

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09481

研究課題名(和文) 乳児血管腫におけるstem cellの関与 ～増殖・分化制御機構の解明～

研究課題名(英文) Involvement of stem cells in infantile hemangiomas -Elucidation of proliferation / differentiation control mechanism-

研究代表者

櫻井 沙由理(大澤) (Sayuri, Osawa)

神戸大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20594534

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：手術で採取した増殖期の乳児血管腫よりexplant法で乳児血管腫由来血管内皮細胞(IHVEC)サンプルを採取し、これを培養してtotal RNAを採取した。同様に対照として、橈骨動脈由来の血管内皮細胞(RAVEC)ならびにヒト正常臍帯静脈由来正常血管内皮細胞(HUVEC)からtotal RNAを採取して、網羅的にマイクロアレイを行った。その結果、血管増殖関連のマーカーとしては、VEGFA、PDGFRAならびにPDGFRBにおいて、RAVECとHUVECでは発現に有意な差を認めないものの、RAVECに対してIHVECは強い発現を認めた。同様に、免疫組織学的検討でもIHVECで強い発現を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳児血管腫の発生頻度は、本邦では0.8-1.7%とされている。小さな病変は最終的に消失するが、病変が大きい場合は、発生部位によって気道閉塞、視野障害、哺乳障害などを生じ、整容面でも瘢痕や変形などを後遺症として生じる場合があることから、皮膚科、形成外科、小児科領域で関心も持たれている分野である。近年、上記のような合併症を生じる乳児血管腫に対して非選択的ブロッカーであるpropranolol内服療法の有効性が示されているが、その詳細な作用機序は不明な点も多い。本研究での結果は、乳児血管腫の増殖に関する要因について解明する一助となり得る。

研究成果の概要(英文)：Infantile hemangioma-derived vascular endothelial cell (IHVEC) samples were cultured primarily by the explant method from the infantile hemangioma specimen in the proliferative stage. Total RNA was collected from IHVECs. Similarly, as a control, total RNA was collected from radial artery-derived vascular endothelial cells (RAVECs) and human normal umbilical vein-derived normal vascular endothelial cells (HUVECs), and microarray analysis was performed. As a result, as markers related to vascular growth, VEGFA, PDGFRA and his PDGFRB showed no significant difference in expression between RAVEC and HUVEC, but IHVEC was strongly expressed against RAVEC. Similarly, immunohistological examination showed strong expression in IHVEC.

研究分野：形成外科学

キーワード：乳児血管腫 脈管性腫瘍

## 1. 研究開始当初の背景

乳児血管腫 (infantile hemangioma; 以下 IH と略す) は母状血管腫とも言われる代表的な血管性腫瘍であり、その発生率は本邦では新生児の 0.8-1.7% とされ、乳児期に最も多い腫瘍の一つである。典型的な臨床経過として、生後しばらくして生じ、その後急速に増大して通常 8-15 ヶ月でピークを迎え、徐々に脂肪組織に置換され、5-10 歳頃に血管成分は消失する。この中で特に臨床的に問題を生じるものとして、生命や機能さらに醜状変形をもたらすような alarming hemangioma も存在する。2008 年、IH に対する治療法として非選択的遮断薬である propranolol の有効性が報告され、2016 年には本邦でも alarming hemangioma など重篤な乳児血管腫に対して propranolol のシロップ剤が保険適応となった。Propranolol の薬理作用や作用機序は未だ不明であるばかりか、急速な増殖の機序、さらには退縮に至るプロセスは未だ不明な点が多い。本研究課題では、IH が、どのような司令の下で乳児血管腫が増殖あるいは退縮するかという問いに迫りたい。IH の増殖期は、未分化な血管内皮細胞の高度な細胞増殖によって特徴付けられる。一方、退縮期に入ると、血管内皮細胞は徐々に減少して、比較的口径の大きな血管に変化し、それとともに周囲に脂肪組織が増えていく。このような、退縮期での脂肪組織への置換は極めてユニークな生物学的変化であり、このように振る舞う固形腫瘍は存在しない。この IH の主体をなす血管内皮細胞は分化能を有する未分化な細胞から構成されている。このような独自の特徴をもつ IH の血管内皮細胞のうち、幹細胞マーカーである CD133 による分離によって得られる乳児血管腫由来幹細胞 (hemangioma-derived stem cell; HemSC と略す) は脂肪、骨や神経に分化する多分化能を有することが既に証明されている。しかし HemSC が IH の増殖や退縮にどのように関わっているかは今なお不明である。われわれは、IH の増殖や退縮において HemSC がまさに「司令塔」としての役割を果たしているとの仮説を立て、増殖期あるいは退縮期において、「どのような制御下であるいは生化学的刺激によって、HemSC が乳児血管腫の増殖や退縮に関わっているのか？」という命題に対して、われわれは、分子生物学的手法を用いて証明したい。

