

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10457

研究課題名（和文）悪性腫瘍に対する2種類の同位元素を用いた新しい経カテーテル的放射線塞栓療法の開発

研究課題名（英文）Transcatheter radioembolization by using two kind of radioisotopes for malignant tumor

研究代表者

谷川 昇（TANIGAWA, Noboru）

関西医科大学・医学部・教授

研究者番号：90227215

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：実験腫瘍に対して直接穿刺による<sup>90</sup>Y リピオドール投与では抗腫瘍効果はなかったが、これは <sup>90</sup>Y の平均飛程が短く、リピオドールの局在から離れた部位では治療線量まで達することができなかったと考えられる。用いた腫瘍細胞は3Gyで増殖抑制が達成できる細胞であり、<sup>90</sup>Y リピオドールを投与したにもかかわらず腫瘍は増大していることから、<sup>90</sup>Yの飛程や生物効果は組織内環境下で異なることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

<sup>90</sup>Y リピオドールは投与領域に比較的限局する<sup>90</sup>Yの停留を認め、動脈投与でのリピオドールよりも有意に高い抗腫瘍効果を示した。<sup>90</sup>Y リピオドールの高い結合能と末梢塞栓は、現在の抗がん剤を含むエマルジョンでの塞栓術やビーズでの放射性塞栓術よりも抗腫瘍効果の相乗効果を得る可能性がある。

研究成果の概要（英文）：There was no anti-tumor effect in <sup>90</sup>Y lipiodol administration by direct puncture for experimental tumors, because of short average flight of <sup>90</sup>Y, it is believed that it was not possible to reach the therapeutic dose at a site away from the localization of lipiodol. Tumor cells used is a cell that growth inhibition can be achieved in 3 Gy, since the tumor is increased even though administered <sup>90</sup>Y lipiodol, the flight and biological effect of <sup>90</sup>Y was suggested to be different in tissue environment. <sup>90</sup>Y lipiodol was observed a stop of <sup>90</sup>Y relatively limited to the administration region, showed significantly higher antitumor effect than lipiodol in arterial administration.

研究分野：インターベンショナルラジオロジー

キーワード：放射線塞栓術

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

- (1) ビーズを用いた放射性塞栓術は欧米で化学療法抵抗性および手術不能な肝腫瘍において FDA および CE マーク認証のもと、臨床利用されているが、近年の4つの大きな無作為比較対照試験で、肝細胞癌と転移性肝腫瘍において、従来の治療(化学療法、分子標的療法)より無増悪生存期間や全生存期間の有意な改善を示すことはできていない。
- (2) 一方、油性造影剤のリピオドールは腫瘍血管に特異的に長期間停留する性質を有する性質をもち、安全で非常に扱いやすい塞栓物質であるため国内で長く利用されてきている。

## 2. 研究の目的

Y-90 標識リピオドールの抗腫瘍効果を癌由来の動物モデルで検証すること。

## 3. 研究の方法

放射塞栓術における適切な動物モデルの作成法を確立したのち、*in vivo* 実験を行うため、下記4段階にかけて実験を行った。

### (1) ラット肝腫瘍 AH109TC 細胞の放射線感受性試験

Y-90 lipiodol の動脈投与を行う必要があるため、ラット以上の動物実験が必要であるが、抗腫瘍効果を検討するためには、Allograft model でも問題ないと考え、ラット腹水肝細胞癌由来の AH109TC が候補に上がり、この細胞の増殖能・放射線感受性を評価した。

材料：AH109TC 細胞株、Medium( RPMI-1640 + 10% PBS )、0.5% トリパンプルー液  
方法：培養 AH109TC 細胞にガンマセル(Gammacell 40 Exactor; Nordion International)を用いた外照射(0, 3, 6, 9, 12 Gy)を行い、照射前と照射後1, 4, 7, 11, 14日後の細胞数を計測し、増殖率(RR)と増殖係数(RC)を計測し、放射線感受性を評価した。

$$RR = \frac{N}{N_0}, RC = \frac{\log_2(N) - \log_2(N_0)}{t - t_0}$$

$N_0$  = 照射前の細胞数、 $N$  = 照射後の細胞数

### (2) AH109TC を用いた皮下腫瘍モデルラット及び大腿筋腫瘍モデルの作成

AH109TC 細胞株を用いた腫瘍モデルは Donryu rat での報告が多い。抗腫瘍効果を評価するため腫瘍の観察可能な皮膚腫瘍モデル及び、筋肉腫瘍モデルを作成する必要がある。

