

●原 著

リンパ脈管筋腫症 7 例の臨床像と血清 VEGF-C, -D および VEGF-R3 値の相関

岡林比呂子 増永 愛子 一安 秀範 津村 真介 小嶋 圭介
佐伯 祥 濱本 淳二 藤井 一彦 税田 直樹 興梠 博次

要旨：リンパ脈管筋腫症は、lymphangiomyomatosis (LAM) 細胞が肺やリンパ節で増殖する疾患で、LAM 細胞の増殖には血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor : VEGF) を介したリンパ管新生が関連する。LAM 細胞は血管内皮細胞増殖因子 VEGF-C, VEGF-D を発現し、病変内のリンパ内皮細胞はそのレセプター-VEGF-R3 を発現し、リンパ管新生に関与する。また血清 VEGF-D 値は本症の診断のマーカーとして期待されている。今回、リンパ脈管筋腫症の 7 例について、臨床像、呼吸機能、予後、そのうち 6 例について血清マーカーにつき検討した。血清マーカーは VEGF-C, VEGF-D, VEGF-R3 を測定し、対照は慢性閉塞性肺疾患患者、健常女性とした。本症患者では、血清 VEGF-D 値は健常群と比較し有意に高値で、FEV_{1.0}% および %DL_{CO} の間に負の相関傾向を示した。VEGF-R3 値は対照群より高い傾向にあった。血清 VEGF-D 値は本症の診断や重症度の指標に有用である可能性が示された。

キーワード：リンパ脈管筋腫症、リンパ管新生、血管内皮細胞増殖因子、血管内皮細胞増殖因子受容体、呼吸機能

Lymphangiomyomatosis, Lymphangiogenesis, Vascular endothelial growth factor, Vascular endothelial growth factor receptor, Lung function

緒 言

リンパ脈管筋腫症 (lymphangiomyomatosis : LAM) は、生殖可能年齢の女性に好発するまれな疾患で、肺や体軸リンパ節での LAM 細胞の増殖を特徴とする腫瘍性疾患である。肺では嚢胞性変化をきたし、進行例では呼吸不全をきたす^{1)~5)}。LAM は、癌抑制遺伝子である TSC (tuberous sclerosis complex) 遺伝子の異常により発症することが判明している。TSC 遺伝子産物は細胞増殖に関する細胞内シグナル伝達経路の中で機能し、ラパマイシン (rapamycin) 標的タンパク質 (mammarian target of rapamycin : mTOR) を抑制しているが、LAM では TSC 遺伝子の異常により mTOR が恒常的に活性化されて細胞増殖が継続すると考えられている^{1)~4)}。

また LAM 細胞は、血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor : VEGF) を介したリンパ管新生能を有し、LAM 細胞の増殖、進展にはリンパ管新生が関連するといわれている¹⁾⁶⁾⁷⁾。LAM の組織学的検討

により、LAM 細胞は血管内皮細胞増殖因子 VEGF-C および VEGF-D を発現し、LAM 病変内のリンパ内皮細胞にはそのレセプターである VEGF-R3 が発現していることが報告され、これらの分子はリンパ管新生に関与するとされている⁷⁾⁸⁾。また、近年、LAM 患者において血清 VEGF-D 値が上昇することが報告され、診断や重症度のマーカーとなることも期待されている^{9)~12)}。

最近、NIH Rare Lung Diseases Consortium および MILES Trial Group から rapamycin が LAM 患者の 1 秒量 (FEV_{1.0}) および努力肺活量低下の進行を抑え、QOL を改善し、血清 VEGF-D 値を下げるとの研究報告がなされ、LAM の治療に光が見えてきた¹³⁾。このことから、LAM の早期診断、重症度および進行度の評価において血清マーカーが応用できることは、LAM 患者の診断、治療、管理に重要であると考えられる。

そこで、今回、我々は熊本大学医学部附属病院で組織学的に LAM と診断した 7 例の臨床的検討を行い、あわせて血清 VEGF-C, VEGF-D, VEGF-R3 値が LAM の診断や重症度に関連するか否かを検討した。

対象と方法

1998 年から 2010 年までの間に熊本大学医学部附属病院で組織学的に LAM と診断した 7 例について臨床像、呼吸機能検査、血清マーカー、予後等を検討した。血清

