



筑波大学
University of Tsukuba

TNAX
TNAX Biopharma

2021年10月18日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学
TNAX Biopharma 株式会社

脳梗塞による神経障害を軽減する標的分子の発見

脳卒中による死亡は全死因の中で3番目であり、このうち脳血管閉塞による脳梗塞による死亡は、毎年6万人を超えています。脳梗塞においては、神経細胞等の脳細胞が死滅し、麻痺等を含む様々な神経症状を発症します。また、生じた死細胞は、その周囲に炎症を引き起こし、これが神経細胞死を拡大して、さらに重篤な神経障害を引き起こすだけでなく、生命の危険をももたらします。従って、この死細胞を早期に除去することができれば、このような影響を最小限に食い止めることができると考えられます。

本研究では、死細胞を貪食して除去するマクロファージの細胞膜上に発現する免疫受容体分子CD300aが、死細胞が有するリン脂質フォスファチジルセリンと結合し、マクロファージによる死細胞の貪食を抑制することを発見しました。一方、CD300a遺伝子欠損マクロファージでは、野生型マクロファージに比べて、死細胞の貪食が進み、それに伴って、マウスの脳梗塞モデルで神経障害が顕著に軽減することを見いだしました。さらに、CD300aとフォスファチジルセリンとの結合を阻害する抗CD300a抗体の投与によって、脳梗塞病態が著しく改善することを明らかにしました。

本研究成果は、脳梗塞の克服と健康長寿社会の実現へ向けた大きな一歩になるものと期待されます。

研究代表者

筑波大学医学医療系

澁谷 彰 教授

TNAX Biopharma株式会社

阿部 史枝 研究開発部 アソシエイト リサーチ サイエンティスト



研究の背景

我が国の脳卒中による死亡は全死因の中で3番目であり、このうちの主要な疾患である脳血管閉塞による脳梗塞による死亡は、毎年6万人を超えています（厚労省平成29年度「人口動態統計の概況」）。また、生存者であっても、神経障害が残り、寝たきりなどの身体的、精神的、社会的な生活の質（QOL）が著しく低下することが多く、健康長寿社会の実現を妨げる大きな要因の一つとなっています。その医療費は年間1兆円にも昇るとされ、脳梗塞に対する革新的な予防、治療法の開発が求められています。

脳梗塞においては、神経細胞等の脳細胞が死滅し、麻痺等を含むさまざまな神経症状を発症します。生じた死細胞は、種々のダメージ関連分子パターン（DAMPs）と呼ばれる物質を放出することによって、その周囲に無菌性炎症を引き起こして神経細胞死を拡大し、さらに重篤な神経障害や生命の危機をもたらします。従って、この死細胞を早期に除去することができれば、こういった影響を最小限に食い止めることができると考えられます。

本研究グループでは、これまでに、マクロファージや樹状細胞などの骨髄球系細胞に発現し、これらの細胞の活性化を負に制御する免疫受容体 CD300a を発見し、これが死細胞の細胞膜上に特異的に表出するリン脂質フォスファチジルセリンの受容体であることを明らかにしています。

研究内容と成果

まず、野生型または CD300a 遺伝子欠損マクロファージと死細胞を共培養し、死細胞の貪食量を解析したところ、CD300a 遺伝子欠損マクロファージが、野生型マクロファージと比べて、死細胞の貪食が有意に多いことを見いだしました。同様に、抗 CD300a 抗体またはコントロール抗体で処理した野生型マクロファージと死細胞とを共培養して、貪食を解析すると、抗 CD300a 抗体で処理したマクロファージが、コントロール抗体で処理したマクロファージに比べて、貪食が有意に進んでいました。これらの結果から、マクロファージの CD300a が死細胞の貪食を抑制することが、初めて示されました（図1）。

次に、死細胞が多数出現する脳梗塞の病態に対する、CD300a の働きを解析しました。野生型マウス（*Cd300a^{fl/fl}*）およびマクロファージで特異的に CD300a を欠損するマウス（*Cd300a^{fl/fl}Lyz2-Cre*）について、中大脳動脈を塞いで脳梗塞モデルを作成し、脳梗塞発症3時間後の脳の神経細胞の残存量をそれぞれ解析しました。その結果、CD300a 欠損マウスでは、野生型マウスよりも、神経細胞の残存量が有意に増加していました（図2）。また、これらのマウスの神経症状を経時的に解析したところ、CD300a 欠損マウスで、野生型マウスに比較して、明らかに神経障害が軽減していました。マクロファージによる死細胞の貪食を阻害するタンパク質（D89E）をあらかじめ投与した CD300a 欠損マウスでは、神経障害の軽減が見られなかったことから、CD300a 欠損マウスの神経障害の軽減は、マクロファージによる死細胞の貪食が進んだことによるものと考えられました（図3）。

