

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592105

研究課題名(和文) 中枢型肺癌に対する凍結融解療法を用いた新規内視鏡治療の開発

研究課題名(英文) Development of novel endoscopic therapy for centrally-located lung cancer using cryotherapy

研究代表者

石角 太一郎 (ISHIZUMI, TAICHIRO)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：60424488

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：中枢型肺癌に対する凍結融解療法を用いた新規内視鏡治療の開発を目的に、基礎実験としてブタの気管と気管支を対象に、全身麻酔下にて凍結融解療法を施行した。治療後に取り出した検体を病理学的に検証し、気管、気管支壁の損傷程度を評価して安全性の確認を行った。また、至適条件の決定のために部位別の治療時間と治療効果の相関性を検証した。中枢気道に対する凍結融解療法は有効で、既存の治療と同等の治療効果が得られた。今後、内視鏡下凍結融解療法は合併症の少ない低コストの治療法として大いに期待される。

研究成果の概要(英文)：In anesthetized pig models we performed the cryotherapy for trachea and bronchi with the goal of developing novel endoscopic therapy for centrally-located lung cancer using cryotherapy. The removed specimens were examined and the depths of damage were identified to confirm the safety of this treatment. To determine the optimized condition, the correlation between treatment time and efficacy was investigated. Endoscopic cryotherapy for central airway was equally efficacious to existing treatments. Cryotherapy shows promise for the low-cost and safe treatment for centrally-located lung cancer.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：凍結療法 気管支鏡 中心型肺癌

1. 研究開始当初の背景

(1) 我々はこれまで中枢型非浸潤性肺がんに対する機能温存を考慮に入れた治療法として、レーザー光を用いた光線力学的治療法 (Photodynamic therapy: PDT) の基礎研究ならびに臨床応用を積極的に行ってきた (Okunaka T, Ishizumi T, et al. Lung Cancer 43: 77-82 2004) (Ishizumi T, et al. Photodiagnosis Photodyn Ther. 1: 295-301 2004)。PDT は現在、中枢型早期肺がんの標準治療として日本肺癌学会の治療ガイドラインでも推奨されている。しかしながら、PDT は煩雑なレーザー装置や高価な光感受性物質を用いるため、レーザー機器を備えたごく限られた施設でしか施行できず、またその高額な治療費が問題となっている。さらに、光感受性物質による光線過敏症の副作用により治療後の患者の QOL 低下も指摘されている。

(2) 凍結融解療法は液体酸化窒素や高圧ガスを用いて組織を急速冷却し、その後の融解により細胞内小器官を破壊して腫瘍細胞を壊死させる治療法である。現在、体表の腫瘍に対する有効性や安全性は確立されており、その簡便な手技から一般の日常診療において広く汎用されている。本法は煩雑な機器や高価な薬剤を必要とせず、治療後の副作用もほとんど認められないため治療後の患者への負担も少ない。また、凍結融解療法の基本となるプローブ接触式に加えて、液体窒素を霧状に噴霧するスプレー式凍結融解療法は一度に広範囲を凍結融解できるため (Kuwahara RT, et al. Br J Dermatol. 2002)、これまで PDT の適応外とされていた腫瘍径 1cm 以上の平坦で大きな病巣に対してもその有効性が期待される。

(3) また、気管支鏡下の治療は主に局所麻酔下で行うため、患者の負担軽減には治療をいかに迅速に行えるかが重要であり、レーザー照射の時間を要しない本法は治療時間の短縮が可能である。さらにスプレー式を併用することにより、均一かつ同時に広範囲を治療できるため、治療時間のさらなる短縮と PDT では困難であった気管支側壁などの病巣に対しても治療効果が期待できる。

2. 研究の目的

(1) 本研究は中枢型肺がんに対するスプレー式凍結融解療法を呼吸器内視鏡下で施行する新規肺がん治療の確立を目的とする。

(2) 凍結融解療法における抗腫瘍効果を病理学的に検証する。また、従来のプローブ接触式と液体窒素を噴霧するスプレー式との抗腫瘍効果の比較検討を行った上で、より高い抗腫瘍効果が得られるように各方式の至適条件を決定する。さらに気管支鏡の鉗子口を介して最も効果的に凍結融解療法を行える

内視鏡専用スプレー式プローブモデルの作製を目指す。

3. 研究の方法

(1) 大動物の気管、気管支を用いた凍結融解療法の安全性の検討

中枢型肺がんに対する凍結融解療法を用いた新規内視鏡治療法の開発を目的に、基礎実験として、クラウン系ミニプタの気管と気管支を対象に、全身麻酔下にて接触式プローブを用いて凍結融解療法を施行した。治療後に取り出した検体を病理学的に検証し、気管、気管支壁の損傷程度を評価して安全性の確認を行った。また、解剖学的問題で治療困難な部位が存在するかを確認し、プローブの接触方法について検討を行った。

(2) 肺がん細胞に対する凍結融解療法の抗腫瘍効果

C57BL/6 mice の大腿部に Lewis lung carcinoma (LLC) 細胞 1×10^6 個を皮下移植し、担がんマウスを作成した。5~8 日後に、担がんマウスの腫瘍に対して Freezor + Cryoconsole を用いてプローブ接触式凍結融解療法を施行した。腫瘍径を計測しながら約 6 週間にわたり観察を行った。同時に、観察群とは別に治療直後と治療後 1 週間の腫瘍検体を摘出し、凍結凝固の影響と抗腫瘍効果を病理学的に検証した。in vivo における抗腫瘍効果の判定には、治療後の腫瘍径から腫瘍体積を算出し、 400mm^3 以上になった時点を再発として、再発率をもって判定した。

(3) 凍結融解療法におけるプローブ式とスプレー式の抗腫瘍効果の比較検討

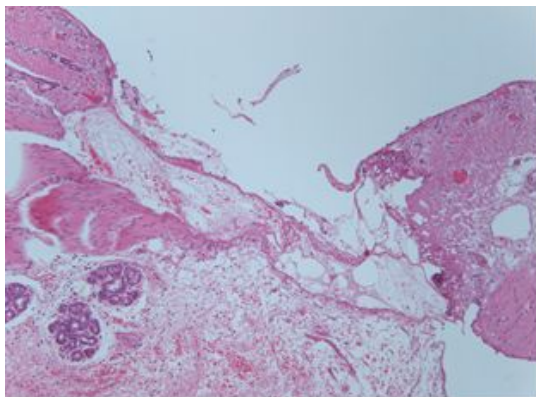
大腿部担癌マウスに対してプローブ式とスプレー式凍結融解療法の抗腫瘍効果を前述と同様の方法で比較検討を行った。

4. 研究成果

(1) 大動物の気管、気管支を用いた凍結融解療法の安全性の検討

実験はプローブ先端部を -65 、 -85 まで冷却し、プタの気管側壁、気管膜様部、主気管支壁、葉気管支壁に対して治療を行った。凍結部位を病理学的に検討したところいずれの温度でも気管支粘膜上皮および粘膜下層の壊死が認められたが、気管軟骨、気管支軟骨部の構造は保たれていた。(図 1) 治療部位を病理学的に検討したところ、治療時間に比例して気管支粘膜上皮、粘膜下層において深部への壊死が認められた。気管支筋層はプローブ接触時間が短時間でも壊死、断裂が認められ、筋層への凍結治療効果が示唆された。5 分間凍結融解しても気管軟骨、気管支軟骨部の構造は保たれていた。さらに同一部位への治療を続けたところ 10 分間で軟骨部に一部傷害が認められたものの、表面のみで穿孔等の合併症を引き起こすような深達度ではなかった。

