

대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식에 미치는 Inositol-phosphatase의 영향

전북대학교 의과대학 산부인과학교실

김중현

Effect of Inositol-phosphatase on Fc Receptor-mediated Phagocytosis of Macrophages

Jong Hyun Kim

Department of Obstetrics and Gynecology, Chonbuk National University Medical School, Jeonju, Korea

ABSTRACT

Background: Fc receptor-mediated phagocytosis is a complex process involving the activation of kinases and phosphatases. FcγRIIB has been known to transduce inhibitory signals through an immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif (ITIM) in cytoplasmic domains. In this study, we examined the involvement of inositol-phosphatase in the Fc receptor-mediated phagocytosis. **Methods:** J774 cells were infected using vaccinia viral vector containing SH2 domain-containing inositol-phosphatase (SHIP) cDNA and stimulated with the sensitized sheep red blood cells. **Results:** Stimulation of J774 cells induced the tyrosine phosphorylation of SHIP which was maximal at 5 minutes. Phosphatidylinositol-3 (PI-3) kinase inhibitor (wortmannin) inhibits J774 cell phagocytosis of sensitized sheep red blood cells in a dose-dependent manner. Heterologous expression of SHIP in J774 cells inhibits phagocytosis of sensitized sheep red blood cells in a dose-dependency manner, but catalytically dead mutants of SHIP has no effect on phagocytosis. **Conclusion:** These results strongly suggest that the active signals mediated by PI-3 kinase are opposed by inhibitory signals through SHIP in the regulation of Fc receptor-mediated phagocytosis. (*Immune Network* 2005;5(3):144-149)

Key Words: Fc receptor, macrophage, SH2 domain-containing inositol-phosphatase (SHIP), phagocytosis

서 론

항체는 독소, 바이러스, 세균 등의 병원체에 결합하여 면역복합체(immune complex)를 형성하여 병원체를 제거하는 등 체액성 면역체계에 중요한 작용을 하여 질병을 방어하는 능력이 있다. 또 류마티스성 관절염, 자가면역성 갑상선염, 전신성 루프스 등 자가면역질환의 발생에도 중요하게 관여한다고 알려져 있다(1,2).

면역세포의 Fc 수용체에 대한 연구의 일환으로 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식에 대한 연구는 면역체계

에서 대식세포의 바이러스 등 다양한 항원들의 세포 내 흡수(탐식)가 인접 T세포에 항원 인식을 유도하는데 중요하게 관여하며, 인체 면역체계에 그 중요성을 갖고 있으며 탐식과정 자체가 아주 복잡한 과정을 거치므로 Fc 수용체를 통한 신호전달연구에 많이 이용되고 있다(7-9). 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식과정은 kinase와 phosphatase의 활성을 포함하는 극히 복잡한 신호전달 과정을 거쳐 이루어지므로 어느 단일 모델을 제시하여 탐식 과정에 연관된 다양한 구조와 현상을 설명하기는 불가능하며, 그 복잡성은 일부는 Fc 수용체의 다양성, 그리고 탐식되는 물질의 다양성에 기인한다고 알려져 있다(8-10). 따라서 그동안의 많은 연구들이 Fc 수용체 자체의 연구에 집중되어 대식세포의 세포막에는 FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb 및 FcγRIII 등의 subtypes들이 있으며, 이들 중 FcγRI, FcγRIIa 및 FcγRIII들은 활성 수용체로

책임저자 : 김중현, 전북대학교 의과대학 산부인과학교실

☎ 561-180, 전북 전주시 덕진구 금암동 산2-20번지

Tel: 063-250-2290, Fax: 063-254-4833

E-mail: hyeon69@chonbuk.ac.kr

이 논문은 2004년도 전북대학교 지원 연구비에 의하여 연구되었음.

