

図1-2 皮下組織面積の変化（アスピリン群における片側浮腫全患者）

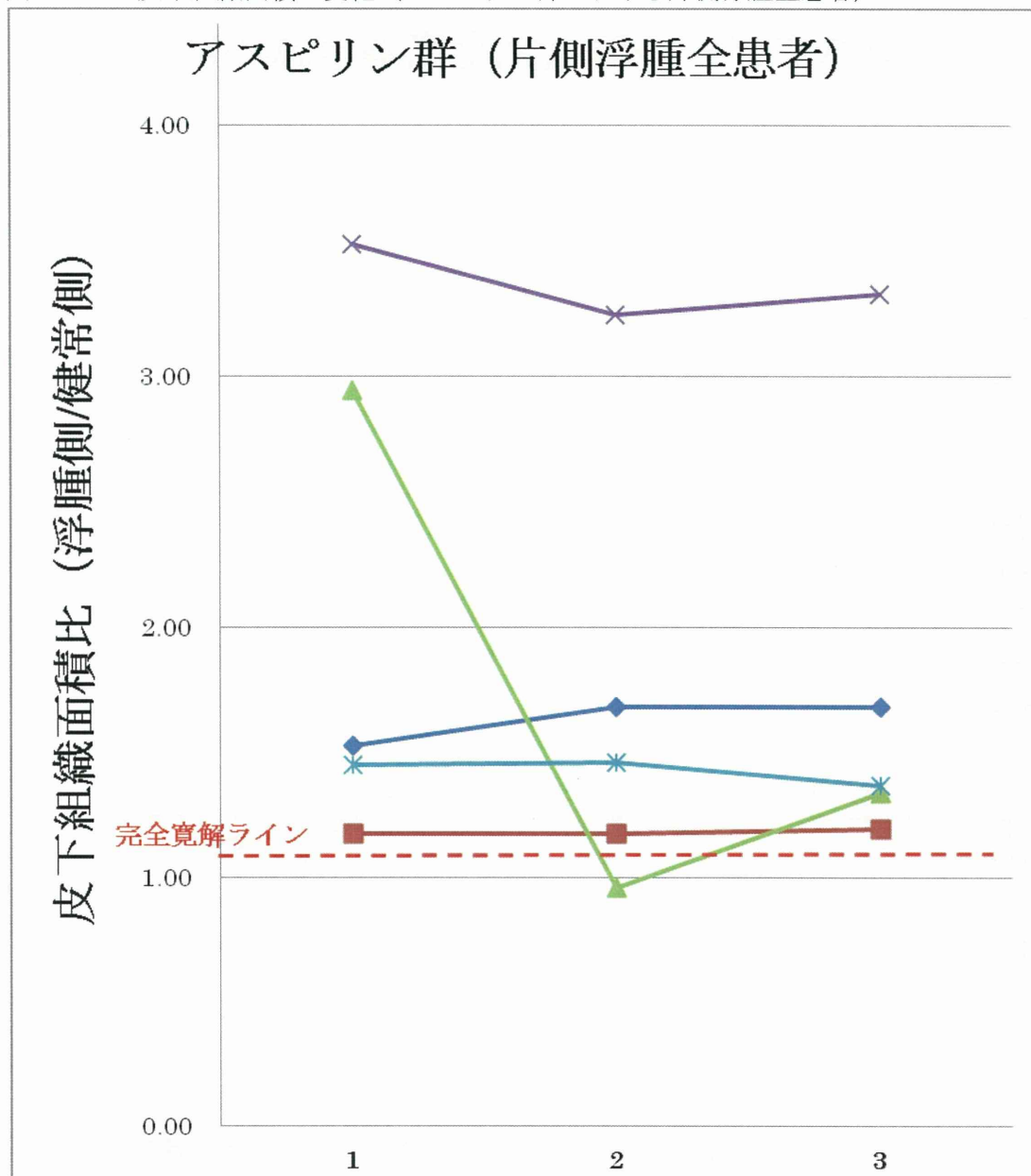


図1-3 皮下組織面積の変化（シロスタゾール群における片側浮腫完全寛解全患者）

