

令和 4 年 5 月 12 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22900

研究課題名(和文) 神経ガイダンス因子による神経-免疫-代謝連関を介した組織機能維持機構の解明

研究課題名(英文) Neuro-immune-metabolic interactions mediated by axon guidance cues

研究代表者

中西 由光 (Nakanishi, Yoshimitsu)

大阪大学・医学系研究科・特任助教

研究者番号：70882645

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：神経ガイダンス因子であるSemaphorin 6D (Sema6D)が交感神経分布の制御を介して全身の代謝・造血応答を共役させることを明らかにした。高脂肪食負荷Sema6D欠損マウスでは著明な肥満抵抗性およびミエロイド造血の亢進を認め、神経細胞におけるSema6D欠損がこれらの表現型の原因であることがわかった。さらに、Sema6D欠損マウスでは交感神経分布の亢進を認め、 $\beta$ 3アドレナリン受容体を欠損させることで上記表現型は解消された。以上は神経-免疫-代謝連関の分子メカニズムを明らかにするのみならず、代謝・免疫疾患の病態解明に寄与する重要な知見である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

交感神経は全身の臓器に分布し、代謝、免疫応答などを制御する。しかし、その分布制御機構や分布異常に伴う代謝・免疫応答の変容に関しては明らかになっていないのが現状である。今回の研究成果は交感神経分布を制御する分子を同定するだけでなく、Sema6Dによる交感神経分布制御の代謝学・免疫学的意義を明らかにするものである。

研究成果の概要(英文)：Functional coupling of the neural, metabolic, and immune systems is essential for organ development and maintenance, but the molecular mechanisms controlling this network remain unclear. Here, we demonstrate that an axonal guidance cue Semaphorin 6D (Sema6D) combines systemic metabolism and myelopoiesis by tuning sympathetic innervations. Sema6d<sup>-/-</sup> mice fed a high-fat diet (HFD) exhibited attenuated obesity and enhanced myelopoiesis. Combinational analysis of bone marrow (BM) chimeric and conditional knockout mice revealed that non-hematopoietic and neuron-derived Sema6D is responsible for these phenotypes through Plexin-A4. Notably, Sema6d deficiency led to increased sympathetic innervations in the BM. Consistently, loss of  $\beta$ 3-adrenergic receptor signaling resolved metabolic and hematopoietic defects in HFD-fed Sema6d<sup>-/-</sup> mice. Collectively, these data demonstrate that Sema6D orchestrates systemic metabolism and hematopoiesis by tuning sympathetic innervations.

研究分野：免疫学

キーワード：セマフォリン 造血 脂質代謝 交感神経

### 1. 研究開始当初の背景

「心腎連関」、「腸脳連関」など固形臓器間の相互作用については長年研究が進められており、臓器間の相互作用が生体恒常性維持を担うことが明らかとなっている。一方で、臓器同士の接続を担うプラットフォームである神経系、免疫系、代謝系などのシステムはそれぞれ独立に研究が進められてきたが、これらのシステムの相互作用に着目した研究が近年注目を集め始めている。中でも免疫細胞の代謝が免疫応答を制御する(免疫代謝)、神経伝達物質が免疫応答を制御する(神経免疫)など神経系、免疫系、代謝系の中の2つの系に着目した研究が主に進められている。しかしながら、臓器連関の本質的理解にはこれらの3つの系の連関・相互作用を包括的に解明する必要がある。

セマフォリン分子群は神経ネットワーク形成に必須のガイダンス因子であると同時に、免疫応答、代謝制御、血管新生など生体の多様な機能に関与することが知られている。申請者は先行研究において、セマフォリン分子群の一つである Sema6D がマクロファージにおいて mTOR シグナル依存的に発現誘導されること、PPAR を介した脂肪酸酸化を亢進させ、抑制性マクロファージ分化を促進することを明らかにした (*Nature Immunol* 2018)。しかし、Sema6D の発現細胞種は多岐にわたり、生体におけるシステム的な Sema6D の機能は依然として不明であった。

### 2. 研究の目的

本研究においては、神経系、免疫系、代謝系の3つの系の連関・相互作用を Sema6D の機能を中心として解析することで、生体レベルでの神経-免疫-代謝連関メカニズムを解明することを目指した。

### 3. 研究の方法

Sema6D 欠損マウスを用いて高脂肪食負荷肥満モデルを行い、末梢血、脂肪組織、肝臓、骨髄など各種臓器の解析を行った。さらに、骨髄移植モデル、コンディショナルノックアウトマウスを作製し、表現系に寄与する Sema6D 発現細胞の同定を行った。また、透明化技術を用いて骨髄内の交感神経分布を評価し、CRISPR/Cas9 法で作製した 3 アドレナリン受容体欠損マウスにおいて表現型を評価した。

### 4. 研究成果

#### (1) Sema6D 欠損マウスは高脂肪食負荷肥満モデルにおいて肥満抵抗性を呈する

全身代謝における Sema6D の機能解析を目的として Sema6D 欠損マウスを用いて高脂肪食負荷肥満モデルを行ったところ、Sema6D 欠損マウスでは体重増加が減弱し、肝臓、内臓脂肪、皮下脂肪、褐色脂肪への脂肪沈着が減弱していた(図1)。また、耐糖能障害についても高脂肪食負荷 Sema6D 欠損マウスでは野生型マウスに比べて軽減していた。すなわち、Sema6D は高脂肪食負荷条件下において全身の脂質代謝制御に関与することが明らかとなった。

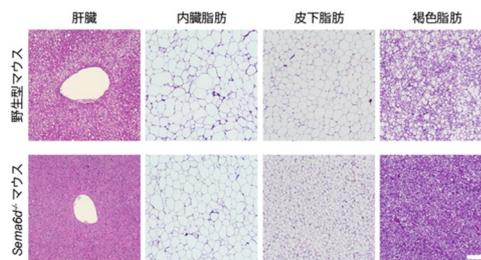
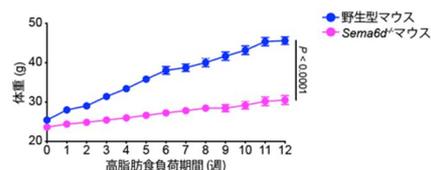


図1: 高脂肪食負荷 Sema6D 欠損マウスでは肥満抵抗性を認める

#### (2) 高脂肪食は Sema6D 欠損マウスにおいてミエロイド系細胞の分化、増殖を亢進させる

肥満症や糖尿病、動脈硬化症などの代謝疾患は末梢血中の好中球や単球などのミエロイド系細胞の増殖を伴うことが知られている。そこで、高脂肪食負荷肥満モデルにおけるミエロイド系細胞の分化を評価したところ、高脂肪食負荷 Sema6D 欠損マウスでは野生型マウスに比べて著明な好中球の増加を認めた(図2)。さらにこれらの変化は末梢血中のみならず、骨髄中でも認め、高脂肪食負荷 Sema6D 欠損マウスの造血幹細胞ではミエロイド系への分化が亢進していた。すなわち、Sema6D は高脂肪食負荷条件下においてミエロイド系細胞の分化制御にも関与することが明らかとなった。

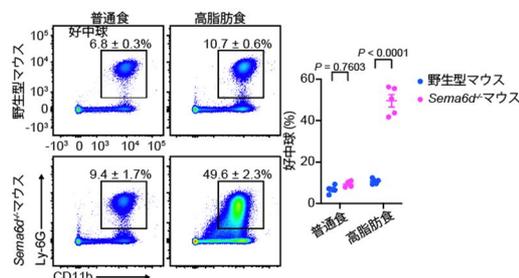


図2: 高脂肪食負荷 Sema6D 欠損マウスではミエロイド造血の亢進を認める

(3) 非血球系細胞における Sema6D 欠損が代謝・造血異常を引き起こす

Sema6D の発現細胞種は多岐にわたる。上記の表現型に寄与する細胞種の同定を目的とし、骨髓移植マウスを用いて高脂肪食負荷肥満モデルを行ったところ、非血球系細胞において Sema6D が欠損した場合に肥満抵抗性、ミエロイド系細胞の増殖亢進を認めた (図 3)。

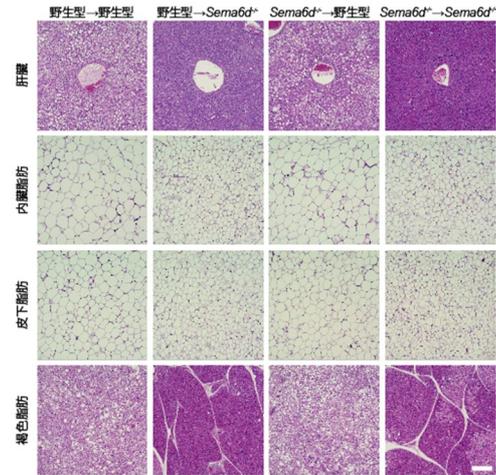
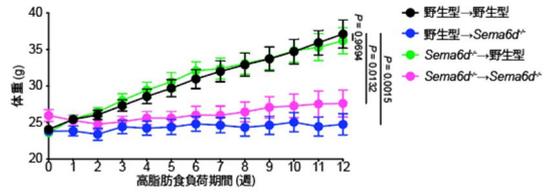


図 3: 非血球系における Sema6D 欠損が肥満抵抗性を引き起こす

(4) 神経細胞における Sema6D 欠損が代謝・造血異常を引き起こす

脂肪細胞、血管内皮細胞、神経細胞など多くの非血球系細胞が Sema6D を発現しているため、コンディショナルノックアウトマウスを用いた責任細胞群同定を試みた。脂肪細胞や血管内皮細胞特異的に Sema6D を欠損させても代謝・造血異常は認めないのに対し、神経細胞特異的 Sema6D 欠損マウスでは Sema6D 欠損マウス同様に肥満抵抗性、ミエロイド系細胞の増殖亢進を認めた (図 4)。

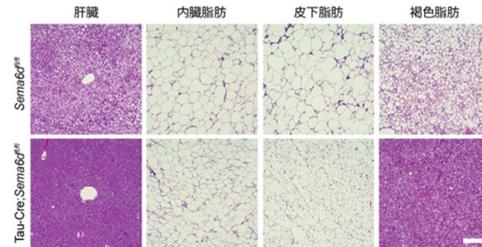
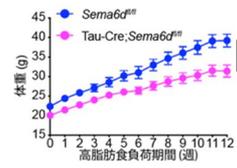


図 4: 神経由来 Sema6D の欠損が肥満抵抗性を引き起こす

(5) Sema6D 欠損マウスにおける代謝・造血異常は交感神経シグナルの亢進が原因である

最後に Sema6D の機能探索を行なった。Sema6D の受容体である Plexin-A4 が交感神経系の発生を制御すること、交感神経系が代謝・造血を制御することが既報で報告されている。そこで交感神経分布を評価したところ、Sema6D 欠損マウスでは骨髓内の交感神経分布が亢進していた (図 5)。さらに Sema6D 欠損マウスにおいて CRISPR/Cas9 法を用いて 3 アドレナリン受容体を欠損させたところ、代謝・造血異常が解消された (図 6)。

以上の結果から、Sema6D は交感神経分布の制御を介して全身代謝と造血応答の共役を担うことが明らかとなった。

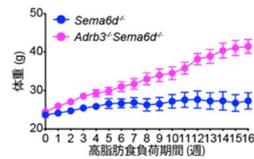


図 6: Sema6D 欠損マウスにおける  $\beta 3$  アドレナリン受容体シグナルの亢進が肥満抵抗性の原因である

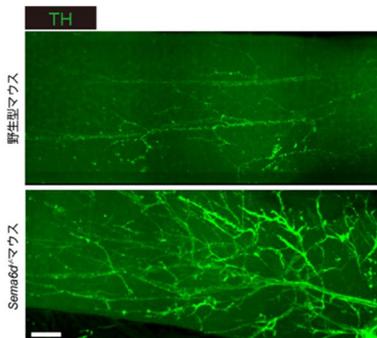


図 5: Sema6D 欠損マウスでは骨髓内の交感神経分布が亢進している

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yoshimitsu Nakanishi, Sujin Kang, Atsushi Kumanogoh	4. 巻 42
2. 論文標題 Axon guidance molecules in immunometabolic diseases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Inflammation and Regeneration	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） 10.1186/s41232-021-00189-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yoshimitsu Nakanishi, Sujin Kang, Atsushi Kumanogoh	4. 巻 157
2. 論文標題 Crosstalk between axon guidance signaling and bone remodeling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bone	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） 10.1016/j.bone.2021.116305	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	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 Yoshimitsu Nakanishi, Sujin Kang, Atsushi Kumanogoh
2. 発表標題 Sema6D fine-tunes bone marrow sympathetic innervation to regulate high fat diet-induced myelopoiesis
3. 学会等名 The 27th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yumiko Mizuno, Yoshimitsu Nakanishi, Atsushi Kumanogoh
2. 発表標題 Regulation of brown adipose tissue homeostasis by an axon-guidance molecule
3. 学会等名 The 27th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages（国際学会）
4. 発表年 2021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
---------	---------