

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 難治性疾患実用化研究事業
(英語)

研究開発課題名： (日本語) 多発性硬化症に対する新規抗体治療薬の開発
(英語) Development of monoclonal antibody for the treatment of multiple sclerosis

研究開発担当者 (日本語) 大学院医学系研究科・教授・山下俊英
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Medicine, Professor, Toshihide Yamashita

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 多発性硬化症に対する新規抗体治療薬の開発
開発課題名： (英語) Development of monoclonal antibody for the treatment of multiple sclerosis

研究開発分担者 (日本語) 大学院医学系研究科・教授・望月秀樹
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Medicine, Professor, Hideki Mochizuki

II. 成果の概要（総括研究報告）

本研究の最終目標は、進行型多発性硬化症 (MS) および視神経脊髄炎 (NMO) による神経症状を改善する分子標的治療薬を開発し、臨床応用を実現することである。MS は複数の神経症候が再発と寛解を繰り返すことを特徴とするが、一次および二次進行型 MS では神経回路の不可逆な変性が起こり、神経障害が進行する。この病態に対する有効な治療法はいまだ開発されていない。我々は、自己免疫性脳脊髄炎の発症および寛解過程に、RGM がキーとなる役割を担っていることを明らかにした (Nat. Med., 2011)。また RGM 機能抑制は、マウス脳脊髄炎病態下で、Th17 細胞が誘導する神経変性を抑制し、その後の修復過程を加速することを明らかにした (Cell Rep., 2014)。したがって RGM 機能阻害抗体は多発性硬化症の各病期に対する症状緩和に寄与し、いまだ治療法が確立されていない進行型 MS に対する治療薬として有望である。さらに Th17 細胞が病態形成の鍵となる NMO にも効果を有すると考えられる。

我々は、ヒト型 RGM モノクローナル抗体を企業と共同開発している。本研究では、ヒト型抗 RGM 中和抗体について、進行型 MS および NMO に対する薬剤としての feasibility study を行う。研究期間内に複数の実験的自己免疫性脳脊髄炎・視神経脊髄炎モデルを用いて、RGM の病態への関与を解明するとともに、各病期における RGM 抗体の薬効・薬理試験を行い、薬剤治療の最適条件を決定することを到達目標とする。

これまでに進行型 MS の病態を反映する 3 種類の experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) マウスを用いて、RGM モノクローナル中和抗体の検証を行っている。Th17 細胞により特異的に誘導される EAE マウスを確立し、病態形成後に RGM 中和抗体を投与した場合、脳脊髄炎の重症度が軽減することが示された。また Targeted EAE マウスモデルを確立した。脊髄 Th8 の背側部に単一の炎症巣を作成することにより、後脚の麻痺が長期間持続する。当該マウスにおいて脊髄炎発症後に RGM 中和抗体を投与することで、治療効果について検証を行ったところ、脳脊髄炎の重症度が軽減された。さらに進行型 MS のモデルとして、NOD (non-obese diabetes) EAE マウスモデルを用いた。NOD EAE マウスは、進行型 MS の症候を示す最近確立された動物モデルであり、本研究において新たに取り入れることによって、臨床試験に向けた確度を上げる事を目的とした。一方で、NMO 動物モデルとしては、NMO 患者血清から精製した IgG にヒト補体を加えて、ラット脊髄に injection するモデルを開発した。これにより脊髄 (Th10) 正中部に炎症巣を作成でき、運動麻痺が起こることを確認した。その後に、RGM 中和抗体を投与して効果を検証したところ、運動機能の改善効果が見られた。また C57BL6 マウス線条体に注入し、少量の NMO IgG による動物モデルの作成を行った。また NMO 患者由来リコンビナントモノクローナル AQP4 抗体を作成した。進行型多発性硬化症に対する RGM 抗体の医師主導試験に向けてプロトコル原案を作成した。RGMa 抗体の治験に参加する MS 及び NMO 患者のリクルートのためレジストリを作成し、大阪大学医学部付属病院の倫理委員会に申請を行い承認された。

