

Title	A High Endothelial Venule Secretory Protein, Mac25/Angiomodulin, Interacts with Multiple High Endothelial Venule-Associated Molecules Including Chemokines
Author(s)	長久保, 大輔
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45272">https://hdl.handle.net/11094/45272</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	ながくほ だいすけ 長久保 大 輔
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 8 1 0 5 号
学位授与年月日	平成 15 年 9 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	A High Endothelial Venule Secretory Protein, Mac25/Angiomodulin, Interacts with Multiple High Endothelial Venule-Associated Molecules Including Chemokines (リンパ節高内皮細静脈 HEV が発現する分泌タンパク質 mac25/Angiomodulin とケモカインを含む HEV 関連分子との結合の解析)
論文審査委員	(主査) 教 授 宮坂 昌之  (副査) 教 授 平野 俊夫 教 授 菊谷 仁

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [ 目 的 ]

リンパ節高内皮細静脈 (high endothelial venule、HEV) の内皮細胞は、リンパ球ホーミング現象に必須であるリンパ球ローリング、接着、血管外移動を媒介する特殊な機能をもった血管内皮細胞である。当研究室でのこれまでの研究の結果から、HEV には分泌タンパク質である mac25/angiomodulin (AGM) が高い発現を示し、特に HEV の基底膜側に選択的に局在することが明らかになっている。しかし、その局在の生理学的意義については不明である。本研究では、HEV の基底膜に局在する mac25/AGM の機能的役割を解明するため、この特殊な局在を考慮し、mac25/AGM が HEV およびその周囲に発現するケモカインを含む様々な液性因子および細胞外基質構成成分と相互作用する可能性について検討を行った。

#### [ 方法ならびに成績 ]

バキュロウイルス発現系により作製した組み換え型 mac25/AGM について、細胞外基質を構成する各種タンパク質およびグリコサミノグリカンに対する結合性を ELISA 法により検討した。その結果、mac25/AGM は、特に HEV を含む血管基底膜を構成する細胞外基質である IV 型コラーゲンや、ヘパラン硫酸などと強く結合した。また、dot blot 法および ELISA 法により mac25/AGM と種々の液性因子との結合性を検討したところ、mac25/AGM は SLC (CCL21)、IP-10 (CXCL10) などのリンフォイドケモカインとよばれる特定のケモカインと特異的に結合することを見出した。これらのケモカインはいずれも特定のリンパ球サブセットに働き、その動態に影響を与えることが知られている。そこで、抗 mac25/AGM 抗体および抗 SLC 抗体または抗 IP-10 抗体を用いた蛍光二重組織染色を行った結果、HEV 基底膜において mac25/AGM は SLC および IP-10 と部分的に共局在することを明らかにした。これらの結果から、分泌タンパク質である mac25/AGM は、HEV 基底膜を構成する細胞外基質やグリコサミノグリカンに結合するだけでなく、その場所においてケモカインの提示に関与する分子である可能性が考えられた。

そこで次に、mac25/AGM に結合した SLC および IP-10 がそれらの受容体発現細胞に対して機能的活性を有して

いるか否かについて解析するため、それぞれの受容体発現細胞である L1.2/CCR7 および 300.19/CXCR3 を用いて、SLC または IP-10 単独、および mac25/AGM とそれぞれが結合した複合体が誘導する細胞内  $Ca^{2+}$  濃度変化を測定した。その結果、mac25/AGM に特異的に結合した SLC、IP-10 は、L1.2/CCR7 および 300.19/CXCR3 に対して、それぞれ遊離の SLC および IP-10 と同程度に細胞内  $Ca^{2+}$  の上昇を誘導した。これらの結果から、mac25/AGM は SLC および IP-10 の活性を保持したまま、それらと結合することが明らかとなり、mac25/AGM が HEV 基底膜において SLC および IP-10 の提示分子として機能する可能性が示唆された。

#### [ 総 括 ]

以上の結果から、HEV 基底膜に局在する mac25/AGM は血管基底膜を構成する細胞外基質やグリコサミノグリカンと結合するだけでなく、HEV 基底膜において SLC や IP-10 などのリンパ球動態に影響を与えうるリンフォイドケモカインを捕捉して、その活性を保持した状態で受容体発現細胞に提示できる捕捉・提示分子として機能しうることが明らかとなり、mac25/AGM が局所においてリンパ球動態制御に関わる可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

mac25/angiomodulin (AGM) はリンパ球ホーミングを媒介する血管であるリンパ節高内皮細静脈 (high endothelial venule, HEV) に高発現する分泌蛋白質であり、HEV の基底膜側に局在する。しかし、その生理的意義については不明であった。

本研究により、mac25/AGM は IV 型コラーゲンやヘパラン硫酸などの特定の基底膜構成成分と相互作用し、また、SLC (CCL21)、IP-10 (CXCL10) などの特定のリンフォイドケモカインを選択的に結合することが明らかになった。さらに、mac25/AGM は、これらのケモカインの受容体発現細胞に対するカルシウムシグナル誘導能を維持した状態でケモカインと複合体を形成することが明らかとなった。また、*in vivo* において、mac25/AGM は、SLC および IP-10 と HEV 基底膜において部分的に共局在することが明らかとなった。

以上の結果から、mac25/AGM は HEV 基底膜を構成する分子と結合し、その場所においてケモカイン捕捉・提示分子として機能することによりリンパ球動態制御に関与する可能性が示された。本研究は、HEV 基底膜におけるケモカイン捕捉・提示分子の存在を示した最初の報告であるとともに、これまで不明であった mac25/AGM の機能に新しい光を投げかけるもので、学位に値するものと認める。