

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15985

研究課題名(和文)免疫系におけるリゾリン脂質シグナルの機能解析

研究課題名(英文)Functional characterization of the lysophospholipid receptors in immune systems

研究代表者

近江 純平(Omi, Jumpei)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・特別研究員

研究者番号：60846666

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文): リゾリン脂質は脂肪酸鎖を1本のみ有するリン脂質であり、受容体を介して様々な生理活性を引き起こす新世代の脂質メディエーターである。本研究課題では多種のリゾリン脂質受容体が免疫組織においても高く発現することに注目して、その「使い分け」に主眼を置いて解析を行った。本課題の成果として、同一のリゾリン脂質に対して応答する受容体でも、受容体の種類によって免疫応答のアウトプットが異なる興味深い現象を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、同一のリゾリン脂質をリガンドとするにも関わらず、受容体によって免疫応答制御の方向性が異なる、興味深い「使い分け」の存在を明らかにした。例えば免疫過剰を伴う自己免疫疾患においては負に、また、抗腫瘍免疫や感染症免疫においては正方向に免疫反応を調節するGPCR分子には魅力的な標的としてのポテンシャルがある。本成果をベースとして、今後は種々の免疫関連疾患におけるリゾリン脂質シグナルの創薬標的としての可能性を探索していく。

研究成果の概要(英文): Lysophospholipids are bioactive phospholipids having only one fatty acid and regulate various physiological responses by activating G protein-coupled receptors. This work focused on the high expression of these lysophospholipid receptors in immune tissues such as thymus, spleen, and lymph nodes and dissected their immunological roles during a series of immune responses. We found that the signaling of lysophospholipids, including lysophosphatidic acid (LPA) and lysophosphatidylserine, have diverse effects on immune outcomes against foreign antigen immunization: These lysophospholipids confer both positive and negative regulation to immune responses and it extremely depends on a subtype of receptors (LP1-6 for LPA and LPS1-3 for LysoPS).

研究分野: 脂質生物学

キーワード: リゾリン脂質受容体 免疫応答

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

リゾリン脂質は脂肪酸鎖を1本のみ有するリン脂質であり、GPCRを介して様々な生理活性を引き起こす新世代の脂質メディエーターである。我々はこれまでに、リゾホスファチジルセリン (LysoPS)、リゾホスファチジン酸 (LPA)、リゾホスファチジルイノシトール (LysoPtdIns)、ならびにリゾホスファチジルグルコース (LysoPtdGlc) に応答する複数のGPCRを同定し、それらの機能解析を進めている。研究当初、これらのリゾリン脂質受容体の多くが脾臓やリンパ節等の免疫組織においても高発現することが見出されていたが、その発現分布や免疫応答時における機能的な使い分けについては殆ど明らかにされていなかった。

2. 研究の目的

そこで、同一の個体免疫モデルにおいてリゾリン脂質受容体欠損マウス、あるいは産生酵素欠損マウスの表現型を網羅的に解析し、免疫系におけるリゾリン脂質シグナルの使い分けを明らかにすることを本研究課題の目的とした。

3. 研究の方法

(1) 免疫組織におけるリゾリン脂質関連分子の発現分布解析

マウスの膝窩リンパ節切片をサンプルとして、LPA関連分子 (LPA受容体 LPA₁₋₆、LPA産生酵素 Autotaxin (ATX))、LysoPS関連分子 (LPS_{1,3}、LysoPS産生酵素 PS-PLA₁、PS産生酵素 PSS1) ならびに LysoPtdIns/Glc 受容体 GPR55 の組織内発現分布を RNAscope *in situ* hybridization により解析した。

(2) 外来抗原投与モデルにおけるリゾリン脂質関連分子欠損マウスの表現型解析

リゾリン脂質受容体、産生酵素の欠損マウス、あるいは阻害剤/作動薬投与マウスに対して、個体免疫モデルとして外来抗原投与モデルを適用した。本系は外来抗原 TNP オボアルブミン (TNP-OVA) をマウスの足底部に皮下投与することにより、所属リンパ節である膝窩リンパ節における免疫応答を誘導するモデルであり、マクロファージ・樹状細胞による抗原の取込みと提示から、T・Bリンパ球の増殖・分化、さらに抗体産生に到るまでの一連の免疫応答現象を評価することが可能である。本系により免疫応答を誘導した個体を免疫後7日後までの各時間点で解剖し、フローサイトメトリーにより各免疫細胞数を計測した。

