

201128110A

別紙 1

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

日本におけるリンパ管腫患者（特に重症患者の長期経過）の
実態調査及び治療指針の作成に関する研究

平成 23 年度 総括研究報告書

研究代表者 藤野 明浩

平成 24 年（2012 年）3 月

目 次

I. 平成 23 年度 研究班構成員名簿	-----	1
II. 総括研究報告書 (含分担研究)	-----	3
日本におけるリンパ管腫患者 (特に重症患者の 長期経過) の実態調査及び治療指針の作成に 関する研究 藤野明浩・森川康英・上野滋・岩中督		
研究の要旨		
I、リンパ管腫の重症・難治性度診断基準の作成		
II、リンパ管腫内リンパ液動態の検討		
III、リンパ管腫の細胞分子生物学的な検討		
IV、リンパ管腫情報ステーションの開設		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	18
IV. 添付資料	-----	19

I, 平成 23 年度 研究班構成員名簿

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
主任研究者	藤野 明浩	独立行政法人 国立成育医療研究センター 臓器・運動器病態外科部 外科	医 員
研究分担者	森川 康英	慶應義塾大学医学部 小児外科学	講 師
	上野 滋	東海大学医学部 小児外科	教 授
	岩中 督	東京大学 医学系研究科 小児外科学	教 授
研究協力者	佐々木 了	KKR 札幌医療センター斗南病院 形成外科 血管腫・血管奇形センター	センター長
	梅澤 明弘	独立行政法人 国立成育医療研究センター 研究所 生殖・細胞医療研究部	部 長
	黒田 達夫	慶應義塾大学医学部 小児外科学	教 授
	森川 信行	東海大学医学部 小児外科	講 師
	田中 秀明	独立行政法人 国立成育医療研究センター 臓器・運動器病態外科部 外科	医 員
	高安 肇	北里大学医学部 外科	講 師
	武田 憲子	独立行政法人 国立成育医療研究センター 臓器・運動器病態外科部 外科	医 員
	矢作 尚久	独立行政法人 国立成育医療研究センター 臨床研究センター	臨床研究フェロー
	斉藤 真梨	独立行政法人 国立成育医療研究センター 臨床研究センター	臨床研究フェロー
事務局	藤野 明浩	独立行政法人 国立成育医療研究センター外科系専門診療部 外科 〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1 TEL 03-3416-0181 (7471) FAX 03-3416-2222 E-mail: fujino-a@ncchd.go.jp	

II, 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
平成 23 年度総括研究報告書

日本におけるリンパ管腫患者（特に重症患者の長期経過）の
実態調査及び治療指針の作成に関する研究

I、リンパ管腫の重症・難治性度診断基準の作成

II、リンパ管腫内リンパ液動態の検討

III、リンパ管腫の細胞分子生物学的な検討

IV、リンパ管腫情報ステーションの開設

研究代表者 藤野 明浩

(独立行政法人 国立成育医療研究センター 臓器・運動器病態外科部 外科 医員)

研究分担者 森川 康英

(慶應義塾大学医学部 小児外科 講師)

研究分担者 上野 滋

(東海大学医学部 小児外科 教授)

研究分担者 岩中 督

(東京大学医学系研究科 小児外科 教授)

研究の要旨

「リンパ管腫」は主に小児期に発生するリンパ管を発生母体とした原因不明の腫瘍性疾患である。当疾患は比較的稀であり、一般には十分な認知がされておらず、また医学的にもその発生原因、生物学的な特性の研究はもとより、罹患率、予後などの臨床統計学的な調査に関しても大規模な研究報告は国内外を通じて認められない。多くは治療にて改善するが、一方で現時点では有効な治療法のない重症・難治性症例が存在し当疾患における大きな問題となっている。

当研究では以下のⅠ～Ⅳの4つの項目につき検討が行われた。

Ⅰ、平成21年度に行われた全国のリンパ管腫患者の治療・予後・QOL等の実態を把握するための「リンパ管腫患者の全国実態調査のための予備調査」に基づいて、難治性度寄与因子を列挙し、実施した全国調査を統計処理した結果により「リンパ管腫の重症・難治性度診断基準」案が作成された。

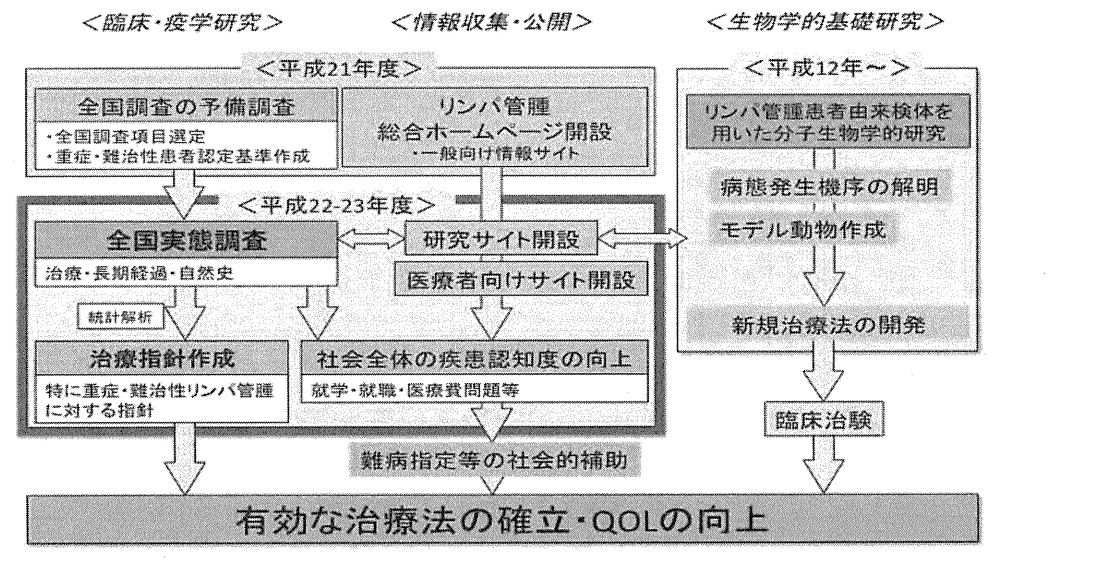
Ⅱ、研究代表者の施設にて臨床で明らかになっていなかったリンパ管腫病変内のリンパ液動態に関する検討が行われ、新たな知見が得られた。

