

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名 : (日本語) 難治性疾患実用化研究事業
(英語) Practical Research Project for Rare / Intractable Diseases
- 研究開発課題名 : (日本語) RANKL 低分子阻害剤による疾患制御の展開に向けた検証研究
(英語) Verification study for development of disease control by low-molecule weight inhibitors of RANKL
- 研究開発担当者 所属 役職 氏名 : (日本語) 国立大学法人東京大学 医学部医学系研究科 免疫学 教授 高柳 広
(英語) Department of Immunology, Graduate School of Medicine and Faculty of Medicine, The University of Tokyo, Professor, Hiroshi Takayanagi
- 実施期間 : 平成27年 4月 1日 ~ 平成30年 3月31日
- 分担研究 開発課題名 : (日本語) 癌骨転移モデルにおける免疫学的解析
(英語) Immunological analysis of mouse models of the bone metastasis
- 研究開発分担者 所属 役職 氏名 : (日本語) 国立大学法人東京大学 医学部医学系研究科 免疫学 准教授 新田剛
(英語) Department of Immunology, Graduate School of Medicine and Faculty of Medicine, The University of Tokyo, Associate Professor, Takeshi Nitta
- 分担研究 開発課題名 : (日本語) RANKL/RANK 発現細胞の生体内動態に関する解析
(英語) Analysis of in vivo dynamics of RANKL or RANK-expressing cells
- 研究開発分担者 所属 役職 氏名 : (日本語) 国立大学法人東京大学 医学部医学系研究科 助教 澤進一郎
(英語) Department of Immunology, Graduate School of Medicine and Faculty of Medicine, The University of Tokyo, Assistant Professor, Shinichiro Sawa

分担研究 (日本語) 多発性硬化症モデルマウスにおける AS 剤の有効性評価
開発課題名: (英語) Evaluation of the efficacy of AS compounds in a mouse model of multiple sclerosis

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学 医学部医学系研究科 特任准教授 岡本一男
所属 役職 氏名: (英語) Department of Osteoimmunology, Graduate School of Medicine and Faculty of Medicine, The University of Tokyo, Project Associate Professor, Kazuo Okamoto

II. 成果の概要 (総括研究報告)

・ 研究開発代表者による報告の場合

T 細胞特異的に RANKL 遺伝子を欠損させたコンディショナルノックアウトマウスが、マウス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 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) に対して抵抗性を示すことを見出している (初年度に *Immunity* 誌に報告)。T 細胞特異的 RANKL 欠損マウスでは自己反応性 Th17 細胞の中枢神経組織内への遊走障害が起こることから、RANKL 阻害が多発性硬化症治療に有効であると示唆される。そこで RANKL 低分子阻害剤 (A 剤) の EAE 治療薬としての有効性を調べ、A 剤の投与量・投与頻度等に関して最適条件を検討した。野生型マウスにおいて EAE 誘導後 2 日目より、A 剤 50 mg/kg を 2 日に一回の頻度で経口投与すると、炎症性細胞の中枢神経組織浸潤が阻害され、EAE が顕著に抑えられることを確認できた。また研究開発分担者の岡本は生理的状況下において RANKL 阻害が免疫システムに与える影響を調査し、T 細胞特異的 RANKL 欠損マウスでは生理的状況下において各種リンパ組織における T 細胞、樹状細胞などの細胞数・割合、活性化マーカーの発現などに変化が認められないこと、A 剤投与により脾臓やリンパ節における制御性 T 細胞や樹状細胞の数が影響されないことを確認した。さらに研究開発分担者の新田と澤は、免疫組織における RANKL の新たな役割として、RANKL が腸管パイエル板による腸管免疫応答に関与していることを明らかにした。腸管パイエル板で RANKL を高く発現している新規間葉系細胞 (M cell-inducer (MCi) cells) は、腸管上皮の M 細胞分化とケモカイン CCL20 発現を制御することで、腸管 IgA 産生と腸内細菌叢の多様性維持に寄与することを見出した (Nagashima et al., *Nature Immunology*, 18: 675-682, 2017)。今後、腸管免疫に対する影響も含め、RANKL 阻害が免疫システムに与える影響をより包括的に検証していく予定である。

