

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 副プロジェクト長  
半田 浩 国立国際医療研究センター研究所 上級研究員  
大島大輔 国立国際医療研究センター研究所 上級研究員  
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、マスト細胞、アレルギー、好中球、ケモタキシス、

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理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】 リソソーム局在アミノ酸トランスポーターによる免疫制御機構の理解と医薬品候補化合物の創出

1) 自己免疫疾患治療薬を目指したトランスポーター阻害剤の開発: 自己免疫疾患治療標的としてのトランスポーターの機能阻害と既存薬との差別化を行った。さらに、各種 *in vitro*, *in vivo* 試験において化合物の機能阻害評価を実施した。その結果、異なる複数の母核を得て、AMED と東京大学創薬機構との共同研究のもとにこれらの構造展開を行い、より活性の強い化合物のスクリーニングを行った。また新たな化合物評価系の樹立を行い、妥当性評価を行ったほか、NMR を用いて化合物とトランスポーターの相互作用を確認した。概ね化合物探索は順調に進んでおり、AMED の創薬事業としてステージアップを果たした。

2) トランスポーターによるアレルギー応答の制御機構: トランスポーター欠損マウス由来マスト細胞において、トランスポーター-mTORC1 経路がマスト細胞の分泌顆粒形成を制御することを見いだした。さらに、トランスポーター欠損マウスで認められるアレルギー応答の異常とそのメカニズムについて論文化を完了し、投稿した。またそれに付随して、新たなマスト細胞の制御機構を見だし、論文化を進めている。

3) SLC15A3 欠損マウスにおける免疫異常の解析と治療標的としての可能性の検討: アミノ酸トランスポーター SLC15A3 の欠損マウスを作成し、免疫応答の解析を進めた。自然免疫細胞の機能制御において、SLC15A3 と同性を示すファミリー内トランスポーターとの間で機能的相補性は認められず、それぞれ独立の機能があることが示唆された。さらに SLC15A3 が関与する疾患モデルを見だし、現在メカニズムの解明を進めている。

### 【2】 膜脂質ドメインに依存した免疫応答制御機構の解明

1) サルモネラ菌の感染と増殖におけるマクロファージ膜脂質ドメインの制御機構: マクロファージでのサルモネラ感染において、菌の生存および増殖に重要な膜脂質ドメインの構築と制御機構の分子機構について解析を進め、iNOS を介したサルモネラの殺菌と炎症性サイトカイン産生に、MHC クラス I とシス型受容体 Ly49Q が形成する膜ドメインが重要な役割を果たすことを見いだした。

2) 自然免疫応答における脂質膜ドメインの制御機構: TLR シグナルを伝達する脂質膜ドメインの重要性に着目し、自然免疫細胞のスフィンゴ脂質の攪乱が TLR 依存的なサイトカイン産生に及ぼす影響を検討した。その結果、TLR 刺激存在下でスフィンゴミエリンからセラミドへの変換は厳密に制御されており、その制御はサイトカイン産生に重要であること、またセラミドの脂肪酸鎖長が重要であることを見いだした。

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. Sub- Project leader, NCGM  
Yutaka Handa, Ph.D. Senior research fellows, NCGM  
Daisuke Ohshim, 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, mast cells, allergy, neutrophils, chemotaxis,

Abstract :

Understanding of the regulatory mechanisms of inflammatory responses is critical for establishing novel therapeutic strategies since deregulation of inflammatory process including healing processes causes exacerbation of pathological conditions of various diseases. The purpose of this study is to identify possible therapeutic targets for the treatment of inflammation-associated intractable diseases through understanding of the regulatory mechanisms of organelle-based inflammatory signals by focusing in particular on endosome/lysosome-dependent inflammatory signals.

**【1】** Immune regulatory mechanisms by lysosome-resident amino acid transporters and the search of pharmaceutical candidate compounds for the treatment of autoimmune diseases.

1) Development of inhibitors for the treatment of systemic lupus erythematosus: The inhibitory activities of small compounds against a transporter were assessed by multiple *in vitro* and *in vivo* screening assays. We identified candidate compounds which possess the inhibitory activity against a transporter. The structural expansion/modification of these compounds is ongoing for lead generation and optimization. We further established new assays for evaluating transporter activities, and evaluated candidate compounds using this assay.

2) Importance of an amino acid transporter in mast cell functions and allergic inflammation: Using an amino acid transporter-deficient mast cells, we showed that a transporter-dependent mTORC1 regulation is important for the biogenesis of mast cell's secretory granules and respiratory inflammation.

3) Phenotypic analysis of SLC15A3-deficient mice: We established an amino acid transporter, SLC15A3-deficient mice and investigated SLC15A3's functions in immune responses. We found that SLC15A3 plays a unique role in immune responses even though it possesses high sequence similarity to other SLC15 family members, and also found that SLC15A3 is involved in the development of a certain type of intractable disease.

**【2】** Importance of membrane lipid microdomain in the regulation of immune responses: We found that *cis* interaction between MHC class I and Ly49Q provided a specialized membrane microdomain which plays an important role for antibacterial activity against salmonella and cytokine productions. Furthermore, we focused on the importance of a certain type of membrane lipid microdomains, where TLR7/9-mediated inflammatory signals are transmitted. We revealed that sphingomyelin (SM)-ceramide cycle was strictly regulated in the presence of TLR9 stimulation and the disturbance of SM-Ceramide cycle affected the productions of inflammatory cytokines.



国立研究開発法人  
国立国際医療研究センター  
National Center for Global Health and Medicine



国立研究開発法人 日本医療研究開発機構  
Japan Agency for Medical Research and Development

# トランスポータータンパク質を標的とした 自己免疫疾患治療薬の探索 - ステージ (S1) -

## 対象疾患

全身性エリテマトーデス

SLE: systemic lupus erythematosus

- ✓ 全身性紅斑性狼瘡
- ✓ 指定難病 全国に 6万人超
- ✓ 抗核抗体、抗DNA抗体などの自己抗体
- ✓ アンメットニーズ高い

厚生労働省難病情報センター  
<http://www.nanbyou.or.jp/entry/53>



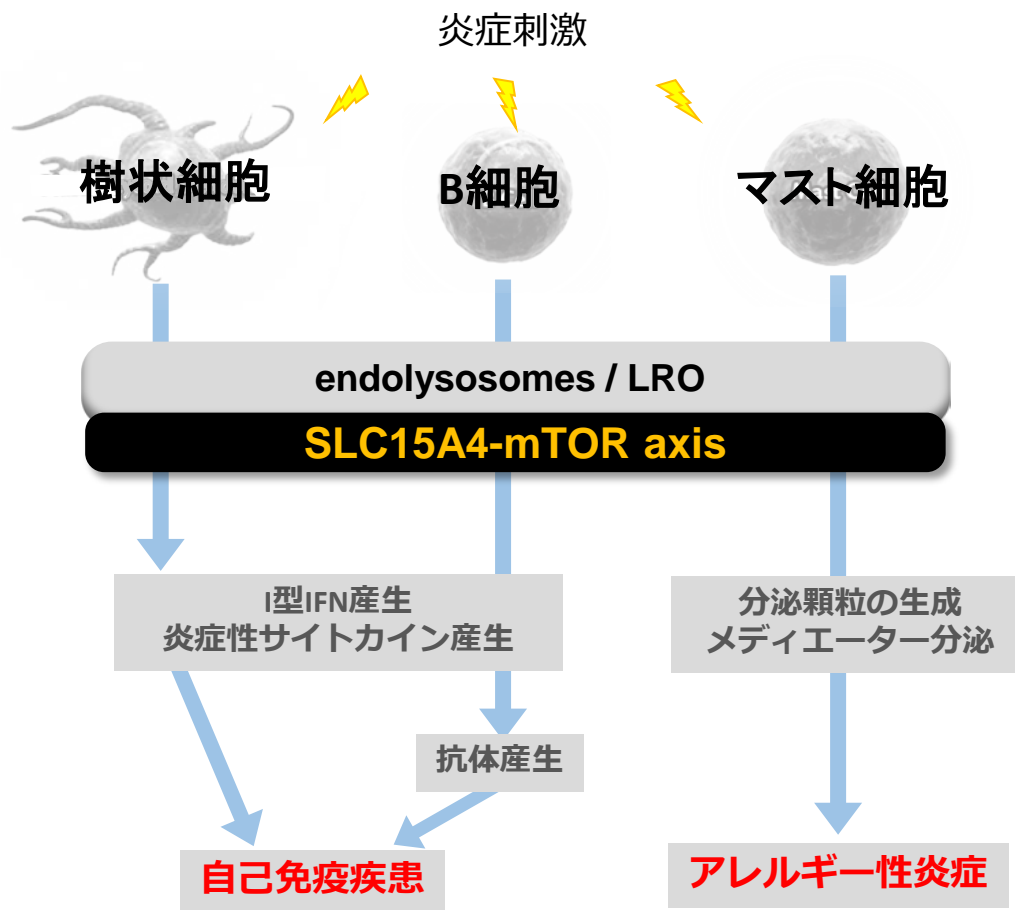
## 創薬コンセプト

- 免疫細胞、特に樹状細胞とB細胞に高発現し、自己抗体産生を媒介するアミノ酸トランスポーターSLC15A4の阻害剤開発。
- ステロイド、免疫抑制剤等の既存薬に比較し、安全域が広く、First in Classとなり得る。

## 本年度の進捗

- HTSにより阻害活性を有する化合物を複数同定
- 複数ライブラリーよりMed chemによる抽出化合物の合成および活性評価
- 異なる4種類の化合物を母核として構造展開を開始
- 選択した複数化合物のADME・物性プロファイリング中
- NMRによる基質-化合物競合情報の取得に成功
- 光アフィニティーラベル法による結合部位解析の条件最適化
- 結晶構造解析に着手
- ステージアップ達成

# 炎症応答におけるSLC15A4依存的なエンドリソソームの物質環境制御の重要性



エンドリソソームに局在するアミノ酸トランスポーター-SLC15A4を介したmTORC1の活性制御機構が炎症応答に重要な役割を果たしていることを明らかにした。SLC15A4-mTORC1経路は異なる免疫細胞種間で共通、あるいは特定の免疫細胞に特有な機能発現を担い、病態形成に重要な役割を果たしていることから、炎症応答を伴う種々の疾患に横断的な治療標的となる可能性が強く示唆された。

研究発表及び特許取得報告について

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

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
A novel role for PHT1 in the disposition of l-histidine in brain: In vitro slice and in vivo pharmacokinetic studies in wildtype and Pht1 null mice.	Wang XX, Hu Y, Keep RF, Toyama-Sorimachi N, Smith DE.	Biochem Pharmacol.	15 : 94-102	2017
Inflammatory responses increase secretion of MD-1 protein.	Jennings RT, Odkhuu E, Nakashima A, Morita N, Kobayashi T, Yamai I, Tanaka M, Suganami T, Haga S, Ozaki M, Watanabe Y, Nagai Y, Takatsu K, Kikuchi-Ueda T, Ichimonji I, Ogawa Y, Takagi H, Yamazaki T, Miyake K, Akashi-Takamura S.	Int Immunol.	28 (10) 503-512.	2016
細胞膜の機能的区画化におけるクラスターとドメインの概念とその制御	反町典子	生体の科学 特集号「脂質ワールド」	67:220-226	2016
学会発表				
タイトル	発表者	学会名	場所	年月
Environmental control of endosomes/lysosomes by SLC15A4 is crucial for inflammatory responses and disease pathogenesis.	Noriko Toyama-Sorimachi	第39回日本分子生物学年会 (招待)	パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)	2016/12/2
自己免疫疾患の新規治療標的としてのエンドリソソームシステムと創薬への取り組み	反町典子	千葉大学リーディング大学院セミナー (招待)	千葉大学医学部 (千葉市・亥鼻)	2016/7/5
Regulatory role of an oligopeptide transporter SLC15A4 in inflammatory responses in mast cells.	Kobayashi T, Ohshima D, Toyama-Sorimachi N	16th International Congress of Immunology	Melbourne, Australia.	2016/8/25
Regulatory role of Prex1 in the T cell-dependent antibody production.	Kobayashi Toshihiko, Toyama-Sorimachi N.	The 45th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology	沖縄	2016/12/5-7

研究発表及び特許取得報告について

Regulation of innate immune responses by oligopeptide transporter SLC15A3.	Ohshima Daisuke, Kobayashi Toshihiko, Toyama-Sorimachi N.	The 45th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology	沖縄	2016/12/5-7
Rac guanine nucleotide exchange factor, P-Rex1, is crucial for differentiation and/or maintenance of liver tissue-resident NK cells.	Machida Atsushi, Kobayashi Toshihiko, Toyama-Sorimachi N.	The 45th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology	沖縄	2016/12/5-7
Transporter SLC15A4 Regulates Allergic Reactions by Controlling Mast Cell Homeostasis and Inflammatory Response	Kobayashi T, Ohshima D, Toyama-Sorimachi N.	Gordon Research Conference "Membrane Transport Proteins"	Lucca (Barga), Italy	2016/6/12-17
Role of inhibitory receptor Ly49Q on SCV formation and inflammatory response triggered by Salmonella.	Yutaka Handa, Noriko Toyama-Sorimachi.	第89回日本細菌学会総会	大阪	2016/3/24
その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)				
タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当なし				
特許取得状況について ※出願申請中のものは( )記載のこと。				
発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
該当なし				

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。  
 ※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと