

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 28 日現在

機関番号：13701
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23658262
 研究課題名（和文） がんのリンパ行性転移を予防・治療する画期的治療法の開発
 研究課題名（英文） Development of novel cancer prevention and therapy against lymphatic metastasis.
 研究代表者
 丸尾 幸嗣（MARUO KOHJI）
 岐阜大学・応用生物科学部・教授
 研究者番号：40124276

研究成果の概要（和文）：がんのリンパ行性転移の予防と治療の基礎的検討として、リンパ流路の検討、センチネルリンパ節の描出を試みた。実験犬を用いた造影剤投与 CT 検査において、各部位のリンパ流路およびセンチネルリンパ節の描出が可能であった。症例犬を用いた検討では、乳腺付近の腫瘍において、センチネルリンパ節を同定し、廓清できることを確認した。また、リンパ節転移の進行した犬症例では、造影剤の流入が非常に少ないため、抗がん剤のリンパ管投与による治療は困難なことが示唆された。

研究成果の概要（英文）：As basic study of cancer prevention and therapy against lymphatic metastasis, the identification of lymphatic drainage and sentinel lymph node by contrast CT scanning was investigated. They could be seen in the contrast CT scanning of normal dogs. In the clinical cases of canine various cancers we detected the sentinel lymph node and resected. The contrast medium seldom flowed into lymphatic vessels in dogs with lymphatic metastasis and therefore it suggests that it may be difficult to treat with anticancer agent by administration into lymphatic vessel against canine cancer patients with advanced lymphatic metastasis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・臨床獣医学

キーワード：犬、リンパ排導路、センチネルリンパ節、リンパ節転移、造影 CT 検査

1. 研究開始当初の背景

『転移を制すればがんを克服できる』といわれている。今日の治療技術の進歩により、原発巣の制御は比較的可能となってきたが、転移の制御は未だ困難な場合が多い。

がんの転移は、血行性、リンパ行性、播種性に分類されるが、それぞれの転移形成経路に基づいた治療概念が乏しく、一般的には全身療法という抽象的概念で治療が実施されている。

犬肛門嚢アポクリン腺癌や犬悪性精巣腫瘍などは原発巣の制御はできても、半年から1年後に腰下リンパ節群への転移、その後肺転移を起こして予後不良となることを多く経験している。したがって根治を目指すには、腰下リンパ節群への転移を制御することが必須となる。研究代表者の丸尾らは、これらの解決策として、腹腔内化学療法を実施しているが、リンパ節転移巣の縮小や生存期間の延長傾向は認められるものの、限界がある(日獣会誌,62:315-317,2009)。

そこで、がんの転移のうち、リンパ行性を主とする癌腫を標的に、従来の化学療法にはない新たな発想のリンパ行性投与による治療法の開発が必要と考える。

本研究協力者の柴田らは、腹腔腔、骨盤腔からのリンパの流れ(排導路)を調べる目的で、ラット、犬を用いてリンパの排導路について精査した(ラット: AnatomiaHistologiaEmbryologia 36:78-82,2007、犬: J.Vet.Med.Sci. 68:1143-1147,2006)。この研究では、犬の腹腔腔および骨盤腔からのリンパの流れについて詳細に検討され、本研究計画のきっかけとなった。

ヒト医学領域では腫瘍のリンパ行性転移に関する研究は多くなされているが、外科的治療におけるリンパ節郭清の方法や、センチネルリンパ節生検の実用化に限定されており、リンパ行性化学療法については、国内外を問わず、ほとんど検討がされていない。

2. 研究の目的

まず犬リンパ管排導路の基礎的研究として、主なリンパ流路を造影CT検査により明らかにする。その研究成果を基に、投与部位として直腸粘膜下に造影剤を投与して、骨盤腔から内腸骨リンパ節、腰骨リンパ本管を流れ、乳糜槽に集約されて、胸管に入り静脈叢へと吻合して行くルートについて、実験犬を用いて各種画像検査によりそのリンパ流路を観察する。

その上で、骨盤腔内リンパ管を介して転移が好発する犬肛門嚢アポクリン腺癌、犬睾丸悪性腫瘍、犬前立腺癌、犬乳腺癌を対象に、リンパ行性転移の治療方法として、リンパ行性化学療法を実施して、骨盤腔内ルートを利用した治療法の有効性と安全性について検討する。

リンパ行性投与による化学療法は、がんのリンパ行性転移の転移プロセスを遮断する新たな治療法であり、従来にはない発想に基

づく画期的治療法になる可能性がある。

原発巣を制御しても特異的にリンパ節転移を好発するがんについては、本リンパ行性化学療法は極めて効果的であることが予想され、がんの根治もしくは著しい予後の改善が期待できる。

3. 研究の方法

(1) CT造影像の視覚的評価として、腋窩リンパ節を取り上げ、CT値が100、200、500、1000ハンスフィールドユニット(HU)についてその識別限界を検討した。CTリンパ管造影検査の確立では第2乳腺皮下に投与する造影剤の種類(主成分としてイオパミドールとイオヘキソール、ヨード濃度として150 mgI/ml、300 mgI/kg、370 mgI/kg)、ヨード造影剤の投与量(0.1 ml/kg、0.2 ml/kg、0.3 ml/kg、0.4 ml/kg、0.5 ml/kg)、マッサージ時間(0、1、4分)、ヨード造影剤投与後からの至適CT撮影開始時間(マッサージ終了直後を0分とし、0、0.5、1、2、5、10、15、30、45、60分)を検討した。

(2) 身体各部位での検討として、上顎、下顎、前肢、後肢、第1乳腺、第3乳腺、第4乳腺、第5乳腺、直腸粘膜下、肛門周囲皮下、辜丸皮下からイオパミドール370 mgI/kgを用い、造影剤用量0.3 ml/kg、マッサージ1分間、マッサージ終了直後0分から5分後まで撮影した場合の、各投与部位における所属リンパ節およびセンチネルリンパ節の同定、リンパ流路の観察を行った。

(3) 症例として岐阜大学応用生物科学部附属動物病院に紹介来院された乳腺付近に発生した扁平上皮癌、乳腺癌、良性乳腺腫瘍の犬を使用した。症例は飼主にインフォームドコンセントを行った後、全身麻酔下でリンパ造影を実施し、センチネルリンパ節を同定し、廓清できるかを検討した。

(4) 同上附属動物病院に紹介来院された明らかにリンパ節転移を認める肛門嚢アポクリン腺癌、乳腺癌の犬症例に対して、飼主へのインフォームドコンセントの後、鎮静もしくは全身麻酔下でリンパ管の造影CT検査を実施した。

(5) 実験犬を用いた造影剤の至適投与方法の検討、および症例犬を用いた造影CT検査とリンパ節廓清についての検討については、岐阜大学動物実験委員会へ計画書を提出し、その実施について承認を得た。

4. 研究成果

(1) 視覚的評価においては、腋窩リンパ節のCT値が500HU未満の場合、特にCT値100HUから200HUでは、腋窩リンパ節だとは認識できるが、一部の領域のCT値が低く、均一に造影されなかったため、500HU以上を造影至適識別条件とした。投与する造影剤の種類は、造影剤用量0.3 ml/kg、マッサージ1分間に条件を固定し、マッサージ終了直後0分から5分まで撮影して検討した結果、イオパミドールとイオヘキソールの間に有意な相違は認められなかった。ヨード造影剤の投与量はイオパミドールを用いてマッサージを1分間に固定して検討したところ、各用量投与後の平均CT値は、造影剤投与量が増加するほど高値を示す傾向が認められたが、0.3 ml/kg投与では1分後までにすべての犬において500HU以上のCT値が得られたので、至適投与量は0.3 ml/kgとした。マッサージ時間については、1分間マッサージを行った場合は1分後までにすべての犬が500HU以上のCT値が得られ、マッサージをしなかった場合と4分間行った場合と比較して個体差が小さい傾向が認められたため、至適マッサージ時間は1分間とした。造影剤イオパミドール(150、300、370 mgI/kg)を用いて、造影剤用量0.3 ml/kg、マッサージ1分間にて検討したところ、イオパミドール300および370 mgI/kgはCT撮影0～5分後において500HU以上となったが、イオパミドール150 mgI/kgでは時間的経過とともに500HU以下となるため、イオパミドール300および370 mgI/kgを用いて5分間の経時的撮影により、明瞭な造影効果が得られることがわかった。そこで至適造影条件として、イオパミドール300もしくは370 mgI/kgを用いて注入ヨード用量は0.3 ml/kg、1分間のマッサージ、5分間の経時的撮影により、明瞭にリンパ管を描出できることがわかった。

