

บทปริทัศน์

การเก็บกินซากเซลล์ที่ตายจากอะพอพโทซิสของฟาโกไซต์

กัลยา อารีย์

บทคัดย่อ

อะพอพโทซิส เป็นกระบวนการตายของเซลล์ที่ร่างกายใช้กำจัดเซลล์ที่เสื่อมสภาพ หรือได้รับความเสียหาย กระบวนการนี้เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อหลายชนิดทั้งในภาวะปกติ และภาวะที่ร่างกายมีพยาธิสภาพ เซลล์ที่เข้าสู่กระบวนการอะพอพโทซิสจะถูกกลืนกินอย่างรวดเร็วโดยฟาโกไซต์ ซึ่งการกำจัดเซลล์ที่ตายจากอะพอพโทซิสนี้จะไม่มีการดึงดูดนิวโทรฟิลและไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาอักเสบ กระบวนการกำจัดเซลล์ที่ตายจากอะพอพโทซิส หรือ efferocytosis เป็นกระบวนการที่มีหลายขั้นตอน และต้องอาศัยการยึดเหนี่ยวระหว่างรีเซพเตอร์บนผิวฟาโกไซต์ และโมเลกุลหลายชนิดทั้งที่แสดงบนผิวเซลล์หรือหลังจาก apoptotic cell เซลล์ที่กำลังจะตายจะสื่อสารกับฟาโกไซต์โดยหลังสารที่มีคุณสมบัติเฉพาะ เรียกว่า "find-me" signals ซึ่งสามารถดึงดูดฟาโกไซต์ให้เคลื่อนเข้าหา ฟาโกไซต์จะเข้าเกาะติดและกลืนกินเซลล์ที่แสดง "eat-me" signals แต่ขาดการแสดง "don't eat-me" signals บนผิวเซลล์ การกำจัดซากเซลล์อย่างมีประสิทธิภาพจะเป็นการป้องกันการเกิด secondary necrosis ของ apoptotic cell ช่วยยับยั้งการรั่วไหลของสารภายในเซลล์ อีกทั้งฟาโกไซต์ที่กลืนกินซากเซลล์จะหลั่งสารตัวกลางที่มีฤทธิ์ด้านการอักเสบหลายชนิด ส่งผลให้มีการยับยั้งการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ดังนั้น ความผิดปกติของกระบวนการกำจัดเซลล์ที่ตายจากอะพอพโทซิส จะส่งเสริมให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ดังที่พบในโรคที่มีการอักเสบเรื้อรัง เช่น โรคภูมิคุ้มกันต้านตนเอง และโรคหลอดเลือดแดงแข็ง เป็นต้น

คำสำคัญ: การกำจัดเซลล์ที่ตายจากอะพอพโทซิส, อะพอพโทซิส, "Find-me" signals, "Eat-me" signals, "Don't eat me" signals

วันที่รับบทความ: ๒๒ สิงหาคม ๒๕๕๕

วันที่อนุญาตให้ตีพิมพ์: ๓ มกราคม ๒๕๕๖

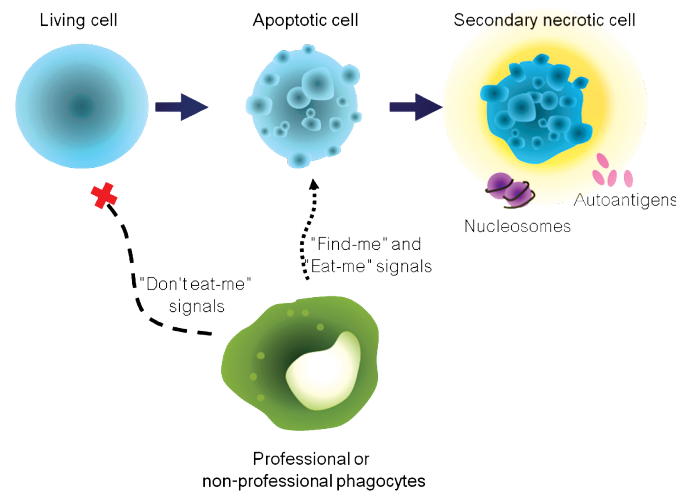
อะพอพโทซิส (apoptosis) เป็นกระบวนการตายของเซลล์ประเภทหนึ่งที่มีความสำคัญทั้งในภาวะปกติ และภาวะที่ร่างกายมีพยาธิสภาพ ในภาวะปกติกระบวนการอะพอพโทซิสจำเป็นสำหรับการรักษาสสมดุลของเนื้อเยื่อ เช่น ในกระบวนการหมุนเวียนของเซลล์เพื่อให้ได้เซลล์ใหม่ การกำจัดเซลล์ที่ได้รับความเสียหาย เซลล์ที่หมดอายุ หรือหมดหน้าที่ ตลอดจนการสร้างอวัยวะและเนื้อเยื่อในกระบวนการพัฒนาตัวอ่อนในครรภ์มารดา นอกจากนี้ในภาวะที่ร่างกายมีพยาธิสภาพ เช่น การติดเชื้อไวรัส ระบบภูมิคุ้มกันจะมีการตอบสนองเพื่อกำจัดเซลล์ที่ผิดปกติผ่านกระบวนการอะพอพโทซิส ความผิดปกติที่เกิดกับกระบวนการอะพอพโทซิสอาจเป็นสาเหตุของโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง ซึ่งสัมพันธ์กับการขาดความสมดุลระหว่าง pro-apoptotic protein เช่น Bcl-2, Bcl-X_L และ anti-apoptotic protein เช่น Bax, Bak^{๒-๓} เซลล์ที่กำลังเข้าสู่

กระบวนการอะพอพโทซิสจะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ที่มีลักษณะเฉพาะ ได้แก่ เซลล์เกิดการหดตัวมีขนาดเล็กลง "โครมาตินรวมตัวกันแน่นขึ้น" มีการแตกหักของสายดีเอ็นเอ เยื่อหุ้มเซลล์พองเป็นถุง" และเซลล์อาจแยกออกเป็นถุงเล็กๆ เรียกว่า apoptotic body โดยไม่มีการสลายของเยื่อหุ้มเซลล์" อย่างไรก็ตามเซลล์ที่ตายจากอะพอพโทซิสจำเป็นต้องถูกกำจัดอย่างรวดเร็วก่อนที่เยื่อหุ้มเซลล์จะเสื่อมสภาพเพื่อป้องกันสารภายในเซลล์รั่วไหลออกนอกเซลล์

การกำจัด apoptotic cell อาศัยฟาโกไซต์ ได้แก่ มาโครฟาจ และเซลล์เดนดริติก ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีความสามารถสูงในการกลืนกิน จึงจัดเป็น professional phagocyte นอกจากนี้ apoptotic cell อาจถูกกำจัดโดยเซลล์ข้างเคียง เช่น ไฟโบรบลาสต์ หรือเซลล์เอพิทีเลียม ซึ่งทำหน้าที่เป็น non-professional phagocyte^{๔-๖} ในภาวะปกติ

apoptotic cell จะถูกกำจัดอย่างรวดเร็ว จึงทำให้ตรวจพบ apoptotic cell ได้ในปริมาณต่ำ แม้ในเนื้อเยื่อที่มีการหมุนเวียนของเซลล์อย่างรวดเร็ว ซึ่งการถูกกำจัดอย่างรวดเร็วนี้สามารถยับยั้งการเกิด secondary necrosis ของ apoptotic cell และการรั่วไหลของสารภายในเซลล์

เป็นการป้องกันกระบวนการอักเสบที่เกิดจากการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อสารดังกล่าว (รูปที่ ๑) ดังนั้น ความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับกระบวนการกำจัด apoptotic cell จึงมีส่วนเกี่ยวข้องกับโรคภูมิคุ้มกันต้านตนเอง (autoimmune diseases) และโรคที่มีการอักเสบเรื้อรัง (chronic inflammatory diseases)^{๑๐-๑๔}



รูปที่ ๑ แสดงการเปลี่ยนแปลงของ apoptotic cell

เซลล์ที่เข้าสู่กระบวนการอะพอพโทซิสจะมีขนาดเซลล์หดเล็กลง และเยื่อหุ้มเซลล์พองเป็นถุง ในระยะนี้เยื่อหุ้มเซลล์ยังไม่เสื่อมสภาพ แต่เซลล์จะหลั่ง “find-me” signals เพื่อดึงดูดฟาโกไซต์ให้เคลื่อนที่เข้ามา ซึ่งฟาโกไซต์จะเข้ากลืนกิน apoptotic cell อย่างรวดเร็ว โดยอาศัย “eat-me” signals ที่แสดงบนผิว apoptotic cell โดยไม่มีการกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน เมื่อเกิดความผิดปกติกับกระบวนการกลืนกินนี้ apoptotic cell จะเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็น secondary necrotic cell มีการเสื่อมสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ และปลดปล่อยสารภายในเซลล์ เช่น nucleosome และ autoantigen ซึ่งเป็นสาเหตุของปฏิกิริยาอักเสบ โดยเซลล์ปกติจะมีการหลั่ง “don't eat-me” signals เพื่อป้องกันฟาโกไซต์ไม่ให้ทำอันตรายกับเซลล์

กระบวนการที่ฟาโกไซต์กลืนกินเซลล์ตายจากอะพอพโทซิส เรียกว่า efferocytosis โดยเริ่มจากฟาโกไซต์จะค้นหาและตรวจจับเพื่อกำจัดเซลล์ที่กำลังจะตายอย่างมีประสิทธิภาพก่อนที่จะตายสนิท เพื่อยับยั้งการปลดปล่อยไซโตไคน์ที่กระตุ้นการอักเสบ (pro-inflammatory cytokine) รวมทั้งสารพิษจากเซลล์ที่กำลังจะตายออกสู่เนื้อเยื่อโดยรอบ กระบวนการ efferocytosis อาศัยการยึดเหนี่ยวที่หลากหลายระหว่างรีเซพเตอร์บนผิวฟาโกไซต์และโมเลกุลที่ apoptotic cell สังเคราะห์ขึ้นมา สามารถแบ่งกระบวนการนี้ออกเป็น ๔ ขั้นตอน ได้แก่ ๑) การค้นหา apoptotic cell โดย apoptotic

cell จะปล่อยสารน้ำ (soluble mediators) รวมเรียกว่า “find-me” signals ซึ่งจะดึงดูดฟาโกไซต์ให้เคลื่อนเข้ามายังเนื้อเยื่อที่เป็นแหล่งของ apoptotic cell ๒) apoptotic cell แสดงโมเลกุลต่างๆ รวมเรียกว่า “eat-me” signals บนผิวเซลล์ ซึ่งทำให้ฟาโกไซต์ที่เคลื่อนเข้ามาสามารถเกาะกับ apoptotic cell ได้ อย่างจำเพาะ ส่งผลให้ฟาโกไซต์สามารถกลืนกินซากเซลล์ได้ ๓) apoptotic cell ที่ถูกกลืนกินจะถูกกำจัดโดยกระบวนการทำลายในวิถีฟาโกไลโซโซม (phago-lysosome pathway) ภายในฟาโกไลโซโซม ๔) ฟาโกไลโซโซมมีการปลดปล่อยไซโตไคน์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory cytokine) รวมทั้ง mediator

อื่นๆ เพื่อยับยั้งการอักเสบ ดังนั้นกระบวนการ efferocytosis จึงเป็นการกำจัด apoptotic cell ที่ไม่ก่อให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน (immunologically silent)^{๔๕,๔๖} (รูปที่ ๒)

๑. "Find-me" signals

การจับกินเซลล์ที่กำลังจะตายเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว จึงทำให้ตรวจพบ apoptotic cell ได้น้อยมาก แม้ในเนื้อเยื่อที่มีการผลิตและทำลายเซลล์ปริมาณมาก เช่น ไทมัส หรือไขกระดูก โดย "find-me" signals เป็นโมเลกุลที่ apoptotic cell ปลดปล่อยออกมาจากเซลล์เพื่อล่อลวงให้ฟาโกไซต์เคลื่อนที่เข้ามา และจับกินเซลล์เหล่านั้น ซึ่ง "find-me" signals อาจออกฤทธิ์โดยตรงต่อฟาโกไซต์โดยทำหน้าที่เป็น chemotactic factor หรือช่วยให้กระบวนการกลืนกินมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นโดยออกฤทธิ์กระตุ้นฟาโกไซต์ให้แสดงรีเซปเตอร์ชนิดต่างๆ บนผิวเซลล์ หรือทำหน้าที่เชื่อมต่อระหว่างเซลล์ (tethering) นอกจากนี้ "find-me" signals ยังมีผลทางอ้อมโดยออกฤทธิ์ที่เซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดช่วยให้เกิดการเคลื่อนที่ของโมโนไซต์จากกระแสเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อ (monocyte extravasation)^{๔๔,๔๗} สารเคมีที่ทำหน้าที่เป็น "find-me" signals มีหลายชนิด เช่น lysophosphatidylcholine, นิวคลีโอไทด์ (ATP และ UTP), chemokine (C-X3-C motif) ligand 1/fractalkine และ sphingosine 1-phosphate เป็นต้น (รูปที่ ๒) ซึ่งบางชนิดจะได้รับการปลดปล่อยจาก apoptotic cell เมื่อมีการกระตุ้นเอนไซม์ caspase

