

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 7 月 5 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580429

研究課題名(和文)単球/マクロファージに発現するEphA2の機能解析と炎症血管標的分子としての評価

研究課題名(英文)Functional analyses on EphA2 in 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(系)・教授

研究者番号：60231221

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：分化・成熟に伴う単球のEphA2, ephrin-A1発現の制御, 血管内皮細胞(EC)のEphA2, ephrin-A1発現のTNFによる制御, ephrin-A1とEphA2による単球, マクロファージ(M), 単球/M株J774.1のMatrigel吸着基質への接着性と突起形成・退縮の制御, EphA2とephrin-A1によるJ774.1のEC層通過能の制御, EphA2活性化によるECの膜退縮とアクチン線維形成の制御, EphA2によるJ774.1の脾臓内への血行性細胞浸潤制御が判明した。以上から, EphA2/ephrin-A1による単球/MのEC層通過制御が示唆された。

研究成果の概要(英文)：EphA2 expression was regulated during the monocyte (Mo) differentiation, and EphA2 and ephrin-A1 expressions were regulated by TNF in macrophages (M) and vascular endothelial cells (EC). Adhesion to Matrigel coated surface in Mo, M and the Mo/M cell line J774.1 was regulated by ephrin-A and EphA activation. EphA2 activation regulated cell-cell adhesion and actin filament formation in EC. EphA signaling in J774.1 regulated transendothelial migration in vitro. Moreover, J774.1 cell infiltration into the red pulp of the mouse spleen was regulated by ephrin-A/EphA signaling in vivo. These results may indicate that EphA and ephrin-A regulate transendothelial migration of Mo/M into inflamed tissues.

研究分野：獣医解剖学

キーワード：EphA2 ephrin-A1 単球 マクロファージ 血管内皮細胞

1. 研究開始当初の背景

白血球は血管外遊走して炎症部位に浸潤する。①炎症部位では血管内皮細胞の E-selectin 発現が上昇するため、白血球上の特定糖鎖との結合力は上昇しローリングは止まる。血管内皮細胞の ICAM-1 と VCAM-1 発現も誘導され、白血球のインテグリン LFA-1, VLA-4 とそれぞれ結合する。②LFA-1/ICAM-1 は細胞間の連結・接着に、③VLA-4/VCAM-1 は強固な接着と内皮細胞層通過に関与するが (Adams & Shaw, *Lancet*, 1994; Luo et al, *J Clin Invest*, 2002), 両シグナルの働きは不明な点が多い (単球/マクロファージ(M ϕ)に関する報告: Saegusa et al, *J Biol Chem*, 2008; Rautou et al, *Circ Res*, 2011)。

膜タンパク Eph 受容体とそのリガンド ephrin は細胞接触によりシグナルが発生し、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 (Noren & Pasquale, *Cell Signal*, 2004), 接着分子インテグリンとも相互作用することが判明している (Pasquale, *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005)。また, TNF α が血管内皮細胞の ephrin-A1 発現と血管新生を誘導することが報告されている (Pandey et al, *Science*, 1995)。代表者は, EphA2 の細胞外ドメインを分泌する腫瘍株を作製, ノードマウスに移植した腫瘍を解析し, インテグリン α M 鎖 (単球/M ϕ に発現) 陽性細胞の腫瘍細胞塊への浸潤が変化していることを突き止めた。この結果から「単球/M ϕ と炎症部位の血管内皮細胞が接触すると EphA2/ephrin-A1 シグナルが発生し, 両細胞の動態を制御する」と考え, 本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究は, Eph と ephrin について, 単球/M ϕ に発現する分子の機能を, 血管内皮細胞との相互作用を主体に接着・遊走の観点から解明することを目的とする。これまでの研究成果から, EphA2, ephrin-A1 を主要な対象分子として, 仮説「血中を循環し EphA2 を発現する単球は ephrin-A1 を標的に血管内皮細胞に連結・接着し, 両細胞で発生する EphA2/ephrin-A1 シグナルは血管内皮細胞層通過に関与する。」を提唱した。仮説を検証することが本研究の具体的な目的となる。「炎症など病的部位への単球/M ϕ の動員制御」の観点からこの分子の価値を評価すること, Eph と ephrin が慢性炎症性疾患治療のシーズ分子になるか評価することも本研究の目的となる。以下のサブテーマを設定し, 実験を計画した。

