

氏 名	細 川 隆 史
(ふりがな)	(ほそかわ たかふみ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第 号
学位審査年月日	平成 24 年 2 月 17 日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Increased serum matrix metalloproteinase-9 in neuromyelitis optica: Implication of disruption of blood-brain barrier (視神経脊髄炎における血清 MMP-9 の上昇：血液 脳関門の破綻との関連について)
論文審査委員	(主) 教授 黒 岩 敏 彦 教授 池 田 恒 彦 教授 朝 日 通 雄 教授 田 窪 孝 行

### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《緒 言》

視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica : NMO) は視神経と脊髄を病変の首座とする炎症性疾患であり、多発性硬化症 (multiple sclerosis : MS) との異同が議論されていたが、NMO にのみ特異的に発現する抗 aquaporin-4 (AQP4) 抗体の存在が明らかにされ、NMO と MS の免疫学的病態の差異に焦点が当てられている。AQP4 はアストロサイトの足突起に発現する水チャネル分子であり、NMO での抗 AQP4 抗体と病態との関連も解明されつつある。血清の抗 AQP4 抗体が中枢内の AQP4 に到達・結合するためには、血液脳関門 (blood-brain barrier : BBB) の破綻など何らかの病的過程が必要と考えられるが、NMO での BBB の機能やその破綻に関してはほとんど報告されていない。BBB の構成要素とし

て血管内皮細胞の tight junction と血管基底膜が重要であるが、matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) は血管内皮細胞の tight junction と血管基底膜を分解することで BBB の破綻に関与していると考えられている。また、tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) は MMP-9 と結合することでその活性を阻害する。今回われわれは NMO での BBB の機能を明らかにするため、NMO 患者の血清と髄液を用いて MMP-9、TIMP-1 を測定するとともに、NMO や MS において病態との関与が一部で報告されている interleukin (IL) -17、IL-8、interferon-inducible protein (IP) -10、monocyte chemotactic protein (MCP) -1 も測定し、検討した。

#### 《方 法》

血清検体のある NMO13 例、MS15 例、健常対照 14 例を対象とし、血清 MMP-9、TIMP-1 を測定し比較検討した。また、後ろ向きに診療録より臨床的背景、検査所見、脊髄 MRI 所見を抽出し比較検討した。髄液検体のある NMO7 名、MS7 名では、髄液 MMP-9、TIMP-1、IL-17、IL-8、IP-10、MCP-1 も測定し比較検討した。さらに、血清 MMP-9 と臨床・検査所見との相関を検討した。尚、血清・髄液は急性期のものを使用し、MMP-9、TIMP-1、IL-17、IL-8、IP-10、MCP-1 の測定には ELISA 法を使用した。

#### 《結 果》

NMO は全例で抗 AQP4 抗体が陽性であり、MS では全例で陰性であった。IgG index は MS 群と比べ NMO 群では低い傾向がみられたが、有意ではなかった。髄液/血清 albumin ratio は MS 群と比べ NMO 群では有意に高く、MS 群では全例正常範囲内であったが、NMO 群では 11 例中 10 例で正常上限を超えていた。血清 MMP-9 は健常対照群、MS 群と比べ NMO 群では有意に高かった。血清 TIMP-1 は健常対照群と比べ MS 群では有意に低かった。髄液 MMP-9 は MS 群、NMO 群で有意差を認めなかったが、髄液 TIMP-1 は MS 群と比べ NMO 群では有意に高かった。髄液 IL-8 は MS 群と比べ NMO 群では有意に高かったが、髄液 IL-17、IP-10、MCP-1 は両群で有意差を認めなかった。また、血清 MMP-9 は、Kurtzke's Expanded Disability Status Scale (EDSS)、髄液/血清 albumin

ratio、髄液 IL-8 とそれぞれ正の相関を認めたと、脊髄 MRI 病変の長さとは相関を認めなかった。

#### 《考 察》

血清 MMP-9 は健常対照、MS と比べ NMO では有意に高く、かつ EDSS、髄液/血清 albumin ratio と相関を認めたことから、NMO では MMP-9 を介した BBB の障害が病態に深く関わっていると考えられた。一方、IgG index は MS と比べ NMO では低下していたことから、中枢内での IgG 産生、炎症が高度な MS とは、NMO は異なった病態であると考えられた。NMO では抗 AQP4 抗体が病態に関与していると考えられているが、抗 AQP4 抗体が強陽性であるにも関わらず寛解している症例もあり、抗体単独では NMO の発症に不十分であることが示唆される。今回の研究により、MMP-9 を介した BBB の破綻が NMO の発症に必要であり、それに伴い抗 AQP4 抗体が中枢内へ侵入し病変を形成する可能性が示唆された。

髄液 IL-8 は MS と比べ NMO では上昇し、かつ血清 MMP-9 と相関を認めた。IL-8 は好中球を動員・活性化し、MMP-9 などの分泌を亢進することが報告されている。さらに、NMO とオーバーラップする疾患である視神経脊髄型 MS では、髄液 IL-8 の亢進が脊髄病変への好中球の著明な浸潤に関与することも報告されている。以上より、NMO での MMP-9 の亢進には、IL-8 の活性化とそれによる好中球の動員・活性化が関与している可能性が示唆された。

#### 《結 論》

NMO の発症には、MMP-9 の活性化と、それによる BBB の破綻が重要な役割を果たしている可能性が考えられる。

(様式 甲6)

## 論文審査結果の要旨

視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica : NMO) は視神経と脊髄を病変の首座とする炎症性疾患であり、多発性硬化症 (multiple sclerosis : MS) との異同が議論されている。近年、NMO にのみ特異的に発現する抗 aquaporin-4 (AQP4) 抗体の存在が明らかにされ、NMO と MS の免疫学的病態の差異に焦点が当てられている。本研究では NMO における血液脳関門 (blood-brain barrier : BBB) の機能を明らかにするため、NMO 患者の血清と髄液を用いて BBB の破綻に関与している酵素である matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) とその阻害物質である tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) を測定し、検討している。

申請者は、血清検体のある NMO13 例、MS15 例、健常対照 14 例を対象とし、血清 MMP-9、TIMP-1、髄液 MMP-9、TIMP-1、interleukin (IL) -17、IL-8、interferon-inducible protein (IP) -10、monocyte chemotactic protein (MCP) -1 を測定し比較検討している。また、後ろ向きに診療録より臨床的背景、検査所見を抽出して比較検討し、さらに血清 MMP-9 と臨床・検査所見との相関を検討している。

その結果、血清 MMP-9 が健常対照群、MS 群と比べ NMO 群では有意に高くなること、また Kurtzke's Expanded Disability Status Scale (EDSS) (重症度の指標)、髄液/血清 albumin ratio (BBB の破綻による髄液への蛋白漏出の指標)、髄液 IL-8 が、MS 群と比べ NMO 群では有意に高く、血清 MMP-9 と相関することを見出している。

本研究の結果は、NMO の発症には、IL-8 を介した MMP-9 の活性化と、それによる BBB の破綻が重要な役割を果たしていることを証明しており、NMO と MS の免疫学的病態の差異を示したものである。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Journal of Neuroimmunology 236(1-2): 81-86, 2011