(図1) 治療後のブタ気管側壁



以上の結果より、in vivo での大型動物の気管、気管支上皮に対する凍結融解療法の効果と安全性ならびに治療時間と治療効果の相関性を病理学的に確認できた。また中枢気道壁への治療効果はプローブの接触角度に影響を受けないこと、またあらゆる箇所に対して凍結融解が可能であることが示唆され、今後のプローブ開発に有用な結果が得られた。中枢気道の側壁や膜様部は治療が長時間にわたっても気管気管支軟骨への傷害は軽度であり治療の安全性が確認できた。さらに、末梢気管支にも同様に凍結融解療法を施行したところ、接線方向の側壁は一部プローブ接触が困難で、凍結壊死効果も不十分であった。

(2) 肺がん細胞に対する凍結融解法の抗腫瘍効果

C57BL/6 マウスと Lewis lung carcinoma (LLC) 細胞を用いて担癌マウスを作製し、肺がん細胞に対する凍結融解療法の抗腫瘍効果を検証した。腫瘍径を計測しながら経時的に観察を行ったところ腫瘍の明らかな縮小効果を認めた。

10 病変中 9 例 (90%) で腫瘍縮小効果を認めしたが、その後そのうち 3 例 (30%) で腫瘍の再増大を認めた。これらはすべて治療開始時期に既に腫瘍径が 8mm 以上に達しており凍結伝導が十分腫瘍の深部まで到達しなかったことが原因と考えられた。これらは繰り返し治療を行うことにより再増大を防げる可能性があると考えられるため今後は治療回数と治療効果の関係をさらに検討する予定である。表在型のがんに対しては抗腫瘍効果が示唆された。

(3) 凍結融解療法におけるプローブ式とスプレー式の抗腫瘍効果の比較検討

C57BL/6 マウスと Lewis lung carcinoma (LLC) 細胞を用いて担癌マウスを作製し、プローブ式とスプレー式の抗腫瘍効果を比較検討した。表在型の腫瘍に対しては同等の抗腫瘍効果が認められたが、腫瘍径 5mm 以上の腫瘍に対する治療効果を比較した場合はスプレー式はプローブ式より抗腫瘍効果が弱かった。(表 1)

(表 1)

1) 接触法

腫瘍径	<5mm	5-8mm	8mm<
縮小効果(+)	3/3	3/3	3/4
CR	3/3	3/3	1/4

2) スプレー法

腫瘍径	<5mm	5-8mm	8mm<
縮小効果(+)	3/3	2/3	1/4
CR	2/3	0/3	0/4

スプレー式凍結療法における抗腫瘍効果の改善を目指し、照射時間、施行回数等至適条件決定のためにさらなる検討が必要と思われた。

これらの研究成果は今後の内視鏡専用スプレー式プローブモデルの作製、研究推進に非常に有用であった。

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)

[雑誌論文](計 4 件)

1. Maehara S, Usuda J, Ishizumi T, Ichinose S, Ohtani K, Inoue T, Imai K, Furumoto H, Kudo Y, Kajiwara N, Ohira T, Ikeda N. Combination effect of photodynamic therapy using NPe6 with pemetrexed for human malignant mesothelioma cells. *Int J Oncol.* 46:741-749, 2015

2. Usuda J, Ishizumi T, Inoue T, Takeuchi S, Iijima Y, Ibi T. Photodynamic diagnosis (PDD) for central type lung cancers. *J Nippon Med Sch.* 80: 402-403, 2013

3. 石角 太一郎, 白田 実男 術前縦隔 N 因子診断 最新肺癌学 日本臨牀 71 巻増刊号 Page433-437, 2013

4. 石角 太一郎, 池田 徳彦 肺癌に対する内視鏡診断の進歩 肺癌 Update 医学のあゆみ 240 巻 Page1102-1106, 2012

[学会発表](計 11 件)

1. Ishizumi T, Usuda J, Inoue T, Takeuchi S, Ibi T. Therapeutic strategy for multiple central-type lung cancer. 18th World Congress for Bronchology and Interventional Pulmonology, 18th World Congress Bronchoesophagology. 2014

