

機関番号：82612  
 研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2008～2010  
 課題番号：20790942  
 研究課題名（和文） リンパ内皮細胞の増殖・生存シグナルの解析とリンパ管腫に対する臨床治療への応用  
 研究課題名（英文） Analysis of signaling pathway for proliferation and survival of lymphatic endothelial cell and application for clinical therapy against lymphangioma  
 研究代表者 藤野 明浩（FUJINO AKIHIRO）  
 独立行政法人国立成育医療研究センター・生殖・細胞医療研究部・共同研究員  
 研究者番号：20790942

## 研究成果の概要（和文）：

リンパ管腫組織内のリンパ管腫内皮細胞上で PI3K/AKT の活性化が確認された。リンパ管腫内皮由来細胞株を用いて、*in vitro* でリンパ管内皮細胞のシグナル伝達阻害剤に対する反応をアポトーシスアッセイにて検討したが、リンパ管腫に特異的な反応は認められなかった。

研究期間中に 5 例のリンパ管腫由来細胞株を得、それらを免疫不全 NOG マウスに移植した結果、リンパ管腫様組織を作ることが確認された。

## 研究成果の概要（英文）：

PI3K/AKT signaling pathway is activated in lymphatic endothelial cells in human lymphangioma tissue. Inhibitors for PI3K/AKT were applied to human lymphangioma derived lymphatic endothelial cells (HL-LECs) for apoptosis assay, failing to see any specific reaction *in vitro*.

Five primary HL-LECs were established and transplanted to immunodeficient NOG mice, resulting in lymphangioma-like cystic tissue formation in all cases.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 20 年度	700,000	210,000	910,000
平成 21 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
平成 22 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：リンパ管腫、PI3K、リンパ管腫モデル動物

## 1. 研究開始当初の背景

(1) リンパ管腫の一部は非常に難治性である。世界的にもリンパ管腫の研究報告はきわめて少なく、生物学的・病態発生的な検討は十分なされておらず、基礎的研究による生物学的特性に基づいた良い治療法はない。

(2) リンパ管腫内皮において PI3K/AKT 系の活性が認められた。増殖・生存維持に関わる細胞生物学特性である可能性があり、これを検討し、新しい治療法に結びつく可能性を探ることは有益と考えられた。

