

令和元年5月14日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09691

研究課題名(和文) 中枢神経炎症性脱髄疾患におけるペルオキシレドキシンを標的とした革新的治療法開発

研究課題名(英文) Development of novel treatment against peroxiredoxin in central nervous system demyelinating diseases

研究代表者

鵜沢 顕之 (Uzawa, Akiyuki)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10533317

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：中枢神経炎症性脱髄疾患(視神経脊髄炎、多発性硬化症)の急性期の血清及び髄液中のペルオキシレドキシシン1、5、6の濃度を測定した。またMSのモデル動物であるEAEマウスの脊髄標本を用いてペルオキシレドキシシン1-6の免疫染色を行った。結果、血清ペルオキシレドキシシン5及び6は中枢神経炎症性脱髄疾患で疾患対照より有意に上昇していたが、髄液中のペルオキシレドキシシンに有意な差は認めなかった。またEAEマウスの脊髄病変部に集簇しているCD45陽性細胞にペルオキシレドキシシン5が多く発現していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果から炎症誘導因子の一つであるペルオキシレドキシシンは中枢神経炎症性脱髄疾患において有意に変化しており、病変部に集積しているCD45陽性細胞が、ペルオキシレドキシシンを介して炎症反応を惹起し病態に強く関与している可能性が高いと考えられた。今後ペルオキシレドキシシンを治療ターゲットとした新規治療開発へと応用できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The concentrations of peroxiredoxins 1, 5 and 6 in the serum and cerebrospinal fluid in the acute phase of central nervous inflammatory demyelinating diseases (neuromyelitis optica and multiple sclerosis) were measured. Moreover, the immunostaining of peroxiredoxin 1-6 was performed using the spinal cord of EAE mouse (an animal model of MS). As a result, serum peroxiredoxins 5 and 6 were significantly elevated in central nervous inflammatory demyelinating disease than disease control, but no significant changes of peroxiredoxins was observed in cerebrospinal fluid. Moreover, peroxiredoxin 5 was abundantly expressed in CD45 positive cells, which were accumulated in the spinal cord lesion of EAE mice.

研究分野：神経免疫

キーワード：多発性硬化症 視神経脊髄炎 動物モデル ペルオキシレドキシシン 炎症 サイトカイン 新規治療 C
D45

1. 研究開始当初の背景

生体内の組織傷害に伴い細胞外へと放出される自己組織に由来する物質は損傷関連分子パターン(damage associated molecular pattern: DAMP)と呼ばれ、炎症誘導因子として自己免疫疾患の分野で注目されている。近年、中枢神経内でマクロファージなどの免疫細胞を刺激し、炎症性サイトカインの放出を促すペルオキシレドキシニンが、炎症の遷延化を来す新規 DAMP として注目されている。ペルオキシレドキシニンは IL-17 を含む炎症性サイトカインの産生を誘導し、T 細胞を中心とした炎症のトリガーとなっており、中枢神経炎症性脱髄疾患である多発性硬化症(multiple sclerosis : MS)、視神経脊髄炎(neuromyelitis optica: NMO)の中枢神経内における炎症誘導のメカニズムを説明する物質と想定され、新規治療ターゲットとして有望と考え、本研究を計画した。

