

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21591635

研究課題名（和文） リンパ管浮腫に対する細胞移植療法の臨床応用

研究課題名（英文） Clinical Application of cellular transplantation therapy for lymphatic edema

研究代表者

塩見 尚礼 (SHIOMI HISANORI)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号：70378462

研究成果の概要（和文）：リンパ浮腫はいまだ根治術の確立していない難病である。このリンパ浮腫に対する新しい治療法として細胞移植療法を考案し、動物実験での有用性を示した。本研究では臨床応用への足がかりをつかみ、引き続いて準備を継続している。

研究成果の概要（英文）：Lymphatic edema is an incurable disease which has not yet established a curative therapy. We devised the cell transplantation therapy as a new cure to it, and the usefulness in the animal experiment has been shown. We have prepared the clinical application of it in this project. We are continuing the preparation for it.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2009年度 | 1,800,000 | 540,000 | 2,340,000 |
| 2010年度 | 1,300,000 | 390,000 | 1,690,000 |
| 2011年度 | 500,000 | 150,000 | 650,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,600,000 | 1,080,000 | 4,680,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：(1)外科 (2)移植・再生医療 (3)リンパ浮腫

1. 研究開始当初の背景

リンパ管浮腫(またはリンパ浮腫)はリンパ管の低形成や閉塞あるいは機能不全によって、末梢組織間隙にリンパ液を貯留する病態であり、先天性のものと後天性のものがある。後天性リンパ浮腫は世界的にみるとフィラリア感染症によるものが最も多いが、本邦では外科手術や放射線治療などによって引き起こされるものが多い。特に外科領域では

乳癌の腋窩リンパ節郭清後に生じるものが最も多く見られ、約10%の頻度にみられるとされる。他に子宮手術後の患者をあわせると悪性疾患手術後によるものだけで8～12万人の患者数が予測されている1)。新しい治療法の開発が求められているが、保存的治療以外に有効な治療法が無く、現在でも治療困難な病態である。この現状に対して、当院でもリンパ浮腫外来を設立し、患者のケアにあ

たっている。

近年、先天性のリンパ管浮腫に対しリンパ管新生因子を投与することにより有効であったとする報告も散見されるが、これには同時に血管新生も来しうるという副作用を含んでいることも否めていない²⁾。我々は、リンパ管浮腫に対する新たな治療法として、細胞移植治療の可能性を検討するために、臨床応用可能な細胞ソースの確立、後天性リンパ浮腫動物モデルの作成とそれに対する細胞移植療法の確立、治療効果を検討する実験計画を立案し、平成19年度から2年間科学研究費を受けた（「リンパ管浮腫に対する細胞移植療法の基礎的検討」）。この研究により、まずヌードラット尻尾による安定した後天性リンパ管浮腫モデルの作成に成功した。次に乳癌患者から摘出した皮膚よりリンパ管内皮細胞を初代培養することに成功した。これを細胞ソースとしてリンパ管浮腫をきたしたラット尻尾に細胞移植療法を行ったところ、生理食塩水を注射するコントロール群にくらべて有意な浮腫の軽減を認めた。

2. 研究の目的

今年度より、われわれはこれまでの基礎研究の成果を更に臨床試験にもっていくTranslational Researchに着手開始し、検討を開始した。具体的には、ヌードラットを用いた細胞ソースの発癌モニター、より実現可能な細胞ソースの開発として骨髄由来幹細胞のリンパ管内皮細胞への分化誘導、計測以外のリンパ浮腫の評価方法である。

3. 研究の方法

(1) 細胞ソースに関する検討

まず、皮膚リンパ管内皮細胞の分化誘導技術は既に確立しており、実験への安定的供給

が可能となっている。さらに培養する際には牛胎児血清ではなく、患者から供与された血清を用いることが出来るように検討を加える。別の細胞ソースとしては、既に我々が確立している骨髄間質幹細胞を用いることを目標とし、リンパ管内皮細胞への分化誘導に着手する。分化誘導の方法、評価のため、リンパ管内皮細胞の発現遺伝子をマイクロアレイにて検討する。分化誘導が困難な場合は骨髄間質幹細胞をそのままリンパ管浮腫モデルに細胞移植する。

(2) 造腫瘍性がないこと、癌のプロモーターでないことの証明

リンパ管内皮細胞をヌードラットに移植し、6ヶ月間観察して造腫瘍性がないことを確認する。さらにヌードラット乳がん細胞皮下移植モデルにリンパ浮腫モデルを作製し、リンパ管内皮細胞移植を行っても癌の進行を加速させないか観察を行う。

(3) リンパ浮腫の評価方法の確立

本研究では、世界で唯一、本学で稼働しており、手術支援に用いている縦型オープンMRI装置を用いる評価法を開発する。すなわち患肢よりMRI造影剤を皮下投与し、その動態をリアルタイムMRIで描出可能かどうかを評価する。

(4) 臨床導入

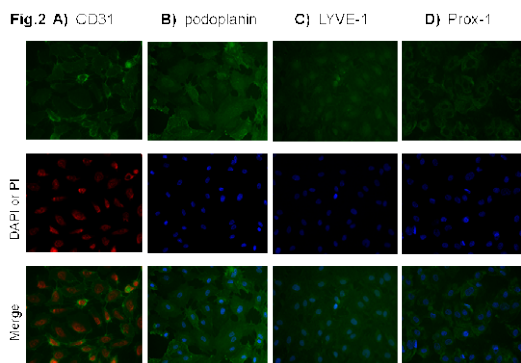
投与する細胞の造腫瘍性を否定し、細胞の調整に使用する薬剤の人体への影響を否定し得た後、当学倫理委員会に申請する。許可が下りた後、リンパ浮腫外来通院中の患者より希望を募り、十分なインフォームドコンセントの後、細胞移植療法を行う。

4. 研究成果

(1) 細胞ソースに関する検討

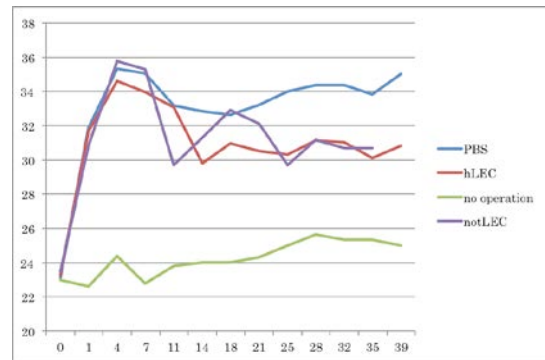
皮膚リンパ管内皮細胞の培養を更に効

率化する方法を検討した。これまで数種類の成長因子を試したが、hEGF, VEGF, hFGF-b, R3-IGF, ハイドロコーチゾンの組み合わせが最も効率的であった。患者から供与された血清を用いての培養にも着手したが、FBSを用いたときよりも培養が困難であり、更なる検討が必要であった。別の細胞ソースとして、骨髄間質幹細胞を用いてリンパ管内皮細胞への分化誘導に着手したが、リンパ管内皮細胞への誘導にはまだ成功していない。これらに関しては持ち越し課題とした。



皮膚リンパ管内皮細胞の患者から供与された血清を用いる培養法を確立するための検討をおこなった。皮膚リンパ管内皮細胞のヒト血清を用いた培養が可能であったが、長期間の培養が困難であった。骨髄間質幹細胞を用いたリンパ管内皮細胞への分化誘導を確立するため、骨髄間質幹細胞を用いてリンパ管内皮細胞への分化誘導の検討を行った。これらに関して、さらなる検討を加えていくことにした。

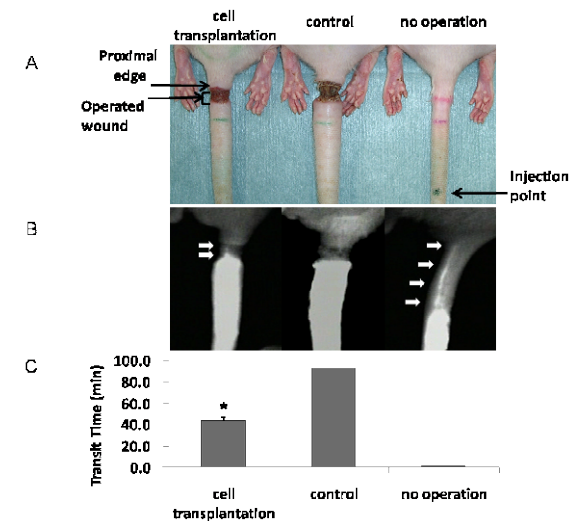
骨髄間質幹細胞を用いたリンパ管内皮細胞への分化誘導の確立実験を継続して行った。ソートしていないヒト皮下細胞群をリンパ管浮腫モデルに細胞移植したところ、リンパ管内皮細胞のみに比べて治療効果が悪かったことより、リンパ管内皮細胞の重要性が証明された。



(2) 造腫瘍性がないこと、癌のプロモーターでないことの証明

リンパ管内皮細胞をヌードラットに移植し、12ヶ月間以上観察して造腫瘍性がないことを確認した。

リンパ管内皮細胞皮下移植は、皮下移植したヒト乳癌細胞株の進行を進行させない事を確認した。



(3) リンパ浮腫外来の整備

リンパ浮腫外来に通院中の患者さんのデータベースを作成し、「リンパ浮腫外来」の整備を行った。

新しいリンパ浮腫の評価方法として、MRI装置を用いた造影法を検討した。健常人ボランティアの下肢を用いてリンパ管造影を行い、MRIを用いて撮像した。現在MRI下でリンパ管造影を行える造影剤は本邦で入手できず、患者患肢をもちいての造影は行えなかった。

MRI 装置を用いて、健常人の足背より皮下投与した Gd の動態を観察した。MRI によるリンパ管造影の可能性が示唆された。しかし MRI は被爆がなく、検査法として確立した場合のメリットは大きいと考えられ、今後さらに検討を続けていくことにした。

(4) 臨床応用

臨床応用に際する課題として投与する細胞の造腫瘍性を否定した。しかし細胞の調整に使用する薬剤の人体への影響が否定し得ないため、継続して検討を行うことにした。昨年度より、当院リンパ浮腫外来通院患者のデータベース作製を継続して行っており、我々の基礎的な検討を紹介するなど、臨床試験に参加しやすい環境作りを行った。

引き続きリンパ浮腫外来通院中の患者にたいする患者教育、データベースの作製を行った。患者会を行い、今後の臨床研究の為に足がかりを行った。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 29 件)

1. 服部聖子、再発がん患者の意思決定支援「患者と家族の治療に対する考え方が違う場合」、がん患者ケア 査読なし、第 3 巻第 2 号 2009. 11・12 月号、27-30
2. 服部聖子、最新！がん看護 Q&A がん患者にアロマセラピーマッサージを施行する際の注意点は？、看護技術 査読なし、56 巻 5 号 2010 4 月臨時増刊号、136-137
3. 服部聖子、最新！がん看護 Q&A 都道府県がん診療連携拠点病院と地域がん診

療連携拠点病院の役割と機能は？、看護技術 査読なし、56 巻 5 号 2010 4 月臨時増刊号、172-173

4. Yanagimoto H, Shiomi H, Satoi S, Mine T, Toyokawa H, Yamamoto T, Tani T, Yamada A, Kwon AH, Komatsu N, Itoh K, Noguchi M. A phase II study of personalized peptide vaccination combined with gemcitabine for non-resectable pancreatic cancer patients. Oncol Rep. 2010 Sep;24(3):795-801. 査読有
 5. 塩見尚礼、谷 徹：結紮クリップ・手術・64(6)：763～766・2010 査読なし
 6. 橋井梨沙、服部聖子ほか：乳がん術後患者に対するリンパ浮腫予防指導の認識と退院後のセルフケア行動との関連，第 41 回日本看護学会論文集 成人看護 II，査読なし、日本看護協会，2010.
 7. 服部聖子、婦人科がんの術後に併発する後遺症へのセルフケア リンパ浮腫ケア、がん看護、査読なし 16, 575-578, 2011
 8. 橋井梨沙(滋賀医科大学医学部附属病院)，中江紘美，服部聖子，今堀智恵子，金城真一，宮松直美、乳がん術後患者に対するリンパ浮腫予防指導の認識と退院後のセルフケア行動との関連、日本看護学会論文集：成人看護 II(1347-8206)，査読なし 41, 209-212, 2011
- [学会発表] (計 30 件)
1. 河合由紀、塩見尚礼，糸井尚子，阿部

- 元, 来見良誠, 谷徹、リンパ浮腫に対する細胞移植治療の検討、日本外科学会 2009. 4. 4
2. 服部聖子、乳癌患者のリンパ浮腫外来における受診行動、第 17 回日本乳癌学会学術総会、2009/7/3
 3. 服部聖子, 今堀智恵子, 橋井梨沙, 中江紘美, 阿部 元: リンパ浮腫予防指導を受けた乳がん術後患者のセルフケア状況・第 18 回日本乳癌学会学術総会・2010 年 6 月 24 日北海道ロイトン札幌
 4. 梅田朋子, 阿部 元, 田中麻紀子, 河合由紀, 森 毅, 張 弘富, 来見良誠, 谷 徹: プラスチック半球を用いた、赤外線側光法によるセンチネルリンパ節生検の検討・第 18 回日本乳癌学会学術総会・2010 年 6 月 24 日北海道ロイトン札幌
 5. 河合由紀: ラットリンパ浮腫モデルにおける細胞移植治療の検討・2010 がんプロサマーキャンプ・2010/11/12
 6. 梅田朋子, 河合由紀, 来見良誠, 谷 徹, 遠藤 衛: 下肢リンパ浮腫に対して漢方薬と理学・物理療法の併用が有効であった 3 例・第 72 回日本臨床外科学会総会・2010/11/22 神奈川県 パシフィコ横浜
 7. 醍醐弥太郎, 高野淳, 小林遊, 龍神慶, 服部聖子, 千葉幹夫, 森田幸代, 遠藤善裕, 切れ目のない緩和ケア 生活と医療をどうつなげるか 滋賀医科大学病院における緩和ケアチームの取り組みと地域連携緩和ケアの推進に向けた方策、日本緩和医療学会学術大会、2011/6, 北海道
- [図書] (計 6 件)
1. 塩見尚礼, 仲 成幸, 赤堀 浩也, 徳田彩、腹腔鏡下肝切除術 滋賀医科大学医学部附属病院 内視鏡外科の実際 35～38、特定非営利活動法人 未来医療推進医療支援ネットワーク、2012
 2. 塩見尚礼, 仲 成幸, 赤堀 浩也, 生田大二、腹腔鏡下膵切除術 滋賀医科大学医学部附属病院 内視鏡外科の実際 :39～42、特定非営利活動法人 未来医療推進医療支援ネットワーク、2012
 3. 塩見尚礼, 仲 成幸, 赤堀 浩也, 北村美奈、単孔式腹腔鏡下胆のう摘出術 滋賀医科大学医学部附属病院 内視鏡外科の実際 :43～47、特定非営利活動法人 未来医療推進医療支援ネットワーク、2012
 4. 塩見尚礼, 仲 成幸, 仲 成幸, 赤堀 浩也, 前平 博光、特定非営利活動法人 未来医療推進医療支援ネットワーク、蛍光法を用いた肝切除術 滋賀医科大学医学部附属病院 ナビゲーション外科医療 ;16～18、特定非営利活動法人 未来医療推進医療支援ネットワーク、2012
6. 研究組織
 (1) 研究代表者
 塩見 尚礼 (SHIOMI HISANORI)
 滋賀医科大学・医学部・助教
 研究者番号: 70378462

(2)研究分担者

谷 徹 (TANI TOHRU)
滋賀医科大学・医学部・教授
研究者番号：20179823

来見 良誠 (KURUMI YOSHIMASA)
滋賀医科大学・医学部・教授
研究者番号：70205219

服部 聖子 (HATTORI SEIKO)
滋賀医科大学・医学部・看護師
研究者番号：10437121

河合由紀子 (KAWAI YUKIKO)
滋賀医科大学・医学部・医員
研究者番号：10581944