

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591236

研究課題名(和文) 中枢神経系脱髄疾患における I 型インターフェロンの動態とその制御機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of innate immune cells in inflammatory demyelinating diseases of the central nervous system

研究代表者

河内 泉 (KAWACHI, Izumi)

新潟大学・医歯学総合病院・助教

研究者番号：40432083

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000 円、(間接経費) 1,260,000 円

研究成果の概要(和文)：視神経脊髄炎(NMO)は長い間、多発性硬化症との異同が論じられてきたが、疾患特異的自己抗体の発見により、アクアポリン4(AQP4)を標的とするアストロサイトパチーであることが明らかにされた。(1) NMO病巣ではAQP4発現低下、血管周囲の免疫グロブリン/補体沈着に加え、顆粒球、マクロファージ、形質/形質芽細胞、抗原提示細胞の増生を認め、(2) NMO末梢血では多数の形質芽細胞を認め、(3) NMOのヘルパーT細胞はIL-17/IFN- γ 産生に偏奇していた。NMOでは独特の自然免疫システムを使うことで、特徴的な自己免疫病態を形成する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Neuromyelitis optica (NMO) and multiple sclerosis are the two main autoimmune, inflammatory and demyelinating syndromes of the central nervous system. The discovery of NMO immunoglobulin G autoantibody, which targets the water channel aquaporin-4 (AQP4) and is a specific marker of NMO, should revolutionize understanding of pathogenesis in the two diseases. Not only IL-17/IFN- γ -producing cells, but also innate immune cells including neutrophils, antigen-presenting cells, plasma cells and plasmablasts were evident in NMO lesions. These data suggest that unique dynamics of innate immune cells might be present in NMO in situ.

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：視神経脊髄炎 多発性硬化症 自然免疫機構 アクアポリン4水チャネル

1. 研究開始当初の背景

(1) NMO は、視神経と脊髄を病変の首座とする中枢神経系 (CNS) の炎症性脱髄疾患である。長い間、MS との異同が論じられてきたが、2004 年に NMO 患者血清中に AQP4 を標的とする特異的自己抗体 (NMO-IgG/AQP4 抗体) が発見されて以来 (Lancet 2004;364:2106)、NMO は MS とは異なるスペクトラムの疾患であると考えられている。これまでに「NMO と MS の相違点」に着目し、我々を含めた国内外の研究者が明らかにした研究成果は以下の通りである。MS 治療薬である IFN- β 療法に増悪する症例が存在する (Arch Neurol 2010;67:1016)、髄腔内抗体産生を示唆する髄液オリゴクローナルバンド (OCB) の陽性率が少ない (14%) (JNNP 2007;77:1073)、AQP4 抗体陽性 NMO の 43.8% は抗核抗体が陽性である (Arch Neurol 2008;65:78) ことから、NMO の基盤にある免疫病態は、CNS 内に自己免疫応答が限局する MS とは異なり、むしろ systemic lupus erythematosus (SLE) を代表とする「全身に自己免疫応答が広がる全身性自己免疫疾患」に類似する可能性が示唆される。AQP4 抗体の病的意義に着目すると、NMO (definite form) 脊髄炎病理では IgG と補体の沈着、AQP4 の広範な発現消失を認める (Brain 2007;130:1224, Brain 2007;130:1194, Neurology 2009;73:1628) とともに、脊髄炎のみの早期型 NMO (limited form) にも同様の病理所見を認め、一方、MS では認めない (Neurology 2009;73:1628)。以上は「AQP4 抗体と補体を代表とする液性免疫機構は、NMO の早期・晩期の別なく、全経過を通じて病態機序の鍵を握る重要な分子であること」、「NMO は、アストロサイトフットプロセスに存在する AQP4 分子を標的とするアストロサイトパッチである」ことを示唆する。一方で、NMO 発症の 10 年前から AQP4 抗体をもつ症例 (Neurology 2009;72:1960) の報告や、AQP4 抗体と補体の投与では動物モデルの作成が困難である (Ann Neurol 2009;66:630) 報告から、液性因子のみでは NMO 病態を説明できない。髄液 IL-6、IL-1 β の上昇動態に着目すると、NMO は早期よりも晩期に至るほど炎症量が増大する (Neurology 2009;73:1628) ことから、「盛んな炎症相が次第に減衰し、進行期では神経変性病態へシフトする MS (Nat Immunol 2001;2:762)」とは異質な免疫病態がある。

