

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	蓑手 美彩子
論文題目	<p>High frequency of circulating non-classical monocytes is associated with stable remission in relapsing-remitting multiple sclerosis (末梢血における高頻度 non-classical monocyte は再発寛解型多発性硬化症の長期寛解と関連する)</p>		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>多発性硬化症 (multiple sclerosis、以下 MS) は自己反応性 B、T 細胞を主とした多様な免疫細胞により惹起される中枢神経の炎症性疾患である。発症初期の MS は、ほとんどの患者において、神経症状の増悪 (再発) と多様な期間の寛解を繰り返す再発寛解型 MS (relapsing-remitting MS、以下 RRMS) である。疾患安定の客観的評価法として、①臨床的再発、②画像上の増悪、③進行、の全てがないことで定義される no evidence of disease activity-3 (以下 NEDA-3) が日常臨床で用いられている。本研究の目的は、NEDA-3 で定義された寛解を長期維持する RRMS 患者に共通する免疫学的背景を解析することで、MS の寛解に関連する免疫メカニズムについての知見を得ることである。</p> <p>NEDA-3 を 2 年以上維持している RRMS 患者 31 名 (以下 NEDA 群) と直近 2 年間の再発が 2 回以上の RRMS 患者 (EDA 群) 8 名の末梢血における B、T、non-T non-B 細胞の亜分画をフローサイトメトリーを用いて解析した。EDA 群と比較し NEDA 群において、単球における non-classical monocyte (以下 NCM) の頻度、NCM/CM(classical monocyte)比、CD4 陽性細胞における活性化制御性 T 細胞 (CD45RA 陰性 FOXP3 高発現 CD4 陽性 T 細胞) の頻度が有意に高かった。B 細胞亜分画は両者で有意差を認めなかった。相関解析では NCM 頻度、NCM/CM 比は NEDA-3 維持期間と正の相関があり、NCM が NEDA 維持に関連する亜分画の候補と考えられた。</p> <p>Receiver operating characteristic (ROC) 解析では、NCM 頻度と NCM/CM 比は、採血時点で 2 年間 NEDA-3 状態か否かを識別するのに高い感度特異度を示し (ともに Area under the curve [AUC] =0.93)、測定後 2 年間の再発の有無の予測についても高い感度特異度を示した (AUC=0.97、0.94)。この ROC 曲線で得たカットオフ値で 2 群に分けた RRMS 患者のカプランマイヤー曲線をログランク検定を用いて比較すると、低値群で再発の確率が有意に高かった。</p> <p>さらに RRMS における NCM の役割について検討を行った。末梢血 NCM 頻度、NCM/CM 比は、同時に評価した末梢血活性化制御性 T 細胞の頻度と正の相関を認め、共培養実験では、ヒト末梢血 NCM と共培養した末梢血 CD4 陽性 T 細胞においては、CM と共培養した CD4 陽性 T 細胞や単培養した CD4 陽性 T 細胞に比して活性化制御性 T 細胞の頻度が高かった。これらの結果から NCM は活性化制御性 T 細胞の増加を介して RRMS の長期寛解に関わる可能性が考えられた。</p> <p>さらに制御性 T 細胞の分化に関与するとされる PD-L1 の発現を、RRMS 患者 38 名 (NEDA 状態群 15 名、EDA 状態群 23 名) と健常コントロール群 17 名の末梢血でフローサイトメーターを用いて解析すると、いずれの群でも CM に比して NCM で PD-L1 の発現が高く、NCM における PD-L1 の発現は他群に比して NEDA 群で有意に高かった。</p> <p>本研究の結果から、RRMS 患者において、NCM は活性化制御性 T 細胞を増加させることで長期寛解に関連する可能性があり、有用な長期寛解の予測マーカーになりうる事が分かった。また、活性化制御性 T 細胞を増加させる機序の 1 つとして、PD-L1 を介したメカニズムが考えられた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

多発性硬化症 (MS) 患者の治療において、疾患活動性/安定性を評価することは極めて重要で、臨床的・画像的評価項目で定義された no evidence of disease activity-3 (NEDA-3) が広く用いられている。NEDA は治療目標とされるが、NEDA 維持に関する免疫学的背景は明らかにされていない。

末梢血の免疫細胞分画の網羅的な解析結果から、NEDA-3 を長期維持している再発寛解型 MS (RRMS) 患者の特徴として、末梢血中の高頻度 non-classical monocyte (NCM)、高 NCM/CM (classical monocyte) 比、高頻度活性化制御性 T 細胞 (CD45RA⁺Foxp3^{high}CD4⁺T 細胞) を見出した。単球・T 細胞の共培養実験結果から、末梢血 NCM は CM との共培養やコントロール (T 細胞単培養) と比較して、活性化制御性 T 細胞の頻度を増加させ、これが MS 疾患の安定性に寄与している可能性が示唆された。

さらに、末梢血 NCM 頻度、NCM/CM 比は RRMS 患者の近い将来の再発の有無の予測バイオマーカーとなりうる事が示唆された。MS における再発の有無の予測マーカーは確立されておらず、重要な知見と考える。

以上の研究は、RRMS 患者の長期寛解に関する免疫背景の解明に貢献し、RRMS 患者の疾患活動性に合わせた将来の個別化治療に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 6 年 1 1 月 1 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降