

図1 ラット脳外傷部位での HMGB1 の動態

ラットの頭頂部に fluid percussion を加え脳外傷を作製した。受傷局所における神経細胞内 HMGB1 (赤色蛍光) のトランスロケーションを示す (文献 13 より改変引用)。抗 HMGB1 抗体の投与によって、トランスロケーションが抑制されていることがわかる。

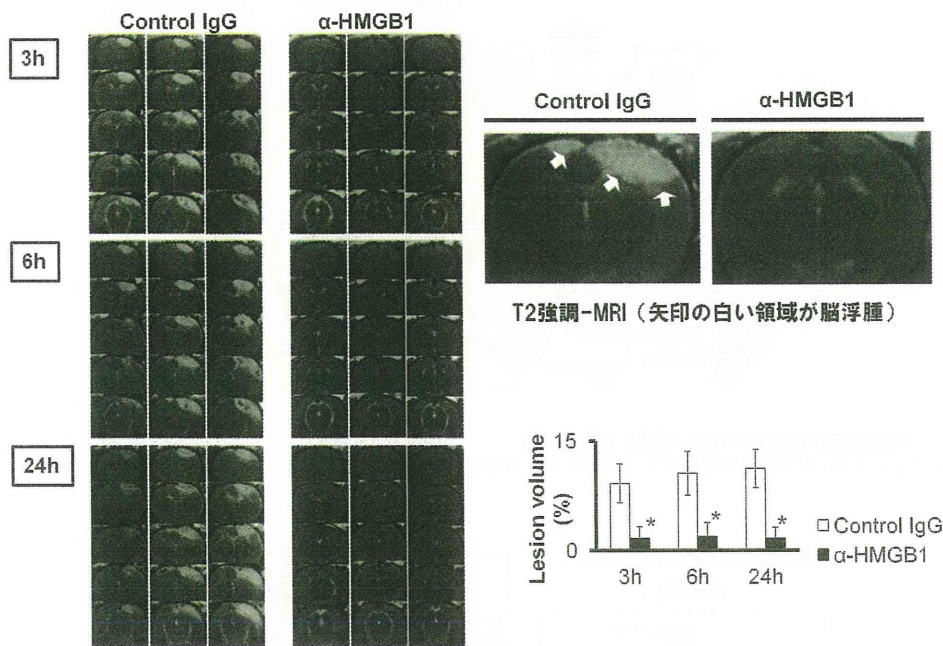


図2 ラット脳外傷後の T2 強調 MRI 画像

ラット脳外傷後の脳浮腫を T2 強調 MRI で評価した。対照群では、受傷後 3, 6, 24 時間のすべての時点で脳浮腫が認められたが、抗 HMGB1 抗体治療群では、脳浮腫領域が殆ど消失しているのがわかる (文献 13 より改変引用)。

察したところ、抗 HMGB1 抗体の投与は観察期間中のいずれの時点においても脳浮腫を抑制していることが確認された。つまり、抗体の効果は症状発現の遅延に基づくものではないことがわかる。抗体治療は、TNF- α や iNOS などの起炎症分子の発現とともに、血管内皮細胞の活性化マーカーである PAI-1 の発現や、

好中球エラスターゼの発現を抑制したことから、広範囲の炎症関連因子の発現抑制に働いていることが示唆された。同時に検討された知覚・運動機能の改善についても抗 HMGB1 抗体は極めて優れた効果を発揮した。Okuma らは、HMGB1 が作用する受容体を検討する目的で、RAGE, TLR-2, TLR-4 ノックアウトマウ

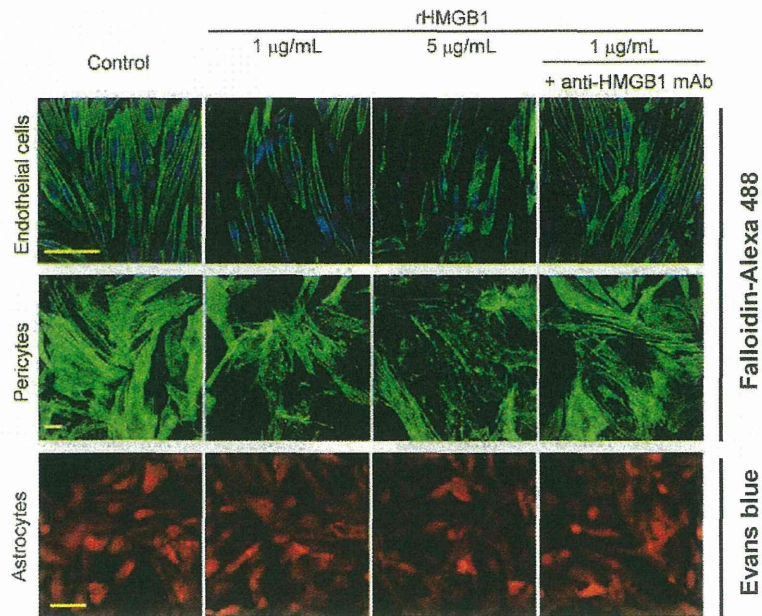


図3 組換え体 HMGB1 の試験管内 BBB 形態に対する効果

試験管内 BBB システムを用いて、組換え体 HMGB1 の BBB に対する直接作用を解析した。組換え体 HMGB1 は、血管内皮細胞と周皮細胞に収縮性変化をもたらしたが、この作用は、抗 HMGB1 抗体の添加で抑制された (文献 2 より引用)。