連絡先：岡林 比呂子
〒860-8556 熊本市本荘 1-1-1
熊本大学医学部附属病院呼吸器内科
(E-mail: kohrogi@kumamoto-u.ac.jp)
(Received 8 Jun 2011/Accepted 17 Oct 2011)

Table 1 Characteristics of the 7 patients with LAM

Pt	Age at onset	Age at diagnosis	Primary symptom	Diagnostic approach	Number of pneumothorax	History of pregnancy and birth	Treatment	Outcome
1	23	25	pneumothorax	VATS	R4, L12	2P, 1B	MPA, LH-RH agonist, DOXY, tiotropium	dead
2	32	32	dyspnea	TBLB	R2, L2	4P, 4B	MPA, tiotropium, salmeterol	alive
3	59	59	pneumothorax	VATS	R3, L2	2P, 2B	none	dead
4	37	37	pneumothorax	VATS	R2, L2	0	none	alive
5	36	37	abdominal pain	biopsy of the tumor	0	0	none	alive
6	36	36	pneumothorax	VATS	L1	3P, 2B	none	unknown
7	23	33	pneumothorax	VATS	6 times	2P, 2B	none	unknown

VATS, video-assisted thoracic surgery; TBLB, transbronchial lung biopsy; P, the number of pregnancies; B, number of births; MPA, medroxyprogesterone acetate; DOXY, doxycycline.

Table 2 Lung function tests at the initial visit

Pt	VC (L)	%VC (%)	FEV _{1.0} (L)	FEV _{1.0} % (%)	%DL _{CO} (%)
1	2.34	78.00	2.40	98.00	66.70
2	3.32	116.90	2.24	70.40	22.50
3	1.56	69.00	0.74	50.00	11.30
4	3.22	107.30	2.90	87.80	77.90
5	3.01	106.70	2.55	79.93	41.40
6	2.21	81.20	1.75	77.10	86.20
7	2.51	87.80	2.07	81.30	92.70

マーカーについては、慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease : COPD) 患者 4 例および健康女性 (healthy volunteer : HV) 6 例を対照とした。

血清マーカー VEGF-D, VEGF-C, VEGF-R3 はそれぞれ, R&D 社 Quatikine[®] Human VEGF-D, Quatikine[®] Human VEGF-C, DuoSet human VEGF R3 (Flt-4) を用い, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法で測定した。3 群間の比較には Kruskal Wallis test を用い, 2 変数間の相関は Spearman's rank correlation の相関係数を用いた。検査結果は平均値 ± 標準偏差で示し, 有意差水準を 5% 未満とした。なお, 統計解析ソフトは, GraphPad Prism (Version 5) を使用した。本研究は熊本大学医学部附属病院の倫理委員会です承された。

成 績

1. 臨床像

対象とした LAM 患者 7 例の臨床像を Table 1 に示す。症例は, 全例女性で, 初発時の年齢は 23~59 歳 (平均 35.1 ± 12.1 歳), 診断時の年齢は 25~59 歳 (平均 37.0 ± 10.6 歳) であった。受診動機は気胸が 5 例, 呼吸困難が 1 例, 右下腹部痛が 1 例であった。診断方法は, 胸腔鏡

下肺生検 (video-assisted thoracic surgery : VATS) が 5 例, 経気管支肺生検 (transbronchial lung biopsy : TBLB) が 1 例, 腹部腫瘍生検が 1 例であった。気胸は 6 例で認められ, 平均 4.4 回 (0~16 回) であった。妊娠出産歴は 5 例で認め, 妊娠出産を契機に病状が悪化した可能性があるのは 1 例であり, 残りの 4 例は妊娠出産後も呼吸状態の悪化の促進は認めなかった。また, 結節性硬化症 (tuberous sclerosis complex : TSC) に合併したものは 2 例であった。

治療は, 2 例で薬物治療を施行しており, いずれも呼吸困難が強くなったため開始した。1 例では, 抗ホルモン療法 (メドロキシプロゲステロン (medroxyprogesterone), リュープロレリン (leuprorelin)) およびドキシサイクリン (doxycycline) 投与を行い, チオトロピウム (tiotropium) の吸入治療も併用したが, いずれの薬剤も治療効果なく診断から 11 年後に死亡した。他の 1 例では, メドロキシプロゲステロンを投与するも, 効果が得られず中止した。吸入治療はチオトロピウムおよびサルメテロール (salmeterol) を併用した。