써 세포질 영역에 공통적으로 immunoreceptor tyrosine activation motif (ITAM)가 존재하여 ITAM 특정부위의 타이로신-인산화를 통해 Fc 수용체를 통한 탐식과정에 양성적으로 작용하고, Fc γ RIIb는 억제 수용체로써 immunoreceptor tyrosine inhibition motif (ITIM)를 갖고 있어 음성적으로 작용함이 밝혀졌다(9-14). 그러나 Fc 수용체를 통한 탐식과정에서 Fc 수용체의 이러한 특정 motif (ITAM 또는 ITIM)들이 어떠한 메커니즘을 통하여 Fc 수용체를 통한 신호전달에 양성 또는 음성으로 작용하는지 아직 밝혀지지 않았다. 최근 연구에 의하면 SH2 domain을 갖고 있는 이노시톨-포스파테이즈(SH2-containing inositol-phosphatase, SHIP)가 세포질 영역에 ITIM을 갖고 있는 Fc γ RIIb 같은 억제 수용체에 결합되어 있음이 보고되었다(15-18). 따라서 SHIP가 Fc 수용체를 통한 탐식과정에서 억제 수용체인 Fc γ RIIb의 ITIM을 통한 음성적 작용에 중요한 매개체로 작용하리라 쉽게 예측할 수 있다. 또한 SHIP에 변이가 일어난 마우스에서 폐장에 이상이 발생하며, 생존시간 단축 등 실제 변화를 일으켜 이 효소의 기능에 대한 관심이 높아지고 있다(19,20).

대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식은 세포 내 PI-3 kinase의 활성화와 밀접한 관계가 있으며(8), 또 PI-3 kinase의 효소 생성물인 phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphates는 대표적인 SHIP의 표적 기질이므로 Fc 수용체를 통한 대식세포의 탐식과정 중에 일어나는 PI-3 kinase에 의한 활성화적 신호를 SHIP가 차단할 가능성을 강하게 시사하고 있다 (21,22).

본 연구는 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식과정에서 SHIP가 실제 음성적으로 작용하는가를 확인코자 실시하였다. 그 결과 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식과정에서 SHIP가 뚜렷하게 탐식을 억제함을 관찰하였다.

재료 및 방법

실험재료. 면양 적혈구(sheep red blood cells)와 면양적혈구에 대한 항체는 ICN/CAPPEL (Costa Mesa, CA, USA)사의 제품을, anti-phosphotyrosine 단클론 항체(4G10)는 Upstate Biotechnology Inc. (Lake Placid, NY, USA)사 제품을, anti-Shc 및 anti-SHIP 항체는 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA)사 제품을, DMEM, fetal bovine serum (FBS) 등 세포 배양 시약류는 Life Technologies (Gaithersburg, MD, USA)사 제품을, Pansorbin은 Calbiochem (La Jolla, CA, USA)사 제품을, Enhanced Chemiluminescence (ECL) kit는 Amersham (Arlington Heights, USA)사 제품을, Wortmannin 등 일반 시약류는 Sigma (St Louis, MI, USA)사 제품을 구입하여 사용하였다.

세포배양 및 recombinant vaccinia viral vector 발현. 대식 세포주인 J774 세포(ATCC Cat. NO. 67-TIB)는 10% FBS가 포함된 DMEM 배지에서 배양하였다. Recombinant

vaccinia viral vector (pSC65-vector)와 wild 및 mutant type의 SHIP cDNA를 pSC65-vector에 끼워 넣은 recombinant vector (pSC65-SHIP 및 pSC65-delta CAT)들은 미국 인디애나 의과대학의 Dr. Durden으로부터 제공받아 사용하였다. J774세포에 바이러스를 감염시킬 때 사용된 바이러스 농도는 MOI (mortality of infection)로 표시하였다. MOI의 의미는 숙주 세포 J774 세포수 당 여기에 처리하는 바이러스의 PFU (Plaque Forming Unit) 값을 의미한다. 그리고 감염 후 바이러스 발현 정도를 확인하기 위해 바이러스에 감염된 세포의 β -galactosidase의 활성을 측정하였으며, 이때 감염세포(10^5 cells)를 0.1% X-gal과 37°C에서 60분간 반응시킨 후 595 nm에서 흡광도를 측정하여 실험 때마다 바이러스의 발현을 조절하였다.

