

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	日高 義彦
論文審査担当者	主 査 小池 健一 副 査 池田 修一 ・ 田淵 克彦
論文題目	
Cytokine production profiles in chronic relapsing-remitting experimental autoimmune encephalomyelitis: IFN-γ and TNF-α are important participants in the first attack but not in the relapse (慢性再発寛解型実験的自己免疫性脳脊髄炎におけるサイトカイン産生プロファイル; IFN- γ 、TNF- α は初回発症では重要だが、再発への関与は乏しい)	
(論文の内容の要旨)	
【はじめに】 多発性硬化症 (multiple sclerosis ; MS) は中枢神経の慢性炎症性脱髄疾患で、髄鞘タンパクを標的とする自己免疫疾患と考えられているが、詳細は不明である。臨床経過から再発寛解型 (80-90%)、一次進行型、二次進行型に分類される。Myelin basic protein (MBP)、myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) などの髄鞘抗原を免疫して誘導される実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis ; EAE) は MS の動物モデルとされているが、臨床経過は一次進行型が多く、再発寛解型は少ない。そのため、慢性再発寛解型 (chronic relapsing-remitting) EAE (CREAE) を呈するマウスは MS の病態生理を解明するのに最も有効な動物モデルと考えられる。 本研究では、CREAE マウスを用いて、CREAE の発症と再発のメカニズムを解明するため、初発時、1 回目再発時、2 回目再発時のサイトカイン産生プロファイルと中枢神経病理組織学所見を比較検討した。	
【対象と方法】 I 型糖尿病を自然発症し自己免疫疾患誘導に感受性を示す NOD マウスに、脳炎惹起性 MOG ペプチド 35-55 (MOG ₃₅₋₅₅) を単回投与し、CREAE を誘導した (発症率 78.1%)。初発時、1 回目再発時、2 回目再発時に脳脊髄を摘出し、hematoxylin-eosin (HE) 染色、Klüver-Barrera 染色にて評価した。脾臓から単核細胞を採取し、無刺激と MOG ₃₅₋₅₅ 刺激にて 72 時間培養を行い、培養上清中のサイトカイン濃度と脊髄での mRNA を測定した。サイトカイン (IFN- γ 、TNF- α 、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-12、IL-17、CCL-2) は cytometric beads array により、IFN- γ 、TNF- α 、IL-6、CCL2 の mRNA 発現は real-time PCR により検討した。p<0.05 を統計学的有意とした。	
【結果】 MOG ₃₅₋₅₅ で免疫した NOD マウスは典型的な慢性再発寛解型の臨床経過を示した。MOG ₃₅₋₅₅ 投与後の発症日 (平均±標準誤差) は、初発群 (n=6) 12.7±0.5 日、1 回目再発群 (n=6) 50.0±4.9 日、2 回目再発群 (n=4) 86.0±11.7 日であった。神経学的症状を 5 段階に分けて点数化し (軽 1→重 5)、臨床スコアとして比較したところ、1 回目再発群と 2 回目再発群で初発群より有意に高かった。 MOG ₃₅₋₅₅ 投与後 17 日 (初発)、56 日 (1 回目再発)、86 日 (2 回目再発) に解剖し、腰髄の病理組織学所見を検討した。初発群で小血管周囲やクモ膜下腔にリンパ球やマクロファージ、少数の好中球などの浸潤が中等度に認められた。1 回目再発群と 2 回目再発群では、白質に多数の単核球浸潤がみられた。脱髄所見は初発群にはみられず、1 回目再発群と 2 回目再発群で認められた。無刺激では、初発時、1 回目再発時、2 回目再発時の 3 群とも全てのサイトカインは検出感度以下であった。MOG ₃₅₋₅₅ 刺激では、IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 はいずれも初発群のみ有意に亢進していたが、1 回目再発群、2 回目再発群はコントロール群と差がなかった。一方、CCL2 と IL-17 産生は初発群、1 回目再発群、2 回目再発群のいずれもコントロール群より有意に	

亢進していた。IL-4、IL-5、IL-10、IL-12 は 3 群とも検出感度以下であった。

中枢神経浸潤細胞における IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 の mRNA 発現はいずれも初発群のみ有意に亢進していたが、1 回目再発群、2 回目再発群はコントロール群と差はみられなかった。CCL2 は 3 群ともコントロール群より有意に亢進していた。

【考察】

CREAE の初発時において、IFN- γ 、TNF- α 、IL-6、CCL2 のサイトカイン産生と mRNA 発現が亢進しており、中枢神経における血管周囲への炎症細胞浸潤が認められた。Sun らは、EAE 動物の中枢神経への IFN- γ や TNF- α の局所注入により血管周囲への T リンパ球浸潤を報告しており、今回の結果と一致していた。一方、CCL2 とおそらく IL-17 は CREAE の初発だけでなく再発時にも主要な役割を演じ、脳実質への炎症細胞浸潤や脱髄といったより重症の病理組織変化に関与している可能性が高いと考えられた。以上の結果から、CREAE の初発機序と再発機序は異なることが示唆され、ヒト再発寛解型 MS の新たな治療法の開発につながるかもしれない。

研究指導者 信州大学医学部教授 小池 健一
研究場所 信州大学医学部 小児医学教室