

令和元年6月20日現在

機関番号：24601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16477

研究課題名(和文)超音波弾性画像を用いた動注化学療法に対する抗腫瘍対効果判定の基礎研究

研究課題名(英文) Basic research of anti-tumor efficacy evaluation for intra-arterial injection chemotherapy using ultrasound elastography

研究代表者

太地 良佑 (Taiji, Ryosuke)

奈良県立医科大学・医学部附属病院・研究員

研究者番号：60773265

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：大腸癌肝転移モデルラットと殺細胞性抗癌剤(イリノテカン、SN-38内包のナノ粒子製剤)を用いて静注療法、肝動注療法を行い、治療効果判定に造影超音波を施行した。造影超音波のtime intensity curveのパラメータのうちTTP(time to peak)と近似曲線の定数k値が腫瘍径との相関が強いことが明らかになった。また、各治療法の早期からそれら二つのパラメータが変化し、奏効率の高いもの(responder)と低いもの(non-responder)の間で早期より有意差がみられた。このことから上記二つのパラメータが治療早期予測の因子となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、抗腫瘍効果の判定にCTやMRI、FDG-PETが用いられている。これらの検査は診断能や客観性において超音波検査より勝る。一方で超音波検査は低侵襲で廉価であることから繰り返し評価できるという側面がある。そのため超音波検査が高い客観性を持ち治療早期からの評価が可能になれば、治療戦略がより良いものとなり、患者の生命予後に大きな影響を持つ。本研究では造影超音波を用いてラットの肝腫瘍を評価し、治療早期から造影超音波のパラメータの有意な変化がみられた。これより本研究成果は超音波による早期での抗腫瘍効果評価の推進に寄与することが期待できる。

研究成果の概要(英文)：To determine the best parameter to collate changes of tumor sizes in time intensity curve (TIC) of contrast-enhanced ultrasonography (CEUS) and to evaluate whether the determined parameter could predict tumor response in intravenous Irinotecan therapy and intra-arterial micellar nanoparticles incorporating SN-38 in a rat colorectal liver metastasis model.

The value k in TIC obtained by CEUS can be a sensitive parameter to predict tumor response in intravenous Irinotecan therapy and intra-arterial therapy using micellar nanoparticles in rat model. Further clinical investigation is mandatory.

研究分野：血管内治療、造影超音波

キーワード：動注化学療法 RCN-9腫瘍移植ラット 造影超音波 time intensity curve 抗腫瘍効果判定

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

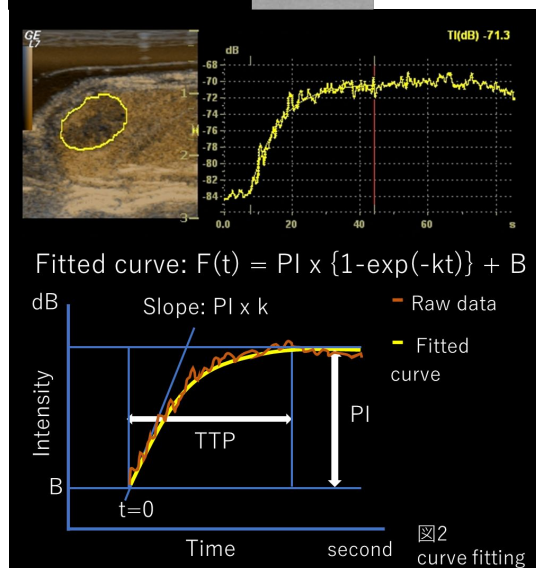
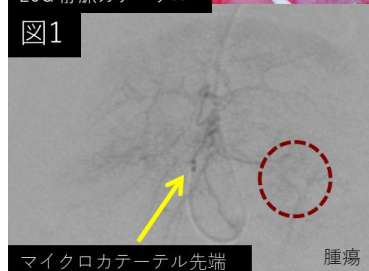
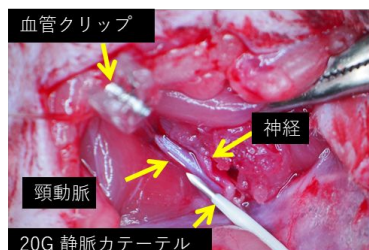
(1) これまでに RECIST 分類を用いて腫瘍径から全身化学療法、動注化学療法の抗腫瘍効果を判定していた。しかし、腫瘍径のみでの判定は困難で時間経過を要する。腫瘍は化学療法が施行されたのち、腫瘍径の変化が著しくない治療早期から内部性状が変化する。治療が奏功するのは殺細胞性薬剤のために内部壊死を生ずる。このような内部性状の変化を超音波での評価することが期待されている。

