

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07763

研究課題名(和文) ラジオ波凝固療法の分子標的薬の併用は有効か？家兎肺腫瘍モデルでの実験的検討

研究課題名(英文) Is Combination of Radiofrequency Coagulation Therapy with Molecularly Targeted Drugs Effective? An Experimental Study in a House Rabbit Lung 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・登録医

研究者番号：50445029

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ラジオ波凝固療法(RFA)により壊死崩壊した腫瘍細胞内から抗腫瘍免疫を誘導する抗原が放出されることに注目し、腫瘍浸潤T細胞側のT細胞状態に結合し、さらに分子標的薬である免疫チェックポイント阻害剤により病巣全体のTリンパ球によりさらなる活性化に繋げ、肺癌の標準治療となっている各種抗癌剤に血管新生阻害剤の投与を併用することにより肺癌の局所制御と予後延長の基礎的データ蓄積することを目的とした。分子標的薬治療群、RFAと分子標的薬併用群で各群10羽の作成を目標し評価を行なったが各群の生存率には統計学的有意差なく、分子標的薬の追加投与の効果はなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性腫瘍に対するラジオ波凝固療法(radiofrequency ablation:以下RFA)の問題点としては電極針の焼灼範囲に制限があり、サイズの大きな腫瘍に対しては他治療との併用の開発が必須である。本研究では肺腫瘍モデルを使用した実験で、RFAにより壊死で崩壊した腫瘍細胞内から抗腫瘍免疫を誘導する様々な抗原が放出されることに注目し、肺癌で標準治療となっている各種抗癌剤の投与を併用することにより局所制御および予後延長の基礎的なデータを蓄積した。

研究成果の概要(英文)：In experiments using VX2 lung tumors, we noted that radiofrequency coagulation (RFA) induces the release of antigens that induce anti-tumor immunity in tumor cells that have collapsed and become necrotic, and we hypothesized that these antigens would bind to the T cell state of tumor-infiltrating T cells and be further activated by T lymphocytes from the entire tumor lesion using immune checkpoint inhibitors, which are molecularly targeted drugs. The aim of this study was to accumulate basic data on local control and prolongation of prognosis of lung cancer by combining the administration of angiogenesis inhibitors with various anticancer drugs, which have become the standard treatment for lung cancer. The survival rate in each group was not statistically significantly different, and there was no effect of additional administration of the molecular target drug.

研究分野：放射線医学

キーワード：ラジオ波凝固 肺腫瘍モデル 血管新生阻害剤

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 2 日現在

1. 研究開始当初の背景

ラジオ波焼灼療法 (RFA) は、悪性腫瘍を熱凝固壊死させる低侵襲な治療法で、様々な臓器で実施されている。肝細胞癌の治療では外科切除、経カテーテル的動脈塞栓術と並んだ3つの治療法の1つとして保険診療下で広く行われている。近年では肝以外に、肺、腎、骨軟部、乳腺腫瘍などにも応用されている。当教室では特に切除不能肺腫瘍に対する RFA の臨床治療成績や合併症、また基礎実験の成果を多数報告してきた。RFA は現在では肺癌に対する治療法としても確立されつつある。しかし、肺は実質抵抗値が高いという特性から、肝臓に対する RFA と比較して治療成績が劣り、RFA 後の局所再発がしばしば臨床問題となる。

RFA 後の予後を改善するために、様々な併用療法が報告されている。外科手術や放射線療法では化学療法との併用は様々な臓器で一般的に行われている。局所進行肺癌で標準的となっているシスプラチン + 第三世代抗癌剤併用療法も一般に臨床で行われているが、検索し得る限り、抗癌剤と RFA の併用に関する報告例は少なく、基礎実験により安全性や生存率を含め、さらなるデータの蓄積が必要と思われる。(平成 25-27 年文部科学省科学研究費補助金「肺腫瘍に対するラジオ波凝固療法と化学療法併用の基礎的研究、研究代表者」では実験肺腫瘍に RFA にパクリタキセル併用することで有意に生存率が延長することを示した。)

