

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24年 4月 5日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21592072

研究課題名（和文）がん化学療法におけるバイオマーカーを用いた腎微小循環障害の病態解明と再生治療

研究課題名（英文）Research and regenerative therapy for microcirculation injury in the chemotherapy-affected kidney using biomarkers.

研究代表者

吉野 能 (Yasushi Yoshino)

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70324415

研究成果の概要（和文）：

ヒト腎微小循環に関しては、造影超音波検査により、弓状動脈から髓質までの時間—濃度曲線から造影時間を指標とした死体腎と生体腎との比較を行った。その結果虚血の強い死体腎は生体腎と比較して有意に延長を認め、化学療法後の腎障害の尿中 L-FABP 以外の新たなバイオマーカーを開発した。さらに、腎腫瘍をもつ腎臓において、腫瘍部位、正常腎の時間—濃度曲線を解析し、造影時間と腎機能に関する検討を行った。がん薬物療法が腎臓に及ぼす影響について、分子標的治療後に摘出手術を行った腎がんの病理組織、治療効果の検討から臨床病理学的なバイオマーカーになりうる因子について推察した。治療効果と血流低下（微小循環傷害）は関連があると考えられ、病理組織学的には血管内皮の障害により血流が低下し、腫瘍に対する治療効果を発揮していると考えられた。このことから血流低下を示すバイオマーカーが治療効果を予測し、造影超音波における時間—濃度曲線、腎障害の尿中虚血マーカーである L-FABP、造影 CT における造影効果などが新たなバイオマーカーになりうることを示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The time-intensity curve predicts the ischemic toxicity in the patients undergoing kidney transplantation. It prolonged in the kidney with malignant disease. The time-intensity curve is one of the biomarkers indicating that tumors have malignant components. It also predicts the ischemic toxicity and therapeutic effectiveness on kidneys undergoing target therapy or chemotherapy. Preoperative target therapy using Tyrosine-kinase inhibitor (TKI) was administered for patients with kidney cancer. Histopathological finding indicated TKI decreased the diameter of the small artery in the kidney. Microcirculation is associated with medical effects on tumor shrinkage. The biomarkers indicating microcirculation injury such as the time-intensity curve, liver type fatty-acid binding protein (L-FABP) and enhanced CT findings can be useful predictors of cancer therapy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：泌尿器科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：化学療法、腎機能、バイオマーカー、腎微小循環、シスプラチン、幹細胞、分子標的治療

1. 研究開始当初の背景

癌化学療法の進歩はめざましく、特に新しい癌化学療法の開発と臨床応用、多剤併用化学療法等によりその応用範囲はさらに広がりがつつある。がん薬物療法、化学療法による長期生存や治癒の可能性も出てきている。尿路生殖器悪性腫瘍は化学療法がその治療の主体となることが多い癌腫であり、化学療法は非常に有効な治療手段である。

がん薬物療法は腎毒性という副作用も併せ持つことが知られており、副作用コントロールが治療の成否を左右することから障害程度を推測するバイオマーカーの開発が必要とされていた。

2. 研究の目的

がん化学療法における腎障害を早期に予測するバイオマーカーを確立し、末梢血幹細胞移植、Granulocyte colony-stimulating factor(G-CSF)を併用することによる腎障害治療の有用性を検討し、腎微小循環の側面から新たな腎機能障害治療の開発をすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 生殖器悪性腫瘍に対する化学療法施行時において、以下の臨床データの集積を行う。

胚細胞腫瘍における導入化学療法と、尿路上皮癌に対するすなわち骨髄破壊が軽度でありG-CSFのみで骨髄抑制を治療する場合の腎機能の推移に関して臨床データの集積を行う。同時に来るべき救済化学療法に備えるために化学療法中に末梢血幹細胞を採取する。原疾患の組織型、リスク分類に応じて末梢血幹細胞移植を併用した高容量化学療法を行う。血液検査・尿検査から算出した腎機能のデータを集積する。また尿中に虚血再還流マーカーが発現しているかを同時に測定する。