면양적혈구의 IgG sensitization 및 phagocytosis 측정. 면양적혈구의 IgG sensitization은 상판화된 면양 적혈구 혈장을 구입하여 멸균된 주사기로 적혈구 혈장을 시약 병으로부터 뽑아 멸균된 15 ml 원심관에 넣고 phosphate buffered saline으로 혈장 단백을 제거하기 위해서 세척한 후 적혈구(10^6 세포)에 항 면양적혈구 항체를 1 μ g 넣어 상온에서 1시간 동안 반응시켜 면양 적혈구 세포막에 IgG를 coating하였다. 면양적혈구의 IgG sensitization은 매 실험 때마다 실시하여 항상 신선한 적혈구를 탐식 측정에 이용하였다. Phagocytosis는 IgG가 결합된 면양 적혈구를 대식세포에 가하였을 때 Fc 수용체를 통하여 적혈구가 대식세포 내로 흡수되는데 이때 대식세포 내에 존재한 적혈구를 Wright-Giemsa 염색으로 적혈구 세포수를 계산함으로써 측정하였다. 즉 대식 세포주인 J774 세포를 12 well plate를 이용하여 37°C, CO₂ incubator에서 24시간 배양 후 IgG가 결합된 면양 적혈구를 J774세포에 100 : 1 비율로 넣고 같은 조건하에서 배양한 후 대식세포를 염색하여 Fc 수용체를 통한 탐식을 측정하였다. 이때 대식세포에 흡수되지 못한 적혈구는 대식세포를 염색하기 전에 H₂O를 5초 동안 대식세포에 처리함 (water shock)으로써 제거하였다. 탐식은 Phagocytic Index 값으로 표시하였으며, 그 계산법은 다음과 같다.

Phagocytic Index = % of Phagocytic cells \times average numbers of sheep red blood cells engulfed by 100 Phagocytic cells

SHIP 면역침전 및 면역염색. 대식세포인 J774세포(6×10^6 cells)를 extraction buffer (1% Triton-X 100, 10 mM Tris, pH 7.6, 50 mM NaCl, 0.1% BSA, 1 mM PMSF, 1% aprotinin, 5 mM EDTA, 50 mM NaF, 0.1% 2-ME, 5 μ M phenylarsine oxide, 100 μ M sodium orthovanadate)로 lysis시킨 다음 4°C, 15,000 \times g에서 30분간 원심 분리하여 깨지지 않은 세포를 제거하였다. 그 상층액에 가토 anti-Shc 항체 5 μ l을 가하여 4°C에서 120분간 반응시킨 후 다시

10% formalin-fixed *Staphylococcus aureus* (Pansorbin) 50 μ l 을 가하여 4°C에서 60분간 반응시켰다. 이 면역침전물을 extraction buffer로 3회 세척하여 면역침전물을 얻었다.

면역침전물 및 대식세포 whole lysates (1×10^6 cells)는 sample buffer를 넣고 95°C에서 5분간 끓여 10% acrylamide gel에서 SDS-PAGE를 실시하고 gel 단백질을 Dry Gel Transfer System (Bio-Rad사)을 이용하여 nitrocellulose 용지에 옮긴 후 상온에서 anti-phosphotyrosine 단클론 항체를 가하여 반응시킨 후 horseradish-peroxidase가 결합된 2차 항체로 처리한 후 ECL kit을 이용하여 각각 특이 단백질을 염색 동정하였다.

