

リンパ管の発生と病態

平 島 正 則

新潟大学大学院医歯学総合研究科 薬理学分野

Development and Related Diseases of Lymphatic Vessels

Masanori HIRASHIMA

Division of Pharmacology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

要 旨

リンパ管系は血管系と密接な位置に存在し、末梢組織で盲端から始まる毛細リンパ管（起始リンパ管）と、リンパ液の運搬路となって心臓の近くで静脈に繋がる集合リンパ管で構成されている。発生過程において、リンパ管内皮細胞は *Prox1* などの転写制御因子に依存して頸部静脈の内皮細胞から分化する。静脈から遊走してリンパ管網を形成する際には増殖因子 VEGF-C、ケモカイン *Cxcl12*、反発因子 *Semaphorin 3G* などが重要な役割を果たす。末梢組織内でリンパ管が血管と吻合せずに独自性を保つ機構としては、受容体 *CLEC-2* およびシグナル伝達分子 *Syk*, *Slp76*, *PLC γ 2* に依存した血小板の活性化が重要な役割を果たす。リンパ管の機能的側面としては、毛細血管から組織内に出たタンパク・細胞や余剰な組織間液を吸収・運搬することで、体液恒常性維持・免疫応答・脂質吸収・異物除去などに関わっている。リンパ節郭清を伴う手術によって体液恒常性維持機構が破綻するとリンパ浮腫が生じる。胎生期のリンパ管発生異常は、妊娠初期の超音波検査で NT 肥厚と呼ばれる項部浮腫や小児のリンパ管奇形の原因となる。リンパ管は正常な免疫応答を惹起するために重要である一方で、臓器移植片拒絶に対してはリンパ管新生を抑えることが有効である。生体内高分子である脂質の吸収や異物としてのアミロイド β などの組織内からの除去において、リンパ管が重要な役割を担っている。リンパ管の機能と疾患との関連について興味深い知見が数多く報告されており、今後の研究の展開が期待される。

キーワード：発生、リンパ管、マウス

Reprint requests to: Masanori HIRASHIMA
Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences,
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,
Niigata 951-8510, Japan.

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科 薬理学分野
平島正則

はじめに

リンパ管系は血管系とともに脈管系を構成し、からだのライフラインとして協調的に機能している。平均的な成人男性の場合、体液は体重の約60%を占めるが、その三分の一つつまり20%相当は細胞外液である。細胞外液は細胞の生活環境そのものであり、血管系は血液に含まれる酸素や栄養素などの物質や末梢組織からの老廃物を効率よく輸送するのに重要な役割を果たしている。一方、リンパ管系は血管系と密接な位置に存在し、毛細血管から組織内に出たタンパク・細胞や余剰な組織間液を吸収することで、体液恒常性維持・免疫応答・脂質吸収・異物除去などに重要な役割を果たしている。

リンパ管系の発生と構造

1. リンパ管分化とリンパ管網形成

リンパ管系は、末梢組織で盲端から始まり組織間液・タンパク・脂質・免疫細胞などを取り込む毛細リンパ管（起始リンパ管）と、リンパ液の運搬路となって心臓の近くで静脈に繋がる集合リンパ管で構成される。発生過程において、最初のリンパ管内皮細胞は転写制御因子 Sox18 および Prox1 の発現に依存して頸部静脈の内皮細胞から分化して¹⁾²⁾、VEGF-C/VEGFR3 シグナルに依存して増殖・遊走してリンパ管網を形成する^{3)~6)}。リンパ管内皮前駆細胞の遊走時には動脈の影響を受ける。ケモカイン Cxcl12 とその受容体 Cxcr4 のシグナル依存的に動脈に沿って遊走する⁷⁾⁸⁾。一方、末梢組織に到達したリンパ管内皮前駆細胞は、動脈から産生される反発因子 Semaphorin 3G/Neuropilin-2/PlexinD1 シグナル的作用によって分散してランダムに分布するリンパ管網を構築する⁹⁾。末梢組織内でリンパ管は血管と吻合しない網状ネットワークとなっていて、独自の役割を果たすことができる。この独自性を保つ機構としては、血管内を流れる血小板がリンパ管と血管の機能的分離に重要な役割を果たしている¹⁰⁾¹¹⁾。その作用機序として、リンパ管内皮細胞特異的に発

現する糖タンパク Podoplanin と、血中を流れる血小板の受容体 C-type lectin-like receptor 2 (CLEC-2) の結合で、シグナル伝達分子 Syk, Slp76, Phospholipase C γ 2 (PLC γ 2) に依存して起こる血小板の活性化が重要な役割を果たすことが報告されている^{12)~16)}。