We have recently identified a novel pathogenic role of RANKL on T cells in multiple sclerosis (MS), and reported that T cell-specific RANKL-deficient mice are resistant to experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), a mouse model of MS (Guerrini et al., *Immunity*, 2015). Infiltration of pathogenic T cells into the central nervous system (CNS) was blocked in T-cell specific RANKL-deficient mice. We thus examined the therapeutic effects of a small molecule RANKL inhibitor (Drug A) on EAE, and found that oral administration of Drug A (50 mg/kg, every other day starting from day 2 after the induction of EAE) potently blocked EAE by suppressing the inflammatory cell infiltration in to the CNS. We further investigate effects of RANKL inhibition on the immune system under physiological conditions. We found that the number, frequency and activation status of various immune cell types were normal in the second lymph nodes of T cell-specific

RANKL-deficient mice, and that Drug A had no effect on the number of regulator T cells and dendritic cells in the second lymph nodes of wild-type mice. In addition, we identified a novel role of RANKL in the immune organs. We revealed that a novel mesenchymal cell subset expressing RANKL in the Payer's patch (M cell-inducer (MCi) cells) regulates IgA production in the gut and diversify the gut microbiota (Nagashima et al., Nature Immunology, 2017). Therefore, it would be important to comprehensively investigate the effects of RANKL inhibition on the immune system including the immune responses in the gut.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 4 件)

1. Asuka Terashima, Kazuo Okamoto, Tomoki Nakashima, Shizuo Akira, Koichi Ikuta, Hiroshi Takayanagi. Sepsis-Induced Osteoblast Ablation Causes Immunodeficiency, *Immunity*. 44 : 1434-1443, 2016
2. Masayuki Tsukasaki, Koki Hamada, Kazuo Okamoto, Kazuki Nagashima, Asuka Terashima, Noriko Komatsu, Stephanie Win, Tadashi Okamura, Takeshi Nitta, Hisataka Yasuda, Josef M. Penninger and Hiroshi Takayanagi. LOX fails to substitute for RANKL in osteoclastogenesis, *Journal of Bone and Mineral Research*, 32 : 434-439, 2017.
3. Kazuki Nagashima, Shinichiro Sawa, Takeshi Nitta, Masanori Tsutsumi, Tadashi Okamura, Josef M. Penninger, Tomoki Nakashima, and Hiroshi Takayanagi. Identification of subepithelial mesenchymal cells that induce IgA and diversify gut microbiota , *Nature Immunology*, 18: 675-682, 2017
4. Kazuo Okamoto, Tomoki Nakashima, Masahiro Shinohara, Takako Negishi-Koga, Noriko Komatsu, Asuka Terashima, Shinichiro Sawa, Takeshi Nitta and Hiroshi Takayanagi. Osteoimmunology: the conceptual framework unifying the immune and skeletal systems. *Physiological Reviews*, 2017 in press

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Novel findings of Osteoimmunology and osteoporosis, 口頭, 高柳 広, Moscow International Forum of Bones and Joints Disorders, 2016 年 4 月 18 日, 国外
2. 適応免疫系による骨破壊制御, 口頭, 岡本一男, 第 60 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 2016 年 4 月 21 日, 国内
3. 骨免疫学と関節リウマチ治療の進歩, 口頭, 高柳 広, 第 57 回多摩リウマチ研究会, 2016 年 5 月 28 日, 国内
4. Interaction of bone and the immune system in inflammation and regeneration, 口頭, 高柳 広, 6th International Conference on Osteoimmunology, 2016 年 6 月 19 日, 国外
5. 中枢性免疫寛容の分子機構と骨免疫学, 口頭, 高柳 広, 第 169 回免疫系発生学セミナー 新学術領域「免疫四次元空間」特別講演会(招待講演), 2016 年 7 月 1 日, 国内
6. 適応免疫系による骨の制御, 口頭, 岡本一男, 第 2 回日本骨免疫学会, 2016 年 7 月 7 日, 国内
7. 骨免疫における RANKL の役割, 口頭, 高柳 広, 第 2 回日本骨免疫学会, 2016 年 7 月 8 日, 国内

