

リンパ管新生とリンパ行性癌転移機構

久保 肇

要 旨：リンパ節転移は癌の予後の決定因子である。癌組織内において，癌細胞などから分泌されるVEGF-Cによってリンパ管新生が誘導され，リンパ節転移が促進されるという新しい概念が提唱された。この過程を抑制することで，リンパ節転移を予防することもわかった。リンパ管新生と癌リンパ節転移に関する知見を紹介する。(J Jpn Coll Angiol, 2008, 48: 131-135)

Key words: lymphangiogenesis, VEGF-C, VEGFR-3, podoplanin, lymph node

はじめに

癌の予後を決める重要な因子は，リンパ節転移と遠隔転移である。癌治療の一層の向上を目指すためには，転移研究は不可欠である。歴史的に，現在の転移研究の礎は1970年代のFidlerらの仕事によって築かれたと考えてよい。Fidlerは癌の転移過程を多段階に区分し，それぞれの段階をマウスモデルによって実験する方法論を確立した。一方で，同時代にFolkmanが癌の発育と転移は血管新生に依存するという新しい概念を提唱した。これらの研究の結実として，血管新生因子VEGFに対する中和抗体bevasizumabが，転移性結腸癌に対する治療薬として使用されるようになった。これに対して，リンパ節転移過程の理解は十分ではない状況である。その理由の一つは，欧米ではリンパ節転移がsurrogate markerと考えられ，治療標的として研究対象にならないと評価されているからであろう。一方，日本では癌手術時にリンパ節郭清(摘出)が標準的に行われ，治療成績を上げている。リンパ節転移の研究を推進するのは，日本人研究者の責務であろう。そこで，Fidlerにならい，リンパ節転移過程を多段階に区分して考えてみると，Fig. 1のようになる。近年，癌組織ではリンパ管新生が誘導されることがわかった。癌組織内のリンパ管数が増えることで，癌細胞がリンパ管内に侵入する割合が増えることがマウス実験で証明されている。よって，リンパ管新生がFig. 1の最も初期の段

階の機構であることが理解できる。本稿では，リンパ管新生と癌リンパ節転移に関する知見を紹介する。

リンパ管新生の分子機構

リンパ管新生の代表的な分子機構はFig. 2のように血管新生因子VEGF-Cとチロシンナーゼ受容体VEGFR-3であり，それぞれ血管新生因子VEGFおよびVEGFR-2のファミリーである。VEGFがリンパ管新生を誘導するかどうか議論されてきたが，表皮特異的にVEGFを強発現するトランスジェニックマウスに，皮膚多段階発癌試験を行うと，発生した癌組織内にリンパ管新生が誘導されることが示された¹⁾。リンパ管内皮細胞にVEGFR-2も発現することから，VEGFによるリンパ管新生もリンパ管内皮細胞への直接的作用であることが示唆される。近年そのほかに，PDGF-BB, FGF-2, Angiopoietin-1, HGF²⁻⁵⁾など，リンパ管新生作用を示す因子が多く報告されている。

リンパ管新生と癌リンパ節転移

筆者らは，癌細胞はVEGF-Cを分泌して，腫瘍リンパ管を誘導することで，リンパ節転移を促進するのではないかという新しい考えを提唱した(Fig. 3)。そして，ヒト乳癌細胞株MCF-7にVEGF-Cを強制発現し，ヌードマウスに同所性移植する実験において，癌組織内にリンパ管新生を誘導した結果，リンパ節転移を促進することを示した⁶⁾。また，膵臓のβ細胞特異的ブ

