

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09333

研究課題名(和文) 抗talin自己抗体を標的とした多発性硬化症の新規治療戦略

研究課題名(英文) Novel therapeutic strategies for multiple sclerosis targeting autoantibodies against talin.

研究代表者

森 雅裕 (Masahiro, Mori)

千葉大学・大学院医学研究院・准教授

研究者番号：70345023

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：多数例の多発性硬化症患者(MS)・正常対照血清を用い、SEREX法により同定された talin-1 (TLN1) に対する抗体価、および可溶性のTLN1 (sTLN1) 濃度を測定した結果、いずれも正常対照に比し MS患者血清で有意に高い値を示すが、sTLN1濃度は抗TLN1抗体価とは相関しないことを見出した。以上よりMS患者血清で新規自己抗体の抗TLN1抗体が認められること、さらにMSにおける同抗体の産生はsTLN1上昇に対する反応によるものではないことが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：We measured titers of antibodies against talin-1(TLN1) identified by SEREX and concentrations of soluble form of TLN1 (sTLN1) in large scale of multiple sclerosis (MS) patients, and normal controls. The results showed both anti-TLN1 antibody titers and sTLN1 were significantly higher in MS patients than in normal controls. In conclusion, novel autoantibodies against TLN1 can be found in sera from some MS patients; the production of serum anti-TLN1 antibody in MS is thought to be caused not by response to elevation of sTLN1.

研究分野：神経内科、神経免疫、多発性硬化症

キーワード：多発性硬化症 talin-1 自己抗体 神経免疫疾患

1. 研究開始当初の背景

多発性硬化症の病態は従来、T細胞を病態の主座にした以下のような機構で説明されてきた。すなわち、おそらくウイルスタンパクなどの抗原を提示した、マクロファージなどの抗原提示細胞によりプライミングを受けた抗原特異的的自己反応性T細胞が、脳血液関門を越え中枢神経内に入ったところで、再度ミクログリア・樹状細胞などの抗原提示細胞によって感作され増殖し、炎症性サイトカインを分泌したり、ミクログリア・マクロファージを活性化したり、細胞障害性T細胞を誘導したりする結果として髄鞘の破壊が生じるといふ仮説である (Goverman J. *Nat Rev Neurol* 2009;9:393-407)。しかし、多発性硬化症患者髄液中に oligoclonal IgG band が比較的高率に認められることや、B細胞が発現するCD20に対するモノクローナル抗体投与により再発寛解型多発性硬化症の良好な再発予防効果が認められることが明らかになったことから病態におけるB細胞と抗体の意義がクローズアップされ、すくなくともMSの患者の一部では病態にB細胞や抗体が関与していることが明らかになっている (Krumboltz M, et al. *Nat Rev Neurol* 2012;8:613-23)。

我々はこれまでも、神経免疫疾患における新規自己抗体の検索をプロテオーム解析などを用いて行ってきた (Sawai S, et al. *Neurology* 2014;83:113-7) が、こういった背景のもと多発性硬化症血清中の新規自己抗体を見出すべく SEREX (Serological analysis of recombinant cDNA expression libraries) 法を用いて検索をしたところ、複数の新規自己抗体の存在が明らかになった (XXI World Congress of Neurology, Vienna, Austria 21-26, Sept 2013)。このうちの一つが今回、テーマにした抗 talin 抗体である。talin は細胞と基質を繋ぐ高分子細胞骨格タンパクで、インテグリンと結合しインテグリンとアクチンを繋ぐ役割を有する。こうして talin は神経軸索延長に関与するとともに、リンパ球においても細胞間接着に関与することが知られている。

2. 研究の目的

多発性硬化症は従来T細胞による病態機序によって説明されてきたが、近年、B細胞や抗体の関与が注目されている。我々はこれまでにプロテインアレイ法 (SEREX 法) による検索で患者髄液中に新規自己抗体である抗 talin 抗体が存在することを見出した。talin は神経軸索ガイダンス分子であるが、リンパ球にも存在することが知られているが、新規自己抗体である抗 talin 抗体が多発性硬化症病態においてどのような役割を果たすのかはまだ全く解明されていない。我々のこれまでの検討で本抗体の抗体価が高いほど中枢内のIgG産生が低いことが判明しており、抗体そのものが病態を抑える方向に働いてい