1) *In vitro*系の解析

①単球/M ϕ の EphA2, ephrin-A1 発現の検討;
②単球/M ϕ の EphA2, ephrin-A1 の活性化と細胞動態;
③血管内皮細胞の EphA2, ephrin-A1 の活性化と細胞動態;
④単球/M ϕ と血管内皮細胞における EphA2, ephrin-A1 の活性化と血管内皮細胞層通過に及ぼす影響

2) *In vivo*系の解析

①単球/M ϕ の EphA2, ephrin-A1 が脾臓への

浸潤・定着に及ぼす影響;
②単球/M ϕ に発現する EphA2, ephrin-A1 が①Matrigel 炎症組織, ②固形腫瘍の浸潤に及ぼす影響

3. 研究の方法

1) 細胞, 細胞分化, 細胞株と亜株の作製

(1) 血管内皮細胞

臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) と微小血管内皮細胞 (HDMVEC) を使用した (Lonza, Basel, Switzerland)。培養液として専用の培養液 EGM-2 と EGM-2-MV (Lonza) で培養した。

(2) 単球/M ϕ , 単球/M ϕ 系細胞株

①腹腔 M ϕ : 腹腔の接着性細胞を腹腔在住 M ϕ , チオグリコレートの投与で腹腔内に浸潤した接着性細胞を炎症性腹腔 M ϕ とした。10%FBS を含む RPMI-1640 を使用した。

②単球: マウス骨髄から密度勾配遠心分離で単核球を回収し, 非接着性細胞を M-CSF 添加 RPMI-1640 で培養し, 添加 1 日と 5 日後の接着細胞 (MC-1d; MC-5d) を分化中の単球とし, NSE 染色, CD34 と CD115 の発現性から, MC-1d はより未成熟な単球と判断した。

③HL60 由来の単球: 骨髄性白血病株 HL60 は VD を添加するだけで増殖が止まり単球に分化する。HL60 を VD と TNF α を添加して培養し単球に分化させた (VD-TNF 群)。NSE 染色, CD14, CD15 と CD115 の発現強度を調べた。通常の培養下 (Control 群) では NSE 染色は陰性であった。VD+TNF α で約 70% の細胞を単球に分化できたため, HL60 由来単球として, 以降の実験に使用した。

④単球/M ϕ 株, ドミナントネガティブ発現株とノックダウン株の作製: マウスの単球/M ϕ 株 J774.1, ヒト単球株 U937 を RPMI-1640 で培養した。細胞内ドメインを EGFP に置換した EphA2 (EphA2 Δ C-EGFP) 安定発現亜株を作製した。空ベクターを遺伝子導入した EGFP 発現亜株を作製した。ephrin-A1 と EphA2 の shRNA を遺伝子導入したノックダウン株 efn-A1-KD-J774.1 と EphA2-KD-J774.1 の作製を試みた。これらの亜株は EphA2 と ephrin-A1 の働きを調べる目的に使用した。

2) 発現解析

以下の細胞を材料に RT-PCR で検討した。

(1)血管内皮細胞: EphA2 と ephrin-A1 発現と TNF α が発現に及ぼす影響を検討した。

(2)腹腔 M ϕ : EphA2 と ephrin-A1 発現と TNF α が発現に及ぼす影響を検討した。

(3)骨髄の単球: EphA と ephrin-A1 サブクラス mRNA の発現状態を比較検討した。

(4)HL60: Con と VD-TNF 群の EphA と ephrin-A1 mRNA の発現状態を比較検討した。

(5)単球/M ϕ 株: J774.1 と U937 の EphA2, ephrin-A1 発現を調べた。

3) *In vitro*解析

(1)血管内皮細胞: ephrin-A1-Fc, EphA2-Fc 吸着 Protein G beads (直径約 2.8 μ m, FITC 標識 Fc 抗体で beads を標識; ephrin-A1-beads, EphA2-beads) を培養液に添加し, beads の結合性と EphA, ephrin-A の活性化が細胞の形状