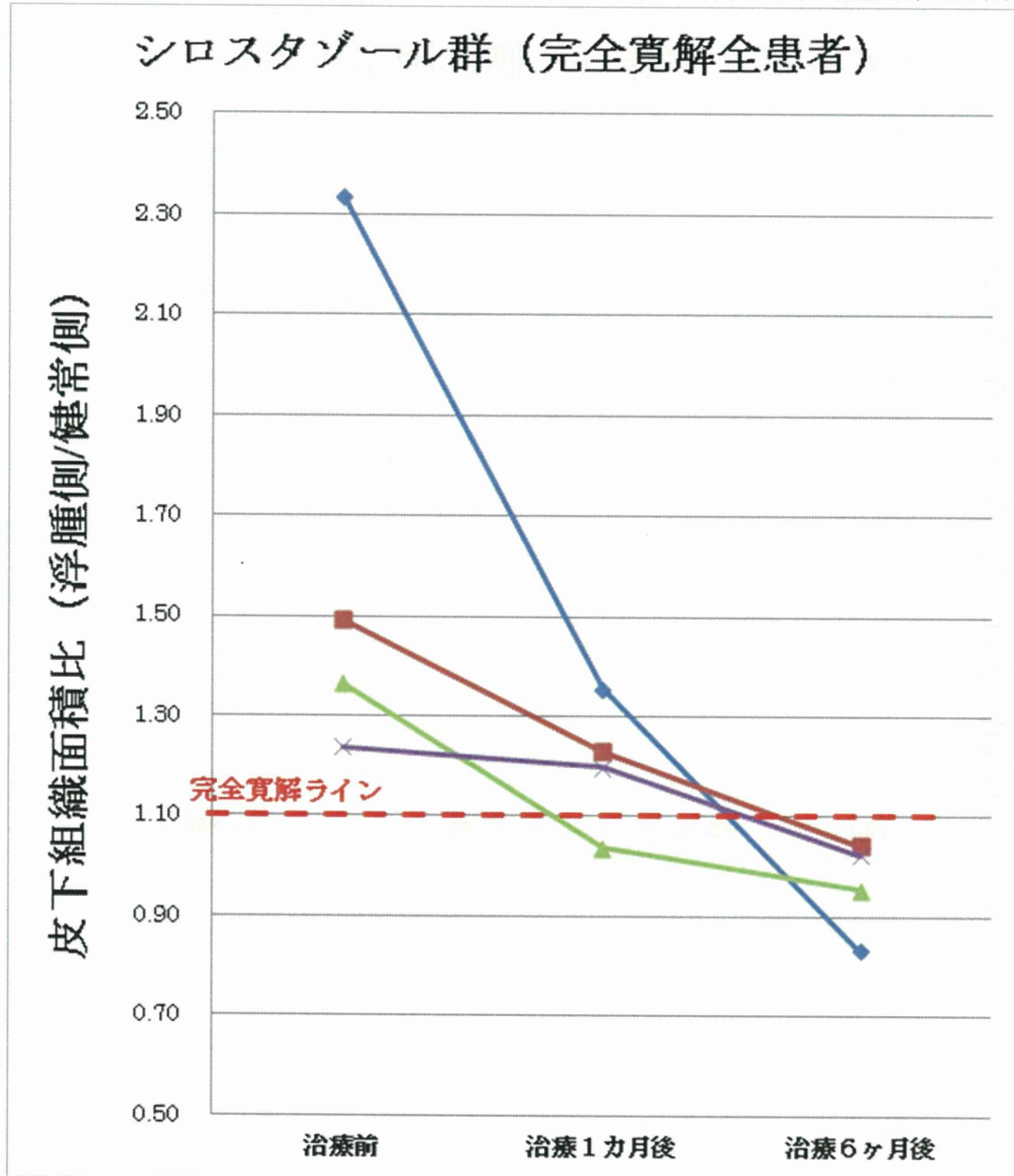
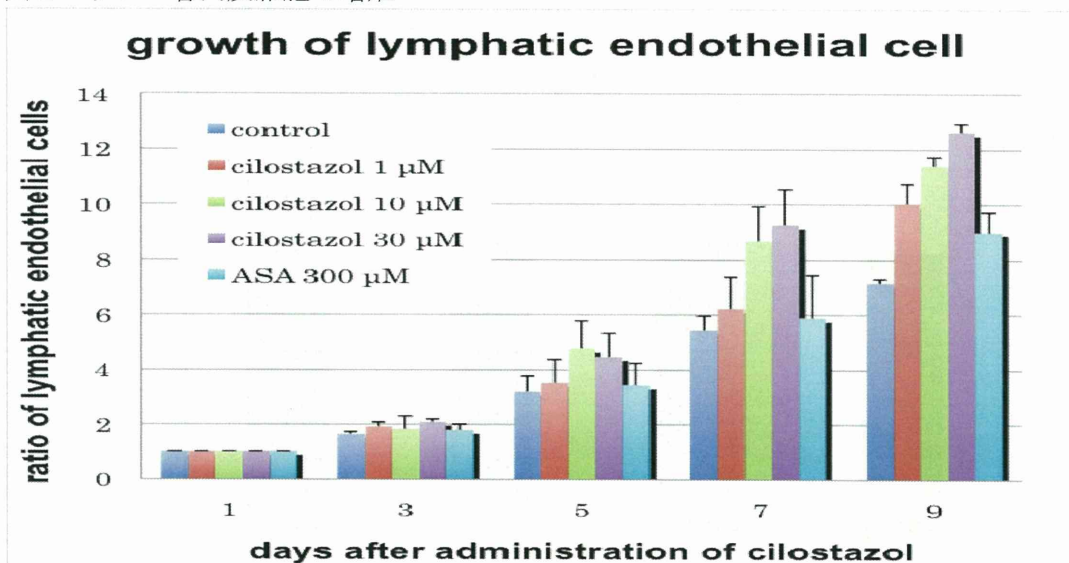
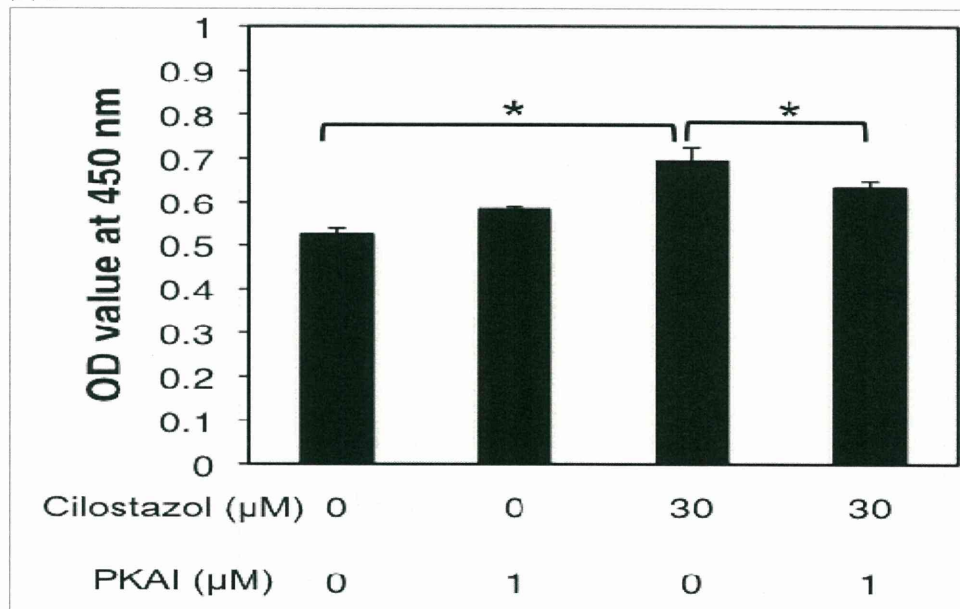