材料：AH109TC 細胞株、Donryu rat (n=6)、F344/NJcl-rnu/nu rat (n=2)  
マトリゲル、抗アジアロ GM 1

方法：

Donryu rat 9週齢を自由給餌下で飼育し、10-12週齢ラットに対して、移植前日にアジアロ腹腔内投与(10倍希釈 300  $\mu$ l/匹)後、移植当日 AH109TC cell  $5 \times 10^7$  cell/matrigel 300  $\mu$ l を両側肩の皮下(n=2)及び大腿筋(n=3)へ移植した。

F344/NJcl-rnu/nu rat を用いて同様に AH109 TC 腫瘍を両側肩に皮下移植した(n=2)。

上記2群の腫瘍生着の観察及び、腫瘍体積を測定治療開始の適切な時期を検討した。また生着腫瘍の病理標本を作成し、病的に検討も行った。

### (3) RI 標識リピオドール治療の腫瘍縮小効果の評価

材料：F344/NJcl rnu/nu 両側肩皮下および大腿筋担癌ラット、リピオドール(Laboratoire Guerbet, Roissy, France)、Y-90 標識リピオドール(富士フィルム富山化学株式会社)

方法：腫瘍モデルを用いて以下の処置を行い、群わけをした。

Group A(n=3):両側皮下腫瘍モデルをの片側腫瘍に  $^{90}\text{Y}$  lipiodol を直接穿刺し投与。

Group B(n=3):両側大腿筋モデルで片側の腫瘍に  $^{90}\text{Y}$  lipiodol を大腿動脈より投与。その後両側大腿動脈を結紮した。

Group C(n=3):両側大腿筋モデルで片側の腫瘍に lipiodol を大腿動脈より投与。その後両側大腿動脈を結紮した。

いずれも対側の薬剤非投与の腫瘍をコントロールとした。

投与後4日目に単純写真、7日目に単純写真+CTで撮影した。腫瘍体積を計測し、非投与腫瘍(コントロール)と比較した増殖抑制率(SR: Suppression rate)を算出した。

### (4) RI 標識リピオドール投与による体内動態の観察

材料：Tissue solubilizer: Solune-350<sup>®</sup>、Cocktail: UltimaGold<sup>®</sup>

方法：

(3)の Group B の7日目に安楽死ののち、腫瘍および肺と肝臓、腎臓の組織を摘出し、溶解したのち、液体シンチレーションにて組織放射能を測定し%ID/gを算出した。

#### 4. 研究成果

(1) AH109TC 細胞は非照射群 (0Gy) で非常に強い細胞増殖能を有したが、3Gy 以上の放射線照射でコントロールに比べ、照射群では照射後 4 日目以降に照射線量依存性に有意な RR, RC の低下を認め、AH109TC 細胞が放射線感受性の高い細胞であることが示された (図 1、表 1)。

