

平成 30 年 5 月 24 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07769

研究課題名(和文)単球/マクロファージの血管壁通過と組織定着を制御する新規候補分子の検証

研究課題名(英文)Functional analyses on a new molecular system, EphA/ephrin-A, in transendothelial migration, infiltration and/or tissue lodgement of monocytes/macrophages

研究代表者

小川 和重 (Ogawa, Kazushige)

大阪府立大学・生命環境科学研究科・教授

研究者番号：60231221

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：EphA/ephrin-Aが単球/マクロファージ(M)の血管内皮細胞層通過・浸潤・組織定着に關与することを明示した。(1)単球への分化・成熟に伴いEphA/ephrin-Aの発現誘導・上昇が起こること、EphA/ephrin-Aの活性化はインテグリンリガンド吸着基質に対する単球の接着性を増強させることを明らかにした。(2)EphA2の活性化はインテグリンのICAM1、VCAM1への結合性増強を介して接着性を上昇させ、この作用はEphA2の細胞外ドメインも關与することを明らかにした。(3)EphA2の細胞外ドメインは、単球/M の脾臓への浸潤・定着を促進させることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The author found out functions of EphA receptors and ephrin-A ligands related to transendothelial migration, infiltration and/or tissue lodgement of monocytes/macrophages as follows. (1) Expressions of some EphA and ephrin-A members were upregulated/induced during monocyte maturation; Stimulation by EphA as well as ephrin-A, promoted adhesion to an integrin ligand coated surface and formation of protrusions in monocytes. (2) Following ephrin-A1 stimulation, endogenous EphA2 promotes cell adhesion through interaction with integrins and integrin ligands such as ICAM1 and that truncated EphA2 lacking the kinase domain potentiates the adhesion and becomes associated with the integrin/integrin ligand complex in monocytes/macrophages. (3) Truncated EphA2 likely potentiates cell adhesion via integrins as well as infiltration and/or lodgment of a monocyte/macrophage cell line in the red pulp and marginal zone of the mouse spleen, where ephrin-A1 is prominently expressed in the vasculature.

研究分野：細胞生物学

キーワード：EphA ephrin-A monocytes macrophages

1. 研究開始当初の背景

1) 白血球の内皮細胞層通過に関する背景

白血球は炎症部の血管を認識して浸潤する。白血球のインテグリン ($\alpha\text{L}\beta\text{2}$, $\alpha\text{4}\beta\text{1}$) と血管内皮細胞の接着分子 (ICAM1, VCAM1) の結合により、白血球は血管内壁に接着する。炎症性サイトカインは血管内皮細胞の ICAM1, VCAM1 発現を増強させるため、白血球は炎症部位に分布する血管に強固に結合し、その後、通過部位を探って管腔面を横方向に移動し (Crawling), 内皮細胞層を通過する (Luo et al, *J Clin Invest*, 2002; Voisin and Nourshargh, *J Innate Immun*, 2013 など)。この分子機構には不明な点が多く、インテグリン-インテグリンリガンドだけでは説明がつかないのが現状で、白血球の浸潤機構に関する激しい研究競争が行われている。

2) Eph と ephrin に関する背景

Eph 受容体と ephrin リガンドは膜タンパクである。Eph 発現細胞と ephrin 発現細胞が接触すると受容体とリガンド双方にシグナルが発生する。シグナルは、アクチン線維の動態制御を介して細胞の接着・遊走を制御し、接着分子を介する細胞間情報伝達にも関与する (Pasquale, *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005)。申請者は「Eph/ephrin は細胞接触を介して仲間の細胞かどうか判断する分子システムで、発生期に限らず成体でも作動し、組織形成・維持に不可欠である」と考え研究を進めている (Ogawa et al, *Oncogene*, 2000; Ogawa et al, *J Cell Sci*, 2006; Ogawa et al, *Histochem Cell Biol*, 2011, 2013; Ogawa et al, *World J Gastroenterol* 2014; Ishii et al, *Basic Res Cardiol*, 2011 他)。近年、成体に関する Eph/ephrin の研究が開花し、インシュリン分泌制御 (Konstantinova et al, *Cell*, 2007), 腸上皮の細胞構築と結腸癌の悪性化 (Batlle et al, *Cell*, 2002, *Nature* 2005) などが報告されており Eph/ephrin の生理的機能が注目され (Pasquale, *Cell*, 2008), 白血球の機能 (接着) と Eph/ephrin の関連性が着目され始めてきた。

3) 組織在住マクロファージに関する背景

組織在住マクロファージは骨髄で分化した単球が血液中を循環し組織に浸潤して補充されると長い間考えられていた。最近の細胞系譜の追跡研究により、この組織在住 (常在) マクロファージは、胎生期に、卵黄嚢および肝臓で分化した食細胞が器官・組織に浸潤・定着した細胞であること、自己増殖によりそのポピュレーションが維持されていることが明らかになった (Hashimoto et al, *Immunity*, 2013; Sieweke and Allen, *Science*, 2013)。従って、培養により組織在住マクロファージを増殖させることは可能であると考えられる。肝臓のクッパー細胞および脳のミクログリアに関して分離・培養法が報告されるようになってきたが、マクロファージの増殖性は低く、継代培養や凍結保存に関することは報告されていないため、方法を改良する必要がある。

2. 研究の目的

著者は、これまでの研究から、EphA2 受容体と ephrin-A1 リガンドが (1) 単球/マクロファージの血管内皮細胞層通過と (2) マクロファージの組織内定着 (ニッチの形成) に関与する可能性が高いことを示唆する現象を把握した。これらの現象から、仮説 1 「単球/マクロファージは炎症による血管内皮細胞の EphA2/ephrin-A1 発現上昇により内皮細胞に連結・接着し、両細胞に発生する EphA2/ephrin-A1 シグナルは単球/マクロファージの内皮細胞層通過を誘導する」と仮説 2 「EphA2 と ephrin-A1 は組織固有のマクロファージの定着機構に関与する」を立てた。本研究はこれら仮説の検証である。浸潤・集簇したマクロファージは慢性炎症性疾患の病態を左右し、また、腫瘍の血行性転移を促進すると考えられているため、対象分子が新規治療法のシーズになるか評価・検討することも本研究の目的になる。

3. 研究の方法

1) 発現性状, EphA/ephrin-A の活性化の性状の解析

RT-PCR による発現解析

EphA および ephrin-A のすべてのメンバー (EphA1~A8, A10; ephrin-A1~A5), 白血球に発現するインテグリンのすべての α 鎖, β 鎖 (α1 , α2 , $\alpha\text{4-6}$, αD , αL , αM , αX , β1 , β2), インテグリンリガンド (ICAM1, VCAM1), 単球の分化・未分化マーカー (CD14, CD15, CD16, CD34, CD115) について RT-PCR により mRNA の発現レベルを半定量的に比較・検討した。細胞として、単球/マクロファージ株の親株 (J774.1, U937), 細胞内ドメインを EGFP に置換した EphA2 を安定発現する亜株 (EphA2 Δ C-EGFP-J774.1, EphA2 Δ C-EGFP-U937) とその対照亜株 (EGFP-J774.1, EGFP-U937), 急性骨髄性白血病細胞株 HL60 とビタミン D + TNF α で単球に分化させた HL60, また、赤脾髄マクロファージと赤脾髄線維芽細胞を使用した。また、8 週齢 マウスの脾臓およびクロドロン酸内包リボソームを投与して組織在住マクロファージを枯渇させたマウスの脾臓について EphA, ephrin-A 発現を RT-PCR で検討した。

単球/マクロファージ株の親株と亜株については、異なるプライマーを用いて内因性の EphA2 と外因性の EphA2 Δ C-EGFP の発現レベルを半定量的に検討した。

