

**【目的】** 老化細胞、炎症性細胞やがん細胞などの異常な生細胞をマクロファージ (MΦ) が如何にして認識し捕食、異化するのか、さらには健康な生細胞はいかに MΦ からの貪食を回避しているのか、その分子機構については多くが不明である。一方で、これまでに研究代表者は、MΦ による正常・異常な生細胞の認識機序の鍵となると考えられる細胞間シグナル“CD47-SIRPα系”を見出していた。SIRPαは、研究代表者が発見した 1 回膜貫通型のレセプター型分子であり、その細胞外領域を介してリガンドであり 5 回膜貫通型分子である CD47 とトランスに結合する。本研究では、研究代表者が独自に得てきたこれまでの知見を踏まえ、CD47-SIRPα系による MΦ の生細胞貪食制御の全容を分子レベルで解明しようと試みた。さらに、その成果を貪食細胞を利用した新たながん治療法の開発に応用しようと試みた。

**【方法】** CD47 を欠損した細胞で現れると想定している MΦ に対する「Eat me シグナル分子 X」の同定を行うことを目的に、野生型および CD47 欠損赤血球の膜タンパク質について生化学的な解析を行った。さらに、Eat me シグナル分子 X に対する機能阻害抗体の作製を試みた。また、脾臓 MΦ 上に発現する CD47 や SIRPα の CD47 欠損赤血球の貪食における役割を明らかにすることを目的として、CD47 および SIRPα 欠損マウス由来脾臓 MΦ を用いて CD47 欠損赤血球に対する貪食を *in vitro* で検討した。さらに、CD47 と SIRPα を共発現させた細胞株を用い、近接ライゲーションアッセイ (PLA) による同一細胞上での CD47 と SIRPα の結合を解析した。最後に、CRISPR-Cas9 システムを利用し、CD47 の発現を失ったマウス由来がん細胞 (CD47 KO がん細胞) を樹立し、得られた CD47 KO がん細胞が野生型がん細胞に比べマウス生体内において効率的に排除され得るかについて評価を行った。さらに生体内でのがん細胞の CD47 の発現抑制を行う目的で、マウス由来がん細胞を用いマウス CD47 の発現を抑制する siRNA の検索を進めた。

**【結果】** MΦ に対する「Eat me シグナル分子 X」になりうる野生型および CD47 欠損赤血球の膜タンパク質間で発現量の異なるタンパク質については見出せなかったが、「Eat me シグナル分子 X」の機能を制御している可能性のあるラットモノクローナル抗体を得た。現在、この抗体が認識するタンパク質についてこの抗体を用いたアフィニティー精製、同定を進めている。一方で、MΦ 側の CD47 や SIRPα はシス結合する可能性や、MΦ 上の CD47 や SIRPα は CD47 欠損赤血球に対する貪食作用を正に制御している可能性も見出した。さらに、CRISPR-Cas9 システムを利用し、CD47 の発現を失ったマウス由来がん細胞 (CD47 KO がん細胞) を樹立し、生体内でのがん細胞の CD47 発現抑制が、MΦ によるがん細胞の貪食排除を高め、効果的な抗腫瘍効果をもたらす可能性を明らかにした。また、CD47 の発現を抑制する siRNA の検索を進めた結果、CD47 の発現を効果的に抑制する siRNA (CD47 siRNA) を取得するに至った。この結果をもとに、リポソームに内包したマウス CD47 siRNA を用い、*in vitro* および *in vivo* において MΦ を介した抗腫瘍効果を増強するかについて現在解析を進めている。

CD47-SIRPα系によるマクロファージの新たな貪食制御機構