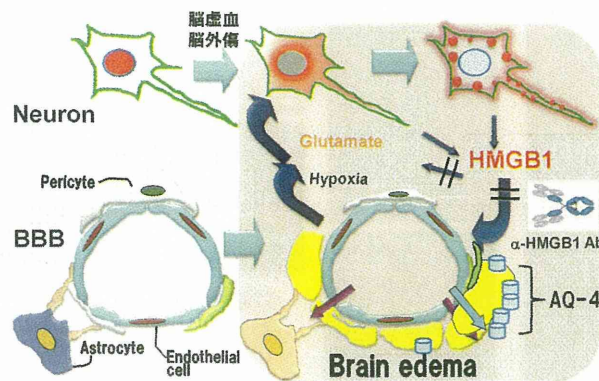


図4 神経細胞からの HMGB1 遊離と BBB 破綻

脳虚血と脳外傷に共通する神経細胞からの HMGB1 遊離と、HMGB1 による BBB 破綻と脳浮腫形成の機序を示す。

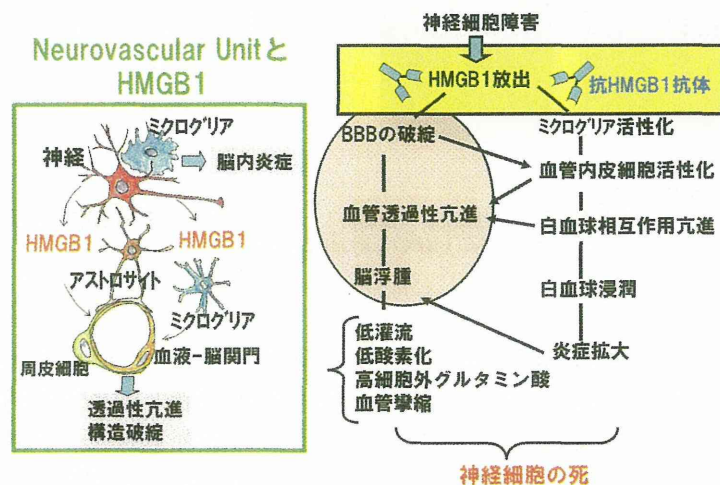


図5 神経障害カスケードと HMGB1

神経-血管ユニットの失調による神経障害カスケードと HMGB1 の果たす役割を示す。

スを用いた実験を行い、RAGE ノックアウトマウスにおいてのみ抗 HMGB1 抗体の効果が消失することを見出し、HMGB1 の作用受容体として、RAGE が最も重要であるとした(13)。臨床治療において重要な治療有効時間帯の検討では、受傷後3時間までは50%以上の脳浮腫抑制が認められることが確認された。Okumaらの他では、Gaoら(14)が、脳外傷後のHMGB1とRAGE発現の変化を報告している。

4. 血液脳関門と HMGB1

Zhangら(2)は、ラット脳の血管内皮細胞、周皮細胞、アストログリア細胞から構成される試験管内の血液脳関門実験系を用いて、組換えヒト HMGB1 が直接血管内皮細胞と周皮細胞に働き、収縮性の反応を惹起することを見出した(図3)。その結果、血液-脳関門の電気抵抗の減少とタンパク質透過性が亢進し、生体位で観察された脳浮腫が説明できるとした。脳虚血と脳外傷に共通すると考えられる神経性 HMGB1 のトランスロケーションと血液脳関門破綻の関係を概念的に図4で示した。図4で示されるように、神経細胞から放出された HMGB1 は、血液-脳関門の構造的・機能的破綻を誘導し脳浮腫の形成に働く。その結果さらなる低酸素状態が惹起され、HMGB1 のトランスロケーションが促進される。抗 HMGB1 抗体治療は、この悪循環を断ち切ることによって HMGB1 のトランスロケーションを抑制できると推測される。

5. 神経因性疼痛と HMGB1

末梢神経の障害後に生じる疼痛過敏現象は、触刺激の疼痛感覚への遷移を伴いアロジニアとよばれている。臨床的には、がん性疼痛、帯状疱疹後疼痛、脊髄神経根障害による疼痛等にこの機序が関与すると考えられている。通常の酸性抗炎症薬(NSAID)は無効で、モルヒネ様の麻薬性鎮痛薬でも奏功しにくい。医学上大きな課題で、現在治療薬開発が世界的に種々のアプローチで行われている。Shibasakiら(15)は、マウスの坐骨神経結紮モデルを用いて、アロジニア形成期の後根神経節で、HMGB1 の mRNA とタンパク質発現が上昇することを見出した。さらに、抗 HMGB1 抗体のクモ膜下腔内投与がアロジニアの形成を抑制することを見出した。Nakamuraら(16)は、ラットのモデルを用いて、一旦形成された神経過敏状態に対し抗 HMGB1 単クローン抗体の1回投与が、投与直後から最低3時間のあいだ、過敏状態の抑制に有効であることを明らかにした。さらに、抗 HMGB1 単クローン抗体の効果は、アロジニア完成後調べられた2.5週まで有効と報

告された。抗 HMGB1 単クローン抗体の作用機序解析の中でNakamuraらは、脊髄後角2次知覚神経の核内 HMGB1 が細胞質へ移行していること、抗体の投与はこの移行を抑制するとともに脊髄後角のミクログリアの活性化と後角神経細胞での c-fos 発現を抑制することを明らかにした。以上の二つの論文報告から、神経因性疼痛の形成期と維持期の両相において、神経細胞由来の HMGB1 が細胞外へ放出され、過敏性の形成に大きな役割を果たしていることが強く示唆される。現在アロジニアの研究では、局所ミクログリアの活性化とグリア-神経相互作用の機序が盛んに研究されている。HMGB1 の役割もそれらカスケードの中に位置付け、理解する必要がある。また、疼痛過敏現象には触覚と痛覚の伝導経路の乗り入れ現象が生じている。このような現象の生物学的基盤となるシナプス新生の機構に HMGB1 がどのように関与しているかを明らかにすることは、今後の大きな課題である。

