

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：34417

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2015

課題番号：24791344

研究課題名(和文) 血管内皮カドヘリンを介したタイトジャンクション制御の経動脈的治療への応用

研究課題名(英文) Intra-arterial infusion of thrombin: animal experiments

研究代表者

米虫 敦 (KOMEMUSHI, Atsushi)

関西医科大学・医学部・助教

研究者番号：80360254

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)：『第71回日本医学放射線学会Cypos賞Bronze Medal』を受賞。Minim Invasive Ther Allied Technol. 2014 Jan;23(1):52-4.に、研究成果が掲載された。

少量のトロンビン混和により、動注化学療法における薬剤の血中移行性が低下し、組織移行性が向上した。トロンビンを併用した動注化学療法の実行可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The platinum concentrations in plasma in 5 and 10 minutes after administration were $0.59 \pm 0.28 \mu\text{g/ml}$ and $0.70 \pm 0.078 \mu\text{g/ml}$ for the thrombin group, respectively, and $2.7 \pm 1.2 \mu\text{g/ml}$ and $2.2 \pm 0.58 \mu\text{g/ml}$ for the control group, respectively. At both 5 and 10 min after infusion, the platinum concentrations in plasma for the thrombin group were significant lower than that for the control group. The platinum concentration in tumor tissue was $4.1 \pm 1.8 \mu\text{g/wet} \cdot \text{g}$ for the thrombin group and $1.0 \pm 1.2 \mu\text{g/wet} \cdot \text{g}$ for the control group. The platinum concentration in tumor tissue for the thrombin group was significantly higher than that for the control group. The present results suggest that transarterial infusion with thrombin may have a number of pharmacological advantages.

研究分野：低侵襲治療

キーワード：IVR DDS 低侵襲治療 Interventional Radiology 放射線医学 Oncology 化学療法

1. 研究開始当初の背景

我が国での部位別の癌死亡順位(国民衛生の動向 2009 年度版)では、肝臓癌は男性で第3位、女性で第5位となっており死因統計分類上、重要な地位を占めている。現在、我が国では経動脈的なカテーテル挿入による動脈内抗腫瘍剤注入療法および動脈塞栓術は日常的に施行されており、本疾患に対する治療戦略に於いて重要な役割を占めているが、その治療効果は限定的で頻回の再治療を前提としたものであり、その患者の負担は無視できないものであった。

凝血剤として知られるトロンピンには、血管内皮細胞同士の結合タンパクである血管内皮カドヘリン(VE-Cadherin)を抑制する事によって内皮細胞間のタイトジャンクションを急速に 15~20nm 開大させ、血管透過性を著しく亢進させる作用がある事が注目されはじめた。

応募者は、平成 11 年より家兎肝腫瘍モデルも用いた悪性腫瘍の経動脈的な治療について基礎的研究を行っており、本作用を肝臓悪性腫瘍の経カテーテル的な血管内治療に応用した新たなドラッグデリバリーシステムの開発について着想に至った。

近年、トロンピンの血管内皮に対する作用が多数報告されており、VE-cadherin を抑制することによって血管内皮細胞間のタイトジャンクション結合に 15-20nm の細孔を発現させる作用が明らかになってきた (Rabiet MJ, Plantier JL, Rival Y, Genoux Y, Lampugnani MG, Dejana E., Thrombin-induced increase in endothelial permeability is associated with changes in cell-to-cell junction organization., *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996 Mar;16(3):488-96.)。本作用をドラッグデリバリーシステムに応用する試みが注目を集めている (Gorodetsky R, Peylan-Ramu N, Reshef A, Gaberman E, Levdansky L, Marx G., Interactions of carboplatin with fibrin(ogen), implications for local slow release chemotherapy., *J Control Release.* 2005 Jan 20;102(1):235-45.)

