

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612  
 研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23791576  
 研究課題名（和文） 凍結療法における新規凍結端子の開発

研究課題名（英文） Development of cryoprobes

## 研究代表者

奥井 将之 (OKUI MASAYUKI)  
 慶應義塾大学・医学部・助教  
 研究者番号：30594494

研究成果の概要（和文）：肺に対する凍結端子および外筒についてカーボン、銅、アルミニウムといった材質を検討したが、いずれも熱伝導面での優位性はあるも、強度の点で問題があった。耐久性やコストの検討から現状ではステンレス鉄製が最良と考えられた。肺は実質臓器ではあるが、気相と液相が臓器内に存在し、気相と液相では熱伝導が著しく異なる。一度凍結された肺組織は肺水腫をきたし、気相は消失する。これにより初回と 2 回目以降凍結時の熱伝導は劇的に変化する。このため肺の熱伝導特性の検討が重要と考えられた。

研究成果の概要（英文）：An outer sheath is required for the insertion of the cryoprobe. Materials such as carbon, copper, and aluminium were considered for the probe and sheath, and while these materials were superior in terms of their heat conducting properties, they were not applicable in terms of rigidity. Hence, in terms of durability and cost, the current stainless steel was considered to be most appropriate. The lung contains both fluid and air, and heat conductivity differs significantly between these phases. The frozen lung forms lung edema, and the air spaces are obliterated, consequently and rapidly altering the heat conductivity. The analysis of this phenomenon, that is the heat conductivity of the lung, was considered to be important.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・呼吸器外科学

キーワード：凍結端子、熱伝導

## 1. 研究開始当初の背景

原発性肺癌および転移性肺腫瘍に対して低侵襲手術である胸腔鏡下肺切除術が普及してきているが、そもそも手術適応例は限られているため、手術適応のない症例でも施行できるような低侵襲治療が求められている。慶應義塾大学病院では 2001 年から経皮的肺凍結治療の動物実験、臨床応用に取り組んできた。凍結治療は治療時の疼痛が少なく局所麻酔のみで施行可能で RFA 同様の局所制御効果を背景に癌性疼痛の抑制効果も期待でき

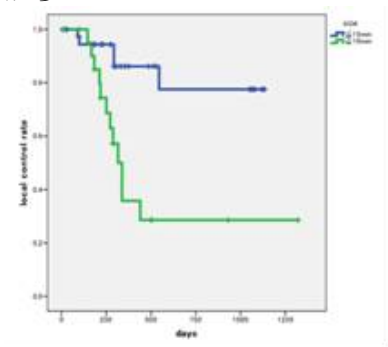
る(1,6-8)。また、RFA 治療後に見られるような蛋白変性がなく、気道や大血管への障害が少なく、治療後の合併症も軽微である。治療時の疼痛が少ないことから、繰り返し治療での患者の精神的苦痛が低減されるなど、患者にも優しい凍結治療はこれからの時代に適合した治療であると考えられている。肺腫瘍に対する凍結療法では凍結用端子の中に極めて高い圧力のアルゴンガスを噴射することで Joule-Thompson 効果により、 $-140 \sim -150^{\circ}\text{C}$ の超低温を作り出し、その端

子の先端から長軸方向に 4cm、直径 2~4 cm程度の楕円形の凍結範囲 (ice ball)



を短時間に作り出すことが可能である。この端子を目的とする腫瘍に正確に穿刺できれば化学療法や放射線療法と異なって耐性という問題に悩まされることなく非特異的に腫瘍を壊死させることができる。

