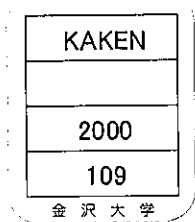


転移性肺腫瘍に対する分離肺灌流療法に関する基礎的並びに臨床的研究

著者	小田 誠
著者別表示	Oda Makoto
雑誌名	平成12(2000)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	1999-2000
ページ	13p.
発行年	2002-03
URL	http://doi.org/10.24517/00056751





転移性肺腫瘍に対する分離肺灌流療法に関する 基礎的並びに臨床的研究

研究課題番号 11671310

平成11年度～平成12年度科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）
研究成果報告書

平成14年3月

研究代表者 小田 誠
(金沢大学大学院医学系研究科 講師)

金沢大学附属図書館



8011-05241-1

はしがき

転移性肺腫瘍は根治性が期待できる場合には外科的切除の適応となり、教室でも切除件数は近年増加している (Shimizu J, Oda M, et al. Results of surgical treatment of pulmonaly metastasis. J Surg Oncol 58 : 57-62. 1995). 1997年日本外科学会総会シンポジウムにおいても「転移性肺腫瘍に対する外科治療戦略」と題して、また同年の胸部外科学会関西地方会シンポジウムにおいても「転移性肺腫瘍再切除例の検討」と題して研究代表者である小田は教室の成績を発表してきた。しかし、転移性肺腫瘍切除例の半数以上が5年以内に再発し、その再発部位の多くは肺であり、特に肉腫、泌尿器系腫瘍では肺のみに再発を繰り返す症例を多数認めた。その原因として転移性肺腫瘍切除時にすでにmicrometatstasisが肺内に存在することが考えられ、この制御こそが転移性肺腫瘍患者の予後向上に寄与するものであると考えた。

転移性肺腫瘍の肺内再発時には再切除が可能な場合もあるが、転移個数、局在部位から再切除術の適応外となることが多い。全身化学療法も副作用の点から投与量が制限されたり、全身投与の難しい薬剤も存在する。転移性肺腫瘍の手術時に肺動脈から薬剤を投与し肺静脈から直接回収する分離肺灌流療法は転移性肺腫瘍切除時にmicrometatstasisを制御するとともに、切除不能な転移性肺腫瘍症例に対しても肺局所への高濃度の薬剤の投与が可能となり、全身の副作用が軽減されかつ根治性の期待できる新しい治療法であると考えられる。

これらの着想をもとに本研究では動物実験で転移性肺腫瘍に対する分離肺灌流療法の安全性を検討し、臨床でも合併症がなくかつ治療効果も期待できるレベルに到達させることを目的とした。

これら一連の研究によって転移性肺腫瘍に対する分離肺灌流療法の安全性が確立され、転移性肺腫瘍切除後に再発を軽減し、切除不能とされた転移性肺腫瘍患者の予後を向上させると共に全身の副作用が軽減されるものと考えられる。その臨床応用範囲は広く今後の医学の発展に大いに貢献できる研究であると考え。さらに本研究の成功は肺腫瘍に対する分離肺灌流療法を用いた遺伝子治療という新しい治療法へと発展していくことが期待される。

研究組織

研究代表者 小田 誠（金沢大学大学院医学系研究科講師）
研究分担者 太田安彦（金沢大学医学部附属病院助手）

研究経費

平成11年度	900千円
平成12年度	500千円
計	1400千円

研究発表

ア. 学会誌等

1. Yasuhiko Ohta, Hiroshi Nozawa, Tanaka Yoko, Makoto Oda, Yoh Watanabe
Increased VEGF and VEGF-C, and decreased nm23 expression associate with micro-dissemination in the lymph node in stage I non-small cell lung cancer
J Thorac Cardiovasc Surg, 119 : 804-813, 2000.
2. 小田 誠, 金森太郎, 丸川洋平, 伊藤祥隆, 石川暢己, 田村昌也, 呉 哲彦, 渡辺俊一, 太田安彦, 渡辺洋宇, 渡邊 剛
肺癌の手術成績からみた新病期分類, とくにIIIA期, IIIB期の妥当性と問題点
胸部外科, 53 : 906-909, 2000.
3. 小田 誠
両側同時性転移性肺腫瘍に対する外科治療戦略
外科治療, 2001 (印刷中) .
4. Yasuhiko Ohta, Zensei Nozaki, Hiroshi Nozawa, Tadaxhi Kamesui, Yoshio Tsunozuka, Makoto Oda, Go Watanabe
The predictive value of vascular endothelial growth factor and Nm23 for the diagnosis of occult metastasis in non-small cell lung cancer
Jpn J Cancer Res, 92 : 361-366, 2001.

