

## 論文審査の結果の要旨

|         |                                    |     |         |
|---------|------------------------------------|-----|---------|
| 報告番号    | 甲 第 1194 号                         | 氏 名 | 松 井 周 平 |
| 論文審査担当者 | 主 査 菅 野 祐 幸<br>副 査 多 田 剛 ・ 田 淵 克 彦 |     |         |

### (論文審査の結果の要旨)

カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) のリンパ管形成に対する作用の詳細は不明だった。本研究では CGRP ノックアウトマウス (CGRP-/-) を用い、リンパ浮腫における CGRP の病態生理学的意義を検討した。

8~10 週齢雄の①野生型マウス (WT) と CGRP-/-、②マンノシル化クロドネート (MCLs) を尾静脈投与した WT と CGRP-/-、③浸透圧ポンプを用いて CGRP を投与した WT および CGRP-/- を用いた。尻尾の皮膚と皮下組織を 3mm 幅で全周性に搔破し、大きな血管やリンパ管の損傷を避けながら、術後リンパ浮腫モデルを作成した。尻尾直径の変化を測定し、リンパ浮腫の発生と消退を評価した。①では 10 日目 (day10) に、尻尾の皮下にインドシアニンググリーンを投与し、造影写真を撮影してリンパ管の形態を評価した。①と②では免疫染色を行い、リンパ管と血管形成、マクロファージ動員の程度と極性、CGRP 発現を評価した。さらに、①と②ではリアルタイム PCR を行い、リンパ管形成因子、リンパ管マーカー、サイトカイン、マクロファージマーカーなどの遺伝子発現を評価した。免疫染色とリアルタイム PCR は、①ではモデル導入前 (day0)、day10、day20、②では day10 において行った。

以下の結果を得た。

1. CGRP-/- では WT と比較して浮腫が増悪した。両者の浮腫の差は day10 で最大となった。CGRP-/- では整った蜂の巣状のリンパ管が観察できなかった。day10 でリンパ管形成が CGRP-/- で WT に劣った。一方、血管形成に差はなかった。CGRP-/- ではリンパ管形成因子およびリンパ管マーカーの遺伝子発現が低下していた一方で、炎症促進性サイトカインの遺伝子発現が亢進していた。CGRP-/- では M2 マクロファージマーカーの遺伝子発現が低下していた。免疫染色でも M2 マクロファージ動員が低下していた。
2. MCLs を投与して M2 マクロファージを枯渇させた。MCLs を投与した WT では、M2 マクロファージの遺伝子発現が低下し、免疫染色でも M2 マクロファージ動員が低下した。MCLs を投与した WT ではリンパ浮腫が増悪し、リンパ管形成が抑制され、リンパ管形成因子の遺伝子発現が低下していた。
3. CGRP-/- に対して CGRP を投与したところリンパ浮腫が改善した。

以上、CGRP 欠乏によって M2 マクロファージの動員とリンパ管形成シグナルが抑制されることで、術後リンパ浮腫の消退に必要なリンパ管形成が阻害され、浮腫が増悪することを明らかにした。これは、CGRP は術後リンパ浮腫に対する新しい治療標的になりうることを示唆する。よって、主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。