本研究開発においては、進行型 MS および NMO 動物モデルを用いてヒトに外挿可能なヒト型抗 RGM モノクローナル抗体の効力を検証することを中心課題とする。本研究により進行型 MS および NMO の治療薬としての feasibility を検証し、薬剤治療の最適条件を見いだすことを到達目標とし、本研究終了後に遅滞なく臨床試験につなげる。

The ultimate objective of the present study is to develop molecular targeted drugs that improve neurological symptoms of progressive multiple sclerosis and optic neuromyelitis, and to apply them in clinical practice. MS is characterized by repetitive episodes of recurrence and remission of multiple nervous symptoms, and in primary and secondary progressive MS, irreversible degeneration of the neural circuit occurs, resulting in progression of neurological disorders. No effective treatment for this condition has yet been developed. We previously clarified that RGM plays a key role in the onset and remission process of autoimmune encephalomyelitis (Nat. Med., 2011). Furthermore, it was revealed that RGM function suppression inhibits neural degeneration induced by Th17 cells under mouse encephalomyelitis condition and accelerates the subsequent repair process (Cell Rep., 2014). Therefore, RGM function inhibitory antibodies contribute to alleviating symptoms for each stage of MS, and they are promising therapeutic agents for progressive MS, for which a therapeutic strategy has yet to be established. Furthermore, Th17 cells can influence NMO, which is the key mechanism of the pathogenesis.

We are developing a human RGM monoclonal antibody in partnership with a company. In this study, we perform a feasibility study on human anti-RGM neutralizing antibodies as drugs against progressive MS and NMO. Our goal within the research period is to identify the involvement of RGM on the pathogenesis using multiple experimental autoimmune encephalomyelitis/optic neuromyelitis models, and to perform the pharmacological tests of RGM antibody at each stage to determine the optimum condition for pharmacological treatments.

We have investigated RGM monoclonal neutralizing antibodies using three specific experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) mice that reflect the pathology of progressive MS. It has been shown that the severity of encephalomyelitis is improved when RGM neutralizing antibody is administered after pathogenesis in EAE mice specifically induced by Th17 cells.

We also established targeted EAE mice models. By creating a single inflammatory lesion on the dorsal aspect of the spinal cord Th8, paralysis of the hind limb lasts for a long time. Therapeutic effect was examined by administering RGM neutralizing antibody in the established mouse after the onset of myelitis, and the severity of encephalomyelitis was improved. Furthermore, a non-obese diabetes (NOD) EAE mouse model was used as a progressive MS model. The NOD EAE mice were recently established animal models showing symptoms of progressive MS and we aimed to increase the accuracy of clinical trials by newly incorporating them in this study. On the other hand, as for the NMO animal model, a model was developed in which human complement was added to IgG purified from serum of NMO patients and injected into rat spinal cord. As a result, we confirmed that inflammatory foci could be created in the median part of the spinal cord (Th10), inducing motor paralysis. After that, when RGM neutralizing antibody was administered to investigate its effectiveness, we confirmed improvements of motor function. Furthermore, RGM neutralizing antibody was injected to the striatum of C57BL6 mouse and an animal model with a small amount of NMOIgG was prepared. We also launched a registry of MS and NMO for future doctor-initiated clinical trials.

In this research project, we focus on evaluating the efficacy of human anti-RGM monoclonal antibodies that can be extrapolated to humans using progressive MS and NMO animal models. This study aims to identify the optimum condition for those agents by evaluating their feasibility as therapeutic agent for progressive MS and NMO, leading to clinical trials after this study without delay.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 2件、国際誌 2件)