イ. 口頭発表

1. 太田安彦, 渡辺洋宇, 佐々木琢磨
肺癌におけるVEGF発現の臨床的意義-再発, リンパ節転移, 癌性胸

膜炎との相関性-

第58回日本癌学会総会, 1999年9月

2. 太田安彦, 梶田剛司, 木村圭一, 野澤 寛, 田村昌也, 呉 哲彦,
小田 誠, 渡辺洋宇
〈ワークショップ〉「肺がんの新たな予後因子」血管新生(VEGF等)
と肺癌の予後
第40回日本呼吸器学会総会, 2000年3月
3. 田村昌也, 太田安彦, 長利あゆみ, 石川暢己, 伊藤祥隆, 呉 哲彦,
小田 誠
「肺癌への臨床応用を目指した基礎研究」末梢循環血中
Angiogenetic factorの発現性は肺癌組織内Vascularityの指標とな
りうるか?
第41回日本肺癌学会総会, 2000年11月
4. 野崎善成, 田村昌也, 梶田剛司, 呉 哲彦, 渡辺俊一, 太田安彦,
小田 誠, 渡辺洋宇, 佐藤日出夫
非小細胞肺癌における骨髄中微小癌細胞の臨床的意義-腫瘍血管新生
との関わり-
第17回日本呼吸器外科学会総会, 2000年5月
5. 小田 誠, 川口雅彦, 太田安彦, 林義信, 村上眞也, 清水淳三,
渡辺洋宇
転移性肺腫瘍に対する外科治療戦略
第97回外科学会総会, 2001年4月

研究成果

はじめに

1965年にThomfordら¹⁾が転移性肺腫瘍の手術適応を提唱して以来、肺転移に対する外科治療の意義が世界的に認められるようになった。転移性肺腫瘍は根治性が期待できる場合には外科的切除の適応となり、教室でも切除件数は年々増加している²⁾。また、近年の化学療法³⁾の進歩、術中・術後管理、手術手技の向上により、その適応は拡大されてきた。しかし、転移性肺腫瘍切除例の半数以上が5年以内に再発し、その再発部位の多くは肺であり、特に肉腫、泌尿器系腫瘍では肺のみに再発を繰り返す症例が多い。その原因として転移性肺腫瘍切除時すでにmicrometastasisが肺内に存在することが考えられ、この制御こそが転移性肺腫瘍患者の予後向上に寄与するものであると考える。

転移性肺腫瘍の肺内再発時には再切除が可能な場合もあるが、転移個数、局在部位から再切除術の適応外となることが多い。全身化学療法も副作用の点から投与量が制限されたり、全身投与の難しい薬剤も存在する。転移性肺腫瘍の手術時に肺動脈から薬剤を投与し肺静脈から直接回収する分離肺灌流療法は転移性肺腫瘍切除時にmicrometastasisを制御するとともに、切除不能転移性肺腫瘍症例に対しても肺局所への高濃度の薬剤の投与が可能となり、全身の副作用が軽減されかつ根治性の期待できる新しい治療法であると考えられる。

国外では、極めて少数の施設で転移性肺腫瘍に対する分離肺灌流療法の研究が行われてきたが、未だ十分な検討はなされていない。動物実験で転移性肺腫瘍に対する分離肺灌流療法の安全性、各種薬剤の抗腫瘍効果を検討し、臨床でも合併症がなくかつ治療効果も期待できるレベルに到達させることを目的に本研究を施行した。

対象と方法

I. 対象

実験動物として急性実験にはニュージーランド雌ウサギを慢性実験にはラットを用いた。

II. 方法

急性実験

体重3.0~3.5kg (平均3.3kg) のニュージーランド白色種の雌性ウサギを用いた。前投薬として硫酸アトロピン0.02mg/kgを筋肉内注射した後、耳介の静脈に点滴路を確保し、ペントバルビタールナトリウム25mg/kgを緩徐に静脈内投与した。手術台に仰臥位で固定し、前頸部および前~左側胸腹部を刺毛し、前頸部縦切開にて気管を露出した。気管切開により径6mmの気管内挿管チューブを約1.5cm挿入し固定した後、ハーバード型従量式人工呼吸器SN-480-5に接続した。人工呼吸器が接続されると同時に臭化パンクロニウムブロマイド1mgを静脈内投与して非動化し、調節呼吸を行った。換気回数は30回/分、1回換気量は15~20ml/kg (片肺換気時は15ml/kg) に設定した。術中は吸入気酸素濃度を50% ($FIO_2=0.5$) に設定した。動脈血採血用に、カットダウン法にて右総頸動脈を露出し、25ゲージハッピーキャス針を挿入、留置した。維持麻酔として塩酸ケタミンを10mg/時間の濃度で持続点滴静注し、さらに麻酔深度を維持するために、臭化パンクロニウムブロマイドおよびジアゼパムを適宜静脈内投与した。