フローサイトメトリーによる発現解析

タンパクの細胞表面発現レベルをフローサイトメトリーで検討した。調べた分子は RT-PCR で明確な発現が認められたインテグリン ($\alpha\text{4-6}$, αL , αM , αX , β1 , β2) とインテグリンリガンド (ICAM1, VCAM1), EphA (A1~A4) と ephrin-A (A1, A4, A5) である。親株と単球に分化させた HL60 を材料にインテグリン α 鎖, β 鎖の発現レベルを比較検討した。J774.1

と亜株, U937 と亜株では EphA2 の発現レベルを検討した。赤脾髄マクロファージと赤脾髄線維芽細胞を材料に EphA と ephrin-A, インテグリンとインテグリンリガンドについて発現レベルを検討した。

免疫沈降サンプルを使ったウエスタンブロットによるリン酸化解析

ephrin-A1-Fc の添加・非添加の EphA2ΔC-EGFP-J774.1 と親株 J774.1 を対象にした。両細胞のタンパク溶解物を EphA2 の細胞内ドメインを認識する抗体 cEphA2 で免疫沈降したサンプルを作製し, サンプルを SDS-PAGE で分離し PVDF メンブランに転写したあと, 抗リン酸化チロシン抗体で内因性 EphA2 のチロシンリン酸化状態を比較・検討し, cEphA2 抗体でリプローブした。

インテグリンリガンドに対する Pull-down サンプルを使ったウエスタンブロットによる結合解析

ephrin-A1-Fc の添加・非添加の EphA2ΔC-EGFP-U937 と親株 U937 を対象に, 両細胞のタンパク溶解物を ICAM1-Fc および VCAM1-Fc と Protein G ビーズを使って Pull-down させたサンプルを作製した。サンプルを SDS-PAGE で分離し PVDF メンブランに転写した後, EphA2 の細胞外ドメインを認識する抗 eEphA2 抗体, 抗 EGFP 抗体, 抗インテグリン β2 抗体を使って ICAM1 または VCAM1 と EphA2 およびインテグリン β2 との結合性状を検討した。

EphA2/ephrin-A1 の活性化が Rap1 の活性化に及ぼす影響

ephrin-A1-Fc, EphA2-Fc の添加・非添加の赤脾髄マクロファージのタンパク溶解物を材料に用いた。タンパク溶解物の中に含まれる GTP-Rap1 のレベルを Pull-down assay により比較・検討した。

2) Cell adhesion stripe assay

単球/マクロファージにおける EphA, ephrin-A の活性化がインテグリンを介する細胞接着性に及ぼす影響を Cell adhesion stripe assay で検討した。インテグリンリガンドとして, Collagen Type IV と Laminin を多量に含む Matrigel および ICAM1, VCAM1, Fibronectin を使用した。Ephrin-A1-Fc, EphA2-Fc をストライプ状に, インテグリンリガンドタンパクを全面に吸着させたカバーガラスに, 無処置の HL60 とビタミン D + TNFα で単球に分化させた HL60, J774.1 の親株と亜株 (EphA2ΔC-EGFP-J774.1 と EGFP-J774.1), U937 の親株と亜株 (EphA2ΔC-EGFP-U937 と EGFP-U937), 赤脾髄マクロファージを播種して, EphA, ephrin-A の活性化がインテグリンリガンドへの接着性に及ぼす影響を検討した。一部の細胞については Time-Lapse imaging を行った。また, 播種一定時間後に細胞を固定し, Alexa546-Phalloidin と抗 Vinculin 抗体でアクチン線維と焦点接着の形状を可視化させ, EphA, ephrin-A の活性化が細胞の形状・インテグリンの凝集化(焦点接

