

リンパ管を介した炎症抑制による新規心臓病治療の開発

丸山和晃^{1,2)}, 松井健汰¹⁾, 今中-吉田恭子¹⁾

1) 三重大学大学院医学系研究科 修復再生病理学

2) 東京大学大学院医学系研究科 代謝生理化学

【研究の背景】

心筋炎は心筋を主座とする炎症性疾患である。多くはウイルス感染を起因とする自己免疫反応により引き起こされ急性の経過を経るが、一部の症例は炎症が持続・慢性化し拡張型心筋症へと移行する病態も存在する。また近年の新型コロナウイルス mRNA ワクチンでも頻度は低いものの心筋炎が引き起こされる可能性が指摘されており社会的にも心筋炎の病態解明・治療法開発は重要な課題である。心筋炎は自然免疫系による過剰なサイトカインの産生、獲得免疫系による心筋細胞の障害、炎症反応の消退といった過程をたどり、臨床的には炎症反応をいかに抑制するかと自然軽快までの血行動態維持が最も重要な課題である。

リンパ管は過剰な間質液の回収を通じた微小環境の調節、免疫細胞の回収経路を通じて炎症反応を制御する (Maruyama et al., *iScience*, 2021, Maruyama et al., *Int Jour of Mol Sci*, 2022)。また我々は、リンパ管新生の新規シグナルとして細胞移動を制御する Semaphorin (Sema) 3E-Plexin (Plxn) D1 を報告した (Maruyama et al., *iScience*, 2021)。近年の研究 (Hsu et al., *Nat immunol*, 2022) で、自己免疫性脳炎モデルで篩板に存在するリンパ管内皮細胞 (LECs) が抗原提示や Programmed death-ligand 1 (PD-L1) を介して総合的に炎症反応制御をしている可能性が示された。

【目 的】

本研究において我々は発生学的な解析に基づき (Maruyama et al., *Dev bio*, 2019, Maruyama et al., *eLife*, 2022)、成体でリンパ管内皮細胞の発生・維持に必須の転写因子である Prospero Homeobox 1 (Prox1) を欠損させた **遺伝的リンパ管欠損モデルを作成し、心筋炎を誘発し、心筋炎におけるリンパ管を介した炎症制御機構の全体像**を明らかにする事を研究の目的とする。

【方 法】

リンパ管欠損モデルを作成するために内皮細胞特異的に Cre リコンビナーゼを発現する *CDH5-CreERT2* マウスとリンパ管内皮細胞の発生・維持に必須の転写因子である Prospero Homeobox 1 (Prox1) をノックダウン可能なマウス (*Prox1-flox*) をかけ合わせて内皮細胞特異的に Prox1 をノックダウンする (*CDH5-CreERT2;Prox1-flox* マウス)。*CDH5-CreERT2;Prox1-flox* マウスではタモキシフェン (80mg/kg) を計 6 回投与する事で心臓リンパ管マーカーの発現が起こる事を組織染色で確認済みである。このマウスに心筋ミオシン重鎖 α ペプチドとアジュバントを投与する事で心筋炎を誘発し、心筋炎時のリンパ管の形態学的変化 (径、数、長さ、分岐数など) と炎症細胞の数、種類 (CD3, CD4, CD8, CD20, CD68, Foxp3, CD11c) を炎症極期の投与 14 日後と炎症消退期の 28 日の時点でコントロールマウスと比較する。また ELISA でのトロポニン I 計測、qPCR 法での BNP, pro inflammatory サイトカイン (IL6, IL1 β , TNF- α)、エラスチカシリウスレッド染色で線維化面積を計測し、コントロールと *CDH5-CreERT2;Prox1-flox* マウスでの心筋炎重症度を解析する。

【結 果】

CDH5-CreERT2;Prox1-flox マウスのリンパ管ではリンパ管マーカーVEGFR3 の発現が低下していた。心筋炎を惹起した場合、劇症型的心筋炎を起こし、死亡率が高まる事が明らかになった。したがって、心臓ではリンパ管が心臓炎症時に炎症反応を負に制御している可能性が高い。

【考 察】

今後表現型のメカニズム解明に焦点を当てる。VEGFR3 のキナーゼ阻害薬 (MAZ51)を使用して心筋炎を起こした場合の結果を解析し、炎症により惹起された VEGF-C シグナルに対する応答性の変化がないか解析する。また、近年報告された (Hsu et al., *Nat immunology*, 2021)リンパ管による抗原提示能やケモカイン産生を介した総合的炎症制御という報告にも注目し、*Prox1* ノックダウンマウスで心筋炎を起こした場合のリンパ管内皮細胞の変化を捉えるため心臓リンパ管のシングルセル解析を予定し、またその予備実験を行なっている。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

心臓病治療においてリンパ管を標的とした治療は今のところ存在しない。本研究は、心臓の炎症反応制御にリンパ管が重要である事を改めて示した新しいモデルマウスである。今後、表現型のメカニズムを解析し、より詳細なリンパ管の心臓病における役割を解明する。

【参考・引用文献】

1. Maruyama et al., *iScience*, 2021,
2. Maruyama et al., *Int Jour of Mol Sci*, 2022
3. Hsu et al., *Nat immunol*, 2022
4. Maruyama et al., *Dev bio*, 2019
5. Maruyama et al., *eLife*, 2022