결 과

대식세포에서 IgG-sensitized sheep red blood cells에 의한 SHIP의 타이로신-인산화. 대식세포, J774세포를 IgG가 결합된 면양 적혈구로 처리한 후 대식 세포 내 SHIP 단백질의 타이로신-인산화를 확인하기 위하여 면역 침전 및 면역 염색을 실시하였다. 여러 문헌에 의하면 다양한 세포 신호인자에 의한 신호 전달 과정에서 SHIP는 타이로신-인산화 되어 세포 내 중요한 adaptor protein 중의 하나인 Shc와 결합된다고 한다(15,17,21,22). 따라서 본 실험에서도 가토 anti-Shc 항체를 이용하여 면역 침전을 실시하였다. 타이로신-인산화 band는 분자량이 145 KD인 SHIP 단백질 위치에서 반응 시간에 따라 다르게 나타났으

며, 반응 5분에서 최고치를 보였다(Fig. 1A). 그리고 분자량 145 KD 부위의 타이로신-인산화 된 단백질이 SHIP임을 확인하기 위하여 anti-SHIP 항체로 면역염색을 실시하였다(Fig. 1B). 강하게 타이로신-인산화 된 위치에서 역시 SHIP의 단백질이 확인되었다. 이러한 결과는 대식세포에 IgG가 결합된 면양적혈구가 결합하면 Fc 수용체를 통한 신호 전달과정에서 SHIP가 강하게 타이로신-인산화 되어 Fc γ RIIb 수용체의 ITIM에 결합할 수 있음을 가리킨다. 본 실험의 Shc 면역침전 시 각 시료에서 동량의 단백질 침전은 anti-Shc 항체로 면역염색을 실시함으로써 확인되었다(Fig. 1C).

대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식효과. 대식세포에서 Fc 수용체를 통한 탐식의 최적 반응 조건을 확립하기 위해서 반응시간, 면양 적혈구 농도, 면양 적혈구에 결합된 항체의 농도 등 여러 가지 반응 조건을 검토하였다. 실험 방법에 표시한 바와 같이 대식세포와 면양 적혈구의 비율은 1/100, 적혈구에 결합하는 항체의 양은 1 μ g/10⁶ cells 일 때 탐식능이 최고임을 확인하였다(data 표시 없음). 그리고 위의 조건에서 최적 반응시간을 알기 위해 시간에 따른 탐식능을 관찰하였다. 반응시간에 따라 탐식능은 반응 30분에 50%에 도달했으며, 반응 1시간까지는 시간에 비례하여 증가하고, 2시간에는 거의 변화가 없음을 알 수 있었다(Fig. 2). 그리고 반응 2시간의 대식세포는 세포 상태가 아주 불안하여 세포 염색 도중에 쉽게 손상이 일어나서 관찰하기가 매우 어려웠다. 따라서 모든 대식세포에서 Fc 수용체를 통한 탐식의 관찰은 반응 시간을 1시간으로 고정하여 실시하였다.

대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식에 대한 PI-3 kinase의 영향. 많은 문헌에서 PI-3 kinase가 대식세포의 Fc 수

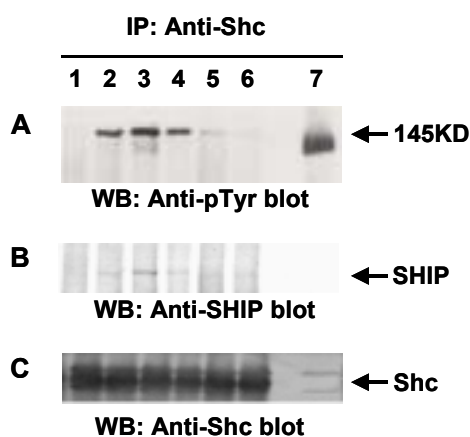


Figure 1. Tyrosine-phosphorylation of SHIP after Fc gamma receptor stimulation of J774 cells with IgG-sensitized sheep red blood cells. Tyrosine phosphorylated proteins bound to Shc in IgG-sensitized SRBC treated J774 cells were analyzed by Western blot of specific proteins immunoprecipitated with anti-Shc antibodies. J774 cells were stimulated with IgG-sensitized SRBC for different time periods as indicated. Lane 2, 3, 4, 5 and 6 were stimulated for 1 min, 5 min, 10 min, 30, and 60 min respectively, lane 7 is the control (whole positive cell lysates). Lane 1 is non-stimulated condition (NS). J774 cells were lysated in extraction buffer for immunoprecipitation. Panel (A), (B), and (C) show immunoblots reprobed with specific antibody each.

