

機関番号：24402
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2009～2010
 課題番号：21791208
 研究課題名（和文）家兔肺腫瘍モデルに対するラジオ波凝固と GM-CSF 局所注入による免疫賦活療法
 研究課題名（英文）Anti-tumor immunity activated by radiofrequency ablation combined with immuno-stimulant agent for rabbit VX2 tumor model
 研究代表者
 大隈 智尚（OKUMA TOMOHISA）
 大阪市立大学・大学院医学研究科・研究員
 研究者番号：50445029

研究成果の概要（和文）：家兔 VX2 肺腫瘍に対し経皮的ラジオ波凝固と免疫賦活因子の GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) の局所注入併用による生存と遠隔転移耳腫瘍モデルへの効果を検討した。

研究成果の概要（英文）：To evaluate anti-tumor immunity activated by radiofrequency ablation combined with immuno-stimulant agent, we examined end-point survival of combination therapy for rabbit VX2 tumor model.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、画像診断

キーワード：画像診断学（含放射線診断学、核医学）、ラジオ波凝固、実験腫瘍、免疫賦活

1. 研究開始当初の背景

(1) ラジオ波凝固療法（radiofrequency ablation:以下 RFA）は、ラジオ波で発生する高熱により病変を凝固壊死させる治療法である。CT やエコー、透視画像で腫瘍に直接電極針を穿刺し通電し治療を行う。肝、肺、腎、副腎、乳房、骨腫瘍などに応用されている。当施設では低肺機能や高齢など化学療法・手術不能とされた肺腫瘍に CT ガイド下 RFA を多数行っている。

(2) 臨床での肺癌への CT ガイド下経皮的 RFA は侵襲が少なく繰り返し治療が可能で

あるという特徴があるが、3 cm 以下の 1 年局所制御率は約 8 割、2 年は 6 割とした報告が多い。既報告では 3 cm 以上の大きな肺腫瘍や肺門や縦隔に近接する腫瘍では局所制御成績に限界があり、何らかの工夫が必要とされている。基礎実験では凝固範囲を拡大することを目的に肺動脈や気管支閉塞併用や生理食塩水注入併用での RFA の報告等があるが、臨床応用例はほとんどない。また広範に凝固治療すると治療後肺炎や膿瘍形成、胸水などの合併症の危険も伴う。抗癌剤併用や放射線治療の併用などの焼灼範囲を拡大する以外の方法の検討の必要があると考えられる。

(3)GM-CSF は T 細胞より放出される糖蛋白でマクロファージや樹状細胞といった抗原提示細胞が活性化され、腫瘍細胞を攻撃する。肺腫瘍モデルのラジオ波凝固により壊死した癌細胞の抗原が存在し、周囲肺実質には多数の肺胞マクロファージすなわち抗原提示細胞があり、GM-CSF 投与併用療法によりさらに抗腫瘍免疫を賦活することで局所のみならず遠隔転移に対して制御と生存延長が期待できる。局所および遠隔腫瘍を抑制する点で本研究結果を応用し、治療成績が向上に反映できる可能性があり、臨床的に有意義であると考えた。

2. 研究の目的

家兎 VX2 肺腫瘍モデルに対する CT ガイド下の経皮的ラジオ波凝固におけるラジオ波単独治療群と免疫賦活因子の GM-CSF の局所注入併用群との局所制御率および遠隔転移モデル制御率の比較検討を行うこと。

3. 研究の方法

(1) 実験手順

①実験はすべて全身麻酔下に行った。日本白色種兎（メス：12 週令、体重 2.0-2.5Kg を使用）麻酔は Ketamine40mg と xylazine4mg の混合液を筋肉および静脈内持続注入により維持した。

②腫瘍モデルは動物実験用の CT を用い、CT ガイド下で経皮的に VX2 腫瘍の浮遊液を注入、遠隔腫瘍モデルは耳介皮下に腫瘍を注入して作成した。7 日後に CT を撮影し肺への腫瘍生着を確認し実験を行う。

③ラジオ波凝固：ラジオ波発生装置は RF2000、電極針は LeVein Electrode を使用した。電極針を CT ガイド下に穿刺、腫瘍到達を確認し展開針を広げて、毛剃した腹部に電極板を貼付する。通電は 20 ワットで最大抵抗に至るまで通電した。

