

ミニ・レビュー —小西賞受賞者—

視神経脊髄炎患者から血液脳関門破綻に
関与するGRP78抗体の同定

清水文崇

山口大学大学院医学系研究科神経内科学 宇部市南小串1丁目1-1 (〒755-8505)

Key words : blood-brain barrier, GRP78 antibodies, neuromyelitis optica

和文抄録

視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica : NMO) は疾患特異的の自己抗体としてアクアポリン4 (aquaporin 4 : AQP4) に対する自己抗体 (AQP4抗体) が同定された自己免疫性中枢神経疾患である。流血中のAQP4抗体がアストロサイトに病原性を及ぼすためには血液脳関門 (blood-brain barrier : BBB) を通過する必要がある。我々は「NMO患者血中に血管内皮細胞を標的とする未知の自己抗体が存在し、この抗体がBBBを傷害することで、AQP4抗体の脳内移送を促進しNMOの発症・増悪に関与する」という作業仮説を立てた。急性期NMO患者髄液中の形質細胞から精製した複数のモノクローナル抗体から、BBB構成血管内皮細胞に強く結合し、生物学的活性を有するモノクローナル抗体を同定し、その標的抗原がGlucose-regulated protein 78 (GRP78) であることを明らかとした。このGRP78モノクローナル抗体がBBB透過性を亢進させることを*in vitro/in vivo*モデルで確認し、NMOでのBBB破綻に関与する新規自己抗体としてGRP78抗体を同定した。GRP78モノクローナル抗体はBBBを人為的に制御し、現在開発中のアルツハイマー病やパーキンソン病に対するモノクローナル抗体製剤の中枢神経内への移送に応用できる可能性を秘めている。本研究はNMO患者の臨床的観察に基づいた仮説から始まり、高度な基礎的研究の手法を駆使し

て患者検体からBBBに生物学的活性を示す自己抗体 (GRP78抗体) を同定し、製薬会社の技術によりGRP78に対するモノクローナル抗体を新たに創製し、血液脳関門透過性を人為的に増加させることで神経変性疾患などの難治性神経疾患の治療に臨床応用しようという、ユニークな一連の研究モデルであり、トランスレーショナルリサーチの新たな可能性を示したものである。

1. はじめに

中枢神経系は血液脳関門 (blood-brain barrier, BBB) と呼ばれるバリアーシステムが存在し、脳の内部環境を維持している。BBBの本体は脳微小血管を構成する内皮細胞であり、隣接する細胞間でtight junction (TJ) を形成し、物質の自由な往来を阻止しバリアー機能を担っている。多発性硬化症や視神経脊髄炎、自己免疫性脳炎などの自己免疫性神経疾患ではBBBの破壊は病変を惹起する引き金となる重要な初期変化であると考えられている。一方で、健常なBBBは、現在開発中のアルツハイマー病やパーキンソン病などの難治性神経変性疾患に対するモノクローナル抗体の流血中から中枢神経へのデリバリーを阻害する主因となっており、モノクローナル抗体をいかに効率よくBBBを通過させるかが臨床応用の大きな課題となっている。

視神経脊髄炎 (Neuromyelitis optica, NMO) では近年、特異的な自己抗体として抗アクアポリン4 (aquaporin 4, AQP4) 抗体が同定され、同抗体に

よるアストロサイト傷害が病態形成に重要な役割を果たすと考えられている。この抗体が中枢神経内に流入し、アストロサイト傷害を惹起するためにはBBBを通過する必要がある。本研究では、臨床的/病理学的にBBB破綻が認められるNMO患者IgGの中に、BBBを人為的に操作させうる新規標的分子に対する自己抗体が存在するという仮説をたて、その抗体の標的分子同定を試みた。

2. 視神経脊髄炎でのアクアポリン4自己抗体の同定とその病的意義

NMOは1894年のDevicらの報告により端を発した成人も小児も罹患する自己免疫性炎症性中枢神経疾患である¹⁾。NMOは、視神経と脊髄を病変の首座とし、再発性脊髄炎、再発性視神経炎などの病型を呈しやすいが、大脳や脳幹にも病変をつくる。NMOは歴史的に多発性硬化症 (Multiple sclerosis: MS) の一亜型であると考えられてきたが、2004年にNMOの患者血清からマウスの脳切片の微小血管周囲、軟膜下組織に結合する疾患特異的な免疫グロブリンG (immunoglobulin G: IgG) であるNMO-IgGが同定され²⁾、2005年にNMO-IgGの対応抗原が、脳の主要な水分子であり、アストロサイトの足突起に主に発現しているアクアポリン4 (aquaporin 4: AQP4) であることが明らかとなった³⁾。AQP4に対する自己抗体 (AQP4抗体) が発見されたことにより、NMOは多発性硬化症とは明確に区別されるようになった⁴⁾。現在、血中のAQP4抗体検出はNMOの診断バイオマーカーとして世界中で利用されており、早期診断や早期治療に貢献している。

