

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861078

研究課題名(和文) 経血管インターベンションによる血管透過性の制御を介する抗腫瘍療法の開発

研究課題名(英文) Anticancer therapy controlling vascular permeability in interventional radiology

研究代表者

吉田 耕太郎 (Yoshida, Kotaro)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：30645130

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究においては、ウサギ動物実験モデルに対する大腿動脈からのカテーテルを用いたアプローチ法を確立した。次に、細径カテーテルを用いる事により肝動脈の可及的末梢の選択を行う事に成功した。肝臓を標的とした血管バリアー機能の評価を行うために、定常状態での薬剤投与による影響を評価したが、NOドナーであるニトログリセリン、SNP、また血管透過性を亢進させるヒスタミン、PAFの投与下における血管透過性の評価をエバンスブルーを用いて行ったが、非癌肝では変化は認めなかった。一方、VX2腫瘍モデルにおいては、腫瘍周囲肝実質において、ニトログリセリン投与下で血管透過性の著明な亢進が確認できた。

研究成果の概要(英文)：In this project, we obtained the protocol of noninvasive intravascular interventional approach from femoral artery and catheterization to selective hepatic arteries. In steady condition, there is no sign of extravasation of FITC-dextran injected from hepatic artery. And there is no sign of extravasation of FITX-dextran in the drug administration model of nitroglycerin, sodium nitroprusside, histamine, and platelet activating factor. On the other hand, in liver VX-2 tumor model, the hyper-vascular permeability was observed at the peritumoral area in administration of nitroglycerin.

研究分野：放射線科

キーワード：血管透過性 permeability IVR

1. 研究開始当初の背景

研究の学術的背景

組織において、血管内皮細胞、血管周皮細胞あるいは血管周囲間質が血管内外のバリアーとして働いており、血管内物質の血管外漏出を調節している。特に内皮細胞相互の間でVE-カドヘリン (VEcad) と呼ばれる膜貫通タンパク質同士の結合により、緊密性の高い障壁 (adherens junction) を形成している。さらに毛細血管では、周皮細胞による内皮管腔構造の被覆が毛細血管を安定化させて、血管バリアー機能を一層強固にしている。形態学的には、腫瘍血管では周皮細胞による毛細血管の被覆が不完全であることが報告されているが、内皮細胞の adherens junction 形成能については十分に理解されていない。

腫瘍に対する経血管インターベンション治療には、阻血効果を期待する動脈塞栓術あるいは抗癌薬の高濃度暴露に伴う抗腫瘍効果を期待する動注化学療法、あるいは両者を併用した化学塞栓療法があり、現在の日常診療において、肝細胞癌をはじめとして全身の様々な腫瘍性病変に対して施行されている。また近年では、薬物輸送システム (drug delivery system) として経血管インターベンションを用いた標的臓器への選択的な薬理効果を期待する新しい治療法が模索されつつある。既に欧米では薬剤溶出ビーズ (drug eluting beads) を用いた塞栓術が臨床でも施行されている。これらの薬剤溶出ビーズは局所の血管内で微小塞栓を形成し、血管内に停滞することによりビーズ内に封入された薬剤が徐放的に長期にわたって周囲組織に作用することで、全身投与に比較して選択的かつ高濃度で標的部位に薬理作用を及ぼすことが期待されている。しかし、局所での薬理効果に関しての詳細な検討は行われていない。腫瘍血管のバリアー機能は低下しているので、血漿の血管外漏出により間質圧が上昇し、血液循環が妨げられている。そのために、

水溶性抗癌剤の腫瘍細胞への到達を妨げる一方、リボソームや大分子ミセルを担体とした DDS においては担体の血管外漏出を促進するので、腫瘍への薬物到達を高める可能性がある。すなわち、同一の治療薬物でも、血管バリアー機能の亢進あるいは低下のいずれが治療に有益であるかは用いる DDS により異なると考えている。これまでに血管内皮バリアー機能に着目した経血管インターベンション治療の研究はなされていない。

2. 研究の目的

本研究は、腫瘍内血管のバリアー機能の高低が、異なる DDS を用いて薬剤を投与した場合の薬剤分布や抗腫瘍効果にどのように影響するかを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

経血管インターベンションが可能な実験モデルとして確立されている、ウサギ VX2 腫瘍肝移植モデルを用いて、肝動脈からの血管作動性物質局所投与により血管透過性を急性及び慢性にマニピュレートした場合の、腫瘍内および腫瘍周囲血管の内皮透過性、血流及び血管系の形態変化を評価する。