6. おわりに

HMGB1 が脳梗塞、脳外傷性障害、神経因性疼痛の重要なメディエーターであることが、特異的抗体を用いたターゲットバリデーション実験で明らかにされた。さらに、抗 HMGB1 抗体は、これらの疾患病態に対して有望な治療薬になる可能性が示唆された。関連低分子薬開発を含め、今後の研究が期待される。神経-血管ユニットの失調による神経障害カスケードと HMGB1 の果たす役割を概念図として図5に示した。

著者の利益相反：開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) Liu K, et al. FASEB J. 2007;21:3904-3916.
- 2) Zhang J, et al. Stroke. 2011;42:1420-1428.
- 3) Wang H, et al. Science. 1999;285:248-251.
- 4) Lotze MT, et al. Nature Rev Immunol. 2005;5:331-342.
- 5) Faraco G, et al. J Neurochem. 2007;103:590-603.
- 6) Kim JB, et al. J Neurosci Res. 2008;86:1125-1131.
- 7) Qui J, et al. J Cereb Blood Flow Metab. 2008;28:927-938.
- 8) Hayakawa K, et al. Stroke. 2008;39:951-958.
- 9) Kikuchi K, et al. J Pharmacol Exp Ther. 2009;329:865-874.
- 10) Andersson U, et al. Annu Rev Immunol. 2011;29:139-162.
- 11) Muhammad S, et al. J Neurosci. 2008;28:12023-12031.
- 12) Shichita T, et al. Nat Med. 2012;18:911-917.
- 13) Okuma Y, et al. Ann Neurol. 2012;72:373-384.
- 14) Gao TL, et al. J Trauma. 2012;72:643-649.
- 15) Shibasaki M, et al. Pain. 2010;149:514-521.
- 16) Nakamura Y, et al. PLoS One. In press.

DAMPs : HMGB1 の脳神経障害作用

西堀正洋

Nishibori Masahiro

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
生体薬物制御学講座薬理学分野

Summary

High mobility group box-1 (HMGB1) は、細胞核内に存在する非ヒストン性 DNA 結合蛋白質である。細胞壊死や細胞活性化に伴い細胞外へ放出されると、HMGB1 は receptor for advanced glycation endproduct (RAGE) や Toll 様受容体 (TLR) と結合し、さまざまな起炎性作用を発揮する。脳内においても種々の神経障害によって神経細胞核から細胞外への放出が確認されており、脳内炎症の進展に重大な役割を果たすことが明らかになってきた。ダメージ関連分子パターン (DAMPs) の代表と位置づけられるようになった HMGB1 の虚血脳障害、脳外傷、脳血管攣縮、神経因性疼痛における役割と治療的アプローチについて概説する。

Key Words

・ high mobility group box-1 (HMGB1) ・ 血液脳関門 (BBB) ・ 抗体医薬 ・ 脳浮腫 ・ 脳内炎症

はじめに

1999 年、Tracey らの研究グループ¹⁾によってマウスのエンドトキシン血症の致死性メディエーターとして、high mobility group box-1 (HMGB1) が同定された。彼らは、マウスのマクロファージ系細胞 RAW264.7 をリポポリサッカライド (lipopolysaccharide : LPS) で刺激したときに、一定時間をおいて培地中で増加してくる因子に注目し、HMGB1 を同定した。さらに、致死性のマウスエンドトキシン血症モデルにおいて抗 HMGB1 ポリクローナル抗体が致死率を低下させること、LPS 投与に組換え HMGB1 を加えると生存率が低下すること、さらに敗血症患者では血中 HMGB1 が高値を示すことから、彼らは HMGB1 がエンドトキシン血症の致死性メディエーターであると示唆した¹⁾。その後、熱ショック蛋白、尿酸、ミトコンドリア DNA、S100 蛋白ファミリー、 β アミロイドペプチド、アデノシン三リン酸 (adenosine triphosphate : ATP) など、非常に多様な分子群が生体構成要素由来のダメージ関連分子パターン (damage-associated molecular patterns : DAMPs) として理解されるなか、HMGB1 は DAMPs の代表と考えられるようになってきた²⁾。

一方 HMGB1 は、神経突起伸展活性を指標として新生ラット脳組織から精製され^{3) 4)}、正負の荷電性の強い因子として amphotericin と呼ばれてきた。脳神経系の発生と発達における機能解析はその後現在まで大きなブレイクスルーがみられなかったが、成熟動物の脳内炎症、とくに血液脳関門 (blood-brain barrier : BBB) の

一方 HMGB1 は、神経突起伸展活性を指標として新生ラット脳組織から精製され^{3) 4)}、正負の荷電性の強い因子として amphotericin と呼ばれてきた。脳神経系の発生と発達における機能解析はその後現在まで大きなブレイクスルーがみられなかったが、成熟動物の脳内炎症、とくに血液脳関門 (blood-brain barrier : BBB) の

機能ならびに形態変化に關与する HMGB1 のはたらきについては、多くの情報が蓄積されてきた^{5)~7)}。本総説では、脳虚血-再還流後の脳梗塞、脳外傷、神経因性疼痛に焦点をあて、これらの疾患病態における HMGB1 の役割と、候補治療薬としての抗 HMGB1 単クローン抗体の可能性についてまとめる。

