

課題番号	LS134
------	-------

**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)  
実施状況報告書(平成 24 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	シグナル伝達エンドソームから切り込む新規炎症制御機構の解明
研究機関・ 部局・職名	(独) 国立国際医療研究センター研究所・分子炎症制御プロジェクト・プロジェクト長
氏名	反町 典子

1. 当該年度の研究目的

マクロファージや樹状細胞の炎症応答は、病態に大きな影響を及ぼす。これらの細胞の炎症応答では、エンドソームからライソソームで引き起こされるシグナル伝達が重要であるが、その制御機構は明らかではない。本研究では、炎症細胞におけるシグナル伝達エンドソームの制御機構の理解を通じて、炎症シグナル制御の新規分子基盤を明らかにし、新しい創薬ターゲットを見出すことを最終目的としている。本年度は、炎症細胞から単離したシグナル伝達エンドソームのプロテオーム解析から得られた分子の炎症応答における機能的重要性の検討、およびこれまで解析を進めてきたシグナル伝達エンドソーム制御に関わる分子(Ly49Q, SLC15A4)による炎症制御機構の解明を進めることを目的として行った。

2. 研究の実施状況

**【1】エンドソーム・ライソソームの比較プロテオーム解析:** 蛍光磁性ナノビーズを用いてシグナル伝達の場合としてのエンドソーム・ライソソームを単離精製する手法を樹立し、感染炎症刺激の有無によってエンドソーム・ライソソームにどのような機能分子が会合するか、プロテオーム解析を行った。本年度は特に、ライソソームへの局在が炎症刺激の有無で変動が認められるタンパク質を複数同定し、現在これらの分子について個別に機能解析を進めている。Talen法を用いてノックダウン細胞の樹立を試みていたが、一部の分子についてはノックダウン細胞が得られたものの、目的分子をコードする遺伝子を両染色体でノックダウンできる頻度が低く、時間を要したため、一部は siRNA 法に切り替えて機能解析を進めている。

**【2】シグナル伝達エンドソームに異常をきたすノックアウトマウスの解析:**  
(1)SLC15A4 によるB細胞における自己抗体産生制御が SLE 様病態に果たす役割:これまでライソソーム局在型アミノ酸トランスポーターである SLC15A4 が、樹状細胞のライソソームにおける TLR9 シグナルを制御することによって炎症性腸疾患の病態に重要な役割を果たすことを明らかにしてきたが、さらに今年度は SLC15A4 欠損 B 細胞を用いて、この分子が自己抗体産生と全身性エリテマトーデス(SLE)の病態制御に極めて重要な役割を果たしていることを見出した。さらにそのメカニズムを解析し、TLR7シグナルの異常とライソソームの機能修飾について重要かつ新規知見を得、現在論文投稿準備を進めている。SLC15A4 はライソソーム環境を制御することによって炎症性腸疾患および SLE の病態制御に重要な役割を果たすことから、疾患横断的な治療標的分子であると考えられ、低分子阻害剤のスクリーニングに向けて、理化

様式19 別紙1

学研究所と共同研究でハイスループットスクリーニング系の開発に着手した。

(2)炎症細胞特異的な抑制性レセプターLy49QによるTLR9シグナル制御機構;これまで感染時のI型IFN産生の責任細胞であるプラズマ樹状細胞においてLy49QがTLR9に依存したI型IFN産生に必須の役割を果たすことを見出していたが、そのメカニズムは不明な点が多かった。本年度、この分子がライソゾームをどのように制御しているかについて新規知見を得、それによって感染刺激下におけるプラズマ樹状細胞の生存に重要な役割を果たすことを見出し、現在論文化を進めている。

