

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：32202

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19481

研究課題名(和文) 腹部多発リンパ節転移を標的とした逆行性リンパ管内化学療法の開発

研究課題名(英文) Intrathoracic duct chemotherapy targeted to metastatic abdominal lymph nodes

研究代表者

北山 丈二 (Kitayama, Joji)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：20251308

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：広汎な腹部リンパ節転移を標的とした「逆行性リンパ管内化学療法」という新規治療戦略の可能性を探ることを目的として、ブタを用いて頸部から胸管内にカテーテルを挿入し、パクリタキセル(PTX)を投与し、腹腔内諸臓器におけるPTX濃度の推移をLC/MSを用いて測定し、その薬物動態を全身投与時と比較検討した。胸管内投与後8～24時間後の腹部リンパ節内のPTX濃度は、全身投与群と比べやや高く、血清中は低い傾向を示したが、予想ほど顕著な差ではなかった。一方、1～3時間後の尿中のPTXは胸管内投与群で高く、胸管内に投与したPTXの多くは早期に尿中に排泄されると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

広汎なリンパ節転移を伴う消化器癌は手術で根治することは難しく、治療としては化学療法が主体となるが、毒性の制御が臨床的課題である。そこで、腹部のリンパ節由来のリンパ管が集合する胸管から逆行性に抗癌剤を注入することで、リンパ節に選択的に薬剤を分布させ、副作用を軽減させる本治療法の有用性を検討した。しかし、胸管内投与した抗癌剤は早期に尿中に排泄され、薬物デリバリー効率は予想したほどには上がらない事実が判明し、本法には侵襲に見合うだけのメリットはないと判断された。本結果は、臨床的にはNegative dataではあったが、リンパ管学における新しい知見が得られたと考える。

研究成果の概要(英文)：Gastrointestinal cancer with massive nodal metastases is lethal disease. In this study, we tried to infuse an anti-cancer drug, paclitaxel (PTX) into the thoracic duct and examined the drug delivery efficiency to intra-abdominal lymph nodes. We succeeded to established the technical method to perform catheterization in thoracic duct at swine neck. At 8-24 hours after thoracic duct infusion (IT), the concentration of PTX in abdominal nodes tended to be higher as compared with systemic in administration (IV). However, the levels of increased PTX concentration was much less than expected. Whereas, the concentration of PTX in urine was much higher in IT than IV at 1-3 hours after administration, suggesting that most of the PTX transferred in thoracic duct were directly excreted into urine. From these facts, it is supposed that infusion of anti-cancer drugs in thoracic duct does not produce clinical benefit for patients with extensive lymphatic metastases in abdominal malignancy.

研究分野：消化器外科学

キーワード：リンパ節転移 胸管 化学療法 ドラッグデリバリー

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がんは本邦における死因の第一位を占める疾患であるが、中でも腹腔内の消化器系器官のがんは最も頻度が高い。がん治療を考える上で最も重要な事項は転移の制御である。一般にがんの転移は、血行性転移、リンパ行性転移、および体腔内播種性転移に大別されるが、消化器癌においてはリンパ行性転移の頻度が極めて高いのが特徴的である。さて、リンパ節転移に関しては、転移が近傍の領域のみに限局する場合には系統的リンパ節郭清により全ての癌細胞を手術的に除去することで根治させることも可能である。しかし、領域外まで進展したものに関しては、手術では根治は望めないため、全身化学療法が用いられることになる。近年の抗癌剤の進歩により、転移を有する根治切除不能消化器癌の予後は改善したが、副作用、毒性の発現制御という臨床的課題が残っている。すなわち、経口ないし静脈内注射による抗がん剤の投与は癌の存在する部位のみならず、それ以外の健全な臓器にも同様に毒性の強い薬剤が均等に分布するため、骨髄抑制、肝障害、腎障害などの重篤な毒性の方が強く出てしまい、結果として、患者予後に悪影響を及ぼすことも多く経験する。したがって、がんの転移様式に応じた個別の薬剤投与方法の開発が強く望まれる。一般に、血行性転移においては、転移病変が肺や肝臓等の血流の豊富な臓器に多く見られるため、抗がん剤の静脈内投与はそれ自体が比較的デリバリー効率の良い投与方法と考えられる。一方、リンパ節に至る血流はこれらの臓器と比べさほど多くないため、この方法はリンパ節転移（特に他の遠隔転移を伴わない症例）に対しては効率の悪い投与方法と考えられる。