る可能性がある。すなわち抗体投与が多発性硬化症治療に直結する可能性があり、これを確認しつつ、その病態への関与を解明し、新規治療に資することが本研究の目的である。

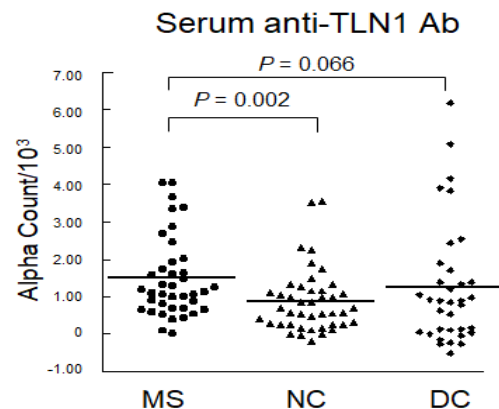
3. 研究の方法

(1) 多数患者血清・髄液を用いた validation study: 多数の多発性硬化症患者の血清、髄液を用い、対照群を用いて、SEREX 法で見出された抗 talin-1 (TLN1) 抗体を確認する。臨床症状・検査所見との関連を調べる。

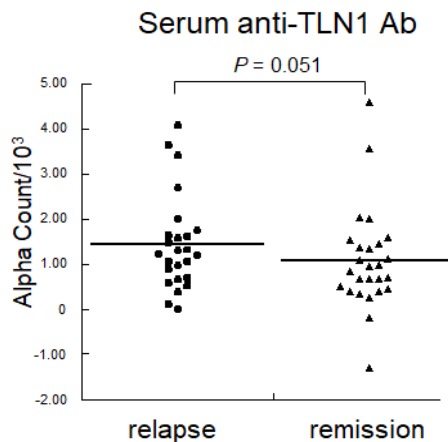
(2) 上記と同一検体を用い可溶性 TLN1 濃度を ELISA キットを用いて測定し、臨床パラメータと比較検討する。さらに血清中抗 TLN1 抗体価との相関を調べ、抗 TLN1 抗体の産生機序を探る。

4. 研究成果

(1) AlphaLISA 法による validation study: 我々はこれまでにプロテインアレイ法 (SEREX 法) により多発性硬化症患者血清より新規自己抗原である TLN1 を見出した。多発性硬化症患者検体中に抗 TLN1 抗体が見出されることを多数検体で確認するため、39名の再発寛解型多発性硬化症、35名の疾患対照、43名の正常対照から血清を採取、保存し、化学発光を用い高感度に広いレンジで抗体量を測定できる AlphaLISA 法により血清中の抗体価を測定した。その結果、血清中抗 TLN1 抗体価は多発性硬化症患者で正常対照より有意に ($P=0.002$) 高値を示すことを確認した。また、疾患対照とは有意差はないもののやはり多発性硬化症患者で抗体価は高い傾向を示す ($P=0.066$) ことを見出した。

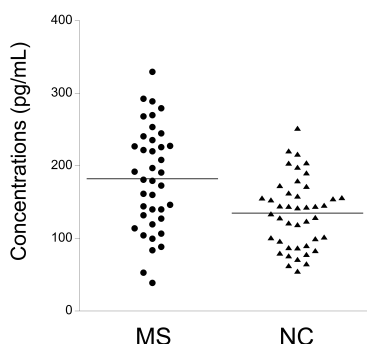


(2) 急性期と寛解期における抗 TLN1 の比較: 次に多発性硬化症患者の再発急性期血清と寛解期血清中の抗体価を比較することとし、再発急性期血清 39 検体と寛解期毛益精 25 検体における抗 TLN1 抗体を AlphaLISA 法により測定した。結果としては再発急性期血清中で寛解期血清に比し抗 TLN1 抗体が高い傾向にある ($P=0.051$) を見出した。



(3) 多発性硬化症患者血清中の抗 TLN1 抗体価と患者の各種臨床・検査データとの相関: 多発性硬化症患者血清中の抗 TLN1 抗体価と患者の各種臨床・検査データ(年齢、性、罹病期間、血清採取時の EDSS、オリゴクローナルバンドの有無、IgG インデックス)との相関を調べた。血清抗 TLN1 抗体はオリゴクローナルバンド陰性例、IgG インデックス低値例で有意に高値を示すこと見出した。また、同抗体は IgG インデックスと逆相関することも見出した。