8. 中枢性免疫寛容の分子機構と骨免疫学, 口頭, 高柳 広, 日本免疫学会サマースクール, 2016年7月12日, 国内
9. 骨免疫学と生物学的製剤, 口頭, 高柳 広, 第18回生物学的製剤治療研究会, 2016年7月14日, 国内
10. Osteonetwork: Crosstalk between bones to other organs, 口頭, 高柳 広, 第3回アジア太平洋骨代謝学会議, 2016年7月20日, 国内
11. 骨免疫と自己免疫疾患, 口頭, 岡本一男, 第34回日本骨代謝学会学術集会, 2016年7月21日, 国内
12. 骨免疫学 オーバービュー, 口頭, 高柳 広, 第34回日本骨代謝学会学術集会, 2016年7月21日, 国内
13. 骨免疫学基礎研究の進展, 口頭, 高柳 広, 第13回日本病理学会カンファレンス, 2016年7月29日, 国内
14. 骨免疫学と自己免疫疾患, 口頭, 高柳 広, 第6回 Shikoku Symphony, 2016年8月6日, 国内
15. 骨免疫学による自己免疫疾患への挑戦, 口頭, 高柳 広, 東京医科歯科大学 大学院特別講義, 2016年9月8日, 国内
16. 骨免疫の進歩, 口頭, 高柳 広, 第44回日本臨床免疫学会総会, 2016年9月9日, 国内
17. Inhibition of RANKL prevents T cell mediated autoimmune inflammation in the central nervous system, Matteo M. Guerrini, Kazuo Okamoto and Hiroshi Takayanagi, ポスター, 第3回 JCR ベーシックリサーチカンファレンス, 2016年10月14日, 国内
18. 腸管 RANKL 発現間葉系細胞は M 細胞分化を誘導し IgA 産生を制御する, ポスター, 永島一樹、澤新一郎、新田剛、中島友紀、高柳広, 第3回 JCR ベーシックリサーチカンファレンス, 2016年10月14日, 国内
19. 「骨免疫学による自己免疫疾患への挑戦」～抗リウマチ薬による破骨細胞抑制作用を含めて～, 口頭, 高柳 広, 第3回 JCR ベーシックリサーチカンファレンス, 2016年10月15日, 国内
20. RANKL と骨免疫学, 口頭, 高柳 広, Bone & Immunology Seminar 2016, 2016年10月21日, 国内
21. 中枢性免疫寛容の分子機構と骨免疫学, 口頭, 高柳 広, 東北大学イメージングセミナー, 2016年10月24日, 国内
22. Mechanism of central tolerance and osteoimmunology, 口頭, 高柳 広, Chinese Immunology Society (Taiwan) Annual Meeting, 2016年10月29日, 国外
23. RANKL と骨免疫学の展開, 口頭, 高柳 広, RANKL Research Conference in Chiba, 2016年11月9日, 国内
24. Osteoimmunology and mechanism of central immune tolerance, 口頭, 高柳 広, Thailand International Conference of Oral Biology 2016, 2016年11月18日, 国外
25. Infliximab と骨免疫ワークショップの軌跡, 口頭, 高柳 広, 第12回骨免疫ワークショップ, 2016年11月25日, 国内
26. Mesenchymal organizer cell-derived RANKL induces terminal differentiation of LT α i cell, ポスター, Shinichiro Sawa, EMBO Conference Innate lymphoid cells-2016, 2016年11月30日-12月02日, 国外
27. Identification of the transcription factor required for negative selection in the thymus, 口頭, 高柳 広, 第45回日本免疫学会学術集会, 2016年12月6日, 国内