肺の腫瘍に対する凍結治療の使い方には、① GGO タイプの早期肺癌のように腫瘍自体が局所に限定的に存在するものに対して根治的治療法として用いる方法、②比較的小型の転移性肺腫瘍などに対してその腫瘍に限定した局所の根治的治療法として用いる方法、③局所進行肺癌などに対して放射線療法や化学療法などとの組み合わせで、凍結療法を mass reduction の手段として用いる方法、④ apoptosis に陥った腫瘍細胞が肺内に大量に残ることから免疫治療の一環として凍結療法を組み入れる方法などが考えられる。慶應義塾大学病院では本装置を用いた腫瘍の局所制御技術の確立を優先させるため、これまでは主に②を対象として臨床研究を行ってきた。この臨床研究の中で、たとえば大腸癌肺転移症例において、腫瘍径 15mm を境として小さい腫瘍に対する局所制御能は非常に高い (3 年局所制御率 82%) 一方で、15mm より大きいサイズの腫瘍において局所制御能は有意に低い (3 年局所制御率 28%) ことから



現在の我々の手法では、より大きな腫瘍において従来の市販されている凍結端子における治療効果は不十分である可能性が高いと考えられる。一方で、刺入する凍結端子の本数に依存して気胸の発生頻度が増えていくこともこれまでの臨床研究の中で示されており、より少ない本数の凍結端子で必要十分なサイズの凍結領域を設定できる新規凍結端子の開発が本療法を普及させていくにあたって重要であると考えられる。

## 2. 研究の目的

こうした課題を克服するために、新規凍結端子の開発要件として下記項目が挙げられる。

### (1) 凍結範囲を可変できる凍結端子の開発

肺の凍結治療では、まず外筒を穿刺し外筒に凍結端子を挿入する形で凍結療法を施行する。しかし、この外筒の穿刺では肺そのものが呼吸性変動を伴うために、事前に画像評価にて予定した通りに穿刺することは実際には必ずしも容易ではない。現在の凍結端子により形成される ice ball は端子の断面方向に円形で中心に対し対照であり一定であるため、現状では外筒の穿刺経路によって凍結端子の本数を増やす必要が出てくることもある。Ice ball の指向性を可変できる凍結端子を開発することができれば、外筒の挿入状況に合わせて凍結端子を選択し治療することで従来よりも効率よく十分な凍結範囲を得ることが可能になることが予想される。

### (2) より大きな凍結範囲を得ることのできる凍結端子の開発

従来の凍結端子はチタンなどの熱伝導率の悪い物質を素材としているものもあり、より熱伝導率の良い物質を素材とした凍結端子を作成すればより速やかにより大きな凍結範囲を得ることができると考えられる。また、Joule-Thomson 効果によるアルゴンガスの冷却能力を計測してみると、高压アルゴンガスを大気圧に近い低压状態まで一気に到達させるとアルゴンガスそのものも凍結してしまうほどの冷却能力が得られることが証明されており、現在の凍結端子ではガスの圧力の低下をある程度に留めてアルゴンガスの凍結を防いでいる。すなわち、高压アルゴンガスが発揮しうる十分な凍結能力を実現できていない。凍結端子の構造を改良することによってより高い冷却能力を実現できる可能性がある。

## 3. 研究の方法

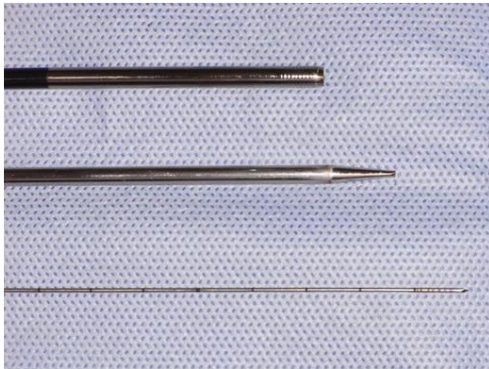
効率的に周囲組織を凍結できる端子の開発評価に先立って、組織凍結の動的評価方法の確立が必要と考えられた。生体組織で評価実験を行うに先立ち、生体組織外で寒天を使った凍結端子周囲の凍結範囲を評価する実験系の確立を試みた。

