

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591890

研究課題名(和文)血管新生因子ShhによるAngiopoietin制御機構：病態モデルへの展開

研究課題名(英文)Regulation of the expression balance of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 by Shh and FGF-2: The role of Shh in angiogenesis.

研究代表者

藤井 孝明 (FUJII, TAKAAKI)

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40507331

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：Shhは血管新生作用を有することが報告されている。我々はFGF-2による血管新生作用を報告しており、ShhとFGF-2の関連について検討した。マウス虚血下肢ではShhは発現亢進し、Shhの阻害剤により下肢血流回復が阻害され、Shhが血管新生に必須の因子であることを確認した。またFGF-2によりShh発現はさらに亢進した。ShhはAng-1の発現を亢進したが、VEGFやPDGF-BBの発現には関与していなかった。FGF-2はShhやTNF-によるAng-1発現を抑制し、Ang-2発現を亢進させ、Ang-2優位な状態に寄与しており、血管の安定性に関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Sonic hedgehog (Shh) is an indirect angiogenic agent upregulating other angiogenic factors, including angiopoietin-1 (Ang-1). Recent studies revealed that angiogenesis induced by Shh is characterized by distinct large-diameter vessels with less branching. Ang-1 promotes blood vessel maturation, and angiopoietin-2 (Ang-2) counteracts Ang-1 activity and regulates vascular branching. Thus we hypothesized that Shh-induced angiogenesis is affected by expression of Ang-1 and Ang-2, and we investigated the regulatory system of angiopoietins by Shh in vitro. Shh enhanced Ang-1 expression, but did not enhance VEGF in fibroblasts. The upregulation of Ang-1 expression by Shh was significantly decreased by fibroblast growth factor-2 (FGF-2), a potent angiogenic factor. Furthermore, FGF-2 increased the expression of Ang-2 in endothelial cells. These findings suggest that Shh and FGF-2 regulate the expression balance of vascular morphogens Ang-1 and Ang-2 and are involved in angiogenesis.

研究分野：外科学一般 外科総論

科研費の分科・細目：外科学一般 外科総論

キーワード：Shh FGF-2 血管新生 VEGF

1. 研究開始当初の背景

Sonic hedgehog (Shh) は発生段階において重要な morphogen であり、特に肺、神経系、肢、骨などの形態に關与するタンパク質である。腫瘍に關しては、Shh の受容体分子である Patched1 の変異が基底細胞癌で認められ、乳癌、肺癌などでも重要な役割を果たすことが明らかになってきている。また、血管新生作用も報告されてきており、Angiopoietin-1 (Ang1) など、種々の血管新生因子を介し、血管新生に作用する(Polar et al. Nat Med 2001)。したがって、Shh シグナル経路の分子機構を詳細な解明していくことは、腫瘍や血管新生を標的とした新しい診断法、治療法の開発につながると考えられる。

興味深いことに Shh による新生血管は VEGF のそれと異なり、拡張した分岐の少ない血管であると報告されている。Shh は Ang-1 発現を亢進することが報告されているが、Ang1 は血管構造の安定化に寄与し、一方 Ang1 のアンタゴニストである Angiopoietin-2 (Ang2) は血管構造を不安定化し、branching に寄与している。そこで、Shh による特徴的な血管構造は Ang1、Ang2 に影響されていると仮説をたて本研究を計画した。

2. 研究の目的

Shh による特徴的な血管構造は Ang1、Ang2 に影響されており、Shh と FGF-2 は vascular morphogen である Ang1,2 の発現バランスを制御し、血管新生に關与していると考えられる。本研究は、この Shh/angiopoietin の制御機構をマウス下肢虚血モデルや、糖尿病モデルなど各種病態モデルで検討し、Shh シグナル経路を標的とした診断、治療方法への臨床応用に展開することを目的とする。

3. 研究の方法

申請者らはマウス重症虚血下肢モデルを用いた FGF-2 遺伝子導入による血管新生のメカニズムについて報告しており、マウス虚血下肢における Shh の発現を検討する。さらに機能解析としてマウス虚血下肢モデルに Hedgehog 阻害剤であるシクロパミンを投与し、血流回復効果の変化をレーザー Doppler にて測定し血管新生における Shh の機能を検討する。また Ang-1、Ang-2、VEGF、HGF など各種血管新生因子の発現を解析する。同様に、ストレプトゾトシン誘発糖尿病(STZ-DM)マウスの下肢における、Shh の発現、機能を検討する。また invitro において、Shh と FGF-2 による Ang-1、Ang-2、VEGF、PDGF-BB など各種血管新生因子の発現制御機構を解析する。

4. 研究成果

Shh の阻害剤により下肢血流回復が阻害

され、Shh が血管新生に必須の因子であることを確認した。また FGF-2 により Shh 発現はさらに亢進した。Shh は Ang-1 の発現を亢進したが、VEGF や PDGF-BB の発現には關与していなかった。FGF-2 は Shh や TNF- α による Ang-1 発現を抑制し、Ang-2 発現を亢進させ、Ang-2 優位な状態に寄与しており、血管の安定性に關与す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 16 件)

1. Elevated C-reactive protein is associated with the tumor depth of invasion but not with disease recurrence in stage II and III colorectal cancer
Fujii T, Yajima R, Tabe Y, Yamaguchi S, Tsutsumi S, Asao T, Kuwano H. Hepato-gastroenterology 2013;60:1343-1347. (査読有り)

2. Synchronous colorectal liver metastasis without node metastasis: Possibility of localized metastasis
Fujii T, Sutoh H, Morita H, Katoh T, Yajima R, Araki K, Sasaki S, Yamaguchi S, Tsutsumi S, Suzuki H, Asao T, Kuwano H. Hepatogastroenterology 2013;60:1348-1350. (査読有り)

3. Clinicopathological significance of decreased galectin-3 expression and the long-term prognosis in patients with breast cancer.
Yamaki S, Fujii T, Yajima R, Hirakata T, Yamaguchi S, Fujisawa T, Tsutsumi S, Asao T, Yanagita Y, Iijima M, Kuwano H. Surg Today 2013;43:901-905. (査読有り)

4. The association of VEGF-C expression with tumor lymphatic vessel density and lymph node metastasis in patients with gastric cancer and gastrointestinal stromal tumor.
Kigure W, Fujii T, Sutoh T, Morita H, Katoh T, Yajima R, Yamaguchi S, Tsutsumi S, Asao T, Kuwano H. Hepato-gastroenterology 2013;60:277-280. (査読有り)

5. Serum albumin is superior to prealbumin for predicting short-term recurrence in patients with operable

colorectal cancer. Fujii T, Sutoh T, Morita H, Katoh T, Yajima R, Tsutsumi S, Asao T, Kuwano H. *Nutr Cancer* 2012;64:1169-1173. (査読有り)

6. Could the eZ-SCOPE AN gamma camera replace intraoperative measurement of iPTH for PHPT?

Fujii T, Yajima R, Yamaguchi S, Tsutsumi S, Asao T, Kuwano H. *Int Surg* 2012;97:99-103. (査読有り)

7. Accurate assessment of breast volume by computed tomography using three-dimensional imaging device

Fujii T, Yamaguchi S, Yajima R, Tsutsumi S, Asao T, Kuwano H. *Am Surg* 2012;78:933-935. (査読有り)

8. Is it possible to predict malignancy in cases with focal thyroid incidentaloma identified by 18F-Fluorodeoxyglucose positron emission tomography?

Fujii T, Yajima R, Yamaguchi S, Tsutsumi S, Asao T, Kuwano H. *Am Surg* 2012;78:141-143. (査読有り)

9. Process of distant lymph node metastasis in colorectal carcinoma: Implication of extracapsular invasion of lymph node metastasis. Fujii T, Tabe Y, Yajima R, Yamaguchi S, Tsutsumi S, Asao T, Kuwano H. *BMC Cancer* 2011;11:216. (査読有り)

10. Utility of a hand-held, semiconductor (CdZnTe)-based gamma camera in navigation surgery for primary hyperparathyroidism. Fujii T, et al. *Am Surg* 2011;77:690-693. (査読有り)

11. Elevated C-reactive protein level is associated with the tumor depth of invasion in patients with operable colorectal carcinoma. Fujii T, Tabe Y, Yajima R, Yamaguchi S, Tsutsumi S, Asao T, Kuwano H. *Hepato-gastroenterology* 2011;58:1470-1473. (査読有り)

12. Transanal local excision in the

treatment of rectal carcinoid: result and implication. Fujii T, Tabe Y, Yajima R, Tsutsumi S, Asao T, Kuwano H. *Hepato-gastroenterology* 2011;58:1168-1170. (査読有り)

13. Relationship between C-reactive protein levels and wound infections in elective colorectal surgery: C-reactive protein as a predictor for incisional SSI. Fujii T, Tabe Y, Yajima R, Tsutsumi S, Asao T, Kuwano H. *Hepato-gastroenterology* 2011;58:752-755. (査読有り)

14. Effects of subcutaneous drain for the prevention of incisional SSI in high-risk patients undergoing colorectal surgery. Fujii T, Tabe Y, Yajima R, Yamaguchi S, Tsutsumi S, Asao T, Kuwano H. *Int J Colorectal Dis* 2011;26:1151-1155. (査読有り)

15. Extracapsular invasion as a risk factor for disease recurrence in colorectal cancer. Fujii T, Tabe Y, Yajima R, Yamaguchi S, Tsutsumi S, Asao T, Kuwano H. *World J Gastroenterol* 2011;17:2003-2006. (査読有り)

16. Accuracy of intraoperative macroscopic diagnosis of sentinel node metastases in breast cancer: Is accurate prediction possible? Fujii T, Yanagita Y, Kinoshita T, Fujisawa T, Hirakata T, Yamaki S, Matsumoto A, Uchida N, Iijima M, Kuwano H. *Tumori* 2011;97:62-65. (査読有り)

[学会発表](計8件)

1. Clinicopathological features of second primary colorectal cancer incidentally identified by 18F-FDG-PET.

Takaaki Fujii, Toshinaga Sutoh, Hiroki Morita, Reina Yajima, Soichi Tsutsumi, Takayuki Asao, Hiroyuki Kuwano. The 1st International Conference of Federation of Asian Clinical Oncology (FACO), September 26, 2013 International Conference Center, Xiamen, China

2. 原発性副甲状腺機能亢進症に対する navigation surgery : 小型ガンマカメラの有用性と術中迅速副甲状腺ホルモン測定省略の可能性. 藤井孝明, 矢島玲奈, 森田廣樹, 須藤利永, 堤莊一, 内田信之, 浅尾高行, 桑野博行
第 113 回日本外科学会定期学術集会 2013.4.11-13 福岡

3. 乳癌症例における血清アルブミン, プレアルブミンの検討. 藤井孝明, 矢島玲奈, 森田廣樹, 堤莊一, 浅尾高行, 桑野博行
第 21 回日本乳癌学会学術総会 2013.6.27-29 浜松

4. 下部消化管開腹手術に対する新しい incisional SSI 対策 : 一時的陰圧閉鎖の有用性とその工夫. 藤井孝明, 森田廣樹, 須藤利永, 矢島玲奈, 堤莊一, 浅尾高行, 桑野博行
第 68 回日本消化器外科学会総会 2013.7.17-19 宮崎

5. 癌進展におけるリンパ節外浸潤の意義. 藤井孝明, 須藤利永, 木暮和夏子, 森田廣樹, 矢島玲奈, 加藤寿英, 堤莊一, 浅尾高行, 桑野博行
第 21 回 日本癌病態治療研究会 2012.7.6-7.7 前橋

6. 乳癌のセンチネルリンパ節転移におけるリンパ節外浸潤の意義. 藤井孝明, 矢島玲奈, 柳田康弘, 藤澤知巳, 平方智子, 飯島美砂, 堤莊一, 浅尾高行, 桑野博行
第 20 回日本乳癌学会総会 2012.6.28-30

熊本

7. Is it possible to predict malignancy in cases with focal thyroid incidentaloma identified by 18F-Fluorodeoxyglucose positron emission tomography? Fujii T, Reina Y, Yamaguchi S, Tsutsumi S, Asao T, Kuwano H

21st World Congress of the International Association of Surgeons, Gastroenterologists and Oncologists 2011.11.12 Tokyo

8. Stage 大腸癌における 再発危険因子としてのリンパ節外浸潤(ECI)の意義. 藤井孝明, 山口悟, 堤莊一, 浅尾高行, 桑野博行

第 49 回 日本癌治療学会総会 2011.10.27-29 名古屋

〔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〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤井 孝明 (FUJII TAKAAKI)
群馬大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 40507331

(2) 研究分担者

高橋 篤 (TAKAHASHI ATSUSHI)
群馬大学・医学部・准教授
研究者番号: 00323337

堤 莊一 (TSUTSUMI SOICHI)
群馬大学・医学部附属病院・講師
研究者番号: 30323356

浅尾 高行 (ASAO TAKAYUKI)
群馬大学・大学院医学系研究科・特任教授
研究者番号: 40212469

大野 哲郎 (OHNO TETSURO)
群馬大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：60451712

(3)連携研究者