Lysophosphatidylcholine (LPC)

LPC เป็น lysophospholipid ที่ละลายในน้ำ ได้รับการสังเคราะห์จาก phosphatidylcholine (PC) โดยเอนไซม์ calcium-independent phospholipase-A2 β (iPLA2 β) ซึ่งได้รับการกระตุ้นผ่านเอนไซม์ caspase-3^{๔๘} เมื่อ apoptotic cell ปลดปล่อย LPC จะส่งสัญญาณดึงดูดโมโนไซต์ผ่านรีเซปเตอร์ G-protein-coupled receptor G2A บนผิวเซลล์ นอกจากนี้ LPC ยังสามารถกระตุ้นเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดให้แสดง monocyte chemotactic factor-1 (MCP-1) และ regulated and normal T cell expressed and secreted (RANTES) ซึ่งเป็น chemotactic factor ที่สำคัญของโมโนไซต์ จึงช่วยเพิ่มฤทธิ์ในการเคลื่อนเข้าหาเซลล์ที่กำลังจะตายได้ จากการศึกษาใน G2A knock-out mice พบว่าหนูที่ไม่มี G2A มีการอักเสบของเนื้อเยื่อที่มีอาการใกล้เคียงกับโรคลูปัส (systemic lupus erythematosus, SLE) ซึ่งผลการทดลองนี้สนับสนุนสมมติฐานเกี่ยวกับสาเหตุของการเกิดโรคภูมิคุ้มกันต้านตนเองว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับความผิดปกติในการกำจัด apoptotic cell^{๔๙}

นิวคลีโอไทด์ (Nucleotides)

เซลล์ที่ได้รับการกระตุ้นให้เกิดอะพอโทซิสในระยะแรก จะมีการหลั่งนิวคลีโอไทด์ชนิด ATP และ UTP ซึ่งเป็นผลมาจากการกระตุ้นเอนไซม์ caspase โดย nucleotide นี้จะถูกส่งผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ที่ยังไม่เสื่อมสภาพออกสู่ภายนอกเซลล์ ATP และ UTP จะออกฤทธิ์ดึงดูดโมโนไซต์ และมาโครฟาจให้เคลื่อนเข้าหา apoptotic cell ผ่าน ATP/UTP receptor P2Y2 บนผิวเซลล์^{๕๐} อีกทั้งปริมาณ ATP และ UTP ที่เหมาะสมจะสามารถกระตุ้นให้เซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดแสดง vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) และหลั่งสารเคมีโมโนไคน์ (chemokine) ซึ่งจะช่วยให้เกิดกระบวนการ extravasation ของโมโนไซต์จากกระแสเลือดมาสู่เนื้อเยื่อที่ต้องการ นอกจากนี้ UTP ที่เปลี่ยนเป็น UDP โดยเอนไซม์ภายนอกเซลล์จะยึดเหนี่ยวกับ UDP receptor (P2Y6) บนผิวฟาโกไซต์ช่วยให้เกิดกระบวนการกลืนกิน อย่างไรก็ตามการปลดปล่อยนิวคลีโอไทด์ โดยเฉพาะ ATP ที่ความเข้มข้นสูง จากเซลล์ที่ตายแบบเนโครซิส (necrosis) จะส่งผลให้เกิดกระบวนการอักเสบ เนื่องจาก ATP ความเข้มข้นสูงสามารถกระตุ้น nucleotide receptor P2X7 ทำให้มาโครฟาจหลั่ง pro-inflammatory cytokine^{๕๑,๕๒}

Chemokine (C-X3-C motif) ligand 1 (CX3CL1)/fractalkine (FKN)

FKN เป็นโมเลกุลที่ทำหน้าที่ทั้งเป็นคีโมไคน์ และ adhesion molecule มีโครงสร้างเป็น type I transmembrane protein จึงถูกปลดปล่อยจาก apoptotic cell ร่วมกับ vesicle ที่เรียกว่า apoptotic microblebs การปลดปล่อย FKN จะถูกควบคุมโดย caspase และ B-cell lymphoma 2 (Bcl-2) และเกิดขึ้นในเวลาใกล้เคียงกับการแสดง phosphatidylserine (PS) บนผิวเซลล์ FKN ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจะออกฤทธิ์ที่รีเซปเตอร์ CX3C chemokine receptor 1 (CX3CR1) บนผิวมาโครฟาจ ทำให้มาโครฟาจเคลื่อนที่มายังบริเวณที่มี apoptotic cell^{๕๓} นอกจากนี้ FKN ยังทำหน้าที่ด้านการอักเสบ และส่งเสริมกระบวนการกลืนกินโดยกระตุ้นการสังเคราะห์และหลั่ง milk fat globule epidermal growth factor 8 (MFG-E8) จากฟาโกไซต์ ซึ่ง MFG-E8 จะทำหน้าที่เป็น opsonin หรือ bridging molecule เชื่อมระหว่าง PS บน apoptotic cell และ integrins บนผิวฟาโกไซต์ ทำให้ฟาโกไซต์เกิดกระบวนการกลืนกินได้ดีขึ้น^{๕๔}

Sphingosine-1-phosphate (S1P)

S1P เป็นสารตัวกลางประเภทไขมัน (lipid mediator) ได้รับการสังเคราะห์จาก sphingosine โดยเอนไซม์ sphin-

gosine kinase (SphK) ทำหน้าที่ส่งสัญญาณไปยังเซลล์ต่างๆ โดยเซลล์เป้าหมายจะตอบสนองด้วยการเคลื่อนที่ หรือแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวน เซลล์ที่เปลี่ยนเป็น apoptotic cell และมีการกระตุ้นเอนไซม์ caspase-1 จะมีการปลดปล่อยเอนไซม์ SphK และ sphingosine ซึ่ง SphK จะทำหน้าที่เปลี่ยน sphingosine เป็น S1P ภายนอกเซลล์ S1P จะออกฤทธิ์กระตุ้นโมโนไซต์/มาโครฟาจผ่าน S1P receptor บนผิวเซลล์ ส่งผลให้มีการดึงดูดฟาโกไซต์ให้เคลื่อนเข้ามากำจัด apoptotic cell^{๒๔-๒๕} นอกจากนี้ S1P ยังออกฤทธิ์ยับยั้งการหลั่ง pro-inflammatory cytokine เช่น tumor necrosis factor (TNF)- α และ interleukin (IL)-12 ในขณะที่เดียวกันจะกระตุ้นการหลั่ง immunosuppressive mediator เช่น IL-10 และ prostaglandin E₂ (PGE₂) จากฟาโกไซต์ ดังนั้น S1P จึงมีคุณสมบัติเป็นสารตัวกลางที่ช่วยด้านการอักเสบ^{๒๖}

๒. "Eat-me" signals

นอกจากการหลั่ง "find me" signals เพื่อดึงดูดฟาโกไซต์แล้ว apoptotic cell ยังมีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบบนผิวเซลล์เพื่อให้แตกต่างจากเซลล์ปกติ ส่งผลให้ฟาโกไซต์เข้าจับและกลืนกินได้อย่างถูกต้อง โดย apoptotic cell จะมีการแสดงโมเลกุลที่รวมเรียกว่า "eat-me" signals บนผิวเซลล์ ซึ่งปัจจุบันมีการค้นพบ "eat-me" signals จำนวนมากบนผิวเซลล์ เช่น PS, annexin I และ calreticulin เป็นต้น^{๒๗} (รูปที่ ๒) ในจำนวนนี้การพลิกของ PS จากเยื่อหุ้มเซลล์ด้านในออกสู่ด้านนอกเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เป็นลักษณะเฉพาะของเซลล์ที่กำลังเข้าสู่กระบวนการอะพอพโทซิส ซึ่งสามารถนำลักษณะนี้มาใช้ประโยชน์ในการตรวจหา apoptotic cell ทั้งในหลอดทดลอง และในสัตว์ทดลอง ตลอดจนค้นหา apoptotic cell ในผู้ป่วย อีกทั้งยังสามารถนำคุณสมบัตินี้มาประยุกต์ใช้ในการให้ยาที่เจาะจงไปยัง apoptotic cell^{๒๘}

Phosphatidylserine (PS)

ในจำนวนโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็น "eat-me" signals พบว่า PS เป็นโมเลกุลที่มีผู้ศึกษากันอย่างกว้างขวาง โดยส่วนใหญ่ PS จะได้รับการสังเคราะห์ที่ endoplasmic reticulum (ER) และขนส่งมายังเยื่อหุ้มเซลล์ ผ่าน trans-Golgi และ Golgi-derived secretory vesicle ในเซลล์ปกติการขนส่ง PS จะถูกควบคุมโดยโปรตีนหลายชนิด PS ที่ได้รับการขนส่งมาถึงเยื่อหุ้มเซลล์จะถูกเคลื่อนย้ายจากเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอกเข้าสู่ด้านในอย่างรวดเร็ว โดยอาศัย aminophospholipid transporter (APLT) ทำให้ปริมาณ PS ที่เยื่อหุ้มเซลล์ด้านในมากกว่าที่พบในเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอก และเมื่อเกิดอะพอพโทซิส เซลล์จะเคลื่อนย้าย PS ออกสู่ผิวเซลล์ ทำให้พบ PS บนเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอกอย่างถาวร ซึ่งการเคลื่อนย้าย PS เกิดได้จาก

หลายกลไก เช่น การเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมภายในเซลล์ส่งผลให้มีการยับยั้ง APLT และกระตุ้น phospholipid scramblase (PLSCR) ที่เยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่ง PLSCR จะทำหน้าที่เคลื่อนย้าย phospholipid ทุกชนิดไปยังเยื่อหุ้มเซลล์ทั้งด้านในและด้านนอกแบบสุ่ม ทำให้ phospholipid ทุกชนิดกระจายตัวอยู่ทั้งด้านนอกและด้านในเยื่อหุ้มเซลล์ จึงเท่ากับเป็นการเผย PS บนผิวเซลล์^{๒๙}

การเคลื่อนย้าย PS ไปยังเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอกที่เกิดขึ้นนี้จะไม่ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียสภาพ แต่จะทำให้ฟาโกไซต์สามารถเข้าเกาะกับ PS ได้ โดยอาจเข้าเกาะโดยตรงผ่าน PS receptor (PSR) หลายชนิดบนผิวเซลล์ของฟาโกไซต์ เช่น T cell/ transmembrane, immunoglobulin, and mucin (TIM-4)^{๓๐}, brain angiogenesis inhibitor 1 (BAI1)^{๓๑}, stabilin-2^{๓๒} และ receptor for advanced glycation end products (RAGE)^{๓๓} นอกจากนี้ฟาโกไซต์ยังสามารถเกาะกับ PS ทางอ้อมผ่าน MFG-E8 หรือ growth arrest-specific 6 (GAS6) ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อม (bridging molecule) ระหว่างรีเซปเตอร์บนผิวฟาโกไซต์ และ PS บน apoptotic cell โดย MFG-E8 และ GAS6 สามารถเกาะกับ $\alpha\beta_{3}$ integrins และ Tyro3, Axl และ Mer (TAM) receptor ตามลำดับ^{๓๔-๓๖} (รูปที่ ๒) จะเห็นได้ว่าฟาโกไซต์สามารถเข้าจับกับ apoptotic cell ผ่าน PSR หลายชนิด อย่างไรก็ตามการเข้าจับ apoptotic cell ไม่จำเป็นต้องอาศัย PSR ทุกชนิดในเวลาเดียวกัน และการแสดง PSR แต่ละชนิดจะไม่เท่ากันบนผิวฟาโกไซต์แต่ละประเภท เช่น RAGE พบมากบน alveolar macrophage และ MFG-E8 พบมากบน tingible-body macrophage เป็นต้น^{๓๗, ๓๐-๓๓} อย่างไรก็ตามการแสดง PS บนผิวเซลล์เพียงอย่างเดียวยังไม่เพียงพอในการกระตุ้นฟาโกไซต์^{๓๔} ดังนั้น apoptotic cell จึงมีการเคลื่อนย้ายโมเลกุลอื่นๆ ซึ่งปกติแสดงอยู่ด้านในของเซลล์ออกสู่ผิวเซลล์ ซึ่งช่วยให้การยึดเหนี่ยวระหว่างฟาโกไซต์และ apoptotic cell มีความแข็งแรงยิ่งขึ้น โมเลกุลทั้งหมดนี้จะแสดงอย่างหนาแน่นบนผิวเซลล์บริเวณ apoptotic blebs ซึ่งเป็นบริเวณที่ช่วยส่งเสริมให้เกิดการกลืนกิน apoptotic cell^{๓๖}

Annexin I (ANXA1)

ANXA1 เป็น intracellular protein ในกลุ่ม Ca²⁺-dependent phospholipid-binding protein มีหลายหน้าที่ เช่น ยับยั้งการอักเสบ และยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ รวมทั้งช่วยให้มีการกำจัด apoptotic cell โดยฟาโกไซต์ สำหรับหน้าที่เกี่ยวกับการกำจัด apoptotic cell นั้น พบว่าเซลล์ที่ได้รับสัญญาณให้เกิดอะพอพโทซิสจากการออกฤทธิ์ของ

caspace จะมีการเคลื่อนที่ของ ANXA1 จากไซโทพลาซึมสู่เยื่อหุ้มเซลล์ และแสดงบนผิวเซลล์บริเวณเดียวกันกับ PS (co-localization) ช่วยให้ PSR บนผิวฟาโกไซโตสเข้าจับ PS อย่างมีประสิทธิภาพ^{๓๔}

