

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2007～2010

課題番号：19209009

研究課題名（和文）リンパ管新生の制御機構

研究課題名（英文）Mechanisms for regulation of lymphangiogenesis

研究代表者

宮園 浩平（MIYAZONO KOHEI）

東京大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：90209908

研究代表者の専門分野：分子病理学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：リンパ管新生、転写因子、転移、癌、シグナル伝達、発生・分化、病理学、免疫

1. 研究計画の概要

本研究では我々がこれまで明らかにしてきた血管細胞の分化に関する知見を基盤として、種々の *in vitro*、*in vivo* の実験系を駆使して、転写因子 Prox1 による血管前駆細胞からリンパ管内皮細胞への分化のメカニズムを分子レベルで明らかにする。とくに、

Prox1 がどのようなシグナルで血管内皮細胞で誘導されるか、血管内皮細胞で Prox1 はどのような転写因子と複合体を形成し、リンパ管特異的遺伝子を誘導するか、Prox1 はどのような遺伝子の転写を促進（または抑制）し、それらの遺伝子はリンパ管の形成にどのような役割を果たしているか、の3つに焦点をあて、研究を推進する。

2. 研究の進捗状況

(1) 我々はリンパ管新生を評価する *in vivo* の系を確立した。ヌードマウスの胃壁にスキルス胃癌 OCUM-2MLN 細胞を移植しリンパ節転移を調べたところ、OCUM-2MLN 細胞は4週後にリンパ節転移を示した。またヌードマウスに癌性腹膜炎を惹起し、横隔膜でのリンパ管新生を測定する系を確立した。最後にチオグリコレートにより慢性腹膜炎を惹起し、横隔膜リンパ管新生を測定した。これらの3つの系は *in vivo* でリンパ管新生を評価する上で極めて有用と考えられた。

(2) 転写因子 Prox1 はリンパ管新生のマスター因子として作用する。我々は TGF- β 阻害剤を投与すると転写因子 Prox1 や細胞表面タンパク LYVE1 の発現が上昇することを明らかにした。

(3) 我々は Prox1 に結合する転写因子をいくつか同定した。この中でも COUP-TFII は静脈の分

化に重要な役割を果たす転写因子であるが、COUP-TFII の発現を siRNA により低下させると Prox1 による VEGFR-3 の発現誘導が亢進するなど、静脈-リンパ管内皮細胞分化に2つの転写因子が相互作用を果たしていることが明らかとなった。我々はさらに転写因子 Ets2 が Prox1 と結合し、Prox1 の標的遺伝子の転写を調節していることを明らかにした。

(4) 我々はさらに Prox1 の新たな標的遺伝子として Foxc2、Ang2、HoxD8 などを同定した。HoxD8 はリンパ管径の調節を行う他、Prox1 の発現を誘導することが明らかとなった。また Prox1 と HoxD8 が協調的に Ang2 の発現を誘導することを見出した。以上から Prox1 と HoxD8 による転写ネットワークがリンパ管の成熟と維持において重要な役割を果たしていることが示唆された。さらに炎症のさいには Prox1 が NF- κ B と協調して VEGFR-3 の発現を誘導することを明らかにした。

3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。

（理由）

本研究では Prox1 の発現誘導機構、Prox1 と結合する転写因子の同定とその作用機構、Prox1 の標的遺伝子の同定とその生理機能の解明を主たる目的として研究を計画した。これまでの3年間で、3つの研究テーマのすべてにおいて、当初予定した通り、順調に成果が得られている。

4. 今後の研究の推進方策

研究は極めて順調に進行している。残りの研究期間では新規の Prox1 結合遺伝子に関する

る研究を計画しており、革新的な成果を得たいと考えている。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計6件)

Flister MJ, Wilber A, Hall KL, Iwata C, Miyazono K, Nisato RE, Pepper MS, Zawieja DC, Ran S. (2010) Inflammation induces lymphangiogenesis through up-regulation of VEGFR-3 mediated by NF-kappaB and Prox1. **Blood**. 115 (2): 418-429. 査読有

Harada K, Yamazaki T, Iwata C, Yoshimatsu Y, Sase H, Mishima K, Morishita Y, Hirashima M, Oike Y, Suda T, Miura N, Watabe T, Miyazono K. (2009) Identification of Prox1 targets during in vitro vascular differentiation from embryonic stem cells: functional roles of HoxD8 in lymphangiogenesis. **J Cell Sci**. 122 (21): 3923-3930. 査読有

Yamazaki T, Yoshimatsu Y, Morishita Y, Miyazono K, Watabe T. (2009) COUP-TFII regulates the functions of Prox1 in lymphatic endothelial cells through direct interaction. **Genes Cells**. 14 (3): 425-434. 査読有

Oka M, Iwata C, Suzuki HI, Kiyono K, Morishita Y, Watabe T, Komuro A, Kano MR, Miyazono K. (2008) Inhibition of endogenous TGF-beta signaling enhances lymphangiogenesis. **Blood**. 111 (9): 4571-4579. 査読有

Iwata C, Kano MR, Komuro A, Oka M, Kiyono K, Johansson E, Morishita Y, Yashiro M, Hirakawa K, Kaminishi M, Miyazono K. (2007) Inhibition of cyclooxygenase-2 suppresses lymph node metastasis via reduction of lymphangiogenesis. **Cancer Res**. 67 (21): 10181-101819. 査読有

〔学会発表〕(計11件)

〔その他〕

ホームページ情報

<http://beta-lab.umin.ac.jp/>