

研究種目：基盤研究（A）  
研究期間：2007～2010  
課題番号：19209044  
研究課題名（和文） リンパ行性微小癌転移機構解明のためのリンパ学を基盤とした体系的な研究  
研究課題名（英文） Basic and clinical research for evaluating micro-environmental changes in sentinel lymph node produced by micro-metastasis of carcinoma cell.  
研究代表者  
大橋 俊夫 (OHHASHI TOSHIO)  
信州大学・医学部・教授  
研究者番号：80020832

研究代表者の専門分野：生理学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学、消化器外科学

キーワード：癌転移、センチネルリンパ節、分子プロファイリング、癌抗原、生体顕微鏡観察

### 1. 研究計画の概要

これまで私共が蓄積してきたリンパ学の循環器病学、自然免疫学、腫瘍学に関連した研究成果を統合し、分子生物学、分子遺伝学、生理学、薬理学、組織学等の研究手法を多視点より活用し、従来の報告とは異なり、リンパ節のリンパ管内皮細胞を受け皿としてリンパ行性微小癌転移機構の形成に関するセンチネルリンパ節の微小環境要因の変化を体系的に解明し、その基礎実験結果を踏まえて微小癌転移診断・治療法を新しく開発し臨床応用を目指すことを最終目的とする。

### 2. 研究の進捗状況

リンパ管、リンパ節、リンパ球よりなるリンパ系の生理機能を、循環器学、免疫学、腫瘍学の3つの視点から、低酸素環境においてリンパ液中のアルブミン濃縮機能を仲介して、内部環境の恒常性維持に努める脈管システムと生体防御システムという統一概念の下、リンパ行性微小癌細胞転移様式解明のために以下の実験を行った。

我々は、乳癌のセンチネルリンパ節生検症例からリンパ節近傍の輸入リンパ管を採取し、内腔からリンパ管内皮細胞を剥離して、集合リンパ管由来のリンパ管内皮細胞の株を樹立し、特許化を行った。さらにセンチネルリンパ節内に微小癌転移が成立した時にこの内皮細胞表面に特異的に発現する分子プロファイリングの解析を進めてきた。その結果、高転移乳癌細胞株であるMDA-MB-231から高濃度に分泌されるATPやケモカインCCL2によって、リンパ管内皮細胞表面のICAM-1発

現が増進し、そのICAM-1を仲介してセンチネルリンパ節内リンパ管内皮細胞と癌細胞との接着増強の生じることが確認できた。

この基礎実験結果を発展させ、センチネルリンパ節における微小癌転移を高精度に発見するための分子イメージング方法や治療法の開発に着手した。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

センチネルリンパ節における微小癌転移を示す分子マーカーを、微小癌転移を成立させるセンチネルリンパ節の微小環境変化をその受け皿であるリンパ節内リンパ管内皮細胞の側より観察するという新しい概念で、指標分子マーカーの解析を体系的に行ってきた。その結果、高転移機の腫瘍細胞より分泌されるATPやケモカインの一つであるCCL2等によって、センチネルリンパ節に微小癌転移が成立する直前に、リンパ管内皮細胞に接着因子 ICAM-1 が特異的にしかも48時間以上長時間にわたって強く発現することを見出した。

### 4. 今後の研究の推進方策

センチネルリンパ節内に微小癌転移を成立させるリンパ節内の微小環境の変化を分子生物学的レベルで解明でき、さらに予備実験でこの微小環境成立にはリンパ流よりリンパ管内皮細胞が受けるずり応力の物理的因子もきわめて重要な因子であることを見出し、現在研究を進行中である。さらにマウスの腸管リンパ節の蛍光顕微鏡を用いた可

視化実験で、微小癌転移の分子イメージングも可能となる実験成果を得た。

こうした基礎実験成果を踏まえて、臨床応用を確実なものとするために、研究課題を再構築し、研究をさらに進めていく。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 26 件)

① Y. Kawai, Y. Yokoyama, M. Kaidoh, T. Ohhashi: Shear stress-induced ATP-mediated endothelial constitutive nitric oxide synthase expression in human lymphatic endothelial cells. *Am. J. Physiol.*, 298: C647-C655, 2010. 査読有

② Y. Kawai, M. Kaidoh, Y. Yokoyama, K. Sano, T. Ohhashi: Chemokine CCL2 facilitates ICAM-1-mediated interactions of cancer cells to human lymphatic endothelial cells. *Cancer Sci.*, 100: 419-428, 2009. 査読有

③ Y. Kawai, T. Ohhashi: Topics of physiological and pathophysiological functions of lymphatics. *Curr. Mol. Med.*, 9: 942-953, 2009. 査読有

④ Y. Kawai, M. Kaidoh, T. Ohhashi: MDA-MB-231 produces ATP-mediated ICAM-1-dependent facilitation of the attachment of carcinoma cells to human lymphatic endothelial cells. *Am. J. Physiol.*, 295: C1123-C1132, 2008. 査読有

⑤ N. Sakai, R. Mizuno, N. Ono, H. Kato, T. Ohhashi: High oxygen tension constricts epineurial arterioles of the rat sciatic nerve via reactive oxygen species. *Am. J. Physiol.*, 293(3): H1498-H1507, 2007. 査読有

[学会発表] (計 27 件)

① Kawai Y, Ohhashi T, ATP develops suitable environment for metastasis of carcinoma cells in sentinel lymph node, 第 36 回国際生理学会世界大会, 2009.7.31, 京都

② T. Ohhashi, Y. Kawai, Microenvironmental properties for metastatic carcinoma cells in sentinel lymph node: with special reference to molecular profiling of human lymphatic endothelial cells interacted with the carcinoma

cells., Gordon Research Conference, 2008.3.4, Ventura, CA, USA

[図書] (計 9 件)

① 大橋俊夫, 河合佳子, 朝倉書店, からだと酸素の事典, 2009, pp282-284

② 大橋俊夫, メディカ出版, リンパ浮腫治療研究会編 リンパ浮腫—診療の手引き—, 2007, pp1-55

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

名称: センチネルリンパ節内転移癌細胞検出キット

発明者: 大橋俊夫, 河合佳子

権利者: 信州大学

種類: 特許

番号: PCT/JP2009/051385

出願年月日: 2009年1月28日

国内外の別: 国際特許