図2 リンパ管内皮細胞の増殖



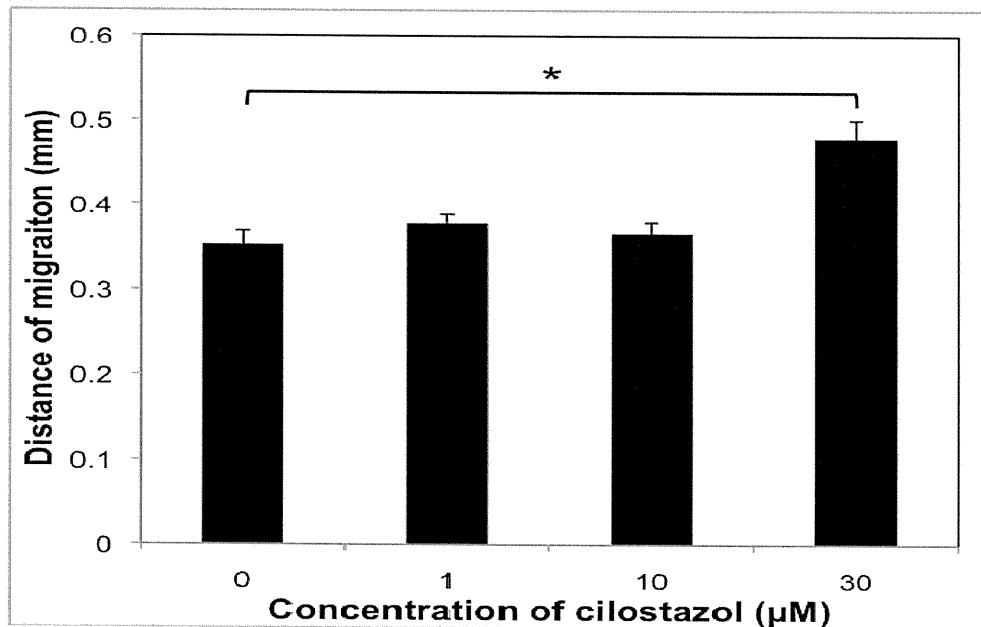
リンパ管内皮細胞のシロスタゾール投与後の経時的変化。シロスタゾールの濃度が 1 μM、10 μM、30 μM と増すにつれて細胞数の増加がみられた。

図3



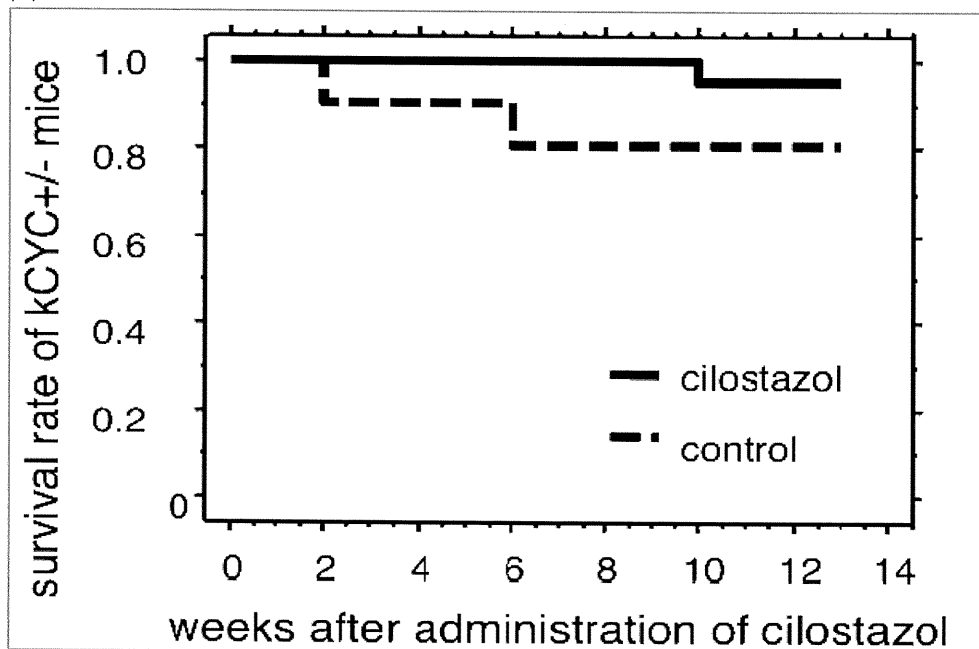
cilostazol または PKA 阻害薬の存在下におけるリンパ管内皮細胞の増殖能 (WST-1 assay)。30 μM で細胞の増加がみられたが、PKA inhibitor の投与により増加は抑制された。

