

マイクロファージの運動・貧食に関わる遺伝子の検索および解析

●八木 良平

(財) 大阪バイオサイエンス研究所

研究の目的と進め方

マクロファージは血管内皮への浸潤、主として酸化LDLの取り込み、泡沫化といった一連の動態を示し、粥状動脈硬化の初期病変成立過程に深く関与することが知られている。これらの動態は、細胞運動・貧食・エンドサイトーシス等においてみられる分子機構を利用していると考えられる。本研究では、細胞運動・貧食・エンドサイトーシスに関与する可能性のある分子を網羅的に検索し、それらのマクロファージの動態への関与を調べることで、免疫、動脈硬化等の理解への新しい知見を与え、医学に貢献することを目的とする。

細胞の運動・貧食・エンドサイトーシス過程は、細胞骨格・膜輸送等が適切にコーディネートされることにより成り立つと考えられる。パキシリンは、このような細胞骨格・膜輸送の多数の制御蛋白質と結合し、マクロファージの動態に関与すると考えられているインテグリン裏打ちアダプター分子である。本研究では、先ず、パキシリンと結合しマクロファージの動態変化過程に深く関わると予想される分子に着目し、その主要な機能担うドメインを指標にデータベース検索する。次に検索により得た分子群が、マクロファージの動態に関与するかについての検討を行う。さらにマクロファージの動態に関与するものに関しては、それらと結合性する分子のスクリーニングを行い、マクロファージの動態に関与する多数の分子群を明らかにしていく。

2001年度の研究の当初計画

パキシリン結合性 ARFGAP 蛋白質、PAG3 は膜輸送の制御因子 ARF 低分子量 G 蛋白質に対する GAP ドメイン (ARFGAP) を持ち、マクロファージ及び動脈硬化の泡沫化した細胞での発現が認められた。そこでこの ARFGAP ドメインを指標にデータベース検索により複数(6種類)のパキシリン結合性 ARFGAP 蛋白質の存在を明らかにしていた(前年度の研究成果)。

そこで前年度から本年度にかけ、これらのパキシリン結合性 ARFGAP 蛋白質がマクロファージの動態変化に関与するかについて、また関与したものについてはその結合分子のスクリーニングを計画した。

2001年度の成果

パキシリン結合性 ARFGAP 蛋白質のうち PAG2, PAG3 は、細胞運動、マクロファージの貧食、エンドサイトーシスのいずれにも関与することが明らかとなった。

PAG2 と PAG3 のプロリンに富む領域に結合する分子をスクリーニングしたところ、細胞骨格、膜輸送等の制御に関与し、マクロファージの動態に関与することが予想される多数の分子(アンフィファイジン、インターセクチン等)の結合が明らかとなった。これらの分子にはプロリンに富む配列を認識する SH3 ドメインが存在し、PAG2 と PAG3 に対して異なる結合性を示した。

国内外での成果の位置づけ

近年、ARFGAP 蛋白質は膜輸送以外に、細胞骨格系、細胞増殖系のシグナル伝達分子群と結合し、細胞の動態に関与すると考えられている。我々がスクリーニングの結果得た ARFGAP 蛋白質結合分子群は、この考えを強く支持する機能(ドメイン)を持つものであった。

達成できなかったこと、予想外の困難、その理由

PAG2 および PAG3 に対する結合分子がマクロファージの動態に関与しているか、またマクロファージや動脈硬化病変部位で発現しているかについては、現在検討中である。

今後の課題

遺伝子欠損マウス作成、RNA 干渉等により、我々が見出した分子群のマクロファージの動態・動脈硬化への関与について検討する。

成果公表リスト

・202182208

Mazaki, Y., Hashimoto, S., Okawa, K., Tsubouchi, A., Nakamura, K., Yagi, R., Yano, H., Kondo, A., Iwamatsu, A., Mizoguchi, A. and Sabe, H. : An ADP-Ribosylation Factor GTPase-activating Protein Git2-short / KIAA0148 Is Involved in Subcellular Localization of Paxillin and Actin Cytoskeletal Organization. *Mol. Biol. Cell.* vol. 12, No. 3, pp. 645-662, 2001.