

主論文の要旨

**Topical bFGF Improves Secondary Lymphedema  
through Lymphangiogenesis in a Rat Tail Model**

〔 bFGF 局所投与による二次性リンパ浮腫改善効果  
ラット尾部モデルを用いて 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 機能構築医学専攻  
運動・形態外科学講座 手の外科学分野

(指導：平田 仁 教授)

大西 哲朗

## 【緒言】

リンパ浮腫は蛋白を多く含むリンパ液が間質へ蓄積し線維化や易感染性等を引き起こす。手術治療や放射線治療等によるリンパ系の破壊によって起こる二次性リンパ浮腫は癌治療術後に高頻度に認められ、術後患者の生活に大きな影響を及ぼす合併症である。その治療法としては生涯にわたる弾性着衣の使用やマッサージ等による浮腫の軽減が主力であり、マイクロサージェリーの技術を利用した新たな手術法が報告されているが、広く一般的に行われている状況ではない。一方、リンパ脈管新生を促すサイトカインによるリンパ浮腫治療の可能性を示唆する報告が増えている。リンパ液の停滞が起きると **high mobility group box 1** や **heat shock protein 70** などの内因性危険シグナル発現が活性化される。内因性危険シグナルはマクロファージの **Toll-like receptor 2, 4, 9** を活性化し無菌性の炎症とリンパ脈管新生を惹起するといった炎症性リンパ脈管新生のメカニズムが徐々に明らかになりつつある。リンパ脈管新生を促す因子としては **vascular endothelial growth factor (VEGF)-C, VEGF- D, VEGF-A, angiopoietin-1, hepatocyte growth factor, adrenomedullin, basic fibroblast growth factor (bFGF)** 等が報告されている。今回、我々は **bFGF** 投与により、リンパ脈管新生が亢進し、リンパ浮腫が改善するかどうかをラットの尾部モデルを使用して調査した。

## 【対象及び方法】

8週齢オスラットの尻尾に二次性リンパ浮腫モデルを作成した。動物モデルを **bFGF** 局所連日投与群 (**bFGF** 群) と生理食塩水局所連日投与群 (コントロール群) の2群に分けて比較検討した。評価項目は以下のものを評価した。尻尾の容積を術後3日おきにアルキメデス法にて測定し術前容積との変化率を評価した。リンパ管機能は **indocyanine green** を尻尾先端に皮下投与し、その後の蛍光輝度変化を専用検出システムの **PDE System C9830 infrared camera (Hamamatsu Photonics K.K., Hamamatsu, Japan)** を用いて3日おきに測定し、輝度の減少率を評価した。手術部の **VEGFC** と **VEGFD** の mRNA レベルを **Real-time Polymerase Chain Reaction** 法を用いて術後7日、14日、28日に測定した。8週齢オスラットの非手術群をノーマル群として測定した。同部位の **VEGFC** 蛋白レベルを **Enzyme-linked Immunosorbent Assay** 法を用いて術後7日、14日、28日に測定した。組織学的評価として手術部遠位の浮腫部横断面を **HE** 染色し皮下組織面積と深部組織面積を術後7日、14日、28日に測定した。手術部遠位の横断面を **anti-lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1 (LYVE1)** で免疫染色しリンパ管密度を術後7日、14日、28日に評価した。

## 【結果】

尻尾の容積は術後経過を通してコントロール群の方が大きく、術後1日目と16日目

以外は bFGF 群が有意差をもって小さくなり、腫脹が少なく改善が早い結果となった。

(Fig. 1, Fig. 2)

尻尾の平均蛍光輝度は術後 1 週間のうちに急激に減少しその後ゆっくりと両群ともに減少を続けた。術後 4 日目、7 日目で有意に bFGF 群が小さい結果となった。(Fig. 3)

VEGFC の mRNA レベルは、ノーマル群と比べて、bFGF 群、コントロール群ともに術後 7 日目で増加が認められ、術後 14 日目では bFGF 群が有意に高い結果となった。

(Fig. 4)

VEGFD の mRNA レベルは観察期間を通して増加していたが、両群間で有意差を認めなかった。(Fig. 5)

VEGFC の蛋白量は術後 14 日目で bFGF 群の方が有意に高い結果となった。(Fig. 6)

皮下組織面積と深部組織面積を測定すると術後 14 日目で bFGF 群の方が有意に小さい結果となった。(Fig. 7, Fig. 8)

リンパ管密度は術後 14 日目で bFGF 群が有意に高い結果となった。(Fig. 9, Fig. 10)

### 【考察】

二次性リンパ浮腫の病因としてはリンパ管の減少が根底にあり、リンパ脈管新生は治療選択肢の 1 つとなりうる。

今回の研究で、*in vivo disease model* を用いて、bFGF 局所投与により、VEGFC の mRNA レベルと蛋白レベルの上昇が認められ、結果として二次性リンパ浮腫の軽減が確認された。

また bFGF 群で LYVE1 陽性のリンパ管数の増加を認め、皮下組織面積が有意に小さくなっており、bFGF の局所投与で VEGFC によるリンパ脈管新生が亢進し二次性リンパ浮腫が改善したと考えられた。

さらに ICG の蛍光輝度変化でも bFGF 群でリンパのドレナージ機能が亢進していることが示唆された。

bFGF は phosphatidylinositol 3-kinase/Akt の系を介して直接的にリンパ管内皮細胞に対する作用と VEGF-C、VEGF-D を介してリンパ管内皮細胞の VEGF-R3 を活性化させる作用がありリンパ脈管新生を促進すること、tissue plasminogen activator を活性化させリンパ管内皮細胞の運動性を促進することが報告されており、今回の研究でも VEGF-C を介したリンパ脈管新生による二次性リンパ浮腫の改善効果が認められた。

Limitation としてはラットの尻尾の二次性リンパ浮腫モデルは二次性リンパ浮腫研究に汎用されてはいるが、人間の二次性リンパ浮腫が緩徐に進行し、自然軽快することがないのに対し、このモデルは術後一ヶ月半程度でほぼ完全に浮腫が引いてしまうため、人間の二次性リンパ浮腫の病態を必ずしも的確に示せていない可能性がある。

またブロッカー投与の検討は行っていないため、詳細なメカニズムについては今後の課題である。

**【結語】**

bFGF 投与によりリンパ脈管新生が促進され、二次性リンパ浮腫の改善することがラットの浮腫モデルにて認められた。