2. 毛細リンパ管

内皮細胞同士がボタン様結合で繋がって特徴的な柏の葉状の輪郭を示し、ボタン同士の間の広く開いた細胞間隙から免疫細胞・脂質・異物などの大型物質を取り込むことができる¹⁷⁾。内皮細胞の外面の形質膜から細線維の束である繫留フィラメントが周囲の結合組織に繋がっており、組織圧が高まった時にリンパ管が圧平されない構造になっている。

3. 集合リンパ管

内皮細胞同士がジッパー様結合で接着して、リンパ液を漏らさずに運ぶのに適した構造になっている¹⁷⁾。弁が規則的な間隔で備わり、その周囲を避ける形で平滑筋細胞が疎に巻き付いている。2つの弁の間の領域は lymphangion と呼ばれる集合リンパ管の機能単位であり、平滑筋細胞収縮によるリンパ液の押し込みと弁による逆流の防止が協調して、一方向性のリンパ流を作るのに役立っている。集合リンパ管の下流部位は頸部の静脈角（内頸静脈と鎖骨下静脈の合流点）で静脈に開口して、リンパ液を血管系に還流している。弁形成には、転写因子 Foxc2 と Prox1 が機械刺激と協調して中心的な役割を果たす¹⁸⁾。リモデリングによって平滑筋で被覆された集合リンパ管が構築されていく過程は、Angiopoietin-2¹⁹⁾、Bone morphogenetic protein 9/Alk1 シグナル²⁰⁾、分泌性糖タンパク Reelin²¹⁾、Semaphorin 3A/Nrp1 シグナル²²⁾ などによって制御される。

リンパ管に関わる病態

1. リンパ浮腫

主として乳がんや婦人科がん等でリンパ節郭清

を伴う手術の後に、毛細リンパ管から余剰な組織間液を取り込んで集合リンパ管から静脈に戻す経路が途絶し、続発性リンパ浮腫が生じることがある。リンパ浮腫に対する外科的手術としてリンパ管細静脈吻合術²³⁾が開発され、浮腫の劇的な改善をみる症例が多数報告されている。

マウス胎仔においてリンパ管形成異常に付随して項部浮腫が見られることがある。ヒト妊娠初期の超音波検査で首の後ろに見つかる胎児後頸部透亮像 (increased Nuchal Translucency: NT 肥厚) に酷似しており、リンパ管拡張が認められることがある。ヒトの症例では一部に21トリソミー (ダウン症) などの染色体異常が見つかるが、大多数の症例では遺伝学的原因は不明である。NT 肥厚が見つかって一過性で自然消失する場合も多く、出生後の予後は悪くないと考えられている。しかし、現状ではNT 肥厚の原因がはっきりしないため、その後の病態リスクなどを正確に予測することはできていない。実際リンパ管機能も考慮されていないため、これからの研究で原因と予後・疾患リスクを体系化することが重要だと考えられる。

2. リンパ管奇形

胎生期のリンパ管の発生・分化異常により生じる大小様々なリンパ管の集簇を主体とする腫瘍性病変で、その多くが先天性に発症する小児疾患である。内部の構造から、嚢胞性 (大きな袋状の構造) と海綿状 (スポンジ状の構造) に分類される。現在の治療は、薬剤を内部に注入する硬化療法や外科的切除術が中心である。ヒトで PIK3CA 遺伝子の恒常的活性化型変異が原因の一つとして見つかっており、同じ変異を導入したマウスモデルで病態が再現されることや VEGF-C/VEGFR3 と PI3K/mTOR 経路の抑制で病変の退縮が見られることが報告された²⁴⁾。通常のリンパ管は組織間液を取り込んで静脈に還流するが、リンパ管奇形では局所に閉じ込められて還流しないことが問題である。常染色体優性多発性嚢胞腎の責任遺伝子として知られる Polycystin ファミリー分子^{25) 26)} や *Aspl1*²⁷⁾ を欠損するマウスにおいて類似の孤立した球状の構造が認められることが報告されて