(2) 腎微小循環障害を可視化、定量化するマーカーを同定する。臨床データ集積、バイオマーカーの測定として下記の研究を行う

- ① 化学療法時の尿中L-FABPを測定する。
- ② 血清クレアチニン、クレアチニンクリアランスと時間的経過を測定する。

- ③ 尿中NAG、 α 1MG、 β 2MG、尿中微量アルブミンなどの既存の腎機能マーカーを測定する。さらにその他の有効なマーカーを探索する。

(3) 薬剤治療が腎に及ぼす影響について、L-FABP、時間—濃度曲線での造影時間を解析し、既存の尿細管機能測定検査所見との比較、造影CTでのCT値の変化や薬剤治療奏効期間との関連について検討する。さらに腎機能を表現する複数種類の評価因子（血清クレアチニン、クレアチニンクリアランス、eGFR）について、それぞれの相関について調査するとともに、がん化学療法時の変動の差異について洞察する集積研究を行う。

4. 研究成果

(1) 30例の腎腫瘍を持つ患者に対して造影超音波検査における時間濃度曲線(time-intensity curve:TIC)を測定することにより、腎細胞癌の診断が可能かどうかを検討した。

30例のうち10例はのう胞性病変を持つものであり、造影CTのみでは悪性かどうかの判別が難しいタイプである。

すべての症例において腎摘除術および病理学的診断がなされた。造影超音波検査での造影効果は、腫瘍および、のう胞性腫瘍においては腫瘍の充実性部分で計測され、この部位を関心領域(regions of interest:ROI)と設定してTICが計測された。

造影効果の最も高くなるまでの時間(time to the contrast enhancement peak:TTP)、ベースラインからピークまでの濃度変化

(intensity change from the baseline to peak: ΔI)、これらから算出される $\Delta I/TTP$ について、腫瘍部位と正常部位とで計測した。癌の部位のTTPは正常の腎実質部位のTTPと比較して短く(6.0 ± 2.0 vs 10.4 ± 3.0 s; $P < 0.0001$)、 ΔI は癌の部位と正常腎実質で差を認めなかった(21.3 ± 5.9 vs 20.9 ± 7.0 decibels (db); $P = 0.68$)。 $\Delta I/TTP$ は癌の部位では正常部位に比較して有意に高値となり(3.9 ± 1.4 vs 2.2 ± 0.94 db/s; $P < 0.0001$)、充実性腫瘍とのう胞性腫瘍との比較では、ROIを設定した部分において類似したパターンとなった。

造影超音波検査による腎細胞癌の診断はTIC

を計測することにより悪性、両性の鑑別が可能となり、診断が困難であるのう胞性腎細胞癌においても診断が可能となることが示唆された。

造影 CT 検査における形態、血管の貧富のパターンの違いはあっても TIC が類似しており、TIC を測定する造影超音波検査はのう胞性腎細胞癌の診断に有用であると考えられた。

この結果から、正常部位と癌の部位では血流の差があり、この微小循環を表すパラメータとして時間濃度曲線が使用できると考えられた。

この新たなバイオマーカーとなる時間濃度曲線は、①正常な腎機能を発現している部位における、薬剤による腎障害の発現の有無、②癌の部位における、薬剤治療の効果発現の有無、または効果発現の程度の評価、に使用が可能となり、悪性疾患では、腎細胞癌に対する分子標的治療の際の効果判定、尿路上皮癌、精巣悪性腫瘍に対するシスプラチンを含む化学療法施行中の腎障害の評価、悪性疾患以外では移植腎における微小循環障害の評価に有用となると考えられた。

(2) 2例の切除不能進行腎細胞癌に対し、分子標的治療を用いて原発腫瘍、および転移腫瘍に対して治療を行った後に原発腫瘍を摘出して分子標的治療が有用であった症例を報告した。

