The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Binding of Lymphoid Chemokines to Collagen Ⅳ That Accumulates in the Basal Lamina of High Endothelial Venules : Its lmplications in Lymphocyte Trafficking
Author(s)	梁, 甫伎
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48874
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

【23】

氏　　名	梁（ヤン）　甫（ボ）　伎（ギ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２１６１５　号
学位授与年月日	平成 19 年 10 月 18 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	Binding of Lymphoid Chemokines to Collagen IV That Accumulates in the Basal Lamina of High Endothelial Venules : Its Implications in Lymphocyte Trafficking （高内皮細静脈の基底膜に濃縮するコラーゲン IV とリンフォイドケモカインとの結合；リンパ球トラフィッキングへの関与について）
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）に発現しリンパ球特異的に作用するケモカインは、リンパ球ホーミングに重要な役割を果たす。しかし、低分子量分泌性タンパク質であるケモカインがどのように HEV 局所に保持され、HEV を介するリンパ球遊走を制御するかについては不明な点が多い。そこで私は、HEV の基底膜に局在する細胞外基質成分（ECM）がケモカインと結合するかについて解析を行ない、ECM がケモカイン提示分子としての役割を果たすかどうかについて検討した。

〔　方法ならびに成績　〕

まずはじめに、基底膜に主に存在する ECM 蛋白質とリンフォイドケモカィン（CCL21、CCL19、CXCL13 および CXCL12）との結合を ELISA 法を用いて検討した。その結果、コラーゲンⅣがフィブロネクチンやラミニン-1 に比べて CCL21、CXCL13 および CXCL12 と効率よく結合した。これに対して、コラーゲンⅣは CCL19 と炎症性ケモカイン CCL５とは非常に弱く結合したのみであった。これらの結果から、コラーゲンⅣがリンフォイドケモカインと選択性をもって結合することが示唆された。表面プラスモン共鳴解析の結果、コラーゲンⅣは CCL21 および CXCL13 と K_D 値がそれぞれ 4.6 と 5.9 nM で結合した。一方、CXCL12 とは K_D 値が 43 nM で中程度に結合し、CCL19 とは K_D 値が 421 nM で弱く結合した。これらの結果から、コラーゲンⅣがリンフォイドケモカインの種類によって異なる結合親和性を持つことが示唆された。コラーゲンⅣは他のケモカインと比べて CCL21 と強く結合し、その結合には CCL21 の C 末端部位が必要であった。また、競合結合阻害実験の結果、コラーゲンⅣと CXCL13 および CXCL12 の結合は、CCL21 によって部分的に阻害されたことから、コラーゲンⅣは CCL21、CXCL13 および CXCL12 との結合に共通する部位を用いることが示唆された。さらに、コラーゲンⅣに結合しているケモカインがリンパ球の遊走を誘導するかについてトランスウェルアッセイを用いて検討した。その結果、コラーゲンⅣに結合したケモカインはリンパ球遊走を誘導した。このことから、コラーゲンⅣはケモカイン活性を保持した状態でケモカイン

を結合し、リンパ球に提示できることが考えられる。次に、コラーゲンⅣとリンフォイドケモカインの局在を免疫組織化学で検討した。その結果、コラーゲンⅣは CCL21、CXCL13 および CXCL12 と HEV の基底膜において共局在することが示された。また、リンパ節での CCL21 発現を欠損する plt/plt マウスの足蹠に CCL21 を投与すると、CCL21 はリンパ節に移動し、HEV の基底膜でコラーゲンⅣと共局在した。この際、リンパ節組織切片をコラゲナーゼ処理をすると、HEV 基底膜上での CCL21 の染色が減少した。これらの結果から、コラーゲンⅣが生体中でもリンフォイドケモカインと結合し、リンパ球トラフィッキングに関わる可能性を示唆された。

〔 総　　括 〕

以上の結果から、コラーゲンⅣは、HEV の基底膜でケモカインを捕捉しこれをリンパ球に提示することを通じて、効率的なリンパ球ホーミングを可能にするケモカイン環境の構築に重要な役割を果たす可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

高内皮細静脈（HEV）に発現しているリンフォイドケモカインは、リンパ球ホーミングに重要な役割をはたしている。しかし、低分子量分泌性タンパク質であるケモカインがどのように HEV 局所に保持されるかについては不明な点が多い。申請者の梁甫伎さんは、HEV 基底膜に存在するコラーゲンⅣが CCL21、CXCL13 および CXCL12 のようなリンフォイドケモカインと結合し、リンパ球の遊走を誘導することを見出した。さらに、コラーゲンⅣが HEV 基底膜でこれらのケモカインと共局在することと、コラゲナーゼ処理によって CCL21 の染色が減少することから、生体中でもコラーゲンⅣがリンフォイドケモカインと結合し、効率的なリンパ球ホーミングを可能にするケモカイン環境の構築に重要な役割を果たす可能性が示唆された。

これらの知見は、HEV 局所でのリンフォイドケモカインの保持に関するメカニズムの解明に貢献したと考えられるので、学位論文に値する。