

課題番号 : 23指001
研究課題名 : オルガネラホメオスタシスを基軸とした新規炎症制御機構の解明
主任研究者名 : 反町典子 国立国際医療研究センター研究所 プロジェクト長
協力研究者名 : 小林俊彦 国立国際医療研究センター研究所 上級研究員
半田 浩 国立国際医療研究センター研究所 上級研究員
小路 早苗 国立国際医療研究センター研究所 特任研究員
キーワード : 炎症、感染、リソソーム、SLC15A4、自己抗体、全身性エリテマトーデス、TLR7、自然免疫、モデルマウス、創薬、好中球、ケモタキシス、processing body、翻訳制御、IL-6、神経変性疾患、オートファジー

研究成果 :

本研究は、炎症反応を、オルガネラホメオスタシスの破綻という新しい視点から捉え、その分子基盤に立脚した新しい炎症制御機構を明らかにし、炎症素過程をリセットする新しい方法論を樹立するとともに、感染症および免疫難病の病態理解に革新的な展開をもたらすことを目的としている。本年度の主な成果は以下の通りである。

【1】リソソーム局在型アミノ酸トランスポーターSLC14A5 阻害剤の開発と免疫疾患への応用

SLC15A4 は免疫細胞、特に樹状細胞と B 細胞に高い発現を示す、リソソーム局在型アミノ酸トランスポーターで、プロトンと共役してヒスチジン、オリゴペプチドをリソソーム内から細胞質へ輸送するトランスポーターである。このトランスポーターが全身性エリテマトーデス (SLE) モデルにおいて自己抗体産生に必須の役割を果たすことを見出し、病態形成における分子基盤を解明し論文化した (Kobayashi, T., et al., *Immunity* 2014)。SLC15A4 の機能阻害が炎症性腸疾患および SLE の病態改善に有効であることが示されたため、理研・創薬医療技術基盤プログラムによって、SLC15A4 阻害剤の HTS が進行している。さらに日本医療研究開発機構 (AMED) の創薬支援推進事業・創薬総合支援事業のプロジェクト統括として SLC15A4 阻害剤探索をスタートさせた。また、SLC15A4 が肥満細胞の機能に重要な役割を果たすことを見出し、論文化を進めている (Kobayashi, T., et al. 投稿準備中)。

【2】好中球の新規遊走制御機構

急性炎症時の制御を逸脱した好中球の組織浸潤は、臓器障害や多臓器不全の原因となるが、よい制御方法は確立されていない。私たちは脂質ラフトとシグナル伝達エンドソームに焦点を当てて好中球の郵送制御機構を解析し、ケモカイン受容体下流で PI3 キナーゼおよび SHIP2 が活性化され、アクチン再構成と膜輸送の制御を介して細胞移動が起こるまでの一連の過程が、MHC-I とその cis 型受容体が形成するシグナルプラットフォームで制御されるという新たなメカニズムを明らかにし、論文化が進んでいる (Handa, Y., et al. 投稿中)。

【3】神経変性疾患治療標的としてのオートファジー制御因子の探索

神経変性疾患の治療標的の探索を目的とした新規オートファジー制御因子のスクリーニングを行い、候補分子を同定した。今後同定分子の機能解析を順次進行させる。

【4】M1 マクロファージに特徴的な IL-6 の翻訳制御機構

M1 および M2 に分化誘導したマクロファージを用いて、炎症性サイトカイン産生の制御機構の違いを検討した。M1 と M2 では、LPS 刺激による PB 形成に差が認められ、M1 マクロファージでは PB 構成分子である EDC4 および Dcp1a が、炎症時の IL-6 翻訳制御に重要な役割を果たしていることを明らかにし、論文化した (Seto, E., et al. *PLoS ONE*, 2015)。

Subject No. : 23 指 001

Title : Understanding of novel regulatory mechanisms of inflammatory responses.

Chief scientist: Noriko Toyama-Sorimachi, Ph.D. Project leader, NCGM

Researchers : Toshihiko Kobayashi, Ph.D. Senior research fellows, NCGM

Yutaka Handa, Ph.D. Senior research fellows, NCGM

Sanae Shoji, Ph. D. Senior research fellows, NCGM

Key word : inflammation, infection, lysosome, SLC15A4, autoantibody, systemic lupus erythematosus (SLE), Toll like receptor (TLR), innate immunity, model mouse drug discovery, neutrophils, chemotaxis, processing body (PB), IL-6, translational regulation, neurodegenerative disease, autophagy

Abstract :

【1】 Development of small molecule SLC15A4 inhibitors.

Solute carrier family (SLC) 15A4 is a resident lysosomal proton-coupled histidine/oligopeptide transporter, and is preferentially expressed in immune cells including dendritic cells and B cells. We revealed the importance of SLC15A4 in autoantibody production associated with the pathogenesis of lupus-like disease (Kobayashi, T., et al. *Immunity* 2014). Since our studies demonstrated that SLC15A4 is a good therapeutic target for autoimmune diseases including SLE, an HTS screen to search for potent and selective SLC15A4inhibitors is ongoing under the supervision of RIKEN program for drug discovery and medical technology platforms. In addition, the AMED program for drug discovery for SLE has started.

【2】 A novel regulatory mechanism of neutrophil chemotaxis

Neutrophils rapidly migrate into inflamed tissues and cause inflammatory responses and sometimes contribute to the pathological manifestations of multiple organ failure. We have tried to understand precise mechanisms of neutrophil chemotaxis by focusing on membrane lipid rafts and endosome-dependent signaling events, and revealed that MHC-I and its cis-interacting receptor, Ly49Q, provided a fully-competent signaling platform of GPCR to establish PI3K-SHIP-axis-dependent phosphoinositide cascade in neutrophils (Handa, Y., et al. submitted).

【3】 Autophagy as a therapeutic target in neurodegenerative diseases

To develop a novel therapeutic strategy for neurodegenerative diseases, we have tried to find novel autophagy-modulating molecules. We have successfully identified a panel of candidate molecules, and functional validation of the candidates is now ongoing.

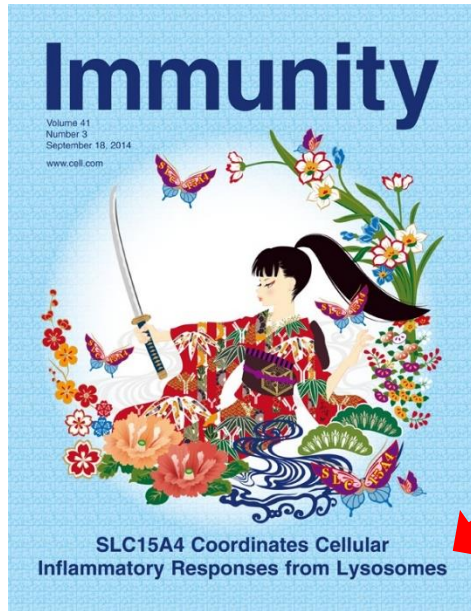
【4】 A novel regulatory mechanism of IL-6 production by processing body (PB) in M1 macropahges

We investigated the differences in regulatory mechanisms between M1- and M2-polarized macropahges by examining mRNA metabolic machineries, and found that mRNA metabolism is controlled differently in M1- and M2-macropahges. We further revealed that the assembly of EDC4 and Dcp1a into P-bodies is critical in the posttranscriptional regulation of IL-6 in M1-macropahges (Seto, E., et al, *PLoS ONE* 2015). Improving our understanding of the mechanisms governing mRNA metabolism by examining macrophage subtypes may lead to new therapeutic targets.

Researchers には、分担研究者を記載する。

23指001 オルガネラホメオスタシスを基軸とした新規炎症制御機構の解明

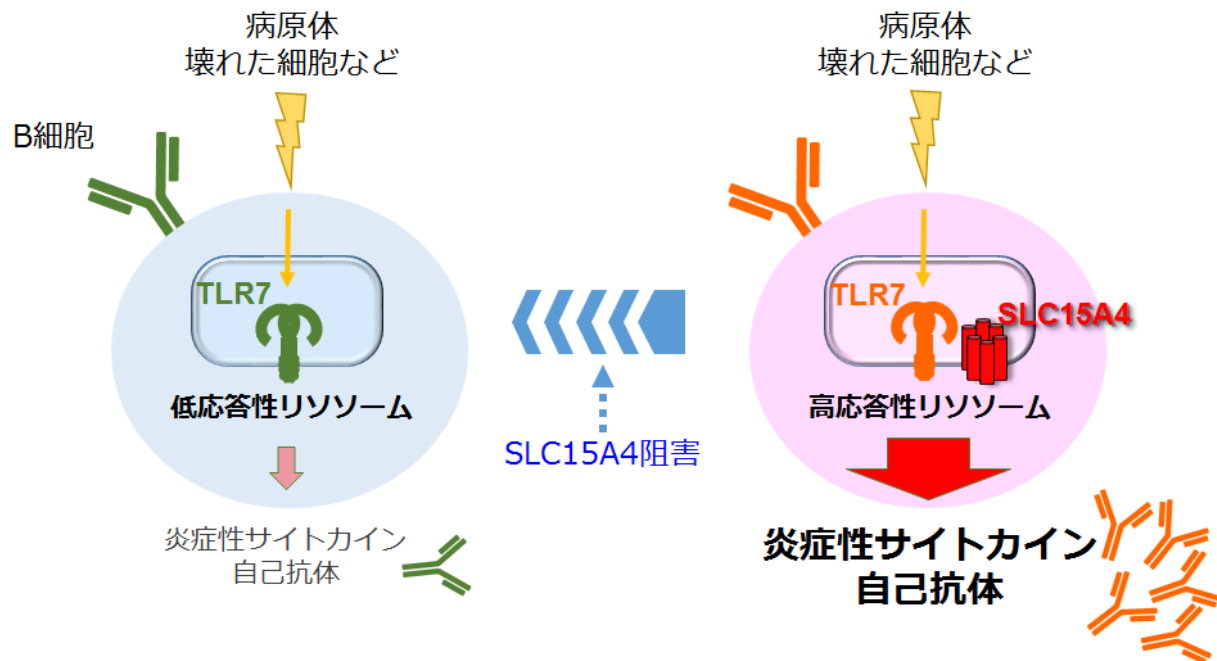
小林らの掲載論文は表紙で紹介



The histidine transporter SLC15A4 coordinates mTOR-dependent inflammatory responses and pathogenic antibody production.

T. Kobayashi, S. Shimabukuro-Demoto, R. Yoshida-Sugitani, K. Furuyama-Tanaka, H. Karyu, Y. Sugiura, Y. Shimizu, T. Hosaka, M. Goto, N. Kato, T. Okamura, M. Suematsu, S. Yokoyama, and N. Toyama-Sorimachi

Immunity 41;357-388, 2014

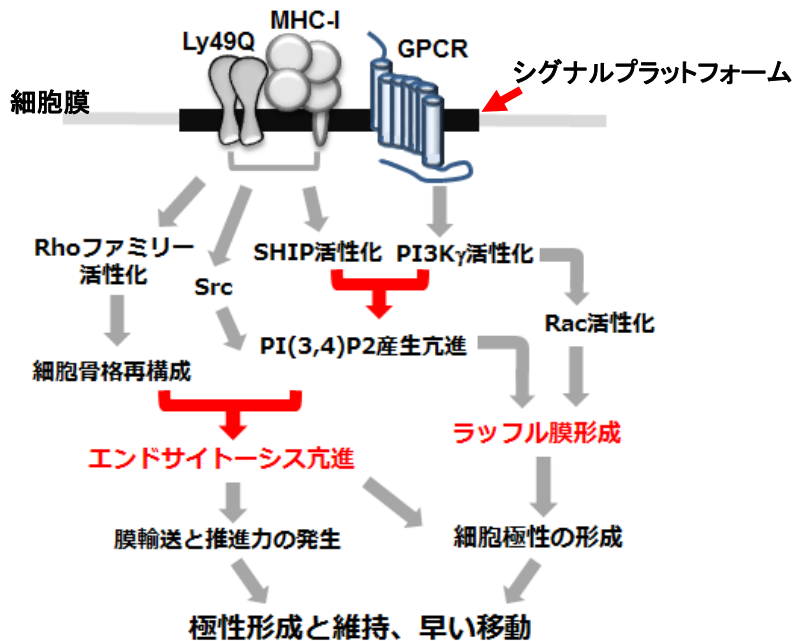


On the cover: The regulatory mechanism by which endolysosome-dependent Toll-like receptors (TLRs) signal is still largely unknown. Kobayashi et al. (375–388) demonstrate that maintaining the pH integrity of the endolysosome system of organelles in B lymphocytes depends on the presence of the histidine transporter SLC15A4. Proper pH homeostasis facilitates TLR7 signal transduction leading to type I interferon production, the latter being important in resistance to pathogens. The cover image illustrates that a B cell (represented by a Japanese lady in the antibody-patterned kimono) is trying to protect herself or fight against the outside (i.e., microbial antigens, TLR ligands) with the assistance of the butterflies (representing SLC15A4). Image by Ash Rinpun.

病原体や壊れた細胞由来の物質は、B細胞の中に取り込まれ、リソソームへと運ばれる。リソソームで SLC15A4が正常に機能すると、これらの物質はTLR7に感知され、その結果I型インターフェロンをはじめ、炎症性サイトカインの産生や、自己抗体の産生が起こる(左図)。リソソームに SLC15A4を欠失したり、SLC15A4の働きが抑えられると、TLR7はこれらの物質をうまく認識できないか、認識したとしてもインターフェロンや自己抗体の産生を引き起こすことができない。

好中球の新規遊走制御機構

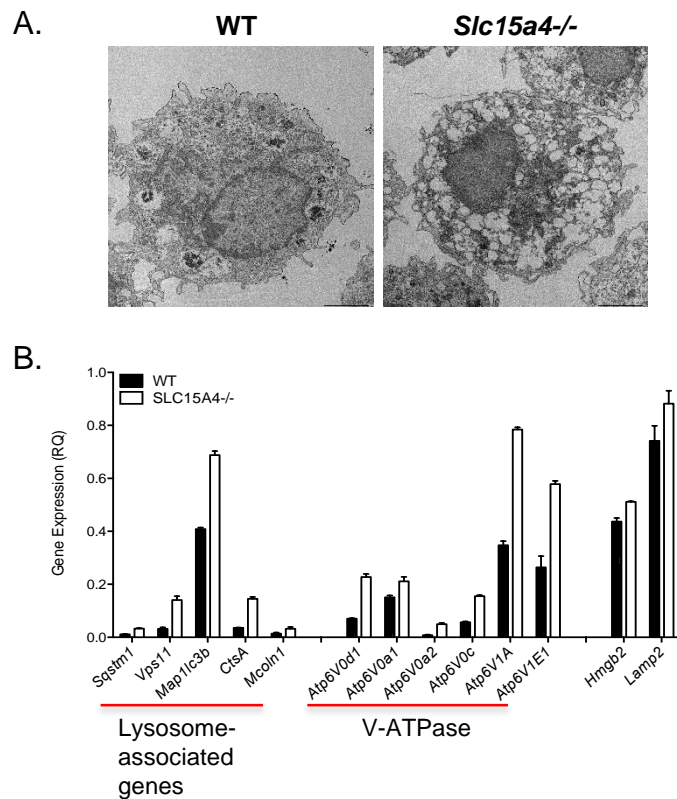
- 好中球の遊走制御の新たなメカニズムを明らかにした(下図)。
- 好中球のケモカイン受容体 (fMLP受容体)は単独では機能せず、MHCクラスIとシス型受容体Ly49Qが構築するシグナル伝達プラットフォームが必要である。
- このプラットフォームはGPCR下流のイノシトールリン脂質代謝に必須であり、GPCR直下のシグナルのみならず、プラットフォームのエンドサイトーシスとその後の輸送経路を制御する。



Handa, Y., et al. 投稿中

SLC15A4による肥満細胞の機能制御

- SLC15A4は肥満細胞の分泌顆粒の形成維持に重要な役割を果たすことを見いだした(下図A)。
- SLC15A4を欠損した肥満細胞では、リソソームの生合成経路が亢進することが示唆された(下図B)。
- ヒトSLC15A4に対するモノクローナル抗体の樹立に成功し、タンパク質発現解析が可能となった。



Kobayashi, T., et al. 投稿準備中