Ⅲ、リンパ管腫由来リンパ管内皮細胞を用いて、リンパ管腫の性質に関する分子生物学的な基礎研究アプローチが行われた。

Ⅳ、リンパ管腫に関する情報を集積し提示し、一般・医療者の認知・理解の向上を目指すためのウェブサイト「リンパ管腫情報ステーション」を開設し、情報を提供するとともにWeb調査の窓口として利用した。今後も引き続き利用される予定である。

Ⅱは完結したが、今後、Ⅰは全国調査による妥当性の検討の上完成予定。Ⅲ、Ⅳについては常に発展を目指して基礎研究を続行、ウェブサイトの拡充を行っていく。

リンパ管腫研究計画概要



I、リンパ管腫の重症・難治性度診断基準の作成

A. 研究目的

リンパ管腫は主に小児期に発症する腫瘍性病変で、正常組織内に網目状に広がる大小様々なリンパ嚢胞からなる。多くは治療にて改善するが、一方で現時点では有効な治療法のない重症・難治性症例が存在する。巨大な患部の感染や腫瘍内出血による炎症や疼痛が頻発する症例、気道周辺病変による気道閉塞のため気管切開を要する症例等が後を絶たない。患者は、特異な容貌や呼吸・嚥下等の機能的ハンディを背負い成長し生きて行かなくてはならず、ある意味では悪性疾患より辛い生活となる。就学等の社会適応も困難な現状であるがこのような重症・難治性リンパ管腫患者の社会による認知は皆無である。

我が国において、リンパ管腫患者の実態を調査し、特に Quality of life の低いと思われる重症・難治性リンパ管腫に関する情報を収集・検討し、医学的（分類・治療等）、社会的（認知・医療費補助等）な対応を改善することは急務であると考えられる。

当研究の大きな目的は、全国のリンパ管腫患者、特に現在有効な治療法が確立されていない重症・難治性患者数やその治療・予後・QOL 等の実態把握と最適な治療指針の作成であった。

当疾患は比較的稀であり、その発生原因、生物学的な特性の研究はもとより、罹患率、予後などの臨床統計学的な調査なども大規模な研究報告は国内外を通

じて認められない。当研究の全国調査の結果、患者 QOL の実態は明らかとなり、社会的な対応策の必要性の程度が認知されると予想された。

当疾患は重症・難治性症例と軽症例の臨床経過の差が大きく、全て同じ難治性疾患として扱うことは妥当ではない。即ち、大多数において比較的良好な治療効果が得られるため、疾患のイメージの中で重症・難治性患者の存在は陰に隠れていたといえる。疾患の認識においてはこれらを別に考える必要があるが、当疾患の重症・難治性度を診断する基準は存在せず、それらを分けて論じるためには、重症・難治性患者を正確に診断する境界線が必要であり、その作成が研究の発展のために必須であると考えられた。

上記を踏まえて、本研究では「リンパ管腫の重症・難治性度診断基準」を作成することを目的とした。

B. 研究方法

【倫理審査】研究計画は国立成育医療研究センターにおける倫理委員会にて承認の後、日本小児外科学会学術先進医療委員会において実施が承認された。

【対象】調査研究の対象は過去 10 年間に日本全国の小児外科施設（認定施設 133）を受診した「リンパ管腫」患者（一部の施設で予備調査を行いその際は過去 20 年間の各施設受診患者とした）で、日本小児外科学会を通して協力を依頼し、各施設の担当医が症例登録をおこなった。登録は連結可能匿名化して行われた。リンパ管腫を対象としたが、境界不明瞭な症候群やリンパ管腫様病変を含

む疾患も除外しなかった。

【方法】全国調査に先駆けて平成 21 年度に予備調査を行い、問題点を絞り効率よく全国調査を行うための資料を集めた。

予備調査は 14 の全国の小児外科各施設へ依頼し、各施設にて診療録調査を行い連結可能匿名化の上登録した。調査項目は疾患発生部位、行われた治療、結果などの一般的項目から、特に重症・難治性と定める頸部・腋窩・縦隔リンパ管腫については、気管切開の有無・胃瘻造設の有無・食事可否・就学状況等の詳細な調査検討が行われた。

