

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20390142

研究課題名（和文） 多彩な生物活性を有するセマフォリンシグナルメカニズムの解明

研究課題名（英文） Identification of multiple functions of semaphorin-signals

研究代表者

熊ノ郷 淳 (KUMANOGOH ATSUSHI)

大阪大学・微生物病研究所・教授

研究者番号：10294125

研究成果の概要（和文）：本年度の研究で、セマフォリンシグナル分子 FARP2 の機能解析を行い、FARP2 がインテグリンシグナルと Rac のシグナルとを統合することによって、破骨細胞分化に必須の役割を果たしていることを明らかにしている。さらに FARP2 遺伝子欠損マウスの作成と解析からも一連の知見を裏付ける所見を得ている (*FASEB J.* 24:4782-92, 2010)。また同じくセマフォリンシグナル分子である MICAL 分子の遺伝子欠損マウスを用いて骨の解析を行ったが、MICAL 欠損マウスには骨の異常はみとめず、骨組織においては FARP2 が重要なシグナル分子であることが明らかになっている。

研究成果の概要（英文）：Podosomes are recently rediscovered highly dynamic actin-rich structural and functional modules that form close contact with the surrounding substrate. They play a role in the control of migration, tissue invasion, and matrix remodeling of highly motile cells, including lymphocytes, macrophages, dendritic cells, and osteoclasts. In osteoclasts, the compaction of podosomes induces the formation of a tight adhesive contact, the sealing zone, which defines a subosteoclastic environment specialized for bone resorption. Integrins and the Rho family small GTPases are key regulators of podosome rearrangements. However, it remains to be determined how the activation of integrins and Rho family GTPases is regulated during osteoclast podosome rearrangements. Here, we demonstrate a crucial role for the FERM domain-containing guanine nucleotide exchange factor (GEF), FARP2, in osteoclast podosome rearrangements and resorbing activity. We determine by live cell imaging and biochemical assays that FARP2 is required for localized activation of GTP-bound Rac1 into podosome-ring like structures. In addition, FARP2 is relevant to integrin $\beta 3$ activity during osteoclastogenesis. Furthermore, FARP2 deficiency results in reduced formation of multinucleated osteoclasts and resorption pits compared to wild-type osteoclasts (controls). Collectively, our findings reveal an integral role of FARP2 for regulation of Rac1 and integrin $\beta 3$ throughout podosome rearrangement in osteoclastogenesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	5,200,000	1,560,000	6,760,000
2009年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2010年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
年度			
年度			
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：セマフォリン、FARP2, 破骨細胞

1. 研究開始当初の背景

セマフォリンファミリーは 1990 年代初頭から神経ガイダンス因子として同定されてきた分子群であるが、近年、神経再生、血管新生・脈管形成、癌の進行、骨代謝疾患、免疫疾患への関与が明らかとなり、生体の組織構築と恒常性の維持に重要な pleiotropic な作用を有する分子群であることが明らかになるとともに、関節リウマチ、多発性硬化症、アトピー性皮膚炎などの疾患治療の新たな創薬ターゲットとしても注目されている。我々のグループはこれまでセマフォリン分子群及びその受容体分子群の免疫系における役割を世界に先駆けて明らかにしてきた。また、セマフォリンシグナル研究においても、セマフォリン受容体プレキシンに会合する FARP2, DAP12/TREM2 分子を報告している。しかしながら、これらシグナル分子が、セマフォリン有する多彩な作用をどのようなシグナルメカニズムによって担っているかはこれまで不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、セマフォリンの有する多彩な生物活性がセマフォリン受容体 Plexin-A1 の下流で活性化される DAP12, Rac, FARP2、MICAL といったシグナル伝達分子によって、どのようなシグナルメカニズムで担われているかを解明することを目的にしている。また、これらシグナル分子の遺伝子欠損マウスの作成・解析により、その生体内での生理的・病的役割を解明することを目指している。

3. 研究の方法

FARP2 分子の GEF ドメインを欠損した dominant-negative FARP2 を遺伝子導入して破骨細胞分化誘導を検討した。また生理的な機能を明らかにする目的で FARP2, MICAL, セマフォリン遺伝子欠損マウスを作成して、骨の表現系の解析を行った。

