

氏 名	お 尾 崎 春 信
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2162 号
学位授与の日付	平 成 11 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Combined Treatment of TNF- α and IFN- γ Causes Redistribution of Junctional Adhesion Molecule (JAM) in Human Endothelial Cells. (ヒト臍帯静脈内皮細胞において, TNF- α 及び IFN- γ 同時刺激によって生ずる JAM 再分布現象の検討)

論文調査委員	(主 査) 教 授 月田承一郎	教 授 桂 義 元	教 授 北 徹
--------	--------------------	-----------	---------

論 文 内 容 の 要 旨

TNF α やインターフェロン γ に代表される炎症性サイトカインは、血管内皮細胞に ICAM-1, VCAM-1 などの接着分子の発現を誘導し、白血球の内皮細胞下への遊走 (内皮細胞間のすりぬけ) を促進する。一方, Rival らによって、炎症性サイトカインである TNF α とインターフェロン (IFN) γ の同時刺激では逆に、内皮細胞下への白血球遊走が減少すると報告された (Rival et. al. J. Immunol. 157: 1233)。この時、内皮細胞間に発現し、白血球遊走に必要な接着分子 PECAM-1 の発現減少を伴っていた。したがって、白血球遊走の調節の機序として、内皮細胞上の接着分子発現の減少も重要であると考えられた。

最近、内皮細胞間のタイトジャンクションに局在する免疫グロブリンスーパーファミリー膜蛋白 Junctional adhesion molecule (JAM) が同定された。JAM は細胞間に恒常的に発現していた。抗 JAM モノクローナル抗体は in vitro において、単球の内皮細胞下への遊走を、また in vivo では、ケモカインによる単球浸潤を阻害し、白血球遊走に重要であると報告された (Padura et. al. JCB. 142: 117)。我々はこのグループとは独自に、ウシ内皮細胞から免疫グロブリンスーパーファミリーに属し、細胞間接着部位に局在する膜蛋白をすでにクローニングしていた。我々は、そのアミノ酸配列の類似性から JAM と同一蛋白と判断した。今回、我々は JAM も、TNF α と IFN γ 同時刺激時に観察された、内皮細胞間の白血球すりぬけ (遊走) の低下現象に関与する蛋白ではないかと考え、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を用いて検討した。

まず、間接蛍光抗体法にて JAM 発現を観察した。未刺激 HUVEC では、JAM は細胞間にのみ局在した。TNF または IFN の単独刺激 24 時間後でも若干の JAM 発現減少が観察されたが、TNF と IFN の同時刺激後では JAM が完全に消失した。

次に、これらの現象が単なる抗原性の変化によるものではないことを確認するため、我々は同様の条件で刺激した HUVEC を (1) FACS 法、(2) Cell ELISA 法、(3) 細胞表面ビオチン化分離膜蛋白に対するウェスタンブロット法の合計 3 種類の方法によって、その発現量を検討した。

その結果、VCAM-1 が増加したのに対し、JAM, PECAM-1 両者ともその細胞表面の発現量は、サイトカイン刺激の有無、組み合わせに関わらず不変であった。つまり、サイトカイン刺激は JAM と PECAM-1 両者を内皮細胞間から細胞表面全体へ拡散させ、間接蛍光顕微鏡下には、発現が減少または消失したかの様に見えたためと解釈された。我々はこれを、炎症性サイトカインによる JAM の細胞間から細胞表面全体への再分布現象と考えた。

これらの観察から、

1. 白血球遊走に関与する。
2. 未刺激では内皮細胞の細胞間接着部位に局在している。
3. 炎症性サイトカインに反応して再分布する (このとき白血球遊走の減少を伴う)。

以上の3つの共通項がJAM, PECAM-1の間に存在すると考えた。そこで、我々は、本論文においてJAM, PECAM-1両者を炎症性サイトカイン刺激された内皮細胞における「白血球遊走の負の調節因子」と提唱した。

ただし、JAMはtight junctionに、PECAM-1はadherence junctionに各々局在していることから、両者の間にも異なった役割があるものと推察した。今後さらなる研究によって、これらも明らかにしうると期待している。

論文審査の結果の要旨

申請者は本研究において、ウシ内皮細胞から細胞間接着部位に局在する膜蛋白をクローニングした。そのアミノ酸配列の類似性から、白血球遊走に関与する内皮細胞間の接着分子Junctional adhesion molecule (JAM) のホモログと判断した。炎症時に起こる白血球遊走には内皮細胞間の接着分子PECAM-1を必要とするが、炎症性サイトカインTNF α とインターフェロン γ の同時刺激時には白血球遊走の減少と同時にPECAM-1の発現減少が見られる。申請者はJAMがこの白血球遊走減少に関与するのではないかと考え、内皮細胞を用いて検討した。蛍光抗体法、フローサイトメトリー法、Cell ELISA法、ウェスタンブロット法によって発現パターンを比較した結果、TNF α とインターフェロン γ の同時刺激がJAMとPECAM-1両者を細胞接着部位から細胞表面全体へ再分布させることを明かにした。

本研究成果から申請者は、炎症性サイトカインによって引き起こされるJAM, PECAM-1という2つの接着分子の再分布を利用して、内皮細胞は白血球遊走の増加を調節しているのではないかと推測した。

以上の研究は炎症反応における血管内皮細胞の役割の解明に貢献し、医学、生物学の進歩に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成11年7月14日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。