

Banyu Foundation Research Grant 2013—生活習慣病領域—

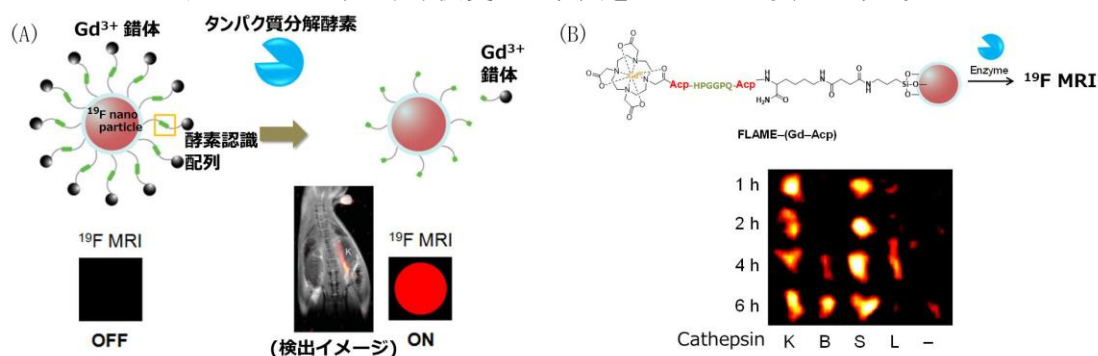
研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	金沢大学医学系免疫学
氏 名	華山力成
研究テーマ	心血管炎症におけるマクロファージのプロテアーゼ放出機構とその可視化

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

リソソームは小胞膜の内側にプロテアーゼなどの加水分解酵素を保有する細胞内小器官であるが、リソソームの一部は分泌型リソソームとして細胞膜と融合し、プロテアーゼやリソソームの内容物を細胞外へと開口放出することが知られている。特に、心筋梗塞などの虚血後再灌流障害や動脈硬化などの血管炎を引き起こす主要原因としてプロテアーゼの放出が注目されており、放出されたプロテアーゼが臓器・組織の障害を引き起こす重要な要因として考えられつつある。そこで私達はリソソームの開口放出を制御する分子の同定を試み、その候補分子として myoferlin を同定した。Myoferlin はタイプ II 型の膜蛋白質で、マクロファージや好中球のリソソームと細胞膜に特異的に局在している。私達は、myoferlin が細胞質側にある6つのC2ドメインを介してカルシウム依存的に膜のリン脂質ホスファチジルセリンと結合し、リソソームと細胞膜の融合によるプロテアーゼの放出を促進することを見出した。そこで、myoferlin 欠損マウスに心血管炎症を誘発する刺激を与え、プロテアーゼの放出が病態発症に及ぼす影響を調べることにした。特に動脈瘤の発症における myoferlin を介したリソソーム酵素放出の寄与を調べるため、マウスにコラーゲン架橋酵素阻害剤 BAPN(β アミノプロピオニトリル)を投与した後、angiotensin II による高血圧負荷を行い、24時間後に、大動脈を単離し、EVG 染色を行った。すると、野生型マウスでは、動脈瘤が効率よく引き起こされるのに対し、myoferlin 欠損マウスでは、動脈瘤の発症頻度が顕著に減少していることが明らかになった。今後は、解離部位に集積してくるマクロファージや好中球を調べることにより、実際に myoferlin 欠損マウスで、リソソーム酵素の放出が障害されているかを検討する予定である。

一方、生体内におけるリソソーム酵素の放出を可視化する為、MRI の強いプローブである ¹⁹F ナノ粒子を用いた。¹⁹F ナノ粒子はガドリニウム錯体で周囲を覆うと、シグナルが打ち消される。そこで、ガドリニウム錯体と ¹⁹F ナノ粒子を、リソソーム酵素の認識配列を含んだペプチドでつないだプローブを作製した(図 A)。このプローブは、リソソーム酵素により、このペプチドが切断されると、ガドリニウム錯体が外れ、MRI で検出可能になる。実際に、カテプシン K の認識配列を含んだプローブを作製してみたところ、このプローブは通常状態で MRI で検出されないが、カテプシン K を作用させると、強く検出されるようになることが明らかとなった(図 B)。現在はまだ特異性の面に問題があり、カテプシン K 以外にもカテプシン S にも反応してしまうが、今後更なる改良を進めていく予定である。



2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2015年10月3日	第2回 日本リウマチ学会ベーシックリサーチカンファレンス (招待講演)、華山力成 血球貪食と他者融解の分子機構
2	2015年7月12日	第26回 日本生体防御学会学術総会 (招待講演)、華山力成 自己血球貪食と他者融解の分子機構
3	2014年10月23日	France-Japan Immunology Meeting (招待講演)、華山力成 Mechanisms of hemophagocytosis and heterolysis by macrophages.
4	2014年10月17日	第87回 日本生化学会総会 (招待講演)、華山力成 Phosphatidylserine-dependent lysosomal fusion in macrophages.
5	2014年2月14日	第10回 宮崎サイエンスキャンプ (招待講演)、華山力成 ホスファチジルセリンを介したマクロファージの貪食・消化・放 出機構
6	2013年9月12日	第86回 日本生化学会総会 (招待講演)、華山力成 Phosphatidylserine-dependent phagocytosis, digestion and exocytosis by macrophages.
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	投稿論文改訂済、 審査中	Nature Communications
2		
3		
4		