

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 28 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（S）

研究期間：2008～2012

課題番号：20229007

研究課題名（和文） ガイダンス因子による免疫制御機構

研究課題名（英文） Roles of guidance factors in immune regulation

研究代表者

菊谷 仁 (KIKUTANI HITOSHI)

大阪大学・微生物病研究所・教授

研究者番号：08161412

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：リンパ球、免疫制御、セマフォリン

1. 研究計画の概要

セマフォリン分子は神経ネットワークの構築に必須な神経ガイダンス因子ファミリーを形成しているが、多くのセマフォリン分子が免疫細胞上にも発現し、免疫制御においても重要な機能を果たしていることが明らかになりつつある。本研究では、セマフォリン分子による免疫制御の全容解明と免疫病の標的治療への応用を目指して、1) 免疫系で発現するセマフォリン分子とその受容体の遺伝子欠損マウスなどを用いた免疫セマフォリンの機能解析、2) 免疫細胞に対するセマフォリンの生物活性発揮の分子機構とシグナル伝達の解析、3) 阻害抗体やリコンビナント分子を用いた分子標的としてのセマフォリン分子の有用性の検証等を行なっている。

2. 研究の進捗状況

IFN- γ 産生制御及び Th2 反応制御における Sema4A の役割：

IFN γ 産生 Th1 細胞分化における Sema4A の役割を明らかにするために、リコンビナント Sema4A 分子や Sema4A 欠損 T 細胞を用いた解析を行ってきた。現時点までに、Sema4A 欠損下では培養のごく初期の STAT1 の活性化が低下しており、これは培養初期の IFN \square 産生が障害されているためであることを明らかにしている。アレルギー喘息のマウスモデルを用いてリコンビナント Sema4A の投与実験を行い、Sema4A が Th2 サイトカインの産生を抑制し、気道炎症や過敏性を低減できることを示した。

細胞傷害性 T 細胞や NK 細胞の機能と Sema7A

活性化 CD4T 細胞上の Sema7A はマクロフ

ァージを活性化し炎症性サイトカインの産生を誘導する。活性化された CD8T 細胞や NK 細胞に発現する Sema7A の役割を解析し、これらの細胞の細胞障害活性には Sema7A は必要でないことが明らかになった。

欠損マウス等を用いたセマフォリン受容体の機能解析

Plexin-A1 欠損マウスにおける樹状細胞の生体内移動を解析し、Plexin-A1 は Sema3A の受容体として樹状細胞の末梢組織からリンパ管内への移行において機能することを示した。また、Plexin-A4 は T 細胞活性化に抑制的な役割を有することを Plexin-A4 欠損マウスを用いた解析から示した。Tim2 の関連分子 Tim4 の機能を Tim4-Fc 分子や抗 Tim4 抗体を用いて解析し、Tim4 は T 細胞の初期活性化においては抑制的作用、エフェクター相においては増強効果を有することを示した。

Protein kinase N1 (PKN1)の免疫系における機能解析：

セマフォリンの細胞内シグナルの解析の過程で、Rho GTPase に会合することが知られていた PKN1 が B 細胞においては抗原受容体の下流で Akt の抑制因子として機能することを見出したため、欠損マウスを用いて免疫系における PKN1 の生理的機能の解析を行った。現在までに、PKN1 が Akt の活性調節を介して B 細胞の生存や胚中心における高親和性 B 細胞選択において必須の機能を果たしていることが明らかになった。

3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している
(理由)

