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 Jittle 学事振興資金研究成果実績報告書 (2018.) JaLC DOI Abstract 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pat hogenesis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製起されたMETs産生は、接着因子Mac-Iに対する抗体、ヒストンのシトルリン化を担う酵素のpptidylarginine deliminase(PAD)の阻害薬、活性酸素阻害薬(DPI)、自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には核由来のNAとミトコンドリア由来のNA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。金属同位体構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、急性炎症を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、同時に細胞内ソのアンカンスカニズムを探索する実験系をたてて検証した。金属同位体構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、急性炎症を惹起性タンパクであるヒストンを投与したなでのよりに対した。その結果、ヒストン投与後CD111b+Ly6G+(好中球分画)細胞が増加し、その分画の一部でSTAT1、3、5やIkBのリン酸化が近上た。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 felase inhibitor (lactoferrin), iron chelating agent (deferoxamine	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					
Publisher							
Publisher 慶應義塾大学 Publication year Jittle 学事振興資金研究成果実績報告書 (2018.) Jal.C DOI Abstract 我々は、白血球艇股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) が構致筋酸解疟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pat hogenesis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、好中球艇股外トラップ(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、疾患治療療的とする意味でも重要である。in vitroにおいて、ThP-14舰防(トール・単位化された血小板との相互作用で菱起されたMETs 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菱起されたMETs 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菱起された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、近性酸素阻害薬(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(デフェロナリン)で顕著を抑制されるといる結果を得る。この結果は、METsとNETsの誘導機構の間に多くの共変に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要ねている。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とストンが、いかに炎症を葱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機能した。全面回位体標識抗体を用いて細胞内外のタンパクであるエストンを投与したマクスの白血球を細胞表面マーカーで30別し、自時に細胞内のリンドグラ管を検出するCyTOFに表した。マの結果、ヒストン投与後CD1119+LyGG+(好干球分面)細胞が増加しての分面の一部でSTAT1,3,5や1KBのリン酸化が亢進した。 We found that Macrophage extracellular traps (METs) released by macrophages among leucocyte extracellular traps production tringgered by heme-activated platelets on the production tringgered by heme-activated platelets on the part production tringgered by heme-activated platelets on the production tringered by heme-activated platelets on the production tringered by heme-activated platelets on the production tringered by heme-							
Publication year 2019 学事振興資金研究成果実顧報告書 (2018.) Julice 学事振興資金研究成果実顧報告書 (2018.) Julice 対なくは、自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) が模域節熱解症後急性腎不全の疾患形成の鍵となることを見出し、特定の疾患の病したの疾患の疾患の疾患の疾患に関すすることを世界に失難けて発表した(Okubo fe tal. Nat Med 2018)。しかし、努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、疾患治療療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・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身野薬pentylarginine deriminase (PAD)の限音楽、は放棄限制等案 (DPI)、自血球細胞外トラップ放出抑制薬(ラクトフェリン)、鋏のキレート剤(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DMAとミトコンドリア由来DMAが提在していることが明らかとなっているが、METsのDMA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、当初計画しているからた、自血球細胞外トラップを構成するとストンが、いかに炎症を惹起れのメシバグワをを持っれたおらず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シバグの資を検出するCyTOF(cytometry by time-of-flight)技術を応用し、急性炎症薬起性タンパクであるヒストンを投与したマウスの自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ガナルを単-細胞にとに検出した。その結果、ヒストン投与後CD114b-LyGG+(好中球分画)細胞が増加し、その分画の一部でSTAT1.3.5やIRBのリン酸化が亢進した。 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 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 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 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 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 traps (METs) and its inportant to uncover differences in t							
Jal.C DOI Abstract 様々は、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) が検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pat hogenesisに関与することを世界に投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[DP])、白血球細胞外トラップ放出抑制薬(ラクトフェリン)、鉄のキレートリンイルを担う酵素の中間が表(ラクトフェリン)、鉄のキレートリンイルを担う酵素の中間が表(ラクトフェリン)、鉄のキレートリアは不知れが混在していることが明らかとなっているが、METsのDMAの由来については声楽を開き薬[DP])、白血球細胞からとなっているが、METsのDMAの由来については対象で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DMAの由来については対象が表が表が表が表が表が表が表が表が表が表がまままが表がまままが表がまままが表がまままが表がまままが表がまままが表がまままが表がまままが表がまままが表がまままが表がまままが表がまままが表がままます。 マ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、白血球細胞外外トラップを構成するヒストンが、いかに炎症を整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、急性炎症差起性タンパクであると入ようを投与したマウスの白血球を細胞表面マカーで強制し、同時に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、急性炎症差起性タンパクであると入トンを投与したマウスの自動を対すあれば、その経巣、ヒストン投与後CD11b+Ly6G+(好中球分画)細胞が増加し、その発用、とストン投与後CD11b+Ly6G+(好中球分画)細胞が増加し、その発用、その経巣、ヒストン投与後CD11b+Ly6G+(好中球分画)細胞が増加し、その経り、その経り、とストン投与後CD11b+Ly6G+(好中球分画)細胞が増加し、その経り、とないなどのでは、まないなどのでは、表はなどのでは、まないなどのでは、まないなどのでは、まないなどのでは、まないなどのでは、まないなどのでは、などのでは、まないなどのでは、まないなどのでは、まないなどのでは、まないなどのでは、まないなどのでは、まないなどのでは、まないなどのでは、							
