

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 1 日現在

機関番号：10101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23890005

研究課題名（和文）多発性硬化症における自然免疫システムの解明

研究課題名（英文） Clarification of innate immune system in multiple sclerosis

研究代表者

廣谷 真 (HIROTANI MAKOTO)

北海道大学・北海道大学病院・助教

研究者番号：60399920

研究成果の概要（和文）：

本研究では I 型 interferon (IFN) 産生経路に注目し、特に CpG DNA 反応性 IFN- α が M 多発性硬化症 (MS) の Th1/Th17 病態へ与える影響を検討した。MS では CpG DNA 反応性 IFN- α 産生が低下しており、これは Th1/Th17 偏倚を誘導すると考えられた。また、IFN- α や MS の再発・進行予防薬である IFN- β 1b を加えることで Th1/Th17 偏倚が改善する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We aimed to examine the impact of IFN- α , which is an important adjuvant in the innate immune system, on the adaptive immune system in Multiple Sclerosis (MS). There results suggest that CpG DNA-induced decreased IFN- α production causes pro-inflammatory cytokine secretion, and either IFN- α or IFN- β induces anti-inflammatory cytokine secretion in the adaptive immune system in MS.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,300,000	690,000	2,990,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：神経免疫、多発性硬化症、自然免疫

1. 研究開始当初の背景

多発性硬化症 (Multiple Sclerosis: MS) はおもに 20-40 歳代の青年期に多く発症する神経難病の一つである。脱髄を主体とした中枢神経系の炎症性疾患であり、中枢神経の複数の部位に病変が存在し (空間的多発性)、また増悪と寛解を繰り返す (時間的多発性) ことを特徴とする。免疫・遺伝・感染・環境等、様々な因子が疾患に影響を及ぼすと考えられており、近年その病態解析が精力的に行われているが、発症の分子機序は不明である。

従来、本邦の MS は欧米と比較して脳病変を呈する割合が低いとされてきたが、近年は有病率の上昇とともに脳病変を呈する「古典的 MS」の割合が上昇しており、いわゆる「MS の欧米化」傾向が顕著となっている。その要因として衛生環境や食生活の変化が腸内細菌叢を介して単核球機能に影響を与えている可能性、つまり自然免疫システム関与の可能性が指摘されている。特に、Toll-like receptor (TLR) は自然免疫における重要な病原体認識分子であり、獲得免疫も誘導することから近年注目されている分子群である。TLR9 は B 細胞と形質細胞様樹状細胞 (pDC) に発現し、CpG DNA がリガンドに同定されている。我々は MS の B 細胞では CpG DNA 反応性 IL-10 産生が低下し、免疫調節性機能が低下していることを報告してきた。

2. 研究の目的

本研究では pDC を介した I 型 interferon (IFN) 産生経路に注目し、特に CpG DNA 反応性 IFN- α が MS の Th1/Th17 病態へ与える影響を検討した。

3. 研究の方法

(1) 当院に通院している再発寛解型 MS (寛解期) 15 例と、年齢性別を一致させた健常コントロール 15 例を対象とした。対象者から文書で同意を頂き、末梢血を採取した。

(2) 対象者より採取した末梢血単核球における CpG DNA 反応性 IFN- α 産生の測定するため、単核球を分離し 0.5 もしくは 1.0mM の CpG-DNA で刺激し、上清中の IFN- α を ELISA で測定した。

(3) CpG DNA および I 型 IFN 前処置後のサイトカインプロファイルを同定するため、単核球に CpG DNA, IFN- α , IFN- β 1b のいずれかで 24 時間共培養した。その後 staphylococcal enterotoxin A (SEA) で 48 時間刺激し、最終的に上清中の IL-12, IFN- γ , IL-17, IL-23, IL-10 を ELISA で測定した。I 型 IFN 中和活性をもつ B18R による阻害実験も行った。