以上より「NMO では、MS というよりはむしろ SLE に類似した免疫病態がアジュバント様に自己免疫応答を惹起し、その結果として産生された AQP4 自己抗体・補体といったエフェクターがアストロサイト障害を引き起こし、NMO を発症させる」と推測できる。

(2) NMO と免疫背景の類似性が示唆される SLE は、抗核抗体をはじめとした多彩な自己抗体産生を特徴とする全身性自己免疫疾患である。その病態形成には「I 型 IFN (IFN- α/β)」が免疫応答をアジュバント様に

修飾し、自己免疫応答を誘導する可能性が指摘されている。SLE 患者では、I 型 IFN が血清で上昇し、疾患活動性と相関する (Science 2001;294:1540)、SLE 末梢血単核球では I 型 IFN 関連遺伝子発現が高値である (JEM 2003;197:711)、IFN 関連遺伝子である interferon regulatory factor 5 (IRF5) 遺伝子内の一塩基多型 rs2004640 が SLE と関連する (Am J Hum Genet 2005;76:528)、腎癌治療で使用された I 型 IFN 製剤は SLE を誘導する (Immunity 2006;25:383) ことが報告されている。いずれの報告も、SLE における I 型 IFN の重要性を強く支持している。一方、NMO においても I 型 IFN (IFN- β) 製剤が NMO を増悪させる、NMO には抗核抗体陽性率が高い、髄液 OCB 陰性例が多いことが既報と自験例から解明されており、SLE の免疫病態と同様に「NMO の発症においても I 型 IFN が重要な鍵を握る」ことが推測される。

I 型 IFN が SLE 病態を悪化させる機序は、(A) SLE では死細胞を完全に除去できないため、自己抗原を大量に含んだ死細胞残渣成分を濾胞樹状細胞が B 細胞に提示することで自己抗体を誘導し、免疫寛容を破綻させる (Nat Rev Rheumatol 2010;6:280)、(B) 変性した死細胞成分と抗核抗体などの自己抗体が免疫複合体を形成し、形質細胞様樹状細胞 (PDC) を toll 様受容体 (TLR) シグナルを介して活性化させることで、PDC から大量の I 型 IFN を分泌させる (Nature 2010;465:937)、(C) PDC から分泌された I 型 IFN は、(a) 単球を成熟樹状細胞へ分化させ、自己反応性 T 細胞を活性化する、(b) NK 細胞を活性化する、(c) 形質細胞芽球の誘導と形質細胞の分化を促し、自己抗体産生を加速させる (Immunity 2003;19:225) ことで、SLE を発症させると考えられている。

2. 研究の目的

以上の研究背景を鑑み、本研究では次のように NMO 病態仮説を提唱し、その一部を証明することを目的とする。

(1) I 型 IFN シグナルなどの自然免疫機構の活性化により、リンパ組織で AQP4 特異的 B 細胞・形質細胞・T 細胞が誘導・活性化され、AQP4 自己抗体が産生され、免疫寛容が破綻する。

(2) 髄膜に浸潤したリンパ球が IL-17 などのサイトカインを産生し、脳血管関門 (BBB) を破壊し、破壊された BBB から AQP4 抗体が CNS 内に侵入し、補体とともに AQP4 分子をもつアストロサイトを攻撃し、NMO に特徴的な炎症性脱髄病変を形成し、NMO を発症させる。

3. 研究の方法

中枢神経系脱髄疾患である NMO の免疫基盤に内因性の I 型 IFN を含めた自然免疫機構の発現亢進があることを、NMO 患者の末梢血、髄液、中枢神経病理を使ったサイトカイン発現解析から証明する。具体的には NMO、MS、