図 4



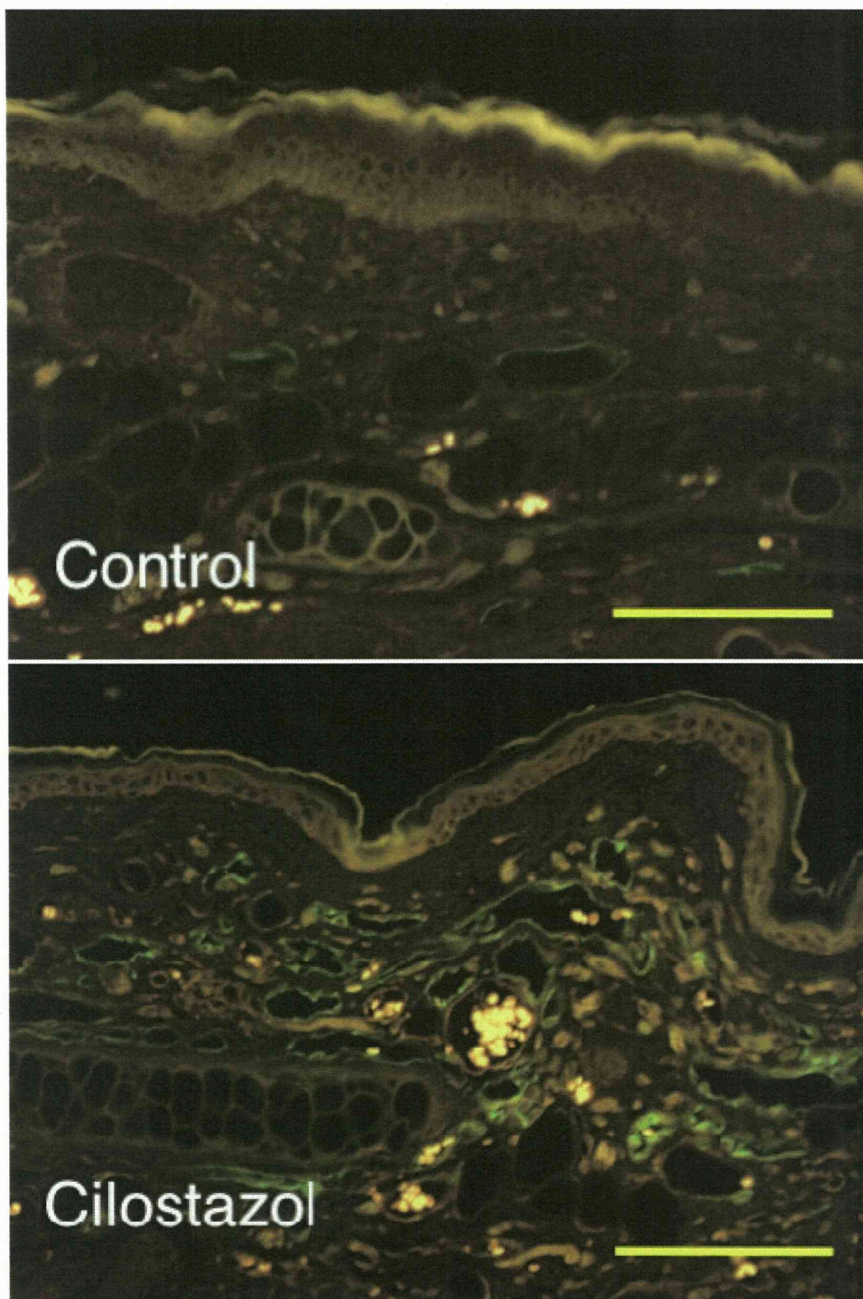
cilostazol 存在下におけるリンパ管内皮細胞の遊走能。30μM において遊走が促進された。

図 5



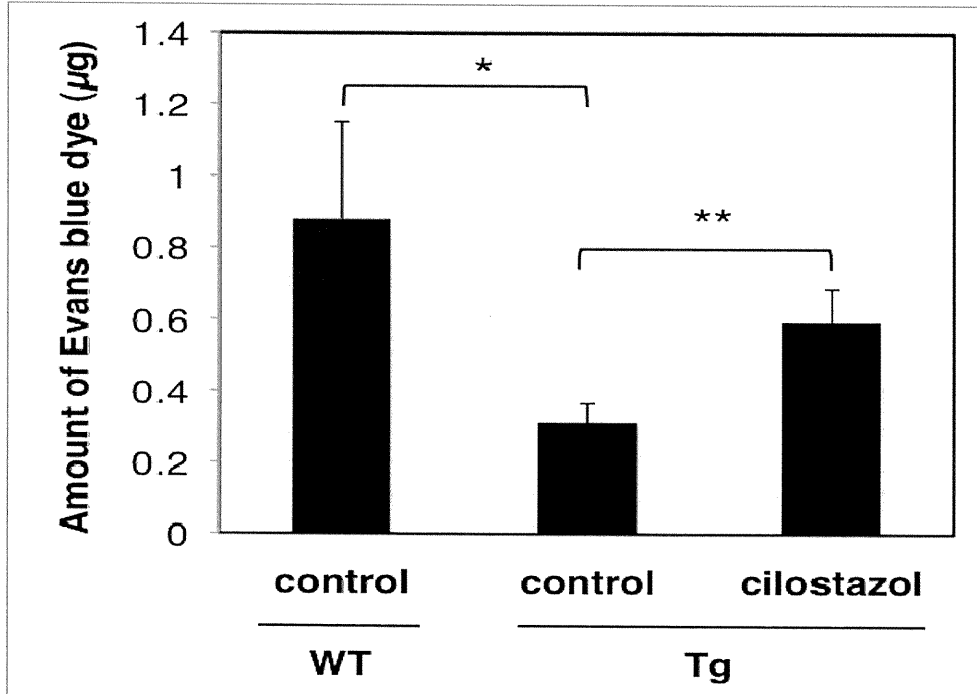
kCYC+/- トランスジェニックマウスの生存率。Cilostazol 投与群において生存率の改善がわずかにみられた。

図 6



マウス耳の皮膚に対して抗 podoplanin 抗体（緑）、抗 CD31 抗体（橙）で免疫染色を行った。Cilostazol 群において、拡張したリンパ管の近傍に細いリンパ管が多数観察された。Bar は 100 $\mu$ m。

図 7



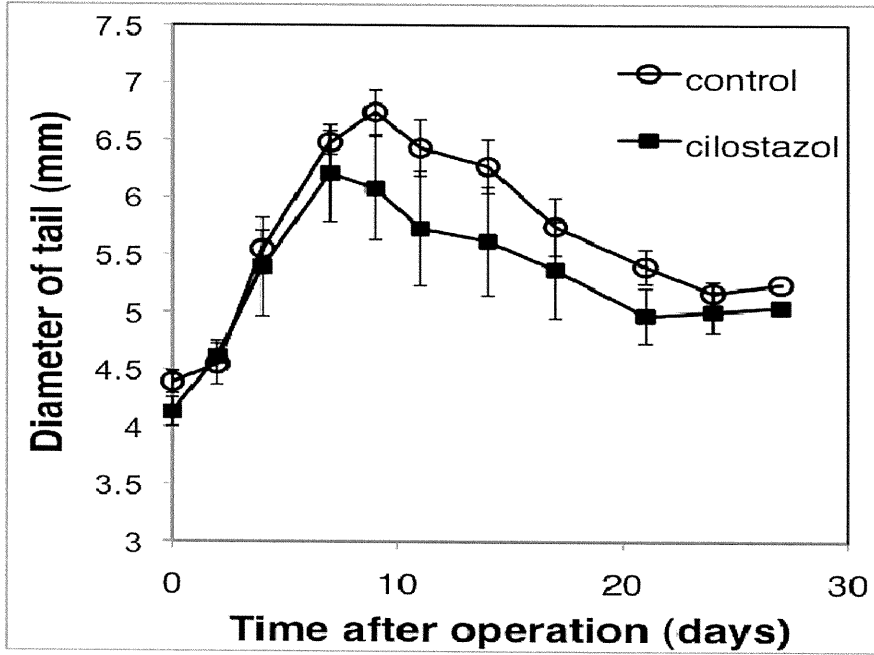
膝窩リンパ節に流入した Evans blue の定量。WT と比較して Tg マウスでは移行する色素の量が低下していた。Tg の Cilostazol 投与群では非投与群と比較して色素量の増加がみられた。