Calreticulin (CRT)

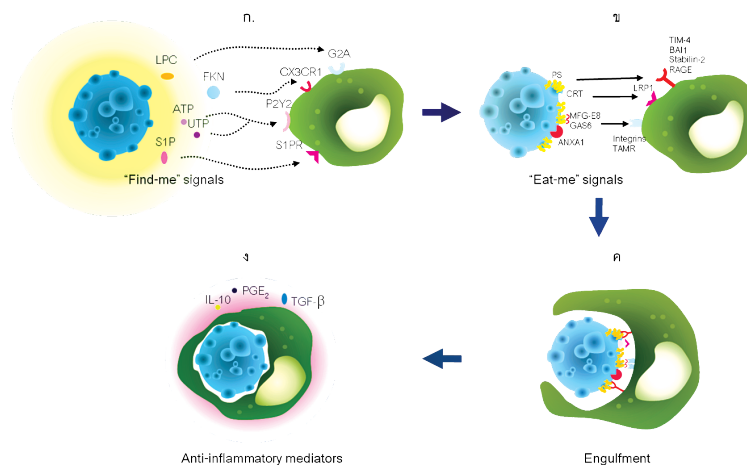
CRT เป็น Ca^{2+} - binding lectin chaperone พบใน ER ทำหน้าที่ชักนำให้โปรตีนที่สร้างขึ้นใหม่มีรูปร่างที่ถูกต้อง แต่เมื่อ CRT ได้รับการเหนี่ยวนำให้เคลื่อนที่ออกนอก ER จะสามารถทำหน้าที่ได้หลากหลาย เช่น ช่วยในการเกาะติดของเซลล์ (adhesion) การเคลื่อนที่ของเซลล์ (migration) และการกลืนกิน apoptotic cell สำหรับกลไกที่เกี่ยวข้องกับ efferocytosis นั้นเป็นผลมาจากการเคลื่อนที่ของ CRT จาก ER สู่เยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอกขณะที่เซลล์ได้รับสัญญาณให้ตายแบบอะพอพโทซิส โดย CRT จะกระจุกบนผิวเซลล์บริเวณเดียวกันกับ PS และสามารถเกาะกับ low-density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP หรือ CD91) บนผิวมาโครฟาจ^{๓๕} โดย CRT จะทำหน้าที่ร่วมกับ PS ทำให้เกิดการกลืนกิน apoptotic cell ในขั้นตอนต่อไป^{๓๔}

๓. Engulfment

เมื่อ “eat me” signals จับกับรีเซปเตอร์ชนิดต่างๆ บนผิวฟาโกไซโตส รีเซปเตอร์จะส่งสัญญาณเข้าสู่เซลล์ ส่งผลให้มี

การจัดเรียงตัวของ cytoskeleton ผ่านการกระตุ้น Rac-1 ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ยื่นออกในลักษณะที่เรียกว่า membrane ruffle เข้าปกคลุม apoptotic cell และ apoptotic cell ที่ถูกกลืนกินจะอยู่ภายใน efferosome ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับ phagosome และจะถูกย่อยสลายโดย phagolysosomal pathway^{๓๔}

Efferocytosis จะไม่ก่อให้เกิดกระบวนการอักเสบ ดังนั้นจึงเชื่อว่าการกระบวนการนี้ไม่มีการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน เนื่องจากการส่งสัญญาณผ่าน PSR บนผิวฟาโกไซโตสจะกระตุ้นเซลล์ให้มีการปลดปล่อย anti-inflammatory mediators เช่น IL-10, PGE_2 และ transforming growth factor (TGF) - β (รูปที่ ๒) ซึ่ง mediator เหล่านี้มีฤทธิ์ต่อฟาโกไซโตสในลักษณะ autocrine และ paracrine โดยเฉพาะ TGF- β มีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งไซโตไคน์และคีโมไคน์ที่ส่งเสริมการอักเสบ เช่น TNF- β , IL-6, IL-1 β และ CXCL-8 (IL-8) ซึ่งเป็นการป้องกันไม่ให้เกิดระบบภูมิคุ้มกันตอบสนองแอนติเจนจากร่างกายตนเอง (self-antigen) นอกจากนี้ TGF- β ยังสามารถกระตุ้นการทำงานของ regulatory T cell (Treg) ทำให้มีการยับยั้งการตอบสนองต่อ apoptotic cell^{๓๔, ๓๖-๓๗} อีกทั้ง apoptotic cell ยังมีการหลั่งสารที่รวมเรียกว่า “keep-out” signals เช่น lactoferrin เพื่อยับยั้งการตอบสนองของนิวโทรฟิล จึงช่วยป้องกันการเกิดกระบวนการอักเสบร่วมด้วย^{๓๔}



รูปที่ ๒ ขั้นตอนการเกิด efferocytosis

- (ก) Apoptotic cell ปล่อยสารกับฟาโกไซโตสโดยหลั่ง “find-me” signals หลายชนิด ซึ่งสารแต่ละชนิดจะออกฤทธิ์ผ่านรีเซปเตอร์ที่จำเพาะบนผิวของฟาโกไซโตส (ดูสรุปเส้นประ) ทำให้ฟาโกไซโตสเคลื่อนที่เข้าหา apoptotic cell
- (ข) ฟาโกไซโตสเข้าเกาะ apoptotic cell โดยอาศัยการจับกันระหว่าง “eat-me” signals บนผิว apoptotic cell และ รีเซปเตอร์บนผิวฟาโกไซโตส (ดูสรุปเส้นทึบ)
- (ค) การกระตุ้นรีเซปเตอร์ของฟาโกไซโตสทำให้เซลล์มีการจัดเรียง cytoskeleton ใหม่ ส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์ยื่นเข้าปกคลุม apoptotic cell เกิดการกลืนกินและทำลายเซลล์ดังกล่าว
- (ง) ฟาโกไซโตสที่กลืนกิน apoptotic cell แล้วจะหลั่ง mediator ด้านการอักเสบเพื่อยับยั้งการตอบสนองต่อแอนติเจน

๔. Don't eat me signals

เซลล์ปรกติที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียงกับ apoptotic cell จำเป็นต้องมีกระบวนการป้องกันไม่ให้ฟาโกไซโตซีสทำอันตราย ซึ่งเซลล์เหล่านี้จะมีการแสดงสัญญาณเพื่อป้องกันการเข้าเกาะติดของฟาโกไซโตซีส สัญญาณนี้เป็นกลุ่มโมเลกุลที่รวมเรียกว่า "don't eat me" signals (รูปที่ ๑) โมเลกุลที่ทำหน้าที่ยับยั้งกระบวนการ efferocytosis ที่มีการศึกษามากที่สุด คือ Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 และ CD47

Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1, CD31)

PECAM-1 เป็นโมเลกุลที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการเกาะติด และการส่งสัญญาณเข้าสู่เซลล์ ซึ่งพบบนผิวเซลล์หลายชนิด เช่น เกล็ดเลือด เม็ดเลือดขาว เซลล์เอนโดทีเลียม เป็นต้น การยึดเหนี่ยวระหว่าง PECAM-1 บนผิวมาโครฟาจ และ PECAM-1 บนผิวเซลล์ปรกติ (homophilic PECAM-1/PECAM-1 interaction) เป็นการผลักมาโครฟาจไม่ให้เข้าเกาะกับเซลล์ปรกติ ดังนั้นจึงยับยั้งการเกิด efferocytosis^{๓๓} ในขณะที่การกระตุ้น caspase ใน apoptotic cell จะส่งผลให้การแสดง PECAM-1 บนผิวเซลล์ลดลง ซึ่งจะเหนี่ยวนำให้มีการเกาะติดของมาโครฟาจกับ apoptotic cell จึงทำให้เกิดการกลืนกินซากเซลล์ในที่สุด^{๓๔} นอกจากนี้ยังพบว่า homophilic PECAM-1 interaction ส่งผลให้เกิดกระบวนการ phosphorylation ของ immunoregulatory tyrosine-based inhibition motif (ITIM) domain ซึ่งจะยับยั้ง Bax ทำให้ไม่เกิดความเสียหายของไมโทคอนเดรีย จึงช่วยป้องกันการเกิดอะพอพโทซิสของเซลล์^{๓๕}

CD47 (Integrin-associated protein, IAP)

CD47 เป็นโปรตีนที่แทรกระหว่างเยื่อหุ้มเซลล์ (integral membrane protein) ทำหน้าที่เป็นรีเซปเตอร์ให้กับโปรตีนและ adhesion molecule หลายชนิด การจับของ CD47 บนผิวเซลล์ปรกติและ integrin $\alpha_5\beta_3$ บนผิวมาโครฟาจจะส่งสัญญาณเข้าสู่เซลล์ผ่าน cytoplasmic tail ของ β_3 ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการทำหน้าที่ของ integrin $\alpha_5\beta_1$ ซึ่งเป็นการยับยั้งกระบวนการกลืนกินของเซลล์^{๓๖} นอกจากนี้การยึดเหนี่ยวระหว่าง CD47 บนผิวเซลล์ และ signal regulatory protein alpha (SIRP α) บนผิวมาโครฟาจ จะส่งสัญญาณกระตุ้น inhibitory tyrosine phosphatase เช่น Src homology-containing tyrosine phosphatase-1 (SHP-1) ภายในมาโครฟาจ ส่งผลให้เกิดการยับยั้งกระบวนการกลืนกินเช่นกัน โดยสัญญาณจาก SHP-1 จะมีฤทธิ์ต้านสัญญาณที่กระตุ้นจาก PS และ CRT เซลล์ที่เข้าสู่กระบวนการอะพอพโทซิสจะแสดง CD47 บนผิวเซลล์ลดลง เนื่องจากการกระตุ้นเอนไซม์ caspase จึงทำให้

apoptotic cell ขาดสัญญาณในการผลักมาโครฟาจให้หลุดออกจากเซลล์^{๓๗} ในขณะเดียวกัน apoptotic cell จะมีการแสดง CRT ร่วมกับ PS บนผิวเซลล์เพิ่มขึ้น ทำให้มาโครฟาจเข้าจับและกลืนกินเซลล์ได้สะดวกยิ่งขึ้น^{๓๘}

ความบกพร่องของกระบวนการ efferocytosis

Efferocytosis มีบทบาทสำคัญในการกำจัดเซลล์ที่เสื่อมสภาพหรือเซลล์ที่หมดอายุ โดยไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาอักเสบ ดังนั้นหากกลไกการกำจัดเซลล์นี้เกิดความผิดปกติจะทำให้ apoptotic cell ที่หลงเหลืออยู่มีการดำเนินไปเป็น secondary necrotic cell อย่างต่อเนื่อง (รูปที่ ๑) โดย secondary necrotic cell นี้จะกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน เนื่องจากมีการปลดปล่อยแอนติเจนจากภายในออกสู่ภายนอกเซลล์ ส่งผลให้เกิดพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อนั้นๆ ดังที่พบในโรคที่มีการอักเสบเรื้อรัง เช่น โรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) และโรคหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) เป็นต้น โดยเซลล์ที่ได้รับการกระตุ้นจากปัจจัยบางอย่าง เช่น ควันบุหรี่ใน COPD หรือ LDL ใน atherosclerosis จะเกิดอะพอพโทซิสในอัตราที่สูงกว่าปรกติมาก ซึ่งความผิดปกติของกระบวนการ efferocytosis จะยิ่งส่งเสริมให้มีการสะสม apoptotic cell เช่น foam cell ใน atherosclerosis ซึ่งเซลล์นี้จะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็น secondary necrotic cell จึงทำให้มีการกระตุ้นปฏิกิริยาอักเสบอย่างต่อเนื่อง ความบกพร่องของกระบวนการ efferocytosis ในโรคเหล่านี้ มีสาเหตุจากหลายกลไก เช่น ความบกพร่องของการส่งสัญญาณ "find-me" signals จาก apoptotic cell หรือความผิดปกติของการแสดง PSR บนผิวเซลล์ ตลอดจนความบกพร่องที่เกิดกับฟาโกไซโตซีสเอง^{๓๙-๔๑}

นอกจากนี้ ความบกพร่องของกระบวนการ efferocytosis ยังพบได้ในโรคภูมิคุ้มกันต้านตนเอง เช่น โรค lupus เนื่องจากกลไกการกำจัด apoptotic cell เป็นกลไกที่มีความสำคัญในรักษา self tolerance ช่วยให้ร่างกายไม่ตอบสนองต่อแอนติเจนของตนเองทั้งที่เป็นแอนติเจนเดิม และแอนติเจนที่ถูกปรับเปลี่ยนในระหว่างที่เซลล์เข้าสู่กระบวนการอะพอพโทซิส ความบกพร่องของกระบวนการ efferocytosis จะส่งผลให้เซลล์เกิด secondary necrosis และปลดปล่อยแอนติเจนจากภายในเซลล์ จึงทำให้เกิดการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้สังเคราะห์ autoantibody ขึ้นได้^{๔๒}

"Eat-me" signals กับ cancer immunotherapy

การใช้ยาเคมีบำบัดชนิดที่มุ่งเน้นให้เซลล์มะเร็งตายแบบอะพอพโทซิสเพียงอย่างเดียว มักจะชักนำให้ฟาโกไซโตซีสเข้าเก็บกินซากเซลล์เหล่านี้ด้วยกระบวนการ efferocytosis โดยไม่