そこで、CD300a を標的とした脳梗塞の治療の可能性を検討するために、脳梗塞モデル作成直後に、特定の作用をしないコントロール抗体または抗 CD300a 抗体を投与し、3時間後の神経細胞の残存および神経障害を解析しました。その結果、抗 CD300a 抗体を投与したマウスでは、神経細胞が多く残存し、神経障害も顕著に軽減していました（図4、左）。さらに、梗塞モデル作成3時間後に抗 CD300a 抗体を治療的に投与した場合にも、同様の結果が確認されました（図4、右）。

今後の展開

本研究により、CD300a を標的とした脳梗塞の治療法の可能性が示されました。この治療法は、心筋梗塞、腎梗塞などの虚血性疾患においても、有効である可能性があります。

参考図

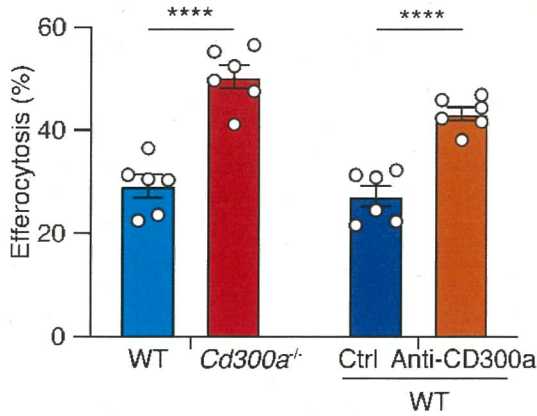


図1 野生型 (WT)、CD300a 遺伝子欠損マウス由来のマクロファージ (*Cd300a*)、コントロール抗体 (Ctrl)、抗 CD3—a 中和抗体で処理後の野生型マクロファージ (Anti-CD300a) と死細胞を共培養した際の死細胞の貪食量。

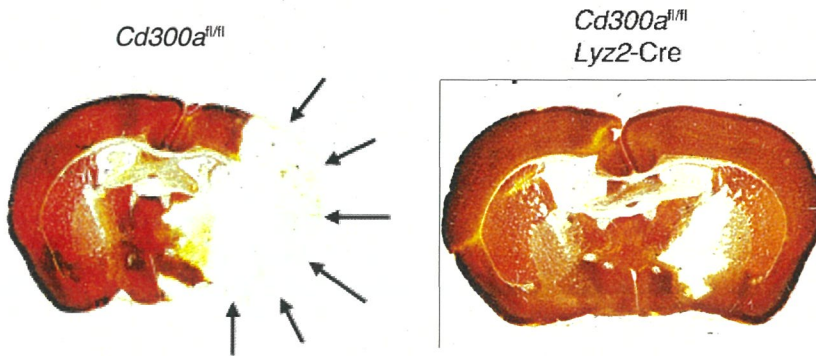


図2 野生型マウス (*Cd300a*^{fl/fl}、左図) とマクロファージ特異的 CD300a 遺伝子欠損マウス (*Cd300a*^{fl/fl}Lyz2-Cre、右図) の脳梗塞モデルにおける発症3時間後の脳の神経細胞の染色組織像 (染色された部分が生存している神経細胞)。矢印は死滅して神経細胞が消失した脳の部分。

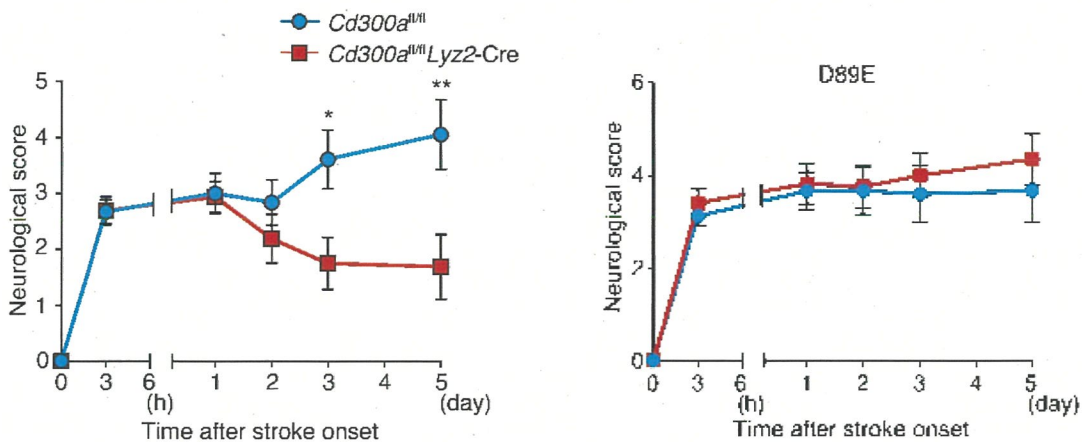


図3 (左図) 野生型マウス (*Cd300a*^{fl/fl}、青線) とマクロファージ特異的 CD300a 遺伝子欠損マウス (*Cd300a*^{fl/fl}Lyz2-Cre、赤線) の脳梗塞モデルにおける、神経障害の経時的解析。(右図) 死細胞の貪食を阻害するタンパク質 (D89E) をあらかじめ投与したマウスの神経障害の経時的解析。

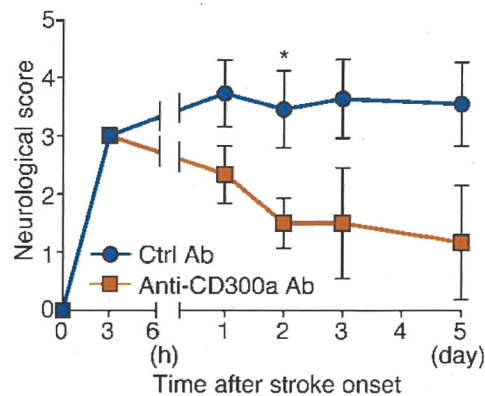
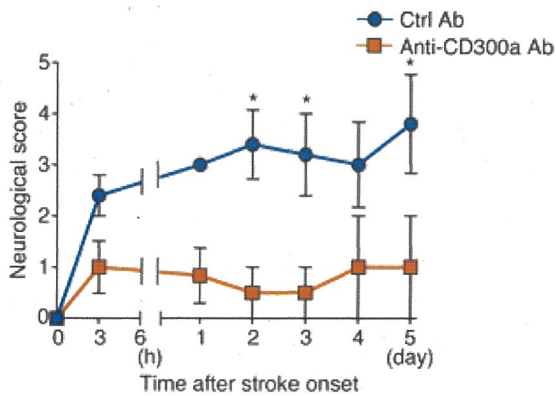


図4 脳梗塞モデルマウスにコントロール抗体（青線）または抗 CD300a 抗体（赤線）を投与した際の神経障害の経時的解析。（左図）脳梗塞モデルマウス作成直後に投与した場合。（右図）梗塞モデル作成3時間後に投与した場合。

研究資金

本研究は、科学研究費補助金および武田科学振興財団の助成を受けるとともに、TNAX Biopharma 株式会社との共同研究契約に基づいて行われました。

掲載論文

【題名】 CD300a blockade enhances efferocytosis by infiltrating myeloid cells and ameliorates neuronal deficit after ischemic stroke

（虚血性脳卒中後に CD300a を遮断すると、浸潤した骨髄球系細胞による死細胞の貪食が亢進し、神経障害を軽減する）

【著者名】 Chigusa Nakahashi-Oda、 Satoshi Fujiyama、 Yuta Nakazawa、 Kazumasa Kanemaru、 Yaqiu Wang、 Wenxin Lyu、 Takashi Shichita、 Jiro Kitaura、 Fumie Abe、 Akira Shibuya

【掲載誌】 Science Immunology (サイエンス イムノロジー)

【掲載日】 2021年10月15日

【DOI】 10.1126/sciimmunol.abe7915

問い合わせ先

【研究に関すること】

澁谷 彰（しぶや あきら）

筑波大学医学医療系 教授／革新的創薬開発研究センター センター長

Tel : 029-853-3474

E-mail : ashibuya@md.tsukuba.ac.jp

URL: <http://immuno-tsukuba.com>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報室

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp

TNAX Biopharma株式会社

TEL: 03-4405-3452

E-mail: t.mukohira@tnaxbio.com