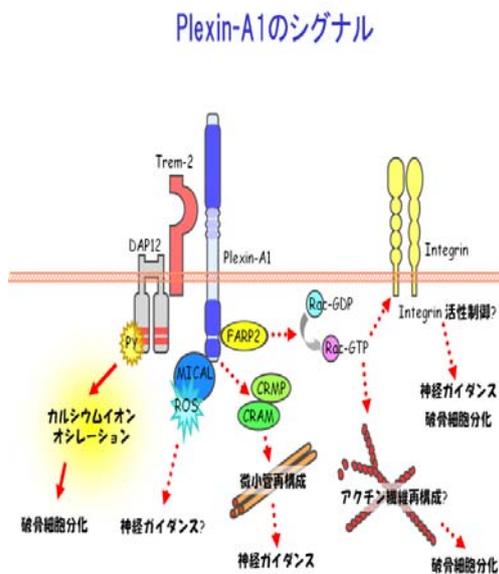
4. 研究成果

本年度の研究で、セマフォリンシグナル分子 FARP2 の機能解析を行い、FARP2 がインテグリンシグナルと Rac のシグナルとを統合

することによって、破骨細胞分化に必須の役割を果たしていることを明らかにしている

(図)。さらに FARP2 遺伝子欠損マウスの作成と解析からも一連の知見を裏付ける所見を得ている (*FASEB J.* 24:4782-92. 2010)。

また同じくセマフォリンシグナル分子である MICAL 分子の遺伝子欠損マウスを用いて骨の解析を行ったが、MICAL 欠損マウスには骨の異常はみとめず、骨組織においては FARP2 が重要なシグナル分子であることが明らかになっている。セマフォリンは現在種々の疾患の鍵分子として注目を集めていることから、今後本研究で明らかと成ったセマフォリンシグナル分子を標的にした疾患治療に向けた試みを行っていく予定である。



5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

- ① Nogi T, Yasui N, Mihara E, Matsunaga Y, Noda M, Yamashita N, Toyofuku T, Uchiyama S, Goshima Y, Kumanogoh A, Takagi J. Structural basis for semaphorin signalling through the plexin receptor. *Nature* 467:1123-7. 2010. 査読有り
- ② Takamatsu H, Takegahara N, Nakagawa Y, Tomura M, Taniguchi M, Friedel RH, Rayburn H, Tessier-Lavigne M, Yoshida Y, Okuno T, Mizui M, Kang S, Nojima S, Tsujimura T, Nakatsuji Y, Katayama I, Toyofuku T, Kikutani H, Kumanogoh A. Semaphorins guide the entry of dendritic cells into the lymphatics by activating myosin II. *Nat Immunol.* 11: 594-600, 2010. 査読有り
- ③ Takegahara N, Kang S, Nojima S, Takamatsu H, Okuno T, Kikutani H, Toyofuku T, Kumanogoh A. Integral roles of a guanine nucleotide exchange factor, FARP2, in osteoclast podosome rearrangements. *FASEB J.* 24:4782-92. 2010. 査読有り
- ④ Ch'ng ES, Kumanogoh A. Roles of Sema4D and Plexin-B1 in tumor

progression. *Mol Cancer*. 9:251. 2010.

査読有り

- ⑤ **Kumanogoh A**, Kikutani H.
Semaphorins and their receptors: novel
features of neural guidance molecules.
Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.
86:611-20. 2010. 査読有り

- ⑥ Takamatsu H, Okuno T, and
Kumanogoh A. Regulation of immune
cell responses by semaphorins and
their receptors. *Cell Mol Immunol*.
7:83-8. 2010. 査読有り

- ⑦ Takegahara N and **Kumanogoh A**.
Involvement of semaphorins in
neurological diseases. *Clinical Exp*.
Neuroimmunol. 1:33-45. 2010. 査読有
り

[学会発表] (計 2 件)

- ① **Kumanogoh A**. Immunoregulation by
semaphorins and their receptors.
Japan-German Immunology Seminar.
Nov. 26-29. 2010. Cuxhaven. Germany.
Invited speaker.
- ② **Kumanogoh A** Semaphorins, axonal
guidance cues, regulate dendritic cell
trafficking into lymph nodes via
activation of myosin II. The Joint
Symposium of the 5th International

Symposium of Institute Network.

Jun24-25, 2010, Kanazawa, Japan.

Invited speaker.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

熊ノ郷 淳 (KUMANOGOH ATSUSHI)

大阪大学・微生物病研究所・教授

研究者番号 : 1 0 2 9 4 1 2 5