(2) これまで我々は動物実験にて全身化学療法と動注化学療法間での優位性について明らかにしてきた。また、NK012 というナノ粒子製剤を用いた実験も行っている。NK012 はイリノテカンの活性体である SN-38 をミセル化した薬剤である。水難溶性である SN-38 をポリエチレングリコールとポリグルタミン酸のブロックポリマーを結合(ミセル化)させることで水溶性となる。SN-38 の血中および肝実質内濃度はイリノテカンと比して NK012 が有意に高い値となることが明らかになっている。また、NK012 の静注群、動注群間の評価では動注群で肝実質内濃度が有意に高い結果が得られている。

(3) 当施設では動物用のエラストグラフィーを施行することが困難であったため、造影超音波を用いて評価している。これまで造影超音波での抗腫瘍効果の早期予測に関して複数のパラメータが有用との報告があり、最も有用な因子については議論の余地がある。特に、造影超音波の time intensity curve のパラメータによる抗腫瘍効果の早期予測が期待されている。

2. 研究の目的

全身化学療法と動注化学療法での抗腫瘍効果を造影超音波で評価する。これまで我々は全身化学療法と動注化学療法の有用性を薬剤の血中濃度、腫瘍内薬剤濃度から判定してきた。今回は、造影超音波を用いて経時的に腫瘍径と内部性状、造影超音波時のパラメータを評価する。また、各治療法において腫瘍壊死率も評価する。本研究の目的は腫瘍径と造影超音波のパラメータがどの程度相関しているかを明らかにし、抗腫瘍効果の早期予測のための最適な造影超音波の評価方法を見出すことである。本研究成果は超音波による早期での抗腫瘍効果評価の推進に寄ることが期待できる。



3. 研究の方法

(1) F344 ラットを用いた RCN-9 大腸癌肝転移モデルの作成
F344 ラット(週齢 10-12 週、240-270g)に対してイソフルラン麻酔下で開腹し、肝左葉の表面から被膜下に RCN-9 細胞塊 (1×10^7 個/0.2ml) を注入する。注入 4 週間後に単純 US を施行し肝腫瘍の有無を確認する。

(2) 肝病変に対して殺細胞性抗癌剤を用いた全身化学療法もしくは動注化学療法の施行
肝転移モデルラット 30 匹をコントロール群(n=6)、治療群(n=24)に分ける。コントロール群では尾静脈より生理食塩水を注入する。治療群をさらにイリノテカン静注群(n=14、66.7mg/kg)と NK012 動注群(n=10、30mg/kg)に分ける。イリノテカン静注群は尾静脈より注入する。NK012 動注群は経頸動脈よりアプローチで肝動脈に 1.6Fr. マイクロカテーテルの先端を誘導し、そこから動注する(図 1)。

(3) ダイナミック造影超音波を施行、time intensity curve の描出

GE 社 LOGIQ7 とソナゾイドを用いて治療後 0 日目、3 日目、10 日目に最大腫瘍径を計測する。また、最大腫瘍径が描出される断面にて治療後 0 日目、3 日目に造影超音波を施行した。単純 US では 9L プローブ、乳房モードを用い、ゲイン 36、ダイナミックレンジ 51、フレームレート毎秒 21 で施行した。造影 US も 9L プローブを用い、ゲイン 74、ダイナミックレンジ 51、フレームレート毎秒 18 でハーモニックイメージングを乳房モードにて施行した。Mechanical Index(MI 値)は 0.18 とした。尾静脈からシリンジポンプ(FP-1000, Melquest 社)を用いて 0.3mL/kg のソナゾイドを毎分 2.4mL で注入した。

造影超音波を 85 秒間施行し、LOGIQ7 に内蔵されている近似曲線描出ソフト(curve fitting)を施行する。実際の time intensity curve から算出された近似曲線のパラメータを評価する。Curve fitting で用いた近似曲線は $F(t)=PI \times (1-e^{-kt}) + B$ で、評価したパラメータは k 値、TTP(time to peak)、PI(peak intensity)、Slope($t=0$ での傾き、 $PI \times k$)である(図 2)。

(4)相関係数と治療効果の評価

まず、コントロール群で腫瘍径の変化率と各種パラメータの相関係数を求める。腫瘍径の変化率は以下の式を用いた、 $(b-a)/a$ 、 a : a 日目の腫瘍径、 b : b 日目の腫瘍径)。次に治療群のうち、10 日目の腫瘍径変化率が 20%未満のものを responder、20%以上を non-responder と定義する。そして、コントロール群で強い相関関係にあったパラメータにおいて responder、non-responder 間で有意差がみられるかを評価する。

