

令和元年6月3日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11365

研究課題名(和文) 動静脈奇形における新生血管の分子制御機構 ～病的血管はいかに新生するか?～

研究課題名(英文) Analysis of angiogenesis in soft tissue arteriovenous malformation

研究代表者

野村 正 (NOMURA, TADASHI)

神戸大学・医学部附属病院・特命講師

研究者番号：30529566

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：手術検体で得られた動静脈奇形標本から培養細胞を得た。これらから抽出したRNAをマイクロアレイで網羅的に検討し、さらに免疫組織学的検討を行ったところ、selectin-P (SELP)においてヒト正常動脈由来血管内皮細胞ならびにヒト臍帯静脈由来血管内皮細胞よりも高い発現を認めた。還流培養においては培養液の流動方向には広がらずむしろ逆行する様式で培養細胞が増殖する結果となった。SELPは体表のAVMの異常血管増殖に関与している可能性が高いと考えられた。培養液の流れに逆らって細胞が増殖したことから、流動が細胞増殖に何らかの影響を与えていることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動静脈奇形は臨床上治療困難とされる脈管奇形の一つであり、今回の結果でその増殖因子の一つが解明でき、薬物療法を含めた治療法の開発に寄与できる可能性がある。また流動刺激に逆行して細胞が増殖していたことから、血流をコントロールすることで増殖を抑制できる可能性が示唆される結果となり、これについても治療に応用できる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Cultured cells were obtained from arteriovenous malformation specimens obtained from surgical specimens. RNA extracted from these cells was comprehensively examined by microarray and further immunohistochemical study showed higher expression of selectin-P (SELP) than human normal artery-derived endothelial cells and human umbilical vein-derived endothelial cells. In refluxing culture, the growth of the cultured cells did not spread in the flow direction of the culture medium, but rather grew in a reverse manner. SELP seemed to have the high possibility of being concerned in the abnormal blood vessel breeding of AVM of the body surface. It was proven that the flow had some effects on the cell proliferation, because the cell proliferated against the flow of the culture solution.

研究分野：形成外科学

キーワード：動静脈奇形 脈管奇形 SELP 還流培養

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

血液貯留型の血管奇形である静脈奇形、動静脈奇形、リンパ管奇形は先天的な脈管系の異常であり、難治の疾患と認識されている。平成 27 年には一部の血管奇形が難病に指定された。特に体表の場合、醜状変形、病変部からの出血など、著しい Quality of Life の低下にさらされている。治療法として、手術による完全切除が推奨されているが、一方で病変の境界が不明瞭であり術後の出血、再増大(再発)があること、また術後の醜状変形や瘢痕の問題も指摘されている。これらを背景に、われわれは、過去 10 数年にわたり、貯留型血管奇形に対してインターベンショナルラジオロジー (IVR) の技術を用いた硬化療法および手術を中心とした治療を行い、一定の治療効果を報告してきた。しかし、手術や硬化療法に対しても治療抵抗性の病変が存在し、特に動静脈奇形では組織破壊的かつ生命を脅かす病態を呈し、臨床的に重篤な経過を辿る場合がある。現状では、病変の切除および IVR 治療が不可能な病変では、症状の進行を止める治療法は存在しない。血管奇形は組織学上良性であり、病変が残存していても病勢を下させることで患者の QOL は改善すると考えられ、内科的治療に寄せられる期待は大きい。

血管奇形の原因は不明である。一方、その解剖学的な構築は、血管成分が無秩序に存在し、大中小血管の階層も乱れており、悪性腫瘍の血管構造と類似する面がある。増殖・悪化に関する原因として、血管新生因子 (Vascular Endothelial Growth Factor; VEGF) や虚血誘導因子 (hypoxia-inducible factor : HIF) などを介した血管新生の関与が指摘されている。われわれはこれまでに、手術で摘出した動静脈奇形 (AVM) から血管内皮細胞を単離培養することに成功し、その増殖能が正常動脈よりも極めて高く、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) よりやや低いという実験結果を得た。