また生体肺においては全身麻酔下に豚開胸モデルを用いて、肺における凍結動態の評価を試みた。温度変化の評価は多数の温度センサーを円周状に配置したセンサーを用いて、2次元的ではあるが、方向性を持って凍結時における肺の温度変化の評価を試みた。肺は空気を含むため凍結時の温度変化特性は他の実質臓器にはない特殊性があり、新規端子

の開発には先ずこの特性の解析が重要と考えられた。

#### 4. 研究成果

2011 年度は凍結端子周囲の温度変化をモニターする方法の確立を目指した。凍結端子の材質についてはカーボン、銅、アルミニウムといった材質を検討したが、いずれも熱伝導面での優位性は想定されたが、強度の点で問題があった。また、肺に対する凍結端子の穿刺に関しては、必ず外筒が必要である。このため端子とともに外筒の材質も凍結範囲に影響を及ぼすことが想定された。端子と同様にカーボン、銅、アルミニウムといった材質を検討したが、いずれも熱伝導面での優位性は想定されたが、やはり強度の点で問題があった。使用する外筒は長さ約 24 cm、内径 2 mm あるいは 3 mm であり、



外径は内径より 1mm 増以内が望ましいと考えられた。外径が大きくなりすぎると気胸のリスクなどもあり、穿刺に際して実用的ではなくなる。また、穿刺の際には穿刺角度を得るため穿刺部位をてこに外筒にはかなりの負荷がかかり、相当の強度が必要となる。少しでも曲がってしまうと凍結端子の挿入ができなくなってしまう。これは耐久性に関しても問題となり、ひいてはコスト面での問題につながる。以上の検討から少なくとも現状ではステンレス鉄製が最良と考えられた。

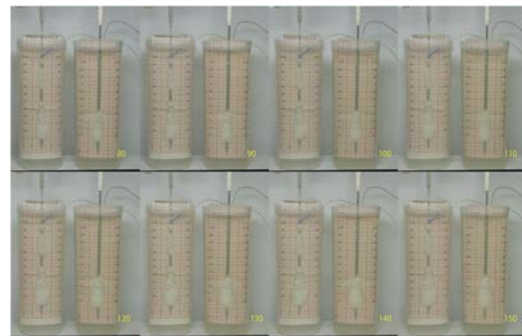
材質をステンレス製と想定し、続いて端子内部の断熱構造について検討を行った。ジュール・トムソン効果で起こす吸熱効果は、端子の限定した領域に起こさなくてはならない。針の長さを約 150mm とすると、150mm 全体で吸熱させると、目的の領域以外を傷付けてしまう。効果が限定されれば針先端だけに氷球ができる。効果が限定されないと針全体に氷ができ、アイスキャンディのようになる。この状態では冷却用ガスを無駄にしており凍結効率が落ちる。針の先端 20mm 程度だけに吸熱効果を限定するには、残った 130mm の、冷却されたガスと肉体組織間の熱伝達率を下げる工夫が必要になる。そこで、針の中に「内部」断熱構造が必要になる。断熱材とし

てすぐ頭に浮かぶものは、発泡スチロールである。これは優秀な断熱材であるが、針の中に入れるのには大きな問題がある。

針は直径 2.4mm。ガスの通路を確保すると、断熱材に確保できるスペースは 0.2-0.5mm 厚となってしまふ。また、発泡スチロールをガス流に直接さらすことはできない。断熱材は一般に構造が強くないからである。

そのため、隔壁となる金属チューブを挿まなくてはならず、最終的な断熱材の厚さは 0.1mm 程度に納めなくてはならなくなる。発泡スチロールではこの中におさめるという工作自体が困難である。また、0.1mm 厚では薄すぎて期待する断熱効果が得られない。

材料を変えて試してみたが、(空気、発泡スチロール薄膜、アルミ蒸着ポリエステルフィルム、エアロゲルシリカ) 結局、魔法瓶に使われている「真空」以外に工業的実現性が無いと思われた。エアロゲルシリカも性能はいいが、作業性が悪いと考えられた。空気層のみによる断熱では、端子の先端から手前まで氷の形成が見られるが、



