

	わらび ようこ
氏 名	蕨 陽 子
学 位	博 士 (医学)
学位記番号	新大博(医)第1711号
学位授与の日付	平成19年1月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
博士論文名	Characterization of the T cell receptor repertoire in the Japanese neuromyelitis optica: T cell activity is up-regulated compared to multiple sclerosis (日本人視神経脊髄炎患者におけるT細胞レセプター・レパトアの特徴:T細胞性免疫は多発性硬化症に比して活性化している)
論文審査委員	主査 教授 西澤 正 豊 副査 教授 安 保 徹 副査 教授 高 橋 姿

博士論文の要旨

【背景】

視神経脊髄炎 (Neuromyelitis optica: NMO)は日本人に比較的多い中枢神経系の脱髄疾患である。NMO は多発性硬化症 (MS)に比して病変が視神経と脊髄に局限しやすく、髄液オリゴクローナルバンドの陽性率が低い。NMO の病理像は脱髄よりも壊死が強く、特異抗体であるNMO-IgGも報告されている。

一方、MS の発症にはT細胞が関与しており、T細胞レセプター(TCR)のレパトアを分析すると、特定のVβ鎖が発病に関与していることが報告されているが、NMO の T細胞性免疫の特徴はまだ解明されていない。

さらに、MS の進行モードには、再発寛解型(RRMS) と二次性進行型(SPMS)がある。RRMSは免疫学的な脱髄が関与し、SPMSは非免疫学的な軸索変性が関与すると言われるが、病理やMRIの形態学的な証拠しか知られていない。

本論文ではNMOとMSおよび健常対照の末梢血リンパ球(PBL)のTCRレパトアを解析することにより、NMOとRRMS、SPMSとのT細胞性免疫の特性の違いを明らかにした。

【対象と方法】

東京都立神経病院の NMO 患者 11 名と MS 患者 21 名 (RRMS 13 名、SPMS 8 名)、健常対照 25 名を対象とし、15ml のヘパリン採血を行った。Density gradient 法で PBL を採取し、CDR3 スペクトラタイピング法で TCR レパトア分析を行った。すなわち、PBL から RNA、cDNA を作製し、TCR の V β 鎖に存在する可変領域の 1 つである complementarity-determining region 3 (CDR3) 領域を検出するプライマー (human V β 1-V β 24 プライマー) およびローダミン標識 C β プライマーを用いて PCR を行った。PCR 産物をアクリルアミドゲル上で電気泳動後、蛍光イメージアナライザーで分析した。正常パターンの各 V β 遺伝子は 5~7 本のバンドを認め、特定の TCR クローンが増幅している場合は、対応するバンドの太さ、密度が増強する。本論文ではバンド増強を示した V β を「活性化している」と定義し、各検体において V β 1-V β 24 のうち活性化している V β の数の合計を「各検体の活性化 V β 数」と定義した。さらに各 V β について、ある群のうち何% の人でその V β が活性化しているかを「各 V β の活性化率」と定義した。

経時的な検討を、NMO、RRMS、SPMS 6 名ずつで行った。平均 4.1 ヶ月間隔で、平均 7.6 ヶ月間、合計 47 回経時的に採血し、それぞれに TCR レパトア分析を行い、統計学的に解析した。

【結果】

各群の平均活性化 V β 数は、NMO 6.0 個、MS 2.5 個、健常対照 0.9 個であった。すなわち NMO ($p=0.0003$) および MS ($p=0.02$) は健常対照に比し有意に多い活性化 V β を持ち、さらに NMO は MS に比しても有意に多かった ($p=0.006$)。このことから NMO では T 細胞性免疫が MS や健常対照に比して有意に活性化していることが示された。一方、NMO と RRMS、SPMS の 3 群で比較すると、平均活性化 V β 数は、RRMS 3.2 個、SPMS 1.3 個で、NMO は RRMS に比しても有意に多い活性化 V β を持っていた ($p=0.04$)。よって進行モードに関わりなく NMO は MS に比して T 細胞性免疫が活性化していることが示された。さらに、SPMS の活性化 V β 数は RRMS に比して有意に少なく ($p=0.05$)、SPMS の病態に T 細胞性免疫の関与が少ないことが、末梢血の TCR レパトア分析としては初めて示された。

次に、NMO では V β 1 ($p=0.01$) および V β 13 遺伝子 ($p=0.003$) の活性化率が RRMS に比して有意に高かった。TCR の特異的な V β が活性化していることは、NMO の原因抗原発見の大きな手がかりとなり、特異的な治療法の開発にも役立ち、有用な結果と考えられた。

経時的な検討では、NMO と RRMS の検体は臨床的な障害度(EDSS)に相関して活性化 V β 数が増加した。これらの群では EDSS 6.0 以上のすべての検体で活性化 V β 数が 5 個以上であった。一方、SPMS では全例が EDSS 6.0 以上と、他の群に比して有意に重症で、罹病期間も有意に長かったが、すべての検体で活性化 V β 数が 4 個以下であり、経時的な変化もなかった。このことから、SPMS の経時的な進行には、T 細胞性免疫の関与が少ないことが示唆された。

【結論】

NMO では T 細胞性免疫の関与が MS や健常対照に比して有意に強く、TCR の V β 1 および V β 13 遺伝子が特異的に活性化している点で、NMO と MS の T 細胞性免疫の特徴は異なる。経時的解析では、臨床的な障害度に相関して活性化 V β 数が増加する点で、NMO と RRMS は類似している。SPMS の進行には T 細胞性免疫の関与が少ないことが、これまでの病理所見や MRI 検査のみならず、末梢血の TCR レパトア分析からも示唆された。

(論文審査の要旨)

視神経脊髄炎 (NMO) は日本人に多い脱髄疾患であるが、その T 細胞性免疫の特徴や、多発性硬化症 (MS) との異同については未解明である。申請者は NMO と MS および健常対照の末梢血リンパ球 T 細胞レセプター (TCR) レパトアを、complementarity-determining region 3 スペクトラタイプ法を用いて解析した。

その結果、NMO では TCR V β 遺伝子のクローナルな増幅が MS や健常対照に比して有意に多く、特に V β 1 および V β 13 が MS よりも有意に活性化している点で、NMO の T 細胞性免疫は MS とは異なる特徴を示した。一方、経時的な解析を行うと、NMO と再発寛解型の MS (RRMS) では、臨床的な重症度が高いほど、活性化 V β 数が増加していた。しかし、臨床的により重症で、罹病期間もより長い二次性進行型の MS (SPMS) では、V β のクローナルな増幅は NMO や RRMS に比して有意に少なかった。

以上、日本人 NMO の T 細胞性免疫系は MS とは異なる特徴を有することを明らかにし、さらに病理所見から脱髄よりも軸索変性の関与が大きいと推定されている SPMS の進行には T 細胞性免疫の関与が少ない可能性を、末梢血リンパ球の分析から初めて示唆した点に、学位論文としての価値を認めた。