図 1. 各細胞群の照射後の増殖曲線

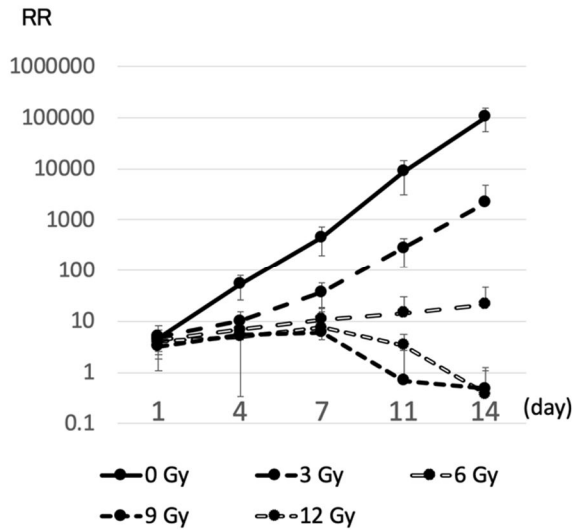


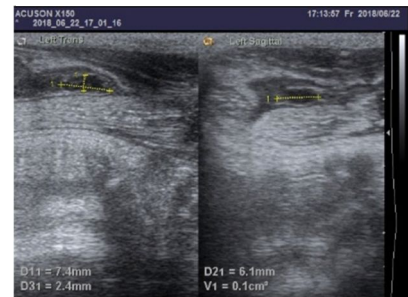
表 2) 各細胞群の増殖係数

RC (SD)	1 day	4 day	7 day	11 day	14 day
Control (0 Gy)	2.08 (0.80)	1.36 (0.28)	1.21 (0.21)	1.16 (0.11)	1.18 (0.06)
3 Gy	2.07 (0.97)	0.78* (0.21)	0.72* (0.13)	0.72* (0.09)	0.73* (0.14)
6 Gy	1.96 (0.68)	0.68* (0.11)	0.45* (0.18)	0.30* (0.13)	0.28* (0.17)
9 Gy	1.53 (0.72)	0.48* (0.38)	0.26* (0.24)	-0.03* (0.07)	-0.09* (0.12)
12 Gy	1.84 (0.75)	0.60* (0.28)	0.41* (0.20)	0.23* (0.12)	0.04* (0.10)

\*P < 0.05 Values are expressed as mean Average(SD), n=4

(2) Donryu rat での腫瘍移植は皮下モデルで 1 週間程度まで移植部位の腫瘍形成が見られたが、2 週間観察すると移植部位の腫瘍は縮小するもの多く見られた。大腿筋モデルの移植部位の観察は US を用いたが (図 2)、同様に 1 週間程度まで腫瘍陰影は見られたがその後経時的に縮小し、両モデルとも生着が不安定であった。一方、F344/NJcl-rnu/nu rat での皮膚モデルでは腫瘍は安定した生着が見られ、Donryu rat よりも早い増殖が見られた (図 3)。増殖した腫瘍の病理標本では低分化で核異形の強い密な腫瘍細胞を認め、血管構造も多く、多血性腫瘍の生着が観察できた (図 4)。

図 2. 大腿筋モデルの US 観察下での大腿腫瘍陰影



治療開始時期としては移植後 7 日目が適切と考えた。

図 3. 移植腫瘍体積の推移

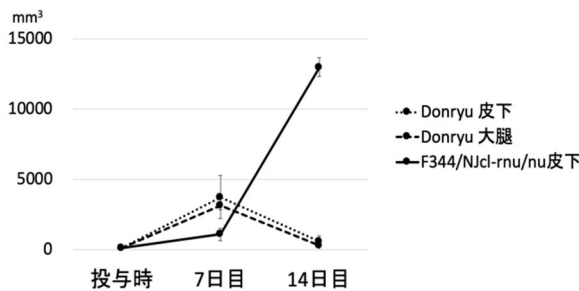
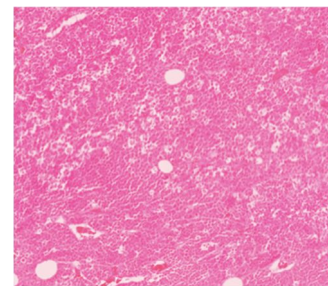


図 4. F344/NJcl rnu/nu の生着腫瘍



(3) 処置後経過の単純写真及び CT 画像及びを示す (図 5,6) 全 group で腫瘍への lipiodol 集積が見られるが、腫瘍増殖に群間差が見られた。

SR は Group A で  $-12 \pm 90\%$ 、Group B で  $94 \pm 4\%$ 、Group C で  $35 \pm 38\%$ であった。