(4) 血清中 soluble TLN1 (sTLN1) の測定: 多発性硬化症患者血清中で抗 TLN1 抗体が上昇している原因として、血清中で sTLN1 が上昇し、それに対する中和抗体として抗 TLN1 抗体が産生されている可能性を想定し以下の実験を行った。40 名の再発寛解型多発性硬化症患者と 43 名の正常対照の血清中の sTLN1 濃度を ELISA キットを用いて測定し、臨床・検査データと比較するとともに前述の抗 TLN1 抗体価との相関を調べた。血清中 sTLN1 濃度は正常対照に比し多発性硬化症患者で有意に高く (P=0.001) 寛解期に比し急性期で高く (P=0.033)、発作後の障害度進行と相関 (P=0.036) するが、抗 TLN1 抗体価とは相関しないことを見出した。以上より、抗 TLN1 抗体の産生機序は sTLN1 上昇に対する反応性の上昇ではなく、何らかの別のメカニズムによると考えられることが明らかになった。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

1. **Muto M, Mori M, Liu J, Uzawa A, Uchida T, Masuda H, Ohtani R, Sugimoto K, Kuwabara S.** Serum soluble Talin-1 levels are elevated in patients with multiple sclerosis, reflecting its disease activity. *J Neuroimmunol.* 2017;305:131-134. 査読有.
2. Wang H, Zhang XM, Tomiyoshi G, Nakamura R, Shinmen N, Kuroda H, Kimura R, Mine S, Kamitsukasa I, Wada T, Aotsuka A, Yoshida Y, Kobayashi E, Matsutani T, Iwadate Y, Sugimoto K, **Mori M, Uzawa A, Muto M, Kuwabara S, Takemoto M, Kobayashi K, Kawamura H, Ishibashi R, Yokote K, Ohno M, Chen PM, Nishi E, Ono K, Kimura T, Machida T, Takizawa H, Kashiwado K, Shimada H, Ito M, Goto KI, Iwase K, Ashino H, Taira A, Arita E, Takiguchi M, **Hiwasa T.** Association of serum levels of antibodies against MMP1, CBX1, and CBX5 with transient ischemic attack and cerebral infarction. *Oncotarget.* 2017;9:5600-5613. 査読有.**

〔学会発表〕(計 2 件)

1. L. Jia, M. Muto, **M. Mori, A. Uzawa, T. Uchida, H. Masuda, R. Ohtani, K. Sugimoto, S. Kuwabara.** Soluble Talin-1 and anti-Talin-1 antibody are associated with pathogenesis of multiple sclerosis and may be as biomarker for the disease. The XXIII World Congress of Neurology 2017(WCN 2017), Kyoto, Japan on Sept 16-21, 2017.
2. 森 雅裕. 多発性硬化症患者血清中の新規自己抗体: 抗 talin1 抗体. 日本神経免疫学会. 2015 年 9 月 15 日. 長良川国際会議場 (岐阜県土岐市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:
 発明者:
 権利者:
 種類:
 番号:
 出願年月日:

国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森 雅裕 (MORI, Masahiro)
千葉大学・大学院医学研究院・准教授
研究者番号：70345023

(2) 研究分担者

鵜沢 顕之 (UZAWA, Akiyuki)
千葉大学・大学院医学研究院・助教
研究者番号：10533317

日和佐 隆樹 (HIWASA, Takaki)
千葉大学・大学院医学研究院・准教授
研究者番号：30260251

(3) 連携研究者

()
研究者番号：

(4) 研究協力者

内田 智彦 (UCHIDA, Tomohiko)
千葉大学・大学院医学研究院・医員

栢田 大生 (MASUDA, Hiroki)
千葉大学・大学院医学研究院・特任助教

大谷 龍平 (OHTANI, Ryouhei)
千葉大学・大学院医学研究院・医員

劉 佳 (LIU, Jia)
千葉大学・大学院医学研究院・大学院生

杉本 学 (SUGIMOTO, Manabu)
千葉大学・大学院医学研究院・大学院生