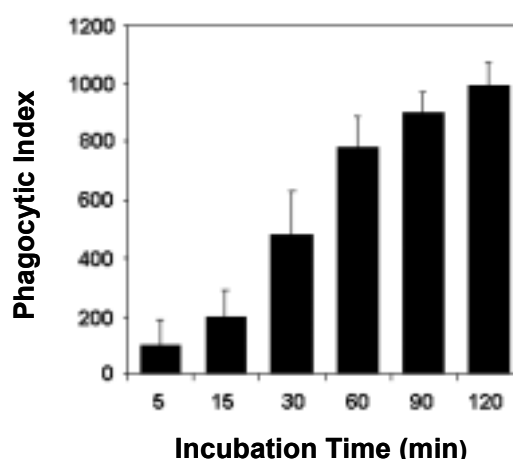


Figure 2. Time course of Fc gamma-mediated phagocytosis of macrophages. J774 cells were incubated with IgG-sensitized sheep red blood cells for the indicated times under the conditions described in "Materials and Methods". The error bars represent standard deviation of mean (n=3).

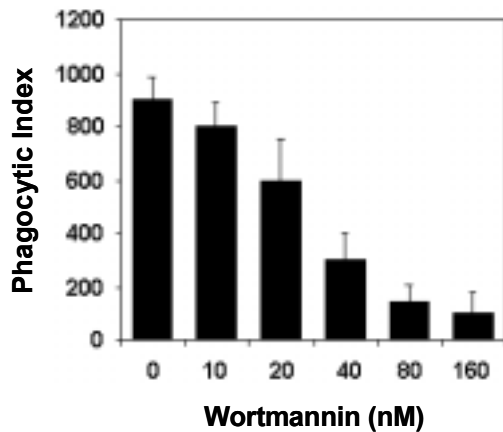


Figure 3. Wortmannin, PI3-kinase inhibitor, inhibits Fc gamma-mediated phagocytosis of macrophages. J774 cells were incubated with IgG-sensitized sheep red blood cells in the presence of various concentrations of Wortmannin under the conditions described in "Materials and Methods". The error bars represent standard deviation of mean (n=3).

용체를 통한 탐식과 아주 밀접한 연관이 있다고 보고한 바 있다(7,8). 본 연구에서 확립한 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식이 PI-3 kinase에 의존적인지를 확인하기 위하여 대표적인 PI-3 kinase의 억제제로 알려진 Wortmannin을 이용하여 탐식에 미치는 영향을 관찰하였다. Wortmannin은 농도에 비례하여 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식을 억제하였으며, 다른 많은 연구 결과와 유사하게 즉 100 nM 범위에서 확실하게 탐식을 억제하였다 (Fig. 3). 따라서 본 연구에서 확립한 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식이 전형적인 PI-3 kinase 활성화에 의존함을 알 수 있었다.

대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식에 대한 SHIP의 영향. 전 실험 결과로부터 알 수 있듯이 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식은 PI-3 kinase 효소 활성화와 아주 밀접히 연관되어 있으므로 PI-3 kinase 효소 생성물 중의 하나인 phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphates [PI(3,4,5)P3]가 Fc 수용체를 통한 탐식과정에 영향을 주리라는 것은 충분히 예측된다. 또한 PI(3,4,5)P3는 SHIP의 대표적인 기질로써 잘 알려져 있다(17). 따라서 Fc 수용체를 통한 탐식에 대한 SHIP의 영향을 관찰하였다. 이를 위해 recombinant vaccinia viral vector를 이용하여 대식세포 내 SHIP의 단백질 발현을 증가시킨 후 Fc 수용체를 통한 탐식능을 관찰하였다. SHIP는 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식을 현저하게 억제하였으나 활성이 없는 변이 효소(delta-CAT)는 전혀 영향을 주지 못하였다. 따라서 SHIP 효소의 활성이 대식 세포의 Fc 수용체를 통한 탐식에 직접 연관이 있음을 알 수 있다(Fig. 4). 그리고 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식에 대한 SHIP의 억제 작용이 SHIP 단백질의 농도에 의존함을 보였다(Fig. 5). 이러한 결과를

