

Title	炎症性疾患におけるマクロファージ細胞外トラップ制御機構の解明
Sub Title	Regulation of macrophage extracellular traps (METs) in inflammatory diseases.
Author	平橋, 淳一 (Hirahashi, Junichi)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2019
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2018.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>我々は、白血球細胞外トラップの中でも、マクロファージが放出するMacrophage extracellular traps (METs) が横紋筋融解症後急性腎不全の疾患形成の鍵となることを見出し、特定の疾患のpathogenesisに関与することを世界に先駆けて発表した (Okubo K et al. Nat Med 2018)。しかし、好中球細胞外トラップ(NETs)と比較してその誘導メカニズムは未知であり、NETs誘導との相違を明らかにすることは、疾患治療標的とする意味でも重要である。in vitroにおいて、THP-1細胞 (ヒト単球細胞株) と活性化血小板の共培養によりMETsが産生されることを見出し、ヘムによって活性化された血小板との相互作用で惹起されたMETs産生は、接着因子Mac-1に対する抗体、ヒストンのシトルリン化を担う酵素peptidylarginine deiminase (PAD) の阻害薬、活性酸素阻害薬 (DPI)、白血球細胞外トラップ放出抑制薬 (ラクトフェリン)、鉄のキレート剤 (デフェロキサミン) で顕著に抑制されるという結果を得た。この結果は、METsとNETsの誘導機構の間に多くの共通点があることを示唆する。一方で、NET sには核由来DNAとミトコンドリア由来DNAが混在していることが明らかとなっているが、METsのDNAの由来についてはまだ実験結果が得られておらず、その解明については今後の研究に委ねている。我々は、当初計画していなかった、白血球細胞外トラップを構成するヒストンが、いかに炎症を惹起するのかという下流のメカニズムを探索する実験系をたてて検証した。金属同位体標識抗体を用いて細胞内外のタンパク質を検出するCyTOF (cytometry by time-of-flight) 技術に応用し、急性炎症惹起性タンパクであるヒストンを投与したマウスの白血球を細胞表面マーカーで識別し、同時に細胞内リン酸化シグナルを単一細胞ごとに検出した。その結果、ヒストン投与後CD11b+Ly6G+ (好中球分画) 細胞が増加し、その分画の一部でSTAT1,3,5やIkbαのリン酸化が亢進した。</p> <p>We found that Macrophage extracellular traps (METs) released by macrophages among leucocyte extracellular traps are involved in the pathogenesis of diseases (Okubo K et al. Nat Med 2018). However, its induction mechanism is hardly known as compared to neutrophil extracellular trap (NETs), and it is important to uncover differences in terms of therapeutic targeting. We have successfully induced METs by co-culture of macrophages and activated platelets in vitro, and METs production triggered by heme-activated platelets could be prevented by an antibody against adhesion molecule Mac-1, an inhibitor of peptidylarginine deiminase, which is responsible for histone citrullination, reactive oxygen species inhibitor(DPI), leucocyte extracellular trap release inhibitor (lactoferrin), iron chelating agent (deferrioxamine). These results suggest that METs and NETs have many similarities in their induction mechanism.</p> <p>We have experimentally verified an experimental system to search for the downstream mechanism of NETs and METs, how the histone derived from the leukocyte extracellular trap, which was not originally planned, causes inflammation. We apply CyTOF (cytometry by time-of-flight) technology to detect proteins inside and outside of cells using metal isotope labeled antibody, and distinguish white blood cell of mouse treated with acute inflammation protein histone with cell surface marker. At the same time, intracellular phosphorylation signals were detected per single cell. As a result, CD11b + Ly6G + (neutrophil fraction) cells transiently increased after histone administration, and phosphorylation of STAT 1, 3, 5 and Ikbα was enhanced in part of the neutrophil fraction.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000005-20180077

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部クラスター部門	職名	専任講師	補助額	500（特B）千円
	氏名	平橋 淳一	氏名（英語）	Junichi Hirahashi		
研究課題（日本語）						
炎症性疾患におけるマクロファージ細胞外トラップ制御機構の解明						
研究課題（英訳）						
Regulation of Macrophage extracellular traps (METs) in inflammatory diseases.						
1. 研究成果実績の概要						
<p>我々は、白血球細胞外トラップの中でも、マクロファージが放出する Macrophage extracellular traps (METs) が横紋筋融解症後急性腎不全の疾患形成の鍵となることを見出し、特定の疾患の pathogenesis に関与することを世界に先駆けて発表した (Okubo K et al. Nat Med 2018)。しかし、好中球細胞外トラップ (NETs) と比較してその誘導メカニズムは未知であり、NETs 誘導との相違を明らかにすることは、疾患治療標的とする意味でも重要である。in vitro において、THP-1 細胞 (ヒト単球細胞株) と活性化血小板の共培養により METs が産生されることを見出し、ヘムによって活性化された血小板との相互作用で惹起された METs 産生は、接着因子 Mac-1 に対する抗体、ヒストンのシトルリン化を担う酵素 peptidylarginine deiminase (PAD) の阻害薬、活性酸素阻害薬 (DPI)、白血球細胞外トラップ放出抑制薬 (ラクトフェリン)、鉄のキレート剤 (デフェロキサミン) で顕著に抑制されるという結果を得た。この結果は、METs と NETs の誘導機構の間に多くの共通点があることを示唆する。一方で、NETs には核由来 DNA とミトコンドリア由来 DNA が混在していることが明らかとなっているが、METs の DNA の由来についてはまだ実験結果が得られておらず、その解明については今後の研究に委ねている。我々は、当初計画していなかった、白血球細胞外トラップを構成するヒストンが、いかに炎症を惹起するのかという下流のメカニズムを探索する実験系をたてて検証した。金属同位体標識抗体を用いて細胞内外のタンパク質を検出する CyTOF (cytometry by time-of-flight) 技術を応用し、急性炎症惹起性タンパクであるヒストンを投与したマウスの白血球を細胞表面マーカーで識別し、同時に細胞内リン酸化シグナルを単一細胞ごとに検出した。その結果、ヒストン投与後 CD11b+Ly6G+ (好中球分画) 細胞が増加し、その分画の一部で STAT1,3,5 や IκBα のリン酸化が亢進した。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>We found that Macrophage extracellular traps (METs) released by macrophages among leucocyte extracellular traps are involved in the pathogenesis of diseases (Okubo K et al. Nat Med 2018). However, its induction mechanism is hardly known as compared to neutrophil extracellular trap (NETs), and it is important to uncover differences in terms of therapeutic targeting. We have successfully induced METs by co-culture of macrophages and activated platelets in vitro, and METs production triggered by heme-activated platelets could be prevented by an antibody against adhesion molecule Mac-1, an inhibitor of peptidylarginine deiminase, which is responsible for histone citrullination, reactive oxygen species inhibitor (DPI), leucocyte extracellular trap release inhibitor (lactoferrin), iron chelating agent (deferoxamine). These results suggest that METs and NETs have many similarities in their induction mechanism. We have experimentally verified an experimental system to search for the downstream mechanism of NETs and METs, how the histone derived from the leukocyte extracellular trap, which was not originally planned, causes inflammation. We apply CyTOF (cytometry by time-of-flight) technology to detect proteins inside and outside of cells using metal isotope labeled antibody, and distinguish white blood cell of mouse treated with acute inflammation protein histone with cell surface marker. At the same time, intracellular phosphorylation signals were detected per single cell. As a result, CD11b + Ly6G + (neutrophil fraction) cells transiently increased after histone administration, and phosphorylation of STAT 1, 3, 5 and IκBα was enhanced in part of the neutrophil fraction.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			