

平成21年6月8日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2009

課題番号：20790632

研究課題名（和文） 多発性硬化症における Th17 細胞と B 細胞の相互作用の解析

研究課題名（英文） Interaction between Th17 cells and B cells in the pathogenesis of multiple sclerosis

研究代表者

佐藤 和貴郎（SATO WAKIRO）

国立精神・神経センター神経研究所 免疫研究部 厚生科学研員

研究者番号：90469990

研究成果の概要：多発性硬化症では、IL-17 産生性 CD4 陽性 T 細胞（Th17 細胞）が病原性細胞として注目されている。細胞遊走に重要なケモカイン受容体 CCR2 を発現し、CCR5 発現を欠く細胞集団に Th17 細胞が属するというデータに基づき、患者の血中・脳脊髄液中の Th17 細胞について検討した。同集団は抗体産生細胞である B 細胞を活性化する機能を持っていた。また再発時の患者では CCR2 と CCR5 の両者を発現する細胞が増加していたが、この細胞は IFN γ と IL-17 の両者を産生し、再発の引き金となる細胞である可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
年度			
年度			
年度			
年度			
総計	2,400,000	720,000	3,120,000

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：神経病態免疫学 多発性硬化症 Th17 細胞 B 細胞 ケモカイン受容体 CCR2 CD180 脳脊髄液

1. 研究開始当初の背景

(1) MS の病態における Th17 細胞の重要性

多発性硬化症（multiple sclerosis: 以下MSと略記）の病態の中心となる細胞は CD4 陽性 T 細胞であるが、近年モデルマウスの研究から CD4 陽性リンパ球の中でインターロイキン 17 産生性 CD4 陽性 T 細胞（Th17 細胞）の重要性が示唆されている。

(2) ヒトの Th17 細胞を研究することの重要性

ヒトとマウスの Th17 細胞には種差があり、またモデルマウスと MS とは様々な相違があるので、ヒトの Th17 細胞そのものを対象とした研究が必要である。

(3) ヒト Th17 細胞のマーカーの同定

我々はヒト末梢血中の Th17 細胞がケモカイン受容体の発現パターンによって IFN γ を産生する Th1 細胞と区別できることを見出し報告した（Journal of Immunology 178,

2007)。すなわちヒト Th17 細胞は CCR2 陽性 CCR5 陰性である。このマーカーを用いて末梢血中の Th17 細胞を分離し Ex vivo で解析が可能である。

2. 研究の目的

(1) Th17 細胞と B 細胞の相互作用

近年 MS の病態に B 細胞や抗体の関与が注目されている。ヒト Th17 細胞と B 細胞の相互作用が MS の病態に重要である可能性が考えられるので、両者の関係について検討を進める。

(2) Th17 細胞の二つのマーカーの関係

ヒトの Th17 細胞のケモカイン受容体については、我々の報告とは別に CCR4 陽性 CCR6 陽性細胞に Th17 細胞が含まれるという報もみられる(Acosta Rodriguez EV et al. *Nat Immunol* 8:639-646,2007)。CCR2 陽性 CCR5 陰性分画の細胞とは大部分が重複しないことがわかった。二つの分画の相違点を明らかにし、それぞれの細胞の MS における役割を検討する。

3. 研究の方法

(1) ヒト末梢血から Th17 細胞と B 細胞を分離、

両者を培養し、抗体産生や B 細胞の増殖について検討する。またそのメカニズムについても解析する。また他の自己免疫疾患で報告されている CD180 陰性 B 細胞について、Th17 細胞の関与について調べるとともに、MS 患者と健常者の比較を行う。

(2) CCR4 陽性 CCR6 陽性細胞について

健常者および MS 患者の末梢血を CCR2、CCR4、CCR5、CCR6 の抗体で同時に染色し、CCR2 陽性 CCR5 陰性細胞など各分画の頻度を比較する。脳脊髄液を用いて MS とコントロールの神経疾患と同様の比較を行う。CCR2 陽性 CCR5 陰性細胞と CCR4 陽性 CCR6 陽性細胞と表面マーカー等の比較を行う。

4. 研究成果

(1) Th17 細胞を含む CCR2 陽性 CCR5 陰性の分画の細胞は B 細胞の IgG 抗体産生能を高めることが判明した。そのメカニズムとして、同分画の細胞が産生する IL-21 が重要である可能性が示唆された。また一部の MS 患者において、高い抗体産生能をもつ CD180 陰性の B 細胞が健常者と比較して有

意に増加していることも判明した。しかしながら、この細胞は T 細胞非依存性に活性化するため、Th17 細胞との関連は否定的と考えられた。

以上から、MS の病態において、Th17 細胞と B 細胞の相互作用が重要である可能性とともに、T 細胞非依存性に高い抗体産生能をもつ CD180 陽性 B 細胞が重要である可能性も示唆された。

(2) MS 患者の末梢血中および髄液中の CD4 陽性 T 細胞における CCR2、CCR4、CCR5、CCR6 の発現パターンについて検討した結果、末梢血中においては病気の再発や寛解の時期によらず、健常者と有意な違いは認められず、また脳脊髄液中の再発時の MS 患者の髄液中において二つの Th17 細胞分画 (CCR2 陽性 CCR5 陰性細胞および CCR4 陽性 CCR6 陽性細胞) の頻度は末梢血中と比べ減少していた。CCR5 陽性細胞はいずれの患者においても末梢血より増加していたが、そのうち CCR2 陽性 CCR5 陽性分画は MS 患者でのみ増加していることがわかった。サイトカイン産生能の解析から、同分画は IL-17 のみならず IFN γ 産生能も有する分画であることが判明した。MS 再発時に脳脊髄液において同分画が増加していることから、同分画が MS の再発に関与する可能性を示唆する。このように Th1 細胞、Th17 細胞両者のサイトカイン産生能を併せ持つ、所謂“double producer”の MS 病態における役割は不明であるが、他の自己免疫疾患においても病巣での double producer の増加が報告されており、MS 病態解析においても重要なテーマとなると考えられる。

今後、同分画の再発における役割についてさらに解析を進めることにより、MS に対するケモカイン受容体阻害療法への応用が考えられる。

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 佐藤和貴郎 多発性硬化症における Th17 細胞と B 細胞の相互作用の解析、日本多発性硬化症協会 ニュースレター、No.32、1-4、2008 年、査読なし

[学会発表] (計 4 件)

① Wakiro Sato, Toshimasa Aranami and Takashi Yamamura, Two different human Th17 cells defined by chemokine receptor expression, *Experimental Biology*2008, San Diego, April 8,2008

② 佐藤和貴郎、荒浪利昌、山村隆、ヒト Th17

細胞のケモカイン受容体の解析、日本神経免疫学会、新潟、2008年4月18日

- ③ 佐藤和貴郎、ケモカイン受容体の発現によって特徴づけられる二つのTh17細胞、日本免疫学会、大阪、2008年12月3日
- ④ 佐藤和貴郎 ケモカイン受容体の発現を用いた多発性硬化症患者におけるヒトTh17細胞の検討、日本神経免疫学会、大阪、2009年3月12日

[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]

http://www.ncnp.go.jp/nin/guide/r_men/index.html

6. 研究組織

(1)研究代表者 佐藤和貴郎 (Sato Wakiro)
(国立精神・神経センター神経研究所 免疫研究部 厚生科学研究員)

研究者番号：90469990