これらの臨床像は 2003 年 5 月から本邦で行われた LAM に関する全国疫学調査の結果と比較して差は認めなかった¹⁴⁾。

2. 呼吸機能検査

当院初診時の呼吸機能検査の結果を Table 2 に示す。症例 1, 3 は初診時に気胸を合併しており, 気胸改善後に呼吸機能検査を施行した。LAM の呼吸機能検査では閉塞性障害の報告が多く, また初期から DL_{CO} が低下する頻度が高いといわれている¹⁴⁾¹⁵⁾。本研究では拘束性障害 (%VC < 80%) を 7 症例中 2 例で認め, これらは 2 例とも初診時に気胸を合併していた症例であった。そのうちの 1 例は, 閉塞性障害 (FEV_{1.0}% < 70%) も認めた。

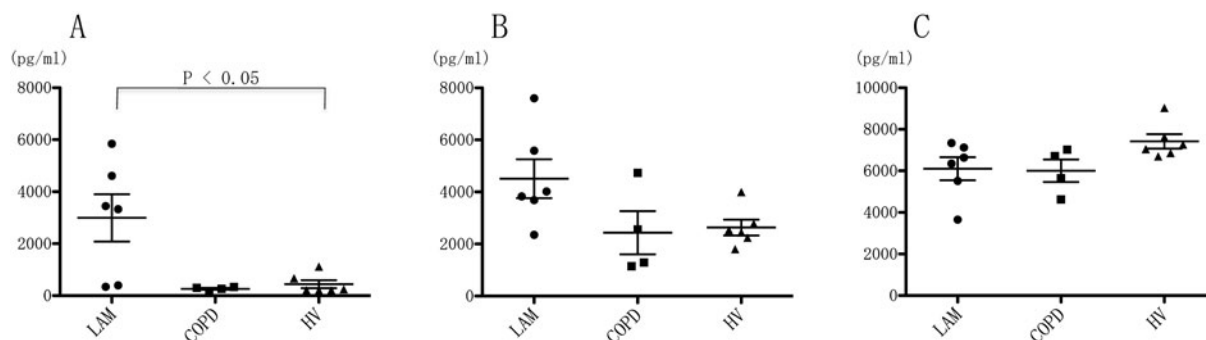


Fig. 1 The serum levels of VEGF-D, VEGF-R3, and VEGF-C. The levels of these markers in patients with lymphangiomyomatosis (LAM : circle, $n=6$), patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD : square, $n=4$), and healthy volunteers (HV : triangle, $n=6$). (A) The serum levels of VEGF-D in patients with LAM are significantly higher among the three groups ($p=0.0183$) and also significantly higher than healthy volunteers ($p<0.05$). They seem to be higher than those in patients with COPD, but these levels are not statistically significant. (B) The serum levels of VEGF-R3 in patients with LAM are higher than in the other groups, but these differences are not significant. (C) The serum levels of VEGF-C do not differ among the three groups.

また DL_{CO} の低下は 5 例であり拡散能の低下が示唆された。

ほかに低酸素血症が報告されているが、本研究では血液ガス分析において症例 2 のみ室内気下で PaO_2 64.3 Torr と低酸素血症を認め、それ以外の 6 例は正常範囲内であった。

3. 血清マーカー

今回 LAM 患者 6 例の血清 VEGF-C, VEGF-D, VEGF-R3 値を測定し、COPD 患者 4 例 (全例男性, 55~62 歳, 平均 68.3 ± 11.6 歳), HV 6 例 (全例女性, 26~35 歳, 平均 29.2 ± 3.9 歳) を対照として検討した。

血清 VEGF-D 値は、LAM 群は $2,995.1 \pm 2,227.1$ pg/ml で HV 群 (444.9 ± 376.6 pg/ml, $p<0.05$) と比較し、有意に上昇しており、さらに COPD 群 (264.7 ± 75.3 pg/ml) と比較して高い傾向を認めた (Fig. 1A)。呼吸機能検査との検討では、統計学的に有意ではないが同時期の $FEV_{1.0}\%$ ($rs = -0.829$, $p=0.058$), $\%DL_{CO}$ ($rs = -0.800$, $p=0.133$) の間に負の相関関係を認めた (Fig. 2A, B)。

