

令和 3 年 5 月 18 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15451

研究課題名(和文) ミトコンドリアDNAによるNMO炎症増幅機序の解明と新規治療ターゲット開発

研究課題名(英文) Pathogenic role of mitochondrial DNA in neuromyelitis optica spectrum disorder

研究代表者

山下 和哉 (Yamashita, Kazuya)

大阪大学・医学系研究科・招へい教員

研究者番号：40774518

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：NMO関連疾患(NMOSD)の病態にミトコンドリアDNAを介した炎症増幅機序が存在していることを証明した。まず、NMOSD患者における髄液ミトコンドリアDNA濃度が他疾患と比較して有意に高く、急性期治療により低下することを見出した。さらに抗AQP4抗体によりアストロサイトからミトコンドリアDNAが細胞外に放出されること、そのミトコンドリアDNAはインフラマソームなどの自然免疫系を介して炎症を促進することを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

NMOSDにおいて抗AQP4の病原性はすでに証明され、ステロイドパルス療法や血漿交換が急性期治療として確立されている。しかし失明・四肢麻痺など重篤な後遺症が残存する症例が依然として多く存在しており、病態解明の追求および新規治療ターゲットの同定が急務であった。本研究でNMOSDの病態における自然免疫系を起点とした炎症促進機序を証明したことは、新たな治療法の開発に寄与する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We investigated the role of mitochondrial DNA (mtDNA) in NMO spectrum disorder (NMOSD) pathology. Extracellular mtDNA is specifically elevated in the cerebrospinal fluid of patients with acute phase NMOSD, and mtDNA released by AQP4-Ab-mediated cellular damage elicits the innate immune cascades via TLR9 and NLRP3 inflammasomes pathways. Inflammasomes contribute to microglial activation and lesion formation in the focal NMOSD mice model. Our study highlights mtDNA-mediated innate immune pathways as a novel therapeutic target for future treatment of NMOSD patients.

研究分野：神経免疫学

キーワード：ミトコンドリアDNA NMOSD 自然免疫 インフラマソーム

1. 研究開始当初の背景

NMO 関連疾患 (NMOSD) は視神経炎と脊髄炎を特徴とする中枢神経炎症性疾患である。NMOSD は平均発症年齢が 30 歳代後半という若年であること、さらに他の中枢神経炎症性疾患と比較して病状が重症化する傾向があり失明・四肢麻痺など重篤な後遺症を残すことから大きな社会的損失をきたしている。

NMOSD 病態の中心的役割を果たすのは、中枢神経系内のアストロサイトに発現する水チャンネル (アクアポリン 4: AQP4) に対する血清自己抗体 (抗 AQP4 抗体) であることはすでに確立されている。しかし、ステロイドパルス療法や血液浄化療法で十分に改善しない例も多く、さらなる病態解明の追求および新規治療ターゲットの同定が急務であった。

2. 研究の目的

我々は近年、様々な疾患で病態悪化因子として報告されているミトコンドリア DNA に注目し、中枢神経自然免疫系を介した NMOSD への病態関与を明らかとすること、そして自然免疫経路をターゲットとした新規治療薬開発につなげることを目標とした。

3. 研究の方法

(1) 髄液ミトコンドリア DNA の測定

患者髄液中の DNA 分画を抽出後、定量的 PCR を用い各神経疾患における髄液ミトコンドリア DNA 量を測定した。さらに NMOSD においては急性期治療による髄液ミトコンドリア DNA 量の変化も解析した。

(2) ミトコンドリア DNA による炎症促進機序の解明

NMOSD において細胞外ミトコンドリア DNA が増加する機序、そしてミトコンドリア DNA による炎症促進機序を培養細胞や動物モデル (マウスの脳・脊髄局所病変モデル) を用い解析した。