真空で断熱した場合には断熱されていない先端の部分にのみ ice ball が形成され、また ice ball のサイズもより大きかった。



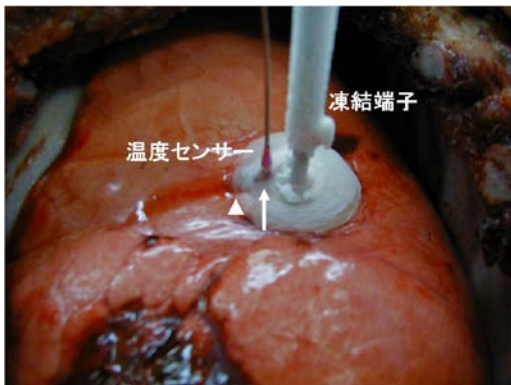
以上より真空形成による端子内ガススペースの断熱は有効であると考えられた。

一方、肺は実質臓器ではあるが、気相と液相が臓器内に存在するという特徴がある。気相と液相では熱伝動が著しく異なるため、これは他臓器と大きく異なる特徴である。また一



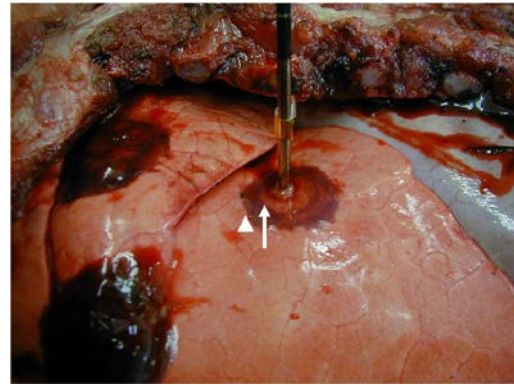
度凍結された肺組織は毛細血管の破綻を主な原因とすると考えられる肺胞を中心とした水腫をきたし、気相は消失する。これにより初回凍結時と2回目凍結時の熱伝動は劇的に変化する。凍結を端子および外筒の材質による熱伝導の差異以上に肺の熱伝導特性は重要と考えられた。

まずは豚を用い、右開胸下に2mmの凍結端子を胸膜から約18mm刺入し凍結5分、融解5分を2サイクル行なった。凍結範囲の確認は胸膜面で肉眼的に行った。針型温度センサーを胸膜面より約8mm刺入し温度を計測した。



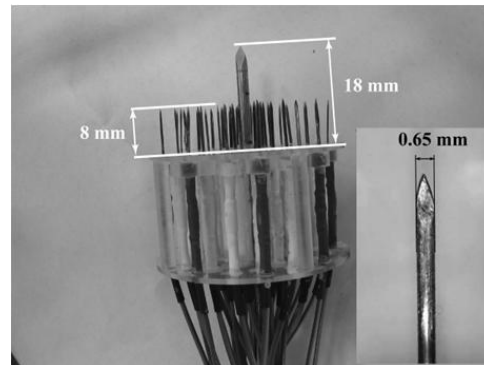
計測は凍結端子刺入部より7から13mmの距離を測定した。凍結端子の先端温度は約 $-13.0^{\circ}\text{C}$ 、1回目の凍結では凍結範囲の先進部は半径 $8 \pm 0.6\text{ mm}$ に達した。その後1回目の融解により約5mmの肺内出血輪がその周囲に形成され、2回目の凍結ではその出血輪の範囲が凍結され先進部は半径 $13 \pm 0.6\text{ mm}$ に達した。2回目の凍結時の温度分布は半径7, 8, 9, 10, 13mmで各々 $-7.0 \pm 4$ ,  $-3.9 \pm 7$ ,  $-2.1 \pm 7$ ,  $-1.4 \pm 8$ ,  $+2.9 \pm 3^{\circ}\text{C}$ であった。腫瘍細胞の殲滅には約 $-20^{\circ}\text{C}$ 以下の凍結が必要であると報告されている。本実験の結果では半径約9mmの腫瘍であれば2mmの端子1本で局所制御が得られる可能性が示唆された。

