

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：16101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23946

研究課題名(和文)重症筋無力症胸腺の病態解明と新たな治療への応用

研究課題名(英文)Elucidation of myasthenia gravis thymus pathology and development of new treatment

研究代表者

松井 尚子(MATSUI, Naoko)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・特任助教

研究者番号：10547954

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：重症筋無力症(Myasthenia Gravis, MG)患者胸腺と末梢血におけるB細胞異常パターンを検索した。コントロール16名とMG患者21名の血液より末梢血単核球を分離した。また、心臓手術(小児15名と成人10名)もしくは胸腺摘出術を受けた(MG非合併の胸腺腫患者12名とMG患者25名)際に摘出された胸腺より胸腺細胞を単離し、B細胞サブセットをフローサイトメトリーで解析した。MG患者胸腺ではプラズマブラストが増加しており、病勢に関与している可能性が示唆された。現在、研究成果に関する論文を投稿中である。なお、小児胸腺の胸腺上皮細胞を単離し、RNAシーケンス解析も行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、MG胸腺における新たな免疫学的な背景が明らかとなった。MG患者ではステロイド投与後も、胸腺摘出術がプラズマブラストの減少を通じて症状の安定に寄与する可能性がある。今後、プラズマブラストが治療反応性を予測するバイオマーカーとなり得るか、治療抵抗例におけるプラズマブラストの解析を進め、難治例に対する対策へと発展させたい。

研究成果の概要(英文)：We investigated intrathymic B lymphopoiesis in patients with myasthenia gravis (MG) and explore thymus pathology associated with clinical impact. Thymic lymphocytes from 15 young patients without MG, 22 adult patients without MG, 14 non-thymoma MG patients, and 11 thymoma MG patients were subjected to flow cytometry analysis of B cell subsets and inflammatory cytokines. Peripheral blood mononuclear cells of 16 healthy subjects and 21 untreated MG patients were also analyzed. Immunological values were compared, and correlations between relevant values and clinical parameters were evaluated. We found increased frequencies of circulating as well as intrathymic plasmablasts in MG patients. We postulate the migration of peripheral B cells into the thymus, whereby activated intrathymic plasmablasts endow pathogenic capacity in MG. We are also establishing a process for the purification of human thymic epithelial cells.

研究分野：神経免疫

キーワード：重症筋無力症 胸腺 B細胞 プラズマブラスト

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

胸腺摘出術は重症筋無力症(Myasthenia Gravis, MG)の重要な治療オプションのひとつである。ところが、非胸腺腫における胸腺摘出術の適否については、専門家によって見解が異なることが多く、胸腺摘出後の治療反応性を予測できる指標が希求されている。また、胸腺摘出を含む標準的治療を行っても、十分な改善が得られない難治例が存在し、新たな治療オプションが求められつつある。

2. 研究の目的

ヒトの胸腺上皮細胞の RNA シークエンス解析と抗体産生に關与する B 細胞の解析を行うことで、MG 胸腺の免疫学的背景を明らかにすることを目標としている。

具体的には、MG の胸腺上皮細胞で異常のある遺伝子発現や B 細胞の異常パターンを確認することで、胸腺摘出術の有用性を予測するバイオマーカーや治療のターゲットを探索する。

3. 研究の方法

(1) ヒト胸腺上皮細胞の RNA シークエンス解析

新生児を含む幼児の胸腺上皮細胞を単離し、RNA シークエンス解析による網羅的遺伝子発現解析を行い、ヒトの髄質胸腺上皮細胞 (mTEC) や皮質胸腺上皮細胞 (cTEC) にどのような遺伝子が発現しているか確認を行う。

(2) 末梢と胸腺の B 細胞サブセット解析

健常 16 名と MG 患者 21 名の末梢血、心臓手術 (小児 15 名と成人 10 名) もしくは胸腺摘出術を受けた (MG 非合併の胸腺腫患者 12 名と MG 患者 25 名) 際の胸腺を用いた。末梢血より、末梢血単核球 (PBMC) を単離、胸腺よりリンパ球成分である胸腺細胞を分離し、ナイーブ B 細胞: CD3(-)CD19(+), CD27(-)、メモリー B 細胞: CD3(-)CD19(+), CD27(+), プラズマブラスト: CD3(-)CD19(+), CD27(+), CD180(-), CD38^{high}, B220^{high} Thymic B 細胞: CD19(+), B220^{high} をフローサイトメトリーで解析した。またプラズマブラスト中の BAFF-R や CXCR-5 の MFI を評価した。さらに MG 患者の臨床像 (年齢、罹病期間、抗アセチルコリン受容体 (AChR) 抗体価、MG-ADL、MG-ADL improvement rate) と異常のある B 細胞分画との相関をみる。

4. 研究成果

(1) ヒト胸腺上皮細胞の RNA シークエンス解析

小児胸腺 5 例について皮質胸腺上皮細胞 (cTEC) ならびに髄質胸腺上皮細胞 (mTEC) を単離し、RNA シークエンス解析による網羅的遺伝子発現解析を行った。クラスター解析では mTEC と cTEC は概ね別クラスターに分かれた。

