

# Anatomy and pathology of lymphatics in health and inflammation in the mouse diaphragm

|        |   |
|--------|---|
| 著者     | PEERADA NGAMSNAE  |
| 号      | 91  |
| 学位授与機関 | Tohoku University   |
| 学位授与番号 | 医博(障)第212号  |
| URL    | <a href="http://hdl.handle.net/10097/00136985">http://hdl.handle.net/10097/00136985</a> |

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | がむさね びーらだ<br>PEERADA NGAMSNAE  |
| 学位の種類   | 博士 (障害科学)  |
| 学位授与年月日 | 2022年3月25日   |
| 学位授与の条件 | 学位規則第4条第1項   |
| 研究科専攻   | 東北大学大学院医学系研究科 (博士後期3年の課程) 障害科学専攻   |
| 学位論文題目  | Anatomy and pathology of lymphatics in health and inflammation in the mouse diaphragm(マウス横隔膜リンパ管の正常解剖と炎症による病理学的変化) |
| 論文審査委員  | 主査 教授 出江 紳一<br>教授 今井 啓道<br>教授 上月 正博  |

## 論文内容要旨

学籍番号 : B9MD1004

氏名 : PEERADA NGAMSNAE

本文 :

**Background:** The lymphatics of the parietal pleura drain fluids produced by capillaries of the parietal and visceral pleura. Impaired drainage function and/or excessive fluid entry cause pleural effusion. In the rat diaphragm, the pleural lymphatics drain fluids into lymphatics in the muscle layer. In the mouse diaphragm, acute peritoneal inflammation induces lymphangiogenesis in pleural and parietal membranes. Lymphatic subtypes are initials or collectings characterized by the major distribution of discontinuous button-like endothelial junctions (buttons) in initial lymphatics, and continuous zipper-like junctions (zippers) in the collecting lymphatics. Inflammation replaced buttons with zippers in tracheal lymphatics. In the mouse diaphragm, the presence of lymphatics in the muscle layer, the structural relationship between the lymphatics and blood vessels, and the distributions of initial and collecting lymphatics are unclear. Moreover, under pleural inflammation, the endothelial junctional alterations and effects of vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR) inhibition are unclear.

**Methods:** A chronic inflammatory pleuritis mouse model was created by repeating bacterial endotoxin lipopolysaccharide injections intrathoracically for 28 days. To evaluate the effects of VEGFR inhibition on the pleural inflammation, mice were gavaged with VEGFR inhibitor axitinib. The lymphatics, blood vessels, lymphatic endothelial junctions, leukocytes, and drainage functions in the diaphragms were analyzed by immunohistochemistry for their specific markers.

**Results:** Using the mouse diaphragm, the lymphatics and blood vessels were distributed in different layers of the pleural membrane. Collecting lymphatics were distributed in the diaphragmatic muscle layer. The majority of pleural lymphatics were initial lymphatics, while those in the central tendon were collecting lymphatics. Chronic pleural inflammation disorganized the stratified layers of the lymphatics and blood vessels and replaced buttons with zippers in the pleural lymphatics, which impaired pleural drainage function. VEGFR inhibition under inflammation maintained the healthy structures and drainage function.

**Conclusion:** This study showed the 3-dimensional structures of vasculatures and lymphatic

(書式 1 2)

subtypes in the diaphragm. Chronic inflammation disorganized the structures, lymphatic endothelial junctions, and impaired the drainage function. VEGFR signaling impairment improved these disorganizations. These findings may provide new targets for managing pleural effusions caused by inflammation, which is a common comorbidity of pneumonia.

## 審査結果の要旨

博士論文題目 Anatomy and pathology of lymphatics in health and inflammation in the mouse diaphragm (マウス横隔膜リンパ管の正常解剖と炎症による病理学的変化)

所属専攻・分野名 障害科学専攻 ・肢体不自由学分野

学籍番号 B9MD1004 氏名 PEERADA NGAMSNAE

胸腔は壁側と臓側胸膜で覆われ、横隔膜は壁側胸膜で覆われている。胸水は胸腔の毛細血管から分泌され、リンパ管から排出される。胸水貯留は胸腔でのリンパ管の排出障害や毛細血管からの過剰な分泌でおきる。リンパ管の種類には毛細リンパ管と集合リンパ管がある。毛細リンパ管のリンパ管内皮は不連続なボタン状に接合し、集合リンパ管のリンパ管内皮は連続したジッパー状に接合している。リンパ管新生の主要因子に血管内皮増殖因子受容体（VEGFR）があり、その阻害は肺炎等の炎症性疾患でリンパ管新生を抑制すると考えられる。

現在マウス横隔膜とそれを覆う壁側胸膜の不明な点に、リンパ管の正常解剖、毛細リンパ管や集合リンパ管の分布状況、慢性炎症の起こり方、炎症によるリンパ管や血管の形態的变化及び毛細リンパ管や集合リンパ管の分布の変化、リンパ管の排出機能の変化、炎症での VEGFR 阻害のリンパ管や血管の形態や機能への影響がある。これらの解明を本研究の目的とした。

マウスから採取した横隔膜全体をリンパ管や血管、リンパ管内皮接合部のマーカーで免疫染色し、共焦点顕微鏡で観察した。細菌由来毒素のリポポリサッカライド(LPS)をマウス胸腔内に28日の間に計10回注入し慢性炎症性胸膜炎モデルを作製した。本モデルに VEGFR 阻害剤アキシチニブを投与し、VEGFR を阻害した。胸腔内に色素のエバンスブルーを注入しその血中濃度でリンパ管の排出機能を評価した。

健常マウスの横隔膜でリンパ管と血管は別々の層に分布し、血管よりも胸腔により近い層にリンパ管が分布していた。毛細リンパは主に胸膜に分布し、集合リンパ管は横隔膜の筋層と横隔膜の脊椎周囲の腱膜部分に分布していた。LPS 投与は慢性炎症性胸膜炎を起こし、横隔膜胸膜でリンパ管新生と血管のリモデリングを誘導した。また本慢性炎症モデルの胸膜では、毛細リンパ管が減少し集合リンパ管が増加しリンパ管の排出機能が低下した。炎症モデルでの VEGFR 阻害は血管とリンパ管の構造、そして排出機能を健常マウス同様に維持した。

本論文はマウス横隔膜の慢性炎症下でのリンパ管の形態や種類、ドレナージ機能の変化への VEGFR 阻害の治療効果を示唆した。

本研究結果は胸膜脈管系の正常解剖や炎症下での病理学的変化を同定し、肺炎の合併症等として頻発する炎症性胸水対策の新たな標的として脈管系の可能性を示した。

よって、本論文は博士（障害科学）の学位論文として合格と認める。