

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：14202

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17135

研究課題名(和文)ウサギVX2腫瘍モデルを用いたKORTUC動注併用放射線治療による抗腫瘍効果

研究課題名(英文)Antitumor effect of combination with intra-arterial infusion of hydrogen peroxide and radiotherapy

研究代表者

友澤 裕樹 (Tomozawa, Yuki)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号：90585689

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：放射線抵抗性の腫瘍に対して、放射線照射の前にオキシドールを腫瘍内に局所注入することで酸化を促進させる放射線増感療法(KORTUC)が行われるようになってきている。本研究ではウサギVX2大腿腫瘍モデルを用いて、動注リザーバーポートよりオキシドールを腫瘍の栄養動脈に動注し、それに併せて放射線治療を行い、従来のKORTUC療法や放射線単独治療と抗腫瘍効果について比較検討した。結果としては、明らかな有意差は認められなかったものの、オキシドール動注群では放射線単独治療群と比較し腫瘍増大が抑えられる傾向がみられたが、KORTUC治療群と比較すると抗腫瘍効果はやや劣っていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管内治療の技術を用いることで、カテーテルを腫瘍の栄養動脈内まで挿入し、放射線増感剤であるオキシドールを経カテーテル的に動脈内注入することができ、直接穿刺が困難な深部に位置する腫瘍に対しても放射線治療の効果をある程度増強できる可能性が示唆された。今後は手技として既に確立されている動注リザーバー留置術と組み合わせ、様々な部位の腫瘍に応用可能となることが期待される。ただし直接穿刺によるオキシドールの局所注入と比較すると、動注による増感作用は弱く、動注するオキシドールの量や濃度についての検討や、バルーンカテーテルを用いて血流を閉塞しオキシドールを腫瘍内に停滞させる等投与法の工夫が必要である。

研究成果の概要(英文)：We evaluated the anti-tumor effect of the combination of intra-arterial infusion of hydrogen peroxide and radiotherapy. Twenty Japanese white rabbits were randomly assigned to four equal groups two weeks after VX2 tumor transplantation to the left hind-limb. We then performed the treatment in the according ways; RT (radiotherapy only), KT (local injection of hydrogen peroxide and radiotherapy), KTA (intra-arterial infusion of hydrogen peroxide and radiotherapy), and NT (No treatment) groups. The anti-tumor effects were assessed by the tumor growth rates. The tumor size increased by $136 \pm 43\%$ in RT group, $81 \pm 75\%$ in KT group, $117 \pm 39\%$ in KTA group, $642 \pm 230\%$ in NT group, respectively. Although there were no statistically significant differences among the treatment groups, the tumor growth rates in KT group and KTA group were lower than that in RT group. Intra-arterial infusion of hydrogen peroxide can make VX2 tumor more sensitive to radiotherapy.

研究分野：放射線医学

キーワード：KORTUC オキシドール VX2腫瘍 動注

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 (共通)

1 . 研究開始当初の背景

癌放射線治療において、放射線抵抗性の腫瘍に対して放射線の効果を高める放射線増感剤の必要性が叫ばれて久しい。最近では小川らにより放射線照射の前に過酸化水素（オキシドール）を腫瘍内に局所注入することで酸化を促進させる放射線増感療法（KORTUC: Kochi Oxydol - Radiosensitization Treatment for Unresectable Carcinomas）が行われるようになり、注目を集めている [1, 2] KORTUC 療法では、オキシドールとヒアルロン酸の混合剤を腫瘍に直接注入し、腫瘍内で抗酸化酵素が分解され、酸素が発生することにより放射線増感作用が得られる [3] ただしサイズの大きな腫瘍に対しては、直接穿刺によるオキシドールの局所注入では腫瘍内に十分行き渡らない可能性があり、また深部に存在する腫瘍に対しては直接のアプローチが困難なため、現状では乳癌等体表に近い腫瘍が主な治療対象となっている [4]