図 8



マウス尾のリンパ浮腫モデル。尾の皮膚を一定幅で全周性に剥離し、手術後 9 日目の写真を示した。

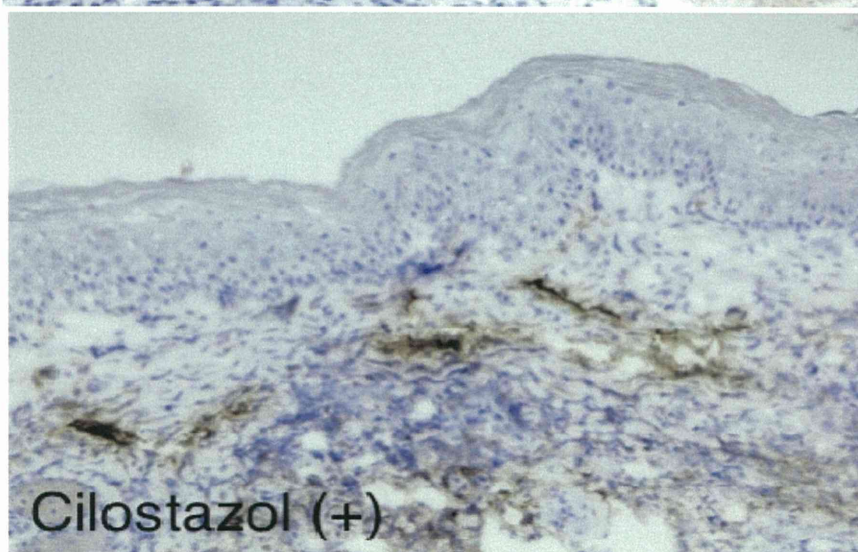
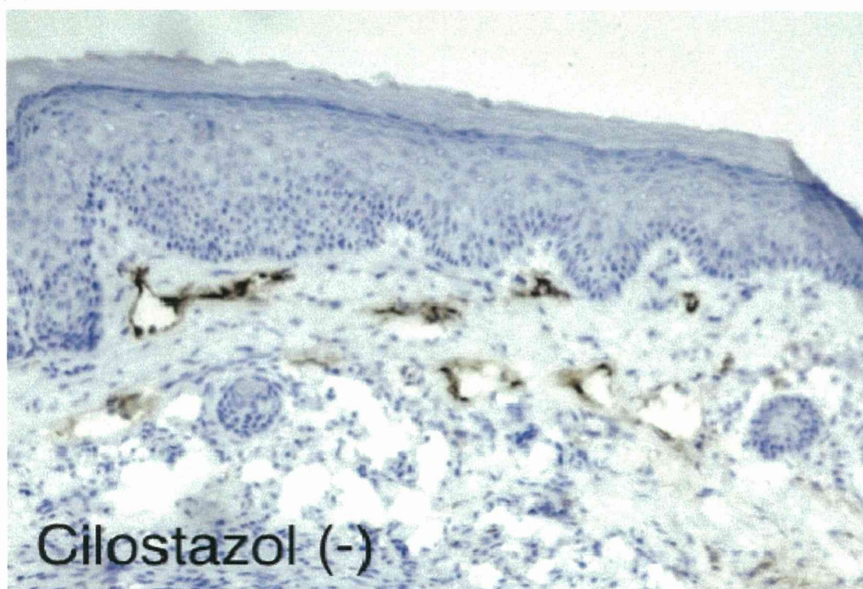
図 9



マウスの尾の直径の経時的変化。Cilostazol 投与群において尾の直径が減少する傾向がみられた。



図10



尾の皮膚に対して抗 LYVE-1 抗体で免疫染色を施行した。Cilostazol 非投与群においてリンパ管の拡張がみられたが、投与群では拡張がみられなかった。

## Ⅱ. 分担研究報告書

## 23年度 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

### (H22-難治-一般-154)分担研究報告書

#### 「リンパ浮腫治療への breakthrough を目指して」に関する研究

研究代表者 福田尚司 国立国際医療研究センター 心臓血管外科医長

研究分担者 福田尚司 国立国際医療研究センター 心臓血管外科医長

#### 研究要旨

リンパ浮腫に罹患し、QOLが低下している患者は原発および2次性を合わせると10万人近い。厚生労働省の難病研究班の報告にあるように、現在までに有効な治療法が確立されていない。現実的には、医師サイドも半ばあきらめ状態である。私たちは現在までに、この疾患に対し比較的積極的に対応してきたが、この経験の中で、抗血小板療法として cilostazol を投与したリンパ浮腫患者に、症状の寛解が見られた症例を経験した。これは、PDE3(cGMP-inhibited phosphodiesterase)阻害作用による、リンパ管内皮細胞活性化効果の影響が関与していると推測している。この推測を検証すべく、今研究の実施を計画した。

研究は臨床研究と基礎研究パートに分かれる。前者では、後述する倫理的配慮を充分に行いながら、理学所見、皮膚毛細血流、CTおよびシンチグラフィにて治療効果を判定する。また、後者では、動物実験規定に則り、ヒトリンパ管内皮細胞、トランスジェニックリンパ浮腫マウスおよびマウスリンパ浮腫モデルを用い、今仮説の検証および作用機序の同定を行う。

#### 1. 目的

リンパ浮腫は100年以上におよぶ治療法開発の経緯があるが、現在に至ってさえも有効な治療法がない。

原発性リンパ浮腫の原因は未解明で、その患者は5千人と推定されている。一方、癌外科の進歩に伴い、癌手術症例数は増加してきている。このため、癌術後患者におけるリンパ浮腫が増加し、2004年、上山は上肢リンパ浮腫患者は5万人、下肢リンパ浮腫患者は7万人と推