## 2. 研究の目的

他の固形癌と同様に、HemSC がどのように乳児血管腫に関与しているのかという命題については不明瞭なことが多い。乳児血管腫由来血管内皮細胞 (hemangioma-derived vascular endothelial cell; HemVEC と略す) では、血管内皮細胞増殖因子受容体-1 (VEGFR1) の発現が対照と比較して著しく低下していることが知られている。HemVEC で VEGFR1 の発現が低下すると、VEGF 依存性の VEGFR2 活性化とその下流のシグナル伝達経路の活性化が起こる。HemVEC では、VEGFR1 をコードする遺伝子 (FLT1) の転写は NFAT (nuclear factor of activated T cells) に依存する。HemVEC での VEGFR1 発現低下は、beta1 インテグリン、インテグリン様受容体である TEM8 (tumor endothelial marker-8)、VEGFR2 および NFAT を含む経路の活性低下が原因とされている。本研究では、各種受容体を検討し、乳児血管腫における増殖の調節機構について検討することを目的とした。

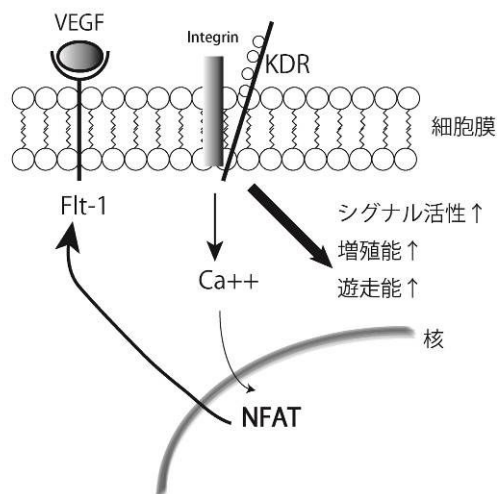
## 3. 研究の方法

乳児血管腫由来血管内皮細胞 (hemangioma-derived vascular endothelial cell; HemVEC と略す) を explant 法で初代培養し、乳児血管腫由来血管内皮細胞 (IHVEC) サンプルを採取し、これを培養して total RNA を採取した。同様に対照として、橈骨動脈由来の血管内皮細胞 (RAVEC) ならびにヒト正常臍帯静脈由来正常血管内皮細胞 (HUVEC) から total RNA を採取した。これらに対して、網羅的にマイクロアレイを行い、その発現について検討した。

## 4. 研究成果

血管増殖関連のマーカーとしては、vascular endothelial growth factor A (VEGFA)、platelet-derived growth factor receptor, alpha polypeptide (PDGFRA)、platelet-derived growth factor receptor, beta polypeptide (PDGFRB) ならびに glucosaminyl (N-acetyl) transferase 1 (GCNT1)、core 2 において、RAVEC と HUVEC では発現に有意な差を認めないものの、RAVEC に対して IHVEC は強い発現を認めた。同様に、免疫組織学的検討でも IHVEC で強い発現を認めた。一方、われわれが注目していたインテグリンに関連するマーカーとして laminin beta 1 では、われわれの予想に反して対照に比べて HemVEC において発現比が 0.34 と著明に低下していた。細胞が増殖するには増殖因子からの伝達のみならず、細胞外マトリックスからインテグリンを介して伝わる信号が同時に入力される必要があり、細胞外マトリックスは単なる足場ではなく、細胞の周囲に増殖因子としての役割を担う。乳児血管腫は生後 8 か月程度まで増殖し、その後退縮するが、その過程は血管内皮細胞のアポトーシスが関連することが知られている。

今回検体として利用できた患児は1歳児であり、摘出前に propranolol 内服療法を受けていたため、すでに退縮期に入っていた可能性があり、このような結果となったことが示唆された。今回検討したマーカーや受容体について個々の詳細な分子生物学的制御機構に関しては、現状では不明であり、今後の検討課題であるが、PDGFRA、PDGFRB ならびに laminin beta 1 さらには細胞外マトリックスであるインテグリンが乳児血管腫の増殖ならびに退縮過程において何らかの調整に関わっていることが示唆される結果となった。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nomura Tadashi, Nakasone Mika, Okamoto Takako, Ejiri Hirotaka, Osawa Sayuri, Hashikawa Kazunobu, Terashi Hiroto	4. 巻 37
2. 論文標題 Use of dermal fat grafts for treating anetoderma with lipoatrophy following involution of hemangiomas	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pediatric Dermatology	6. 最初と最後の頁 776 ~ 779
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pde.14207	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hayato Maruguchi, Tadashi Nomura, Sayuri Osawa, Hiroto Terashi	4. 巻 2
2. 論文標題 A Rare Case of Infantile Hemangioma Requiring Ear Reconstruction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Vascular Anomalies.	6. 最初と最後の頁 e003
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tadashi Nomura, Mika Nakasone, Takako Okamoto, Hirotaka Ejiri, Sayuri Osawa, Kazunobu Hashikawa, Hiroto Terashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Use of dermal fat grafts for treating anetoderma with lipoatrophy following involution of hemangiomas	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pediatric Dermatology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pde.14207	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 大澤沙由理、寺師浩人	4. 巻 62
2. 論文標題 形成外科の治療指針update 2019】四肢疾患 重症下肢虚血 血行再建	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 形成外科	6. 最初と最後の頁 S175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hanafusa Hiroaki, Morisada Naoya, Nomura Tadashi, Kobayashi Daisuke, Akasaka Yoshinobu, Ye Ming Juan, Nozu Kandai, Nishimura Noriyuki, Iijima Kazumoto, Nakao Hideto	4. 巻 6
2. 論文標題 A girl with CLOVES syndrome with a recurrent PIK3CA somatic mutation and pancreatic steatosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Human Genome Variation	6. 最初と最後の頁 31-37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41439-019-0063-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 野村正	4. 巻 145
2. 論文標題 リンパ管奇形の診断と治療 .	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PAPERS.	6. 最初と最後の頁 27-35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 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	4. 巻 38
2. 論文標題 退縮後に摘出術を行った耳下腺乳児血管腫の治療経験	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本形成外科学会誌	6. 最初と最後の頁 652-658
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 野村 正, 寺師 浩人	4. 巻 61S
2. 論文標題 【形成外科 珠玉のオベ[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	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 形成外科	6. 最初と最後の頁 S229-S237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 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	4. 巻 61
2. 論文標題 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	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 形成外科	6. 最初と最後の頁 450-456
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 野村正, 大澤沙由理, 山本暢之, 橋川和信, 飯島一誠, 寺師浩人
2. 発表標題 【パネルディスカッション6血管奇形に対する薬物療法の現在と未来】乳児血管腫に対するpropranolol内服療法 ~後遺症に関する検討~
3. 学会等名 第63回日本形成外科学会総会・学術集会 (名古屋)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野村正, 大崎健夫, 大澤沙由理, 原岡剛一, 橋川和信, 寺師浩人
2. 発表標題 【シンポジウム16レーザー専門医は必要か?】国立大学病院形成外科・美容外科における レーザー専門医の必要性
3. 学会等名 第63回日本形成外科学会総会・学術集会 (名古屋)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野村正
2. 発表標題 【シンポジウム1 形成外科領域における血管病変・メラニン系母斑の治療戦略】頭頸部における体表の血管性病変 に対する治療戦略
3. 学会等名 第41回日本レーザー医学会総会 (高知)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野村正、橋川和信、寺師浩人
2. 発表標題 【パネルディスカッション -1 頭頸部の難渋する良性疾患】頭頸部難治性血管性病変 に対する治療戦略
3. 学会等名 第38回日本頭蓋顎顔面外科学会学術集会（東京）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野村正
2. 発表標題 【関連領域学会～沿革& コアシンポジウム 日本血管腫血管奇形学会】血管奇形硬化療法の技術認定制度その背景とアンケート調査結果
3. 学会等名 第62回日本形成外科学会総会学術集会（札幌市）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野村正
2. 発表標題 眼窩周囲の脈管性腫瘍・脈管奇形の診断と治療
3. 学会等名 第4回九州眼形成・涙道研究会（大分市）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野村正
2. 発表標題 破壊型耳介乳児血管腫の治療経験
3. 学会等名 第21回Kansai Interuniversity Sumposium on State-of-the-art in PRS（廿日市市）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野村正
2. 発表標題 鼻部乳児血管腫の治療経験
3. 学会等名 第20回Kansai Interuniversity Sumposium on State-of-the-art in PRS (御殿場市)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野村正
2. 発表標題 【シンポジウム1これまでとこれから】硬化療法後に視機能障害を生じた症例から得られたこと
3. 学会等名 第16回日本血管腫血管奇形学会 (津市)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野村正
2. 発表標題 【シンポジウム2脈管奇形に対する硬化療法の標準化に向けて】静脈奇形に対する硬化療法
3. 学会等名 第16回日本血管腫血管奇形学会 (津市)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nomura T, Aoki D, Kitani K, Hashikawa K, Terashi H
2. 発表標題 Compartmentalization using barbed sutures in the treatment of infiltrative venous malformations.
3. 学会等名 22nd International Workshop of the International Society for the Study of Vascular Anomalies (国際学会)
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 Nomura T, Ejiri H, Kuramoto Y, Sakurai A, Kawakita I, Maruguchi H, Hashikawa K, Terashi H
2. 発表標題 Comparison of Percutaneous Polidocanol Injection and Percutaneous Ethanolamine Oleate Injection for the Treatment of Venous Malformations.
3. 学会等名 22nd International Workshop of the International Society for the Study of Vascular Anomalies (Amterdam) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野村正, 森貞直哉, 森健, 木谷慶太郎, 倉本康世, 橋川和信, 飯島一誠, 寺師浩人
2. 発表標題 CLOVES症候群の一症例 (第2報)
3. 学会等名 第15回日本血管腫血管奇形学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計4件

