



Title	Angpt1 binding to Tie1 regulates the signaling required for lymphatic vessel development in zebrafish
Author(s)	桂, 寧
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/101852">https://hdl.handle.net/11094/101852</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

氏名 Name	桂 (Gu i) 寧 (N i ng)
論文題名 Title	Angpt1 binding to Tie1 regulates the signaling required for lymphatic vessel development in zebrafish (ゼブラフィッシュのリンパ管形成におけるAngpt1/Tie1シグナルの機能解明)
〔目的(Objective)〕	
To clarify how lymphatic vessel development is regulated by Angiopoietin family members and Tie family kinases in zebrafish	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
[Methods]	
1. To investigate the angiopoietin (angpt) members (angpt1, angpt2a and angpt2b) and Tie kinases (tie1 and tie2), we generated mutants of <i>angpt1</i> , <i>angpt2a</i> , <i>angpt2b</i> as well as <i>tie1</i> mutants lines using transcription activator-like effector nucleases (TALENs) and obtained <i>tie2</i> mutant from Dr.Schulte-Merker (University of Munster, Germany).	
2. To examine the phenotype of these mutants, especially in angiogenesis and lymphangiogenesis, we observed lymphatic vessel development and blood vessel development of these mutants and wild-type using transgenic lines (Tg) expressing DsRed-marked lymphatic endothelial cells (ECs) and GFP-marked blood ECs ( <i>Tg(Lyve1:DsRed);Tg(Kdrl:EGFP)</i> ).	
3. To examine the ligand and receptor relationship of Angpt and Tie receptors, we performed pull-down assays by overexpressing extracellular domain of Tie1 fused with Fc and His-tag and Angpts-tagged with FLAG in 293T cells.	
4. We performed gene expression profiling of the mutants and compared transcriptional upregulation or downregulation of genes between wild-type and <i>tie1</i> mutant.	
5. To clarify the downstream signaling of Tie1, we investigated the effect of FoxO1 localization in wild type and <i>tie1</i> mutants. To this end, we developed <i>Tg(fli1:EGFP-foxo1a)</i> line.	
[Results]	
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <i>tie1</i> mutants showed the comparable phenotype of <i>angpt1</i> mutants, which showed the impairment of secondary sprouts from posterior cardinal veins and thoracic duct formation. The zebrafish mutants with impaired lymphatic vessels resulted in systemic edema and early death. <i>tie2</i> mutants showed no phenotype and were healthy.</li> <li>■ Angpt1 but not Angpt2a and Angpt2b bound to Tie1.</li> <li>■ Angpt1-mimicking molecule, COMP-Ang1 induced phosphorylation of Tie1.</li> <li>■ In <i>tie1</i> mutants, GFP-tagged Foxo1 under the <i>kdr1</i> promoter was mainly localized in the nucleus of venous endothelial cells of trunk vessels. In contrast, FoxO1 was localized in the cytoplasm of venous endothelial cells. These data suggest that Tie1 signaling induces the nuclear export of FoxO1 upon Angpt1 stimulation.</li> </ul>	
[Conclusion]	
We first showed the essential roles of Angpt1 and Tie1 in zebrafish lymphangiogenesis. We further clarified the molecular mechanism that regulates lymphangiogenesis. Angpt1 induces the phosphorylation of Tie1 to control the nuclear export of FoxO1. In mammals, Tie2 is proven to be mainly activated by Ang1, whereas in zebrafish Tie1 mainly functions to establish lymphatic vessels.	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 桂 寧		
論文審査担当者	(職) 主査	氏名 大阪大学招へい教授 <u>吉川直樹</u> 署名
	副査	大阪大学教授 <u>日比野浩</u> 署名
	副査	大阪大学教授 <u>坂田泰史</u> 署名

## 論文審査の結果の要旨

桂氏は博士課程でリンパ管形成に関する分子機構について解明した。

チロシンキナーゼ受容体Tieファミリーは哺乳類ではTie2がリンパ管形成に必須であることが報告されていたが、Tie1についてもリンパ管形成に関わることが示唆される研究の報告もあった。申請者は、ゼブラフィッシュではTie2の変異体は全くリンパ管形成に問題がなく、Tie1の変異体で重篤なリンパ浮腫を認めたことからTie1受容体の調節機構を調べたところ、リガンドとしてAngiopietin1 (angpt1) がTie1に結合し、Tie1のチロシン活性化を惹起することを確認した。Angpt1変異体もTie1変異体と同様にリンパ管形成異常をきたすことも判った。リンパ管は後主静脈静脈から発芽する内皮細胞が将来のリンパ管となるリンパ内皮前駆細胞となるが、Tie1変異体ではこの出芽も障害され、体幹の主リンパ管である胸管も形成不全となっていたTie2変異体では転写因子Fox01が核内に局在しており、野生型では細胞質に存在することから、Angpt1-Tie1によってFox01が核外に移動することがリンパ管形成に必要であることを明らかにできた。

本研究は、学位に値するものと認める。