に及ぼす影響を検討した。新規に開発した方法で Bead adhesion assay と命名した。顕微鏡用細胞培養チャンバー装着倒立型顕微鏡で Time-Lapse imaging 解析し, EphA, ephrin-A の活性化が及ぼす影響を検討した。Alexa546-Phalloidin でアクチン線維染色した。

(2) 単球/M ϕ 系細胞の接着性: 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カバーガラスの全面に吸着させ, 単球/M ϕ を播種して, EphA, ephrin-A の活性化が接着性に及ぼす影響を検討した。Time-Lapse imaging 解析し, EphA, ephrin-A の活性化が及ぼす影響を検討した。また, 播種一定時間後に固定し, Alexa546-Phalloidin と抗 Vinculin 抗体でアクチン線維と焦点接着の形状を以下の細胞を材料に検討した。

①腹腔 M ϕ : Matrigel で Stripe assay を行った。

②HL60: VD-TNF 群を材料に Matrigel で Stripe assay を行った。Time-Lapse imaging で突起形成に及ぼす影響を調べ, アクチン線維と焦点接着の形状を検討した。

③J774.1: 親株, EphA2 Δ C-EGFP-J774.1, 対照亜株を材料に, Matrigel で Stripe assay を行った。EphA2, ephrin-A1 の活性化が細胞の接着性状に及ぼす影響を検討した。

④U937: EphA2 Δ C-EGFP 発現亜株を材料にインテグリンリガンド (ICAM1-Fc, VCAM1-Fc, Fibronectin, Collagen) と ephrin-A1-Fc で Stripe assay を行った。

(3) 単球/M ϕ 系細胞の運動性: Transwell を用いて ephrin-A1-Fc, EphA2-Fc が単球/M ϕ の運動性に及ぼす影響を検討した。上部チャンバーに J774.1 を播種後, ephrin-A1-Fc, EphA2-Fc, 対照に Fc, ICAM1-Fc, VCAM1-Fc を添加し, 下部チャンバー移動細胞数を計測した。ケモカイン MCP1 の添加と非添加で比較した。

(4) 単球/M ϕ と血管内皮細胞の相互作用: コンフルエントの血管内皮細胞上に, J774.1, EphA2 Δ C-EGFP 発現亜株, 対照亜株を播種し, 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。細胞は CFSE で生体標識して使用した。血管内皮細胞層通過動態を Time-Lapse imaging で解析した。

3) *In vivo* 解析

炎症モデル動物に同数の Far Red 標識 J774.1 と CFSE 標識 EphA2 Δ C-EGFP 発現亜株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, 組織浸潤 (血管外遊走) に EphA2 が関与するか検討した。投与 2 時間後に採材し, 凍結切片の蛍光観察で解析した。

(1) 脾臓: 赤脾髄・辺縁帯の血管の ephrin-A1 発現を明らかにできたため, クロドロン酸リポソーム (FormuMax) の腹腔投与で赤脾髄 M ϕ を枯渇させたマウスを使用した。

(2) Matrigel 組織: Matrigel (Corning) の Balb/c マウス皮下注入により作製した血管新生 Matrigel 組織を使用した。

(3) 固形腫瘍: 乳癌株 MCF-7 を皮下投与し Balb/c-nu/nu マウスに固形腫瘍を使用した。

4. 研究成果

1) 細胞亜株の作製

EphA2 Δ C-EGFP, EGFP 発現亜株を J774.1 (図 1) と U937 で作製できた。EphA2 Δ C-EGFP 亜株は凝集性が高いことが判明した。efn-A1-KD-J774.1 と EphA2-KD-J774.1 の作製には失敗し, 現在, 再検討中である。