我々は、胃がんの腹膜播種病変に対して、腹腔内にパクリタキセルを直接投与する腹腔内化学療法について臨床研究および基礎研究をすすめ、良好な成果を上げてきた経験を持つ。この経験に基づき、切除不能な転移性腹部リンパ節に効果的に抗癌剤を直接デリバリーする方法として、消化管のリンパ管が最終的に集合する胸管内にカテーテルを留置、リンパ管内に逆行性に薬剤を持続注入するというアイデアを着想し、その有用性を検証する本研究を計画した。

2. 研究の目的

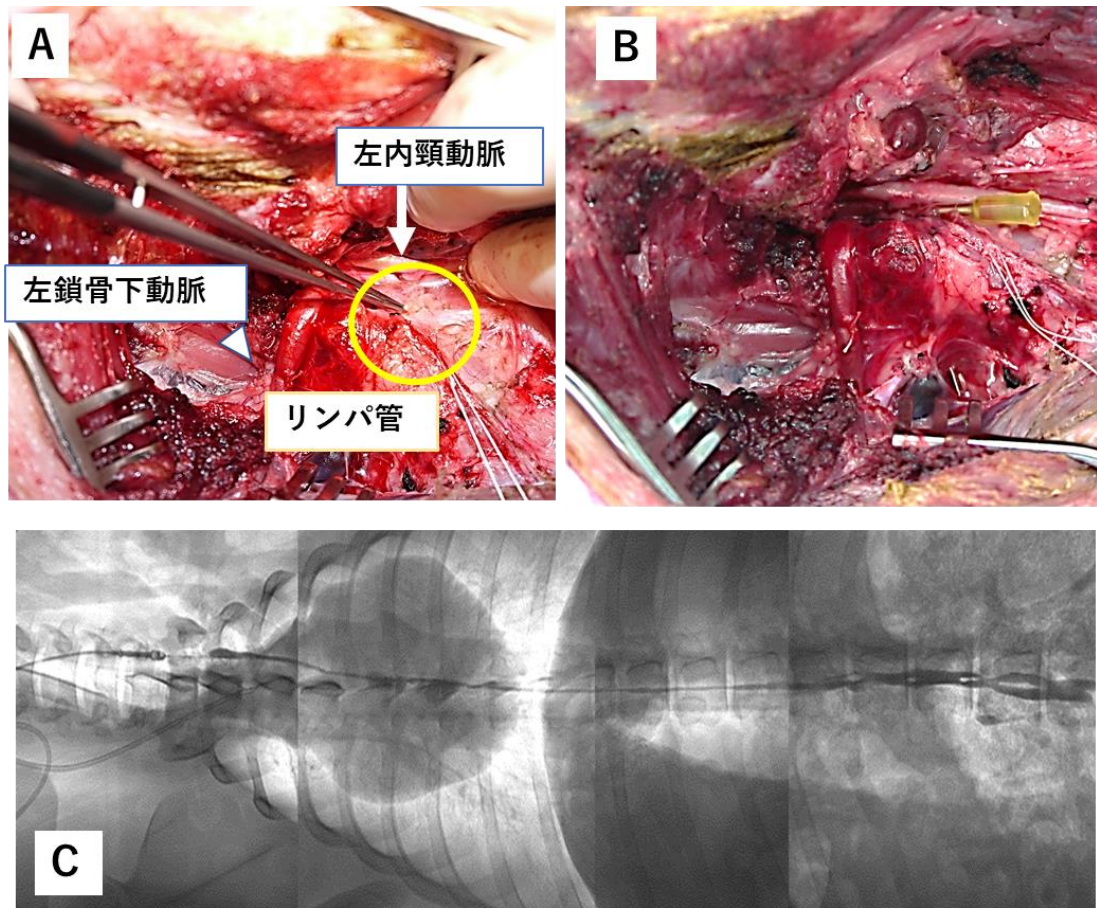
リンパ管系の視認しやすい大動物であるブタを使用し、全身麻酔下に胸管を同定・カニューレション後、抗癌剤を持続的に注入し、抗癌剤の腹部リンパ節を含む腹腔内諸臓器への集積性を経時的に測定する。また、リンパ管内投与時と同容量の抗癌剤パクリタキセル (PTX) を静脈内投与し、胸管内投与時と比較検討することで、胸管内逆行性抗癌剤投与の腹腔内リンパ節への薬物デリバリー効率を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ブタ胸管カニューレションモデルの作成