## 2. 研究の目的

(1) ヒトリンパ管腫切除標本における細胞内活性化シグナル伝達の関与を検討し、既存リンパ管細胞株及びリンパ管腫由来細胞株における阻害剤の効果を検討する。

(2) リンパ管腫由来リンパ管内皮細胞株を作成し、その性質を検討する。

## 3. 研究の方法

I. ヒトリンパ管腫切除標本における細胞内活性化シグナル伝達の検討

II. 既存リンパ管細胞株及びリンパ管腫由来細胞株における阻害剤の検討

III. リンパ管腫切除時の新鮮切除組織の組織培養における阻害剤の効果を検討する。

IV. リンパ管腫内皮細胞を免疫不全 NOG マウスに移植し、リンパ管腫モデル動物を作成する。

## 4. 研究成果

(1) <ヒトリンパ管腫切除標本における細胞内活性化シグナル伝達の検討及び既存リンパ管細胞株及びリンパ管腫由来細胞株に対する阻害剤効果の検討>

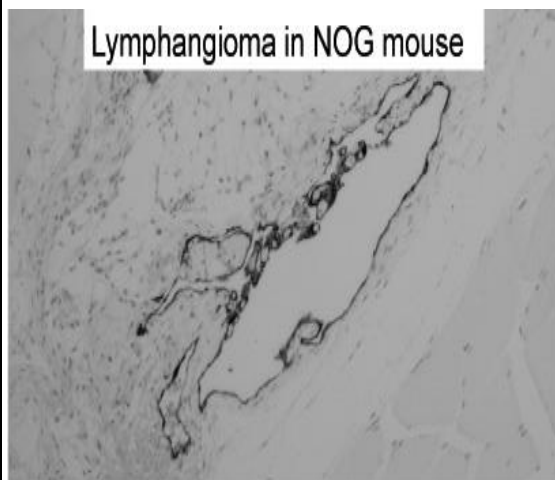


リンパ管腫の嚢胞内皮細胞においては増殖因子受容体として VEGFR-2 及び-3 の発現の上昇が報告されており、下流にあたる MAPK、PI3K/AKT 経路の活性化が予想される。これらの活性化の度合いを正常組織のリンパ管内皮における発現を免疫染色にて比較検討した。PI3K/AKT の活性化はリンパ管腫組織内のリンパ管腫内皮細胞上で高発現であることが確認された。リンパ管内皮のマーカーとして、既に確立されている D2-40、Podoplanin、Prox1 抗体を用いた。引き続きリンパ管腫内皮由来細胞株、市販されている

リンパ管内皮細胞を含む HUDMEC 等を用いて、*in vitro* でリンパ管内皮細胞のシグナル伝達阻害剤に対する反応をアポトーシスアッセイにて検討した。現在までの検討の限りではリンパ管腫に特異的な反応は認められなかった。

(2) <リンパ管腫由来内皮細胞の移植>

研究期間中に 5 例のリンパ管腫由来細胞株を得、それらを免疫不全 NOG マウスに移植した結果、リンパ管腫様組織を作ることが確認された。計 14 検体全例につき同様の結果を確認できているが、一方市販の正常リンパ管内皮の移植ではリンパ管腫様組織は出来ず、リンパ管腫由来内皮細胞自体がリンパ管腫の原因である可能性が示された。また移植したマウスはリンパ管腫モデル動物として今後活用出来る可能性が示唆された。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

藤野明浩 他；リンパ管腫内リンパ液動態の検討. リンパ学 34(1), in press, 2011.

〔学会発表〕(計 9 件)

① Fujino A, et al. "KINETICS OF LYMPHATIC FLUID IN LYMPHANGIOMA STUDIED BY SCINTIGRAPHY." 2010 Jun, 11th European Congress of Paediatric Surgery, (Bern, Switzerland)

② 藤野明浩、森川康英、上野滋、岩中督：重症・難治性リンパ管腫の克服を目指して－厚生労働省難治性疾患克服研究事業によるリンパ管腫研究－. 日本小児外科学会雑誌 2010, 46 (3): 663.

③ 藤野明浩、北村正幸、黒田達夫、北野良博、森川信行、田中秀明、高安肇、武藤充、松田諭、山根裕介、正木英一：シンチグラフィによるリンパ管腫内リンパ液動態の研

究. 日本小児外科学会雑誌 2010, 46 (3): 661.

④ 藤野明浩、北村正幸、黒田達夫、北野良博、森川信行、田中秀明、高安肇、武藤充、松田諭、山根裕介、正木英一「リンパ管腫内リンパ液動態の研究」2010年6月第34回日本リンパ学会総会（東京）

⑤ 藤野明浩、他「リンパ管腫由来リンパ管内皮細胞の特性」2010年7月第7回血管腫・血管奇形研究会（松山）

⑥ Fujino A, et al. "CHARACTERIZATION OF HUMAN LYMPHANGIOMA DERIVED LYMPHATIC ENDOTHELIAL CELLS." 2010 Sept., 23th International Symposium of Pediatric Surgery Research (Tokyo, Japan)

⑦ Fujino A, et al. "Kinetics of lymphatic fluid in lymphangioma; the 2nd report." 2010 Oct., 3rd World Congress of Pediatric Surgery (Delhi, India)

⑧ Fujino A, "CHARACTERIZATION OF HUMAN LYMPHANGIOMA DERIVED PHATIC ENDOTHELIAL CELLS." 2009 June., 19th 56<sup>th</sup> British Association of Paediatric Surgeons & 10<sup>th</sup> EUPSA Joint Annual International Congress (Graz, Austria)

⑨ 藤野明浩 「リンパ管腫由来リンパ管内皮細胞の嚢胞形成特性」2008年11月第24回日本小児がん学会（幕張）

〔図書〕（計 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

該当なし

○取得状況（計0件）

該当なし

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

藤野 明浩（FUJINO AKIHIRO）

独立行政法人国立成育医療研究センター・生殖・細胞医療研究部・共同研究員  
研究者番号：20790942