

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08708

研究課題名(和文) ブタモデルを用いたFOLFOX誘導性SOSの予防法の確立

研究課題名(英文) Establishment of a preventive method for FOLFOX-induced SOS using a pig model

研究代表者

瀬尾 智 (Satoru, Seo)

高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・教授

研究者番号：70646546

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々が確立したFOLFOX誘導ブタSOSモデルを用いて、予防効果が報告されている bevacizumab (bev) を併用し、発症メカニズムを明らかにすることを目的とした。FOLFOX単独群2頭とbev併用群を1頭による経時的な病理学的評価で、FOLFOX単独群では電子顕微鏡像でSOSの所見(血管内皮細胞の脱落)が得られ、肝機能の評価を行うICG検査で肝機能の悪化を認めた。以上より、bevacizumabによるSOS予防効果の可能性が示唆された。今回十分な評価ができなかった。メカニズム解明に関して、今後マウスモデルを用いた実験を計画しており、ブタを用いた本実験と合わせ、検討を重ねていく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸癌肝転移は進行した状態であるが、化学療法の発達により切除不能から切除可能となるコンバージョン症例が増加し、予後が向上している。しかし、化学療法によって引き起こされるSOSによる肝障害は、肝切除後の肝不全など周術期合併症を増加させ、早期再発の頻度を高めることが報告されており、手術時期の決定に難渋する症例や切除を断念した症例も多数経験される。今回の研究を通じてbevacizumabによるSOS予防効果の可能性が示唆されたことは、今後の大腸癌集学的治療において、肝切除による恩恵を享受できる患者数の増加に寄与すると思われ、大腸癌肝転移全体の予後向上に寄与することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Using the FOLFOX-induced SOS model that we established, we aimed to elucidate the onset mechanism by combining bevacizumab (BEV), which has been reported to have a preventive effect. In the FOLFOX alone group, Pathological evaluation revealed SOS findings in electron microscopic images and ICG test revealed worsening of liver function. These results suggest that bevacizumab may be effective in preventing SOS. We couldn't give it a good enough evaluation this time. In order to elucidate the mechanism, we are planning experiments using a mouse model in the future, and we plan to conduct repeated studies in conjunction with this experiment using pig model.

研究分野：Hepatobiliary and pancreatic surgery

キーワード：SOS CRLM FOLFOX bevacizumab

1. 研究開始当初の背景

大腸癌の遠隔転移として、肝転移が最も頻度が高いが、完全切除ができれば治癒が期待できる。診断時に切除不能と判断されても、化学療法により病変が縮小して切除が可能になれば、高い生存率が得られることから、Oxaliplatin (L-OHP) を含む化学療法施工後に肝切除を行う例が増加している。当科でも、肝転移を有する治癒切除不能な結腸・直腸癌患者に対する bevacizumab または cetuximab 併用 mFOLFOX6 療法の検討 (BECK study) で、化学療法により切除不能肝転移が切除可能になる割合が 67.6% という報告を行い (Hatano, J Hepatobiliary Pancreat Sci 2015)、mFOLFOX 療法の有用性を明示してきた。

Sinusoidal Obstruction Syndrome (SOS) は、類洞内皮細胞の損傷による類洞と中心静脈の非血栓性の肝障害である。肝臓外科領域における SOS の原因は、大腸癌肝転移に対する化学療法で用いられる Oxaliplatin が関与していることが多い。SOS は肝切除後の術後合併症 (Nakano, Ann Surg 2008)、早期再発 (Tamandl, Ann Surg Oncol. 2011) との関連が報告されており、大腸癌肝転移に対する集学的治療において大きな問題の一つである。さらに、L-OHP が原因の SOS には予防・治療薬が存在せず、診断は身体的負担の高い肝生検による病理検査のみで、特異的なマーカーがないことも問題である。

我々のグループでは、ラットの SOS に対する予防や抑制に効果があると予想される薬剤を用いた報告を複数行ってきた。しかしながら、ラットの SOS モデルは Monocrotaline を用いた急性重症モデルであり、L-OHP によるヒト SOS とは病態が異なる可能性がある。そこで我々は、遺伝的・解剖学的にヒトに近く、取り扱いが容易なマイクロミニブタを用いて、ヒトと同様の FOLFOX を用いた SOS モデルを世界で初めて作成に成功した (基盤研究 B プタプロテオミクスによる FOLFOX 誘導性 SOS の病態解明と診断バイオマーカーの開発 16H05414)。これを用いることで、ラット SOS の予防や抑制に効果があった薬剤が、FOLFOX 誘導性ブタ SOS モデルでも同様に効果があるのかを検証することが可能となり、ヒト SOS の予防や、SOS の発症メカニズムの解明の一助になると考えられる。