血清 VEGF-R3 値は、LAM 群では $4,511.3 \pm 1,828.9$ pg/ml で、COPD 群 ($2,433.3 \pm 1,659.9$ pg/ml), HV 群 ($2,633.8 \pm 744.8$ pg/ml) との比較では、有意ではないが LAM 群が対照群より高い傾向があった (Fig. 1B)。また、呼吸機能検査との検討では、 $FEV_{1.0}\%$ ($rs = -0.600$, $p=0.242$), $\%DL_{CO}$ ($rs = -0.700$, $p=0.234$) との間にそれぞれ有意ではないが負の相関関係を認めた (Fig. 2C, D)。

血清 VEGF-C 値は LAM 群と対照群の間で差は認めなかった (Fig. 1C)。

4. 予 後

今回、2010 年の時点で予後が追跡できているのは 7 例中 5 例で、内訳は、生存 3 例 (症例 2, 4, 5), 死亡 2

例 (症例 1, 3) である。生存群のうち症例 4 と 5 は、肺病変の緩徐な進行は認めるが呼吸状態は安定しており、診断からそれぞれ 3 年間、6 年間の生存期間が得られている。症例 2 は、診断後 7 年間経過しており、肺病変の進行に伴い呼吸不全となり現在脳死肺移植へ登録中である。

死亡群では、症例 1 は肺病変の進行に伴い呼吸不全が進行し、脳死肺移植へ登録したが診断から 11 年後に呼吸不全で死亡した。症例 2 は、肺病変の進行なく呼吸状態も安定していたが、診断から 3 年後にくも膜下出血で死亡した。

考 察

LAM は 2009 年に厚生労働省特定疾患治療研究事業の対象疾患に認定され、正確な診断がより重要になった。2008 年に LAM の診断基準および治療と管理の手引きが発表され⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾、現在臨床現場ではこの診断基準と手引きに基づいて診療が行われている。LAM の診断には組織診断群と臨床診断群があり、組織診断は可能な限り推奨され、特に早期例では重要であると指摘されている。今回、我々は組織診断が得られている LAM の 7 症例を検討した。

LAM の組織診断としては VATS を施行される症例が多く、本研究においても VATS で診断した症例は 5 例であった。VATS は診断率が高いが、患者への負担も大きく、早期例では患者の同意が得られない場合もあり、また呼吸不全を示す進行例では施行できない場合もあるため VATS の適応については慎重を要する。

