMSの4名とNMOSDの4名では、ス薬パルス療法後にも解析する機会があった。髄液は、ルーチン検査、IgG index算出を行うとともに、摂氏4度で低速（800rpm）遠心して髄液細胞を回収した。末梢血単核球は比重遠沈法で採集した。回収細胞は氷上でモノクローナル抗体を用いて多重染色し、CD4およびCD8細胞の機能的亜分画の存在率を、フローサイトメトリーを用いて測定した。

（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。

所属：¹⁾金沢医科大学、²⁾国立病院機構宇多野病院

研究結果

- 1) 末梢血リンパ球亜分画解析の結果、急性増悪期には、CD4+CCR2+ effector memory Th細胞 (5.2%) およびCD4+CCR3+ Th2細胞 (4.8%)の有意な上昇のみがNMOSD群で認められた。後者はパルス療法後にNMOSDの4例全例で減少した。
- 2) MSとNMOSDの急性増悪期の髄液リンパ球亜分画解析の結果、両疾患で共通して対照群に比して有意差を認めた項目は、第1報で列挙した通り、CD4+CD29+細胞とCD4+CD45RO+細胞の上昇、およびCD8+CD11a+細胞傷害性T細胞 (CTL) とCD8+CXCR3+細胞 (免疫調節性細胞含む)の低下であった。このうち、4名のMS患者髄液中のCD4+CD29+ helper inducer T細胞はパルス療法後に有意に低下し、CD8+CD11a+ CTLは同治療後に有意に増加した (paired t)。4名のNMOSD患者では、パルス療法後の髄液albumin (26.3 19.0 mg/dl) とIgG (7.2 3.5 mg/dl) の有意な低下が認められた。
- 3) 急性期MSとNMOSDを有意に弁別する髄液パラメータは、NMOSD群における髄液CD8+CD28-細胞 (免疫抑制性集団を含む)の低値 (2.0% vs.4.3%)、およびNMOSD群での末梢血CD4+CCR2+細胞の高値 (5.2% vs.1.6%)であった。

考察と結論

- 1) MSおよびNMOSDともに、中枢神経内組織傷害に至る免疫応答の最終段階は、CD29陽性且つCD45RO陽性のeffector helper T (Th) 細胞集団によって担われていると

推定された。また、NMOSDでは末梢血CD4+CCR2+ effector memory Thの増加が特異的であった。したがって、両疾患の急性期において、ス薬パルス療法を用いてCD4陽性のeffector細胞群の機能を十分に抑制することは、進行中の炎症性病態を改善するには有用な治療手段であると考えられた。

- 2) 両疾患の急性期中枢神経内へ浸潤したCD4+CD29+ helper inducer T細胞は、MSではパルス療法後に有意に減少した。また、CD8分画はMSにおいてのみ同治療後に増加を示したことから、パルス療法は細胞性免疫が主役であるMSにおいて、より切れ味のよい治療手段である可能性が示唆された。一方、パルス療法は、NMOSD患者の髄液albuminとIgGの低下をもたらし、血液脳関門における透過性亢進を抑制する方向から、急性期の治療効果をもたらしている可能性が考えられた。
- 3) NMOSD急性期髄液で明らかになったCD8+CD28-細胞の減少は、安定期にも抑制性細胞集団の機能低下として持続している可能性があり、末梢血で増加するCD4+CCR2+細胞の制御と共に、CD8+CD28-細胞などのCD8系列の調節性細胞機能を増強させ得る薬剤を開発するというoptionがあることが示された。

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