肝動注化学塞栓療法は本邦において開発された手技であり、その研究は本邦が主導的役割を果たしているが、本邦においては現時点でトロンピンの血管内注入は保険適応となっておらず、肝動注化学塞栓療法に本作用を応用した報告は存在しない。

本提案は肝動注化学塞栓療法の効果増強に、少量のトロンピンによる血管透過性亢進および自己凝血塊からの徐放効果を応用するもので、国内外に類似の研究は存在し

ない。

2. 研究の目的

凝血剤として知られるトロンピンには、血管内皮細胞同士の結合タンパクである血管内皮カドヘリン(VE-Cadherin)を抑制する事によって内皮細胞間のタイトジャンクションを急速に 15~20nm 開大させ、血管透過性を著しく亢進させる作用がある事が注目されている。

本提案は、経カテーテル的な肝動注化学塞栓療法に使用する薬剤として少量のトロンピンと抗腫瘍薬の混合物を使用する。血管透過性亢進作用による抗腫瘍薬の高濃度暴露による濃度依存性効果増強と、自己凝血塊に含有された抗腫瘍薬の徐放効果による暴露時間延長による時間依存性効果増強を肝動脈塞栓術に応用する。

多くの抗腫瘍薬は、濃度依存性・時間依存性に抗腫瘍効果を発現する事が知られている。申請者が着目したトロンピン併用肝動注化学塞栓療法は、濃度依存性の抗腫瘍薬において血管透過性亢進作用による組織内薬剤濃度の上昇を得ることができ、時間依存性の抗腫瘍薬においては凝血塊に含有された抗腫瘍薬の徐放効果による暴露時間延長を得ることができる。

本研究の目的は、少量のトロンピンを併用した動注化学療法における薬剤の血中移行性、組織移行性および実行可能性を評価することである。

3. 研究の方法

本研究で行う動物実験については、生命倫理・安全に対する取組として、「関西医科大学学内倫理委員会」の承認を得た上で「関西医科大学動物実験施設内規」に従い施行することによって、社会的コンセンサスを得ることが可能である。

また、本研究に伴う放射線透視下での作業は全て「放射性同位元素等による放射線障害の防止に関する法律」および「電離放射線障害防止規則」に準拠した施設内安全管理基準に沿って施行される。また、複数の第一種放射線取扱主任者の立ち会いの下で実験は施行され、研究代表者自身も第一種放射線取扱主任者資格を保有している。

VX2 担癌ウサギより腫瘍を摘出し、VX2 腫瘍を単細胞化して Eagle's MEM に浮遊させた。細胞浮遊液を 1×10^7 /ml の濃度に調整した。

10 羽の日本白色ウサギの右大腿部に 0.3ml の VX2 細胞浮遊液を注入した。2 週間後に VX2 腫瘍は 3~5 cm 径まで成長する。

10 羽の日本白色家兎をトロンピン群と対照群 2 グループに無作為に分割した。

左大腿動脈より、2.0Fr マイクロカテーテ

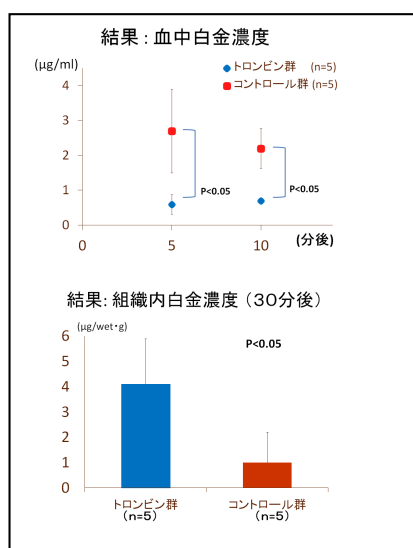
ルを挿入し、右大腿動脈まで到達させた。

右大腿動脈より、緩徐に薬剤を注入した。トロンビン群の5羽に対しては、イオパミドール、リピオドール、シスプラチン、トロンビンの混合液を注入した。対照群5羽に対しては、イオパミドール、リピオドール、シスプラチンの混合液を注入した。

