

## 消化管の多段階発癌における Vasohibin ファミリーの 発現に関する病理組織学的研究

### [1] 組織

代表者：江崎 太一

(東京女子医科大学)

対応者：佐藤 靖史

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

北原 秀治 (東京女子医科大学)

鈴木 康弘 (東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 65,620円

旅費 34,380円

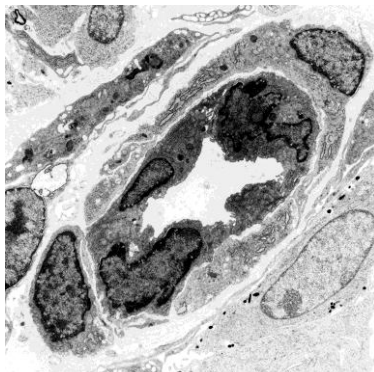
### [2] 研究経過

(本研究の目的)

腫瘍血管の研究は、近年ますますその重要性を増している。本共同研究では、血管新生因子 Vasohibin-2 (VASH2) ノックアウトマウスに、消化管に腫瘍を自然発症する *Apc<sup>Min/+</sup>* マウスを掛け合わせて、*Apc<sup>Min/+</sup>/Vash2<sup>-/-</sup>* マウスを作製し、*Vash2* 欠損下で自然発症する腫瘍の増殖および微小循環系（血管、リンパ管）の変化の過程を、その形態的、機能的に解析し、抗腫瘍血管療法をはじめとする治療への応用を目的とする。

(本研究の概要)

腫瘍は、増殖のために酸素や栄養分の供給が不可欠であり、その現場では血管の新生や退縮が盛んに行われている。そして、その腫瘍内に作られる腫瘍血管自体も、病理学的に正常血管とは異なる事も多数報告されている（図1：腫瘍内の血管）。



従って、腫瘍血管の形態や新生パターンを把握することは、腫瘍増殖を制御するために必須となる。

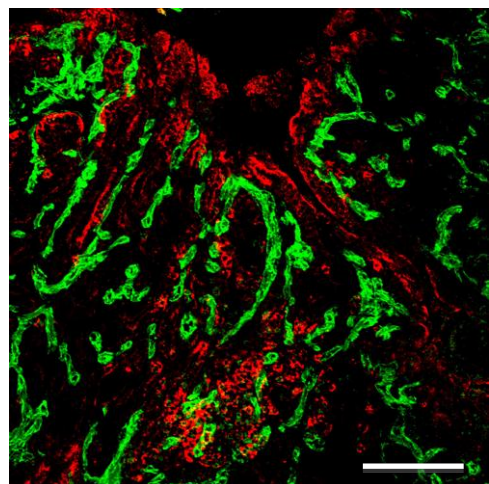
今回申請者は、前段階の研究として、*Apc<sup>Min/+</sup>* マウスに自然発症する腫瘍が VASH2 とどのように関わるのか？また、VASH2 の発現を抑制することにより、腫瘍内の血管の新生パターンがどのように変化するのかを検索した。

前段階として生後 12 週より小腸にポリープを多発する *Apc<sup>Min/+</sup>* マウスでは、小腸上皮が腫瘍化していく段階で、異型をしめす腫瘍細胞に VASH2 の発現が見られた。また、*Vash2<sup>-/-</sup>* マウスに腫瘍を移植したモデルにおいて、有意に腫瘍増殖の抑制と腫瘍血管新生の抑制が見られた。

図2 *Apc<sup>Min/+</sup>* マウスにおける VASH2 の発現

腫瘍血管周囲に VASH2 の発現が見られる。

緑：トマトレクチン、赤：VASH2、Bar：150 μm



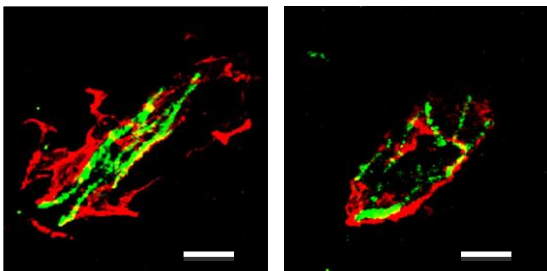
そこで、通常の *Apc<sup>Min/+</sup>* マウスに *Vash2<sup>-/-</sup>* マウスを掛け合わせ、ヘテロマウスを作製し、再び *Vash2<sup>-/-</sup>* マウスを掛け合わせて *Apc<sup>Min/+</sup>/Vash2<sup>-/-</sup>* マウスを作製した。

経時的に蛍光トマトレクチンを静注して血管内面を標識し、灌流固定後に腫瘍を摘出して凍結切片を作製した。さらに、各種マーカーによる蛍光免疫染色を重ねて、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。また、電

子顕微鏡による超微形態学的観察、さらにはRT-PCRなどの分子生物学的な検索も行った。

その腫瘍血管の微細構造をみると、*Apc<sup>Min/+</sup>*マウスの腫瘍血管は周皮細胞の被覆が不十分な未熟な形態であるのに比して、*Apc<sup>Min/+</sup>/Vash2<sup>-/-</sup>*マウスの腫瘍血管は周皮細胞で被覆された成熟化した血管の形態であった。

図3 *Apc<sup>Min/+</sup>/Vash2<sup>-/-</sup>*マウスに移植した腫瘍内の血管周皮細胞が被覆した成熟化した腫瘍血管が確認できる。左：*Apc<sup>Min/+</sup>*マウスの未熟な腫瘍血管、右：*Apc<sup>Min/+</sup>/Vash2<sup>-/-</sup>*マウスの成熟化した腫瘍血管、緑：CD31、赤： $\alpha$ -SMA、Bar：25  $\mu$ m



さらに、*Apc<sup>Min/+</sup>/Vash2<sup>-/-</sup>*マウスに発症する腫瘍を観察してみると、小腸における腫瘍の発症率に有意な低下がみられた。

#### (研究活動状況)

平成24年9月6日に東北大加齢研に出張し、鈴木助教との共同研究や、教室でのセミナー、今後の研究の進め方について打ち合わせを行った。

平成25年3月2～3日：第8回Vasohibin研究会（宮城県蔵王）にて「Vasohibin-2の抑制が消化管における自然発症腫瘍に影響を及ぼすか？」という演題で、研究成果の口頭発表を行った。また、発表後、今後の研究の打ち合わせを行い、来年以降も継続して、共同研究していくことを確認した。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

第一に、腫瘍細胞からVASH2が発現していることが確認できた。第二に、内因性のVASH2の抑制が、移植腫瘍の増殖や、血管新生を抑えることが確認できた。さらには、VASH2の抑制が腫瘍血管を正常化にさせることもわかった。第三に、*Apc<sup>Min/+</sup>/Vash2<sup>-/-</sup>*マウスに発症する自然発症の消化管腫瘍において、とくに小腸では腫瘍の発症が抑えられていることが確認できた。これらの結果を総括すると、今後、VASH2

を制御することは、血管新生のみならず、腫瘍増殖の抑制ができるのではないかと示唆された。

今後は血管新生のみならず、腫瘍細胞との相互作用や、腫瘍における微小環境との関係など、詳しい分子メカニズムの解明が必要なことも示唆された。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、学外研究者との交流により飛躍的に活性化し、VASH2の意義を深く追究する共同研究に発展した。また、本共同研究で明らかになった腫瘍血管の形態学的・機能的解析は、他の分野でも応用が出来き、抗癌剤や分子標的治療薬の開発だけでなく、再生医療における血管再生などの新しい研究にも応用可能であることが示唆され、今後の発展が期待される。

#### [4] 成果資料

当研究成果は、現在国際誌に投稿中である。

また、平成25年度の日本血管生物医学学会においてその成果を発表する予定である。