

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
神経免疫疾患のエビデンスに基づく診断基準・重症度分類・ガイドラインの妥当性と患者 QOL の検証
分担研究報告書

（課題名）多発性硬化症における慢性進行指標としての末梢血リンパ球亜分画免疫動態解析

研究分担者 中西恵美 金沢医科大学 脳神経内科
共同研究者 森健太郎、内田信彰、藤田充世、濱口毅、松井真、朝比奈正人

研究要旨

多発性硬化症患者が長期の経過の慢性炎症性変化に伴うダメージを、簡便かつ的確に評価を行う事が診療上重要と考えられている。今回 NEDA-4、脳萎縮に関連した潜在性の“慢性進行指標の免疫学的指標の確立”を目的とし、NEDA-3 達成の病状安定期に疾患修飾薬(DMD)切り替えた RRMS 患者例において、頭部画像と共に末梢血リンパ球亜分画を用い、“潜在的慢性炎症指標”として T 細胞系及び、B 細胞系をモニタリングした。尾状核頭部幅 (bicaudate index:BI) の経時評価で Δ BI 値（導入前、導入後の BI index の差を経過年数で割ったもの）で萎縮を認めた群では、CD4+CD29+helper inducer T 細胞の低下、CD4+CCR2+の Th2 細胞の増加と CD19+B 細胞の増加が確認された。また DMD は Fingolimod に変更した群では、 Δ BI の進展有無にかかわらず、CD19+B 細胞低下が確認された。

A. 研究目的

多発性硬化症 (MS) の治療では、早期かつ適正な再発予防薬の疾患修飾薬(DMD)の導入調整し、これにより将来的後遺症の軽減に努める事が重要である。NEDA-3 の達成（再発なし、新規拡大 MRI 病巣なし、身体障害進行なし）を目指す事が求められているが、潜在性の活動性進行を評価する為の高次機能診察や MRI 検査等は時間を要するものが多く、簡便かつ正確なバイオマーカーの確立が求められている。MS の病態の主体は T 細胞系と推定されるものの、近年 B 細胞自体や、T 細胞介在性の B 細胞活性化機序に伴う病態修飾、及び疾患活動性コントロールに注目が集まっている⁽¹⁾⁽²⁾。

本研究では“慢性進行指標の免疫学的指標の確立”を目的とし、“NEDA-3 達成の病状安定期”に DMD を切り替えた再発寛解型 MS (RR-MS) 患者例を対象とし、画像評価と共に末梢血リンパ球亜分画解析を用いて、“潜在的慢性炎症指標”としての T 細胞系解析と、B 細胞の解析を行い、疾患活動性を外来診療で簡便に評価できる方法を開発する。

B. 研究方法

2010 McDonald基準で診断されたRR-MS患者で、“NEDA-3達成の病状安定期”にDMDの切り替え変更を行った6名（男性5例、女性1例）を対象とした。対象の平均年齢は変更前37.1歳、変更後41.8歳。変更前の平均EDSS2.71、変更

後の平均EDSSは2.57であった。変更前のDMDはIFN β 1a/1b5名、Fingolimod1名、変更後のDMDはフマル酸ジメチル (DMF) 3名、Fingolimod3名であった。変更前と変更2年後に末梢血のリンパ球亜分画解析と頭部MRI検査を適時外来で施行した。

頭部MRIの解析では、簡便評価可能な尾状核頭部幅 (bicaudate index:BI) を指標とした。 Δ BI (変更前後のBI indexを経過年数で割ったもの) は、健常者で検討した山尾らの報告の (S Yamano et al: Jpn J Geriat 1994;31:961-968)⁽³⁾ の平均値0.17 \pm 0.09を基準とし、平均の2SDを超える0.35以上増加を認めた場合“萎縮あり”と評価した。

リンパ球を主体とした単球を回収、氷上でモノクローナル抗体を使用での多重染色を行い、フローサイロメトリーを使用し機能的亜分画存在率の測定施行した。施行したモノクローナル抗体使用でのリンパ球サブセットは下記に示す。(表1)。

(表1)

- CD2* E-rosettle forming cells
- CD3* Mature T cells ;
- CD4* Helper T cells (Th)
- CD8* Cytotoxic T cells
- CD19* B cells

CD16⁺CD56⁺CD3⁻ NK cells
 CD4⁺CD29⁺ Helper inducer T cells
 CD4⁺CD45RO⁺ Memory helper T cells
 CD4⁺CD192⁺(CCR2) effector memory helper T cells
 CD4⁺CD195⁺ (CCR5) Th1 cells
 CD4⁺CD183⁺(CXCR3) Th1 cells ;
 CD4⁺CD193⁺(CCR3) Th2 cells
 CD4⁺CD194⁺ (CCR4) Th2 cells

(倫理面への配慮)

後方視的に連結可能匿名データを解析を行う本研究は、施設I承認を得て施行した。

C. 研究結果

1) 脳萎縮進行あり群の平均 Δ BIは1.33、脳萎縮進行なしの群は平均 Δ BIは0.13の結果で、脳萎縮進行ありの群の変更後DMDは、DMF2例、Fingolimod1例であった。

2) 全例DMD変更前後において、CD4⁺CD195⁺ (CCR5) Th1細胞及びCD4⁺CD183⁺(CXCR3) Th1細胞に変化は認めなかった。(図1)

