

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390098

研究課題名(和文)血液脳関門形成とインターロイキン6アンプの活性化

研究課題名(英文)Formation of blood-brain barrier and activation of Interleukin-6 amplifier

研究代表者

村上 正晃(Murakami, Masaaki)

北海道大学・遺伝子病制御研究所・教授

研究者番号：00250514

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,600,000円

研究成果の概要(和文)：非免疫細胞にてNFκBとSTATが同時に活性化すると大量のケモカインが発現し、局所に炎症が誘導される。我々はこの炎症の増幅回路(炎症回路)に着目し研究してきた。本研究では中枢神経系への免疫細胞の侵入方法、血液脳関門の制御機構を詳細に解析することを目的とした。多発性硬化症モデルEAEでの中枢神経系を高感度MRIを用いて経時的に観察すると、EAE初期病変部であるマウス第五腰髄において、浮腫を伴う初期炎症が生じること、さらにこれによって生じる虚血/再還流障害が炎症を拡大し病態形成に関与することを発見した。また、さまざまなストレスが免疫細胞の侵入口を変化させ、EAEの病態を悪化させることを発見した。

研究成果の概要(英文)：Activation of NFκB and STAT induces massive production of chemokines in non-immune cells, which leads to local inflammation. We have been studying this inflammation amplifying mechanism, termed inflammation amplifier. In this study, we aimed to characterize mechanisms by which immune cells infiltrate into the central nervous system (CNS), and regulation of blood-brain barrier. In a murine model of multiple sclerosis, EAE, we found that high-performance MRI revealed that inflammation with edema occurred at fifth lumbar region where immune cells firstly enter the CNS. In addition, this edema was associated with ischemia/reperfusion injury that deteriorated the CNS inflammation. We also discovered that various stresses modulated the entry sites of immune cells into the CNS and altered the development of EAE in mice.

研究分野：免疫学

キーワード：神経活性化 炎症回路 慢性炎症 神経反射シグナル

1. 研究開始当初の背景

神経活動は免疫反応に影響を及ぼす。これまでの研究から神経活性化が内分泌組織からのホルモン分泌を介して免疫系に影響を及ぼすこと(神経-内分泌系)と、神経がリンパ組織にて直接免疫系の細胞、臓器に影響を与える(神経シグナル系)の2つの系が知られている。神経-内分泌系は、ホルモンと免疫反応の関係を解析することで比較的データの蓄積が進んでいる。具体的には全身性のストレス誘導にて血中のステロイド濃度が上昇し、胸腺細胞のアポトーシスが誘導されることが明らかとなっている。一方で、神経シグナル系の実体はほとんど明らかとなっていなかった。中枢神経系は免疫特権領域として知られ、それを担う血液脳関門が血液中の免疫系などの細胞や分子量の大きなタンパクなどの侵入を制限する。しかし、脳内でのウイルス、バクテリアの感染時や多発性硬化症等の自己免疫疾患、炎症性疾患の発症時には多くの免疫系や血液系に属する細胞が中枢神経系に侵入する。また、中枢神経系に存在するミクログリアは、その前駆細胞が血中に存在する幼若なマクロファージ、単核球である可能性も示唆されている。様々な状況においてこれらの免疫系などの細胞が、中枢神経系に侵入してくるときの経路、メカニズムは全くのブラックボックスであった。この疑問に対し、近年我々は免疫細胞が中枢神経系に浸潤する部位、メカニズムを同定している。具体的には、最大の抗重力筋であるヒラメ筋への刺激が感覚神経を介して、局所的な交感神経の活性化を誘導する。これにより分泌されるノルアドレナリンが、第五腰椎背側血管において局所的な炎症回路の活性化を誘導する。これにより過剰なケモカイン、サイトカインの発現が誘導される。これを契機としてヘルパーT細胞を含む免疫細胞が集積し、中枢神経系への侵入口が形成される。本研究は我々独自の発見を基に、中枢神経系へのアクセス経路についてさらなる詳細な分子メカニズムを解き明かすという試みである。

2. 研究の目的

本研究提案では、中枢神経系の血管と神経活動を介する神経活性化の密な連携、さらにその制御の破綻から生じる自己免疫疾患や炎症性疾患の発症機構を明らかとする。また反対に免疫系からの刺激が、神経/精神活動に与える影響についても明らかとすることで、神経系-免疫系の双方向での神経シグナルを同定し、病態形成における新規分子機構を提唱する。

3. 研究の方法

本研究提案では、中枢神経系での血管の活性化と神経/精神活動を介する交感神経活性化との密な連携、さらにその制御の破綻から生じる自己免疫疾患/炎症性疾患の発症機構の解析に加えて、免疫系からの刺激が神経/精神

活動に影響を与える可能性も解析した。まず血管内皮細胞の生体部位ごとの活性化状態の解析を行い、さらに血管内皮細胞以外の細胞での炎症回路活性化と多発性硬化症モデルの病態形成との関係性の解析を行った。さらに炎症回路活性化と神経変性疾患/精神疾患、中枢神経系へのウイルス侵入経路やメタボリックシンドロームとの関係性について解析を進めた。また炎症回路の活性化の分子メカニズムについて詳細な解析を行った。

4. 研究成果

まず、生体部位ごとの血管内皮細胞の変化について、多発性硬化症モデル EAE での中枢神経系の血管変化を、高感度 MRI を用いて病態を経時的に観察すると、神経活性化が定常状態から増強している第五腰椎において、浮腫を伴う初期炎症が生じること、さらにこれによって生じる血管の虚血/再還流がラジカルを生じさせ、炎症を拡大し病態形成に大きく関与することを発見し、論文発表した。さらに血管内皮細胞以外の細胞としてアストロサイトでも炎症回路が活性化することが明らかとなり、病態に関与することが示唆されている。また第五腰椎はヘルペスウイルスの中枢神経系への移行経路として利用されていることも示されており、免疫細胞の侵入口としての機能以外にも役割が存在することが明らかとなった。この侵入口は神経活性化部位が移動することで、変化することがすでに明らかとなっているが、精神疾患や他の神経活性化を誘導した場合に侵入口が変化するかについて解析を行ったところ、社会的孤立モデル(精神疾患)や高脂肪食投与マウス(メタボリックシンドローム)において、病態の増悪化と侵入口の変化が観察された。これはストレスなど様々な要因による神経活性化によって、免疫細胞の侵入口、標的臓器が変化することを示唆する。また炎症回路のより詳細な分子メカニズムを解析するとこれまで神経変性疾患で重要とされていた分子が炎症回路を増強することも明らかとなっており、免疫からのシグナルが精神/神経活動にも影響を与えるという双方向の神経シグナルが生体の恒常性維持に関与すること解明した。これらについて論文準備中である。今後は生体内での双方向神経シグナル系をネットワークとしてのマクロな視点と分子メカニズムというミクロな視点の両方向から解析し、その全貌を突き止めるとともに、自己免疫疾患を含む炎症疾患に対する創薬化を進める。

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21件)

1. Maeda, K., T. Kosugi, W. Sato, H. Kojima, Y. Sato, D. Kamimura, N. Kato, N. Tsuboi,

- Y. Yuzawa, S. Matsuo, M. Murakami, S. Maruyama, K. Kadomatsu. CD147/Basigin limits lupus nephritis and TH17 cell differentiation by inhibiting the IL-6/STAT3 pathway. *Arthritis Rheumatol.* 2015 In press. doi: 10.1002/art.39155 査読有り
2. Kamimura, D., A. Stofkova, N. Nishikawa, T. Atsumi, Y. Arima, M. Murakami. Immune Cell Gateways in the CNS Regulated by Regional Neural Stimulations. *Clin Exp Neuroimmunol.* 2015 In press. doi: 10.1111/cen3.12198 査読有り
 3. Harada, M., D. Kamimura, Y. Arima, H. Kohsaka, Y. Nakatsuji, M. Nishida, T. Atsumi, J. Meng, H. Bando, R. Singh, L. Sabharwal, J.-J. Jiang, N. Kumai, N. Miyasaka, S. Sakoda, K. Yamauchi-Takahara, H. Ogura, T. Hirano and M. Murakami. Temporal Expression of Growth Factors Triggered by Epiregulin Regulates Inflammation Development. *J. Immunol.* 194(3):1039-46, 2015, doi: 10.4049/jimmunol.1400562 査読有り
 4. Sabharwal, L., D. Kamimura, J. Meng, H. Bando, H. Ogura, C. Nakayama, J.-J. Jiang, N. Kumai, H. Suzuki, T. Atsumi, Y. Arima and M. Murakami. The Gateway Reflex, which is mediated by the inflammation amplifier, directs pathogenic immune cells into the CNS. *J. Biochem.* 156(6):299-304, 2014, doi: 10.1093/jb/mvu057. 査読有り
 5. Hojyo S., T. Miyai, H. Fujishiro, M. Kawamura, T. Yasuda, A. Hijikata, B-H Bin, T. Irié, J. Tanaka, T. Atsumi, M. Murakami, M. Nakayama, O. Ohara, S. Himeno, H. Yoshida, H. Koseki, T. Ikawa, K. Mishima, and T. Fukada. Zinc transporter SLC39A10/ZIP10 controls humoral immunity by modulating B-cell receptor signal strength. *Proc Natl Acad Sci USA* 12;111(32):11786-91, 2014, doi: 10.1073/pnas.1323557111. 査読有り
 6. Atsumi, T., R. Singh, L. Sabharwal, H. Bando, J. Meng, Y. Arima, M. Yamada, M. Harada, J.-J. Jiang, D. Kamimura, H. Ogura, T. Hirano, and M. Murakami. Inflammation amplifier, a new paradigm in cancer biology. *Cancer Research* 74(1): 8-14, 2014, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2322 査読有り
 7. Ogura, H., T. Atsumi, H. Bando, L. Sabharwal, M. Yamada, J.-J. Jiang, A. Nakamura, Y. Arima, D. Kamimura, and M. Murakami. The reverse-direction method links mass experimental data to human diseases. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis* 62(1): 41-45, 2014, doi: 10.1007/s00005-013-0255-9 査読有り
 8. Mori, Y, M. Murakami#, Y. Arima, D. Zhu, Y. Terayama, Y. Komai, Y. Nakatsuji, D. Kamimura, and Y. Yoshioka (#, correspondence) Early pathological alterations of lower lumbar cords detected by ultra-high field MRI in a mouse multiple sclerosis model. *Int Immunol.* 26(2): 93-101, 2014, doi: 10.1093/intimm/dxt044 査読有り
 9. Kamimura, D., M Yamada, M Harada, L. Sabharwal, J Meng, H Bando, H Ogura, T Atsumi, Y Arima, M. Murakami. The gateway theory: bridging neural and immune interactions in the CNS. *Front. Neurosci.* doi: 10.3389/fnins.2013.00204 査読有り
 10. Singh, R., T Atsumi, H Bando, M Harada, A Nakamura, M Yamada, J-J Jiang, H Suzuki, K Katsunuma, T Nodomi, D Kamimura, H Ogura, M. Murakami. Reverse direction method: A possible tool to link animal models with corresponding human diseases and disorders. *Int. J. Genomic Med.* 1:106. doi: 10.4172/ijgm.1000106, 2013 査読有り
 11. Kamimura, D., M Yamada, L Sabharwal, H Ogura, Y Okuyama, A Nakamura, T Atsumi, Y Arima, M. Murakami. The Gate Theory Explains Regional Neural Regulation of Activated T cells Entering the Central Nervous System. *Journal of Clinical & Cellular Immunology* 4:156 doi: 10.4172/2155-9899.1000156 査読有り
 12. Murakami M#, M Harada, D Kamimura, H Ogura, Y Okuyama, N Kumai, A Okuyama, R Singh, J Jiang, T Atsumi, S Shiraya, Y Nakatsuji, M Kinoshita, H Kohsaka, M Nishida, S Sakoda, N Miyasaka, K Yamauchi-Takahara, T Hirano# (#, correspondence) Disease-Association Analysis of an Inflammation-Related Feedback Loop. *Cell Reports.* 3: 946-959, 2013, doi: 10.1016/j.celrep.2013.01.028 査読有り
 13. Sasaki M, A Tojo, Y Okochi, N Miyawaki, D Kamimura, A Yamaguchi, M. Murakami, Y Okamura. Autoimmune disorder phenotype in HVCN1-deficient mice.

- Biochem. J. 450: 295-301, 2013, doi: 10.1042/BJ20121188. 査読有り
14. Lee J, T Nakagiri, D Kamimura, M Harada, T Oto, Y Susaki, Y Shintani, M Inoue, S Miyoshi, E Morii, T Hirano, M Murakami#, M Okumura. (#, correspondence) IL-6 amplifier activation in epithelial regions of bronchi after allogeneic lung transplantation. *Int Immunol.* 25: 319-332, 2013, doi: 10.1093/intimm/dxs158 査読有り
15. Kusu T, H Kayama, M Kinoshita, S Gyu-Jeon, Y Ueda, Y Goto, R Okumura, H Saiga, T Kurakawa, K Ikeda, Y Maeda, J Nishimura, Y Arima, K Atarashi, K Honda, M Murakami, J Kunisawa, H Kiyono, M Okumura, M Yamamoto, K Takeda. Ecto-Nucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase 7 Controls Th17 Cell Responses through Regulation of Luminal ATP in the Small Intestine. *J Immunol.* 190: 774-783, 2013, doi: 10.4049/jimmunol.1103067. 査読有り
16. Arima Y, D. Kamimura, L. Sabharwal, M. Yamada, H. Bando, H. Ogura, T. Atsumi and M Murakami. Regulation of Immune Cell Infiltration into the CNS by Regional Neural Inputs Explained by the Gate Theory. *Mediators of Inflammation.* vol. 2013, Article ID 898165, 8 pages, 2013. doi:10.1155/2013/898165 査読有り
17. Ogura H, Y. Arima, D. Kamimura, and M Murakami. The Gate Theory: How Regional Neural Activation Creates a Gateway for Immune Cells via an Inflammation Amplifier. *Biomedical J.* 36(6): 269-273, 2013, doi: 10.4103/2319-4170.113187. 査読有り
18. Lee J, T Nakagiri, T Oto, M Harada, E Morii, Y Shintani, M Inoue, Y Iwakura, S Miyoshi, M Okumura, T Hirano, M Murakami. IL-6 Amplifier, NF- κ B-Triggered Positive Feedback for IL-6 Signaling, in Grafts Is Involved in Allogeneic Rejection Responses. *J Immunol.* 189: 1928-1936, 2012, doi: 10.4049/jimmunol.1103613. 査読有り
19. Kayama H, Y Ueda, Y Sawa, SG Jeon, JS Ma, R Okumura, A Kubo, M Ishii, T Okazaki, M Murakami, M Yamamoto, H Yagita, K Takeda. Intestinal CX3C chemokine receptor 1high (CX3CR1high) myeloid cells prevent T-cell-dependent colitis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 109: 5010-5015, 2012, doi: 10.1073/pnas.1114931109. 査読有り
20. Murakami M#, T Hirano. (#, correspondence) The Molecular Mechanisms of Chronic Inflammation Development *Front. Immunol.* 07 October 2012 | doi: 10.3389/fimmu.2012.00323 査読有り
21. Murakami M#, T Hirano. The pathological and physiological roles of IL-6 amplifier activation. (#, correspondence) *Int. J. Biol. Sci.* 8: 1267-1280. 2012, doi: 10.7150/ijbs.4828 査読有り
- 〔学会発表〕(計6件)
1. 第39回日本リンパ学会総会(招待講演)
2015年3月27日 お茶の水ソラシティーカンファレンスセンター(東京都千代田区)
- 村上正晃
炎症回路の神経制御とリンパ球に与える影響
2. 第120回日本解剖学会・第92回日本生理学会合同大会(招待講演)
2015年3月22日 神戸国際会議場(兵庫県神戸市)
- 村上正晃
炎症回路と慢性炎症
3. Cytokines Down Under 2014: From Bench to Beyond(招待講演)
2014年10月26日~29日 Melbourne Convention & Exhibition Center(オーストラリア、メルボルン)
- 村上正晃
Regional neural regulation of inflammation amplifier
4. 理研IMS-日本免疫学会合同国際シンポジウム2014(招待講演)
2014年6月26日~27日 パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
- 村上正晃
Local neural activation enhances inflammation responses

5. 第41回日本免疫学会学術集会（招待講演）
2012年12月5日～7日 神戸国際会議場（兵庫県
神戸市）

村上正晃

Local neural activation enhances IL-6 amplifier
in the CNS

6. 第40回日本臨床免疫学会総会（招待講演）
2012年9月27日 京王プラザホテル（東京都品
川区）

村上正晃

IL-6 amplifier and chronic inflammation

〔図書〕（計 1 件）

1. Kamimura, D., Y. Arima, T. Hirano, H. Ogura,
and M. Murakami. IL-6 and inflammatory
diseases. Cytokine Frontiers: Regulation of
Immune Responses in Health and Disease.
Springer, 396 pages (53-78 pages), 2013,
ISBN-13: 978-4431544418 査読有り

〔その他〕

ホームページ等

北海道大学遺伝子病制御研究所分子神経免
疫学分野

<http://www.igm.hokudai.ac.jp/neuroimmune/index.html>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

村上 正晃（MURAKAMI, Masaaki）

北海道大学・遺伝子病制御研究所・教授

研究者番号：00250514