4. 研究成果

(1) 免疫組織におけるリゾリン脂質関連分子の発現分布解析

LysoPS受容体内、LPS1/Gpr34についてはリンパ節の辺縁部に位置する sinus 様構造に沿って、また LPS2/P2ry10 についてはリンパ節の皮質部に相当する B 細胞領域に強く発現することを当初より見出ししていた。今回、新たに6種のLPA受容体の発現分布を解析し、特に LPA1、LPA2、LPA5、LPA6 の4受容体がリンパ節内で発現することを見出した。これらの発現分布は様々であり、LPA5 ならびに LPA6 については大部分のリンパ節細胞で発現が見られ、LPA6 についてはその中でも発現の強弱が異なる細胞群が混在していた。LPA1 については、少数の細胞群に強く均一に発現が見られ、過去の知見等をふまえるとリンパ節構造を維持する線維芽細胞等の非免疫系細胞への限局した発現が想定された。LysoPtdIns/Glc の受容体である GPR55 はリンパ節内においては最も限局した発現パターンを示し、リンパ節縦断切片中で数個~10個程度の僅かな細胞において極めて高い発現が観察された。また、LPA産生酵素である ATX については、既存の報告と一致して、リンパ節内の高内皮静脈壁における高発現が観察された他、リンパ節細胞においても少数のポピュレーションで高発現が見られた。LysoPSの前駆体である PS産生酵素 PSS1 については、活性化 Bリンパ球が密に存在する胚中心構造において強く発現することを見出した。

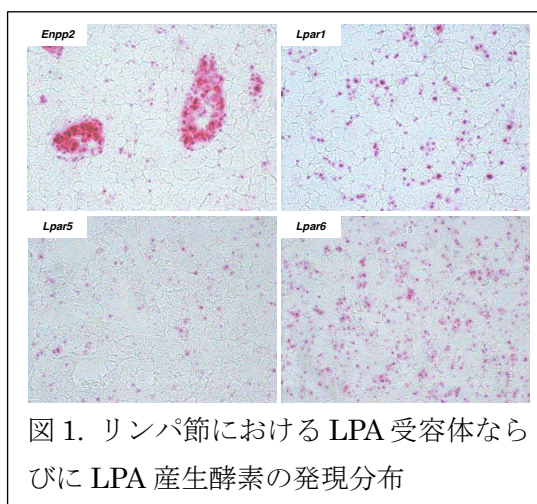
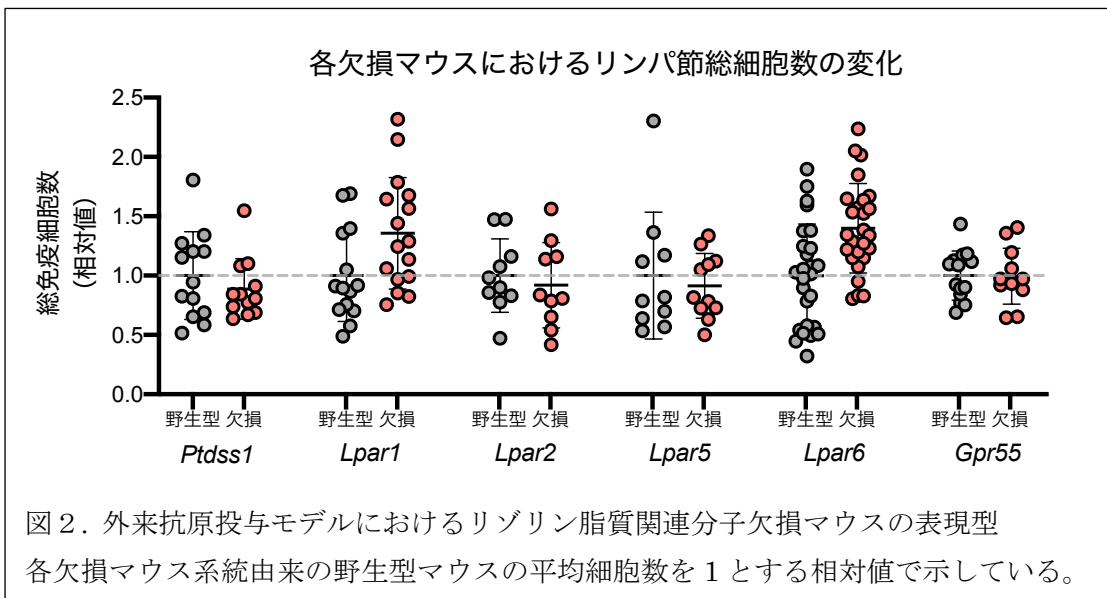


図1. リンパ節におけるLPA受容体ならびにLPA産生酵素の発現分布

(2) 外来抗原投与モデルにおけるリゾリン脂質関連分子欠損マウスの表現型解析



PSS1 欠損マウスの表現型解析：申請時点までの解析において、LysoPS 受容体である LPS1 ならびに LPS2 がそれぞれ免疫応答制御機能を持つことを見出していた。LysoPS は前駆体である PS の量によっても規定されうることから、LysoPS 産生の上流酵素として PS 合成酵素 PSS1 に着目し、その欠損マウスを BALB/c 系統においてゲノム編集により作製した。本マウスの諸臓器におけるリン脂質組成を解析したところ、確かに特定の脂肪酸鎖を有する PS 分子種が著減することを見出した。PSS1 が LysoPS 産生の上流酵素であると仮定すると、その欠損マウスの表現型は LPS1 欠損マウスあるいは LPS2 欠損マウスと同様の方向性の結果が得られるはずである。そこで、外来抗原投与モデルにおける PSS1 欠損マウスの表現型解析を行ったところ、予想に反して、本欠損マウスの免疫細胞数増加、ならびに TNP 特異的抗体産生能は野生型マウスと同程度であった（図 2）。したがって、LPS1 ならびに LPS2 に LysoPS をリガンドとして供給するメカニズムには他酵素の関与が示唆された。

