



Title	Involvement of a lysophosphatidic-acid generating enzyme autotaxin in lymphocyte-endothelial cell interactions
Author(s)	中崎, 多恵
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49981">https://hdl.handle.net/11094/49981</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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	中崎多恵
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第22553号
学位授与年月日	平成20年10月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学位論文名	Involvement of a lysophosphatidic-acid generating enzyme autotaxin in lymphocyte-endothelial cell interactions (lysophosphatidic-acid産生酵素であるautotaxinはリンパ球と血管内皮細胞の相互作用に関与する)
論文審査委員	(主査) 教授 大菌 恵一 (副査) 教授 平野 俊夫 教授 竹田 潔

## 論文内容の要旨

## 〔 目 的 〕

Autotaxin(ATX)はlysophosphatidylcholine(LPC)からlysophosphatidic acid(LPA)を産生するlysophospholipaseD活性を持った分泌型の蛋白である。遺伝子発現解析よりATXがmRNAレベルでリンパ節の高内皮細静脈(HEV)に特異的に発現することから、本研究ではATXの機能的な意義をマウスにおいて解析することを目的とした。

## 〔 方法ならびに成績 〕

まず、免疫組織染色により蛋白レベルでATXが末梢リンパ節と腸間膜リンパ節のHEVに選択的に発現し、パイエル板のHEVにも弱いながらも発現することを認めた。また、マウスにおけるATXの生直後の発現の過程はリンパ節のリンパ球流入の時期である生後1日目と一致し、その後徐々に増強を認め、リンパ球の流入とATXの発現の関与を示唆する結果であった。更に、AKRマウスやNODマウスの炎症時におけるリンパ球集積に一致して、ATXの発現が誘導されることも明らかした。これらの結果よりリンパ球の動態にATXが関与している可能性が示唆された。リンパ球traffickingに影響を及ぼすケモカイン欠損マウスやTLR欠損マウスを用いて、ATXの発現を検討したが野生型のマウスの発現と変化はなく、ATXはこれらのケモカインやTLRとは影響を及ぼさないシグナル伝達を持つ可能性が示された。リンパ節HEVにおいてLPA受容体であるLPA1から5のうち、LPA1とLPA4が発現することをin situ hybridizationによって明らかにし、精製したHEV内皮細胞を採取してLPAを添加することにより明らかな形態変化を示し、それはLPA受容体アゴニストであるKi16425によって阻害された。更にATXの機能的な意義を解析するために、ATXを強制発現させた血管内皮細胞株を作製した。強制発現した内皮細胞株は、LPAあるいはLPC刺激で細胞骨格の形態変化認め、受容体アゴニストであるKi16425によって阻害された。また、親株はLPA刺激のみに細胞骨格の形態変化を認め、LPC刺激には反応が認められなかった。またこのATXを強制発現させた内皮細胞株にLPAあるいはLPCで刺激したところリンパ球との結合が増加した。一方親株ではLPA添加でのみリンパ球結合の増加が認められた。また、これらの増加はLPA受容体アンタゴニストであるKi16425によって阻害された。これらの反応はフロー条件下でも同様の反応を認めることができた。次にin vivoでのATXとリンパ球結合との影響を検討するために、循環血液中のATX活性を阻害する抗

ATX抗体をマウスに投与した。しかしリンパ球traffickingへの影響は認めることができなかった。

## 〔 総 括 〕

以上の結果よりATXはリンパ節のHEV上に選択的に発現を認め、リンパ球traffickingと関与している可能性を持つことが示唆された。また、循環血液中よりもHEV上局所で働くことが考えられ、特にリンパ球と内皮細胞間の相互作用に対し調節的な役割を持つことが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、遺伝子発現解析においてAutotaxin(ATX)がmRNAレベルでリンパ節の高内皮細静脈(HEV)に特異的に発現することに注目し、ATXの機能的な意義をマウスにおいて解析することを目的としたものである。免疫組織染色によりタンパク質レベルでATXがHEVに選択的に発現し、その発現がリンパ節のリンパ球流入の時期と一致していること、さらに炎症時のリンパ球集積にも一致して発現が誘導されることを明らかにしている。また、ATXを強制発現させた血管内皮細胞株を用いてATXの細胞生物学的な機能解析を行い、LPAあるいはLPC刺激によりHEVの細胞骨格の形態変化が生じ、リンパ球との結合が増加することを見出している。さらに、循環血液中のATX活性を阻害する抗ATX抗体をマウスに投与し、リンパ球traffickingへの影響についても検討がなされている。これらの結果はATXがHEVに直接作用し、特にリンパ球と内皮細胞相互作用に対して調節的な役割を持つことを示唆しており、リンパ球traffickingのメカニズムの解明にきわめて重要なものである。よって、本研究は学位の授与に値すると思われる。