様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19790885

研究課題名（和文）経皮的肺ラジオ波凝固療法後の治療効果判定に関する基礎的研究

研究課題名（英文）The underlying study on effect of treatment after the percutaneous pulmonary radiofrequency ablation

研究代表者　中田　博（NAKADA HIROSHI）

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：00363599

研究成果の概要：

近年、肺悪性腫瘍に対する低侵襲な治療法として、経皮的ラジオ波凝固療法（RFA）の応用が注目されているが､肺ラジオ波凝固療法においては､治療効果判定の難しさが指摘されている。今回、経皮的肺ラジオ波凝固療法の動物実験を施行し、治療後に摘出した肺組織を組織学的に検証した。細胞の生死を判別する特殊染色にて、焼灼域では陽性細胞は完全に消失し、辺縁部の鬱血帯ではわずかに陽性細胞が残存していた。治療域の辺縁部にはうっ血や炎症性変化を認め、抗グルコース輸送タンパク（Glut1）染色にて陽性を示し、FDG-PET での治療効果判定における偽陽性の要因となることが推測された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
２００７年度	1,300,000	0	1,300,000
２００８年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総　計	2,300,000	300,000	2,600,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：肺　肺腫瘍　ラジオ波凝固療法　ラジオ波

１．研究開始当初の背景
(1)肺の悪性腫瘍は増加の一途をたどり種々の治療法が試みられているが、必ずしも満足する成績は得られていない。特に低肺機能や間質性肺炎合併の患者に関しては、手術療法や放射線療法の適応外とされることも多く、より低侵襲で合併症の少ない治療法の確立が求められている。そこで近年、肺悪性腫瘍に対する経皮的ラジオ波凝固療法（RFA；Radio frequency ablation）の応用が注目されている。
(2)肺ラジオ波凝固療法においては、周囲正常肺実質を含めた焼灼を行うため、焼灼範囲には炎症性変化や出血、無気肺が混在する。このため、ラジオ波凝固療法直後のCTでは実際の腫瘍よりも拡大した高吸収域が出現する。この高吸収域は3ヶ月～1年をかけて緩徐に縮小し、長期間残存することもある。長期経過観察によるサイズ変化で判断せざるを得ない場合が多く、治療効果判定の難しさが指摘されている。
(3)FDG-PET(18F-fluorodeoxyglucose－positron emission tomography)が、早期の治療効果判定に有用ではないかと期待されているが、偽陽性を示すこともあり問題点も多い。

２．研究の目的
糖代謝と腫瘍のviabilityが相関することを応用したFDG-PETが、機能的評価として早期の治療効果判定に適しているかどうか、またその最適な撮像時期を動物実験にて組織学的に評価する。
FDG-PETにおける肺癌への集積は、肺癌細胞の細胞膜に過剰発現したGlut-1（Glucose transporter, Glut〔グルコース輸送蛋白〕のサブクラス）によってFDGが細胞内に取り込まれることによると考えられている。
ラジオ波凝固療法後の組織にGlut-1に対する免疫組織染色を施行し、上記免疫染色法と比較検討する。
到達目標
(1)ラジオ波凝固療法後の組織のviabilityと糖代謝との相関関係の証明。
(2)炎症性変化などFDG-PET偽陽性の要因となる糖代謝に影響する因子の確認。
(3)経時的変化を検討し、治療効果判定としてFDG-PET検査を行う最適な時期を明確化。

３．研究の方法
家兎を用いた動物実験（当大学倫理委員会承認2005－064）により経皮的ラジオ波凝固療法を施行した。
(1)検体・材料
実験動物は兎（日本白色種）15羽。ラジオ波発生装置RT2000. 電極針 LeVeen Needle（展開針数８本　展開針径 20mm　カニュレ径17Ｇ）を使用。
(2)手技
① 全身麻酔した家兎をCT装置に乗せ、全肺を撮像。穿刺部位を特定した。 CT ガイド下肺生検の手技を用いて CT ガイド下に電極針を肺内へ穿刺、20mm径で展開した。大腿部に電極板を貼付。
② 臨床例で施行しているプロトコールに従い、10W よりラジオ波の通電を開始し１分おきに5Wずつ出力を上げた。
③ 焼灼部位の水分が枯渇し、インピ-ダンスが急上昇するロールオフに達した時点を焼灼完了の目安とした。
④ ラジオ波凝固療法後の CT を撮像したあと、屠殺解剖し焼灼した肺を摘出。
⑤ 摘出した肺に割を入れ、一部は凍結組織切片とし、他はホルマリン固定した。
⑥ ホルマリン固定切片より Hematoxylin -Eosin(HE)染色と抗Glut1（SPM498、Thermo Fisher Scientific,USA）染色を施行し､凍結切片よりNADH(nicotinamide adenie dinucleotide) -diaphorase染色を行った。
(3) 分析
家兎15羽を５羽ずつの３グループに分け、治療直後，１ 週間後，２ 週間後に肺を摘出した。肉眼所見と HE 染色組織所見より、①焼灼中心部②焼灼辺縁部③正常肺組織の３つの領域に分類し、NADH 染色にて組織の viability を評価した。また、FDG-PET 検査での集積強度に相関することが指摘されている細胞膜のグルコース輸送蛋白（Glut1）発現の程度を、抗 Glut1 染色にて評価した。Glut1 陽性細胞数の測定は、画像解析ソフト（Win ROOF, Mitani,co.）にて求めた。
(4)統計処理
家兎正常肺に対するラジオ波凝固療法の直後、１週目、２週目の組織でのGlut1陽性細胞数を各領域ごとにカウントし、グルコース輸送蛋白の発現の程度とラジオ波凝固療法後の経過時間との相関関係に関して統計的に評価した。Kruskal-Wallis testにてp値が0.05 以下のとき、統計学的有意差があるものとした。この計算にはGraphPad

