

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07995

研究課題名(和文) 新規同定環境リスク因子に基づいたウルチ米アミロースによる多発性硬化症の画期的治療

研究課題名(英文) Development of treatment for multiple sclerosis based on rice consumption, a newly identified environmental risk factor

研究代表者

渡邊 充 (Watanabe, Mitsuru)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：30748009

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：多発性硬化症患者(MS)に対して施行したコメ摂取量を含む食事内容のアンケート調査と末梢血免疫細胞のフローサイトメトリー解析において、MSのリスク因子と考えられたコメの摂取量による免疫細胞のバランスの変化は見出すことができなかった。この調査の過程で、再発頻度が2回以上と多い群では、少ない群より、コメの摂取量が少ないことが明らかとなり、疾患活動性とコメ摂取量との関連が想定された。またフローサイトメトリー解析の過程で、 $\gamma\delta$ 型T細胞の分画が経口疾患修飾薬使用下MS患者の治療効果の指標になりうることを見出した。さらに他のMSリスク因子である喫煙が、経口疾患修飾薬の有用性も低下させることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多発性硬化症患者におけるコメの摂取が、発症のリスクになっているのみでなく、再発のリスク、つまりは疾患活動性に関与していることが示された。このことで、患者の診療における再発予防戦略に役立つ可能性がある。また末梢血中の免疫細胞解析において、 $\gamma\delta$ 型T細胞の一部の分画が経口疾患修飾薬使用下の多発性硬化症患者の治療効果の指標になりうることを示されたことで、患者に適切な薬剤を選択する際の参考になる。さらに他の多発性硬化症のリスク因子である喫煙が、経口疾患修飾薬の有用性も低下させることが明らかとなったことで、禁煙指導の重要性が示され、それに伴い患者の予後が改善することが期待される。

研究成果の概要(英文)：The relationship between amount of rice consumption and immunophenotypic feature in blood was not observed in patients with multiple sclerosis (MS). However, comparing MS patients with 2 or more relapses and those with 0-1 relapse during 4 years, the former group had less amount of rice consumption than the other. This data suggests the amount of rice consumption relates to the disease activity of MS. In the flowcytometry analysis, we also found that some subtypes of gamma-delta T cells can be markers of treatment responder in patients with oral disease modifying drugs. Regarding smoking, one of environmental MS risk factors, MS patients under oral disease modifying treatment with smoking habits experienced relapses earlier than those without smoking. This suggests that smoking can suppress the efficacy of disease modifying drugs.

研究分野：神経免疫学

キーワード：多発性硬化症 環境因子 コメ摂取 喫煙 免疫細胞解析

1. 研究開始当初の背景

中枢神経系の自己免疫性脱髄性疾患である多発性硬化症 (**multiple sclerosis; MS**) の発症には遺伝的要因に加え環境要因も関与していると考えられている。もともと欧米人と比較し有病率が低かった日本人でも、**MS** の患者数が急増している (**Osoegawa, et al. Mult Scler, 2009; Houzen, et al. Eur J Neurol, 2018**)。これまで環境要因として日照時間に関連するビタミン **D** の低下や **EB** ウイルス感染症やピロリ菌感染、喫煙などが報告されている。しかし以前より **EB** ウイルスやピロリ菌の感染率や喫煙率は低下しており、いずれも近年の **MS** 有病率の増加を説明できるものではない。そこで、食事を含めたライフスタイルの変化が有病率増加の原因として考えられているが、「具体的にどのようなライフスタイルの変化が **MS** の有病率増加に関与しているのか、どのような機序でそのような変化が起こっているか？」については未だ不明である。

これまで私たちは **MS** 患者の髄液中炎症性サイトカイン濃度が上昇している (**Ishizu, et al. Brain, 2005; Matsushita, et al. PLOS ONE, 2013**) ことや、血液中のリンパ球のフローサイトメトリー解析により $\gamma\delta$ 型 **T** 細胞中の **V β 2** 陽性細胞が減少していること、健康人で見られる同細胞の制御性 **T** 細胞との相関関係が失われていることを報告した (**Maimaitijiang, et al. Front Immunol, 2018**)。近年、多くの炎症性疾患において腸管免疫が重要な役割を果たすことが報告され、**MS** においても例外ではない。この腸管免疫を介した全身性の免疫機能が、食生活の変化と炎症性疾患の関連を考える際の鍵になると考えられる。