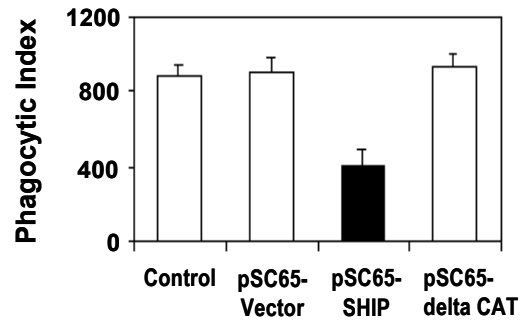


Figure 4. Over-expression of SHIP decreases Fc gamma-mediated phagocytosis of macrophages. Panel A shows phagocytosis of IgG sensitized sheep red blood cells by noninfected J774 cells (control), cells infected with recombinant vaccinia virus containing empty vector (pSC65-vector), wild type SHIP (pSC65-SHIP) or catalytically dead mutant SHIP (pSC65-delta CAT). The cells were infected with vaccinia viruses (MOI, 2) for 4 h at 37°C with 5% CO₂. The columns indicate phagocytic index of J774 cells (Mean ± SD, n=3).

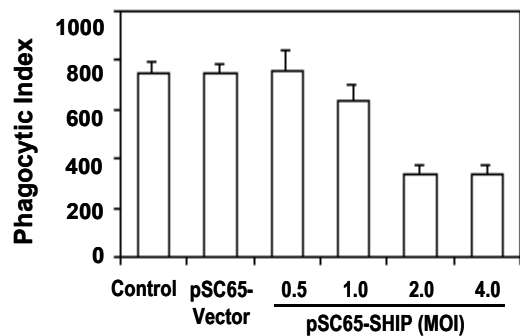


Figure 5. Overexpression of SHIP decreases Fc gamma-mediated phagocytosis of macrophages in a dose dependency manner. Panel A shows phagocytosis of IgG sensitized SRBCs by noninfected J774 cells (control), and cells infected with pSC65-vector or various concentrations of pSC65-SHIP (MOI, 0.5 ~ 4.0) for 4 h at 37°C with 5% CO₂. The columns indicate phagocytic index of J774 cells (Mean ± SD, n=3).

통해 볼 때 대식세포의 탐식에 대한 SHIP의 작용은 본 효소 활성화에 직접적으로 관련되어 있으며, SHIP 효소 활성 증가는 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식에 음성적으로 작용함을 알 수 있었다.

고 찰

본 연구는 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식과정에서 FcγRIIb가 SHIP를 통하여 억제작용을 함을 최초로 제시하고 있다. 또한 그동안 밝혀진 여러 가지 연구 결과들에서 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식은 PI-3 kinase의 활성화와 밀접한 관계가 있음이 이미 잘 알려져 있다. 본 연구에서 확립한 탐식 체계에서도 PI-3 kinase의 활성화

이 아주 밀접한 관계를 갖고 있음을 확인하였으며, PI-3 kinase의 중요한 생성물로 알려진 PI(3,4,5)P3가 SHIP의 중요한 기질임을 고려할 때 SHIP의 활성화증가는 PI-3 kinase의 억제제를 의미하여 당연히 SHIP 효소활성 증가는 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식에 음성적으로 작용할 것으로 예상이 되었다(17).

면역세포들의 세포막에 활성 및 억제신호를 담당하는 각각의 활성 수용체(activating receptor)와 억제 수용체(inhibitory receptor)가 존재하고 있으며, 또한 각 수용체에는 어떤 공통적인 구조들을 갖고 있는데, 즉 활성 수용체에는 ITAM이 존재하고, 억제 수용체에는 ITIM이 존재함이 밝혀졌다(13). 그러나 면역세포들에서 억제 수용체의 기능은 아직 확실하게 밝혀지지 않고 있다.