Software 社（San Diego,CA, USA）の GraphPad Prism 5 を使用した。

４．研究成果

(1)ラジオ波凝固療法を施行した直後の肺組織には、肉眼所見および HE 染色にて、中心部の凝固壊死と辺縁部のうっ血帯が確認された。このうっ血帯は、焼灼域の辺縁部にあり熱凝固が不完全なため、組織内血管の充血、炎症、浮腫などの急性の生体反応を生じている領域と考えられる。中心部は完全に熱凝固を生じた領域と考えられ、肉眼的には炭化した組織であった。組織学的には、肺胞構造は比較的保たれているものの、急激な熱膨張による気腫性変化を伴っていた。ラジオ波電極針の穿刺部には、胸膜損傷による破綻出血が認められた。

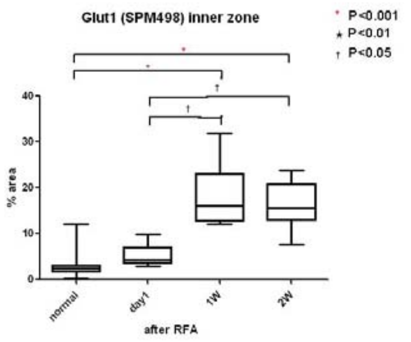
　ラジオ波凝固療法後、1 週間目の組織においては、辺縁部のうっ血帯を主体に炎症細胞浸潤を伴っていた。2 週間目の組織においては、焼灼域は全体的に肉芽組織へと変化しており、うっ血帯の赤血球は減少していた。穿刺部位の胸膜には、1 週目より線維性の肥厚が認められ、2 週目にて胸膜の損傷は修復されていた。このことは、ラジオ波凝固療法後の合併症として起こりうる難治性気胸に対する治療の指標となり、臨床的に有用な知見であると考えられる。

(2)NADH 染色では、ラジオ波凝固療法後の中心部では NADH 陽性細胞は完全に消失し、辺縁部のうっ血帯ではわずかに陽性細胞が残存していた。中心部の viability は失われ、辺縁部においても細胞の活性は、かなり低下していることが示唆された。しかし、臨床例においてラジオ波凝固療法を施行する場合は、局所再発のリスクを極力低下させるため、十分な安全域を確保する必要がある。

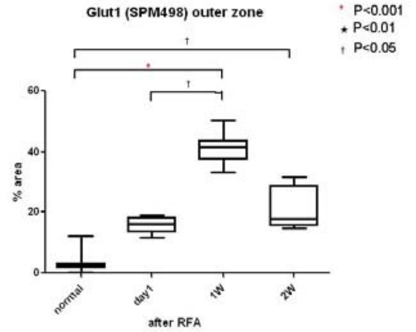
(3)抗 Glut1 染色では、うっ血帯の小血管や胞隔に充満した赤血球や炎症細胞に染色性が認められ、辺縁部を主体にリング状の陽性帯を形成していた。Glut1 陽性細胞率は、中心部（図 1)、辺縁部（図 2）ともに正常組織と比較して、1 週目と 2 週目で有意に高値を示していた。中心部と辺縁部との間には、どの時期にも陽性率に有意差は認められなかったが、全般的に辺縁部の陽性率が高かった（図３）。また、陽性率のピークは中心部、辺縁部ともに 1 週目にあり、2 週目では低下傾向にあった。

　このことから、ラジオ波凝固療法後に生じるうっ血や炎症性変化などの生体反応が、FDG 集積の要因となり、腫瘍細胞の糖代謝活性に基づく viability の評価、ラジオ波凝固療法の治療効果判定の障害になるものと考えられた。従って、ラジオ波凝固療法後に治療効果判定の FDG-PET 検査を行う場合は、少なくとも 1 週目は回避すべきであり、炎症性変化の影響の少ない、治療直後か 2 週目以後に行うことが推奨される。

