

平成 26 年 5 月 12 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790873

研究課題名(和文) HMGB1の視神経脊髄炎の病態への関与の解明及び新規治療標的としての応用

研究課題名(英文) High-mobility group box 1 is involved in neuromyelitis optica pathogenesis and could be a therapeutic target.

研究代表者

鷓沢 顯之 (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) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：視神経脊髄炎患者では髄液High-mobility group box 1 (HMGB1)が有意に上昇しており、さらに中枢の炎症、血液脳関門破綻、アストロサイトの障害マーカーと相関していた。また多発性硬化症モデルであるexperimental autoimmune encephalomyelitisマウスに抗HMGB1モノクローナル抗体を投与したところ、重症度・中枢の炎症が軽減した。本研究の結果からは、HMGB1は炎症メディエーターとして、視神経脊髄炎の病態に関与しており、HMGB1の制御は炎症の抑制につながることを示唆され、将来的に視神経脊髄炎の治療標的として有用な可能性があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Cerebrospinal fluid (CSF) high-mobility group box 1 (HMGB1) levels in neuromyelitis optica (NMO) patients were significantly higher than those in multiple sclerosis (MS) and controls patients. In addition, CSF HMGB1 levels significantly correlated with CSF cell counts, protein levels, interleukin-6 levels, glial fibrillary acidic protein levels and CSF/serum albumin ratio in NMO. Administration of an anti-HMGB1 monoclonal antibody ameliorated the clinical and pathological severity of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) and attenuated serum interleukin-17 up-regulation. HMGB1 could play a key role in central nervous system inflammation in NMO patients and EAE. HMGB1 could be a novel therapeutic strategy for NMO.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：視神経脊髄炎 HMGB1 サイトカイン 多発性硬化症 実験的自己免疫性脳脊髄炎 自己免疫疾患 モノクローナル抗体 血液脳関門

1. 研究開始当初の背景

High mobility group box 1 (HMGB1) は通常、核内の DNA 結合蛋白として存在しているが、一旦、核から細胞外に放出されると、周辺細胞に発現しているレセプター (TLR2, 4, 9, RAGE) に作用し、炎症メディエーターとして働くことが知られている。また、刺激された免疫細胞からの放出されるのみでなく、有核細胞が壊死やアポトーシスに陥った場合にも、HMGB1 は受動的に細胞外に放出される。近年、この細胞外の HMGB1 が、炎症反応を誘導するなど、重要な役割を果たしていることが様々な自己免疫性疾患で報告されている。

2. 研究の目的

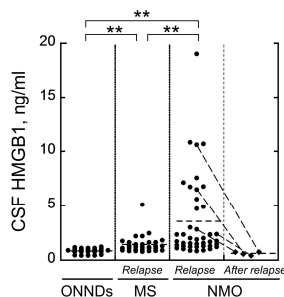
HMGB1 が NMO(neuromyelitis optica), の病態、特に中枢神経内の炎症反応に関与しているかどうか明らかにすること、また MS(multiple sclerosis)のモデル動物である EAE (experimental autoimmune encephalomyelitis)や NMO モデルマウスを用いて HMGB1 を標的とした治療が NMO、MS に応用可能かどうかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

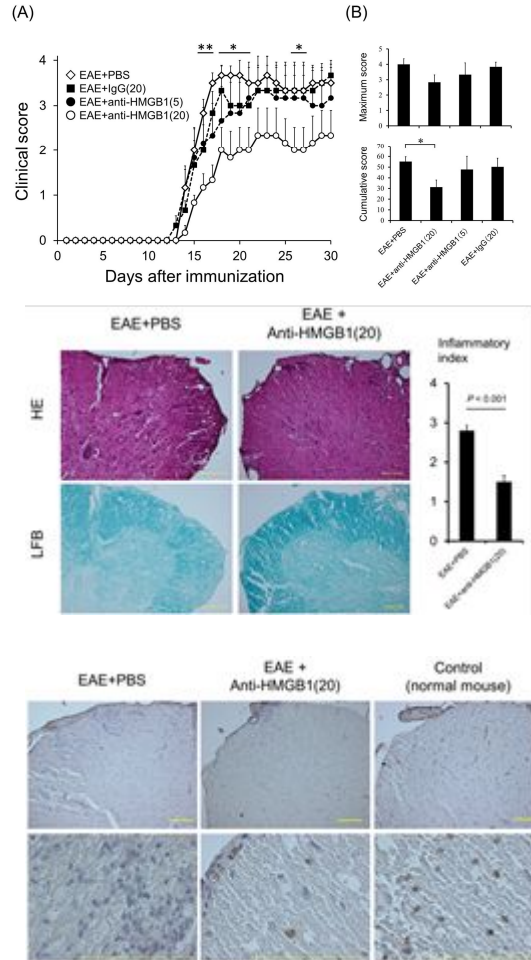
(1) NMO/抗 AQP4 抗体陽性 NMO 関連疾患 42 例、MS30 例、非炎症性神経疾患 (non-inflammatory neurological diseases: NINDs)30 例の髄液中の HMGB1 濃度を測定し、臨床パラメーターとの相関を検討した。  
 (2) MOG で免疫した EAE マウスに抗 HMGB1 モノクローナル抗体 (20 μg または 5 μg /匹) を連続 5 日間腹腔内投与し (day 11-15)、EAE の血清中のサイトカイン濃度、EAE の重症度、EAE の病理学的所見に変化が見られるか検討した。

