

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19450

研究課題名(和文) オレキシン・HLAクラスII分子複合体によるナルコレプシーの発症機構の解明

研究課題名(英文) Studies on narcolepsy by orexin/HLA class II complex

研究代表者

荒瀬 尚 (Arase, Hisashi)

大阪大学・微生物病研究所・教授

研究者番号：10261900

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：オレキシンもナルコレプシーに感受性のアリルであるHLA-DQ0602と複合体を形成することが明らかになった。一方、非感受性のアリルでは弱い複合体の形成しか認められなかった。そこで、ナルコレプシーの患者においてはHLA-DQ0602とオレキシン複合体に形成による細胞毒性やオレキシンレセプターとの相互作用がオレキシン産生細胞の生存に関与している可能性が考えられた。そこで、オレキシン・HLAクラスII複合体を産生させ、複合体の細胞毒性等の解析を実施した。しかし、培養細胞レベルでは、複合体に細胞毒性は見られなかった。今後は神経細胞等を用いて複合体の毒性を解析する必要があると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ナルコレプシーは神経変性疾患の一つであり、オレキシン産生細胞が欠落してしまう疾患であるが、原因は不明である。一方、ナルコレプシーはHLA-DQ0602の遺伝子アリルを持っている人のみが発症する。本研究により、初めてオレキシンがHLA-DQ0602の複合体を形成することが判明した。オレキシン・HLA-DQ0602複合体の詳細な機能までは明らかにできなかったが、今後、オレキシン・HLA-DQ0602複合体の機能の研究を進めることで、ナルコレプシーの発症機構や治療法の開発が可能になることが期待される。

研究成果の概要(英文)：orexin was also found to form a complex with HLA-DQ0602, an allele susceptible to narcolepsy. In contrast, only weak complex formation was observed with the non-sensitive allele. Therefore, it is possible that the cytotoxicity caused by the formation of orexin complexes with HLA-DQ0602 and the interaction with orexin receptors are involved in the survival of orexin-producing cells in patients with narcolepsy. Therefore, we produced orexin-HLA class II complexes and analyzed the cytotoxicity of the complexes. However, no cytotoxicity of the complex was observed in cultured cells. In the future, it will be necessary to analyze the toxicity of the complex using neurons and other cells.

研究分野：免疫学

キーワード：HLAクラスII オレキシン エクソゾーム

## 1. 研究開始当初の背景

ナルコレプシーは、オレキシンを産生するニューロンが消失し、オレキシンが枯渇することによって睡眠発作を主体とする神経疾患である。ナルコレプシーの患者のほぼ100%が、ヒトの主要組織適合抗原(MHC)クラスIIのHLA-DQB1\*0602(DQ0602)アリルを持っており、オッズ比が320にもなる。関節リウマチ等の自己免疫疾患でもHLAクラスIIが最も関連の高い遺伝子であるが、それでもオッズ比が4程度であることを考えると異常に高い。しかし、なぜナルコレプシーの発症にHLA-DQ0602が必要なのかは依然として不明である。

