

平成 21 年 4 月 15 日現在

研究種目：	基盤研究(C)
研究期間：	2007 ～ 2008
課題番号：	19591519
研究課題名(和文)	移植マウス乳癌におけるリンパ節転移とリンパ管再生
研究課題名(英文)	Lymphangiogenesis and lymph node-metastasis in the inoculated mouse mammary carcinomas
研究代表者	
	伊藤 裕子 (Ito Yuko)
	大阪医科大学・医学部・講師
	研究者番号： 40148432

研究成果の概要：

腫瘍のリンパ節転移には、腫瘍周囲にリンパ管が形成され、腫瘍細胞がリンパ管に浸潤することが必要である。移植マウス乳癌を用いて検討した結果、高転移性の乳癌細胞はリンパ管内皮増殖因子を分泌しリンパ管が多数形成されることが転移の要因となっている。また、ヒアルロン酸レセプター (CD44) を発現しているため、運動性が増し、腫瘍組織からヒアルロン酸がリンパ管に吸収されるに伴い、リンパ管に浸潤することがわかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19年度	1,000,000	300,000	1,300,000
20年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,900,000	570,000	2,470,000

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：乳癌、リンパ管再生、リンパ管浸潤、リンパ節転移、ヒアルロン酸、CD44、LYVE-1

1. 研究開始当初の背景

- (1) リンパ管が新生されるメカニズムとして、既存のリンパ管からの内皮細胞の萌出により形成されるという報告と、胎生期のようにリンパ管内皮前駆細胞 (CD133⁺/CD34⁺/VEGFR-3⁺) から発生するという報告があり、リンパ管新生に関するシグナル伝達経路が注目されている。
- (2) 腫瘍細胞の浸潤性にヒアルロン酸とヒアルロン酸受容体が関与しているのではないかと。近年、腫瘍細胞の浸潤性が増す程AMAP1/cortactinを強発現していることが報告された。cortactinはヒアルロン酸受容体で、同じく腫瘍細胞が発現しているCD44によりコントロールされている。一方、ヒアルロン酸は組織からヒアルロン酸受容体LYVE-1を発現しているリンパ管に吸収されリンパ節で分解されることが知られている。
- (3) リンパ節・肺に高率で転移するマウス乳癌細胞株と、まれにしか転移しないマウス乳癌細胞株を確立しており、転移のモデルマウスを作成できる。

2. 研究の目的

- (1) 移植マウス乳癌においてリンパ管の再生が起こっているか
- (2) 移植マウス乳癌における腫瘍細胞のリンパ管浸潤の機序について
- (3) 転移したリンパ節の変化について明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) *in vitro* マウス乳癌細胞株 BJMC338 (低転移性) と BJMC3879 (高転移性) における発現の差異を検討する

- ① VEGF-C の発現について Western blot, 免疫組織化学染色

- ② CD44 の発現について RT-PCR, Western blot, 免疫組織化学染色

- ③ ヒアルロン酸を添加し、反応性を検討: ファロイジン染色でアクチン線維と擬足形成を確認

- ④ FITC-ヒアルロン酸との結合能を検討: フローサイトメトリーによる定量化

- ⑤ LYVE-1 への接着能解析: ボイデンチャンバーを用いて接着細胞の定量化

- ⑥ 電顕による微細構造観察

- (2) *in vivo* (1) の2種類の細胞を雌性 BALB/c マウス鼠径部皮下に移植し、0 ~ 10 週まで2週ごとの経時的に腫瘍・リンパ節を摘出、以下の検討を行う。

- ① リンパ管内皮前駆細胞の存在を確認する: CD133, CD34, VEGFR3 の免疫染色

- ② リンパ管の密度の変化: LYVE-1 の免疫染色で陽性の脈管をカウントする

- ③ VEGF-C, CD44, ヒアルロン酸の免疫染色

- ④ 電顕によるリンパ管の微細構造観察

4. 研究成果

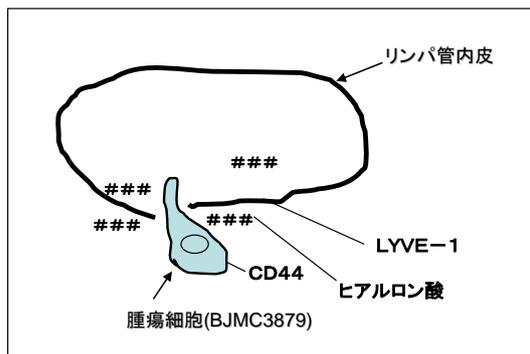
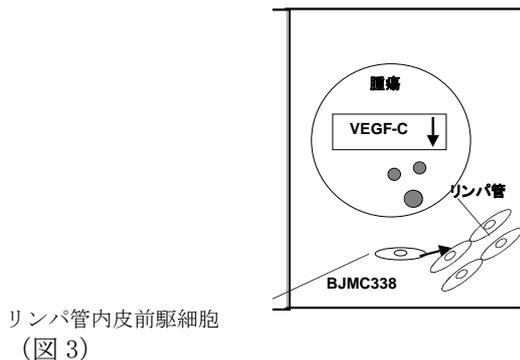
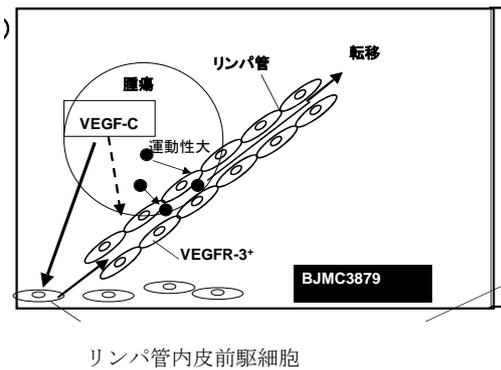
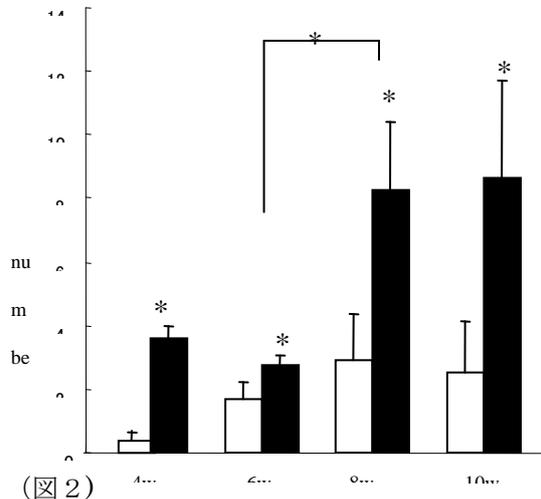
- (1) 腫瘍においてリンパ管内皮前駆細胞からリンパ管が再生され、BJMC3879 腫瘍で有意に多いことが確認された (図 1)。

- (2) 高転移性の乳癌細胞は VEGF-C (リンパ管内皮増殖因子) を分泌しリンパ管が多数形成されることが転移の要因となっている (図 2, 3)。

- (3) 高転移性の乳癌細胞はヒアルロン酸レセプター (CD44) を発現しているため、運動性が増し、腫瘍組織からヒアルロン酸がヒアルロン酸レセプター (LYVE-1) を発現しているリンパ管に吸収されるに伴い、リンパ管に浸潤する (図 3)。

- (4) 転移したリンパ節においてもリンパ管が盛んに形成されていた。
- (5) リンパ節転移について研究できる乳癌モデルマウスが確立できた。

(図1) LYVE-1 陽性の脈管
白: BJMC338 腫瘍 黒: BJMC3879 腫瘍



5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計6件)

① Yuko Ito, Masa-Aki Shibata, Junji Morimoto, Yoshinori Otsuki: Cell invasion into lymphatics is mediated by hyaluronic acid in CD44-expressing mouse mammary carcinoma

第67回日本癌学会総会 2008.10.28
名古屋国際会議場

②伊藤裕子、柴田雅朗、大槻勝紀 CD44 陽性乳癌細胞のリンパ管浸潤について 第49回日本組織細胞化学会総会 2008.10.6 長崎大学キャンパス

③伊藤裕子、柴田雅朗、大槻勝紀 マウス移植乳癌におけるリンパ行性転移について 第113回日本解剖学会総会 2008.3.21 大分大学キャンパス

④ Yuko Ito¹, Masa-Aki Shibata¹, Junji Morimoto², Yoshinori Otsuki: Vascularization of lymphatic vessels and VEGF-C in mouse metastatic mammary carcinoma 第66回日本癌学会総会 2007.10.3 パシフィコ横浜

⑤伊藤裕子、柴田雅朗、大槻勝紀 マウス移植乳癌におけるリンパ管の再生とリンパ行性転移について 第48回日本組織細胞化学会総会 2007.9.28 山梨県民会館

⑥伊藤裕子、柴田雅朗、大槻勝紀 マウス移植乳癌におけるリンパ管の再生とリンパ節への転移について 第31回日本リンパ学会総会 東北大学良陵会館 2007.6.9

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 裕子 (Ito Yuko)
大阪医科大学・医学部・講師
研究者番号：40148432

(2) 研究分担者

大槻 勝紀 (Otsuki Yoshinori)
大阪医科大学・医学部・教授
研究者番号：50140166

柴田 雅朗 (Shibata Masa-Aki)
大阪医科大学・医学部・准教授
研究者番号：10319543

森本 純司 (Morimoto Junji)
大阪医科大学・医学部・講師
研究者番号：90145889

