

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16108

研究課題名(和文) 中枢性炎症性脱髄疾患における虚血性組織障害の関与とその治療応用

研究課題名(英文) Involvement of ischemic tissue injury in inflammatory demyelinating disease and its therapeutic application

研究代表者

高井 良樹 (Takai, Yoshiki)

東北大学・大学病院・医員

研究者番号：40725743

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、中枢神経における炎症性脱髄疾患の病態を解明するために、人の脳組織を解析することによって行われた。1998年4月から2019年3月の期間に脳生検が行われ、炎症性脱髄病巣が確認された23例を解析した結果、その内4例において、脱髄病巣中心部に広範な壊死を伴う特殊な病変を見出した。特に壊死部と脱髄病巣の境界部に存在する血管において、血管内皮のToll-like receptor 4発現が亢進し、血管周囲腔の拡大およびTenascin-Cの沈着が著しく増加しており、既知の疾患では認められない特徴を有していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

中枢神経における炎症性脱髄疾患は、一般的に獲得免疫の異常により生じる疾患と考えられている。本研究で得られた知見は、これまで病態が未解明だった一部の類縁疾患において、自然免疫に重要と考えられるToll-like receptorの発現亢進が血管周囲で生じ、その活性化に影響するとされる細胞外マトリックスが血管周囲腔に顕著に沈着するという、既知の疾患概念と大きく異なる病態が存在していることを示唆しており、新たな疾患概念を提唱しうる極めて重要な発見と考えられた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to elucidate the pathophysiology of inflammatory demyelinating diseases in the central nervous system. We immunohistochemically analysed biopsied brain tissues from 23 patients with inflammatory demyelinating diseases. The brain biopsies were performed between April 1998 and March 2018. Among them, four of which showed extensive necrosis in the center of the demyelinating lesions. Interestingly, in the vessels located at the boundary between the necrotic site and the demyelinating lesion, expression of Toll-like receptor 4 on the vascular endothelium was enhanced, and prominent deposition of Tenascin-C was seen at enlarged perivascular space. These characteristic findings were not found in any other inflammatory demyelinating diseases such as multiple sclerosis, neuromyelitis optica and acute disseminated encephalomyelitis.

研究分野：臨床神経学

キーワード：炎症性脱髄疾患 腫瘍様炎症性脱髄疾患 自然免疫 TRL Tenascin

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

中枢神経における炎症性脱髄疾患は、自己免疫学的機序により髄鞘及びその構成細胞であるオリゴデンドロサイトが標的となる疾患と考えられているが、その本質的な原因については未だ不明な点が多く残されている。多発性硬化症 (Multiple sclerosis: MS) は、中枢性炎症性脱髄疾患の代表的疾患であるが、その病態は一樣ではなく、病理学的特徴から 4 群に分類されている (Lucchinetti et al. Brain, 2000)。その一型では、病理学的特徴が脳梗塞と類似しており (Aboul-Enein et al. J Neuropath Exp Neurol, 2003)、中枢における虚血性組織障害がその病態に関与していることが推測されてきた。

Balo 病は同心円状脱髄病巣を特徴とする炎症性脱髄疾患の一病型であり、脱髄病巣周囲に虚血関連因子が発現していることから、虚血耐性現象が Balo 病に特徴的な同心円状の脱髄病巣形成に関与している可能性が指摘されていた (Stadelmann et al. Brain, 2005)。我々は、初発時に脳生検を施行された再発性 Balo 病症例において、経時的な MRI 画像の解析により、造影病変に先行した拡散強調像高信号域の拡大が認められることを見出した。また病理学的には、脱髄病巣最外層に接して、低酸素誘導因子 (Hypoxia Inducible Factor-1 α : HIF-1 α) の発現亢進が確認されること、HIF-1 α はグリア細胞、特に肥大化したアストロサイトに多く発現していること、これらのアストロサイトは HIF-1 α によって誘導され脱髄に関与するサイトカイン (*CCL2, *IL-1 β) を発現していることを見出し、虚血耐性現象とグリア細胞に由来する炎症性サイトカインとの相互作用が、Balo 病の同心円状脱髄病巣形成に寄与している可能性を報告した。