(2) 末梢と胸腺の B 細胞サブセット解析

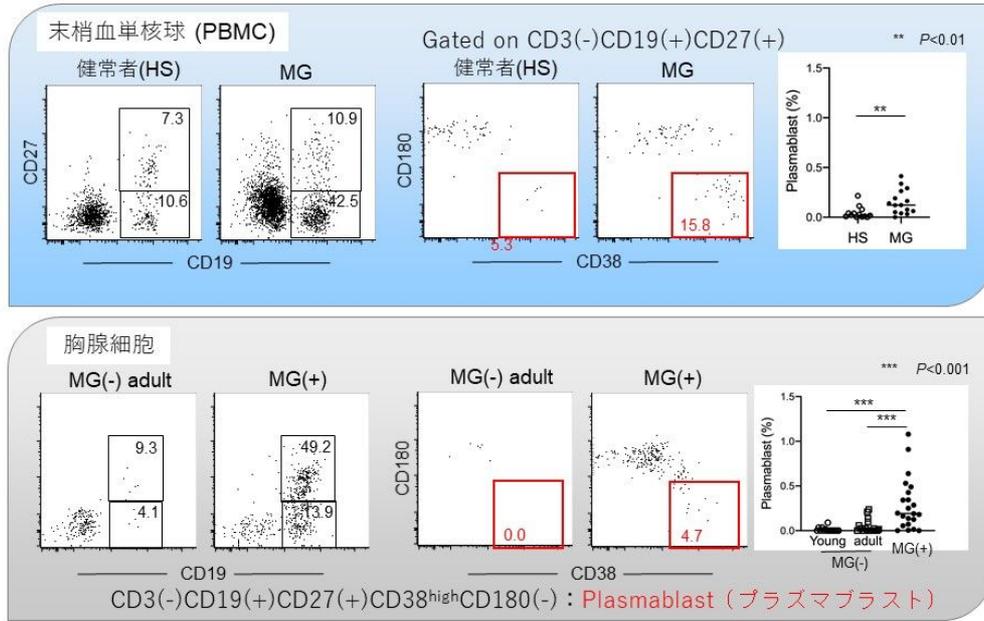
ナイーブ B 細胞、メモリー B 細胞、プラズマブラストは MG 患者末梢血で有意に高く、プラズマブラストは全身型で高い傾向を示した (図 1)。末梢血中のプラズマブラストと罹病期間・抗体価には相関がみられたが、MG の重症度とは相関していなかった。

胸腺中では B220^{high} Thymic B 細胞は小児の胸腺で多くみられる傾向にあったが、成人胸腺や MG 胸腺との間で有意差はみられなかった。メモリー B 細胞とプラズマブラストは MG 患者の胸腺で有意に高かった (図 1)。

MG 胸腺のプラズマブラスト中の BAFF-R の増加はなく、CXCR5 の発現は有意に上昇していた。胸腺中のプラズマブラストの割合と MG-ADL、MG-ADL improvement rate の間に正の相

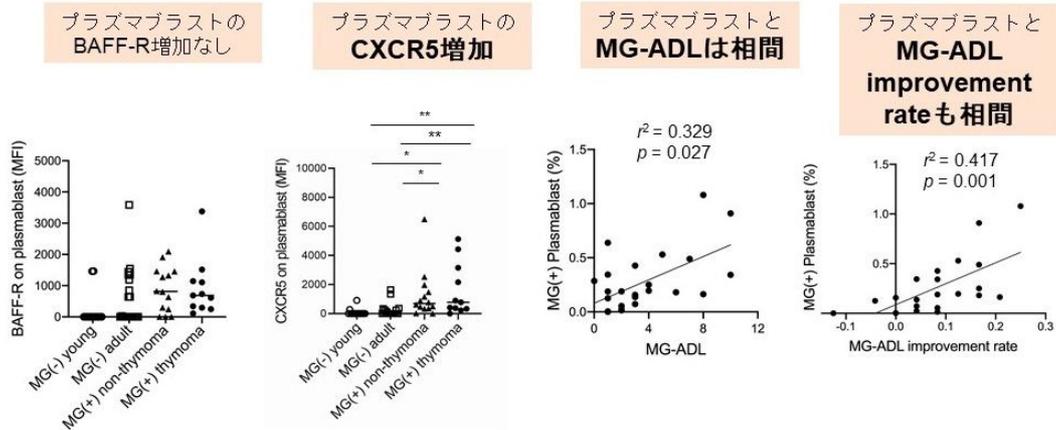
関を認めた (図2)。

図 1



MGでは末梢血のみならず胸腺でもプラズマブラストが増加

図 2



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yohei Yamamoto, Naoko Matsui, Fumiko Oda, Yukiko Ozawa, Tetsuya Kanai, Akiyuki Uzawa, Izumi Ohigashi, Hiroyuki Kondo, Kazuya Kondo, Tetsuya Kitagawa, Takashi Yamamura, Satoshi Kuwabara, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji
2. 発表標題 B cell subsets and T follicular helper cells in myasthenia gravis thymus
3. 学会等名 第60回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松井 尚子
2. 発表標題 ヒト胸腺上皮細胞解析への試み
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 山本遥平、松井尚子、織田史子、小澤由希子、金井哲也、鶴沢顕之、大東いずみ、近藤博之、近藤和也、北川哲也、桑原聡、山村隆、和泉唯信、梶龍兒
2. 発表標題 重症筋無力症患者の胸腺におけるB細胞分画と濾胞性ヘルパーT細胞の解析
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 山本遥平、松井尚子、大東いずみ、近藤和也、和泉唯信
2. 発表標題 重症筋無力症患者の胸腺におけるB細胞分画と濾胞性ヘルパーT細胞の解析
3. 学会等名 第39回日本胸腺研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本遥平、松井尚子、織田史子、小澤由希子、金井哲也、鶴沢頭之、大東いずみ、近藤和也、桑原聡、山村隆、和泉唯信
2. 発表標題 重症筋無力症患者の胸腺ではプラズマブラストが増加している
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

〔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

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