胸管の同定に家畜ブタを使用した。家畜ブタをセボフルランによる吸入麻酔下に仰臥位とし、開腹後に小腸の腸間膜リンパ節にパテントブルー (FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation、大阪、日本) 23 ゲージ針を使用し 2ml 注入した。胸骨正中切開で開胸した。左肺を内側に圧排後大動脈を確認し、奇静脈のやや頭側にパテントブルーで染色された大動脈に並走する胸管を確認した。胸管を露出しテーピング後、頭側を 4-0 絹糸で結紮し胸管を拡張させた。拡張させた胸管に 22G サーフローでカニューレションしパテントブルーで染色されたリンパ液の流出を確認した。サーフローから 0.018 アンクル型 ラジフォーカスを用いて 4Fr PICC カテーテル (Teleflex、東京、日本) をカニューレションし、オムニパーク (BAYER、大阪、日本) を注入することで胸管の走行を C-arm で確認した。しかし、開胸後胸管へのカニューレションは侵襲の大きさから循環動態が保てず 1-2 時間ほどで死亡するため、PTX 投与後に各臓器における薬物濃度

の経時的変化を検討するにはリンパ管への低侵襲なカニューレション法が必要である。そこで、頸部のリンパ管へのカニューレションを試みた。家畜ブタをセボフルランによる吸入麻酔下に仰臥位とし正中から1cm左側の胸骨頭側1/3の高さを最尾側とした15cmの縦切開で開始した。左前頸筋を切離し、左外頸静脈・左鎖骨下静脈を結紮切離したのちに第一肋骨を胸骨付着部より2cm切離・除去した。残された左内頸動脈と左鎖骨下動脈分岐部に頸部リンパ管を同定した(図1A)。24Gサーフローでカニューレションしリンパ液の漏出を確認した(図1B)。カニューレションしたサーフローよりイオパミロンを注入することでリンパ管の走行をC-armで確認し、リンパ管の走行を確認できた(図1C)



(図1) ブタ胸管内カニューレションから逆行性リンパ管造影

(2) 高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS) による PTX 臓器内濃度の測定

胸管へカニューレションした家畜ブタに対して10mgのPTX(MOCHIDA、東京、日本)を胸管内投与した30分後に血液・リンパ液を採取し、肺・胃・肝臓・脾臓・小腸・大網・腸間膜リンパ節・傍大動脈リンパ節を部分的に採取した。各臓器は採取した状態で凍結用クライオチューブに入れた状態で-80℃に保存し、血液とリンパ液は4℃ 2000rpm 10分で遠心後上清のみを採取し-80℃に保存した。凍結した肺・胃・肝臓・脾臓・小腸・大網・腸間膜リンパ節・傍大動脈リンパ節を各々10mgずつ採取しホモジナイズ処理を行い、高速液体クロマトグラフ質量分析計(以下LC/MS)(SHIMAZU、東京、日本)を使用し臓器内薬物濃度を測定した。

(3) PTXの静脈内投与とリンパ管内投与における各臓器への薬物集積の比較

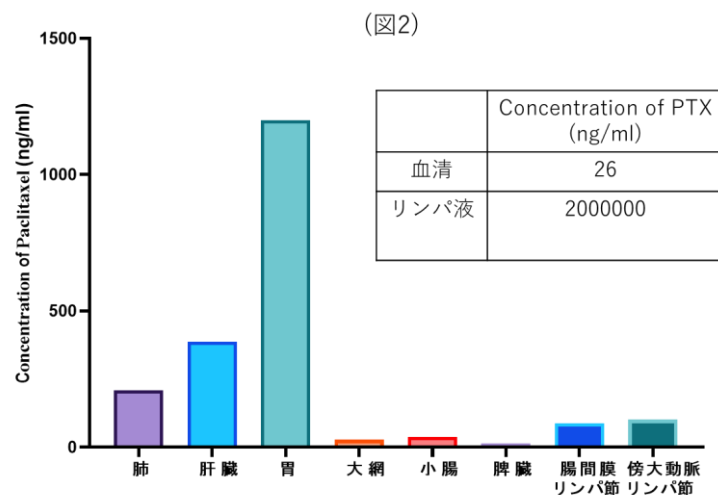
上記のブタ頸部リンパ管カニューレションモデルに対して、ハイドロコートン 100 mg