2. 研究の目的

本研究は中枢神経炎症性脱髄疾患である MS、NMO において、ペルオキシレドキシニンが病態にどのように関わっているかを明らかにすることを目的とした。

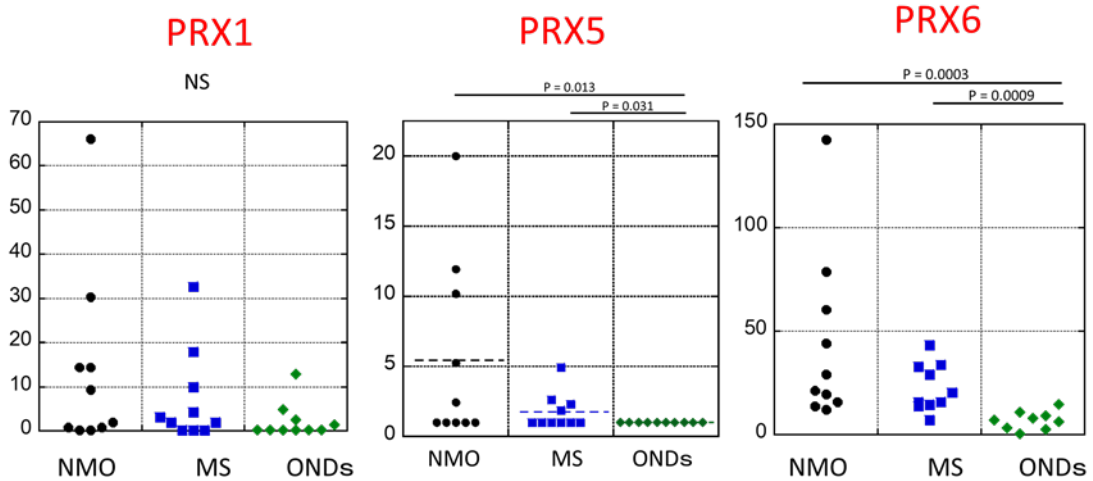
3. 研究の方法

疾患急性期かつ急性期治療前の血清 (NMO 10 例、MS 10 例、非炎症性神経疾患 10 例) 及び髄液 (NMO 16 例、MS 16 例、非炎症性神経疾患 15 例) を用いて、血清・髄液中ペルオキシレドキシニン 1、5、6 の各濃度を ELISA キットで測定した。また MS のモデル動物である experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) マウス急性期の脊髄標本を用いてペルオキシレドキシニン 1-6 の各サブセットで免疫染色を行った。

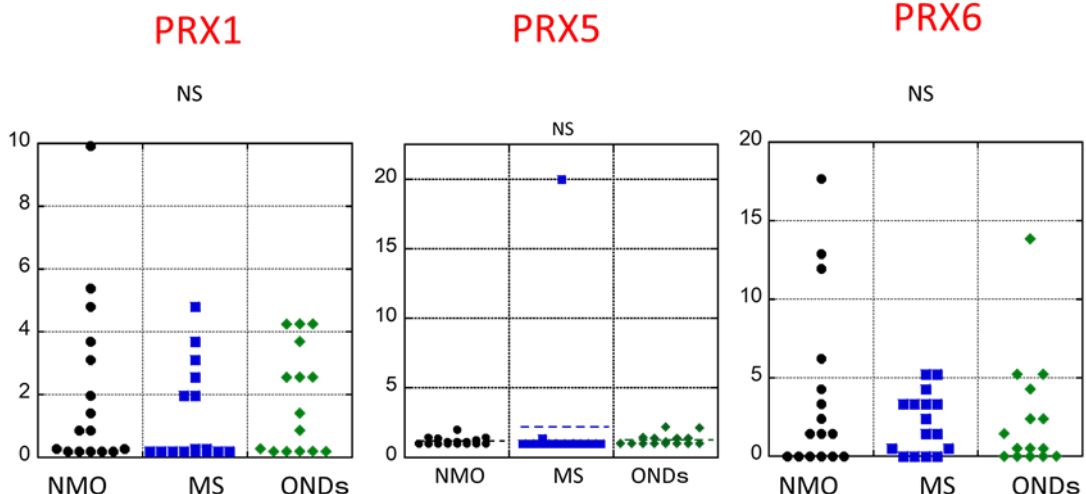
4. 研究成果

血清ペルオキシレドキシニン 5 及び 6 は中枢神経炎症性脱髄疾患 (NMO > MS) で非炎症性神経疾患より有意に上昇していたが、ペルオキシレドキシニン 1 は有意な差は認めなかった。一方髄液中のペルオキシレドキシニン 1、5、6 は NMO、MS、非炎症性神経疾患で差は認めなかった。