薬剤注入5分後及び10分後に採血を行い、血漿中白金濃度を測定した。薬剤注入30分後にVX2腫瘍を摘出し、組織内白金濃度を測定した。

統計学的解析は、Student's t-testの両側検定を行った。P 0.05を有意とした。

4. 研究成果



血中白金濃度は、5分後、10分後共に、トロンビン群で有意に低い濃度であり、トロンビンは、薬剤の血中への移行を阻害した。

薬剤注入30分後の組織内白金濃度は、トロンビン群が有意に高い濃度であり、トロンビンが薬剤の組織停滞性を向上させた。

thrombinは、プロトロンビンが第V因子によって活性化されることによって生じる。thrombinは、第V因子、第VIII因子及び第IX因子を活性化させ、凝血反応の中核的な酵素である。thrombinは、血小板表面のG protein-coupled receptorを介して、血小板を活性化させる作用も知られている。近年になって、thrombinは血管内皮カドヘリンを抑制することによって、内皮細胞間のタイトジャンクションを急速に15~20nm開大させ、血管透過性を著しく亢進させることが注目されている。これらの作用のdrug delivery systemへの応用が試みられている。

本研究では、transarterial drug delivery systemにthrombinを応用した。動脈内に注入されたthrombinは血栓を形成して、動脈血流を低下させ、体循環への薬剤漏出を阻害する。また、thrombinは血管透過性を亢進させて、薬剤の組織移行性を向上させる。本研究結果でも、体循環の薬剤濃度はthrombin

groupがcontrol groupよりも有意に低く、腫瘍組織内の薬剤濃度はthrombin groupがcontrol groupより有意に高くなった。

Maedaらは、ウサギの脳血管を用いて、10U/mlのthrombinで、一過性の内皮細胞の弛緩を認めたと報告している。今回の研究ではthrombinの濃度は1000U/mlであり、さらに低濃度のthrombinでも実行可能かもしれない。

本研究の限界として、thrombin濃度が単一であること、超急性期の評価しか行っていないこと、病理学的な評価を行っていないことがある。

結論として、少量のトロンビン混和により、動注化学療法における薬剤の体循環への移行性が低下し、組織移行性が向上した。トロンビンを併用した動注化学療法の実行可能性が示唆された。

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)

[雑誌論文](計 18 件)

1. Feasibility and Safety of Dexmedetomidine sedation in Transarterial Embolization for hepatocellular carcinoma with hepatitis C-related cirrhosis, Komemushi A, Suzuki S, Sano A, Kariya S, Nakatani M, Yoshida RY, Kono Y, Ikeda K, Utsunomiya K, Harima Y, Tanigawa N., Jpn J Cancer Chemother 42,1077-1079, 2015.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26714370>

2. Balloon-Occluded Antegrade Transvenous Sclerotherapy to Treat Rectal Varices: A Direct Puncture Approach to the Superior Rectal Vein Through the Greater Sciatic Foramen Under CT Fluoroscopy Guidance., Ono Y, Kariya S, Nakatani M, Yoshida R, Kono Y, Kan N, Ueno Y, Komemushi A, Tanigawa N., Cardiovasc Intervent Radiol. 38, 1320-1324, 2015

doi: 10.1007/s00270-015-1174-4.

3. Evaluation of an aspiration-type semiautomatic cutting biopsy needle.

(Komemushi A, Kanno S, Suzuki S, Sano A, Kariya S, Nakatani M, Yoshida RY, Kono Y, Harima Y, Tanigawa N.), Minim Invasive Ther Allied Technol., 24, 250-252, 2015.

doi: 10.3109/13645706.2015.1021359.

4. Radiation dose of nurses during IR procedures: a controlled trial evaluating operator alerts before nursing tasks.

(Komemushi A, Suzuki S, Sano A, Kanno S, Kariya S, Nakatani M, Yoshida R, Kono Y,