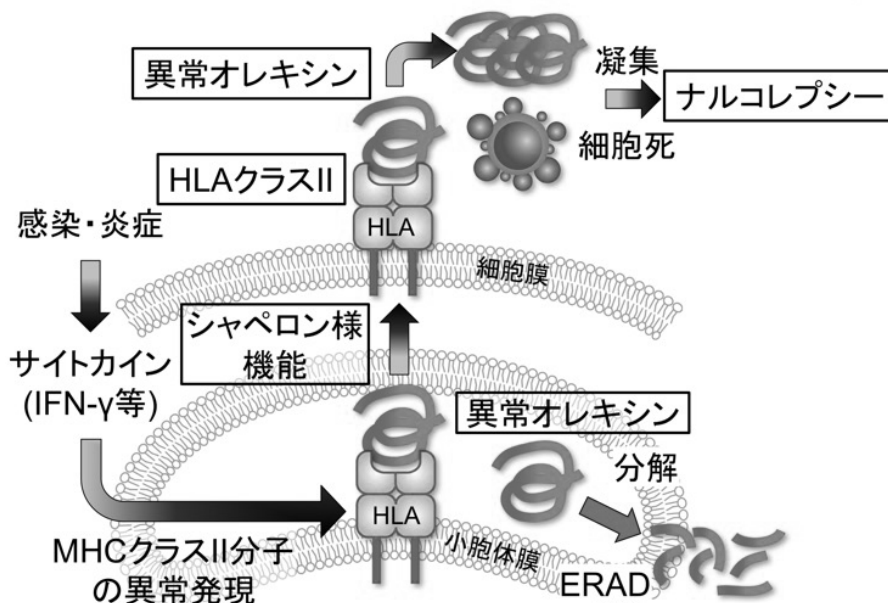
HLA(MHC)は、T細胞にペプチド抗原を提示することで、免疫応答の中心的な役割を担っている一方、HLA遺伝子の多型は、様々な免疫疾患の感受性に最も大きな影響を与えるが、疾患発症に関与するペプチド抗原は明らかでなく、その分子機構は不明である。ところが、我々は、HLAクラスII分子にはペプチドを提示するだけでなく、細胞内のミスフォールドしたタンパク質を細胞外へ輸送するというシャペロン様の機能を発見した(Jiang et al. *Int. Immunol.* 2013)。さらに、HLAクラスII分子によって細胞外へ輸送されたタンパク質は、様々な自己免疫疾患で産生される自己抗体の標的になっていること、さらに、HLAクラスII分子による疾患標的分子の輸送能はHLAクラスIIアリルによる疾患感受性と強い相関が認められることから、HLAクラスII分子のシャペロン様機能が自己免疫疾患に関与していると考えられる(Jin et al. *PNAS* 2014, Tanimura et al. *Blood* 2015; Hiwa et al. *Arthritis Rheumatol.* 2017)。

## 2. 研究の目的

本研究では、ナルコレプシーでは異所性に発現したHLA-DQ0602に結合した異常オレキシンが、オレキシン産生細胞の死滅に関与しているのではないかと新たな仮説を提唱し(右図)、その検証を実施する。つまり、オレキシン産生細胞内の異常オレキシンがHLA-DQ0602に結合した結果、細胞外へ輸送されてしまい、それが細胞毒性を示すことが疾患原因になっている可能性を検討する。また、自己免疫疾患では自己抗原・HLAクラスII複合体に対する自己抗体が認められる。ナルコレプシー患者血清や脳脊髄液中にオレキシン・HLA-DQ0602複合体に対する抗体が存在する可能性が考えられる。そこで、本研究では、オレキシンがHLA-DQ0602と複合体を形成する場合には、複合体に対する自己抗体の産生が見られるかを解析する。

上記のように、なぜ特定のHLAクラスIIアリルを持っている人しかナルコレプシーが発症しないのかは長年の謎である。関節リウマチ等典型的な自己免疫疾患等と比べHLAクラスIIの関与が強すぎるため、既知のHLA分子の機能では説明できず、新たなアプローチが必要であると考えられる。本研究では、我々が発見したHLAクラスII分子の新機能であるシャペロン様機能に着目して、ナルコレプシーの病態解明に取り組む。本研究により我々の仮説を証明できれば、新たな疾患概念として非常に重要であると考えられる。

### 本研究で検証するナルコレプシーの新たな発症機構



### 3. 研究の方法

今までの研究により、様々なミスフォールドタンパク質が HLA クラス II 分子と複合体を形成し、自己免疫疾患で産生される自己抗体の標的になっていることを解明してきた。従って、オレキシンも HLA-DQ0602 と複合体を形成し、ナルコレプシーの発症に関与している可能性を解析した。

- ▶ オレキシンと様々なアレルのHLAクラスII分子を発現させ、オレキシンがHLA-クラスII分子と複合体を形成するかを解析した。
- ▶ オレキシン・HLAクラスII複合体が認められた場合には、オレキシン・HLAクラスII分子複合体に細胞毒性があるかを解析した。
- ▶ オレキシン・HLA-DQ0602遺伝子導入細胞で、複合体に特異的な抗体を解析した。