LPA 受容体ならびに LysoPtdIns/Glc 受容体欠損マウスの表現型解析：リンパ節において発現が見られた LPA1、LPA2、LPA5、LPA6 について、外来抗原投与モデルにおける表現型を解析した。これらの 4 受容体の内、特に LPA1 ならびに LPA6 欠損マウスは顕著な免疫細胞数の増加を示し（図 2）、これらは B・T リンパ球、樹状細胞、マクロファージの全ての細胞数の増加を反映していることを明らかにした。LPA1 は免疫細胞そのものにはほとんど発現が見られないことをふまえると、非免疫細胞が免疫応答時に免疫細胞数を制御しているモデルが想定される。他方、LPA6 については免疫細胞全体で発現が見られたことから、増殖そのものを制御している可能性もまた想定される。LPA2 欠損マウスについてはリンパ節総細胞数では大きな変化は見られないものの、B リンパ球の細胞数が選択的に減少することを見出した。LPA5 欠損マウス、ならびに GPR55 欠損マウスについては、総細胞数、各免疫細胞サブセットのいずれにおいても大きな変化は見られなかった。

以上の知見から、同一のリゾリン脂質をリガンドとするにも関わらず、受容体によって免疫応答制御の方向性が異なる、興味深い「使い分け」の存在が示唆された。例えば免疫過剰を伴う自己免疫疾患においては負に、また、抗腫瘍免疫や感染症免疫においては正方向に免疫反応を調節する GPCR 分子には魅力的な標的としてのポテンシャルがある。本成果をベースとして、今後は種々の免疫関連疾患におけるリゾリン脂質シグナルの創薬標的としての可能性を探索していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Omi Jumpei, Kano Kuniyuki, Aoki Junken	4. 巻 79
2. 論文標題 Current Knowledge on the Biology of Lysophosphatidylserine as an Emerging Bioactive Lipid	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Biochemistry and Biophysics	6. 最初と最後の頁 497 ~ 508
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12013-021-00988-9	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yugo Takagi, Shun Nishikado, Jumpei Omi, Aoki Junken	4. 巻 -
2. 論文標題 The many roles of lysophospholipid mediators and Japanese contributions to this field	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kawanabe-Matsuda Hiroataka, Takeda Kazuyoshi, Nakamura Marie, Makino Seiya, Karasaki Takahiro, Kakimi Kazuhiro, Nishimukai Megumi, Ohno Tatsukuni, Omi Jumpei, Kano Kuniyuki, Uwamizu Akiharu, Yagita Hideo, Boneca Ivo Gomperts, Eberl Gerard, Aoki Junken, Smyth Mark J., Okumura Ko	4. 巻 12
2. 論文標題 Dietary <i>Lactobacillus</i> -Derived Exopolysaccharide Enhances Immune-Checkpoint Blockade Therapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Discovery	6. 最初と最後の頁 1336 ~ 1355
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/2159-8290.CD-21-0929	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakamura Sho, Sayama Misa, Uwamizu Akiharu, Jung Sejin, Ikubo Masaya, Otani Yuko, Kano Kuniyuki, Omi Jumpei, Inoue Asuka, Aoki Junken, Ohwada Tomohiko	4. 巻 63
2. 論文標題 Non-naturally Occurring Regio Isomer of Lysophosphatidylserine Exhibits Potent Agonistic Activity toward G Protein-Coupled Receptors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 9990 ~ 10029
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jmedchem.0c01126	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Junpei Omi, Manae Tatsumi, Yuji Shinjo, Akiharu Uwamizu, Kuniyuki Kano, and Junken Aoki
2. 発表標題 Lysophosphatidylserine receptors LPS2 and LPS2L negatively regulate the pathogenic B cell functions in a mouse model for allergic asthma
3. 学会等名 20th Anniversary of the Lysophospholipid and Related Mediators FASEB SRC (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Junpei Omi, Yuji Shinjo, Kuniyuki Kano, Akiharu Uwamizu, Asuka Inoue, and Junken Aoki
2. 発表標題 Lysophosphatidylserine negatively regulates B cell expansion via Ga13-coupled GPCRS, LPS2 and LPS2L
3. 学会等名 The 9th NIF Winter School on Advanced Immunology (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------