定している<sup>2)</sup>。

治療法は弾性ストッキングの着用や、リンパドレナージのためのマッサージ、時に、リンパ管-細静脈吻合術が行われるが、いまだ根治的に有効な治療法は確立されていない。

症例報告ではリンパ浮腫に Cilostazol が効果的であったという報告<sup>3)</sup>が見られ、同薬剤のPDE<sub>3</sub>阻害作用による内皮細胞活性化効果が期待される。当科でも、同薬剤が2次性リンパ浮腫患者の症状緩

和に、効果を示す症例を経験した。これは、同薬剤の持つ、抗血小板作用ばかりではなく、PDE3 (cGMP-inhibited phosphodi- esterase)阻害作用による、内皮細胞活性化効果の影響と推測できる。リンパ浮腫が改善する機序について、分子レベルで明らかにすることが可能であれば、臨床的に、より効率的で有用なリンパ浮腫の治療法の確立が可能になる。

今研究では、原発性および2次性リンパ浮腫患者を対象に、Cilostazol を投与し、その効果を検討する。また、細胞および動物実験において、その作用機序を明らかにし、作用増強因子についても検討する。

## 2. 方法

### 2.1 研究期間

2010年4月から2年間

ただし、研究終了前に治療の有効性が明らかになった場合、研究は中止され、全ての患者に今研究対象治療を行う可能性がある。

### 2.2 対象

国立国際医療研究センターにおいてリンパ浮腫と診断された患者を対象に登録目標患者数50名とする。

現在、治療に関するデータが全く存在しないため、少ないが自身の経験から、対象群の改善率を多く見積もり10%、cilostazol 群の改善率を50%、 $\alpha$ エラー0.05、パワー0.8としてChi-square 検定を行った場合、2群においてそれぞれ25例ずつを要する。

(Yates 補正施行)

### 2.3 選択基準

国立国際医療研究センターに通院可能あるいは入院治療を受けるリンパ浮腫患者また、下記の条件を満たす患者。

- (1) 継続して薬剤の投与が可能である
- (2) 年齢20歳以上の日本人
- (3) 研究内容やリスクを理解できる

### 2.4 除外基準

- (1) 担癌状態の患者
- (2) 著しい出血傾向を伴う患者
- (3) 頻脈性不整脈あるいは高度の狭心症患者
- (4) 既に aspirin あるいは cilostazol を内服している患者
- (5) その他、主治医が不適格と判断した患者

### 2.5 同意取得に関する事項

#### 2.5.1 臨床研究に関する倫理指針、疫学研究に関する倫理指針の遵守および動物実験に関する倫理指針

本研究はヘルシンキ宣言(2008年ソウル改訂)の趣旨、臨床研究に関する倫理指針(平成15年7月30日発布、平成16年12月28日全部改正、平成20年7月31日全部改正、厚生労働省)および疫学研究に関する倫理指針(平成14年6月17日発布、平成16年12月28日全部改正、平成17年6月29

日一部改正、平成 19 年 8 月 16 日全部改正、平成 20 年 12 月 1 日一部改正)に基づいて実施する。本研究で使用される研究実施計画書および同意説明書、同意書は、国立国際医療センター倫理委員会により承認されたものである。

## 2.5.2 被験者への同意説明および同意書の取得

担当医師は研究に先立ち、必ず被験者に対し本研究の背景、目的、予想される利益と危険性について十分に口頭および文書で説明を行う。

特に、使用される 2 薬剤がリンパ浮腫に適応がない点、また、その効果についても証明されておらず、全く効果の無い可能性も否定はできない、と言った不利益があることを伝える。しかし、同 2 薬剤は既に世界中で使用されているもので、その副作用は通常の薬剤のそれと同等で、許容範囲内と考えられ、また、確立された治療法の存在しない今疾患において、症状が軽減され、あるいは、根治されたならば、その利益は前述の不利益を大きく上回る可能性があることも同時に伝える。また、今研究により引き起こされたと考えられる有害事象に対しては、主任研究者があらかじめ契約した、第 3 者機関である保険会社による研究保険から、その保障が行われることを伝える。

説明後、被験者が説明内容をよく理解したことを確認した上で、本研究への参加についての同意を文書で得る。さらに被験者はいつでも自由意志により本研究の参加を撤回できることを知

らせておく。

## 2.5.3 被験者のプライバシーの保護

本研究に際して、被験者のプライバシーは十分に保護される。

## 2.6 研究デザイン

研究の内容を説明し、同意の得られた患者を登録する。

以下のデータを、患者が起床して最低 6 時間以上経過、かつ、その間、患者が通常的生活活動を行った場合に限りデータ収集する。

- ① 面談により症状を聴取、両下腿（上腿）径（脛骨あるいは尺骨中樞端から 20 c m 遠位側の部位）を測定する。
- ② 同部位において皮膚毛細血管血流を測定する。
- ③ 単純 CT を施行し、同部位の皮下組織の厚さと面積を測定する。
- ④ また、造影 CT にて深部静脈血栓症、下大静脈血栓症、静脈瘤、動脈瘤、骨盤内占拠物などの有無を確認し、リンパ浮腫の診断を確定する。
- ⑤ リンパ浮腫が強く疑われた患者に対し、リンパ管シンチグラフィを施行し、確定診断を得、また、下腿における単位面積当たりの RI 集積濃度を測定し、リンパ液うっ滞の重症度の指標とする。

リンパ浮腫の診断方法は、四肢に腫脹の訴えを持ち、腎機能および心機能障害、低アルブミン血症、深部静脈血栓症が否定された患者で、リンパシン

チグラフィの結果がリンパ流のうっ滞を示すもの、とする。

リンパ浮腫と診断された患者を2群に分け、それぞれの患者群に aspirin (バイアスピリン 100 mg/day)、cilostazol (プレタール 200 mg/day) を無作為に割り付ける。両群とも、研究参加者は全て開始当初1ヶ月間のみは電動式波動型末梢循環促進装置を使用する。