2 . 研究の目的

今回我々は、Interventional Radiology の技術を用いてカテーテルを腫瘍の栄養動脈近傍まで挿入し、そこからオキシドールを経カテーテル的に動脈内に注入することによって、腫瘍全体に過酸化水素を行き渡らせることができるのではないかと考えた。さらにこの方法では直接穿刺が困難な深部に位置する病変に対してもカテーテルを用いたアプローチが可能となる。そこでウサギ VX2 大腿腫瘍モデルを用いて、予め留置しておいた動注ポートよりオキシドールを腫瘍の栄養動脈内に注入し、それに併せて放射線治療を行い、従来の KORTUC 療法と同等、あるいはより強い抗腫瘍効果が得られるかどうかを検討した。

3 . 研究の方法

日本白色ウサギ 20 羽の左後肢大腿筋内に 2mm 角の VX2 腫瘍を移植し、2 週間後、動物用 3T MRI 装置で T2WI 軸位断、冠状断、矢状断を撮像し腫瘍の縦・横・高さの長さを求めて、腫瘍体積を計測した。このウサギ 20 羽をランダムに 4 群（各群 5 羽ずつ）に分類し、RT 群：放射線治療単独、KT 群：KORTUC 通常治療、KTA 群：KORTUC 動注治療、NT 群：無治療の治療をそれぞれ行った

KT 群：KORTUC 通常治療群に関しては放射線治療 1 日目と 3 日目の照射直前に 21G 針を用いて腫瘍を直視下あるいはエコーガイド下に直接穿刺し、0.5% 過酸化水素 0.25ml とヒアルロン酸ナトリウム 1.25ml の混合液を局注した。

KTA 群：KORTUC 動注治療群に関しては、放射線治療開始までに動注ポートの留置を行い、5 日

間連続で照射直前に0.25%過酸化水素 1ml が腫瘍内に到達するように動注ポートより注入した。

動注ポートの留置は全身麻酔後に右内頸動脈をカットダウン法にて露出させ、3-Fr. シースを留置し、先端から約 3cm のところに側孔を開けた 2.7-Fr. W スパイラル型動脈留置用カテーテルを左大腿動脈に挿入、側孔が腫瘍を栄養する proximal caudal femoral artery 分岐部より手前に位置するように調整後、カテーテルを残したままシースを抜去したのち、カテーテルをポートに接続し、頸部皮下にポートを埋め込んだ。

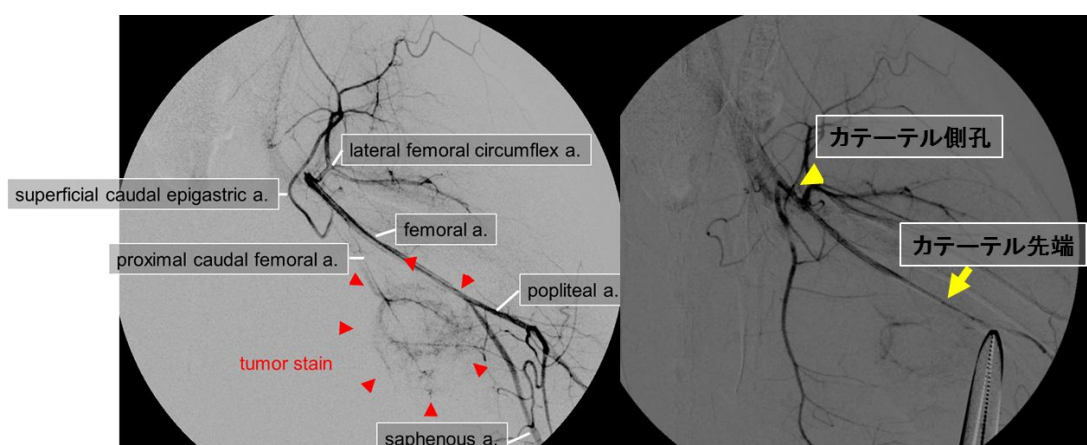
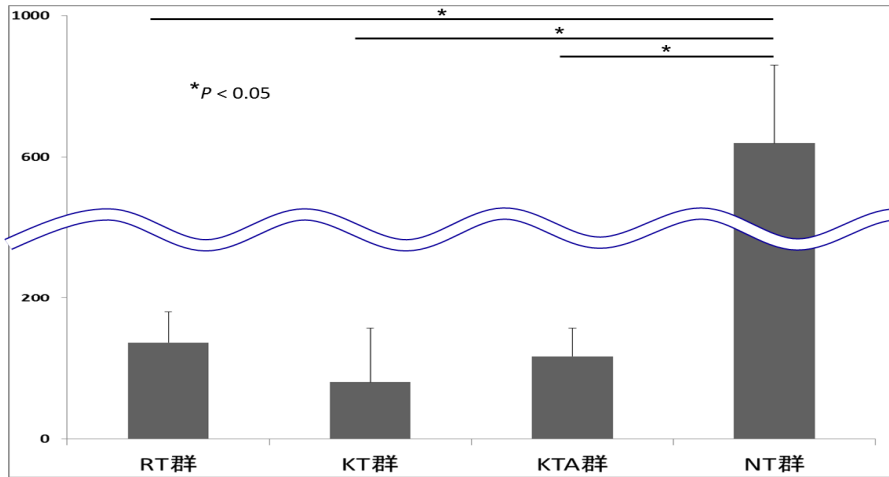