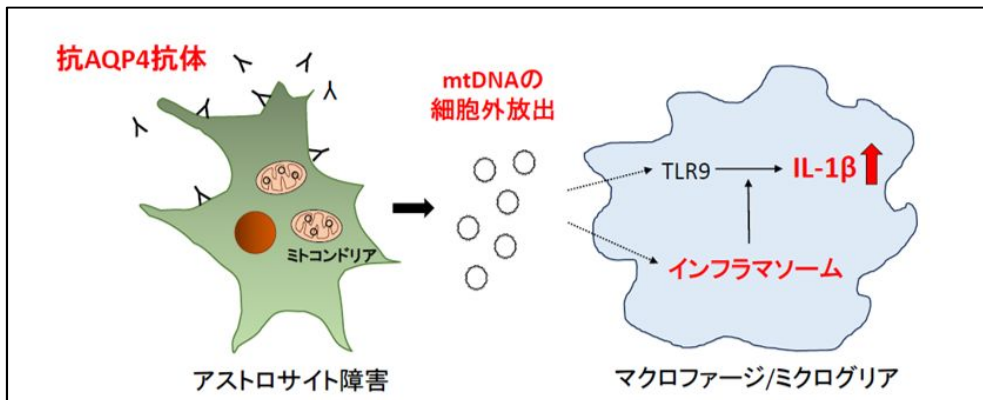
4. 研究成果

(1) 髄液ミトコンドリア DNA は NMOSD 急性期では多発性硬化症や他神経疾患と比較して有意に上昇していること、さらに急性期治療の介入により低下することを見出した (J Neuroinflammation. 2018;15:125)。

(2) 抗 AQP4 抗体の刺激によりアストロサイトからミトコンドリア DNA が特異的に細胞外に放出されることを明らかとした。そしてミトコンドリア DNA 刺激によりミクログリアから炎症性サイトカイン IL-1 産生が誘導されること、その IL-1 産生には Toll-like receptor 9 (TLR9) と NLRP3 インフラマソームが関与していることを証明した。

また、NMOSD 患者において、髄液中のミトコンドリア DNA 濃度はモノサイトの動員数と相関していること、さらにミトコンドリア DNA は自然免疫を介してモノサイトを活性化させることも証明した (Sci Rep. 2020;10:13274)。

動物モデルを用いた検討では、マウスの脳あるいは脊髄に抗 AQP4 抗体を注入する NMOSD 局所モデルにおいて、インフラマソームが活性化しない個体では、コントロールと比べ病変が縮小化する傾向がみられた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yamashita Kazuya, Kinoshita Makoto, Miyamoto Katsuichi, Namba Akiko, Shimizu Mikito, Koda Toru, Sugimoto Tomoyuki, Mori Yuki, Yoshioka Yoshichika, Nakatsuji Yuji, Kumanogoh Atsushi, Kusunoki Susumu, Mochizuki Hideki, Okuno Tatsusada	4. 巻 15
2. 論文標題 Cerebrospinal fluid mitochondrial DNA in neuromyelitis optica spectrum disorder	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Neuroinflammation	6. 最初と最後の頁 125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12974-018-1162-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shimizu Mikito, Okuno Tatsusada, Kinoshita Makoto, Sumi Hisae, Fujimura Harutoshi, Yamashita Kazuya, Sugimoto Tomoyuki, Sakakibara Shuhei, Sakakibara Kaori, Koda Toru, Tada Satoru, Ishikura Teruyuki, Murata Hisashi, Beppu Shohei, Shiraishi Naoyuki, Sugiyama Yasuko, Nakatsuji Yuji, Kumanogoh Atsushi, Mochizuki Hideki	4. 巻 10
2. 論文標題 Mitochondrial DNA enhance innate immune responses in neuromyelitis optica by monocyte recruitment and activation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-70203-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kazuya Yamashita
2. 発表標題 Pathogenic role of mitochondrial DNA through NLRP3 inflammasome in vitro and in vivo mouse model of neuromyelitis optica spectrum disorder
3. 学会等名 ECTRIMS 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山下和哉, 木下允, 宮本勝一, 南波明子, 清水幹人, 甲田亨, 杉本知之, 中辻裕司, 熊ノ郷淳, 楠進, 奥野龍禎, 望月秀樹
2. 発表標題 Cerebrospinal fluid mitochondrial DNA elicits innate immune response in NMO spectrum disorder
3. 学会等名 第59回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山下和哉、木下 允、宮本 勝一、南波 明子、清水 幹人、甲田 亨、杉本 知之、中辻 裕司、熊ノ郷 淳、楠 進、望月 秀樹、奥野 龍禎
2. 発表標題 NMOSDにおける髄液ミトコンドリアDNAの自然免疫 活性化機序に関する研究
3. 学会等名 第30回日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yamashita K, Kinoshita M, Miyamoto K, Namba A, Shimizu M, Koda T, Nakatsuji Y, Kumanogoh A, Kusunoki S, Mochizuki H, Okuno T
2. 発表標題 Cerebrospinal fluid mitochondrial DNA elicits innate immune response in NMOSD
3. 学会等名 ECTRIMS (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	清水 幹人 (Shimizu Mikito)		
研究協力者	木下 允 (Kinoshita Makoto)		
研究協力者	奥野 龍禎 (Okuno Tatsusada)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------