

|   |  |    |      |
|---|--|----|------|
| 京都大学  | 博士 (医科学)   | 氏名 | 戸田 聡 |
| 論文題目  | Two-Step Engulfment of Apoptotic Cells<br>(2段階からなるアポトーシス細胞の貪食) |    |      |
| <p>(論文内容の要旨)</p> <p>生物の発生や恒常性維持の過程において、細胞は分化・増殖を繰り返すが、一方で、不要となった細胞や有害な細胞は、プログラムされた細胞死であるアポトーシスにより死滅する。アポトーシスを起こした細胞は、マクロファージなどの食細胞に速やかに貪食される。マクロファージは、死細胞の表面に暴露されるリン脂質ホスファチジルセリンを認識することにより、死細胞を特異的に貪食する。この過程が障害されると、死細胞から炎症を引き起こす因子が放出され、SLEなどの自己免疫疾患を発症すると考えられている。私達の研究室では、ホスファチジルセリンを認識する2種の分子、分泌性のMFG-E8と受容体のTim4を同定した。MFG-E8は、マクロファージ上のインテグリンとも結合し、アポトーシス細胞とマクロファージの橋渡し分子として作用する。そして、インテグリンを介して貪食を促進するためのシグナルを活性化させる。一方、Tim4は、ホスファチジルセリンを介してアポトーシス細胞に結合するが、その細胞内領域は非常に短く、この領域を欠損させても、貪食能力に影響を与えない。このことから、Tim4を介したアポトーシス細胞の貪食には、貪食シグナルを伝える他の因子が必要であると考えられる。脾臓には、Tim4とMFG-E8の両者を発現しているマクロファージが存在することから、Tim4とMFG-E8が、死細胞の貪食過程にどのように関与するのかを解析した。そこで、死細胞貪食を定量するため、酸性条件下でのみ蛍光を発するpH依存蛍光色素で死細胞を標識し、貪食されリソソームに運ばれた死細胞を検出する実験系を樹立した。死細胞を結合および貪食できない浮遊系細胞株Ba/F3に、Tim4やインテグリン・MFG-E8を導入したところ、Tim4単独では、死細胞の結合は促進されたが、貪食効率は低かった。また、インテグリン・MFG-E8では、死細胞の結合、貪食効率ともに低かった。しかし、Tim4、インテグリン・MFG-E8の両者が存在すると、死細胞の結合および貪食シグナルの活性化という両者の協調作用により、Ba/F3細胞において死細胞貪食を再構築することができた。つまり、効率の良い貪食は、死細胞の結合と、貪食シグナルの活性化という2段階から成ると考えられた。生体内のマクロファージにおいても、このような2段階の貪食が行われているかを調べるために、Tim4を発現している腹腔常在マクロファージを解析した。野生型の腹腔常在マクロファージは、死細胞を効率良く結合および貪食できるが、Tim4を欠損した腹腔常在マクロファージは、死細胞を結合できず、その結果、貪食能もなかった。また、腹腔常在マクロファージはMFG-E8を発現せず、貪食シグナルを活性化する因子は不明であったが、細胞外のCa<sup>2+</sup>濃度を低くしたところ、効率良く死細胞を結合するが、貪食は阻害された。よって、腹腔常在マクロファージの貪食過程には、Tim4による死細胞の結合、Ca<sup>2+</sup>依存的な貪食シグナルの活性化という2段階が存在すると考えられた。以上の結果から、マクロファージは、結合を促進する因子と貪食シグナルを活性化する因子の両者を発現することで、貪食の効率を高めていると結論した。</p> |  |    |      |

(論文審査の結果の要旨)

アポトーシスを起こした細胞では、細胞膜の非対称性が崩壊し、ホスファチジルセリンが露出される。マクロファージは、このホスファチジルセリンを、膜タンパク質Tim4や分泌タンパク質MFG-E8を介して認識することで、死細胞を特異的に貪食する。本研究では、Tim4とMFG-E8の両方を発現しているマクロファージがどのように死細胞を貪食するのかを明らかにするため、死細胞を貪食しない浮遊系細胞株BaF3に、Tim4やMFG-E8とその受容体のインテグリンを導入して、死細胞の貪食能および結合能を定量した。その結果、Tim4は死細胞を結合するが貪食シグナルを活性化できず、インテグリン・MFG-E8による貪食シグナルの活性化機能と協調作用することによって、死細胞を貪食した。実際、腹腔の常在マクロファージによる死細胞の貪食も、Tim4による死細胞の結合と貪食シグナルの活性化という2段階から成っていた。以上より、死細胞を効率よく貪食するためには、死細胞の結合と貪食シグナルの活性化という2段階が協調的に作用する必要があると結論した。

以上の研究は、マクロファージによるアポトーシス細胞の貪食の分子機構の解明に貢献するものである。本研究で樹立した死細胞の貪食を検出する実験系は、簡便かつ定量的であり、貪食の細胞生物学に多に寄与すると考えられる。

したがって、本論文は博士(医科学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成25年12月19日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降