

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学)



研究課題名 マクロファージによるアポトーシス細胞の貪食と細胞膜の非対称性

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・教授

ながた しげかず
長田 重一

研究課題番号: 15H05785 研究者番号: 70114428

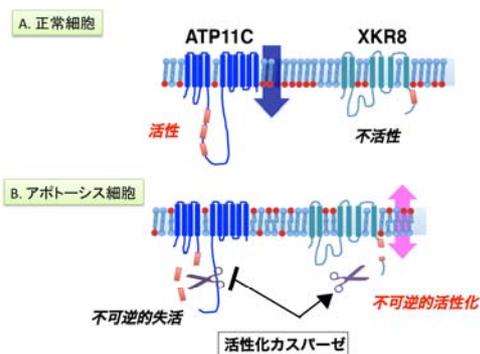
研究分野: 生化学、分子生物学

キーワード: アポトーシス、マクロファージ、ホスファチジルセリン、フリッパーゼ、スクランブラーゼ

【研究の背景・目的】

マクロファージは MFG-E8、Tim-4、Mer・Protein S などのフォスファチジルセリン(PtdSer)に結合する分子を用いてアポトーシス細胞を貪食する。この貪食過程が進行しないと自己免疫疾患などの重篤な疾患を引き起こす。動物の細胞膜は2層から成り立ち、PtdSerは生きている細胞では内膜に存在し、アポトーシスがおこると表面に暴露される。私達は PtdSer を外膜から内膜へ移動させる分子(フリッパーゼ: ATP11C と CDC50A)、アポトーシス時に PtdSer を内外の膜の間でスクランブルさせる分子(スクランブラーゼ: Xkr8)を同定した。アポトーシス時、ATP11C はカスパーゼによって失活し Xkr8 は活性化される。

本研究は、(1) Mer、およびそれと相似した Tyro3、Axl と、そのリガンド Protein S、Gas6 との相互作用、死細胞貪食能を明らかにする。(2) MER のキナーゼ活性に対する Tim-4 の影響を解析し、MER の標的を同定する。(3) Xkr8 以外にスクランブラーゼとして作用する Xkr 4、Xkr 9 の生理作用を明らかにする。(4) ATP11C が属する P4-ATPase family の発現分布、フリッパーゼ活性を明らかにする。



【研究の方法】

(1) 腹腔マクロファージは死細胞の集束過程に Tim-4、貪食には MER を用いる。MER が属する TAM family は 3 個のメンバー(MER, Axl, Tyro3) からなり、Protein S、Gas6 が死細胞と TAM を仲立ちする。MER, Axl, あるいは Tyro3 のみを発現する細胞を用いて、これら分子の貪食能を明らかにする。これら分子の細胞外領域を調製し、Protein S、Gas6 や PtdSer との相互作用を解析する。(2) Tim-4、MER に対する抗体を用いた免疫沈降法で Tim-4 と MER

が結合するかどうか検討する。死細胞の貪食の際、リン酸化される MER のリン酸化部位を Phos-Select Ion Affinity 法、LC-MS/MS 解析により同定する。(3) 脳で発現している Xkr 4 の発現細胞(神経細胞あるいはマイクログリア)を同定する。Xkr4、Xkr8 のノックアウトマウスを作製し、アポトーシス細胞の貪食に異常があるかどうか明らかにする。(4) 14 個の P4-タイプ ATPase を GFP と融合させた後、ATP11C 欠損細胞内で発現させ、細胞内局在部位を決定するとともに、フリッパーゼ活性が存在するかどうか、アポトーシス時に切断されるかどうか明らかにする。

【期待される成果と意義】

本研究は、申請者がこれまでの成果をもとに着想したものでありその独創性は揺るぎない。本研究の成果は細胞死の分野で残された課題のひとつ、「死細胞の貪食・分解」の分子機構・生理作用を明らかにするであろう。また、本研究の成果は、2層から成り立つ細胞膜の非対称性の維持という細胞生物学の根本的命題の分子機構解明に役立つであろう。また、私達は死細胞が速やかに貪食されることがなければ、自己免疫疾患を発症すること、活性化された血小板で PtdSer が暴露されなければ血友病を発症することを見いだしている。今回計画しているフリッパーゼやスクランブラーゼのノックアウトマウスの解析は自己免疫疾患や血友病などヒトの病気の原因解明にも貢献するであろう。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Segawa, K. et al. (2014) Caspase-mediated cleavage of phospholipid flippase for apoptotic phosphatidylserine exposure. Science 344: 1164-1168.
- Suzuki, J. et al. (2013) Xkr-related protein 8 and CED-8 promote phosphatidylserine exposure in apoptotic cells. Science 341: 403-406.

【研究期間と研究経費】

平成 27 年度-31 年度 118,100 千円

【ホームページ等】

<http://biochemi.ifrec.osaka-u.ac.jp/>
snagata@ifrec.osaka-u.ac.jp