



Title	Regulation and Temporal Expression of Interendothelial Adhesion Molecules Specifically Expressed In Vascular Endothelium
Author(s)	小形, 尚子
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45625">https://hdl.handle.net/11094/45625</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">大阪大学の博士論文について</a>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

氏名	小形尚子
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第19208号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Regulation and Temporal Expression of Interendothelial Adhesion Molecules Specifically Expressed In Vascular Endothelium (血管内皮細胞特異的に発現する細胞間接着分子の制御および生体内局在の解析)
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 雅人 (副査) 教授 関口 清俊 教授 吉川 和明

## 論文内容の要旨

血管内皮細胞同士の細胞間接着分子は、血液からの酸素・栄養の授受や血球の血管外遊走など血管の基本機能を制御している。本研究では特に血管内皮細胞に発現し血管内皮細胞の機能に大きく寄与している分子に着目し、(1)シグナル媒介分子としての PECAM-1 (Platelet and Endothelial Cell Adhesion Molecule-1) の機能解析(2)VE-cadherin (Vascular Endothelial-cadherin) を発現する細胞の生体内局在解析を行った。

## 1. PECAM-1 細胞質ドメインのチロシンリン酸化酵素 Fer の同定

PECAM-1 は血管内皮細胞や血小板に発現し、これらの細胞間結合を制御する接着因子である。PECAM-1 細胞外ドメイン同士の結合は細胞内ドメイン内のチロシン残基のリン酸化を誘導する。しかし PECAM-1 リン酸化酵素は不明であった。本研究では PECAM-1 細胞内ドメインを発現した大腸菌に  $\lambda$  ファージライブラーを感染させ、抗リン酸化 PECAM-1 抗体による発現クローニングを行うことで、PECAM-1 リン酸化酵素として Fer kinase を同定した。Fer kinase は Fps/Fes/Fer ファミリーに属し、N-cadherin, p120 catenin 等細胞間接着関連因子をリン酸化することが報告されている。線維芽細胞内で Fer および PECAM-1 を強制発現させると PECAM-1 は顕著にリン酸化された。Fer による PECAM-1 リン酸化に伴い、リン酸化 SHP-2 の PECAM-1 への結合等の下流シグナルを活性化した。抗 PECAM-1 抗体による血管内皮細胞内在の PECAM-1 リン酸化は Fer D743R (kinase inactive mutant) 強制発現によって阻害されたことから、PECAM-1 分子間結合による PECAM-1 のリン酸化には Fer が関与することが示唆された。Fer を血管内皮細胞で発現させると新規細胞間接着の形成場所となる細胞伸展方向の微小管に局在した。以上から Fer は血管内皮細胞の微小管に局在し、PECAM-1 細胞質ドメインをリン酸化するチロシンリン酸化酵素であると結論した。

## 2. VE-cadherin を発現する細胞の発生期および成人型血管新生における役割

VE-cadherin は培養血管内皮細胞のアドヘレンスジャンクションを構成する主要分子であり、胚性期の VE-cadherin 陽性細胞は血管内皮細胞・血球細胞(ヘマンジオblast)への分化能を有することが報告されている。しかし成体にヘマンジオblastが存在するかどうか、また成体のヘマンジオblastや血管内皮細胞に VE-cadherin が発現しているかどうかは不明であった。本研究では、VE-cadherin を発現する細胞を生体内で追跡す

るため、VE-cadherin プロモーターによる Cre 発現依存的にそれぞれ EGFP または LacZ を発現するマウス (VE/EG または VE/Z) を作成した。レポーター蛋白質発現の組織学的解析により、胚性期では全身の血管内皮細胞およびヘマンジオblastに発現したのに対し、生後では血管の成熟に伴って減少した。一方心筋梗塞モデルを用いて成体の血管新生における VE-cadherin プロモーター活性化を調べると、既存血管の血管内皮細胞・血管壁細胞、および心臓外由来の CD45 陽性血管内皮・血球細胞で再活性化された。さらにパラビオーシスモデルを用いて、VE-cadherin プロモーター再活性化細胞が虚血部位に動員されることを直接的に示した。以上から成体の血管形成にはヘマンジオblastが関与しており、VE-cadherin は血管新生に関わる血管・血球細胞およびヘマンジオblastに発現すると結論した。

### 論文審査の結果の要旨

小形尚子氏は、「血管内皮細胞特異的に発現する細胞間接着分子の制御および生体内局在の解析」というテーマで、血管内皮細胞の機能に大きく寄与している分子としての PECAM-1、および VE-cadherin の機能調節機構や発現様式について解析を行った。その結果、1) PECAM-1 の細胞内ドメインを特異的にリン酸化するキナーゼとして Fer tyrosine kinase を同定し、その細胞内局在変化による機能調節機構を明らかにした。また、2) VE-cadherin の発現調節機構を生体レベルで詳細に解析し、成体の血管形成にはヘマンジオblastが関与し、VE-cadherin が血管新生に関わる血管・血球細胞およびヘマンジオblastに特異的に発現誘導されることを明らかにした。以上の成果は当該分野におけるきわめて重要な知見であり、よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。