また、他の病型である視神経脊髄炎 (Neuromyelitis optica: NMO) は、グリア血管複合体の構成要素である、アストロサイト足突起をターゲットとするアストロサイト障害性疾患であり、病理学的にも血管壁の肥厚がその特徴の一つであることから、循環障害がその病態に関与していることが報告されている。

これらの事実は、虚血性組織障害が、中枢性炎症性脱髄疾患において広く影響を及ぼしている事を示唆している。しかし、その詳細は疾患毎に異なっており、脱髄病巣との因果関係は現時点で明らかではない。特に、各疾患群においてどの程度の関与が認められるのか、また、その病態は一次的、つまり血流障害に伴い髄鞘の障害が生じるのか、あるいは髄鞘障害や組織の炎症より二次的に虚血性組織障害が生じるのかといった機序は不明であり、それが臨床症状に与える影響についても未解明であった。

*CCL2: C-C motif chemokine 2、*IL-1 β : Interleukin-1 β

2. 研究の目的

本研究では、中枢性炎症性脱髄疾患に含まれる疾患群の中で、虚血性組織障害の関与が示唆される疾患群を明らかにすること、またその疾患群における病態への関与を虚血性組織障害の観点から明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 炎症性脱髄疾患症例における虚血性組織障害の網羅的解析

2000 年以降に入手可能であった、中枢性炎症性脱髄性疾患全例を抽出し、急性期病変における画像的特徴を解析する。特に脳虚血と関係すると考えられる、拡散強調像の変化、Perfusion MRI または脳血流 SPECT による循環動態、MRA や PRESTO (Principles of Echo Shifting with a Train of Observations) を含む動静脈血管評価及び MRS による乳酸の存在に着目し、炎症及び脱髄病変と関係するガドリニウム造影病変や T2 高信号病変との位置関係及び経時的変化を確認する。また、中枢性炎症性脱髄疾患における生検/剖検例に対し、全組織を免疫組織化学的に解析し、その脱髄パターンと低酸素・低代謝及び酸化ストレスにより誘導される転写因子 (HIF, NF- κ B, *CREB 等) 及びその遺伝子産物 (*HSP, Bcl-2, 各炎症性サイトカイン等)、また DAMPs など、脳虚血により誘導される炎症関連物質について評価を行う。

*CREB: cAMP response element binding protein, *HSP: heat shock protein.

(2) NMO モデルマウスにおける虚血性組織障害の影響

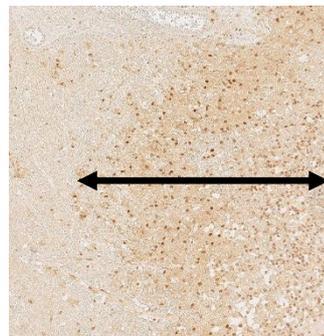
一般的な炎症性脱髄動物モデルと、血管周囲のアストロサイトが破壊され、Neurovascular unit の破綻が予想される NMO 動物モデルの両者を用い、虚血性組織障害とアストロサイト及び髄鞘障害の経時的変化を比較検討する。NMO モデルマウスは、その原因とされる抗 AQP4 抗体を、直接マウス脳内に注入することで、アストロサイト障害を再現する事により行う。注入する抗 AQP4 抗体は、マウス AQP4 細胞外ドメインに高親和性に結合し、補体活性化能を有したモノクローナル抗体 (AQP4-mAb) を用いる。本モデルでは、血管周囲のアストロサイト障害を呈し、クロファージがその病変中央部に浸潤し脱髄病巣を呈するが、この組織障害の経過は、脳梗塞後の局所病巣と類似している。また、その組織修復因子にも着目し治療応用につなげる。