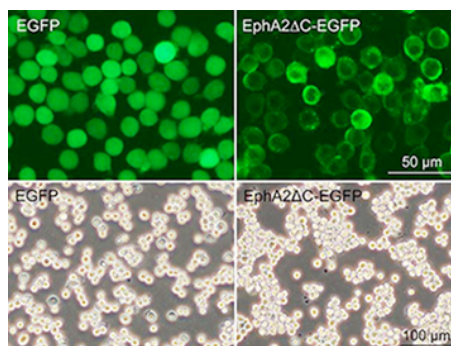


図 1 EphA2 Δ C-EGFP-H774.1 と EGFP-J774.1

2) 発現解析

(1) 血管内皮細胞: EphA2, ephrin-A1 を発現し, TNF α 添加で発現は有意に上昇した。

(2) 腹腔 M ϕ : 在位 M ϕ は ephrin-A1 を, 炎症性 M ϕ は EphA2 と ephrin-A1 を発現していた。

(3) 単球: EphA2, A4, A7 と ephrin-A1, -A2, -A4 を発現し, MC-1d から MC-5d と成熟過程で, EphA2 と ephrin-A1, -A2 はアップレギュレートし, EphA7 発現は消失した。

(4) HL60: 対照群は EphA1, ephrin-A4 を発現し, VD-TNF の単球分化で EphA2, EphA4 発現が誘導され, ephrin-A4 はアップレギュレートした。

(5) 単球/M ϕ 株: J774.1 と U937 は EphA2 と ephrin-A1 発現していた。

以上より, 血液中を循環する単球/M ϕ が炎症部位に入り血管内皮細胞に接触すると, 両細胞ともに EphA2, ephrin-A1 シグナルが発生することが強く示唆された。

3) *In vitro* 解析

(1) 血管内皮細胞: ephrin-A1-と EphA2-beads は添加直後に吸着した。ephrin-A1-beads は細胞質内に陥入し, beads の形状に対応したカゴ状の陥凹状構造を示すアクチン線維の形成が誘導された (図 2)。以上より, EphA の活性化は血管内皮細胞質内の白血球の侵入に関与することが示唆された。

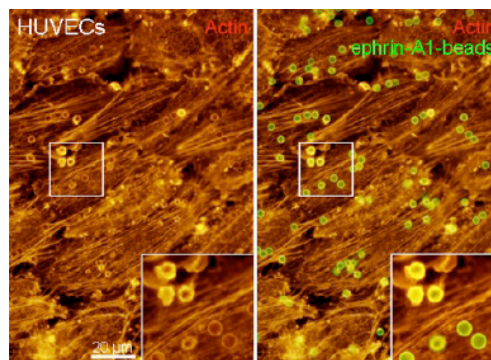


図 2 血管内皮細胞上の ephrin-A1-beads と beads の形状に対応したアクチン線維の形成

(2)単球/Mφ系細胞の接着性：Stripe assayにより接着性を検討した。

①腹腔 Mφ：炎症性 Mφ は ephrin-A1-Fc, EphA2-Fc 吸着領域で Matrigel に有意に高い細胞密度で接着した。

②HL60：対照群では、Matrigel に接着性を示さなかったが、VD-TNF 群では ephrin-A1-Fc, EphA2-Fc 吸着領域の細胞密度は、非吸着領域と比べ有意に高かった (図 3)。ephrin-A1-Fc, EphA2-Fc 吸着領域上の細胞は、突起の伸長・退縮を繰り返す、突起形成と焦点接着の形成が顕著に上昇することが判明した。

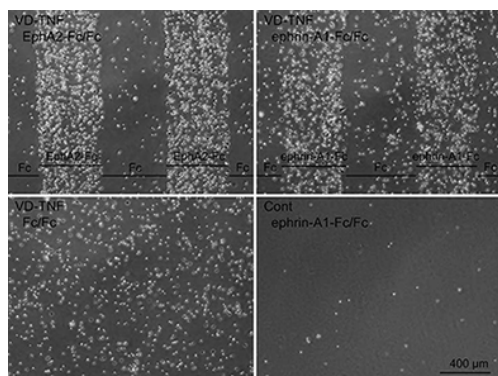


図 3 Stripe assay により HL60 の単球への分化と Matrigel 吸着基質への接着性を解析

③J774.1：ephrin-A1-Fc, EphA2-Fc の吸着領域で Matrigel に高い細胞密度で接着した。対照亜株と比べ EphA2ΔC-EGFP-J774.1 は ephrin-A1 吸着領域で細胞質突起をより顕著に伸ばして基質に接着していた (図 4)。