### 4. 研究成果

本研究により、HLA-DQ0602 がオレキシンと非常によく結合し、オレキシン・HLA クラス II 分子複合体を形成することが判明した。一方、ナルコレプシーに感受性でないアレルでは、複合体の形成能が低かった。従って、神経組織に炎症等が起こり HLA-DQ0602 が発現することで、オレキシンと HLA-DQ0602 の複合体が形成する可能性が明らかになった。また、HLA クラス II 分子はエクソゾームとして細胞から放出されるが、オレキシンと HLA-DQ0602 の遺伝子導入細胞からオレキシンと HLA-DQ0602 複合体がエクソゾームとして放出されることが判明した。一方、オレキシンと HLA-DQ0602 の複合体に細胞毒性があるかの解析では、オレキシンと HLA-DQ0602 の複合体を形成する遺伝子導入細胞でアポトーシス等細胞死が誘導されることはなかった。また、オレキシン受容体発現細胞にも特に毒性は示さなかった。また、ナルコレプシーの患者の血清にオレキシン・HLA-DQ0602 複合体に対する自己抗体が存在するかを解析したが、複合体に対する自己抗体は認められなかった。以上より、HLA-DQ0602 はオレキシンと複合体を形成しやすいアレルであることが判明し、オレキシンと HLA-DQ0602 の複合体がナルコレプシーの病態に関与している可能性が考えられた。しかし、本研究によって、なぜナルコレプシーにおいてオレキシン産生細胞が消失すらかは明らかにはならなかった。今後は、培養細胞ではなく、神経細胞を用いることで、オレキシンと HLA-DQ0602 の複合体がオレキシン細胞の消失に関与しているかどうかを解明できる可能性が考えられた。オレキシン・HLA-DQ0602 複合体の病原性が明らかになれば、オレキシン・HLA-DQ0602 複合体を標的とした新たな治療薬の開発が期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 森 俊輔 荒瀬 尚	4. 巻 276
2. 論文標題 自己免疫疾患発症機構に迫るMHCクラス 分子の新たな機能—自己抗体の標的分子としてのミスフォールドタンパク質/HLAクラス 複合体	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 235 - 240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Matsumoto Y, Kishida K, Matsumoto M, Matsuoka S, Kohyama M, Suenaga T, Arase H	4. 巻 534
2. 論文標題 A TCR-like antibody against a proinsulin-containing fusion peptideameliorates type 1 diabetes in NOD mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 680-686
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.11.019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Chikuma S, Yamanaka S, Nakagawa S, Ueda MT, Hayabuchi H, Tokifuji Y, Kanayama M, Okamura T, Arase H, Yoshimura A.	4. 巻 206
2. 論文標題 TRIM28 Expression on Dendritic Cells Prevents Excessive T Cell Priming by Silencing Endogenous Retrovirus.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Immunol.	6. 最初と最後の頁 1528-1539
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4049/jimmunol.2001003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tanimura K, Saito S, Nakatsuka M, Nagamatsu T, Fujii T, Fukui A, Deguchi M, Sasagawa Y, Arase N, Arase H, Yamada H	4. 巻 72
2. 論文標題 The 2-Glycoprotein I/HLA-DR Complex As a Major Autoantibody Target in Obstetric Antiphospholipid Syndrome.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Arthritis Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 1882-1891
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/art.41410.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 中井 渉 荒瀬 尚	4. 巻 9巻1号
2. 論文標題 MHCクラス 分子による自己免疫疾患の発症機序	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 別冊B10 Clinica慢性炎症と疾患	6. 最初と最後の頁 20-24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takeshita M, Suzuki K, Kaneda Y, Yamane H, Ikeura K, Sato H, Kato S, Tsunoda K, Arase H, Takeuchi T.	4. 巻 79
2. 論文標題 Antigen-driven selection of antibodies against SSA, SSB and the centromere 'complex', including a novel antigen, MIS12 complex, in human salivary glands.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ann Rheum Dis.	6. 最初と最後の頁 150-158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/annrheumdis-2019-215862.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Maekawa A, Arase N, Tamai K, Nomura T, Kiyohara E, Wataya-Kaneda M, Arase H, Katayama I, Fujimoto M.	4. 巻 46
2. 論文標題 Case of epidermolytic ichthyosis with impairment of pulmonary function and exacerbated skin manifestations in a late middle-aged adult.10.1136/annrheumdis-2019-215862.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 e480-e482
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15077.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Arase N, Tanemura A, Jin H, Nishioka M, Aoyama Y, Oiso N, Matsunaga K, Suzuki T, Nishigori C, Kawamura T, Shimizu T, Ito A, Fukai K, Abe Y, Yang L, Tsuruta D, Takeoka K, Iwatani Y, Hidaka Y, Nishida M, Yamauchi-Takahara K, Arase H, Fujimoto M, Katayama I.	4. 巻 95
