

令和 2 年 6 月 21 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08105

研究課題名(和文) リドカインは腫瘍疾患動物の予後に影響するか?放射線増感作用に着目した検討

研究課題名(英文) Does lidocaine affect the prognosis of animals with tumor disease? Focused on the radiosensitizing effect of lidocaine.

研究代表者

井芹 俊恵 (ISERI, Toshie)

山口大学・共同獣医学部・助教

研究者番号：00453142

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：リドカイン(Lid)は上皮成長因子受容体(EGFR)を抑制し、EGFR阻害薬が放射線増感効果を持つ報告から、放射線治療を行う腫瘍疾患犬の全身麻酔にLidを組み合わせた場合の影響を検討するため、犬の悪性黒色腫の細胞株2株LMeC(EGFR高発現株)とKMeC(同低発現株)を用いてLidの放射線増感作用について検討した。両株でLidは高濃度で細胞毒性を示した。増殖能はとくにLMeCでLid濃度依存性に低下したが、非照射時ではLid無添加に比べLid低濃度で一旦増加した。結果からLidは放射線増感作用をもつ可能性が示唆されたが、状況により腫瘍細胞を保護する可能性も考えられ、さらなる検討が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、これまで麻酔は患者予後に関与しないとされていた常識を、麻酔方法の選択が患者予後を変える可能性があることを示す学術的意義があり、また、人だけでなく伴侶動物では、高齢化に伴い悪性腫瘍症例は増加しており、手術や治療に伴う全身麻酔の選択が重要であること示したことは社会的に意義があると考えられる。リドカインは古くから安全に使用されてきた薬物であり、これまでも広く使用されていることから、腫瘍疾患症例の予後に与える影響については、今後のがん治療成績の向上のためには引き続き詳細な検討は急務であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：It is reported that Lidocaine (LID) inhibits the epidermal growth factor receptor (EGFR), and EGFR inhibitors have a radiosensitizing effect. To study about a radiosensitizing effect of LID in dogs with tumors undergoing radiation therapy, two canine malignant melanoma cell lines, LMeC (high expression of EGFR) and KMeC (low expression of EGFR), were used. LID had cytotoxic effect at high concentrations in both strains. Proliferative capacity was reduced in a LID concentration-dependent manner, especially in LMeC. But, in the non-irradiated condition, the proliferative capacity was once more increased at low LID concentrations. These results suggest that LID may have a radiosensitizing effect, however, depending on the conditions, LID could potentially protect tumor cells. Further study is needed.

研究分野：獣医麻酔学

キーワード：麻酔 リドカイン 局所麻酔薬 腫瘍 放射線治療 獣医麻酔学

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

2016年頃から「麻酔薬や麻酔方法の選択が患者予後に影響するのか?」というテーマが着目されはじめ、現在でも盛んに研究が続けられている。麻薬性鎮痛薬であるオピオイドの全身投与は現在でも広く使用されているが、免疫抑制作用があることが明らかとなり、局所麻酔薬を用いた硬膜外鎮痛が、強力な鎮痛効果による周術期ストレスを抑制して腫瘍再発を抑制することが報告されてから、麻酔方法を選択する重要性が認識されはじめた。基礎的検討では、局所麻酔薬の一つであるリドカインそのものに腫瘍増殖抑制、転移抑制効果が報告され、また、腫瘍増悪に関わる上皮成長因子受容体(EGFR)を抑制すると報告されている。EGFR 阻害薬は放射線増感剤としても期待されているが、リドカインによる EGFR 阻害を介した放射線増感作用については未だ報告がない。

伴侶動物の放射線治療では不動化のために全身麻酔が必須だが、手術麻酔と異なり術式の違いや組織の損傷などといった周術期ストレスがないため、麻酔方法の影響を評価しやすい。これらのことから、リドカインの放射線増感作用、および麻酔にリドカインを組み合わせた場合の腫瘍症例の予後を評価するためには、自然発症の腫瘍疾患動物の放射線治療で評価することが適していると考えられる。また、その得られたデータは、人の腫瘍症例に対しても有用な情報を提供できると考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、局所麻酔薬であるリドカインの放射線増感作用について検討し、腫瘍疾患症例の予後に影響を与える麻酔法を明らかにすることである。

### 3. 研究の方法

本研究では、2つの検討を行った。まず1つは、腫瘍細胞株を用いた基礎的検討として、リドカインの放射線増感作用を明らかにすることである。もう1つは、今後に予定されている臨床的研究に必要な検討として、伴侶動物ではリニアックによる強度変調放射線治療(IMRT)を用いた放射線治療の方法についてガイドライン等が存在しないため、まず山口大学附属動物医療センターにおけるリニアックによる放射線治療の方法を確立すること、そしてその放射線治療を行った場合に、リドカインを用いない麻酔方法の治療成績について基礎的データを調査することである。

#### [リドカインの放射線増感作用についての検討]

犬の悪性黒色腫の細胞株2株(LMeCとKMeC)を用いて、リドカインの放射線増感作用について検討した。RT-PCRの結果、LMeCはKMeCに比べてEGFRを高発現しており、リドカイン添加でその発現量はKMeCと同程度まで減少した。放射線照射はリニアック(Elekta, synergy)を用い、予め治療計画装置(Elekta, Monaco)を用いて必要なMU値を計算した。照射方法については、1分割4Gy、実際の臨床での放射線治療を想定した3週間6分割合計24Gy、5週間10分割合計40Gyの条件で検討した。リドカインは0-4000 $\mu$ Mを培地に添加した。細胞生存率については、96wellに培養した細胞にリドカイン添加および照射をしたのちに、CCK8(同仁社)を用いプレートリーダーで吸光度(450nm)を測定した。増殖能については、コロニーフォーメーションアッセイを用い、処置後に60mmシャーレに細胞500個を播種し、1週間後に形成されたコロニー数を計測した。