おり、嚢胞性リンパ管の治療開発研究に役立つ可能性がある。

3. 免疫・炎症に関わる病態

末梢組織の毛細リンパ管は可溶性抗原や抗原提示細胞を取り込んで、リンパ節へ運ぶ。急性炎症に伴うリンパ管新生は、局所浮腫・炎症性浸潤の消散や抗原提示細胞の移動を促進して、からだの恒常性を維持することに役立つ。一方で、腎臓や角膜を移植して宿主に起こるリンパ管新生は、抗原提示細胞を呼び寄せて移植片の拒絶反応を誘発してしまう。このような獲得免疫による移植片拒絶を妨げるためには、リンパ管新生を抑えることが有効である²⁸⁾。

4. 脂質吸収に関わる病態

食物中の脂質は腸管の中心乳糜管と呼ばれるリンパ管から吸収され、人体最大のリンパ管である胸管を経由して静脈角から血中に運ばれる。VEGF シグナルが活性化した遺伝子改変マウスでは、中心乳糜管の細胞間接着がボタン様ではなくジッパー様になるために、高脂肪食を摂らせても脂質の効率的吸収が起こらないために肥満にならないということが報告された²⁹⁾。一方でリンパ管形成異常を示すいくつかのマウスモデルでは、リンパ管からの漏出によって異常な脂質沈着を伴うリンパ浮腫や肥満、組織の慢性炎症などの病態を呈することが報告されている³⁰⁾。

5. アルツハイマー病

長い間に渡って中枢神経系にはリンパ管が存在しないとされてきた。しかし、近年髄膜内にリンパ管が存在することが再発見されて、しかもアルツハイマー病で蓄積の見られるアミロイド β の吸収にも関与しているという報告がなされた^{31) 32)}。異物としてのアミロイド β をリンパ管が除去することが病態の成因や新しい治療法開発の鍵となるか非常に注目を集めている。そして、髄膜リンパ管機能がミクログリアの炎症応答に影響を与えることが報告された³³⁾。

さいごに

リンパ管の機能と疾患との関連について興味深い知見が数多く報告されてきた。リンパ管を特異的に増殖させる VEGF-C/VEGFR3 シグナルは増殖性疾患の標的として注目されてきた。一方で、リンパ管の分布を変える活性をもつ分子を用いた疾患治療については、これから研究を深めていく余地が十分にあると考えられる。リンパ管の独自機能のために血管との分離は必須であるが、逆にリンパ浮腫の治療として滞ったリンパを血管に還流させるリンパ管細静脈吻合術が行われている²³⁾。血小板作用の分子機序が明らかになれば、非侵襲的なリンパ管細静脈吻合形成の開発など新しいアプローチに繋がることが期待される。

文 献

- 1) Francois M, Caprini A, Hosking B, Orsenigo F, Wilhelm D, Browne C, Paavonen K, Karnezis T, Shayan R, Downes M, Davidson T, Tutt D, Cheah KS, Stacker SA, Muscat GE, Achen MG, Dejana E and Koopman P: Sox18 induces development of the lymphatic vasculature in mice. *Nature* 456: 643-647, 2008.
- 2) Wigle JT and Oliver G: Prox1 function is required for the development of the murine lymphatic system. *Cell* 98: 769-778, 1999.
- 3) Karkkainen MJ, Haiko P, Sainio K, Partanen J, Taipale J, Petrova TV, Jeltsch M, Jackson DG, Talikka M, Rauvala H, Betsholtz C and Alitalo K: Vascular endothelial growth factor C is required for sprouting of the first lymphatic vessels from embryonic veins. *Nat Immunol* 5: 74-80, 2004.
- 4) Kuchler AM, Gjini E, Peterson-Maduro J, Cancilla B, Wolburg H and Schulte-Merker S: Development of the zebrafish lymphatic system requires VEGFC signaling. *Curr Biol* 16: 1244-1248, 2006.
- 5) Vaahtomeri K, Karaman S, Makinen T and Alitalo K: Lymphangiogenesis guidance by paracrine and pericellular factors. *Genes Dev* 31: 1615-1634, 2017.
- 6) Hagerling R, Pollmann C, Andreas M, Schmidt C, Nurmi H, Adams RH, Alitalo K, Andresen V, Schulte-Merker S and Kiefer F: A novel multistep mechanism for initial lymphangiogenesis in mouse embryos based on ultramicroscopy. *EMBO J* 32: 629-644, 2013.
- 7) Cha YR, Fujita M, Butler M, Isogai S, Kochhan E, Siekmann AF and Weinstein BM: Chemokine signaling directs trunk lymphatic network formation along the preexisting blood vasculature. *Dev Cell* 22: 824-836, 2012.
- 8) Yaniv K, Isogai S, Castranova D, Dye L, Hitomi J and Weinstein BM: Live imaging of lymphatic development in the zebrafish. *Nat Med* 12: 711-716, 2006.
- 9) Liu X, Uemura A, Fukushima Y, Yoshida Y and Hirashima M: Semaphorin 3G Provides a Repulsive Guidance Cue to Lymphatic Endothelial Cells via Neuropilin-2/PlexinD1. *Cell Rep* 17: 2299-2311, 2016.
- 10) Carramolino L, Fuentes J, Garcia-Andres C, Azcoitia V, Riethmacher D and Torres M: Platelets play an essential role in separating the blood and lymphatic vasculatures during embryonic angiogenesis. *Circ Res* 106: 1197-1201, 2010.
- 11) Uhrin P, Zaujec J, Breuss JM, Olcaydu D, Chrenek P, Stockinger H, Fuertbauer E, Moser M, Haiko P, Fassler R, Alitalo K, Binder BR and Kerjaschki D: Novel function for blood platelets and podoplanin in developmental separation of blood and lymphatic circulation. *Blood* 115: 3997-4005, 2010.
- 12) Abtahian F, Guerriero A, Sebzda E, Lu MM, Zhou R, Mocsai A, Myers EE, Huang B, Jackson DG, Ferrari VA, Tybulewicz V, Lowell CA, Lepore JJ, Koretzky GA and Kahn ML: Regulation of blood and lymphatic vascular separation by signaling proteins SLP-76 and Syk. *Science* 299: 247-251, 2003.
- 13) Bertozzi CC, Schmaier AA, Mericko P, Hess PR, Zou Z, Chen M, Chen CY, Xu B, Lu MM, Zhou D, Sebzda E, Santore MT, Merianos DJ,

