

令和 5 年 6 月 30 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07761

研究課題名(和文) LOTUSによる神経変性と炎症の制御に基づく多発性硬化症の画期的な治療法開発

研究課題名(英文) Development of innovative treatment for multiple sclerosis based on control of neurodegeneration and inflammation by applying function of LOTUS

研究代表者

高橋 慶太 (TAKAHASHI, Keita)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：20773740

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)：神経機能分子のLOTUSが神経系の細胞だけでなく免疫細胞であるリンパ球においても作用し炎症病態に関連すること、さらには抹消の免疫細胞だけでなく中枢神経系の免疫担当細胞であるミクログリアにも作用し、中枢神経炎症にも係わる可能性を突き止めた。さらに、本研究でNogo受容体の欠損マウスを用いてLOTUSとNogo受容体の炎症病態に係わるこれら炎症に関連する細胞へ機能の解析を行ったところ、驚いたことにLOTUSはNogo受容体に対してだけでなく、別の分子に対してその機能を発揮し、炎症病態に大きく関与することを突き止め、神経再生と炎症病態制御を同時に行う新たな治療ターゲットを見い出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在のMS治療は、末梢における免疫反応を制御して再発を予防することに重点が置かれており、一定の効果をあげている。しかし、再発回数は減少するにも係らず、軸索変性が進行し神経機能が荒廃していく患者が多く、また、現在の治療法では障害された神経機能の十分な回復は望めない。従って、軸索変性の分子機序を明らかにし、軸索再生の促進に基づく神経機能の改善を可能にする新たな治療法の開発が重要な課題となっている。本研究により多発性硬化症の両輪を成す軸索変性と神経炎症の病態の一端を明らかとし、新たな治療ターゲットを見出したことは、新たな治療法の開発につながる重要な成果といえる。

研究成果の概要(英文)：We elucidated that LOTUS, which expressed in central nervous system (CNS), acted not only on neuron but also on lymphocytes and was related to inflammatory pathogenesis in MS. In addition, we found that its novel molecule could act on microglia which played an important role in control of CNS inflammation. Further, we used Nogo receptor-deficient mice to analyze the functions of LOTUS and Nogo receptors on these inflammation-related cells. As a result, we found another molecule that LOTUS exerts its function on lymphocyte and is greatly involved in inflammatory pathogenesis. In total, we found successfully a new therapeutic target that simultaneously performed neuronal regeneration and control of CNS inflammation.

研究分野：神経免疫疾患、神経変性疾患、神経炎症

キーワード：LOTUS 多発性硬化症 Nogo Nogo受容体 神経炎症

1. 研究開始当初の背景

多発性硬化症 (multiple sclerosis, MS) は再発と寛解を繰り返しながら多彩な神経障害が進行する自己免疫性の神経難病であり、その克服が強く切望されている。しかし、神経機能の障害を抑止、または改善させる根本的な治療法はなく、現在の治療法は神経障害のさらなる悪化を防ぐための再発予防と再発時の病勢の抑制に留まっている。そこで、神経障害の病態解明とそれに基づく治療法開発が本症の克服にとって喫緊の課題となっている。

MSの病態機序として、これまでは自己免疫性の脱髄が主体と考えられていたが、近年の病理学的解析により、発症初期から軸索変性が生じていることが明らかとなっている。軸索変性は、その進行が神経障害の重症度と相関することから、MSにおける不可逆的な神経障害に重要な役割を果たし、病態形成のもう一つの主役と考えられるようになってきた。すなわち、現在では自己免疫と軸索変性の両者の抑制を実現することがMSの治療法開発における核心的な課題となっている。

近年、軸索伸長阻害分子として知られる Nogo が Nogo 受容体を介したシグナル伝達により MSにおける軸索変性を引き起こすことが明らかにされた (Petratos et al. Brain 2012)。我々は、Nogo 受容体の内在性のアンタゴニストである LOTUS を発見し、Nogo-Nogo 受容体シグナルを阻害することで軸索伸長・再生を促進させる機能を明らかにした (Sato et al. Science 2011)。そこで、我々は LOTUS と MS の病態との関連について検討を行い、MS 患者の脳脊髄液中の LOTUS 濃度が病勢の悪化に一致して有意に低下することを見出した。さらに、MS 患者の臨床経過に基づく解析と疾患モデルの実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) マウスを用いた実験により、疾患活動時に LOTUS の発現が低下することによって軸索変性が進行することを明らかにした (Takahashi et al. JAMA Neurol 2015)。MS の軸索変性に対して保護的に作用する内在性分子の発現変動はこれまでに報告がなく、本症の病態解明において極めて重要な発見である。一方、LOTUS の発現低下が中枢神経系の炎症によって惹起され、LOTUS が炎症と軸索変性をつなげるキー分子であることも明らかにした (Takahashi et al. J. Neuroinflammation 2018)。

従って、LOTUS を主軸として MS の病態形成の機序を明らかにすることは、神経系と免疫系の両面から MS の病勢進行を抑制する画期的な治療法の開発につながる可能性を秘めている。