実験動物を右側臥位にし、左後側方切開、第4肋間開胸にて胸腔内に到達した。左肺の片肺分離灌流実験では左肺動脈幹、肺静脈の中枢側を鉗子で遮断した。左肺動脈幹にカニューレションし灌流液の注入口とし、肺静脈の一部を切開し流出口とした。この実験系に対し次の各群を作製した。

- ①37℃リンゲル液で30分間灌流 (A群 ; n=6)、
- ②37℃蒸留水で30分間灌流 (B群 ; n=6)、
- ③42℃リンゲル液で30分間灌流 (C群 ; n=6)

上記の各群に対して以下の項目を測定した。

①分離肺灌流直前および分離肺灌流直後、30分後、1時間後、2時間後の経時的な血圧、肺表面組織血流量、動脈血ガス分析を施行した。肺組織血

流量はレーザー組織血流計ALF21（アドバンス）を用いて測定した。

②分離肺灌流2時間後に犠牲屠殺し、灌流肺、対側肺のホルマリン固定後HE染色による病理組織像を検討した。

摘出標本は10%中性緩衝ホルマリン液による固定後にパラフィン切片を作製し、HE染色を施行した。肺胞構造の破壊、肺胞内の水腫、出血の程度は、－（なし）、＋（中等度）、++（高度）の3段階に分類して評価した。

慢性実験

体重200～255g（平均235g）のラットにペントバルビタールナトリウム25mg/kgを腹腔内投与し麻酔導入した。16ゲージの静脈留置用カニューラを用いて気管内挿管し、人工呼吸器に接続した。実験動物を右側臥位にし、左後側方切開から第4肋間開胸にて胸腔内に到達した。左肺動脈幹、肺静脈の中枢側を微小血管用のクランプで遮断した。左肺動脈幹にカニューレーションし灌流液の注入口とし、肺静脈の一部を切開し流出口とした。

この実験系に対してシスプラチン（0.8mg/kg、1.6mg/kg、3.2mg/kg）十リンゲル液（10ml）で10分間灌流したのちリンゲル液（5ml）で5分間灌流し、左肺動脈幹のカニューラを抜去し、肺静脈の切開口を縫合閉鎖した。閉胸後に実験動物が覚醒したことを確認した後、気管内挿管したカニューラを抜管してゲージに戻した。

各濃度につき各6匹作製し、術後2週間の生死を検討した。

III. 統計学的検討

測定結果は平均値±標準偏差（ $\bar{x} \pm SD$ ）で表記した。各群の平均値の差の検定には一元配置分散分析法を、多重比較にはSheffeのF検定を用いた。また各群間の検定には重複測定-分散分析法を用いた。危険率5%未満をもって有意差ありとした。

成績

I. 急性実験

血圧（mmHg）の経時的変化は分離肺灌流直前、分離肺灌流直後、30分後、1時間後、2時間後の順にA群では 87 ± 12 、 84 ± 17 、 82 ± 18 、 86 ± 11 、

83±22, B群では90±7, 87±16, 85±13, 87±17, 84±19, C群では86±6, 84±13, 87±21, 83±16, 85±15であった。各群内および各群間において有意差な血圧の変動は認めなかった。

動脈血酸素分圧 (mmHg) の経時的変化は分離肺灌流直前, 分離肺灌流直後, 30分後, 1時間後, 2時間後の順にA群では245±13, 234±32, 241±26, 236±19, 231±36, B群では258±26, 247±39, 252±31, 246±27, 249±43, C群では251±16, 242±46, 239±32, 244±23, 241±57であった。各群内での経時的変化および各群間において有意差な動脈血酸素分圧の変動は認めなかった。

左肺表面組織血流量 (ml/分/100g) の経時的変化は分離肺灌流直前, , 分離肺灌流直後, 30分後, 1時間後, 2時間後の順にA群では86±7, 80±13, 82±15, 81±9, 84±10, B群では84±9, 81±12, 80±13, 80±12, 82±7, C群では87±10, 83±12, 82±18, 85±16, 85±10であった。各群内および各群間において有意差な左肺表面組織血流量の変動は認めなかった。

分離肺灌流2時間後に犠牲屠殺した灌流肺、対側肺のホルマリン固定後H E染色による病理組織像はA群では肺胞構造の破壊一、肺胞内の水腫一、出血の程度一、B群では肺胞構造の破壊一、肺胞内の水腫一、出血の程度一、C群では肺胞構造の破壊一、肺胞内の水腫一、出血の程度一であった。各群間で病理組織像に特記すべき差は認めなかった。