疾患対照の剖検病理組織を用い、各種自然免疫分子に対する免疫組織学的検討を行う。さらに同疾患患者の末梢血から単核球を分離し、フローサイトメーター (FACS) を使用し、CD3, CD4, CD8, IFN- γ , IL-4, IL-17, その他の免疫分子の描出を行う。また、FACS sorting により各分画に分けた後、T-bet, ROR γ t, 各種サイトカイン分子の発現を real time RT-PCR 法にて確認する。

4. 研究成果

(1) NMO の脊髄病巣では AQP4 の染色性低下に加え、血管周囲の免疫グロブリンと補体の沈着、好中球・好酸球、マクロファージの浸潤を認めた。

(2) NMO の髄膜には CD45RO⁺T 細胞, CD20⁺B 細胞, Ki67⁺CD138⁺形質細胞の他に、MHC class II 陽性抗原提示細胞の盛んな増生を認めた。

(3) NMO 脊髄には長椎体中心灰白質病変の他に、「炎症細胞浸潤が盛んな髄膜」と近接した「軟膜下脊髄病変」が存在し、浸潤リンパ球は IL-17, IFN- γ の産生が示唆された。

(4) NMO の末梢血では多数の形質芽細胞を認める。一方、自然リンパ球は減少している。形質芽細胞と自然リンパ球の動的変化は関連している。

(5) NMO の末梢血ヘルパー T 細胞は IL-17/IFN- γ 産生に偏奇している。

(6) NMO の大脳皮質にはミクログリアの活性化、大脳皮質 I 層に AQP4 を消失したアストロサイト、神経細胞脱落を認めるが、脱髄を認めない。

(7) 上記(1)-(6) は MS では明らかでない。

以上から、NMO と MS とは異なる自然免疫システムを使うことで、NMO に独特な自己免疫病態を形成・維持すると示唆された。

2004 年の NMO-IgG/AQP4 特異抗体の発見以来、標的自己抗原である AQP4 分子の特徴から臨床病理を理解する試みがなされ、「NMO は長椎体脊髄病変と視神経炎を特徴とするアストロサイトパチーである」といった新事実が発見されてきた。一方で、その上流にある NMO の免疫病態、すなわち「発症の惹起となる免疫寛容破綻と自己免疫応答の増幅」の理解は不十分であり、NMO の免疫学的病因は未だ謎と言わざるを得ない。近年、関節リウマチに対して、TNF- α 阻害薬など特定の免疫分子を標的とするモノクローナル抗体療法が臨床応用されている。NMO に対して新規の分子標的療法ツールを開発するためには、基盤に存在する免疫病態の理解、すなわち「病態を増悪する免疫シグナル分子」の解明が必須である。本研究により「NMO では MS とは異なる特異な自然免疫機構を背景にした炎症病理」の存在が明らかにされた。NMO の免疫学的な発症メカニズムや独創的な新規の分子標的療法ツールを提言するための基盤になる研究成果と考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者には下線)

[雑誌論文](計 19 件)

Yokoseki A, Saji E, Arakawa M, Kosaka T, Hokari M, Toyoshima Y, Okamoto K, Takeda S, Sanpei K, Kikuchi H, Hirohata S, Akazawa K, Kakita A, Takahashi H, Nishizawa M, Kawachi I. Hypertrophic pachymeningitis: significance of myeloperoxidase anti-neutrophil cytoplasmic antibody. *Brain* 2014;137(2):520-536.