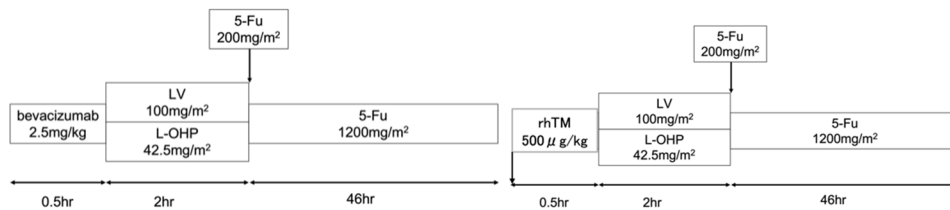
2. 研究の目的

SOS は大腸癌の治療で使用される抗癌剤の L-OHP を含むレジメンで化学療法を受けた患者に発症する薬剤性肝障害であるが、肝切除後の肝不全など周術期合併症を増加させ、早期再発の頻度を高めると報告されている。このため予防が望まれるが、明確な予防法は確立されておらず、早急な対策が必要である。また SOS の診断は肝生検や切除標本の病理組織学的な評価が必要であるが、実臨床では担癌患者に侵襲的な肝生検を頻回に行うのは非現実的である。本研究は、遺伝的・解剖学的にヒトに近いとされるブタ SOS モデルを用いて、ヒトと同様の方法で抗癌剤の投与を行い、その予防効果が報告されている bevacizumab および Recombinant human soluble thrombomodulin を併用することで SOS が予防できるのかどうかを経時的な肝生検で確認し、至適投与量を同定して実臨床での使用に迅速に結び付けることを目的とする。

3. 研究の方法

12ヶ月齢の雄性マイクロミニブタに中心静脈ポートを留置し、大腸癌に対して用いられる化学療法レジメンである mFOLFOX6 療法 (Oxaliplatin+5-FU+Leucovorin) をヒトと同様の投与スケジュールでヒト投与量の 50% dose にて行った。観察期間は 24 週とし、化学療法は 2 週間ごとに計 12 回施行し、毎回の化学療法時に血液検査を、0・4・8・12・18・24 週目の化学療法時には開腹肝生検を行い、病理標本 (HE 標本、電子顕微鏡用標本) を得た。Bevacizumab (bev) は FOLFOX と併用し、2.5mg/kg を FOLFOX 開始前 30 分間で投与した。Recombinant human soluble thrombomodulin (rhTM) も FOLFOX と併用して投与し、500 µg/kg を FOLFOX 開始 30 分前に静脈内注射した。

| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 | 20 | 22 | 24 |
|--------------|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Chemotherapy | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | |
| Blood test | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● |
| Liver biopsy | ● | | ● | | ● | | ● | | | ● | | | ● |



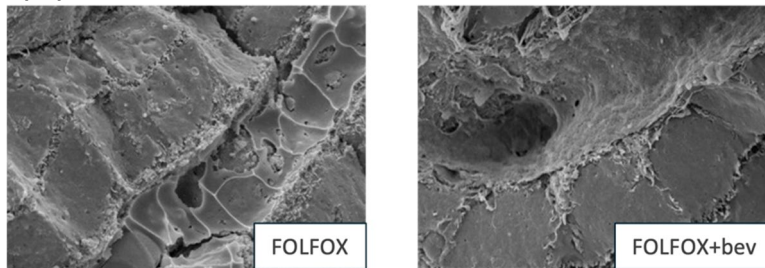
4. 研究成果

< Bevacizumab >

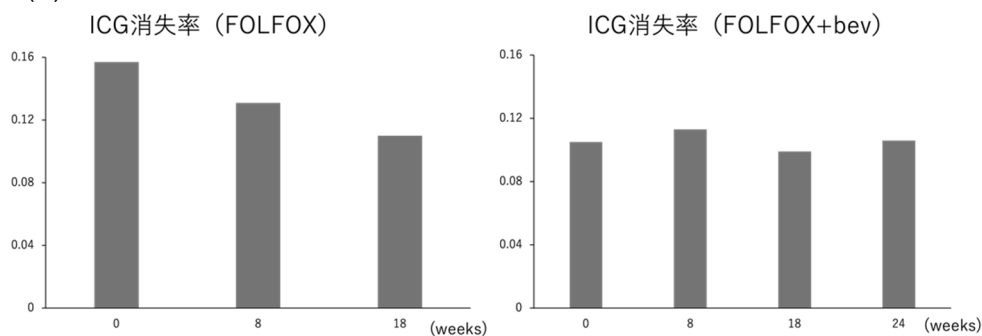
本研究で、FOLFOX 単独群 2 頭と bev 併用群を 1 頭行った。FOLFOX 単独群 1 頭目はポート感染症により 6 週で死亡、2 頭目は化学療法による脱水を契機とした多臓器不全により 20 週で死亡した。bev 併用群 1 頭は 24 週まで完遂した。経時的な肝生検による病理学的評価で、FOLFOX 単独群では電子顕微鏡像で SOS の所見(類洞内皮細胞の脱落)が得られ(図 1a)、肝機能の評価を行う ICG 検査で肝機能の悪化(図 1b) を認めた。一方 bev 併用群では経過を通してその所見はなかった(図 1a, b)。両群で ALT・T-Bil・血小板値で経時的に著名な変化を認めなかった。以上より、bevacizumab による SOS 予防効果の可能性が示唆された。

