

令和 4 年 5 月 24 日現在

機関番号：10101
研究種目：若手研究
研究期間：2020～2021
課題番号：20K18431
研究課題名(和文) Breakthrough in Oncoplastic Skin Surgery

研究課題名(英文) Breakthrough in Oncoplastic Skin Surgery

研究代表者

石川 耕資 (Ishikawa, Kosuke)

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：60791374

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：Negative pressure wound therapy (NPWT)は、創傷を閉鎖環境とし、創収縮の促進、過剰な浸出液の除去と浮腫の軽減、細胞・組織に対する物理的刺激、創床血流の増加、老廃物の軽減効果により創傷治癒を促進する。一方で、悪性腫瘍残存創に対するNPWTの適用は禁忌とされている。本研究では、NPWTの悪性腫瘍に対する影響を検証すべく、マウス悪性黒色腫モデルにおいて、NPWTによる陰圧を負荷した介入群と陰圧負荷を行わないコントロール群で、腫瘍サイズの変化を比較した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、悪性腫瘍の残存する創傷に対するNPWTの適用は禁忌とされてきた。しかしながら、NPWTが悪性腫瘍の増殖や上皮間葉転換をもたらすという基礎的なエビデンスは示されていない。NPWTが悪性腫瘍の増悪をきたさないのであれば、術後早期からNPWTを適用することが可能となり、植皮術の適応拡大・整容性向上につながる。NPWTの悪性腫瘍に対する影響を検証した本研究は、今後のNPWTの適応拡大やより適切な使用法の確立に寄与する意義ある研究であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Negative pressure wound therapy (NPWT) promotes wound healing by creating a closed wound environment, facilitating wound contraction, removing excessive exudate, reducing edema, physically stimulating cells and tissues, increasing wound bed blood flow, and reducing waste products at a wound site. However, the use of NPWT on residual malignant wounds is contraindicated due to risks of tumorigenesis and cancer spread. This study was designed to clarify the effects of NPWT on malignancy in rodents.

研究分野：形成外科

キーワード：局所陰圧閉鎖療法 悪性腫瘍 悪性黒色腫 メカノバイオロジー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍残存創に対する Negative pressure wound therapy (NPWT)は禁忌とされており、NPWTを開始するためには切除後に病理組織学的評価で断端が陰性であることを確認する必要がある。

一方で、NPWTが悪性腫瘍を増悪させる恐れがあるとされているが、それを裏付けるエビデンスは存在しない。皮膚悪性腫瘍に対する手術では、一定のマージンを含めた切除を要するため、組織の欠損は広範囲に及ぶ。NPWTが悪性腫瘍に悪影響を及ぼさない場合、術後早期からNPWT開始が可能となるため、入院期間の短縮のみならず植皮の適応範囲の拡大により大きな皮弁が不要となる。これは侵襲の高い手術の困難な高齢者に対して、低侵襲な再建を可能とする。また、良好な wound bed preparation を得ることで、植皮の整容性の向上を図ることができる¹⁾。

さらに、悪性腫瘍残存創に対するNPWTの適用が、末期患者の Quality of Life(QOL)向上に有益であったとする報告²⁾も散見される。NPWTの悪性腫瘍に対する影響を検討することは、臨床上也待望される研究であると考えた。

2. 研究の目的

臨床において悪性腫瘍切除後早期からより適切な圧によるNPWTを開始することができれば、植皮の整容性の向上、ならびに、植皮の適応拡大による低侵襲な再建手術の実現が可能となる。

NPWTが悪性腫瘍を増殖・悪化させるのか、さらに、NPWTによる悪性腫瘍への影響は、圧や時間などの条件設定により異なる可能性も考えられるため、陰圧条件の違いによるNPWTの悪性腫瘍への影響を検討することを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

(1) NPWTの悪性腫瘍に対する効果の検討

In vivoにおいて、NPWTが悪性腫瘍に及ぼす影響を検討した。

当初、C57BL/6Nマウスの背部に潰瘍を作成し、同部にメラノーマ細胞(B16F10Luc2株)を投与する計画であったが、投与部に生着する腫瘍細胞数の定量が困難であることから、潰瘍を作成しないモデルへの変更を行った。NPWTはすべて連続モードを用いた。

マウスNPWTモデルの作成

C57BL/6Nマウスの背部皮下にメラノーマ細胞(B16F10Luc2株)を注入した。同日を0日目とした。メラノーマ細胞注入後NPWTを装着した群と、フォームの貼付のみで陰圧負荷を行わないコントロール群を作成した。

組織採取および保存

メラノーマ細胞注入後、経時的に各群の個体における腫瘍サイズの変化を計測した。

NPWT期間終了後、マウスを安楽死させ、腫瘍および腋窩リンパ節、肺を採取した。腫瘍は、重量を測定して分割し、下記に示す評価を行うまで、4%パラホルムアルデヒド保存、液体窒素保存とした。腋窩リンパ節および肺は液体窒素保存とした。

(2) 評価法

腫瘍サイズの計測および腫瘍体積の算出

メラノーマ細胞の注入後、NPWT介入群およびコントロール群の各個体における腫瘍の長径、短径、高さをノギスを用いて体表から測定し、経時的に記録した。

また、腫瘍体積を、下記の近似式から算出した。

腫瘍体積(mm³)=1/2×長径(mm)×短径(mm)×高さ(mm)

腫瘍重量の測定

マウスを安楽死させ、電子天秤を用いて摘出した腫瘍の重量を測定した。

in vivo bioluminescence imagingによる腫瘍の生物発光量の測定

本研究に使用したメラノーマ細胞株(B16F10Luc2株)は、ホタルの発光遺伝子であるルシフェラーゼを安定的に発現する。発光酵素であるルシフェラーゼは、その基質であるルシフェリンを酸化ルシフェリンに変換することによって、腫瘍細胞からの生物発光を生じさせる。

150mg/kg/bodyのD-luciferinを各群に腹腔内投与し、生物発光を観察した。SlideBook softwareを用いて、腫瘍浸潤範囲の評価および発光量の測定による定量評価を行った。

免疫組織学的染色

NPWTによる腫瘍環境や腫瘍増殖への影響を検討するため、CD31による血管新生の評価およびKi67による細胞増殖能の評価を行った。

ルシフェラーゼアッセイ

マウスを安楽死させて摘出した肺を液体窒素保存し、NPWTによる陰圧負荷が肺転移に影響を及ぼすかを検討するため、ルシフェラーゼアッセイを行った。

4 . 研究成果

上記結果に関しては、後日報告する。

<引用文献>

1)Maeda T, Murao N, Hayashi T, Funayama E, Osawa M, Ishikawa K, Yamamoto Y.: Application of negative-pressure wound therapy after radical excision of soft tissue malignancy: to obtain a better esthetic result with a less invasive reconstructive technique. *Int J Surg Wound care*. 2020;1:47-52.

2)Cai SS, Gowda AU, Alexander RH, Silverman RP, Goldberg NH, Rasko YM.: Use of negative pressure wound therapy on malignant wounds - a case report and review of literature. *Int Wound J*. 2017;14(4):661-665.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石井 浩子、石川 耕資
2. 発表標題 Negative Pressure Wound Therapy (NPWT)の悪性腫瘍に対する効果の検討
3. 学会等名 第42回北大形成外科アカデミー
4. 発表年 2021年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------