(Nichiiiko、東京、日本) を静脈投与した後に PTX 30mg をリンパ管に点滴投与したものをリンパ管内投与群とした。また、同様にセボフルランによる吸入麻酔下に仰臥位とし左内頸静脈に 24G サーフローでカニューレションし、ハイドロコートン 100 mg を静脈投与した後に PTX 30mg を点滴静注したものを静脈内投与群とした。これらのブタにおいて、各投与方法において PTX 投与後 8 時間後・12 時間後・24 時間後に各臓器 (肺・胃・肝臓・脾臓・小腸・大網・腸間膜リンパ節・傍大動脈リンパ節 (24 時間後のみ)・大腿筋・腹水) を採取し凍結保存した。また、血液・尿は投与した 1 時間後、3 時間後、8 時間後、12 時間後、24 時間後に、リンパ液は 24 時間後のみ採取した。血液・リンパ液・尿・腹水は採取後直ちに 4℃ 2000rpm 10 分で遠心後上清のみを採取し凍結用クライオチューブに入れ、液体窒素により即時凍結した後に -80℃ に保存した。各臓器は (2) と同様にホモジナイズ処理を行い、LC/MS で臓器内 PTX 濃度を測定した。

4. 研究成果

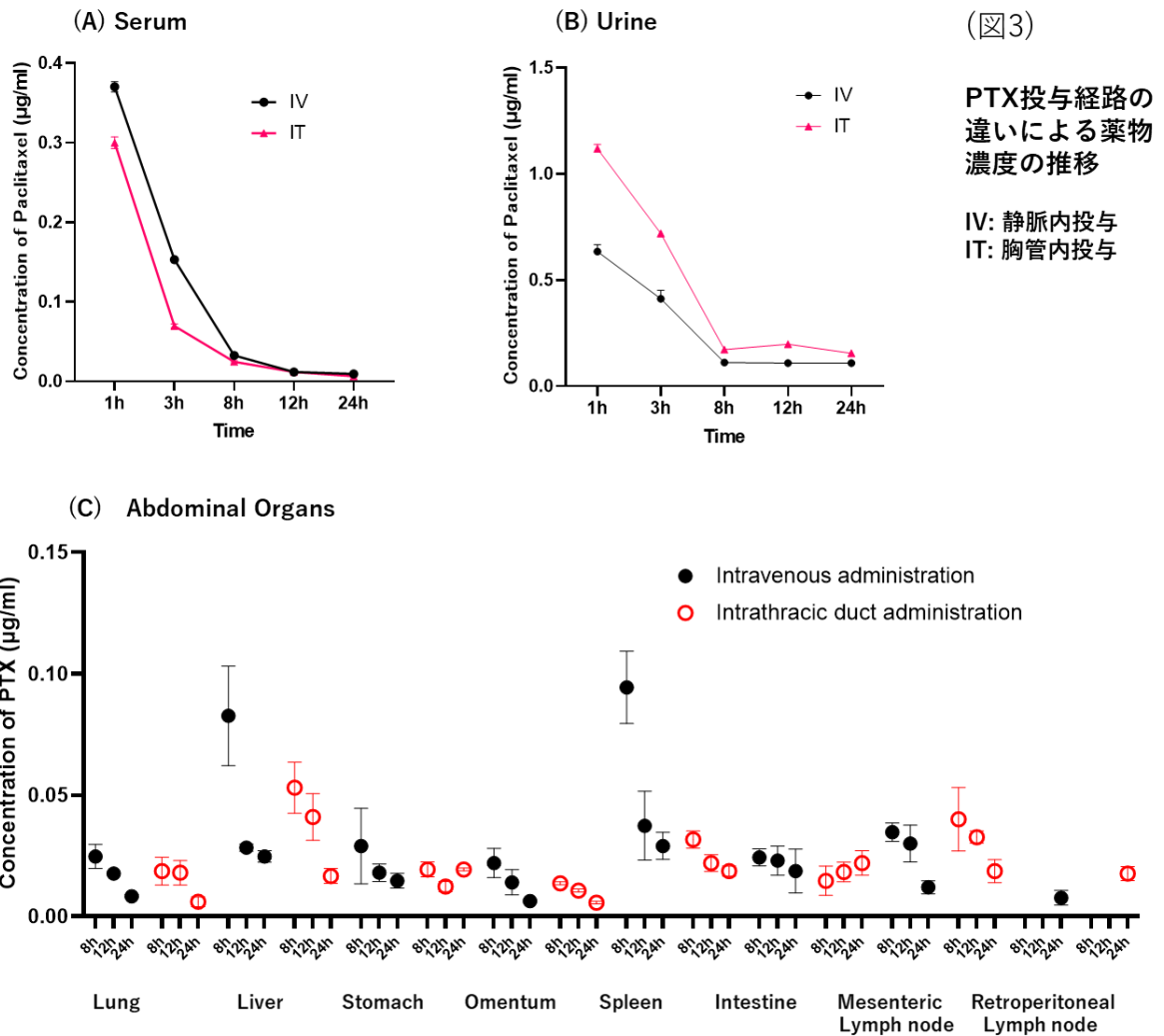
(1) PTX リンパ管投与後早期の各臓器内 PTX 濃度の測定

ブタ胸管カニューレションモデルに PTX10mg を生理食塩水 50ml に溶解して経胸管的に点滴投与した。投与前と投与 30 分後に血液・リンパ液を採取し、肺・胃・肝臓・脾臓・小腸・大網・腸間膜リンパ節・傍大動脈リンパ節を部分的に採取した。30 分後各臓器へのパクリタキセルの到達を LC-MS にて確認できた (図 2)。



(2) PTX の胸管内投与と経静脈内投与の各臓器への集積の比較

PTX 胸管投与 1~3 時間後の血清中 PTX 濃度は、静脈内投与時の約 7 割程度の値を示し、比較的早期より血清に移行することが判明した。その後、血清中 PTX 濃度は経時的に低下し、24 時間後は胸管内投与、静脈内投与ともにほぼ消失した (図 3A)。また、胸管内リンパ液中の PTX 濃度も両投与方法において 24 時間後には差はほとんど認められなかった。臓器別 PTX の集積を比較すると、肝臓、脾臓においては 3 時間後の PTX 濃度は、静脈内投与群が胸管内投与群に比べて有意に高かったが、経時的に低下し 12 時間以上経過すると両群に差は認めなかった。肺、胃、腸、および大網内の PTX 濃度には、いずれの時間帯でも両群に差は見られなかったが、胃、腸の PTX 濃度は静脈内投与群が経時的に低下するのに対し、胸管内投与では漸増する傾向が見られた。