

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09556

研究課題名(和文) 中枢神経ループスにおける脳血液関門障害の機序の解析

研究課題名(英文) Analysis of the mechanism of blood-brain barrier damages in NPSLE

研究代表者

廣畑 俊成 (Hirohata, Shunsei)

北里大学・医学部・客員教授

研究者番号：90189895

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)：Acute confusional state(ACS)は、中枢神経ループス(NPSLE)の中でループス精神病の中で最も重篤な病態である。今回の研究においては、まず、脳MRIの異常、血清抗Sm抗体、血清IL-6が予後規定因子となることが明らかになった。一方、NPSLEにおいては補体の古典的経路や副経路の活性化とは異なる機序で血清C5aの増加をきたしていること、さらに、血清中の自己抗体の中で、抗Sm抗体がNPSLEにおける脳血液関門の障害に最も貢献していることが明らかになった。また、抗Sm抗体は抗RNP抗体の存在下に単球の炎症性サイトカインの発現を上昇させることを証明した。

研究成果の概要(英文)：Acute confusional state (ACS) is the most recalcitrant manifestation in diffuse neuropsychiatric systemic lupus erythematosus (NPSLE). We have disclosed that the presence of brain MRI abnormalities, the presence of serum anti-Sm antibodies and serum IL-6 levels significantly increased the risk for mortality in multivariate analysis in a retrospective study of 36 patients with ACS.

The damage of blood brain barrier (BBB) has been found to be important in the development of ACS. We have disclosed that serum C5a was elevated in NPSLE, contributing to BBB damages. We have also revealed that serum IL-6 might play a most important role in BBB breakdown in NPSLE. Moreover, we have demonstrated that serum anti-Sm antibodies play a most important role in the disruption of BBB. Finally, it was demonstrated that anti-Sm synergistically enhanced the production of IL-6 by human monocytes in the presence of anti-RNP, suggesting that anti-Sm might damage BBB through such an inflammatory process.

研究分野：内科学、リウマチ学

キーワード：NPSLE acute confusional state MRI IL-6 anti-Sm C5a

1. 研究開始当初の背景

(1)全身性エリテマトーデス(SLE)に伴う中枢神経病変(中枢神経ループス、NPSLE)は、focalタイプとdiffuseタイプ(ループス精神病)に分類され、いずれもSLEの難治性病態でありながらその病因・病態はおろか診断法・活動性の評価法も不明で治療を著しく困難にしている。

(2)一方、SLEでは自己抗体の発現が疾患のhall markとなっている。2001年にDiamondらのグループは、抗神経細胞グルタミン酸レセプター抗体をマウスの脳に注射したところ神経細胞のアポトーシスが誘発されたことを報告している。さらに、彼らは、こうした抗グルタミン酸レセプター抗体は血清中に存在するだけでは不十分で、髄液内に存在することが中枢神経症状の発現に必須であることを裏付けている。われわれは、この抗グルタミン酸レセプター抗体がループス精神病の髄液中で上昇していることを明らかにした(1)。さらに、われわれは、ループス精神病の中の重症病型である脳器質症候群(主としてacute confusional state [ACS])の血清中および髄液中で抗Sm抗体が有意に上昇していることをみだした。

(3)一般的に、中枢神経内で抗体が上昇する機序としては、中枢神経内での産生と脳血液関門の破壊の2つが考えられるが、NPSLEでは前者よりも後者の役割が重要である事が最近明らかにされた(1)。NPSLEでは脳皮質の毛細血管レベルでの血管障害の存在が数多く指摘されているが、脳血液関門の異常についての詳細は全く不明である。

2. 研究の目的

(1)本研究においては、NPSLEの種々の病変(focalタイプとループス精神病)における脳血液関門の障害の有無とその程度について検討することを目的とした。特にin vivoのパラメーターと脳血液関門の障害あるい