4. 研究成果

(1) 中心部壊死を伴う特殊な腫瘍様炎症性脱髄性疾患の発見

脳腫瘍様の画像所見を呈する疾患において、病理組織学的に炎症性脱髄疾患に分類される疾患が存在することは以前から指摘されていたが、その病理所見は一樣ではなく、原因についても

未解明であった。我々は、1998年4月から2019年3月の期間に検討できた腫瘍様炎症性脱髄疾患 (Tumefactive demyelinating disease: TDD) の脳生検組織症例 23 例において、4 例で脱髄病巣中心部に壊死を伴う特殊な病型を見出した。この特殊な TDD 症例では、MRI 検査にて神経膠芽腫様に病変周囲の Ring 状造影増強効果を伴い、同部位で拡散協調像による信号が高値を示した。また、周囲の浮腫性変化や周囲組織への圧排効果が、他の TDD 症例に比して強いこと、髄液検査にて IgG-Index が上昇しないなどの臨床的特徴を有した。神経病理学的には、壊死組織周辺から内側-外側両方向にマクロファージ貪食性の脱髄巣が形成され、特に外側方向の脱髄巣に HIF-1 α の発現が認められた。特に壊死部と脱髄病巣の境界部に存在する血管において、血管内皮の Toll-like receptor 4 発現が亢進し、血管周囲腔の拡大および Tenascin-C の沈着が著しく増加している所見を見出した。この特徴は、視神経脊髄炎や多発性硬化症、MOG 抗体関連疾患など既知の炎症性脱髄疾患では認められず、炎症性脱髄疾患において、脳虚血性病態が関与する新たな病態が存在する可能性を示唆し、新たな疾患概念を提唱しうる極めて重要な知見と考えられた。

