

[課程一2]

審査の結果の要旨

氏名 岡 雅子

本研究はリンパ管新生における TGF- $\beta$ シグナルの役割を明らかにするために、*in vitro* でヒトリンパ管内皮細胞、ならびに ES 細胞を用いた解析、*in vivo* で腫瘍モデル、ならびに炎症モデルを用いた解析により、リンパ管新生と TGF- $\beta$ シグナルの関係を明らかにすることを試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ヒトリンパ管内皮細胞(HDLEC)を用いた検討において、TGF- $\beta$ シグナルにより下流の因子である Smad2 のタンパク質のリン酸化が調節されること、ならびに標的遺伝子である Smad7、PAI-1 の mRNA の発現が調節されることから、HDLEC において TGF- $\beta$ のシグナルが伝達されることが示された。
2. HDLEC において、リンパ管新生の重要なマスター遺伝子と考えられている Prox1 のタンパク質ならびに mRNA の発現が TGF- $\beta$ 刺激により減少し、TGF- $\beta$ 阻害剤存在下で増加したことや、他のリンパ管マーカーである LYVE-1 の mRNA の発現が TGF- $\beta$ 刺激で減少し、TGF- $\beta$ 阻害剤存在下で増加したことから、TGF- $\beta$ シグナルは HDLEC におけるリンパ管マーカーの発現を調節することが示された。
3. HDLEC の細胞増殖アッセイでは、細胞増殖が TGF- $\beta$ により抑制され、TGF- $\beta$ 阻害剤により促進された。また I 型コラーゲンゲル内での 3 次元培養においては HDLEC のコード形成が TGF- $\beta$ により抑制され、TGF- $\beta$ 阻害剤により促進された。さらに、チャンバーアッセイにおいて、HDLEC の VEGF-C に対する遊走能が TGF- $\beta$ により抑制され、TGF- $\beta$ 阻害剤により促進された。このことから、HDLEC の細胞増殖、コード様構造、遊走性は TGF- $\beta$ シグナルにより調節されることが示された。
4. ES 細胞から分化した胚様体 (Embryoid body) を VEGF-C ならびに VEGF-A 存在下で血管内皮、リンパ管内皮に分化させる過程で、TGF- $\beta$ 存在下では LYVE-1 陽性細胞が減少し、TGF- $\beta$ 阻害剤存在下では増加した。これらのことにより、TGF- $\beta$ シグナルが初期のリンパ管内皮の分化に関与することが示された。
5. マウス無菌性腹膜炎モデルにおいて、炎症条件下のマウスより取り出した横隔膜上に形成される、マクロファージ集塊 (プラーク) 内での LYVE-1 陽性部分の面積が TGF- $\beta$ 阻害剤により増加した。このことから、炎症条件下において TGF- $\beta$ シグナル抑制によりリンパ管新生が促進されることが示唆された。
6. 膵臓腺癌の培養細胞を用いた異所移植モデルにおいて、VEGF-C 存在条件下で TGF- $\beta$ シグナルを抑制することにより、LYVE-1 陽性部分の面積が増加することが示さ

れた。また、LYVE-1 陽性細胞は他のリンパ管マーカーである Prox1 や Podoplanin と共染色されたことから、リンパ管としての性質を保持していることが強く示唆され、LYVE-1 陽性の管様構造はリンパ管であることが示唆された。これらのことから、腫瘍リンパ管新生に TGF- $\beta$  シグナルが関与することが示された。

以上、本論文では *in vitro* ならびに *in vivo* における解析から、リンパ管新生に TGF- $\beta$  シグナルが関与することが明らかにされ、また、TGF- $\beta$  シグナルはリンパ管新生を負に調節することが示唆されている。さらに本研究は今まで全く研究されていない研究内容で、多機能な TGF- $\beta$  シグナルに新たな一面を加える新規性の高い、興味深い研究であることから、学位の授与に値するものと考えられる。