また凍結融解時には肺には肉眼的に円周状の水腫様変化がみられた。

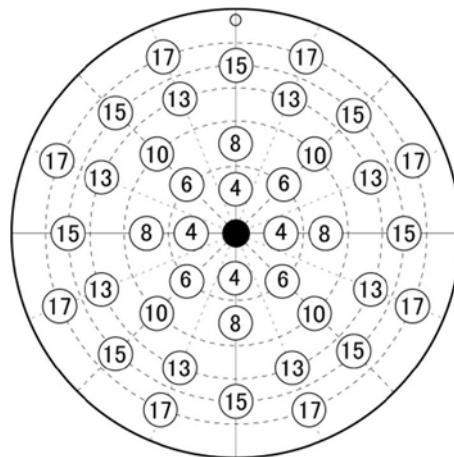


この円周は凍結部分およびその周囲の肺水腫様変化をきたした部分から構成されている可能性が示唆されたが、必ずしも対称ではなく、複数の方向で温度計測が必要と考えられた。

次に温度計測点を40点に増やした温度計測装置を用いて同様の実験を試みた。



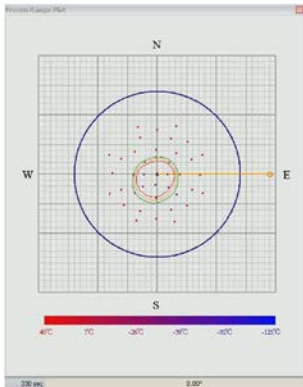
この端子は半径2cmの円心上に方向性を持って40点の温度測定端子を配置したものである。



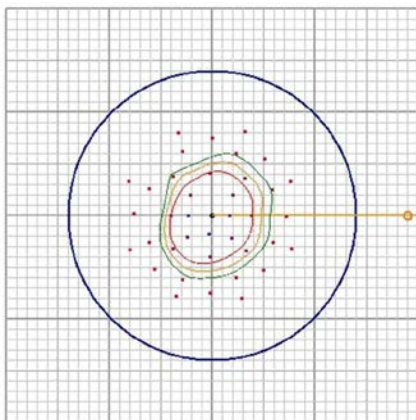
この端子によって肺凍結時の温度分布を2次元的に把握することが可能となった。

先ず肺という実質臓器の大きな特徴として一回目の凍結融解と2回目以降で熱伝導率が大きく異なる点があげられる。これは空気を含んだ肺胞が一回目の凍結融解で水腫液で満たされ、熱伝導率が変わるからである。