Sema4A によるアレルギー疾患の治療効果

等に関する研究は順調に進んできたが、その分子機構の解明は当初の予定に比べて遅れている。しかし、Sema4A 欠損により T 細胞の接着能に異常がある等、その分子機構の解析の足がかりになる重要な知見をすでに得ており、研究機関終了までには予定通りの成果が見込まれると考えている。また、NOG マウスを用いたヒトセマフォリンの解析については、臍帯血の供給等の問題で中断している。一方、セマフォリンシグナルを解析する過程で、PKN1 という生理的機能不明のキナーゼが Akt の活性制御を介して B 細胞の制御や高親和性 B 細胞選択の閾値設定において機能していることを見出した。胚中心における高親和性 B 細胞の選択機構は免疫学の主要なテーマの一つであること、PKN1 欠損マウスにおいては T 細胞の生体内移動にも障害がありリンパ球のガイダンス機構の解明につながる可能性があることなどから、中断している課題から出てきた余力もつぎ込みつつ、この研究をさらに展開することにより、大きな成果が得られると考えている。

4. 今後の研究の推進方策

Sema4A による T 細胞制御の分子機構については、Sema4A 欠損 T 細胞においては T 細胞抗原受容体 (TCR) 刺激依存的な接着能が低下していることを見出しており、Sema4A の T 細胞の運動や形態変化にたいする影響を解析するとともに、それに伴う細胞内シグナルの解析を行う。また、PKN1 欠損マウスにおいては T 細胞の生体内移動にも障害があることから、T 細胞の遊走等における PKN1 の役割解析も行う。さらに、PKN1 と相同性の高い PKN2 欠損マウスを作成しその免疫能を解析する。

5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 24 件)

- ① Takamatsu, H., N. Takegahara, Y. Nakagawa, M. Tomura, M. Taniguchi, R. H. Friedel, H. Rayburn, M. Tessier-Lavigne, Y. Yoshida, T. Okuno, M. Mizui, S. Kang, S. Nojima, T. Tsujimura, Y. Nakatsuji, I. Katayama, T. Toyofuku, H. Kikutani, and A. Kumanogoh. Semaphorins guide the entry of dendritic cells into the lymphatics by activating myosin II. *Nat Immunol* 11:594-600, 2010. 査読有
- ② Mizui, M., A. Kuanogoh, and H. Kikutani. Immune semaphorins: novel features of neural guidance molecules. *J. Clin. Immunol.*, 29:1-11, 2009. 査読有
- ③ Toyofuku, T., J. Yoshida, T. Sugimoto, M. Yamamoto, N. Makino, H. Takamatsu, N. Takegahara, F. Suto, M. Hori, H.

Fujisawa, A. Kumanogoh, and H. Kikutani. Repulsive and attractive semaphorins cooperate to direct the navigation of cardiac neural crest cells. *Dev. Biol.*, 321:251-262, 2008. 査読有

- ④ Mizui, M., T. Shikina, H. Arase, K. Suzuki, T. Yasui, P.D. Rennert, A. Kumanogoh, and H. Kikutani. Bimodal regulation of T cell-mediated immune responses by TIM-4. *Int. Immunol.*, 20:695-708, 2008. 査読有

[学会発表] (計 24 件)

- ① Kikutani, H. : Semaphorins in immune cell communication. 14th International Congress of Immunology, August 22-27, 2010, Kobe, Japan (Symposist, August 27).
- ② Kikutani, H. (Plenary, March 12, 2010) A role of protein kinase N1 in quality control of germinal center B cells. 9th International Conference on Human Leukocyte Differentiation Antigen. March 11-13, 2010, Barcelona, Spain.
- ③ Mizui, M., T. Yasui, K. Morita, T. Morimoto, S. Tada, and H. Kikutani : Comprehensive detection assay of physiological interaction partners for the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 by bimolecular fluorescence complementation system coupled with enhanced retrovirus mutagenesis. The 14th Biennial Conference of the International Association for Research on Epstein-Barr Virus and Associated Diseases. September 4-7, 2010, Birmingham, UK. (Poster)
- ④ Kikutani, H. (Symposium) Semaphorins and inflammatory responses. EMBO Workshop "Semaphorin Function & Mechanisms of Action", Cernay, France, May 8-11, 2008.

[その他]

ホームページ

http://www.biken.osaka-u.ac.jp/biken/mo1-imm/Molecular_Immunology/Welcome.html