**【3】国民との対話:**本年度は、東京都主催の都民講座、日本免疫学会主催の体験型科学イベントなど、一般向け講演会等の機会を利用して、研究成果の発信を行った。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計5件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計2件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Rahim MM, Tai LH, Troke AD, Mahmoud AB, Abou-Samra E, Roy JG, Mottashed A, Ault N, Corbeil C, Goulet ML, Zein HS, Hamilton-Valensky M, Krystal G, Kerr WG, <u>Toyama-Sorimachi N</u>, Makrigiannis AP. Ly49Q positively regulates type I IFN production by plasmacytoid dendritic cells in an immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif-dependent manner. <i>J Immunol</i>. 190(8):3994-4004, 2013.</li> <li>Sasaki I, Hoshino K, Sugiyama T, Yamazaki C, Yano T, Iizuka A, Hemmi H, Tanaka T, Saito M, Sugiyama M, Fukuda Y, Ohta T, Sato K, Ainai A, Suzuki T, Hasegawa H, <u>Toyama-Sorimachi N</u>, Kohara H, Nagasawa T, Kaisho T. Spi-B is critical for plasmacytoid dendritic cell function and development. <i>Blood</i> 120(24):4733-43, 2012.</li> </ol> <p>(掲載済み一査読無し) 計1件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>小林俊彦、岡村匡史、反町典子：ライソゾーム局在型アミノ酸トランスポーターSLC14A5によるライソゾーム環境管理と炎症制御 「感染・炎症・免疫」42；10-19、2012</li> </ol> <p>(未掲載) 計2件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Onai N, Kurabayashi K, Hosoi-Amaike M, Toyama-Sorimachi N, Matsushima K, Inaba K, Ohteki T. A Clonogenic Progenitor with Prominent Plasmacytoid Dendritic Cell Developmental Potential. <i>Immunity</i>. 2013 Apr 23. doi:pii: S1074-7613(13)00160-X. 10.1016/j.immuni.2013.04.006. [Epub ahead of print]</li> <li>田中翼、小林俊彦、反町典子：炎症シグナル伝達の間として機能する細胞内小胞の環境制御 生化学 ミニレビュー</li> </ol>
<p>会議発表 計5件</p>	<p>専門家向け 計4件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>反町典子 最先端・次世代研究開発プログラム第2回シンポジウム(H24)～最先端のアレルギー治療と再生治療の開発研究～ 特別講演「オルガネラによる炎症制御と新しい疾患治療標的」2012年12月21日 東京(招待)</li> <li>Kobayashi, T., and Toyama-Sorimachi, N. Lysosomal transporter SCL15A4 regulates Toll-like report 7-mediated autoantibody production. 第41回日本免疫学会総会・学術集会 2012年12月5-7日, 神戸</li> <li>Tanaka, T. and Toyama-Sorimachi, N. Regulation of endosomal transporter and maturation in TLR9 signaling. 第41回日本免疫学会総会・学術集会 2012年12月5-7日, 神戸</li> <li>Kobayashi, T., and Toyama-Sorimachi, N. The solute carrier family15A4 regulates TLR9 and NOD1 functions in the innate immune system and promotes colitis in mice 第7回トランスポ</li> </ol>

様式19 別紙1

	<p>ーター研究会 (JTRA2012) 2012年6月9-10日 京都</p> <p>一般向け 計1件</p> <p>反町典子 都民講座「からだを守る免疫の仕組みからアレルギーを考える」(東京都主催) 10月17日 東京 (招待)</p>
<p>図書</p> <p>計1件</p>	<p>標準免疫学 第3版 谷口克監修、宮坂昌之、小安重夫編集 分担執筆「NK細胞」pp211-218、 2013</p>
<p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>分子炎症制御プロジェクト(最先端)HP <a href="http://square.umin.ac.jp/Sori_Lab/index.html">http://square.umin.ac.jp/Sori_Lab/index.html</a></p> <p>国立国際医療センター研究所 HP <a href="http://www.rincgm.jp/department/pro/01/">http://www.rincgm.jp/department/pro/01/</a></p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>東京都主催の都民講座で300人弱の参加者を動員し、免疫学と疾患に関するアウトリーチ活動を行った。</p> <p>また、日本免疫学会主催の一般向けサイエンスイベント「免疫ふしぎ未来 2013」を企画運営し、科学未来館(お台場、東京)で1500-2000人を動員して免疫研究に関わるアウトリーチ活動を展開した。さらに順天堂大学主催最先端次世代シンポジウムにおいて、特別講演として研究成果を一般の方々へ発信した。</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載</p> <p>計0件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

炎症性腸疾患および全身性エリテマトーデスの治療標的分子の阻害剤リード化合物の HTS と創薬に向けて、理化学研究所創薬ユニットとの共同研究を開始した。

## 実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	116,000,000	48,100,000	31,200,000	36,700,000	0
間接経費	34,800,000	14,430,000	9,360,000	11,010,000	0
合計	150,800,000	62,530,000	40,560,000	47,710,000	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	62,635	31,200,000	0	31,262,635	28,446,037	2,816,598	0
間接経費	0	9,360,000	0	9,360,000	9,360,000	0	0
合計	62,635	40,560,000	0	40,622,635	37,806,037	2,816,598	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	18,672,013	卓上型超遠心機、実験機器、実験試薬等
旅費	56,760	研究成果発表旅費(神戸国際会議場)
謝金・人件費等	9,527,676	特任研究員人件費
その他	189,588	通信費、論文校正料等
直接経費計	28,446,037	
間接経費計	9,360,000	
合計	37,806,037	

## 4. 当該年度の主な購入物品(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
卓上型超遠心機	OptimMAX-TL	1	3,234,000	3,234,000	2013/3/7	国立国際医療研 究センター
				0		
				0		