

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 30 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 29 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考える。			
3. 共同利用研究 期間	平成 29 年 4 月 1 日 ～ 平成 30 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 光田 陽香	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	D2 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 THP-1 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、その貪食能が5倍以上上昇する。この活性化過程におけるシグナル伝達経路には、リピッドラフト形成が関与し、さらに p38 のリン酸化がかかわることを H28 年度の共同研究で明らかにすることができた。H29 年度では、リピッドラフト形成や p38 リン酸化の経時的な変化を明らかにするとともに、それらの阻害剤を用いて貪食能の活性化との関連を明らかにする。さらに、PM21 での活性化において特異的にリン酸化される未知のターゲット分子を明らかにすることを目指し、二次元電気泳動の特異的スポットを特定し、プロテインシーケンサーでの解析や MS 解析を行う。これら一連の過程から、PM21 受容体に関してもその分子を予測し、その実体を明らかにしていく。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に対して、PM21 は非常に強い貪食能の活性化を示す。この活性化メカニズムをシグナル伝達経路の違いから明らかにするため、PM21 添加後のリピッドラフト形成およびラフト分画に集積するシグナル伝達分子および関連するシグナル伝達分子の候補を明らかにした。LPS+INF に比して弱いものの、PM21 刺激後、明確なラフトの形成が見られた。さらに、PM21 での貪食能の活性化は、ラフト形成を阻害するシクロデキストリン(cyclodextrin)および、受容体の相互作用を増進することが知られるパルミトイル化を阻害する 2-ブロモパルミチン酸(2-bromopalmitate)での処理で阻害されることも明らかにした。また、G タンパク質阻害剤の GDP- β s、プロテインキナーゼ A 阻害剤の H-89 でも阻害されることから、PM21 は G タンパク質共役型受容体、さらに PKA を介して貪食能を活性化していると考えられた。一方、形態学的解析や阻害剤による実験などで、PM21 による貪食活性化もアクチン細胞骨格が重要であることも明らかにしており、PM21 による活性化のシグナル経路を上流からも下流からも明らかにすることができ、今後その全貌を明らかにしていけるものと期待される。

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。)

- ・Mami Ishikawa, Riho Mashiba, Kumpei Kawakatsu, Ngoc Kiet Tran, Tetsushi Iwasaki, Takahito Nishikata
Studies on the serum MAF-mediated activation mechanism in the THP-1 derived macrophage
2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (2017/12)
神戸国際展示場 (神戸)
- ・真柴 里歩、石川 真実、川勝 薫平、トラン ゴック キェト、岩崎 哲史、西方 敬人
マクロファージの貪食活性化に対する血液成分の関与
第 21 回バイオ治療法研究会学術集会 (2017/12)
福大メディカルホール (福岡)

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