悪性腫瘍に対する化学療法は、免疫チェックポイント阻害薬 (ICI) の登場により、大きく変容しつつあり、腫瘍免疫療法はさらなる体系的な進歩が期待される。当教室のグループでも以前から、体内で壊死した腫瘍細胞内から抗腫瘍免疫を誘導する抗原が放出されることに注目し、RFA に免疫活性化因子 (OK-432 や GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor)) を併用注入する研究を実験腫瘍モデルで用いて行い、局所制御のみならず、遠隔転移の縮小および生存率が延長したことを報告した。(平成 21-22 年文部科学省科学研究費補助金「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、研究代表者」と平成 23-24 年文部科学省科学研究費補助金「ラジオ波凝固 + 免疫賦活因子局所注入併用により局所制御と遠隔制御も可能か?、研究代表者」)。この治療標的病変以外の腫瘍病変の縮小効果はアブスコパル効果として説明され、局所療法後の腫瘍免疫増強療法は、現在最も注目されている分野の一つである。

ICI は放射線治療との併用でアブスコパル効果を高めることも報告されている。しかし、RFA と免疫チェックポイント阻害剤の併用による治療効果に関する報告はほとんどなく、この併用量の局所制御および予後延長に関する基礎的なデータ蓄積が必要と考えられた。

2. 研究の目的

早期肺癌や多発転移に対する RFA の成績は手術成績より高いあるいは同等とするものがあり、既に多数の臨床の有効性が報告されているが、未だに腫瘍モデルを使った基礎実験の報告は多くなく、肺の RFA に抗癌剤を併用した研究報告は少ない。肺癌における1次治療としてプラチナ製剤に血管内皮細胞増殖因子阻害薬の上乗せ効果や進行再発肺癌の免疫チェックポイント阻害薬である抗 PD-L1 抗体薬の有用性は臨床で確認されているが、

RFA との併用との検討例は皆無である。当研究の目的はラジオ波凝固に各種抗癌剤や分子標的薬や免疫阻害薬併用によるさらなる基礎実験によるデータの蓄積である。RFA に各種抗癌剤、分子標的薬や免疫阻害薬併用による腫瘍制御、安全性および生存期間の有意な延長が示されれば、肺癌治療における RFA の考え方が大きく変わる可能性が期待され、さらには臨床応用に向けての波及効果が期待できる。また RFA と化学放射線治療の併用の可能性や、RFA 以外の経皮治療であるマイクロ波凝固療法 (MWA) や凍結融解壊死治療 (cyroablation) に化学療法や放射線治療を加えたいいわゆる combination therapy の可能性が大きく広がると考えた。

3. 研究の方法

(1) ウサギ VX2 単発肺腫瘍モデルを作成し、無作為に ICI 単独投与群、RFA 単独群、RFA+ICI 投与、未治療群の 4 群に分け全生存の比較と治療群における安全性と局所制御評価を行い、RFA の抗癌剤併用の有効性を検討する。

(2) 実験は日本白色種ウサギ(体重 2Kg 前後)を使用し、全身麻酔下により行う。

- ・CT 装置は当大学動物実験施設の動物実験専用の CT 装置を用いる。
- ・継代培養した VX2 腫瘍碎片の浮遊液を CT ガイド下に穿刺した針より注入し、1 週間後に CT を撮影、肺単発腫瘍ができたことを確認し、以下の実験を行う(生着率は 8 割程度を予想)。
- ・電極針は 2 cm 展開径の LeVeen Electrode。RF 発生装置は(RF 2000, Boston Scientific)を用いる。CT ガイド下で経皮的に電極針を腫瘍内に進めて、CT で展開針内に腫瘍が存在することを確認し通電する。通電は 30 ワットで最大抵抗(roll off)に至れば通電を終了する。roll off に至らないものは、最長 3 分間通電して終了する。
- ・ICI 投与は耳介静脈に留置したルートより、静脈内投与する。
- ・併用療法群は RFA 直後に ICI を投与する。

