

令和元年6月18日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11351

研究課題名(和文) 難治性リンパ管腫に対する分子標的治療と光線力学療法を併用した新規低侵襲治療の開発

研究課題名(英文) Molecularly targeted therapy and photo dynamic therapy for refractory lymphangioma

研究代表者

文野 誠久 (Fumino, Shigehisa)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：40405254

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：難治性リンパ管腫に対する新規治療として、リンパ管腫ラットモデルを用いた光線力学療法およびmTOR阻害薬の治療効果の検討を試みた。しかし、リンパ管腫細胞の培養およびラットでの生着について技術的な問題があり困難であった。そこで、本研究課題においては臨床例におけるシロリムス療法の開発を主に行った。具体的には、リンパ管腫患者において、シロリムスを血中濃度5.0ng/mLを維持するように、1日1回投与し、投与前、6ヶ月、12ヶ月でMRIおよび臨床症状にて治療効果判定を行った。研究成果については今後発表予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在特許出願および臨床研究の一環であるため、結果を公表することはできないが、本研究はリンパ管腫治療を大きく変える可能性がある。

研究成果の概要(英文)：This study was attempted to develop molecularly targeted therapy and photo dynamic therapy for refractory lymphangioma. Though, the technical difficulty was proved in the development of rat model. Finally, we attempted clinical application of mTOR inhibitor for patients with refractory lymphangioma. The results of this study is due to be released in near future.

研究分野：小児外科

キーワード：リンパ管腫 小児外科

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

リンパ管腫研究は、これまで適切な疾患モデルが確立されておらず、そのため治療研究は経験則によるものが多く、めざましい進歩に欠けていた。しかし、21世紀に入りリンパ管特異的マーカーの発見を契機にリンパ管の基礎研究が急速に発展してきた。また、リンパ管腫モデル動物もそれをきっかけに近年報告が増えてきており、ここにきてリンパ管腫治療モデルによる新規治療開発が可能な土壌が成熟しつつある。本研究においては、リンパ管腫に対する外科治療、薬物治療に加わる第三の治療法として、近年癌治療において研究が進んできている光線力学療法 (PDT) に新たに注目し、その検証のために動物実験モデルを用いることとした。その方法も安全な 5-ALA を局注した上での体表からの LED 照射であり、臨床応用されれば、外来でも施行可能な治療である。また、mTOR 阻害剤は、インターフェロンやステロイドなどの他の免疫抑制剤と比べて比較的安全ではあるものの、副作用として高脂血症や免疫抑制作用があり、長期連用や高濃度投与に関して安全性は担保されていないが、PDT の併用により投与期間や投与量を減ずることができる可能性がある。さらにこれらの治療は、すでに確立されている硬化療法や手術療法との併用も可能であり、本研究においてはこれら既存の治療法を統合して、新たな治療戦略を確立することを最終目標としている。

### 2. 研究の目的

Su et al の方法に準じて、リンパ管腫モデルラットを作成する。ラット成体の頸部皮下と口腔底に FIA および VEGF-C を投与し、嚢胞状リンパ管腫組織を作成する。

光増感物質 5-ALA のリンパ管腫病変に対する蓄積性、蛍光寿命を評価した後、病変部の LED 光源照射を行う。エコーでモニターを行い、治療後 28 日目に犠牲死させて組織学的評価を行う。また、Sirolimus 誘導体 Everolimus をモデルラットに連日 2 日間経口投与し、同様に評価する。

mTOR 阻害剤および PDT 併用療法として、Day0 に PDT、Day1,2 に Everolimus 投与を行い、同様に評価する。

以上により、本研究では、5-ALA と発光ダイオードを用いた PDT に mTOR 阻害剤である Sirolimus を併用する、安全性が高く侵襲性の極めて低いリンパ管腫に対する新規治療法の開発を当初の目的とした。

### 3. 研究の方法

当初の研究プランに沿って、リンパ管腫ラットモデルも開発を試みたが、リンパ管腫細胞の培養およびラットでの生着について技術的な問題があり困難であった。

そこで、本研究課題においては臨床例におけるシロリムス療法の開発を主に行った。

具体的には、リンパ管腫患者において、シロリムスを血中濃度 5.0ng/mL を維持するように、1日1回投与し、投与前、6ヶ月、12ヶ月で MRI および臨床症状にて治療効果判定を行った。

### 4. 研究成果

最終的に6例の臨床例に対して mTOR 阻害薬による分子標的治療を行った。結果については、臨床研究として今後成果を公表予定であり、現時点ではまだ公表できないが、本課題から得られた新たな知見は、リンパ管腫治療を革新的に変えうる可能性がある。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計7件)

- 1) Takeuchi T, Tanaka T, Higashi M, Fumino S, Iehara T, Hosoi H, Sakai T, Tajiri T: In vivo effects of short-and long-term MAPK pathway inhibition against neuroblastoma. J Pediatr Surg, 53: 2454-2459, 2018. DOI:10.1016/j.jpedsurg.2018.08.026 査読有
- 2) Wakao J, Kishida T, Fumino S, Kimura K, Yamamoto K, Kotani S, Mizushima K, Naito Y, Yoshikawa T, Tajiri T, Mazda O: Efficient direct conversion of human fibroblasts into myogenic lineage induced by co-transduction with MYCL and MYO1. Biochem Biophys Res Commun, 488: 368-373, 2017.
- 3) Fumino S, Sakai K, Higashi M, Aoi S, Furukawa T, Yamagishi M, Inoue M, Iehara T, Hosoi H, Tajiri T: Advanced surgical strategy for giant mediastinal germ cell tumor in children. J Pediatr Surg Case Rep, 27: 51-55, 2017.
- 4) Fumino S, Maniwa J, Takeuchi Y, Sakai K, Higashi M, Aoi S, Furukawa T, Kimura O, Tajiri T: Surgical intervention and perioperative risk factors of retroperitoneal teratomas in children: a single institution experience. Pediatr Surg Int 32: 909-914, 2016.
- 5) Tanaka T, Higashi M, Kimura K, Wakao J, Fumino S, Iehara T, Hosoi H, Sakai T, Tajiri T: MEK inhibitors as a novel therapy for neuroblastoma: Their in vitro effects and predicting their efficacy. J Pediatr Surg 51: 2074-2079, 2016.
- 6) Kimura K, Kishida T, Wakao J, Tanaka T, Higashi M, Fumino S, Aoi S, Furukawa T, Mazda O, Tajiri T: Tumor-homing effect of human mesenchymal stem cells in a TH-MYCN mouse model of neuroblastoma. J Pediatr Surg 51: 2068-2073, 2016.

- 7) Furukawa T, Sakai K, Higashi M, Fumino S, Aoi S, Tajiri T: Thoracoscopic resection of an ectopic mediastinal parathyroid adenoma utilizing a gamma probe and intraoperative parathyroid hormone monitoring in a child. JLAST Part B, Videoscapy 26: 2016.

〔学会発表〕(計 30 件)

- 1) Tanaka T, Takeuchi Y, Higashi M, Fumino S, Iehara T, Hosoi H, Sakai T, Tajiri T: The Utility of Phosphorylated ERK Immunohistochemical Staining for Selecting MEK Inhibitor -Sensitive Neuroblastoma Patients. Advances in Neuroblastoma Research 2018, 2018 May 9- 12; San Francisco, USA.
- 2) Kim K, Higashi M, Tanaka M, Fumino S, Tajiri T: Derivation of neural stem-like and neural crest-like cells from infantile immature teratoma. 51th Annual Meeting of the Pacific Association of Pediatric Surgeons, 2018 May 13-17; Sapporo, Japan.
- 3) Takeuchi Y, Tanaka T, Higashi M, Fumino S, Iehara T, Hosoi H, Sakai T, Tajiri T: Preclinical trials of short- & long-term MAPK pathway inhibitors against neuroblastoma. 51th Annual Meeting of the Pacific Association of Pediatric Surgeons, 2018 May 13-17; Sapporo, Japan.
- 4) Fumino S, Sakai K, Higashi M, Aoi S, Furukawa T, Tonomura H, Shirai T, Iehara T, Hosoi H, Tajiri T: Laparoscopy-assisted abdomino-posterior approach for en bloc resection of sacrococcygeal germ cell tumors in children. 50th Congress of the International Society of Paediatric Oncology (SIOP), 2018 Nov 17; Kyoto, Japan.
- 5) 文野誠久, 坂井宏平, 東真弓, 青井重善, 古川泰三, 田尻達郎: リンパ管腫に対する集学的治療の中の OK-432 硬化療法の位置づけ. 第 118 回日本外科学会, 2018 年 4 月 7 日; 東京.
- 6) 瀧本篤朗, 文野誠久, 竹本正和, 坂井宏平, 東真弓, 青井重善, 古川泰三, 田尻達郎: 小腸捻転を起こしたびまん性腸間膜リンパ管腫の一例. 第 54 回小児外科学会近畿地方会, 2018 年 8 月 25 日; 兵庫.
- 7) 文野誠久, 富樫佑一, 高山勝平, 古川泰三, 坂井宏平, 東真弓, 青井重善, 杉山庸一郎, 平野 滋, 田尻達郎: 巨大頸部リンパ管腫切除における Nerve Integrity Monitor (NIM) による顔面神経モニタリングの使用経験. 第 38 回日本小児内視鏡外科・手術手技研究会, 2018 年 10 月 26 日; 東京.
- 8) Wakao J, Kishida T, Fumino S, Kimura K, Higashi M, Aoi S, Furukawa T, Mazda O, Tajiri T. The Direct Conversion of Human Fibroblasts Toward the Myogenic Cell Lineage: The implications of Diaphragmatic Regeneration. 50th Annual Meeting of the Pacific Association of Pediatric Surgeons, 2017 May 28-June 1; Seattle, USA.
- 9) Fumino S, Sakai K, Higashi M, Aoi S, Furukawa T, Yamagishi M, Inoue M, Iehara T, Hosoi H, Tajiri T: Advanced Surgical Strategy for Giant Mediastinal Germ Cell Tumor in Children. 50th Annual Meeting of the Pacific Association of Pediatric Surgeons, 2017 May 28-June 1; Seattle, USA.
- 10) Tanaka T, Takeuchi Y, Higashi M, Fumino S, Iehara T, Hosoi H, Sakai T, Tajiri T. Immunohistochemical analysis of pre- and post-chemotherapeutic ERK phosphorylation in clinical neuroblastoma samples. 3rd Asia-Pacific International Symposium of Neuroblastoma, 2017 Oct 6; Tokyo, Japan.
- 11) Takeuchi Y, Tanaka T, Higashi M, Fumino S, Iehara T, Hosoi H, Sakai T, Tajiri T. Preclinical study of novel MEK inhibitors on neuroblastoma and the biomarker for their therapeutic effects in neuroblastoma xenograft mice. 3rd Asia-Pacific International Symposium of Neuroblastoma, 2017 Oct 6; Tokyo, Japan.
- 12) Fumino S, Sakai K, Higashi M, Aoi S, Furukawa T, Yamagishi M, Inoue M, Iehara T, Hosoi H, Tajiri T: Current surgical intervention for pediatric giant mediastinal germ cell tumors. 49th Congress of the International Society of Paediatric Oncology (SIOP), 2017 Oct 12-16; Washington DC, USA.
- 13) 文野誠久, 田尻達郎: リンパ管腫に対する非手術的治療としての OK-432 硬化療法の有効性と集学的治療の中の位置づけ【パネルディスカッション 小児外科領域治療手術 vs 非手術リンパ管腫】. 第 79 回日本臨床外科学会総会, 2017 年 11 月 25 日; 東京.
- 14) 古川泰三, 坂井宏平, 東真弓, 文野誠久, 青井重善, 木村 修, 田尻達郎: 当院におけるリンパ管腫自然退縮症例の検討. 第 117 回日本外科学会, 2017 年 4 月 29 日; 横浜.
- 15) Tanaka T, Higashi M, Kimura K, Wakao J, Fumino S, Iehara T, Hosoi H, Sakai T, Tajiri T: MEK inhibitors as a novel therapy for neuroblastoma: Their in vitro effects & predicting their efficacy. 49th Annual Meeting of the Pacific Association of Pediatric Surgeons (PAPS), 2016 May 17-21; Kauai, USA.
- 16) Fumino S, Maniwa J, Takeuchi Y, Sakai K, Higashi M, Aoi S, Furukawa T, Kimura O, Tajiri T: Surgical management and perioperative risk factors of retroperitoneal teratomas in children: A single institution experience. 49th Annual Meeting of the

- Pacific Association of Pediatric Surgeons (PAPS), 2016 May 17-21; Kauai, USA.
- 17) Furukawa T, Sakai K, Higashi M, Fumino S, Aoi S, Kimura O, Ozeki M, Tajiri T: A clinical trial of low-dose mTOR inhibitor therapy for the treatment of children with refractory lymphatic anomaly. 49th Annual Meeting of the Pacific Association of Pediatric Surgeons (PAPS), 2016 May 17-21; Kauai, USA.
  - 18) Kimura K, Kishida T, Wakao J, Tanaka T, Higashi M, Fumino S, Aoi S, Furukawa T, Mazda O, Tajiri T: Tumor-homing effect of human mesenchymal stem cells in a TH-MYCN mouse model of neuroblastoma. 49th Annual Meeting of the Pacific Association of Pediatric Surgeons (PAPS), 2016 May 17-21; Kauai, USA.
  - 19) Furukawa T, Fumino S, Sakai K, Higashi M, Aoi S, Tajiri T: Thoracoscopic resection of ectopic mediastinal parathyroid adenoma utilizing gamma probe and intraoperative PTH monitoring in a child. IPEG's 25th Annual Congress for Endosurgery in Children, 2016 May 26; Fukuoka, Japan.
  - 20) Fumino S, Maniwa J, Takeuchi Y, Sakai K, Higashi M, Aoi S, Furukawa T, Kimura O, Tajiri T: Perioperative management and surgical intervention for retroperitoneal teratomas in children. 48th Congress of the International Society of Paediatric Oncology (SIOP), 2016 Oct 19-22; Dublin, Ireland.
  - 21) Fumino S, Maniwa J, Takeuchi Y, Sakai K, Higashi M, Aoi S, Furukawa T, Kimura O, Tajiri T: Retroperitoneal teratomas in children: still challenging for surgeons. 40th World Congress of the International College of Surgeons, 2016 Oct 24-26; Kyoto, Japan.
  - 22) Higashi M, Sakai K, Fumino S, Aoi S, Furukawa T, Tajiri T: JNK-STAT3 pathway in neuroblastoma. 40th World Congress of the International College of Surgeons, 2016 Oct 24-26; Kyoto, Japan.
  - 23) Tanaka T, Higashi M, Wakao J, Kimura K, Fumino S, Iehara T, Hosoi H, Sakai T, Tajiri T: Immunohistochemical staining of phosphorylated-ERK as a predictor of therapeutic effects of MEK inhibitors on neuroblastoma. 40th World Congress of the International College of Surgeons, 2016 Oct 24-26; Kyoto, Japan.
  - 24) Maniwa J, Fumino S, Tanaka T, Sakai K, Higashi M, Aoi S, Furukawa T, Iehara T, Hosoi H, Tajiri T: Surgical strategy of pediatric epithelial ovarian tumors. 40th World Congress of the International College of Surgeons, 2016 Oct 24-26; Kyoto, Japan.
  - 25) Kimura O, Furukawa T, Fumino S, Aoi S, Tajiri T: Treatment strategies for different types of lymphangioma. 28-years experience in a single institution. 68th Annual Autumn Congress of the Korean Surgical Society, 2016 Nov 3-5, Seoul, Korea.
  - 26) Tajiri T: Progress of clinical study group for neuroblastoma in Japan -from JNBSG to JCCG neuroblastoma committee- [Key note lecture]. 24th Congress of the Asian Association of Pediatric Surgeons, 2016 May 24-26; Fukuoka, Japan.
  - 27) 古川泰三, 竹内雄毅, 坂井宏平, 東 真弓, 文野誠久, 青井重善, 田尻達郎: 出生前より診断された臀部リンパ管奇形の乳児例【パネルディスカッション; 難治症例】. 第 13 回日本血管腫血管奇形学会学術集会 2016 年 5 月 20 日; 石垣島.
  - 28) 文野誠久, 坂井宏平, 東 真弓, 青井重善, 古川泰三, 田尻達郎: リンパ管腫に対する漢方製剤の臨床的効果. 第 21 回京滋小児外科フォーラム 2016 年 7 月 22 日; 京都.
  - 29) 神部浩輔, 高山勝平, 文野誠久, 坂井宏平, 東 真弓, 青井重善, 古川泰三, 田尻達郎: 単孔式腹腔鏡手術で全摘し得た巨大大網嚢腫の一例. 第 52 回小児外科学会近畿地方会 2016 年 8 月 27 日; 大阪.
  - 30) 文野誠久, 坂井宏平, 東 真弓, 青井重善, 古川泰三, 田尻達郎: 当科におけるリンパ管腫に対する漢方製剤の臨床的効果とその位置づけ. 第 21 回日本小児外科漢方研究会 2016 年 10 月 28 日; 埼玉.
- [ 図書 ] (計 8 件)
- 1) 田尻達郎: 第 22 章小児腫瘍 B 神経芽腫. 標準小児外科学第 7 版 医学書院, 東京: pp328-334, 2017.
  - 2) 田尻達郎: 第 22 章小児腫瘍 G 悪性リンパ腫. 標準小児外科学第 7 版 医学書院, 東京: pp359-360, 2017.
  - 3) 田尻達郎: 第 22 章小児腫瘍 I その他の良性腫瘍. 標準小児外科学第 7 版 医学書院, 東京: pp366-367, 2017.
  - 4) 田尻達郎: 術前化学療法の影響とリスク評価. スタンダード小児がん手術 臓器別アプローチと手技のポイント メジカルビュー社, 東京: pp11-14, 2017.
  - 5) 文野誠久: 生検手技の基本. スタンダード小児がん手術 臓器別アプローチと手技のポイント. メジカルビュー社, 東京: pp26-29, 2017.
  - 6) 文野誠久, 田尻達郎: 【小児科ケースカンファレンス】 . 血液, 腫瘍 固形腫瘍 (神経芽腫). 小児科診療 80 巻増刊 診断と治療社, 東京: pp305-308, 2017.
  - 7) Tajiri T: Part Tumors 60 Neuroblastoma. Operative general surgery in neonates and infant. Springer, Tokyo: 365-370, 2016.

- 8) 文野誠久, 田尻達郎:【 . 血液・腫瘍性疾患】性腺腫瘍 小児疾患診療のための病態生理  
3\_改訂第 5 版\_東京医学社, 東京: 1020-1023, 2016 .

〔産業財産権〕

該当無し

〔その他〕

該当無し

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名: 古川 泰三

ローマ字氏名: ( FURUKAWA Taizo )

所属研究機関名: 京都府立医科大学

部局名: 医学 ( 系 ) 研究科 ( 研究院 )

職名: 講師

研究者番号 ( 8 桁 ): 20515291

研究分担者氏名: 東 真弓

ローマ字氏名: ( HIGASHI Mayumi )

所属研究機関名: 京都府立医科大学

部局名: 医学 ( 系 ) 研究科 ( 研究院 )

職名: 助教

研究者番号 ( 8 桁 ): 10380453

研究分担者氏名: 田尻 達郎

ローマ字氏名: ( TAJIRI Tatsuro )

所属研究機関名: 京都府立医科大学

部局名: 医学 ( 系 ) 研究科 ( 研究院 )

職名: 教授

研究者番号 ( 8 桁 ): 80304806

### (2)研究協力者

該当無し

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。