

機関番号：34512

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460112

研究課題名(和文)セマフォリンのアレルギー性気管支喘息における役割と治療標的としての可能性

研究課題名(英文)Semaphorin 7A plays a critical role in airway inflammation

研究代表者

水谷 暢明(Mizutani, Nobuaki)

神戸薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：90340447

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：セマフォリンは神経ネットワークの構築に関わる神経ガイダンス因子ファミリーを形成しているが、ある種のセマフォリンは免疫反応の促進ならびに制御においても重要な機能を果たしている。本研究では、セマフォリン7AがIgEにより誘導される気道炎症(好中球など)ならびにIL-33およびIL-17Aにより誘導される気道過敏性亢進に重要な役割を果たしていることを明らかとした。このことから、好酸球のみならず好中球浸潤が認められる重症型喘息の病態において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。セマフォリン7Aならびにその受容体は、アレルギー性気管支喘息を含めたアレルギー疾患の治療標的となり得るかもしれない。

研究成果の概要(英文)：Elevated allergen-specific IgE levels are a hallmark of allergic asthma, a disease involving chronic airway inflammation characterized by airway hyperresponsiveness (AHR); neutrophilic airway inflammation is found in patients with severe asthma. Meanwhile, semaphorins regulating neuronal and immune function have been focused on in several diseases. Here, we investigated whether semaphorin 7A (SEMA7A) is related to IgE-mediated neutrophilic inflammation in mice. Our results highlight the importance of SEMA7A for neutrophilic airway inflammation, which is related to the development of AHR, in IgE-sensitized mice, indicating critical steps of leukocyte infiltration in vivo. The efficacy of functional blockage of SEMA7A may offer a new therapeutic approach in the treatment of severe and/or chronic allergic asthma associated with neutrophilic airway inflammation.

研究分野：免疫薬理学

キーワード：セマフォリン 喘息

1. 研究開始当初の背景

アレルギー性気管支喘息は、抗原特異的 IgE の上昇を特徴とする気道の慢性炎症性疾患であり、症状としては抗原惹起により誘導される気道過敏性亢進を示すことが知られている。また、その際に認められる気道の炎症状態は複雑である。一般的に好酸球浸潤は多くの喘息患者に認められ、好酸球をターゲットとした病態解析が多く行われてきた。しかしながら、重症化した喘息患者では好酸球とともに好中球の浸潤が観察されることが知られている。

セマフォリンは神経ネットワークの構築に関わる神経ガイダンス因子ファミリーを形成しているが、ある種のセマフォリンは免疫反応の促進ならびに制御においても重要な機能を果たしていることが報告されている。

2. 研究の目的

セマフォリン 7A は、リンパ球、好酸球、ケラチノサイト、血管内皮細胞などに発現しており、さらに免疫のエフェクターフェーズにおけるマクロファージを活性化し炎症性サイトカインを産生することが知られている。

本研究では、セマフォリンの中でも特にセマフォリン 7A の気道炎症ならびに気道過敏性亢進における役割について検討した。

3. 研究の方法

アレルギー性気管支喘息モデルは、BALB/c マウスを卵白アルブミン (ovalbumin, OVA) 特異的 IgE モノクローナル抗体 (mAb) (OE-1) で days 0、1 および 2 に腹腔内投与することにより受動感作し、days 1、2、3、8、9、10 および 15 に OVA を気管内に計 7 回直接投与して抗原惹起することで作製した (IgE モデル)。抗セマフォリン 7A 抗体 (anti-SEMA7A) は、4~6 回抗原惹起前 30 分に気管内に直接投与した (Fig. 1A)。続いて、本 IgE モデルにおけるセマフォリン 7A (SEMA7A) およびその受容体である plexin C1 (PLXNC1) の発現について検討した (Fig. 2)。

これまでに、IL-17A ならびに IL-33 が本 IgE モデルに関与していることを報告しており、さらに days 0、1 および 2 に IL-33 を気管内投与し、day 7 では IL-33 と IL-17A を併用投与することで PBS 投与のそれと比較して気道過敏性亢進ならびに炎症細胞浸潤の増悪化が引き起こされることを明らかにしてきた。そこで、抗セマフォリン抗体 (anti-SEMA7A) を day 7 に併用投与前 30 分に気管内投与した (Fig. 3A)。