前述の①から⑤のデータを、治療開始から1ヶ月後および6ヶ月後の時点で繰り返し収集する。

2群間におけるデータ解析を行い、薬剤の優位性を明らかにする。また、効果増強因子についても検討する。

研究計画の公表、薬剤の無作為割り付けなどは、大学病院医療情報ネットワークを介して行うものとする。この際の割り付け因子は、BMI(body mass index)、腎機能障害の有無、心機能障害の有無、の3項目とする。

## 2.7 評価項目

### 2.7.1 主要評価項目

痛み、CTにける下腿（上腿）皮下組織面積、皮膚毛細血管血流、リンパ管シンチグラフィによるリンパ浮腫の程度

### 2.7.2 副次評価項目

痛み以外の自覚症状の改善の有無  
色素沈着、皮膚潰瘍の改善

## 2.8 統計解析

解析は今研究に参加している医療統計専門家によって行われる。

治療群および対象群において、痛み、下腿（上腿）皮下組織面積、皮膚毛細血管血流、リンパ液うっ滞の程度における有意差の有無を検討する。

## 2.9 調査項目

### 2.9.1 患者背景

#### (1) 患者背景：

年齢、性別、身長、体重、既往、  
リンパ浮腫の罹患期間

#### (2) 危険因子：

癌手術の有無、日常生活様式（立位や歩行の時間や距離など）  
栄養状態、腎機能障害の有無、糖尿病の有無  
ステロイド剤使用の有無

### 2.9.2 痛みの評価

VAS (visual analogue scale)による  
検者は盲検化

### 2.9.3 下腿（上腿）における皮下組織の断面面積測定評価

起床から6時間以上経過し、通常の日常生活を送っている環境下で、CTを用い測定する。

CTにおける皮下組織面積測定は、盲検化された第3者検者により行われる。皮下面積測定部位は、腓骨（尺骨）近位端から10cmおよび20cm遠位側にて行われる。(CT; Aquilion ONE, TOSHIBA, Japan. Software; ZIO-STATION2, AMIN, Japan) その比較は、健側肢の同レベル皮下組織面積を基に計算される。

#### 2.9.4 皮膚毛細血流障害の評価

浮腫による皮膚の過伸展によって起こる皮膚血流障害の指標とし、皮膚かん流圧(SPP; skin perfusion pressure)を用い計測する。(SensiLase™, PAD3000, VASAMED Inc, U. S.)

#### 2.9.5 リンパ管うっ滞の程度評価

リンパ管シンチグラフィを用い、治療前後において RI の集積濃度を比較することにより、リンパ流のうっ滞の程度測定する。

#### 2.9.6 リンパ管以外の原因の検索

CT により行う。(深部静脈血栓症、下大静脈血栓症、静脈瘤、動脈瘤、骨盤内占拠物などの否定。)

血液検査により低アルブミン状態や腎不全状態の有無を確認する。

胸部レントゲン写真や心臓超音波検査から心源性浮腫を否定する。

#### 2.10 費用・資金

必要経費に関する資金は厚生労働省科学研究費(平成 22-難治-一般-154)から支払われる。

今研究における薬剤による有害事象に対しては、その保障を研究保険でまかなうものとし、保険料は研究費から支出する。

### 3. 結果

40 人の四肢浮腫の患者を診察し、診断基準に合致した 20 名のリンパ浮腫患者を今研究にエントリーした。観

察期間中、シロスタゾール群において 1 名に進行癌が発見されたため研究から逸脱した。また、アスピリン群において患者の都合により 1 名が研究から逸脱した。

比較的重症のリンパ浮腫と診断され、今研究に参加した 20 人中 3 人が原発性と診断された。(患者背景において、2 群間の有意差を認めないが、アスピリン群に比べシロスタゾール群でややリンパ浮腫罹患期間が長い傾向を認めた。(表 1)

患側肢の疼痛評価を VAS により示す。両群間における有意差は認めないが、両群とも治療後の疼痛が軽減する傾向を認めた。(表 2)

また、患側肢における皮膚かん流圧測定では、両群および治療前後で差を認めなかった。(表 3)

CT による腓骨近位端から 10 cm 遠位側における皮下面積については、両側下腿浮腫患者を表 4 に、上肢浮腫患者を表 5 に示し、片側下腿浮腫患者の結果を図 1 に示す。

両側下腿浮腫患者では、アスピリン群の 1 名において改善を認めた。(表 4)

上肢浮腫の患者では、皮下面積の変化においてはあまり変化を認めなかった。(表 5)

片側肢の浮腫を有する患者において、CT における治療前後の皮下組織面積の変化を図 1-1~3 に示す。完全寛解を健常側肢の皮下面積を基準にプラス 10%までと仮定すると、アスピリン群では完全寛解を認めないが(図 1

ー2)、シロスタゾール群において片側肢浮腫患者5例中4例が完全寛解を示した。(図1-1、-3)

#### 4. 考察

今研究は、1次性および2次性リンパ浮腫に対する、治療効果、つまり、患肢の容積減少を主要評価項目としたランダム化比較試験である。

今回の報告では、診察患者総数40名中、リンパ浮腫と確定診断した20名に対し研究参加の同意を得た今のところ、この20名についての検討であるため、絶対的な結論は導き出せないが、しかし、いくつかの興味深い結果を得た。

診断において興味深かった点は、下腿に浮腫が強い場合であっても必ずしもリンパシンチグラフィではリンパ流のうっ滞を求めない場合を認めたことである。リンパ流のうっ滞をリンパ浮腫の原因と規定すると、シンチグラフィの診断における有用性および重要性が理解された。

40人の四肢に浮腫を訴える患者中、シンチにて明らかにリンパ流のうっ滞を認めた患者は20名(50%)、この20名のリンパ浮腫患者中、あらゆる手段において原因が同定できず、原発性と診断した患者数が3名(15%)であった。

表4、5および図1に示すように、今研究でリンパ浮腫と診断された研究に参加し完遂した患者18名で、シロスタゾール群では10人中7人が、アスピリン群では8人中5人が、浮腫