A group では抗腫瘍効果が見られず、B、次いで C group に抗腫瘍効果が見られた (図 7)。

図5. 各群の Xp 画像。(上段) 薬剤投与後 4 日目、(下段) 薬剤投与後 7 日目。  
全群の腫瘍には lipiodol とと思われる高吸収の停留が見られる。

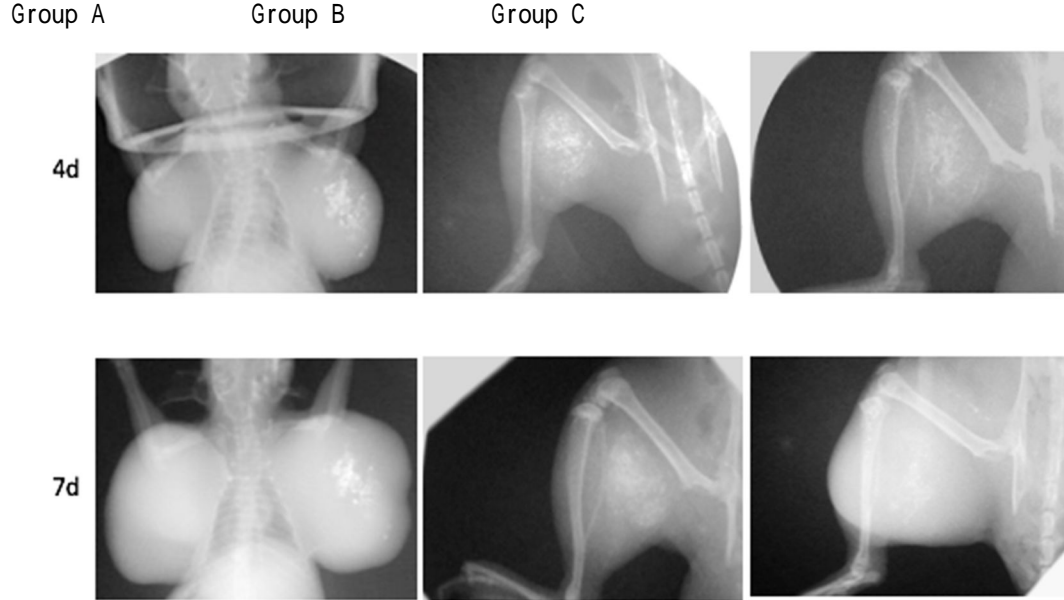


図6. 各群の投与後 7 日目の CT 画像。(各 Group の上段左 MIP 像、上段右冠状断面、下段水平断面) lipiodol は皮下注での投与群に比べて動脈投与でより少ないが均一な分布が見られる。