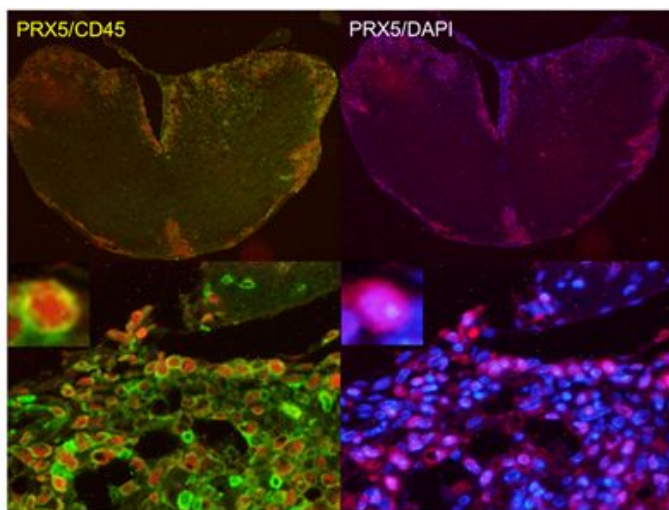
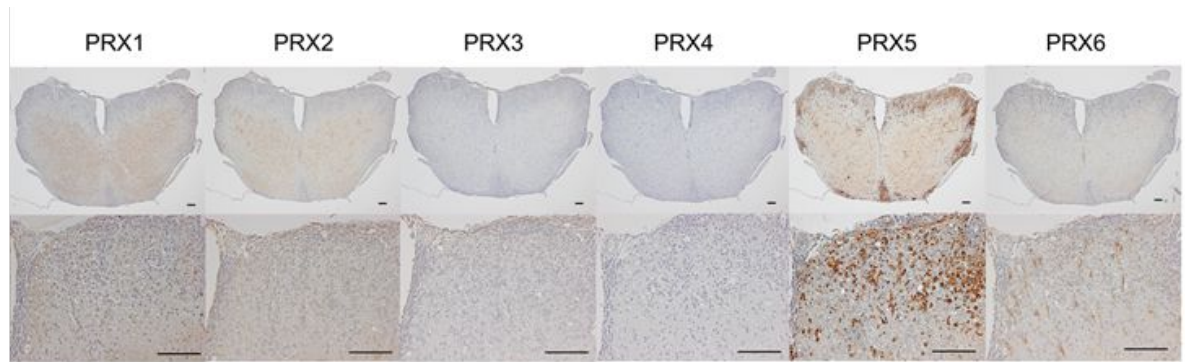
血清



髄液



また、EAE の脊髄標本を用いた検討ではペルオキシレドキシンの各サブセットの中でペルオキシレドキシシ 5 のみが浸潤している炎症細胞の核内及び細胞質内に多く見られた。ペルオキシレドキシシ 5 は CD3 陽性細胞には見られず、CD45 陽性細胞に認められた。以上から EAE では CD45 陽性細胞が病変部に集積し、ペルオキシレドキシシ 5 を介して炎症反応を誘発している可能性が示唆された。



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 19 件)

1. Uzawa A, Mori M, Masuda H, Ohtani R, Uchida T, Kuwabara S. Recombinant thrombomodulin ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis by suppressing HMGB1 and inflammatory cytokines. *Clin Exp Immunol.* 2018;193:47-54.
2. Uzawa A, Mori M, Kuwabara S. MOG-antibody disorders and AQP4-antibody NMO spectrum disorders share a common immunopathogenesis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2018;89:900.
3. Uzawa A, Furuya T, Ohtori S, Kuwabara S. Spinal myoclonus selectively affecting the platysma after cervical laminectomy. *Neurology.* 2018;91:45-46
4. Kanai T, Uzawa A, Kawaguchi N, Oda F, Ozawa Y, et al. Predictive score for oral corticosteroid-induced initial worsening of seropositive generalized myasthenia gravis. *J Neurol Sci.* 2018 in press.
5. Imai T, Utsugisawa K, Murai H, Tsuda E, Nagane Y, Suzuki Y, Minami N, Uzawa A, et al. Oral corticosteroid dosing regimen and long-term prognosis in generalised myasthenia gravis: a multicentre cross-sectional study in Japan. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2018;89:513-517.
6. Kawaguchi N, Nakatani K, Uzawa A, et al. Polymorphisms of CYP3A5 Affect Serum Levels and Maintenance Doses of Tacrolimus in Myasthenia Gravis Patients. *J Pharmacovigil.* 2018, 6:258
7. Ohtani R, Mori M, Uchida T, Uzawa A, Masuda H, Liu J, Kuwabara S. Risk factors for fingolimod-induced lymphopenia in multiple sclerosis. *Mult Scler J Exp Transl Clin.* 2018;4:2055217318759692.
8. Aoyama S, Mori M, Uzawa A, et al. Serum anti-JCV antibody indexes in Japanese patients with multiple sclerosis: elevations along with fingolimod treatment duration. *J Neurol.* 2018;265:1145-1150
9. Aoyama S, Mori M, Uzawa A, et al. Serum anti-JCV antibody seroprevalence and index among Japanese patients with neuromyelitis optica spectrum disorders. *Mult Scler* 2018 in press
10. Uzawa A, Mori M, et al. Interleukin-6 analysis of 572 consecutive CSF samples from neurological disorders: A special focus on neuromyelitis optica. *Clinica Chimica Acta.* 2017;469:144-149.
11. Kanai T, Uzawa A, Kawaguchi N, Himuro K, Oda F, Ozawa Y, Kuwabara S. Adequate tacrolimus