최근의 연구결과 ITIM을 갖고 있는 CD31 (PECAM-1), CD32 (FcγRIIb), CD152 등 많은 억제 수용체들이 보고되었는데 이들 수용체에는 SH2 domain을 갖고 있는 타이로신-포스파타이즈 (SHP-1) 및 SHIP가 특이적으로 결합한다고 알려져 있다(23). 그러나 면역세포의 기능과 억제 수용체의 ITIM에 특이적으로 결합하는 효소들 간의 관계는 아직 밝혀지지 않았다. 따라서 본 연구에서 이를 밝히기 위해 면역세포 중에서 활성 수용체와 억제 수용체가 잘 밝혀진 대식세포를 선택하여 신호전달 체계가 잘 밝혀진 탐식에 미치는 SHIP의 작용을 관찰하였다.

대식 세포막에는 ITAM을 갖고 있는 FcγRIIa 및 FcγRIII 등의 활성 수용체들이 Fc 수용체를 통한 탐식에 중요하게 작용하고 있다. 그러나 ITIM을 갖고 있는 FcγRIIb 같은 억제 수용체는 탐식과 아무 연관이 없는 것으로 알려져 있다(7). 그러나 본 연구 결과들로 볼 때 FcγRIIb도 대식세포의 Fc 수용체를 통한 신호전달과정에 중요하게 작용하리라 생각한다. 즉 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식에 대한 SHIP의 작용은 본 효소 활성화에 직접적으로 관련되어 있으며, SHIP 효소활성 증가는 대식세포의 Fc 수용체를 통한 탐식에 음성적으로 작용하였다.

이상을 종합하면 본 연구를 통해 Fc 수용체를 통한 대식세포의 신호전달 과정에서 FcγRIIa 및 FcγRIII 같은 활성체에 의한 PI-3 kinase를 통하여 유도되는 일련의 활성 신호가 FcγRIIb 같은 억제 수용체와 SHIP를 통한 억제 신호에 의해서 차단됨을 알 수 있다. 즉 면역세포에서 활성 수용체와 억제 수용체는 각각 면역반응의 조절에 중요한 작용을 한다고 생각한다. 그동안 여러 연구에서 면역세포들의 억제 수용체인 FcγRIIb가 면역반응에서 활성화 역치(threshold for activation)를 낮추어 주는 등 면역반응에서 중요한 기능을 담당한다고 보고되고 있어 FcγRIIb 같은 억제 수용체에 대한 기능들이 한 층 더 흥미롭게 받아들여지고 있다(11-13). 한편 본 연구에서

는 대식세포가 Fc 수용체를 통하여 활성화 될 때 FcγRIIb의 ITIM과 결합에 깊은 관계가 있는 SHIP가 강하게 타이로신-인산화가 일어난다는 일부만 밝혀졌지만, 앞으로의 연구에서는 FcγRIIb를 통한 SHIP의 작용에 어떠한 인자들이 선행적으로 관여할 것인가에 대한 연구가 필요하다고 생각한다.

