



Title	Endomucm, a sialomucin expressed in high endothelial venules, supports L-selectin-mediated rolling
Author(s)	神田, 英伸
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45398">https://hdl.handle.net/11094/45398</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">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="#">ご参照</a> ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	神 田 英 伸
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 9 0 6 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 16 年 11 月 16 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	Endomucin, a sialomucin expressed in high endothelial venules, supports L-selectin-mediated rolling (高内皮細静脈に発現するシアロムチン Endomucin は L-selectin が媒介するローリングを支持する)
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】

高内皮細静脈 (HEV) 上のシアロムチンファミリー分子は、リンパ球に発現する糖鎖認識分子 L-selectin に認識される HEV 特異的な O-型糖鎖修飾を提示し、L-selectin 依存性のリンパ球ローリングを媒介することにより、リンパ球ホーミングに必須の役割を担う。これまでに HEV には GlyCAM-1 や CD34 などのシアロムチンの発現が同定されているが、生理的に重要な L-selectin リガンドとして機能するシアロムチンは特定されていない。私は HEV の遺伝子発現解析を通じて、HEV に新規シアロムチン endomucin (EM) が発現することを見出した。そこで本研究では、HEV における EM の糖鎖修飾と L-selectin 結合性を検討した。さらに、*in vitro* で L-selectin 結合性糖鎖を付加した EM を用いた L-selectin 依存性ローリングの解析により EM の L-selectin リガンドとしての意義を検討した。

#### 【方法】

##### (1)EM のリンパ節 HEV における発現と L-selectin 結合性の検討

抗 EM 抗体を作製し、免疫組織染色によりリンパ節 HEV における EM の発現を検討した。また、リンパ節より、可溶性 L-selectin (LEC/IgG) を用いて L-selectin リガンドを精製し、抗 EM 抗体および L-selectin 結合性糖鎖を認識する MECA-79 抗体を用いた Western blot 解析から、HEV に発現する EM が L-selectin 結合性糖鎖を保持するか検討した。また、HEV における EM スプライスアイソフォームの発現を RT-PCR にて検討した。

##### (2)*in vitro* における EM の L-selectin 結合性糖鎖修飾と L-selectin 結合性の検討

EM あるいは対照として CD34 を L-selectin 結合性糖鎖の生合成に必要な糖鎖修飾酵素群を発現する CHO 細胞 (A5 細胞) に遺伝子導入し、得られた A5-EM および A5-CD34 細胞の固相化 LEC/IgG への結合性を検討した。また、A5-EM 細胞に発現する EM の LEC/IgG 結合能を抗 EM 抗体と LEC/IgG を用いたサンドイッチ ELISA 法により検討した。

## 論文審査の結果の要旨

高内皮細静脈 (HEV) 上の L-selectin リガンドは HEV 特異的糖鎖修飾を受けたシアロムチンとして存在する。L-selectin リガンドはリンパ球側の糖鎖認識分子 L-selectin と結合する事で HEV 上でのリンパ球ローリングを媒介し、リンパ球のリンパ節へのホーミングに必須の役割を果たす。演者は HEV の遺伝子発現プロファイル解析を通してシアロムチン endomucin (EM) の発現を新たに検出した。そこで、演者はリンパ節より L-selectin リガンドを調製し、抗 EM 抗体を用いたウェスタン法で検討した。その結果、EM は L-selectin 結合性糖鎖を保持することが明らかとなった。また、演者は L-selectin リガンド生合成に必要な糖転移酵素群と EM を共発現する細胞を用いた再構成実験で、EM の L-selectin リガンドとしての機能的意義を検討した。その結果、EM 発現細胞は既知の L-selectin リガンド CD34 の発現細胞同様 L-selectin 依存的ローリングを媒介することが示された。以上より HEV において EM は L-selectin リガンドとして機能し、リンパ球ホーミングに関与する可能性が示唆され、学位の授与に値すると考えられる。