

令和元年5月29日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10932

研究課題名(和文)リンパ管発生因子の発現からみた脈管奇形(リンパ管腫)における新しい治療戦略

研究課題名(英文)New treatment of venous malformation based on the production of lymphatic duct

研究代表者

田附 裕子(YUKO, TAZUKE)

大阪大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：10397698

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：リンパ管腫ではリンパ管発生(成熟)にかかわる因子であるpodoplaninの発現が低いことより、リンパ管腫の内皮細胞は成熟したリンパ管の内皮細胞とは異なることが判明した。また、新規に内皮を採取し、細胞障害性の有無を検討すると、エタノールでは優位に細胞障害性のあることが判明した。なお、臨床培養の細胞株の発育はゆっくりであり、動物実験ができるだけの細胞数に達しなかった。また、培養の段階で壊死してしまい、形態をなさなくなった。リンパ管腫モデルの作成には至らなかったが、細胞障害性溶液による細胞壊死による治療効果においては、有効であることが、証明された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

リンパ管腫の組織において、リンパ管上皮は血管内皮の因子を有するものが見られた。このことは、エタノールなどの静脈硬化療法に使用される治療薬が、効果的であることを細胞培養においても証明するものである。一方、細胞培養においては、成長速度は遅いながらも、ヒト検体における継代が可能であり、さらに継続培養ができれば、今後、個々のリンパ管腫に合わせた新規治療薬の決定が可能となる、オーダーメイド化も期待される。

研究成果の概要(英文)：The expression of podoplanin was lower in lymphatic duct of lymphangioma, which should be strong expression in normal lymphatic epithelial cells. Lymphatic cell was strongly injured by ethanol than other treatments.

研究分野：小児外科

キーワード：リンパ管腫 エタノール

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

1. 研究開始当初の背景

癌の微小循環のメカニズムの解明により、種々のリンパ管内皮の特異的マーカーや調節因子が注目されているが、難治性疾患であるリンパ管腫は、近年、脈管奇形のひとつに分類されたが、一貫したより効果的な治療はない。

2. 研究の目的

難治性疾患であるリンパ管腫は、近年、脈管奇形のひとつに分類されたが、一貫したより効果的な治療はない。一方、癌の微小循環のメカニズムの解明により、種々のリンパ管内皮の特異的マーカーや調節因子が注目されている。研究代表者たちは脈管奇形の立場からリンパ管腫の組織免疫染色を行った際、リンパ管発生(成熟)にかかわる因子である podoplanin の発現が低いことより、リンパ管腫の内皮細胞は成熟したリンパ管の内皮細胞とは異なることを示唆した。

本研究では、リンパ管発生因子(Prox1,VGEF-C,VGEF-3,podoplanin)の発現に着目し、リンパ管腫発生のメカニズムを明らかにする。また、かかるリンパ管発生因子の発現を調整することにより、従来の治療以上に効果的な新しい治療戦略を提示する。

3. 研究の方法

(1)リンパ管腫の内皮細胞の成熟性を検討する。脈管奇形の立場から、リンパ管腫をリンパ管内皮の新生因子だけでなく血管内皮の分化の面からもその発現因子を確認する。すでに保存されているリンパ管腫症例の臨床組織を無作為に資料として検討するが、今後資料となる組織に対しては、早急に倫理委員会・治験委員会の承認を得て、患者の同意の下に資料を得る。

検討項目：リンパ管内皮新生因子(Prox1,VGEF-C,VGEF-3,podoplanin)、血管新生因子(CD31,CD34,VEGF-A)、血管新生抑制因子(Angiostatin,Endostatin,Vasohibin,など)の発現を、組織学的・分子生物学的に検討する。

(2)保存的治療による周囲組織における炎症性リンパ管新生因子の発現を検討する。

実験モデルを作成し、皮下に、硬化療法で使用している薬物を投与する。(投与後、6時間、12時間、24時間、3日、7日に犠死せしめ、直ちに血液を採取し、引き続き硬化療法を行った組織を摘出し、検討に基づくしかるべき方法で保存する。検討項目は以下のとおりであるが、上記(1)の研究が先に進み、注目すべき因子の同定が進んだ場合は、その結果を優先させ評価する。検討項目：リンパ管内皮新生因子(Prox1,VGEF-C,VGEF-3,podoplanin)、血管新生因子(CD31,CD34,VEGF-A)、血管新生抑制因子(Angiostatin,Endostatin,Vasohibin,など)の発現を、組織学的・分子生物学的に評価する。