ทำให้เกิดปฏิกิริยาอักเสบ เนื่องจากฟาโกไซตส์จะหลั่งไซโทไคน์ด้านการอักเสบ โดยเฉพาะ TGF- β จึงเกิดการทำหน้าที่ของระบบภูมิคุ้มกันในการตอบสนองต่อเซลล์มะเร็ง จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการยับยั้งการส่งสัญญาณผ่าน PSR โดยการใช้ annexin V เพื่อปิดบัง PS⁺ หรือ MFG-E8 mutant ที่สามารถจับกับ PS แต่ไม่สามารถจับกับ integrins บนฟาโกไซตส์^{๕๗} สามารถป้องกันการเกิด efferocytosis ส่งผลให้มีการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้มีการทำลายเซลล์มะเร็ง ดังนั้นการรักษาโรคมะเร็งด้วยเคมีบำบัดร่วมกับการยับยั้งกระบวนการ efferocytosis จึงอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อเซลล์มะเร็ง และนำไปสู่การกำจัดเซลล์มะเร็งได้ด้วยภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยเอง

สรุป

กระบวนการเก็บกินซากเซลล์ที่ตายจากอะพอพโทซิส หรือ efferocytosis มีกลไกที่ซับซ้อนและอาศัยโมเลกุลหลากหลายชนิด ซึ่งการทำหน้าที่ของโมเลกุลเหล่านี้อาจมีความซ้ำซ้อนกัน ทั้งนี้เพื่อให้ apoptotic cell ที่เกิดขึ้นถูกกำจัดอย่างเหมาะสม โดยไม่ก่อให้เกิดการอักเสบและการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อแอนติเจนของร่างกายตนเองที่อาจหลุดรอดจากเซลล์ในขณะที่เซลล์กำลังถูกทำลาย ดังนั้นความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับ efferocytosis ทำให้ apoptotic cell ไม่ถูกกำจัด จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่พบว่าเกี่ยวข้องกับโรคที่มีการอักเสบเรื้อรัง อย่างไรก็ตามการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้ตอบสนองต่อ apoptotic cell อาจมีประโยชน์ในการช่วยทำลายเซลล์มะเร็งภายหลังจากได้รับยาเคมีบำบัด ดังนั้นความเข้าใจในกลไกการเกิด efferocytosis อย่างถ่องแท้จะสามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อป้องกันหรือส่งเสริมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อ apoptotic cell ให้เหมาะสมกับความผิดปกติของผู้ป่วย

เอกสารอ้างอิง

- Wong RS. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *J Exp Clin Cancer Res* 2011;30:87-100.
- Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature* 2001;411:342-8.
- Leibowitz B, Yu J. Mitochondrial signaling in cell death via the Bcl-2 family. *Cancer Biol Ther* 2010;9:417-22.
- Bortner CD, Cidlowski JA. A necessary role for cell shrinkage in apoptosis. *Biochem Pharmacol* 1998;56:1549-59.
- Tone S, Sugimoto K, Tanda K, Suda T, Uehira K, Kanouchi H, et al. Three distinct stages of apoptotic nuclear condensation revealed by time-lapse imaging, biochemical and electron microscopy analysis of cell-free apoptosis. *Exp Cell Res* 2007;313:3635-44.
- Zhang JH, Xu M. DNA fragmentation in apoptosis. *Cell Res* 2000;10:205-11.
- Coleman ML, Sahai EA, Yeo M, Bosch M, Dewar A, Olson MF. Membrane blebbing during apoptosis results from caspase-mediated activation of ROCK I. *Nat Cell Biol* 2001;3:339-45.
- Kerr JF. History of the events leading to the formulation of the apoptosis concept. *Toxicology* 2002; 181-182:471-4.
- Franc NC. Phagocytosis of apoptotic cells in mammals, caenorhabditis elegans and Drosophila melanogaster: molecular mechanisms and physiological consequences. *Front Biosci* 2002;7:d1298-313.
- Parnaik R, Raff MC, Scholes J. Differences between the clearance of apoptotic cells by professional and non-professional phagocytes. *Curr Biol* 2000;10:857-60.
- Savill J, Dransfield I, Gregory C, Haslett C. A blast from the past: clearance of apoptotic cells regulates immune responses. *Nat Rev Immunol* 2002;2:965-75.
- Nagata S. Apoptosis and autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1209:10-6.
- Chekeni FB, Ravichandran KS. The role of nucleotides in apoptotic cell clearance: implications for disease pathogenesis. *J Mol Med (Berl)* 2011;89:13-22.
- Elliott MR, Ravichandran KS. Clearance of apoptotic cells: implications in health and disease. *J Cell Biol* 2010;189:1059-70.
- Ravichandran KS. Find-me and eat-me signals in apoptotic cell clearance: progress and conundrums. *J Exp Med* 2010;207:1807-17.
- Wickman G, Julian L, Olson MF. How apoptotic cells aid in the removal of their own cold dead bodies. *Cell Death Differ* 2012;19:735-42.
- Ravichandran KS. "Recruitment signals" from apoptotic cells: invitation to a quiet meal. *Cell* 2003;113:817-20.

