

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

科学研究費助成事業

研究成果報告書



平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461293

研究課題名(和文) 血管新生とSema3Eをターゲットとした進行型多発性硬化症治療の試み

研究課題名(英文) Trials to treat progressive MS

研究代表者

奥野 龍禎 (Okuno, Tatsusada)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：00464248

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000 円

研究成果の概要(和文)：進行型多発性硬化症(MS)は神経変性疾患としての側面が強く、有効な治療法は確立していないため、新たな治療法の開発が切望されていた。MSにおいては病巣の血流低下が病態に重要な役割を果たすことが示唆されているが、我々は血管新生を抑制するSema3Eが一部の多発性硬化症及び筋萎縮性側索硬化症患者の髄液中で増加すること、Sema3E欠損マウスにおいて実験的自己免疫性脳脊髄炎が形象化することを見出し、血流と神経変性疾患について本研究で検討した。神経変性に対する血流増加の効果を検討するためプロスタサイクリンアゴニストをALSのモデルマウスでに投与したところ有意に改善し血流増加の有効性を示した。

研究成果の概要(英文)：Multiple Sclerosis(MS) and Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disorder characterized by the pathogenesis of which includes ischemia and hypoxia. However, the precise role of hypoxia in neurodegenerative diseases remains unknown. In this study, we administered a synthetic prostacyclin agonist ONO1301, to animal model of ALS (mSOD1G93A mice) to alleviate ischemia and hypoxia in the spinal cord. Prostacyclin agonist successfully suppressed the expression level of HIF1- α in the spinal cords of mSOD1G93A mice, resulting in the significant prevention of neurodegeneration. Our data is the first documented study to suggest that blood flow increasing therapy has a potential to improve neurodegenerative diseases.

研究分野：神経免疫学

キーワード：多発性硬化症 筋萎縮性側索硬化症 Sema3E 虚血 低酸素

1. 研究開始当初の背景

多発性硬化症(MS)は、若年者に好発し、発症後、長期に渡って再発・寛解を繰り返しながら増悪する脱髄疾患である。20-30 歳台に好発するため社会的損失が大きく、治療法開発のため精力的に研究がなされてきた。その結果、インターフェロン β を初めとしてフィンゴリモド、ナタリズマブ、BG12、リツキシマブ、グラチラマーアセテートなど有効な薬剤が次々に開発され、予後は改善しつつある。しかしながら、これらの薬剤は再発寛解型 MS に対するものであり、徐々に歩行障害や高次脳機能障害が進行する一次及び二次進行型 MS に対する有効な薬剤は存在せず、原因解明と新たな治療の開発が切望されてきた。

Sema3E は遊離型のクラス セマフォリンであり、受容体は Plexin-D1 である。Sema3E には神経系や免疫系において様々な活性があるが、なかでももっとも強力な機能は血管内皮細胞に発現した Plexin-D1 を介した血管新生抑制であるとされている (Gu et al. Science 307(5707):265-8 2005, Kim et al. Genes Dev. 25(13):1399-41 2011, Zhang et al. Dev Biol. 325(1):82-93 2009)。Plexin-D1 の欠損マウスは胎生期に適切な血管形成ができないため、胎生致死となる (Gu.C et al. Science 307(5707):265-8 2005)。

2. 研究の目的

進行型多発性硬化症(MS)は再発寛解型 MS と病態が異なり、神経変性疾患としての側面が強く、予後を改善させる薬剤は存在しないため、原因解明と新たな治療の開発が切望されてきた。申請者らは最近血管新生を抑制するクラス セマフォリン Sema3E が進行型 MS の髄液中で増加し、さらに Sema3E 欠損マウスで MS の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)を誘導すると軽症化するという重要な知見を得、Sema3E の増加による血

管新生抑制が進行型 MS の病態を増悪させると考えた。本研究では EAE と MS 患者髄液サンプルを用いて、進行型 MS における Sema3E の血管新生抑制作用を明らかにすると共に、Sema3E をターゲットとした進行型 MS の治療法開発を目的としている。

3. 研究の方法

MS 患者の髄液で強力な血管形成抑制作用を持つ Sema3E が増加すること、Sema3E 欠損マウスが EAE に抵抗性を示すことを見出している。Sema3E による血管新生阻害が進行型 MS の病態を悪化させていると考え、進行型 MS 患者における髄液 Sema3E 増加の臨床的な意義についての検討及び EAE における Sema3E-Plexin D1 相互作用の意義についてさらに検討を行った。また血流低下の神経変性への影響を ALS モデルマウス(G93A 変異 SOD1 トランスジェニックマウス)にプロスタサイクリンアゴニストを投与し血流を増加させることにより検討した。低酸素応答因子である HIF 1 α の発現解析をヒト ALS 及び G93A 変異 SOD1 トランスジェニックマウス脊髄において免疫染色を用いて行った。

4. 研究成果

症例数を増やして検討したところ髄液中の Sema3E は進行型多発性硬化症、筋萎縮性側索硬化症で増加していた。T 細胞特異的 Plexin-D1 欠損マウスにおいては EAE の発症が遅延しており、Sema3E-Plexin D1 シグナルが EAE や MS で重要な役割を果たしていることが示唆された。