着形成)に及ぼす影響を調べた。

3) In vitro における単球/マクロファージの血管内皮細胞層の通過性状と EphA2

ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)と微小血管内皮細胞(HDMVEC)を EGM-2 と EGM-2-MV (Lonza) で培養し, 100%コンフルエントの状態にした。この血管内皮細胞上に, EphA2ΔC-EGFP-J774.1, また, 対照として親株あるいは亜株(EGFP-J774.1)を播種し, 基底側へ移動した細胞の割合を計測し, EphA2 シグナルが血管内皮細胞層通過に及ぼす影響を検討した。CSFE で生体蛍光標識した細胞を使用した。血管内皮細胞層通過動態を Time-Lapse imaging で解析した。

4) 赤脾髄マクロファージと赤脾髄線維芽細胞の初代培養

マウスの脾臓からコラゲナーゼを使って細胞を分散させ, 分散細胞の初代培養を行った。数週間培養してオーバーコンフルエンス状態になった細胞を剥離した後, 細菌用ペトリディッシュに播種して培養を続け, 接着細胞と非接着細胞に分離した。接着細胞についてはマクロファージマーカー分子発現, 非接着細胞については赤脾髄線維芽細胞マーカー分子の発現について, フローサイトメトリーと RT-PCR で検討した。

5) EphA2 と脾臓への細胞の浸潤性

クロドロン酸内包リポソームを腹腔投与して赤脾髄マクロファージを枯渇させたマウスを使用した。生体蛍光色素 Far Red を標識した親株 J774.1 と生体蛍光色素 CSFE 標識した EphA2ΔC-EGFP-J774.1 の同数の細胞を静脈投与して浸潤細胞の分布と細胞密度を比較・検討し, 脾臓への浸潤・定着に EphA2 のエクドメインが影響を及ぼすか検討した。投与 2 時間後に採材し, 凍結切片の蛍光観察で解析した。

4. 研究成果

1) 不活性化 EphA2 を発現する単球/マクロファージ株

細胞内ドメインを蛍光タンパク EGFP に置換した EphA2 (EphA2ΔC-EGFP) を発現するマウスの単球/マクロファージ様株 J774.1 の亜株 EphA2ΔC-EGFP-J774.1 とヒト単球様株 U937 の亜株 EphA2ΔC-EGFP-U937, また対照株として EGFP を発現する亜株 EGFP-J774.1, EGFP-U937 を使用して, 親株(J774.1 と U937) と亜株で内因性 EphA2 発現レベルに差がないこと, インテグリン(数種の α 鎖, β 鎖)の発現レベルに大きな差がないことを明らかにした。また, J774.1 の親株と亜株を材料とした免疫沈降とウエスタンブロットにより, EphA2ΔC-EGFP は内因性 EphA2 の自己リン酸化に影響を及ぼさないことを明らかにした(図 1)。これらの点から, 親株と亜株で細胞接着性に差が認められた場合は亜株の EphA2ΔC-EGFP に起因すると考えられ, 単球/マクロファージに発現する EphA2 の機能解析に有用な細胞であると判断した。

2) 単球/マクロファージの EphA2 シグナルとインテグリンリガンド吸着基質への接着

J774.1 と U937 の親株と EphA2 Δ C-EGFP 発現亜株を使用して、血管内皮細胞膜に発現するインテグリンリガンド ICAM1, VCAM1 および細胞外基質のインテグリンリガンド Fibronectin, Collagen に対する接着性を ephrin-A1-Fc を使った Cell adhesion stripe assay で、EphA2 とインテグリンの物理的な結合性を Pull-down assay で検討した。その結果、(1)EphA2 の細胞内ドメインを介するシグナルはインテグリンを活性化させてインテグリンリガンド(ICAM1, VCAM1, Fibronectin, Collagen, Matrigel) への接着性を増強させること(単球/マクロファージでは新規の見知; 図 2), (2) EphA2 の細胞外ドメインは β 2 インテグリンと ICAM1 または VCAM1 の複合体と結合してインテグリンの結合活性を上昇させ接着性を増強させること(新規の制御機構)が明らかになった(図 3)。