複数の研究モデルによりAQP4抗体はNMOの病態機序に直接的に関わる自己抗体として認識されるようになった。アストロサイト細胞を用いた*in vitro*の研究では、AQP4抗体がAQP4に結合するとアストロサイトに補体介在性あるいは抗体依存性の細胞傷害をきたすこと、AQP4の局在変化が生じることが報告された^{5, 6)}。急性増悪期のNMO患者の剖検脳を用いた病理学的検討では、急性期炎症病巣に広範なAQP4の発現低下があり、特にIgGや活性化補体 (C9neo) の沈着する血管周囲でAQP4は脱落し、同部位ではGlia Fibrillary Acidic Protein

(GFAP) 陽性のアストロサイトも高度に障害されていることが示された^{7, 8)}。NMO患者の急性増悪期には髄液中のGFAP濃度が、多発性硬化症患者群や健常成人群と比較して1000倍以上と著明に上昇しており、アストロサイトが破壊されていることが示唆された⁹⁾。さらに、ラットにミエリン塩基性蛋白で免疫あるいはミエリン塩基性蛋白反応性T細胞を投与して実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis: EAE) を誘発し、中枢神経に炎症を惹起した後で、AQP4抗体陽性患者血清由来の精製IgGを投与すると、コントロール群と比較し神経症状が重症化し、抗体および補体が沈着した脊髄の血管周囲にアストロサイト障害が認められ、AQP4抗体は補体介在性のアストロサイト障害をきたすと考えられた¹⁰⁾。これら一連の知見から、NMOはAQP4抗体という疾患特異的の自己抗体が同定されたはじめての自己免疫性中枢疾患として認識されるようになった。

3. 流血中のAQP4抗体がどのようにBBBを超えてアストロサイトまで到達するか

AQP4抗体は主に末梢の形質細胞から産生される¹¹⁻¹³⁾。正常のラットに経静脈的にAQP4抗体を投与してもNMOを発症しないこと¹⁴⁾、発症する10年以上前の血液検体からAQP4抗体が同定されたNMO症例が報告されていることより¹⁵⁾、AQP4抗体は明らかな神経症状を伴わずに流血中を循環しうることが示唆されている。したがって、流血中のAQP4抗体が中枢神経内のアストロサイト足突起に存在するAQP4と結合し細胞傷害をきたすためには、BBBが脆弱な部位から侵入するか、BBBを通過する必要がある。BBBが脆弱な部位として、視床下部や第3脳室・第4脳室周囲などの最後野が知られており、これらの部位はAQP4が高発現しているため、NMO患者で病初期に異常がみられやすい病変部位として報告されている¹⁶⁾。一方で、AQP4抗体がどのように健常なBBBを通過するかはこれまで解明されていなかった。臨床的には急性期NMO患者ではMRIでガドリウム増強効果がみられ、アルブミンの髄液/血清比の増加することが報告されており¹⁷⁾、これらはBBB破綻を反映した現象であると考えられている。NMO患者はしばしば全身性エリトマト

ーデス (systemic lupus erythematosus : SLE) を合併するが、SLE患者では血中に内皮細胞を標的とした自己抗体の存在が報告されている^{18, 19)}。我々はこれまでにNMO患者の血清がヒトBBB血管内皮細胞のタイトジャンクション関連蛋白であるclaudin-5の低下を介してBBB機能を低下させることを報告した^{20, 21)}。これらの臨床的観察および基礎研究結果から、NMOでは内皮細胞を標的とした自己抗体が存在し、その抗体がBBBを破綻させ、AQP4抗体の中枢神経内移送を促進するという仮説をたてた²²⁾。

4. NMO脳脊髄液中の形質細胞から精製したモノクローナル抗体はBBB構成血管内皮細胞の透過性を増大させる

まず、NMO患者50例の急性期血漿からIgG (NMO-IgG) を精製し、我々が樹立したBBB構成血管内皮細胞 (TY10細胞²³⁾) に作用させた。NMO-IgGと健常者25例の血清から精製したIgG (control-IgG) をディッシュ上に単培養したTY10細胞に作用させ、NMO-IgGがTY10細胞に結合するか、内皮細胞活性化のマーカーであるNF- κ B p65核内移行とICAM-1発現が変化するかを免疫染色で確認した。NF- κ B p65/ICAM-1陽性細胞数はハイコンテンツイメージングシステムを用いて合計1000細胞をカウントし、定量化した。NMO-IgGを投与するとTY10のNF- κ B p65核内移行細胞が有意に増加し、ICAM-1強陽性細胞数が増加したが、control-IgGを投与しても変化がなかった。

次に、個々の患者血漿から精製したIgGが同じ作用を持つかを確認した。NMO 4例、SLE 4例、健常成人2例からIgGを精製し、TY10細胞に作用させた。NMO 4例中2例、SLE 4例中3例で有意にNF- κ B p65核内移行細胞の増加が確認できたが、健常成人では変化がなかった。NMO患者4例ともAQP4抗体は陽性で、SLE患者は全て陰性であったことより、内皮細胞活性化にAQP4抗体は必ずしも必要ないことが明らかとなった。

NMO-IgGの中に複数のBBB構成血管内皮細胞に対する抗体がある可能性もありうるため、NMO患者の脳脊髄液中形質細胞から複数のモノクローナル抗体を作製し²⁴⁾、これらの抗体がTY10細胞を活性化するかを検討した。AQP4に特異的に結合するリ

コンビナント抗体 (rAb)、AQP4に結合しないrAb、別の疾患コントロールからのrAbを含む合計14個のモノクローナル抗体をTY10細胞に作用させ、TY10細胞の活性化が生じるかを検討した。NMO患者からの2つのモノクローナル抗体 (NMO-rAb) がTY10細胞に結合し、ICAM-1発現を増加させたが、そのうち一つのモノクローナル抗体が有意にNF- κ B p65の核内移行を増加させた。この2つのモノクローナル抗体はアストロサイトに発現するAQP4には結合しなかった。NMO-rAbはTY10細胞の重要なタイトジャンクション関連蛋白であるclaudin-5発現を低下させ、10kDaデキストラン透過性を増加させ、IgG透過性を増加させた。これらの一連の解析により、BBB構成血管内皮細胞を活性化し、タイトジャンクション関連蛋白の低下を介してバリアー機能を低下させるモノクローナル抗体をNMO患者から同定した。

5. 視神経脊髄炎免疫グロブリンGから内皮細胞に対する自己抗体の新規標的としてのGlucose-regulated protein 78の同定

次にプロテオーム解析を用いて、内皮細胞に結合する2つのNMO-rAbの対応抗原を同定した。この2つの抗体は、グリオーマ細胞株であるU87MG細胞とオリゴデンドロサイト細胞の細胞表面に結合した。これらの細胞の膜分画を電気泳動したウェスタンブロット解析では、2つのNMO-rAbの反応は複数のバンドとして検出された。2つのNMO-rAbが結合する細胞表面抗原を同定するために、U87MG細胞にNMO-rAbをインキュベートし、クロスリンカーで固定させた後に細胞をライセートし、プロテインA/Gビーズを用いて抗原抗体複合体を単離した。免疫複合体を溶出し、電気泳動後にウェスタンブロット法で解析すると、2つのNMO-rAbは同一のバンドに反応することが明らかとなった。そのバンドを切断し、蛋白質質量解析をおこなったところ、Glucose-regulated protein 78 (GRP78) が同定された。GRP78抗体と2つのNMO-rAbをU87MG細胞で共染色すると、GRP78抗体とNMO-rAbが共局在することが確認できた。ウェスタンブロット法で2つのNMO-rAbがリコンビナントGRP78蛋白に結合することを証明した。これらの結果から、NMO-

rAbが反応する標的分子がGRP78であることを確認できた。

GRP78は腎臓や皮膚由来の血管内皮細胞株と比べてBBB構成内皮細胞で細胞表面により多く発現していた。マウスの脳切片では、GRP78がBBB構成血管内皮に発現していることを確認できた。さらに、市販されている2つのGRP78抗体がTY10細胞のNF- κ B p65の核内移行を誘導することを明らかにした。これらの結果より、GRP78抗体はBBB構成内皮細胞表面に豊富に存在するGRP78に結合し、生物学的活性を示すことが確認できた。最後に、NMO患者50例の急性期血漿から精製したIgG (NMO-IgG) から、GRP78リコンビナント蛋白を用いた免疫吸着法でGRP78抗体を除去し、その生物学的活性の変化を検討した。NMO-IgGからGRP78抗体を除去するとTY10細胞のNF- κ B p65核内移行率が優位に低下し、GRP78抗体がNMO-IgGの内皮細胞活性化に重要な役割を果たすことが証明できた。

さらに、マウスにGRP78を標的とするNMO-rAbとコントロールrAbを投与し、*in vivo*での脳透過性を評価した。マウスにrAbを経静脈的、経腹腔的に7日間連日投与し、9日後にマウスの脳を採取し、経静脈的に投与したIgG、内在性のフィブリノーゲンやアルブミンの脳実質内血管外への漏出量を比較した。NMO-rAbを投与すると、IgGやフィブリノーゲン、アルブミンの血管外漏出が確認でき、血管径の拡大が認められたが、コントロールrAbを投与してもその変化はみられなかった。これらの結果より、マウスへのGRP78抗体の投与はBBB透過性を亢進させることが明らかとなった。

6. GRP78とは

本研究により、NMOでのBBB破綻に関与する新規自己抗体としてGRP78抗体が同定された。GRP78 (BiPあるいはHSPA5とも呼ばれている) は熱ショック蛋白70ファミリーに分類され、全ての細胞の細胞質に局在し分子シャペロンとして機能する²⁵⁾。グルコース飢餓などの小胞体ストレス状況下ではGRP78転写が誘導され、ミスフォールドされた蛋白の蓄積を防ぎ、細胞のアポトーシスを予防している²⁶⁾。GRP78は分子シャペロンとしての機能だけでなく、癌細胞では細胞表面に局在することが報告さ

れており、GRP78は癌細胞特異的標的抗原としての役割が注目されている²⁷⁾。細胞表面に発現するGRP78はhuman tumor cell DnaJ-like protein 1 (HTJ-1) と結合し、その下流シグナルであるPI3K-AktやNF- κ Bのリン酸化を促進させ、癌細胞の増殖や生存に関与する²⁸⁾。また、担癌患者や関節リウマチ患者では血中に低力価のGRP78抗体が検出されることが報告されている^{29, 30)}。GRP78抗体は自己免疫性中枢神経疾患でBBB破綻を予測する疾患マーカーとして応用できる可能性がある。

7. GRP78抗体の創薬への臨床応用の可能性

現在、国内外の研究所や製薬メーカーにより、アルツハイマー病での β アミロイド抗体やタウ抗体、パーキンソン病での α シヌクレイン抗体など複数の有望な中枢神経疾患に対するモノクローナル抗体の開発が進んでいる。しかし、流血中の抗体製剤はわずかしか健康なBBBを通過できないため、いかに効率よく血液脳関門を通過させるかが今後の重要な課題となる。NMO患者から同定されたGRP78抗体は、現在製薬メーカーで開発中である中枢神経をターゲットとした抗体製剤の血液脳関門を超えた中枢神経内へのデリバリーに応用できる可能性がある。

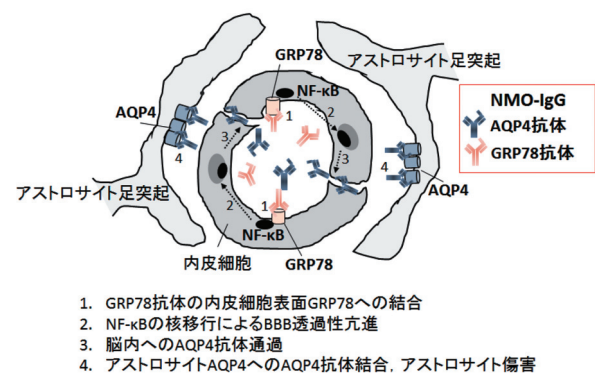


図1 NMO病態形成におけるGRP78抗体の役割
(文献31より転載)

我々の研究成果から明らかとなったNMO血清がBBBを破綻させる分子メカニズムを示す。(1) 流血中のGRP78抗体がBBB内皮細胞表面のGRP78に結合し、(2) BBB内皮細胞のNF- κ Bの核移行によりBBB透過性を亢進させ、(3) 脳内へのAQP4抗体を通過させ、(4) AQP4抗体を介したアストロサイト傷害をきたす。

8. おわりに

創薬につながる基礎研究成果を臨床に実用化させる一連の流れをトランスレーショナルリサーチと呼ぶのに対して、実際の治療や臨床治験でえられた情報を基礎研究にフィードバックし（リバースし）、更なるトランスレーショナルリサーチを進める研究手法をリバーストランスレーショナルリサーチと呼ぶ。PD1抗体など腫瘍免疫を標的とした分子標的薬の発見は、リバーストランスレーショナルリサーチの大きな成果と言える。本研究は、NMO患者の臨床的観察に基づいた仮説から始まり、高度な基礎的研究の手法を駆使してNMO患者検体からBBBを破綻させる自己抗体を同定し、製薬会社と共同研究によりモノクローナル抗体を新たに創薬し、BBB透過性を人為的に増加させることで神経変性疾患などの別の難治性神経疾患の治療に臨床応用しようという、ユニークな一連の研究モデルであり、トランスレーショナルリサーチの新たな形を示したものである。

引用文献

- 1) Jarius S, Wildemann B. The history of neuromyelitis optica. *J Neuroinflammation* 2013 ; 10 : 8.
- 2) Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica : distinction from multiple sclerosis. *Lancet* 2004 ; 364 : 2106-2112.
- 3) Lennon VA, Kryzer TJ, Pittock SJ, et al. IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *J Exp Med* 2005 ; 202 : 473-477.
- 4) Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, et al. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology* 2006 ; 66 : 1485-1489.
- 5) Zhang H, Bennett JL, Verkman AS, et al. Ex vivo spinal cord slice model of neuromyelitis optica reveals novel immunopathogenic mechanisms. *Ann Neurol* 2011 ; 70 : 943-954.
- 6) Hinson SR, Romero MF, Popescu BF, et al. Molecular outcomes of neuromyelitis optica (NMO) -IgG binding to aquaporin-4 in astrocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012 ; 109 : 1245-1250.
- 7) Roemer SF, Parisi JE, Lennon VA, et al. Pattern-specific loss of aquaporin-4 immunoreactivity distinguishes neuromyelitis optica from multiple sclerosis. *Brain* 2007 ; 130 : 1194-1205.
- 8) Misu T, Fujihara K, Kakita A, et al. Loss of aquaporin 4 in lesions of neuromyelitis optica : distinction from multiple sclerosis. *Brain* 2007 ; 130 : 1224-1234.
- 9) Misu T, Takano R, Fujihara K, et al. Marked increase in cerebrospinal fluid glial fibrillar acidic protein in neuromyelitis optica : an astrocytic damage marker. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009 ; 80 : 575-577.
- 10) Bradl M, Misu T, Takahashi T, et al. Neuromyelitis optica : pathogenicity of patient immunoglobulin in vivo. *Ann Neurol* 2009 ; 66 : 630-643.
- 11) Jarius S, Franciotta D, Paul F, et al. Cerebrospinal fluid antibodies to aquaporin-4 in neuromyelitis optica and related disorders : frequency, origin, and diagnostic relevance. *J Neuroinflammation* 2010 ; 7 : 52.
- 12) Kowarik MC, Dzieciatkowska M, Wemlinger S, et al. The cerebrospinal fluid immunoglobulin transcriptome and proteome in neuromyelitis optica reveals central nervous system-specific B cell populations. *J Neuroinflammation* 2015 ; 12 : 19.
- 13) Majed M, Fryer JP, McKeon A, et al. Clinical utility of testing AQP4-IgG in CSF : Guidance for physicians. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2016 ; 3 : e231.
- 14) Sharma R, Fischer MT, Bauer J, et al. Inflammation induced by innate immunity in the central nervous system leads to primary astrocyte dysfunction followed by demyelination. *Acta Neuropathol* 2010 ; 120 : 223-236.

- 15) Nishiyama S, Ito T, Misu T, et al. A case of NMO seropositive for aquaporin-4 antibody more than 10 years before onset. *Neurology* 2009 ; **72** : 1960-1961.
- 16) Apiwattanakul M, Popescu BF, Matiello M, et al. Intractable vomiting as the initial presentation of neuromyelitis optica. *Ann Neurol* 2010 ; **68** : 757-761.
- 17) Kim SM, Waters P, Vincent A, et al. Cerebrospinal fluid/serum gradient of IgG is associated with disability at acute attacks of neuromyelitis optica. *J Neurol* 2011 ; **258** : 2176-2180.
- 18) Pittock SJ, Lennon VA, de Seze J, et al. Neuromyelitis optica and non organ-specific autoimmunity. *Arch Neurol* 2008 ; **65** : 78-83.
- 19) Renaudineau Y, Dugué C, Dueymes M, et al. Antiendothelial cell antibodies in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2002 ; **1** : 365-372.
- 20) Shimizu F, Sano Y, Takahashi T, Haruki H, Saito K, Koga M, Kanda T, Sera from neuromyelitis optica patients disrupt the blood-brain barrier. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012 ; **83** : 288-297.
- 21) Shimizu F, Nishihara H, Sano Y, et al. Markedly increased IP-10 production by blood-brain barrier in neuromyelitis optica. *PLoS One* 2015 ; **10** : e0122000.
- 22) Shimizu F, Schaller KL, Owens GP, et al. Glucose-regulated protein 78 autoantibody associates with blood-brain barrier disruption in neuromyelitis optica. *Sci Transl Med* 2017 ; **9** : pii : eaai9111.
- 23) Sano Y, Shimizu F, Abe M, et al. Establishment of a new conditionally immortalized human brain microvascular endothelial cell line retaining an in vivo blood-brain barrier function. *J Cell Physiol* 2010 ; **225** : 519-528.
- 24) Bennett JL, Lam C, Kalluri SR, et al. Intrathecal pathogenic anti-aquaporin-4 antibodies in early neuromyelitis optica. *Ann Neurol* 2009 ; **66** : 617-629.
- 25) Lee AS. Glucose-regulated proteins in cancer : molecular mechanisms and therapeutic potential. *Nat Rev Cancer* 2014 ; **14** : 263-276.
- 26) Luo B, Lee AS. The critical roles of endoplasmic reticulum chaperones and unfolded protein response in tumorigenesis and anticancer therapies. *Oncogene* 2013 ; **32** : 805-818.
- 27) Jakobsen CG, Rasmussen N, Laenkholm AV, et al. Phage display derived human monoclonal antibodies isolated by binding to the surface of live primary breast cancer cells recognize GRP78. *Cancer Res* 2007 ; **67** : 9507-9517.
- 28) Misra UK, Deedwania R, Pizzo SV, et al. Activation and cross-talk between Akt, NF-kappaB, and unfolded protein response signaling in L-LN prostate cancer cells consequent to ligation of cell surface-associated GRP78. *J Biol Chem* 2006 ; **281** : 13694-13707.
- 29) Mintz PJ, Kim J, Do KA, et al. Fingerprinting the circulating repertoire of antibodies from cancer patients. *Nat Biotechnol* 2003 ; **21** : 57-63.
- 30) Bläss S, Union A, Raymackers J, et al. The stress protein BiP is overexpressed and is a major B and T cell target in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001 ; **44** : 761-771.
- 31) Shimizu F, Ransohoff RM. GRP78 autoantibodies initiate the breakdown of the blood-brain barrier in neuromyelitis optica. *Oncotarget* 2017 ; **8** : 106175.

Glucose-Regulated Protein 78 Autoantibody Associates with Blood-brain Barrier Disruption in Neuromyelitis Optica

Fumitaka SHIMIZU

Department of Neurology and Clinical Neuroscience, Yamaguchi University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Minami Kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan

SUMMARY

Neuromyelitis optica (NMO) is a first CNS autoimmune disease in which pathogenic autoantibodies against a specific tissue target molecule, aquaporin 4 (AQP4), has been identified. The blood-brain barrier (BBB) breakdown and subsequent entry of AQP4-IgG into the brain are considered to be an important step for the development of NMO. We hypothesized that a distinct endothelial cell-specific antibodies, other than AQP-IgG, may be

presented in sera from NMO patients and promote transit of AQP4-IgGs across the BBB. First, we identified a monoclonal recombinant antibody (rAb) from CSF plasma blasts in NMO patients, which can bind and activate the human brain microvascular endothelial cells. Next, we identified the glucose-regulated protein 78 (GRP78) as the antigenic targets of NMO-rAb using unbiased membrane proteomics. Last, we observed that incubation or administration of this GRP78 specific rAb can increase BBB permeability *in vitro* and *in vivo*. The development of antibody-based therapeutics against β -amyloid protein for Alzheimer disease and α -synuclein protein for Parkinson disease now have become developing area in the drug industry, but BBB limits the utility of antibody therapeutics for these CNS disorders. GRP78 antibodies may be a candidate target for promoting CNS transit of therapeutic antibodies for many CNS diseases.