2. 研究の目的

血管奇形のうち進行すると組織の潰瘍や壊死が生じる AVM に焦点を当てた。AVM は臨床で、その悪化の過程において、血管新生を生じているため、新生血管の形成原因を探るべく、1. 網羅的検討による AVM 増殖関連因子の特定、2. 機械刺激の関与の 2 つを中心に分子生物学的側面より評価し、本疾患の分類・診断基準作成の補助ならびに疾患治療の確立へ結びつけることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 体表の AVM の血管増殖機序に関して検討を行った。体表 AVM の手術検体から explant 法で血管内皮細胞を初代培養し、動静脈奇形由来血管内皮細胞 (AVMVEC) を得た。対照として同様に手術検体から正常動脈から血管内皮細胞 (NAVEC) を得た。これらについて培養細胞から RNA を抽出し、網羅的にマイクロアレイを行った。

(2) マイクロアレイの結果で、AVMVEC が他の二者よりも高発現した 2 つの遺伝子について手術検体で得られた固定標本を用いて免疫組織学的検討を行った。

(3) 閉鎖系による一定速度での還流培養を行い、培養細胞の走化性を検討した。

4. 研究成果

(1) piezo-type mechanosensitive ion channel component 2 (PIEZ2) ならびに selectin-P (SELP) においてヒト正常動脈由来血管内皮細胞ならびにヒト臍帯静脈由来血管内皮細胞 (HUVEC) よりも AVMVEC において高い発現を認めた。

マイクロアレイの結果を図 1 に示す。

(2) PIEZ2 の発現は明らかではなかったが、SELP において血管内皮付近で高い発現を認めた (図 2)。

(3) 培養液の流動方向には広がらずむしろ逆行する様式で AVMVEC が増殖する結果となった。

体表 AVM における SELP 発現の意味や意義についてはなお不明であるが、固形癌において血小板侵入によって腫瘍増殖に関与することや脳 AVM で強発現することから、体表の AVM の異常血管増殖に関与している可能性が高いと考えられた。培養液の流れに逆らって細胞が増殖したことから、機械刺激が細胞増殖に何らかの影響を与えていることが判明した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 10 件)

野村正:【患児・家族に寄り添う血管腫・脈管奇形の医療】リンパ管奇形の診断と治療。PEPARS, 査読無, 2019:145, 27-35.

AVM

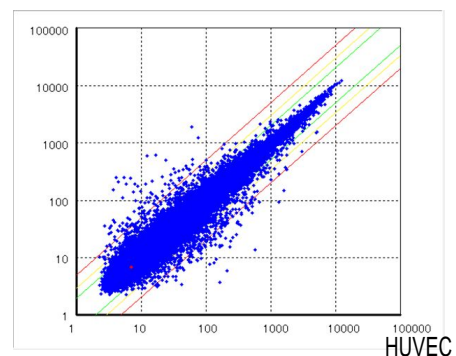


図 1

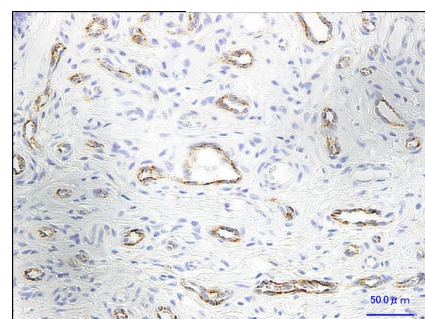


図 2

野村正, 寺師浩人:【STEP UP! Local flap】眼周囲で有用な局所皮弁 -皮下茎皮弁による再建方法. PEPARS, 査読無, 2018: 142, 33-41.

丸口勇人, 野村正, 町田怜央, 村上英毅, 高須啓之, 橋川和信, 寺師浩人: 退縮後に摘出術を行った耳下腺乳児血管腫の治療経験. 日形会誌, 査読有, 2018: 38, 652-658.

野村正, 寺師浩人:【形成外科 珠玉のオペ[2]応用編-次世代に継承したい秘伝のテクニック-】四肢・体幹外科 血管腫 血液貯留型血管奇形に対する手術療法 形成外科, 査読有, 2018: 61 増刊, S229-S237.

倉本康世, 野村正, 江尻浩隆, 川北育子, 櫻井敦, 橋川和信, 寺師浩人: 静脈奇形に対する硬化療法におけるオレイン酸エタノールアミンとポリドカノールの比較検討. 形成外科. 査読有, 2018: 61, 450-456.

