

多発性硬化症および視神経脊髄炎スペクトラム患者急性期における 末梢血細胞性免疫動態と neuroinflammation の共通点と相違点

研究分担者 松井 真¹⁾
共同研究者 森健太郎¹⁾、内田信彰¹⁾、中山丈夫¹⁾、藤田充世¹⁾、中西恵美¹⁾、野寺裕之¹⁾、
長山成美¹⁾、杉山 博²⁾

研究要旨

早期多発性硬化症 (MS) および視神経脊髄炎スペクトラム (NMOSD) 患者の急性増悪期における細胞性免疫の共通点と相違点を、未治療の患者で比較検討した結果を総合的に解析した。両疾患ともに、急性増悪期の髄液中では、CD29 あるいは CD45RO 抗原陽性の IFN- γ 産生能が高いヘルパー T 細胞が対照群に比して増加する一方で、CD8⁺CD183⁺細胞などの immunoregulatory function を担う分画の減少が共通して認められた。両疾患で異なる髄液所見は、MS では B 細胞の活性化を伴う細胞性免疫の活動性が亢進しているのに対し、NMOSD では血液脳関門の破綻が特徴であった。ステロイドパルス療法は、MS では細胞性免疫の修飾を介して、NMOSD では血液脳関門の回復と関連して効果をもたらしていた。

A. 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、病初期から治療を開始する治療方針が普及し、病早期の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、早期MSおよびNMOSDの急性増悪期における細胞性免疫の共通点と相違点を、未治療の患者で比較検討した結果を総合的に解析した。

B. 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。対照群は、非炎症性神経疾患患者 15 名 (女性 7 名、男性 8 名、平均年齢 44.7 歳) である。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。対照群患者は診断確定のために行った採血と腰椎穿刺で得た検体を用いた。型の如くリンパ球を主体とした単核球を回収した後、氷上でモノ

クローナル抗体を用いて多重染色し、フローサイトメトリーを用いて機能的亜分画の存在率を測定した。

同定したサブセットは以下の通りである。

CD3⁺ Mature T cells ; CD19⁺ B cells
CD16⁺CD56⁺CD3⁻ NK cells
CD4⁺CD192⁺ effector memory helper T cells
CD4⁺CD193⁺ Th2 cells
CD4⁺CD183⁺ Th1 cells ; CD4⁺CD195⁺ Th1 cells
CD4⁺CD29⁺ Helper inducer T cells ;
CD4⁺CD45RO⁺ Memory helper T cells
CD4⁺CD25^{high}CD127^{low} Regulatory T cells (Treg)
CD8⁺CD11a⁺ Cytotoxic T cells
CD8⁺CD28⁻ Immunoregulatory T cells
CD8⁺CD183⁺ Immunoregulatory T cells

(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。

C. 研究結果

- 1) MSとNMOSDの急性増悪期に共通して認められる髄液リンパ球サブセットの不均衡（対コントロール群）は、CD4⁺CD29⁺細胞（mean, 60.1%, 58.9%, 49.5%; MS・NMOSD・対照群の順、以下同様の表記法を採用）とCD4⁺CD45RO⁺細胞の上昇（62.1%, 66.7%, 54.1%）およびimmunoregulatory CD8⁺CD183⁺細胞（21.9%, 21.7%, 32.6%）を含むCD8分画の減少であった。
- 2) MSとNMOSDの急性増悪期に両疾患を識別可能な指標は、MS髄液中ではIgG indexが上昇し（0.869, 0.709, 0.554）、B細胞が増加しているのに対し（3.4%, 2.7%, 0.7%）、NMOSD髄液ではタンパク（35.1mg/dl, 56.5mg/dl, 39.1mg/dl）およびIgG（4.1mg/dl, 8.3mg/dl, 3.5mg/dl）レベルの上昇が特徴であった。
- 3) 急性期にパルス療法を行い、その後症状が軽快しつつあった2週以内に髄液および末梢血で同様の解析を行い得た4名のMS患者と4名のNMOSD患者で上記の指標を解析したところ、MSではCD4⁺CD29⁺細胞の有意な減少が認められた（平均値、58.0%から41.5%へ）結果とは対照的に、NMOSDではIgGレベルの有意な低下（平均値、7.2mg/dlから3.5mg/dlへ）が症状改善と関連していた。

D. 考察

- 1) MSおよびNMOSDともに、急性増悪期にはIFN- γ 産生能の高いとされるCD29やCD45RO陽性のヘルパーT細胞が髄液中に増加していたことから、これらのサブセットは両疾患において急性期炎症に直接関与するeffectorとして機能するリンパ球集団と考えられる。

- 2) 急性期MSでは髄液中のB細胞活性化が存在するのに対して、急性期NMOSDでは血液脳関門の破綻が特徴である。
- 3) ステロイドパルス療法後の変化と症状改善の関係はMSとNMOSDでは異なり、MSでは細胞性免疫の修飾を介して、NMOSDでは血液脳関門の回復を介してステロイドパルス療法の効果がもたらされていると考えられた。

E. 結論

- 1) 髄液リンパ球亜分画をフローサイトメトリーにより解析することは患者に対する治療効果を確認する科学的な方法であることが示された。
- 2) 中枢神経内での病態を把握するには、髄液IgGやIgG index等の従来測定されていた指標に加えて、解析が可能な施設では髄液リンパ球亜分画を評価項目に加える意義がある。

F. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) 松井 真. 多発性硬化症 診断と治療戦略. 日本臨床. 78 (11) : 1845-1850, 2020
2. 学会発表
 - 1) Matsui, M. et al. Cellular Immunity in central nervous system during acute flare-ups in patients with multiple sclerosis or neuromyelitis optica spectrum disorders. 12th PACTRIMS. 2019年11月14日. Singapore

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし