

平成22年 5月 17日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790611

研究課題名 (和文) セマフォリンが有する運動ニューロン保護作用を利用した筋萎縮性側索硬化症治療の試み

研究課題名 (英文) A trial of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) therapy targeting on semaphorins

研究代表者 奥野龍禎 (OKUNO TATSUSADA)

大阪大学・微生物学研究所・助教

研究者番号：00464248

## 研究成果の概要(和文)：

近年、多発性硬化症や筋萎縮性側索硬化症などの中枢神経疾患において、ミクログリアを介した炎症機転が病態に関与することが明らかになってきている。我々は多発性硬化症の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)を用いてSema4Dのミクログリアに対する作用とそのメカニズムを解析した。Sema4DはPlexin-B1を介してミクログリアの炎症機転を増強していることが示唆され、Sema4D-Plexin-B1経路が多発性硬化症や筋萎縮性側索硬化症に対する新しい治療標的となりうる事が明らかとなった。

## 研究成果の概要(英文)：

Sema4D/CD100, a class IV semaphorin, has been shown to be involved in the nervous and immune systems through its receptors Plexin-B1 and CD72, respectively. However, the involvement of Sema4D in neuroinflammation still remains unclear. We here found that Sema4D promoted inducible nitric oxide synthase (iNOS)-expression by primary mouse microglia, of which effects were abolished in Plexin-B1- but not in CD72-deficient microglia. In addition, during the development of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), we observed that the expression of Sema4D and Plexin-B1 was induced in infiltrating mononuclear cells and microglia, respectively. Consistent with these expression profiles, when encephalitogenic T-cells derived from wild-type mice were adoptively transferred into Plexin-B1-deficient mice or bone marrow chimera mice with Plexin-B1-deficient CNS-resident cells, the development of EAE was considerably attenuated. Furthermore, blocking antibodies against Sema4D significantly inhibited neuroinflammation during EAE-development. Collectively, our findings not only demonstrate the role of Sema4D-Plexin-B1 interactions in the activation of microglia but also provide their pathological significance in neuroinflammation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：神経免疫学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 神経内科学（7206）

キーワード：筋萎縮性側索硬化症 Sema4D 運動ニューロン保護 ミクログリア EAE

1. 研究開始当初の背景

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は運動ニューロンが進行性に障害される疾患であるが、現在有効な治療法はなく、新しい治療法の開発が現在課題となっている。セマフォリンは従来神経ガイダンス因子として同定されてきた分子群であるが、申請者の研究により、神経疾患における免疫反応制御において重要な機能を担っていることが明らかになっていた。

2. 研究の目的

本研究では Sema4D の神経に対する作用を明らかにするとともに、セマフォリンを標的とした神経疾患治療を試みることを目的としている。

3. 研究の方法

神経疾患に対する Sema4D 阻害療法の可能性を実験的自己免疫性脳脊髄炎（experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE）を用いて検討した。SJLマウスに再発性EAEを誘導し抗Sema4D抗体を投与した。さらにEAEの脊髄病巣において免疫組織染色によりSema4DとPlexin-B1の発現を検討した。またPlexin-B1欠損マウスに野生型マウスの骨髄移植を行って中枢神経系のみPlexin-B1が欠損した骨髄キメラ

マウスを作成し、MOGペプチド反応性T細胞の移入によりEAEを発症させた。

4. 研究成果

抗Sema4D抗体は、再発性EAEを有意に改善した。また脊髄病巣においてSema4DはT細胞、Plexin-B1はミクログリアに高発現していることが明らかになった。中枢神経系のみPlexin-B1が欠損した骨髄キメラマウスに養子移入によりEAEを発症させたところ、野生型マウスに野生型骨髄を移植した対照のキメラマウスに比べて有意に軽症であった。以上より、抗Sema4D抗体はPlexin-B1を介したミクログリアの炎症機転を抑制していることが示唆された。本研究によりSema4D-Plexin-B1経路の障害が多発性硬化症や筋萎縮性側索硬化症に対する新しい治療標的となりうることが明らかとなった。

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9件）

- Okuno T, Nakatsuji Y, Moriya M, Takamatsu H, Nojima S, Takegahara N, Toyofuku T, Nakagawa Y, Kang S, Friedel RH, Sakoda S, Kikutani H, Kumanogoh A Roles of Sema4D-Plexin-B1 Interactions in the

- Central Nervous System for Pathogenesis of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. **Journal of Immunology** 2010 Feb 1;184(3):1499-506. (査読あり)
2. Takamatsu H, Okuno T, and Kumanogoh A. Regulation of immune cell responses by semaphorins and their receptors. **Cellular & Molecular Immunology** 2010 7(2) 83-88. (査読あり)
  3. Nawabi H, Briançon-Marjollet A, Clark C, Sanyas I, Takamatsu H, Okuno T Kumanogoh A, Bozon M, Takeshima K, Yoshida Y, Moret F, Abouzid K, and Castellani V. A midline switch of receptor processing regulates commissural axon guidance in vertebrates. **Genes & Development**. 2010 15;24(4):396-410. (査読あり)
  4. 奥野龍禎, 熊ノ郷淳 多発性硬化症の発症と Sema4D 臨床免疫・アレルギー科, 2010 53 (5) 468-474 (査読なし)
  5. Kinoshita M., Y.Nakatsuji, M.Moriya, T.Okuno, A.Kumanogoh, M.Nakano, T.Takahashi, K.Fujihara, K.Tanaka, S.Sakoda. Astrocytic necrosis is induced by anti-aquaporin-4 antibody-positive serum. 2009 **Neuroreport**. 20:508-512 (査読あり)
  6. Kinoshita M, Nakatsuji Y, Kimura T, Moriya M, Takata K, Okuno T, Kumanogoh A, Kajiyama K, Yoshikawa H, Sakoda S. Neuromyelitis optica: Passive transfer to rats by human immunoglobulin. 2009 **Biochem Biophys Res Commun**. 4;386(4):623-7. (査読あり)
  7. Makino N, Toyofuku T, Takegahara N, Takamatsu H, Okuno T, Nakagawa Y, Kang S, Nojima S, Hori M, Kikutani H, Kumanogoh A.,(2008), **FEBS Lett**. 26;582(28):3935-40 (査読あり)
  8. Moriya M, Nakatsuji Y, Miyamoto K, Okuno T, Kinoshita M, Kumanogoh A, Kusunoki S, Sakoda S. (2008), Edaravone, a free radical scavenger, ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis, **Neuroscience letter**, 440, 323-326 (査読あり)
  9. 奥野龍禎, 中辻裕司, 森谷真之, 佐古田三郎, 熊ノ郷淳 Sema4Dと Neuroinflammation **神経免疫学**, 2008 16;2;177 -181. (査読なし)
- [学会発表] (計3件)
- [1] Tatsusada Okuno, Hyota Takamatsu, Noriko Takegahara, Hitoshi Kikutani, Atsushi Kumanogoh (2008), Involvement of Sema4D/CD100 in neuroinflammation of experimental autoimmune encephalomyelitis, 日本免疫学会総会、学術集会, 京都, 12/1-3
- [2] Tatsusada Okuno, Yuji Nakatsuji, Saburo Sakoda, Atsushi Kumanogoh, (2008), ROLE OF SEMA4D IN THE NEUROINFLAMMATION OF EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE ENCEPHALOMYELITIS, International Congress of Neuroimmunology, アメリカ合衆国 フォートワース, 10/26-30
- [3] 奥野龍禎, 中辻裕司, 森谷真之, 佐古田三郎, 熊ノ郷淳, (2008), 実験的自己免疫性

脳脊髄炎の病巣における免疫セマフォリン  
Sema4D/CD100 の役割, 神経免疫学会学術集  
会, 新潟, 4/17,18

6. 研究組織

(1) 研究代表者

奥野龍禎 (OKUNO TATSUSADA)

大阪大学・微生物病研究所・助教

研究者番号：00464248

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：