참 고 문 헌

1. Takata M, Ono M, Hikida M, Ohmori H, Ravetch JV: Augmented humoral and anaphylactic responses in Fc gamma RII-deficient mice. *Nature* 379;346-349, 1996
2. Sylvestre DL, Ravetch JV: Fc receptors initiate the Arthus reaction: redefining the inflammatory cascade. *Science* 265; 1095-1098, 1994
3. Lanier LL, Phillips JH: Evidence for three types of human cytotoxic lymphocyte. *Immunol Today* 7;132-134, 1986
4. Karakawa WW, Sutton A, Schneerson R, Karpas A, Vann WF: Capsular antibodies induce type-specific phagocytosis of capsulated *Staphylococcus aureus* by human polymorphonuclear leukocytes. *Infect Immun* 56;1090-1095, 1986
5. Gounni AS, Lamkhioed B, Ochiai K, Tanaka Y, Delaporte E, Capron A, Kinet JP, Capron M: High affinity IgE receptor on eosinophils is involved in defence against parasites. *Nature* 367;183-186, 1994
6. Daeron M: Fc receptor biology. *Annu Rev Immunol* 15; 203-234, 1997
7. Aderem A, Underhill DM: Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annu Rev Immunol* 17;593-623, 1999
8. Indik ZK, Park JG, Hunter S, Schrieber AD: The molecular dissection of Fc gamma receptor-mediated phagocytosis. *Blood* 86;4389-4399, 1995
9. Kwiatkowska K, Sobota A: Signaling pathways in phagocytosis. *Bioessays* 21;422-431, 1999
10. Tonks NK, Neel BG: From form to function: signaling by protein tyrosine phosphatases. *Cell* 87;365-368, 1996
11. Ravetch JV, Kinet J: Fc receptors. *Annu Rev Immunol* 9; 457-492, 1991
12. Takai T, Li M, Sylvestre D, Clynes R, Ravetch JV: FcR gamma chain deletion results in pleiotropic effector cell defects. *Cell* 76;519-529, 1994
13. Long EO: Regulation of immune responses through inhibitory receptors. *Annu Rev Immunol* 17;875-904, 1999
14. Pumphrey N, Taylor V, Freeman S, Douglas MR, Bradfield PF, Young SP, Lord JM, Wakelam, MJO, Bird IN, Salmon M, Christopher DB: Differential association of cytoplasmic signalling molecules SHP-1, SHP-2, SHIP and phospholipase C-gamma-1 with PECAM-1/CD31. *FEBS Lett* 450;77-83, 1999
15. Muta T, Kurosaki T, Misulovin Z, Sanchez M, Nussenzweig MC, Ravetch JV: A 13-amino-acid motif in the cytoplasmic domain of Fc gamma RIIb modulates B-cell receptor signalling. *Nature* 368;70-73, 1994
16. Ono M, Bolland S, Tempst P, Ravetch JV: Role of the inositol phosphatase SHIP in negative regulation of the immune system by the receptor Fc gamma RIIb. *Nature* 383;263-266, 1996
17. Damen JE, Liu L, Rosten P, Humphires RK, Jefferson AB, Majerus PW, Krystal G: The 145-kDa protein induced to associate with Shc by multiple cytokines is an inositol tetraphosphate and phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate 5-phosphatase. *Proc Natl Acad Sci USA* 93;1689-1693, 1996
18. Maresco DL, Osborne JM, Cooney D, Coggeshall KM, Anderson CL: The SH2-containing 5'-inositol phosphatase

- (SHIP) is tyrosine phosphorylated after Fc gamma receptor clustering in monocytes. *J Immunol* 162;6458-6465, 1999
19. Helgason CD, Damen JE, Rosten P, Grewal R, Sorensen P, Chappel S, Borowski A, Jirik F, Krystal G, Humphries RK: Targeted disruption of SHIP leads to hemopoietic perturbations, lung pathology, and a shortened life span. *Genes Dev* 12;1610-1620, 1998
 20. Kim CH, Hangoc G, Cooper S, Helgason CD, Yew S, Humphries RK, Krystal G: Altered responsiveness to chemokines due to targeted disruption of SHIP. *J Clin Invest* 104;1751-1759, 1999
 21. Nakamura K, Brauweiler A, Cambier JC: Effects of Src homology domain 2 (SH2)-containing inositol phosphatase (SHIP), SH2-containing phosphotyrosine phosphatase (SHP)-1, and SHP-2 SH2 decoy proteins on Fc gamma RIIB1-effector interactions and inhibitory functions. *J Immunol* 164;631-638, 2000
 22. Tridandapani S, Kelley T, Cooney D, Pradhan M, Coggeshall KM: Negative signaling in B cells: SHIP Grbs Shc. *Immunol Today* 18;424-427, 1997
 23. Newman PJ: Switched at births: a new family for PECAM-1. *J Clin Invest* 103;5-9, 1999
-