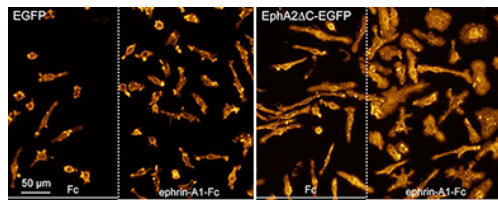


図 4 Stripe assay により EGFP-J774.1 と EphA2ΔC-EGFP-J774.1 の基質への接着性を解析

④U937：ICAM1-Fc, VCAM1-Fc, Collagen 単一吸着基質と比較し、ephrin-A1-Fc との二重吸着基質上で細胞密度が有意に上昇した。

以上から、単球/Mφの EphA, ephrin-A を活性化させるとインテグリンを介する基質への接着性が上昇し、突起形成と退縮が誘導されることが判明した。EphA2ΔC-EGFP 発現亜株と対照株との比較・解析から、①EphA2 の細胞外ドメインはインテグリンを介して接着性・突起形成を上昇させること、②キナーゼを介する EphA シグナルは、接着性の上昇および低下、また、突起の形成および退縮を誘導する可能性が示唆された。

(3)単球/Mφ系細胞の運動性：Migration assay より J774.1 は EphA2-Fc の添加によって下部のチャンバーに移動する細胞数が有意に上昇したが ephrin-A1-Fc の添加により運動性の上昇傾向が見られるものの有意差は認められなかった。以上より、単球/Mφに発生する ephrin-A1 の活性化は運動性を促進すること

が示唆された。

(4)単球/Mφ と血管内皮細胞の相互作用：EphA2ΔC-EGFP-J774.1 と対照株 (親株, EGFP-J774.1) をコンフルエントの血管内皮細胞層上に播種し内皮細胞層を通過した細胞の頻度を比較・検討した。内皮下に局在する細胞は扁平化して紡錘状の形状を示し中等度～弱度の蛍光強度を持つ細胞として観察され、血管内皮細胞の管腔側に留まる細胞は細胞体が円形で強い蛍光強度を示す細胞であるため区別は容易である。EphA2ΔC-EGFP 発現亜株では、ほとんど細胞が管腔側に留まっていたが、対照株では多くの細胞が基底側に浸潤していた。

以上の結果と Stripe assay の結果から、単球/Mφに発現する EphA2 の細胞外ドメインは血管内皮細胞の接着性を高め、また、EphA2 のキナーゼ活性を介するシグナルは細胞質突起の形成と退縮を誘導して移動性を高める作用を示すため、EphA2ΔC-EGFP-J774.1 では本来の EphA2 の働きのバランスが崩れ、細胞外ドメインシグナルの活性化が顕著に現れ、血管内皮細胞層通過能が低下・消失して、管腔側に留まると推察された。同様に、上記の結果と Stripe assay および Migration assay の結果から、単球/Mφに発現する ephrin-A1 は EphA2 との結合で、接着性、突起形成と退縮、運動性の上昇を誘導する作用を示す可能性が高いことが示唆された。このように、単球/Mφに発現する EphA2 および ephrin-A1 は、炎症部位で ephrin-A1 と EphA2 発現がアップレギュレートした血管で血管内皮細胞と接着して多段階にわたるシグナルが発生し、血管内皮細胞層の通過を促進させる作用があると考えることができる。

4) In vivo 解析

(1)脾臓：RT-PCR および免疫蛍光染色による発現解析により、EphA2 は脾洞の血管内皮細胞および赤脾髄細胞に発現すること、ephrin-A1 は脾洞と辺縁帯の毛細血管内皮細胞に発現することが明らかになった (図 5)。

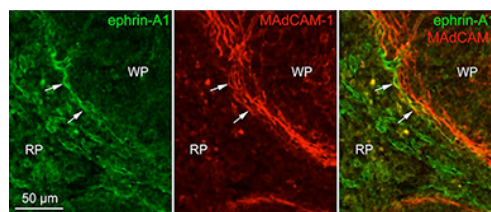


図 5 脾臓の ephrin-A1 発現 MAdCAM-1 は辺縁帯のマーカー

血液中の白血球は辺縁帯の毛細血管から脾臓内に浸潤すること、脾臓は単球をプールの器官であることがこれまでの報告で明らかになっているため、脾臓は本研究対象として有用な器官であると判断できる。そこで、クロドロン酸リポソームを腹腔投与して脾臓に在住する貪食細胞の枯渇を試み、投与 1 日後には 90%以上の F4/80 陽性細胞が壊死し、赤脾髄 Mφ を枯渇させることに成功した。この脾臓では、EphA2 と ephrin-A1 の mRNA 発