は患者の予後との関係について明らかにすることに主眼をおいた。

(2)さらに、(1)の解析結果をふまえて、NPSLEにおいて脳血液関門の障害の生じるメカニズムについて、in vitroのシステムにおいて解析を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1)本研究においては、脳のMRI画像の異常が脳血液関門の障害あるいは患者の予後と関係しているかについて検討する。さらに、それ以外のin vivoのマーカで脳血液関門の障害を反映しているものを探索する。この際、脳血液関門の指標としては、髄液と血清のアルブミン比で算定されるQ albuminを用いる。In vivoのマーカとしては血清中のC5aや各種自己抗体について検討を行う。

(2)(1)で抽出されたマーカについて、in vitroの実験系を用いて脳血液関門の障害をきたす機序について解析を行う。具体的には、**末梢血単球**や血管内皮細胞のサイトカイン産生能に及ぼす影響を検討する。

4. 研究成果

(1)1992年から2015年の間に経験したNPSLEの患者の中でACSと診断された36例を対象とした。カルテとMRI写真を検討し、種々の因子が患者の生命予後に及ぼす影響を解析した。その結果、MRI異常、血清抗Sm抗体の陽性、血清IL-6の上昇が有意に患者の死亡のリスクを上昇させることが明らかになった(表)。以上の結果より、ループス精神病の重症病型であるACSに於いては、脳MRIの異常、血清抗Sm抗体、血清IL-6が予後規定因子となることが明らかになった。ループス精神病の中でACSは最重症病型であり、その病態には脳血液関門の障害が関与することが明らかにされている。従って、ACSで見られた血清抗Sm抗体、血清IL-6、MRIの異常は脳血液関門の障害と密接に関連してい

る可能性が考えられる。

	Univariate		Multivariate	
	HR (95% CI) [†]	p	HR (95% CI) [†]	p
Age	2.767 (0.205-35.957)	0.4328		
Male gender	1.812e ⁷ (0.722-0.722)	0.0238	1.303e ⁸ (2.11e ⁻¹³⁶ -0.851)	0.0367
Abnormalities on MRI scan	1.350e ⁻⁷ (4.479-4.479)	0.0004	1.904e ⁻⁹ (8.172-9.669e ⁻²²)	0.0013
Serum anti-Sm	2.486 (0.573-16.963)	0.2349	6.565e ⁻¹⁶ (7.027-4.787e ⁻⁵⁵)	0.0167
Serum IL-6	1.001 (0.9998-1.002)	0.0742	6.01e ⁻¹⁷ (30.039-9.42e ⁻⁵⁶)	0.0070
CSF IL-6	0.193 (8.44e ⁻¹⁵ -9.409)	0.6127	1.732e ⁻⁹ (3.54e ⁻⁴² -1.32e ⁻¹⁶)	0.1749

表 各因子が ACS の死亡に与える影響

(2) 近年 C5a は脳血液関門の障害をきたす事が報告された。そこで、われわれは NPSLE における C5a について検討した。その結果、NPSLE においては髄液中のみならず血清中でも C5a の上昇が見られること、さらにこの上昇がループス腎炎とは異なる機序によって生じていることを証明した(図)。すなわち、ループス腎炎においては血清中の C3, C4 及び CH50 の低下が見られるのに対して、NPSLE ではこれが見られない。したがって、NPSLE においては補体の古典的経路や副経路の活性化とは異なる機序で血清 C5a の増加をきたしていることが明らかになった。その一つの可能性として、種々の自己抗体が関与する可能性が考えられる。

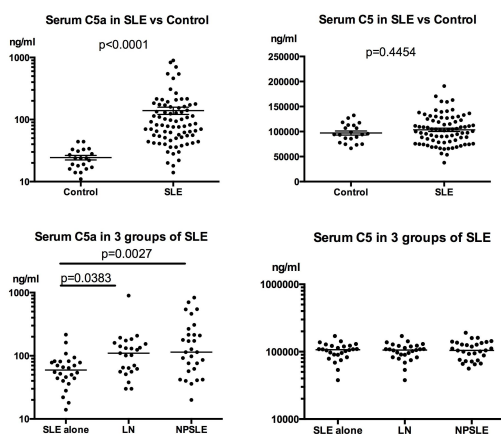


図 SLE 血清中の C5a・C5, LN:ループス腎炎

(3) 次に、NPSLE における脳血液関門の異常がいかにして生じるかを明らかにするため

に、血清中の種々の自己抗体と脳血液関門の機能の関係を検討した。自己抗体としては、抗 Sm 抗体、抗 RNP 抗体、抗 NMDAR-NR2 抗体、抗リボソーム P 抗体、抗カルジオリピン抗体について、脳血液関門の指標である Q albumin との相関について検討した。NPSLE 患者 101 名についての検討の結果、単回帰分析においても重回帰分析においても、血清抗 Sm 抗体のみが Q albumin と相関した。抗 Sm 抗体は脳血液関門の障害の著明な ACS で上昇していることが多く、本抗体が NPSLE における脳血液関門の障害に最も貢献していることが明らかになった。