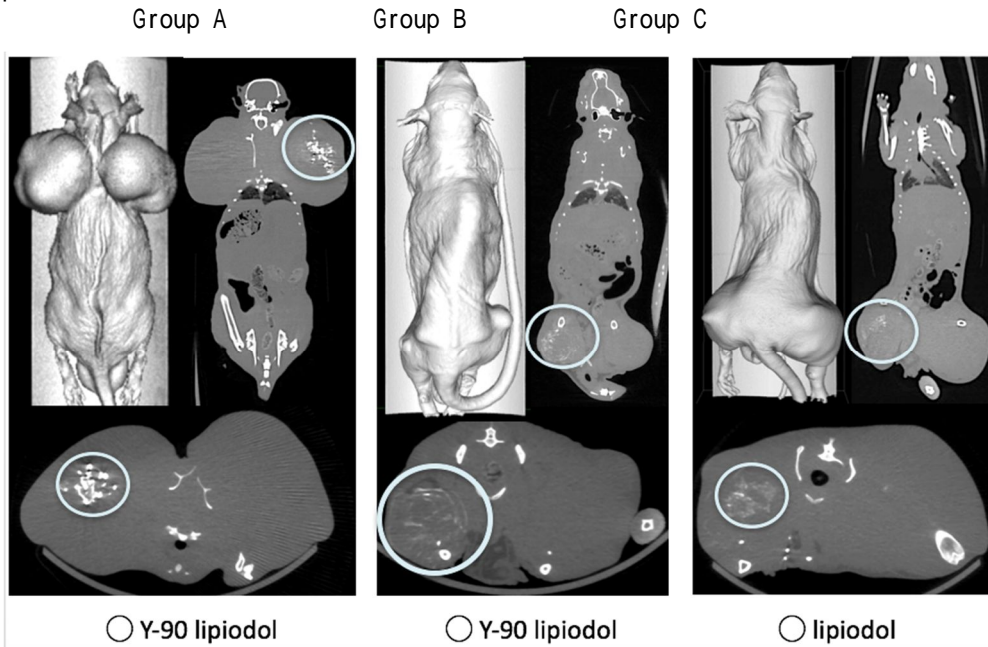
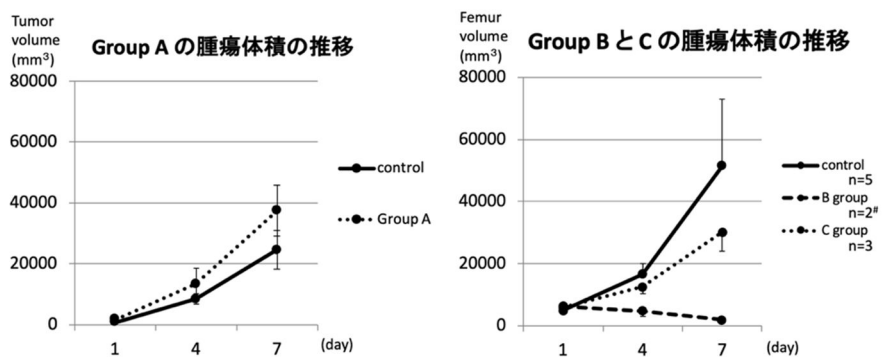


図7. 腫瘍増殖推移

大腿筋モデルは腫瘍と正常大腿筋との区別ができない為大腿全体の容積で評価した。( #Group B は投与中の過麻酔で 1 個体死亡)



(4) Group B の  $^{90}\text{Y}$  lipiodol を大腿動脈より投与後 7 日目の腫瘍の %ID と組織別の %ID/g を示す。

腫瘍へは  $5.4 \pm 0.5$  %ID/g (腫瘍あたり約 10 %) の lipiodol の停留が見られた。一方肺で  $0.8 \pm 0.2$  %ID/g、肝臓  $0.4 \pm 0.02$  %ID/g、腎臓  $0.6 \pm 0.03$  %ID/g

(5) 研究より明らかになったこと

直接穿刺による  $^{90}\text{Y}$  lipiodol 投与では全く抗腫瘍効果がみられなかった。これは  $^{90}\text{Y}$  の平均飛程が短く、lipiodol の局在から離れた部位では治療線量まで達することができなかったと考えられる。用いた腫瘍細胞は *in vitro* の実験結果より 3Gy で増殖抑制が達成できる細胞であることがわかったが、*in vivo* 実験では  $^{90}\text{Y}$  lipiodol を投与したにもかかわらず腫瘍は増大していることから、 $^{90}\text{Y}$  の飛程や生物効果は組織内環境下で異なることが示唆された。

$^{90}\text{Y}$  lipiodol は投与領域に比較的限局する  $^{90}\text{Y}$  の停留を認め、動脈投与で lipiodol よりも有意に高い抗腫瘍効果を示した。

$^{90}\text{Y}$  lipiodol の高い結合能と末梢塞栓は、現在の抗がん剤を含むエマルジョンでの塞栓術やビーズでの放射性塞栓術よりも抗腫瘍効果の相乗効果を得る可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔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〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	河野 由美子  (KONO Yumiko)  (10598957)	関西医科大学・医学部・講師    (34417)	
研究分担者	宇都宮 啓太  (UTSUNOMIYA Keita)  (20193914)	関西医科大学・医学部・准教授    (34417)	
研究分担者	狩谷 秀治  (KARIYA Shuji)  (40368220)	関西医科大学・医学部・准教授    (34417)	