28. Studies on the development of IL-17-producing T cells and their functions in the autoimmune and bone diseases, ポスター, Kazuo Okamoto, 第 45 回日本免疫学会学術集会, 2016 年 12 月 5-7 日, 国内
29. Mesenchymal organizer cell-derived RANKL induces terminal differentiation of LT_i cell, ポスター, Shinichiro Sawa, Tomoki Nakashima, Hiroshi Takayanagi, 第 45 回日本免疫学会学術集会, 2016 年 12 月 5-7 日, 国内
30. Intestinal homeostasis governed by mesenchymal stroma cells, ポスター, Kazuki Nagashima, Shinichiro Sawa, Tomoki Nakashima, Hiroshi Takayanagi, 第 45 回日本免疫学会学術集会, 2016 年 12 月 5-7 日, 国内
31. 骨免疫学と自己免疫疾患, 口頭, 高柳 広, 九州大学大学院講義「硬組織研究法」, 2016 年 12 月 15 日, 国内
32. Molecular mechanism of negative selection and osteoimmunology, 口頭, 高柳 広, Midwinter Conference 2017 Advances in Immunobiology, 2017 年 1 月 22 日, 国外
33. 骨免疫学, 口頭, 高柳 広, 大分大学医学部医学科正常編(生理学)コース, 2017 年 2 月 3 日, 国内
34. 骨免疫学と骨粗鬆症治療の進歩, 口頭, 高柳 広, 骨免疫学から骨代謝性疾患とリウマチ性疾患を考えるシ
35. 中枢性免疫寛容の分子機構と骨免疫学, 口頭, 高柳 広, 第 36 回東北免疫研究会, 2017 年 2 月 10 日, 国内
36. 骨免疫学と自己免疫疾患, 口頭, 高柳 広, 北海道大学講演会, 2017 年 2 月 15 日, 国内
37. Microenvironment for the lymph node organogenesis, ポスター, Shinichiro Sawa, 11th International Symposium of The Institute Network "Frontiers in Biomedical Sciences, 2017 年 2 月 26 日～2017 年 2 月 27 日, 国内
38. Osteoimmunology in infection and inflammation in dental field, 口頭, 高柳 広, Chulalongkorn University Seminar, 2017 年 2 月 26 日, 国外
39. Mechanism of inflammation-induced bone loss, 口頭, 高柳 広, Chulalongkorn University Seminar, 2017 年 2 月 27 日, 国外
40. 骨免疫学と自己免疫疾患, 口頭, 高柳 広, 平成 28 年度免疫学・病態生化学領域合同シンポジウム, 2017 年 3 月 8 日, 国内
41. 骨と免疫の相互作用～骨疾患における IL-17 産生性 T 細胞の役割～, 口頭, 岡本一男, 第 36 回岡山免疫懇話会, 2017 年 3 月 8 日, 国内
42. IL-17 産生性 T 細胞による骨の制御, 口頭, 岡本一男, 京都大学生命科学セミナー, 2017 年 3 月 10 日, 国内
43. 骨免疫学と関節炎疾患治療の進歩, 口頭, 高柳 広, 第 90 回日本薬理学会年会, 2017 年 3 月 16 日, 国内
44. Mesenchymal organizer cell-derived RANKL induces terminal differentiation of LT_i cell, ポスター, Shinichiro Sawa, International Kyoto T Cell Conference 2017, 2017 年 3 月 13-17 日, 国内
45. 骨免疫学と関節炎治療の進歩, 口頭, 高柳 広, 第 9 回リウマチ膠原病ウインターセミナー, 2017 年 3 月 18 日, 国内
46. Osteoimmunology and the progress of treatment of bone and joint diseases, 口頭, 高柳 広, サノフィ株式会社・社内レクチャーミーティング, 2017 年 3 月 23 日, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし