

平成 29年 4月 11日

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業 ユニットタイプ
「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」研究開発領域
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation (AMED-CREST) “Creation of Basic Medical Technologies to Clarify and Control the Mechanisms Underlying Chronic Inflammation” research area

研究開発課題名： (日本語) 慢性炎症におけるガイダンス因子の病的意義の解明とその制御
(英語) Investigation on pathological involvement of guidance molecules in chronic inflammation.

研究開発担当者 (日本語) 大阪大学 大学院医学系研究科 教授 熊ノ郷淳

所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Medicine, Osaka University, Professor, Atsushi Kumanogoh,

実施期間： 平成 28年 4月 1日 ～ 平成 29年 3月 31日

同一グループ内の研究のため研究分担者は無し。

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者による報告の場合

セマフォリン分子群は従来神経ガイダンス因子とされてきたが、熊ノ郷淳教授(大阪大学 大学院医学系研究科)をリーダーとする本研究グループにより免疫・炎症反応に関与するセマフォリンの存在が示されている(**Nature Rev Immunol** 13: 802-14, 2013)。本研究では「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた分子基盤の創出」を目的に、セマフォリンとその制御分子を「窓」にした研究を遂行中である。これまでの研究により、Sema4A, Sema4D 二つのセマフォリンに関して慢性炎症病態への関与を明らかにしている。

Sema4A については網膜色素変性症及び家族性大腸癌の原因遺伝子の一つであること(**Nature Commun.** 4:1406, 2013, **Nature Commun.** 5:5191. 2014)、更には、Sema4A がウイルスなどの慢性の持続感染制御に重要な CD8 陽性 T 細胞の活性化に寄与していること(**J Immunol.** 195:934, 2015)を示している。一方、Sema4D については慢性炎症疾患である関節リウマチ病態に関与していること(**Arthritis Rheumatol.** 67:1481, 2015)を明らかにしている。

平成 28 年度の本研究では、慢性炎症に関わる代謝シグナルとセマフォリン発現との関連を探索する中で、細胞内のリソソームに局在し、プロトンポンプである v-ATPase と複合体を作る mTOR 制御分子 Lamtor1 が生体の恒常性に関与すると考えられている M2 マクロファージの分化に必須であることを見出した。更に、Lamtor1 がサイトカインなどの細胞外からの刺激と、リソソームで生じるアミノ酸などの細胞内代謝物からの細胞内からのシグナルを統合し、mTOR シグナルを制御することで組織の恒常性維持に寄与していること、その下流で M2 分化に寄与するシグナル経路として脂質のセンサー LXR 経路が重要であることを明らかにした。Lamtor1 をマクロファージ特異的に欠損させたマウスでは、炎症物質を投与した際の M2 マクロファージの出現が低下するとともに、敗血症モデルにおいて野生型マウスに比べ高感受性を示した。また、無刺激においても加齢とともに、肝臓をはじめとする各組織に炎症細胞の浸潤・蓄積が観察された(**Nature Commun.** 7:13130.2016)。

以上の知見は、免疫細胞の内在性の統合システムの破綻により慢性炎症が起こり得ることを示唆する知見であり、今後「免疫と代謝のクロストーク」という観点からの慢性炎症病態理解の重要性が示唆された。

Semaphorins were originally identified as axonal guidance cues during neuronal development. However, our findings indicate that these proteins play pleiotropic functions in immunological regulation, angiogenesis, tumor metastasis, and bone metabolism. In particular, semaphorins involved in various phases of immune responses are referred to as “immune semaphorins” (**Nature Rev Immunol** 13: 802, 2013). In this project, we have previously demonstrated critical roles of class IV semaphorins, Sema4A and Sema4D in the pathogenesis of chronic inflammation. For instance Sema4A is a responsible gene for familial retinitis pigmentosa and familial colorectal cancer type X (**Nature Commun.** 4:1406, 2013, **Nature Commun.** 5:5191. 2014). In addition, Sema4A is shown to be involved in activation and maintenance of CD8-positive T cells (**J Immunol.** 195:934, 2015). Regarding Sema4D, it is shown to be involved in pathogenesis of rheumatoid arthritis (**Arthritis Rheumatol.** 67:1481, 2015).

In search for regulatory mechanism of semaphorin-expression, we found that a lysosomal adaptor protein Lamtor1, which forms an amino-acid sensing complex with lysosomal vacuolar-type H⁺-ATPase (v-ATPase), and is the scaffold for amino acid-activated mTORC1 (mechanistic target of rapamycin complex 1), was critically required for M2 polarization. Lamtor1-deficiency, amino-acid starvation, or inhibition of v-ATPase and mTOR resulted in defective M2 polarization, but did not decrease M1 polarization. Furthermore, we identified liver X receptor (LXR) as the downstream target of Lamtor1 and mTORC1. Consistent with this, Lamtor1-deficiency in macrophages results in impaired appearance of M2 macrophages in vivo and showed hyper-sensitivity to LPS-induced sepsis models (**Nature Commun.** 7:13130.2016). Our findings demonstrate that a metabolic sensor, Lamtor1 plays an essential role in M2 polarization, coupling immunity and metabolism to regulate inflammation.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌0件、国際誌8件）

- 1) Kimura T, Nada S, Takegahara N, Okuno T, Nojima S, Kang S, Ito D, Morimoto K, Hosokawa T, Hayama Y, Mitsui Y, Sakurai N, Sarashina-Kida H, Nishide M, Maeda Y, Takamatsu H, Okuzaki D, Yamada M, Okada M, [Kumanogoh A](#). Polarization of M2 macrophages requires Lamtor1 that integrates cytokine and amino-acid signals. **Nature Commun.** 2016 7:13130.
- 2) Morimoto K, Baba Y, Shinohara H, Kang S, Nojima S, Kimura T, Ito D, Yoshida Y, Maeda Y, Sarashina-Kida H, Nishide M, Hosokawa T, Kato Y, Hayama Y, Kinehara Y, Okuno T, Takamatsu H, Hirano T, Shima Y, Narazaki M, Kurosaki T, Toyofuku T, [Kumanogoh A](#). LRRK1 is critical in the regulation of B-cell responses and CARMA1-dependent NF- κ B activation. **Sci Rep.** 2016 6:25738.
- 3) Higashiguchi M, Nagatomo I, Kijima T, Morimura O, Miyake K, Minami T, Koyama S, Hirata H, Iwahori K, Takimoto T, Takeda Y, Kida H, [Kumanogoh A](#). Clarifying the biological significance of the CHK2 K373E somatic mutation discovered in The Cancer Genome Atlas database. **FEBS Lett.** 2016 590(23):4275-4286.
- 4) Ito D, [Kumanogoh A](#). The role of Sema4A in angiogenesis, immune responses, carcinogenesis, and retinal systems. **Cell Adh Migr.** 2016 10(6):692-699.
- 5) Satoh T, Nakagawa K, Sugihara F, Kuwahara R, Ashihara M, Yamane F, Minowa Y, Fukushima K, Ebina I, Yoshioka Y, [Kumanogoh A](#), Akira S. Identification of an atypical monocyte and committed progenitor involved in fibrosis. **Nature.** 2017 541(7635):96-101.
- 6) Hamano Y, Kida H, Ihara S, Murakami A, Yanagawa M, Ueda K, Honda O, Tripathi LP, Arai T, Hirose M, Hamasaki T, Yano Y, Kimura T, Kato Y, Takamatsu H, Otsuka T, Minami T, Hirata H, Inoue K, Nagatomo I, Takeda Y, Mori M, Nishikawa H, Mizuguchi K, Kijima T, Kitaichi M, Tomiyama N, Inoue Y, [Kumanogoh A](#). Classification of idiopathic interstitial pneumonias using anti-myxovirus resistance-protein 1 autoantibody. **Sci Rep.** 2017 7:43201.
- 7) Nojima S, [Kumanogoh A](#). Characterizing Semaphorin-Mediated Immune Responses Using an Antigen-Presentation Assay. **Methods Mol Biol.** 2017;1493:379-391.
- 8) Fujimoto K, Kinoshita M, Tanaka H, Okuzaki D, Shimada Y, Kayama H, Okumura R, Furuta Y, Narazaki M, Tamura A, Hatakeyama S, Ikawa M, Tsuchiya K, Watanabe M, [Kumanogoh A](#), Tsukita S, Takeda K. Regulation of intestinal homeostasis by the ulcerative colitis-associated gene RNF186. **Mucosal Immunol.** 2017 10(2):446-459.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. [熊ノ郷淳](#) 「免疫調節の新たな視点～セマフォリンと免疫代謝の話題を含めて～」 第 113 回日本内科学会総会・講演会、東京、2016 年 4 月
2. [熊ノ郷淳](#) 「セマフォリンによる骨免疫制御」 第 34 回日本骨代謝学会学術集会、大阪、2016 年 7 月.

3. Kosuke Fujimoto, Shohei Koyama, Atsushi Kumanogoh. Comparison of mycobiota between lung cancer and non-cancer respiratory disease patients. 第45回日本免疫学会総会・学術集会. 沖縄 2016.12.5-7.
4. NISHIDE Masayuki, NOJIMA Satoshi, KUMANOGOH Atsushi. Semaphorin 4D inhibits neutrophil activation and is involved in the pathogenesis of autoimmune vasculitis. 第45回日本免疫学会総会・学術集会. 沖縄 2016.12.6.
5. 葉山 善友, 木村 哲也, 熊ノ郷淳. Lamtor1 はリソソームの生合成とマクロファージの寿命を制御する. 第39回日本分子生物学会年会. 横浜 2016.11.30-12.2
6. 藤本康介, 熊ノ郷淳, 竹田潔. 潰瘍性大腸炎の病態形成に関わる新たな因子の解明. 第2回日本骨免疫学会. 沖縄 2016.7.6-8.
7. 加藤保宏, 高松漂太, 熊ノ郷淳. SLE の病態形成における STING の役割について. 第2回骨免疫学会. 沖縄 2016.7.6-8.
8. 西出真之, 野島 聡, 伊藤大介, 熊ノ郷淳. セマフォリン 4D による好中球の活性化制御. 第2回日本骨免疫学会, 沖縄 2016.7.6.
9. Kumanogoh A. Involvement of semaphorins and their receptors in the immune systems. Cold Spring Harbor in Asia, Awaji, Oct/2016
10. Kumanogoh A. Pathological implications of semaphorins and their receptors in chronic inflammation. Osaka, Nov/2016.
11. Kumanogoh A. Involvement of semaphorins in pathogenesis of autoimmune, allergy and inflammatory diseases. Involvement of semaphorins and their receptors in the immune systems. The 19th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience. Osaka, Jan/2017.
12. Yasuhiro Kato, Hyota Takamatsu, JongHoon Park, Atsushi Kumanogoh. Stimulator of interferon genes(STING) plays a crucial role in type-I IFN production induced by the sera from SLE patients. LUPUS2017, Melbourne, Australia, March/2017.
13. JoengHoon Park, Hyota Takamatsu, Yasuhiro Kato, Atsushi Kumanogoh. Stimulator of interferon genes(STING) plays a crucial role in type-I IFN production induced by the sera from SLE patients. Type I Interferon: Friend and Foe Alike, Keystone Symposia, Bunff, Canada March/2017.
14. Masayuki Nishide, Atsushi Kumanogoh. Semaphorin 4D inhibits neutrophil activation and is involved in the pathogenesis of neutrophil-mediated autoimmune vasculitis. The 6th NIF Winter School on Advanced Immunology. Singapore, Jan/2017
15. Kosuke Fujimoto, Atsushi Kumanogoh, Kiyoshi Takeda. The ulcerative colitis susceptibility gene RNF186 regulates intestinal homeostasis. The 13th International workshop on autoantibodies and autoimmunity, Kyoto, Japan Oct/2016.
16. Masayuki Nishide, Atsushi Kumanogoh. Semaphorin 4D inhibits neutrophil activation and is involved in the pathogenesis of autoimmune vasculitis. The 13th International workshop on autoantibodies and autoimmunity, Kyoto, Oct/2016.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 阪大医学部講演会（2016年10月2日駿台予備校広島校）で学生・予備校生・父兄に啓蒙・普及活動。

(4) 特許出願

無し