

令和元年6月27日現在

機関番号：82412

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17012

研究課題名(和文) AQP1ノックアウトを用いたリンパ節移植におけるリンパ節内循環機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the circulation mechanism in the lymph node transplanted using the AQP1 knockout mouse

研究代表者

本間 勉 (Homma, Tsutomu)

埼玉県立小児医療センター (臨床研究部)・形成外科・医長

研究者番号：10644205

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：リンパ浮腫に対して新たな治療法として期待されているリンパ節移植術があるが、移植リンパ節がどのようにリンパ液をドレナージしているのかは完全に解明されていない。そこで本実験では水チャネルであるaquaporin-1について着目し、研究を行った。

リンパ浮腫モデルラットに対するリンパ節移植実験により、移植した下肢の組織水分量の低下を認めた。しかし、aquaporin-1の発現についてはリンパ節移植群と対照群とを比較しても明らかな違いは認められず、本実験ではリンパ節移植におけるリンパ液ドレナージについてaquaporin-1の関与は確認できなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

先天的なリンパ循環不全による先天性リンパ浮腫や悪性腫瘍加療に伴うリンパ節郭清などにより後天性リンパ浮腫が引き起こされるが、患肢の腫脹だけでなく易感染性により頻回の蜂窩織炎を発症し重篤になると生命に危機を及ぼすこともある疾患である。

リンパ節移植術は近年増加しつつある術式ではあるが、ドレナージ機構は完全に解明されていない。リンパ節内のリンパ液のドレナージ経路を少しでも解明することで、本術式の正確な適応や術式改善点につながることで、患者への貢献につながると思う。

研究成果の概要(英文)：Transplanting lymph node is expected as a new cure for lymphedema. But it is completely unknown how transplant lymph node performs drainage of lymph fluid. Therefore I paid my attention and studied aquaporin-1 in this experiment.

The fluid volume of lower limbs decreased by the lymph node transplant to the lymphedema model rat. But there was not the difference to compare the control group with the lymph node transplant group to the expression of aquaporin-1. I could not confirm the participation of aquaporin-1 about lymph fluid drainage in the lymph node transplant.

研究分野：リンパ浮腫

キーワード：リンパ浮腫

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

### 1. 研究開始当初の背景

リンパ循環は体液のホメオスタシス、免疫機能などに関わる重要な生体機構である。先天的なリンパ循環不全による先天性リンパ浮腫や悪性腫瘍加療に伴うリンパ節郭清などにより後天性リンパ浮腫が引き起こされるが、患肢の腫脹だけでなく易感染性により頻回の蜂窩織炎を発症し重篤になると生命に危機を及ぼすこともある疾患である。リンパ浮腫の治療法として従来より圧迫療法が行われてきたが、症状の改善や病状進行の予防に留まるのみで根本的な加療には至っていない。

一方でマイクロサージャリ技術の発展に伴い、手術加療の方法としてリンパ管静脈吻合が広まってきており、その有効性も徐々に認められてきている。また近年では vascularized lymph node transfer による臨床報告が増えており、次代の治療法として期待されている。しかしながらリンパ管静脈吻合のように直接リンパ液を静脈にドレナージする方法と異なり、移植リンパ節がどのようにリンパ液をドレナージしているのかは完全に解明されてはいない。

### 2. 研究の目的

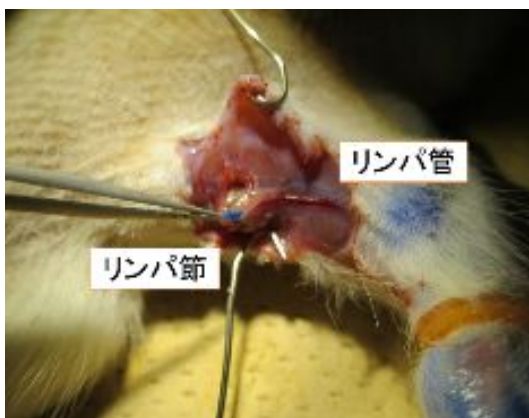
通常のリンパ節内におけるリンパ液と血液の循環において不明な点は未だ多いとされている。その中で水チャネルである aquaporin-1 がリンパ節内での水の動態に関連しているとする報告が散見され、リンパ節内では lymphatic labyrinth と呼ばれる豊富なリンパ球・リンパ液を含む部位と high endothelial venules と呼ばれる静脈に aquaporin-1 が強く発現しており、その水チャネルを介して水のやり取りが行われているとされる。そこで動物モデルによるリンパ節移植実験を通して移植リンパ節がリンパ液をドレナージする機序への aquaporin-1 の関与を検証することとした。

