

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K21285

研究課題名(和文) 多発性硬化症における疾患修飾薬選択のためのバイオマーカの検討

研究課題名(英文) Investigation of biomarkers to select the optimal disease-modifying drugs for each individual patient with multiple sclerosis.

研究代表者

藤井 ちひろ (Fujii, Chihiro)

京都府立医科大学・医学部附属病院・研究員

研究者番号：00516065

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者らは、フィンゴリモド治療下の多発性硬化症患者の末梢血中では、CD56陽性T細胞頻度が増加していることを発見した。このCD56陽性T細胞は、細胞障害性分子を発現し、炎症性サイトカイン産生能を有し、ミエリン蛋白に反応してIFN- γ を産生した。この細胞頻度は、フィンゴリモド治療下の非再発例と比較すると、再発経験例ではその寛解期からすでに有意に増加しており、再発期にはさらに著増した。以上より、フィンゴリモド治療下で増加しているCD56陽性T細胞は、フィンゴリモド治療下の再発に關与する可能性があると考えられ、その頻度は治療中の再発予測および再発同定の血液バイオマーカーとなる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We found that the frequency of CD56+ T cells in peripheral blood increased in fingolimod-treated patients with multiple sclerosis. These T cells expressed cytotoxic molecules and showed a Th1-like response. In addition, the CD56+ T cells produced IFN- γ in response to myelin basic protein. The elevated frequency of CD56+ T cells in fingolimod-treated patients was further increased at relapse. Relapse-experienced patients retained a higher frequency of CD56+ T cells even during remission compared to patients who did not have any relapse while on fingolimod treatment. Our results showed that the T cell phenotypes were altered under fingolimod therapy, and raised a possibility that the frequency of CD56+ T cells is a useful biomarker for predicting and detecting relapses, although further confirmation is required.

研究分野：神経内科学

キーワード：多発性硬化症 フィンゴリモド T細胞 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

多発性硬化症(multiple sclerosis: MS)は、本邦でも年々患者数が増加している、中枢神経系の自己免疫性炎症性脱髄疾患であり、その病態で中心的な役割を果たしている免疫細胞は、中枢神経自己抗原に特異的な脳炎惹起性 CD4+ T 細胞であると考えられている(Sospedra M and Martin R, Annual review of immunology, 2005)。CD4+ T 細胞の中でも、IFN- γ を産生する Th1 細胞や IL-17 を産生する Th17 細胞が脳炎惹起性 T 細胞として注目されている。一方で、CD8+ T 細胞による直接的なオリゴデンドロサイト細胞体障害や、中枢神経系内での炎症の維持や皮質障害に B 細胞が関与すること(Howell OW et al, Brain 2011)、急性期病理像が単一ではないことなどが報告されており(Lucchinetti C et al, Annals of neurology, 2000)(Metz et al, Annals of neurology, 2014)、これらの報告や MS が示す臨床像の多様性からは、その背景となる免疫病態に多様性があることが推察できる。

本邦で使用可能な MS 疾患修飾薬のひとつ fingolimod は、二次リンパ組織に homing したリンパ球の末梢循環血液中への再移出を抑制する。リンパ節に homing するリンパ球の中には脳炎惹起性 T 細胞が含まれており、fingolimod はこれら脳炎惹起性 T 細胞の二次リンパ組織からの再移出を抑制し、末梢循環血液中から減少させ、結果的に中枢神経系へ移行する脳炎惹起性 T 細胞を減少させることで高い再発抑制効果を発揮する(Cohen JA, The New England journal of medicine, 2010)(Kappos L, The New England journal of medicine, 2010)。しかしながら、高い再発抑制効果の一方で、fingolimod 治療例においても再発例が存在し、その再発は従来の MS 再発よりも重篤で、非典型的な腫瘍性病変をきたす傾向にあることが報告されている(Pilz G, Neurology 2013)。こうした事実からは、fingolimod 治療下の再発例においては、背景にある免疫病態が従来の MS とは異なる、あるいは変化している可能性が示唆される。

我々はこれまでに、少数例での検討において、fingolimod 治療下 MS 患者の末梢血中では、寛解期において CD56+T 細胞頻度が増加しており、再発期には更に有意に上昇することを観察した(図 1)。また、CD56+T 細胞頻度の増加は、未治療 MS 患者や IFN 投与下 MS 患者では寛解期・再発期ともに認められず、fingolimod 投与下に特徴的な事象と考えられた(図 1)。

