

## 生理活性リゾリン脂質によるリンパ管の弁形成機構とリンパ管関連病態の解明

安田大恭

秋田大学 大学院医学系研究科 生体防御学講座

## 【研究の背景】

リンパ管の形成異常はリンパ浮腫<sup>1)</sup>や発毛異常<sup>2)</sup>に関わることが知られており、このような病態に対してリンパ管形成を促進する治療戦略が注目されている。また、リンパ管形成は各種がんの進展に正に関与することから<sup>3)</sup>、既知のリンパ管形成因子を標的とした抗がん剤の臨床研究が進められている。しかし、その効果は限定的で重い副作用の発生も伴い、未だ明確な治療法は確立していない<sup>4)</sup>。上記の状況から、創薬開発の基盤となる新規のリンパ管形成分子機構の解明が求められている。

リゾホスファチジン酸(LPA)やスフィンゴシン 1-リン酸(S1P)は生体内において様々な機能を有する生理活性脂質であり、生体膜を構成するリン脂質から産生される。これまでに我々は、LPA の受容体である LPA4 と LPA6 が発生期の血管新生に働くことを分子機構と共に明らかにし<sup>5)</sup>、その血管新生に次いで起こるリンパ管形成についても研究を進めてきた。

## 【目 的】

本研究の目的は、LPA とその受容体がリンパ管形成に果たす役割とその分子機構を明らかにすることであり、リンパ管関連病態に対して LPA シグナル因子を標的とした新規治療戦略の可能性を見出す。

## 【方 法】

*Prox1*-CreER<sup>T2</sup> マウスと *Lpa4/Lpa6*-flox マウスを交配させることにより、タモキシフェン誘導性のリンパ管内皮細胞(LEC) 特異的 *Lpa4/Lpa6* 二重欠損マウス(*Lpa4;Lpa6*<sup>ΔLEC</sup>)を樹立した。その胎仔や新生仔の皮膚や腸間膜におけるリンパ管を免疫染色し、形態異常やリンパ管弁形成の有無を解析した。また、マウス肺由来の LEC やヒト皮膚由来の LEC を用いて、LPA が LPA 受容体を介して発現調節するリンパ管弁形成制御因子とその分子機構を qRT-PCR、Western blotting、免疫蛍光染色による観察等の解析から明らかにした。

## 【結 果】

LPA 受容体のうち LPA4 と LPA6 がマウスの肺由来 LEC に高発現していた。そこで作製した *Lpa4;Lpa6*<sup>ΔLEC</sup> マウスの胎仔は、背部の皮膚に重篤な浮腫や出血を呈し(図 1)、そのリンパ管はコントロールマウスと比較して有意に拡張していた。また、*Lpa4;Lpa6*<sup>ΔLEC</sup> 新生仔の腸間膜リンパ管では胎仔皮膚のリンパ管と同様に弁の数がコントロールマウスと比較して著しく損なわれていた(図 2)。次に LEC において、LPA が LPA4/LPA6 を介して G12/G13 タンパク質を活性化させることをルシフェラーゼ解析により明らかにした。また、そのシグナル

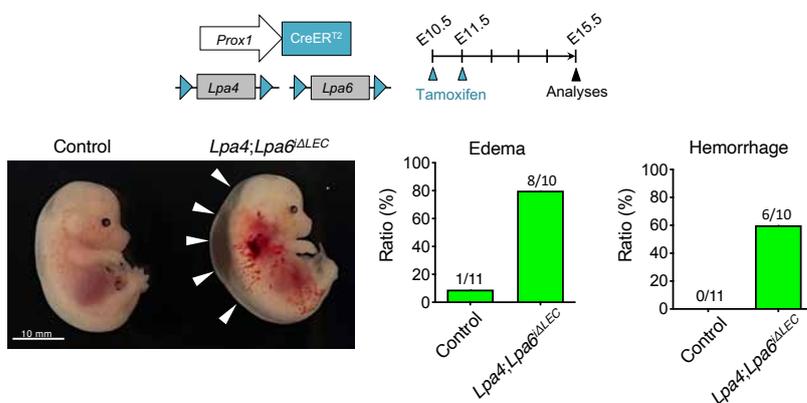


図 1: LEC 特異的 LPA4/LPA6 欠損マウスは胎生期に出血と浮腫を呈する。

下流で NF- $\kappa$ B の核移行を促し、リンパ管弁形成の主要な転写因子である FOXC2 の発現を誘導することを見出した (図 3)。Lpa4;Lpa6<sup>ΔLEC</sup> マウスのリンパ管においてもコントロールマウスと比較して FOXC2 発現量が有意に低下していた。以上の結果は、LPA4/LPA6 下流における NF- $\kappa$ B 活性化と FOXC2 の発現がリンパ管弁形成とその維持に重要であることを示唆している。

