

論文内容の要旨

Treatment with YIGSR peptide ameliorates mouse tail
lymphedema by 67 kDa laminin receptor(67LR)-dependent cell-
cell adhesion

ラミニンペプチド YIGSR は
67kDa ラミニンレセプター依存性の細胞間接着を促し
マウス尾リンパ浮腫を改善する

日本医科大学大学院医学研究科 形成再建再生医学分野

大学院生 栄 由貴

Biochemistry and Biophysics Reports Volume 35, September 2023, 101514

掲載

学位論文要旨

【緒言】がん罹患率の増加に伴い、外科的加療に伴うリンパ節郭清や放射線治療後に生じる続発性（二次性）リンパ浮腫は、世界的にも増加傾向である。しかしながら、弾性ストッキングやリンパ管静脈吻合など保存的加療から外科的加療まで治療法はあるものの、血管領域と比較して、著効する治療法の確立には至っていないのが現状である。リンパ浮腫は、整容面で心理的な苦痛を生じ得、歩行に支障を来すなど、生活の質（QOL）の低下を引き起こすことになるため、リンパ浮腫発症早期の病態生理の特徴を理解し、リンパ浮腫の発症予防や早期対応が必要とされている。マウス尾のリンパ浮腫モデルを用いたリンパ浮腫発生過程において、今回われわれは細胞外基質の主要な構成成分であるラミニンペプチドの局在が変化し、さらにその早期ではラミニン受容体 67 kDa Laminin Receptor (67LR) が顕著に増加していることを初めて観察した。そこで、ラミニンペプチド YIGSR-NH₂ がリンパ管新生に適した微小環境の再構築を可能にすると仮定し、マウス尾リンパ浮腫モデルにおける YIGSR-NH₂ の効果を評価した。

【方法】マウス（ICR, 8 週齢, 雌）の尾の基部から 2cm 遠位に 2mm 幅で環状切開し、皮膚を全層で切除、両側を走る尾静脈の左右のリンパ管を焼灼し、リンパ浮腫モデルを作成した。その直後から連続 3 日間、YIGSR-NH₂ (3.86mM) を腹腔内注射し、対照として生理食塩水 (500 μ l) を同様に腹腔内注射した。尾の直径を経時的 (day0, 2, 7, 14, 21, 28, 35) に測定し両者を比較した。マウスの尾の組織切片をラミニンの免疫染色、HE 染色、マッソントリクローム染色、透過型電子顕微鏡観察で解析した。また、組織切片の 67LR や細胞接着・炎症にも関与する TGF β 、EndMT (内皮間葉転換) が誘導された際に観察される間葉系細胞マーカー SM22 α 、 β -カテニンなどの遺伝子発現解析を実施した。さらに、67LR の阻害剤として MLC5 (100 μ g/ml) を同様に投与した実験も追加し、YIGSR-NH₂ 投与群、対照群と比較した。

【結果及び考察】対照群と比較し、YIGSR-NH₂ 投与群では尾の直径が 27% 有意に小さくリンパ浮腫が抑制されており、表皮の厚みも有意に薄くなっていた (day7: $p < 0.03$, day14: $p < 0.05$)。阻害剤である MLC5 投与群ではリンパ浮腫は増悪・遷延化していた ($p < 0.05$)。電子顕微鏡像では YIGSR-NH₂ 投与群ではケラチノサイト間の細胞間接着は強固であり、基底膜もその構造が維持されていたが、対照群では細胞間隙が拡大し (細胞間接着の喪失)、毛包や基底膜の構造も損傷を受け、広範囲に炎症が波及している像を呈していた。

YIGSR-NH₂ がリンパ浮腫を改善させる作用として、細胞間の接着を強固に (基底膜バリア機能の破綻を抑制) するとともに、TGF β 1、TGF β 2 の遺伝子発現量を有意に減少 ($p < 0.05$) させることで過剰な炎症を抑え、適切な創傷治癒を促したと推察した。

リンパ浮腫発症過程では、血管やリンパ管の拡張が著しい部位にラミニンが集積し、それ

に呼応して 67LR が急激に高発現しているように観察された。おそらく、そもそもラミニンは組織に炎症や損傷が起きるとそこに集積し、67LR を介して創傷治癒の足場となるような作用があると考えられ、投与したラミニンペプチド YIGSR リガンドは高発現した 67LR と選択的な相互作用をして、基底膜バリア機能を早期に回復し、浮腫改善を顕著に加速したと思われる。これらから、67LR の高選択的活性化が擬似的な接触阻害を種々の細胞に感知・誘導させ、細胞間接着をより強固にするように細胞周期をドラスティックに変えたとも予想できる。議論の余地はまだ残るものの、細胞間接着という物理的な刺激を感知するメカノセンサーとして 67LR は働く可能性が新たな仮説として示唆された。

【結語】 YIGSR-NH₂ はマウス尾のリンパ浮腫モデルにおいて有意にリンパ浮腫を改善した。YIGSR は 67LR 活性化を介して TGF β の抑制、細胞間接着を高めることに寄与した。YIGSR-67LR はリンパ浮腫にとどまらず、ラミニンの関与が指摘される水疱やびらの形成（類天疱瘡）、脳浮腫、脳腫瘍の予防・治療戦略としても標的になる可能性があると考えられる。本研究は急性期のリンパ浮腫モデルに対する病態生理にフォーカスを当てたものであるが、今後は慢性期のリンパ浮腫に対する評価及びより詳細なメカニズム解明についても研究を展開させていきたい。