予備調査の結果、難治性の根拠となる病態、検査結果、症状、治療経過などが列挙されたため、これを元に診断基準作成のためのアンケート調査項目を設定した。また難治性の診断は担当する医師の判断に委ねた。これは全国の診療を担当する医師の考えを可能な限り反映させた結果（診断基準ライン）を導くためである。

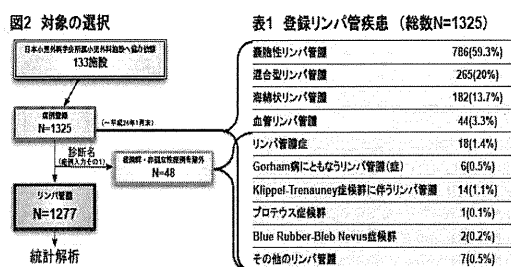
<登録ページ及び調査項目>

入力された、難治性診断と臨床所見等の各項目との関係のオッズ比 (95%信頼区間) を算出し、特に難治性との相関が高い項目を抽出し、各項目の難治性度因子としての寄与度を点数化し、難治性度を合計点数にて示した。

C. 研究結果

平成 24 年 1 月末の段階で登録症例は 1,325 症例であった。そのうち、嚢胞性、混合性、海綿状、血管リンパ管腫を今回の解析対象とし、その他のリンパ管腫症、Gorham-Stout 症候群など 48 例は対象から外した。結果的にこの段階の解析には合計 1,277 症例を用いた。その後も症例登録は続いている。(下図)

<症例登録数>



リンパ管腫の各サブタイプと難治性の関連については、過去の報告と同様に、嚢胞性において難治性は 10%未満であり、海綿状、血管リンパ管腫では約半数弱という結果であった。混合型では、嚢胞性と海綿状の両性質を持つものの、やはり海綿状成分の難治性が影響すると考えられ、約 40%が難治性を示していた。

<リンパ管腫サブタイプと難治性>

	難治性でない	難治性	N
嚢胞性リンパ管腫	722(91.9%)	64(8.1%)	786
混合型リンパ管腫	166(62.6%)	99(37.4%)	265
海綿状リンパ管腫	93(51.1%)	89(48.9%)	182
血管・リンパ管腫	24(54.6%)	20(45.5%)	44

★ 嚢胞性リンパ管腫では難治性は10%未満。
★ 海綿状、血管リンパ管腫にて難治性が多いことは過去の報告通りである。

<難治性をアウトカムとした多変量解析およびオッズ比の推定値に基づくスコアリング (SCORE) >

効果	難治性と診断されるオッズ比	P value	SCORE*	
治療期間	+1年	1.07(1.02-1.12)	0.009	1
診断	血管リンパ管腫	4.10(1.50-11.22)	0.006	14
	海綿状リンパ管腫	3.44(1.96-6.06)	<0.001	12
	混合型(嚢胞・海綿)	1.82(1.06-3.13)	0.029	6
	難治性リンパ管腫	1		0
病変数	4以上	2.99(1.34-6.67)	0.007	11
	3以下	1		0
最大病変サイズ	15cm以上	4.97(2.13-11.58)	<0.001	16
	10cm以上15cm未満	2.84(1.39-5.84)	0.004	10
	5cm以上10cm未満	2.37(1.45-3.89)	<0.001	9
	5cm未満	1		0
頭頸部深部病変	あり	6.10(2.90-12.81)	<0.001	18
	なし	1		0
治療回数	5回以上_不明	3.63(2.04-6.45)	<0.001	13
	5回未満	1		0
治療効果	増大	6.79(1.76-26.21)	0.005	19
	不変	5.53(3.13-9.77)	<0.001	17
	わずかに縮小	5.55(2.51-12.31)	<0.001	17
	消失縮小	1		0
切除可否	完全切除不能	3.39(2.13-5.38)	<0.001	12
	部分切除も不能	2.00(0.73-5.54)	0.180	7
	切除可能	1		0
腫瘍外観	非常に目立つ	3.44(1.73-6.83)	<0.001	12
	すぐに分かる	2.38(1.48-3.80)	<0.001	9
	よく見るとわからない	1		0

注: 全身病変数は「症例入力その2」のチェック部位数を示す(図1)
*SCOREはlog(オッズ比) $\times 10$ に基づいて算出

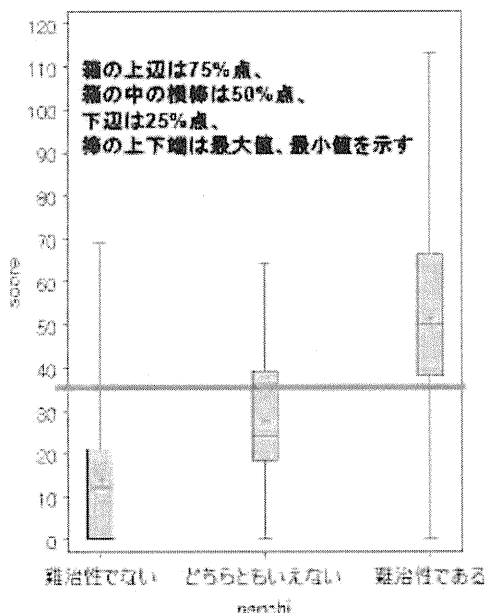
この結果から登録症例を難治性診断毎にグループ分けし、表を作成した。難治性について「どちらともいえない」症例は「難治性でない」グループに含めて解析した。点数による難治性診断を行う最適なラインを設定することが目的であったが、表からは 35 点を境界とするのが妥当と考えられた。