2. 論文標題 Autoantibodies detected in patients with vitiligo vulgaris but not in those with rhododendrol-induced leukoderma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Dermatol Sci.	6. 最初と最後の頁 80-83
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2019.06.009.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yorifuji H, Arase N, Kohyama M, Hirano T, Suenaga T, Kumanogoh A, Arase H.	4. 巻 511
2. 論文標題 Transport of cellular misfolded proteins to the cell surface by HLA-B27 free heavy chain.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 862-868
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.02.120.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shimizu Y, Kohyama M, Yorifuji H, Jin H, Arase N, Suenaga T, Arase H.	4. 巻 31
2. 論文標題 Fc RIIIA-mediated activation of NK cells by IgG heavy chain complexed with MHC class II molecules.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int Immunol.	6. 最初と最後の頁 303-314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxz010.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 荒瀬 尚	4. 巻 37
2. 論文標題 概論—HLAの新展開	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 2246-2252
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 末永忠広、荒瀬 尚	4. 巻 37
2. 論文標題 HLAクラス 分子によるネオ・セルフの生成と自己免疫疾患	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 2275-2281
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shishido T, Kohyama M, Nakai W, Matsumoto M, Miyata H, Suenaga T, Arase H.	4. 巻 509
2. 論文標題 Invariant chain p41 mediates production of soluble MHC class II molecules.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Res. Commun.	6. 最初と最後の頁 216-221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.12.106.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kayama H, Kohyama M, Okuzaki D, Motooka D, Barman S, Okumura R, Muneta M, Hoshino K, Sasaki I, Ise W, Matsuno H, Nishimura J, Kurosaki T, Nakamura S, Arase H, Kaisho T, Takeda K.	4. 巻 115
2. 論文標題 Heme ameliorates dextran sodium sulfate-induced colitis through providing intestinal macrophages with noninflammatory profiles.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proc Natl Acad Sci U S A.	6. 最初と最後の頁 8418-8423
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1808426115.	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33件 (うち招待講演 19件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 荒瀬 尚
2. 発表標題 HLAによる新たな膠原病発症機構
3. 学会等名 第50回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 荒瀬 尚
2. 発表標題 ネオセルフによる新たな自己免疫疾患発症機構
3. 学会等名 第64回日本リウマチ学会総会・学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hisashi Arase
2. 発表標題 Chaperon-like function of MHC class II molecules for misfolded proteins: A new mechanism for autoimmune diseases
3. 学会等名 2019 NIH-Japan-JSPS Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 荒瀬 尚
2. 発表標題 ネオセルフによる新たな自己免疫発症機構
3. 学会等名 阿蘇シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hisashi Arase
2. 発表標題 MHC class II-induced misfolded proteins are targets for autoimmune diseases
3. 学会等名 The 1st UCL-OU Joint Symposium on Immunology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 荒瀬 尚
2. 発表標題 MHCクラス II分子を標的とした免疫疾患の新たな診断法、治療法の開発
3. 学会等名 第3回 バイオ医薬EXPO (招待講演)
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 Hisashi Arase
2. 発表標題 Paired LILR family receptors in host pathogen interactions
3. 学会等名 ECI 2018(The 5th European Congress of Immunology) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

〔産業財産権〕

〔その他〕

免疫化学分野ホームページ <a href="http://immchem.biken.osaka-u.ac.jp">http://immchem.biken.osaka-u.ac.jp</a>
---

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

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
---------	---------