4. 研究成果

(1) 髄液中の HMGB1 濃度は NMO(3.56±3.76 ng/ml) で、MS(1.43±0.82 ng/ml) や NINDs(0.85±0.21 ng/ml) と比較して高く (P<0.001)、さらに MS は NINDs より高値であった (P<0.001)。NMO、MS において HMGB1 濃度は髄液細胞数と強く相関しており (NMO, r=0.832, P<0.001; MS, r=0.800, P<0.001)、NMO においては髄液 IL-6 (r=0.506; P=0.001)、髄液 GFAP(r=0.511; P=0.001)、髄液/血清アルブミン比(QAlb) (r=0.680; P<0.001) と有意に相関していた。



(2) EAEへの抗 HMGB1 モノクローナル抗体 (20μg/匹) の投与は血清 IL-17 の産生亢進を抑制し、EAE の clinical score を有意に低下させた。また病理学的に脊髄の炎症細胞浸潤・脱髄を軽減させ、HMGB1 の核内から細胞外の放出が抑制された。



HMGB1 は炎症細胞や、死滅細胞から分泌されることで、炎症を引き起こす。本研究では NMO、MS において髄液 HMGB1 は有意に上昇し、髄液細胞数と強い相関を認めることから、HMGB1 は中枢神経内の炎症のメディエーターとなっている可能性があると考えられた。また NMO において、髄液 HMGB1 濃度と髄液 GFAP・髄液 IL-6 に有意な相関があったことから、抗 AQP4 抗体介在性のアストロサイトの障害により、HMGB1 が受動的に放出されている可能性も考えられた。さらに HMGB1 濃度は MS より NMO でより上昇しており、炎症の程度が NMO で強いことと一致しており、治療標的としても NMO の方が有用な可能性があることが示唆された。また本研究では MS のモデルマウスで抗体治療の有効性を初めて明らかにした。抗 HMGB1 モノクローナル抗体は EAE の急性期において、中枢神経内の HMGB1 を中和することで、炎症反応を抑制し、重症度を軽減すると考えられた。さらに EAE の発症には IL-17 が重要であると考えられており、抗

HMGB1 モノクローナル抗体の投与により血清 IL-17 の産生が抑制されたことも EAE の病態を軽減させる要因になっていると考えられた。今後、NMO モデルマウスでも同様の実験を行い、抗 HMGB1 抗体投与の治療効果の確認を行っていく予定である。

HMGB1 は炎症メディエーターとして、NMO の病態に関与している可能性がある。また HMGB1 は NMO、MS の急性期の治療標的として有用なことが示唆された。

#### 5 . 主な発表論文等

( 研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線 )

[ 雑誌論文 ] ( 計 14 件 )

1. Uzawa A, Kawaguchi N, Himuro K, Kanai T, Kuwabara S. Serum Cytokine and Chemokine Profiles in Patients with Myasthenia Gravis. Clin Exp Immunol. 2014 (in press) doi: 10.1111/cei.12272.
2. Uzawa A, Masahiro M, Kuwabara S. Cytokines and chemokines in neuromyelitis optica: pathogenetic and therapeutic implications. Brain Pathol. 2014;24:67-73. doi: 10.1111/bpa.12097.
3. Yonezu T, Ito S, Mori M, Ogawa Y, Makino T, Uzawa A, Kuwabara S. "Bright spotty lesions" on spinal magnetic resonance imaging differentiate neuromyelitis optica from multiple sclerosis. Mult Scler. 2014;20:331-7. doi: 10.1177/1352458513495581.
4. Uzawa A, Mori M, Kuwabara S. Neuromyelitis optica: concept, immunology and treatment. J Clin Neurosci. 2014;21:12-21. doi:10.1016/j.jocn.2012.12.022.
5. Uzawa A, Mori M, Kuwabara S. The role of interleukin-6 in the pathogenesis of neuromyelitis optica. Clin Exp Neuroimmunol. 2013;4:167-72. DOI: 10.1111/cen3.12024
6. Uzawa A, Mori M, Masuda S, Muto M, Uchida T, Kuwabara S. Upbeat nystagmus at caudal brainstem lesions in four cases with multiple sclerosis and its related disorders. Clin Exp Neuroimmunol. 2013;4:206-9. DOI: 10.1111/cen3.12013
7. Uzawa A, Mori M, Sawai S, Masuda S, Muto M, Uchida T, Ito S, Nomura F, Kuwabara S. Cerebrospinal fluid interleukin-6 and glial fibrillary acidic protein levels are increased during initial neuromyelitis optica attacks. Clin Chim Acta. 2013;421:181-3. doi: 10.1016/j.cca.2013.03.020.
8. Uzawa A, Mori M, Taniguchi J, Masuda S, Muto M, Kuwabara S. Anti-high mobility group box 1 monoclonal antibody ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. Clin Exp Immunol. 2013;172:37-43. doi:10.1111/cei.12036.