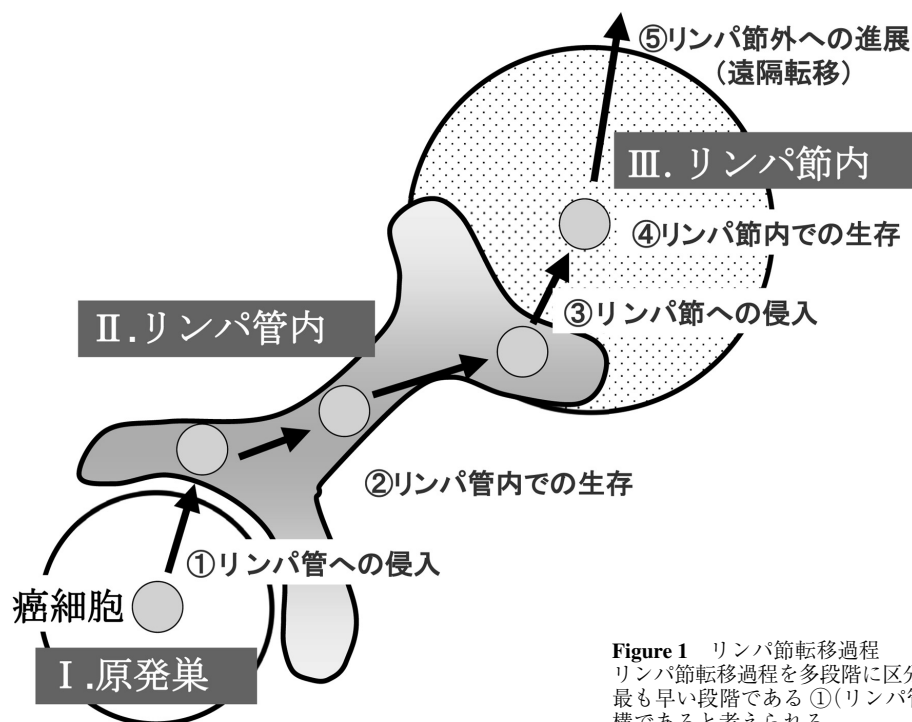


Figure 1 リンパ節転移過程
リンパ節転移過程を多段階に区分した。リンパ管新生は、最も早い段階である①(リンパ管への侵入)に関与する機構であると考えられる。

ロモーターRip1を用いたVEGF-Cのトランスジェニックマウスと、Rip1-Tag2トランスジェニックマウスの交配マウスでは、発生した脾臓腫瘍に豊富なリンパ管が誘導され、リンパ節転移が起こることが報告されている⁷⁾。以上のようなマウス実験によって、**Fig. 3**に示すようにリンパ管新生がリンパ節転移の早期の段階で重要な働きをしていることが証明されたことになる。

ヒト癌組織におけるリンパ管新生

癌組織内にリンパ管が存在するかどうか、歴史的に長く議論され、一般的には存在しないと考えられてきた。それを覆したのは、リンパ管内皮細胞マーカーの発見である。筆者らは、リンパ管マーカー分子に対する抗体を用いた免疫組織染色を行い、胃癌患者の癌組織内にリンパ管が存在することを証明した⁸⁾。さらに、胃癌組織内のリンパ管密度とリンパ節転移の有無に相関があることがわかった。最新の臨床病理では、静脈の同定のために膠原線維、筋線維、弾性線維を染め分けるEVG(Elastica van Gieson)染色とともに、糖タンパクpodoplaninに対する抗体であるD2-40抗体を用いて、IyおよびIvが評価できるようになっている。

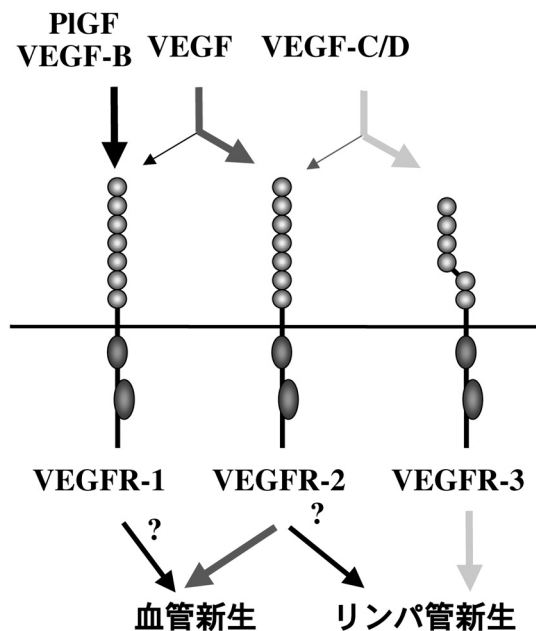


Figure 2 リンパ管新生の分子機構
リンパ管新生の代表的な分子機構。血管新生因子VEGFと受容体VEGFR-1, 2のファミリー。

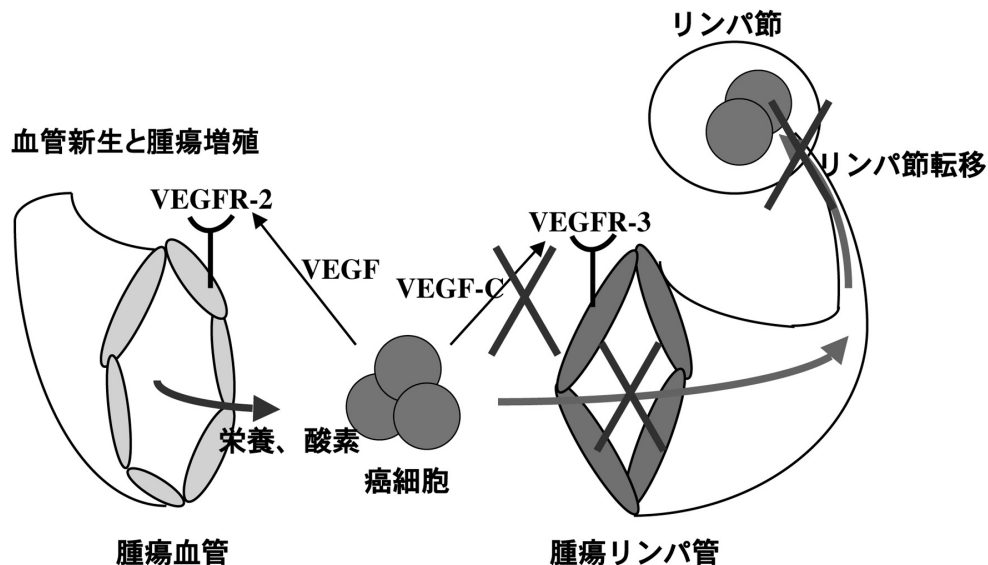


Figure 3 リンパ管新生と癌リンパ節転移(新しい考え方)

癌細胞が分泌するVEGFにより誘導される腫瘍血管は、酸素と栄養の供給装置となって、癌組織を増大させる。同時に癌細胞はVEGF-Cを分泌して、腫瘍リンパ管を誘導する。豊富なリンパ管は、癌細胞が侵入する機会を増やし、癌のリンパ節転移を促進するのではないかとというのが、筆者らとそのほかのグループが提唱する新しい考えである。

抗リンパ管新生療法の効果

以上のような病態から、VEGF-Cによる腫瘍リンパ管新生の過程を標的とする抗リンパ管新生療法がリンパ節転移を予防する戦略として期待される(**Fig. 3**)。上記のVEGF-Cを過剰発現させた乳癌細胞株MCF-7の移植実験において、VEGF-Cを捕捉する効果のあるsoluble VEGFR-3(VEGFR-3-Fc: VEGFR-3のVEGF-C結合部に免疫グロブリンのFc部を結合させたキメラタンパク質)を発現するアデノウイルスベクターの静脈注射を試みた。すると、腫瘍のリンパ管新生は抑制され、リンパ管への腫瘍の侵入像もみられなくなった。また、胃癌細胞株AZL5Gを胃壁に移植後すぐから抗VEGFR-3中和抗体を投与する実験を行った。結果、腫瘍の増殖や血管新生には影響なく、リンパ管新生とリンパ節転移を抑えることが示された⁸⁾。以上のように、soluble VEGFR-3あるいは抗VEGFR-3中和抗体などを用いて、VEGF-C/VEGFR-3のシグナルを抑える方法がリンパ節転移の治療として使える可能性が示唆された。そのほかに、VEGFR-3のキナーゼを特異的に阻害する小分子なども開発されている。

リンパ節におけるリンパ管新生

最近、平川らによって報告された「リンパ節におけるリンパ管新生」の重要性について概説する(**Fig. 4**)。平川らは、表皮特異的にVEGFあるいはVEGF-Cを過剰発現するトランスジェニックマウスへの皮膚多段階化学発癌モデルにおいて、リンパ節転移を促進することを示した¹⁾。興味深いことに、このモデルでは、癌が転移する以前から所属リンパ節にリンパ管新生が誘導されていることがわかった。皮膚癌原発巣から分泌されたVEGFあるいはVEGF-Cがリンパ管を介してリンパ節に作用して、リンパ管新生を誘導される可能性を示唆している。一方で、炎症モデルにおいてリンパ節のBリンパ球からVEGF-Cでなく、VEGFを分泌されることがによってリンパ節内リンパ管新生が誘導されることが最近報告された⁹⁾。上記のマウス実験の別のメカニズムを示唆するかもしれない。いずれにせよ、転移以前にリンパ節では転移を受け入れる準備がなされているという現象を意味しており、Pagetが提唱した“seed and soil”の新しい分子機構を提示している。

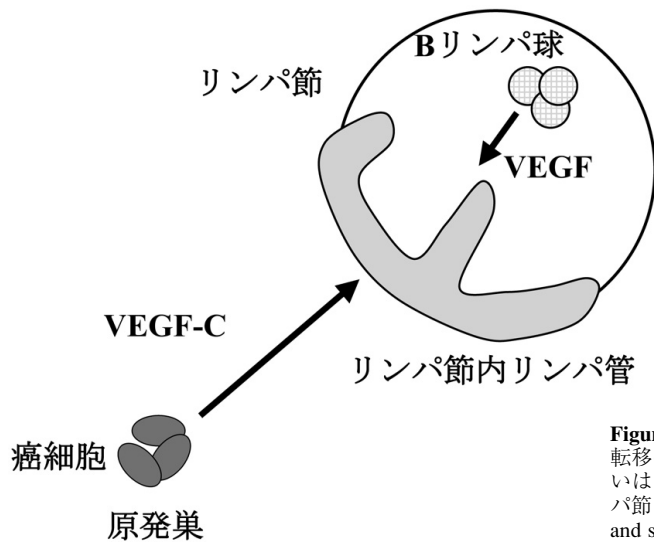


Figure 4 リンパ節におけるリンパ管新生
転移の起こる以前から、原発巣からのVEGF-Cの流入あるいはリンパ節内のBリンパ球からのVEGFによって、リンパ節にリンパ管新生が誘導されるという新しい考え(“seed and soil”の新しい分子機構)。

研究のヒント

この分野に早くからかかわってきた研究者の一人として、今後の研究のヒントとなる可能性のある知見について触れておきたい。ラット腸管膜への腫瘍細胞株移植によって、遠隔転移とリンパ節転移を評価した実験がある。おもしろいことに、腸管膜リンパ管を切断すると、リンパ節転移が減少する代わりに遠隔転移が増加することが報告されている。リンパ管新生阻害あるいはリンパ節郭清による遠隔転移の危険性を示唆する。また、「リンパ管は盲端になっているのか?」という質問をよく受ける。ウシの乳房の詳細な解剖学的観察の報告をFig. 5に示す。リンパ管内皮細胞同士は非常にルースな接着しか持たないと考えられているが、そのより末梢部は内皮細胞で覆われていない洞(prelymphatic sinus)とつながっていることが観察されている。さて、血管とリンパ管との関連、癌細胞のリンパ管への侵入機構にヒントとなるか?

おわりに

Fig. 1で示すように、リンパ管新生は、リンパ節転移過程の一部であるとも言えるが、制御可能な重要な段階であるとも考えられる。また、最近のリンパ節内リンパ管新生の概念から、Fig. 1の⑤の過程でも重要な役割を持つことが示唆されている。すなわち、リン

Prelymphatic sinus

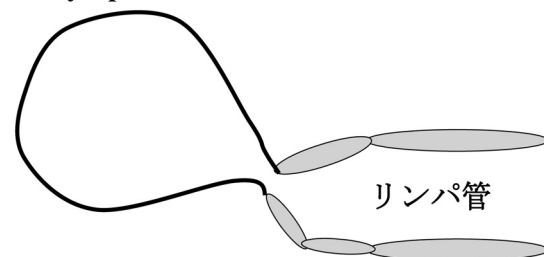


Figure 5 Prelymphatic sinus
リンパ管の起始部の解剖。ルースな内皮細胞接着部はprelymphatic sinusという内皮細胞に覆われない洞につながっているという。

パ節内にリンパ管が誘導されることで遠隔転移が促進されるという考えである。今後も、リンパ節転移研究において、リンパ管新生研究は重要な位置を占めると期待される。

文 献

- 1) Hirakawa S, Kodama S, Kunstfeld R et al: VEGF-A induces tumor and sentinel lymph node lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis. J Exp Med, 2005, **201**: 1089–1099.
- 2) Cao R, Björndahl MA, Religa P et al: PDGF-BB induces intratumoral lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis. Cancer Cell, 2004, **6**: 333–345.

- 3) Morisada T, Oike Y, Yamada Y et al: Angiopoietin-1 promotes LYVE-1-positive lymphatic vessel formation. *Blood*, 2005, **105**: 4649–4656.
- 4) Kubo H, Cao R, Bräkenhielm E et al: Blockade of vascular endothelial growth factor receptor-3 signaling inhibits fibroblast growth factor-2-induced lymphangiogenesis in mouse cornea. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, **99**: 8868–8873.
- 5) Saito Y, Nakagami H, Morishita R et al: Transfection of human hepatocyte growth factor gene ameliorates secondary lymphedema via promotion of lymphangiogenesis. *Circulation*, 2006, **114**: 1177–1184.
- 6) Karpanen T, Egeblad M, Karkkainen MJ et al: Vascular endothelial growth factor C promotes tumor lymphangiogenesis and intralymphatic tumor growth. *Cancer Res*, 2001, **61**: 1786–1790.
- 7) Mandriota SJ, Jussila L, Jeltsch M et al: Vascular endothelial growth factor-C-mediated lymphangiogenesis promotes tumour metastasis. *EMBO J*, 2001, **20**: 672–682.
- 8) Shimizu K, Kubo H, Yamaguchi K et al: Suppression of VEGFR-3 signaling inhibits lymph node metastasis in gastric cancer. *Cancer Sci*, 2004, **95**: 328–333.
- 9) Shimizu K, Kubo H, Yamaguchi K et al: Suppression of VEGFR-3 signaling inhibits lymph node metastasis in gastric cancer. *Cancer Sci*, 2004, **95**: 328–333.

Lymphangiogenesis in Lymph Node Metastasis

Hajime Kubo

Department of Surgery, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan

Key words: lymphangiogenesis, VEGF-C, VEGFR-3, podoplanin, lymph node

VEGF-C secreted by cancer cells induces lymphangiogenesis and promotes lymph node metastasis. Blockade of the process prevents lymph node metastasis. Here, the findings of lymphangiogenesis in lymphatic metastasis are introduced. (J Jpn Coll Angiol, 2008, **48**: 131–135)