- Stadtfeld M, Flake AW, Graf T, Skoda R, Maltzman JS, Koretzky GA and Kahn ML: Platelets regulate lymphatic vascular development through CLEC-2-SLP-76 signaling. *Blood* 116: 661-670, 2010.
- 14) Finney BA, Schweighoffer E, Navarro-Nunez L, Benezech C, Barone F, Hughes CE, Langan SA, Lowe KL, Pollitt AY, Mourao-Sa D, Sheardown S, Nash GB, Smithers N, Reis e Sousa C, Tybulewicz VL and Watson SP: CLEC-2 and Syk in the megakaryocytic/platelet lineage are essential for development. *Blood* 119: 1747-1756, 2012.
- 15) Ichise H, Ichise T, Ohtani O and Yoshida N: Phospholipase Cgamma2 is necessary for separation of blood and lymphatic vasculature in mice. *Development* 136: 191-195, 2009.
- 16) Suzuki-Inoue K, Inoue O, Ding G, Nishimura S, Hokamura K, Eto K, Kashiwagi H, Tomiyama Y, Yatomi Y, Umemura K, Shin Y, Hirashima M and Ozaki Y: Essential in vivo roles of the C-type lectin receptor CLEC-2: embryonic/neonatal lethality of CLEC-2-deficient mice by blood/lymphatic misconnections and impaired thrombus formation of CLEC-2-deficient platelets. *J Biol Chem* 285: 24494-24507, 2010.
- 17) Baluk P, Fuxe J, Hashizume H, Romano T, Lashnits E, Butz S, Vestweber D, Corada M, Molendini C, Dejana E and McDonald DM: Functionally specialized junctions between endothelial cells of lymphatic vessels. *J Exp Med* 204: 2349-2362, 2007.
- 18) Sabine A, Agalarov Y, Maby-El Hajjami H, Jaquet M, Hagerling R, Pollmann C, Bebbler D, Pfenniger A, Miura N, Dormond O, Calmes JM, Adams RH, Makinen T, Kiefer F, Kwak BR and Petrova TV: Mechanotransduction, PROX1, and FOXC2 cooperate to control connexin37 and calcineurin during lymphatic-valve formation. *Dev Cell* 22: 430-445, 2012.
- 19) Dellinger M, Hunter R, Bernas M, Gale N, Yancopoulos G, Erickson R and Witte M: Defective remodeling and maturation of the lymphatic vasculature in Angiopoietin-2 deficient mice. *Dev Biol* 319: 309-320, 2008.
- 20) Levet S, Ciaïis D, Merdzhanova G, Mallet C, Zimmers TA, Lee SJ, Navarro FP, Texier I, Feige JJ, Bailly S and Vittet D: Bone morphogenetic protein 9 (BMP9) controls lymphatic vessel maturation and valve formation. *Blood* 122: 598-607, 2013.
- 21) Lutter S, Xie S, Tatin F and Makinen T: Smooth muscle-endothelial cell communication activates Reelin signaling and regulates lymphatic vessel formation. *J Cell Biol* 197: 837-849, 2012.
- 22) Bouvree K, Brunet I, Del Toro R, Gordon E, Prahst C, Cristofaro B, Mathivet T, Xu Y, Soueid J, Fortuna V, Miura N, Aigrot MS, Maden CH, Ruhrberg C, Thomas JL and Eichmann A: Semaphorin3A, Neuropilin-1, and PlexinA1 are required for lymphatic valve formation. *Circ Res* 111: 437-445, 2012.
- 23) Chang EI, Skoracki RJ and Chang DW: Lymphovenous Anastomosis Bypass Surgery. *Semin Plast Surg* 32: 22-27, 2018.
- 24) Martinez-Corral I, Zhang Y, Petkova M, Ortsater H, Sjoberg S, Castillo SD, Brouillard P, Libbrecht L, Saur D, Graupera M, Alitalo K, Boon L, Vikkula M and Makinen T: Blockade of VEGF-C signaling inhibits lymphatic malformations driven by oncogenic PIK3CA mutation. *Nat Commun* 11: 2869, 2020.
- 25) Coxam B, Sabine A, Bower NI, Smith KA, Pichol-Thievend C, Skoczylas R, Astin JW, Frampton E, Jaquet M, Crosier PS, Parton RG, Harvey NL, Petrova TV, Schulte-Merker S, Francois M and Hogan BM: Pkd1 regulates lymphatic vascular morphogenesis during development. *Cell Rep* 7: 623-633, 2014.
- 26) Outeda P, Huso DL, Fisher SA, Halushka MK, Kim H, Qian F, Germino GG and Watnick T: Polycystin signaling is required for directed endothelial cell migration and lymphatic development. *Cell Rep* 7: 634-644, 2014.
- 27) Hirashima M, Sano K, Morisada T, Murakami K, Rossant J and Suda T: Lymphatic vessel assembly is impaired in *Asp1*-deficient mouse

- embryos. *Dev Biol* 316: 149-159, 2008.
- 28) Maisel K, Sasso MS, Potin L and Swartz MA: Exploiting lymphatic vessels for immunomodulation: Rationale, opportunities, and challenges. *Adv Drug Deliv Rev* 114: 43-59, 2017.
- 29) Zhang F, Zarkada G, Han J, Li J, Dubrac A, Ola R, Genet G, Boye K, Michon P, Kunzel SE, Camporez JP, Singh AK, Fong GH, Simons M, Tso P, Fernandez-Hernando C, Shulman GI, Sessa WC and Eichmann A: Lacteal junction zipper protects against diet-induced obesity. *Science* 361: 599-603, 2018.
- 30) Harvey NL, Srinivasan RS, Dillard ME, Johnson NC, Witte MH, Boyd K, Sleeman MW and Oliver G: Lymphatic vascular defects promoted by *Prox1* haploinsufficiency cause adult-onset obesity. *Nat Genet* 37: 1072-1081, 2005.
- 31) Da Mesquita S, Louveau A, Vaccari A, Smirnov I, Cornelison RC, Kingsmore KM, Contarino C, Onengut-Gumuscu S, Farber E, Raper D, Viar KE, Powell RD, Baker W, Dabhi N, Bai R, Cao R, Hu S, Rich SS, Munson JM, Lopes MB, Overall CC, Acton ST and Kipnis J: Functional aspects of meningeal lymphatics in ageing and Alzheimer's disease. *Nature* 560: 185-191, 2018.
- 32) Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, Eccles JD, Rouhani SJ, Peske JD, Derecki NC, Castle D, Mandell JW, Lee KS, Harris TH and Kipnis J: Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature* 523: 337-341, 2015.
- 33) Da Mesquita S, Papadopoulos Z, Dykstra T, Brase L, Farias FG, Wall M, Jiang H, Kodira CD, de Lima KA, Herz J, Louveau A, Goldman DH, Salvador AF, Onengut-Gumuscu S, Farber E, Dabhi N, Kennedy T, Milam MG, Baker W, Smirnov I, Rich SS, Benitez BA, Karch CM, Perrin RJ, Farlow M, Chhatwal JP, Holtzman DM, Cruchaga C, Harari O and Kipnis J: Meningeal lymphatics affect microglia responses and anti-Abeta immunotherapy. *Nature*, 2021.
-