

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：84409

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2017

課題番号：25861093

研究課題名(和文) DNAマイクロアレイを用いた肝動脈化学塞栓療法後の網羅的発現遺伝子解析

研究課題名(英文) Exhaustive gene expression analysis after transarterial chemoembolization by DNA microarrays

研究代表者

前田 登 (Maeda, Noboru)

地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪国際がんセンター(研究所)・その他部局等・放射線診断・IVR科副部長

研究者番号：00506488

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、従来型の肝動脈化学塞栓療法(Lip-TACE)と、薬剤溶出性球状塞栓物質を用いた肝動脈化学塞栓療法(DEB-TACE)を、家兔肝モデルでDNAマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行い、比較検討することで、遺伝子レベルから両者間の差異を明らかにすることを目的とした。TACEの方法、術後日数で遺伝子の発現・変動に変化が見られ、TACEによる非癌部肝実質の機能障害の発現様式や腫瘍に対する局所制御メカニズムと関係している可能性があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to compare gene expression in rabbit liver after conventional transarterial chemoembolization with Lipiodol (Lip-TACE) to that after transarterial chemoembolization with drug-eluting microspheres (DEB-TACE) by DNA-microarray technique. There were differences about gene expression both in a kind of chemoembolization and number of days after chemoembolization. This result suggested that gene expression after transarterial chemoembolization was possibly related to the dysfunction of non-tumorous liver parenchyma and the local control mechanism to the tumor by chemoembolization.

研究分野：医歯薬学

キーワード：DNAマイクロアレイ 動脈塞栓術 化学塞栓療法 薬剤溶出性塞栓物質 肝癌 エピルピシン 高吸水性ポリマー リピオドール

1. 研究開始当初の背景

日本において、原発性肝癌による死亡数は年間3万人を越え、第4位の癌死因となっており(2009年度)予後はいまだに不良である。本邦では、肝細胞癌(HCC)に対するinterventional radiology (IVR)の技術が発達しており、切除不能例では肝動脈化学塞栓療法(TACE)が治療の主体となっているが、世界的に見てもこのTACEは、2002年に無作為比較試験やメタ・アナリシスにより有意な生存期間の延長が示され、切除不能HCCに対する治療の中心的役割を担ってきている。TACEは1978年に本邦の山田らにより開発されて以来、改良が加えられ、30年以上にわたって行われてきた治療法で、油性造影剤リピオドールと抗癌剤の懸濁液と多孔性ゼラチン粒を組み合わせる方法が今日の本邦では定着している。一方、2004年以降、欧米では薬剤溶出性球状塞栓物質が実用化され、既に主流となっている。この塞栓物質は薬物溶出能を持つ、均一な粒子径の球形塞栓物質で、「薬剤溶出性球状ビーズ(DEV)」と呼ばれ、粒子径の選択により塞栓深度が予測可能になる標的塞栓性に加えて、腫瘍内で高容量薬剤を緩徐に持続的に放出することにより、抗腫瘍効果の向上と全身副作用の低減が期待できる。本邦でも2014年に導入され、悪性疾患に対する化学塞栓療法としての一定役割が期待されている。DEVが定着すれば、リピオドールに慣れ親しんできた本邦のTACEは大きなパラダイムシフトを迎えることとなる。

従来行われてきたリピオドールを用いたTACE(Lip-TACE)とDEVを用いたTACE(DEV-TACE)の欧米の無作為比較試験では、DEV-TACEで全身副作用の低減が見られたが、有意な生存期間の延長は現在のところ示されていない。よって、DEVの本邦導入後も、DEV-TACEに切り替えるべきか、あるいはLip-TACEのままでも十分なのか、DEV-TACEとLip-TACEの両者の住み分けは可能なのか、といった疑問に関しては、まだ結論は得られていない。それどころか、数多くの臨床試験の結果にも関わらず、TACEにおける抗癌剤の有効性は完全には証明がされておらず、抗癌剤の種類の選択性、それ以前に抗癌剤の必要性も不明確なままである。

2012年パリ大学のグループからDNAマイクロアレイをTACEの分野に応用して、DEV-TACE後の網羅的遺伝子発現解析のpilot studyという先駆的な試みが報告され、この分野の研究における新たな局面が切り開かれた。Verret Vらによると、豚肝モデルを用い、DEV-TACEを行った群では、抗癌剤を用いずTAEを行った群と比較して、組織障害を示す遺伝子がより多く発現し、アポトーシスが引き起こされる。と同時に組織修復機構に関する遺伝子も多く発現していると報告されている。一方、脂質や糖の代謝に関わる遺伝子発現は、比較的低い。阻血や低酸素時に主た

る要因として働くHIF1aやVEGFといった遺伝子には差がなかったと報告された。この手法は、TACEにおける遺伝子レベルでの変化を調べることにより、臨床試験とは違った側面から、TACEの有効性の評価や改良への提言に役立つと期待できると考えられる。

【引用文献】

Yamada R, Sato M, Kawabata M, et al. Hepatic artery embolization in 120 patients with unresectable hepatoma. *Radiology* 1983; 148: 397-401.

