

受賞対象論文

Sasaki T, Liu K, Agari T, Yasuhara T, Morimoto J, Okazaki M, Takeuchi H, Toyoshima A, Sasada S, Shinko A, Kondo A, Kameda M, Miyazaki I, Asanuma M, Borlongan CV, Nishibori M, Date I : Anti-high mobility group box 1 antibody exerts neuroprotection in a rat model of Parkinson's disease. *Exp Neurol* (2016) 275, 220-231.

佐々木 達也

Tatsuya Sasaki

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 脳神経外科学

Department of Neurological Surgery, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences



<プロフィール>

昭和56年生まれ

平成19年3月 岡山大学医学部医学科卒業

平成19年4月 広島市立広島市民病院 初期研修医

平成21年4月 広島市立広島市民病院 脳神経外科 後期研修医

平成23年9月 岡山大学病院 脳神経外科 医員

平成24年4月 岡山大学病院 高度救命救急センター 医員

平成24年10月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 脳神経外科学 研究員

平成27年6月 岡山大学病院 脳神経外科 医員

平成28年9月 東京都立神経病院 脳神経外科 非常勤

平成29年4月 岡山大学病院 脳神経外科 助教

研究の背景と経緯

私が研究を始めた頃、薬理学教室の西堀正洋教授は high mobility group box 1 (HMGB1) に対するモノクローナル抗体を作製されており、中枢神経疾患に対する様々な効果発現を研究されていました¹⁾。当教室と薬理学教室とはそれまでに頭部外傷モデルに対する抗 HMGB1 抗体の効果などについても共同研究を行っており、今回パーキンソン病 (PD) に対する抗 HMGB1 抗体投与の研究についてお話をいただきました。私が所属しているグループは PD、てんかん、脳虚血などの動物モデルに対して電気刺激療法や移植治療を行い、神経保護効果や治療効果を研究しています。

諸先輩方の研究の蓄積がある分、比較的スタートしやすかったのではと、今振り返るとそう感じています。

HMGB1 はクロマチン DNA を支えるタンパクであり、あらゆる細胞の核内に恒常的に存在する一方、障害を受けると受動的に放出され、receptor for advanced glycation end products (RAGE) や toll-like receptors (TLR2, 4) などの受容体を介して、炎症を惹起する性質があります。虚血性脳卒中や頭部外傷の基礎研究で、HMGB1 は神経炎症の一因子として作用し、抗 HMGB1 抗体は抗炎症作用を有することが示されています。PD は緩徐進行性の代表的な神経変性疾患で中

脳黒質のドパミン神経細胞の変性脱落が主病態でありますが、炎症の関与についても古くから言及されています²⁾。まずは PD モデルラットの脳内での HMGB1 の動きを調べ、さらに抗 HMGB1 抗体の働きについて調べてみようという研究が始まりました。

研究成果の内容

1. 抗 HMGB1 抗体の静脈内投与は PD の運動症状を改善し、神経保護効果を示す

PD モデルはラットに 6-hydroxydopamine (6-OHDA) を片側線条体に注射するモデルを使用しました。治療群には抗 HMGB1 抗体を 1 mg/kg、対照群には class matched control 抗体を PD モデル作製直後、6 時間後、24 時間後にそれぞれ、尾静脈から静脈内投与しました。まず最も重要な結果ですが、抗 HMGB1 抗体の投与により、PD モデル作製 14 日後、患側線条体のドパミン神経線維と黒質緻密部におけるドパミン神経細胞数が対照群に比べ、温存されていました。さらに、HPLC により計測した線条体内の内在するドパミンも対照群と比較して、有意に温存されていました。運動症状もその結果に対応して、7、14 日後のシリンダーテスト、14 日後のメタンフェタミン誘発回転運動数において、治療群で有意な改善を認めました。

2. 抗 HMGB1 抗体は血漿中、脳組織中の HMGB1 上昇を抑制する

HMGB1 の動態と抗体投与後の反応を確認するために、線条体と黒質緻密部の脳組織をウエスタンブロッティングで、血漿は心臓から採取した血液を ELISA でそれぞれ計測しました。

対照群では、血漿中 HMGB1 は PD モデル作製 4 日後より上昇を示し、また線条体中 HMGB1 についても、健側と比較して 4 日後より増加し、黒質緻密部においても同様の傾向が得られました。一方、治療群では血漿中、脳組織中の HMGB1 の上昇がいずれも抑制されていました。また免疫組織学的検査では、対照群で HMGB1 は線条体において 1 日後の神経細胞、7 日後のアストロサイト核内から細胞質へ移動しており、細胞外への放出が示唆されたが、治療群において、この現象は観察されませんでした。

3. 抗 HMGB1 抗体は線条体、黒質緻密部におけるミクログリアの増殖を抑制する

HMGB1 の動態とともに、神経炎症に深く関わるミクログリア、アストロサイトの増殖を免疫組織染色で調べました。対照群では、PD モデル作製 4 日後からミクログリア・アストロサイトの数、線条体・黒質緻密部いずれにおいても急激に増加していましたが、治療群ではミクログリア数の上昇が有意に抑制されている結果が得られました。形状についても、対照群で

