

Title	Nepmucin, a novel HEV sialomucin, mediates L-selectin-dependent lymphocyte rolling and promotes lymphocyte adhesion under flow
Author(s)	梅本, 英司
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/47430">https://hdl.handle.net/11094/47430</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	梅本英司
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 20621 号
学位授与年月日	平成 18 年 7 月 20 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科未来医療開発専攻
学位論文名	Nepmucin, a novel HEV sialomucin, mediates L-selectin-dependent lymphocyte rolling and promotes lymphocyte adhesion under flow (新規 HEV シアロムチン nepmucin は L-セレクトリン依存的リンパ球ローリングを媒介し、フロー条件下のリンパ球の接着を促進する)
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 〕

血液中のリンパ球は、リンパ節やパイエル板に移行する際、高内皮細静脈 (high endothelial venule : HEV) と呼ばれる特殊な細静脈に結合し、HEV 細胞間の間隙を通り抜け、組織実質へと至る。リンパ球が末梢リンパ節の HEV 細胞と相互作用する過程は、リンパ球に発現する L-セレクトリンを介した「ローリング」に始まり、ケモカイン刺激によるインテグリン活性化を伴う「強固な接着」へと続く。HEV 上の L-セレクトリンリガンドは、ムチン様コア蛋白質が L-セレクトリン結合性糖鎖修飾を受けたシアロムチンとして存在し、PNAd (peripheral node addressin) と総称されている。また、強固な接着は、リンパ球上のインテグリンと HEV 上の ICAM との相互作用により制御されている。一方、パイエル板へのリンパ球の移行には、HEV 上の MAdCAM-1 が重要な役割を果たしている。MAdCAM-1 はムチン様ドメインと Ig ドメインを備えた接着分子であり、ローリング及び強固な接着の両者に関与するが、末梢リンパ節 HEV ではこれら 2 つの過程に関与する分子は未だ同定されていない。そこで私は、末梢リンパ節 HEV に選択的に発現する分子の探索を行った。

#### 〔 方法ならびに成績 〕

まず、末梢及び腸間膜リンパ節 HEV 細胞の遺伝子発現プロファイルの解析を行い、末梢リンパ節 HEV に選択的に発現する新規分子 nepmucin (mucin not expressed in Peyer's patches) を同定した。Nepmucin は I 型膜蛋白質であり、細胞外領域はムチン様ドメインと Ig ドメインから成る。また選択的スプライシングにより、ムチン様ドメインの長さが異なる 4 種類のアイソフォーム (A-D) が存在する。免疫組織学的解析により nepmucin の発現はリンパ節 HEV で認められるが、パイエル板 HEV では検出されなかった。免疫電子顕微鏡的解析により、nepmucin は末梢リンパ節 HEV において管腔面側、特に microvillus の突起に局在していることが示された。

次に、リンパ節可溶化物から L-セレクトリン結合性分子を沈降し、抗 nepmucin 抗体との反応性を検討した結果、長いムチン様ドメインを有するアイソフォーム A 及び B が、L-selectin 及び抗 PNAd 抗体 MECA-79 結合性糖鎖で修飾を受けていることが示唆された。次に、HEV 特異的な糖鎖修飾を受けた nepmucin が L-セレクトリンリガンドとし

て機能するかを検討するために、nepmucin コア蛋白質への糖鎖再構成実験を行った。この目的のため、L-セレクトイン結合性糖鎖の生合成に必要な糖転移酵素（コア2転移酵素、コア1延長酵素、硫酸基転移酵素 LSST 及びフコース転移酵素VII）を発現した CHO 細胞株を樹立し、この細胞から細胞外領域を全て含む nepmucin-Fc キメラ蛋白質及びムチン様ドメインまたは Ig ドメインを欠損する nepmucin-Fc を作製した。これらキメラ蛋白質をガラス毛細管内部に固相化し、L-セレクトインを発現する Jurkat 細胞を用いてローリングアッセイを行ったところ、ムチン様ドメインを有する nepmucin-Fc は L-セレクトイン依存的ローリングを媒介したが、ムチン様ドメインを欠損させた nepmucin-Fc はローリングを媒介しなかった。

次に、nepmucin がリンパ球への結合を媒介する可能性を検討するため、スライドグラス上に固相化した nepmucin-Fc へのリンパ球接着を解析したところ、nepmucin は Ig ドメイン依存的に細胞接着を媒介した。この nepmucin を介した細胞接着は、リンパ球に発現するインテグリン LFA-1 及び VLA-4 に非依存的であった。最後に、nepmucin と ICAM-1 をガラス毛細管の内部に共固相化し、フロー条件下でリンパ球を加えたところ、nepmucin はケモカイン CCL21 存在下で、ICAM-1 を介したずり応力抵抗性の細胞接着を促進させた。

#### [ 総括 ]

本研究を通じ、リンパ節 HEV に発現する新規分子 nepmucin はムチン様ドメインを介して L-セレクトイン依存的リンパ球ローリングを媒介すると共に、Ig ドメインを介しフロー条件下で ICAM-1 依存性のリンパ球接着を促進させることが示された。以上の結果より、nepmucin は異なる2つの機能ドメインを介し、リンパ節 HEV 上でローリングと強固な接着の両者を制御する dual-functioning PNA<sup>d</sup> として機能することが示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

血液中のリンパ球がリンパ節やパイエル板へ移行する際、リンパ球は高内皮細静脈（HEV）とよばれる特殊な細静脈と細胞間相互作用を行うことが知られている。組織特異的なリンパ球の移行には、組織特異的に発現する HEV 上の接着分子の働きが重要だと考えられているが、その詳細な分子メカニズムには不明な点が多い。

申請者の梅本英司君は、リンパ節の HEV に発現し、パイエル板 HEV には発現が認められない新規シアロムチン nepmucin を同定した。Nepmucin はムチン様ドメインを介してリンパ球の結合を媒介することから、nepmucin は異なる2つの機能ドメインによりリンパ球-HEV 間相互作用を制御する接着分子であることが示唆された。

これらの知見は新しく、リンパ球の組織特異的な移行の分子メカニズムの解明に貢献すると考えられることから、学位の授与に値する。