(3) 効果判定は、ICI 単独投与群、抗癌剤 + RFA 併用群と以前に検討した RFA 単独治療群と非治療群の全生存期間を比較、観察期間は最大 100 日とする。

(参考：以前の実験では RFA 単独群、非治療群の生存平均期間は 5 週と 3 週)。

4. 研究成果

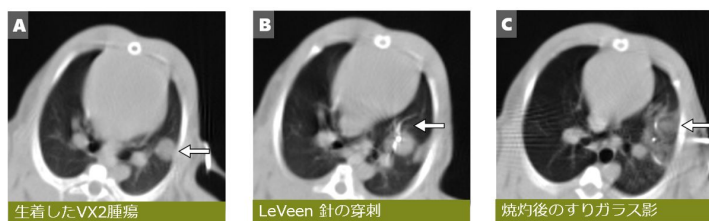
[腫瘍モデルの作成]

結果的に 50 個体のウサギに VX2 移植術を行った時点で、32 個体のウサギに定着が確認できた。(図 1a)この 32 の腫瘍モデルを、無作為に ICI 単独投与群、RFA 単独群、RFA+ICI 投与、未治療群の 4 群に振り分けた。

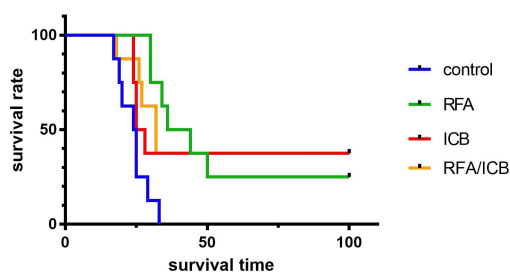
残りの 18 羽は腫瘍が定着していないか、胸部播種があったため、研究から除外した。

[RFA 治療]

RFA は、RFA 群および RFA + ICI 併用群の 16 羽すべてで成功した。RFA 治療後の CT 画像では、腫瘍の周囲にすりガラス影を確認した(図 1b-c)。



[生存期間]



生存率曲線を図 2 に示す。生存期間中央値は、Control 群 24.5 日（範囲 17-33）、ICB 単独群 53 日（範囲 24-100）、RFA 単独群 53 日（範囲 34-100）、RFA + ICB 併用療法群 56（範囲 18-100）であった。RFA 単独療法群、RFA + ICI 併用群の生存期間は、コントロール群に比べ、有意に長かった。（それぞれ $p < 0.01$, $p = 0.02$ ）しかし、RFA 単独療法群と RFA + ICI 併用群間の生存曲線に有意な差は見られなかった。（ $p = 0.72$ ）

最近の複数の研究により、局所療法は免疫活性化の可能性を示している。肝細胞癌の治療においては TACE と免疫チェックポイント阻害剤を組み合わせた臨床試験が進行中である。この塞栓療法に関して言えば、塞栓後の標的腫瘍および非標的腫瘍の免疫細胞集団の浸潤と活性化についてのある動物実験の報告では、TAE 後に非標的腫瘍での Treg 細胞の不活化と、PD-L1 の増加が同時に起こる事が示されている。この一見相反する事象に対して、より効果的に腫瘍性免疫を向上させるために、PD-L1 阻害薬は有用と考えられる。本研究では RFA 後の ICI の併用による、相乗効果を期待したが、RFA 単独群と比較し、併用療法群での生存期間の延長は示されなかった。上記の報告では塞栓後の免疫細胞の浸潤は経時的に変化することも示されており、治療後の ICI の投与時期を最適化することによって、より効果的な治療効果が見込める可能性はあり、さらなる研究が期待される。

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
研究協力者	村井 一超 (MURAI KAZUKI)	大阪市立大学・大学院医学研究科・後期臨床研究医	
研究協力者	濱本 晋一 (HAMAMOTO SHINICHI)	大阪市立総合医療センター・放射線診断科	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関