私たちは過去に食物頻度摂取調査票に基づいて作成したアンケート調査を行い、**MS** と健常対照者における食品ごとの摂取量・栄養素の推計量を算出し他の環境要因と併せて比較した。その結果、白米の摂取量が **MS** 群で有意に低いことが分かった (平均 **235.2 g/日** 対 **280.6 g/日**、**p = 0.0064**)。世界の **MS** 有病率とコメ消費量を比較すると、コメ消費量が多い国では **MS** 有病率が低い傾向がある。さらに日本では品種改良により米の低アミロース化が進んでいる。米の抗炎症作用はアミロースを含むウルチ米の方が、それを含まないモチ米より強いことが報告されている (科学研究費助成事業：課題番号 **25560051** の研究成果報告書より)。また最近行われた日本人における介入研究で、主食を米にするかパンにするかで腸内細菌叢が変化することが報告された (**Mano, et al. Nutrients, 2018**)。この腸内細菌叢の変化は腸管免疫を介する全身の免疫系のバランスを変化させることが予想される。これらのことを総合し、近年の日本人の米食離れによる米摂取量の減少が、アミロース摂取量の減少につながり、腸内細菌叢の変化を生み、免疫学的な機能変化を来すことで **MS** 患者数の増加に関与しているとの全く新しい仮説を立てた。以上より、本研究での学術的な問いは、「日本人において米成分のアミロースがどのような免疫学的変化を介して **MS** 発症を防いでいるか」である。

2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、日本人において米食がどのような免疫学的機序で **MS** 発症を防いでいるかを明らかにすることである。

(2) また同時に食事以外の環境要因と **MS** の経過や障害度・予後などへの影響などについてもさらに詳細に調査をし、今後の **MS** 診療における患者の予後改善に寄与しうる因子がないかを検討することとした。

3. 研究の方法

MS 患者に直近の食生活についてのアンケートを施行するとともに採血を行い、末梢血単核球細胞中の **CD4⁺ T** 細胞、**CD8⁺ T** 細胞、 $\gamma\delta$ 型 **T** 細胞、**B** 細胞などの分画をフローサイトメトリー法にて解析する。米摂取量と関連する細胞分画を同定するとともに、**MS** 患者においては疾患重症度や脳萎縮と関連があるかを評価する。

併せて食生活以外の環境要因についても調査し、**MS** の経過や障害度・予後などへの影響について評価する。

4. 研究成果

(1) **MS** 患者および健常者に対して施行したコメ摂取量を含む食事内容のアンケート調査結果と、末梢血免疫細胞のフローサイトメトリー結果との関連解析を行ったところ、**MS** のリスク因子と考えられたコメの摂取量による免疫細胞のバランスの変化は現時点までに見出すことができなかった。ただ免疫細胞割合とコメ摂取量の交互作用を踏まえた解析では、**effector CD4 T** 細胞割合が高いことが多発性硬化症のリスクと考えられるため、ここにコメ摂取に伴う関与が示唆された。さらにコメの摂取量と再発回数との関連を評価したところ、アンケート前後 **4** 年の再発頻度が **2** 回以上と多い群では、**0-1** 回の少ない群より、コメの摂取量が少ないことが明らかとなり、疾患活動性とコメ摂取量との関連が想定された。その機序の解明が望まれ

る。

(2)(1)の評価過程で、MS患者に比較的多く使用される経口疾患修飾薬であるフィンゴリモドやフマル酸ジメチル使用患者においては、特徴的な $\gamma\delta$ 型T細胞の変化がみられることが明らかとなった。つまり、無治療MS患者で低下していた $\gamma\delta$ 型T細胞中のV δ 2⁺細胞割合が、フィンゴリモド使用に伴い疾患活動性がなくなったno-evidence of disease activity (NEDA)群で健常者と同レベルにまで改善していた(表1: 渡邊充ら、第32回日本神経免疫学会学術集会 2021)。一方、フマル酸ジメチルを使用している患者では、フィンゴリモドのような $\gamma\delta$ 型T細胞中のV δ 2⁺細胞割合の変化はみられず、むしろ別の細胞分画であるV δ 1-V δ 2-V γ 9⁺細胞割合が上昇し、NEDA群で特に高くなっていることが明らかとなった(表2: 渡邊充ら、第63回日本神経学会学術大会 2022)。これらのことから、 $\gamma\delta$ 型T細胞の分画の評価が、経口疾患修飾薬使用中のMS患者の中で、治療反応性が良い群を見出す指標になると考えられた。

表1. フィンゴリモド治療下MS患者のNEDA群とEDA群の $\gamma\delta$ 型T細胞分画の比較

in $\gamma\delta$ T cells	NEDA (n = 22)	EDA (n = 14)	参考: HCs (n = 15)	p値 (NEDA vs EDA)
V δ 1 ⁺	10.1 [3.89–32.7]	25.6 [12.2–44.7]	14.5 [5.80–52.1]	NS
V δ 1 ⁺ V γ 9 ⁺	0.79 [0.31–12.8]	1.13 [0.26–6.00]	1.10 [0.79–2.98]	NS
V δ 1 ⁺ V γ 9 ⁻	4.62 [2.69–16.4]	23.7 [7.04–34.5]	12.9 [4.68–36.5]	0.006
V δ 2 ⁺	71.3 [52.5–92.9]	49.5 [15.6–74.9]	71.2 [27.1–86.5]	0.044
V δ 2 ⁺ V γ 9 ⁺	71.3 [52.4–92.9]	49.2 [15.6–74.9]	70.8 [27.1–86.3]	0.044
V δ 2 ⁺ V γ 9 ⁻	0.03 [0.00–0.07] *	0.03 [0.00–0.07] *	0.20 [0.03–0.58]	NS
V δ 1-V δ 2 ⁻	5.26 [2.30–17.68]	7.64 [3.22–40.1]	10.8 [6.42–20.0]	NS
V δ 1-V δ 2-V γ 9 ⁺	1.14 [0.43–2.41] *	1.07 [0.35–2.17] *	3.02 [1.72–6.47]	NS
V δ 1-V δ 2-V γ 9 ⁻	2.65 [1.40–9.63]	5.77 [2.64–34.0]	4.19 [1.97–12.5]	NS (0.062)
V δ 1/V δ 2比	0.15 [0.04–0.75]	0.77 [0.18–1.78]	0.20 [0.07–2.02]	NS (0.077)

各細胞割合(%), 中央値 [四分位], p値: Wilcoxon test.

EDA = evidence of disease activity; HCs = healthy controls; NEDA = no evidence of disease activity; NS = not significant.

* HCsと有意差あり

表2. フマル酸ジメチル治療下MS患者のNEDA群とEDA群の $\gamma\delta$ 型T細胞分画の比較

in $\gamma\delta$ T cells	NEDA (n = 13)	EDA (n = 5)	参考: HCs (n = 15)	p値 (NEDA vs EDA)
V δ 1 ⁺	24.2 [18–32.2]	33.0 [9.6–53.2]	14.5 [5.8–52.1]	NS
V δ 1 ⁺ V γ 9 ⁺	2.1 [1.6–3.3]	1.0 [0.6–15.2]	1.1 [0.79–2.98]	NS
V δ 1 ⁺ V γ 9 ⁻	22.1 [15.6–28.4]	31.3 [8.8–38.5]	12.9 [4.7–36.5]	NS
V δ 2 ⁺	34.0 [20.5–47.4] *	33.9 [6.7–59.4]	71.2 [27.1–86.5]	NS
V δ 2 ⁺ V γ 9 ⁺	33.5 [19.9–46.6] *	33.3 [6.6–59.2]	70.8 [27.1–86.3]	NS
V δ 2 ⁺ V γ 9 ⁻	0.48 [0.26–0.73]	0.15 [0.05–0.37]	0.20 [0.03–0.58]	0.049
V δ 1-V δ 2 ⁻	39.0 [21.8–47.3] *	19.9 [16.7–60.6]	10.8 [6.4–20.0]	NS
V δ 1-V δ 2-V γ 9 ⁺	0.71 [0.41–1.64] *	0.79 [0.44–39.38]	3.02 [1.72–6.47]	NS
V δ 1-V δ 2-V γ 9 ⁻	37.5 [21.4–46.6] *	16.2 [13.3–25.7] *	4.2 [2.0–12.5]	0.049
V δ 1/V δ 2	0.68 [0.49–1.41]	0.98 [0.41–4.84]	0.20 [0.07–2.02]	NS