現が有意に上昇することが判明した。細胞追跡用緑色蛍光色素 CSFE を標識した EphA2 Δ C-EGFP-J774.1 と赤色蛍光色素 Far Red を標識した親株の同数細胞をクロドロン酸リポソーム投与1日後のマウスに静脈内投与した2時間後の脾臓では、両細胞ともに赤脾髄に浸潤していた(図6)。形態計測により、EphA2 Δ C-EGFP-J774.1 は親株と比較して3倍を超える細胞が脾臓内に浸潤しており、98%以上の標識細胞は赤脾髄および辺縁帯に浸潤していた。以上の脾臓への浸潤動態から、J774.1 は *in vivo* で単球/M ϕ 様細胞として振る舞うことが明らかになった。また、辺縁帯の毛細血管で発生する ephrin-A1 シグナルと単球/M ϕ に発生する EphA2 の細胞外ドメインを介するシグナルは脾臓内への血行性細胞浸潤を促進させることが示唆された。

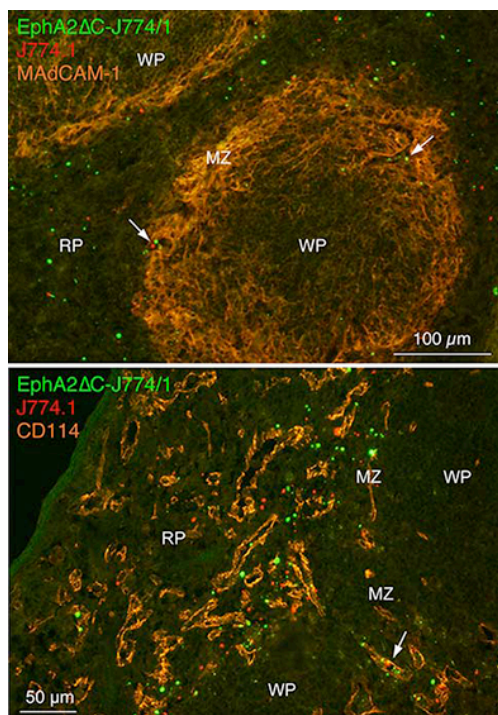


図6 蛍光色素標識した EphA2 Δ C-EGFP-J774.1 と親株 J774.1 の同数の細胞を静注した2時間後の脾臓 MAdCAM-1 は辺縁帯, CD144 は血管のマーカー

(2) **Matrigel 組織** : Matrigel を Balb/c および Balb/c-nu/nu マウスの背部皮下に注入し、数週間後に血管新生が起こっていることを確認した。Matrigel 組織に TNF α を注入し、1日後のマウスに細胞追跡用蛍光色素標識 J774.1 を静脈投与した。Matrigel 組織に浸潤した標識細胞の数は少なく、現在、方法の改良を試みている。

(3) **固形腫瘍** : ヒト乳癌株 MCF-7 を Balb/c-nu/nu マウスの皮下に投与して固形腫瘍を作製した。細胞追跡用蛍光色素標識 J774.1 を静脈投与し、固形腫瘍に浸潤した標識細胞の解析を進めているが、Matrigel 組織と同様に標識細胞の数は少なく、現在、方法の改良を試みている。

以上の研究成果から、仮説「血中を循環し EphA2 を発現する単球は ephrin-A1 を標的に血管内皮細胞に連結・接着し、両細胞で発生する

EphA2/ephrin-A1 シグナルは血管内皮細胞層通過に関与する。」は、ほぼ証明できたと判断している。関節リウマチ、大動脈硬化、腫瘍など慢性炎症性疾患に分類される難治性の疾患の中には、浸潤・集簇した単球/M ϕ から分泌される炎症性サイトカインが負の要因となり難治性になっており、抗サイトカイン療法が試みられている (Parameswaran and Patil, *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2010)。