(5)腫瘍の壊死率と治療効果を評価

10 日目に動物を犠牲死させ病理像にて肝腫瘍の壊死率を評価し、コントロール群-治療群間、responder 群-non-responder 群間の治療効果の対比を行う。

4. 研究成果

(1)コントロール群での平均腫瘍径変化率は 3 日目に 4.25%、10 日目に 57.1%であった。いずれも腫瘍径変化率は 20%以上であった。0 日目と 3 日目の腫瘍径に有意差は見られなかった。イリノテカン静注群の平均腫瘍径変化率は 3 日目に 4.33%、10 日目に 23.4%、NK012 動注群は 3 日目に 4.81%、10 日目に -5.85%となった。イリノテカン静注群よりも NK012 動注群の方が治療効果は高いことが明らかになった。イリノテカン静注群 14 匹のうち responder は 6 匹、non-responder は 8 匹であった。また、イリノテカン静注群の responder 群の平均腫瘍径変化率は 3 日目で 2.81%、10 日目で 5.62%、non-responder 群の平均腫瘍変化率は 3 日目で 5.47%、10 日目で 36.8%となった。イリノテカン静注群において 3 日目で平均腫瘍径変化率に有意差は見られなかった。そして、NK012 動注群 10 匹のうち responder は 7 匹、non-responder は 3 匹であった。NK012 動注群の responder 群の平均腫瘍径変化率は 3 日目で 4.26%、10 日目で -16.3%、non-responder 群の平均腫瘍変化率は 3 日目で 5.96%、10 日目で 16.1%となった。NK012 静注群においても 3 日目で平均腫瘍径変化率に有意差は見られなかった。以上のことから、いずれの治療法でも平均腫瘍径変化率では 3 日目に responder か non-responder かの判定は困難であることが明らかとなった。

(2)コントロール群において、腫瘍径の変化率と造影超音波の各種パラメータのなかで最も強い相関係数を示したものは k 値($r=0.911$)、次いで TTP($r=-0.741$)であった。ほか、PI や Slope に有意差は見られなかった(表 1)。

表 1. 腫瘍径変化率とパラメータ変化率の相関

パラメータ	相関係数(r)	p
TTP	-0.741	0.033
k	0.911	0.010
PI	0.513	0.875
Slope	0.666	0.279

TTP time to peak, PI peak intensity

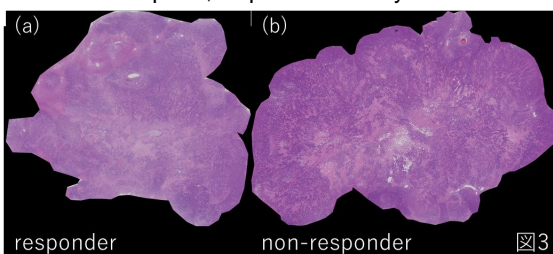


図3 腫瘍効果の早期予測が有効である可能性が示唆された。

(3)治療群に対してはイリノテカン静注群、NK012 動注群ともに 0 日目、3 日目のパラメータ(k 値、TTP)変化率において responder と non-responder 間で有意な差がみられた。このことから 3 日目の結果から 10 日目のこれら二つのパラメータは早期予測に有用である可能性が示唆された。

(4)病理像ではコントロール群と治療群と比して有意に治療群において高い壊死率が得られた。また、治療群の中ではイリノテカン静注群、NK012 動注群共に、responder が non-responder と比して有意に壊死率が高い結果となった(図 3)。

(5)臨床においても、大腸癌肝転移のような非多血性肝腫瘍に対して造影超音波での抗腫瘍効果の早期予測が有効である可能性が示唆された。

(6)今後の研究の展開としては、異なる癌種や肝細胞癌など多血性の腫瘍でも評価可能であるかどうかを検討することが必要と考えられる。また、イリノテカンのような殺細胞性薬剤のみでなく、分子標的薬や免疫阻害薬など異なる薬剤でも同様の相関関係が得られるかどうかを評価する必要があると考える。そして、腫瘍径だけでなく腫瘍体積との相関関係を明らかにすることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計2件)

太地 良佑、Early prediction of tumor response using contrast-enhanced ultrasonography in intra-arterial therapy by micellar nanoparticles in a rat liver tumor model、Society of Interventional Radiology (SIR)、2019年3月27日、オースティン(アメリカ)

太地 良佑、Impact of intra-arterial therapy using micellar nanoparticles incorporating SN-38 and early prediction of tumor response in a rat colorectal liver metastasis model、Invitational lecture at MD Anderson Cancer Center、2019年3月29日

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：