腸間膜リンパ節内 PTX 濃度はどの時間帯でも静脈内投与群と比べ胸管内投与群で高い傾向を示し、24 時間後では有意差が見られた。後腹膜リンパ節内 PTX 濃度は 24 時間後にのみ抽出し測定したが、静脈内投与群と比べ胸管内投与群で有意に高値を示した (図 3C)。一方、投与後 1~3 時間後の尿中 PTX 濃度は、静脈内投与群と比較して胸管内投与で約 2 倍の濃度が検出された。また、尿中 PTX 値は、血清や他の臓器に集積した PTX 濃度と比較しても高く、胸管内投与に投与された PTX の多くは尿中に排出されている可能性が示唆された (図 3B)。



(図3)

PTX投与経路の違いによる薬物濃度の推移

IV: 静脈内投与
IT: 胸管内投与

(3) まとめ

ブタを用いて抗癌剤を胸管内に逆行性に投与することは可能であり、投与後各臓器の PTX の集積も確認することができた。仮説としては、PTX の胸管内逆行性投与は静脈内投与と比較して、腹部リンパ節への集積がかなり高くなることが予想されたが、実際には、投与直後の尿中への排泄量が多く、リンパ節内や腹腔内諸臓器内の PTX 濃度には顕著な差は認めなかった。一方、胸管内投与では、リンパ節以外の他臓器、特に肝臓、脾臓での早期集積が、全身投与に比べて低い傾向があり、副作用を考慮すると、静脈内投与より高用量での PTX 投与が可能であるとも考えられたが、尿中への排出量を考えると腎機能障害をきたすリスクが高い可能性もある。したがって、侵襲の大きさを考慮すると、PTX の胸管内投与は現実的には利点は少ないと考えられた。しかし、リンパ管からの尿中排出までの薬物動態は不明瞭であり、今後検討する必要があると考えられた。また、PTX は脂溶性の抗癌剤であるため水溶性の抗癌剤でも同様の薬物動態を示すかどうかについては検討の余地があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	山口 博紀 (Yamaguchi Hironori) (20376445)	自治医科大学・医学部・教授 (32202)	
研究分担者	三木 厚 (Miki Atsushi) (20570378)	自治医科大学・医学部・講師 (32202)	
研究分担者	寺谷 工 (Teratani Takumi) (70373404)	自治医科大学・医学部・講師 (32202)	
研究分担者	宮戸 秀世 (Miyato Hideyo) (90813163)	自治医科大学・医学部・講師 (32202)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関