

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07446

研究課題名（和文）中性糖脂質による神経炎症への情報伝達とそれらによる異常蛋白修飾の解明

研究課題名（英文）Signal transduction to neuroinflammation and abnormal protein modification by neutral glycolipids

研究代表者

武藤 多津郎（Mutoh, Tatsuro）

藤田医科大学・大学病院・特命教授

研究者番号：60190857

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究で、EMRN患者髄液での疾患特異的脂質代謝異常と免疫学的異常のSignatureを明らかにし、Innate immunityの異常活性化が病態発現に深く関与している可能性を解明した。又、EMRN患者試料中に見出される抗-lactosylceramide (LacCer) 抗体などの抗中性糖脂質抗体は、神経保護的神経栄養因子受容体のリガンドに対する反応性を抑制し、神経保護作用を抑制する事が解明した。一方、本抗体はアストロサイトの持つastrocyte-neuron lactate shuttleを通した神経保護効果を減弱させた。この事実も又抗体の持つ神経障害的作用の一端を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、これまで余り研究されて来なかった糖脂質特にラクトシルセラミドなどの中性糖脂質が脳脊髄根末梢神経炎などの神経炎症性疾患発生のシグナルランジェーサの機能を有する事、又全身でのinnate immunityの異常活性化が惹起される事を明確にした。こうした新知見は、抗innate immunity療法などの新規治療法がこれら神経炎症性疾患の試すべき治療法である事を明確にした点で、意義深い。又、抗中性糖脂質抗体の免疫的細胞生物学的役割の新たな側面を解明した点でブレークスルー的な成果を挙げた。

研究成果の概要（英文）： In this study, we clarified a disease-specific glycolipids dysmetabolism and immune abnormalities in EMRN patients. Moreover, anti-NGL antibodies such as anti-lactosylceramide (LacCer) antibody inhibit nerve growth factor-induced Trk autophosphorylation in neuronal cells. Moreover, increased intracellular LacCer contents can cause the neurotoxic change of astrocytes on neuronal cells.

Thus, these results strongly indicate EMRN can be caused by the abnormal glycolipid metabolism and abnormal activation of innate immune responses. The present studies might indicate new therapeutic approach using anti-innate immune therapy.

研究分野：神経内科学

キーワード：神経炎症 蛋白質異常凝集 情報伝達 神経細胞死 抗-中性糖脂質抗体 蛋白質修飾 セラミド合成酵素 脂肪酸鎖

1. 研究開始当初の背景

最近の免疫学的研究の成果は、ADのみならずPDや筋萎縮性側索硬化症(ALS)も含め神経難病では共通して「**神経炎症**」が病理学的にも確認され、病態形成に深く関与している可能性を明らかにしている。この「**神経炎症**」反応をもたらす主要な機序に、糖脂質を含めた脂質異常が広く関与している可能性が議論され始めている。

本研究では、これまで余り知られて来なかった**中枢神経系と末梢神経系が広く障害される新たな病態**を呈するEMRN患者の免疫学的病態と神経化学的異常を同定し、本疾患の病因を特定し、新たな治療法開発を目指すものである。

最近の研究展開から、ある**特定の糖脂質**が神経系炎症を惹起させる可能性が想定されてきているが、実際のヒト疾患での研究展開は未だ行われておらず、そうした意味では本研究の展開は、神経疾患研究の新たな方向性を示すものとなる可能性が高い。糖脂質特に中性の糖脂質類は、我々の細胞膜の主要な構成物質として有名であるが、ガングリオシドなどの酸性糖脂質ばかりこれまで脚光をこれまで浴びてきた。しかし、**グルコシルセラミド、ガラクトシルセラミド、ラクトシルセラミド**などの**中性糖脂質**も特に細胞膜の機能発現にはより重要な役割を担っている実態が解明されつつある。従って、本研究は糖鎖生物学研究の新たな側面を切り開く先進的な取り組みと言えよう。

2. 研究の目的

EMRN患者髄液での**疾患特異的脂質代謝異常と免疫学的異常のsignature**を明らかにし、中性糖脂質類が如何に神経系の炎症反応に積極的関与しているのかその実態をEMRN患者試料で明らかにする事

更に、抗中性糖脂質抗体の持つ生物学的活性を細胞生物学的及び生化学的に明らかにしこの抗体の病態形成に及ぼす影響を特定する。又、本疾患患者に特異的に本抗体が検出されるのかその産生機序を免疫学的に解明することを目的としている。

3. 研究の方法

EMRN患者髄液をESI-MS/MSを用いてアシル鎖長の違いにも考慮してリポミクス的定量を行う。

抗ラクトシルセラミド抗体などの抗中性糖脂質抗体の測定は、Far-Eastern blot法を用い正確に行った。

又、抗中性糖脂質抗体の神経系細胞への影響を細胞生物学的、生化学的に神経系細胞の培養系(PC12細胞及びグリア細胞のアストロサイト株のKT5細胞の培養系)を用い詳細に調べた。

又、EMRN患者での、自然免疫の状態調べるため活性化C5補体フラグメント(C5a)をELISAの系を用い測定した。

4. 研究成果

本研究は、糖脂質特にラクトシルセラミドなどの中性糖脂質類が脊髄根末梢神経炎などの神経炎症性疾患発生のシグナルトランジューサーの機能を有する可能性を明確に示唆している。