1. 脳虚血障害と HMGB1

脳虚血障害と HMGB1 の関連性を最初に報告したのは Kim ら⁵⁾ である。彼らは、脳虚血後のペナンブラ領域における遺伝子発現の変化につき解析し、発現上昇をきたす遺伝子として HMGB1 遺伝子を同定した。彼らは、*in vivo* で HMGB1 蛋白発現を抑制するため short hairpin RNA (shRNA) を設計し、これをマイクロインジェクションによって局所投与した。そして shRNA 投与局所における HMGB1 蛋白発現誘導の抑制と局所ミクログリアの活性化ならびに腫瘍壊死因子 α (tumor necrosis factor- α : TNF- α) 遺伝子発現の抑制がきわめて相関すること、それが結果的に神経細胞死の抑制につながることを報告した⁵⁾。

Liu ら⁶⁾ は、脳梗塞急性期の脳内炎症の進展が最終的に形成される脳梗塞巣の増大につながるとの仮説のもとに、抗 HMGB1 単クローン抗体によるターゲットバリデーションを試みた。複数の単クローン抗体を作製し、15 アミノ酸残基長の合成ペプチドを用いて個々の抗体のエピトープが決定された。HMG はファミリーを構成しているため、HMGB1 特異的抗体として HMGB1 蛋白にのみ存在する C 末端領域 (DEEEDDDDE) を認識する抗体が選ばれた (図 1)。ラットの中大脳動脈 2 時間閉塞-再灌流後の脳梗塞形成に対する本抗体の投与効果は、再灌流直後とさらにその 6 時間後の末梢尾静脈内投与で検討された⁶⁾。つまり、臨床での使用と同様に卒中発作後の投与プロトコルとされた。図 2 に示すように、再灌流 24 および 48 時間後の triphenyltetrazolium chloride (TTC) を用いた染色で、対照動物では虚血側半球のかなりの範囲に広がる梗塞巣が形成されるのに対し、抗 HMGB1 抗体投与群ではそれぞれ 90% および

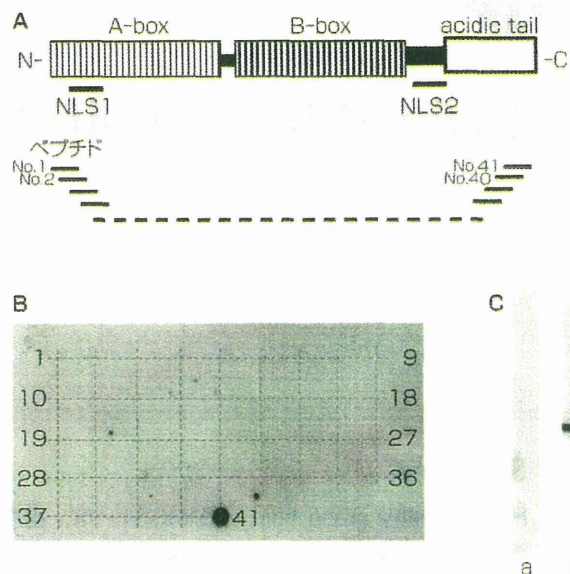


図 1 抗 HMGB1 単クローン抗体

A : HMGB1 のドメイン構造とエピトープ決定に用いた 15 アミノ酸残基長の合成ペプチド。B : 合成ペプチドを用いたエピトープの決定。No.1 から No.41 までの合成ペプチド各 0.5 μ g を Ultra Bind Membrane に順にスポットし、風乾後、抗 HMGB1 ラット単クローン抗体 (#10-22)、POD 標識抗ラット IgG ヤギ抗体、ケミルミネッセンス法でプロットした。No.41 が陽性反応を示した。C : 健常ラット脳ホモジネート上清を抗原とした抗 HMGB1 ラット単クローン抗体によるウェスタンブロット。レーン a : 対照抗体 (クラスマッチした抗 *Keyhole Limpet* hemocyanin 抗体)。レーン b : 抗 HMGB1 ラット単クローン抗体 (#10-22) HMGB1 : high mobility group box-1. NLS : nuclear localization signal (核局在化配列)。POD : peroxidase (ペルオキシダーゼ)。IgG : immunoglobulin G (免疫グロブリン G)

(Liu K *et al.* 2007⁶⁾ より改変引用)

75%抑制された。梗塞サイズの縮小効果が必ずしも神経症状の改善につながっていないのではないかと動物モデル実験に対する批判があるが、再灌流後 24 時間まで測定した rota-rod 上での歩行時間を指標にした運動麻痺機能の評価でも、著明な運動機能改善効果が証明された。以上の結果から、抗 HMGB1 単クローン抗体は、卒中発作後の投与によっても脳梗塞サイズの縮小と運動麻痺症状の軽減化をはかれる治療法であることが示唆された。

