

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 25 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

本研究は、炎症細胞におけるシグナル伝達のプラットフォームであるエンドソーム/ライソ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、昨年度に引き続き、炎症細胞より単離したシグナル伝達エンドソームを用いたプロテオーム解析によって得られた分子の、炎症応答における機能解析を進めるとともに、これまで解析を進めてきたシグナル伝達エンドソームの制御を介して炎症応答を制御する機能分子(SLC15A4 および Ly49Q)について、作用機序を明らかにし、論文化を進めること、さらに創薬ターゲットである SLC15A4 の低分子阻害剤のハイスループットスクリーニング系開発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より得られた分子の機能解析: 感染炎症刺激の有無によってエンドソーム・ライソソームへ動員される機能分子について、引き続き炎症応答に果たす役割について解析を進めている。また、Crispr/Cas9 システムを用い、ノックアウトマウスの作成に着手した。

【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 による自己抗体産生の制御機構: 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、B 細胞における TLR7/9 シグナルに重要な役割を果たし、自己抗体産生と全身性エリテマトーデス(SLE)の病態形成に重要な役割を果たすことを見出し、そのメカニズムの解明を進めてきた。今年度はさらに、SLC15A4 がそのトランスポーター活性を用いてライソソーム内のアミノ酸およびプロトン環境を制御していることを明らかにし、その結果ライソソームに依存した複数のシグナル伝達経路を制御することを見出し、論文として投稿した(under revision)。本研究成果によって、SLC15A4 のトランスポーター活性の阻害は、炎症性腸疾患および SLE の病態の改善に有益であることが強く示唆され、創薬ターゲットとなり得ることが示された。さらに、SLC15A4 の低分子阻害剤開発のためのハイスループットスクリーニング系の樹立に成功し、理化学研究所創薬ユニットによってスクリーニングが開始された。

(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の TLR9 応答性が、Ly49Q を介したエンドライソソーム制御を

様式19 別紙1

介することを見出していたが、今年度はさらに Ly49Q によるライソゾームの安定性制御のメカニズムの解析を行い、TLR9 シグナルに重要な機能分子を新たに同定した。現在これらの知見を論文化し、投稿の目処がつきつつある。

(3) 好中球ケモタキシスにおけるエンドライソゾーム制御とシグナル伝達: 好中球のケモタキシスの制御における Ly49Q の役割と、エンドライソゾーム制御のメカニズムの解明をすすめ、新たに Ly49Q に会合する分子を複数同定し、この分子を介した細胞骨格制御とエンドライソゾーム制御において新たな知見を得た。現在論文化を進めている。

【3】 国民との対話: 本年度は、日本免疫学会主催の体験型科学イベントにおいて、一般国民との双方向コミュニケーションの機会を利用して、研究成果の発信を行った。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 6 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 5 件</p> <ol style="list-style-type: none"> Jin H., Arase N., Hirayasu K., Matsuoka S., Kohyama M., Suenaga T., Saito F., Tanimura K., Nakamaru Y., Matsuoka S., Ebina K., Shid K., Toyama-Sorimachi N., Yasuda S., Horita T., Hiwa R., Takasugi K., Ohmura K., Yoshikawa H., Saito T., Atsumi T., Sasazuki T., Katayama I., Lanier L.L., and Arase H. Autoantibodies to IgG/HLA-DR complexes are associated with rheumatoid arthritis susceptibility. <i>Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.</i> 11;111(10):3787-92, 2014 査読有り Kobayashi T., Tanaka T. and Toyama-Sorimachi, N.* How cells optimize vesicular environments – control of the endosomal/lysosomal environment for efficient inflammatory responses. <Review article> <i>J. Biochem.</i> 154(6):491-9, 2013 査読有り Imanishi H., Takibuchi G., Kobayashi T., Ishikawa K., Nakada K., Mori M., Kikkawa Y., Takenaga K., Toyama-Sorimachi N., and Hayashi J.-I. Specific mtDNA Mutations in Mouse Carcinoma Cells Suppress Their Tumor Formation via Activation of The Host Innate Immune System <i>Plos One</i> 8(9):e75981, 2013. 査読有り 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> 38(5):943-57. 2013. 査読有り Takibuchi G, Imanishi H, Morimoto M, Ishikawa K, Nakada K, Toyama-Sorimachi N, Kikkawa Y, Takenaga K, Hayashi JI. Polymorphic mutations in mouse mitochondrial DNA regulate a tumor phenotype. <i>Mitochondrion</i> 13(6):881-7, 2013 査読有り <p>(掲載済み一査読無し) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 田中翼、小林俊彦、反町典子：炎症シグナル伝達の場合として機能する細胞内小胞の環境制御 <i>生化学</i> ミニレビュー 85(12):1083-6, 2013 <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 7 件</p>	<p>専門家向け 計 7 件</p> <ol style="list-style-type: none"> Kobayashi T, Toyama-Sorimachi N. SLC15A4 regulates IgG2a autoantibody production through IRF7-type I IFN activation loop in B cells. 42nd Annual meeting of Japan Society for Immunology. 11-13th Dec 2013, Chiba, Japan. Toyama-Sorimachi N, Tanaka M, Kobayashi T, Makrigiannis AP, Inaba K. The inhibitory NK receptor Ly49Q protects plasmacytoid dendritic cells from TLR9-triggering cell death by assuring lysosomal integrity. 15th International Congress of Immunology. 22-27th August 2013

様式19 別紙1

	<p>3. Kobayashi T, Okamura T, Toyama-Sorimachi N. Lysosomal oligopeptide transporter SLC15A4 regulates Toll-like receptor 7/9-mediated autoantibody production. Presented at 15th International Congress of Immunology. 22-27th August 2013, Milan, Italy.</p> <p>4. Kobayashi T, Okamura T, Toyama-Sorimachi N. Lysosomal transporter SLC15A4 regulates TLR7/9-mediated antibody production. 第8回トランスポーター研究会年会, 2013年6月, 熊本</p> <p>5. Kobayashi T, Toyama-Sorimachi N. Lysosomal transporter SLC15A4 regulates TLR7/9-mediated antibody production. 100th Annual Meeting of American Association of Immunologists (Immunology 2013). 3-7th May 2013, Honolulu, HI, USA.</p> <p>6. 反町典子 お茶ノ水がん学アカデミア第93回集会 「疾患治療標的としてのエンドソーム・ライソソームシステム」 2013年4月24日 東京 (招待)</p> <p>7. 反町典子 LEGEND SEMINAR ～免疫研究の最前線～ 炎症疾患制御におけるエンドソーム・ライソソームシステムの重要性 2013年4月16日 東京 (招待) 反町典子</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書 計1件</p>	<p>反町典子: 南山堂医学大辞典 分担執筆「Ly抗原、ナチュラルキラー細胞受容体、抗体媒介性細胞依存性細胞傷害」 株式会社南山堂 2014</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (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 http://square.umin.ac.jp/Sori_Lab/index.html 国立国際医療センター研究所 HP http://www.rincgm.jp/department/pro/01/</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>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(8月11日、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行った。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 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 化に成功し、創薬に向けて、理化学研究所との共同研究による低分子阻害剤のスクリーニングがスタートした。現在論文投稿中(1報)、投稿準備中(3報)については平成26年度内に論文化が可能と考えている。

実施状況報告書(平成25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	79,300,000	36,700,000	0	0
間接経費	34,800,000	23,790,000	11,010,000	0	0
合計	150,800,000	103,090,000	47,710,000	0	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	2,816,598	36,700,000	0	39,516,598	39,516,598	0	0
間接経費	0	11,010,000	0	11,010,000	11,010,000	0	0
合計	2,816,598	47,710,000	0	50,526,598	50,526,598	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	29,465,846	超低温槽、実験機器、実験試薬等
旅費	0	
謝金・人件費等	9,861,465	特任研究員人件費
その他	189,287	通信費、論文校正料等
直接経費計	39,516,598	
間接経費計	11,010,000	
合計	50,526,598	

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
超低温槽	レブコUXF300EX	1	1,260,000	1,260,000	2013/5/17	国立国際医療研 究センター
				0		
				0		