

先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 実績報告書

本様式の内容は一般に公表されません

研究課題名	セマフォリンによる細胞移動及び小胞輸送ナビゲーション機構の解明
研究機関・部局・職名	大阪大学・大学院医学系研究科・教授
氏名	熊ノ郷 淳

1. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成24年9月30日

2. 収支の状況

(単位:円)

	交付決定額	交付を受けた額	利息等収入額	収入額合計	執行額	未執行額	既返還額
直接経費	75,282,575	75,282,575	0	75,282,575	75,282,575	0	0
間接経費	22,584,772	22,584,772	0	22,584,772	22,584,772	0	0
合計	97,867,347	97,867,347	0	97,867,347	97,867,347	0	0

3. 執行額内訳

(単位:円)

費目	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度	合計
物品費	2,753,029	31,939,865	30,640,230	0	65,333,124
旅費	0	488,110	0	0	488,110
謝金・人件費等	0	2,938,371	259,571	0	3,197,942
その他	0	2,347,432	3,915,967	0	6,263,399
直接経費計	2,753,029	37,713,778	34,815,768	0	75,282,575
間接経費計	0	8,156,004	14,428,768	0	22,584,772
合計	2,753,029	45,869,782	49,244,536	0	97,867,347

4. 主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関名
細胞数計測装置	Muse Cell Analyzer	1	1,370,250	1,370,250	2012/6/28	大阪大学
タンパク撮影装置	ECLSelectLA S500システム	1	2,622,900	2,622,900	2012/6/6	大阪大学

5. 研究成果の概要

私たちが研究しているセマフォリンタンパクは、神経系、心臓、血管、癌、免疫調節など、多彩な作用を有しています。本研究ではこのようなセマフォリンの有する細胞や物質輸送におけるナビゲーション機構に焦点をあてた研究をおこない、腸管免疫の恒常性に関与するSema7A、網膜の物質輸送をナビゲーションし、その異常が網膜色素変成症の原因となるSema4Aを世界にさがしつけました。今後セマフォリンを標的にした難病に対する治療法の確立が期待されます。

課題番号	LS077
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
研究成果報告書**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名 (下段英語表記)	セマフォリンによる細胞移動及び小胞輸送ナビゲーション機構の解明
	Investigation of cellular trafficking and vesicular transport by semaphorins.
研究機関・部局・ 職名 (下段英語表記)	大阪大学・大学院医学系研究科・教授
	Osaka University, Graduate School of Medicine, Professor
氏名 (下段英語表記)	熊ノ郷淳
	Kumanogoh Atsushi

研究成果の概要

(和文):

私たちが研究しているセマフォリンタンパクは、神経系、心臓、血管、癌、免疫調節など、多彩な作用を有しています。本研究ではこのようなセマフォリンの有する細胞や物質輸送におけるナビゲーション機構に焦点をあてた研究をおこない、腸管免疫の恒常性に関与する Sema7A, 網膜の物質輸送をナビゲーションし、その異常が網膜色素変成症の原因となる Sema4A を世界にさきがけ明らかにしました。今後セマフォリンを標的にした難病に対する治療法の確立が期待されます。

(英文):

Semaphorins exerts multiple functions in neuronal development, heart, vasculogenesis, tumorigenesis and immune-regulation. In this study, we tried to determine the functions of semaphorins as a navigator for cellular trafficking and vesicular transport. As a result, we demonstrated that Sema7A is required for homeostasis of intestinal immunity and that Sema4A regulates endosomal trafficking at retina and this defect causes, retinitis pigmentosa. We believe that our findings would provide useful insights into development of new therapy targeting Semaphorins.

様式21

1. 執行金額 97, 867, 347円

(うち、直接経費 75, 282, 575円、 間接経費 22, 584, 772円)

2. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成24年9月30日

3. 研究目的

セマフォリン分子群は神経細胞の移動・方向性を決定するガイダンス因子として同定されてきたが、これまで補助事業者らが明らかにしてきたセマフォリンの免疫活性はいずれも「免疫副刺激分子様活性」としてのものであり、細胞接着・細胞間相互作用と細胞極性の形成といった一連のイベントの時空間制御の上に成り立つ生体内での細胞移動への関与は不明である。本研究ではセマフォリンというガイダンス因子が有する(1)生体内におけるセマフォリンの細胞移動ナビゲーション機構と、(2)細胞内におけるセマフォリンの小胞輸送ナビゲーション機構を解明することを目的にした。