Verret V, Namur J, Homayra S, et al. Toxicity of doxorubicin on pig liver after chemoembolization with doxorubicin-loaded microspheres: A pilot DNA-microarrays and histology study. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2012; 35:1448-59.

2. 研究の目的

本研究では、上述したDEV-TACEとLip-TACEに関する命題を解決すべく、動物肝モデルを用い、両群にDNAマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行い、比較検討することで、遺伝子レベルから両者間の差異を明らかにし、治療選択の判断、理解に役立てることを目的とする。ひいては今後の肝動脈塞栓療法という治療法の発展に役立てる。

3. 研究の方法

ウサギ肝モデルを用いて、塩酸ケタミン(10mg/kg)、酒石酸ブトルファン(0.1mg/kg)、プロポフォル(6mg/kg)各静注およびイソフルラン(1.5%)吸入麻酔による全身麻酔下に、左肝動脈からエピルピシン(EPIR)溶液(3mg/0.3mL)とリピオドール(0.3mL)の混合液を動注後、多孔性ゼラチン粒(微量)で塞栓(従来型Lip-TACE群)(n=3)、EPIR溶出性ビーズ(DC-Bead0.12mL、EPIR含3mg)で塞栓(薬剤溶出性DC-Bead-TACE群)(n=3)、CDDP溶出性球状塞栓物質(HepaSphere1.5mg、CDDP6mg)(n=3)で塞栓(薬剤溶出性HepaSphere-TACE群)(n=3)を施行。3日後に各群n=1、及び7日後に各群n=2、全身麻酔下で安楽死(KCL(50mg/kg)静注)を行い、肝臓を摘出後、塞栓物質の動向を肉眼的に検索。DNAマイクロアレイ用に左葉塞栓後肝壊死周囲実質および右葉非塞栓部肝実質のサンプル採取(3日後各群n=1、及び7日後に各群n=1)。サンプルから抽出したmRNAを逆転写酵素でcDNAに変換したものを、基板上のDNA配列にハイブリダイゼーションし、細胞内で発現している遺伝子情報を網羅的に検出した。

コンピュータ上で、DNAマイクロアレイ解析用ソフトウェアを使用し、対照群右葉非塞栓部肝実質)の検出發現遺伝子と比較して、TACE後3日および7日の従来型Lip-TACE群、薬剤溶出性DC-Bead-TACE群、薬剤溶出性HepaSphere-TACE群の検出發現遺伝子に対し

て、比較を行う。

4. 研究成果

結果塞栓部は、非塞栓部に対して遺伝子数が、3日後従来型 Lip-TACE 群で、205probe が倍以上の上方変動、751probe が発現、295probe が 1/2 以下の下方変動、820probe が発現抑制 (Fig.1)、3日後薬剤溶出性 DC-Bead-TACE 群で、996 probe が倍以上の上方変動、1318probe が発現、186probe が 1/2 以下の下方変動、519probe が発現抑制 (Fig.2)、3日後薬剤溶出性 HepaSphere-TACE 群で、1168probe が倍以上の上方変動、1498probe が発現、720probe が 1/2 以下の下方変動、635probe が発現抑制した (Fig.3)。

7日後従来型 Lip-TACE 群で、2215probe が倍以上の上方変動、2079probe が発現、991probe が 1/2 以下の下方変動、587probe が発現抑制 (Fig.4)、7日後薬剤溶出性 DC-Bead-TACE 群で、404probe が倍以上の上昇変動、1255probe が発現、40probe が 1/2 以下の下方変動、476probe が発現抑制 (Fig.5)、7日後薬剤溶出性 HepaSphere-TACE 群で、350probe が倍以上の上方変動、1011probe が発現、143probe が 1/2 以下の下方変動、631probe が発現抑制した (Fig.6)。

