

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#2）炎症性グリア病である視神経脊髄炎におけるステージ依存性免疫ダイナミクスの研究

研究分担者	河内 泉	新潟大学大学院医歯学総合研究科医学教育センター・准教授 新潟大学医歯学総合病院脳神経内科
共同研究者	佐治越爾	新潟大学脳研究所脳神経内科学
共同研究者	中島章博	新潟大学脳研究所脳神経内科学
共同研究者	柳村文寛	新潟大学脳研究所脳神経内科学 独立行政法人国立病院機構新潟病院脳神経内科
共同研究者	柳川香織	新潟大学脳研究所脳神経内科学
共同研究者	若杉尚宏	新潟大学脳研究所脳神経内科学 独立行政法人国立病院機構西新潟中央病院脳神経内科
共同研究者	小野寺理	新潟大学脳研究所脳神経内科学

## 研究要旨

視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica spectrum disorder; NMOSD) は、多発性硬化症 (multiple sclerosis; MS) と並ぶ中枢神経系自己免疫性疾患である。標的自己抗原がアストロサイトに発現するアクアポリン 4 (aquaporin-4; AQP4) 水分子である NMOSD と、標的自己抗原が髄鞘・オリゴデンドロサイトである MS は、異なる免疫病態を持つ「炎症性グリア病」である。本研究では、NMOSD においてステージ依存性免疫病態を包括的に理解することを目的とした。病理学的解析により、NMOSD 剖検組織の initial (IL)/early active (EA) stage 病巣には、①活性化補体の血管周囲縁への沈着、②脱髄・神経障害に先立つアストロサイト上 AQP4 分子の消失 (pattern-specific loss of AQP4 immunoreactivity, sublytic astrocyte reactions)、③アストロサイト自体の細胞消失 (lytic astrocyte reactions)、④melanoma cell adhesion molecule (MCAM) 陽性 T 細胞 (T<sub>H</sub>17) の浸潤、⑤活性化好中球の浸潤、⑥細胞傷害性顆粒グランザイムを発現した組織常在性記憶 T 細胞 (T<sub>RM</sub>) の浸潤、⑦FOXP3<sup>+</sup>T<sub>reg</sub> 細胞の浸潤、⑧活性化マクロファージ・ミクログリアの浸潤を認めた。一方、inactive (IA) stage 病巣においても T<sub>RM</sub> (細胞傷害性顆粒を発現しない) の浸潤を認めた。MCAM 陽性 T 細胞数と好中球細胞外トラップを示唆するシトルリン化ヒストンシグナル数は急性期病巣サイズに正に相関した。以上から、NMOSD では、ステージ依存的な免疫ダイナミクス (好中球・T<sub>H</sub>17/T<sub>C</sub>17・T<sub>RM</sub>・FOXP3<sup>+</sup>T<sub>reg</sub>) を基盤に、AQP4 水チャネル自己抗体と補体が発動し、系統的に AQP4-opathy が形成されると推定された。

### A. 研究目的

視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica spectrum disorder; NMOSD) は、多発性硬化症 (multiple sclerosis; MS) と並ぶ中枢神経系自己免疫性疾患である。標的自己抗原がアストロサイトに発現するアクアポリン 4 (aquaporin-4; AQP4) 水分子である NMOSD と、標的自己抗原が髄鞘・オリゴデンドロサイトである MS は、異なる免疫病態を持つ「炎症性グリア病」である<sup>1-4</sup>。本研究では、NMOSD におけるステージ依存性の免疫病態を包括的に理解することを目的とした。

### B. 研究方法

病理学的解析により、MS および NMOSD 剖検脳・脊髄・視神経に存在する炎症極性を病理学的に解析した。正常対照として非中枢神経疾患剖検例を用いた。AQP4, GFAP, CNPase, MOG,

MBP, NF, C9neo, Iba-1, CD3, CD4, CD8, CD20, MCAM, FOXP3 をはじめとした免疫組織化学を行った。既報に基づいて、NMOSD の脊髄病変を initial lesions (IL), early active lesions (EA), late active lesions (LA), inactive lesions (IA) に分類した。

(倫理面への配慮)

