



Title	Lysophosphatidic acid receptors LPA4 and LPA6 differentially promote lymphocyte transmigration across high endothelial venules in lymph nodes
Author(s)	秦, 枝里奈
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/55832">https://hdl.handle.net/11094/55832</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論 文 内 容 の 要 旨  
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	秦 枝里奈
論文題名 Title	<p>Lysophosphatidic acid receptors LPA<sub>4</sub> and LPA<sub>6</sub> differentially promote lymphocyte transmigration across high endothelial venules in lymph nodes</p> <p>(リゾホスファチジン酸受容体LPA<sub>4</sub>とLPA<sub>6</sub>はリンパ節高内皮細静脈を介したリンパ球の移行を差動的に促進する)</p>
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>リンパ球は血管から末梢組織に移動した後、輸入リンパ管と高内皮細静脈 (HEV)を介してリンパ節内へ移動し、リンパ節内に存在する抗原を認識して反応、増殖するか、あるいは抗原に出会わなければ輸出リンパ管からリンパ節外へと移動し、胸管を経て血管系に戻る。リンパ球はこのようにして全身をパトロールし、免疫の恒常性を維持する。私はリンパ球移動の人為的調節を介した免疫反応の調節技術開発を目的に、特にHEVを介したリンパ球移動の分子機構に着目した。リンパ球の血管外移動は、ローリング、接着、内皮細胞間隙の通り抜け、という多段階のステップからなり、ローリングや接着に関しては多くの研究がされてきたものの、リンパ球がどのようにしてHEV内皮細胞間隙を通り抜けるのか、その詳細な分子機構はこれまで不明であった。私が所属していた研究室では、先行研究により、HEVにはリゾリン脂質の一種である lysophosphatidic acid (LPA) の産生酵素 autotaxin (ATX)とその産物であるLPAがともに発現し、ATXはLPA産生を介してHEVにおけるリンパ球の通り抜けを正に制御することが強く示唆されていた。そこで私は、LPAがどのようにしてリンパ球の血管外移動を制御するのかについて明らかにすることを目的として、以下の解析を行った。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>まず、FACS sortingによりマウスリンパ節からHEV内皮細胞を精製、単離し、6種のLPA受容体 (LPA<sub>1</sub>-LPA<sub>6</sub>) の遺伝子発現を解析したところ、LPA<sub>4</sub>とLPA<sub>6</sub>が発現していた。</p> <p>次に、凍結切片の免疫染色によりLPA<sub>4</sub>あるいはLPA<sub>6</sub> KOマウスのリンパ節の構造を正常マウスと比較したところ、HEV、T細胞領域、B細胞領域形成及びATX産生には明らかな変化は見られなかったが、どちらのKOマウスにおいてもHEVの内皮細胞層内にリンパ球が多数存在するようになった。そこで、HEV内皮細胞層内のリンパ球貯留を定量的に解析するために、一定面積あたりのHEV内皮細胞層におけるリンパ球数を LPA<sub>4</sub> KOマウス、LPA<sub>6</sub> KOマウス、正常(野生型; WT) マウス間で比較した。その結果、LPA<sub>4</sub> KOマウス、LPA<sub>6</sub> KOマウスともに、WTに比べて、HEV内皮細胞層内のリンパ球貯留は有意に増加していたが、LPA<sub>6</sub> KOマウスではLPA<sub>4</sub> KOマウスほどの増加は見られなかった。このことはHEV内皮細胞層の透過型電子顕微鏡解析によっても確認された。これらのことから、LPAは主にLPA<sub>4</sub>を介したシグナルによってHEV内皮細胞間隙でのリンパ球通り抜けを調節する可能性が示唆された。</p> <p>次に、HEV内皮細胞でのLPA受容体シグナルの機能的意義を確認するために、GFP陽性WTリンパ球を各LPA受容体KOマウスあるいはWTマウスに静脈内投与し、レシピエントリンパ節内、特にHEV内皮細胞層とその近傍におけるドナーリンパ球の動態を、whole-mountリンパ節標本と3次元画像解析ソフトImarisを用いて詳細に解析した。その結果、HEV内皮細胞層とその近傍におけるリンパ球移動は、LPA<sub>4</sub> KOマウスで有意に抑制されていたが、LPA<sub>6</sub> KOマウスではWTマウスと比べて有意な差は見られなかった。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>以上より、リンパ球のHEV内皮細胞層の通過は、HEV内皮細胞上の主にLPA<sub>4</sub>受容体を介したシグナルにより制御され、LPA<sub>6</sub>受容体を介するシグナルも補助的に働く可能性が示唆された。これまでの研究結果と併せると、HEV内皮細胞により産生されるATXがその基質である血中リゾリン脂質( lysophosphatidylcholine)に働いて局所的にLPAを産生し、このLPAが主にLPA<sub>4</sub>受容体を介してオートクライン的にHEV内皮細胞に働き、内皮細胞の運動性やリンパ球との接着性を制御することによりリンパ球の内皮細胞間隙通過を制御すると考えられる。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 秦 枝里奈

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 竹田 潔
	副 査	大阪大学教授 荒瀬 尚
	副 査	大阪大学教授 石井 優

## 論文審査の結果の要旨

リンパ球の高内皮細静脈 (HEV) を介した血管外移動は、ローリング、接着、内皮細胞間隙の通り抜けの多段階のステップからなることが知られているが、通り抜けの詳細な分子機構については不明であり、発表者はこれを検討した。まず、申請者は、HEV内皮細胞にLPA<sub>4</sub>とPA<sub>6</sub>が発現していることを明らかにした。次に、組織化学的な定置解析の結果、LPA<sub>4</sub> KOマウス、LPA<sub>6</sub> KOマウスともに、正常 (野生型; WT) に比べてHEV内皮細胞層内のリンパ球貯留が有意に増加しており、LPA<sub>6</sub> KOマウスではLPA<sub>4</sub> KOマウスほどの増加は見られないことを明らかにした。また、WTリンパ球をWT、LPA<sub>4</sub> KOマウス、LPA<sub>6</sub> KOマウスに静脈内投与し、whole-mountリンパ節標本と3次元画像解析ソフトImarisを用いてドナーリンパ球のHEV内皮細胞層とその近傍におけるリンパ球移動量を解析したところ、HEV内皮細胞層とその近傍におけるリンパ球移動は、LPA<sub>4</sub> KOマウスで有意に抑制されていたが、LPA<sub>6</sub> KOマウスではWTマウスと比べて有意な差は見られないことを明らかにした。

以上より、申請者は、リンパ球のHEV内皮細胞層の通過はHEV内皮細胞上のLPA<sub>4</sub>を介したシグナルにより制御され、LPA<sub>6</sub>を介するシグナルも補助的に働く可能性を示した。

上記の内容は、博士 (医学) の学位授与に値する。