(2) すべての部位において3D画像を作成して、造影された各所属リンパ節の位置や個数およびそれに向かうリンパ流路の走行について検討することができた。上顎、下顎、前肢、後肢、第1乳腺、第3乳腺、第4乳腺、第5乳腺、直腸粘膜下、肛門周囲皮下、辜丸皮下直腸粘膜下、肛門周囲皮下、乳腺皮下、辜丸皮下、前肢、後肢末端からのCTによるリンパ管造影検査により、リンパ管および所属リンパ節の描出が可能であり、全部位において0分で500HU以上のCT値に達し、5分後にはおよそ500HUから900HUに収束した。特に、上顎、下顎、前肢、後肢については、他の部位に比べて高CT値を示す傾向が認められた。また、犬の乳腺は一般的に左右5対あり、第1、2乳腺の所属リンパ節は腋窩リンパ節であり、第4、5乳腺は鼠径リ

ンパ節を所属リンパ節とするが、第3乳腺は個体差があることが明確になった。さらに、第1、2乳腺からのリンパ管が腋窩リンパ節でなく、浅頸リンパ節に至る稀な経路をとる個体がいることも確認された。乳腺のCTリンパ管検査では造影剤投与量を調整することでセンチネルリンパ節を描出することができ、その撮像法を確立することができた。

(3) 症例として乳腺付近に発生した扁平上皮癌、乳腺癌、良性乳腺腫瘍の症例において、CTセンチネルリンパ節検査を実施し、それぞれセンチネルリンパ節を同定することができた。そして、手術時に原発巣の摘出と同時にセンチネルリンパ節を廓清し、手術の根治の可能性を判断した。CTセンチネルリンパ節検査は犬の症例においても可能であり、リンパ節廓清の指標となること、実際の症例への応用もできることが実証できた。

(4) 明らかにリンパ節転移を認める肛門囊アポクリン腺癌、乳腺癌の犬症例に対してCTリンパ管検査を実施したところ、転移したリンパ節に対して造影剤の流入量が非常に少ないことが確認された。これは転移リンパ節によりリンパ流が阻害され、リンパ液の循環が滞っていることを意味し、抗がん剤のリンパ管内投与をしてもがん病巣への薬剤の到達性が不十分になることが考えられた。すなわち、当初リンパ管走行と所属リンパ節を明らかにすることで抗がん剤皮下投与による新たなリンパ節転移に対する化学療法を確立することを目的としたが、リンパ液循環を阻害するほどの進行したリンパ節転移症例においては、その治療法の実現が難しいことが示された。

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)

[学会発表] (計2件)

①柳瀬沙和子、伊藤祐典、森 崇、村上麻美、山崎美史、柴田真治、丸尾幸嗣、犬におけるヨード造影剤の皮下投与におけるCTリンパグラフィ(CT-LG)の確立、第154回日本獣医学会学術集会、2012年9月16日、岩手大学

②伊藤祐典、森 崇、柳瀬沙和子、村上麻美、山崎美史、柴田真治、丸尾幸嗣、ヨード造影剤皮下投与によるCTリンパグラフィ(CT-LG)を用いた頭側乳腺センチネルリンパ節の同定、第154回日本獣医学会学術集会、2012年9月16日、岩手大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

丸尾 幸嗣 (MARUO KOHJI)
岐阜大学・応用生物科学部・教授
研究者番号：40124276

(2) 研究分担者

伊藤 祐典 (ITO YUSUKE)
岐阜大学・応用生物科学部・助教
研究者番号：70375830

(3) 研究分担者

森 崇 (MORI TAKASHI)
岐阜大学・応用生物科学部・准教授
研究者番号：40402218

(4) 研究協力者

柴田 真治 (SHIBATA SHINJI)
岐阜大学・応用生物科学部・客員教授