

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）  
分担研究報告書

実験的自己免疫性脳脊髄炎に対する HRG 効果の検討

研究分担者 鵜 殿 平一郎 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究要旨

ヒト多発性硬化症の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎（experimental autoimmune encephalomyelitis:EAE）を用いて HRG 投与効果を検討する。EAE は、中枢神経組織由来の myelin oligodendrocyte glycoprotein(MOG)由来のペプチド MOG35-55 でマウスを免疫することにより活性化される Th17 タイプの抗原特異的 CD4T 細胞を介して発症するが、神経組織を攻撃する最終エフェクター細胞は好中球であると考えられている。CD4T 細胞の樹状細胞によるプライミングと活性化、Th17 への分化、そして Th17 による好中球の活性化と中枢神経局所への遊走という一連の過程を経て発症する当該モデルにおいて、HRG 投与が如何なる効果をもたらすのかを検討し、その分子メカニズムの解析を行なう。

A．研究目的

実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）を用いて HRG 投与による効果を検討し、その細胞及び分子メカニズムの解析を行う。

（倫理面への配慮）

本研究は岡山大学動物実験委員会の審査を経て、承認されたものである。

B．研究方法

フロイト完全アジュバント（CFA）、*Mycobacterium tuberculosis* H37Ra 死菌、MOG35-55 ペプチドをエマルジョン化し、C57BL/6 マウスの皮下に注射する（day 0）。同時に *Pertussis toxin* を day 0, day 2 に投与する。この操作により、10 日頃から尾部の麻痺が始まり後脚麻痺→前脚筋力低下と病状が進行する。臨床スコア（0～5）を毎日記載することにより、中枢神経麻痺の進行或は回復具合を観察する。Day 2 から HRG（50 $\mu$ g）を 2 日間隔で静脈内投与し、臨床スコアの推移を観察した。

C．研究結果

予備実験として HRG（50 $\mu$ g）を 2 日間隔で 4 回投与した。臨床症状は 30 日に渡って観察を行なった。その結果、HRG 投与により発症そのものは抑制できなかったが、HRG 非投与群に比べ、臨床スコアの軽減が認められた（各群の N 数は 10）。

D．考察

HRG 投与により、EAE の症状を軽減できる可能性が示唆された。1 回当たりの HRG 投与量、投与回数の増加により、さらなる症状の軽減をもたらすことが期待される。

## E . 結論

HRG 投与により、EAE の症状を軽減できる可能性があるとして結論づけた。実験結果の再現性を担保した上で、HRG 効果のメカニズム解析を行なう必要性があると考えられた。

## F . 研究発表

### 1 . 論文発表

Eikawa S, Nishida M, Mizukami S, Yamazaki C, Nakayama E and Udono H. Immune-mediated anti-tumor effect by type 2 diabetes drug, metformin.

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*,

112(6):1809-1814, 2015.

Uehara T, Fujiwara T, Takeda K, Kunisada T, Ozaki T, Udono H.

Immunotherapy for Bone and Soft Tissue Sarcomas.

*BioMed Research International*, Article ID 820813, 2014.

Ichianagi T, Ichianagi K, Ogawa A, Kuramochi-Miyagawa S, Nakano T, Chuma S, Sasaki H, Udono H.

HSP90 $\alpha$  plays an important role in piRNA biogenesis and retrotransposon repression in mouse.

*Nucleic Acids Res*, 42(19):11903-11911, 2014.

Eikawa S, Udono H.

Monitoring multifunctionality of immune-exhausted CD8 T cells in cancer bearing patients.

*Methods in Mol Biol*, 1142:11-17, 2014.

Wada H, Isobe M, Kakimi K, Mizote Y, Eikawa S, Sato E, Takigawa N, Kiura K, Tsuji K, Iwatsuki K, Yamasaki M, Miyata H, Matsushita H, Udono H, Seto Y, Yamada K, Nishikawa H, Pan L, Venhaus R, Doki Y,

Oka M, Nakayama E.

Vaccination with NY-ESO-1 overlapping peptides mixed with Picibanil OK-432 and Montanide ISA-51 in patients with cancers expressing NY-ESO-1 antigen.

*Journal of Immunotherapy*, 37(2): 84-92, 2014.

### 2 . 学会発表

#### 1 ) 国際学会

該当なし

#### 2 ) 国内学会

Udono H, Nishida M, Eikawa S.

Metformin-induced reversion of exhausted CD8T cells in tumor microenvironment.

*The 73<sup>rd</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (Core-Symposium)*.

Yokohama, 2014.

鵜殿平一郎、榮川伸吾.

メトホルミンによる腫瘍局所の免疫疲弊解除.

第 87 回日本生化学会大会 (シンポジウム), 京都, 2014.

鵜殿平一郎.

エネルギーセンサーを介したストレス応答と腫瘍免疫の関わり.

第 9 回臨床ストレス応答学会 (シンポジウム), 岡山, 2014.

鵜殿平一郎.

メトホルミンによる腫瘍局所の免疫疲弊解除.

第 12 回日本免疫治療学研究会学術集会 (教育講演), 東京, 2015.

Eikawa S, Negawa M, Kunisada Y, Uehara T, Ichianagi T, Yamazaki C, Udono H.

Metformin-induced tumor infiltrating CD8

T cells with effector memory phenotype and multi-functional reversion.

*The 73<sup>rd</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (oral presentation).*

Yokohama, 2014.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

免疫評価方法とその評価された免疫活性化剤

特願 2014-166593 (2014.8.19 出願)

鵜殿平一郎、榮川伸吾、豊岡伸一

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

