

平成 30 年 5 月 22 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20206

研究課題名(和文)好酸球性副鼻腔炎患者鼻茸に高発現するSema4Aの病的意義解明

研究課題名(英文)Sema4A on nasal polyp eosinophils

研究代表者

前田 陽平(Maeda, Yohei)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：00636483

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：まず、好酸球性副鼻腔炎(ECRS)および気管支喘息患者において、他の疾患の患者と比較して、血清SEMA4A値が高値であることを確認した。さらに、Nasal PolypにおいてSEMA4Aの免疫染色を施行したところ、ECRS患者由来鼻茸においては非好酸球性副鼻腔炎(NECRS)患者由来鼻茸と比較してSEMA4Aが高発現しており、特に好酸球において強く発現を認めた。さらに骨髄由来好酸球の系において、SEMA4A欠損マウスは野生型と比較して有意に増殖が抑制されていた。これらの結果から、SEMA4Aは好酸球の生存を助けることで好酸球性炎症の遷延に寄与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Serum SEMA4A levels were markedly elevated in patients with eosinophilic chronic rhinosinusitis (ECRS) and asthma patients. Moreover, SEMA4A was strongly expressed in eosinophils in both nasal polyps and eosinophils in peripheral blood. Consistent with these results, bone marrow derived eosinophils from SEMA4A-deficient mice showed shorter survival and less activation than those from wild type mice.
Conclusion: These results suggest that SEMA4A potentially exacerbate Th2 inflammation through promoting eosinophil survival and activation and can be a marker for discriminating specific endotype in ECRS and asthma.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：好酸球性副鼻腔炎 好酸球 セマフォリン

1. 研究開始当初の背景

好酸球性副鼻腔炎(以下 ECRS)は従来型の感染遷延型の副鼻腔炎と異なり、典型的には成人発症で嗅覚障害を主訴とし、鼻茸のための鼻閉と粘稠な鼻汁を示す難治性副鼻腔炎である。鼻粘膜・鼻茸に多数の好酸球を認める特徴を有し、特に成人発症型喘息との関連が示唆されている。(Moore WC et al, J Allergy Clin Immunol. 2007) 経過中にやはり難治性の好酸球性中耳炎を続発する。譬に至る場合もあり、QOL を著しく損なう疾患である。本邦では ECRS は増加傾向にあり、今後さらに増加すると予測されている(申請者らが 2014 ヨーロッパ鼻科学会にて報告)。抗菌薬は無効であり、ステロイドの内服にのみ反応するが、全身性ステロイド投与が長期にわたる場合も多く、病態の解明・治療法の開発が喫緊の課題として求められている。

好酸球性副鼻腔炎の免疫学的メカニズムとしては、IgE の関与や Th1/Th2 のバランスにおける Th2 優位などが指摘されているが、重症型であるアスピリン喘息において炎症局所での著明な好酸球浸潤が認められることなどから、「好酸球性副鼻腔炎」の名称が示すように、病態の形成上好酸球の増多及び活性化が重要な役割を果たしていると考えられるようになってきた。

セマフォリン(semaphorin)ファミリーは 1990 年代に発生過程における神経軸索の方向を決定する神経ガイダンス因子として同定された。現在は 30 種類以上の分子が同定され、class I~ の 7 つのサブクラスに分類される分子群である。後に免疫学領域においても重要な作用を有することが示されてきた。免疫の分野におけるセマフォリンは「免疫セマフォリン」と呼ばれ、T 細胞や B 細胞の活性化といった獲得免疫からマクロファージや樹状細胞の機能調節といった自然免疫に至るまで様々な免疫学的機能を有することが明らかにされてきた。(Kumanogoh & Kikutani, Nat Rev Immunol. 2013) その中でも Class セマフォリンの Sema4A は Th1/Th2 制御において重要な役割を果たしている。Sema4A のレセプターとしては免疫系では Tim-2、神経系では Plexin-B2 が同定されている。

近年、セマフォリンおよびその受容体を介したシグナル伝達系と疾患病態との関連性に対する研究が進んできており、セマフォリンは新たな創薬ターゲットとしても注目を集めている。(Fukuda T et al, Nature. 2013) Sema4A は Th1/Th2 反応制御に重要であるという従来の知見から(Kumanogoh A et al, Immunity. 2005) 申請者らはセマフォリン分子群の中でも Sema4A に着目し、まず、Sema4A が気管支喘息モデルマウスで果たす役割について検討し、報告した。その結果 Sema4A ノックアウトマウス(以下 KO マウス)で気管支喘息モデルを作成すると、野生型に比して重症化していた。Sema4A の

receptor としては Tim-2 の関与を証明し、Sema4A-Fc fusion protein を用いてこの喘息モデルにおける治療効果も確認した。(Morihana T et al, J Clin Immunol. 2013)

喘息・ECRS と Sema4A の関連をヒトにおいて直接証明する報告は未だ無い。申請者は免疫染色で ECRS 患者鼻茸好酸球において Sema4A が高発現していることを発見した。また、ELISA 法で Sema4A を測定したところ、ECRS・気管支喘息患者血清で Sema4A 値が上昇していた。

ECRS のマウスモデルは確立されていなかったが、近年マウスにおけるアレルギー性慢性副鼻腔炎モデルが確立され、好酸球性副鼻腔炎モデルとして、このモデルを利用した研究が報告されている。(Kim SW et al, Allergy 2013 他)

2. 研究の目的

申請者らは鼻茸好酸球上に SEMA4A が高発現することを発見し、好酸球性炎症と SEMA4A の関連について検討することとした。

3. 研究の方法

好酸球性副鼻腔炎・気管支喘息患者・健常者において血清 Sema4A 値を測定する。臨床的プロファイルについて比較検討し、血清バイオマーカーとしての可能性について検証した。

Sema4A は鼻茸好酸球で高発現している。そこで、好酸球の活性化への関与を探るために、Sema4A 刺激下での患者好酸球と健常者好酸球の表現型比較を行う。さらに、Sema4A KO マウスにて骨髓由来好酸球を誘導し、野生型と表現型比較を行った。

マウス鼻腔におけるセマフォリンファミリー分子群の発現を免疫染色・RT-PCR で解析した。

好酸球における Sema4A レセプターを検討した。

4. 研究成果

まず、好酸球性副鼻腔炎(ECRS)および気管支喘息患者において、他の疾患の患者と比較して、血清 SEMA4A 値が高値であることを確認した。しかしながら病勢との関連はみとめなかった。

さらに、Nasal Polyp において SEMA4A の免疫染色を施行したところ、ECRS 患者由来鼻茸においては非好酸球性副鼻腔炎(NECRS)患者由来鼻茸と比較して SEMA4A が高発現しており、特に好酸球において強く発現を認めた。そこで我々はさらに SEMA4A 欠損マウスを用いて研究を進めた。SEMA4A 欠損マウスにおいて最初に脾臓の好酸球数をカウントしたところ、野生型と比較して SEMA4A 欠損マウスにおいては有意に好酸球数が少ないという結果を得た。さらに、骨髓由来好酸球を作成

した。骨髓由来好酸球は骨髓細胞から Stem Cell Factor、Flt-3ligand、IL-5 で成熟好酸球を誘導する系である。この骨髓由来好酸球の系において、SEMA4A 欠損マウスは野生型と比較して有意に増殖が抑制されていた。これらの結果から、SEMA4A は好酸球の生存に有利に働くことが判明した。すなわち、好酸球の生存を助けることで好酸球性炎症の遷延に寄与している可能性が示唆された。

なお、好酸球上の SEMA4A のレセプターとしては mRNA レベルで過去に報告されているレセプターを検討したところ、PlexinD1、Plexin D2、PlexinB1 が発現していたが、いずれが機能性レセプターとして働いているかは不明であった。

最後に SEMA4A がどのようなメカニズムで好酸球の生存に関与しているかを調べた。SEMA4A は STAT5 のリン酸化を介して好酸球の生存に寄与している可能性が示唆された。現在、上記結果について英語原著論文として投稿中である。

さらに、SEMA4A の上皮に対する作用についても検討を始めている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件+現在投稿中)

「特集/アレルギー疾患の新しい治療」に寄せる セマフォリンの気管支喘息病態への関わり 好酸球性副鼻腔炎への病態関与に期待して(解説)

前田 陽平, 識名 崇, 津田 武, 端山 昌樹, 武田 和也

アレルギーの臨床 (0285-6379)36 巻 11 号 Page1056-1059(2016.10)

本研究成果に関する英語原著論文を投稿中である。

〔学会発表〕(計4件)

好酸球性副鼻腔炎における SEMA4A の機能解析

前田陽平、端山昌樹、武田和也、津田武、識名崇、岡崎鈴代、猪原秀典

日本鼻科学会 2016年10月15日

栃木県総合文化センター

SEMA4A Contributes Phenotypes in Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis (ECRS)

Yohei Maeda, Shohei Koyama, Masaki Hayama, Takashi Shikina, Suzuyo Okazaki, Takeshi Tsuda, Kazuya Takeda, Atsushi Kumanogoh, Hidenori Inohara

ERS/ISIAN 2016 2016年7月4日

Stockholm, Sweden

SEMA4A の好酸球性副鼻腔炎病態への関与
前田陽平、識名崇、端山昌樹、津田武、武田和也、猪原秀典

日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会

2017年4月14日 旭川グランドホテル

SEMA4A の上皮に対する作用および受容体の検討

前田陽平、津田武、端山昌樹、武田和也、識名崇、猪原秀典

日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会

2018年2月23日 下関

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

前田 陽平 (MAEDA, Yohei)

大阪大学大学院医学系研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科 助教

研究者番号: 00636483

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

()

研究者番号:

(4)研究協力者 ()