はアメーバ状の活性型ミクログリアが数多くみられましたが、治療群では樹枝状の非活性型ミクログリアの形態にとどまるものがほとんどでした。

4. 抗 HMGB1 抗体は BBB の透過性亢進を抑制する

PD モデル作製 1 日後の線条体において、治療群では対照群と比較して、アルブミンの血管外漏出が少ない結果が免疫組織学的検査で得られました。抗 HMGB1 抗体は PD モデルにおける BBB 透過性の亢進を抑制することが示唆されました。

5. 抗 HMGB1 抗体は炎症性サイトカインの発現を抑制する

線条体、黒質緻密部の組織を用いて、PCR により炎症性サイトカインである IL-1 β 、IL-6、IL-8R、iNOS、TNF- α の発現量を測定しました。対照群では、特に線条体において炎症性サイトカイン IL-1 β 、IL-6 の発現が健側の 10 倍以上に増加する一方、治療群ではこれらの上昇が有意に抑制されていた。TNF- α 、iNOS、IL-8R についてはいずれの群においても有意な変化は得られず、IL-1 β 、IL-6 が神経炎症の関与に特に重要であることが示されました。

研究成果の意義

PD は特定疾患に指定されており、登録されている患者数も全国で 13 万人を超え、年々増加しています。

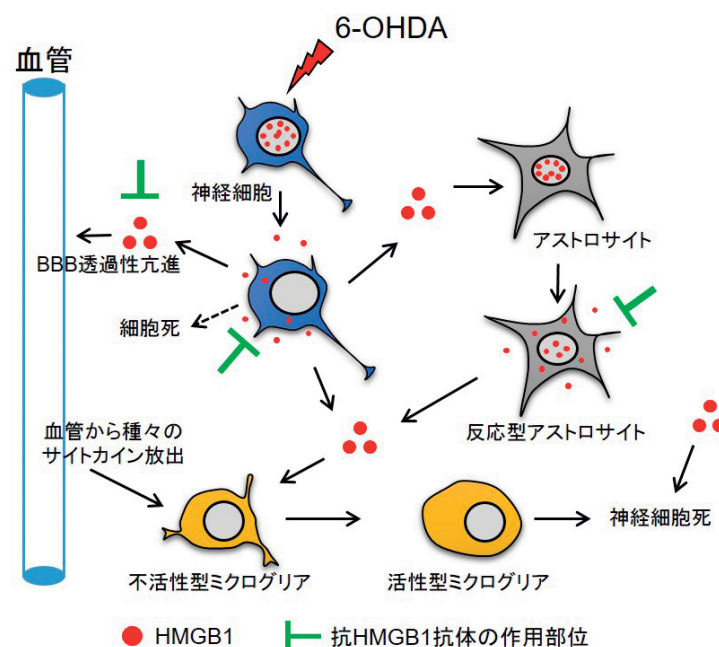


図 PD モデルラットに対する抗 HMGB1 抗体の作用機序

未だ根治治療が解明されていない難病ですが，治療は対症療法であるLドパの補充療法が中心であり，一部では脳深部刺激療法などの手術が奏功します．iPS細胞などを用いた再生医療の開発も進んでおり，近い将来，実臨床に登場してくると予想されますが，この最先端治療が一般的な治療法となるのは，まだ長い時間が必要です．

本研究の最大の成果は図に示した通り，抗炎症効果によるPDの進行の抑制が期待される点だと考えています．進行が抑制されれば，現状のLドパ補充療法，手術治療を組み合わせることで，多くの患者さんは健康な人と同じように日常生活をすることが可能となり，病気が進行する不安などからも解放されます．

また，抗HMGB1抗体の機序がPDに特異的なものではなく，炎症を起こしたミクログリア，アストロサイトに作用する普遍的なものであれば，他の神経変性疾患に対する効果も期待できるかもしれません．

今後の展開や展望

今後の展開を広げるために，もう少し慢性期に近いモデルや，サルなどの他のPDモデル動物に対しても研究を行う必要があると考えています．また実際のPD患者における血漿中HMGB1の測定や，剖検での脳組織中のHMGB1を測定し，実臨床に向けて段階を踏んでいきたいと考えています．

文 献

- 1) Liu K, Mori S, Takahashi HK, Tomono Y, Wake H, et al. : Anti-high mobility group box 1 monoclonal antibody ameliorates brain infarction induced by transient ischemia in rats. *Faseb j* (2007) 21, 3904-3916.
- 2) Hirsch EC, Hunot S : Neuroinflammation in Parkinson's disease : a target for neuroprotection? *Lancet Neurol* (2009) 8, 382-397.

平成30年1月4日受稿

〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話：086-235-7336 FAX：086-227-0191

E-mail：tsasakil219@okayama-u.ac.jp