森脇綾, 江尻浩隆, 野村正:【レーザー治療の合併症から学ぶ】乳児血管腫に対する早期レーザー治療により潰瘍を生じた1例. 形成外科. 査読有, 2018: 60, 1359-1363.

Takasu H, Hashikawa K, Nomura T, Sakakibara S, Osaki T, Terashi H.: A novel method of noninvasive monitoring of free flaps with near-infrared spectroscopy. Eplasty, 査読有, 2017; 15, e37.

野村正, 江尻浩隆, 櫻井敦, 川北育子, 橋川和信, 寺師浩人:【頭頸部動静脈奇形の最新治療】動静脈奇形に対する手術療法~nidusを見極めるわれわれの試み~. 形成外科, 査読有, 2017: 60, 649~660

Nomura T, Sakakibara S, Moriwaki A, Kawamoto T, Suzuki S, Ishimura S, Hashikawa K, Terashi H: Low-grade myxofibrosarcoma of the rectus abdominus muscle infiltrating into abdominal cavity: A case report, ePlasty, 査読有, 2017: 21, e6.

野村正, 江尻浩隆.【形成外科領域におけるレーザー・光・高周波治療】毛細血管奇形(単純性血管腫)の標準的レーザー治療. PEPARS, 査読無, 2016; 111: 14-9.

〔学会発表〕(計7件)

野村正ほか. CLOVES syndrome が疑われた症例の経験. 第13回日本血管腫血管奇形学会(石垣市, 2016年5月21日)

野村正ほか.【パネルディスカッション3.血管治療の基礎から臨床へ】動静脈奇形の増殖機序に関する検討. 第25回日本形成外科学会・基礎学術集会(大阪市, 2016年9月16日)

野村正ほか. 動静脈奇形に対するマイクロアレイによる網羅的検討. 第26回日本形成外科学会基礎学術集会(大阪市, 2017年10月19日)

野村正ほか. 色素レーザー照射後に潰瘍を生じた乳児血管腫症例の検討. 第30回日本レーザー医学会関西地方会(神戸市, 2017年7月29日)

野村正ほか. CLOVES 症候群の一症例(第2報). 第15回日本血管腫血管奇形学会(大阪市, 2018年7月20日)

Nomura T, et al. Compartmentalization using barbed sutures in the treatment of infiltrative venous malformations. 22nd International Workshop of the International Society for the Study of Vascular Anomalies (Amsterdam, 2018.5.29-6.1)

Nomura T, et al. Comparison of Percutaneous Polidocanol Injection and Percutaneous Ethanolamine Oleate Injection for the Treatment of Venous Malformations. 22nd International Workshop of the International Society for the Study of Vascular Anomalies (Amsterdam, 2018.5.29-6.1)

〔図書〕(計3件)

野村正: 第1章3 色素レーザー. 河野太郎編. 皮膚科医・形成外科医のためのレーザー治療スタンダード. 羊土社, 東京, 2017: 29-35.

野村正：第1章8 毛細血管拡張症の標準的治療．河野太郎編．皮膚科医・形成外科医のためのレーザー治療スタンダード．羊土社，東京，2017：160-169．

野村正，寺師浩人：第4章4 動静脈奇形．波利井清紀，野崎幹弘監修，形成外科治療手技全書．第 巻腫瘍・母斑・血管奇形．克誠堂，東京，2018：122-136．

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ <http://www.med.kobe-u.ac.jp/plas/>

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：寺師 浩人

ローマ字氏名：TERASHI, Hiroto

所属研究機関名：神戸大学

部局名：医学部附属病院

職名：教授

研究者番号（8桁）：80217421

研究分担者氏名：橋川 和信

ローマ字氏名：HASHIKAWA, Kazunobu

所属研究機関名：神戸大学

部局名：医学部附属病院

職名：准教授

研究者番号（8桁）：90403237

研究分担者氏名：榊原 俊介

ローマ字氏名：SAKAKIBARA, Shunsuke

所属研究機関名：神戸大学

部局名：医学研究科

職名：医学研究院

研究者番号（8桁）：50444592

研究分担者氏名：高須 啓之

ローマ字氏名：TAKASU, Hiroyuki

所属研究機関名：神戸大学

部局名：医学研究科

職名：医学研究院

研究者番号(8桁): 40566022

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。