3) Δ BI上昇の脳萎縮進行群では、変更後CD4⁺CD29⁺ helper inducer T細胞の低下、CD4⁺CD193⁺ (CCR3) Th2細胞増加変化とCD19+B細胞増加を確認した。(図2)

4) DMD変更後で Δ 脳萎縮非進行変化群でCD4⁺CD29⁺ helper inducer T細胞の低下を認めた。CD4⁺CD193⁺ (CCR3) Th2細胞は軽微に上昇しCD19+B細胞に変化はなかった。

5) Fingolimod変更後は、脳萎縮進行の進展有無にかかわらず、CD19+B細胞低下が確認された。(図3)

D. 考察

MSでは“潜在性の慢性炎症による脳萎縮の進展”を早期に的確に検知する事が重要である。脳萎縮は加齢によっても生じる事から、脳萎縮の進行に関与するMSに特異的な“潜在性の慢性炎症の指標”をとらえるかが重要と考えられる。MSにおいてはCNSに浸潤したTh17細胞が、グルタミン酸放出を誘導して髄鞘形成に障害を与え、表面に高発現するCD29を阻

害するとTh17介在性での破壊が軽減される、との報告(Catherine Larochelle et al:PNAS 2021; 118 : e2025813118)がある。今回全例DMD変更後にCD4⁺CD195⁺ (CCR5) Th1細胞及びCD4⁺CD183⁺(CXCR3) Th1細胞の増加が確認はされない点からもNEDA-3は達成の疾患活動性は正維持の状態は確認が得られた群での評価の結果、その中で脳萎縮進行あり

“NEDA-4未達成”の群では、CD4⁺CD29⁺ helper inducer T細胞の低下と共にCD4⁺CD193⁺ (CCR3) Th2細胞の増加とCD19+B細胞増加が確認され、この結果は“潜在的な慢性進行性炎症の反映”として脳萎縮進行の変化の可能性はある。しかしDMDの1つであるfingolimod変更後にはCD19+B細胞の低下が確認された。

FingolimodのSPI受容体へのB細胞の作用や濾胞性ヘルパーT細胞 (CD4+CXCR5+) による抑制作用などのB細胞抑制機序の関与の可能性もある。そのためCD19+B細胞は、“潜在性慢性炎症”の指標でなくDMD特異的に変化する可能性がある。今後CD19+B細胞を指標として使用できるか、更なる検討が必要でらう。

CD4⁺CD29⁺ helper inducer T細胞などその他のバイオマーカーについては、潜在進行性炎症の簡易指標となりえる可能性があると思われる。今後症例を増やしかつ年単位の観察期間を設け検討する事が重要である。

E:結論

DMD変更後にNEDA-4未達成、脳萎縮進行例で、CD4⁺CD29⁺ helper inducer T細胞の低下、CD4⁺CD193⁺ (CCR3) Th2細胞増多とCD19+B細胞増多を認め、これらは加齢などの要素に関連しない“潜在性の疾患活動性炎症”の指標となりえる可能性がある。

F:研究発表

1:論文発表 なし
 2:学会発表 なし

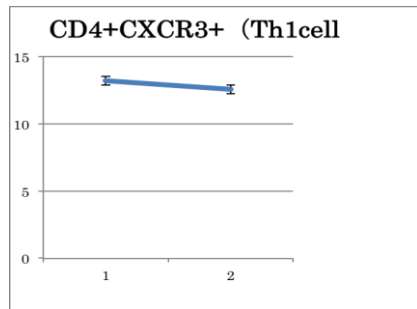
G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含)

1. 特許取得: なし
 2. 実用新案登録: なし
 その他: なし

参考文献

- 1) Serafini B et al: Brain Pathol 2004;14:164-174.
- 2) Wolswijk G et al: J Neurosci 1998;18:601-609.
- 4) S Yamano et al: Jpn J Geriat 1994;31:961-968

図1



CD4⁺CCR5⁺ Th1 cells

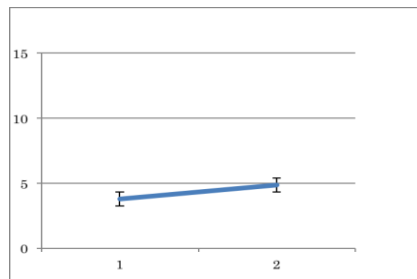
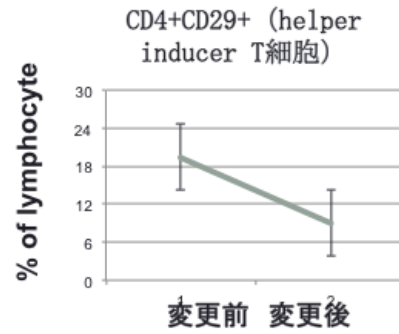


図2



CD4⁺CCR2⁺Th2cell

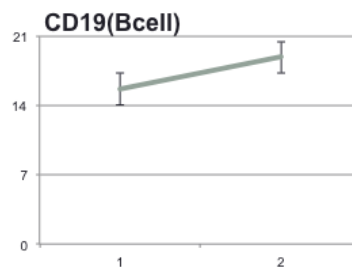
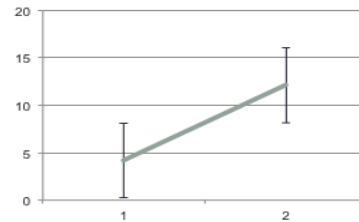


図3