1. NAKATSUJI Y, KINOSHITA M, OKUNO T, TAKATA K, KODA T, HONORAT JA, SAKODA S, MOCHIZUKI H. Neuromyelitis Optica:Diagnosis and Treatment. Neuroimmunological Disease (KUSUNOKI S). Springer. Japan. 2016, 135-152.
2. UEHARA T, BECK G, BABA K, MIHARA M, OKUNO T, SUMI H, NAKATSUJI Y, MOCHIZUKI H. Tumefactive brain lesion with rapid cavity formation associated with anti-aquaporin-4 antibody. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm. 2016, 3, e230.
3. 奥野龍禎, 中辻裕司, 望月秀樹. 脱髄疾患の免疫病態研究最前線と細胞性免疫マーカー Immune pathomechanism and biomarkers for cell-mediated immunity in demyelinating diseases. 最新医学社. 2016, 71巻, 6号, 1111-1116.
4. 山下和哉, 奥野龍禎. 視神経脊髄炎. 日本アフェレシス学会雑誌. 2017;36:14-17

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 山下俊英(2016) 中枢神経炎症の制御及び障害修復機構、第1回Japanese School of Neuroimmunologyシンポジウム (1st JSNI symposium) 口頭、東京(2016.7.17) 国内
2. 山下俊英(2016) 免疫系による中枢神経回路の制御、第18回なにわ整形外科基礎研究会 特別講演 口頭、大阪(2016.8.6) 国内
3. 山下俊英(2017) 多発性硬化症に対する新規抗体治療薬の開発、難治性疾患実用化研究事業免疫アレルギー疾患等実用化研究事業 (免疫アレルギー疾患実用化研究分野) 2016 年度合同成果報告会 ポスター、東京(2017.2.10) 国内
4. Yamashita, T. (2016) RGMa modulates T cell responses and is involved in autoimmune encephalomyelitis. The 1st RGM international symposium, Session Talk 口頭, Awajishima, Japan (2016.4.3). 国外
5. Yamashita, T. (2016) Challenges for finding a cure for patients with the CNS injuries. British Biophysical Society (BBS) 2016 Biennial Meeting, Plenary lecture 口頭, Liverpool, UK (2016.7.7). 国外
6. 多発性硬化症のフィンゴリモドによる治療効果と Sema4A 値の解析. 口頭. 甲田亨, 奥野龍禎, 中辻裕司, 宮崎雄生, 新野正明, 深澤俊行, 南波明子, 山下和哉, 熊ノ郷淳, 佐古田三郎, 望月秀樹. 第 57 回日本神経学会学術大会, 2016/5/19, 神戸. 国内
7. NMOsdにおいて血中 Sema4A は増加する. ポスター. 奥野龍禎, 甲田亨, 宮崎雄生, 新野正明, 宮本勝一, 楠進, 深澤俊行, 熊ノ郷淳, 望月秀樹, 中辻裕司. 第 57 回日本神経学会学術大会, 2016/5/19, 神戸. 国内
8. 多発性硬化症治療選択バイオマーカーSema4A～フィンゴリモドとの関連について. 口頭. 甲田亨, 奥野龍禎, 中辻裕司, 宮崎雄生, 新野正明, 深澤俊行, 南波明子, 山下和哉, 清水幹人, 熊ノ郷淳, 佐古田三郎, 望月秀樹. 第 28 回日本神経免疫学会学術集会, 2016/9/29-9/30, 長崎. 国内

9. NMOsd において血中 Sema4A は増加する. ポスター. 榊原佳織, 奥野龍禎, 甲田亨, 宮崎雄生, 新野正明, 宮本勝一, 楠進, 深沢俊行, 熊ノ郷淳, 望月 秀樹, 中辻裕司. 第 28 回日本神経免疫学会学術集 会, 2016/9/29-9/30, 長崎. 国内
10. Sema4A as a biomarker for the selection of treatment of MS. YUJI NAKATSUJI, TORU KODA, TATSUSADA OKUNO, YUSEI MIYASAKI, MASA AKI NIINO, TOSHIYUKI FUKAZAWA, KAZUSHIRO TAKATA, AKIKO NAMBA, KAZUYA YAMASHITA, MIKITO SHIMIZU, MAKOTO KINOSHITA, SABURO SAKODA, ATSUSHI KUMANOGOH, HIDEKI MOCHIZUKI. The 32nd Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS). 2016/9/14-9/17, London, United Kingdom. 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

(4) 特許出願

なし