本研究成果から「EphA2/ephrin-A1 シグナル制御を介した単球/M ϕ の炎症巣への浸潤制御法」が可能になり、EphA2, ephrin-A1 は新規治療法のシード分子になると考えられる。現在、研究成果を3つの論文(①単球への分化・成熟と EphA2, ephrinA ; ②J774.1 の脾臓への浸潤と EphA2, ephrin-A1 ; ③単球/M ϕ の血管内皮細胞層通過制御機構と EphA, ephrinA に関する総合的な研究)の執筆中で、一斉に投稿できるよう準備を進めている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計4件)

- ① Saeki N., Ogawa K. Ephrin-A1 signaling in monocytes/macrophages regulates transendothelial migration. *J. Physiol. Sci.*, 65 (Suppl. 1), p204, 2015 (査読無し)
- ② Ogawa K., Konda N., Saeki N. EphA2 receptor and ephrin-A1 ligand expression in the spleen. *J. Physiol. Sci.*, 65 (Suppl. 1), p203, 2015 (査読無し)
- ③ Ogawa K., Saeki N., Igura Y., Hayashi Y. Complementary expression and repulsive signaling suggest that EphB2 and ephrin-B1 are possibly involved in epithelial boundary formation at the squamocolumnar junction in the rodent stomach. *Histochem. Cell Biol.* 140:659-675, 2013. (DOI 10.1007/s00418-013-1129-2) (査読有り)
- ④ 佐伯法学, 石井万幾, 中島崇行, 小川和重 単球/マクロファージおよび血管内皮細胞に発現する EphA2 と ephrin-A1 が接着に及ぼす影響, 解剖学雑誌, 87巻, pp59, 2012 (査読なし)

[学会発表] (計18件)

- ① Saeki N., Ogawa K. Ephrin-A1 signaling in monocytes/macrophages regulates transendothelial migration. The 92th Annual Meeting of the PSJ/The 120th Annual Meeting of the JAA, March 21-23, 2015, Kobe Convention Center (Kobe, Hyogo 650-0046, Japan)
- ② Ogawa K., Konda N., Saeki N. EphA2 receptor and ephrin-A1 ligand expression in the spleen. The 92th Annual Meeting of the PSJ/The 120th Annual Meeting of the JAA, March 21-23, 2015, Kobe Convention Center (Kobe, Hyogo 650-0046, Japan)
- ③ 佐伯法学, 小川和重 単球/マクロファージの ephrin-A1 発現ノックダウンが血管内皮細胞層通過に及ぼす影響 第90回日本解剖学会近畿支部学術集会, 2014年11月29日, 大

阪大学 (大阪府, 吹田市)

④ 菅田尚子, 佐伯法学, 小川和重 脾臓の EphA2 と ephrin-A1 発現はクロドロン酸内包リポソーム投与による赤碑髄マクロファージの選択的除去により有意に上昇する。第 90 回日本解剖学会近畿支部学術集会, 2014 年 11 月 29 日, 大阪大学 (大阪府, 吹田市)

⑤ 佐伯法学, 小川和重 EphA/ephrin-A シグナルと単球/マクロファージの血管内皮細胞層通過機構 第 157 回日本獣医学会学術集会, 2014 年 9 月 9 日, 北海道大学 (北海道, 札幌市)

⑥ 菅田尚子, 佐伯法学, 小川和重 脾臓に発現する EphA2 と ephrin-A1 第 157 回日本獣医学会学術集会, 2014 年 9 月 9 日, 北海道大学 (北海道, 札幌市)

⑦ 小川和重, 佐伯法学, 林裕大 腺部との境界部の無腺部胃粘膜上皮に発現する EphB2 と ephrin-B1, 第 156 回獣医学会学術集会, 2013 年 9 月 21 日, 岐阜大学 (岐阜県, 岐阜市)

⑧ 菅田尚子, 佐伯法学, 小川和重 脾臓における EphA2 および ephrin-A1 の発現, 第 156 回獣医学会学術集会, 2013 年 9 月 21 日, 岐阜大学 (岐阜県, 岐阜市)

⑨ 佐伯法学, 林裕大, 小川和重 単球/マクロファージの血管内皮細胞層通過経路の形成と EphA/ephrin-A シグナル, 第 156 回獣医学会学術集会, 2013 年 9 月 21 日, 岐阜大学 (岐阜県, 岐阜市)

⑩ Ogawa K., Saeki N., Hayashi Y.