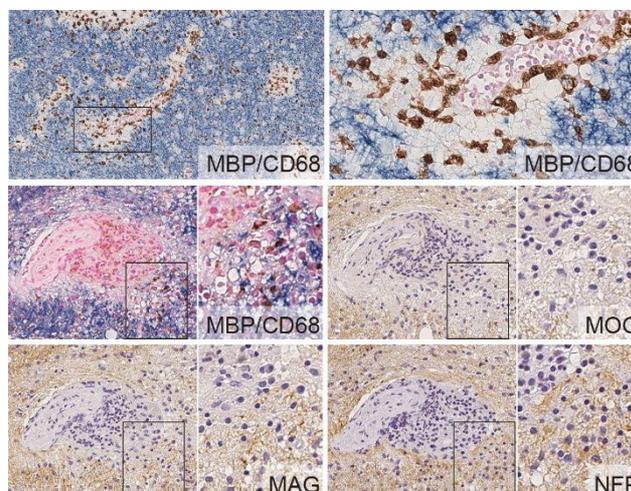


右図：腫瘍様炎症性脱髄の脳切除検体所見。脱髄病巣（画像右側矢印）において、HIF-1 α の発現亢進が認められる (HIF-1 α 染色)。

(2) 抗 MOG 抗体関連疾患における炎症性脱髄パターンの同定

MOG (Myelin oligodendrocyte glycoprotein) 抗体関連疾患は、髄鞘最外層に発現する MOG の立体構造を認識する抗 MOG 抗体の発見によって、近年確立された疾患体系である。その臨床表現系は非常に多岐に渡り、再発性視神経炎や視神経脊髄炎 (Neuromyelitis optica spectrum disorder; NMOSD)、急性散在性脳脊髄炎 (Acute disseminated encephalomyelitis; ADEM)、皮質脳炎などを呈しうるが、典型的な多発性硬化症 (Multiple sclerosis; MS) 患者血清中に抗 MOG 抗体は同定されないことが知られている。一方で、MOG 抗体関連疾患の病理学的特徴は、過去の症例報告において MS Pattern2 であるとする結論が大勢であった。MS Pattern2 は 2000 年に Luchinetti らにより定義された MS 病理の一型であり、炎症細胞浸潤を伴う広範な脱髄病巣 (Confluent demyelination) と、補体や免疫グロブリンなどの液性免疫因子が組織に沈着していることを特徴とする。しかし、過去の報告では、脱髄のパターンや液性免疫因子の沈着部位などの検討は十分されているとは言えず、加えて MOG の選択的な障害が存在するかどうかについても、明らかとされていなかった。我々は、11 例の抗 MOG 抗体陽性例 (発症年齢中央値 29 歳、男女比 5;6、臨床表現型; ADEM3 例、脳症を伴わない多発脳病変 3 例、白質脳症 3 例、皮質脳炎 2 例) から得られた脳生検検体を用い、167 の脱髄病変を検討した結果、その大半は ADEM の特徴とされる単一血管周囲性脱髄 (Perivenous demyelination; 91.6%) であることが確認された。また、全脱髄病変中 37% において、MOG の染色性が他の髄鞘染色 (Myelin basic protein [MBP]、Myelin associated glycoprotein [MAG]) などと比して低下しており、更に MOG 優位に染色される髄鞘 Debris が血管周囲腔に集簇している所見を 7 症例 11 血管で認めた。また、脱髄巣内のオリゴデンドロサイトは比較的保たれる傾向であった。これらの脱髄病巣では、時に血管周囲の IgG 沈着を伴っていたが、補体の沈着はほぼ認められなかった。脱髄病巣内及び周囲の血管における炎症細胞浸潤はマクロファージ ($1814 \pm 1188/\text{mm}^2$) 及び T 細胞 ($2286 \pm 1951/\text{mm}^2$) が主体であり、B 細胞は比較的少ない傾向を示し ($468 \pm 817/\text{mm}^2$)、浸潤している T 細胞は CD4 優位であった (CD4+ vs CD8+; $1281 \pm 1196/\text{mm}^2$ vs $851 \pm 762/\text{mm}^2$, $P < 0.01$)。

MOG 抗体関連疾患におけるこれらの病理学的特徴は、血管周囲性脱髄 (Perivenous demyelination) のみならず、CD4 優位の T 細胞浸潤や液性因子の沈着に乏しいなどの観点からも ADEM と類似しており、その臨床表現系に寄らず一定の傾向を示した。一方で、抗 AQP4 抗体陽性視神経脊髄炎との比較においては、アストロサイトの障害に顕著な違いがあるのみではなく、MAG の染色性が MOG の染色性に比して脱落が強く、オリゴデンドロサイトの障害が強い点など、MOG 抗体関連疾患で認められる脱髄病巣の特徴と対照的であった。今回見出された、抗 MOG 抗体関連疾患における病理学的特徴は、抗 AQP4 抗体陽性視神経脊髄炎や、TDD を含む多発性硬化症と明確に異なり、中枢性炎症性脱髄疾患における独立した疾患概念であることが示唆された。