DOI:10.1093/brain/awt314. 査読有
Kawachi I, Nishizawa M. Gray matter involvement in multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *Clinical and Experimental Neuroimmunology* 2014;5(1):69-76. DOI: 10.1111/cen3.12077. 査読有

Niino M, Mifune N, Kohriyama T, Mori M, Ohashi T, Kawachi I, Shimizu Y, Fukaura H, Nakashima I, Kusunoki S, Miyamoto K, Yoshida K, Kanda T, Nomura K, Yamamura T, Yoshii F, Kira J, Nakane S, Yokoyama K, Matsui M, Miyazaki Y, Kikuchi S. Apathy/depression, but not subjective fatigue, is related with cognitive dysfunction in patients with multiple sclerosis. *BMC Neurology* 2014;14(1):3. doi: 10.1186/1471-2377-14-3. 査読有

Saji E, Arakawa M, Yanagawa K, Toyoshima Y, Yokoseki A, Okamoto K, Otsuki M, Akazawa K, Kakita A, Takahashi H, Nishizawa M, Kawachi I. Cognitive impairment and cortical degeneration in neuromyelitis optica. *Annals of Neurology* 2013;73(1):65-76. DOI: 10.1002/ana.23721. 査読有

Titulaer MJ, McCracken L, Gabilondo I, Armangué T, Glaser C, Iizuka T, Honig LS, Benseler SM, Kawachi I, Martinez-Hernandez E, Aguilar E, Arribas NG A, Rosenfeld MR, Gordon BR, Graus F, Dalmau J. Treatment and prognostic factors for long-term outcome in patients with anti-NMDA receptor encephalitis: an observational cohort study. *Lancet Neurology* 2013;12(2):157-65. doi: 10.1016/S1474-4422(12)70310-1. 査読有

Yokoseki A, Saji E, Arakawa M, Hokari M, Ishiguro T, Yanagimura F, Ishihara T, Okamoto K, Nishizawa M, Kawachi I. Relapse of multiple sclerosis in a patient retaining CCR7-expressing T cells in CSF under fingolimod therapy. *Multiple Sclerosis Journal*

2013;19(9):1230-1233.doi:
10.1177/1352458513481395. 査読有
Kawachi I, Kondo T. T lymphocytes:
Helpers. ENCYCLOPEDIA OF LIFE
SCIENCES 2013; Published online:
September 2013. DOI:
10.1002/9780470015902.a0001224.pub3.
査読有
Titulaer MJ, McCracken L, Gabilondo I,
Iizuka T, Kawachi I, Bataller L,
Torrents A, Rosenfeld MR,
Balice-Gordon R, Graus F, Dalmau J.
Late-onset anti-NMDA receptor
encephalitis. Neurology 2013;
81(12):1058-1063. DOI:
10.1212/WNL.0b013e3182a4a49c. 査読有
Kira J, Yamasaki R, Yoshimura S,
Fukazawa T, Yokoyama K, Fujihara K,
Ogino M, Yokota T, Miyamoto K, Niino
M, Nomura K, Tomita R, Tanaka M,
Kawachi I, Ohashi T, Kaida K, Matsui
M, Nakatsuji Y, Ochi H, Kanda T,
Nagaishi A, Togo K, Mizusawa H, Kawano
Y. Efficacy of methylprednisolone
pulse therapy for acute relapse in
Japanese patients with multiple
sclerosis and neuromyelitis optica: a
multicenter retrospective analysis:
1. Whole group analysis. Clinical and
Experimental Neuroimmunology
2013;4(3):305-317. DOI:
10.1111/cen3.12071. 査読有
河内泉, 西澤正豊. 多発性硬化症・視神
経脊髄炎における認知機能障害. 多発
性硬化症の新展開. 脳 21
2013;16(4):454-459. 査読無
河内泉. 視神経脊髄炎には認知機能障
害と大脳皮質変性が存在する. MS
Frontier 2013;2(2):22-25. 査読無
Uemura M, Kosaka T, Shimohata T,
Ishikawa M, Nishihira Y, Toyoshima Y,
Yanagawa K, Kawachi I, Takahashi H,
Nishizawa M. Dropped head syndrome in
amyotrophic lateral sclerosis.
Amyotroph Lateral Scler
Frontotemporal
Degener.2013;14:232-3.doi:
10.3109/17482968.2012.727424. 査読有
Ariizumi Y, Ozawa T, Tokutake T,
Kawachi I, Hirose M, Katada S,
Igarashi S, Tanaka K, Nishizawa M.
Chorea as the first sign in a patient
with elderly-onset systemic lupus
erythematosus. Case reports in
neurological medicine.
2012;2012:317082.Doi:10.1155/2012/3
17082. 査読有
Takado Y, Shimohata T, Kawachi I,
Tanaka K, Nishizawa M. Successful
treatment of neuroborreliosis with

