

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患政策研究事業)
神経免疫疾患領域における難病の医療水準と患者の QOL 向上に資する研究
分担研究報告書

(課題名) 多発性硬化症および視神経脊髄炎の個別化医療実現に向けた研究

研究分担者 山村 隆 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
京都大学大学院医学研究科 特任教授
共同研究者 佐藤和貴郎 国立精神・神経医療研究センタートランスレーショナル・メ
ディカルセンター 開発戦略室長

研究要旨

多発性硬化症 (MS) および視神経脊髄炎 (NMOSD) では、治療選択肢が増えるなかで、個々の患者病態にあった薬剤を処方する個別化医療が期待されている。その実現に向けて患者リンパ球亜分画解析の結果を、臨床症状、臨床経過、MRI画像所見などに対応させる解析を実施した。その結果、再発寛解型MSにおいて、その再発・進行のリスクの低い患者集団では、non-classical monocyte (NCM) および NCM/classical monocyte (CM) が有意に高いことが明らかになった。NCM や NCM/CM が低い症例では、治療効果が suboptimal である可能性が示唆された。また自己抗体産生細胞集団として注目されている CD11c high B 細胞について、その増加が見られる NMO 患者において、CD11c high B 細胞の頻度は、EDSS、罹病期間、脳萎縮と相関することがわかった。NMO における脳病巣増加や進行性の脳萎縮を予防するには、CD11c high B 細胞の介在する炎症を抑制する必要がある。

A. 研究目的

MS および NMO の治療薬は近年増加しているが、薬剤選択の科学的根拠に関する情報は限られている。病態に沿った医療が重要であることは、抗アクアポリン 4 抗体 (AQP4 Ab) の有無が NMOSD における分子標的医薬の薬効を決定することから明らかであり、臨床で有用なバイオマーカーの開発を推進する必要がある (Yamamura, T. Lancet Neurol 2023)。本研究の目的は、治療の最適化および個別化医療を進めるためのバイオマーカーを同定することである。

B. 研究方法

1) MS の NEDA 維持を予測するバイオマーカーの研究

NEDA-3 を 2 年以上維持している RRMS 患者 31 名

(以下 NEDA 群) と年間再発が 2 回以上の RRMS 患者 (EDA 群) 8 名の末梢血における B、T、non-T non-B 細胞亜分画をフローサイトメトリーにより解析した。EDA 群と比較し NEDA 群において、単球における NCM の頻度、NCM/CM 比、CD4 陽性細胞における活性化制御性 T 細胞 (CD45RA 陰性 FOXP3 高発現 CD4 陽性細胞) の頻度が有意に高かった。ROC 解析では、NCM 頻度、NCM/CM 比はその後 2 年間の再発の有無を予測するのに高い感度特異度を示した (AUC=0.97, 0.94)。

末梢血 NCM 頻度、NCM/CM 比は、同時に評価した末梢血活性化制御性 T 細胞の頻度と正の相関を認め、共培養実験では、NCM と共培養した末梢血 CD4 陽性 T 細胞は、CM と共培養した CD4 陽性 T 細胞や単培養した CD4 陽性 T 細胞に比して活性化制御性 T 細胞の頻度が高かった。

2) NMO の脳萎縮と関連するバイオマーカーの

研究

AQP4 抗体陽性 NMO 患者 45 名と、30 名の健常者の末梢血 B 細胞分画をフローサイトメトリーで解析した。さらに、対照群として 28 名の再発寛解型多発性硬化症 (RRMS) 患者と、ステロイドを内服中の 15 名の RRMS 患者の解析を行った。NMO、RRMS 患者いずれも寛解期に血液検体を採取した。また、血液検体の採取から 1 年以内に脳 MRI を撮像している患者 26 名を対象に、3D-T1WI、3D-FLAIR 画像データを基に全脳、白質、灰白質の体積を FreeSurfer 6.0 を用いて、T2/FLAIR 高信号病変の体積を LST toolbox version 3.0.0 を用いて算出し、頭蓋骨の大きさの個人差を考慮して estimated total intracranial volume (eTIV) で補正を行った。

(倫理面への配慮)

研究計画は NCNP の倫理委員会の審査を経て承認されたプロトコルに基づき、採血や臨床症状に関するアンケート調査においては、書面による informed consent を得たうえで実施した。

C. 研究結果

1) MS の NEDA 維持を予測するバイオマーカーの研究

Non-NEDA 群と比較し NEDA 群において、単球における non-classical monocyte (以下 NCM) の頻度、NCM/CM (classical monocyte) 比、CD4 陽性細胞における活性化制御性 T 細胞 (CD45RA 陰性 FOXP3 高発現 CD4 陽性細胞) の頻度が有意に高かった。B 細胞亜分画は両者で有意差を認めなかった。non-T non-B 細胞亜分画について、別のコホート (NEDA 群 17 名、EDA 群 5 名、健常コントロール 15 名) で同方法を用いて再評価したところ、NEDA 群における NCM 頻度と NCM/CM 比は、再現性をもって EDA 群より高く、健常コントロールと同程度であったことから、NCM が NEDA 維持に関連する亜分画の候補と考えられた。

ROC 解析では、NCM 頻度と NCM/CM 比は、採血時点での 2 年間 NEDA-3 維持ができているか否かを識別するのに高い感度特異度を示した (ともに AUC=0.93)。さらに NCM 頻度、NCM/CM 比測

定後の RRMS 患者のその後の再発の有無を前方視的に観察し、両者が MS 患者の長期寛解を予測しうるかについて、ROC 解析と Kaplan-Meier 曲線を用いて評価した。ROC 解析では、NCM 頻度、NCM/CM 比はその後 2 年間の再発の有無を予測するのに高い感度特異度を示した (AUC=0.97、0.94)。

2) NMO の脳萎縮と関連するバイオマーカーの研究

末梢血 B 細胞を CD11c^{high}, CD11c^{mid}, CD11c^{low} の 3 分画に分けて B 細胞分画中の頻度を解析した。NMO 患者では、健常者および RRMS 患者と比して、T-bet を高発現する CD11c^{high} B 細胞の頻度が有意に増加していた。投薬の種類、プレドニゾロン (PSL) の内服量と CD11c^{high} B 細胞の頻度との関連は認めなかった。

NMO の臨床像との関連を評価したところ、CD11c^{high} B 細胞の頻度は重症度の指標である EDSS、過去の総再発回数、罹病期間と有意な正の相関を認めたが、疾患活動性の指標である年間再発率 (ARR)、年齢とは相関を認めなかった。また、CD11c^{high} B 細胞の頻度が高い患者では、過去の脳病変の再発回数が有意に多いことが明らかとなった。脳 MRI 画像の評価では、CD11c^{high} B 細胞の頻度は全脳体積、白質および灰白質体積、T2/FLAIR 高信号病変の体積と有意な負の相関を認めた。

D. 考察

CD11c^{high} B 細胞の増加は NMO の再発病態よりも慢性病態を反映し、脳萎縮を伴う慢性炎症に関与している可能性が考えられた。また、CD11c^{high} B 細胞の増加は、RRMS と比較して NMO により特異的であること、NMO の治療内容とは明らかな関係がないことを明らかにした。本研究は後ろ向き研究であり経時的な B 細胞分画の解析を行っていないが、NMO では再発を繰り返し、慢性炎症が持続する過程で CD11c^{high} B 細胞が蓄積していくことも考えられ、前向き研究での評価が今後の課題である。

E. 結論

・RRMS 患者において、NCM は活性化制御性 T 細胞を増加させることで長期寛解に関連する可能性があり、有用な長期寛解の予測マーカーになりうるということが分かった。

・NMO では寛解期であっても末梢血の CD11c^{high}B 細胞の頻度が増加しており、主に脳の慢性炎症と脳萎縮に関与している可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Lin, Y., S. Sakuraba, C. Masikamany, J. Reddy, Y. Tanaka, S. Miyake, and T. Yamamura. Harnessing autoimmunity with dominant self-peptide: Modulating the sustainability of tissue-preferential antigen-specific Tregs by governing the binding stability via peptide flanking residues.

J. Autoimmunity 2023 Sep 14; 140:103094

2) Matsuoka, T., M. Araki, Y. Lin, T. Okamoto, R. Gold, N. Chihara, W. Sato, A. Kimura, H. Tachimori, K.

Miyamoto, S. Kusunoki, and T. Yamamura: Long-term effects of IL-6 receptor blockade therapy on regulatory lymphocytes and neutrophils in neuromyelitis optica spectrum disorder. *Neurol: Neuroimmunol Neuroinflamm*

11: e200173. 2024

3) Amano, E., W. Sato, Y. Kimura, A. Kimura, Y. Lin, T. Okamoto, N. Sato, T. Yokota, and T. Yamamura: CD11^{high} B cell expansion is associated with severity and brain atrophy in neuromyelitis optica. *Neurology: Neuroimmunol Neuroinflamm* 11, e200206, 2024

4) Minote, M., W. Sato, K. Kimura, Y. Lin, T. Okamoto, R. Takahashi, and T. Yamamura: High frequency of circulating non-classical monocytes is associated with stable remission in multiple sclerosis. *Immunol Med* (in press), 2024

2. 学会発表

1) 山村 隆：新時代の視神経脊髄炎治療。招待講演。第 61 回日本神経眼科学会総会。東京，2023.12.2

2) 山村 隆：特別講演 Involvement of Eomes-expressing cytotoxic Th cells in neurodegenerative disorders. 第 8 回日本骨免疫学会ウインタースクール。長野県。2024.2.1

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

該当なし