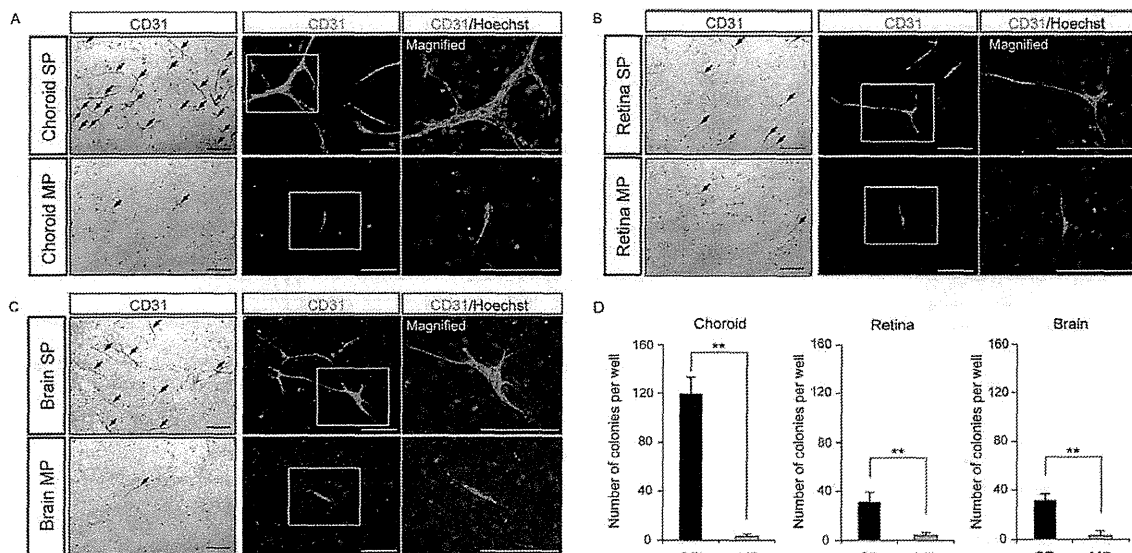


**FIGURE 1.** Identification of endothelial side population cells in the choroid, retina, and brain. (A) Flow cytometric analysis of choroidal ECs from wild-type mice. (B) Hoechst 33342 staining of CD31<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> ECs gated as shown in (A). Of the cells,  $2.8 \pm 0.14\%$  were in the SP gate. Note that verapamil selectively prevents Hoechst exclusion from EC-SP cells. (C) Flow cytometric analysis of retinal ECs from wild-type mice. (D) Of the cells,  $29.8 \pm 2.2\%$  were in the SP gate. Note that a typical EC-SP pattern is not observed. (E) Flow cytometric analysis of brain ECs from wild-type mice. (F) Of the cells,  $32.5 \pm 2.6\%$  were in the SP gate. Note the similar SP pattern as in the retina. Verapamil selectively prevents Hoechst exclusion from EC-SP cells.

distinct from the MP cells. On the other hand, the stereotypic SP staining pattern was not observed, and a higher proportion of SP cells were identified among CD31<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> ECs from retina and brain compared to the choroid. Indeed,  $29.8 \pm 2.2\%$  were in the SP gate in the retinal ECs (Fig. 1C) and  $32.5 \pm 2.6\%$  in the brain (Fig. 1E). These cells also possessed Hoechst 33342 dye efflux properties, which disappeared in the presence of verapamil (Figs. 1D, 1F).

### Proliferation and Colony-Forming Capacity of EC-SP Cells In Vitro

To evaluate the proliferative capacity of EC-SP cells in vitro, sorted EC-SP cells isolated from the choroid, retina, and brain were cultured on OP9 stromal cells, which support EC growth.<sup>15</sup> After 10 days, EC-SP cells isolated from the choroid generated a higher number of EC colonies compared to EC-MP cells (Fig. 2A). Each colony had a cord-like



**FIGURE 2.** Endothelial SP cells in the choroid have high EC colony-forming ability. (A) EC-SP cells (*upper*) and EC-MP cells (*lower*) in the choroid were cultured on OP9 feeder cells and stained with anti-CD31 mAb. Arrows on the *left* image indicate each colony. Images on the *right* show a higher magnification of the areas indicated by boxes in the *middle* image. Note that EC-SP cells generate many CD31-positive EC colonies compared to EC-MP cells. Endothelial colony formation by EC-SP cells, or EC-MP cells from retina (B) or brain (C). Note that EC-SP cells (*upper*) in the retina (B) and brain (C) form many colonies, compared to EC-MP cells (*lower*), but the difference is less prominent compared to the choroid. (D) Quantitative evaluation of the number of CD31-positive ECs in one well of a 24-well culture dish. Error bars are  $\pm$ SEM.  $**P < 0.01$  ( $n = 4$ ). Scale bars: 500  $\mu$ m.

structure, and included multiple ECs, as confirmed by CD31 and Hoechst staining. The EC-SP cells isolated from the retina and brain also formed higher numbers of ECs with a cord-like structure compared to respective EC-MP cells (Figs. 2B, 2C), but had substantially lower colony-forming ability than the EC-SP cells from the choroid (Fig. 2D).

#### EC-SP Cells Are Not Derived From Bone Marrow, and Are Distinct From EPCs

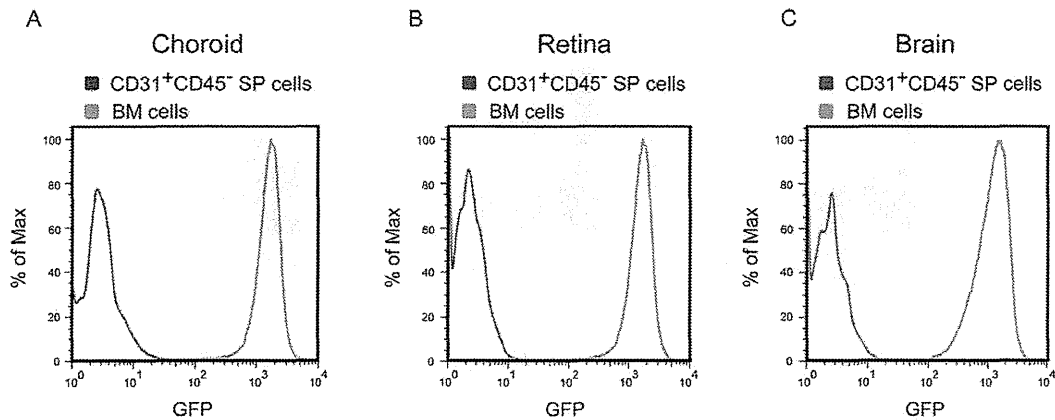
To confirm that EC-SP cells are not identical to EPCs, we transplanted BM cells from GFP mice into irradiated wild-type mice. Although the average percent reconstitution of the BM was more than 99% at 24 weeks after transplantation, as confirmed by flow cytometry (Figs. 3A–C), we could not detect any GFP-positive EC-SP cells among the CD31<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> ECs from the choroid, retina, or brain of GFP BM-transplanted mice, suggesting that EC-SP cells do not originate from EPCs derived from BM (Figs. 3A–C). This indicates that EC-SP cells reside at the preexisting vessels in each tissue.

#### Expression of ABC Transporters in Choroidal, Retinal, and Brain ECs

Because the retinal and brain ECs had high proportions of EC-SP cells, but less efficient colony-forming capacity compared to choroidal ECs, we hypothesized that not only the stem cell-like ECs, but also nonstem cell-like ECs in the retina and brain also express high levels of ABC transporters constitutively to maintain the blood–retinal barrier (BRB) or blood–brain barrier (BBB). Therefore, we compared the ABC transporter gene family mRNA expression in choroidal, retinal, and brain ECs. Retinal and brain ECs showed similar expression patterns of several ABC transporters except for ABCC3 (Fig. 4). The expression levels of ABCB1a (multiple drug resistance 1a

[MDR1a]), ABCA5, ABCC4, and ABCC6 were significantly higher in retinal and brain ECs compared to choroidal ECs (Figs. 4B, 4E, 4I, 4J). On the other hand, ABCB1b and ABCA9 were lower in retinal and brain ECs (Figs. 4C, 4G), indicating that they are not associated with an SP phenotype in these ECs. The relative expression of ABCG2, which is reported to correlate with the SP phenotype, was found to be high in the brain ECs (Fig. 4A). ABCG2 also tended to be highly expressed in the retinal ECs compared to choroidal ECs, but the difference was not statistically significant (Fig. 4A). These data suggested that components of the ABC transporters that maintain the BBB and BRB generally are similar, but different from the ECs in the choroid, which are distinguished from those in the brain and retina by the expression pattern of ABC transporter genes.

Next, we sorted the EC-SP and EC-MP cells from the brain, retina, and choroid, and compared the expression levels of several ABC transporters (Fig. 5). Among the ABC transporters that were highly expressed in the brain and retinal ECs relative to choroidal ECs (ABCG2, ABCB1a, ABCA5, ABCC4, and ABCC6), the expression of ABCB1a, ABCC4, and ABCC6 was significantly higher in retinal and brain EC-SP cells compared to choroidal EC-SP cells. This indicated that approximately 30% of ECs with the SP phenotype in the brain and retina express much higher levels of certain ABC transporters than choroidal stem-like EC-SP cells. Furthermore, the expression of ABCC4 and ABCC6 was significantly higher even in EC-MP cells in the retina and brain compared to choroidal EC-SP cells (Figs. 5D, 5E). The high levels of ABC transporters in the retinal and brain EC-MP cells also may contribute to maintaining the BRB or BBB. Such a specific role of ECs in the retina and brain may be the reason why the SP analysis using the Hoechst method does not work well enough to allow purification of the stem-like cells with proliferative potential from retinal and brain ECs.



**FIGURE 3.** EC-SP cells are not derived from BM. (A–C) BM cells from GFP mice were transplanted into lethally-irradiated wild-type mice. At 24 weeks after transplantation, cells from the choroid (A), retina (B), and brain (C) were analyzed. Histogram showing GFP intensity of the CD31<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> EC-SP fraction (red) and BM (green) obtained from the choroid, retina, and brain. Almost all BM cells were GFP-positive after transplantation. Note that GFP-positive CD31<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> EC-SP cells were present at <0.01% of the total, suggesting no major contribution of BM cells to EC-SP cells.

