

（課題名）多発性硬化症、視神経脊髄炎、慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチー、中枢末梢連合脱髄症、自己免疫性脳炎 の治療反応性・予後規定因子の解析

研究分担者 山村 隆 国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター神経研究所
特任研究部長

共同研究者 須田 互、服部正平 理化学研究所マイクロバイオーム研究チーム
三宅幸子 順天堂大学免疫学教室

研究要旨

多発性硬化症（MS）の病態進展と関連する特定の腸内細菌株を同定し、二次進行型 MS（SPMS）患者の糞便検体から単離培養した。当該菌株を無菌マウスに定着させたノトバイオートマウスにおいては、中枢神経に浸潤する Th17 細胞の顕著な増加と共に、対照群と比較して強い神経障害が出現した。さらに単離菌のゲノム解析の結果、当該菌株は鞭毛を持つ事が判明した。特定の細菌種が持つ鞭毛タンパクは、腸管粘膜固有層の樹状細胞が発現する Toll-like receptor 5（TLR5）のアゴニストとして働き、腸管局所での Th17 細胞の誘導に深く関与することが知られている。以上より、当該菌株が「細菌鞭毛-TLR5-Th17 軸」を介して、SPMS 患者の慢性神経炎症を悪化させている可能性が考えられた。

A. 研究目的

多発性硬化症（MS）患者の多くは、症状の悪化と改善を繰り返す再発寛解型 MS（RRMS）として発症するが、一部の患者は神経障害が改善することなく蓄積していく二次進行型 MS（SPMS）へと移行する。RRMS から SPMS への病態進展と関連する特定の腸内細菌株を同定し、当該菌株が神経炎症を悪化させるメカニズムを明らかにすることを目的に本研究を行った。

B. 研究方法

SPMS患者の糞便検体からMSの病態進展に伴い増加する特定の腸内細菌株を単離培養し、無菌マウスの腸管内に定着させた。次に実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）を誘導後、神経障害の推移を確認すると共に、解剖後に免疫学的解析を行った。最後に単離培養後の腸内細菌株を対象に細菌ゲノム解析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究はヒト糞便検体を用いた医学系研究であるため、「ヒトを対象とする医学系研究に関する倫理指針」によって定められた法律・指針・規定を遵守している。被験者として協力してもらう際には必ず、研究目的や利用方法などについて研究者から十分な説明を行い、書面での同意を得ている。

C. 研究結果

当該菌株を無菌マウスの腸管内に定着させたノトバイオートマウスにおいて、対照群と比較して強い神経障害が出現し、中枢神経に浸潤する Th17 細胞が有意に増加していた。さらに、MS 患者の腸内細菌叢データに基づく、当該菌種には、健常者群、RRMS 群、SPMS 群の 3 群から均等に検出される A 株と、ほぼ SPMS 群特異的に検出される B 株が存在することが判明した。RRMS 患者便から単離培養した A 株と SPMS 患者便から単離培養した B 株の全ゲノムの比較を行ったところ、B 株のみが鞭毛形成に関わる遺伝子を持つことが判明した。

D. 考察

鞭毛は細菌の運動性に深く関わっており、腸内細菌と腸管上皮との相互作用において重要な役割を果たしている。さらに特定の細菌種が持つ鞭毛タンパクは、腸管粘膜固有層の樹状細胞が発現する Toll-like receptor 5（TLR5）のアゴニストとして働き、腸管局所での Th17 細胞の誘導に深く関与することが報告されている。以上より、当該菌株は、鞭毛タンパクの発現を介して Th17 細胞を誘導している可能性が考えられた。

E. 結論

SPMS 患者の腸管内で増加する特定の腸内細菌

株は Th17 細胞の誘導を介して宿主の神経炎症を悪化させている可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Daiki Takewaki, Takashi Yamamura. Gut microbiome research in multiple sclerosis. *Neuroscience Research*. 168. 28-31 (2021)

2. 学会発表

- 1) Daiki Takewaki, Wakiro Sato, Wataru Suda, Sachiko Miyake, Masahira Hattori, and Takashi Yamamura. Dysbiosis in the Salivary Microbiome as a Promising Biomarker for Early Detection of Multiple Sclerosis. ACTRIMS Forum 2022. 18 September. 2022. Virtual
- 2) Daiki Takewaki, Wakiro Sato, Wataru Suda, Sachiko Miyake, Masahira Hattori, and Takashi Yamamura. Dysbiosis in the Salivary Microbiome as a Promising Biomarker for Early Detection of Multiple Sclerosis. ISNI 2021. 18 September. 2021. Virtual
- 3) Daiki Takewaki, Wataru Suda, Wakiro Sato, Hiroaki Masuoka, Lena Takayasu, Sachiko Miyake, Masahira Hattori, and Takashi Yamamura. Identification of Gut Microbial Species Associated with Multiple Sclerosis Progression. 8th CONGRESS IHMC. 28 June. 2021. Virtual
- 4) 竹脇大貴, 佐藤和貴郎, 須田互, 三宅幸子, 服部正平, 山村隆. Identification of Gut Bacterial Species Associated with Progression of Multiple Sclerosis. 第49回日本臨床免疫学会総会. 2021年10月28日. 東京.
- 5) 竹脇大貴, 佐藤和貴郎, 須田互, 三宅幸子, 服部正平, 山村隆. Elucidation of Gut Microbial Species Associated with Multiple Sclerosis Progression. 第33回日本神経免疫学会総会. 2021年10月21日. 福岡.
- 6) 竹脇大貴, 山村隆. The Role of Gut Microbiome in the Progressive Stage of Multiple Sclerosis. 第33回日本神経免疫学会総会. 2021年10月21日. 福岡.

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

特願 2019-155910

発明の名称：再発寛解型多発性硬化症、二次進行型多発性硬化症、非典型多発性硬化症及び視神経脊髄炎類縁疾患の診断方法、並びに診断用バイオマーカー

出願人：国立研究開発法人国立精神神経医療研究センター, 順天堂大学, 理化学研究所