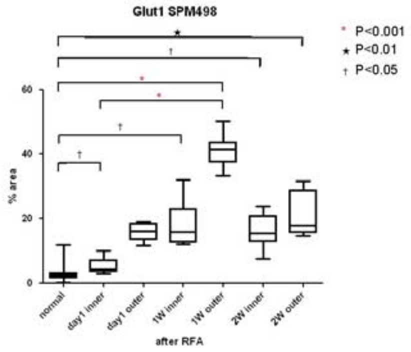
(4) 今後、より長期経過のデータを得ることで、治療に伴う炎症性変化が消退し、どの時期に正常肺組織レベルまで Glut1 細胞陽性率が低下するのかを評価することが課題となる。これにより、肺腫瘍に対するラジオ波凝固療法後の治療効果判定として FDG-PET 検査を施行する上で、偽陽性の可能性を排除しうる最適な時期を特定することが期待される。



（図１） 中心部における Glut1 陽性細胞率



（図２）辺縁部における Glut1 陽性細胞率



（図３）中心部と辺縁部での Glut1 陽性細胞率の比較

５．主な発表論文等
（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計０件）

〔学会発表〕（計４件）
①黒木正臣、中田博、ラジオ波凝固療法による正常家兎焼灼肺の電子顕微鏡所見－viability 評価を中心として－　日本医学放射線学会、2009/4/16～4/19、横浜
②中田博、黒木正臣、肺ラジオ波焼灼術（RFA）による胸膜損傷：家兎モデルの組織学的検討、日本医学放射線学会、2008/4/4～4/6、横浜、
③黒木正臣、中田博、家兎肺に対する経皮的ラジオ波熱凝固早期相の組織像と摘出肺 CT 像との対比、日本医学放射線学会、2008/4/4～4/6、横浜
④Hiroshi Nakada、Pleural Complication Associated with Radiofrequency Ablation: Histopathologic Findings in Rabbit Lung Models During Follow-up Period、欧州放射線学会（Europian Congress of Radiology)、2008/3/7～3/11、ウィーン/オーストリア、

６．研究組織
(1)研究代表者
中田　博（NAKADA HIROSHI）

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：00363599

(2)研究分担者
（　　）

研究者番号：

(3)連携研究者
（　　）

研究者番号：

様式C-19（記入例）

科学研究費補助金研究成果報告書

平成　　年　　月　　日現在

研究種目：基盤研究（A）
研究期間：2004～2007
課題番号：１６０００００００
研究課題名（和文）　○○○○○○○○○に関する研究

研究課題名（英文）　ＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡ

研究代表者

研究成果の概要：○○○

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
２００４年度	10,000,000	3,000,000	13,000,000
２００５年度	10,000,000	3,000,000	13,000,000
２００６年度	10,000,000	3,000,000	13,000,000
２００７年度	10,000,000	3,000,000	13,000,000
年度			
総　計	40,000,000	12,000,000	52,000,000

研究分野：
科研費の分科・細目：
キーワード：

１．研究開始当初の背景
(1) ○○○

(2) ○○○

２．研究の目的

(1) ○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○

(2) ○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○

３．研究の方法

(1) ○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○

(2) ○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○

４．研究成果

(1) ○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○

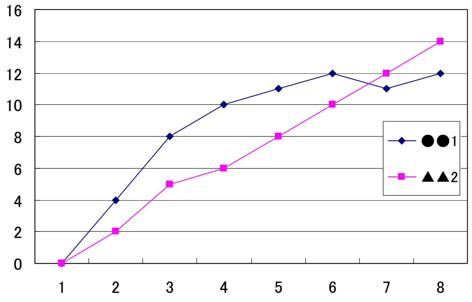


図1 ○○○○○

(2) ○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○

(3) ○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○

(4) ○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○

(5) ○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○

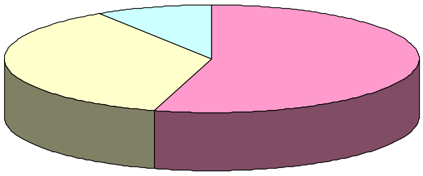


図2 ○○○○○

(6) ○○

(7) ○○

５．主な発表論文等
（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計１０件）
① 学振太郎、半蔵門一郎、学振花子、論文

名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無
② 学振太郎、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無
③ 学振花子、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無

〔学会発表〕（計５件）

①

②

③

〔図書〕（計２件）

①

②

〔産業財産権〕
○出願状況（計□件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計◇件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
http://〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇

６．研究組織
(1)研究代表者
学振　太郎（GAKUSHIN　TARO）

〇〇大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号：
(2)研究分担者
学振　花子（GAKUSHIN　HANAKO）

〇〇大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号：

学振　次郎（GAKUSHIN　JIRO）

〇〇大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号：

学振　三郎（GAKUSHIN　SABURO）

〇〇大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号：

(3)連携研究者
学振　四郎（GAKUSHIN　SHIRO）

〇〇大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号：