図 1

(a)



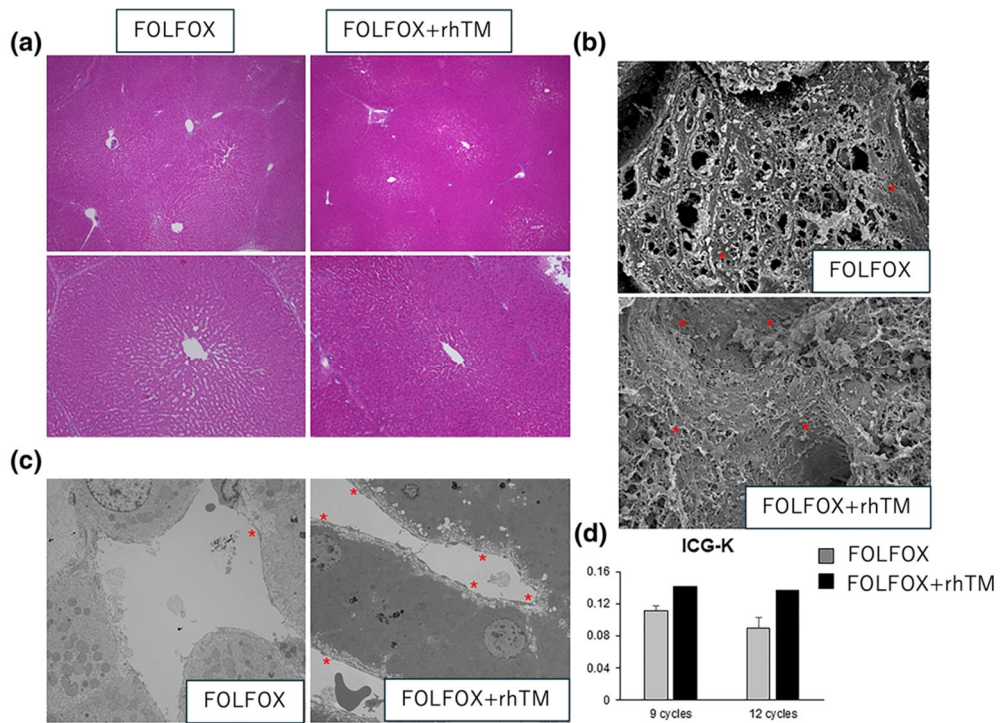
(b)



< rhTM >

FOLFOX 誘導ブタ SOS モデルを用いて、rhTM が SOS 重症度を減少させるかどうかを検討した。FOLFOX 単独群と比較して、rhTM の前注入により、洞拡張が抑制(図 2a) され、類洞内皮細胞構築の維持(図 2b) と類洞内皮細胞の連続的なライニング(図 3c) がみられ、さらに ICG 検査で肝機能の改善(図 2d) がみられた。rhTM による SOS 予防効果が示唆された。

図 2



実臨床では困難な肝臓標本の経時的変化を確認することが可能であった点において、本研究は実験系としての意義を持つ。しかしメカニズム解明を行うための手段（PCR や免疫染色）がブタでは制限があり、十分な評価ができなかった。メカニズム解明に関して、今後マウスモデルを用いた実験を計画しており、ブタを用いた本実験と合わせ、検討を重ねていく予定である。

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 戸田 怜, 瀬尾 智, 堀 佑太郎, 上本 裕介, 森野 甲子郎, 楊 知明, 奥野 将之, 佐藤 元彦, 荻原 孝史, 中川 俊作, 松井 宏行, 新井 康之, 中川 貴之, 祝迫 恵子, 川口 博明, 鶴山 竜昭, 田浦 康二郎, 波多野 悦朗 |
| 2. 発表標題 FOLFOX誘導性マイクロミニプタSOSモデルにおける肝障害と神経障害についての検証ならびにリコモジュリンを併用した予防モデルに関する検証 |
| 3. 学会等名 日本外科学会定期学術集会 |
| 4. 発表年 2021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 |
|-------|---|---|----|
| 研究分担者 | 鶴山 竜昭 (Tsuruyama Tatsuaki) (00303842) | 公益財団法人放射線影響研究所・分子生物科学部・主任研究員 (85401) | |
| 研究分担者 | 中川 貴之 (Nakagawa Takayuki) (30303845) | 京都大学・医学研究科・准教授 (14301) | |
| 研究分担者 | 川口 博明 (Kawaguchi Hiroaki) (60325777) | 北里大学・獣医学部・教授 (32607) | |
| 研究分担者 | 田浦 康二郎 (Taura Kojiro) (80378629) | 京都大学・医学研究科・准教授 (14301) | |

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|