**EC-SP Cells in the Choroid Are Activated in Laser-Induced CNV**

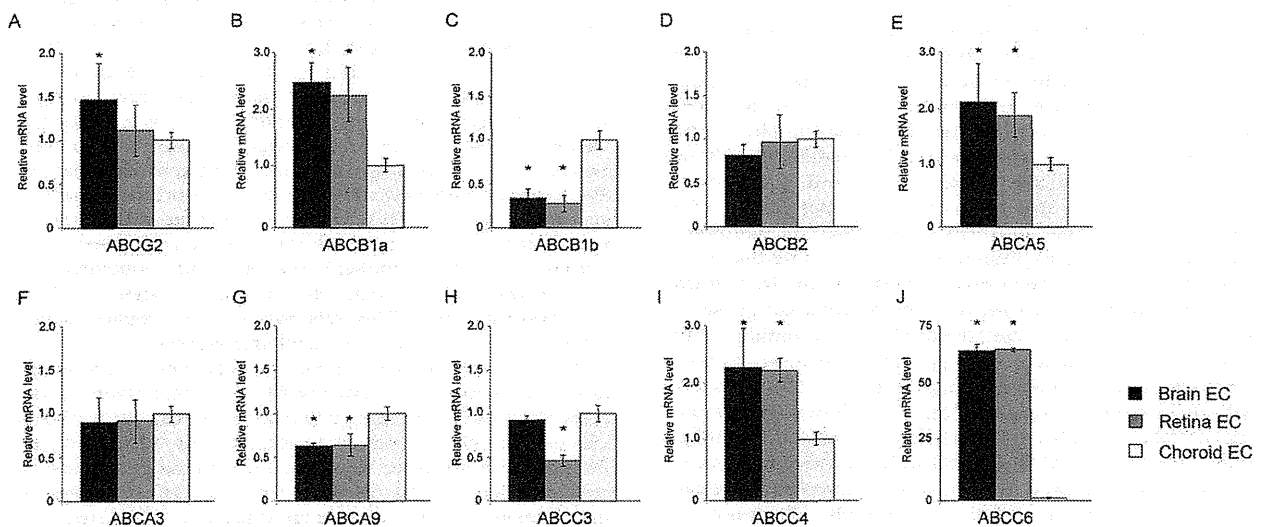
To study the potential of the EC-SP cells in the choroid to facilitate neovascularization *in vivo*, we investigated their proliferation during laser-induced CNV. A sham operation did not have any effect on the percentage of choroidal EC-SP cells (Figs. 6A, 6B). However, the percentage and absolute number of EC-SP cells in the choroid increased 6 days after laser treatment (Figs. 6C–F), while the percentage of brain and retinal EC-SP cells did not differ significantly after laser treatment ( $29.7 \pm 2.9\%$ ,  $P > 0.05$  and  $32.6 \pm 2.8\%$ ,  $P > 0.05$  in retina and brain, respectively). These results suggested that a population of EC-SP cells in the choroid is maintained in the steady-state, but actively proliferates in response to angiogenic stimuli.

To investigate whether the EC-SP cells that had proliferated after laser treatment are BM-derived, BM cells from GFP mice

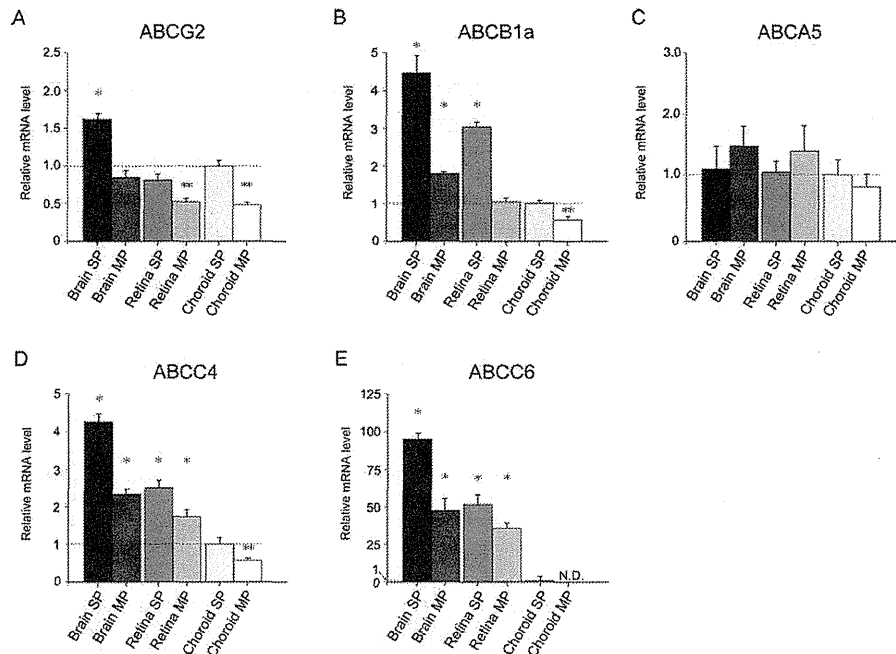
were transplanted into lethally-irradiated wild-type mice, and CNV was induced by the laser 24 weeks after transplantation. No GFP-positive cells were present in the CD31<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> EC-SP population even after CNV developed, indicating no major contribution of BM cells to the EC-SP cells that proliferated (Fig. 6G). Thus, EC-SP cells already present at the preexisting vessels seem to proliferate themselves in laser-induced CNV.

**DISCUSSION**

In our study, we identified resident EC-SP cells in the choroidal, retinal, and brain vessels. Choroidal EC-SP cells represented 2.8% of total ECs in the choroid and had greater colony-forming potential than the majority of the EC population. The pattern of SP phenotype and colony-forming potential of the choroidal EC-SP cells was similar to the recently reported EC-SP cells isolated from limb muscle.<sup>13</sup> Because EC-SP cells in the limb



**FIGURE 4.** Quantitative RT-PCR analysis of mRNA in the choroidal, retinal, and brain EC. (A–J) Expression levels of ABC transporters in the choroidal, retinal, and brain CD31<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> EC. Results are shown as fold-increase in comparison with choroidal ECs. Note that expression levels of ABCB1a, ABCA5, ABCC4, and ABCC6 were significantly higher in the retinal and brain ECs compared to choroidal ECs. Error bars are  $\pm$ SEM. \* $P < 0.05$  ( $n = 4$ ).



**FIGURE 5.** Quantitative RT-PCR analysis of mRNA in EC-SP and EC-MP cells from the choroid, retina, and brain. (A–E) Comparison of the expression levels of five ABC transporters that were highly expressed in retinal and brain ECs than choroidal ECs, as shown in Figure 4. Results are shown as fold-increase in comparison with choroidal EC-SP cells. ABCB1a, ABCC4, and ABCC6 were significantly higher in the brain and retinal EC-SP cells compared to choroidal EC-SP cells, potentially reflecting the high proportion of SP cells in the former. The ABCB1a and ABCC6 expression was significantly higher even in retinal and brain EC-MP cells compared to choroidal EC-SP cells. Error bars are  $\pm$ SEM. Significantly higher (\* $P < 0.05$ ) and lower (\*\* $P < 0.05$ ) than choroidal EC-SP cells ( $n = 3$ ).

muscle are regarded as colony-forming stem/progenitor-like ECs and termed “spEC” (to indicate specific ECs consisting of a hierarchical system of vascular ECs in the blood vessel), EC-SP cells from the choroid also may act as “spEC” in the choroidal vasculature.

The EC-SP cells in the choroid formed endothelial colonies positive for CD31 in culture, but did not give rise to cells other than ECs, such as hematopoietic or smooth muscle actin (SMA)-positive mural cells (data not shown). These results indicated that the EC-SP cells are lineage-committed specific ECs with high proliferative potential, which can be purified efficiently using Hoechst 33342 and flow cytometry. Although we could not investigate the in vivo contribution of EC-SP cells to choroidal angiogenesis, because of the small number of such cells that could be isolated, it is possible that EC-SP cells also have the potential to generate large number of ECs in vivo.

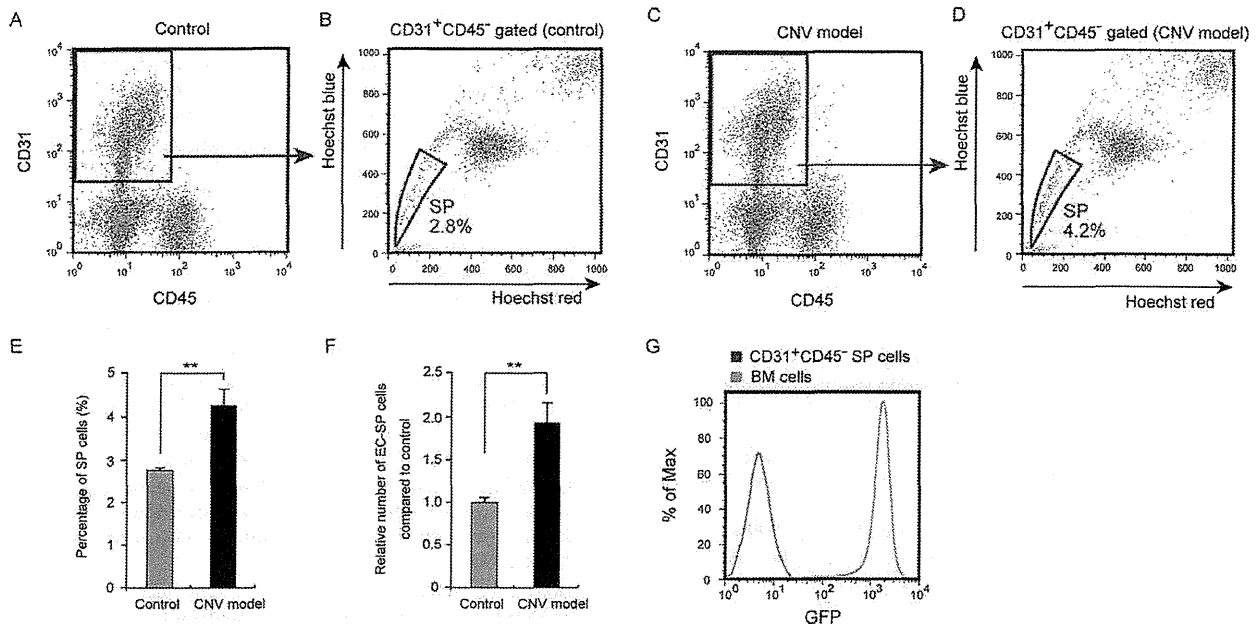
In contrast to the SP pattern seen in the choroid, the retinal and brain EC-SP cells contained an increased SP population, indicating that a higher proportion of ECs in those tissues can carry out ABC transporter-mediated efflux of the Hoechst dye. According to earlier reports, ABC transporters are physiologically active in retinal and brain ECs, contributing to the maintenance of barrier function and preventing cytotoxic agents from penetrating into the parenchyma.<sup>23–25</sup> Consistent with these reports, retinal and brain ECs showed significantly higher levels of ABCB1a (MDR1a), ABCA5, ABCC4, and ABCC6 compared to choroidal ECs in our study. Of these transporters, ABCB1a, ABCC4, and ABCC6 were expressed especially strongly in retinal and brain EC-SP cells. Therefore, we speculated that ABCB1a, ABCC4, and ABCC6 are responsible for the increase of the SP phenotype in retina and brain ECs. Because the expression levels of ABCC4 and ABCC6 were high even in retinal and brain EC-MP cells compared to choroidal

EC-SP cells, EC-MP cells in the retina and brain also seemed to contribute to maintaining the BRB and BBB.

In addition to the different EC-SP pattern, EC-SP cells in the retina and brain had substantially less colony-forming potential compared to those in the choroid. Therefore, EC-SP cells in the retina and brain seemed to contain cells with as well as those without stem cell-like proliferative potential, but which still can efflux dye, leading to a lower proportion of stem cell-like cells within the EC-SP compartment. Thus, SP analysis does not work enough to purify the stem-like cells in the retinal and brain ECs as in the choroidal ECs.

Because the contribution of BM-derived EPCs to the formation of adult blood vessels in the eye and brain has been well-documented over the past decade,<sup>7,8,26–29</sup> we investigated whether EC-SP cells are of BM origin or not. Based on the analysis of GFP<sup>+</sup> BM-transplanted mice, where we saw that EC-SP cells were completely GFP-negative, we concluded that they are not BM-derived. This result is consistent with a recent report showing that the cells involved in angiogenesis are derived from local, nonhematopoietic, and noncirculating cells, according to genetic fate mapping analysis.<sup>11</sup> Thus, blood vessel-residing EC-SP cells may serve as a cellular source of the new ECs necessary for adult angiogenesis.

Because the choroid supplies oxygen and nourishment through its network of capillaries to the outer layers of the retina responsible for vision, it is reasonable that resident stem cell-like ECs may be present to maintain the integrity of the physiologic vasculature. However, the choroid also is associated with serious eye diseases, such as AMD and myopic degeneration.<sup>2,3</sup> These diseases are caused by CNV, generating pathologic new vessels in the choroid that grow beneath the retina. Because the EC-SPs have the potential to generate large numbers of ECs, we hypothesized that EC-SP cells may contribute to CNV in vivo. Using a laser-induced experimental



**FIGURE 6.** Choroidal EC-SP cells proliferate in laser-induced CNV. (A–D) Flow cytometric analysis of Hoechst 33342 staining of CD31<sup>+</sup>CD45<sup>−</sup> ECs from the sham-operated choroid (A, B) and the choroid in which CNV had been induced (C, D). (E, F) Quantitative evaluation of the percentage (E) and absolute number (F) of EC-SP cells from 12 eyes. Error bars are  $\pm$ SEM.  $**P < 0.01$  ( $n = 3$ , 12 eyes for each experiment, experiments repeated 3 times). (G) BM cells from GFP mice were transplanted into lethally-irradiated wild-type mice and, 24 weeks thereafter, CNV was induced by the laser. Cells from the choroid were analyzed 6 days after the laser treatment. The histogram shows the GFP intensity of the choroidal CD31<sup>+</sup>CD45<sup>−</sup> EC-SP fraction (red) and BM (green). Almost all BM cells were GFP-positive after transplantation. The GFP-positive CD31<sup>+</sup>CD45<sup>−</sup> EC-SP cells were present at  $<0.01\%$  of the total, suggesting no major contribution of BM cells to EC-SP cells.

CNV model,<sup>22</sup> we found that the proportion and absolute number of EC-SP cells increased during CNV. The EC-SP cells that proliferated did not contain any BM-derived cells. Those results, combined with in vitro proliferative potential of EC-SP cells, indicated that EC-SP cells may possess self-renewal ability, and proliferate upon exposure to angiogenic stimuli, produce a large number of ECs, and potentially contribute to new choroidal vessels. Further studies are needed to elucidate the molecular signature of EC-SP cells, and to investigate the distribution and definitive in situ contribution of EC-SP cells during CNV formation.

Although retinal and brain vessels also are associated with angiogenesis-related diseases, such as diabetic retinopathy, cerebral infarction, and brain tumors, preexisting stem cell-like ECs must be those that contribute mainly to neovascularization. Because of the high baseline proportion, and less stem cell-like potential of EC-SP cells in the retina and brain, not only the SP phenotype, but also more specific molecular markers still are required for identifying resident stem cell-like cells and their contribution to angiogenesis. Furthermore, the physiologic role of stem cell-like cells in maintaining blood vessels remains to be investigated.

The data presented in our study suggested a potential strategy to treat blood vessel-related diseases in the future. First, in ischemic diseases, EC-SP cells may be used for proangiogenic therapy providing large numbers of vascular ECs and new blood vessels to restore blood flow in the damaged tissue. Second, in pathologic neovascularization, limiting the involvement and contribution of EC-SP cells may be useful for antiangiogenic therapy.

In summary, we identified SP cells in the CD31<sup>+</sup>CD45<sup>−</sup> EC fraction in the eye and brain. In the choroid, EC-SP cells may represent vessel-residing endothelial stem/progenitor cells contributing to angiogenesis in vitro and in vivo. Further

studies to identify the molecules responsible for the presence and proliferative potential of EC-SP cells may offer better understanding of the mechanism of angiogenesis, and development of new strategies for angiogenesis-related vascular diseases.

#### Acknowledgments

The authors thank Noriko Fujimoto and Chie Takeshita for cell preparation, and Keisho Fukuhara for administrative assistance.

Supported by Banyu Life Science Foundation International (HN), Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology, and Japan Society for the Promotion of Science of Japan (NT). The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

Disclosure: T. Wakabayashi, None; H. Naito, None; K. Takara, None; H. Kidoya, None; S. Sakimoto, None; Y. Oshima, None; K. Nishida, None; N. Takakura, None

#### References

1. Kempen JH, O'Colmain BJ, Leske MC, et al. Eye Diseases Prevalence Research Group. The prevalence of diabetic retinopathy among adults in the United States. *Arch Ophthalmol.* 2004;122:552–563.
2. Bressler NM. Age-related macular degeneration is the leading cause of blindness. *JAMA.* 2004;291:1900–1901.
3. Friedman DS, O'Colmain BJ, Munoz B, et al. Eye Diseases Prevalence Research Group. Prevalence of age-related macular degeneration in the United States. *Arch Ophthalmol.* 2004; 122:564–572.
4. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature.* 1997;386:671–674.

5. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*. 1997; 275:964-967.
6. Asahara T, Takahashi T, Masuda H, et al. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *EMBO J*. 1999;18:3964-3972.
7. Grant MB, May WS, Caballero S, et al. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization. *Nat Med*. 2002;8:607-612.
8. Chan-Ling T, Baxter L, Afzal A, et al. Hematopoietic stem cells provide repair functions after laser-induced Bruch's membrane rupture model of choroidal neovascularization. *Am J Pathol*. 2006;168:1031-1044.
9. Okuno Y, Nakamura-Ishizu A, Kishi K, Suda T, Kubota Y. Bone marrow-derived cells serve as proangiogenic macrophages but not endothelial cells in wound healing. *Blood*. 2011;117: 5264-5272.
10. Grunewald M, Avraham I, Dor Y, et al. VEGF induced adult neovascularization: recruitment, retention, and role of accessory cells. *Cell*. 2006;124:175-189.
11. Rinkevich Y, Lindau P, Ueno H, Longaker MT, Weissman IL. Germ-layer and lineage-restricted stem/progenitors regenerate the mouse digit tip. *Nature*. 2011;476:409-413.
12. Purhonen S, Palm J, Rossi D, et al. Bone marrow-derived circulating endothelial precursors do not contribute to vascular endothelium and are not needed for tumor growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:6620-6625.
13. Naito H, Kidoya H, Sakimoto S, Wakabayashi T, Takakura N. Identification and characterization of a resident vascular stem/progenitor cell population in preexisting blood vessels. *EMBO J*. 2012;31:842-855.
14. Goodell MA, Brose K, Paradis G, Conner AS, Mulligan RC. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo. *J Exp Med*. 1996;183: 1797-1806.
15. Challen GA, Little MH. A side order of stem cells: the SP phenotype. *Stem Cells*. 2006;24:3-12.
16. Golebiewska A, Brons NH, Bjerkvig R, Niclou SP. Critical appraisal of the side population assay in stem cell and cancer stem cell research. *Cell Stem Cell*. 2011;8:136-147.
17. Sakimoto S, Kidoya H, Naito H, et al. A role for endothelial cells in promoting the maturation of astrocytes through the apelin/APJ system in mice. *Development*. 2012;139:1327-1335.
18. Kidoya H, Ueno M, Yamada Y, et al. Spatial and temporal role of the apelin/APJ system in the caliber size regulation of blood vessels during angiogenesis. *EMBO J*. 2008;27:522-534.
19. Takakura N, Huang XL, Naruse T, et al. Critical role of the TIE2 endothelial cell receptor in the development of definitive hematopoiesis. *Immunity*. 1998;9:677-686.
20. Naito H, Takara K, Wakabayashi T, et al. Changes in blood vessel maturation in the fibrous cap of the tumor rim. *Cancer Sci*. 2012;103:433-438.
21. Kidoya H, Kunii N, Naito H, et al. The apelin/APJ system induces maturation of the tumor vasculature and improves the efficiency of immune therapy. *Oncogene*. 2012;31:3254-3264.
22. Ryan SJ. Subretinal neovascularization: natural history of an experimental model. *Arch Ophthalmol*. 1982;125:71-80.
23. Dean M, Fojo T, Bates S. Tumour stem cells and drug resistance. *Nat Rev Cancer*. 2005;5:275-284.
24. Tachikawa M, Toki H, Tomi M, Hosoya K. Gene expression profiles of ATP-binding cassette transporter A and C subfamilies in mouse retinal vascular endothelial cells. *Microvasc Res*. 2008;75:68-72.
25. Tagami M, Kusuhara S, Honda S, Tsukahara Y, Negi A. Expression of ATP-binding cassette transporters at the inner blood-retinal barrier in a neonatal mouse model of oxygen-induced retinopathy. *Brain Res*. 2009;1283:186-193.
26. Tomita M, Yamada H, Adachi Y, et al. Choroidal neovascularization is provided by bone marrow cells. *Stem Cells*. 2004;22: 21-26.
27. Sengupta N, Caballero S, Mames RN, Butler JM, Scott EW, Grant MB. The role of adult bone marrow-derived stem cells in choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44:4908-4913.
28. Espinosa-Heidmann DG, Caicedo A, Hernandez EP, Csaky KG, Cousins SW. Bone marrow-derived progenitor cells contribute to experimental choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44:4914-4919.
29. Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q, Chopp M. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells participate in cerebral neovascularization after focal cerebral ischemia in the adult mouse. *Circ Res*. 2002;90:284-288.

## &lt;原 著&gt;

# 血管腫・血管奇形の全国疫学調査に向けての予備調査結果の報告

## — 重症度と難治性の分析 —

力久直昭<sup>\*1)</sup>・小坂健太郎<sup>\*2)</sup>・松井裕輔<sup>\*3)</sup>・三村秀文<sup>\*4)</sup>  
大須賀慶悟<sup>\*5)</sup>・秋田定伯<sup>\*6)</sup>・渡部 茂<sup>\*7)</sup>・佐々木 了<sup>\*8)</sup>

### An Epidemiological Survey of Vascular Tumors and Vascular Malformations in Five Hospitals: an Analysis of Their Severity and Obstinacy

Naoaki RIKIHISA<sup>\*1)</sup>, Kentaro KOSAKA<sup>\*2)</sup>, Yusuke MATSUI<sup>\*3)</sup>, Hidefumi MIMURA<sup>\*4)</sup>,  
Keigo OSUGA<sup>\*5)</sup>, Sadanori AKITA<sup>\*6)</sup>, Shigeru WATANABE<sup>\*7)</sup> and Satoru SASAKI<sup>\*8)</sup>

<sup>\*1)</sup> Department of Plastic Surgery, Chiba Rosai Hospital, Chiba, 290-0003

<sup>\*2)</sup> Department of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery, Chiba University Hospital, Chiba, 260-8677

<sup>\*3)</sup> Department of Radiology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and  
Pharmaceutical Sciences, Okayama, 700-8558

<sup>\*4)</sup> Department of Diagnostic Radiology 2, Kawasaki Medical School, Okayama, 701-0192

<sup>\*5)</sup> Department of Diagnostic and Interventional Radiology, Osaka University Graduate School of Medicine,  
Osaka, 565-0871

<sup>\*6)</sup> Division of Plastic and Reconstructive Surgery, Department of Developmental and  
Reconstructive Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, 852-8501

<sup>\*7)</sup> Department of Diagnostic Radiology 1, Kawasaki Medical School, Okayama, 701-0192

<sup>\*8)</sup> Center for Vascular Anomalies, KKR Sapporo Medical Center Tonan Hospital, Hokkaido, 060-0001

## 和文要旨

厚生労働省難治性疾患等克服研究事業「難治性血管腫・血管奇形についての調査研究」班は、血管腫・血管奇形の実態を明らかにし難病としての施策に役立てる基盤形成を研究の目的としている。今回、班員の所属する5施設において2011年に診療した血管腫・血管奇形症例について疫学的調査を行った。主治医が難治性であると判断した症例は全体の42.0%を占め、研究班の作成した「血管腫・血管奇形重症度分類素案」で重症と診断された症例は全体の4.7%だった。このことから難治性症例が必ずしも重症例でないことが示された。この疾患群が医療費助成の対象疾患に選定されるためには、難治性と重症度について明確な基準を策定し、さらに難治性と重症の2つの要素を満たす症例数を適正な人数に近づけることが必要であることが分かった。今回の疫学的調査は予備調査であり、この結果を踏まえたわが国初の全国調査を今後行う予定である。

**Key Words :** 血管腫・血管奇形, 多施設調査, 重症度, 難治性, 難病

<sup>\*1)</sup> 千葉労災病院形成外科 <sup>\*2)</sup> 千葉大学医学部附属病院形成美容外科 <sup>\*3)</sup> 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科放射線医学

<sup>\*4)</sup> 川崎医科大学放射線医学(画像診断2) <sup>\*5)</sup> 大阪大学大学院医学系研究科放射線医学 <sup>\*6)</sup> 長崎大学医学部形成外科学

<sup>\*7)</sup> 川崎医科大学放射線医学(画像診断1) <sup>\*8)</sup> KKR札幌医療センター斗南病院血管腫・血管奇形センター

2013年5月21日受領

2013年6月20日掲載決定

## 英文アブストラクト

We, the study group of the Ministry of Health, Labour and Welfare, are conducting research to determine the actual situation of patients with vascular anomalies in Japan. Our research will provide a foundation for measuring the medical expense aid provided for the management of intractable diseases in Japan. We conducted an epidemiological survey among patients with vascular anomalies in five hospitals. Among the total of 343 patients, 42% of the patients were diagnosed with intractable diseases and 4.7% were severely disabled, as per our original severity-grading scale scores. On the basis of this result, it is clear that, if a patient is diagnosed with an intractable disease, it does not necessarily imply that he/she has severe impairment. We should design well-defined criteria for obstinacy and severity of such diseases so that patients with vascular anomalies are chosen as new recipients of extended medical expense aid. Thus, we will conduct the first national survey to determine the actual situation of patients with vascular anomaly in Japan.

**Key Words** : vascular tumors and vascular malformations, multicenter survey, severity, obstinacy, intractable disease

## 序 文

厚生労働省の難病対策委員会は2013年1月17日、難病対策の見直しと新法制化に向けた最終報告案をまとめた。医療費助成の対象疾患を現在の56から300疾患以上に増やす予定で、来年度以降の成立を目指す新法の制定後の政令で新たな対象疾患が決まる。

血管腫・血管奇形の発生頻度に関する国内での報告はなく、海外でも詳しい実態調査は行われていない。厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）「難治性血管腫・血管奇形についての調査研究」（平成24年度 研究者代表：三村秀文）の研究班は、患者実態調査と治療方法の研究を行っている。血管腫・血管奇形の実態を明らかにし、難病としての施策に役立つ基盤形成を研究目的のひとつとしている。全国調査によって施策実行のための基本的データの収集を計画しているが、その前のパイロットスタディとして、研究班員の所属する複数施設を対象とした予備調査を2012年11月・12月に行った。予備調査結果の概要と、その調査で使用した症例の重症度分類（表1a, b）について検討を行ったので報告する。

## 方 法

各施設での倫理委員会の承認を取得したのち、2012年11月から2ヵ月間に、研究班所属医師が対象患者のデータをWeb登録した。症例登録データは連結可能匿名化し、患者カルテ番号、氏名、匿名番号の対応表は各施設の担当者が管理した。Web登録システムは、本研究が倫理委員会で承認されたのちにISO 27001/ISMS認証（一般財団法人日本情報経済社会推進協会による情報セキュリティマネジメントに対する第三者適合性評価制度）を取得している業者に委託

し、匿名化されたデータは研究班が保持した。

調査対象となった患者は、2011年1月～12月までの間に研究班5施設で診療を行った血管腫・血管奇形患者343例（男性130例、女性213例）であった。Web登録入力の負担を軽減するため乳児血管腫例、毛細血管奇形（いわゆる単純性血管腫）単独の症例は除外した。Web登録に参加した施設は長崎大学病院、大阪大学医学部附属病院、千葉大学医学部附属病院、川崎医科大学附属病院、川崎医科大学附属川崎病院の5施設であった。

Web登録を行ったデータは以下の項目とした。生年月、性別、初発時期、併存疾患、既往症、家族歴、病変のおもな占拠部位、病変の深さ、病変の大きさ（長径）、受診時症状および既往症状、動静脈奇形の場合Schöbinger病期<sup>1)</sup>、診断名、診断の根拠、診断に有用だった画像診断、治療歴と治療回数（手術・硬化療法・塞栓術・レーザー治療・保存療法の有無）、入院回数、治療の転帰、難治性か否か（主治医判断）、血管腫・血管奇形の重症度（表1a, b）についてデータを収集した。

「血管腫・血管奇形の重症度分類」（表1a, b）は難治性血管腫・血管奇形についての研究班が議論を重ね作成したもので、整容面11項目、機能面15項目について、それぞれ1～5度の分類基準を設定している。各症例について、これら26項目について当てはまる症状をすべてWeb上で選択登録し、そのうち最大値をその患者の重症度とするシステムを構築した。

収集したデータを「重症度」と「難治性か否か（主治医判断）」に着目して分析し、重症例の臨床的特徴、難治性症例の臨床的特徴について検討した。各項目をPearsonの $\chi^2$ 検定またはMann-WhitneyのU検定を用いて検定した。



表 1 (a) 血管腫・血管奇形重症度分類 (整容面)

部位		1度	2度	3度	4度	5度
顔ぼう	頭部 (頭髪部も含む)	手掌大2分の1未満の醜状	手掌大未満の醜状	手掌大以上の醜状	手掌大の2倍以上の醜状	
	顔面・頰部 (眉毛部も含む)	顔面部にあつては、手掌大の4分の1未満の醜状 頰部にあつては、手掌大2分の1未満の醜状	顔面部にあつては、手掌大の4分の1以上の醜状 頰部にあつては、手掌大の2分の1以上の醜状	顔面部にあつては、手掌大の2分の1以上の醜状 頰部にあつては、手掌大以上の醜状	顔面部にあつては、その2分の1程度をこえる醜状 頰部にあつては、その4分の3程度をこえる醜状	
	眼瞼	片側の上または下眼瞼の一部の輪郭の変形	片側の上または下眼瞼の2分の1程度をこえる輪郭の変形	片側の上または下眼瞼のほぼ全体に及ぶ輪郭の変形	片側の上および下眼瞼のほぼ全体にわたる輪郭の変形	
	口唇	上または下口唇それぞれの一部の輪郭の変形	上または下口唇の2分の1程度をこえる輪郭の変形	上または下口唇のほぼ全体に及ぶ輪郭の変形	上および下口唇のほぼ全体にわたる輪郭の変形	
	鼻	鼻部の一部の輪郭の変形	鼻部の4分の1程度をこえる輪郭の変形	鼻部の2分の1程度をこえる輪郭の変形	鼻部の全体に及ぶ輪郭の変形	
	耳	片側耳介軟骨部の4分の1程度をこえる輪郭の変形	片側耳介軟骨部の2分の1程度をこえる輪郭の変形	片側耳介軟骨部のほぼ全体にわたる輪郭の変形		
露出面	手部	手掌部の3分の1程度をこえない醜状 手背部の4分の1程度をこえない醜状	手掌部の3分の2程度をこえない醜状 手背部の2分の1程度をこえない醜状	手掌部の3分の2程度をこえる醜状 手背部の2分の1程度をこえる醜状 左右同じ手袋がはめられない		
	上肢 (肩関節以下手関節以上)	一上肢にある手掌大の2倍未満の醜状 直立自然位で左右の上肢長さが手掌の長さの半分未満のもの 左右の前腕または上腕の周径差が最大の部位において、その差が健常側の周囲長の3割未満のもの	一上肢にある手掌大の2倍以上の醜状 直立自然位で左右の上肢長さが手掌の長さ未満のもの 左右の前腕または上腕の周径差が最大の部位において、その差が健常側の周囲長の3割以上のもの	一上肢にある一上肢の全面積の2分の1程度をこえる醜状 直立自然位で左右の上肢長さが手掌の長さ以上異なるもの 左右の前腕または上腕の周径差が最大の部位において、その差が健常側の周囲長の5割以上のもの	一上肢の上腕かつ前腕の深部組織(皮下組織・筋肉・骨)に病変が広く存在するもの	
	膝関節以下の下肢 (足部を含む)	膝関節以下一下肢にある手掌大未満の醜状 左右の下腿の周径差が最大の部位において、その差が健常側の周囲長の2割未満のもの	膝関節以下の一下肢にある手掌大以上の醜状 左右の下腿の周径差が最大の部位において、その差が健常側の周囲長の2割以上のもの 左右の趾の長さ・周囲長が異なる	膝関節以下の一下肢にある手掌大の2倍以上の醜形 左右同じ靴が履けない 左右の下肢長さが3cm未満 左右の下腿の周径差が最大の部位において、その差が健常側の周囲長の3割以上のもの	片側の膝関節以下に、その全面積の2分の1程度をこえる醜状を呈するもの 長管骨の変形 左右の下肢長差3cm~5cm 左右の下腿の周径差が最大の部位において、その差が健常側の周囲長の4割以上のもの 一下肢の大腿かつ下腿の深部組織(皮下組織・筋肉・骨)に病変が広く存在するもの	片側の膝関節以下に、そのほぼ全面積に及ぶ醜状を呈するもの 長管骨の著しい変形 左右の下肢長差が5cm以上 左右の下腿の周径差が最大の部位において、その差が健常側の周囲長の5割以上のもの
非露出面	体幹・生殖器	胸腹部または背部・殿部にあつてその全面積の4分の1程度をこえない程度の醜状	体幹輪郭の軽度変形 胸腹部または背部・殿部にあつてその全面積の4分の1程度をこえる醜状	胸腹部または背部・殿部にあつてその全面積の2分の1程度をこえる醜状	骨(脊椎・肋骨・鎖骨・胸骨・骨盤骨)の変形を伴う醜状	骨(脊椎・肋骨・鎖骨・胸骨・骨盤骨)の著しい変形を伴う醜状
	膝関節以上の下肢 (大腿)	左右の大腿の周径差が最大の部位において、その差が健常側の周囲長の2割未満のもの 片側の大腿の2分の1程度をこえない醜状	左右の大腿の周径差が最大の部位において、その差が健常側の周囲長の2割以上のもの 片側の大腿の2分の1程度をこえる醜状	左右の大腿の周径差が最大の部位において、その差が健常側の周囲長の3割以上のもの 左右の下肢長差が3cm未満 片側の大腿のほとんど全域に及ぶ醜状	長管骨の変形 左右の下肢長差3cm~5cm 左右の大腿の周径差が最大の部位において、その差が健常側の周囲長の4割以上のもの 一下肢の大腿かつ下腿の深部組織(皮下組織・筋肉・骨)に病変が広く存在するもの	長管骨の著しい変形 左右の下肢長差が5cm以上 左右の大腿の周径差が最大の部位において、その差が健常側の周囲長の5割以上のもの

表 1 (b) 血管腫・血管奇形重症度分類 (機能面とその他)

部位		1度	2度	3度	4度	5度
露出面	顔ぼう					
	中枢神経機能・末梢神経機能 (疼痛を含む)	神経系統の機能または精神に障害を残すが、2度を満たさない程度のも	神経系統の機能または精神に障害を残し、服することができる作業がある程度に制限されるもの	神経系統の機能または精神に障害を残し、服することができる作業が相当な程度に制限されるもの	神経系統の機能または精神に障害を残し、軽易な作業以外の作業に服することができないもの	神経系統の機能または精神に著しい障害を残し、特に軽易な作業以外の作業に服することができないもの、中等度から高度の強さの痛みを用いるオピオイド鎮痛薬の使用によって初めて鎮痛が得られるもの、またはそれらを使用しても鎮痛が十分得られないもの (小児例も含む)
	眼瞼・眼球	一眼の視力が0.6以下になったもの 一眼に半盲症、視野狭窄または視野変状を認めるもの 正面視以外で複視を認めるもの	一眼の眼球に著しい調節機能障害または運動障害を認めるもの 一眼の上眼瞼に著しい運動障害を認めるもの 一眼の視力が0.1以下になったもの	両眼の視力が0.6以下になったもの 一眼の視力が0.06以下になったもの 正面視で複視を認めるもの 両眼の眼球に著しい調節機能障害または運動障害を認めるもの 両眼の上眼瞼に著しい運動障害を認めるもの	一眼が失明し、一眼の視力が0.6以下になったもの 両眼に半盲症、視野狭窄または視野変状を認めるもの	両眼の視力が0.1以下になったもの
	呼吸機能・心機能	病変が原因となり閉塞型睡眠時無呼吸症候群をきたすが、日中の傾眠傾向がないもの	病変が原因となり閉塞型睡眠時無呼吸症候群をきたし、自分の意志に反し眠気があり、気づかずに眠ってしまうことがあまり集中していないときに起こるもの	病変が原因となり閉塞型睡眠時無呼吸症候群をきたし、自分の意志に反し眠気があり、気づかずに眠ってしまうことが、多少集中を必要としているとき起こるもの、症状により社会的にあるいは仕事上の機能に中等度の障害が起こるもの 身体活動には特に制約がなく日常労作により、特に不当な呼吸困難、狭心痛、疲労、動悸などの愁訴が生じないが、検査上異常が指摘され第4度への移行が懸念されるもの	病変が原因となり閉塞型睡眠時無呼吸症候群をきたし、自分の意志に反し眠気があり、気づかずに眠ってしまうことが、強い集中を必要としているとき起こるもの、症状により社会的にあるいは仕事上の機能に高度の障害が起こるもの 安静時または軽労作時には障害がないが、日常労作のうち、比較的強い労作 (たとえば、階段上昇、坂道歩行など) によって、呼吸困難、狭心痛、疲労、動悸などの愁訴が生じるもの 気管切開 (気管孔作成) が施行されているもの	病変が原因となり閉塞型睡眠時無呼吸症候群をきたし、身体活動に高度の制約のあるもの 安静時には無症状であるが、普通以下の軽労作で呼吸困難、狭心痛、疲労、動悸などの愁訴を生じるもの
	咀嚼機能・嚥下機能		咀嚼機能・嚥下機能に軽度の障害を認めるが、3度の条件は満たさない程度のもの	ある程度の常食は摂取できるが、咀嚼・嚥下が十分できないために食事が制限される程度のもの	経口摂取のみでは十分な栄養摂取ができないため、経管栄養の併用が必要なもの 全粥または軟菜以外は摂取できない程度のもの	流動食以外は摂取できない程度のもの 経口的に食物を摂取することができないもの 食物が口からこぼれ出るため、常に手や器物などでそれを防がなければならない程度のもの 経口的な食物摂取がきわめて困難で1日の大半を食事に費やさなければならない程度のもの
	構音機能		構音機能に軽度の障害を認めるが、3度の条件は満たさない程度のもの	電話による会話が、家族は理解できるが他人には理解できない程度のもの	日常会話、家族は理解できるが他人には理解できない程度のもの	日常会話、誰が聞いても理解できない程度のもの
鼻			鼻の機能に著しい障害を認めるもの			
耳	一耳の聴力が1m以上の距離では普通の話声を解することができない程度の難聴になったもの	両耳の聴力が1m以上の距離では小声を解することが困難な程度の難聴になったもの 一耳の聴力が40cm以上の距離では普通の話声を解することができない程度の難聴になったもの	両耳の聴力が1m以上の距離では普通の話声を解することが困難な程度の難聴になったもの 一耳の聴力が耳に接しなければ大声を解することができない程度の難聴になったもの 一耳の聴力を全く失ったもの	両耳の聴力が40cm以上の距離では普通の話声を解することが困難な程度の難聴になったもの 一耳の聴力を全く失い、他耳の聴力が1m以上の距離では普通の話声を解することができない程度の難聴になったもの	一耳の聴力を全く失い、他耳の聴力が40cm以上の距離では普通の話声を解することができない程度の難聴になったもの 両耳の聴力が耳に接しなければ大声を解することができない程度以上の難聴になったもの	

四肢の露出面	手部・上肢	一手の示指、中指、環指または小指の用を廃したもの 母指以外の手指の遠位指節間関節を屈伸することができなくなったもの 一上肢の三大関節中の一関節の機能に障害を認めるもの	一手の母指または母指以外の二手指の用を廃したもの 一上肢の三大関節中の一関節の機能に著しい障害を認めるもの	一手の母指を含み三手指または母指以外の四手指の用を廃したもの 一上肢の三大関節中の一関節の用を廃したもの	手の五手指または母指を含み四手指の用を廃したもの 一上肢の三大関節中の二関節の用を廃したもの	一上肢の用を全廃したもの（三大関節の用を廃したもの）
	膝関節以下の下肢（足部を含む）	一足の第三足指以下の一または二の足指の用を廃したもの	一足の第一または第二足指を含み一以上の足指の用を廃したもの 一下肢の膝関節・足関節のうちの一関節の機能に障害を認めるもの	一足の足指の全部の機能を廃したものの 一下肢の膝関節・足関節のうちの一関節の機能に著しい障害を認めるもの	一下肢の膝関節・足関節のうちの一関節の用を廃したもの	一下肢の膝関節と足関節の用を廃したもの
非露出面	体幹・生殖器	胸腹部臓器の機能に障害を認めるもの 局部に神経症状を認めるもの	胸腹部臓器の機能に障害を残し、服することができる作業がある程度に支障があるもの 局部に頑固な神経症状を認めるもの	胸腹部臓器の機能に障害を残し、服することができる作業が相当な程度に制限されるもの 立位・座位の保持に支障があるもの 生殖器に著しい障害を認めるもの	胸腹部臓器の機能に障害を残し、軽易な作業以外の作業に服することができないもの 立位・座位の保持が相当な程度に制限されるもの 脊柱に運動障害を認めるもの 両側の睾丸または卵巣の機能を失ったもの	胸腹部臓器の機能に著しい障害を残し、特に軽易な作業以外の作業に服することができないもの 立位・座位の保持ができないもの 脊柱に著しい運動障害を認めるもの
	膝関節以上の下肢（大腿）		一下肢の股関節の機能に障害を認めるもの	一下肢の股関節の機能に著しい障害を認めるもの	一下肢の股関節の用を廃したもの	一下肢の股関節と膝関節または足関節の用を廃したもの
出血および出血の可能性	ときおり出血するが医療的処置の必要のないもの	しばしば出血するが医療的処置の必要のないもの	出血の治療ため医療的処置を必要とするが、治療によって出血予防・止血が十分に得られるもの	致死的な出血のリスクをもつもの 複数年にわたり出血の治療のため1年間に1回程度の入院加療を要したあるいは要す見込みのもの 慢性出血性貧血のため月1回程度の輸血を定期的に必要とするもの	致死的な出血のリスクが非常に高いもの 大量出血のリスクが高く年間30日以上入院治療が必要なもの 複数年にわたり出血の治療のため1年間に2回以上入院加療を要したあるいは要す見込みのもの	
感染および感染の可能性		しばしば感染を併発するが医療的処置の必要のないもの	感染・蜂窩織炎の治療のため医療的処置を必要とするが、治療によって十分に症状の進行を抑制できるもの	敗血症などの致死的な感染を合併するリスクをもつもの 複数年にわたり感染・蜂窩織炎の治療のため1年間に1回程度の入院加療を要したあるいは要す見込みのもの	敗血症などの致死的な感染を合併するリスクが非常に高いもの 感染・蜂窩織炎のリスクが高く年間30日以上入院治療が必要なもの 複数年にわたりの感染・蜂窩織炎の治療のため1年間に2回以上入院加療を要したあるいは要す見込みのもの	
難治性皮膚潰瘍	難治性皮膚潰瘍の治療・保護する必要はあるが、2度を満たさない程度のもの	難治性皮膚潰瘍の治療・保護のため、服することができる作業がある程度に制限されるもの	難治性皮膚潰瘍の治療・保護のため、服することができる作業が相当な程度に制限されるもの	難治性皮膚潰瘍の治療・保護のため、軽易な作業以外の作業に服することができないもの	難治性皮膚潰瘍の治療・保護のため、特に軽易な作業以外の作業に服することができないもの	
凝固能異常			血液検査データでは凝固能異常を示すが、出血傾向などの臨床症状を伴わないもの	凝固能異常に対して治療を必要とするが、医療的処置によって出血傾向などの臨床症状の改善を得ることができるもの	凝固能異常に対して治療を必要とし、医療的処置を行っても出血傾向などの臨床症状が改善しないもの	

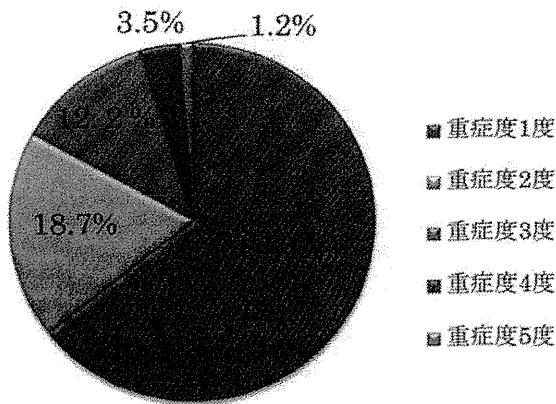


図1 総合重症度の占める割合

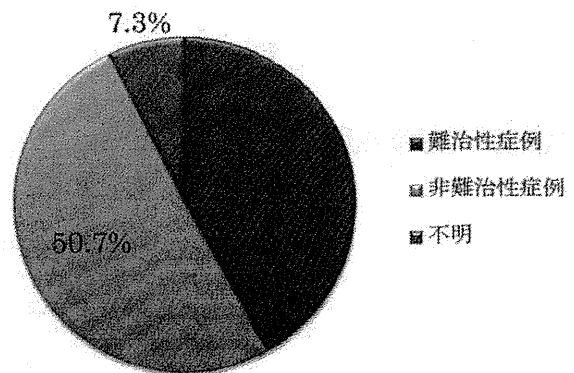


図2 難治性症例と非難治性症例の占める割合

### 結果

登録された343例のうち重症度1度の症例は221例(64.4%)、重症度2度の症例は64例(18.7%)、重症度3度は42例(12.2%)、重症度4度は12例(3.5%)、重症度5度は4例(1.2%)であった(図1)。「重症度5度」、「重症度4度」の症例群を「重症度が1~3度」の症例群と比較検定し有意差(有意水準1%,  $P$ 値<0.01)を認めた項目は、初発時期、病変の深さ、病変の大きさ(長径)、1症例で病変の占める部位数、重症度が複数登録されている症例数、受診時および既往症状、診断の根拠、塞栓術の回数、レーザー治療の回数、治療の転帰、難治性か否か(主治医判断)との関係であった。

一方、難治性症例は144例(42.0%)、非難治性症例は174例(50.7%)、不明は25例(7.3%)であった(図2)。難治性症例群と非難治性症例群を比較検定し有意差(有意水準1%,  $P$ 値<0.01)を認めた項目は、初発時期、病変の深さ、病変の大きさ(長径)、1症例で病変の占める部位数、複数重症度が登録されている症例数、受診時および既往症状、診断の根拠、診断に有用だった画像診断、硬化療法の回数、入院回数、治療の転帰、重症度との関係であった。

### 考察

1972年に当時の厚生省(現厚生労働省)は「難病対策要綱」で①原因不明、治療方法未確立で後遺症を残すおそれが少なくない疾患、②経過が慢性にわたり、経済的問題のみならず介護等に著しく人手を要するため家族の負担が重く、精神的にも負担の大きい疾患を難病と整理した。2013年1月17日厚生労働省の難病対策委員会は、難病対策の見直しと新法制化に向けた最終報告案をまとめ、患者数がおおむね人口の

0.1%(約12万人)以下、一定の診断基準があるなどの新たな条件で助成対象を選び直すことになった。また一方で、医療費助成の総事業費は毎年増加しており都道府県の大幅な超過負担が続いているため、患者の重症度に応じた医療費助成の傾斜配分、収入に応じた自己負担も求められている。

本研究は厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)「難治性血管腫・血管奇形についての調査研究」の研究活動として行われた。2013年に施行予定の本調査の前に、パイロットスタディとして5施設からのデータを収集し分析を行った。あわせてWeb登録システム入力操作性の検証と、研究班内で討議のうえ作成した「血管腫・血管奇形重症度分類」の実用性を検証した。この重症度分類の作成にあたり、機能的評価と整容的評価の重症度の重みに関するバランスに配慮した。また労働者災害補償保険法障害等級表<sup>2)</sup>、NYHAの心機能分類<sup>3)</sup>、障害年金制度の耳・鼻・口の障害に対する障害認定基準<sup>4)</sup>などを参考にして、本疾患による障害と、外傷や脳梗塞など他疾患に起因する障害とのバランスも考慮し、本分類について社会的なコンセンサスが得られやすいよう配慮した。

今回の調査結果概要(患者の年齢・性別、疾患頻度、治療方法など)については当研究班のホームページ(<http://www.dicomcast.com/va/index.html>)を参照されたい。

今回の予備調査で登録された343例中、重症度1度に分類された症例は221例(64.4%)、重症度2度の症例は64例(18.7%)、重症度3度は42例(12.2%)、重症度4度は12例(3.5%)、重症度5度は4例(1.2%)であった。さらに重症度分類の項目ごとに細かくみても、重症度1度の症例が数多く占め、重症度が高くなるにつれその症例数が少なくなる

表2 各項目別にみた重症度の人数

	1度 (人)	2度 (人)	3度 (人)	4度 (人)	5度 (人)
整容障害 頭部	2	2	0	0	
整容障害 顔面・頸部	30	16	9	5	
整容障害 眼瞼	2	0	1	0	
整容障害 鼻	0	0	0	0	
整容障害 口唇	1	0	0	1	
整容障害 耳	1	3	0		
整容障害 手部	5	0	1		
整容障害 上肢	10	1	0	2	
整容障害 体幹	16	5	0	0	0
整容障害 大腿	14	1	1	0	2
整容障害 下腿	13	6	8	0	2
中枢・末梢神経	96	14	3	0	0
眼瞼・眼球機能	0	2	1	0	0
鼻機能			0		
耳機能	0	2	0	0	0
呼吸機能・心機能	1	0	0	2	0
咀嚼機能・嚥下機能		3	0	0	0
構音機能		3	0	0	0
手部・上肢機能	4	1	0	0	1
下腿機能	6	9	4	1	1
体幹機能	2	1	2	0	0
大腿機能		10	0	0	0
出血および出血の可能性	12	1	5	3	0
感染および感染の可能性	0	0	9	0	0
難治性皮膚潰瘍	2	1	5	0	0
凝固能異常			2	1	0

(障害を複数もつ患者では最大値をその患者の重症度としている)

表3 重症群 (重症度4度と5度) と難治性群の共通点

それぞれの比較群と (軽症群または非難治性群と比較して) 有意差を認めなかった項目	比較対象と有意差を認めた項目
性別, 病変のおもな占拠部位, 動静脈奇形の場合 Schöbinger 病期, 診断名, 他院での治療の有無, 手術回数, 保存的治療の有無	初発時期, 病変の深さ, 病変の大きさ (長径), 1症例で病変の占める部位数, 重症度が複数登録されている症例数, 受診時および既往症状, 診断の根拠, 治療の転帰

傾向を認めた。重症度3度が極端に多く突出した分布を示すといった、好ましくない分布の偏りは認めなかった (図1, 表2)。

症例の重症度が高くなるほど複数の整容的または機能的障害を重複して罹患しやすいことも明らかになった。

重症度5度の4例中4例が難治性に分類され、重症度4度の12例中11例が難治性に分類された。重症度が4度または5度の症例群と難治性の症例群ではともに、初発時期, 病変の深さ, 病変の大きさ (長径),

1症例で病変の占める部位数, 複数の重症度が登録されている症例数, 受診時および既往症状, 診断の根拠, 治療の転帰の項目で、軽症例や非難治性群に比べて有意差を認めた。このことから、重症例と難治性症例には臨床症状 (初発時期・複数の症状を呈すること)・病変の深度と範囲・治療転帰などで共通点をもつことが示された (表3)。

しかし一方で、難治性症例144例のなかで重症度5度または4度の症例は15例であり、その割合は10%程度であった。難治性症例であっても必ずしも重症度

が高いとはいえないことが示された。研究班は「症状の重症度」を定義することで「疾患の難治性」に客観的な指標を与えることが可能になると当初考えていたが、この予想と異なる結果となった。重症度は疾患治療の困難さとは結びついておらず、主治医の判断する「難治性」の指標にならないことが分かった。

主治医が患者を難治性と判断する根拠には、病勢や患者背景により加療困難な「不能」、あるいは治療に反応しない「不応」という2つの要素がある<sup>9)</sup>。今回のデータからは、筋層もしくは骨に達する症例、若年発症例、Klippel-Trenaunay 症候群や Parkes Weber 症候群の症例、入院回数の多い症例、加療後に症状が不変もしくは増悪した症例で、主治医が難治性と判断しやすい傾向が示された。

難治性/非難治性の分類とわれわれの作成した重症度分類に「難治性症例＝重症例」といった一対一対応の関係は認められなかった。血管腫・血管奇形は、初期の検査・診断時に無症状であることが少ない疾患であり、その治療経過において不能あるいは不応となることが多い疾患であるということが「難治性症例＝重症例」とならない理由だと考えられる。また今回の研究結果は、診療を行っても直接病変の改善に結びつけることが困難なために、経年的に重症化していく血管腫・血管奇形の臨床経過の特殊性を示唆しているものと考えられた。

血管腫・血管奇形患者のなかで重症と診断される症例と難治性と判断される症例は、異なる要素として存在していることが明らかになった。そのため難病指定においては、難治性と重症という2つの要素をもった症例を抽出する必要がある。今後、重症度分類策定において難治性と重症という2つの要素を満たす症例を適正な人数に近づけることを目標に、重症度分類を見直し調整する必要があると考えられた。

「難治性血管腫・血管奇形についての調査研究」班の活動は、血管腫・血管奇形診療ガイドラインの作成、難治性血管奇形診断基準素案の作成、血管腫・血管奇形疾患の啓蒙のための疾患情報ホームページの作成など、多岐わたる。

多施設協力体制で行う、わが国初の血管腫・血管奇形患者の実態調査も研究班の主要な研究活動である。この調査結果をもとに治療指針を作成し、患者に対する施策を実行するための基本データも作成する計画である。手術と並んで硬化療法・塞栓術が血管奇形に対しては有効と考えられ、実際に多くの臨床成績を上げ

ている。しかしわが国ではその多くが保険認可されておらず、治療上の重要な問題となっている。わが国で現実に施行されている手術・硬化療法・塞栓術の施行件数を把握することは、硬化療法・塞栓術の保険認可のうえで重要なデータとなると予想される。

## まとめ

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）「難治性血管腫・血管奇形についての調査研究」の活動の一部を報告した。血管腫・血管奇形の治療法開発・承認、難治性疾患としての病態把握のための基盤形成を研究班は目指している。今回の研究の結果をふまえて全国規模の疫学調査を本年（2013）予定している。日本形成外科学会認定施設、教育関連施設、日本 IVR 学会 IVR 専門医修練認定施設に調査への参加を依頼する予定である。

カ久直昭

千葉労災病院形成外科

〒290-0003 千葉県市原市辰巳台東 2-16

E-mail: rikihisa@faculty.chiba-u.jp

利益相反：本研究は、平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）「難治性血管腫・血管奇形についての調査研究班 患者実態調査および治療法の研究」の資金を得て施行した。

## 文 献

- 1) Kohout, M.P., Hansen, M., Pribaz, J.I. & Mulliken, J.B.: Arteriovenous malformations of the head and neck: natural history and management. *Plast. Reconstr. Surg.*, **102**: 643~654, 1998.
- 2) 財団法人労災サポートセンター：労災補償 障害認定必携（第 15 版）. 56~64, 財団法人労災サポートセンター, 東京, 2011.
- 3) The Criteria Committee of the New York Heart Association: Nomenclature and Criteria for Diagnosis of Diseases of the Heart and Great Vessels (9th ed.). 253~256, Little, Brown & Co., Boston, 1994.
- 4) 千葉県健康福祉部障害福祉課：身体障害福祉法による診断書記要領. 3~6, 千葉県健康福祉部障害福祉課, 2010.
- 5) 日本肝臓学会：肝臓診療マニュアル（2 版）. 118~121, 医学書院, 東京, 2010.

## 四肢軟部血管奇形

## 2. 静脈奇形のポリドカノールを用いた硬化療法

川崎医科大学附属川崎病院 放射線科，岡山大学病院 放射線科<sup>1)</sup>  
 三村秀文，松井裕輔，宗田由子，道下宣成  
 藤原寛康<sup>1)</sup>，平木隆夫<sup>1)</sup>，郷原英夫<sup>1)</sup>，金澤 右<sup>1)</sup>

*Polidocanol Sclerotherapy for Venous Malformations*

*Department of Diagnostic Radiology, Kawasaki Hospital, Kawasaki Medical School*  
 Hidefumi Mimura, Yusuke Matsui, Yuko Soda, Norishige Michishita  
*Department of Radiology, Okayama University Medical School*  
 Hiroyasu Fujiwara, Takao Hiraki, Hideo Gobara, Susumu Kanazawa

**Key words** Venous malformation, Sclerotherapy, Polidocanol

## はじめに

静脈奇形に対する積極的な治療方法としては硬化療法，手術があるが，治療方針について明確なコンセンサスはない。硬化療法は低侵襲で術後の機能・形態の障害が少ないために，第一選択の治療になりつつあるが，本邦では保険診療未承認である。我々は硬化療法の中でも局所麻酔下に簡便に施行可能なポリドカノール硬化療法，特にポリドカノールフォーム硬化療法について述べる。

## 静脈奇形治療法の選択

硬化療法の適応は疼痛，腫脹，機能障害などの症状を有する病変，経過観察で急速に増大する病変など，積極的治療を要する病変である。非常に細かい血管腔から成る病変に対しては硬化療法の効果が得られにくく，手術が適している。頭頸部病変に対しては硬化療法後に整容目的のため手術が行われることが多い。当

施設では小学生低学年以下では全身麻酔下にポリドカノールフォームあるいはエタノール硬化療法を施行する。中学年以上では局所麻酔下のフォーム硬化療法あるいは全身麻酔下のエタノール硬化療法を選択する。

## 硬化剤の選択

硬化剤の種類，硬化作用の程度，注入時の疼痛，特徴的な合併症，推奨最大容量は表1のとおりである。硬化剤の選択方法として，大きい深部病変に対しては無水エタノール，小さく皮膚あるいは神経に近い場合はポリドカノール，エタノラミンオレイト，sodium tetradecyl sulfate (STS：日本国内で入手不可)，希釈したエタノールが適切であるかもしれない。ポリドカノールフォームは両者に使用可能で，多くのタイプの静脈奇形が対象となる。

ポリドカノールは下肢静脈瘤，食道静脈瘤に有効で保険認可されている。下肢静脈瘤に対しては液体のまま使用可能だが，最近ではフォームにして使用され

表1 硬化剤の比較

	Sclerosing power	Pain on injection	Characteristic complications	Maximum dosage (adult)
Absolute Ethanol	strong	severe	extravasation through venous walls - skin necrosis, nerve injury cardiovascular collapse	0.5~1 mL/kg
5% EO (Ethanalamine Oleate)	moderate	mild	hemolysis - hematuria, renal failure pulmonary toxicity	20 mL
3% STS (Sodium Tetradecyl Sulfate)	moderate	nearly painless	anaphylactic shock	4~10 mL
3% POL (Polidocanol)	weak	nearly painless	anesthetic effect - hypotension, bradycardia reversible cardiac arrest	0.07 mL/kg (2 mg/kg)

表2 製造メーカーによる静脈瘤径別の推奨ポリドカノール濃度(液体で使用した場合)

ポリドカノール濃度	静脈瘤径
0.5%	1mm未満
1%	1mm以上3mm未満
3%	3mm以上8mm以下

ることが多い。静脈瘤の径別のポリドカノール(液体)の推奨濃度は表2の通りである。フォーム作成に使用するポリドカノールの適切な濃度についてのコンセンサスは無い。

フォームとは硬化剤とガスを混和したものである。硬化剤としてはポリドカノール、STS、エタノラミンオレイトが使用され、ガスとしては炭酸ガス(CO<sub>2</sub>)あるいは空気(フィルターを通した室内空気)が使用される。フォームの利点としては硬化剤の表面積、硬化剤と血管内皮との接着性を増加させる。またフォームは血管攣縮をきたし、硬化剤の効果を高める。これらの利点により液体硬化剤の量を減らし、より太い血管に対して有効であると考えられる。

術前評価

疼痛があればその頻度を問診し、疼痛スコア(VAS: visual analog scaleあるいはNRS: numerical rating scale)を計測する。整容目的であれば写真により評価する。画像診断として超音波、MRIを行い、診断を確定し、病変の大きさ・深さや近接する重要臓器との関係を把握する。その他、血液検査(腎機能、凝固能を含む)、検尿を行う。

術前処置

当施設では術前処置として6時間絶食、2時間絶飲としている。成人に対しては手技の30分前に塩酸ヒドロキシジン(アダラックスP)25mg筋注を行い、手技直前にフェンタニル50μg静注を行う。前腕病変などコンパートメント症候群を来す危険性がある場合はステロイド投与を行う。術前より翌日までデキサメサゾン0.1mg/kg/8hr静注を行い、以後プレドニンを経口投与し一週間でテーパリングする。

疼痛のある患者に対しては、術前に疼痛・圧痛がある部位を囲むようにマーキングする。全体を一度に治療することが困難な大きい病変に対しては、疼痛がある部位を集中的に治療する必要がある、マーキングは特に重要である。

ポリドカノールフォーム硬化療法の手技

準備する器具としては23G翼状針、22G注射針に延長チューブ接続したもの、CO<sub>2</sub>ガスター、10mlシリンジ2個と三方活栓、超音波装置(7.5MHzプローブ)などである(図1)。

ポリドカノールフォームの作成方法は以下のとおりである。3%ポリドカノールとCO<sub>2</sub>を1:4の比率で混和する。10mlシリンジ2個と三方活栓を用い、20往復パンピングしてフォームを作成する(図2)。これは下肢静脈瘤フォーム硬化療法(Tessari法)の変法である。

超音波ガイド下に病変を穿刺し、逆流を確認後、造影剤を注入する。造影により血管腔内に針先があること、病変の形態、病変内血流停滞の程度、造影剤の必要量、病変内から流出静脈・深部静脈への造影剤の拡がりを観察する。必要があれば血流をコントロールし、DSA下に硬化剤を注入する(図3)。一般にフォームは

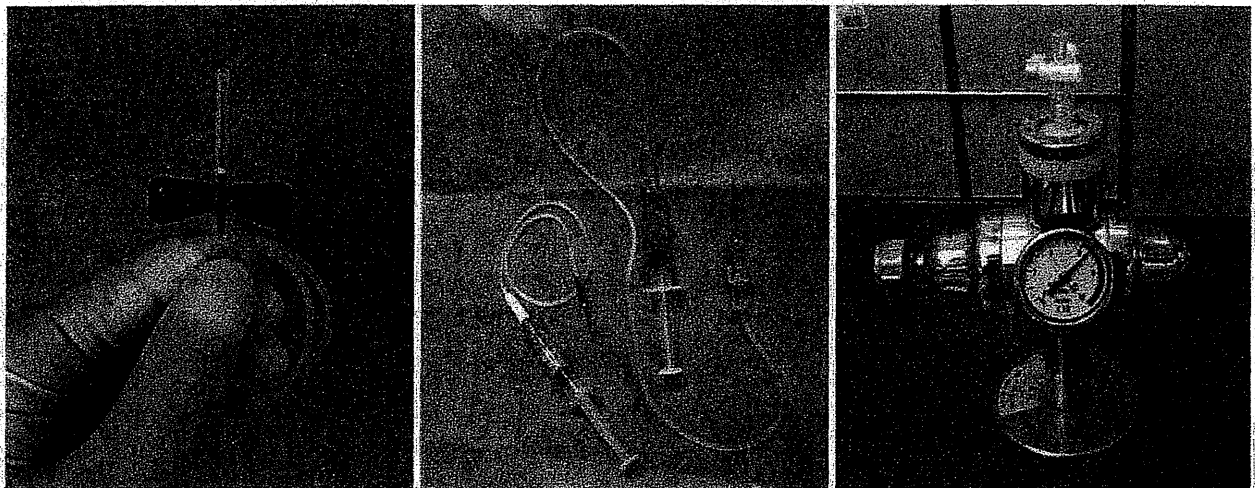


図1 準備する器具  
a, b: 23G翼状針(bでは翼をカットしている)、22G注射針と延長チューブ  
c: CO<sub>2</sub>ガスター





図2 ポリドカノールフォームの作成方法

- a: 3%ポリドカノールとCO<sub>2</sub>を1:4の比率で混和する。10mlシリンジ2個と三方活栓で20往復パソピングして作成する。  
b: 作成されたフォーム。

エタノールよりも硬化作用が弱く、効果の発現に時間を要し、血流コントロールが必要である。その方法としては駆血帯、ガーゼを巻いた鉗子、エアーターニケットなどを用いた流出静脈圧迫を行う。

ポリドカノールフォームの注入方法としては、成人では1回の注入量5ml以下で、DSAで流出静脈に流入しない程度の量を注入する。フォームはDSAで陰性造影剤として描出され、テスト注入した造影剤や延長チューブ内の造影剤が先行することにより、流出静脈を認識できる。必要があれば5分間隔を開け、2回目の注入を行う。複数箇所穿刺し、フォームを注入する。総注入量はCO<sub>2</sub>フォームの場合、成人で20ml程度(ポリドカノールにして2mg/kg)としている。空気を使用したフォームを使用する場合、1回注入量、総注入量共に減らす必要があり、下肢静脈瘤硬化療法のヨーロッパコンセンサスマーケティング(第2回)では空気を用いたフォーム使用量は1セッション当たり最大10mlにするように勧告している<sup>2)</sup>。

### 術後管理

前腕病変以外の四肢病変では術後3日間弾性包帯で圧迫する。術翌日皮膚、神経障害などの観察、血液検査、検尿(溶血の有無、腎障害のチェックなど)を行う。

### 術後評価

術後1ヵ月で合併症の有無、術後3ヵ月で症状・外観・画像を評価する。疼痛がある場合はVAS、NRSで評価する。表在病変や顔貌については写真による外観の評価を行う。病変の太きさの変化についてはMRIあるいは超音波検査による評価を行う。

### 成績

静脈奇形のポリドカノール(液体)硬化療法の報告と

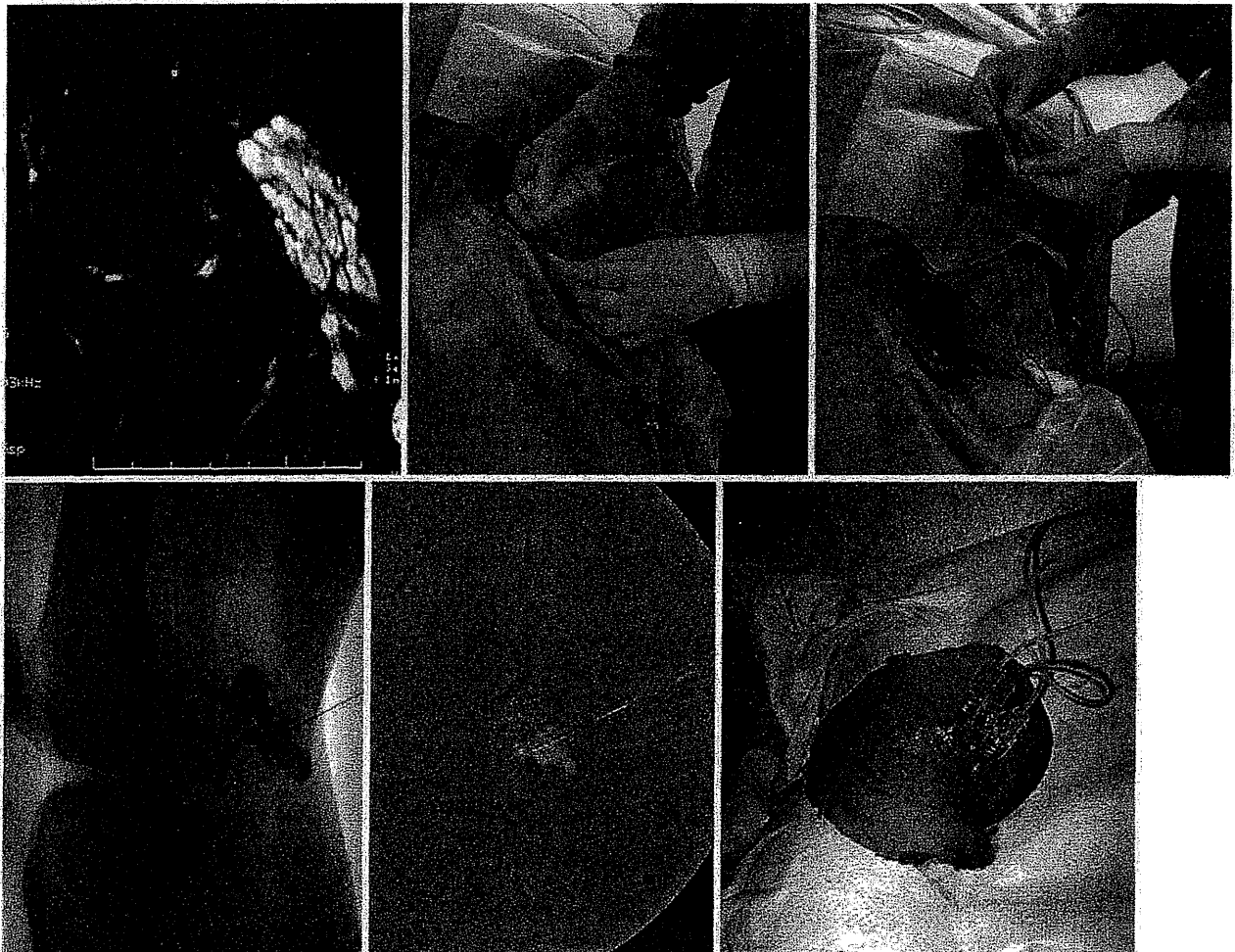
して、我々は32人の患者に対し同治療を行い、46ヵ月の平均観察期間で疼痛の改善を評価したところ、評価可能であった29人中26人(90%)で疼痛の改善がみられた。また静脈奇形のうち、10cm以下、境界明瞭、硬化剤の停滞が良好な病変で治療効果が高かったと報告した<sup>3)</sup>。重篤な合併症は見られず、皮膚壊死もなかった。しかしながらポリドカノールを過量に投与した患者で術中の四肢・口唇のしびれ、徐脈・血圧低下がみられ、ポリドカノールの使用可能な容量が少ないことが問題であった。

Cabreraら<sup>4)</sup>によると、静脈奇形に対してポリドカノールフォーム硬化療法を50人の患者に施行し、病変の縮小は50人中46人(92%)で得られ、疼痛の改善は39人全員で得られた、と報告している。合併症としては重篤なものではなく、皮膚壊死・軟部壊死は4人(8%)でみられた。

### 合併症とその対策

硬化療法の一時的な合併症として皮膚壊死、神経障害、深部静脈血栓症が挙げられる。硬化剤の血管外漏出による皮膚壊死を防ぐため、逆血の速度とテスト注入した造影剤をよく観察する。逆血がスムーズではなく、造影剤が病変内外の両方に分布する場合は硬化剤を注入しない。深部静脈血栓症の予防のために、血流コントロールにより深部静脈への硬化剤の流入を少なくする。逆に過度の駆血により硬化剤を深部静脈に暴露させないことも重要である。長時間の駆血は望ましくない。なお駆血を解除する際には硬化剤が大循環に流入するので、硬化剤による全身性の合併症にも注意が必要である。術後の皮膚壊死に対してはワセリンなどによる保湿を行う。神経障害の多くは一時的である。コンパートメント症候群を来す危険性がある場合は、前述の通りステロイド投与を行う。その他、小児に対

技術教育セミナー / 四肢軟部血管奇形



a	b	c
d	e	f
g		

図3 フォーム硬化療法の手技

- a: 膝窩部静脈奇形はMRI T2強調像で高信号を呈している。
- b: 超音波ガイド下に病変を穿刺する。
- c: 逆流を確認する。
- d: 造影剤を注入する。
- e: DSA下にフォームを注入する。フォームは陰性造影剤として観察される。
- f: 複数か所穿刺し、硬化剤を注入する。
- g: 硬化療法後、病変は縮小している。

しては被曝軽減に努める。

ポリドカノールによる合併症として術中の血圧低下、徐脈が挙げられる。これはポリドカノールの麻酔作用によると考えられる。さらに可逆性であるが心停止の報告があり<sup>9)</sup>、この症例では2mg/kgのポリドカノール(液体)をワンショットで注入されている。硬化剤の

注入量・注入速度に注意が必要である。ポリドカノールにより溶血を生じることがほとんどないが、血尿がみられれば補液を十分行う。

下肢静脈瘤に対するフォーム硬化療法の合併症として脳梗塞による不全片麻痺が報告されており、この患者では径18mmの卵円孔開存がみられ、左心系への

フォームの流入が原因と考えられた<sup>6)</sup>。この報告では空気を使用したフォーム20mlが使用されている。卵円孔開存は一般人の約20%に存在すると言われている。前述のコンセンサスメETINGでは既知の卵円孔開存はフォーム硬化療法の相対的禁忌であり、体位やフォーム使用量について特別な注意が必要であると勧告している。CO<sub>2</sub>を使用したフォームは空気を使用したフォームより安全と考えられる<sup>7)</sup>。CO<sub>2</sub>は毒性がなく、右心系に多量に注入することが可能であるが、空気と比較してフォームの消失が速い<sup>8)</sup>。

#### おわりに

静脈奇形の硬化療法は日本では保険診療未承認である。本治療の普及のためにはその必要性が広く認知されることが第一歩である。硬化療法を施行するには患者ケアが必須であり、外来診療を含めて関わるものが求められ、さらに形成外科をはじめとする関連各科との密接な関係の構築が必要である。

#### 【参考文献】

- 1) Tessari L, Cavezzi A, Frullini A: Preliminary experience with a new sclerosing foam in the treatment of varicose veins. *Dermatol Surg* 27: 58-60, 2001.
- 2) Breu FX, Guggenbichler S, Wollmann JC: 2nd European Consensus Meeting on Foam Sclerotherapy 2006, Tegernsee, Germany. *Vasa* 37 Suppl 71: 1-29, 2008.
- 3) Mimura H, Fujiwara H, Hiraki T, et al: Polidocanol sclerotherapy for painful venous malformations: evaluation of safety and efficacy in pain relief. *Eur Radiol* 19: 2474-2480, 2009.
- 4) Cabrera J, Cabrera J Jr, Garcia-Olmedo MA, et al: Treatment of venous malformations with sclerosant in microfoam form. *Arch Dermatol* 139: 1409-1416, 2003.
- 5) Marrocco-Trischitta MM, Guerrini P, Abeni D, et al: Reversible cardiac arrest after polidocanol sclerotherapy of peripheral venous malformation. *Dermatol Surg* 28: 153-155, 2002.
- 6) Forlee MV, Grouden M, Moore DJ, et al: Stroke after varicose vein foam injection sclerotherapy. *J Vasc Surg* 43: 162-164, 2006.
- 7) Morrison N, Neuhardt DL, Rogers CR, et al: Comparisons of side effects using air and carbon dioxide foam for endovenous chemical ablation. *J Vasc Surg* 47: 830-836, 2008.
- 8) Wollmann JC: The history of sclerosing foams. *Dermatol Surg* 30: 694-703, 2004.

## 四肢軟部血管奇形

## 1. AVMに対するエタノール塞栓療法

大阪大学大学院医学系研究科 放射線医学講座  
大須賀慶悟

*Ethanol Embolotherapy for Arteriovenous Malformations*

Department of Diagnostic and Interventional Radiology, Osaka University Graduate School of Medicine  
Keigo Osuga

**Key words** Arteriovenous malformation, Embolization, Ethanol

## はじめに

四肢・軟部の動静脈奇形(AVM)は、年齢とともに進行しやすく、シャント血流増加に伴い、疼痛・腫脹・潰瘍・出血・高拍出性心不全などの症状に至る。深部組織に浸潤して切除困難なことも多く、低侵襲的な塞栓療法が第一選択になる機会が増えつつある。塞栓療法では、血管構築と血行動態に応じた塞栓物質の選択が重要である。特に作用の強い無水エタノール(以下、エタノール)は、有効で再発率も低いとされる一方、重篤な合併症の報告もあり、その使用には十分な知識と技術・経験が求められる<sup>1,2)</sup>。本稿では、AVMのエタノール塞栓療法の実際について述べる。

## 塞栓療法の適応

症状軽微で変化に乏しい間は保存的に観察し、疼痛・機能障害や増大傾向を示す場合に治療を検討する。塞栓療法はしばしば反復を要するため、表在性の限局性病変では一期的な根治切除を勧める場合もある。切除適否は、術創や術後の機能障害の兼ね合いも含めて形成外科や整形外科と協議を行う。深在性の切除困難例では塞栓術が優先される。また、止血困難な出血時は、緊急塞栓術が必要になる。

## エタノールの特徴

タンパク変性や細胞固定作用を有するエタノールが血管壁に接触すると、障害を受けた内皮細胞が脱落する。内皮の脱落した血管腔では血栓が形成され閉塞にいたる。エタノールによる局所効果は注入速度によって異なり、急速注入(1~5cc/sec)では、局所組織毒性が強く、血管周囲の壊死、血管攣縮、内膜障害などをもたらす。一方、緩徐な注入(0.1cc/sec)では、主に破壊赤血球によるsludge形成による塞栓となる<sup>3)</sup>。エタ

ノールは、中枢神経毒性、低血糖、横紋筋融解、溶血、腎毒性、循環不全など全身副作用もあり、塞栓療法においては全身管理を要する。

## 禁忌

肝癌に対する経皮的エタノール注入療法用の市販薬の無水エタノール注フソー(扶桑薬品工業)の添付文書によると、絶対禁忌は、エタノール過敏症、原則禁忌は、重篤な肝障害(総ビリルビン値3mg/dl以上)、重篤な出血傾向とある。AVMに対する治療上は、重要な神経が隣接する部位、流出静脈の拡張が著明でエタノールや血栓の流出制御が困難な場合など、エタノールの投与は慎重にすべきである。

## エタノール塞栓療法

エタノールは、血流の早い状態では直ちに流れ去り、広い血管腔では希釈されるなど、その作用を十分發揮できない。動静脈短絡部(nidus)の血管内皮に高濃度のエタノールを十分接触させるよう、投与経路や血流コントロールを最適化すべきである。注入時の疼痛は非常に強く、全身麻酔が必要である。

血流コントロールの手段として、用手圧迫・ターケット駆血・バルーン閉塞などがある。但し、血流を完全に遮断するとエタノールが近位側の正常動脈枝に溢流する恐れがあるため、正常動脈枝までの十分な距離が確保できない場合は、静脈側への順行性血流を少し残すぐらいがよい。実際にエタノールを注入する前に、試験造影を行い、造影剤の挙動をよく観察し、必要注入量を推測する。圧迫や駆血の解除時に高濃度のエタノールや大量の血栓が一気に体循環に流出する危険もあるため、血流コントロールは定期的に解除する必要がある。

また、エタノールはX線透視下での視認性がないた