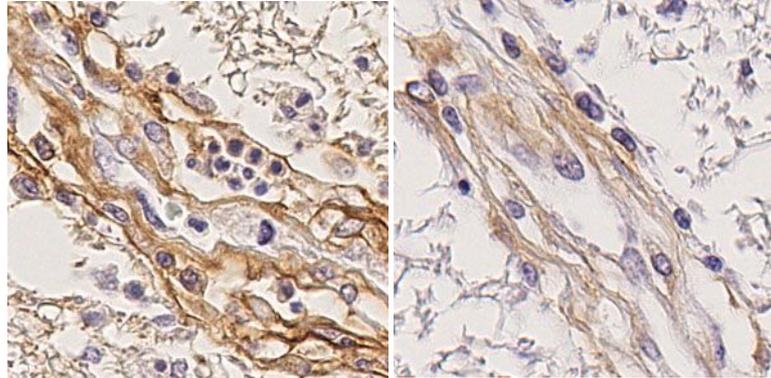


右図：MOG 抗体関連疾患における血管周囲脱落および MOG 選択的脱髄病巣 (Takai, et al. Brain, 2020 より引用)。

(3) アストロサイト障害病変における血管周囲炎症病態と血管周皮細胞の関わり

アストロサイト及び脳血管周皮細胞は、血管内皮細胞などと共に血液脳関門を構築し、Neurovascular unit を構成する主要な細胞である。NMOSD の病理学的特徴として、血管周囲に活性化補体沈着が認められることや (Lucchinetti CF, et al. Brain, 2002) 病初期において血管周囲から AQP4 の脱落が生じることから (Misu T, et al. Brain, 2007) NMOSD におけるアストロサイト障害は血管周囲から始まると考えられる。IL-6 は炎症性サイトカインの一種であり、AQP4 抗体の産生に関わること (Norio C, et al. PNAS, 2010) NMOSD 症例の髄液中で増加していること (Uzawa A, et al. Mult Scler, 2010) IL-6 への阻害治療が NMOSD の再発予防に極めて有効であることから (Araki M, et al. Neurology, 2014., Ringelstein M, et al. JAMA Neurol, 2015) NMOSD の病態に重要な関わりを持つと考えられている。我々は、この IL-6 が NMOSD 症例の病理組織において、血管周囲腔に強く発現し、その発現パターンが血管周皮細胞マーカーと類似していることを見出した。加えて、血管周皮細胞が肥大化かつ線維化しており、血管周囲のアストロサイト障害に反応し形態変化を起こしている様子も観察された。この所見はアストロサイトが破壊され、血管周囲に活性化補体 C9neo が沈着する超急性期に限って見出され、病初期に血液脳関門の破綻とその後の炎症持続に影響していると考えられた。また、NMOSD の慢性期病理所見の特徴とされる血管壁肥厚の一因とも考えられた。本研究は、IL-6 へのモノクローナル抗体が NMOSD の再発予防治療に有効である一因となっている可能性が示唆された。

