

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16886

研究課題名(和文)免疫セマフォリンSEMA4D中和抗体を用いた好酸球性副鼻腔炎新規治療法の開発

研究課題名(英文)therapeutic implications of SEMA4D in eosinophilic chronic rhinosinusitis

研究代表者

津田 武(Tsuda, Takeshi)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：00778631

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 300,000円

研究成果の概要(和文)：好酸球性副鼻腔炎患者において血清のSEMA4D濃度が他副鼻腔疾患患者より高値かつ病勢と正の相関を認めるという結果が得られた。遊離型SEMA4Dは血管内皮細胞に作用し、RhoAの活性化を介した透過性の亢進に寄与し、これに伴い鼻茸中への炎症細胞浸潤を容易にする作用を認めた。鼻腔上皮細胞に作用し同様の透過性の亢進を引き越す点や炎症性サイトカインの産生も促進することからSEMA4Dが病態の増悪に深く関わると考えられた。SEMA4D欠損マウスでは好酸球性副鼻腔炎モデルの炎症は軽微となり、同マウスモデルに対して抗SEMA4D抗体を投与したところ、炎症が軽快する所見が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難治性疾患である好酸球性副鼻腔炎において、SEMA4Dが血管内皮および鼻腔上皮の透過性亢進および炎症性サイトカイン産生という作用を開始して病態を増悪させるという新たなメカニズムを発見した。またマウスモデルにおいてSEMA4D中和抗体投与によって好酸球性炎症が軽快する所見を得られたことからSEMA4Dが好酸球性副鼻腔炎における新たな治療ターゲットとなる可能性が見いだされた。

研究成果の概要(英文)：Serum soluble SEMA4D levels were elevated in patients with ECRS and positively correlated with disease severity. SEMA4D treatment increased the permeability of endothelial cells through the activation of RhoA, permitting eosinophils to migrate easily across the endothelium. Recombinant SEMA4D proteins activated RhoA and significantly increased the permeability of HNEpCs, as did vascular endothelium. Paranasal inflammation was less severe in SEMA4D^{-/-} mice than in WT mice. Treatment with anti-SEMA4D antibody ameliorated eosinophilic infiltration in sinus tissues and nasal lavage fluid in the ECRS animal model.

研究分野：耳鼻咽喉科学、免疫学、アレルギー学

キーワード：Semaphorin

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

好酸球性副鼻腔炎は好酸球浸潤の強い鼻茸形成・喘息合併を特徴とする難治性疾患であり、治療は経口ステロイド・手術となるが、副作用の問題や術後早期再発も多く根本的治療が未だにない。また複数の細胞が病態に関与していることが示唆されているがそのメカニズムについても完全には理解されていない。

我々が研究のターゲットとしているセマフォリンファミリーは発生過程における神経軸索伸展の方向を決定する神経ガイダンス分子群として発見されたものである。当初神経伸展に対する作用について報告されたセマフォリンではあるが、その他の機能として血管新生、癌の進展、自己免疫など多岐にわたることが近年判明してきた。特に免疫に関わりをもつセマフォリンは「免疫セマフォリン」と呼ばれ、その中でも SEMA4D は免疫系で初めて生理的に発現することが報告されたセマフォリンである。膜型蛋白であるが刺激を受け遊離型となるが、遊離型 SEMA4D が炎症性サイトカインの誘導能を持ち、*in vivo* における SEMA4D 中和抗体治療実験によって慢性炎症が改善することが示されている。

2. 研究の目的

アレルギー疾患と SEMA4D の関連についての報告は散見されるが、好酸球性副鼻腔炎において SEMA4D が果たす意義については十分検討されていない。本研究の目的は好酸球性副鼻腔炎の血中および組織中における SEMA4D の発現を評価することによって SEMA4D の果たす役割を検討するとともに *In vivo* の実験系を用いて SEMA4D の創薬対象としての可能性を評価することを目的とする。

3. 研究の方法

大阪大学医学部附属病院耳鼻咽喉科頭頸部外科を受診した鼻副鼻腔疾患患者の血清 SEMA4D 濃度を ELISA 法で測定し、臨床的な病勢との相関傾向を評価した。また手術療法をうける好酸球性副鼻腔炎患者から血液を採取し、血中の各血球表面の膜型 SEMA4D の発現レベルを健常者と比較した。*In vitro* の実験系では健常者の血液から好酸球を単離してきた後、サイトカインや metalloproteinase などの切断酵素で刺激を加えることによって好酸球表面の膜型 SEMA4D が切断されるメカニズムについて評価を行った。また好酸球性および非好酸球性副鼻腔炎患者の副鼻腔組織における SEMA4D の発現について免疫染色で評価を行った。*In vitro* の実験系で SEMA4D の病的意義を検討するため、鼻腔上皮細胞および血管内皮細胞に対して recombinant SEMA4D を用いた刺激実験を行い、透過性の評価および炎症性サイトカインの産生量について評価を行った。*In vivo* の実験系では SEMA4D 欠損マウスと野生型マウスに対して好酸球性モデルでの炎症を比較した後、好酸球性副鼻腔炎モデルマウスに対して抗 SEMA4D 抗体を投与して抗体の治療能の評価を行った。

4. 研究成果

難治性疾患である好酸球性副鼻腔炎を罹患する患者において血清 SEMA4D 濃度が上昇しており、その血清濃度は一部の臨床的な病勢と正の相関傾向を認めた。また加えて好酸球性副鼻腔炎患者の上昇する血清 SEMA4D 濃度は血中の好酸球膜表面に存在する膜型 SEMA4D が Matrix metalloproteinase-9 によって切断されることによって遊離型になることが原因と考えられた。

好酸球性副鼻腔炎の特徴である、難治性鼻茸において浸潤する好酸球で SEMA4D の濃染傾向を認め組織含有量についても多いことが示唆された。*In vitro* の実験では recombinant SEMA4D が

血管内皮および鼻腔上皮の透過性亢進および炎症性サイトカイン産生という作用を開始して病態を増悪させるという新たなメカニズムを発見した。またマウスモデルにおいて SEMA4D 中和抗体投与によって好酸球性炎症が軽快する所見を得られたことから SEMA4D が好酸球性副鼻腔炎における新たな治療ターゲットとなる可能性が見いだされた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tsuda Takeshi, Nishide Masayuki, Kumanogoh Atsushi et al	4. 巻 145
2. 論文標題 Pathological and therapeutic implications of eosinophil-derived semaphorin 4D in eosinophilic chronic rhinosinusitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 843 ~ 854.e4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jaci.2019.12.893	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 津田 武、前田陽平、武田和也、赤澤仁司、端山昌樹、猪原秀典
2. 発表標題 好酸球性副鼻腔炎におけるSEMA4Dの機能解析
3. 学会等名 日本鼻科学会
4. 発表年 2018年～2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----