

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		病原体に対する新規細胞応答機構の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Elucidation of the mechanism(s) behind a novel cellular response to pathogens.			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓)ホープロ	名)アリソン ジーン	研究期間 B	2017 ~ 2018 年
	漢字 CB	Hobro	Alison Jane	報告年度 YR	2018 年
	ローマ字 CZ	Hobro	Alison Jane	研究機関名	大阪大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		大阪大学免疫学フロンティア研究センター生体フォトニクス研究室 特任助教			
概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)					
<p>本研究課題の目的は、1) 線維芽細胞において液胞様空胞構造の形成を誘発するイオノフォアを同定すること、2) 他の細胞型においても同じ現象を示すか検証すること、および3) 関与する細胞経路を解明することである。</p> <p>線維芽細胞において液胞様空胞構造の形成を誘起する複数のイオノフォアを同定したが、細胞内での液胞様空胞の分布は誘起分子により異なることがわかった。ATP は細胞質内にまばらに分布する液胞様空胞を生成するが、ナイジェリシン (K<sup>+</sup>イオノフォア) の場合は細胞の液胞様空胞は細胞質の脂質に富む領域を排除するように分布し、カルシマイシン (Ca<sup>2+</sup>イオノフォア) では脂質に富む領域が液胞様空胞の間に散在する。細胞生存率は著しく異なり、ナイジェリシン刺激細胞は何時間も生存する一方で、カルシマイシンでの1時間刺激またはATPでの3時間刺激で細胞死が起きる。また、すべてのイオノフォアが液胞様空胞形成を誘起するわけではなく、例えばイオノマイシン (Ca<sup>2+</sup>イオノフォア) 細胞は液胞様空胞を形成しない。誘発分子による刺激に対して、マクロファージ (例えば、J774、Raw 264.7)、内皮細胞 (例えば、HUVEC) および上皮細胞 (例えば、HeLa)、ならびに初代細胞 (例えば、骨髄修飾マクロファージ) を含む多くの細胞株が液胞様空胞を形成した。阻害剤を用いた実験による形成速度 (刺激後10~20分間) の解析では、de novo RNA およびタンパク質合成は液胞様空胞形成には必要なく、アポトーシスも関与しないことが示された。多数のTLRアゴニストにより細胞を刺激することで、液胞様空胞形成には共通の経路があり、p38MAPキナーゼ経路がその1つであることを示唆する結果が得られており、現在はこれの検証を行っている。本研究課題により得られた成果の公表準備を進めている。</p>					
キーワード FA	Raman Spectroscopy	Imaging	Immunology	Pathogen	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要 <sup>EZ</sup>

The objectives of this project were: 1) investigate which ionophores trigger formation of vacuole-like structures in fibroblasts, 2) determine if other cell types exhibit the same phenomenon and 3) try to establish the cellular pathway(s) that are involved.

Several ionophores were identified as triggers for the vacuole-like formation in fibroblasts, however, their distribution within cells appears to vary depending on the trigger molecule. With nigericin (K<sup>+</sup> ionophore) the “vacuole region” of the cell excludes lipid-rich regions of the cytoplasm, with calcimycin (Ca<sup>2+</sup> ionophore) lipid-rich regions are found interspersed between the vacuoles, while ATP produces vacuoles that are much more sparsely distributed within the cytoplasm. Cell viability is markedly different as nigericin-stimulated cells survive for many hours, while cell death is significant after 1 hour stimulation with calcimycin or 3 hours stimulation with ATP. Additionally, not all ionophores trigger vacuole formation, e.g. with ionomycin (also a Ca<sup>2+</sup> ionophore) cells are unaffected. Exposure to trigger molecules showed that many cell lines including macrophages (e.g. J774, Raw 264.7), endothelial cells (e.g. HUVEC) and epithelial cells (e.g. HeLa) as well as primary cells (bone marrow modified macrophages) form vacuole-like structures upon stimulation. The speed of formation (10–20 minutes after stimulation), coupled with inhibitor-based experiments, would suggest that *de novo* RNA and protein synthesis are not required for vacuole formation, nor is apoptosis involved. Stimulation of cells with a number of TLR agonists has suggested a common pathway, suggesting the p38 MAP kinase pathway may be one of the pathway(s) involved in the vacuole-like structure formation. Experiments are underway to confirm if this is the case. It is envisaged that the results generated during this project will be prepared for publication in the future.