

平成 22 年 4 月 22 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20890231
 研究課題名（和文） 腫瘍血管の新生パターンは腫瘍の悪性度と相関するか？：消化器系腫瘍をモデルに
 研究課題名（英文） Do any vascular change reflect the neoplastic transformation in the intestinal tract during the adenoma-carcinoma sequence?
 研究代表者
 北原秀治（KITAHARA SYUJI）
 東京女子医科大学・医学部・助教
 研究者番号：40510235

研究成果の概要（和文）：

われわれは、APC^{Min/+}マウスを用いて、小腸上皮の悪性化に伴う血管やリンパ管の新生パターンがどのように変化するのかを解析した。小腸上皮が腫瘍化していく段階で良性腫瘍（腺腫）においては、新生血管は著しく形態的变化を認め、密度を増し、基底膜の不安定化が起こっていた。微細構造では、絨毛先端の血管の内腔表面に微絨毛様の突起が出現するなどの変化が認められた。腫瘍が悪性化するにつれて、新生血管は、さらに著しく異型性を伴い、リンパ管も大小不同であった。これらの結果より、上皮の悪性化に伴い、腫瘍血管の新生パターンにも段階的な変化が現れることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We sought to characterize the micro-vascular changes in the intestine of Apc^{Min/+} mice that provide a unique model for the adenomatous polyposis and subsequent carcinoma, namely the adenoma-carcinoma sequence. Remarkable structural changes in the microvasculature were observed in villi of benign tumors (adenomas). The vascular density increased and their basement membranes become irregular. As tumors became malignant, the irregularity of tumor vessels with size variation became more prominent, including abnormal associations of pericytes and basement membranes. We conclude that the changes in local vascular networks may reflect the neoplastic transforming sequence of the intestinal epithelia, therefore being useful signs for prognosis of the tumors.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	2,400,000	720,000	3,120,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：血管新生、腫瘍血管、消化器腫瘍、

1. 研究開始当初の背景

腫瘍は、その増殖のために、酸素や栄養分の供給が不可欠であり、様々な血管増殖因子群による複雑な分子経路を利用して血管新生を行っている (Folkman ら 1992)。その血管新生のメカニズムの解明は、抗血管療法などの臨床治療において非常に重要である。つい最近になって、腫瘍血管がこれまで信じられていた新生様式のみならず、その増殖のしかたに応じて、様々な新生パターンを示すことが報告されている (Dome ら 2007)。申請者はこのメカニズム解明の研究を行うにあたり大きく2つの疑問を掲げ、それに対する研究を行ってきた。その疑問とは、

生体内(血管新生の現場)で腫瘍血管(良性、悪性)はどのような機序で、どのような形態的变化を伴って新生するのか？

腫瘍血管自体にも良性と悪性の違いはあるのか？また、それが腫瘍の転移にも関わっているのか？

これらの疑問を解決する事により、最終的には悪性腫瘍における腫瘍血管の微細構造を、生存率と相関させ、血管を指標とした新たな腫瘍分類(良性、悪性)の確立を目指し、将来的な抗血管治療に役立てることを着想するに至った。

2. 研究の目的

本研究は消化器系腫瘍、とくに腺癌とその前癌状態とも言うべき腺腫又はポリープとの異同を、増殖の鍵を握る腫瘍血管の特徴を明らかにする事によって、抗腫瘍血管療法を

はじめとする治療への応用と腫瘍の転移のメカニズムとその制御に関する基礎的な理解に資する事が目的であった。

本研究において、腫瘍の悪性、良性を左右するのは何かを腫瘍血管の視点からアプローチする事によって、消化器系腫瘍を攻略するための新たな糸口を発見し、そして、新しい悪性腫瘍の指標を血管新生のパターン、微細構造から決定し、腫瘍血管を良性のまま変化させない抗血管治療薬の開発へ役立てるという事を目指した。

3. 研究の方法

動物は主に APC^{Min/+} マウスを使用した。この動物は生後約数週から腸に腺腫または腺癌を多発し、腫瘍の観察が非常に容易であり、早期であれば組織の丸ごと全載標本 (Whole mount) による三次元解析も可能であった。この動物にできる腫瘍はヒトと同じく、良性の腺腫から悪性の腺癌へと変化する場合もある。この腫瘍の変化のメカニズムについては報告があるが、血管についての形態変化については不明な点が多く、これらを検索することは臨床的にも非常に応用価値は高い。戦略的には血管新生部を種々のマーカーによる多重免疫染色で可視化し、レクチン灌流法と組み合わせた三次元イメージング法及び、透過型電子顕微鏡による微細構造での形態解析とウェスタンブロットなどの分子生物学的手法などを主な研究手段として解析を行った。また、比較用として、ヒトの大腸癌標本も使用した。

4. 研究成果

小腸上皮が腫瘍化していく段階で、絨毛部分の血管は、良性腫瘍（腺腫）においては、新生血管は著しく形態的变化を認め、密度を増し、基底膜の不安定化が起こっていた。微細構造では、絨毛先端の血管の内腔表面に微絨毛様の突起が出現するなどの変化が認められた。腫瘍が悪性化するにつれて、新生血管は密度をさらに増し、形態的变化が著しく異型性を伴った。特に走行が無秩序になり、基底膜は多層化し、リンパ管も大小不同であった（図）。CD31 などの血管特有のタンパクをウェスタンブロット法にて解析したところ、良性腫瘍（腺腫）の段階から、その発現量は増加していたが、悪性化した時点では、大きな変化を認められなかった。

これらの結果より、上皮の悪性化に伴い、腫瘍血管の新生パターンにも、段階的な変化が現れることが示唆された。特に、腫瘍血管は良性腫瘍の段階より、悪性に類似した形態変化を伴うことがあるため、この結果をふまえた上での、今後の新しい診断法、治療法の確立のために、さらに細かい解析を行っていききたい。

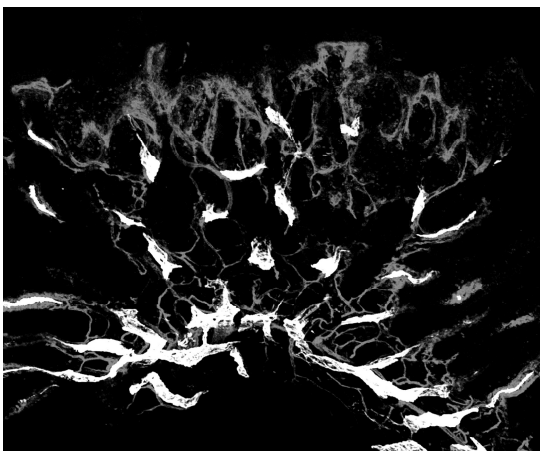


図 APC^{Min/+}マウスに高脂肪食を摂取させ、小腸に悪性腫瘍を発症させた。（暗い灰色がFITC 標識トマトレクチンで血管を、明るい色

がLYVE-1 でリンパ管を標識した）

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5件)

Kitahara Shuji, (他4名、1番目)

Alteration of angiogenic patterns on B16BL6 melanoma development promoted in Matrigel, *Med Mol Morphol.* 43: 1, 26-36, 2010, 査読有

Shimizu Kazuhiko, Morikawa Shunici, Kitahara Shuji, (他1名、3番目) Local lymphogenic migration pathway in normal mouse spleen, *Cell Tissue Res.* 338:423-432. 2009, 査読有

北原秀治, (他1名、1番目), APC^{Min/+}マウスを用いた腫瘍の悪性化に伴う新生血管、リンパ管の解析, 東京女子医科大学総合研究所紀要, 29巻, 9-10, 2009, 査読無

北原秀治, (他2名、1番目), 癌間質細胞の腫瘍血管新生への影響, 癌と化学療法, 35巻, 12号, 2008, 査読有

北原秀治, (他1名、1番目), B16メラノーマにおける腫瘍血管新生の特徴とその抑制機構の解析, W' Wave (日本癌病態治療研究会誌)

第14巻 第1号 72-73, 2008 査読無

〔学会発表〕(計8件)

北原秀治, 消化管腫瘍の悪性化に伴う微小循環系の解析, 第115回日本解剖学会総会, 2010.3.28, 岩手

北原秀治, APC^{Min/+}マウスを用いた腫瘍新生血管、リンパ管の解析, 第20回消化器癌発生学会, 2009.11.27, 広島

北原秀治, APC^{Min/+}マウスを用いた腫瘍血管新生の解析, 第41回日本臨床分子形態学会総会, 2009.9.5. 神戸

KITAHARA SHUJI, Characterization of abnormal angiogenesis in B16BL6 melanoma, EXPERIMENTAL BIOLOGY. 2009.4.19. 2009, New Orleans

北原秀治、APC^{Min/+}マウスを用いた腫瘍血管新生の解析、第114回日本解剖学会総会、2009.3.29、岡山

北原秀治、腫瘍血管の多様性、第40回日本臨床分子形態学会、2008.10.2、福岡

北原秀治、癌間質細胞の腫瘍血管への影響、第29回癌免疫外科学会、2008.6.20、東京

北原秀治、B16メラノーマにおける腫瘍血管新生の特徴とその抑制機構の解析、第17回日本癌病態治療研究、2008.6.26. 京都

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.twmu.ac.jp/Basic/ana-2/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北原 秀治 (KITAHARA SHUJI)

東京女子医科大学・医学部・助教

研究者番号：40510235