右図：視神経脊髄炎の急性期病変内に存在する血管周囲腔に、IL-6 の発現が認められる (左)。この所見は、PDGFR β 陽性の血管周皮細胞と分布が非常に類似している (右)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takai Yoshiki, Misu Tatsuro, Kaneko Kimihiko, Chihara Norio, Narikawa Koichi, Tsuchida Satoko, Nishida Hiroya, Komori Takashi, Seki Morinobu, Komatsu Teppei, Nakamagoe Kiyotaka, Ikeda Toshimasa, Yoshida Mari, Nakashima Ichiro, Suzuki Hiroyoshi, Bradl Monika, Lassmann Hans, Fujihara Kazuo, Aoki Masashi	4. 巻 143
2. 論文標題 Myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disease: an immunopathological study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain	6. 最初と最後の頁 1431 ~ 1446
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/brain/awaa102	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Palace Jacqueline, Lin Dan-Yu, Zeng Donglin, Majed Masoud, Elson Liene, Hamid Shahd, Messina Silvia, Misu Tatsuro, Sagen Jessica, Whittam Daniel, Takai Yoshiki, Leite Maria Isabel, Weinschenker Brian, Cabre Philippe, Jacob Anu, Nakashima Ichiro, Fujihara Kazuo, Pittock Sean J	4. 巻 142
2. 論文標題 Outcome prediction models in AQP4-IgG positive neuromyelitis optica spectrum disorders	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain	6. 最初と最後の頁 1310 ~ 1323
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/brain/awz054	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujimori Juichi, Takahashi Toshiyuki, Matsumoto Yuki, Fujihara Kazuo, Takai Yoshiki, Misu Tatsuro, Nakashima Ichiro	4. 巻 334
2. 論文標題 Two Japanese cases of anti-MOG antibody-associated encephalitis that mimicked neuro-Behçet's disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neuroimmunology	6. 最初と最後の頁 577002 ~ 577002
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jneuroim.2019.577002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ikeda Toshimasa, Yamada Kentaro, Ogawa Ryo, Takai Yoshiki, Kaneko Kimihiko, Misu Tatsuro, Kamimoto Kaoru, Matsukawa Noriyuki, Yoshida Mari	4. 巻 392
2. 論文標題 The pathological features of MOG antibody-positive cerebral cortical encephalitis as a new spectrum associated with MOG antibodies: A case report	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of the Neurological Sciences	6. 最初と最後の頁 113 ~ 115
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jns.2018.06.028	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kaneko Kimihiko, Sato Douglas Kazutoshi, Nakashima Ichiro, Ogawa Ryo, Akaishi Tetsuya, Takai Yoshiki, Nishiyama Shuhei, Takahashi Toshiyuki, Misu Tatsuro, Kuroda Hiroshi, Tanaka Satoru, Nomura Kyoichi, Hashimoto Yuji, Callegaro Dagoberto, Steinman Lawrence, Fujihara Kazuo, Aoki Masashi	4. 巻 89
2. 論文標題 CSF cytokine profile in MOG-IgG+ neurological disease is similar to AQP4-IgG+ NMOSD but distinct from MS: a cross-sectional study and potential therapeutic implications	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry	6. 最初と最後の頁 927 ~ 936
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/jnnp-2018-317969	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hillebrand Sophie, Schanda Kathrin, Nigritinou Magdalini, Tsymala Irina, B?hm Denise, Peschl Patrick, Takai Yoshiki, Fujihara Kazuo, Nakashima Ichiro, Misu Tatsuro, Reindl Markus, Lassmann Hans, Bradl Monika	4. 巻 137
2. 論文標題 Circulating AQP4-specific auto-antibodies alone can induce neuromyelitis optica spectrum disorder in the rat	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica	6. 最初と最後の頁 467 ~ 485
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00401-018-1950-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Takai Y, Misu T, Kaneko K, Chihara N, Narikawa K, Tsuchida S, Nishida H, Takahashi T, Aoki M, Fujihara K
2. 発表標題 Perivenous inflammatory demyelination is the prominent pathology in myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disease.
3. 学会等名 19th International Congress of Neuropathology (Tokyo, Japan)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takai Y, Misu T, Kaneko K, Chihara N, Narikawa K, Tsuchida S, Nishida H, Takahashi T, Aoki M, Fujihara K
2. 発表標題 Perivenous inflammatory demyelination with CD4-dominant T cell infiltration is prominent in myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disease.
3. 学会等名 34th Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (Berlin, Germany) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1 . 発表者名 Takai Y, Misu T, Kaneko K, Chihara N, Narikawa K, Tsuchida S, Nishida H, Takahashi T, Aoki M, Fujihara K
2 . 発表標題 Perivenous inflammatory demyelination with myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG)-dominant myelin loss and CD4-dominant T cell infiltration is prominent in MOG antibody-associated disease.
3 . 学会等名 11th Congress of the Pan-Asian Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (Sydney, Australia) (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Y. Takai, T. Misu, S. Nishiyama, H. Kuroda, R. Ogawa, K. Kaneko, T. Takahashi, I. Nakashima, Suzuki H, K. Fujihara, M. Aoki
2 . 発表標題 The staging of astrocytopathy in neuromyelitis optica spectrum disorders with aquaporin 4-IgG
3 . 学会等名 33rd Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (London, United Kingdom) (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 Y Takai, T Misu, K Kaneko, N Chihara, K Narikawa, S Tsuchida, H Nishida, T Komori, M Seki, T Komatsu T, K Nakamagoe, T Ikeda, M Yoshida, T Takahashi, H Ono, S Nishiyama, H Kuroda, I Nakashima, H Suzuki, M Bradl, H Lassmann, K Fujihara, M Aoki.
2 . 発表標題 Perivenous inflammatory demyelination with MOG-dominant myelin loss is a characteristic feature of MOG antibody-associated disease.
3 . 学会等名 35th Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (Stockholm, Sweden) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Y Takai, T Misu, C Namatame, Y Mastumoto, H Ono, K Kaneko, T Takahashi, S Nishiyama, H Kuroda, M Aoki, K Fujihara
2 . 発表標題 The Expression of IL-6 in The Central Nervous Tissue of Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders
3 . 学会等名 12th Congress of the Pan-Asian Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (Singapore) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----