本研究は新潟大学医学部倫理委員会の審査・承認を得ている。研究の対象となる個人の人権擁護のため、オプトアウトにより拒否の機会を保障し、厳重な個人情報管理を行っている。

### C. 研究結果

病理学的解析により、NMOSD 剖検脳の initial (IL)/early active (EA) stage 病巣には、①活性化補体の血管周囲縁への沈着、②脱髄・神経障害に先立つアストロサイト上 AQP4 分子の消失

(pattern-specific loss of AQP4 immunoreactivity, sublytic astrocyte reactions), ③アストロサイト自体の細胞消失 (lytic astrocyte reactions) を認めた。さらに, ④melanoma cell adhesion molecule (MCAM) 陽性T細胞 (T<sub>H</sub>17) の浸潤, ⑤活性化好中球の浸潤, ⑥細胞傷害性顆粒グランザイムを発現した組織常在性記憶T細胞 (T<sub>RM</sub>) の浸潤, ⑦FOXP3<sup>+</sup> T<sub>reg</sub>細胞の浸潤, ⑧活性化マクロファージ・ミクログリアの浸潤を認めた。一方, inactive (IA) stage病巣においてもT<sub>RM</sub> (細胞傷害性顆粒を発現しない) の浸潤を認めた。MCAM陽性T細胞数と好中球細胞外トラップを示唆するシトルリン化ヒストンシグナル数は急性期病巣サイズに正に相関した。NMOSDにおけるこれらのステージ依存的な免疫ダイナミクスの状態はMSでは異なっていたことより, NMOSDに特異的に存在することが推定された。

#### D. 考察

これまでの研究により, NMOSD の標的自己抗原 AQP4 水チャネルが同定されてきたが, 自己抗体以外の免疫動態は不明であり, このため, 血液脳関門 (BBB) を介した AQP4 自己抗体の移動 (中枢神経外から中へ) のメカニズム, 再発を引き起こすメカニズム, 病変を拡大させるメカニズム, interleukin (IL)-6 受容体抗体をはじめとした疾患修飾薬の効果発現メカニズムの詳細は不明なままであった。

本研究により, 以下の仮説が推定された。①中枢神経に常在している T<sub>RM</sub> が, 何らかの発作誘発を受け, 細胞傷害性顆粒グランザイムを発現する。②MCAM を発現した T<sub>H</sub>17 細胞が中枢神経系に侵入し, IL-17 を産生する。③IL-17 に応答して, マクロファージや好中球が侵入し, 好中球を活性化させる。活性化した好中球から, 細胞外 DNA トラップが形成される。④BBB が大きく破綻する。⑤大きく破綻した BBB から, AQP4 抗体と補体が中枢神経の中へ大量に侵入し, アストロサイトが破壊される。⑥二次的に神経軸索の腫大・障害と脱髄が起こる。⑦T<sub>H</sub>17 と活性化好中球がさらに集積し, 炎症が増幅し, 病変がさらに大きく拡大する。⑧一方, 炎症を制御する力を持つ FOXP3<sup>+</sup>T<sub>reg</sub> が侵入し, 病巣は沈静化に導く。⑨病巣が沈静化した後も T<sub>RM</sub> が残存し, 次の発作誘発に備える。以上のように, NMOSD では, ステージ (病期) 依存的に T<sub>RM</sub>/IL-17/好中球を軸とした免疫ダイナミクスが形成され, その基盤の上で AQP4 抗体と補体が作動することが推測された。免疫ダイナミクスの制御 (好中球・T<sub>H</sub>17/Tc17・T<sub>RM</sub> の活性化抑制と, FOXP3<sup>+</sup>T<sub>reg</sub> の増幅) が, 再発を抑止し, 神

経を保護する治療の開発に繋がる可能性が想定された。

#### E. 結論

NMOSD には, ステージ依存的な免疫ダイナミクス (好中球・T<sub>H</sub>17/Tc17・T<sub>RM</sub>・FOXP3<sup>+</sup>T<sub>reg</sub>) が存在する。これを基盤に, AQP4 水チャネル自己抗体と補体が発動し, AQP4-opathy が形成されると推定された。

#### (参考文献)

- 1) Kawachi I, Lassmann H. Neurodegeneration in multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2017;88:137-145.
- 2) Hokari M, Yokoseki A, Arakawa M, et al. Clinicopathological features in anterior visual pathway in neuromyelitis optica. *Ann Neurol* 2016;79:605-624.
- 3) Saji E, Arakawa M, Yanagawa K, et al. Cognitive impairment and cortical degeneration in neuromyelitis optica. *Ann Neurol* 2013;73:65-76.
- 4) Yanagawa K, Kawachi I, Toyoshima Y, et al. Pathologic and immunologic profiles of a limited form of neuromyelitis optica with myelitis. *Neurology* 2009;73:1628-1637.

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kawachi I, et al. Stage-dependent immunity orchestrates AQP4 antibody-guided NMOSD pathology: A role for netting neutrophils with resident memory T cells *in situ*. *Acta Neuropathologica* 2024, *in press*.
- 2) 河内泉. 多発性硬化症の治療. 特集I 神経免疫疾患-病態から最新治療まで. *脳神経内科* 2024;100(1):16-25.
- 3) 河内泉. 神経領域. 特集: IgG4関連疾患. III. 各論 (診断と治療). *日本臨床* 2024;82(3):406-412.
- 4) 河内泉. 多発性硬化症 (MS), 視神経脊髄炎スペクトラム障害 (NMOSD). 特集 病棟・外来でよくみる気になる神経診療 *Up to Date*. 月刊 薬事 2024;66(4):85(741)-90(746).
- 5) 河内泉, 他. 第3章 状況ごとの診療のコツ, エキスパートが教えます! 8. MS・NMOSD・ADEMを含めた自己免疫性中枢神経疾患を考えるタイミング. レジデントノート増刊. 救急, プライマリ・ケアでの神経診療がわかる、できる! ~重要疾患を見抜く病歴聴取・神経診察を脳神経内科のエキスパートがやさしく教えます」安藤孝志

編集. 25(8):1499(193)-1510(204), 2023. 2023年7月20日発行. 羊土社, 東京.

- 6) 河内泉, その他 (多発性硬化症・視神経脊髄炎診療ガイドライン作成委員会). 日本神経学会監修. 多発性硬化症・視神経脊髄炎診療ガイドライン2023. 2023年9月発行. 医学書院. 東京.
- 7) 河内泉. H. 脱髄性疾患. 非感染性炎症性疾患. 3-1. 肥厚性硬膜炎. 下畑享良編集. 脳神経内科診断ハンドブック. 改訂第2版. 2024年3月20日発行. 260-268頁. 中外医学社. 東京.

## 2. 学会発表

- 1) Nakajima A, Kawachi I, et al. Dynamics of MCAM expression on endothelial cells in neuromyelitis optica spectrum disorders. MS Milan 2023, 9th Joint ECTRIMS-ECTRIMS Meeting. Milan, Italy. 2023年10月.
- 2) 河内泉. 「自然免疫からみた脳内炎症とその治療」第64回日本神経学会学術大会. 千葉. 2023年5月.
- 3) 河内泉. 「神経疾患. 母性内科学会との共同シンポジウム 内科疾患合併妊娠の現状と課題」第59回日本周産期・新生児医学会学術集会. 名古屋. 2023年7月.
- 4) 河内泉. 「Motor and non-motor symptoms of NMOSD～病態と治療 update 2023～」第28回認知神経科学会学術集会. 北海道. 2023年7月.
- 5) Kawachi I. Neuro-immune crosstalk: lessons learned from immunological features and neurodegenerative processes in MS and NMOSD. JSNI-PNIRS Asia-Pacific Joint Symposium. 第35回日本神経免疫学会学術研究集会. 東京. 2023年9月.
- 6) 河内泉. 「MS/NMOSD 診療から考えるリアルワールドデータ (RWD)/エビデンス (RWE) の利活用」第35回日本神経免疫学会学術研究集会. 東京. 2023年9月.
- 7) 河内泉. 「MS/NMOSD 診療から考えるリアルワールドデータ (RWD)/エビデンス (RWE) の利活用」第35回日本神経免疫学会学術研究集会. 東京. 2023年9月.

## G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得: なし
2. 実用新案登録: なし
3. その他: なし