

## 細胞外 ATP による制御性 T 細胞のネクローシスに Xk-Vps13a スクランブラーゼが必要であることを発見

脂質二重層からなる細胞膜を構成するリン脂質は内層・外層間で非対称的に分布している。ホスファチジルコリンやスフィンゴミエリンは主に外層に存在するのに対し、ホスファチジルセリン (PtdSer) やホスファチジリエタノールアミンは内層に限局している。このリン脂質非対称性は、アポトーシス時などの局面で崩壊し、細胞表面に暴露された PtdSer が “eat me” シグナルとして作用するなど様々な現象に関与している。このリン脂質の非対称性の崩壊は “スクランブラーゼ” と呼ばれる膜タンパク質の働きにより、リン脂質が二重層間で双方向的に輸送され、内層及び外層の組成が均一となることによる。これまでに IFReC 免疫・生化学研究室 長田重一教授のグループは、アポトーシス時に働く Xkr8-Basigin 複合体や血小板活性化時に働く TMEM16F などのスクランブラーゼを同定し、これらが死細胞の貪食や血液凝固に必須であることを明らかにした。一方、分子機構や生理作用が不明な細胞膜でのリン脂質のスクランブリング、PtdSer の暴露過程がいまだ多数存在する。

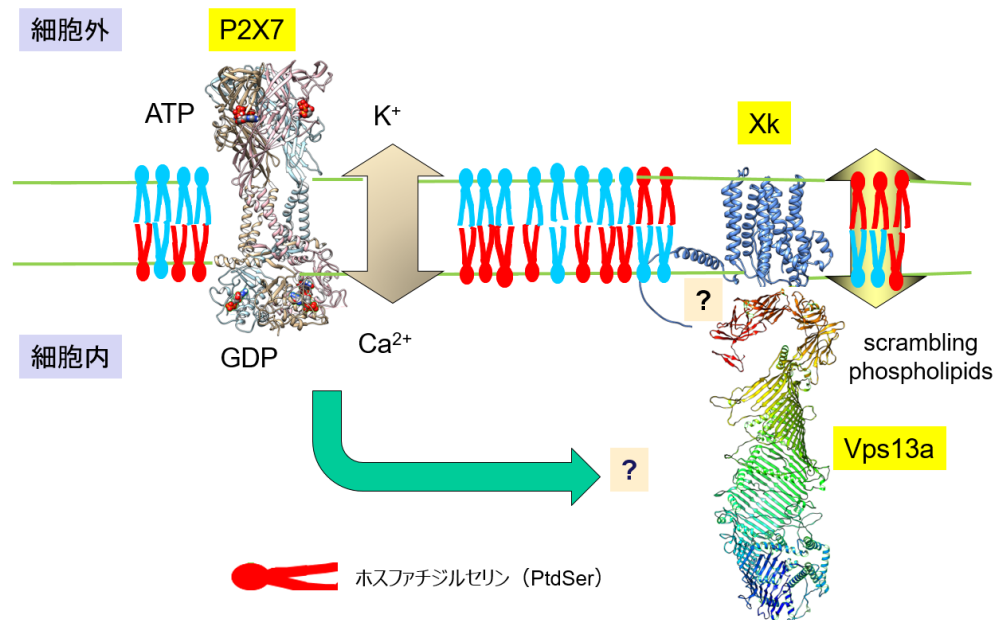
今回、同研究室の領田優太研究員、瀬川勝盛准教授（現 東京医科歯科大学教授）及び長田重一教授は、細胞外 ATP 依存性カチオンチャネル P2X7 の活性化に伴う細胞膜でのリン脂質のスクランブリングに Xk-Vps13a 複合体が必要であることを明らかにした。また同複合体は、P2X7 下流で誘導される細胞死にも必要であることを示した。

細胞外 ATP 濃度は炎症部位やがん微小環境において上昇し、マクロファージや制御性 T 細胞に発現する P2X7 を介して免疫応答を活性化する。この際、T 細胞は PtdSer を暴露、速やかにネクローシスを起こして死滅する。長田教授らは、ATP によって活性化された T 細胞の細胞膜におけるリン脂質スクランブリングの責任分子を同定するため、CRISPR sgRNA ライブラリーによる遺伝子スクリーニングを行った。その結果、神経有棘赤血球症（不随意運動・筋委縮・赤血球の変形等がみられる遺伝性疾患）の原因遺伝子として知られる Xk 及び Vps13a が同定された。Xk はスクランブラーゼ Xkr8 のホモログであり、Vps13a はオルガネラ間のリン脂質輸送を担う細胞質タンパク質として報告されている。

マウス T 細胞株にて Xk 又は Vps13a を欠損させると、P2X7 活性化に伴う細胞膜スクランブリングが著しく減弱した。さらに、P2X7 下流で誘導されるネクローシス様の細胞死は Xk あるいは Vps13a 遺伝子の欠損でほぼ完全に抑制された。Xk ノックアウトマウスから調製した CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 細胞（主に制御性 T 細胞からなる細胞集団）においても同様の結果が得られた。一方、マウス T 細胞の膜分画に存在する Xk 及び Vps13a を Blue-native PAGE にて分析したところ、両分子は複合体を形成していることが明らかとなった。また、蛍光タンパク質 GFP にて標識した Xk の細胞内局在を共焦点顕微鏡にて観察することにより、同複合体は細胞膜に存在することが示された。

以上の結果から、細胞膜に存在する Xk-Vps13a 複合体が P2X7 より何らかのシグナルを受けて活性化し、細胞膜上でリン脂質のスクランブリングを起こすというモデルが考えられた（図）。また、この結果、制御性 T 細胞の細胞死が誘導されることから、Xk-Vps13a 複合体は炎症時、細胞外に放出された ATP を介して免疫応答の賦活に寄与すると考えられる。

Xk 又は Vps13a 遺伝子の欠損によって起こる神経有棘赤血球症の発症機序は全く分かっていない。今回見出した Xk-Vps13a 複合体による細胞膜スクランブリング機構の欠陥がこれらの病態に関与している可能性が考えられる。



#### 本論文の概念図

P2X7 の細胞外ドメインに ATP が結合するとチャネルが開口し、カリウムイオン・カルシウムイオン等のカチオンが膜を通過する。また、P2X7 は細胞内ドメインに GDP 結合部位を有する。ATP を結合した P2X7 受容体から何らかのシグナルが細胞膜の Xk-Vps13a 複合体に伝達され、活性化した複合体が細胞膜リン脂質をスクランブリング、ホスファチジルセリン (図中の赤い脂質分子) を細胞表面に暴露させる。

**Journal:** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*

**Title:** Requirement of Xk and Vps13a for the P2X7-mediated phospholipid scrambling and cell lysis in mouse T cells.

**Authors:** Yuta Ryoden, Katsumori Segawa, and Shigekazu Nagata.

**DOI**

10.1073/pnas.2119286119