4. 研究成果

IgE による気道炎症におけるセマフォリン 7A の役割
最初に、アレルギー性気管支喘息における

セマフォリン 7A の役割を検討した。本 IgE モデル (OE-1-goat IgG) において、day 16 では気管支肺胞洗浄液中にマクロファージ (Mac)、リンパ球 (Lym)、好中球 (Neu) および好酸球 (Eos) の浸潤が、非感作マウス (NS-C) のそれと比較して認められ、抗セマフォリン 7A 抗体投与群 (OE-1-anti-SEMA7A) では、いずれの細胞に対しても有意な抑制が観察された。このことより、セマフォリン 7A は IgE による気道炎症に関与していることが示唆された (Fig. 1B)。

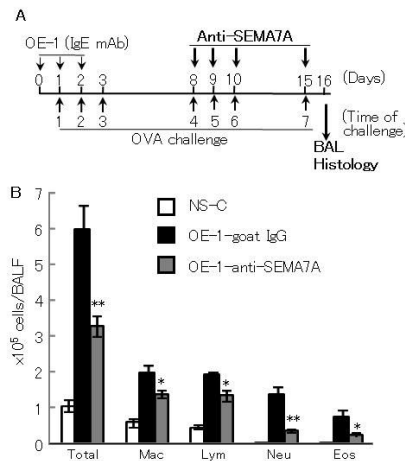


Fig. 1 Effect of treatment with anti-SEMA7A antibody on IgE-mediated airway inflammation.

セマフォリン 7A および plexin C1 の発現

非感作群 (NS-C) に比較して IgE による感作群 (OE-1) ではセマフォリン 7A および plexin C1 の発現増加が観察され、セマフォリン 7A は血管内皮細胞、上皮細胞および炎症細胞を中心に発現が認められ、さらにその受容体である plexin C1 は炎症細胞に発現していた (Fig. 2)。これらのことから、セマフォリン 7A およびその受容体の発現増加が、喘息の病態発現に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

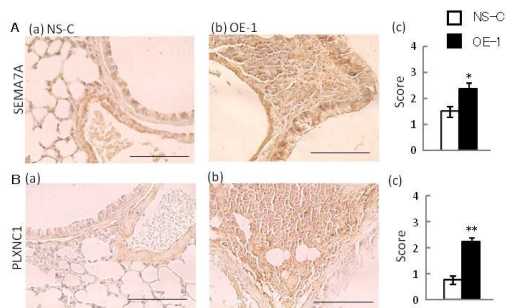


Fig. 2 Expression of SEMA7A and PLXNC1 in the lungs of IgE-sensitized mice.

IL-17A および IL-33 による気道過敏性亢進におけるセマフォリン 7A の役割
抗セマフォリン抗体投与群 (IL-33+IL-17A-

anti-SEMA7A) では、IL-33 および IL-17A の併用投与 (IL-33+IL-17A-goat IgG) による気道過敏性亢進の増悪化が有意に抑制され、さらに肺への好中球ならびに好酸球浸潤の減少が観察された (Fig. 3B および C)。これらのことより、セマフォリン 7A は、好中球の浸潤を介して気道過敏性亢進を引き起こしていると考えられた。

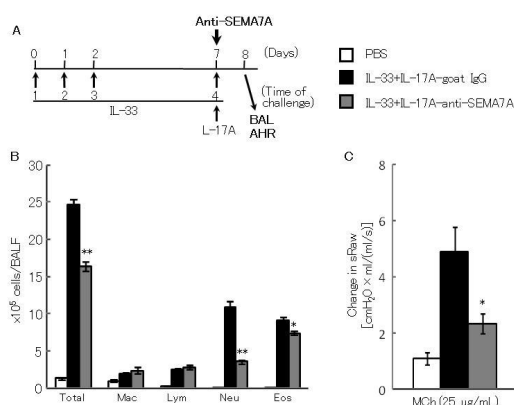


Fig. 3 Effect of treatment with anti-SEMA7A antibody on the exacerbation of IL-33-induced neutrophilic inflammation and AHR by IL-17A in mice.

