

審査の結果の要旨

氏名 宮崎 秀幹

本研究は体液の恒常性維持に重要な役割を果たし、様々な病気の病態に関与しているリンパ管の形成について血小板由来増殖因子 (PDGF) シグナルが関与しているとの報告に基づき、リンパ管内皮細胞における PDGF 受容体 (PDGFR) の発現調節機構と成体リンパ管形成におけるその意義について検討を加えたものであり、以下の結果を得ている。

1. Semi-quantitative RT-PCR による解析の結果、ヒト皮膚由来リンパ管内皮細胞 (HDLEC) には PDGFR のサブタイプの一つである PDGFR β が発現しており、PDGF-BB シグナルに対する応答性を有することが示された。
2. siRNA transfection による解析で、HDLEC における PDGFR β の発現はリンパ管形成のマスター因子と考えられている転写因子 Prox1 による制御を受けており、chamber migration assay において Prox1 の発現を調節することで、PDGF シグナルによるリンパ管内皮細胞の運動性の亢進が制御されることが示された。
3. in vivo のマウス実験モデルにおいて、imatinib 腹腔内投与による PDGFR の阻害が横隔膜の炎症性リンパ管新生を抑制することが示された。また、レンチウイルスベクターシステムを用いて BxPC-3 ヒト膵癌細胞に PDGF シグナルを特異的に阻害する PDGFR β /Fc キメラ蛋白を産生させることにより、ヌードマウスに移植した腫瘍内におけるリンパ管新生が抑制されることが示された。
4. このリンパ管内皮細胞における PDGFR β の発現を制御する際に Prox1 の共役因子として機能する転写因子の候補として、Ets ファミリー転写因子の一つであり、ノックアウトマウスにおいてリンパ管形成異常が報告されている Net/Elk-3 が HDLEC において発現していることを semi-quantitative RT-PCR により示した。

5. アデノウィルスの腹腔内投与によりマウスに Net を過剰発現させることで、慢性腹膜炎モデルにおける横隔膜の炎症性リンパ管新生が有意に亢進することが示された。
6. *in vitro* 培養下で HDLEC にアデノウィルスを用い Net を過剰発現させることで、成体のリンパ管形成に関与しているとされるチロシンキナーゼ型受容体群のうち、PDGFR β の発現が特異的に亢進することが示された。このことから Net が個体レベルでリンパ管形成を亢進させる機序として、リンパ管内皮細胞において Prox1 による PDGFR β の発現制御に関与している可能性が示唆された。

以上、本論文は成体におけるリンパ管形成に PDGF シグナルが関与しているという報告に基づいて、その受容体である PDGFR β のリンパ管内皮細胞における発現調節に Prox1 と Net が関与していること、また実際にこれらの発現を調節することでリンパ管形成が抑制されることを明らかにした。これらはがんの転移を初めとしたさまざまな病気の病態に関与するリンパ管形成機構の解明および治療への応用に重要な示唆を与えるものであり、学位の授与に値するものであると考える。