虚血脳における HMGB1 の局在は再灌流後 12 時間で

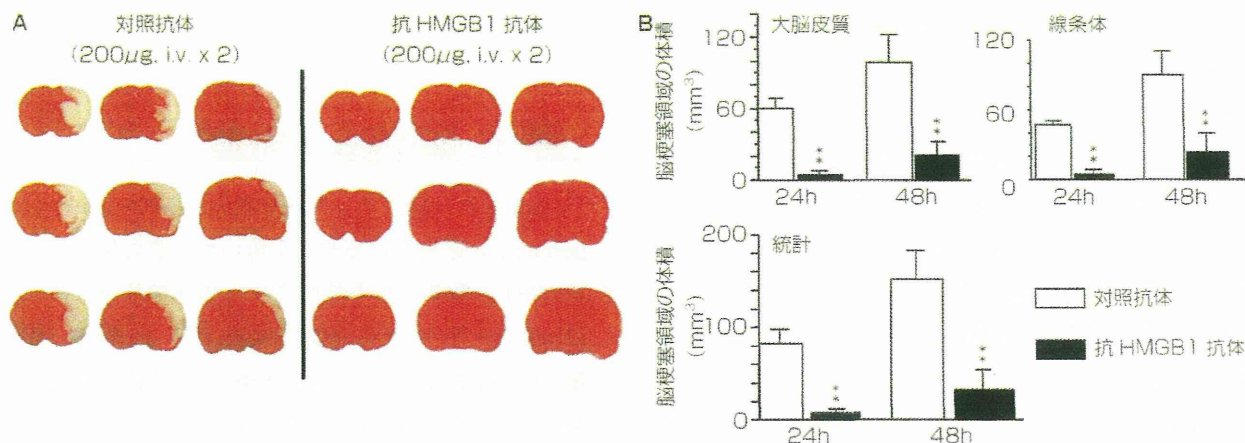


図2 抗HMGB1抗体のラットMCAO脳梗塞に対する効果

A：ハロタン麻酔下に、シリコンコーティングを施したナイロン縫合糸を塞栓子として、中大脳動脈（MCA）起始部を2時間閉塞し、その後再灌流した。抗体は再灌流直後とその6時間後の2回、尾静脈より各200 μ gを投与した。再灌流24時間後、前頭断面の2mm厚脳スライスにtriphenyltetrazolium chlorideによる染色を施し、脳梗塞部位を白色領域として同定した。各群、3個体のデータを示す。B：再灌流24および48時間後の脳梗塞領域の体積を、大脳皮質と線条体部位について定量化した。* $P < 0.01$ で対照抗体投与群と比較し、有意に減少したことを示す。

HMGB1：high mobility group box-1。MCAO：middle cerebral artery occlusion（中大脳動脈閉塞術）

（Liu K *et al.* 2007⁶より改変引用）

検討され、虚血コア領域では、ほとんどの細胞核がHMGB1陰性に変化していた⁷⁾。この知見は、HMGB1が虚血部位細胞の核内から細胞外へ放出されることを想像させる。また、抗HMGB1抗体の投与がこのようなHMGB1の消失現象をも抑制したことは、細胞外に放出されたHMGB1による細胞内HMGB1放出促進（ポジティブフィードバック）の機構が存在することを強く示唆している。さらに複数のグループ^{8)~10)}からHMGB1の細胞内トランスロケーションならびに消失に関する詳細な報告が相次いだ。それらを総合すると、HMGB1の核内から細胞質への移動と、さらに細胞外への放出は、脳虚血の早期から生じていると推測される。エバンスブルーを用いた脳血管の透過性の測定において、再灌流3時間の時点で明らかな透過性の亢進が認められた。また同時点で脳を固定し透過型電子顕微鏡で観察したところ、エバンスブルー（アルブミン）の漏出をきたした脳部位では、BBBを構成するアストログリア細胞のエンドフィートの腫脹が著明であり、またエンドフィートの細胞形質膜が内皮細胞基底膜から遊離した像がしばしば観察された⁷⁾。このように、脳虚血後の脳血管、とくにBBBを

構成する血管内皮細胞レベルでの著明な変化は、再灌流モデルでは再灌流3時間以内ですでに発生していると推測された。ラットモデルにおいて、BBBの構造的ならびに機能的破綻が再灌流3時間後に顕著に認められることは、臨床における組織プラスミノゲン活性化因子（tissue plasminogen activator：t-PA）の有効治療時間帯が卒中発作後3時間であることも一致する。この時間帯を超えるとt-PAの脳内移行が増加し、有害作用につながる事が十分予想される。抗HMGB1抗体による治療は、この最初期応答としての脳血管透過性亢進を抑制することができるかもしれない。同様に、抗体投与は虚血領域のミクログリアの活性化、マトリックスメタロプロテアーゼ9（matrix metalloproteinase-9：MMP-9）蛋白発現、TNF- α および誘導型一酸化窒素合成酵素（inducible nitric oxide synthase：iNOS）発現など脳内炎症の進行を促す種々の要因を抑制した⁶⁾が、これらの観察は、再灌流後6~12時間後の時点でおこなわれている。再灌流後3時間以内に発生するBBBの破綻現象は、文献的報告を含めて最初期応答の一つととらえることができるが、この時間内に進行する脳血管障害の分子機序

をさらに明らかにする必要がある。そのことによって、新規の分子標的が見出される可能性があると考えられる。Qiuらの観察¹⁰⁾によると、HMGB1の細胞内トランスロケーションは中大脳動脈閉塞1時間ですでにスタートしており、その一部は細胞外へ放出しているようにみえる。このように、細胞核内にかなりの量が構成的に発現しているHMGB1は、虚血シグナルのセンシングによってきわめて早期に動員されるメディエーターの可能性はある。

Hayakawaら¹¹⁾は、ミノサイクリンの脳梗塞抑制作用を、HMGB1の発現抑制と関連づけた。また、Kikuchiら¹²⁾は、わが国における脳梗塞治療薬のエタラボンが、HMGB1のトランスロケーションを抑制することを見出した。このように、既存薬のなかにもその作用の一部にHMGB1の発現や遊離抑制が関与するものが存在するようであり、今後さらに検討をつづける必要がある。HMGB1の受容体の一つはreceptor for advanced glycation endproduct (RAGE)であると考えられている²⁾。RAGEのノックアウトマウスを用いた脳梗塞実験結果が報告された¹³⁾。それによると、RAGEノックアウトでは野生型マウスに比較し生じる梗塞巣が小さく、マクロファージ系細胞の活性化が減弱していた¹³⁾。またこの報告のなかで、抗HMGB1ウサギポリクローナル抗体の腹腔内投与が野生型マウスの脳梗塞を縮小すること、さらに抗体は脳虚血部位に到達していることが免疫組織化学的に示された。このように、脳梗塞急性期におけるHMGB1-RAGE系の役割が、徐々に明らかにされてきている。

