The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Characterization of mac25/angiomodulin (AGM) expression by high endothelial venule cells in lymphoid tissues and its identification as an inducible marker for activated endothelial cells
Author(s)	臼井, 健郎
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43969
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【14】

氏　　名	臼井健郎（うすい たけお）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　17325　号
学位授与年月日	平成14年10月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Characterization of mac25/angiomodulin (AGM) expression by high endothelial venule cells in lymphoid tissues and its identification as an inducible marker for activated endothelial cells （リンパ組織高内皮細胞におけるmac25/AGM分子の発現動態解析およびその活性化内皮細胞の誘導的指標分子としての同定）
論文審査委員	（主査） 教　授　宮坂　昌之 （副査） 教　授　松澤　佑次　　教　授　濵岡　利之

論文内容の要旨

〔目　　的〕

リンパ節内高内皮細静脈（high endothelial vende、HEV）の内皮細胞は、リンパ球ホーミング現象においてその血管外遊走過程を支持する非常に特化した内皮細胞である。われわれは、マウスリンパ節HEV細胞の3' 末端特異的cDNAライブラリを作製してその遺伝子発現プロファイルを解析し、HEVにmac25/angiomodulin（AGM）遺伝子が高発現することを既に報告した。mac25/AGMは腫瘍新生血管にも存在することが知られ、細胞接着を制御するhevinや血管新生に関与するCyr61などに類似のシステインリッチドメインを持つが、その発現様式や発現の意義には不明な点が多い。本研究では、*in vitro*及び*in vivo*の血管内皮細胞におけるmac25/AGMの発現動態と機能について検討を行った。

〔方　　法〕

バキュロウイルス発現系により組み換え型mac25/AGMを作製し、これを免疫原として抗mac25/AGM抗体を作製した。この抗体を用いて、HEVにおけるmac25/AGMの局在を蛍光抗体染色法および免疫電子顕微鏡法にて解析した。次に、*in vitro*では炎症性サイトカイン刺激を行った血管内皮細胞を、*in vivo*ではマウス皮膚炎モデルを用いて、mac25/AGMの発現動態解析を行った。また、ELISA法により、mac25/AGMの血管内皮細胞増殖因子（VEGF）との結合能について解析した。

〔成　　績〕

作製した組み換え型mac25/AGMは血管内皮細胞に対するPGI_2産生促進活性を有し、また、抗mac25/AGM抗体は、内因性mac25/AGMを特異的に認識した。この抗体を用いた免疫組織学的解析および免疫電顕の結果から、mac25/AGMはリンパ節HEVにおいて血管内皮細胞の基底膜側に濃縮して存在することがわかった。一方、脾臓の血管においては、mac25/AGMは血管平滑筋細胞に接した部位に限局して存在していた。

培養マウス脳血管内皮細胞株bEnd.3において、TNF-α刺激によりmac25/AGMのmRNAレベルおよびタンパク

質レベルでの産生誘導が認められた。*In vivo* においては、皮膚炎モデルマウスの炎症巣血管内皮細胞に mac25/AGM の顕著な発現誘導が起こることを見出した。これらのことは、mac25/AGM が活性化血管内皮細胞の誘導的指標分子であることを示している。また、mac25/AGM は *in vitvo* において VEGF と特異的に相互作用することを見出した。

〔総　　括〕

以上の結果より、mac25/AGM は HEV を含む活性化を受けた血管の内皮細胞において発現し、さらにその基底膜に限局して存在することが明らかとなった。一方、その特徴的発現様式から、血管基底膜において VEGF と相互作用し、もしくは PGI_2 産生を介して、活性化内皮細胞の形質維持に関わる特異的機能を担っている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者らは、全身のリンパ球ホーミング現象においてその血管外遊走過程を支持する非常に特化した内皮細胞であるリンパ節高血管内皮細胞（HEV ; high endothelial venule cell）に着目し、その 3' 末端特異的 cDNA ライブラリを用いた遺伝子発現プロファイル解析から、HEV には mac25/AGM（angiomodulin）遺伝子が選択的に高発現している事を既に報告している。mac25/AGM は腫瘍新生血管にも存在し、細胞接着を制御する hevin や血管新生に関与する Cyr61 などに見られるシステインリッチドメインを持つが、その発現様式や発現の意義には不明な点が多い。

申請者は、バキュロウイルス発現系を用いて作製したマウスリコンビナント mac25/AGM とこれに対するポリクローナル抗体を新たに調製し、その活性および特異性を検定した上で、内因性 mac25/AGM 分子の蛋白レベルでの詳細な局在解析に成功し、また新たな機能として内皮細胞増殖因子 VEGF と特異的に相互作用することを明らかにした。同抗体を用いた蛍光抗体染色法および免疫電子顕微鏡法の結果、mac25/AGM は HEV を含む活性化を受けた血管の内皮細胞において誘導的に発現し、さらにその基底膜に限局して存在することを初めて見い出した。

特に、リンパ節 HEV と、炎症巣活性化血管内皮、腫瘍新生血管の類似性を指摘し、mac25/AGM 発現の変化が血管内皮活性化の普遍的メカニズムを理解する上で重要なヒントとなりうることを示しただけでなく、mac25/AGM の特徴的発現様式と VEGF との相互作用を解析する過程において、血管新生分子 VEGF の新たな局在メカニズムを提案したことは高く評価される。

以上の審査緒果より、本論文は博士（医学）の学位授与に値するものと考えられる。