- Ikeda K, Utsunomiya K, Harima Y, Komemushi S, Tanigawa N.) J Vasc Interv Radiol. 25 1195-1199 2014
doi: 10.1016/j.jvir.2014.03.021.
5. Intranodal Lymphangiogram: Technical Aspects and Findings (.Kariya S, Komemushi A, Nakatani M, Yoshida R, Kono Y, Tanigawa N.) Cardiovasc Intervent Radiol 37 1606-1610 2014
doi: 10.1007/s00270-014-0888-z.
6. Portopulmonary venous anastomosis in balloon-occluded retrograde transvenous obliteration for the treatment of gastric varices. (Kariya S, Komemushi A, Nakatani M, Yoshida R, Kono Y, Shiraishi T, Tanigawa N.) J Gastroenterol Hepatol. 29 1522-1527 2014
doi: 10.1111/jgh.12583.
7. Comparison of Tc-99m GSA scintigraphy and CT volumetry for evaluation in portal vein embolization. (Kono Y, Kariya S, Komemushi A, Nakatani M, Yoshida RY, Suzuki S, Ha-Kawa SK, Utsunomiya K, Ueno Y, Sato S, Kaibori M, Kon M, Tanigawa N.) Minim Invasive Ther Allied Technol. 23 241-246 2014
doi: 10.3109/13645706.2014.897955.
8. Intra-arterial infusion of thrombin: Animal experiments. (Komemushi A, Kariya S, Nakatani M, Yoshida R, Kono Y, Suzuki S, Kanno S, Ikeda K, Utsunomiya K, Harima Y, Oyamada K, Kamiyoshi T, Miyake T, Sato R, Inoue M, Tanigawa N.) Minim Invasive Ther Allied Technol. 23 52-54 2014
doi: 10.3109/13645706.2013.831107.
9. Direct puncture embolization using N-butyl cyanoacrylate for a hepatic artery pseudoaneurysm. (Yagi Yoshida R, Kariya S, Nakatani M, Komemushi A, Kono Y, Tanigawa N.) Minim Invasive Ther Allied Technol 23 110-114 2014
doi: 10.3109/13645706.2013.841252.
10. Training on insertion and retrieval of optional inferior vena cava filters for interventional radiologists with little or just some experience with the combined use of blood vessel and animal models. (Yamagami T, Hasebe T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Hashimoto T, Komemushi A, Kamei S, Hagihara M, Sato Y, Kondo H, Inoue M, Nakatsuka A, Takahashi M, Koizumi J, Saito H.) Springerplus. 30 354 2013
doi: 10.1186/2193-1801-2-354.
11. Apolipoprotein C-II Is a Potential Serum Biomarker as a Prognostic Factor of Locally Advanced Cervical Cancer After Chemoradiation Therapy. (Harima Y, Ikeda K, Utsunomiya K, Komemushi A, Kanno S, Shiga T, Tanigawa N.) Int J Radiat Oncol Biol Phys. 87 1155-1161 2013
doi: 10.1016/j.ijrobp.2013.08.023.
13. Re: CO2 microbubble contrast enhancement in x-ray angiography. A reply. (Kariya S, Komemushi A, Nakatani M, Yoshida R, Sawada S, Tanigawa N.) Clin Radiol. 68 1180 2013
doi: 10.1016/j.crad.2013.06.005.
14. CO2 microbubble contrast enhancement in x-ray angiography. (Kariya S, Komemushi A, Nakatani M, Yoshida R, Sawada S, Tanigawa N.) Clin Radiol. 68 346-351 2013
doi: 10.1016/j.crad.2012.08.011.
15. Analysis of factors influencing accuracy and complications in CT-guided lung biopsy. (Nakatani M, Tanigawa N, Kariya S, Komemushi A, Yagi R, Sawada S.) Minim Invasive Ther Allied Technol. 21 415-422 2012
doi: 10.3109/13645706.2012.662155.
8. 3D-Fusion 画像による肝癌局所治療の治療マージン評価の試み (井口 亮輔(関西医科大学 消化器肝臓内科), 関 寿人, 池田 耕造, 川村 梨那子, 岡崎 和一, 米虫 敦, 大村 直人, 谷川 昇, 澤田 敏) 肝臓 53 298-301 2012
16. Does Vertebroplasty affect radiation dose distribution? : Comparison of spatial dose distributions in a cement-injected vertebra as calculated by treatment planning system and actual spatial dose distribution (Atsushi Komemushi, Noboru Tanigawa, Shuji Kariya, Rie Yagi, Miyuki Nakatani, Satoshi Suzuki, Akira Sano, K. Ikeda, Keita Utsunomiya, Yoko Harima, and Satoshi Sawada) Radiology Research and Practice doi:10.1155/2012/571571 1-6 2012
doi: 10.1155/2012/571571.
17. 第8回日本 IVR 学会夏期学術セミナー『B-RTO と NBCA 塞栓術』受講生の受講前後の診療行動の調査 (米虫 敦、瀧川政和、西田典史、山本 晃、松井広登、前田弘彰、小林 薫、山本 聡、明神和紀、橋本 毅、松永敬二、佐々木真弓、高橋 誠、若宮 誠、不破相勲、八神俊明、藪田 実、野見山 弘行、阿知波左千子、谷掛雅人、渡邊啓太、原口貴史、今峰倫平、