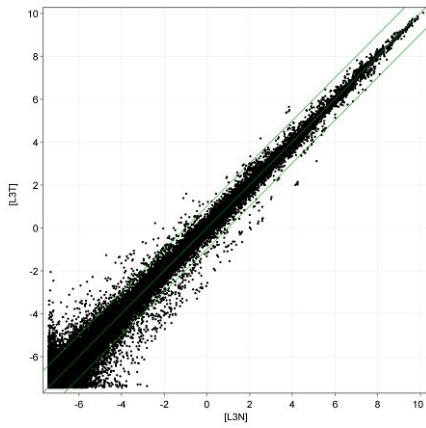


Fig.1

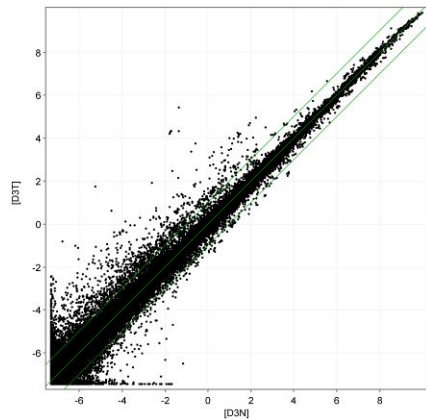


Fig.2

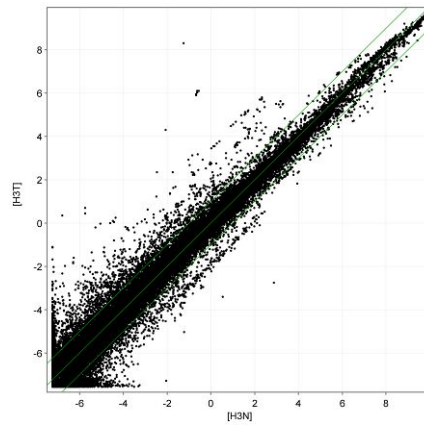


Fig.3

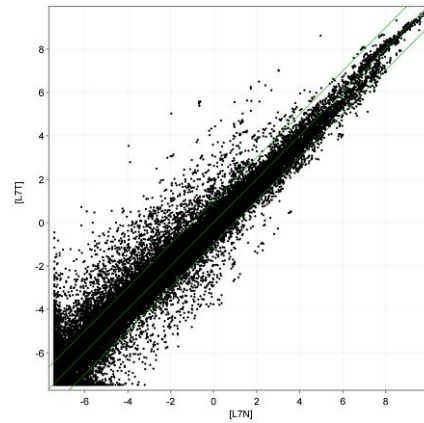


Fig.4

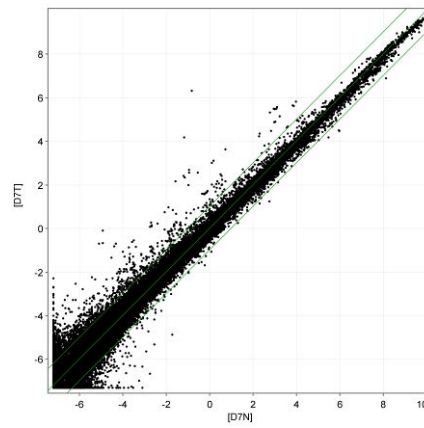


Fig.5

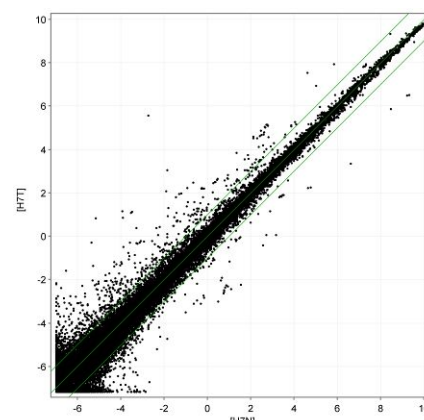


Fig.6

TACE の方法、術後日数で遺伝子の発現・変動に変化が見られた。特に従来型 Lip-TACE 群では、3 日後の遺伝子の発現・変動が比較的小さく、7 日後の遺伝子の発現・変動が比較的大きく、逆に、薬剤溶出性 DC-Bead-TACE 群と薬剤溶出性 HepaSphere-TACE 群の DEB-TACE 群では、3 日後の遺伝子の発現・変動が比較的大きく、7 日後の遺伝子の発現・変動が比較的小さかった。これらは、TACE による非癌部肝実質の機能障害の発現様式や腫瘍に対する局所制御メカニズムと関係している可能性がある。

今後、非癌部肝実質の機能障害低減、腫瘍局所制御率の向上という臨床応用のための重要な知見が得られたと考えられた。

5. 主な発表論文等

現在のところなし。

(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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前田 登 (Maeda Noboru)

地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪
国際がんセンター (研究所)・その他部局
等・放射線診断・IVR 科副部長

研究者番号：00506488