Abstract 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) が模数筋酸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pat hogenesis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、疾患治療機的とする意味でも重要である。in vitrot. Tr. THP-1相間(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衰起された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き酵素peptidylarginine deiminase(PAD)の阻害薬、活性酸素阻害薬(DPI)、自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の由来については主きの研究に委在いる。我々は、当初計画していなった、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。金属向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、急性炎症差起性タンパクるセストンを発力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ジ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+(好中球分面)細胞が増加し、その分面の一部でSTAT1,3.5やlkBcのリン酸化が亢進した。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 neutrophile extracellular trap (NETs), and it is important to uncover differences in terms of therapeutic targeting. We have successfully induced METs by oc-culture of macrophages and activated platelst 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 voygen species inhibitor(Pyl), leucocyte extracellular trap, which is seponsible for histone citrullination, reactive voygen species inhibitor(Pyl), leucocyte 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 protei	•						
表々は、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) が複数筋酸解症後急性腎不全の疾患形成の鍵となることを見出し、冷症の疾患のphonogenesisに関与することを呼吸に駆いて発表した(CMubo 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(ヒト単珠細胞株)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自酵素のpetidylargninne 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(デフェロキサシン)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の誘導機制の間に多くの共通点があることを完強する。つか、NETs には核由来DNAとミトコントリア由来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シリア由来のスカニズムを探索する実験系をたてで検証した。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、急性炎症を整起するのかとハンデンをとかき上入と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ブ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+LyGG+(好中球分画)細胞が増加し、その分画の一部でSTAT1.3.5 Pks NBGのリン股化が方達した。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 outly 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 (Di), 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-flig		学事振興資金研究成果実績報告書 (2018.)					
traps (METs) が棲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pat hogenesis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、へ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、接着国子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)、自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適点があることを示唆する。一方で、NETsには核由来DNAとまトコンドリア由来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大を接近した。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CD11bt-LyG6(好中球分画)細胞が増加し、その分画の一部でSTAT1,3.5やIkBなのリン酸化が亢進した。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 outled 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 infammation. We apply CyTOF (cytomety time-of-flight) technology to detect proteins inside and outside of cells using metal isotope labeled antib	JaLC DOI						
Genre Research Paper	Abstract	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pat hogenesis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、へ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、接着因子和c-1に対する抗体、ヒストンのシトルリン化を担う酵素のeptidylarginine 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を切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ブ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IkBaのリン酸化が亢進した。W 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)					
	Notes						
URL https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000005-20180077	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.

2018 年度 学事振興資金(個人研究)研究成果実績報告書

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		100 (14D) TD

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

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 lkB α のリン酸化が亢進した。

2. 研究成果実績の概要(英訳)

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 IkB α was enhanced in part of the neutrophil fraction.

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)				