塚田実郎、竹内直子、内ノ村聡、人見次郎、保本卓、中村純寿、竹口隆也、田村全、佐藤浩三、神谷実佳、西濱晴香、森木健生、瀬之口輝寿、石川祐一、長谷聡一郎、中塚誠之、山門享一郎、小泉淳、廣田省三、吉岡哲也、齋藤博哉、石口恒男、栗林幸夫、狩谷秀治、谷川昇、澤田敏) IVR会誌 Jpn J Intervent Radiol 27 56-59 2012

18. Added value of percutaneous vertebroplasty: effects on respiratory function. (Tanigawa N, Kariya S, Komemushi A, Nakatani M, Yagi R, Sawada S.) AJR Am J Roentgenol. 198 51-54 2012
doi: 10.2214/AJR.11.6730.

[学会発表](計 12 件)

1. Feasibility and safety of dexmedetomidine sedation in central venous port placement Atsushi Komemushi, Satoshi Suzuki, Akira Sano, Shuji Kariya, Miyuki Nakatani, Rie Yoshida, Yumiko Kono, Koshi Ikeda, Keita Utsunomiya, Yoko Harima, Noboru Tanigawa JSIR, ISIR and APCIO 2015 2015/5/28-30 SeaGaia, Miyazaki, Japan.

2. Feasibility and safety of dexmedetomidine sedation in central venous port placement Atsushi Komemushi, Satoshi Suzuki, Akira Sano, Shuji Kariya, Miyuki Nakatani, Rie Yoshida, Yumiko Kono, Koshi Ikeda, Keita Utsunomiya, Yoko Harima, Noboru Tanigawa The 74rd Annual Meeting of the Japan Radiological Society 2015/4/16-19 PACIFICO Yokohama, Kanagawa, Japan

3. Evaluation of an aspiration-type semiautomatic cutting biopsy needle Atsushi Komemushi, Satoshi Suzuki, Akira Sano, Shohei Kanno, Shuji Kariya, Miyuki Nakatani, Rie Yoshida, Yumiko Kono, Takaya Tsuno, Koshi Ikeda, Keita Utsunomiya, Yoko Harima, Sadao Komemushi, Noboru Tanigawa SIR 40th Annual Scientific Meeting 2015/3/28-4/6 World Convention Center, Atlanta, GA, U.S.A.

4. Evaluation of an aspiration-type semiautomatic biopsy needle Atsushi Komemushi, Shohei Kanno, Satoshi Suzuki, Akira Sano, Miyuki Nakatani, Rie Yoshida, Yumiko Kono, Shuji Kariya, Yoko Harima, Noboru Tanigawa The 73rd Annual Meeting of the Japan Radiological Society 2014/4/10-13 PACIFICO Yokohama, Kanagawa, Japan

5. Radiation Dose of Nurses During

Interventional Radiology Procedures: A Controlled Trial Evaluating Operator Alerts Prior to Nursing Tasks Atsushi Komemushi, Makiko Miyamoto, Satoshi Suzuki, Akira Sano, Shohei Kanno, Shuji Kariya, Miyuki Nakatani, Rie Yoshida, Yumiko Kono, Takaya Tsuno, Yuko Kikukawa, Noriko Takada, Tomomi Tojo, Kazuko Aoki, Koshi Ikeda, Keita Utsunomiya, Yoko Harima, Hanako Matsuoka, Sadao Komemushi, Noboru Tanigawa SIR 39th Annual Scientific Meeting 2014/3/22-27 San Diego Convention Center, San Diego, CA, U.S.A.