LAM においては、このように組織学的検査が困難なこともあり、非侵襲的な診断方法として血清マーカーの

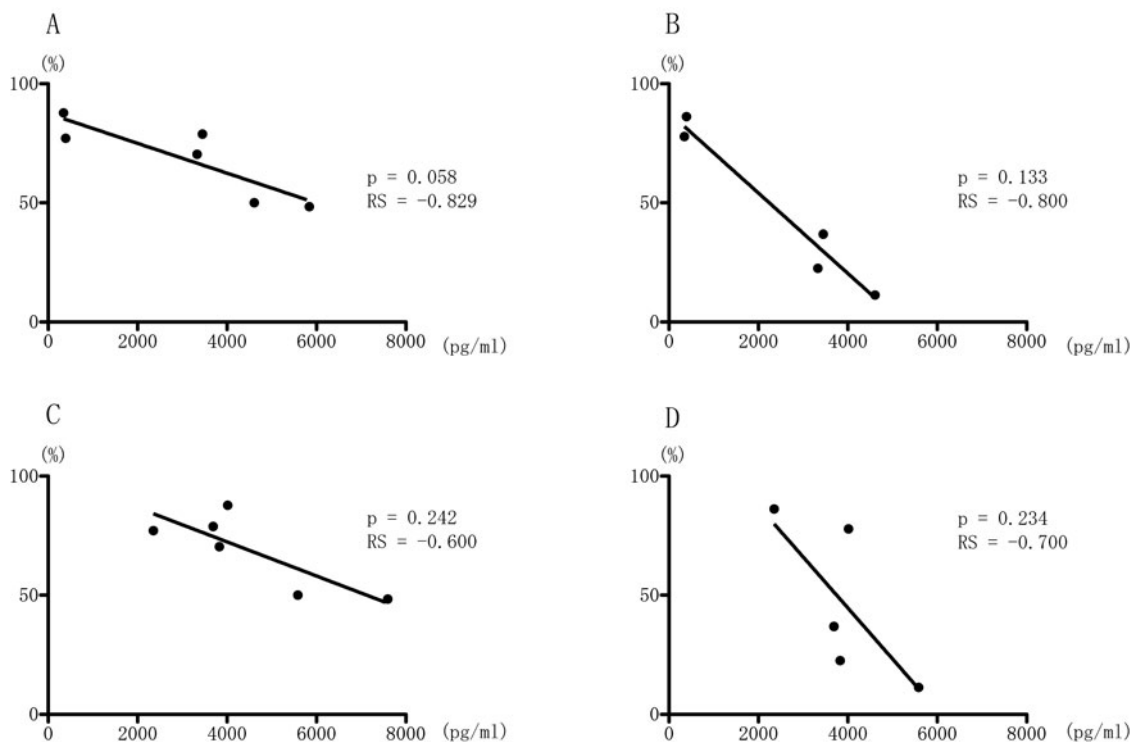


Fig. 2 Correlations of serum VEGF-D (A and B) and VEGF-R3 (C and D) with lung function tests. The serum levels are negatively correlated with FEV_{1.0}% and %DL_{co}, but none is significant.

確立が望まれる。また、重症度や予後の指標となる血清マーカーが確立されれば、早期診断だけでなく重症例や進行が予測される例への早期治療の介入も期待できる。

LAMでは、細胞内シグナル伝達経路であるmTOR経路の異常によりVEGFを介したリンパ管新生が病態に関与し、LAM細胞は血管内皮細胞増殖因子(VEGF-C, VEGF-D)を発現していると報告されている^{1(6)~8)}。これらのことから、近年LAM患者では血清VEGF-D値が上昇し、診断および重症度のマーカーとなることが示唆されている^{9)~12)}。Youngらは、HV, LAM, 肺気腫, 肺ランゲルハンス細胞組織球症, Bird-Hogg-Dube, 肺の嚢胞性病変を伴うシェーグレン症候群, TSC, リンパ管腫症等の患者において、LAMで有意に血清VEGF-D値が上昇していることを示し、血清VEGF-D値はLAMの診断および他の嚢胞性肺疾患との鑑別において有用である可能性を示唆した^{9)~11)}。また、そのcut off値は800 pg/mlが妥当であるとの報告がある^{9)~17)}。本研究でもLAM群ではHV群と比較して血清VEGF-D値が有意に上昇しており、測定した6例中4例で800 pg/ml以上を呈した (Fig. 1A)。

またGlasgowらは、血清VEGF-D値と肺病変の重症度との相関を検討し、血清VEGF-D値は胸部CT所見の重症度と相関を認め、呼吸機能検査では拡散能と負の

相関を認めたと報告している¹²⁾。Seyamaらの報告でも、血清VEGF-D値とFEV_{1.0}%, %DL_{co}/V_Aの間に負の相関を認め、血清VEGF-D値が肺病変の重症度の評価において有用であることが示されている¹⁰⁾。本研究では、症例数が少ないため統計学的に有意ではなかったが、血清VEGF-D値と同時期のFEV_{1.0}%, %DL_{co}の間に負の相関関係を認めた (Fig. 2A, B)。なお、血清VEGF-D値が800 pg/ml以下の2例 (症例4, 6) は、同時期の呼吸機能検査では、閉塞性障害は認めず、拡散能も正常あるいはごく軽度の低下を示すのみであった。従来報告されているとおり、血清VEGF-D値は、LAMの診断や肺病変の重症度の評価に有用であることが示唆された。

VEGF-R3はVEGF-D, VEGF-Cのレセプターで、組織学的にLAM病変内のリンパ内皮細胞にVEGF-R3が発現している^{7)~8)}。本研究では、血清VEGF-R3値は、いずれも有意差は認めなかったが、LAM群では対照群より高い傾向を示し (Fig. 1B)、呼吸機能検査との検討ではFEV_{1.0}%および%DL_{co}との間に負の相関関係を認めた (Fig. 2C, D)。今回、症例6では、血清VEGF-R3値は、HV群と同レベルであった。本症例は、呼吸機能検査では、閉塞性障害は認めず、拡散能も正常であった。また、血清VEGF-D値も800 pg/ml以下であった。ま