に対する一定の改善効果を示している。更に、図1-1および1-3に示すように、片側浮腫患者において、シロスタゾール群では6名中4名に完全寛解を認めた(完全寛解率67%)。完全寛解した4名のうち、2名が原発性、1名が女性付属器癌の、他の1名が膝関節置換術の術後であった。発症原因のいかんにかかわらず、今治療法の有効性が示唆された。

2009年に出版されたリンパ浮腫治療のConsensus document<sup>4)</sup>では、複合治療の有効性が述べられている。今研究の治療プロトコールでは、当初の1か月間は内服および電動式波動型末梢循環促進装置の使用を行い、その後内服のみの治療に移行する。つまり、当初1か月間の治療効果は薬剤並びに電動式波動型末梢循環促進装置によるものと考えられる。両群間の差は薬剤によるものと推測できる。

類難治性疾患と捉えられ、世界中でその治療に難渋している疾患のひとつであるリンパ浮腫に対し、治療対象患者の半数以上に一定の改善効果が認められ、片側浮腫リンパ浮腫患者の67%に完全寛解をもたらしたという事実は、大きなインパクトを感じざるを得ない。

リンパ浮腫の主要症状のひとつである疼痛を、VASを用いて評価した。表2にあるように、浮腫によって皮膚が過伸展され生じる疼痛は今治療により改善を認めた。皮下組織面積の変化が無い症例でも、VAS上の改善を認める場合があった。同症例ではSPPの増加



を認めた。皮下組織面積の変化は認めないが、浮腫による皮膚の伸展刺激が緩和され、VASの改善につながり、また、皮膚に緊満性が緩和されたためSPPが増加したと考えることも可能である。

データには示さないが、リンパ浮腫の発症時期は、原因と考えられる外科的治療後、しばらく経過してからの発症が多くみられた。その期間は、数カ月から数年の場合も認められた。

また、シロスタゾール群の下腿浮腫患者において、完全寛解群4名と非完全寛解群5名の比較では、その平均リンパ浮腫罹患期間に差を認めた（完全寛解群9か月 vs 非完全寛解群5.7か月）。リンパ浮腫治療では、早期診断および早期治療が重要であることを示唆する結果であった。

## 5. 結語

本研究は、1次性および2次性リンパ浮腫に対する、治療効果、つまり、患肢の容積減少を主要評価項目としたランダム化比較試験である。

リンパ浮腫に対する治療において、シロスタゾールの内服と電動式波動型末梢循環促進装置の使用を組み合わせた治療は、自宅において高齢者でも実行可能で有効性の高い治療法であると考えられた。

今回の治療に対し、良好な効果を認めた症例以外に、効果不十分な、治療に対する抵抗性を持つと考えられる症例の存在が認められた。これはリンパ

浮腫罹患期間および罹患肢数（両側か片側か）に強く影響を受けているため、より早期の治療介入が重要と考えられた。

最後に、今研究に対しご協力をいただいた方々、特に臨床研究支援室、放射線科および看護部の方々に厚く御礼申し上げます。

## 6. 参考文献

- 1) 厚生労働省難病研究班（2009）：難病研究班報告 原発性リンパ浮腫
- 2) 上山武史(2004)：リンパ浮腫治療に対する社会認識の現状と今後の課題、リンパ浮腫診療の実際－現状と展望、文光堂、130.
- 3) 増澤幹男ら（2001）：フィラリア症による慢性リンパ浮腫と重症リンパ漏、日本皮膚科学会雑誌:111(2), 179-83
- 4) The diagnosis and treatment of peripheral lymphedema: 2009 consensus document of the International Society of Lymphology. Lymphology. 2009;42:51– 60.

## 7. 健康危険情報

なし

## 8. 研究発表

特許申請に伴い2012年5月の時点では行っていない。

## 9. 知的財産の出願・登録

2012年5月特許出願。

## 10. 表

表1 患者背景

	シロスタゾール 群	アスピリン群
患者数(人)	10	8
男性数(人)	1	1
平均年齢	70.6	69.4
BMI	27.1	28
腎不全患者数(人)	0	0
心不全患者数(人)	0	0
リンパ浮腫罹患期間(月)	51.8	45.2
蜂窩織炎の既往がある患者数(人)	5	5
原発性リンパ浮腫患者数(人)	2	1
癌手術の既往がある患者数(人)	7	4
人工関節手術の既往がある患者数(人)	3	1
静脈血栓症の既往がある患者数(人)	0	3

BMI; body mass index

表2 疼痛の評価 (VAS)

	シロスタゾール	アスピリン	T テスト
疼痛スケール(治療前)	14.2	22.6	NS
疼痛スケール(1ヶ月後)	4.4	15.3	NS
疼痛スケール(6ヶ月後)	3.8	5.1	NS
T テスト	p=0.31	p=0.10	—

NS; no significant difference

表3 皮膚かん流圧 (SPP)

	シロスタゾール	アスピリン	T テスト
皮膚かん流圧	65.5	65.9	NS
皮膚かん流圧(1ヶ月後)	71.3	72.5	NS
皮膚かん流圧(6ヶ月後)	73.0	70.0	NS
T テスト	NS	NS	—

NS; no significant difference

表4 両下肢浮腫患者における皮下面積の変化

シロスタゾール群		治療前	治療1カ月後	治療6カ月後
1	右	28.24	27.75	28.81
	左	28.91	26.34	27.65
2	右	63.36	64.82	60.54
	左	64	70.28	62.24
3	右	51.95	51.04	54.99
	左	43.84	44.12	45.93

アスピリン群		治療前	治療1カ月後	治療6カ月後
1	右	55.04	26.86	27.35
	左	41.38	28.74	28.73
2	右	50.96	55.28	51.52
	左	54.48	61.68	52.23
3	右		31.9	36.97
	左	39.25	39.34	37.43

単位は全て  $\text{cm}^2$

表5 上肢浮腫患者における皮下面積の変化

シロスタゾール群		治療前	治療1カ月後	治療6カ月後
1		33.61	31.9	32.72

単位は  $\text{cm}^2$

図1-1 シロスタゾール群における片側浮腫全患者の皮下組織面積の変化