Shichitaら¹⁴⁾は、樹状細胞の活性化を指標に脳組織由来の新規DAMPsの精製による探索をおこない、peroxiredoxin familyを同定した。彼らは、脳虚血後6時間までの時間帯におけるHMGB1の役割と、12~24時間までの時間帯におけるperoxiredoxinの役割をあわせて見出し、虚血後の時間依存的なメディエーターの役割を示唆した¹⁴⁾。peroxiredoxinは、マクロファージ系細胞の活性化によるインターロイキン23 (interleukin-23: IL-23)の産生とその下流でのIL-17産生が炎症惹起に重要であるとされた。HMGB1とperoxiredoxinそれぞれ

れに対する抗体治療法が提案されている。

● 2. 脳外傷とHMGB1

Okumaら¹⁵⁾は、ラットの脳表面に脳硬膜上からfluid percussionを加えるモデルを用いて、脳外傷におけるHMGB1の動態と外傷性脳炎症の病態解析ならびに抗HMGB1抗体の効果を詳細に解析した。その結果、脳外傷の受傷部位である大脳皮質と海馬錐体細胞における神経細胞内HMGB1のトランスロケーションの時間ならびに移行パターンが、脳虚血障害の場合と酷似していることを明らかにした。彼らは、受傷脳部位からはHMGB1が消失していくこと、神経から放出されたHMGB1の一部は循環血中へ出て血漿HMGB1の上昇につながることを示した。抗HMGB1抗体の投与によってこのトランスロケーションそのものが強く抑制されることを示した。さらに、抗体投与が受傷直後であった場合には、脳外傷に伴う脳血管透過性亢進と脳浮腫は85%抑制されることを示した(図3)。T2強調MRIでの撮像(図4)で受傷後の脳浮腫を経時的に観察したところ、抗HMGB1抗体の投与は観察期間中のいずれの時点においても脳浮腫を抑制していることが確認された。同時に検討された知覚・運動機能の改善についても抗HMGB1抗体はきわめてすぐれた効果を発揮した。Okumaraは、HMGB1が作用する受容体を検討する目的で、RAGE、Toll様受容体2 (Toll-like receptor-2: TLR-2)、TLR-4ノックアウトマウスを用いた実験をおこない、RAGEノックアウトマウスにおいてのみ抗HMGB1抗体の効果が消失することを見出し、HMGB1の作用受容体として、RAGEが最も重要であるとした¹⁵⁾。臨床治療において重要な治療有効時間帯の検討では、受傷後3時間までは50%以上の脳浮腫抑制が認められることが確認された。

Arimitsuら¹⁶⁾は、ウサギの自己血を大槽内に投与するクモ膜下出血モデルを用いて、出血後の脳血管攣縮を評価した。このモデルにおいて、出血3日目に最大となる脳底動脈の攣縮に対し、抗HMGB1抗体の投与は血管攣縮を50%抑制した。また、脳室上細胞層のHMGB1が消失していることが示されたが、抗体の血管攣縮抑制

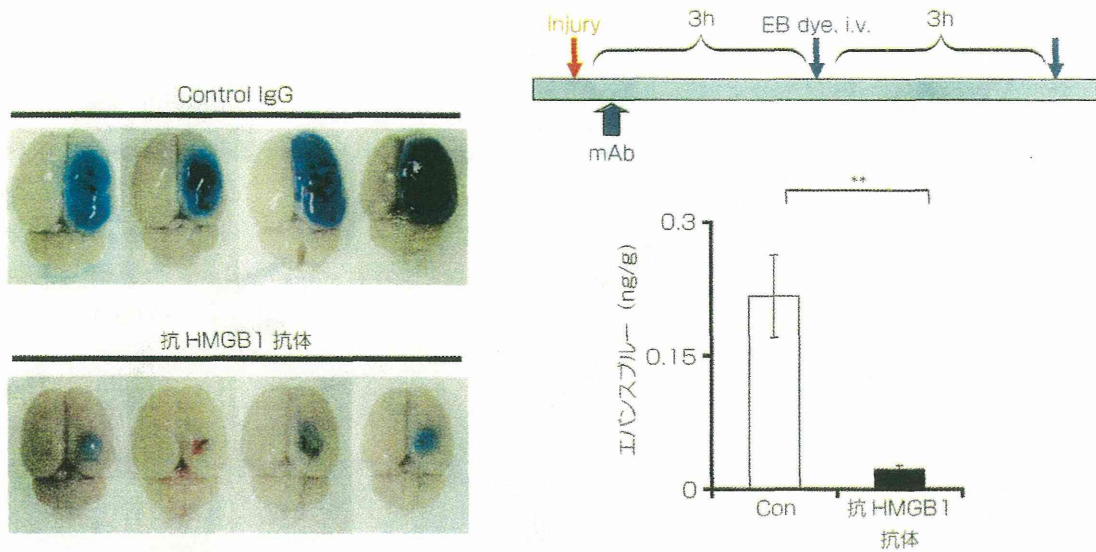


図3 抗 HMGB1 抗体のラット脳外傷に対する効果

脳血管の透過性をエバンスブルーの脳実質への漏出で測定した。エバンスブルーは、脳外傷受傷後3時間の時点で尾静脈から投与(40mg/kg)し、その3時間後に色素の脳内移行量を測定した。**P<0.01で対照抗体投与群と比較し、有意に減少したことを示す。

HMGB1: high mobility group box-1, IgG: immunoglobulin G (免疫グロブリンG), EB: evans blue (エバンスブルー), mAb: monoclonal antibody (単クローン抗体)

(Okuma Y *et al.* 2012²⁵ より改変引用)