4. 研究成果

難治性疾患であるリンパ管腫の効果的な治療はない。リンパ管発生の立場から推測すると、従来の硬化療法も放射線治療も、薬物などによる内皮細胞障害で液体貯留腔が消失する効果だけでなく、局所炎症で誘導された間質内のリンパ管新生により、(本来は誘導されていなかった)リンパ管の発生因子が誘導され、結果として本来のリンパ管機能が獲得し、病変が縮小・改善している可能性もある。そこで、癌の微小循環のメカニズムで種々のリンパ管内皮の特異的マーカーや調節因子が注目されていることに注目し、従来の治療以上に効果的な新しい治療戦略提示することを目標とした。方法は、すでに保存されているリンパ管腫症例の臨床組織を倫理委員会・治験委員会の承認を得て、リンパ管腫の組織免疫染色結果を解析した。結果、リンパ管発生(成熟)にかかわる因子である podoplanin の発現が低いことより、リンパ管腫の内皮細胞は成熟したリンパ管の内皮細胞とは異なることが判明した。また、臨床余剰検体よりリンパ内皮を採取し、再培養する方法を確認した。一方、細胞培養にてリンパ内皮の増殖を行い、細胞ウェル内へ治療薬(OK432:0.3KE/kg、エタノール:0.2ml/kg、プレオマイシン1mg/kg)を投与して細胞障害性の有無を検討すると、エタノールでは優位に細胞障害性のあることが判明した。つぎに、細胞培養の細胞株の国内での提供を内諾していたが、提供先の細胞株の損失により実際の入手はできなかった。そのため、自施設の臨床培養検体および細胞培養検体から細胞を抽出し初代培養株の樹立を行った。細胞の抽出は可能であり、この細胞株を用いたリンパ管腫モデルでの実験を予定していた。しかし残念ながら細胞株の継代が困難であり、細胞株樹立に至る安定した環境が作成できなかった。そのため動物実験への導入が不可能であった。しかし、細胞株の樹立が困難であることは、言い換えれば組織を壊死あるいは挫滅せしめる方法があるということかもしれない。

なお、今後、シロリムスなどの欧米で効果のある薬剤の使用が主流になる可能性もあり、その新規治療薬の作用を探索することで、さらなるリンパ管腫の治療のメカニズムの解明に寄与していきたい。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

Ogawa-Ochiai K, Osuga K, Hidaka K, Nakahata K, Tazuke Y, Yamamoto Y, Uehara S, Okuyama H. A case of extensive pharyngeal vascular malformation successfully treated with Kampo medicine. Auris Nasus Larynx 45:190 - 193, 2018 (査読有)

〔学会発表〕(計 5 件)

松浦 玲、ら：リンパ管奇形に対する越婢加朮湯投与例の検討、小児外科学会、2018

塚田 遼、奥山宏臣、田附裕子、ら 右前胸部から右上肢にかけての広範囲先天性リンパ管腫に対して外科的切除を行った一例、小児外科学会、2018

松浦 玲、ら：OK-432 注入により増悪しエタノール硬化療法が著効した巨大頸部リンパ管奇形の 1 例、日本血管腫血管奇形学会学術集会、2015

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕特許出願・取得なし

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：松浦 玲

ローマ字氏名：Rei Matsuura

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：特任助教(常勤)

研究者番号(8桁): 00747412

研究分担者氏名：奥山 宏臣

ローマ字氏名：Hiroomi Okuyama

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：教授

研究者番号(8桁): 30252670

研究分担者氏名：上野 豪久

ローマ字氏名：Takehisa Ueno

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：講師

研究者番号(8桁): 10456957

研究分担者氏名：高間 勇一

ローマ字氏名：Yuichi Takama

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：助教

研究者番号(8桁): 50467560

研究分担者氏名：山中 宏晃

ローマ字氏名：Hiroaki Yamanaka

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：助教

研究者番号（8桁）：70467570

研究分担者氏名：上原 秀一郎

ローマ字氏名：Syuichiro Uehara

所属研究機関名：地方独立行政法人大阪市民病院機構大阪市立総合医療センター(臨床研究センター)

部局名：臨床研究センター

職名：医長

研究者番号（8桁）：00448060

研究分担者氏名：阪 龍太

ローマ字氏名：Ryuta Saka

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：助教

研究者番号（8桁）：00459190

研究分担者氏名：田中 夏美

ローマ字氏名：Natsumi Tanaka

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：助教

研究者番号（8桁）：20456958

研究分担者氏名：出口 幸一

ローマ字氏名：Koichi Deguchi

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学部附属病院

職名：医員

研究者番号（8桁）：00747082

(2)研究協力者

研究協力者氏名：小川 恵子

ローマ字氏名：Keiko Ogawa

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。