

## 抗リン脂質抗体症候群・全身エリテマトーデス関連神経障害のモデル動物作成

渥美達也

北海道大学大学院医学研究院 免疫・代謝内科学教室

### 【研究の背景】

膠原病を代表する全身性エリテマトーデス(SLE)やその関連疾患である抗リン脂質抗体症候群(APS)にみられる中枢神経症状は難治性であり、患者の生命予後を左右するだけでなく、患者の生活の質に直結する。APSは抗リン脂質抗体(aPL)と呼ばれる病原性自己抗体が産生され、再発性血栓症や習慣流産などを引き起こす自己免疫疾患である。APSの半数はSLEに合併し、疾患スペクトラムはSLEに類似する。また、APSでもSLEと同様に低補体血症が報告されており、aPLを介した補体古典経路の活性化が想定されている<sup>1)</sup>。

SLEに合併しないAPS(原発性APS)でも、脳梗塞のほかに、てんかん、舞踏病、横断性脊髄症、多発性硬化症様病態、認知機能障害など特長ある神経疾患が比較的高頻度に認められ、aPL関連神経疾患とよばれる。SLEの多様な中枢神経症状の主要な病態のひとつがこのaPL関連神経疾患に属すると考えている。

### 【目 的】

aPLが神経系細胞にどのような変化をもたらすのかを探求し、その責任分子や細胞を明らかにする。

### 【方 法】

代表的なaPLである抗 $\beta_2$ グリコプロテイン1( $\beta_2$ GPI)抗体のマウスモノクローナル抗体(WBCAL-1)<sup>2)</sup>を百日咳毒素(PTX)と併用して6-8週齢のC57BL/6マウスへ腹腔内、脳室内単回投与、脳室内に14日間持続投与する。WBCAL-1またはコントロールIgGを200 $\mu$ gを、浸透圧ポンプで14日間持続投与し、表現型を評価した。評価方法は新規物体認識試験(認知機能障害を評価)、高架式十字迷路試験(不安様行動を評価)を行動試験として行った。また、病理試験においてKluver-Barrera染色を用いてニューロンの形態変化について評価し、NeuN、IBa1、CD68、補体C3蛋白、 $\beta_2$ GPIに対する免疫組織化学試験を行った。

### 【結 果】

WBCAL-1の投与は特に海馬領域における神経細胞の変化を惹起した。

- 1)  $\beta_2$ GPIが野生型マウスの海馬CA2領域に発現していることを発見した。
- 2) 脳室内14日間のWBCAL-1持続投与によって海馬CA2領域にIgG沈着を認め、同部位へのWBCAL1の結合が想定された。コントロールIgGではこの結合はみられなかった。
- 3) WBCAL-1はPTX併用下での腹腔内投与および脳室内単回投与および14日間脳室内持続投与によって、マウスの認知機能障害と不安様行動の増強、海馬CA2-3領域のKB染色で軽度萎縮および局所への補体C3沈着を引き起こした。
- 4) 14日間脳室内持続投与モデルにおいて、海馬CA3ニューロンは、神経マーカーNeuNによる免疫組織化学試験で脱落を認め(NeuN発現が有意に低下していた)、ニューロン機能の変化が示唆された。

5) WBCAL-1 投与マウスにおいて、海馬における活性化(CD68+Iba-1+)ミクログリア細胞の発現亢進が有意であった。

### 【考 察】

マウスにおいて WBCAL-1 は認知機能障害や不安障害をもたらした。その原因として、海馬 CA2 領域への WBCAL-1 の特異的な結合と、それによる補体活性化が関与していると考察する。補体活性化はミクログリア活性化(貪食)を促し、近接する海馬 CA3 領域ニューロンの脱落を惹起した可能性を想定している。CA3 領域は比較的虚血などの障害に弱い領域とも考えられており、そのため WBCAL-1 が惹起した組織障害は CA3 においてより目立つのかもしれない。

### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

若年者に重篤な後遺症をもたらす APS/SLE における中枢神経障害の予防と治療に貢献できると考える。現在、引き続き検討を続けており、WBCAL-1 の局所への沈着がどのようにその近傍組織の障害を惹起するか、遺伝子の変化を含めて明らかにしていく。また、今後は抗補体治療や遺伝子変化から推定される蛋白の変化について、抗体や化合物投与などマウスを用いた治療実験を行い、新規の治療法確立へ検討を続ける。

### 【参考・引用文献】

- 1) Oku K et al, Complement activation in patients with primary antiphospholipid syndrome. Ann Rheum Dis, 2009 68(6):1030-5
- 2) Ichikawa K et al., Monoclonal hybridoma anti-cardiolipin antibodies from SLE mice. Clin Exp Immunol 1988, 74(2):110-4