Osaka University Knowledge Archive

Title	Myoferlin-Mediated Lysosomal Exocytosis Regulates Cytotoxicity by Phagocytes
Author(s)	宮竹, 佑治
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72516
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）宮竹　佑治

		（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	望月秀樹
	副　査	大阪大学教授	桑木宏実
	副　査	大阪大学教授	岡村康司

論文審査の結果の要旨

本論文は貪食細胞におけるリソソームの放出機構について検討したものである。貪食細胞からのリソソームの放出は周辺の細胞や異物などを障害する現象を引き起こすことが知られていたが、その分子機構は明らかにされていなかった。本論文では膜貫通タンパク質の一種であるMyoferlinが貪食細胞において高発現しており、リソソームに局在していること、そしてカルシウム刺激によるリソソームの放出を制御していることを示した。また、マウスの腹腔への死菌投与により腹水中に放出されるリソソーム酵素の量および腹水の細胞障害活性がMyoferlinにより調節されていることを明らかにした。本研究は貪食細胞においてリソソーム放出を制御する分子機構を解明した初めてのものであり、またその機構により貪食細胞による種々の細胞障害活性が制御されうるという新たな知見を示す重要なものである。以上のことから学位の授与に値すると考えられる。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	宮竹　佑治
論文題名 Title	Myoferlin-Mediated Lysosomal Exocytosis Regulates Cytotoxicity by Phagocytes （Myoferlinが介在するリソソーム開口放出は貪食細胞の細胞障害性を制御する）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

リソソームは様々な種類の加水分解酵素を内包しており、それらの酵素によってほとんどの細胞内容物を消化することができる。リソソーム酵素を放出することで癌細胞などを障害するという他者融解と呼ばれる現象が活性化した貪食細胞において報告されているが、その放出に関する分子機構はほとんど解明されていない。いくつかの細胞腫ではリソソーム放出がC2ドメインを持つ膜貫通タンパク質によるカルシウムイオン依存的な制御を受けることが知られている。そこで、タンパク質発現のデータベースにおいて貪食細胞ではC2ドメインを持つ膜貫通タンパク質Myoferlinが高発現していることが示唆されるため、この分子により貪食細胞からのリソソーム酵素の放出、延いては他者融解が制御されているのではないかと考えて研究を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

リアルタイムPCRによりMyoferlinの発現量を調べたところ、貪食細胞において実際に高発現していることが確認された。また、リソソーム分画タンパク質のウエスタンブロットおよびGFP融合Myoferlinと各種リソソームマーカーの共局在からMyoferlinがリソソームに局在していることが明らかとなった。そして、MyoferlinをshRNAによりノックダウンした細胞を作出したところ、免疫蛍光染色および電子顕微鏡により細胞内にリソソームや残渣を内包したリソソーム様の構造などが蓄積している様子が観察された。このノックダウン細胞はカルシウムイオノフォアによるリソソーム酵素の放出量も有意に低下していた。さらにMyoferlinノックアウトマウスを作出してその骨髄細胞から誘導したマクロファージでも同様にリソソームの蓄積および種々のカルシウム刺激時におけるリソソーム酵素の放出量の低下が見られた。次にMyoferlinノックアウトマウスに大腸菌死菌を腹腔内投与して腹水中に放出されるリソソーム酵素の量を調べたところ、野生型と比べて放出量が有意に低下していることが分かった。この腹水を回収および濃縮して線維芽細胞株NIH3T3の培養液中に添加したところ濃度依存的な細胞障害活性を示したが、Myoferlinノックアウトマウスから回収した腹水では野生型マウスの腹水と比べて細胞障害活性が有意に減少していることが明らかとなった。

〔総　括(Conclusion)〕

本研究によりMyoferlinが貪食細胞においてリソソーム酵素の放出を制御していることが明らかとなり、他者融解を介した細胞障害活性に寄与していることが示唆された。大腸菌死菌の投与による腹水の細胞障害活性がMyoferlinにより調節されていたという結果は、Myoferlinの制御により感染時の組織障害を減弱できる可能性を示している。また、マクロファージに限らず他の貪食細胞でもMyoferlinは高発現しており、例えば好中球における抗体依存性細胞障害時の分解酵素放出など、様々な機能の調整を担っている可能性が考えられる。