各細胞割合(%), 中央値 [四分位], p値: Wilcoxon test.

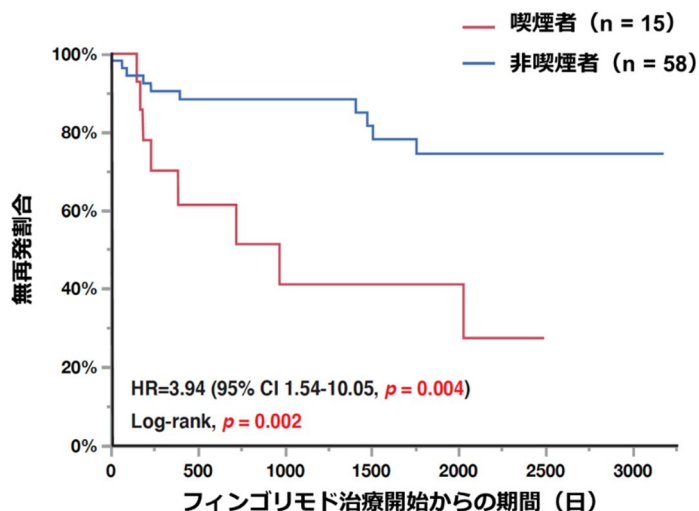
EDA = evidence of disease activity; HCs = healthy controls; NEDA = no evidence of disease activity; NS = not significant.

* HCsと有意差あり

(3) MSの環境要因に関する調査の中で、喫煙がMSの発症リスクであるのみでなく、重症化リスクになりうることも示された。さらに、MSに対する疾患修飾薬の治療効果の差がない

かを検証したところ、比較的多く使用される経口薬であるフィンゴリモドやフマル酸ジメチルを使用中のMS患者においては、喫煙者は非喫煙者よりも再発やMRI活動性を含む疾患活動性が高いことが判明した(図1:フィンゴリモド治療下の喫煙者と非喫煙者の比較: Tanaka E, Watanabe M, et al. World Congress of Neurology 2021; 田中栄蔵、渡邊充ら、第63回日本神経学会学術大会 2022)。さらに疾患修飾薬開始時点で喫煙を継続している群と喫煙歴はあるが禁煙した群を比較すると、喫煙を継続した群の方が疾患活動性が高いことも明らかとなった。このことから、MS患者に対し、強力な疾患修飾薬を導入しても、喫煙によって疾患活動性の抑制が不十分となるため、喫煙者には将来の予後を見据えて禁煙を指導することが重要と考えられた。

図1. フィンゴリモド治療下MS患者における喫煙者と非喫煙者の再発までの期間の比較



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sakoda Ayako, Matsushita Takuya, Nakamura Yuri, Watanabe Mitsuru, Shinoda Koji, Masaki Katsuhisa, Isobe Noriko, Yamasaki Ryo, Kira Jun-ichi	4. 巻 38
2. 論文標題 Environmental risk factors for multiple sclerosis in Japanese people	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Multiple Sclerosis and Related Disorders	6. 最初と最後の頁 101872 ~ 101872
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.msard.2019.101872	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 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件／うち国際学会 4件）