6. Intra-arterial infusion of thrombin: animal experiments Atsushi Komemushi, Noboru Tanigawa, Shuji Kariya, Miyuki Nakatani, Rie Yoshida, Satoshi Suzuki, Koshi Ikeda, Keita Utsunomiya, Shohei Kanno, Yoko Harima, Satoshi Sawada, Michoto Inoue, Kazuhisa Oyamada, Kamiyoshi Tsuyoshi, Tsuyoshi Miyake, Ryo Sato American Roentgen Ray Society Annual Meeting 2013 2013/4/14-19 Washington, D.C., U.S.A.

7. Direct Puncture approach for large visceral varix; embolization of porto-systemic shunt with hepatic encephalopathy Atsushi Komemushi 7th Interventional Radiology Case Club 2013/05/18 Naka-Karuzawa Library 2F, Nagano, Japan.

8. Transarterial infusion with thrombin: animal experiments A. Komemushi, N. Tanigawa, S. Kariya, M. Inoue, M. Nakatani, R.Y. Yoshida, S. Suzuki, A. Sano, Y. Harima, S. Sawada CIRSE2012 2012/9/15-20 Centro de Congressos de Lisboa, Lisbon, Portugal.

9. Chairman : Scientific Session 2-2: Bone, Spine and Soft tissue Intervention/Imaging Atsushi Komemushi APCCVIR 2012 JSIR & ISIR 2012/5/30-6/2 Kobe Portopia Hotel, Hyogo, Japan

10. Education Effect of percutaneous vertebroplasty with fluoroscopic guidance in the Japanese Society of Interventional Radiology 7th Academic Summer Seminar Atsushi Komemushi, Kenji Takizawa, Norimitsu Tanaka, Misako Yoshimatu, Kunihiro Yagihashi, Yukihisa Ogawa, Atsuko Fujikawa, Iwao Uejima, Yuya Koike, Taiji Tamura, Makoto Takahashi, Jun Koizumi, Koichiro Yamakado, Seishi Nakatsuka, Tetsuya Yoshioka, Shozo Hirota, Kenji Nakamura, Yasuo Nakajima, Sachio

Kuribayashi, Noboru Tanigawa APCCVIR
2012 JSIR & ISIR 2012/5/30-6/2 Kobe
Portopia Hotel, Hyogo, Japan

11. Transarterial infusion with thrombin:
animal experiments Atsushi Komemushi,
Noboru Tanigawa, Shuji Kariya, Michito
Inoue, Satoshi Suzuki, Akira Sano, Rie
Yagi, Miyuki Nakatani, Koshi Ikeda, Keita
Utsunomiya, Shohei Kanno, Yoko Harima,
Kazuhisa Oyamada, Tsuyoshi Kamiyoshi,
Tsuyoshi Miyake, Satoshi Sawada APCCVIR
2012 JSIR & ISIR 2012/5/30-6/2 Kobe
Portopia Hotel, Hyogo, Japan

12. トロンピンを用いた経動脈的 Drug
Delivery System: 家兎における基礎実験 米
虫 敦: 谷川 昇: 狩谷 秀治: 中谷 幸: 八木 理
絵: 鈴木 聡史: 左野 明: 播磨 洋子: 井上 理
人: 澤田 敏 第 71 回医学放射線学会総会
2012/4/12-15, パシフィコ横浜 (神奈川県)

〔図書〕(計 1 件)

1. 米虫 敦 他、画像診断 + IVR ヒヤリ・ハ
ット, p.1-281, 南江堂, 2015.

〔その他〕

ホームページ等

<https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-24791344/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

米虫 敦 (KOMEMUSHI, Atsushi)

関西医科大学・医学部・助教

研究者番号: 80360254

(2) 研究協力者

井上理人 (INOUE, Michito)

米虫節夫 (KOMEMUSHI, Sadao)

狩谷秀治 (KARIYA, Shuji)

谷川 昇 (TANIGAWA, Noboru)