登録症例のスコアと難治性診断

SCORE	難治性でない	どちらともいえない	難治性である
5未満	217(96.44)	5(2.22)	3(1.33)
5-10未満	138(89.61)	8(5.19)	8(5.19)
10-15未満	80(94.12)	4(4.71)	1(1.18)
15-20未満	94(81.74)	12(10.43)	9(7.83)
20-25未満	81(76.42)	15(14.15)	10(9.43)
25-30未満	42(84.00)	3(6.00)	5(10.00)
30-35未満	47(69.12)	9(13.24)	12(17.65)
35-40未満	15(36.59)	9(21.95)	17(41.46)
40-45未満	12(25.00)	12(25.00)	24(50.00)
45-50未満	5(13.89)	1(2.78)	30(83.33)
50-55未満	10(28.57)	4(11.43)	21(60.00)
55-60未満	7(22.58)	2(6.45)	22(70.97)
60-65未満	1(5.26)	2(10.53)	16(84.21)
65-70未満	2(12.50)	0	14(87.50)
70以上	0	0	52(100.0)

35 点を境界とすると、下図のごとく、集団の大多数はそれぞれの担当医による難治性診断グループに含まれた。

難治性診断とスコアの分布



D. 考察

当研究では、難治性度を客観的に表す診断基準を設けることが目的であった。多くの臨床医が納得できる診断基準を作成する必要があったが、研究班の研究者によるバイアスや個々の症例の診療

を担当する医師による判断基準のバイアスを除くために、全国の小児外科医のそれぞれの難治性度判断を基準に反映させ、平均をとる方法を考案した。

症例登録医は、個々の症例の症状や客観的データと医師の任意の判断基準による難治性度診断を登録した。

そして個々の因子がどの程度難治性度に寄与するかを判定するため、難治性をアウトカムとした多変量解析およびオッズ比の推定値に基づくスコアリング (SCORE) を行った。その結果、調査した項目のなかで、難治性度に影響を強く与える因子を抽出することに成功した。

設定した SCORE により各症例の難治性度を表した後、難治性と診断される境界線を選択した。臨床的な意義を考慮すると、感度・特異度とも高い必要があり、35 点を境界とすると感度・特異度のバランスが比較的良好と考えられた。

スコアを2分類した場合の感度と特異度

	難治性でない どちらともいえない	難治性である
35点未満	755	48
35点以上	82	196
	特異度=90.2%	感度=80.3%

その場合、感度が 80%、特異度が 90% となるが、感度はさらに上げる必要があると考える。臨床経過が思わしくなく難治性であると考えるのが妥当であるのに、新たな診断基準では難治性でない、という診断がなされてしまうことが生じる可能性を可及的に除くべきであるからである。一方将来難治性リンパ管腫が難病として認められ、何らかの公的助成の受給が可能だった場合には、診断基準により拾われてしまう、経過の良い症例を難治性とすることは好ましくない。

別紙 3

元より特別な状態による例外症例を排除してしまう限界があるため、統計的処理のみで完全で間違いのない診断基準を設定するのは不可能である。今後はさらに症例を重ねて N 数で誤差を少なくすることと、False negative 症例を 1 例ずつ調べ、何が原因で難治性診断から漏れたか、もしくは何が特に難治性度を引き上げる要素であったのかなど、今回スコアリングに含まれない項目を含めて再度検討し、診断基準を改良する必要がある。

E. 結論

「リンパ管腫の重症・難治性度」診断基準案が作成された。統計的処理により、可能な限り多くの臨床医の意見を取り入れることとなった。

統計的に重症・難治性と診断される要素となる項目が列挙され、難治性度を点数化することが可能となった。さらに細かく個々の症例を検討することにより確かな診断基準へと改良することができると考えられる。

また通常難治性の診断に至るにはある程度の臨床経過を経る必要があるが、初診時の重症度が難治性と関わるポイントが明らかになれば、初診時に既に予測された難治性診断を行うことができるようになる。これが可能であるかは今後の検討を要するが、可能であればこの関係を統計的に解析することを加えて、最終的な診断基準を公表する予定である。

II、リンパ管腫内リンパ液動態の検討

A. 研究目的

一般的にリンパ管腫は病態的にはリンパ管奇形 (lymphatic malformation) の一種として捉えられているが、その発生原因については、原始リンパ嚢が静脈系から発生し遠心性にリンパ管を形成する過程で一部に異常な逸脱が生じ、独立したリンパ系として発育したものであるとする異常萌芽説やリンパ系が間葉系から発生した後融合して嚢を形成する際に融合不全を生じ独立して発育するという癒合不全説等があるものの証明されていない。したがって正常なリンパ管ネットワークとの関連におけるリンパ管腫の位置付けは不明である。またリンパ管腫内に含まれる組織液・リンパ液の動態については、いくつかのシンチグラフィを用いた症例の検討があるものの、検査条件は一定しておらず、一般的な傾向は捉えられていない。