3) 単球/マクロファージの血管内皮細胞層通過とシグナル

単球/M ϕ 様株 J774.1 の亜株 EGFP-J774.1 と EphA2 Δ C-EGFP-J774.1 を血管内皮細胞層上に播種し、内皮細胞基底側への通過性状を調べたところ、EphA2 Δ C-EGFP-J774.1 で通過性が抑制された。

4) 単球の EphA/ephrin-A シグナルとインテグリンを介する接着性の制御

単球において EphA/ephrin-A によるインテグリンを介する細胞接着について、薬剤で単球に分化誘導できる株細胞 HL60 を使って EphA/ephrin-A の発現動態とインテグリンの発現性状を詳細に解析した。その結果、分化誘導に伴い EphA4 と EphA2 の発現誘導が起こり、ephrin-A4 発現は有意に上昇した。また、対照の無処置 HL60 と単球に分化誘導した HL60 は同じレベルで α 4, α 5, α 6, β 1 を発現しているが、分化誘導に伴い α L, α M, α X および β 2 発現が有意に上昇することが明らかになり、 α L β 2, α M β 2, α X β 2 インテグリンによる接着能の増強が示唆された(図 4)。インテグリンリガンドとして Type VI Collagen と Laminin を多量に含む Matrigel を基質とし、ephrin-A1-Fc および EphA2-Fc を使った Cell adhesion stripe assay で EphA および ephrin-A の活性化に伴う単球の接着性状を、分化誘導させた HL60 を材料に解析したところ、単球の分化誘導に伴い Matrigel の接着性が出現し、EphA および ephrin-A の活性化は接着性を有意に上昇させることが明らかになった。また、EphA, ephrin-A の活性化は Focal adhesion 形成を誘導することも判明した。

5) 組織在住マクロファージの分離と増殖

組織在住マクロファージの組織定着機構を調べるためには、増殖培養させたマクロファージを材料として使用することが不可欠である。これまでに報告されているクッパー細胞およびミクログリアの分離・増殖法を参考に、一般の組織在住マクロファージにも適用

できる分離・増殖法を開発した。開発した方法では、クッパー細胞、ミクログリアの他に、赤脾髄マクロファージ(図 5)、肺の間質マクロファージを増殖・分離することが可能であった。また、開発した方法は、凍結保存・継代培養が可能である事も証明した。これまでの方法と異なり、組織在住マクロファージを比較的大量に得られる方法で、特許を出願した。

6) 脾臓における EphA/ephrin-A シグナルと赤脾髄マクロファージの組織定着

著者は、マウスの脾臓において、EphA2 は脾洞内皮細胞、赤脾髄線維芽細胞と赤脾髄マクロファージに、ephrin-A1 は辺縁帯と赤脾髄に分布する血管内皮細胞に発現していること、クロドロン酸内包リポソームを投与により赤脾髄マクロファージを枯渇させると脾臓の EphA2 と ephrin-A1 発現がアップレギュレートすることを見出した。この研究成果から、EphA2/ephrin-A が赤脾髄マクロファージの組織定着に關与する可能性が高いことが示唆される。そこで、初代培養赤脾髄マクロファージと赤脾髄線維芽細胞を使って、EphA/ephrin-A の発現と働きを検討した。その結果、(1)赤脾髄マクロファージと赤脾髄線維芽細胞はそれぞれ数種類の EphA と ephrin-A を細胞表面に発現していること、(2)赤脾髄マクロファージはインテグリン α 4 β 1, α M β 2, α X β 2 タンパクを、赤脾髄線維芽細胞は対応するインテグリンリガンド VCAM-1 と ICAM-1 を細胞表面に発現していること、(3)赤脾髄線維芽細胞の EphA を活性化させると、ICAM-1 の発現レベルが有意に上昇すること、(4)赤脾髄マクロファージの ephrin-A および EphA を活性化させると ICAM-1 および VCAM-1 吸着基質への接着性が増強すること、(6)EphA/ephrin-A の活性化により Small GTPase の Rap1 (インテグリンの活性化を誘導)が活性することを明らかにした。これらの結果から、赤脾髄マクロファージと赤脾髄線維芽細胞の接触により発生する EphA/ephrin-A シグナルは、インテグリンの活性化とインテグリンリガンドの発現上昇を介して両細胞間の接着性を増強させることが示唆された。従って、EphA/ephrin-A は赤脾髄マクロファージの組織定着に深く関すると考えられた。