定常状態での腫瘍血管及び腫瘍周囲肝実質での血管透過性、血流、血管形態の評価。

血管作動性物質 (血管透過性亢進作用を持つ NO および血管透過性低下作用を持つ S1P など) を水溶液として急性に経カテーテル投与した後の血管透過性、血流及び血管系の形態変化の評価。

薬剤溶出ビーズ等の徐放性 DDS を用いて上記血管作動性物質を慢性に経カテーテル投与した場合の血管透過性、血流及び血管系の形態変化の評価。

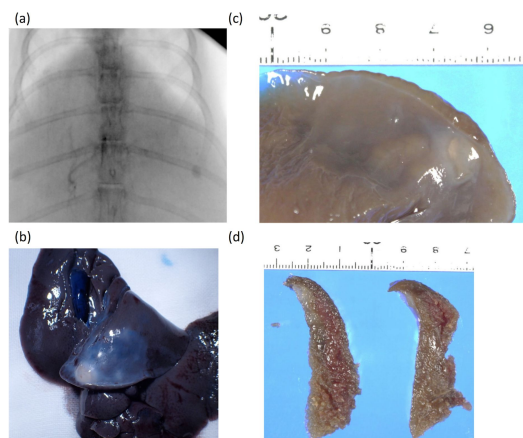
上記及び の条件下で、ナノ粒子塞栓治療における薬物の腫瘍内組織分布の評価。

4. 研究成果

経血管インターベンションを用いて薬剤を局所の臓器に輸送するシステムは、標的部位に局限した高濃度の抗癌剤や分子標的薬剤の到達を可能とする手法であり、薬物効果を最大化し、副作用を最小化できる利点を有し、今後の発展に強い期待が寄せられている。また癌を初めとした一般的な腫瘍では腫瘍内の血管は透過性が亢進しており血管内皮障壁(バリアー)機能が低下しているとされる。このため、血漿の血管外漏出により間質圧が上昇し、血液循環が妨げられている。本研究では動物モデルを用いて、血管バリアー機能のコントロール機能の解明を目指した。

まず本研究においては、ウサギに対する大腿動脈アプローチの血管造影手技を確立した。本手技は熟練を要するため、当モデルの動物実験の経験が豊富な滋賀医科大学放射線科への見学を行い、その後も連携しながら手技確立を目指した。本方法により低侵襲に標的臓器へカテーテルを導入することが可能であり、薬剤導入など治療をしたのちの観察研究が可能であるモデルとなり得ると考えられた。また、細径カテーテルを用いる事により肝動脈の可及的末梢の選択を行う事ができた。肝臓を標的とした血管バリアー機能の評価を行うに当たって、まず定常状態での薬剤投与による影響を評価した。定常状態では、FITC-デキストランを肝動脈から投与し、その後血管内を生理食塩水で還流したのち、組織を固定し、蛍光顕微鏡による観察を行ったが、顕微鏡下での FITC-dextran の血管外への漏れ出しは確認できなかった。NO を放出する NO ドナーであるニトログリセリン、SNP、また血管透過性を亢進させるヒスタミン、PAF を各種濃度にて肝動脈に導入したカテーテルから投与し、その後 FITC-dextran をカテーテルから投与、同様にして血管内を生理食塩水で還流したのち、組織を固定し、蛍光顕微鏡による観察を行ったが、血管外への粒子漏出像は確認できな

かった。これらの原因には FITC-dextran 粒子径や観察感度の問題があるのかもしれない。同様の研究を、VX2 腫瘍モデルを用いて行った。肝に VX2 腫瘍を植え込んだモデルを作成し、肝動脈から各種薬剤による血管透過性変化を促したのちに青色色素であるエバンスブルー投与を行った。このうちニトログリセリン投与においては、腫瘍周囲肝実質において、血管透過性の著明な亢進が確認できた。この組織を摘出し、分光光度計によるエバンスブルー濃度の計測でも同様の結果が得られた。本研究では、腫瘍の存在が周囲の正常組織の血管透過性に何らかの影響を与えている事が示唆された。



Figure

- (a) 家兎の肝 VX2 腫瘍モデルの血管造影写真。肝動脈から選択的に造影剤を注入し淡い腫瘍濃染が認められる
- (b) ニトログリセリン投与後にエバンスブルーを投与した摘出肝写真。腫瘍周囲での血管透過性によると考えられるエバンスブルーの漏出を認める。
- (c) 固定後結節部分の拡大写真
- (d) 腫瘍部マクロ剖面写真

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)

研究者番号：

〔学会発表〕(計0件)

(3)連携研究者

()

〔図書〕(計0件)

研究者番号：

〔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

吉田 耕太郎 (YOSHIDA, Kotaro)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：30645130

(2)研究分担者

()