concentration for myasthenia gravis treatment. Eur J Neurol. 2017;24:270-275.

12. Kanai T, Uzawa A, Sato Y, Suzuki S, Kawaguchi N, Himuro K, Oda F, Ozawa Y, Nakahara J, et al. A clinical predictive score for postoperative myasthenic crisis. Ann Neurol. 2017;82:841-849.

13. Homma M, Uzawa A, Tanaka H, Kawaguchi N, Kanai T, et al. A Novel Fusion Protein, AChR-Fc, Ameliorates Myasthenia Gravis by Neutralizing Antiacetylcholine Receptor Antibodies and Suppressing Acetylcholine Receptor-Reactive B Cells. Neurotherapeutics 2017;14:191-198

14. Kuwabara S, Uzawa A, Mori M. Neuroimmunology of a natural disaster. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2017;88:283

15. Uzawa A, Kanai T, Kawaguchi N, Oda F, Himuro K, Kuwabara S. Changes in inflammatory cytokine networks in myasthenia gravis. Sci Rep. 2016;6:25886

16. Uzawa A, Mori M, Uchida T, Masuda H, Ohtani R, Kuwabara S. Seronegative neuromyelitis optica spectrum disorder patients diagnosed using new diagnostic criteria. Mult Scler. 2016;22:1371-5.

17. Uzawa A, Mori M, Uchida T, Masuda H, Ohtani R, Kuwabara S. Increased levels of CSF CD59 in neuromyelitis optica and multiple sclerosis. Clinica Chimica Acta 2016;453:131-133

18. Uzawa A, Kanai T, Kawaguchi N, Oda F, et al. Relationship between damage-associated molecular patterns and cytokines in myasthenia gravis. Clin Exp Neuroimmunol. 2016;7:357-360

19. Kanai T, Uzawa A, Kawaguchi N, et al. HLA-DRB1*14 and DQB1*05 are associated with Japanese anti-MuSK antibody-positive myasthenia gravis patients. J Neurol Sci. 2016;363:116-118.

〔学会発表〕(計 4件)

1. 鵜沢顕之、森雅裕、大谷龍平、内田智彦、栢田大生、桑原聡。中枢神経炎症性脱髄疾患病態におけるペルオキシレドキシンの関与、2019年 第60回日本神経学会総会

2. 鵜沢顕之、本間雅志、田中仁、川口直樹、金井哲也、氷室圭一、織田史子、小澤由希子、安田真人、桑原聡。Fc融合蛋白を用いた重症筋無力症の革新的治療、2018年 第59回日本神経学会総会

3. Akiyuki Uzawa, Masahiro Mori, Hiroki Masuda, Ryohei Ohtani, Tomohiko Uchida, Setsu Sawai, Satoshi Kuwabara. CSF IL-6 STUDY IN NEUROLOGICAL DISORDERS WITH A SPECIAL FOCUS ON NEUROMYELITIS OPTICA. World congress of neurology 2017

4. 鵜沢 顕之、金井 哲也、織田史子、川口 直樹、氷室 圭一、桑原 聡。重症筋無力症と炎症関連サイトカイン、2016年 第57回日本神経学会総会

〔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

<http://www.m.chiba-u.ac.jp/dept/neurol/>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 桑原聡

ローマ字氏名：Kuwabara Satoshi

所属研究機関名：千葉大学

部局名：大学院医学研究院

職名：教授

研究者番号（8桁）：70282481

研究分担者氏名：森雅裕

ローマ字氏名：Mori Masahiro

所属研究機関名：千葉大学

部局名：大学院医学研究院

職名：准教授

研究者番号（8桁）：70345023

(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。