

## 審査の結果の要旨

氏名 住田 隼一

本研究は、マウス発生期においてリゾホスファチジン酸(LPA)第4受容体(LPA<sub>4</sub>)が血管・リンパ管形成において重要な役割を果たすことを、LPA<sub>4</sub>ノックアウトマウスと組織学的解析を用いて示しており、下記をはじめとする数多くの結果を得ている。

1. 繁殖の過程でLPA<sub>4</sub>ノックアウトマウスどうしの交配から生まれる仔マウスの数が、野生型マウスどうしの交配から生まれる仔マウスの数よりも統計学的に有意に少ないことが明らかとなった。ヘテロ雌マウスを用いた交配でも、ノックアウトマウスの数が少ないことから、少なくとも胎児側に原因があることが示された。
2. ノックアウト雄マウスと交配した妊娠ノックアウト雌マウスを開腹して観察すると、着床は正常であったが、その後の妊娠期の様々な時点で皮下出血・浮腫等の異常が一部の胎児に認められた。中には致死性を示す胎児が存在し、胎生18.5日(E18.5)で正常に見える仔マウスの数は、野生型マウスどうしを交配した時の約半分であった。
3. 様々な妊娠期の観察により、E10.5における心嚢浮腫、E14.5における全身の浮腫や出血、E18.5における皮下出血、心嚢出血、胸腺出血、全身浮腫等が観察されたことから、脈管形成の異常が胎生致死の一因と考えられた。
4. E18.5の胎児の組織染色により、出血を伴うノックアウトマウスでは一部の血管が拡張しており、それらの血管の一部では血管を取り巻く mural cell の減少が認められ、同様の傾向が、成体マウスを用いたマトリゲルの皮下注入により誘発される血管形成のマウスモデルでも認められた。
5. E14.5の胎児の組織染色により、ノックアウトマウスで頸部リンパ嚢が拡張していることが明らかとなった。また、E18.5の組織染色でも、小腸、肺、皮膚などの各臓器で、ノックアウトマウスでリンパ管の拡張がみられた。
6. 様々な時期のマウス胎児を用いた *in situ* ハイブリダイゼーションでは、心臓をはじめとする複数の臓器中の微小血管でLPA<sub>4</sub>特異的なシグナルが認められた。成体マウス肺より単離した血管内皮細胞でもRT-PCRによりLPA<sub>4</sub> mRNAの発現が認められた。

また、ヒト初代培養細胞である血管内皮細胞由来の HUVEC やリンパ管内皮細胞由来の HMVEC といった細胞においても、RT-PCRにて LPA<sub>4</sub> mRNA の発現が認められた。

以上、本論文は、LPA<sub>4</sub> がマウス発生期における血管・リンパ管形成に重要な役割を担っていることを明らかにした。本研究は、これまで生体内における機能が未知であった LPA<sub>4</sub> の機能をはじめて明らかにしたという点で画期的であり、またリガンドである LPA が生体内で血管・リンパ管形成に重要であることを示すはじめての報告としても重要である。

上記より、本研究は学位の授与に値するものと考えられる。