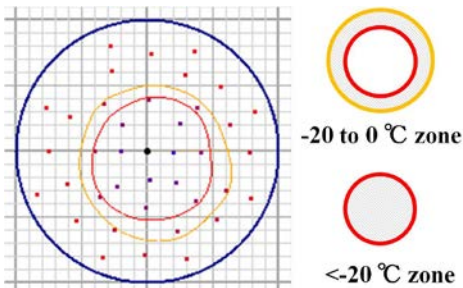
一回目の凍結融解の温度分布



に対して2回目以降では有意に範囲が増大する。



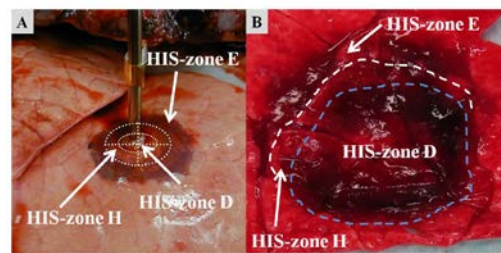
典型的な温度分布図を示す。



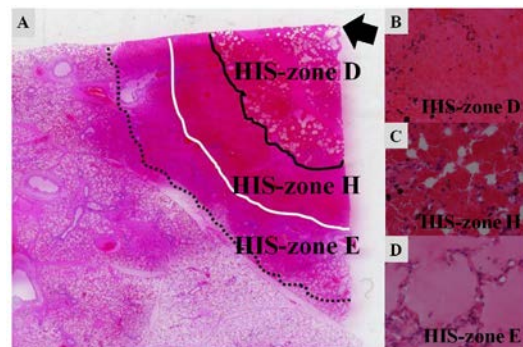
対照的ではないが、殺細胞効果が得られると

考えられる  $-20^{\circ}\text{C}$  以下の範囲は半径約  $1\text{cm}$  以内であり、前回実験結果と同様であった。またその非対称性を考慮しこれを面積にて評価した。 $-20^{\circ}\text{C}$  以下の面積は約  $260\text{ mm}^2$  であり、半径  $9\text{ mm}$  に対応した。さらにいくつかのゾーンに分けて検討した。 $-20^{\circ}\text{C}$  以下 (ISO zone D)  $-20$  から  $0^{\circ}\text{C}$  (ISO zone H)、 $0^{\circ}\text{C}$  以上 (ISO zone E)。ISO-zone D の平均面積は  $258 \pm 47\text{ mm}^2$ 、ISO-zone D+H の平均面積は  $448 \pm 78\text{ mm}^2$  であった。また、ISO-zone D の平均半径は  $9 \pm 4\text{ mm}$ 、ISO-zone D+H のそれは  $12 \pm 5\text{ mm}$  であった。

次に、肉眼的に観察された円周状の層構造について病理組織学的に検討した。温度分布と同様に病理組織学的にも端子を中心とした円周状の三層構造が見られた。一番中心部には組織細胞破壊が著しい領域がありこれを HIS-zone D とした。その外側には著大な肺胞出血をともなう領域があり、これを HIS-zone H とした。その外側には肺水腫を主体とした領域があり、その領域を HIS-zone E とした。肉眼的には端子を中心とした同心円状の変化がみられ、



同一平面で作成した病理切片においても、同様の所見が得られた。矢印が端子挿入部位であり、切片は4分の1円周で作成した。



この病理所見と温度分布を比較するために、 $0^{\circ}\text{C}$  領域を基準として比率を出すことにより

比較を試みた。0℃の領域は肉眼的にも明らかであり、ISO-zoneD+HはHIS-zoneD+Hに対応していると考えられた。ここで臨床的に重要なのは殺細胞効果が得られると考えられるISO-zoneDであるが、ISO-zone D/ISO-zone D+Hの比率は58 ± 2%であった。また、HIS-zone D/HIS-zone D+Hは57 ± 1%であり、これらの比率間に有意差はなかった。さらに、ISO-zone DとISO-zone D+Hの面積はHIS-zone DとHIS-zone D+Hの面積と有意に相関した(Pearson's correlation coefficient  $r=0.98$ , and  $0.96$ , respectively, and  $p<.001$ , and  $<.001$ , respectively, Pearson's  $r$  test)。以上からISO-zoneDはHIS-zoneDに相当し、殺細胞効果が得られる領域である可能性が考えられた。これは腫瘍組織ではないが病理所見とも符合する。またHIS-zoneD+HとHIS-zoneDの比率はほぼ一定であることから、殺細胞効果が得られる-20℃以下の領域は、凍結された領域から比例計算することが可能であり、それは0℃の領域の約57%である可能性が示唆された。

以上より0℃の範囲の約57%範囲内に腫瘍を含むことが重要と考えられたが、腫瘍径がそれ以上の場合複数の端子をどのように配置すればよいかは今後の課題と考えられた。

#### 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 0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)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

奥井 将之 (OKUI MASAYUKI)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号: 30594494