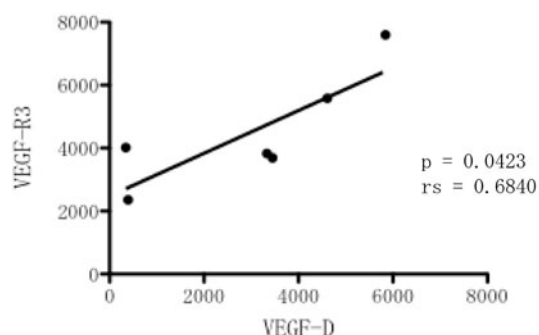


Fig. 3 Correlation between serum VEGF-D and VEGF-R3. The serum levels of VEGF-R3 significantly correlated with those of VEGF-D.

た血清 VEGF-R3 値と血清 VEGF-D 値との間には、有意な相関関係を認めた ($rs = 0.6840$, $p = 0.043$) (Fig. 3). 血清 VEGF-R3 値は、LAM の診断や重症度の評価において有用である可能性があるが、症例数が少ないため今後さらなる検討が必要である。

今回、血清 VEGF-C 値は 3 群で差は認めなかった。LAM 細胞が VEGF-C を発現しているにもかかわらず、LAM 群で高値を示さなかった原因ははっきりしないが、VEGF-C は、心臓、胎盤、骨格筋、卵巣、小腸など多くの組織で発現しているため、肺局所での発現の増加が血清にはあられせず、病勢の指標とはなりにくいことなどが考えられる。

LAM は、癌抑制遺伝子 *TSC* 遺伝子の異常により発症し、その機序として *TSC* 遺伝子の異常により *mTOR* が恒常的に活性化されて細胞増殖が継続することが予測されている^{1)~4)}。この概念から *mTOR* 阻害薬の rapamycin を 12 ヶ月試用し、LAM の治療の有効性を検討する国際的な多施設共同臨床試験がなされ、rapamycin 投与群において LAM 患者の 1 秒量、努力肺活量低下の進行が止まり、QOL が改善され、血清 VEGF-D 値が低下することが確認された¹³⁾。この臨床研究は、今日まで有効な内科的治療法がなかった LAM において、意義深いものである。さらに、rapamycin により血清 VEGF-D 値が低下していることは、LAM 細胞の抑制による血清 VEGF-D 値の低下が示唆され、今までの報告や本研究による血清 VEGF-D 値が、LAM の診断、重症度、進行度と関連することが強く支持されるものである。

LAM の予後については少数例での検討が多いこともあり、生存率は報告によりばらつきがある。2003 年から本邦で行われた LAM の全国疫学調査では、予測生存率は 5 年 91%、10 年 76%、15 年 68%であった¹⁸⁾。今回は、症例数が少なく、血清マーカーと予後との相関については検討できていない。現時点では本症の確立された予後予測因子はないが、本症では肺病変が進行し呼吸不

全に陥り予後不良の経過をたどる症例も多く、今後は血清マーカーによる予後予測因子の確立が望まれる。

今回、組織学的に診断した LAM の臨床的検討を行い、血清 VEGF-D 値は従来の報告どおり LAM の診断や重症度の指標になると考えられた。また血清 VEGF-R3 値も本症の診断や重症度の指標になる可能性が示唆された。