図 1 . ウサギ左後肢腫瘍部への動注カテーテル留置

放射線治療に関しては塩酸ケタミン(ケタラール)と塩酸メドミジン(ドミツール)の筋注で短時間麻酔し、その間に照射を行った(3Gy/日×5日間)。照射は動物用照射装置を用いて、左後肢の腫瘍部以外を鉛板で遮蔽し、放射線測定器にて腫瘍部の線量が3Gy/回になるように計算して行った。

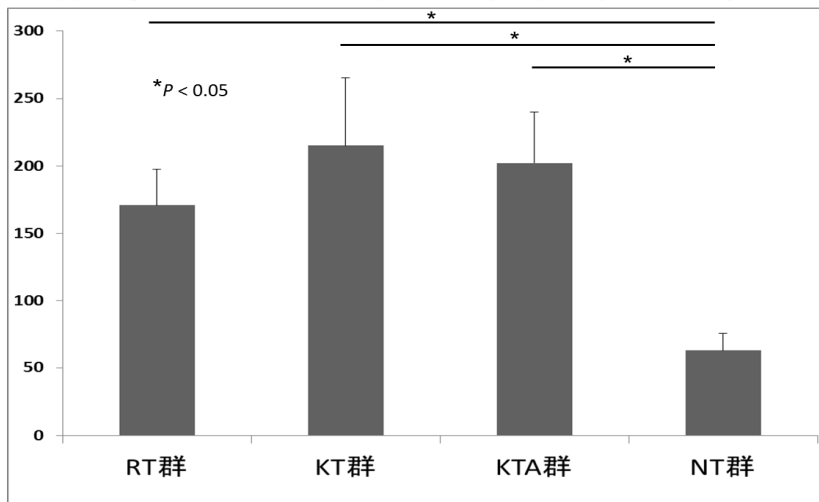
治療開始から2週間後、前述の方法でMRIによる腫瘍体積の評価を行い、各治療群の腫瘍増大率を計算し、統計学的に比較を行った。画像評価終了後、ウサギを犠牲死させ VX2 腫瘍を取り出し、10%ホルマリンで固定し、パラフィンブロックを作製し、組織スライドの一部は H&E 染色を行い、腫瘍の壊死程度を可視的に評価し、また TUNEL 染色にて病理学的にアポトーシスを評価した。アポトーシスの程度の評価については、それぞれ無作為に選んだ光学顕微鏡下(200倍)の5視野において TUNEL 陽性細胞数をカウントし、各群の平均を算出し、統計学的に比較を行った

