

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861558

研究課題名(和文)セマフォリンを介した神経・免疫クロストークによるアレルギー性鼻炎制御

研究課題名(英文) Semaphorins control allergic rhinitis through neurological and immunological functions

研究代表者

前田 陽平 (Maeda, Yohei)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：00636483

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：アレルギー性鼻炎モデルマウスにおいて、SEMA3Aは神経伸長を抑制することでマウスにおけるアレルギー性鼻炎を改善するという報告があり、患者さんへの投与を想定してSEMA3Aの受容体を刺激する実験を行ったが、十分な結果が得られなかった。一方で、SEMA4Aは免疫学的にアレルギー性鼻炎において重要と考えられた。SEMA4Aを欠損したマウスでの実験の結果はややばらつきがあり、今後も実験を行っていくこととなった。

研究成果の概要(英文)：In the allergic rhinitis mice model, a previous report showed that SEMA3A alleviates nasal symptoms through neural functions. We administrate SEMA3A receptor agonist and antagonist, but no remarkable change in phenotypes. On the other hand, SEMA4A plays great roles in allergic inflammation. Thus, we generate SEMA4A-deficient allergic rhinitis model mice, but phenotypes of this mice model vary widely. Furthermore, we continue to do experiment in this mice model or other allergic rhinitis model.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：アレルギー

1. 研究開始当初の背景

アレルギー性鼻炎

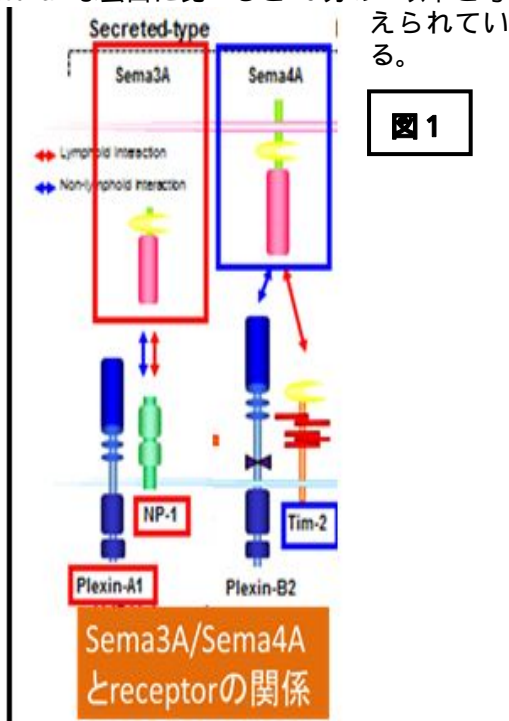
アレルギー性鼻炎(以下AR)は世界的に最も多いアレルギー性炎症性疾患であり、世界では6億人以上の患者がいると考えられていた。(Allergy 2001;62:216-23.) また、国内においても国民の約40%がアレルギー性鼻炎に罹患していると考えられており、まさに国民病と呼ぶにふさわしい状態であった。

セマフォリンとアレルギー疾患の関わり

セマフォリンは神経軸索のガイダンス因子として同定された。その後、免疫反応、心臓発生、血管新生、癌の転移・浸潤、網膜ホメオスタシス、骨代謝における役割が明らかになっている。特に免疫反応・炎症反応に関与するセマフォリン(「免疫セマフォリン」)は免疫・慢性炎症研究における大きなtopicsであったし、現在も同様である。セマフォリンは8つのサブファミリーに分けられるが、その中でも特にクラス型のSema3A、クラス型のSema4A(図1)については特にアトピー性皮膚炎や気管支喘息などのアレルギー疾患との関連が指摘されていた。

Sema3A とアレルギー性鼻炎 (AR)

C線維は知覚神経線維の一種で、粘膜や皮膚に分布している。ヒスタミン受容体やサブスタンスP受容体を持ち、血管拡張・粘液分泌作用がある。Sema3AはC線維の伸長を抑制する作用があり、ARの症状(特に即時相反応)を緩和する可能性があった。昨年、Sema3Aのリコンビナント蛋白を経鼻投与することによってマウスモデルにおけるARが抑制されることが報告された(J Pharmacol Sci 2011 117,34-44)。しかし、Sema3Aのリコンビナント蛋白は非常に不安定であり、生物活性もnaturalな蛋白に比べると10分の1以下と考えられている。

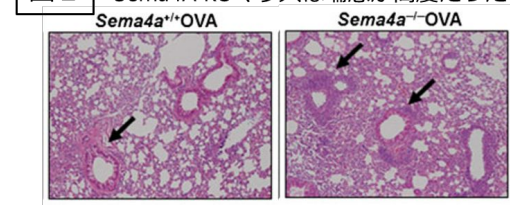


Sema4A とアレルギー性鼻炎 (AR)

