

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間： 2007～ 2008
 課題番号：19791319
 研究課題名（和文） リンパ管系良性・悪性腫瘍の発病進展に関与する脈管新生因子及び遺伝子変異
 研究課題名（英文） Vasculogenesis and genetic mutation in progress of lymphangioma and lymphangiosarcoma
 研究代表者
 森田 礼時 （ MORITA REIJI ）
 金沢医科大学・医学部・助教
 研究者番号：00350778

研究成果の概要：

リンパ管系腫瘍の病変部における血管新生因子群の発現を RT-PCR 法および免疫組織学的手法で解析すると同時に、リンパ管系腫瘍患者の血清中の血管新生因子群の発現を ELISA 法で測定することにより、リンパ管系腫瘍の発病と進展に関与する血管新生因子の解析を試みた。リンパ管腫の発病進展においては Angiopoietin2 が、リンパ管肉腫の発病進展においては Angiopoietin2 と VEGF が重要な役割を演じていることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,600,000	0	1,600,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	480,000	3,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・形成外科

キーワード：リンパ管腫, リンパ管肉腫, Angiopoietin2, VEGF, TIE2

1. 研究開始当初の背景

リンパ管は、人体の循環系において重要な役割を担っていると同時に、先天性リンパ管腫（リンパ管系良性腫瘍）、リンパ管肉腫（リンパ管系悪性腫瘍）、慢性リンパ浮腫、癌リンパ節転移など、様々な疾患の病態に大きく

関与している。

先天性リンパ管腫（リンパ管系良性腫瘍）のうち、特に頻度の高い海綿状リンパ管腫は、病巣が皮下組織から筋層にかけて広範囲に及ぶため、外科的完全切除は困難であり、現時点でも有効な治療は確立していない。

一方、リンパ管肉腫（リンパ管系悪性腫瘍）は、リンパ浮腫を母地として発生する極めて悪性度の高い脈管肉腫であり、患肢切断などの根治手術が施行された場合でも、その5年生存率は約15%とされている。

以上のように、現時点ではリンパ管系腫瘍に対する、完全な治療法は確立していない。

したがって、リンパ管系腫瘍に対しては、将来的には脈管新生因子制御法および遺伝子治療なども視野にいった新しい治療法の開発が不可欠と考えられる。そのためには、リンパ管系良性腫瘍およびリンパ管系悪性腫瘍における脈管新生因子の発現・作用機序の解明と、遺伝子レベルにおける異常解明が不可欠である。

しかし、リンパ管系腫瘍の病変部における脈管新生因子の発現に関しては定量的解析に基づく報告はなされておらず、発現の程度や作用機序についての詳細は不明である。また、リンパ管腫およびリンパ管肉腫を対象として遺伝子変異を解析した研究はなされていない。

我々は、血管系腫瘍（海綿状血管腫、莓状血管腫、血管肉腫）における、血管新生因子及び遺伝子変異について解析することにより、血管系腫瘍の発病と進展に Angiopoietin / Tie2 システム、特に Angiopoietin2 の発現と Tie2 遺伝子異常が中心的な役割を演じていることを明らかにした。

したがって本研究では血管系腫瘍での解析手技を応用して、リンパ管系腫瘍における脈管新生因子群の発現を、病変部で定量することにより、リンパ管系腫瘍

の発病と進展に關与する脈管新生因子を明らかにすることができると考えられる。

さらに、リンパ管系良性腫瘍と悪性腫瘍の比較により、リンパ管の良性増殖、悪性増殖に關与する因子を明らかにすることにより、最終的には、リンパ管系腫瘍以外の、リンパ系疾患である慢性リンパ浮腫や癌リンパ節転移などの病態解明および治療につながる可能性がある。

2. 研究の目的

リンパ管系良性腫瘍である海綿状血管腫は外科的切除が困難であること、リンパ管系悪性腫瘍であるリンパ管肉腫は、比較的発生頻度が低いことなどから、ともに、ヒト組織を用いた遺伝子レベルの研究はほとんどなされておらず、生体における遺伝子変異を正確に反映した研究報告はない。また、リンパ管系腫瘍における脈管新生因子群の発現について、良性病変と悪性病変との比較から検討した研究報告はない。

そのため、本研究では生体から直接採取した病変（金沢医科大学形成外科において外科的治療が行なわれた海綿状リンパ管腫組織、リンパ管肉腫組織を用いて、リンパ管系良性腫瘍およびリンパ管系悪性腫瘍におけるリンパ管新生因子の発現を明らかにすると同時に、リンパ管系腫瘍の発病・進展に重要な役割を演ずる遺伝子異常を明らかにする。

すなわち、リンパ管系腫瘍の病変部における血管新生因子群の発現を RT-PCR 法および免疫組織学的手技で解析すると同時に、リン

パ管系腫瘍患者の血清中の血管新生因子群の発現を ELISA 法で測定することにより、リンパ管系腫瘍の発病と進展に關与する血管新生因子を明らかにする。

3. 研究の方法

【対象と方法】

リンパ管腫 7 例、リンパ管肉腫 3 例を対象とし、真皮血管組織を正常コントロールとした。

(1) DNA、RNA の抽出

・パラフィン切片または凍結切片からマイクロダイセクションにより病変組織と隣接する正常組織を分離し、フェノール/クロロホルム法により DNA を、AGPC 法により RNA を抽出し、cDNA を作成する。

(2) RT-PCR 法

・病変組織における脈管新生因子 (VEGF-C、VEGF-D、VEGFR-3、TIE2、Angiopoietin1、Angiopoietin2) の mRNA レベルにおける発現を定量化する。

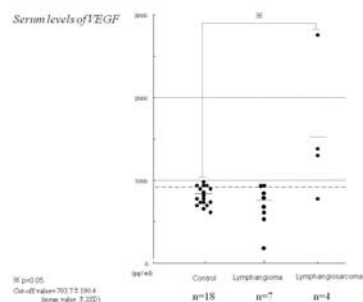
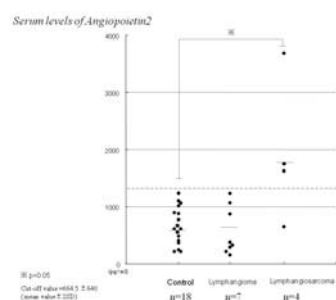
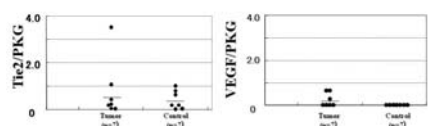
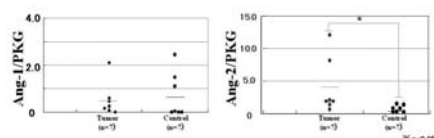
(3) 免疫組織化学的検討

・免疫組織化学染色により脈管新生因子 (VEGF-C、VEGF-D、VEGFR-3、TIE2、Angiopoietin1、Angiopoietin2) の蛋白レベルでの発現様式の検討を行なう。

(4) ELISA 法

・患者保存血清において、ELISA 法にて血清中の VEGF、TIE2、Angiopoietin1、Angiopoietin2 濃度を測定する。

4. 研究成果



正常組織と比較してリンパ管腫瘍では Angiopoietin2 の発現量が高かった。リンパ管腫及びリンパ管肉腫の比較では、リンパ管肉腫において VEGF の発現量が高く、また免

疫組織学的検討では、リンパ管系腫瘍において Angiopoietin2 の発現の増強が認められた。保存血清を用いた ELISA 法ではリンパ管肉腫において、Angiopoietin2 および VEGF の発現の増強が認められた。リンパ管腫においては Angiopoietin2 の発現の増強が認められた。

以上の結果より、脈管新生因子のうち、**Angiopoietin2** がリンパ管系腫瘍の形成に重要な役割を演じている可能性が示唆された。また、リンパ管系腫瘍の悪性化においては **VEGF** が重要な役割を演じている可能性が示唆された。

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)

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森田 礼時 (MORITA REIJI)

金沢医科大学・医学部・助教

研究者番号 : 00350778

様式 C-19 (記入例)

科学研究費補助金研究成果報告書