4. 研究成果



	RT群	KT群	KTA群	NT群
平均(%)	136.3	80.6	117.1	642.5
標準偏差	43.5	75.9	39.6	230.7

図2. 腫瘍増大率



	RT群	KT群	KTA群	NT群
平均(個)	170.8	215.2	202.2	62.6
標準偏差	26.6	50.0	37.6	12.8

図3. TUNEL 染色陽性細胞数

腫瘍増大率は KT 群 < KTA 群 < RT 群 < NT 群 (図2)、TUNEL 染色陽性細胞数は KT 群 > KTA 群 > RT 群 > NT 群であった (図3)。各治療群と無治療群の間には腫瘍増大率、TUNEL 染色陽性細胞数ともに統計学的有意差がみられたが、KT・KTA・RT 各治療群間の比較ではいずれも統計学的有意差はみられなかった。KTA 群に関しては、下肢虚血や皮膚壊死等オキシドール動注に伴う明らかな合併症は認められなかった。

今回の結果では明らかな有意差は見られなかったものの、放射線単独治療群と比較し KORTUC 動注群では腫瘍増大が抑えられ、アポトーシスが高頻度にかかる傾向がみられた。VX2 腫瘍はもともと放射線感受性が高い腫瘍のため、各治療群で差が出にくかった可能性がある。他の放射線増感剤である RK28 を用いた実験では、静注の場合と比較し、VX2 腫瘍内の薬剤濃度は局注では 2.5 倍、動注では 1.5 倍であったとの報告がある [5]。また直接穿刺による局所注入と比較し、動注では投与したオキシドールが腫瘍内に留まらず、比較的速やかに静脈に流れていってしまう可能性があり、栄養動脈のバルーン閉塞等を併用し、増感剤を腫瘍内になるべく長く留まらせる工夫が必要かもしれない

今回動注したオキシドールの量や濃度では明らかな有害事象は見られなかったが、注入量を増やすことで治療効果と共に空気塞栓等の合併症のリスクも高くなる可能性がある。ただし海外では点滴用 3% 過酸化水素も使用されており、少なくとも静注による血管内への投与では重篤な合併症はないようである。

今回の結果からは動注ポートを用いた腫瘍栄養血管へのオキシドール動注により放射線増感作用が得られる可能性が示唆されたが、動注するオキシドールの量や濃度についての検討やバルーンカテーテル等を用いた投与法の工夫が必要であると考えられた。

< 引用文献 >

1. Ogawa Y, Kubota K, Ue H et al. Safety and effectiveness of a new enzyme-targeting radiosensitization treatment (KORTUC II) for intratumoral injection for low-LET radioresistant tumors. *Int J Oncol* 2011; 39: 553-560.
2. Aoyama Y, Ogawa Y, Yasuoka M, et al. Therapeutic results of a novel enzyme-targeting radiosensitization treatment, Kochi oxydol radiation therapy for unresectable carcinomas 2, in patients with stage 1 primary breast cancer. *Oncol Lett*. 2017; 13(6):4741-4747.
3. Ogawa Y. Paradigm shift in adiation biology/oncology-Exploitation of the “H2O2 effect” for radiotherapy using low-LET (linear energy transfer) radiation such as X-rays and high-energy electrons. *Cancers*. 2016; 8(3): 28
4. Nimalasena S, Gothard L, Anbalagan S et al. Intratumoural hydrogen peroxide with radiotherapy in locally advanced breast cancer: results from a phase I clinical trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2020; 108: 1019-1029.
5. 倉光達也. 家兔 VX2 下腿腫瘍における放射線増感剤 RK28 の各投与法(静注、動注、局注)での増感効果の検討. *山口医学*. 1993; 42 (6) : 357-363

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 友澤 裕樹
2. 発表標題 ウサギ VX2 腫瘍モデルを用いたオキシドール動注併用放射線治療による抗腫瘍効果
3. 学会等名 第50回日本IVR学会総会
4. 発表年 2021年～2022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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------