4. 研究成果

CpG DNA 反応性 IFN- α は MS 群で低下していることが判明した。また、CpG DNA に続き SEA で末梢血単核球を刺激したところ、健常群では IL-12 (p70), IFN- γ , IL-17 産生が減少し IL-10 産生が増加していたが、MS 群ではこのような変化が得られなかった (図 1)。さらに、IFN- α と IFN- β 1b に続き SEA で単核球を刺激したところ、MS 群では IL-12 (p70), IFN- γ , IL-17 産生が減少し IL-10 産生が上昇していた。なお、I 型 IFN 中和活性を有する B18R によりこれらのサイトカイン変動は阻害された (図 2)。

図 1

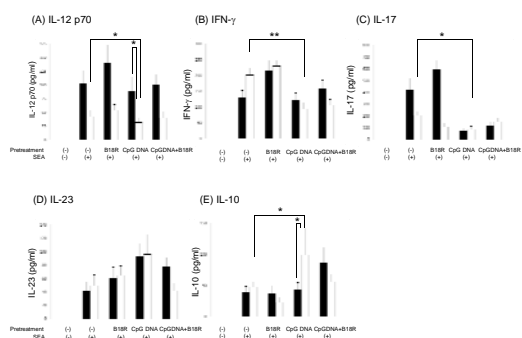
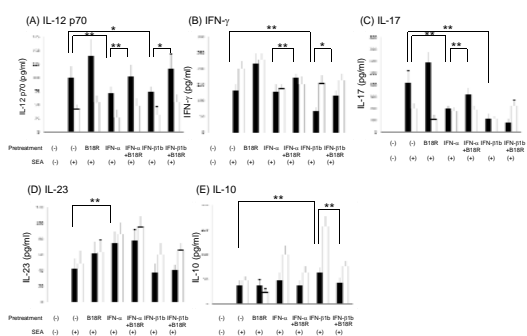
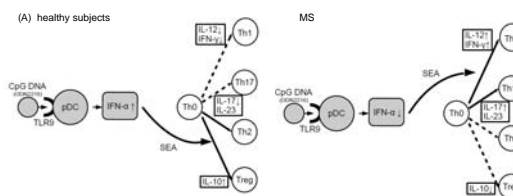


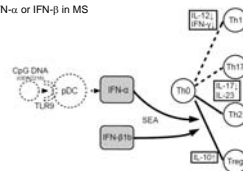
図 2



これらのことから、MS では CpG DNA 反応性 IFN- α 産生が低下しており、CpG DNA 反応性 IFN- α 産生の低下は Th1/Th17 偏倚を誘導すると考えられた。また、IFN- α や MS の再発・進行予防薬である IFN- β 1b を加えることで Th1/Th17 偏倚が改善する可能性が示唆された。



(B) administration of IFN- α or IFN- β in MS



「MS の欧米化」要因の一つに日本人の食生活変化が推測されているが、近年注目されている腸管免疫では TLR に代表される自然免疫システムが重要な役割を果たしていると考えられている。本研究を踏まえ、将来的には腸管免疫が中枢神経免疫へ与える影響について探索し、プロバイオティクスによる多発性硬化症の治療・予防に繋げたいと考えている。

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 1 件)

- ① Hirotsani M, Niino M, Fukazawa T, Yaguchi H, Nakamura M, Kikuchi S, Sasaki H.

Decreased interferon- α production in response to CpG DNA dysregulates cytokine responses in patients with multiple sclerosis.

Clin Immunol. 2012; 143:145-51. (査読有)

doi: 10.1016/j.clim.2012.01.009

[学会発表] (計 1 件)

- ① 廣谷 真 新野正明 深澤俊行 矢口裕章 中村雅一 菊地誠志 佐々木秀直

多発性硬化症における CpG DNA 反応性イ

インターフェロン α 産生の低下と
Th1/Th17 病態との関連 第52回日本
神経学会学術集会
2011年5月20日
名古屋国際会議場 (名古屋)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

廣谷 真 (HIROTANI MAKOTO)
北海道大学・北海道大学病院・助教
研究者番号：60399920

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

佐々木 秀直 (SASAKI HIDENAO)
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：80281806