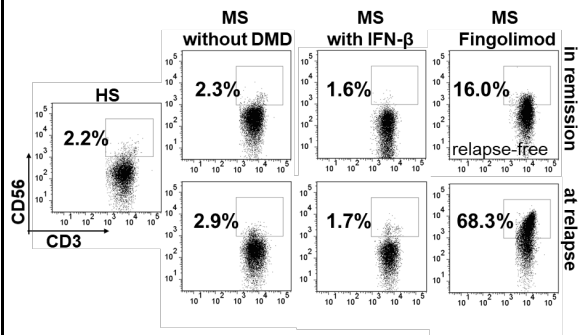


図 1

2. 研究の目的

本研究では fingolimod 治療下、特に fingolimod 治療下再発例において増加している CD56+T 細胞の、機能的特徴や増加の機序について解析し、同細胞群の再発への関与の可能性について検討する。臨床的には、CD56+T 細胞頻度が、fingolimod 治療下多発性硬化症の再発ならびに再発予測、または治療効果判定の血液バイオマーカーとして機能しうかどうかを評価する。

3. 研究の方法

- 1) CD56+T 細胞の機能的特徴を明らかにする。
細胞表面および細胞内分子の評価。
サイトカイン産生能の評価。
ミエリン蛋白に対する反応性の評価。
- 2) CD56+T 細胞が増加する機序を解析する。
- 3) fingolimod 治療下多発性硬化症患者の病期と CD56+T 細胞頻度の相関を評価する。

4. 研究成果

1) CD56+T 細胞の機能的特徴

fingolimod 投与下 MS における CD56+T 細胞頻度の増加は CD4+T 細胞、CD8+T 細胞、CCR7 陽性および陰性 T 細胞などいずれの T 細胞サブセットにおいても認められた(図 2)。

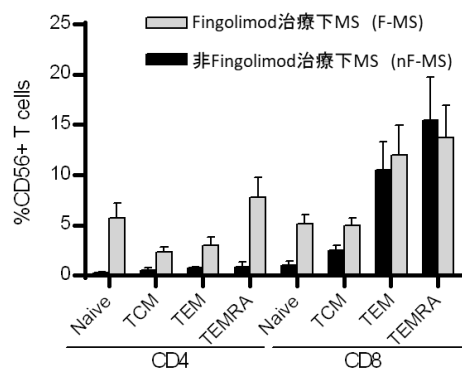


図 2

CD56+T 細胞では CD56-T 細胞より高頻度に Granzyme B, Perforin, Fas Ligand といった細胞障害性分子の発現を認めた(図 3)。

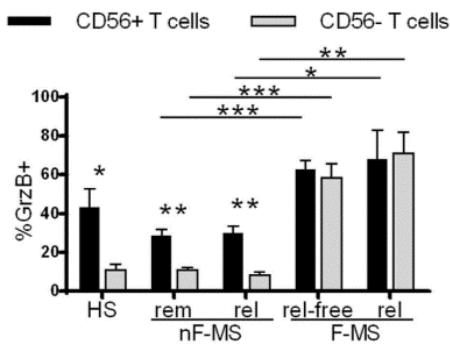


図 3

PMA+ Ionomycin で刺激した際の、サイトカイン産生能を評価すると、CD56+T 細胞中には CD56-T 細胞より高頻度に IFN- 産生細胞が含まれていた (図 4)。