1. 発表者名 田中栄威、渡邊充、松下拓也、吉良潤一、磯部紀子
2. 発表標題 再発寛解型多発性硬化症における fingolimod 内服下での喫煙と再発の検討
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Eizo Tanaka, Mitsuru Watanabe, Takuya Matsushita, Noriko Isobe
2. 発表標題 Association between smoking and relapse in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis under fingolimod treatment
3. 学会等名 WCN 2021 (XXV World Congress of Neurology) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Eizo Tanaka, Mitsuru Watanabe, Katsuhisa Masaki, Takuya Matsushita, Noriko Isobe
2. 発表標題 Smoking is a risk factor of relapse in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis under fingolimod treatment
3. 学会等名 ECTRIMS 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Eizo Tanaka, Mitsuru Watanabe, Shoko Fukumoto, Katsuhisa Masaki, Takuya Matsushita, Noriko Isobe
2. 発表標題 Smoking effect on disease activity in relapsing-remitting multiple sclerosis patients treated with fingolimod or dimethyl fumarate
3. 学会等名 PACTRIMS 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊充、松尾江梨子、福元尚子、田中栄蔵、眞崎勝久、松下拓也、吉良潤一、磯部紀子
2. 発表標題 Dimethyl fumarate treatment showed unique change of T cell subsets in multiple sclerosis patients
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中栄蔵、渡邊充、福元尚子、眞崎勝久、松下拓也、磯部紀子
2. 発表標題 Association between HLA subtype and efficacy of glatiramer acetate in Japanese multiple sclerosis
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊 充、松尾 江梨子、グザリアイ・ママティジャン、迫田 礼子、福元 尚子、林 史恵、眞崎 勝久、磯部 紀子、松下 拓也、吉良 潤一
2. 発表標題 フィンゴリモドを長期使用した日本人多発性硬化症患者で残存する疾患活動性に関連するリンパ球分画の同定
3. 学会等名 第32回日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sakoda A, Matsushita T, Watanabe M, Maimaitijiang G, Shinoda K, Isobe N, Kira J.
2. 発表標題 Protective effect of rice on multiple sclerosis susceptibility via CD4+ effector T cell reduction
3. 学会等名 第61回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 迫田礼子、松下拓也、中村優理、渡邉充、磯部紀子、吉良潤一
2. 発表標題 日本人における視神経脊髄炎の環境要因についての検討
3. 学会等名 第31回日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 迫田礼子、松下拓也、中村優理、渡邉充、磯部紀子、吉良潤一
2. 発表標題 米食の予防効果は多発性硬化症でみられるが視神経脊髄炎関連疾患ではみられない
3. 学会等名 第37回日本神経治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邉充、中村優理、磯部紀子、田中正美、松下拓也、河野祐治、迫田礼子、林史恵、吉良潤一
2. 発表標題 日本人多発性硬化症における疾患修飾薬関連進行性多巣性白質脳症発症リスクにHLAアリル多型が関与する
3. 学会等名 第31回日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Watanabe M, Nakamura Y, Isobe N, Tanaka M, Sakoda A, Hayashi F, Matsushita T, Kira J.
2. 発表標題 Effect of HLA class II alleles on JCV infection in Japanese patients with multiple sclerosis
3. 学会等名 35th Congress ofECTRIMS (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sakoda A, Matsushita T, Nakamura Y, Watanabe M, Shinoda K, Isobe N, Kira J.
2. 発表標題 Environmental factors for neuromyelitis optica spectrum disorders (NMOSD) in Japanese population.
3. 学会等名 60th Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology
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
研究分担者	山崎 亮 (Yamasaki Ryo) (10467946)	九州大学・医学研究院・准教授 (17102)	
研究分担者	磯部 紀子 (Isobe Noriko) (60452752)	九州大学・医学研究院・教授 (17102)	
研究分担者	松下 拓也 (Matsushita Takuya) (00533001)	九州大学・大学病院・講師 (17102)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	中村 優理 (Nakamura Yuri) (40822375)	九州大学・医学研究院・共同研究員 (17102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関