### 3. 研究の方法

当初 aquaporin-1 ノックアウトマウスを作成した上で、リンパ節移植を実施し実験を進める予定であったが、コンディショナルノックアウトマウスの作成が難航した。そのため、今回はノックアウトマウスを用いた実験を断念し、健常ラットおよびリンパ浮腫モデルラットを用いたリンパ節移植を通して、aquaporin-1 の発現量と組織水分量の変化を調べることにした。

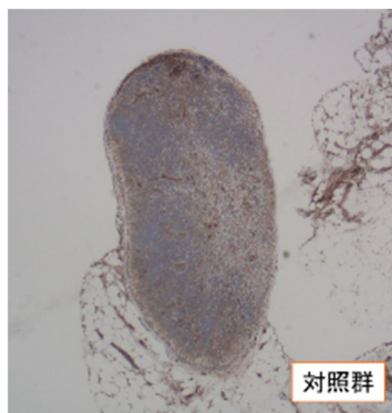
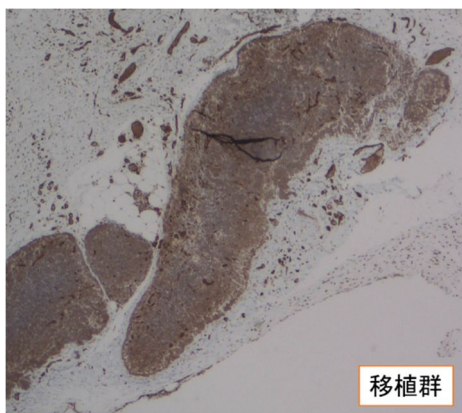
SD ラットの足底より evans blue 染色液を局注しリンパ管・リンパ節を可視化し、除去を行う。また鼠径部での皮膚切除を全周性に行い、皮膚を皮下に縫い付けて再生を遅らせる。この手順でリンパ浮腫モデルラットの作成を行った。

両側下肢に前述の処置を行いリンパ浮腫モデルラット作成後 4 週間経過後に、同一個体の腋窩から採取したリンパ節を片側の鼠径部に移植した。さらに 4 週経過の後に組織水分量の測定を高感度角層膜厚・水分計 ASA-MX100 を用いて両側下肢の足底部、膝窩部でそれぞれ行った (移植群 n=3、非移植群 n=3)。組織学的には移植リンパ節を摘出し aquaporin-1 に対する免疫染色を行い発現の有無を確認した。対照群 (n=3) として健常ラットに対しても同様のリンパ節移植および各種計測を行った。

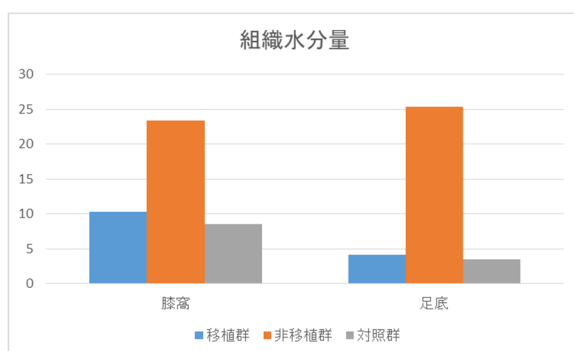


#### 4. 研究成果

免疫染色の結果、移植リンパ節ではそれぞれ aquaporin-1 の発現は確認できたが、その発現量については大きな差異は見られない印象であった。



一方で組織水分量は移植群の方が非移植群と比べて低い傾向にあり、対照群とほぼ同等の値を示していた。このことからリンパ節移植によりリンパ浮腫モデルラットの組織水分量の改善は得られていることは示唆された。



本実験ではリンパ浮腫モデルラットでの移植リンパ節に、より多くの aquaporin-1 が発現することを期待していたが、組織水分量の改善はあったにも関わらず発現量については明らかな違いは見られなかった。本実験ではリンパ節移植を non-vascularized で行っており、移植リンパ節の生着のばらつきによる影響があった可能性が懸念される。

今後の展望としては aquaporin-1 ノックアウトマウス作成を改めて試みて、リンパ節移植における aquaporin-1 の関与についてより深く検討を行う。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕  
なし

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし

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。