HIF 1 α の発現は野生型マウスや疾患対照と比べてヒト ALS 及び G93A 変異 SOD1 トランスジェニックマウス脊髄において増加していた。また興味深いことにプロスタサイクリンアゴニストの投与により脊髄 HIF 1 α の発現は減少した。また HIF 1 α の発現減少に伴って虚血によって誘導される VEGF 及びエリスロポイエチン

は減少していた。さらにプロスタサイクリン
アゴニスト投与により G 9 3 A 変異 S O D
1 トランスジェニックマウス脊髄の A T P
が有意に増加し、症状の改善に寄与している
と考えられた。

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2件)

1. Kimura T, Nada S, Takegahara N, Okuno T, Nojima S, Kang S, Ito D, Morimoto K, Hosokawa T, Hayama Y, Mitsui Y, Sakurai N, Sarashina-Kida H, Nishide M, Maeda Y, Takamatsu H, Okuzaki D, Yamada M, Okada M, Kumanogoh A. Polarization of M2 macrophages requires Lamtor1 that integrates cytokine and amino-acid signals. Nat Commun. 2016; 7: 13130
2. Morimoto K, Baba Y, Shinohara H, Kang S, Nojima S, Kimura T, Ito D, Yoshida Y, Maeda Y, Sarashina-Kida H, Nishide M, Hosokawa T, Kato Y, Hayama Y, Kinehara Y, Okuno T, Takamatsu H, Hirano T, Shima Y, Narazaki M, Kurosaki T, Toyofuku T, Kumanogoh A. LRRK1 is critical in the regulation of B-cell responses and CARMA1-dependent NF-κB activation. Sci Rep. 2016; 6: 25738

〔学会発表〕(計6件)

1. 2016.8.21-26 Kaori Sakakibara, Tatsusada Okuno, Yuji Nakatsuji, Hideki Mochizuki, Atsushi Kumanogoh Elevation of serum Sema4A in neuromyelitis optica spectrum disorders (NMOSD)
16th International Congress of Immunology, Melbourne, Australia 2016

2. 榊原佳織, 奥野 龍禎, 甲田 亨, 宮崎雄生, 新野正明, 宮本勝一, 楠進, 深沢俊行, 熊ノ郷淳, 望月 秀樹 中辻 裕司.

NMOsd において血中 Sema4A は増加する

第 28 回 日本神経免疫学会学術集会、2016 年 9 月 29 日～30 日、長崎

3. 甲田 亨, 奥野 龍禎, 中辻 裕司, 宮崎雄生, 新野正明, 深沢俊行, 南波明子, 山下 和哉, 清水幹人, 熊ノ郷淳, 佐古田三郎, 望月 秀樹. 多発性硬化症治療選択バイオマーカー S e m a 4 A ~フィンゴリモードとの相関について第 28 回 日本神経免疫学会学術集会、2016 年 9 月 29 日～30 日、長崎

4. 南波明子 奥野龍禎, 甲田亨, 宮崎雄生, 新野正明, 宮本勝一, 楠進, 熊ノ郷淳, 中辻裕司, 望月秀樹. 多発性硬化症患者における血清 Sema4A 高値群の臨床的特徴と、IFN-β 開始後 5 年間の NEDA 達成率. 第 28 回日本神経免疫学会学術集会 平成 28 年 9 月 29 日 長崎

5. 奥野 龍禎, 甲田 亨, 宮崎雄生, 新野正明, 宮本勝一, 楠進, 深沢俊行, 熊ノ郷淳, 望月 秀樹, 中辻 裕司. NMOSd において血中 Sema4A は増加する
第 57 回 日本神経学会学術大会、平成 28 年 5 月 18 日～21 日、神戸

6. 南波 明子, 山下 和哉, 甲田 亨, 奥野 龍禎, 熊ノ郷 淳, 中辻 裕司, 望月 秀樹. 多発性硬化症患者における血清 Sema4A 値高値群の臨床的特徴. 第 57 回日本神経学会学術大会 平成 28 年 5 月 19 日 神戸

〔図書〕(計1件)

1. Nakatsuji Y, Kinoshita M, Okuno T, Takata K, Koda T, Honorat JA, Sakoda S, Mochizuki H.

Neuromyelitis Optica:Diagnosis and Treatment.
Neuroimmunological Disease (Kusunoki S).
Springer. Japan. 2016; 135-152

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 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 0 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
本研究も含め大阪大学神経内科の神経免疫
グループの業績は
<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/neuro/>
[/myweb6/group03.html](http://myweb6/group03.html)
にて公開している。

6．研究組織

(1)研究代表者

奥野 龍禎 (Tatsusada Okuno, 大阪大学医学
系研究科 助教)

研究者番号：00464248

(2)研究分担者

中辻 裕司 (Yuji Nakatsuji, 大阪大学医学系研
究科 准教授)

研究者番号：20332744

多田 智 (Satoru Tada, 大阪大学医学系研究
科 医員)

研究者番号：70626530

甲田 亨 (Toru Koda, 大阪大学医学系研究
科 医員) 研究者番号：70626134

(3)連携研究者

望月秀樹 (Hideki Mochizuki, 大阪大学医
学系研究科 教授)

研究者番号：90230044

熊ノ郷 淳 (Atsuhiko Kumanogoh, 大阪大学
医学系研究科 教授)

研究者番号：10294125

(4)研究協力者

()