4. 研究計画・方法

(1) 生体内の免疫細胞移動におけるセマフォリンのナビゲーション機構の解明

本研究では免疫細胞の生体内移動・挙動の制御メカニズムについてセマフォリンというガイダンス分子を「窓」に検討した。具体的には、蛍光標識した野生型及びセマフォリン関連遺伝子欠損細胞の所属リンパ節への移動の経時的観察、共焦点レーザー顕微鏡、二光子顕微鏡を用いたイメージングによるリンパ管内皮細胞と樹状細胞相互作用の観察を行い、免疫細胞の生体内移動におけるセマフォリン機能を検討した。

(2) 細胞内の小胞輸送におけるセマフォリンのナビゲーション機構の解明

膜型のセマフォリン Sema4A 欠損マウス網膜の表現型に着目した解析を行い、イメージングによる可視化、免疫沈降法などの手法を用いて、1) Sema4A 欠損マウスで、網膜色素変性症を発症するメカニズム、2) 光刺激から網膜を保護する種々の物資の輸送のための小胞輸送における

Sema4A の役割を解析した。

5. 研究成果・波及効果

(1) 生体内の免疫細胞移動におけるセマフォリンのナビゲーション機構の解明

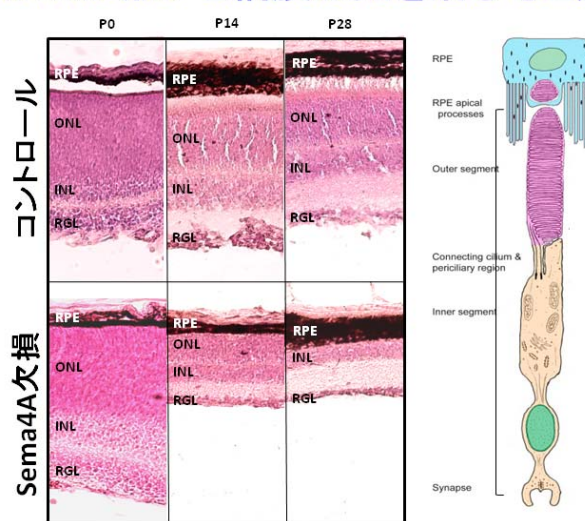
近年、腸管マクロファージが腸管組織における免疫寛容の中心的役割を果たしていることが明らかになっている。その制御機構の破綻により過剰な免疫反応が惹起され、炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎及びクローン病）をはじめ様々な疾患の原因になることが知られている。しかしながら、この腸管マクロファージの制御システムについてはいまだ不明であった。本研究では、免疫細胞の移動・挙動におけるセマフォリンの役割を検討する中で、腸管内において、腸管上皮細胞に発現する Sema7A が $\alpha v\beta 1$ インテグリンを介して、腸管内の免疫系ホメオスタシス維持に関与していることを見いだした(*J. Immunol.* 188:1108-16.2012)。今後セマフォリンをターゲットにした炎症疾患治療が期待され、ライフ・イノベーションの推進に寄与する成果をあげることが出来た。

(2) 細胞内の小胞輸送におけるセマフォリンのナビゲーション機構の解明

視覚は網膜に存在する視細胞が光の変化を脳の視覚領野に投射することで認識される。その一方で、光は細胞に強い酸化ストレスを起し、細胞死を引き起こす。ではなぜ光を浴び続ける視細胞が細胞死に至らないのか？ 何らかの視細胞を保護する仕組みが存在するはずであり、この保護機構の破綻により生じる病気が網膜色素変性症（後天性の三大失明原因の一つ）と考えられている。従来、視細胞に接した色素上皮細胞が視細胞の保護や生存に重要であると考えられてきたが、そのメカニズムは謎であった。本研究では、Sema4A 欠損マウスの網膜において視細胞生存に必要なプロサポシンの細胞外への輸送、またレチノイドの代謝に必要なレチノイド結合蛋白質の細胞内移送機構を明らかにした。また従来細胞外の環境で機能するとされてきたセマフォリンの細胞内ナビゲーション機構の証明に成功した(*Genes Dev.* 26:816-29. 2012)。

以上、本研究の成果により、今後セマフォリンをターゲットにした難病に対する治療への応用が期待され、ライフ・イノベーションの推進に寄与する成果をあげることが出来た。

Sema4Aが無いと網膜は光を浴びると脱落する



3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計 13 件
計 13 件	<ol style="list-style-type: none"> 1. Nakatsuji Y, Okuno T, Moriya M, Sugimoto T, Kinoshita M, Takamatsu H, Nojima S, Kimura T, Kang S, Ito D, Nakagawa Y, Toyofuku T, Takata K, Nakano M, Kubo M, Suzuki S, Matsui-Hasumi A, Uto-Konomi A, Ogata A, Mochizuki H, Sakoda S, and <u>Kumanogoh A.</u> Elevation of Sema4A implicates T helper cell skewing and the efficacy of interferon-β therapy in multiple sclerosis. J. Immunol. 188(10):4858-65. 2012. 2. Ihara S, Kida H, Arase H, Tripathi LP, Chen Y-A, Yoshida M, Kashiwa Y, Hirata H, Fukamizu R, Inoue R, Goya S, Takahashi R, Minami T, Tsujino K, Suzuki M, Kohmo S, Inoue K, Nagatomo I, Takeda Y, Kijima T, Mizuguchi K, Tachibana I, <u>Kumanogoh A.</u> Inhibitory roles of signal transducer and activator of transcription 3 in anti-tumor immunity during carcinogen-induced lung tumorigenesis. Cancer Res. 72:2990-2999. 2012. 3. Kuwajima T, Yoshida Y, Takegahara N, <u>Kumanogoh A.</u>, Petros Tj, Jessell TM, Sakurai T, Mason C. Optic chiasm presentation of Semaphorin6D in the context of Plexin-A1 and Nr-CAM promotes retinal axon midline crossing. Neuron 74(4):676-90. 2012. 4. Hayashi M, Nakashima T, Taniguchi M, Kodama T, <u>Kumanogoh A.</u>, Takayanagi H. Osteoprotection by Semaphorin 3A. Nature (Article) ;485(7396):69-74. 2012. 5. Hosen N, Matsuoka Y, Kishida S, Nakata J, Mizutani Y, Hasegawa K, Mugitani A, Ichihara H, Aoyama Y, Nishida S, Tsuboi A, Fujiki F, Tatsumi N, Nakajima H, Hino M, Kimura T, Yata K, Abe M, Oka Y, Oji Y, <u>Kumanogoh A.</u>, Sugiyama H. CD138-negative clonogenic cells are plasma cells but not B cells in some multiple myeloma patients. Leukemia. 26(9):2135-41. 2012. 6. Tsujino K, Takeda Y, Arai T, Shintani Y, Inagaki R, Saiga H, Iwasaki T, Tetsumoto S, Jin Y, Ihara S, Minami T, Suzuki M, Nagatomo I, Inoue K, Kida H, Kijima T, Ito M, Kitaichi M, Inoue Y, Tachibana I, Takeda K, Okumura M, Hemler ME, <u>Kumanogoh A.</u> Tetraspanin CD151 protects against pulmonary fibrosis by maintaining epithelial integrity. Am J Respir Crit Care Med.186(2):170-80. 2012. 7. Toyofuku T, Nojima S, Ishikawa T, Takamatsu T, Tsujimura T, Uemura A, Matsuda J, Seki T, <u>Kumanogoh A.</u> Endosomal sorting by Semaphorin 4A in retinal pigment epithelium supports photoreceptor survival. Genes Dev. 26:816-29. 2012 8. Minami T, Kijima T, Otani Y, Kohmo S, Takahashi R, Nagatomo I, Hirata H, Suzuki M, Inoue K, Takeda Y, Kida H, Tachibana I, <u>Kumanogoh A.</u> HER2 As Therapeutic Target for Overcoming ATP-Binding Cassette Transporter-Mediated Chemoresistance in Small Cell Lung Cancer. Mol Cancer Ther. 11:830-41 2012. 9. Takamatsu H, <u>Kumanogoh A.</u> Diverse roles of semaphorin-plexin signaling in the immune

	<p>system. Trends Immunol. 33:127-35. 2012.</p> <p>10. Kang S, Okuno T, Takegahara N, Takamatsu H, Nojima S, Kimura T, Yoshida Y, Ito D, Ohmae S, You DJ, Toyofuku T, Jang MH, <u>Kumanogoh A</u>. Intestinal epithelial cell-derived semaphorin 7A negatively regulates development of colitis via $\alpha\beta$1 integrin. J. Immunol. 188:1108-16.2012.</p> <p>11. Morimoto S, Oka Y, Tsuboi A, Tanaka Y, Fujiki F, Nakajima H, Hosen N, Nishida S, Nakata J, Nakae Y, Maruno M, Myoui A, Enomoto T, Izumoto S, Sekimoto M, Kagawa N, Hashimoto N, Yoshimine T, Oji Y, <u>Kumanogoh A</u>, Sugiyama H. Biased usage of T cell receptor β-chain variable region genes of Wilms' tumor gene (WT1)-specific CD8(+) T cells in patients with solid tumors and healthy donors. Cancer Sci. 103:408-414. 2012.</p> <p>12. Takahashi R, Hirata H, Tachibana I, Shimosegawa E, Inoue A, Nagatomo I, Takeda Y, Kida H, Goya S, Kijima T, Yoshida M, Kumagai T, <u>Kumanogoh A</u>, Okumura M, Hatazawa J, Kawase I. Early [18F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography at two days of gefitinib treatment predicts clinical outcome in patients with adenocarcinoma of the lung.. Clin Cancer Res. 18:220-8. 2012.</p> <p>13. Ogata A, Umegaki N, Katayama I, <u>Kumanogoh A</u>, Tanaka T. Psoriatic arthritis in two patients with an inadequate response to treatment with tocilizumab. Joint Bone Spine. 79:85-7. 2012.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載)計 0 件</p>
<p>会議発表 計 5 件</p>	<p>専門家向け 計 5 件</p> <p>*Kumanogoh A. Immune Regulation by Semaphorins and Their Receptors. Cold Spring harbor. 11/Sep/2011 in China.</p> <p>*Kumanogoh A. Regulation of Immune Responses by Semaphorins and Their Receptors. Joint Symposium of CRCID (IFReC & IBB) 19Dec/2011 in Korea.</p> <p>*Kumanogoh A. Regulation of Immune Cell Responses by Semaphorins and Their Receptors. BRIC/GARN meeting. 16/Nov/2011 in Tokyo.</p> <p>*熊ノ郷淳、セマフォリンによる免疫制御、平成 22 年 3 月 3 日 名古屋大学GCOEセミナー *熊ノ郷淳、セマフォリンによる免疫制御—セマフォリンは病気の鍵分子—平成 22 年 3 月 30 日 大阪大学未来医療センターセミナー</p> <p>一般向け 0 件</p>
<p>図書 計 0 件</p>	

様式21

産業財産権 出願・取得 状況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	大阪大学呼吸器・免疫アレルギー内科・感染病態グループ(最先端・次世代研究開発支援プログラム) http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/imed3/immunopathology/ 大阪大学・最先端・次世代研究開発支援プログラム http://www.osaka-u.ac.jp/ja/research/program_next 大阪大学大型教育研究プロジェクト支援室・最先端・次世代研究開発支援プログラム http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/index_jisedai.html
国民との科学・技術対話の実施状況	* 全国1200の高校の保健室の健康ポスター及び高校生及びその保護者対象の健康マンガ「もっと知ろうからだのこと 18 免疫のしくみ」、さらに健康解説冊子を監修した。これらは、双方向を意識して、質問を受け付けるようにしており、全国から問い合わせがきている。 http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/info/20110822_kumanogou.html 更に、そのマンガ解説の中で、「～国の大型研究プロジェクトとして、最先端研究開発プログラム(審良静男:免疫ダイナミズムの統合的理解と免疫制御法の確立)や、最先端・次世代研究開発支援プログラム(熊ノ郷淳:セマフォリンによる細胞移動及び小胞輸送ナビゲーション機構の解明)などが、同センターや阪大医学部を中心に行われています。」との広報活動も行った。 * 平成24年3月10日に川西市の医師会主催で一般市民も参加できる講演会を開催し、「新しい疾患の鍵分子—セマフォリン—」のタイトルで講演を行った(川西市保健所)。
新聞・一般雑誌等掲載 計4件	* 平成24年8月6日 読売新聞「細胞活性化の要 セマフォリン」の記事掲載(朝刊31面科学欄) * 平成24年3月31日 日本経済新聞「網膜色素変性症 失明を起こす原因遺伝子発見」の記事掲載(朝刊6面) * 平成23年5月26日 日経産業新聞「先端人」のコラムで「免疫研究に邁進」として取り上げられる。 * 平成23年5月 Nature Japan 誌のWEB上で「免疫・炎症細胞やがん細胞の動態を可視化して、病気の解明や医薬品の開発につなげる」として取り上げられる。 http://www.natureasia.com/japan/jobs/tokushu/detail.php?id=556
その他	特になし

ハ
た

様式21

4. その他特記事項

平成 23 年度 文部科学大臣表彰・科学技術賞(研究部門)受賞

平成 23 年度 大阪大学功績賞受賞

平成 24 年度 大阪大学総長顕彰