

正常組織ならびにがん組織におけるリンパ管の形成を阻害する因子の発見

1. 発表者：

吉松 康裕（東京大学大学院医学系研究科 分子病理学分野 特任研究員）
渡部 徹郎（東京大学大学院医学系研究科 分子病理学分野 准教授（研究当時）
東京薬科大学生命科学部 教授）
宮園 浩平（東京大学大学院医学系研究科 分子病理学分野 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆浮腫（病的なむくみ）を防ぐ一方で、がん細胞の転移の経路ともなるリンパ管の形成が BMP-9 という因子によって阻害されることを発見した。
- ◆BMP-9 が正常な組織のみならずがん組織において形成されるリンパ管に対しても同じ阻害作用を示すことを明らかにし、その詳細なメカニズムを解明した。
- ◆この成果により、浮腫に悩む患者を救う方法や新たながん治療法の開発が進む可能性が開かれた。

3. 発表概要：

リンパ管（注1）は、体全体で血管から漏れ出した組織液を汲み上げて血管に戻すことで浮腫（病的なむくみ）を防ぐ役割をしている。一方で、リンパ管はがん細胞が原発巣（もともとがんが発生した場所）からリンパ節へと転移し、さらにリンパ節（注2）を介してさまざまな臓器へ転移するための主要な経路ともなっている。そのため、リンパ管の形成を調節する因子の発見は浮腫やがん転移などのリンパ管が関与する疾患の理解を深める上で重要である。これまでさまざまなリンパ管を形成する誘導因子が明らかにされてきたのに対して、抑制因子はほとんど見出されていなかった。

今回、東京大学大学院医学系研究科の吉松康裕、渡部徹郎、宮園浩平らは、骨形成因子（BMP）ファミリー（注3）に属する因子 BMP-9 が、正常なマウスにおけるリンパ管形成のみならずがんを患ったマウスにおけるリンパ管の新生を抑制することを見出した。具体的には BMP-9 が ALK-1（注4）と呼ばれる受容体を介して、Prox1（注5）という転写因子の発現を低下させることでリンパ管を構成する内皮細胞の増殖を低下させるという詳細なメカニズムを初めて明らかにした。なお、本成果はさまざまな種類の培養細胞や遺伝子改変マウスを用いて明らかにしたものである。

本研究の成果により、リンパ節に転移したがんを標的とした新たながん治療法の開発につながることで期待されるだけでなく、リンパ浮腫（注6）に悩む多くの患者を救う可能性が開かれた点で意義深い。

4. 発表内容：

①研究の背景・先行研究における問題点

リンパ管の形成メカニズムに関する研究は、同じように私たちの全身に張り巡らされている脈管である血管の研究と異なり解析が大幅に遅れていた。近年複数のリンパ管形成を調節する因子が明らかになりつつあるが、リンパ管形成を誘導する因子がほとんどであり、また詳細な分子メカニズムまで踏み込んだ研究は少なかった。今回の研究対象となっているシグナルを担っている受容体 ALK-1 は遺伝性の血管の病気の原因遺伝子であることが知られている。一

方、ALK-1 受容体のみ結合する液性の因子 BMP-9 についても末梢血中に高い濃度で存在することからその生理的な意義に注目が集まっている。近年血管に対する BMP-9 の作用については解析が進み始めているが、リンパ管形成に対する BMP-9 の作用については不明であった。

②研究内容

ALK-1 と BMP-9 それぞれの遺伝子を欠損させた遺伝子改変マウス（ノックアウトマウス）を用いて、胎児発生から新生児期のリンパ管の形成を観察した。ALK-1 のノックアウトマウスではリンパ管の拡張が見られた。同様に BMP-9 のノックアウトマウスでもリンパ管の拡張が見られ、リンパ管形成に関わるリンパ管内皮の細胞数が増えていた。これらの結果から、BMP-9 が ALK-1 に結合して、それにより生じるシグナル（BMP-9/ALK-1 シグナル）はリンパ管形成を抑制するように働くことが示唆された。

この分子メカニズムを解明するためにリンパ管内皮細胞をシャーレで培養する実験を行った。培養したリンパ管内皮細胞に BMP-9 を、1 ng/mL（BMP-9 が 1 ミリリットル中に 1 ナノグラム）と低濃度で添加しただけでリンパ管内皮細胞の細胞死を引き起こし、細胞数が低下した。加えて、リンパ管内皮細胞での ALK-1 の発現を低下させた結果、この BMP-9 の作用は血管の場合と同様に ALK-1 を介していることが明らかになった。