Complementary expression and repulsive signaling suggest that EphB2 and ephrin-B1 may be involved in epithelial boundary formation at the squamocolumnar junction in the rodent stomach. *International Symposium Anatomical Science for Advance in Health and Clinical Therapy* (ASanct2013), August 27-28, 2013, Tohoku University (Sendai, Miyagi 980-0873, Japan) (Program and Abstracts, p56)

⑪ 向井 翠, 佐伯法学, 石井万幾, 小川和重 単球/マクロファージへの分化に伴う EphA と ephrin-A サブクラスの発現動態, 第 88 回日本解剖学会近畿支部学術集会, 2012 年 12 月 1 日, 神戸大学 (兵庫県, 神戸市)

⑫ 小川和重, 佐伯法学, 林裕大, 石井万幾 ラットとマウスの胃の無腺部-噴門部境界領域の粘膜上皮に発現する EphB と ephrin-B, 第 88 回日本解剖学会近畿支部学術集会, 2012 年 12 月 1 日, 神戸大学 (兵庫県, 神戸市)

⑬ 佐伯法学, 林裕大, 石井万幾, 中島崇行, 小川和重 単球/マクロファージとの接着により発生する血管内皮細胞の EphA シグナル, 第 154 回日本獣医学会学術集会, 2012 年 9 月 15 日, 岩手大学 (岩手県, 盛岡市)

⑭ 向井 翠, 石井万幾, 中島崇行, 小川和重 単球/マクロファージへの分化に伴う EphA と ephrin-A の発現動態と細胞接着に及ぼす影響, 第 154 回日本獣医学会学術集会, 2012 年 9 月 15 日, 岩手大学 (岩手県, 盛岡市) (日本獣医学会解剖学会奨励賞学生部門)

⑮ 小川和重, 佐伯法学, 林裕大, 石井万幾, 中島崇行 無腺部と腺部の境界領域の胃粘膜上皮に発現する EphB2 と ephrin-B1 (続報), 第 154 回日本獣医学会学術集会, 2012 年 9 月 15 日, 岩手大学 (岩手県, 盛岡市)

⑯ Mukai M., Saeki N., Hayashi Y., Ishii M., Nakajima T., Ogawa K. EphA2 expressed along with the differentiation of HL60 into monocyte/macrophage promotes adhesion to the matrix surface. 14th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, August 26-29, 2012, Kyoto International Conference Center (Kyoto, Kyoto 606-0001, Japan) (Program and Abstracts, p131)

⑰ Saeki N., Hayashi Y., Ishii M., Nakajima T., Ogawa K. EphA/ephrin-A signaling may control the transendothelial migration of monocytes/macrophages. 14th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, August 26-29, 2012, Kyoto International Conference Center (Kyoto, Kyoto 606-0001, Japan) (Program and Abstracts, p131)

⑱ Ogawa K., Igura Y., Hayashi Y., Saeki N., Ishii M., Nakajima T. EphB2 and ephrin-B1 expression in the boundary between the glandular and nonglandular epithelium of the rodent stomach. 14th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, August 26-29, 2012, Kyoto International Conference Center (Kyoto, Kyoto 606-0001, Japan) (Program and Abstracts, p75)

[図書] (計 2 件)

① 小川和重 第 2 章上皮組織: 内皮と中皮, pp26-27, *In* 獣医組織学 (第 6 版) 総ページ 364, 日本獣医解剖学会編, 学窓社, 2014 年 3 月 18 日, 東京

② 小川和重, 組織学 5 章 心臓, 血管, リンパ管, pp331-340, *In* 獣医解剖・組織・発生学 総ページ 554, 九郎丸正道, 小川和重, 尼崎肇監修, 日本獣医解剖学会編, 学窓社, 2012 年 5 月 22 日, 東京

[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) 連携研究者

石井 万幾 (ISHII MAKI)

大阪府立大学・生命環境科学研究科・客員研究員

研究者番号: 50415535

(3) 研究協力者

PASQUALE, ELENA

Sanford-Burnham Medical Research Institute (La Jolla, USA)・教授