combined administration of
antibiotics and steroids: A case
report. Rinsho Shinkeigaku
2012;52(6):411-5. 査読有
Hironishi M, Ishimoto S, Sawanishi T,
Miwa H, Kawachi I, Kondo T.
Neuromyelitis optica following
thymectomy with severe spinal cord
atrophy after frequent relapses for
30 years. Brain Nerve
2012;64(8):951-5. 査読有
Katsumata Y, Kawachi I, Kawaguchi Y,
Gono T, Ichida H, Hara M, Yamanaka H.
Semiquantitative measurement of
aquaporin-4 antibodies as a possible
surrogate marker of neuromyelitis
optica spectrum disorders with
systemic autoimmune diseases. Mod
Rheumatol. 2012;22(5):676-84. 査読有
Kitamura A, Maekawa Y, Uehara H, Izumi
K, Kawachi I, Nishizawa M, Toyoshima
Y, Takahashi H, Standley DM, Tanaka K,
Hamazaki J, Murata S, Obara K,
Toyoshima I, Yasutomo K: A mutation in
the immunoproteasome subunit PSMB8
causes autoinflammation and
lipodystrophy in humans. J Clin
Invest 2011, 121:4150-60. 査読有
Konno T, Umeda Y, Umeda M, Kawachi I,
Oyake M, Fujita N. A case of
inflammatory myopathy with widely
skin rash following use of
supplements containing Spirulina.
Rinsho Shinkeigaku. 2011;51:330-3.
査読有
西澤正豊, 河内泉. アクアポリン 4 抗
体. SRL 宝函 2011;32(2):4-12. 査読無

〔学会発表〕(計 14 件)

The 6th Congress of the Pan-Asia
Committee for Treatment and Research
in Multiple Sclerosis. Kyoto, Japan.
2013 年 11 月 7 日. Yokoseki A, Saji E,
Arakawa M, Hokari M, Nishizawa M,
Kawachi I. Optic Perineuritis-like
Lesions in Neuromyelitis Optica:
Radiological Assessments.
The 6th Congress of the Pan-Asia
Committee for Treatment and Research
in Multiple Sclerosis. Kyoto, Japan.
2013 年 11 月 7 日. Arakawa M, Saji E,
Toyoshima Y, Hokari M, Yokoseki A,
Kakita A, Takahashi H, Nishizawa M,
Kawachi I. Neuromyelitis Optica with
Severe Progressive Cognitive and
Psychiatric Impairment: Pathological
Analysis of Three Autopsied Cases.
The 6th Congress of the Pan-Asia
Committee for Treatment and Research
in Multiple Sclerosis. Kyoto, Japan.

2013年11月7日. Saji E, Arakawa M, Yokoseki A, Hokari M, Toyoshima Y, Kakita A, Takahashi H, Nishizawa M, Kawachi I. Radiological and Pathological Analyses of Cortical Lesions in Inflammatory Demyelinating Diseases of the Central Nervous System.

The 6th Congress of the Pan-Asia Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis. Kyoto, Japan. 2013年11月7日. Hokari M, Saji E, Yokoseki A, Arakawa M, Nishizawa M, Kawachi I. Clinical Profiles of Elderly Patients with ADEM in A Japanese Cohort.

The 6th Congress of the Pan-Asia Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis. Kyoto, Japan. 2013年11月7日. Yanagimura F, Kawachi I, Saji E, Hokari M, Yokoseki A, Arakawa M, Nishizawa M.

Paraneoplastic Anti-NMDA Receptor Encephalitis Presenting With Neuromyelitis Optica-Like Relapses. The 28th Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis. Copenhagen, Denmark. 2013年10月4日. Kawachi I, Yokoseki A, Saji E, Arakawa M, Hokari M, Nishizawa M.