7) EphA2 と単球/マクロファージの脾臓への浸潤・定着性

EphA2 Δ C-EGFP を発現するマウスの単球/マクロファージ様株 EphA2 Δ C-EGFP-J774.1 をクロドロン酸内包リポソーム投与により赤脾髄マクロファージを枯渇させたマウスに静脈投与し、細胞の浸潤性状を検討した。対照として蛍光標識した親株 J774.1 を使用し、同数の細胞を同時に静脈投与して、脾臓への浸潤・定着性を比較した。その結果、親株の 3 倍以上の EphA2 Δ C-EGFP-J774.1 が赤脾髄および辺縁帯に局在したことから、EphA2 の細胞外ドメインはマクロファージの浸潤・定着

に關与することが明らかになった(図6)。

上記の研究成果から「EphA/ephrin-A シグナル制御を介した単球/マクロファージの炎症巣への浸潤制御」ができると考えられ、EphA, ephrin-A は新規治療法のシーズ分子になると評価できた。今後、これらの研究成果を新たに3つの論文(赤脾髄マクロファージの組織定着と EphA/ephrin-A; 汎用性のある常在マクロファージの増殖・分離培養法; 単球/マクロファージの血管内皮細胞層通過制御機構と EphA, ephrinA)にまとめる予定で、投稿準備を進めている。