次に BMP-9 を添加した時の遺伝子発現の変化量を網羅的に調べたところ、リンパ管形成を担う司令塔である Prox1 という転写因子の発現が低下していることを見出した。Prox1 の発現を強制的に低下させたところ、同様にリンパ管内皮細胞の細胞数が低下したことから、上述の BMP-9 の添加による細胞数の低下は Prox1 の発現低下が主な原因だと示唆された。さらに Prox1 は複数のサイクリン（細胞周期を制御するタンパク質）の発現を制御していることも明らかにし、これらがリンパ管内皮細胞の数を減少させている原因であることを突き止めた。リンパ管は静脈血管から分化することが知られ、この過程で Prox1 の発現によって血管内皮細胞からリンパ管内皮細胞へと分化を促すために細胞内の遺伝子プログラムが切り替わることが本研究グループを含む複数のグループによりこれまでに明らかにされている。先行研究で規定（定義）された、それぞれ 100 以上の遺伝子からなる遺伝子群（血管内皮細胞で高い発現が見られる遺伝子群（血管内皮細胞の特異的遺伝子群）と、リンパ管内皮細胞で高い発現が見られる遺伝子群（リンパ管内皮細胞の特異的遺伝子群））について解析したところ、BMP-9 はリンパ管内皮細胞の特異的遺伝子のほとんどの発現を低下させ、血管内皮細胞の特異的遺伝子の多くの発現を上昇させることが明らかになり、BMP-9 は一度血管からリンパ管へと分化したはずの細胞がもう一度血管へと戻るような遺伝子発現の変化を引き起こしていることが見出された。

さらに BMP-9 の成体（成熟したマウス）におけるリンパ管新生への効果を検討した。これまでに炎症が起きている場所や腫瘍が形成されるところではリンパ管新生が起きることが明らかにされている。そこで、人為的に炎症や腫瘍を起こさせたマウスに BMP-9 を投与したところ、炎症性リンパ管新生および腫瘍リンパ管新生の両方でリンパ管の形成が抑制された。以上のように、リンパ管培養細胞の解析およびマウスのリンパ管観察から BMP-9/ALK-1 シグナルがリンパ管の形成に対して抑制的に働くことが明らかになった。

③社会的意義・今後の予定

リンパ管は病的な機能不全や形成不全により浮腫を引き起こす。先天性のリンパ浮腫やがん（特に乳がん）の術後におこる 2 次性のリンパ浮腫により著しく生活の質（QOL）が低下している患者は少なくないため、リンパ管の再生治療を目指した研究の進展が望まれている。

一方でリンパ管はリンパ節に入り込んだがんが遠隔臓器へと転移するための経路であり、炎症や悪性腫瘍における新生リンパ管の制御という観点からはリンパ管形成を阻害する治療戦略が必要になる。以前からリンパ管の形成に最も重要だと考えられている VEGF-C/VEGFR3 シグナルは VEGFR3 の発現が Prox1 によって制御されていることから、VEGFR3 の発現は BMP-9/ALK-1 シグナルによっても調節できることが今回の研究で明らかになり、VEGF-C/VEGFR3 同様にリンパ管形成において重要なシグナルであると示唆される。本研究グループは過去に同じスーパーファミリーに属する TGF- β がリンパ管内皮形成に対して抑制的に働いていることも見出しており、今後この両シグナルに注目してリンパ管形成の詳細なメカニズムを明らかにし、リンパ管を標的とした治療戦略に役立てていく予定である。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Proceedings of the National Academy of Sciences」

論文タイトル：Bone morphogenetic protein-9 inhibits lymphatic vessel formation via activin receptor-like kinase 1 during development and cancer progression

著者：Yasuhiro Yoshimatsu, Yulia G. Lee, Yuichi Akatsu, Luna Taguchi, Hiroshi I. Suzuki, Sara I. Cunha, Kazuichi Maruyama, Yuka Suzuki, Tomoko Yamazaki, Akihiro Katsura, S. Paul Oh, Teresa A. Zimmers, Se-Jin Lee, Kristian Pietras, Gou Young Koh, Kohei Miyazono, and Tetsuro Watabe

DOI 番号：10.1073/pnas.1310479110

6. 問い合わせ先：

渡部 徹郎 (わたべ てつろう)

東京薬科大学生命科学部 教授

電話：090-4208-7959、FAX: 03-5841-3354

E-mail：t-watabe@umin.ac.jp

7. 用語解説：

(注1) リンパ管：全身の毛細血管から漏れ出した組織液（リンパ液）を汲み出して静脈血管に戻すための経路となっており、リンパ管内皮細胞という細胞が一層になった管状構造をとっている。がんや慢性炎症などさまざまな病態においてリンパ管が形成されることが知られている。

