

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成 29年 4月 1日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 甲南大学・フロンティアサイエンス学部
職 名 教授
研究代表者名 西方 敬人

下記のとおり平成 28 年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号:281024)

1. 共同利用研究 課題名	マクロファージ活性化における細胞内シグナル伝達経路の解析			
2. 共同利用研究 目的	近年、マクロファージ活性化メカニズムの多様性が示され、特に GalNAc を介する活性化因子PM21 は、そのレセプターも明らかにされていない。これまで、その活性化経路で STAT6 等の関与が示唆されている。そのシグナル伝達経路を明らかにすることで、マクロファージの多様性を明確に示すとともに、マクロファージの活性化を調節することができる。と考える。			
3. 共同利用研究 期間	平成 28 年 7 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 西方 敬人	甲南大学 フロンティアサイエンス学部	教授	研究全体の統括	
(分担研究者) 石川 真実 角谷 祐	甲南大学 フロンティアサイエンス研究科 フロンティアサイエンス研究科	D1 M2	マクロファージ活性化評価 シグナル伝達解析	
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル統合経路研究部門・ 細胞増殖分化制御研究分野	氏 名	岩崎 哲史

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同利用研究計画

ヒト単球系培養細胞株 U937 から分化させたマクロファージは、PM21 を培地に添加した際、非添加の場合に比べて 5 倍以上貪食活性が上昇する。この条件でのシグナル伝達系の種々の分子のリン酸化の程度を評価し、どのシグナル伝達経路が働いているかを明らかにする。さらに、当研究室ではもう一つの細胞株 THP-1 から分化させたマクロファージでも同様の実験を行い、U937 と THP-1 では PM21 による活性化メカニズムが異なることを示唆している。PM21 の分子の実体およびその活性化メカニズムを明らかにするため、ビオチン標識 PM21 を利用して明らかにした PM21 受容体候補分子に関して、プロテインシーケンサーを用いて解析する。また、活性化したマクロファージ集団内においても貪食能の高い細胞と低い細胞が存在することから、それらをセルソーターで分離し、その差異を解析する。

7. 共同利用研究の成果

ヒト単球系培養細胞株 THP-1 から分化させたマクロファージは、LPS とインターフェロン γ を同時添加して M1 様マクロファージへと分化させることができる。一方 THP-1 マクロファージに PM21 を添加した際、貪食能は 2 倍以上上昇するにもかかわらず、M1 でも M2 でも無い分化を示す。この違いをシグナル伝達経路の違いから明らかにするため、それぞれの試薬を添加して 1 時間後のリン酸化状態を比較した。LPS+INF では STAT1、STAT3、JNK などのリン酸化が亢進しているのに対し、PM21 では p38 のリン酸化の亢進が見られたが、STAT1、STAT3、JNK などのリン酸化の亢進は観察されなかった。さらに、リピッドラフト形成の様子を超遠心により解析を行うと、LPS+INF では 50 kDa 程度を中心に多数のタンパク質がラフト分画に集積しているのに対し、PM21 では約 60 kDa のタンパク質を含む若干のタンパク質の集積が認められるにとどまった。これらは LPS+INF と PM21 とで、シグナル伝達の経路が大きく異なることを明確に示しており、今後、PM21 によるシグナル経路を明らかにしていくおおきな手がかりが得られた。

8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを 1 部提出してください。)

該当なし

9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。

該当なし