本稿の要旨は第 50 回日本呼吸器学会総会 (2010 年 4 月 23 日~25 日、京都) において発表した。

引用文献

- 1) McCormack FX. Lymphangioleiomyomatosis. A clinical update. *Chest* 2008; 133: 507-16.
- 2) Johnson SR. Lymphangioleiomyomatosis. *Eur Respir J* 2006; 27: 1056-65.
- 3) 瀬山邦明. リンパ脈管筋腫症 (LAM) 薬 シロリムス (ラバミューン®). *日内会誌* 2010; 99: 1617-22.
- 4) 熊坂利夫, 瀬山邦明, 三谷恵子, 他. 肺リンパ脈管筋腫症の病理と病態. *病理と臨床* 2006; 24: 939-48.
- 5) 熊坂利夫, 瀬山邦明, 三谷恵子, 他. LAM におけるリンパ管新生と LAM 細胞の転移メカニズム. *日胸臨* 2006; 65: 129-41.
- 6) Juvet SC, McCormack FX, Kwiatkowski DJ, et al. Molecular pathogenesis of lymphangioleiomyomatosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 36: 398-408.
- 7) Kumasaka T, Seyama K, Mitani K, et al. Lymphangiogenesis in lymphangioleiomyomatosis. *Am J Surg Pathol* 2004; 28: 1007-16.
- 8) 熊坂利夫. リンパ脈管筋腫症 (LAM) の病理と病態. *呼吸* 2009; 28: 679-88.
- 9) Young LR, VanDyke R, Peter M, et al. Serum vascular endothelial growth factor-D prospectively distinguishes Lymphangioleiomyomatosis from other disease. *Chest* 2010; 138: 674-81.
- 10) Seyama K, Kumasaka T, Souma S, et al. Vascular endothelial growth factor-D is increased in serum of patients with lymphangioleiomyomatosis. *Lymphat Res Biol* 2006; 4: 143-52.
- 11) Young LR, Inoue Y, McCormack FX, et al. Diagnostic potential of serum VEGF-D for lymphangioleiomyomatosis. *N Engl J Med* 2008; 358: 199-200.
- 12) Glasgow CG, Avila NA, Lin JP, et al. Serum vascular endothelial growth factor-D levels in patients with lymphangioleiomyomatosis reflect lymphatic involvement. *Chest* 2009; 135: 1293-1300.
- 13) McCormack FX, Inoue Y, Moss J, et al. Efficacy and safety of sirolimus in lymphangioleiomyomatosis. *N Engl J Med* 2011; 364: 1595-606.
- 14) 林田美江, 藤本圭作, 久保恵嗣, 他. わが国におけ

- る LAM の疫学. 日胸臨 2006; 65: 113-9.
- 15) Seyama K, Kira S, Takahashi H, et al. Longitudinal follow-up study of 11 patients with pulmonary Lymphangiomyomatosis: diverse clinical courses of LAM allow some patients to be treated without anti-hormone therapy. *Respirology* 2001; 6: 331-40.
- 16) 林田美江, 久保恵嗣, 瀬山邦明, 他. リンパ脈管筋腫症 lymphangiomyomatosis (LAM) 診断基準. 日呼吸会誌 2008; 46: 425-27.
- 17) 林田美江, 藤本圭作, 久保恵嗣, 他. リンパ脈管筋腫症 lymphangiomyomatosis (LAM) の治療と管理の手引き. 日呼吸会誌 2008; 46: 428-31.
- 18) 久保恵嗣, 井上義一. 本邦における LAM の治療, 予後の現状と問題点. 日胸臨 2006; 65: 150-55.

Abstract

Clinical features and their correlations with the serum levels of VEGF-C, VEGF-D, and VEGF-R3 in patients with lymphangiomyomatosis

Hiroko Okabayashi, Aiko Masunaga, Hidenori Ichiyasu, Shinsuke Tsumura, Keisuke Kojima, Sho Saeki, Junji Hamamoto, Kazuhiko Fujii, Naoki Saita and Hirotsugu Kohrogi

Department of Respiratory Medicine, Kumamoto University Hospital

Lymphangiomyomatosis (LAM) is characterized by a proliferation of LAM cells, a smooth-muscle-like cell type, in the lungs, lymph nodes, and other organs. Their proliferation induces LAM by producing vascular endothelial growth factors (VEGFs). These cells express VEGFs, and lymphatic endothelial cells in the lesions of LAM express VEGF-R3 and the receptors of VEGF-C and -D. Because the serum level of VEGF-D is elevated in patients with LAM, it may serve as a diagnostic marker of LAM. In the present study, we measured the serum levels of VEGF-C, VEGF-D, and VEGF-R3 in 6 patients with LAM and compared these levels with those in patients having chronic obstructive pulmonary disease and with healthy volunteers. The serum levels of VEGF-D were significantly higher in patients with LAM than in healthy volunteers, and they were negatively correlated with FEV₁₀% and %DL_{CO}, but they were not significant. The serum levels of VEGF-R3 were higher in patients with LAM than in the other groups, but the difference was insignificant. We suggest that serum VEGF-D is a useful marker for the diagnosis of LAM and the evaluation of its severity.