2. 研究の目的

現在の MS 治療は、末梢における免疫反応を制御して再発を予防することに重点が置かれており、一定の効果をあげている。しかし、再発回数は減少するにも係らず、軸索変性が進行し神経機能が荒廃していく患者が多く、また、現在の治療法では障害された神経機能の十分な回復は望めない。従って、軸索変性の分子機序を明らかにし、軸索再生の促進に基づく神経機能の改善を可能にする新たな治療法の開発が喫緊の課題となっている。そこで本研究では、我々がこれまで積み重ねてきた中枢神経特異的に発現する分子が中枢神経内の炎症病態に係わり、神経変性と炎症をつなぐ要となり得るというコンセプト知見に基づき、LOTUS の神経細胞・免疫細胞およびミクログリアへの作用を明らかにするとともに、MS における軸索変性・炎症の分子病態解明を推進し、核心的な課題である新規治療法の開発へ展開することを目的とする。

3．研究の方法

野生型、LOTUS 過剰発現および欠損マウスを用いて EAE を誘導し、病勢評価および病理学的解析を行った。病巣における脊髄への細胞浸潤などの病理学的評価とともに、神経障害性因子/神経保護因子および炎症性因子/抗炎症性因子の発現差異についても解析を行った。さらに、野生型および Nogo 受容体欠損マウスへ誘導した EAE に対する評価を行った。

さらに、分子機序を明らかにするため、マウス初代培養神経細胞およびミクログリア、リンパ球を用いてミクログリア・リンパ球の係わる炎症反応・軸索変性と LOTUS による保護作用についての解析を行った。ミクログリア・リンパ球を Nogo または LOTUS で一定時間刺激後、リコンビナントを除去した培養液を神経細胞に添加して、神経細胞における LOTUS の発現変動、軸索伸長について評価した。また、あらたに見出した LOTUS の作用分子候補についてもリンパ球の初代培養を用いて相互作用について検討を行った。

4．研究成果

LOTUS 過剰発現マウスに EAE を誘導したところ、LOTUS による軸索伸長作用から EAE 発症後の早期の改善を予想していたが、驚いたことに EAE が重症化する傾向が見られた。一方、Nogo 受容体欠損マウスでは予想通り EAE 発症後の早期の改善が見られた。これらの結果から、LOTUS は神経細胞だけではなく、免疫細胞にも作用していると考えられた。中枢神経系における免疫反応の中心を担うミクログリアが Nogo 受容体を発現していることを確認し、初代培養ミクログリアに LOTUS を添加し炎症性サイトカインの変動を調べたところ、炎症性サイトカインの分泌が減少する傾向が見られ、一方でリンパ球の初代培養に LOTUS を添加し同様の評価を行ったところ、炎症性サイトカインの上昇が見られた。さらに、Nogo 受容体欠損マウスのリンパ球においても評価を行ったところ同様の結果を得た。これらの結果から、LOTUS はリンパ球の Nogo 受容体とはことなる別の分子に作用し、炎症性サイトカインの分泌を促進する可能性が示唆された。この新たな作用分子を明らかにするため LOTUS の結合分子を探索し、作用分子 X を見出した。この作用分子 X に対する阻害抗体を用いてリンパ球の初代培養における炎症性サイトカインの変動を評価したところ、LOTUS の存在下においても炎症性サイトカインの上昇傾向は見られず、作用分子 X は炎症を制御する重要なターゲット分子である可能性が示唆された。作用分子 X からのシグナルは軸索変性を増悪させることが報告されており、本研究で得られたこれらの結果は炎症・変性の二つの病態を制御しうる新規治療につながる重要な知見である。このように、本研究では MS の二つの病態を制御しうる重要な治療標的を見出すことができ、画期的な治療戦略の開発へと展開することができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Takuya Ikeda, Keita Takahashi, Hiroshi Doi, Kohtaro Takei, Hideyuki Takeuchi, Fumiaki Tanaka
2. 発表標題 An Endogenous Nogo receptor antagonist LOTUS, a novel therapeutic target for ALS
3. 学会等名 Pan-Asia Consortium for Treatment and Research in ALS (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Keita Takahashi, Hideyuki Takeuchi, Misako Kunii, Ken-ichi Tanaka, Mikiko Tada, Kohtaro Takei, Fumiaki Tanaka
2. 発表標題 Evaluation of serum LOTUS as a biomarker of neuroinflammation
3. 学会等名 第61回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高橋慶太、竹内英之、国井美紗子、池田拓也、橋口俊太、田中健一、勝元敦子、多田美紀子、土井宏、田中章景太、
2. 発表標題 A novel automated quantitative system for LOTUS, a candidate biomarker for disease activity in MS.
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2022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
研究分担者	竹内 英之 (Takeuchi Hideyuki) (30362213)	横浜市立大学・医学部・准教授 (22701)	

6. 研究組織（つづき）

	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 分 担 者	田中 章景 (Tanaka Fumiaki) (30378012)	横浜市立大学・医学研究科・教授 (22701)	

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