9. Nasu S, Uzawa A, Mori M, Kuwabara S. Isolated ocular flutter. Neurology. 2013;80:867. doi: 10.1212/WNL.0b013e31828407a8.
10. Uzawa A, Mori M, Masuda S, Muto M, Kuwabara S. CSF high-mobility group box 1 is associated with intrathecal inflammation and astrocytic damage in neuromyelitis optica. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2013 May;84(5):517-22. doi: 10.1136/jnnp-2012-304039.
11. Muto M, Mori M, Sato Y, Uzawa A, Masuda S, Kuwabara S. Seasonality of multiple sclerosis and neuromyelitis optica exacerbations in Japan. Mult Scler. 2013;19:378-9. doi: 10.1177/1352458512452332.
12. Uzawa A, Mori M, Muto M, Masuda S, Kuwabara S. When is neuromyelitis optica diagnosed after disease onset? J Neurol. 2012;259:1600-5. doi:10.1007/s00415-011-6384-3.
13. Uzawa A, Mori M, Takahashi Y, Ogawa Y, Uchiyama T, Kuwabara S. Anti-N-methyl D-aspartate-type glutamate receptor antibody-positive limbic encephalitis in a patient with multiple sclerosis. Clin Neurol Neurosurg. 2012;114:402-4. doi: 10.1016/j.clineuro.2011.10.047.
14. Mori M, Kawaguchi N, Uzawa A, Nemoto Y, Masuda S, Kuwabara S. Seroconversion of anti-aquaporin-4 antibody in NMO spectrum disorder: a case report. J Neurol. 2012;259:980-1. doi: 10.1007/s00415-011-6288-2.

[ 学会発表 ] ( 計 7 件 )

1. ○鶴沢 顕之、森雅裕、谷口順子、増田 冴子、武藤真弓、内田智彦、柘田大生、桑原聡。エナラプリルはブラジキニンの上昇を介して EAE の重症度を抑制する。第 25 回日本神経免疫学会学術集会 ( 山口 )。2013/11/27-29
2. ○Akiyuki Uzawa, Masahiro Mori, Junko Taniguchi, Saeko Masuda, Mayumi Muto, Tomohiko Uchida, Hiroki Masuda, Satoshi Kuwabara. High-mobility group box 1 could be a therapeutic target in neuromyelitis optica and multiple sclerosis. The 6<sup>th</sup> Pan Asian Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (PACTRIMS) 2013 (JAPAN, KYOTO). 2013/11/6-8
3. 桑原聡、○鶴沢 顕之、森雅裕、谷口順子、増田 冴子、武藤真弓、内田智彦。多発性硬化症・視神経脊髄炎に対する新規治療ターゲットとしての HMGB1 の可能性。平成 24 年度 免疫性神経疾患に関する調査研究班班会議 ( 東京 ) 2013/1/23-24
4. ○鶴沢 顕之、森雅裕、谷口順子、増田 冴子、武藤真弓、内田智彦、柘田大生、桑原聡。視神経脊髄炎の髄液 HMGB1 濃度

は中枢神経内の炎症とアストロサイト障害と関連する。第 54 回日本神経学会学術大会 (東京) 2013/5/29-6/1

5. ○鵜沢 顕之、森雅裕、谷口順子、増田 冴子、武藤真弓、内田智彦、桑原聡。抗 HMGB1 抗体は EAE の重症度を抑制する: 多発性硬化症に対する新規治療応用の可能性。第 24 回日本神経免疫学会学術集会 (長野) 2012/9/20-21

6. ○Akiyuki Uzawa, Masahiro Mori, Saeko Masuda, Satoshi Kuwabara. Markedly elevated sICAM-1 and sVCAM-1 levels in neuromyelitis optica: correlations with blood-brain barrier disruption. The 13th Asian Oceanian Congress of Neurology. Australia. 2012/6/4-8

7. ○鵜沢 顕之, 森 雅裕, 増田 冴子, 武藤真弓, 桑原 聡。NMO の臨床経過-2006 年版改定診断基準の有用性の検討-。第 53 回日本神経学会学術大会 (東京) 2012/5/23-25

〔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 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/neurology/kenkyu/achievement/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 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