

Title	Plexin-A1 and its interaction with DAP12 in immune responses and bone homeostasis
Author(s)	高松, 漂太
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47515
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	高松 漂 太
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 20946 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Plexin-A1 and its interaction with DAP12 in immune responses and bone homeostasis (免疫応答及び骨のホメオスタシス維持における Plexin-A1 の役割)
論文審査委員	(主査) 教授 菊谷 仁 (副査) 教授 平野 俊夫 教授 木下タロウ

論文内容の要旨

〔目的〕

セマフォリンファミリーは従来神経ガイダンス因子として同定されてきた分子群であるが近年、器官形成、血管新生、癌の進行などへの関与も報告されている。また、4型セマフォリンに関する最近の知見から、免疫系で機能する一群のセマフォリン分子群の存在が明らかにされつつある。Plexin-A1 分子はセマフォリンの最も代表的な受容体の一つであるが、2003年の Wong らによる DNA chip 及び RNAi を用いたノックダウン実験にて樹状細胞に発現する plexin-A1 が T 細胞の活性化に重要であることが報告され、免疫系における plexin-A1 の重要な機能が示唆された。また、これまで plexin-A1 は Neuropilin-1 と受容体複合体を形成し、3型セマフォリン Sema3A のシグナルトランスデューサーとして神経の反跳作用に関与することが知られていたが、ニワトリ心臓の初期発生に関する最近の研究より、6型セマフォリン Sema6D に直接結合する受容体であることが明らかにされている。しかしながら、生体内における plexin-A1 を介したセマフォリンシグナルの役割については不明であった。本研究では、plexin-A1 欠損マウスを作成し、生体内におけるセマフォリン-plexin-A1 シグナルの役割について検討した。

〔方法ならびに成績〕

Plexin-A1 欠損マウスはメンデルの法則に従って誕生し、外見上および組織学的に異常は認められず、リンパ球及び樹状細胞の分化にも大きな異常は認めなかった。しかし plexin-A1 欠損樹状細胞の *in vitro* でのアロの CD4⁺ T 細胞活性化能や抗原特段的 T 細胞活性化能の低下を認め、生体内における T 細胞 priming 能の障害も認められた。このことから樹状細胞の plexin-A1 が T 細胞活性化に重要な機能を担うことが証明された。また、plexin-A1 欠損マウスはヒトの多発性硬化症モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) モデルに抵抗性であり、plexin-A1 が pathological な免疫反応にも関与していることが示された。さらに plexin-A1 欠損マウスの免疫系以外の表現系として、マウス大腿骨の単純レントゲン撮影及びマイクロ CT による検討から、plexin-A1 欠損マウスは大理石骨病を呈するとの知見を得た。大理石骨病を発症するメカニズムは骨芽細胞の機能亢進、破骨細胞の機能低下、あるいはその両方の可能性があるが、plexin-A1 欠損マウスの骨芽細胞に異常は認めなかった。しかしながら、*in vitro* で骨髄細胞

から M-CSF と RANKL で破骨細胞を分化誘導すると、plexin-A1 欠損骨髄細胞は破骨細胞への分化が障害されていた。また plexin-A1 欠損マウスでは骨吸収マーカーの値の低下と、破骨細胞数の減少を認め、大理石骨病の原因が破骨細胞の異常に起因することが明らかとなった。またリコンビナント蛋白を用いた binding assay により、plexin-A1 欠損樹状細胞は Sema6D との結合が減弱しており、Sema6D によって誘導される MHC-class II の発現や IL-12 の産生も低下していた。また plexin-A1 欠損破骨細胞においても、Sema6D により誘導される破骨細胞の分化が障害されていたことから、免疫細胞及び破骨細胞においても Sema6D が plexin-A1 のリガンドであることが明らかとなった。更に、plexin-A1 シグナル経路について検討を加え、plexin-A1 と膜蛋白 Trem-2 (triggering receptor expressed on myeloid cells-2) との会合を見出した。Trem-2 は DAP12 と会合することが知られているが、plexin-A1 は Trem-2 を介して DAP12 とも会合しうることが明らかとなった。Trem-2 を RNAi にてノックダウンした骨髄由来樹状細胞及び DAP12 欠損マウス由来樹状細胞では Sema6D 刺激により誘導される IL-12 の産生が低下していたことから、plexin-A1 が Trem-2、DAP12 と会合して Sema6D のシグナルを伝え、樹状細胞及び、破骨細胞の機能制御に関与していることが強く示唆された。

[総括]

Plexin-A1 欠損マウスの樹立及びその解析から、免疫系においては、樹状細胞に発現する plexin-A1 が T 細胞-樹状細胞相互作用及び *in vivo* における T 細胞 priming に重要な機能を有すること、また骨格系においては、plexin-A1 が破骨細胞の分化に機能していることが明らかになった。また、plexin-A1 は Trem2/DAP12 と受容体複合体を形成して Sema6D のシグナルを伝えていることが明らかとなった。心臓の発生においては、plexin-A1 は心臓の部位特異的に VEGFR2 や Off-track と会合して Sema6D のシグナルを伝えることが明らかにされており、本研究によりセマフォリンの有する多彩な生物学的活性を説明する作用メカニズムの一端が明らかにされた。

論文審査の結果の要旨

申請者は、生体内で多彩な機能を有するセマフォリン分子群の代表的な受容体の一つである plexin-A1 欠損マウスの作成とその解析を通じて、骨・免疫系において膜型セマフォリン Sema6D が plexin-A1 のリガンドであること、Sema6D-plexin-A1 シグナルは、免疫系において樹状細胞の成熟・活性化および T 細胞-樹状細胞相互作用に重要な機能を有すること、破骨細胞の分化及び骨のホメオスターシスの維持に必須であることを見出した。また、樹状細胞における plexin-A1 結合分子の解析から、plexin-A1 が Trem2/DAP12 と受容体複合体を形成して Sema6D のシグナルを伝えていることを明らかにした。

心臓の発生においては、plexin-A1 は心臓の部位特異的に VEGFR2 や Off-track と会合して Sema6D のシグナルを伝えることが知られ、本研究により plexin-A1 が Trem2/DAP12 を介して、免疫制御や骨形成にも関与することが示され、セマフォリン分子及びその受容体の有する多彩な生物学的活性を説明する作用メカニズムの一端が明らかになった。

よって、本論文を学位論文に値するものと認める。