④GM-CSF 注入：RFA 直後に電極針に沿わせて 24G 針を穿刺、CT で先端を確認後、腫瘍に薬剤の局所注入を行った。

⑤非治療群、RFA 単独群、RFA+GM-CSF 局所注入併用群の 3 群の一部の病理組織学的検討を行うため、肺および耳介腫瘍を摘出し、HE 染色を行った。

(2) 検討項目

① 非治療群、RFA 単独群、RFA+GM-CSF 局所注入併用群の 3 群の生存期間を比較した。

② 3 群の遠隔転移モデルの経時的体積変化を比較した。

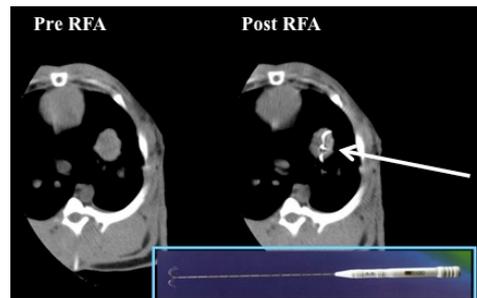
③ 3 群の病理組織を作成し、病理所見の対比を行った。

4. 研究成果

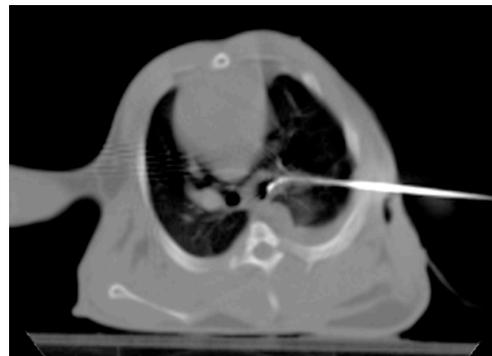
(1) ラジオ波凝固

肺への VX2 腫瘍生着率：72%

ラジオ波治療および局所注入手技は全例で成功した。



左：治療前、右上：RFA 後、右下：電極針



合併症；気胸 14%，血胸 3%におこった。

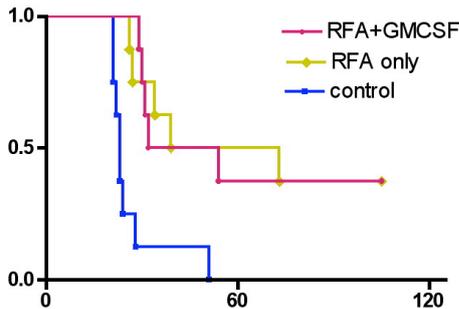
<血胸の例>

↑左下葉穿刺の際に血胸を来した。

(2) 生存

Kaplan-Meier 法での非治療群の生存期間中央値は 3 週であった。RFA 単独および RFA+GM-CSF 局所注入併用群は 5 週で、RFA 治療を加えることで有意に生存期間が延長した (Log-rank test, $p < 0.05$)。RFA 単独および RFA+GM-CSF 局所注入併用群には差がなかった。(次頁グラフ)

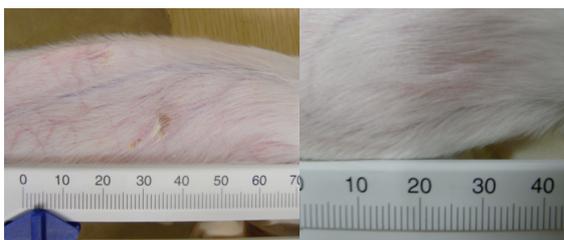
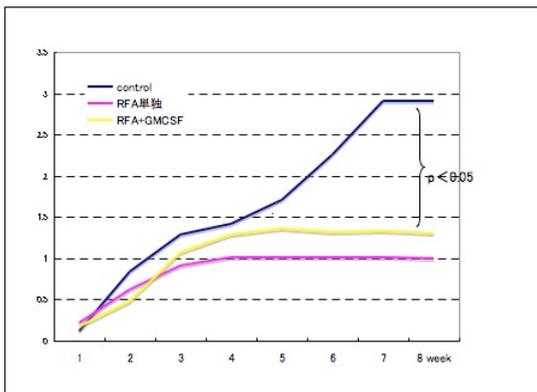
<生存曲線>



(3) 耳転移モデル体積

非治療群の耳転移モデルは経時的に増加した。RFA 単独群および RFA+GM-CSF 局所注入併用群も 4 週までは増加傾向を示したが、それ以降の体積は一定であった。非治療群と RFA 単独、GM-CFS 併用治療群で有意差を認めたが ($p < 0.05$)、RFA 単独と RFA+GM-CSF 局所注入併用群では差が認められなかった。(下グラフ)