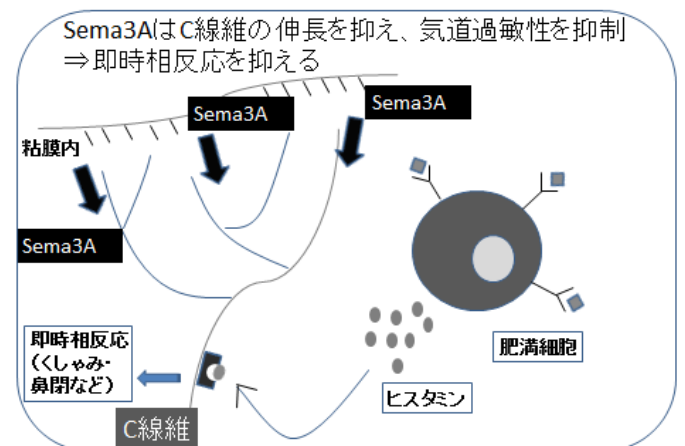
Sema4AはTh1/Th2反応制御において重要であることが示されている(Immunity. 2005 Mar;22(3):305-16.)。そこで、申請者らの研究グループはSema4Aがアトピー性皮膚炎・喘息に対して抑制的に作用することをノックアウトマウス(以下KOマウス)を用いて報告した(Morihana T et al; J Clin Immunol. 2012)(図2)。アトピー性皮膚炎・喘息のモデルマウスを作成し、野生型マウス(以下WTマウス)およびKOマウスで比較し、KOマウスで増悪の表現型を示すことを発見した。Sema4AのreceptorとしてはTim-2の関与を証明するとともに、Sema4A-Fc fusion proteinを用いて治療効果も確認した。アトピー性皮膚炎とARについてはTh2依存性の反応、IgEの上昇など類似点は非常に多く、ARについても同様の表現型が得られる可能性が高いと考えられた。Sema4AについてはTh2を介した経路なので、ARの症状の中でもとりわけ遅発相反応を抑えることが期待された。

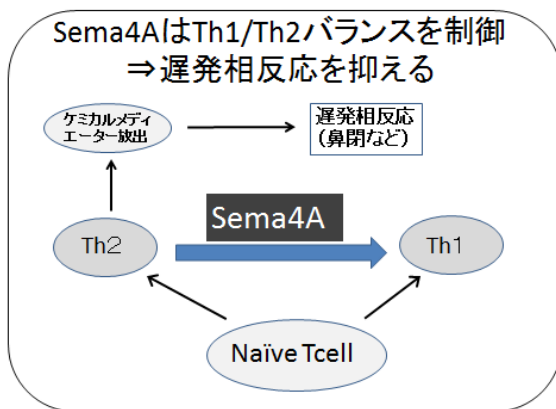
また、多発性硬化症患者において血清中のSema4A高値が指摘されており(J Immunol. 2012 May 15;188(10):4858-65)、ARモデルマウスおよびAR患者の血清中Sema4A濃度についても検討を加えた。

図2 Sema4A KOマウスは喘息が高度だった



ヒト鼻腔でのセマフォリン・セマフォリンreceptorの発現についての報告は過去に認められない。





2. 研究の目的

Sema3A の receptor である PlexinA1 および neuropilin-1 (NP-1) の agonistic/antagonistic 抗体のアレルギー性鼻炎モデルマウスにおける効果を検討することで治療可能性を探ること。

Sema4A ノックアウトマウスと野生型マウスでアレルギー性鼻炎モデルを作成することで Sema4A のアレルギー性鼻炎モデルマウスにおける役割を検討すること。

アレルギー性鼻炎および健常対象者の血清 Sema4A 値を検討することで、アレルギー性鼻炎のバイオマーカーとしての Sema4A の可能性について探索すること。

ヒト鼻腔におけるセマフォリン・プレキシン発現評価を行うこと。

3. 研究の方法

Sema3A の receptor である PlexinA1 および neuropilin-1 (NP-1) の agonistic/antagonistic 抗体をアレルギー性鼻炎モデルマウスに投与し、表現型解析を行った

アレルギー性鼻炎モデルマウスを作成し、野生型マウス(以下 WT マウス)および Sema4AKO マウスで比較し、KO マウスで表現型を解析すること。

健常者およびアレルギー性鼻炎患者において、血清 Sema4A の値を測定すること。

ヒト鼻腔におけるセマフォリン・プレキシン発現について免疫染色・Real-time PCR で評価する。

4. 研究成果

まず、アレルギー性鼻炎モデルマウスの作成を確認した。再現性をもって症状(くしゃみ・鼻の搔破)の所見が得られたために、Sema3A の receptor である PlexinA1 および neuropilin-1 (NP-1) の agonistic/antagonistic 抗体をアレルギー性鼻炎モデルマウスに投与し、表現型解析を行った。

抗体については他の疾患モデルなどを含めてすでに十分にデータを有する腹腔内投与で開始したが、コントロール抗体を投与した群と比較して表現型に差を認めなかった。

ここで、前述の既報(J Pharmacol Sci 2011

117,34-44)について再度考慮を行った。前述の既報では Sema3A が神経伸長を阻害するためにアレルギー性鼻炎モデルでの症状軽減につながったとされていたために、やはり鼻腔投与が望ましいと考え、鼻腔から抗体を投与する方針とした。

しかし、予備データが全くない状態で実験を開始したために最適な投与量を未だ探っている状態であり、安定した表現型を得るに至っていない。他の受容体の関与も考えられるため、それらの可能性を考慮しつつ今後とも実験を続けていくことを予定している。

さらに、野生型マウス(以下 WT マウス)および Sema4AKO マウスでアレルギー性鼻炎モデルマウスを作成した。

Sema4A ノックアウトマウスではややアレルギー性鼻炎が強い傾向にあるように思われたが、現在再現性を確認している段階である。今後 definitive な結果が得られれば Sema4A リコンビナントによる治療実験も行う予定である。

血清 Sema4A 値については、健常者と比較してやや上昇傾向を認めしたが、現在の標本数では有意差を認めていない。今後標本数を蓄積していくとともに、背景因子についても多変量解析を用いて検討していく。

ヒト鼻腔における Sema4A の発現については採取部位・検体の採取方法(手術検体・生検検体・擦過採取検体)により結果にばらつきが大きく、採取部位別に採取方法を検討して今後とも発現について引き続き評価していく方針とした。

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0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔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
特記すべきことなし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前田 陽平 (MAEDA, Yohei)
大阪大学・大学院医学系研究科・耳鼻咽喉
科・頭頸部外科学・助教

研究者番号：00636483

(2) 研究分担者 無し
()

研究者番号：

(3) 連携研究者 無し
()

研究者番号：