本疾患では、全身及び脳を含めた全神経系でのInnate immunityの異常活性化が惹起される事を明確にした。

こうした新知見は、抗補体療法などの抗Innate immunity療法などがこれら神経炎症性疾患の試すべき治療法である事を明確にした点で、意義深い。

又、EMRN患者試料中に見出される抗-lactosylceramide(LacCer)抗体などの抗中性糖脂質抗体が、神経保護的神経栄養因子受容体のリガンドに対する反応性を抑制し、神経保護作用を抑制す

る事を解明した。

一方、本抗体はアストロサイトの持つ *astrocyte-neuron lactate shuttle* を通した神経保護効果を減弱させた。この事実も又抗体の持つ神経障害的作用の一端を明らかにした。以上のように、本研究では抗中性糖脂質抗体の免疫的細胞生物学的役割の新たな側面を解明した点でブレイクスルー的な成果を挙げた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Mutoh T, Niimi Y, Ito S, Akiyama H, Shiroki R, Hirabayashi Y, Hoshinaga K.	4. 巻 639
2. 論文標題 A pilot study assessing sphingolipid s and glycolipid s dysmetabolism in idiopathic normal pressure hydrocephalus.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 84-89
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 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 Mutoh Tatsuro, Ueda Akihiro, Niimi Yoshiki	4. 巻 13
2. 論文標題 Sphingolipid abnormalities in encephalomyeloradiculoneuropathy (EMRN) are associated with an anti neutral glycolipid antibody	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 539-546
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/2211-5463.13578	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 Sasaki A, Hayakawa I, Mutoh T, Abe Y	4. 巻 8
2. 論文標題 The first Pediatric anti-lactosylceramide antibody-positive encephalomyeloradiculoneuropathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e10198
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 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 Takegami N, Sakuishi K, Yamaguchi-Takegami N, Egashira S, Komaki S, Mutoh T, Toda T	4. 巻 378
2. 論文標題 Anti-lactosylceramide antibody positive combined central peripheral demyelination emerging from long-standing juvenile-onset chronic inflammatory polyradiculoneuropathy; a report of two cases	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Neuroimmunol	6. 最初と最後の頁 578086
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 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 Niimi Yoshiki, Mizutani Yasuaki, Akiyama Hisako, Watanabe Hirohisa, Shiroki Ryoichi, Hirabayashi Yoshio, Hoshinaga Kiyotaka, Mutoh Tatsuro	4. 巻 11
2. 論文標題 Cerebrospinal Fluid Profiles in Parkinson's Disease: No Accumulation of Glucosylceramide, but Significant Downregulation of Active Complement C5 Fragment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Parkinson's Disease	6. 最初と最後の頁 221 ~ 232
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JPD-202310	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 Iriyama Chisako, Murate Kenichiro, Iba Sachiko, Okamoto Akinao, Yamamoto Hideyuki, Kanbara Ayana, Sato Akane, Iwata Emiko, Yamada Ryuta, Okamoto Masataka, Watanabe Hirohisa, Mutoh Tatsuro, Tomita Akihiro	4. 巻 101
2. 論文標題 Detection of circulating tumor DNA in cerebrospinal fluid prior to diagnosis of spinal cord lymphoma by flow cytometric and cytologic analyses	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Hematology	6. 最初と最後の頁 1157 ~ 1159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00277-021-04686-7	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 Mutoh Tatsuro, Niimi Yoshiki, Sakai Shota, Watanabe Hirohisa, Ueda Akihiro, Shima Sayuri, Igarashi Yasuyuki	4. 巻 1867
2. 論文標題 Species-specific accumulation of ceramides in cerebrospinal fluid from encephalomyeloneuropathy patients associated with peripheral complement activation: A pilot study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids	6. 最初と最後の頁 159092 ~ 159092
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbalip.2021.159092	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 Ishimaru Soichiro, Kawamura Yoshiki, Miura Hiroki, Shima Sayuri, Ueda Akihiro, Watanabe Hirohisa, Mutoh Tatsuro, Yoshikawa Tetsushi	4. 巻 -
2. 論文標題 Detection of human herpesviruses in cerebrospinal fluids collected from patients suspected of neuroinfectious diseases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of NeuroVirology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13365-021-01040-5	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tatsuro Mutoh
2. 発表標題 Abnormal Sphingolipids Metabolism And Complement Activation In A New Neurological Disorder, Encephalo Myelo Radiculo Neuropathy, EMRN
3. 学会等名 International Forum on Neuroscience and Brain disorders (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tatsuro Mutoh
2. 発表標題 No Accumulation of Glucosylceramide in PD Cerebrospinal Fluid
3. 学会等名 American Academy of Neurology (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Mutoh T	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Elsevier, Academic press	5. 総ページ数 335
3. 書名 Autophagy Dysfunction in Alzheimer's disease and dementia	

〔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	中嶋 和紀 (Nakajima Kazuki) (10442998)	岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・准教授 (13701)	研究開始1年目に所属大学移動に伴い本研究の研究分担者になる事が不可能になったため研究分担者より削除した

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