

平成21年5月28日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591410
 研究課題名（和文） サリドマイドの抗血管誘導効果に基づく多血肝細胞癌治療の可能性に関する実験的研究
 研究課題名（英文） The assessment of anti-angiogenesis effect of thalidomide against rodent hepatocellular carcinoma using blood pool agent enhanced MRI.
 研究代表者
 竹原 康雄（TAKEHARA YASUO）
 浜松医科大学・医学部附属病院・准教授
 研究者番号：70188217

研究成果の概要：

化学発癌で誘導した多血肝細胞癌に対し、血液プール造影剤を用いた造影 3D fast gradient echo 法第 1 相上で濃染された腫瘍領域を計測したところ、サリドマイド投与、非投与両群間には濃染域のサイズに有意差を認め、さらに、治療群のサリドマイド血中濃度 50ng/ml 以上の群と偽薬群とを比較したところ、その有意差は大きくなった。本研究で、ラットの実験的肝細胞癌に対し、サリドマイドは従量的に血管誘導阻害作用を有することが、造影 MRI に血液プール造影剤を使用して確認できた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：放射線科学

キーワード：サリドマイド、肝細胞癌、肝硬変症、化学発癌、VEGF、ラット、磁気共鳴画像、血液プール造影剤、

1. 研究開始当初の背景

肝細胞癌で死亡する日本人は年間約3万人に及び、男性では癌による死亡率において、肺癌、胃癌に次いで第3位に位置する。Thalidomideは一時期、妊婦の服用において胎児奇型が報告され、世界的に薬害が問題となった薬物であるが、近年、その抗血管誘導効果が注目され、再び脚光を浴びつつある。その作用機序に関しては、まだ不明な点も多いが、Vaccaらによれば、thalidomideは多発性

骨髄腫やKaposi肉腫の培養細胞において、dose-dependentに血管内皮細胞の遺伝子発現を抑制していると報告している。更に、ヒト肝細胞癌を移植されたnude mouseに、thalidomideを投与すると、VEGFやbFGF、HGFの遺伝子発現が有意に低下することもわかっている。このような結果をうけて、thalidomideは様々な腫瘍の治療薬としての可能性が試されており、現在までに肝細胞癌、腎細胞癌、多発性骨髄腫、前立腺癌への抗腫瘍効果に関

する初期研究結果が報告されている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、腺腫様過形成から進行肝細胞癌のどの段階で血管誘導が開始されるのかを、blood-pool造影剤を併用したMRIを用いることにより確認することと、サリドマイドのようなanti-VEGF薬でこの血管誘導を妨げることができるかを明らかにすることである。

3. 研究の方法

担癌動物モデルとしては、F344/Nラットに100 ppmのdiethylnitrosamine (DEN) を混和した蒸留水を給水して通常環境下で飼育することにより作成した。これにより極めて多血性で、強い細胞異形を有する肝細胞癌から、前癌状態である腺腫様過形成まで、広いスペクトラムの肝細胞病変が得られる。、まず、両群に2ヶ月間DEN溶液を給水して飼育したのち、DENの投与を中止し、造影MRを撮影し、肝内に前癌状態の結節群を確認。ひきつづき、一か月間サリドマイド水溶液を投与群に給水し、偽薬を非投与群の飲水中に溶解して投与を開始した。サリドマイドは水に不溶性とされてきたが、DMSO溶液を溶媒とすることで、高濃度溶液の調整が可能であった。DENによる肝細胞癌誘導開始から3か月目、治療薬(サリドマイド)と偽薬(サリドマイドの溶媒)を投与開始してから1か月に再度in-vivo MR撮影した(サリドマイド投与群は14匹、偽薬投与群15匹)。撮影は全身麻酔下で行われ、3テスラMR装置に表面コイルを併用。撮像シーケンスは3DVIBEで、造影前、造影後3時相にわたって撮影を反復した。Gd-DTPA (0.1mmol/kg)を尾静脈から急速静注し、生理的食塩水でフラッシュした。同様の撮影をGd-DTPAによる造影MRIから6時間後にデンドリマー型の血液プール造影剤 (0.0125mmol/kg)を用いて行った。撮影終了後、麻酔薬過量投与の深麻酔下で、心臓採血を行い、死亡確認後、全肝臓を摘出し、10%ホルマリンによる固定後、包埋を行った後、全肝の切片を作製し、全スライスのH&E染色と、腫瘍部のみの免疫組織化学染色を行い、造影MR画像(MPR再構成により任意断面作製可能)とのスライス毎の比較ができるようにした。

4. 研究成果

質量分析でサリドマイドの血中濃度を定量した。その結果、投与群のサリドマイド血中濃度にはバラつきがあることがわかった(全血中1.4ng/ml~375ng/ml)。造影3DVIBE第1相において、

MRIの各断面上で濃染された領域を計測したところ、2群には有意差を認め

($p < 0.05$)、さらに、治療群のサリドマイド血中濃度50ng/ml以上の群と偽薬群とを比較したところ、さらにその差は大きくなった($p < 0.01$)。光学顕微鏡での腫瘍組織の観察では、サリドマイド治療群では過形成結節に血管の誘導されていないものが目立つ印象であった。サリドマイドはラット多血性肝細胞癌の新生血管誘導を従量的に抑制することが示唆された。

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6件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹原 康雄 (TAKEHARA YASUO)
浜松医科大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：70188217

(2) 研究分担者

阪原 晴海 (SAKAHARA HARUMI)
浜松医科大学・医学部・教授
研究者番号：10187031
村松 克晃 (MURAMATSU KATSUAKI)
浜松医科大学・医学部・助教
研究者番号：40397401
馬場 聡 (BABA SATOSHI)
浜松医科大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：10242760

(3) 連携研究者

研究協力者
藤江 三千男 (FUJIE MICHIO)
浜松医科大学・実験実習機器センター・
技術専門職員
西川 哲 (NISHIKAWA TETSU)
放射線医学総合研究所・基盤技術センター
研究基盤技術部・課長