1例目は53歳男性。発熱、15kgの体重減少が主症状であり、ECOGのパフォーマンスステータス(performance status: PS)は0であった。腫瘍のサイズは12×9.5cmであり、下大静脈にlevel II (near level III)の腫瘍塞栓を認めた。腫瘍のサイズが縮小すれば手術侵襲を軽減し、手術のリスクを回避できることから、術前に分子標的治療を行った。ソラフェニブを投与後、原発腫瘍は縮小し、腫瘍塞栓も43%の縮小効果を得た。

この結果、原発腫瘍の切除が可能となり、腎摘除術、腫瘍塞栓摘除術を行った。病理組織学的に腎細胞癌の腫瘍壊死と診断され、術前分子標的治療の効果が確認された。本症例はその後も無再発生存であり、初回手術困難例に対する分子標的治療薬の術前使用の有用性が示唆された。

分子標的治療は腫瘍血管に対して血管内皮細胞の変性効果を示し、結果として血液供給が乏しくなる腫瘍部分が壊死となる抗腫瘍効果を発揮すると推測された。

分子標的治療薬の効果判定には造影CTが用いられ、その腫瘍の大きさの変化で効果判定がなされるのが一般的であるが、病理組織学的に腫瘍に直接効果があるのか、微小循環が障害された結果が腫瘍の大きさに変化となって発現するのか、また効果発現と大きさの

変化以外の関連はあるのか(造影効果など)が解明すべき問題点として残された。

(3) がん薬物療法は腎毒性という副作用を併せ持つことが知られているが、近年では薬物治療による腎の微小循環障害が治療の効果を表す、つまり微小循環障害を示すパラメーターがバイオマーカーになりうるため、腫瘍の造影効果の減弱、造影超音波検査における時間濃度曲線はバイオマーカーとなりうるということが示唆された。

さらにがん薬物療法で効果があつた腫瘍の切除標本において病理組織学的に腫瘍の微小循環障害を認め、薬物治療中の造影超音波検査は治療の成否を推測する検査法として有用であることが示唆された。

尿管障害マーカーである尿中 L-FABP による腎微小循環障害の発現程度の評価も新たな治療効果を表すバイオマーカーとなる可能性があるが、薬剤治療奏効期間との関連、造影超音波検査での時間濃度曲線との関連、腎機能を表現する複数種類の評価因子(血清クレアチニン、クレアチニンクリアランス、eGFR)との相関に関してはこれまでの研究成果を基にして今後解明すべき問題点として挙げられる。

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2件)

Takeda H, Nakano Y, Kashiwagi Y, Yoshino Y, Gotoh M. Downsizing a Thrombus of Advanced Renal Cell Carcinoma in a Presurgical Setting with Sorafenib. *Urol Int*. 2011 Dec 13. [Epub ahead of print] 査読有

Aoki S, Hattori R, Yamamoto T, Funahashi Y, Matsukawa Y, Gotoh M, Yamada Y, Honda N. Contrast-enhanced ultrasound using a time-intensity curve for the diagnosis of renal cell carcinoma. *BJU Int*. 2011 Aug;108(3):349-54. doi: 10.1111/j.1464-410X.2010.09799.x. 査読有

[学会発表] (計1件)

• Aoki S, Nishikawa G, Yoshizawa T, Kato Y, Zennami K, Tobiume M, Nakamura K, Yamada Y, Honda N, Yamamoto T, Hattori R, Gotoh M. Usefulness of contrast-enhanced

ultrasound using a time-intensity curve for the diagnosis of cystic renal cell carcinoma. 106th Annual Meeting of American Urological Association U S A 2011 May 18.

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等：なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉野 能 (YASUSHI YOSHINO)

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70324415

(2) 研究分担者

後藤百万 (GOTOH MOMOKAZU)

名古屋大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10186900

山本徳則 (YAMAMOTO TOKUNORI)

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20282636

加藤真史 (KATO MASASHI)

名古屋大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：10362229

(3) 連携研究者

なし