まとめ

これらの結果から、セマフォリン 7A はアレルギー性気道炎症に関与していることが示唆され、特に好中球浸潤が認められる重症型喘息の病態において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。セマフォリン 7A ならびにその受容体は、アレルギー性気管支喘息を含めたアレルギー疾患の治療標的となり得るかもしれない。

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 12 件)

- 1) Yoshino S, Mizutani N, 2016. Intranasal exposure to monoclonal antibody Fab fragments to Japanese cedar pollen Cry j1 suppresses Japanese cedar pollen-induced allergic rhinitis. *Br J Pharmacol.* 173:1629-1638. 査読有、DOI: 10.1111/bph.13463.
- 2) Sae-Wong C, Mizutani N, Kangsanant S, Yoshino S, 2016. Topical skin treatment with Fab fragments of an allergen-specific IgG1 monoclonal antibody suppresses allergen-induced atopic dermatitis-like skin lesions in mice. *Eur J Pharmacol.* 779:131-137. 査読有、DOI: 10.1016/j.ejphar.2016.03.020.
- 3) Mizutani N, Nabe T, Yoshino S, 2015. IgE/antigen-mediated enhancement of IgE

production is a mechanism underlying the exacerbation of airway inflammation and remodeling in mice. *Immunology.* 144(1):107-115. 査読有、DOI: 10.1111/imm.12355.

- 4) Nabe T, Wakamori H, Yano C, Nishiguchi A, Yuasa R, Kido H, Tomiyama Y, Tomoda A, Kida H, Takiguchi A, Matsuda M, Ishihara K, Akiba S, Ohya S, Fukui H, Mizutani N, Yoshino S, 2015. Production of interleukin (IL)-33 in the lungs during multiple antigen challenge-induced airway inflammation in mice, and its modulation by a glucocorticoid. *Eur J Pharmacol.* 757:34-41. 査読有、DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.03.015.
- 5) Mizutani N, Nabe T, Yoshino S, 2015. Semaphorin 7A plays a critical role in IgE-mediated airway inflammation in mice. *Eur J Pharmacol.* 764:149-156. 査読有、DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.07.004.
- 6) Tsunemine S, Isa Y, Ohno H, Hagino S, Yamamura H, Mizutani N, Nabe T, 2015. Longitudinal study for oral dosing effects of *Bifidobacterium bifidum* G9-1 on Japanese cedar pollen-induced allergic nasal symptoms in guinea pigs. *Microbiol Immunol.* 59(11):690-699. 査読有、DOI: 10.1111/1348-0421.12324.
- 7) Mizutani N, Sae-Wong C, Kangsanant S, Nabe T, Yoshino S, 2015. Thymic stromal lymphopoietin-induced interleukin-17A is involved in the development of IgE-mediated atopic dermatitis-like skin lesions in mice. *Immunology.* 146(4):568-581. 査読有、DOI: 10.1111/imm.12528.
- 8) Yoshino S, Mizutani N, Matsuoka D, Sae-Wong C, 2014. Intratracheal exposure to Fab fragments of an allergen-specific monoclonal antibody regulates asthmatic responses in mice. *Immunology.* 141(4):617-627. 査読有、DOI: 10.1111/imm.12225.
- 9) Mizutani N, Nabe T, Yoshino S, 2014. IL-17A promotes the exacerbation of IL-33-induced airway hyperresponsiveness by enhancing neutrophilic inflammation via CXCR2 signaling in mice. *J Immunol.* 192(4):1372-1384. 査読有、DOI: 10.4049/jimmunol.1301538.
- 10) Matsuoka D, Mizutani N, Sae-Wong C, Yoshino S, 2014. Allergen-specific regulation of allergic rhinitis in mice by intranasal exposure to IgG1 monoclonal antibody Fab

fragments against pathogenic allergen. *Immunol Lett.* 161(1):149-156. 査読有、DOI: 10.1016/j.imlet.2014.06.005.

1 1) Nabe T, Matsuya K, Akamizu K, Fujita M, Nakagawa T, Shioe M, Kida H, Takiguchi A, Wakamori H, Fujii M, Ishihara K, Akiba S, Mizutani N, Yoshino S, Chaplin DD, 2013. Roles of basophils and mast cells infiltrating the lung by multiple antigen challenges in asthmatic responses of mice. *Br J Pharmacol.* 169(2):462-476. 査読有、DOI: 10.1111/bph.12154.

1 2) Mizutani N, Nabe T, Yoshino S, 2013. Interleukin-33 and alveolar macrophages contribute to the mechanisms underlying the exacerbation of IgE-mediated airway inflammation and remodelling in mice. *Immunology.* 139(2):205-218. 査読有、DOI: 10.1111/imm.12071.

〔学会発表〕(計 1 1 件)

1) 吉野 伸 水谷暢明「アレルギーに対するモノクローナル抗体 IgG1 Fab の局所暴露によるアレルギー性鼻炎のアレルギー特異的制御」2015.5.26 第 6 4 回 日本アレルギー学会学術大会(東京)

2) 水谷暢明、Chutha Sae-wong、吉野 伸「TSLP により誘導される Th17 細胞のアトピー性皮膚炎様症状における役割」2015.5.26 第 6 4 回 日本アレルギー学会学術大会(東京)

3) 水谷暢明、奈邊健、吉野伸「セマフォリン 7A の IgE により誘導されるアレルギー性気管支喘息における役割」2015.6.25 第 127 回日本薬理学会近畿部会(岐阜)

4) 木戸仁美、西口愛弓、矢野智大、湯浅梨乃、水谷暢明、吉野 伸、大矢 進、福井裕行、奈邊 健「喘息肺における IL-33 産生のステロイド感受性の検討」2015.6.25 第 127 回日本薬理学会近畿部会(岐阜)

5) 奈邊 健、木戸仁美、松田将也、石田有希、辻本奈有、水谷暢明、吉野 伸、福井裕行、大矢 進「感作マウス気道上皮細胞からの抗原誘発 IL-33 産生における IgE の関与の可能性」2015.6.25 第 127 回日本薬理学会近畿部会(岐阜)

6) 水谷暢明、奈邊 健、吉野 伸「抗原特異的 IgE モノクローナル抗体による受動感作により産生増強された内因性 IgE の気道炎症ならびにリモデリングにおける役割」2014.6.20 第 125 回日本薬理学会近畿部会(岡山)

7) 棚橋 優、松田将也、黒田郁江、藤飯慎也、貴島真貴、水谷暢明、吉野 伸、大矢進、奈邊 健「アトピー疾患の治療を指向した Tr1 細胞による新規免疫療法の基礎的検討」2014.6.20 第 125 回日本薬理学会近畿部会(岡山)

8) 松岡 大航、星澤 瑞、八谷 春奈、水谷 暢明、吉野 伸「抗卵白アルブミン IgG1 モノクローナル抗体 Fab フラグメントによるアレルギー性鼻炎の抗原特異的制御」2013.7.12 第 123 回日本薬理学会 近畿支部会(愛知)

9) 水谷暢明、奈邊 健、吉野 伸「IL-17、補体による気道過敏性の分子機構」2013.5.11 第 25 回日本アレルギー学会春期臨床大会.講演(横浜)

1 0) 水谷暢明、奈邊 健、吉野 伸「抗原特異的 IgE モノクローナル抗体により誘導された二相性の気道抵抗上昇における CXCR2 の役割」2013.11.28 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会(東京)

1 1) 奈邊 健、滝口杏奈、喜田遥香、若森裕生、大矢 進、水谷暢明、吉野 伸「喘息モデルにおける肥満細胞および好塩基球の活性化に関する解析」2013.11.28 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会(東京)

〔図書〕(計 3 件)

1) 水谷暢明、奈邊 健、吉野 伸、2015 . セマフォリン 7A のアレルギー性気管支喘息における役割. **アレルギーの臨床** 35(8):61-63.

2) 水谷暢明、2014 . 特集 I : アレルギー発症への関与因子 アレルギーの発症と IL-17 - . **臨床免疫・アレルギー科** 61(1):16-20.

3) 水谷暢明、奈邊 健、吉野 伸、2014 . IL-17A、補体による気道過敏性の分子機構. **アレルギーの臨床** 34(3):44-48.

〔その他〕

ホームページ

http://www.kobepharma-u.ac.jp/edrs/faculty_member_list/pharmacology.html

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

水谷 暢明 (MIZUTANI, Nobuaki)
神戸薬科大学・薬学部・准教授
研究者番号 : 90340447