

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 2061 号

Isolation and characterization of lymphatic endothelial cells from lung tissues affected by lymphangioliomyomatosis

(リンパ脈管筋腫症肺組織からのリンパ管内皮細胞の分離および特性分析)

西野 宏一 (にしの こういち)

博士 (医学)

#### 論文内容の要旨

リンパ脈管筋腫症 (lymphangioliomyomatosis, LAM) は肺の嚢胞性破壊およびリンパ系合併症を起こす稀少疾患で、その病理学的特徴は、増殖した平滑筋様腫瘍細胞 (LAM 細胞) とリンパ管新生である。LAM のリンパ管新生メカニズムを解明する上で、LAM 病変に関連したリンパ管内皮細胞 (lymphatic endothelial cells, LECs) の特性を解析することは極めて重要である。今回、我々は LECs を、フローサイトメトリーを用いて LAM 患者肺 (LAM-LECs) および正常肺 (正常肺 LECs) から分離・培養する方法を開発した。

肺組織は、肺移植および胸腔鏡手術により LAM 患者から得た LAM 肺組織、および肺癌手術で摘出された肺組織の正常部分を使用した。肺組織は蛋白分解酵素を用いて消化し、肺単一細胞懸濁液を作成し、さらに CD45 陽性血球細胞を除去したのち、CD45 陰性細胞を内皮細胞培養液で約 1 週間培養した。その後、抗 CD31 抗体および抗 podoplanin 抗体を用いて、フローサイトメトリーで LECs (CD31<sup>+</sup>/podoplanin<sup>+</sup>細胞) を分離した。移植肺 4 例、胸腔鏡手術 3 例、正常肺 5 例から分離された LEC は高い純度を示し、継代可能であった。

さらに、これらの LECs の機能解析をした結果、LAM-LECs は正常肺 LECs と比較し、増殖能および遊走能が高いという機能的特性を見出した。また、血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) -A, -C および -D の、LEC の増殖能、遊走能への効果を観察した結果から、上記の LAM-LECs の特性は、LAM 病変の微小環境において、LAM 腫瘍が産生する VEGF-D により LEC が形質転換している可能性が示唆された。LAM のリンパ管新生解明や新たな治療の発見のため、さらなる LAM-LECs の解析が必要と考えられる。