2. 石角太一郎, 臼田実男, 井上達哉, 揖斐孝之, 堀内 翔, 佐藤 明, 蓮実健太 末梢肺癌に対する PDT 第 35 回日本レーザー医学界総会 2014.11

3. Ishizumi T, Inoue T, Usuda J. Selective mediastinal lymph node dissection for cN0 non-small cell lung cancer. 15th World Conference on Lung Cancer 2013

4. 石角太一郎, 臼田実男, 井上達哉, 前原幸夫, 古本秀行, 岡 清, 池田徳彦 末梢肺野病変に対する新たな内視鏡治療法の開発 第 23 回日本光線力学学会学術講演会 2013

5. Ishizumi T, Inoue T, Kato Y, Ikeda N, Usuda J. Comparison of surgical outcome of lung cancer between video-assisted thoracic surgery (VATS) and open thoracotomy in patients aged 80 or over. International Society for Minimally Invasive Cardiothoracic Surgery Annual Meeting 2013

6. Ishizumi T, Usuda J, Fukuda K, Hamanaka W, Hagiwara M, Saji H, Kakihana M, Kajiwara N, Ohira T, Ikeda N. Validation of Selective Lymph Node Dissection for CN0 Lung Cancer. 5th Asia Pacific Lung Cancer Conference and 3rd International Thymic Malignancy Interest Group Annual Meeting. 2012

7. Usuda J, Ishizumi T, Kudo Y, Furumoto H, Honda H, Kakihana M, Saji H, Kajiwara N, Ohira T, Ikeda N. The New Interventional Technique by Photodynamic Therapy Using Composite-Type Optical Fiberscope of 1.0 mm in Diameter for Peripheral Parenchymal lesion. 5th Asia Pacific Lung Cancer Conference and 3rd International Thymic Malignancy Interest Group Annual Meeting. 2012

8. 臼田実男, 石角太一郎, 前原幸夫, 古本秀行, 梶原直央, 大平達夫, 加藤治文, 池田徳彦 光線力学的治療の普及に向けた活動 第 33 回日本レーザー医学会総会 2012

9. Ishizumi T. Selective mediastinal lymph node dissection for clinical N0 non-small cell lung cancer. 2nd International Joint Meeting of Thoracic Surgery. 2012

10. Ishizumi T, Honda H, Usuda J, Hagiwara M, Kajiwara N, Ohira T, Ikeda N. Preoperative Predictors of Mediastinal Lymph node Metastasis in Patients with Clinical N0 Lung Cancer. 17th World

Congress for Bronchology and Interventional Pulmonology, 17th World Congress Bronchoesophagology. 2012

11. Kudo Y, Honda H, Saji H, Usuda J, Imai K, Kakihana M, Kajiwara N, Ikeda N, Ishizumi T, Ohira T. Photodynamic Therapy Using NPe6 for Bronchogenic Carcinomas in Central Airways. 17th World Congress for Bronchology and Interventional Pulmonology, 17th World Congress Bronchoesophagology. 2012

〔図書〕(計 1 件)

1. The utilization of autofluorescence in flexible bronchoscopy. Ishizumi T, Lam S. Flexible Bronchoscopy 3rd Edition, Ko-Pen Wang, Atul C. Mehta and J. Francis Turner, Wiley-Blackwell Publishing Limited; 170-175, 2012

6 . 研究組織

(1)研究代表者

石角太一郎 (Ishizumi Taichiro)
日本医科大学・医学部・講師
研究者番号 : 60424488

(2)研究分担者

臼田 実男 (Usuda Jitsuo)
日本医科大学・医学系研究科・教授
研究者番号 : 60338803

(3)連携研究者

池田 徳彦 (Ikeda Norihiko)
東京医科大学・医学部・教授
研究者番号 : 70246205