機序はまだ解明されていない。

3. BBB と HMGB1

Zhang ら²¹ は、ラット脳の血管内皮細胞、周皮細胞、アストログリア細胞から構成される試験管内の BBB 実験系を用いて、組換えヒト HMGB1 が直接血管内皮細胞と周皮細胞にはたらき、収縮性の反応を惹起することを見出した。その結果、血管床の蛋白透過性が亢進し、生体位で観察された脳浮腫が説明できるとした。脳虚血と脳外傷に共通すると考えられる神経性 HMGB1 のトランスロケーションと BBB 破綻の関係を概念的に図6に示した。

4. 神経因性疼痛と HMGB1

末梢神経の障害後に生じる疼痛過敏は、アロディニアと呼ばれている。この神経因性疼痛に対しては麻薬性鎮

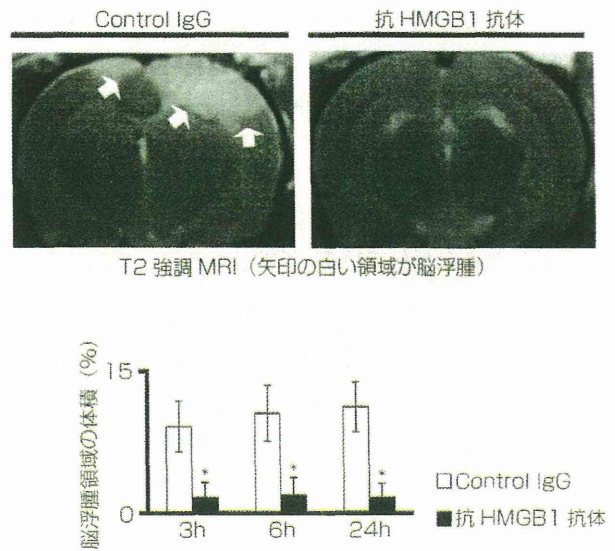


図4 抗 HMGB1 抗体のラット外傷性脳浮腫に対する効果

脳外傷後6時間の時点における対照と抗 HMGB1 抗体治療ラットの典型的な T2 強調 MRI 画像を示す。下のグラフは、画像から脳浮腫領域の体積を各個体について求めた結果を示している。

HMGB1: high mobility group box-1, IgG: immunoglobulin G (免疫グロブリンG)

(Okuma Y *et al.* 2012²⁵ より改変引用)

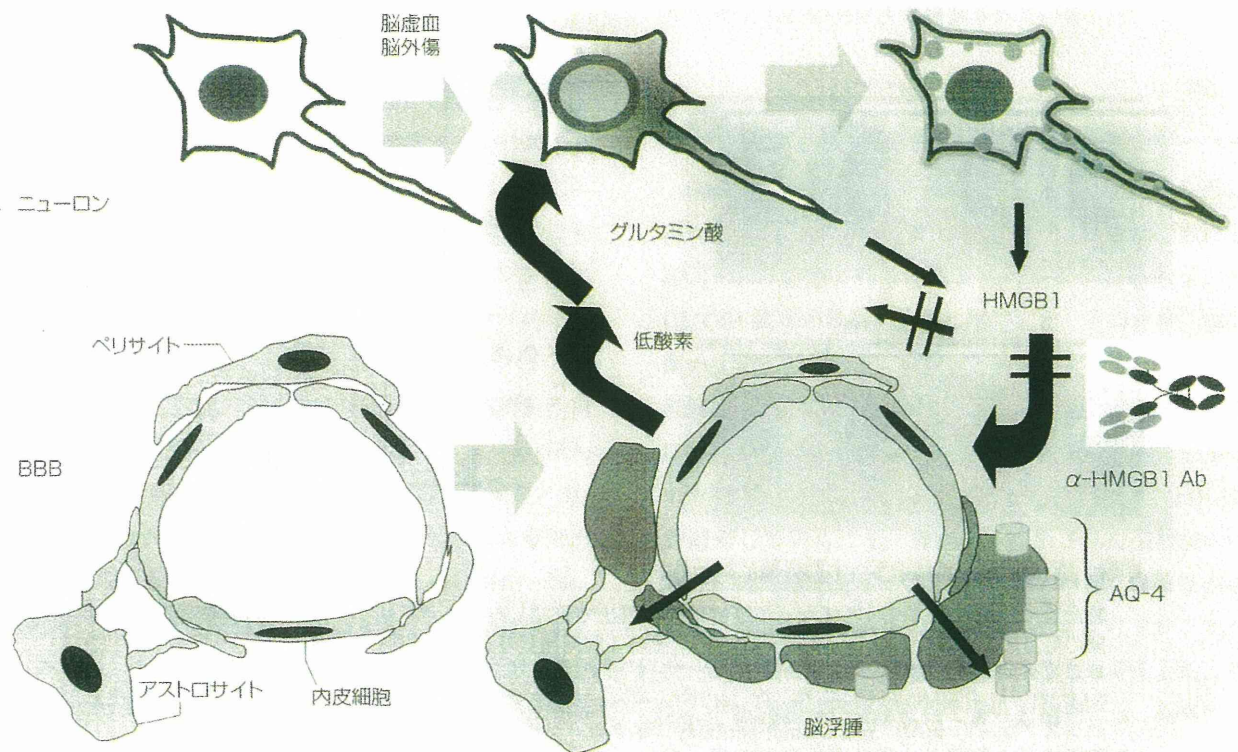


図5 神経細胞からのHMGB1の遊離とBBB破綻

脳虚血 core や脳外傷局所の障害された神経細胞では、細胞核に局在しているHMGB1のトランスロケーションが超急性期において進行する。その結果、細胞質分画からさらに細胞外へのHMGB1の放出が起こり、BBBの構成細胞である血管内皮細胞と周皮細胞に収縮性変化をもたらす。このような機能変化が脳血管透過性亢進につながり、脳浮腫が形成されていく。

HMGB1: high mobility group box-1, BBB: blood-brain barrier (血液脳関門)

痛薬でも奏効しにくく、現在治療薬開発が種々のアプローチでおこなわれている。Shibasakiら¹⁷⁾は、マウスの坐骨神経結紮モデルを用いて、アロディニア形成期の後根神経節で、HMGB1の messenger RNA (mRNA) と蛋白発現が上昇することを見出した。さらに、抗HMGB1抗体のクモ膜下腔内投与がアロディニアの形成を抑制することを見出した。Nakamuraら¹⁸⁾は、ラットのモデルを用いて、一旦形成された神経過敏状態に対し抗HMGB1単クローン抗体の1回投与が、投与直後から最低3時間の間過敏状態の抑制に有効であることを明らかにした。さらに、抗HMGB1単クローン抗体の効果は、アロディニア完成後調べられた2.5週まで有効と報告された。抗HMGB1単クローン抗体の作用機序解析のなかでNakamuraらは、脊髄後角2次知覚神経

の核内HMGB1が細胞質へ移行していること、抗体の投与はこの移行を抑制するとともに脊髄後角のミクログリアの活性化と後角神経細胞でのc-fos発現を抑制することを明らかにした¹⁸⁾。以上の結果から、神経因性疼痛の形成期と維持期の両相において、神経細胞由来のHMGB1が細胞外へ放出され、過敏性の形成に大きな役割を果たしていることが強く示唆された。現在アロディニアの研究では、局所ミクログリアの活性化とグリア-神経相互作用の機序が盛んに研究されている。HMGB1の役割もそれらカスケードのなかに位置付け、理解する必要がある。

おわりに

虚血性あるいは外傷性の原因を問わず、脳の神経細胞の障害時には細胞核から細胞外へのHMGB1の放出が共通して生じるように見える。この反応は遺伝子転写・蛋白翻訳などのステップを介さないため、きわめてすばやく進行する。HMGB1のトランスロケーション過程は、厳密に制御されていると想像されるが、その詳細はほとんど明らかになっておらず、今後の課題である。HMGB1が組織の再生を誘導するとの報告が散見されており、中枢神経系においても、興味をもたれるところである。脳の広範囲の障害という過激な病態下においては、HMGB1がBBBの破綻に与するのは確実と思われる。一方、マイルドな形でのHMGB1の分泌とそれに対応する生理的機能は存在するのであろうか、今後の研究に待ちたい。

【文献】

- 1) Wang H *et al* : HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* **285** : 248-251, 1999
- 2) Andersson U *et al* : HMGB1 is a therapeutic target for sterile inflammation and infection. *Annu Rev Immunol* **29** : 139-162, 2011
- 3) Rauvala H *et al* : Isolation and some characteristics of an adhesive factor of brain that enhances neurite outgrowth in central neurons. *J Biol Chem* **262** : 16625-16635, 1987
- 4) Merenmies J *et al* : 30-kDa heparin-binding protein of brain (amphoterin) involved in neurite outgrowth. *J Biol Chem* **266** : 16722-16729, 1991
- 5) Kim JB *et al* : HMGB1, a novel cytokine-like mediator linking acute neuronal death and delayed neuroinflammation in the postischemic brain. *J Neurosci* **26** : 6413-6421, 2006
- 6) Liu K *et al* : Anti-high mobility group box 1 monoclonal antibody ameliorates brain infarction induced by transient ischemia in rats. *FASEB J* **21** : 3904-3916, 2007
- 7) Zhang J *et al* : Anti-high mobility group box-1 monoclonal antibody protects the blood-brain barrier from ischemia-induced disruption in rats. *Stroke* **42** : 1420-1428, 2011
- 8) Faraco G *et al* : High mobility group box 1 protein is released by neural cells upon different stresses and worsens ischemic neurodegeneration *in vitro* and *in vivo*. *J Neurochem* **103** : 590-603, 2007
- 9) Kim JB *et al* : Induction and subcellular localization of high-mobility group box-1 (HMGB1) in the postischemic rat brain. *J Neurosci Res* **86** : 1125-1131, 2008
- 10) Qiu J *et al* : Early release of HMGB-1 from neurons after the onset of brain ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* **28** : 927-938, 2008
- 11) Hayakawa K *et al* : Delayed treatment with minocycline ameliorates neurologic impairment through activated microglia expressing a high-mobility group box1-inhibiting mechanism. *Stroke* **39** : 951-958, 2008
- 12) Kikuchi K *et al* : The free radical scavenger edaravone rescues rats from cerebral infarction by attenuating the release of high-mobility group box-1 in neuronal cells. *J Pharmacol Exp Ther* **329** : 865-874, 2009
- 13) Muhammad S *et al* : The HMGB1 receptor RAGE mediates ischemic brain damage. *J Neurosci* **28** : 12023-12031, 2008
- 14) Shichita T *et al* : Peroxiredoxin family proteins are key initiators of post-ischemic inflammation in the brain. *Nat Med* **18** : 911-917, 2012
- 15) Okuma Y *et al* : Anti-high mobility group box-1 antibody therapy for traumatic brain injury. *Ann Neurol* **72** : 373-384, 2012
- 16) Arimitsu K *et al* : Unpublished observation.
- 17) Shibasaki M *et al* : Induction of high mobility group box-1 in dorsal root ganglion contributes to pain hypersensitivity after peripheral nerve injury. *Pain* **149** : 514-521, 2010
- 18) Nakamura Y *et al* : Neuropathic pain in rats with partial sciatic nerve ligation is alleviated by intravenous injection of monoclonal antibody to high mobility group box-1. *PLoS One* **8** : e73640, 2013