(4) 次に抗 Sm 抗体がいかにして脳血液関門を障害するかを明らかにするために、抗 Sm 抗体と抗 RNP 抗体がヒト単球の炎症性サイトカインの産生に及ぼす影響について検討した。マウスのモノクローナル抗 RNP 抗体は単独で単球の IL-6 産生を増強したが、抗 Sm 抗体単独では増強効果をはっきりしなかった。しかしながら、抗 RNP 抗体の存在下においては、抗 Sm 抗体は著明に単球の IL-6 産生を増強した。抗 Sm 抗体と抗 RNP 抗体の増強効果は相乗的效果を示した。さらに抗 Sm 抗体と抗 RNP 抗体は単球の IL-6 の mRNA の発現を相乗的に増強した。これらの抗 Sm 抗体と抗 RNP 抗体の相乗的増強効果は、モノクローナル抗体でなく、患者の血清から精製した抗体を用いても同様の効果が見られた。また、TNF についても同様の増強効果が認められた。これらの結果から、抗 Sm 抗体は抗 RNP 抗体の存在下に単球の炎症性サイトカインの発現を上昇させることにより、脳血液関門の障害をきたすものと考えられた。

<引用文献> -

廣畑俊成、全身性エリテマトーデスの中枢神経病変、医学のあゆみ、255 巻、2015、549-556、

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 8 件)

Ogawa E, Nagai T, Sakuma Y, Arinuma Y, Hirohata S: Association of antibodies to the NR1 subunit of N-methyl-D-aspartate receptors with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Mod Rheumatol*, 査読有, 26: 377-383, 2016
doi: 10.3109/14397595.2015.1083163.

Yoshio T, Okamoto H, Kurasawa K, Dei Y, Hirohata S, Minota S: IL-6, IL-8, IP-10, MCP-1 and G-CSF are significantly increased in cerebrospinal fluid but not in sera of patients with central neuropsychiatric lupus erythematosus. *Lupus*, 査読有, 25: 997-1003, 2016
doi: 10.1177/0961203316629556.

Tjensvoll AB, Lauvsnes MB, Hirohata S, Beyer MK, Greve OJ, Kvivik I, Kvaløy JT, Harboe E, Gøransson LG, Omdal R. Migraine in patients with systemic lupus erythematosus is associated with reduced cerebral grey matter volume but not with measures of glial activation or anti-NR2 or anti-P antibodies. *Eur J Neurol*, 査読有, 23: 780-786, 2016
doi: 10.1111/ene.12946.

Abe G, Kikuchi H, Arinuma Y, Hirohata S: Brain MRI in patients with acute confusional state of diffuse psychiatric/neuropsychological syndromes in systemic lupus erythematosus. *Mod Rheumatol*, 査読有, 27: 278-283, 2017
doi: 10.1080/14397595.2016.1193966.

Sakuma Y, Nagai T, Yoshio T, Hirohata S: Differential activation mechanisms of serum C5a in lupus nephritis and neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Mod Rheumatol*, 査読有, 27:292-297, 2017
doi: 10.1080/14397595.2016.1193965.

Asano T, Ito H, Kariya Y, Hoshi K, Yoshihara A, Ugawa Y, Sekine H, Hirohata S, Yamaguchi Y, Sato S, Kobayashi H, Migita K, Ohira H, Hashimoto Y, Watanabe H: Evaluation of blood-brain barrier function by quotient alpha2 macroglobulin and its relationship with interleukin-6 and complement component 3 levels in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *PLoS One*, 査読有, 16;12(10):e0186414.2017
doi: 10.1371/journal.pone.0186414.