<耳転移モデル腫瘍体積変化>

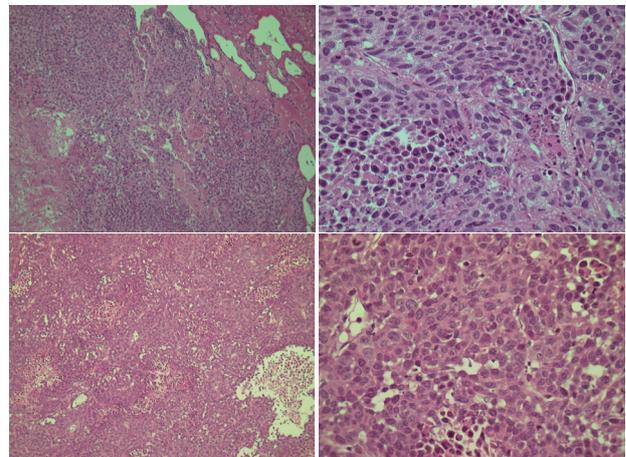
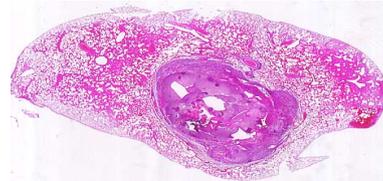


左図：腫瘍植え付けより 1 週後
右図：免疫賦活併用群の 4 週後の耳転移モデル腫瘍径の計測時写真

(4) 病理

病理では、ラジオ波凝固を施行した腫瘍は壊死していた。ラジオ波凝固後に特徴的な細胞質の萎縮と核小体の不明瞭化、ongoing necrosis の所見が認められた。未治療の VX 2 腫瘍は核の大小不動が著明で核小体が明瞭な腫瘍細胞が観察された。

<VX2 腫瘍 RFA 治療後の病理組織像> ルーペ像↓



上段左：VX2 腫瘍の RFA 後 x100
上段右：VX2 腫瘍の RFA 後 x400

下段左：未治療 VX2 腫瘍 x100
下段右：未治療 VX2 腫瘍 x400
(HE 染色)

(5) 展望

RFA 単独と RFA+GM-CSF 局所注入併用群による生存率および遠隔転移腫瘍モデルの制御には差がなかった。今回の実験における家兎 VX 2 腫瘍を使った RFA により起きる腫瘍抗原を樹状細胞が認識、抗原提示を行い、腫瘍特異的な細胞障害性 T リンパ球活性化の抗腫瘍免疫は弱いもので生存率延長や転移のコントロールには限界があると示唆された。VX 2 腫瘍の高悪性度の性質および GM-CSF に対する人間と兎の免疫反応の相違が想定された実験結果に反映しなかった可能性が考えられる。今後、他の免疫賦活物質や抗癌剤と RFA 治療の併用で良好な局所制御や生存率延長、遠隔転移への治療効果が期待できるか、さらなる検討を加え発表していく予定である。

5. 主な発表論文等

(計3件)

山本晃、大隈智尚、松岡利幸 LeVeen Needle を用いた肺 RFA について。日本 IVR 会誌 26 巻 2011 年、52-57 (査読無)

Akira M, Inoue Y, Arai T, Okuma T, Kawata U. Long-term follow-up high-resolution CT findings in non-specific interstitial pneumonia. Thorax. 2011;66:61-65 (査読有)

Okuma T, Matsuoka T, Yamamoto A, et al. Determinants of local progression after computed tomography-guided percutaneous radiofrequency ablation for unresectable lung tumors:9-years experience in a single institution. Cardiovasc Intervent Radiol. 2010;33:787-793. (査読有)

[その他]

教室ホームページ

<http://www.med.osaka-cu.ac.jp/radiology>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大隈 智尚 (OKUMA TOMOHISA)

大阪市立大学・大学院医学研究科・登録医
研究者番号：50445029

(2) 研究協力者

濱本 晋一 (HAMAMOTO SHINICHI)

大阪市立大学・大学院医学研究科・大学院
生

影山 健 (KAGEYAMA KEN)

大阪市立大学・大学院医学研究科・大学院
生

山本 晃 (YAMAMOTO AKIRA)

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号：60419695

松岡 利幸 (MATSUOKA TOSHIYUKI)

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：40295697

(3) 連携研究者

なし