Longitudinal flow cytometric profiles of immune cells in the cerebrospinal fluid and blood of patients with multiple sclerosis under fingolimod therapy. The 28th Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis. Copenhagen, Denmark. 2013年10月4日. Arakawa M, Saji E, Toyoshima Y, Hokari M, Yokoseki A, Kakita A, Takahashi H, Nishizawa M, Kawachi I. CNS pathology in neuromyelitis optica: region-dependent dynamics of aquaporin-4.

The 11th International Congress of Neuroimmunology. Boston, USA. 2012年11月7日. Arakawa M, Toyosima Y, Saji E, Yanagawa K, Yokoseki A, Kakita A, Takahashi H, Nishizawa M, Kawachi I. Characteristic features of inflammatory demyelination and neurodegeneration in neuromyelitis optica spectrum disorder.

The 11th International Congress of Neuroimmunology. Boston, USA. 2012年11月6日. Saji E, Arakawa M, Hokari M, Toyosima Y, Yanagawa K, Yokoseki A, Kakita A, Takahashi H, Nishizawa M, Kawachi I. Potential role of CCR6+ T

cells in inflammatory demyelinating diseases of central nervous system. The 27th Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis. Lion, France. 2012年10月11日. Kawachi I, Yanagawa K, Saji E, Yokoseki A, Hokari M, Nishizawa M.

Diagnostic dilemma of Japanese patients with AQP4 antibody. The 5th Congress of the Pan-Asia Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis. Beijing, China. 2012年9月15日. Kawachi I, Saji E, Yanagawa K, Toyoshima Y, Arakawa M, Yokoseki A, Hokari M, Kakita A, Takahashi H, Nishizawa H.

Possible role of subarachnoid space as the initiating site for triggering the immune-mediated injury in CNS demyelinating diseases. The 5th Congress of the Pan-Asia Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis. Beijing, China. 2012年9月14日. Saji E, Yanagawa K, Toyoshima Y, Arakawa M, Yokoseki A, Hokari M, Nishizawa M, and Kawachi I.

Characteristic features of cognitive dysfunction in neuromyelitis optica and multiple sclerosis. The 5th Joint Triennial Congress of the European and Americas Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis. Amsterdam, The Netherlands. 2011年10月21日. Kawachi I, Yanagawa K, Toyoshima Y, Saji E, Arakawa M, Yokoseki A, Kakita A, Takahashi H, Nishizawa M.

Absence of meningeal lymphoid neogenesis in neuromyelitis optica. The 5th Joint Triennial Congress of the European and Americas Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis. Amsterdam, The Netherlands. 2011年10月21日. Saji E, Yanagawa K, Toyoshima Y, Arakawa M, Yokoseki A, Nishizawa M, Kawachi I.

Possible association of retinal nerve fiber layer thinning with cognitive dysfunction in neuromyelitis optica.

〔図書〕(計3件)

河内泉, 西澤正豊. III. 視神経脊髄炎の病態と治療. NMO spectrum disorder. アクチュアル脳・神経疾患の臨床. 多発性硬化症と視神経脊髄炎. 2012年10月発行. 331-337. 中山書店. 東京.

河内泉. II. MSとNMOの基礎. 2. 免疫制御のキープレイヤーとネットワーク. 多発性硬化症 (MS) と視神経脊髄炎 (NMO) の基礎と臨床. 2012年9月発行.

33-45. 医薬ジャーナル社. 東京.
河内泉, 西澤正豊. III. 認知症をきたす疾患. 多発性硬化症. アクチュアル脳・神経疾患の臨床. 認知症 神経心理学的アプローチ. 2012年3月1日発行. 256-270. 中山書店. 東京.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ: 新潟大学脳研究所神経内科学分野. <http://www.bri.niigata-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河内 泉 (KAWACHI, Izumi)

新潟大学医歯学総合病院・助教

研究者番号: 40432083

(2) 研究分担者

豊島 靖子 (TOYOSHIMA, Yasuko)

新潟大学脳研究所・准教授

研究者番号: 20334675

(3) 連携研究者

なし