๑๘. Grimsley C, Ravichandran KS. Cues for apoptotic cell engulfment: eat-me, don't eat-me and come-get-me signals. *Trends Cell Biol* 2003;13:648-56.
๑๙. Le LQ, Kabarowski JH, Weng Z, Satterthwaite AB, Harvill ET, Jensen ER, et al. Mice lacking the orphan G protein-coupled receptor G2A develop a late-onset autoimmune syndrome. *Immunity* 2001;14:561-71.
๒๐. Elliott MR, Cheken FB, Trampont PC, Lazarowski ER, Kadl A, Walk SF, et al. Nucleotides released by apoptotic cells act as a find-me signal to promote phagocytic clearance. *Nature* 2009;461:282-6.
๒๑. Peter C, Wesselborg S, Herrmann M, Lauber K. Dangerous attraction: phagocyte recruitment and danger signals of apoptotic and necrotic cells. *Apoptosis* 2010;15:1007-28.
๒๒. Truman LA, Ford CA, Pasikowska M, Pound JD, Wilkinson SJ, Dumitriu IE, et al. CX3CL1/fractalkine is released from apoptotic lymphocytes to stimulate macrophage chemotaxis. *Blood* 2008;112:5026-36.
๒๓. Miksa M, Amin D, Wu R, Ravikumar TS, Wang P. Fractalkine-induced MFG-E8 leads to enhanced apoptotic cell clearance by macrophages. *Mol Med* 2007;13:553-60.
๒๔. Gude DR, Alvarez SE, Paugh SW, Mitra P, Yu J, Griffiths R, et al. Apoptosis induces expression of sphingosine kinase 1 to release sphingosine-1-phosphate as a "come-and-get-me" signal. *FASEB J* 2008;22:2629-38.
๒๕. Weigert A, Cremer S, Schmidt MV, von Knethen A, Angioni C, Geisslinger G, et al. Cleavage of sphingosine kinase 2 by caspase-1 provokes its release from apoptotic cells. *Blood* 2010;115:3531-40.
๒๖. Schutters K, Reutelingsperger C. Phosphatidylserine targeting for diagnosis and treatment of human diseases. *Apoptosis* 2010;15:1072-82.
๒๗. Freeman GJ, Casasnovas JM, Umetsu DT, DeKruyff RH. TIM genes: a family of cell surface phosphatidylserine receptors that regulate innate and adaptive immunity. *Immunol Rev* 2010;235:172-89.
๒๘. Park D, Tosello-Trampont AC, Elliott MR, Lu M, Haney LB, Ma Z, et al. BAI1 is an engulfment receptor for apoptotic cells upstream of the ELMO/Dock180/Rac module. *Nature* 2007;450:430-4.
๒๙. Park SY, Jung MY, Kim HJ, Lee SJ, Kim SY, Lee BH, et al. Rapid cell corpse clearance by stabilin-2, a membrane phosphatidylserine receptor. *Cell Death Differ* 2008;15:192-201.
๓๐. He M, Kubo H, Morimoto K, Fujino N, Suzuki T, Takahashi T, et al. Receptor for advanced glycation end products binds to phosphatidylserine and assists in the clearance of apoptotic cells. *EMBO Rep* 2011;12:358-64.
๓๑. Hanayama R, Miyasaka K, Nakaya M, Nagata S. MFG-E8-dependent clearance of apoptotic cells, and autoimmunity caused by its failure. *Curr Dir Autoimmun* 2006;9:162-72.
๓๒. Lemke G, Burstyn-Cohen T. TAM receptors and the clearance of apoptotic cells. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1209:23-9.
๓๓. Segawa K, Suzuki J, Nagata S. Constitutive exposure of phosphatidylserine on viable cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:19246-51.
๓๔. Arur S, Uche UE, Rezau K, Fong M, Scranton V, Cowan AE, et al. Annexin I is an endogenous ligand that mediates apoptotic cell engulfment. *Dev Cell* 2003;4:587-98.
๓๕. Gardai SJ, McPhillips KA, Frasch SC, Janssen WJ, Starefeldt A, Murphy-Ullrich JE, et al. Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through trans-activation of LRP on the phagocyte. *Cell* 2005;123:321-34.
๓๖. Krysko DV, Vandenabeele P. From regulation of dying cell engulfment to development of anti-cancer therapy. *Cell Death Differ* 2008;15:29-38.
๓๗. Green DR, Ferguson T, Zitvogel L, Kroemer G. Immunogenic and tolerogenic cell death. *Nat Rev Immunol* 2009;9:353-63.
๓๘. Ravichandran KS. Beginnings of a good apoptotic meal: the find-me and eat-me signaling pathways. *Immunity* 2011;35:445-55.

๓๘. Brown S, Heinisch I, Ross E, Shaw K, Buckley CD, Savill J. Apoptosis disables CD31-mediated cell detachment from phagocytes promoting binding and engulfment. *Nature* 2002;418:200-3.
๔๐. Azuma Y, Nakagawa H, Dote K, Higai K, Matsumoto K. Decreases in CD31 and CD47 levels on the cell surface during etoposide-induced Jurkat cell apoptosis. *Biol Pharm Bull* 2011;34:1828-34.
๔๑. Gao C, Sun W, Christofidou-Solomidou M, Sawada M, Newman DK, Bergom C, et al. PECAM-1 functions as a specific and potent inhibitor of mitochondrial-dependent apoptosis. *Blood* 2003; 102:169-79.
๔๒. Blystone SD, Lindberg FP, LaFlamme SE, Brown EJ. Integrin beta 3 cytoplasmic tail is necessary and sufficient for regulation of alpha 5 beta 1 phagocytosis by alpha v beta 3 and integrin-associated protein. *J Cell Biol* 1995;130:745-54.
๔๓. Vandivier RW, Henson PM, Douglas IS. Burying the dead: the impact of failed apoptotic cell removal (efferocytosis) on chronic inflammatory lung disease. *Chest* 2006;129:1673-82.
๔๔. Thorp E, Subramanian M, Tabas I. The role of macrophages and dendritic cells in the clearance of apoptotic cells in advanced atherosclerosis. *Eur J Immunol* 2011;41:2515-8.
๔๕. Munoz LE, Lauber K, Schiller M, Manfredi AA, Herrmann M. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol* 2010;6:280-9.
๔๖. Bondanza A, Zimmermann VS, Rovere-Querini P, Turnay J, Dumitriu IE, Stach CM, et al. Inhibition of phosphatidylserine recognition heightens the immunogenicity of irradiated lymphoma cells in vivo. *J Exp Med* 2004;200:1157-65.
๔๗. Jinushi M, Nakazaki Y, Dougan M, Carrasco DR, Mihm M, Dranoff G. MFG-E8-mediated uptake of apoptotic cells by APCs links the pro- and antiinflammatory activities of GM-CSF. *J Clin Invest* 2007;117:1902-13.

Abstract

Clearance of apoptotic cells by phagocytes

Kalaya Aree

Division of Microbiology and Immunology, Department of Preclinical Science, Faculty of Medicine, Thammasat University

Apoptosis or programmed cell death is a physiologic process used to eliminate unwanted or damaged cells. This process occurs in many tissues during normal and pathologic processes throughout life. Cells undergoing apoptosis are rapidly removed from the body by both professional and non-professional phagocytes without neutrophil recruitment and inflammation. This phagocytic clearance or efferocytosis of the apoptotic cells is a multi-step process involving diverse interactions between a wide variety of receptors on phagocytes and ligands expressed on or secreted from apoptotic cells. The dying cells secrete unique signals called "find-me" signals which attract phagocytes to the site of apoptotic cell death. In the absence of "don't eat-me" signals, apoptotic cells are selectively recognized and phagocytosed through "eat-me" signals expressed on apoptotic cell surface. Efficient apoptotic cell removal prevents secondary necrosis of dying cells, which can release intracellular contents and cause inflammation. In addition, the release of anti-inflammatory mediators from phagocytes is necessary for silencing the immune response. Thus, the defective of apoptotic cell clearance has been linked to pathologic inflammation found in many chronic inflammatory diseases such as autoimmune diseases and atherosclerosis.

Key words: Efferocytosis, Apoptosis, "Find-me" signals, "Eat-me" signals, "Don't eat me" signals