

（課題名） ギラン・バレー症候群での血液神経関門破綻メカニズムの解析

分担研究者 神田 隆

共同研究者 ○清水文崇, 古賀道明, 佐藤亮太, 竹下幸男, 西原秀昭, 前田敏彦

山口大学大学院 医学系研究科 臨床神経学

研究要旨

ギラン・バレー症候群 (GBS) では, 血液神経関門 (BNB) の破綻が発症・増悪に関与するが, その詳細な分子メカニズムは今まで解明されていなかった. 本研究では, 急性期GBS患者由来免疫グロブリンG (IgG) がヒトBNB構成内皮細胞株に及ぼす影響を解析した. GBS患者由来IgGはBNB構成内皮細胞のNF- κ B p65核内移行率を有意に増加させ, 透過性亢進を引き起こした. RNAシーケンス解析では, NF- κ Bがパスウェイの中心となり, 核内低分子リボ蛋白質の変化やCXCR5の増加が確認できた. ハイコンテントイメージングシステムでは核内低分子リボ蛋白質(snRNP, SNAPC1)の変化, CXCR5の増加, claudin-5低下が確認できた. 本研究でGBS患者IgGがBNB内皮細胞に作用するとU1 snRNP低下によりNF- κ Bシグナルを活性化させる可能性, NF- κ B活性化を介してclaudin-5低下によりBNBバリア機能を低下させる可能性, CXCR5発現増加によりリンパ球やマクロファージの末梢神経内侵入を惹起する可能性が示された.

A. 研究目的

ギラン・バレー症候群 (GBS) では, 血液神経関門 (blood-nerve barrier: BNB) の破綻が発症・増悪に関与する 1). 病理学的には末梢神経内にマクロファージ/T リンパ球浸潤が確認される 2). 本研究では, 急性期 GBS 患者由来免疫グロブリン G (IgG) をヒト BNB 構成内皮細胞株に作用させて, GBS での BNB 破綻メカニズムを解明した.

B. 研究方法

当科で樹立した条件的不死化 BNB 構成内皮細胞株を用いた.

(実験 1) 急性期 GBS76 例/炎症性神経疾患 24 例/神経変性疾患 27 例/健常成人 24 例の血清から IgG を精製し, 我々が樹立したヒト BNB 由来内皮細胞株に作用させ, ハイコンテントイメージングシステムを用いて NF- κ B p65 核内移行率を定量化した.

(実験 2) ヒト BNB 構成内皮細胞株に患者 IgG (GBS19 例/コントロール 32 例) を作用させて 10kDa-デキストラン透過性を検討した.

(実験 3) GBS4 例/健常者 4 例の IgG を BNB 構成内皮細胞株に作用させて変化する分子を RNA シーケンスで網羅的に解析した.

(実験 4) 実験 3 で変化がみられた分子が蛋白レベルで変化するかを GBS22 例/健常 7 例でハイコンテントイメージングシステムを用いて確認した.

(倫理面への配慮)

患者由来IgGを使用するに当たり, 山口大学医学部倫理委員会による承認を得た. 個人が特定できないようにサンプルを匿名化し, プライバシーの保護に配慮した.

C. 研究結果

(実験1) GBS患者群ではBNB構成血管内皮細胞株のNF- κ B p65核内移行率が有意に高かった. 特に, C. jejuni, H. influenzae, M. pneumoniae感染後GBS患者, GM1, GT1a, GQ1b抗体陽性GBSでNF- κ B核内移行率が高かった.

(実験2) GBS患者群では有意に透過性亢進が確認された.

(実験3) パスウェイ解析ではNF- κ Bがパスウェイの中心となり, 核内低分子リボ蛋白質の変化やCXCR5の増加が確認できた.

(実験4) GBS患者で核内低分子リボ蛋白質(snRNP, SNAPC1)の変化, CXCR5の増加, claudin-5低下が確認できた.

D. 考察

CXCR5はケモカイン受容体の一つでマクロファージに発現するCXCL13と結合し, マクロファージ遊走に関与する. snRNPはプレmRNAからイントロンを除去しmRNA産生するスプライソームに関与する核内リボ蛋白質である. 癌細胞では, U1 snRNPの機能低下が癌細胞を活性化させる.

本研究によりGBS患者IgGがBNB血管内皮細胞に作用するとU1 snRNP低下によりNF- κ Bシグナルを活性化させる可能性, NF- κ B活性化を介してclaudin-5低下によりBNBバリア機能を低下させる可能性, CXCR5発現増加によりリンパ球やマクロファージの末梢神経内侵入を惹起する可能性が示された.

参考文献)

- 1) 清水文崇, 古賀道明, 神田 隆. ギラン・バレー症候群と血液神経関門の破綻. 末梢神経 30(1): 36-41; 2019
- 2) Ubogu EE. Inflammatory neuropathies: pathology, molecular markers and targets for specific therapeutic intervention. Acta Neuropathol 2015; 130: 445-468.

E. 結論

GBS 患者由来の IgG が BNB を破綻する分子メカニズムを明らかとした。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Takeshita Y, Fujikawa S, Serizawa K, Fujisawa M, Matsuo K, Nemoto J, Shimizu F, Sano Y, Tomizawa-Shinohara H, Miyake S, Ransohoff RM, Kanda T. New BBB Model Reveals That IL-6 Blockade Suppressed the BBB Disorder, Preventing Onset of NMOSD. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm. 2021; 8(6): e1076.

2) Shimizu F, Ogawa R, Mizukami Y, Watanabe K, Hara K, Kadono C, Takahashi T, Misu T, Takeshita Y, Sano Y, Fujisawa M, Maeda T, Nakashima I, Fujihara K, Kanda T. GRP78 Antibodies Are Associated With Blood-Brain Barrier Breakdown in Anti-Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Antibody-Associated Disorder. Neurol

Neuroimmunol Neuroinflamm. 2021 Nov 1;9(1):e1038.

2. 学会発表

1) Shimizu F, Ogawa R, Takahashi T, Takeshita Y, Misu T, Sano Y, Maeda T, Nakashima I, Fujihara K, Kanda T

Blood-brain barrier-breakdown in anti-myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody associated disorders 第 62 回日本神経学会学術大会. 京都, 2021 年 5 月 19 日

2) 清水文崇, 古賀道明, 佐藤亮太, 竹下幸男, 佐野泰照, 松影 顕, 藤井菜月美, 前田敏彦, 神田 隆. ギラン・バレー症候群での血液神経関門破綻メカニズムの解析. 第 33 回日本神経免疫学会学術集会. 佐賀 (Web 開催). 2021 年 10 月 21 日.

3) 清水文崇, 古賀道明, 佐藤亮太, 竹下幸男, 佐野泰照, 松影 顕, 藤井菜月美, 前田敏彦, 神田 隆. ギラン・バレー症候群での血液神経関門破綻メカニズムの解析. 第 32 回日本末梢神経学会学術集会. 和歌山 (Web 開催). 2021 年 9 月 10 日.

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |