

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：13802  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2014～2016  
課題番号：26462103  
研究課題名(和文) 浮腫におけるPhlebolymphedemaの病態解明

研究課題名(英文) Analysis of phlebolymphedema in edema

## 研究代表者

山本 尚人 (Yamamoto, Naoto)

浜松医科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80402262

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：リンパ浮腫モデルを用いリンパ鬱滞が静脈壁に及ぼす影響を調べた。ラット大腿静脈周囲のリンパ組織を結紮し、静脈周囲組織のリンパ鬱滞を作成。大腿静脈と周囲組織を採取し、質量顕微鏡で脂質沈着を調べた。

モデル作成後リンパ管は著明に拡張した。質量分析で静脈周囲脂質沈着に変化があった。モデル側では lysophosphatidylcholine、phosphatidylcholine、triglyceridesが静脈周囲に沈着し、大腿静脈壁は3-4倍肥厚し、TNF- $\alpha$ 陽性の脂肪細胞数が静脈周囲組織に増加していた。リンパ鬱滞が静脈壁に変化を及ぼし、その静脈壁の変化が慢性静脈不全と関連していると思われる。

研究成果の概要(英文)：We investigate the effects of insufficient lymph drainage on vein walls. In rats, the lymphatic collecting vessels surrounding the femoral vein were ligated, which caused the local retention of lymphatic fluid. A histological study of the femoral vein and the surrounding tissue was conducted. IMS was used to analyze the distribution of lipid molecules in the perivascular tissue. After the procedure, the lymphatic vessels in the model tissue were significantly dilated. Compared with the control tissue, the model tissue exhibited marked perivascular accumulation of lysophosphatidylcholine, phosphatidylcholine, and triglycerides. The walls of the femoral veins were 3.4-fold thicker than the control. The number of TNF- $\alpha$  positive adipocytes was increased in the perivascular regions of the model tissue. The accumulation of lymphatic fluid changes the structure of vein walls, and such changes might be associated with chronic venous insufficiency.

研究分野：血管外科

キーワード：浮腫 リンパ浮腫 慢性静脈不全

#### 1. 研究開始当初の背景

癌治療後の浮腫、車いす生活での浮腫、深部静脈血栓症後の浮腫など、浮腫に悩む患者は多いが、浮腫の病態には不明な点も多い。組織への体液循環は流入経路としては主として動脈が担い、流出経路として静脈とリンパ管が担い、流入と流出のバランスがホメオスタシスを維持している。静脈とリンパ管は発生学的に類似し、両者のドレナージ機能は双方の微妙なバランスの上に成り立っていると考えられ、「浮腫」をこの静脈やリンパのいずれか、もしくは両者の混在障害ととらえ、*phlebolympology* という概念が提唱されている。しかしながら、この考え方は未だ概念的なものであり、実臨床の場ではそれぞれがどのように関与しているか評価することは困難である。既に我々は、代表的な慢性静脈還流不全疾患である下肢静脈瘤患者において、リンパ還流不全も同時に起きており、それが手術で静脈逆流を治療することにより、リンパ還流不全も改善することを報告した。また静脈瘤患者の手術の際に採取した静脈を組織学的にて観察した結果、静脈壁には外膜側にリンパ管組織が存在し、静脈不全の進行とともにリンパ管は欠落、リンパドレナージ不全の状態に陥っていることが示唆された。これらの治験は静脈とリンパ管が密接な関係を持ち、両者は互いに影響し合っていることを示唆するものであり、*phlebolympoedema* という疾患概念の存在を示しているものと考えられる。しかし臨床の場では得られる検体に制限があり、広範な組織学的評価は不可能である。

#### 2. 研究の目的

従来から静脈不全とリンパ管不全の関連の可能性については指摘されてきたが、未だにその詳細は不明である。しかしながら、これらの疾患に罹患する患者は多く、生活の質を著しく低下させている。これまで、静脈学、リンパ学は個々に一方の観点から研究をすすめ、進歩発展してきたが、*phlebolympoedema* のように相互の関連性から具体的に検討を行った研究は見あたらず、これらの相互作用を調べることが、本研究の特徴である。浮腫の病態を組織のドレナージに寄与する静脈とリンパ管の混在した機能不全と考え、浮腫の病態を両者の関連の観点から解明することを目的とする。

#### 3. 研究の方法

ラット大腿静脈周囲のリンパ管を結紮することで得られる、ラットリンパ鬱滞モデルを作成し、静脈壁周囲の壁在リンパ管、静脈壁の肥厚や線維化を評価し、リンパ鬱滞モデルでの静脈壁や皮下組織での静脈鬱滞への影響を、病理組織的に、質量顕微鏡などを用いて検証する。

#### 4. 研究成果

リンパ管内皮を免疫組織染色すると、リンパ管内腔は有意に拡張していた。細胞外液からリンパ管内に流入するリンパのドレナージ

不全を呈していると思われた。リンパ鬱滞が静脈壁に及ぼす変化を観察すると、Elastica van Gieson 染色で内膜壁の有意な肥厚が認められた。*lysophosphatidylcholine*、*phosphatidylcholine*、*triglycerides* が静脈壁や静脈周囲に沈着していることが分かった。また静脈周囲に見られる脂肪細胞の占拠が目立ち、脂肪細胞周囲の間質が TNF- $\alpha$  で染色された。脂質を含むリンパの運搬に関与する周囲組織のリンパ管数を計測すると、リンパ管の数そのものが、現象していることが分かった。そしてこれらのリンパ管内皮に一致して、アポトーシスのマーカーである *cleaved caspase3* の発現が観察された。

リンパ鬱滞が静脈周囲組織の脂肪細胞変性を介して静脈壁に炎症を引き起こしていることが示された。さらに持続する炎症はリンパ管のアポトーシスが一因であることが示された。

リンパ管機能の低下は、細胞外液やリンパ液に含まれる脂質成分を組織中に沈着させている。今回質量分析での検討でその局在が静脈壁のみならずその周囲組織にも蓄積していることが明らかとなった。またその脂質分枝が *lysophosphatidylcholine*、*phosphatidylcholine*、*triglycerides* など炎症性メディエーターとしての役割をはたしているものであることが判明した。静脈壁の炎症は内膜平滑筋細胞の増殖、過剰な線維性物質の産生によって、静脈壁の肥厚を招き、静脈壁の弾性コンプライアンスの低下につながっていた。

今回の検討から、リンパ機能の低下が静脈壁とその周囲組織に炎症を惹起して静脈機能の低下を生じさせることが明らかとなり、リンパ鬱滞と静脈鬱滞が相互に密接な関係にあることが分かった。

#### 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 3件)

1. Tanaka H, Yamamoto N, Suzuki M, Mano Y, Sano M, Zaima N, Saito T, Setou M, Unno N: Insufficient lymph drainage causes abnormal lipid accumulation and vein wall degeneration. *Annals of Vascular Diseases* 9(4): 277-284, 2016.
2. Sugisawa R, Unno N, Saito T, Yamamoto N, Inuzuka K, Tanaka M, Katahashi K, Uranaka H, Marumo T, Konno H: Effects of compression stockings on elevation of leg lymph pumping pressure and improvement of quality of life in healthy female volunteers: a randomized controlled trial. *Lymphatic Research and Biology*, 14(2): 95-103, 2016.
3. Saito T, Unno N, Yamamoto N, Inuzuka K, Mano Y, Sano M, Sugisawa R,

Katahashi K, Konno H: Low lymphatic pumping pressure in the legs is associated with leg edema and lower quality of life in healthy volunteers. *Lymph Res Biol* 13(2): 154-159, 2015.

〔学会発表〕(計 11 件)

1. 佐野真規、海野直樹、山本尚人、犬塚和徳、斉藤貴明、杉澤良太、片橋一人、矢田達朗、嘉山貴文・リンパ浮腫皮膚由来線維芽細胞を用いたエイコサペント酸エチルの二次性リンパ浮腫に対する治療効果の検討・第 36 回日本静脈学会総会・2016
2. 山本尚人、海野直樹、犬塚和徳、佐野真規、斉藤貴明、杉澤良太、片橋一人、矢田達朗、嘉山貴文・悪性腫瘍を合併した静脈血栓塞栓症患者における予後と血栓症因子関連・第 36 回日本静脈学会総会・2016
3. Tanaka H, Sano H, Yamamoto N, Setou M, Unno N, Suzuki Y, Urano T・Degeneration of the vasa vasorum induces hypoxia and inflammation at the vascular wall, and develops abdominal aortic aneurysm・第 38 回日本血栓止血学会・2016
4. 杉澤良太、海野直樹、山本尚人、犬塚和徳、田中宏樹、佐野真規、斎藤貴明、片橋一人、矢田達郎、嘉山貴文・リンパ浮腫患者のケアにおける患肢挙上の効果の検討・ICG 蛍光造影法を用いたリンパ駆出圧の測定・第 44 回日本血管外科学会総会・2016.
5. 斉藤貴明、海野直樹、山本尚人、犬塚和徳、佐野真規、杉澤良太、片橋一人、矢田達朗、嘉山貴文・下肢 ICG リンパ管造影法における Three-Microneedle Device の有用性についての検討・第 56 回日本脈管学会総会・2015
6. 佐野真規、海野直樹、片橋一人、杉澤良太、矢田達朗、斉藤貴明、田中宏樹、犬塚和徳、山本尚人・二次性リンパ浮腫皮膚硬化の病態における筋線維芽細胞の関与・第 35 回日本静脈学会総会・2015
7. 杉澤良太、海野直樹、山本尚人、犬塚和徳、田中宏樹、佐野真規、斎藤貴明、片橋一人・下肢の自律的リンパ管収縮力低下者に対する弾性ストッキングの継続的着用効果についての検討・第 35 回日本静脈学会総会・2015
8. 杉澤良太、海野直樹、山本尚人、犬塚和徳、田中宏樹、佐野真規、斉藤貴明、片橋一人、矢田達朗・下肢リンパ還流速に対する弾性ストッキングの着用効果についての検討・第 56 回日本脈管学会総会・2015
9. 海野直樹、山本尚人、犬塚和徳、眞野勇記、佐野真規、斉藤貴明、杉澤良太、片橋一人・リンパ浮腫の病態から治療

へ 二次性リンパ浮腫の病理と診断 from bedside to bench・第 34 回日本静脈学会総会・2014

10. 杉澤良太、海野直樹、山本尚人、犬塚和徳、田中宏樹、佐野真規、斉藤貴明、片橋一人・ICG リンパ管造影法を用いたリンパ浮腫の早期発見及び経過観察の経験・第 55 回日本脈管学会総会・2014
11. 斉藤貴明、海野直樹、山本尚人、犬塚和徳、眞野勇記、佐野真規、杉澤良太、片橋一人・健常人 465 人における下肢リンパ圧低下とむくみの自覚および QOL との関連についての検討・第 39 回日本リンパ学会総会・2014

〔図書〕(計 1 件)

1. 山本尚人、海野直樹：深部静脈血栓症に対する治療．日本臨牀増刊号 動脈・静脈の疾患（上）：510-513, 2017.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 尚人 (YAMAMOTO, Naoto)  
浜松医科大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：80402262

(2) 研究分担者

海野 直樹 (UNNO, Naoki)  
浜松医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：20291958

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：

(4)研究協力者

田中 宏樹 (TANAKA, Hiroki)

佐野真規 (SANO, Masaki)

齊藤貴明 (SAITO, Takaaki)

杉澤良太 (SUGISAWA, Ryota)

片橋一人 (KATAHASHI, Kazuto)

矢田達朗 (YATA, Tatsuro)

嘉山貴文 (KAYAMA, Takafumi)