本研究は個々の症例のリンパ管腫内のリンパ液動態を把握すると同時に一般的な傾向を導き出すことを目的として行われた。一般臨床では、リンパ管腫の診断目的や範囲や内部構造を把握する目的で画像検査が行われるが、内部のリンパ液動態の検査は施行されない。しかし、リンパ液動態は、硬化療法目的で嚢胞内に投与する薬剤の動態に大きく影響を及ぼし、また病勢を表すような有益な情報となる可能性があると考えられる。治療を控えたリンパ管腫病変内リンパ液を追跡するため、我々は 2009 年 5 月よりプールシンチ注® (人血清アル

ブミン・ジエチレントリアミン五酢酸テクネチウム(^{99m}Tc)) (日本メジフィジックス) を用いて、リンパ管腫患者にシンチグラフィ検査を施行しており、その集計結果を報告する。

B. 研究方法

【倫理審査】本研究 (検査実施) 計画は厚生労働省の「臨床研究における倫理指針」に則っており、国立成育医療センター倫理審査委員会により承認された (受付番号 345、2009 年 4 月 6 日承認)。

【対象】は画像検査 (超音波検査、CT、MRI のいずれか) にてリンパ管腫 (嚢胞型、海綿状型、混在型を問わず) と診断され、病変が穿刺に危険を伴う体幹深部にはなく、外科的切除もしくは硬化療法が予定されている患者とした。

【方法】インフォームド・コンセントを得られた場合に、検査として単独、もしくは OK432 局注硬化療法と同時に行われた。事前に超音波検査にてトレーサー注入部位を選択決定した。選択基準としては嚢胞の中で最大のもの、病変中心部に近いものとし、リンパ管腫のタイプが海綿状で超音波ガイド下でも嚢胞内穿刺が困難な場合には病変全体の中心を注入部位とした。

皮膚穿刺部位には 40 分前に予めキシロカイン徐放テープを貼付。検査中に安静が保てないと予想された場合には、トリクロホスナトリウムシロップにより鎮静を確保した。RI 検査室で患者をガンマカメラ撮影装置の寝台に寝かせた状態で、超音波装置で部位を確認した。23 もしくは 25G 針にて穿刺予定部への穿刺を行い、嚢胞液の吸引を試み、嚢胞

への穿刺が可能な大きさでリンパ液の吸引が行われた場合には嚢胞内 (intra-cystic, I) 穿刺と判断。穿刺に十分な大きさの嚢胞がなく嚢胞内穿刺が不能であった場合には嚢胞外 (extra-cystic, E) 穿刺とし、続けて、OK432、 ^{99m}Tc 標識ヒト血清アルブミン (プールシンチ®注) 0.2-0.4 ml を注入した。注入後直ちに抜針し、注入部位をよく揉んだ後に撮影を開始した。

撮影は正面からと側面からの 2 方向から行った。トレーサーの初期動態を 60 分間連続撮影し、2-5 時間後に 1 回、17-24 時間後に 1 回の追加撮影を行った。リンパ管腫の範囲に合わせた ROI (Region of interest, 関心領域) を設定し、radioactivity (RA) を測定した。さらに ^{99m}Tc の半減期 (6.01 時間) 補正の上で放射線集積残存率 (percentage of residual radioactivity: PRRA) を算出した。

また、健常者もしくはリンパ管腫患者の健常部位に対して、リンパ管シンチグラフィにより通常のリンパ流検査を行った際の、トレーサー投与部位である四肢末梢などの皮下における PRRA も測定し、リンパ管腫に対する対照とした。

各群の PRRA は平均値±標準偏差にて表し、2 群間の平均値の差の検定には Student's t-test を用い、 $P < 0.05$ を有意差ありと判定した。

C. 研究結果

また研究代表者の施設にて行われているシンチグラフィを利用した「リンパ管腫におけるリンパ流の検討」については厚生労働省の「臨床研究における倫理

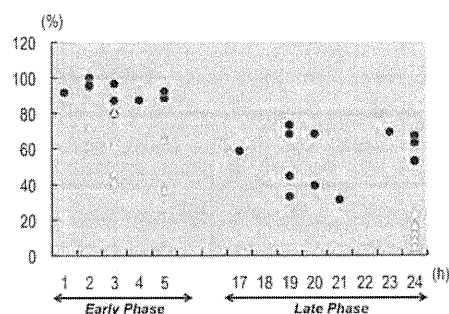
指針」に則っており、国立成育医療センター倫理委員会で承認されている (平成 21 年 4 月 6 日付、受付番号 345)。

2009 年 5 月から 2010 年 3 月までに、インフォームド・コンセントの得られた 9 名のリンパ管腫患者の計 12 の病変部位に対して、リンパ管腫シンチグラフィを施行した。

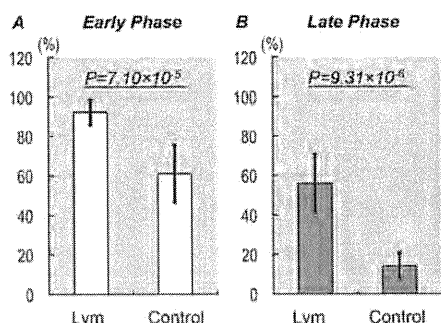
検査が施行された症例は、8 ヶ月から 17 歳の男女。トレーサーを注入したリンパ管腫の部位は頬部 4、下顎下 2、側胸部 2、鎖骨上、下顎部、肩甲骨上、腋窩各 1 例の合計 12 部位。そのうち嚢胞内へのトレーサー注入は 7 部位、嚢胞外は 5 部位であった。

〔1〕また対照は合計 6 部位であった。

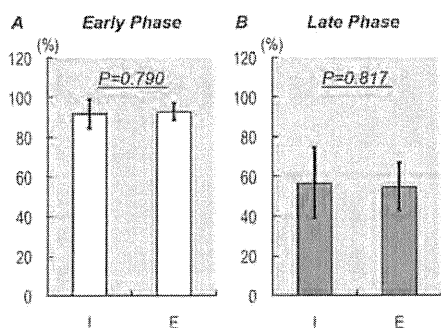
リンパ管腫症例、対照症例の注入部位 (病変内の広がりを含む) における PRRA を算出し、測定値全てを時間軸上にプロットすると、リンパ管腫例は注入後早期から高い残存率を示した (下図)。



PRRA 値を注入後早期 (1-5 時間) と後期 (17-24 時間) のグループに分けて有意差検定を行った。早期と後期における PRRA の有意差検定では、早期と後期ともにリンパ管腫群が対照群より有意に高値を示した (下図)。



続いて、トレーサーを嚢胞内に投与した場合 (I 群) と嚢胞内注入が困難で嚢胞外の間質組織内へ注入した場合 (E 群) の PRRA を比較検討した。早期と後期における PRRA の有意差検定では、早期と後期ともに I 群と E 群との間では有意差を認めなかった (下図)。



D. 考察

リンパ管腫はリンパ液を内包する大小のリンパ嚢胞の集簇を主体とする病変であるが、内部のリンパ液動態についてはシンチグラフィーを用いた少数の報告があるのみで前方視的な研究計画の上での十分な検討はなされていない。

過去の報告を踏まえて、我々はプールシンチ注®を用いてリンパ管腫の病変部にトレーサーを投与する方法を選択した。一般にアルブミン分子は、その分子量と荷電のため、末梢組織で血管から一度漏出した後は組織液内から逆に血管に戻ることなくほとんどがリンパ管

に取り込まれる。そのため当検査で投与された ^{99m}Tc 結合アルブミントレーサーも、リンパ管内に投与された場合はもとより結合組織内・細胞間隙に注入された場合もリンパ管内に取り込まれて局所から運搬されることが考えられ、トレーサー動態が組織液・リンパ液動態をそのまま反映することとなる。わずかながらアルブミンとの解離が生ずるため、アルブミンと異なる挙動を示し血中に移行する ^{99m}Tc が存在すると思われるが、極めて微量と推測される。

我々の検討したリンパ管腫症例は病変部位・性別・年齢・リンパ嚢胞径等は多様であり、また嚢胞内へのトレーサー投与が可能であった例と不能であった例とが含まれたが、病変の多様さにもかかわらず、RPRRA の示す如く、リンパ管腫内のリンパ液動態については各症例に共通した明らかな特徴を認めた。

一点は、正常皮下組織と比較して、リンパ液クリアランス率が低いことである。またもう一点は、通常のリンパ管シンチグラフィーで認められるような集合リンパ管を示す投与部位から中枢へ向かう線状集積を認めない、即ちリンパ管腫から出てくるはっきりとしたドレーナージリンパ路が認められないことである。これはリンパ管腫と中枢側の正常なリンパ管ネットワークとの間に交通が極めて乏しいことを示すと考えられる。

興味深い結果のひとつに、腫瘍を形成している「リンパ管腫」内に投与したトレーサーのクリアランスは嚢胞内外への注入で有意な差がないことが示された。リンパ管腫の嚢胞内皮細胞は、正常リンパ管内皮と同様にリンパ管内皮特

異的マーカー遺伝子を発現していることが免疫染色や FACS, RT-PCR, genechip 等で確認されている。また電子顕微鏡や走査電子顕微鏡による微細構造の検討ではリンパ管内皮の特徴を示し明らかな相違を認めない。これらの事実を考慮すると、リンパ管腫の嚢胞内皮細胞もある程度正常なリンパ管内皮細胞の機能を有していると推察される。リンパ管腫内皮細胞がリンパ管の最も重要な役割である間質の組織液を取り込む機能が保持されていれば、リンパ管腫内の間質液はリンパ管腫の嚢胞内へ集積すると考えられる。すなわちリンパ管腫の嚢胞周囲へ投与されたトレーサーもリンパ管腫内に取り込まれ、結果的には嚢胞内へ直接投与された場合と同様の動態を示し局所からのクリアランス率は低くなると考えられる。

以上、自験例と文献例を統合してリンパ管腫に関連するリンパ流について考察した。一般的にリンパ管腫内リンパ液のクリアランスは正常組織と比べて遅く、リンパ管腫からの正常なリンパ管ネットワークへの交通が乏しいことが示唆された。クリアランス率が低いことは硬化療法において病変局所に注入した薬剤がその場で効果的に働くこと、注入薬剤の毒性による副作用の抑制に好都合である¹³⁾。一方で、蛋白の豊富なリンパ液が環流不良のため停滞すること感染に対して不利であると考えられ、リンパ管腫の経過中に認められる局所の感染が生じやすい理由の一つであることが示唆される。またリンパ液排出路が認められないことは、リンパ管腫の病態発生を考える上で、リンパ管腫が中枢から末梢への連続的なリンパ管ネットワ

ーク形成の途中に生じたのではなく、むしろ独立した病変として発生したのではないかと考える根拠の一つとなる。

リンパ管拡張を示す疾患はリンパ管腫以外にもリンパ管拡張症やリンパ管腫症等の疾患があるが、その鑑別は一般的に難しい。今回の研究ではこれらの稀なリンパ管腫類縁疾患については検討していないが、リンパ管シンチグラフィによるリンパ管腫のリンパ液動態の検討はこれらの疾患を鑑別する上で有用である可能性もある²³⁾。

E. 結論

リンパ管腫内リンパ液動態の把握は今後のリンパ管腫治療改善の鍵となる可能性を持っており、今後も検討を重ねる。

Ⅲ、リンパ管腫の細胞分子生物学的な検討

対照としては市販のヒト皮膚由来リンパ管内皮細胞を用いた。

A. 研究目的

主任研究者らのグループにより「リンパ管腫に対する生物学的特性に基づいた新たな治療法の開発及び臨床応用」を目標として「病態発生機序の解明」「モデル動物の作成」のテーマでリンパ管腫の細胞生物学的な研究が進められている。これら基礎研究から得られた結果を将来的には当疫学調査研究結果と統合し、リンパ管腫に対する治療の改善・患者 QOL の改善に大きく貢献することが期待される。

B. 研究方法

研究代表者の施設において行われている細胞生物学的研究は国立成育医療センター倫理委員会により承認を受けている（平成 19 年 6 月 27 日付、受付番号 237）。

国立成育医療研究センター研究センター生殖・細胞医療研究部において研究は行われた。インフォームドコンセントを取得の上、リンパ管腫の外科的切除時に得られる余剰組織を利用した。

組織培養により増殖するリンパ管内皮を継代し、ほぼ 100%の純度を得た。分離したヒトリンパ管腫由来リンパ管内皮細胞 (Human Lymphangioma derived Lymphatic Endothelial Cell, HL-LEC) の特性を調べるため、遺伝子発現、内皮細胞の特性の確認、腫瘍性の検討などの生物学的基礎実験を行った。

C. 研究結果

市販のヒトリンパ管内皮細胞との比較の結果、リンパ管腫に明らかな異常が認められ、特に genechip を用いて疾患関連が疑われる遺伝子の検索を進められ、14 の候補遺伝子が列挙された(公表未)。

また HL-LEC はマウスへの移植にてリンパ管腫様組織を作ることが確認され、この細胞が病変を作る中心を担っていることが強く示唆された。

D. 考察

HL-LEC は遺伝子発現や移植時に正常リンパ管内皮細胞との明らかな違いを有することがわかった。HL-LEC がリンパ管腫様病変を作るのに十分である可能性が示唆されており、今後その違いを詳しく検討することで、病態発生の原因の解明や培養細胞の正常細胞との差をターゲットとした治療法開発への進展が期待される。

E. 結論

リンパ管腫細胞を用いた基礎研究はこの難治性疾患を克服する上で不可欠な研究である。その異常性が徐々に明らかになってきており、さらなる追求が患者への利益につながると考えられる。

IV、リンパ管腫情報ステーションの開設

A. 研究目的

現在我が国ではリンパ管腫に特化して最新の情報を収集して患者さんに病態の理解や標準検査・治療の案内をするページはなく、患者から情報があまりないという訴えを聞くことがある。病態についてゆっくりと知見が深まっているが、これを反映するホームページはみられない。この現状をふまえて、患者、医療者、また研究者に向けて、情報のハブとなるリンパ管腫の総合ホームページ（リンパ管腫情報ステーション）を設立・運営し、Web 登録等、情報収集及び一般・医療者向けの情報公開の場とすることを計画した。

B. 研究方法

「一般・患者向け」「医療者向け」「研究」の3つの大きな部門を設定する。

「一般・患者向け」ページは患者を含め一般の方に、疾患を正しく理解してもらうように平易な文章にて作成する。研究班で調査したリンパ管腫の診断・治療・予後などに関する最新情報を内容に盛り込む。現在リンパ管腫の患者会のようなもの、大きな患者交流サイトはないようであり、サイトより一般の参加を呼びかけ、情報交換ページを作成する。また医療者と患者側の疾患に関する認識の違いを明らかにするため、患者へのアンケート調査を行う。その際は研究の意図を十分説明し、個人情報扱う。

「医療者向け」ページでは一般向けと

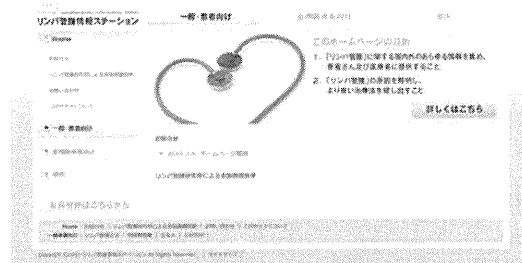
異なり、より専門的な最新の情報を提供する。そこには全国調査の結果を盛り込む。また当研究の全国 Web 調査の入り口を設ける。

「研究」ページでは、リンパ管腫に関する国内外の研究状況などを公開する。またリンパ管腫に関する各種調査研究の入り口とする。

C. 研究結果

平成 22 年 3 月に「リンパ管腫情報ステーション」を開設した

(<http://www.lymphangioma.net>)。



特に研究サイトにて web 登録を行うにあたり、セキュリティと今後の医療情報連携、研究の発展、国際的な利用を視野に入れてサイトを構築した。

「一般・患者向け」「研究」「医療者向け」の順にページが開設された。平成 23 年度に初の Web 調査「リンパ管腫の重症・難治性度診断基準作成のための全国 Web 調査」が行われ、サイトが多いに活用された。

D. 考察

平成 24 年 3 月末までに 6,470 回のページへのアクセスがあり、リンパ管腫の情報源として一定の役割を果たしていると考えられる。Web 調査では登録システムの安定化に時間を要したが、登録

別紙 3

者からの苦情は少なく、概ね良いシステムだったと考えられる。

ウェブサイトの利用について現在までに未実施の項目があり、今後は当サイトを存続して、それらの未実施プロジェクトを行い、当サイトをより意義のあるものにしていくことが必要である。

E. 結論

リンパ管腫に関する情報のハブとして「リンパ管腫情報ステーション」が開設され、目的の役割を果たしているが、さらなる発展が期待される。

F. 健康危険情報

当該研究の結果、現時点では特に健康危険情報は発生していない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① 藤野明浩 他；リンパ管腫内リンパ液動態の検討. リンパ学 34(1), 7-12, 2011.
- ② 藤野明浩；乳幼児健診において外から見てわかる疾患 リンパ管腫. 小児科診療 2012年2号

2. 学会発表

- ① Fujino A, et al. “KINETICS OF LYMPHATIC FLUID IN LYMPHANGIOMA STUDIED BY SCINTIGRAPHY.” 2010 Jun, 11th European Congress of Paediatric Surgery, (Bern, Switzerland)
- ② 藤野明浩、森川康英、上野滋、岩中督：重症・難治性リンパ管腫の克服を目指して－厚生労働省難治性疾患克服研究事業によるリンパ管腫研究－. 日本小児外科学会雑誌 2010, 46 (3): 663.
- ③ 藤野明浩、北村正幸、黒田達夫、北野良博、森川信行、田中秀明、高安肇、武藤充、松田諭、山根裕介、正木英一：シンチグラフィによるリンパ管腫内リンパ液動態の研究. 日本小児外科学会雑誌 2010, 46 (3): 661.
- ④ 藤野明浩、北村正幸、黒田達夫、北野良博、森川信行、田中秀明、高安肇、武藤充、松田諭、山根裕介、正木英一「リンパ管腫内リンパ液動態の研究」 2010年6月 第34回日本リンパ学会総会（東京）

- ⑤ 藤野明浩、他「リンパ管腫由来リンパ管内皮細胞の特性」2010年7月 第7回血管腫・血管奇形研究会（松山）
- ⑥ Fujino A, et al. “CHARACTERIZATION OF HUMAN LYMPHANGIOMA DERIVED LYMPHATIC ENDOTHELIAL CELLS.” 2010 Sept., 23th International Symposium of Pediatric Surgery Research (Tokyo, Japan)
- ⑦ Fujino A, et al. “Kinetics of lymphatic fluid in lymphangioma; the 2nd report.” 2010 Oct., 3rd World Congress of Pediatric Surgery (Delhi, India)
- ⑧ Fujino A, et al. “OK-432 DIRECTLY AFFECTS HUMAN LYMPHANGIOMA DERIVED LYMPHATIC ENDOTHELIAL CELL.” 2011 Jun, 12th European Congress of Paediatric Surgery, (Barcelona, Spain)
- ⑨ 藤野明浩、北村正幸、黒田達夫、金森豊、田中秀明、渡邊稔彦、武田憲子、山田和歌、高橋正貴、山田耕嗣、石濱秀雄、正木英一：シンチグラフィによるリンパ管腫内リンパ液動態の検討. 2011年7月、第8回血管腫・血管奇形研究会（名古屋）
- ⑩ 藤野明浩、他：ヒトリンパ管腫由来リンパ管内皮細胞. 2011年6月、第35回日本リンパ学会総会（東京）
- ⑪ 藤野明浩、他：難治性リンパ管腫の全国実態調査の予備調査結果＜難治性について＞－厚生労働省難治性疾患克服研究事業によるリンパ管腫研

別紙 3

- 究一. 2011年7月, 第48回日本小児外科学会学術集会(東京)
- ⑫ 藤野明浩、他: 難治性リンパ管腫の全国実態調査の予備調査結果<治療法について>. 2011年7月, 第48回日本小児外科学会学術集会(東京)
 - ⑬ 鈴東昌也、藤野明浩、他: リンパ管腫由来細胞に対するOK-432の直接的影響. 2011年7月, 第48回日本小児外科学会学術集会(東京)
 - ⑭ Fujino A, et al. "Lymphatic cyst formation potency of human lymphangioma derived lymphatic endothelial cell". 2010 Sept., 2011 International Surgical Week (Yokohama)
 - ⑮ 藤野明浩、松田諭、金森豊、田中秀明、渡邊稔彦、武田憲子、山田和歌、高橋正貴、山田耕嗣、石濱秀雄: 頸部嚢胞性リンパ管腫に対するフィブリン糊療法. 2011年10月, PSJM 2011 (Osaka)
 - ⑯ 藤野明浩: リンパ管腫 ~最新の知見と展望~. 2011年12月, 第109回東京小児外科研究会(東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得、実用新案登録は現時点では行っていない。

III, 研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
藤野明浩	リンパ管腫内リンパ液 動態の検討	リンパ学	34巻1号	7-12	2011年