#### [伴侶動物におけるリニアックによるIMRTを用いた放射線治療の検討]

放射線治療機器を伴侶動物のIMRTに適するよう調整した。治療装置はElekta Synergy、治療計画装置はMonaco(ver. 5.11)を用いた。MLCパラメータの調整には、水等価ファントム、EBT3フィルムを用いて実測し、OmniProIMRTを用いて計画線量と比較した。実際の治療対象である伴侶動物(犬、猫)を対象として作成した治療計画を、線量測定(アイソセンター:IC部分および低線量域部分:OAR)ならびにガフクロミックフィルムによるガンマ解析を行った。なお、本検討は山口大学医学部附属病院放射線治療部と連携して実施した。

次に、この条件で調整されたリニアック装置を用いて、2017年5月から2018年8月までに実際に治療を行った鼻腔腫瘍の犬の予後について生存期間を調査した。すべての症例はmodified Adams分類に基づきステージ分類(1から4までの4段階)を行った。リニアックを用いた放射線治療群(以下、L群)は28頭であり、ほとんどの症例で1回線量4.2 Gyで週2回の10分割の放射線治療を受けた。生存期間中央値(MST)および1年生存率を算出した。

### 4. 研究成果

#### [リドカインの放射線増感作用についての検討]

両株でリドカインは高濃度(4000 $\mu$ M)で直接的な細胞毒性を示し、放射線照射(1回4Gy)との併用で増殖能はLMeCではリドカイン高濃度で抑制されたが、KMeCではリドカイン濃度は影響しなかった(第97回日本獣医麻酔外科学会発表)。実際の臨床では放射線治療は長期間複数回分割で行われる。そこで3週間6分割合計24Gy、5週間10分割合計40Gyの照射と組み合わせで検討した。細胞生存率は両株とも照射の影響は小さく、リドカイン高濃度で低下した。増殖能は40Gyで激減し、さらにリドカイン濃度依存性に低下した。一方で、非照射時では生存率および増殖能

がリドカイン無添加に比べリドカイン低濃度で一旦増加してから高濃度で低下した。これらの結果からリドカインは放射線増感作用をもつ可能性が示唆されたが、使い方によっては腫瘍細胞を保護する可能性も考えられ、さらなる検討が必要であると考えられた。

[伴侶動物におけるリニアックによる IMRT を用いた放射線治療の検討]

Leaf transmission および Leaf Offset は、Elekta より公表されている Monaco MLC パラメータ調整方法を基準とし、さらに獣医療に適した複雑で小さい照射野のパラメータに調整した。この条件で、2017 年 5 月から 2018 年 9 月までの IMRT を用いた 71 症例 81 プランで検証したところ、全例で許容範囲内(IC:3%以内、OAR:5%以内)となり、またフィルムを用いた線量分布に関する検証でも Gamma 解析にて Pass 率 95%以上を達成することを確認した(第 31 回日本放射線腫瘍学会発表)。

前述の放射線治療の方法を用いて、実際に治療を行った鼻腔腫瘍の犬(n=28)の予後について検討を行った 2019 年 9 月 30 日において 12 頭が生存しており、MST は 550 日、1 年生存率は 64%であった。ステージ分類したところ、MST はステージ 1、2、3 では 409-931 日だったが、ステージ 4 では 176 日であった。リニアックを用いた放射線治療は、侵襲性の高いオペなどと併用せずに有用性が極めて高い優れた治療法であると考えられたが、ステージの進んだ症例に対しては、治療成績の改善がさらに望まれると考えられた(第 99 回日本獣医麻酔外科学会発表)。

これらの検討から、リドカインの放射線増感作用については、EGFR を介した機序についてさらなる検討が必要であることと、放射線を照射しない場合のリドカイン低濃度の時の細胞保護効果の仕組みについても、実際の臨床例に用いるためには詳細な検討が必要であると考えられた。また、臨床症例の全身麻酔では、プロポフォールや吸入麻酔をはじめ、他の麻酔薬も組み合わせることが必要であるため、これらの薬物の関与についても検討する必要があると考えられた。一方で、犬などの伴侶動物に適したリニアック治療を確立することができ、比較対象となるリドカインを用いない麻酔法の治療成績について今後も追跡し、データを蓄積することが可能となった。今後はさらなる基礎的な検討を重ね、安全に臨床応用が可能となる条件の検討を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 井芹俊恵、新里さおり、中市統三、谷健二、板本和仁、原口友也、砂原央、田浦保穂
2. 発表標題 犬腫瘍細胞株におけるリドカインの抗腫瘍効果についての検討
3. 学会等名 第97回日本獣医麻酔外科学会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 井芹俊恵、田辺悦章、上原拓也、中市統三、谷健二、板本和仁、西川晋平、原口友也、檜山雅人、田浦保穂、高橋昌太郎、澁谷景子
2. 発表標題 獣医療におけるIMRTの初期経験 ～とくにMLCパラメータ調整について～
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第31回学術大会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 鳥越 優里、井芹 俊恵、安部 萌々子、堀切園 祐、砂原 央、板本 和仁、谷 健二、伊藤 晴倫、田浦 保穂、中市 統三
2. 発表標題 犬の鼻腔内腫瘍に対するオルソボルテージあるいはリニアックを用いた放射線治療効果についての検討
3. 学会等名 第99回日本獣医麻酔外科学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----