

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：難治性疾患実用化研究事業
2. 研究開発代表者：国立大学法人大阪大学 大学院医学系研究科・教授・熊ノ郷 淳
3. 研究開発の成果

視神経脊髄炎（neuromyelitis optica;NMO）は繰り返す視神経炎と脊髄炎を主徴とする中枢神経炎症性疾患である。極めて重篤であるのが特徴であり、視神経炎でしばしば失明に至る上に脊髄炎は3椎体以上に渡る長大病変が頻発するため、一度の急性増悪で重篤な後遺症が残ることが多い。また欧米に比しわが国に多く平均発症年齢が約40歳であるため、大きな社会的損失の原因となっている。現在増悪期にはステロイドパルス療法や血液浄化療法、再発予防には経口ステロイドや免疫抑制剤が用いられているが、不十分であり、強力な治療の開発が切望されてきた。しかしながら適切な動物モデルが存在せず、有用な治療指針の策定や新規治療薬のスクリーニングは困難であった。NMOは元来多発性硬化症（MS）の亜型と考えられていたが、アストロサイトに発現するアクアポリン4（AQP4）に対する自己抗体が疾患特異的マーカーとして同定され、独立した疾患群であることが示された。その後AQP4抗体をMSのモデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）に移入するパッシブトランスファーモデルが作成され、補体依存性あるいは抗体依存性細胞障害によるアストロサイト障害が原因の一つとされた。しかしながら従来のモデルではNMOの最大の特徴である脊髄長大病変を再現できていなかったため、本研究では患者由来リンパ球及びAQP4抗体を用いることにより実際の病態を反映したNMOモデルを確立する。モデルが確立された後には既存の治療薬を対照として候補薬剤を投与し、NMOの治療候補薬剤を見出すことを目標とする。

研究開始初年度は分担及び協力施設から患者サンプルを集め、解析する体制の整備や研究計画の倫理委員会での承認など基盤整備を行った。研究内容をサブセクションごとに主任及び分担研究者の各テーマに沿った独自の研究を展開させつつ、情報交換を密に行い、研究組織としての体制をさらに強化した。具体的には 1. シングルセルRT-PCRを利用した髄液プラズマブラストからのモノクローナルAQP4抗体合成（熊ノ郷 奥野） 2. Sema4A高値NMO患者由来ヘルパーT細胞のライン化（中辻） 3. マウスへのAQP4抗体及びNMO患者由来血球トランスファーによるNMOモデル作成（望月 奥野） 4. 新規病態関連因子の同定（熊ノ郷、奥野 中辻、木下、宮本） 5. NMOにおけるSema4Aの役割の検討と動物モデルへの利用（熊ノ郷 奥野） 6. NMOモデルへの治療実験（望月 奥野） という開発項目と担当になった。この体制で研究を行った結果、今年度は残余髄液中プラズマブラストを用いたシングルセルRT-PCR法により、2クローンの患者由来モノクローナル抗体遺伝子の単離に成功した。抗体を合成した後アストロサイトに対する病原性を確認し、現在AQP4抗体産生細胞株の樹立中である。またNMO患者に使用した免疫吸着カラムからIgGを精製し、マウス線条体に注入することによりアストロサイト障害を誘発することに成功した。今後は全身投与だけではなくこの実験系も利用して新規薬剤のスクリーニングを行う予定である。昨年度は新規NMO病態関連因子としてセマフォリンと抗ガングリオシド抗体を同定したが、今年度はSema4Aに関しては主にCD8T+T細胞における免疫調節のメカニズムの解析も行った。また新規治病態関連因子候補として、有機酸及びミトコンドリア関連分子を見出している。今後さらに解析を進めていく予定である。