(注2) リンパ節：全身からリンパ液を回収して静脈に戻すリンパ管系の途中に位置する小器官。リンパ節は、リンパ液内の異物が血管系に入り込まないように確認し、食い止める関所のような役割を果たしている。リンパ管に入り込んだがん細胞はリンパ節内で増殖した後にリンパ管を介して遠隔臓器へと転移するため、がんのリンパ節への転移はがん患者の予後に深く関与していることが知られている。

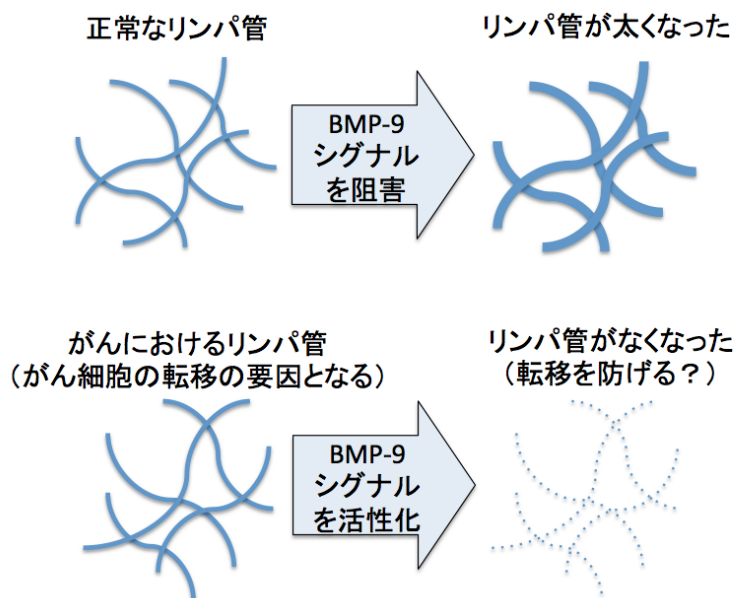
(注3) 骨形成因子(BMP)ファミリー：bone morphogenetic protein (BMP)と呼ばれる液性因子の集まり。BMPは元々骨の形成を促進する作用があることが知られていたが、現在では構造が類似しBMPファミリーに属する他の因子とともに初期発生や血管の形成などさまざまな機能を果たすことが知られている。BMPファミリーはTGF- β スーパーファミリーに含まれるが、それぞれのメンバーが特有の受容体に結合して細胞内にシグナルを伝達する。

(注4) ALK-1 : activin receptor-like kinase (ALK)は BMP などの TGF- β ファミリーメンバーの受容体である。ALK-1 は血管やリンパ管内皮細胞などでのみ (選択的に) 発現しているが、BMP-9 の生理的な受容体であることが報告されている。遺伝性出血性毛細血管拡張症 (オスラー病) 患者の一部に ALK-1 の遺伝子異常が見出されたことから ALK-1 受容体によるシグナルが血管の形成に重要な役割を果たすことが示されてきた。

(注5) Prox1 : prospero-related homeobox 1 (Prox1)はリンパ管内皮細胞をはじめとする数種類の細胞に選択的に発現する転写因子である。Prox1 遺伝子を欠損したマウスにおいてリンパ管が形成されないことからリンパ管形成の司令塔 (マスター因子) と考えられている。Prox1 は血管内皮細胞において発現して、血管内皮細胞に特異的な遺伝子の発現を抑制して、リンパ管内皮細胞に特異的な遺伝子の発現を誘導する。

(注6) リンパ浮腫 : リンパ管の機能不全またはがんの手術の際にリンパ節を除去 (リンパ節郭清) することでリンパ液の流れが停滞することで腕や足がむくむこと。子宮がん、乳がん、前立腺がん等における広範囲のリンパ節郭清を受けた患者の約 28%において術後 3 年までにリンパ浮腫が発症するという報告がある。

8. 添付資料 : あり。成果のまとめの図を Web 上からダウンロードできるようにしますので、上記問い合わせ先のメールアドレスにご連絡ください。



リンパ管はむくみを防いでいるが、リンパ管形成の抑制因子である BMP-9 シグナルを阻害するとリンパ管が太くなった (図上)。また、がんにおいて BMP-9 シグナルを活性化するとリンパ管がなくなったので、がんの転移を防げるかもしれない (図下)。