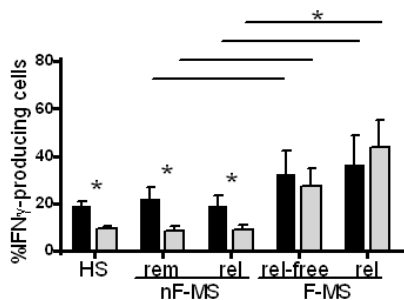


図 4

CD56+T 細胞には CD56-T 細胞と比較して、より高率に MBP 反応性 IFN- 産生細胞が含まれていた (図 5)。

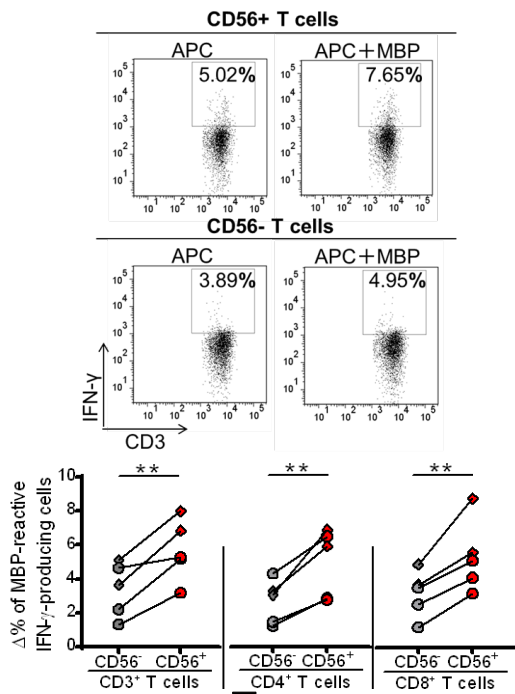


図 5

2) fingolimod 投与下 MS 患者の再発期においては、寛解期と比較し CD56+T 細胞頻度がさらに著増したが、CCR7+T 細胞頻度に有意差

はなく、寛解期・再発期共に低値であったことから、fingolimod によるリンパ球の移出抑制が CD56+T 細胞頻度増加の直接的な原因ではないと考えられた。CD56+T 細胞頻度の増加は、未治療 MS 患者や IFN 投与下 MS 患者では寛解期・再発期ともに認められず、fingolimod 投与下に特徴的な事象と考えられた。CD56+T 細胞頻度は、同一症例において、fingolimod 投与開始後に有意な増加がみとめられた。一方 in vitro では、fingolimod およびその活性体であるリン酸化 fingolimod と、健常者および fingolimod 非投与下 MS 患者の PBMC との共培養において、CD56+T 細胞頻度の上昇は認められなかった。

3) fingolimod 投与下に再発を経験した 5 症例において、再発期およびその前後の寛解期における同細胞頻度を観察した。Fingolimod 治療下 MS 患者末梢血中の CD56+T 細胞頻度は、再発・寛解に伴って増加・減少を示しており、同細胞群における granzymeB の発現頻度や、IFN- 産生細胞頻度に関しても、再発期から寛解期にかけて減少が認められた。また、同細胞群頻度は、fingolimod 投与下再発経験例の寛解期において、既に非再発例と比較して高値を示すことも明らかとなった (図 6)。

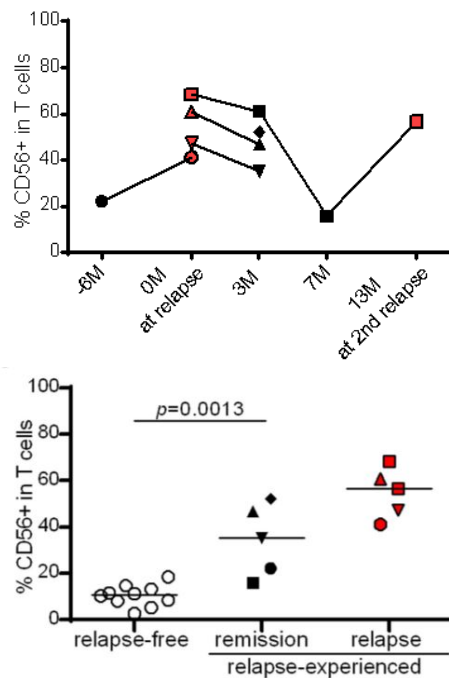


図 6

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 5 件)

- 1) Fujii C, Kondo T, Ochi H, Okada Y, Hashi Y, Matsumoto S, Takahashi R, Nakagawa M, Mizuno T. "Elevated frequency of CD56+ T cells in neuromyelitis optica

spectrum disorder and multiple sclerosis with “Red flags””. The 23rd World Congress of Neurology (WCN). Sep 2017. Kyoto, Japan.

- 2) Ashida S, Hamatani M, Ochi H, Fujii C, Okada Y, Hashi Y, Kawamura K, Matsumoto S, Kusaka H, Takahashi R, Nakagawa M, Mizuno T, Kondo T. “ Association of red flags with therapeutic reactivity in Multiple sclerosis ”. The 23rd World Congress of Neurology (WCN). Sep 2017. Kyoto, Japan.
- 3) Fujii C, Kondo T, Ochi H, Okada Y, Hashi Y, Adachi T, Shin-Ya M, Matsumoto S, Takahashi R, Nakagawa M, Mizuno T. “ CD56 positivity of T cells as a candidate of a predictive biomarker for relapse of multiple sclerosis under fingolimod therapy ”. The 32nd Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis. Sep 2016. London, UK.
- 4) 藤井ちひろ, 近藤誉之, 越智博文, 岡田洋一郎, 端祐一郎, 足立哲也, 新屋政春, 松本禎之, 高橋良輔, 中川正法, 水野敏樹. Fingolimod 治療下多発性硬化症の再発例における CD56+T 細胞の経時的変化. 第 57 回日本神経学会学術集会. 2016 年 5 月. 神戸コンベンションセンター (兵庫県神戸市).
- 5) 芦田真土, 濱谷美緒, 藤井ちひろ, 岡田洋一郎, 端祐一郎, 松本禎之, 水野敏樹, 中川正法, 高橋良輔, 近藤誉之. 多発性硬化症における Red Flags と治療反応性の検討. 第 29 回日本神経免疫学会. 2017 年 10 月. 札幌市, 北海道.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤井 ちひろ (FUJII Chihiro)

京都府立医科大学, 医学部附属病院,

専攻医

研究者番号 : 00516065