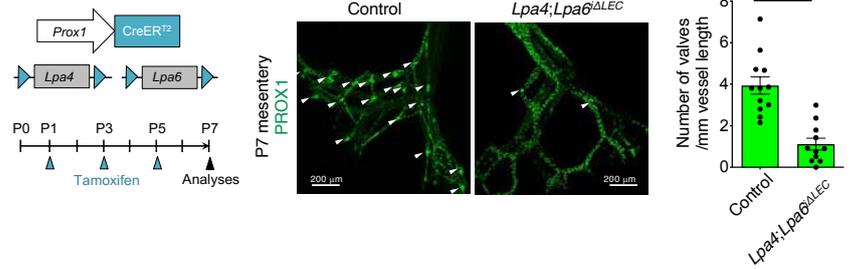


図2: LEC特異的LPA4/LPA6欠損マウスはリンパ管の弁の数が低下する。

【考察、結論】

本研究では、LPA4/LPA6 が G $\alpha$ 12/G $\alpha$ 13-ROCK 活性化下流で I $\kappa$ B キナーゼ (IKK)-NF- $\kappa$ B の活性化を介して FOXC2 の発現を促し、リンパ管の弁形成と維持および胎生期の浮腫や出血の防止に寄与することを明らかにした (図 3)。生理活性脂質とその G タンパク質共役型受容体が浮腫の病態に関わること、および NF- $\kappa$ B シグナルがリンパ管弁形成に必須であることを初めて見出した成果である<sup>6)</sup>。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究の成果はリンパ管関連病態であるリンパ浮腫、がん進展、および発毛異常を LPA4/LPA6 が制御する可能性を示唆しており、その病態制御機構の解明が今後の課題である。特に、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  サブユニットから構成される IKK のうち、IKK $\gamma$  (別名 NEMO) を先天的に欠損した免疫不全の重症患者ではリンパ浮腫を呈することが報告されているが<sup>7)</sup>、その発症機構はわかっていない。本研究による IKK を介した FOXC2 制御機構の解明は、NEMO 欠損症患者におけるリンパ浮腫の発症機構の解明と新規治療法の確立につながる可能性が高いと考えている。

【参考・引用文献】

- 1) Makinen T, Jussila L et al: Inhibition of lymphangiogenesis with resulting lymphedema in transgenic mice expressing soluble VEGF receptor-3. *Nat Med*, **7** : 199-205, 2001.
- 2) Gur-Cohen S, Yang H et al: Stem cell-driven lymphatic remodeling coordinates tissue regeneration. *Science*, **366** : 1218-1225, 2019.
- 3) Alitalo A, Detmar M: Interaction of tumor cells and lymphatic vessels in cancer progression. *Oncogene*, **31** : 4499-4508, 2012.
- 4) Ferrari SM, Fallahi P et al: Thyroid autoimmune disorders and cancer. *Semin Cancer Biol*, **64** : 135-146, 2020.
- 5) Yasuda D, Kobayashi D et al: Lysophosphatidic acid-induced YAP/TAZ activation promotes developmental angiogenesis by repressing Notch ligand Dll4. *J Clin Invest*, **129** : 4332-4349, 2019.
- 6) Yasuda D, Sato N et al: Lysophosphatidic acid-mediated NF- $\kappa$ B activation promotes FOXC2 expression essential for lymphatic valve development. *J Clin Invest*, in press, 2026.
- 7) Brouillard P, Boon L et al: Genetics of lymphatic anomalies. *J Clin Invest*, **124** : 898-904, 2014.

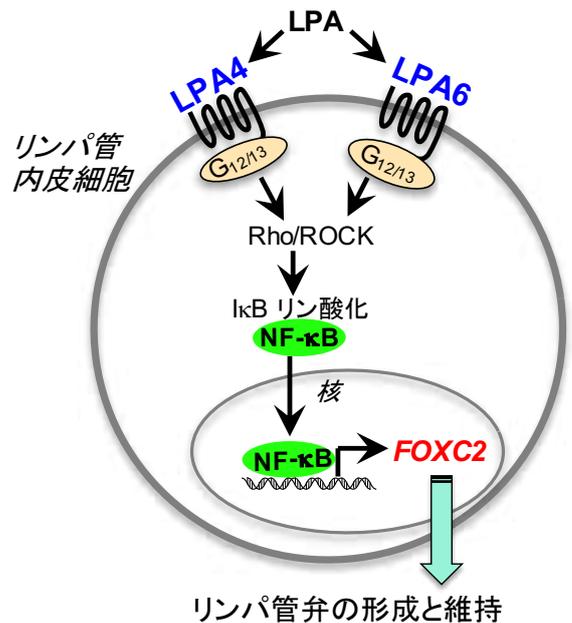


図3: LPA-LPA4/LPA6シグナルはNF- $\kappa$ Bの活性化を介してFOXC2の核における発現を促すことにより、リンパ管の弁形成とその維持に働く。