1. 著者名 尾崎峰、野村正	4. 発行年 2020年
2. 出版社 克誠堂出版	5. 総ページ数 255
3. 書名 もう迷わない血管腫・血管奇形 分類・診断と治療・手技のコツ	

1. 著者名 林礼人, 大原國章, 野村正	4. 発行年 2020年
2. 出版社 全日本病院出版会	5. 総ページ数 134
3. 書名 図解こどものあざとできもの	

1. 著者名 野村正	4. 発行年 2020年
2. 出版社 克誠堂出版	5. 総ページ数 -
3. 書名 もう迷わない血管腫・血管奇形 分類・診断と治療・手技のコツ	

1. 著者名 波利井清紀, 野崎幹弘	4. 発行年 2018年
2. 出版社 克誠堂	5. 総ページ数 227
3. 書名 形成外科治療手技全書 腫瘍・母斑・血管奇形	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	野村 正  (NOMURA TADASHI)  (30529566)	神戸大学・医学部附属病院・准教授   (14501)	
研究分担者	大崎 健夫  (OSAKI TAKEO)  (30444582)	神戸大学・医学部附属病院・非常勤講師   (14501)	
研究分担者	榊原 俊介  (SAKAKIBARA SHUNSUKE)  (50444592)	神戸大学・医学研究科・客員准教授   (14501)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	寺師 浩人  (TERASHI HIROTO)  (80217421)	神戸大学・医学部附属病院・教授    (14501)	
研究分担者	橋川 和信  (HASHIKAWA KAZUNOBU)  (90403237)	名古屋大学・医学系研究科・准教授    (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関