Mader S, Jeganathan V, Arinuma Y, Fujieda Y, Dujmovic I, Drulovic J, Shimizu Y, Sakuma Y, Stern JNH, Aranow C, Mackay M, Yasuda S, Atsumi T, Hirohata S, Diamond B: Understanding the antibody repertoire in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus and neuromyelitis optica spectrum disorders: do they share common targets? *Arthritis Rheumatol*, 査読有, 70: 277-286, 2018.
doi: 10.1002/art.40356.

Hirohata S, Sakuma Y, Matsueda Y, Arinuma Y, Yanagida T: Role of serum autoantibodies in blood brain barrier damages in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*, 査読有, in press, 2018

〔学会発表〕(計 11 件)

Ogawa E, Nagai T, Sakuma Y, Arinuma Y, Hirohata S: Analysis of cerebrospinal fluid anti-NR1 glutamate receptor antibodies in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *LUPUS2015*, 2015
Hirohata S, Arinuma Y, Yanagida T, Yoshio T: Blood-brain barrier damages in the pathogenesis of acute confusional state in systemic lupus erythematosus. *LUPUS2015*, 2015

Abe G, Arinuma Y, Sakuma Y, Kikuchi H, Hirohata S: Brain MRI in patients with acute confusional state of diffuse psychiatric/neuropsychological syndromes in systemic lupus erythematosus. EULAR 2016,2016

Sakuma Y, Nagai T, Yoshio T, Hirohata S: Serum C5a is increased in lupus nephritis as well as in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus through different mechanisms. EULAR 2016, 2016

Hirohata S, Sakuma Y, Yanagida T, Yoshio T: Role of serum autoantibodies in blood-brain barrier damages in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. 80th Annual Scientific Meeting, American College of Rheumatology, 2016

Sakuma Y, Nagai T, Yoshio T, Hirohata S: Serum C5a is increased in lupus nephritis and in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus through different mechanisms. 80th Annual Scientific Meeting, American College of Rheumatology, 2016

Abe G, Arinuma Y, Kikuchi H, Hirohata S: Analysis of the influences of various factors on the prognosis of acute confusional state of diffuse psychiatric/neuropsychological syndromes in systemic lupus erythematosus. 80th Annual Scientific Meeting, American College of Rheumatology, 2016

Hirohata S: Role of autoantibodies in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. The 13th International Workshop on Autoantibodies and Autoimmunity, 2016

Hirohata S, Matsueda Y, Yanagida T, Yoshio T: Role of serum interleukin-6 in blood brain barrier damages in

neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. EULAR 2017,2017

安部学朗、有沼良幸、長谷川靖浩、近藤惇一、田中知樹、荘信博、工藤雄大、小川英佑、永井立夫、和田 達彦、田中住明、廣畑俊成：全身性エリテマトーデスの急性昏迷状態と脳MRI所見の検討。第61回日本リウマチ学会総会・学術集会（福岡）,2017

廣畑俊成, 松枝佑、有沼良幸：シンポジウム6 膠原病の難治性病態 6-2中枢神経ループス。第32回日本臨床リウマチ学会（神戸）,2017

〔図書〕(計 4 件)

Hirohata S: Nova Biomedical, Behcet's Disease- Progress in recent years and unmet needs for the future, 2015, 199.

廣畑俊成：文光堂、リウマチ膠原病診療ガイド：病態・病理から診療のTipsまで、 2016. 115

Hirohata S: Springer International Publishing AG, Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus: Pathogenesis, Clinical Aspects and Treatment, 2018, 189

廣畑俊成：文光堂、リウマチ・膠原病診療アトラス、2018, 192

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

廣畑 俊成 (HIROHATA, Shunsei)

北里大学・医学部・教授

研究者番号：9 0 1 8 9 8 9 5

(2)研究分担者

永井 立夫 (NAGAI, Tatsuo)

北里大学・医学部・講師

研究者番号：6 0 3 6 5 9 4 7

(3)研究分担者

小川 英佑 (OGAWA, Eisuke)

北里大学・医学部・助教

研究者番号：3 0 5 2 5 4 2 3