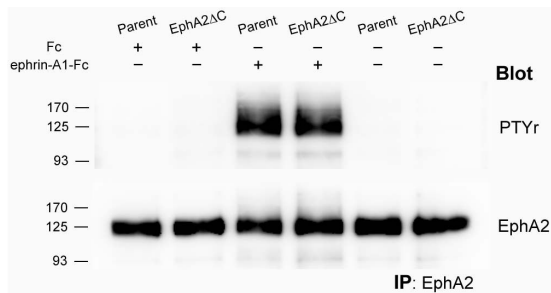


図 1

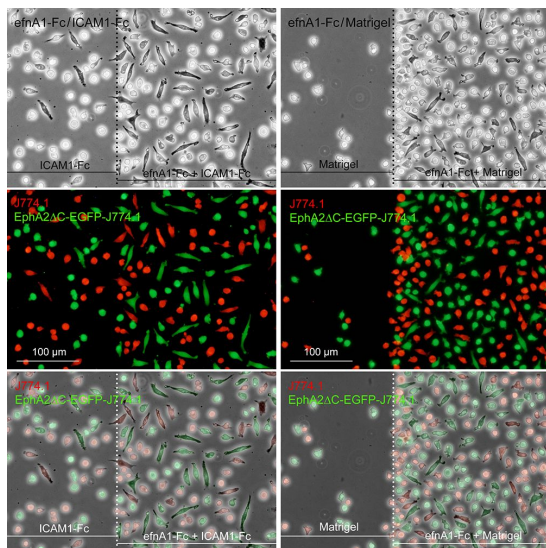


図 2

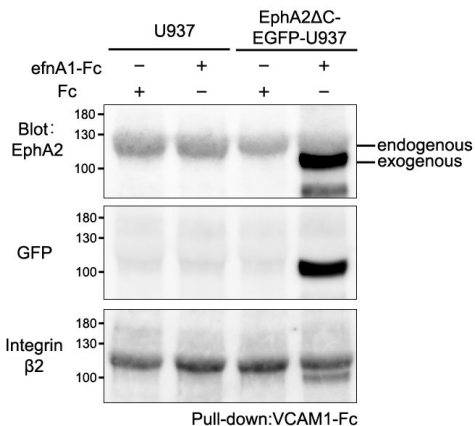


図 3

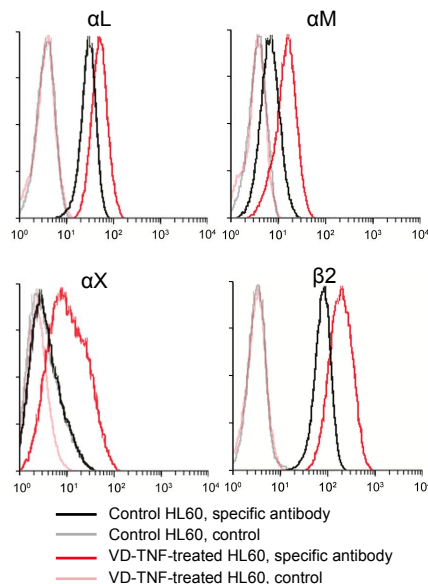


図 4

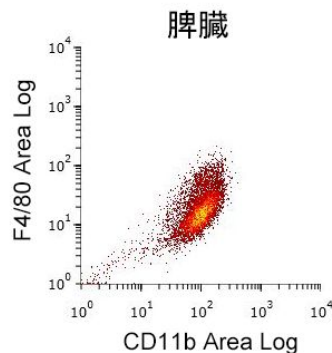


図 5

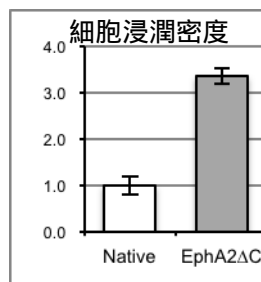


図 6

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3件)

Mukai, M., Suruga, N., Saeki N., Ogawa, K. EphA receptors and ephrin-A ligands are upregulated by monocytic differentiation/maturation and promote cell adhesion and protrusion formation in HL60 monocytes. *BMC Cell Biol.* 18:28, 2017. DOI 10.1186/s12860-017-0144-x (査読有り)

Konda, N., Saeki, N., Nishino, S., Ogawa, K. Truncated EphA2 likely potentiates cell adhesion via integrins as well as infiltration and/or lodgment of a monocyte/macrophage cell line in the red pulp and marginal zone of the mouse spleen, where ephrin-A1 is prominently expressed in the vasculature. *Histochem. Cell Biol.* 147:317-339, 2017. DOI 10.1007/s00418-016-1494-8 (査読有り)

Saeki, N., Nishino, S., Shimizu T., Ogawa, K. EphA2 promotes cell adhesion and spreading of monocyte and monocyte/macrophage cell lines on integrin ligand-coated surfaces. *Cell Adh. Migr.* 9:469-482, 2015. DOI: 10.1080/19336918.2015.1107693 (査読有り)

〔学会発表〕(計 14 件)

小川和重, 西野慎吾 赤脾髄マクロファージの定着機構と EphA/ephrin-A (続報) 第 160 日本獣医学会学術集会 2017 年 9 月 14 日 鹿児島大学(鹿児島市)

小川和重, 西野慎吾 EphA, ephrin-A と赤脾髄マクロファージの組織定着機構 第 122 回日本解剖学会・全国学術集会 2017 年 3 月 30 日 長崎大学坂本キャンパス(長崎市)

駿河宣彦, 西野慎吾, 小川和重 急性骨髄性白血病株 HL60 の単球分化と接着関連分子の発現 第 92 回日本解剖学会・近畿支部学術集会 2016 年 11 月 27 日 近畿大学東大阪キャンパス(狭山市)

