

## 培養血管内皮細胞上で形態変化した単球の機能の変化についての研究

坊 垣 美也子

血管内皮細胞は血管の内腔を覆う単層の上皮様細胞で、血液成分からの組織の保護、凝固、線溶系の制御、血液成分の選択的移行および多種類の生理活性物質の産生分泌など多彩な機能を持つ。一方、単球は血液中に存在する貪食能を持った単核白血球の一種であり、生体における炎症、免疫反応に重要な役割を持つ。さらに血液中から組織に移行し、より活性化された機能を持つマクロファージに転換するとされている。

これまでの研究で、血管内皮細胞を生体内に近い状態で長期間培養する方法を確立し、これによる培養血管内皮細胞と単球の相互作用について検討を行ってきた。その結果、ヒト末梢血から分離した単球は培養血管内皮細胞上で共培養すると、血管内皮細胞様に形態を変化させることを見いだした。血液中の単球は血液中から組織への移行に際して、血管内皮細胞下へ侵入する。しかし、我々の研究で見られる血管内皮細胞との共培養での単球の形態変化は、これとは異なった現象と考えられる。また、昨年度のテーマ別研究では、このように形態変化した単球は、本来単球が持っている貪食能を失っていることが分かった。このことは単球が血管内皮細胞との共培養で形態変化するだけでなく、その細胞としての機能をも変化させていることを示している。

今回は機能の変化の指標として、単球の特異的な抗原（マーカー）である、MHC class IIおよびCD68、血管内皮細胞の特異的なマーカーである、VEカドヘリンおよびvon Willebrand Factorを取り上げ、単球の形態変化に伴ってこれらのマーカーの発現が変化するかどうか検討した。

MHC class II（主要組織適合複合体クラスII）はマクロファージなどの抗原提示細胞に発現し、細胞外から取り込んだ外因性のペプチドをT細胞に提示し、認識させる働きを持つ。CD68は機能の点については明らかではないが、マクロファージ、単球、好中球、好塩基球等の細胞内顆粒に結合して存在する糖タンパク質で、特にマクロファージの最良のマーカーとされている。

Dil-Ac-LDLで標識した単球を培養血管内皮細胞上に乗せて8日後にMHC class IIおよびCD68の発現を確認した。単球の形態を保持した細胞ではMHC class IIおよびCD68の発現が見られたのに対し、血管内皮細胞様に形態変化した細胞ではMHC class IIの発現は見られず、CD68では形態変化していない単球と比較するとその発現は弱くなっていた。また、血管内皮細胞にはMHC class IIおよびCD68の発現は見られなかった。以上の結果は単球が血管内皮細胞との共培養でその形態を変化させるに伴って、そのマーカーを失う、即ち機能の面での変化を起こしていることを示している。

一方、血管内皮細胞のマーカーである、VE-カドヘリンは血管内皮細胞間の接着に関わる接着分子で、血管内皮細胞に特異的であるとされている。また、von Willebrand Factorは第Ⅷ因子関連抗原とも言われ、血小板粘着に関わる血管内皮細胞の特異的なマーカーである。今回の検討ではVE-カドヘリンおよびvon Willebrand Factorの何れも染色状態が悪く、本来発現が見られる血管内皮細胞においても明確な検出が出来なかった。固定方法、用いた抗体または蛍光抗体法の操作に問題があったものと考えられる。単球由来の細胞が血管内皮細胞のマーカーを発現すれば、その機能の変化がより明確になるので、実験条件を整えてさらに検討を行いたい。