

Title	Tethering of Apoptotic Cells to Phagocytes through Binding of CD47 to Src Homology 2 Domain-Bearing Protein Tyrosine Phosphatase Substrate-11
Author(s)	多田, 和年
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46175">https://hdl.handle.net/11094/46175</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	多田和年
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 19748 号
学位授与年月日	平成 17 年 7 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	Tethering of Apoptotic Cells to Phagocytes through Binding of CD47 to Src Homology 2 Domain-Bearing Protein Tyrosine Phosphatase Substrate-1 (CD47-SHPS-1 分子を介したアポトーシス細胞の貪食機構)
論文審査委員	(主査) 教授 長田 重一  (副査) 教授 宮坂 昌之 教授 平野 俊夫

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

アポトーシスは生体にとって用済みな細胞または有害な細胞を排除する原始的なメカニズムであり、組織再構築や免疫担当細胞の淘汰、炎症の終結、ウイルス感染細胞やガン細胞の排除にとって重要である。さらにアポトーシス細胞の貪食は死細胞から放出される有害および免疫原性のある物質が分散しないように迅速に排除するという意味でアポトーシスの完結に重要な作用である。アポトーシス細胞の貪食に関与する分子は多数報告されているが、まだ十分な証明がなされているとは言い難い。今回我々は、マウスマクロファージ細胞株 BAM3 がアポトーシス胸腺細胞を貪食する際に関与する分子を同定することを目的とした。

#### 【方法ならびに成績】

##### 1. BAM3 によるアポトーシス胸腺細胞の貪食を抑制する抗体を検出した

BAM3 細胞表面タンパク質に対するモノクローナル抗体ライブラリを作製し、アポトーシス胸腺細胞の貪食を抑制する抗体をスクリーニングしたところ、2種類のモノクローナル抗体 (15D9、FG2) が同定できた。BAM3 からこれらの抗体が認識するタンパク質を精製、そのアミノ酸配列を決定したところ、これらの抗体は両者とも同じ Src Homology 2 Domain-Bearing Protein Tyrosine Phosphatase Substrate-1 (SHPS-1) タンパク質を認識していることがわかった。

##### 2. 15D9 と FG2 抗体は BAM3 によるアポトーシス胸腺細胞貪食を抑制した

BAM3 によるアポトーシス胸腺細胞の貪食は 15D9 と FG2 抗体によって有意に抑制された。またこの貪食は 15D9 抗体によって濃度依存的に抑制された。このことから、BAM3 によるアポトーシス胸腺細胞の貪食が SHPS-1 を介して行われていることを確認した。

##### 3. 可溶性 SHPS-1 は BAM3 によるアポトーシス胸腺細胞の貪食を抑制した

可溶性 SHPS-1 (sSHPS-1) はアポトーシス胸腺細胞上に結合し、胸腺細胞上の CD47 に対する染色は sSHPS-1 によって阻害されることから、SHPS-1 のリガンドは CD47 であることを確認した。また BAM3 によるアポトーシス胸腺細胞の貪食は sSHPS-1 によって濃度依存的に抑制されたことから、この貪食機構は SHPS-1/CD47 分子を介し

て行われていることが示された。

4. マウスリンフォーマ細胞株 W3/Tldm 細胞に CD47 を強制発現させると、BAM3 によるアポトーシス W3/Tldm 細胞の貪食が亢進した

W3/Tldm 細胞に CD47 を強制発現させて、その発現レベルを抗 CD47 抗体と sSHPS-1 により確認したところ、CD47 は有意に発現し、sSHPS-1 と結合することを確認した。CD47 を発現していない W3/Tldm 細胞は BAM3 によって貪食されないのに対し、CD47 を強制発現させた W3/Tldm 細胞は BAM3 によって貪食されたことから、CD47 は BAM3 によるアポトーシス細胞の貪食を促進することが示された。

5. マウスファイブプロblast細胞株 NIH3T3 細胞に SHPS-1 を強制発現させるとアポトーシス胸腺細胞の貪食が亢進した

NIH3T3 細胞に SHPS-1 を強制発現させて、その発現レベルを 15D9 抗体による染色で確認したところ、SHPS-1 は有意に発現していた。SHPS-1 を強制発現させた NIH3T3 細胞は、SHPS-1 を発現していない NIH3T3 細胞に比べてアポトーシス胸腺細胞の貪食が有意に亢進したことから、NIH3T3 細胞においても SHPS-1 はアポトーシス胸腺細胞の貪食を促進することが示された。

#### 【総括】

BAM3 によるアポトーシス胸腺細胞の貪食を抑制する 15D9 と FG2 抗体を同定した。15D9 抗体によって認識されるタンパク質のアミノ酸配列を決定することによりこの分子は SHPS-1 であることを明らかにした。BAM3 は細胞表面上に SHPS-1 を発現しており、SHPS-1 のリガンドである CD47 は胸腺細胞に発現していた。BAM3 によるアポトーシス胸腺細胞の貪食は、CD47-SHPS-1 分子間の結合を阻害することによって完全に抑制されたことから、この貪食機構にはこれら 2 分子間の相互作用が必須であることを明らかにした。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、マウスマクロファージ細胞株 BAM3 がアポトーシス胸腺細胞を貪食する分子機構について検討したものである。BAM3 に対するモノクローナル抗体を作製し、アポトーシス胸腺細胞の貪食を抑制する抗体を検索したところ、2 種類の 15D9、FG2 と名付けた抗体を得た。これらの抗体が認識する分子を解析し、両者とも SHPS-1 であることを明らかにした。SHPS-1 のリガンドは CD47 である。マウスのリンパ球細胞株 WR19L は CD47 を発現しておらず、アポトーシスを誘導しても BAM3 には貪食されなかった。しかしこの細胞に CD47 を強制発現させると、その細胞は BAM3 により貪食された。以上の結果から BAM3 によるアポトーシス細胞の貪食機構には CD47 と SHPS-1 の相互作用が必須であることを明らかにした。

本研究はマクロファージのアポトーシス細胞貪食の分子機構の解明に重要な情報をもたらす研究であり、学位の授与に値すると考えられる。