

平成 31 年 4 月 20 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16109

研究課題名(和文) 可溶性CD40リガンドを標的とした多発性硬化症の革新的治療法の開発

研究課題名(英文) Development of innovative treatment targeted for CD40 ligand for patients with multiple sclerosis

研究代表者

栞田 大生(Masuda, Hiroki)

千葉大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：10722936

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：多発性硬化症(MS)、実験的アレルギー性脳脊髄炎(EAE)におけるsCD40Lの働きを明らかにすることを目的として研究を行った。MS患者では、血清sCD40L値は疾患コントロール群に比し高い傾向にあり、血液脳関門破綻のマーカーである髄液/血清アルブミン比(Qalb)と正の相関を示した。また、sCD40L投与EAEマウスはsCD40L非投与EAEマウスに比し有意に重症であった。また、ヒト血液脳関門モデルにおいて、sCD40Lを投与すると有意にナトリウムフルオロセインの透過性が亢進した。以上より、sCD40LはBBB破綻を介してMS患者の中枢神経の炎症に寄与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多発性硬化症(MS)患者は再発寛解を繰り返しながら神経学的後遺症が蓄積していき、認知機能障害をきたしたり、車椅子や寝たきりになるなど日常生活動作の低下をきたすことが知られている。今回の研究によって、sCD40LがMSの急性期に上昇して血液脳関門破綻を促進し、重症化につながっているということが示唆された。そのため、今後、sCD40LをターゲットとしたMS急性期の新規治療を確立することで、MS患者の神経学的後遺症を軽症化することが可能になると予想される。すなわち、本研究の成果は世界で250万人いるMS患者の大きな福音になりうる。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the potential role of soluble CD40 ligand (sCD40L) in blood brain barrier (BBB) disruption in patients with multiple sclerosis (MS) and experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) mice. Serum sCD40L levels, which was higher in patients with MS than in disease controls (DCs), was positively correlated with Qalb, a marker of BBB breakdown [median, 2480 versus 786 pg/mL; interquartile range (IQR), 2590 vs 1379; P = 0.046]. EAE scores of mice receiving high-dose sCD40L were worse than those receiving low-dose sCD40L and controls. Permeability coefficient was increased by sCD40L treatment in the human brain microvascular endothelial cell based BBB model (median, 2.43 vs 1.78 10⁻³cm/min; IQR, 0.85 vs 0.64; P = 0.032). As conclusion, sCD40L may facilitate inflammation in MS and EAE by BBB disruption.

研究分野：神経免疫疾患

キーワード：血液脳関門 多発性硬化症 可溶性CD40リガンド 実験的アレルギー性脳脊髄炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

CD40 リガンド (CD40L) は T 細胞に発現し、CD40 との結合により B 細胞の増殖・分化および T 細胞の活性化に参与する。近年、可溶性 CD40L である sCD40L も同様の作用を有すると考えられているが、多発性硬化症 (MS) における関与は未解明である。我々は予備試験において MS 患者髄液中において sCD40L の上昇が認められること、MS の動物モデルである実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) への sCD40L の投与で EAE が重症化することを見出した。これらの結果から、sCD40L は MS 病態を増悪させることが予想される。さらに、sCD40L は分子量が 16.4kDa と小さいことから血漿交換による除去が可能である。また、抗 CD40L 抗体は血栓症の副作用が多く実用化に至らなかったが、近年、血栓症をきたさない新規薬剤が開発され、現在他疾患において臨床試験が進行中であることから (Arthritis Res Ther. 2015;17:234) 臨床応用が容易な背景がある。

2. 研究の目的

多数の MS 患者血漿・髄液において sCD40L を測定して、その MS 病態への関与を明らかにすること、EAE を用いて抗 sCD40L 抗体が MS の革新的新規治療となりうるかを判断することを目的に本研究を計画した。sCD40L が MS の急性期に上昇して血液脳関門破綻を促進し、重症化につながっているという知見を得ることができれば、将来的に、CD40L の可溶性タイプである sCD40L を血漿交換などによって除去することで MS 患者の神経学的後遺症を軽症化することが可能になると予想される。sCD40L をターゲットとした MS 急性期の新規治療を確立できれば、世界で 250 万人いる MS 患者の大きな福音となり世界的なインパクトも大きく、その意義は計り知れない。

3. 研究の方法

- (1) MS 患者の多数サンプルを用いた sCD40L の測定と臨床情報との対比
- (2) sCD40L の投与による EAE 重症化の原因が血液脳関門の破綻であることの証明
- (3) EAE および MS 患者の剖検脳における sCD40L、CD40 の局在の解析
- (4) 血液脳関門のモデルである、血管内皮細胞を用いたナトリウム-フルオレセインの透過性実験において、sCD40L 投与に伴う血管内皮細胞の透過性の変化を検討する

4. 研究成果

MS 患者において、血清および髄液中の sCD40L が疾患対照より有意に上昇し、血清 sCD40L と血液脳関門破綻のマーカーである髄液 / 血清アルブミン比 (Qalb) が正の相関を示すことから、sCD40L が MS 患者において中枢神経系へのリンパ球の浸潤を促進していると予想されることを報告した (図 1、J Neuroimmunol 2017;305:102-107)。

myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) で免疫した EAE の発症初期に sCD40L を投与すると、濃度依存的に EAE が重症化する (図 2)。

発症初期の EAE に sCD40L を投与すると、ピーク直前に血液脳関門が破綻する傾向にある (図 3)。

血液脳関門のモデルである、血管内皮細胞を用いたナトリウム-フルオレセインの透過性実験において、sCD40L が血管内皮細胞の透過性を亢進する (図 4) という知見を得た。 から を成果として学術誌に報告した (J Neuroimmunol. 2018 Mar 15;316:117-120.)。

図 1 : MS 患者血清と Qalb の相関

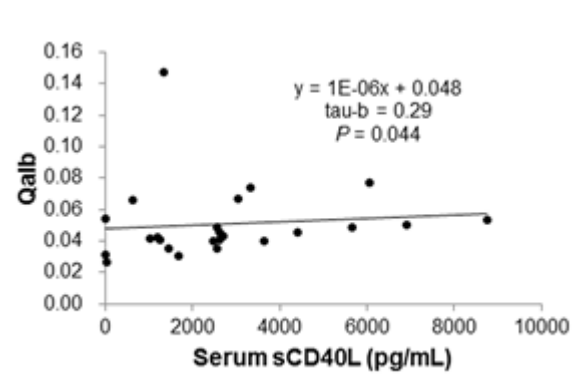


図 2 : sCD40L 投与による EAE の重症化

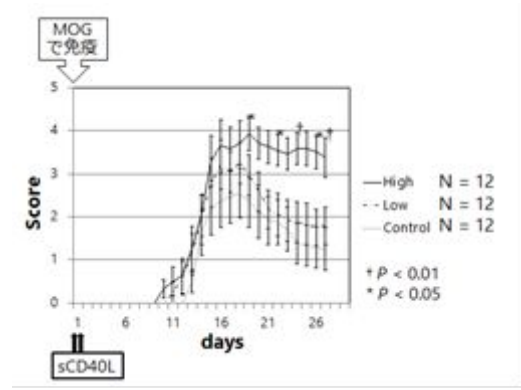


図3：sCD40LはEAEのピーク直前に血液脳関門を破綻させる

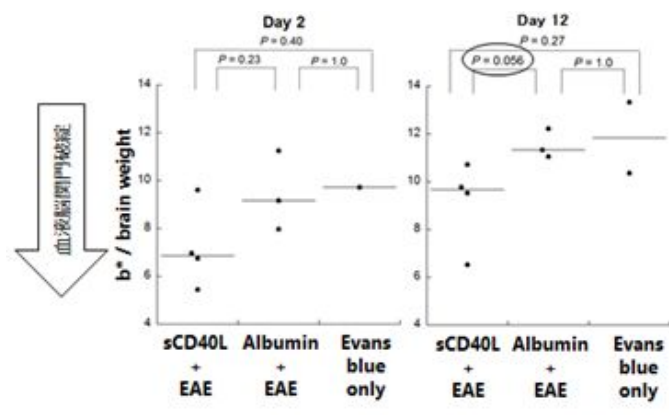
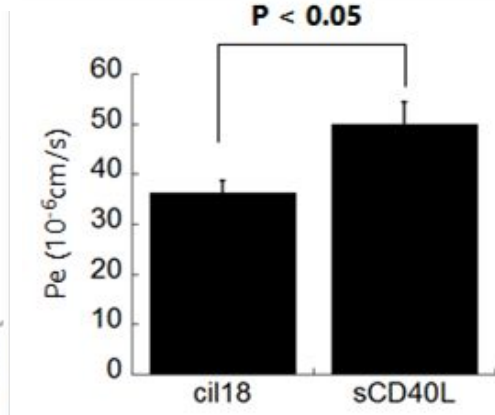


図4：sCD40Lは血液脳関門の構成因子である血管内皮細胞の透過性を亢進



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Masuda H, Mori M, Umehara K, Furihata T, Uchida T, Uzawa A, Kuwabara S. Soluble CD40 ligand disrupts the blood-brain barrier and exacerbates inflammation in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol.* 2018 Mar 15;316:117-120. doi: 10.1016/j.jneuroim.2018.01.001. Epub 2018 Jan 3.

Masuda H, Mori M, Uchida T, Uzawa A, Ohtani R, Kuwabara S. Soluble CD40 ligand contributes to blood-brain barrier breakdown and central nervous system inflammation in multiple sclerosis and neuromyelitis optica spectrum disorder. *J Neuroimmunol.* 2017 Apr 15;305:102-107. doi: 10.1016/j.jneuroim.2017.01.024. Epub 2017 Feb 4.

〔学会発表〕(計 4 件)

Hiroki Masuda, Masahiro Mori, Tomohiko Uchida, Akiyuki Uzawa, Ryohei Otani, Satoshi Kuwabara, Soluble CD40 ligand contributes to blood brain barrier breakdown and central nervous system inflammation. Sendai Conference 2017.

Hiroki Masuda, Masahiro Mori, Tomohiko Uchida, Akiyuki Uzawa, Ryohei Otani, Satoshi Kuwabara, Soluble CD40 ligand contributes to blood brain barrier breakdown and central nervous system inflammation. XXIII World Congress of Neurology (2017).

柘田大生、森 雅裕、鶴沢顕之、内田智彦、大谷龍平、桑原 聡。可溶性 CD40 リガンドは血液脳関門破綻を介して中枢神経の炎症に寄与する。第 29 回日本神経免疫学会学術集会 (2017)。

Hiroki Masuda, Masahiro Mori, Tomohiko Uchida, Akiyuki Uzawa, Ryohei Ohtani, and Satoshi Kuwabara. Soluble CD40 ligand contributes to blood-brain barrier breakdown in patients with multiple sclerosis and mice with experimental autoimmune encephalomyelitis. ECTRIMS 2018.

〔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：
 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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。