西野慎吾, 小川和重 赤脾髄マクロファージの ephrin-A, EphA と細胞接着 第 92 回日本解剖学会・近畿支部学術集会 2016 年 11 月 27 日 近畿大学東大阪キャンパス(狭山市)

小川和重, 西野慎吾 単球/マクロファージ株 J774.1 の EphA2 とインテグリンリガンド吸着基質への接着 第 92 回日本解剖学会・近畿支部学術集会 2016 年 11 月 27 日 近畿大学東大阪キャンパス(狭山市)

西野慎吾, 佐伯法学, 小川和重 赤脾髄マクロファージの定着機構と EphA/ephrin-A 第 159 日本獣医学会学術集会 2016 年 9 月 6 日 日本大学生物資源科学部(藤沢市)

小川和重, 佐伯法学 単球/マクロファージ株 J774.1 の EphA2 と細胞接着 第 159 日本獣医学会学術集会 2016 年 9 月 6 日 日本大学生物資源科学部(藤沢市)

小川和重, 佐伯法学, 西野慎吾 単球様細胞 U937 の EphA2 はインテグリンリガンド ICAM1, VCAM1 に連結し細胞接着を制御する 第 121 回日本解剖学会・全国学術集会 2016 年 3 月 28 日 ビッグパレットふくしま(郡山市)

西野慎吾, 佐伯法学, 小川和重 脾臓の赤脾髄マクロファージと線維芽細胞に発現する EphA と ephrin-A 第 121 回日本解剖学会・全国学術集会 2016 年 3 月 28 日 ビッグパレットふくしま(郡山市)

佐伯法学, 西野慎吾, 小川和重 単球様細

胞 U937 の EphA2 はインテグリン-インテグリンリガンドを介して細胞接着を制御する 第 91 回日本解剖学会・近畿支部学術集会 2015 年 11 月 28 日 京都工芸繊維大学(京都市)

西野慎吾, 佐伯法学, 小川和重 脾臓の赤脾髄マクロファージと赤脾髄線維芽細胞の初代培養 第 91 回日本解剖学会・近畿支部学術集会 2015 年 11 月 28 日 京都工芸繊維大学(京都市)

清水智大, 佐伯法学, 小川和重 肝臓の類洞内皮細胞, クッパー細胞の初代培養と EphA2, ephrin-A1 発現 第 158 日本獣医学会学術集会 2015 年 9 月 9 日 北里大学獣医学部(十和田市)

西野慎吾, 佐伯法学, 小川和重 脾臓のマクロファージ, 線維芽細胞の初代培養と EphA2, ephrin-A1 発現 第 158 日本獣医学会学術集会 2015 年 9 月 7 日 北里大学獣医学部(十和田市)

佐伯法学, 清水智大, 西野慎吾, 小川和重 単球/マクロファージに発現する EphA とインテグリンを介した接着 第 158 日本獣医学会学術集会 2015 年 9 月 7 日 北里大学獣医学部(十和田市)

〔図書〕(計 1 件)

小川和重 第 2 章上皮組織: 内皮と中皮, pp25-27, *In* 獣医組織学(第 7 版)総ページ 362, 日本獣医解剖学会編, 学窓社, 2017 年 3 月 17 日, 東京

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)
名称: マクロファージの増殖方法, 並びに, 細胞集団の製造方法
発明者: 小川和重
権利者: 大阪府立大学
種類: 特許
番号: 特願 2017-138302 号
出願年月日: 2017 年 7 月 14 日
国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.vet.osakafu-u.ac.jp/anat/anat.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者
小川 和重 (OGAWA KAZUSHIGE)
大阪府立大学・生命環境科学研究科・教授
研究者番号: 60231221

(2) 研究協力者
PASQUALE, ELENA
Sanford Burnham Prebys Medical Discovery
Institute (La Jolla, CA, USA)・教授