I I. 慢性実験

シスプラチン0.8mg/kg、1.6mg/kgの各々の濃度で分離肺灌流した実験動物 (各々n=6) は全例において術後2週間生存した。シスプラチン3.2mg/kgで分離肺灌流した実験動物 (n=6) は3例が術後2週間以内に死亡し、3例が術後2週間生存した。

考 察

四肢に発生した肉腫の肺転移頻度は高く、この中の多くの患者にとって肺が唯一の転移部位である³⁾。これら転移性肺腫瘍患者における肺転移巣の完全切除後の5年生存率は25%程度と不良であると共に、術後再発部位の

大部分は肺である。これらの理由から特に肉腫の肺転移症例に対しては肺転移巣の完全切除とともに再発防止が肝要であり、特に肺転移の制御に焦点をあてた治療法の確立が重要と考えられる。

四肢原発の肉腫および悪性黒色腫の患者23例に対して、高用量のTNF、 γ -interferon、melphalanと共に温熱療法を用いた分離四肢灌流療法により、21例の患者で部分または完全寛解が得られたとの報告がある⁴⁾。以上の事実から特に転移性肺肉腫に対しては肺転移巣の完全切除とともに術中の分離肺灌流療法が再発防止に有用であるものと考えられる。

今回の我々の急性実験では37℃リンゲル液、37℃蒸留水および42℃リンゲル液での30分間の分離肺灌流においては、血行動態および病理組織学的に肺傷害および全身への副作用は各群共に認めなかった。Wekslerらは分離肺灌流の際のdoxorubicinの溶媒として生理食塩水、低カリウムデキストラン液、5%アルブミン液、6% hetastarch液、5% bufferedアルブミン液、6% buffered hetastarch液の6種類を比較検討し、6% buffered hetastarch液が他の溶媒に比較して肺障害が少なかったことを報告している⁵⁾。今回我々は分離肺灌流に用いる薬剤と溶媒の相互作用に関する検討は行っていないが、今後は使用薬剤と溶媒の関係も肺傷害および抗腫瘍効果の観点から検討していく必要があると考える。

全身投与の難しい薬剤あるいは全身投与可能でも副作用が強く高濃度投与の難しい薬剤を用いて分離肺灌流療法を行い、高濃度の薬剤の局所投与が可能であり、全身の副作用も少なく耐用性のあることを示した報告も多い⁶⁾。Wangら⁷⁾およびWekslerら⁸⁾はdoxorubicinを用いた化学療法の実験において、分離肺灌流による化学療法が全身投与によるものと比較して肺組織に高濃度の薬剤集積を認めると共に、心臓への薬剤集積は少なかったことを報告している。PogrebniakらはTNFに温熱化学療法を併用した分離肺灌流モデルでこれらの治療法が人にも応用可能であることを示した⁹⁾。我々も慢性実験においてcisplatinによる分離肺灌流における耐用性を証明したが、Kanedaらもラットモデルを用いたcisplatinによる分離肺灌流の実験において、分離肺灌流では全身投与と比較してcisplatinの肺組織内濃度が有意に高く、全身の副作用が有意に軽減されたと報告している¹⁰⁾。しかし長時間の分離肺灌流により肺虚血時間が延長すると灌流肺の炎症反応が惹起されることも報告され¹¹⁾、分離肺灌流時間には十分に注意する必要がある。分離肺灌流においては肺動脈から灌流させた薬剤を単純に肺静脈から

回収した方が、薬剤を再灌流させたものと比較して肺傷害の程度が軽度であったとの報告もあり¹²⁾、分離肺灌流の方法も今後の課題であると考え。また、分離肺灌流と肺動脈を閉塞しての薬剤投与を比較して、後者は前者に比較して、有意ではないが薬剤の肺組織内濃度が高く、また静脈内投与と比較すると6倍から9倍肺組織内濃度が高かった¹³⁾。同実験では血漿中の薬物濃度は肺動脈を閉塞しての薬剤投与が静脈内投与と比較すると有意に低かった¹³⁾。

これまで実験動物における分離肺灌流療法においては、TNF⁹⁾、melphalan¹⁴⁾、doxorubicin^{7),15),16)}、cisplatin¹⁰⁾により強い抗腫瘍効果が認めれたと報告されている。これらの報告では全身投与に比較して同じ濃度の投与量でも肺組織および腫瘍における薬剤濃度が有意に高く、抗腫瘍効果も高く、全身の副作用が軽度であった。

今回我々も人における第一相試験まで本研究を行う予定であったが、適切な患者を得ることができずに施行できなかった。人に対する分離肺灌流療法も近年報告されている^{18),19)}。Jonstonら¹⁸⁾は8例の転移性肉腫および慢性細気管支肺胞上皮癌患者にdoxorubicinあるいはcisplatinによる分離肺灌流を施行し、その安全性を報告したが治療効果に関しては述べられていない。また、Burtら¹⁹⁾は切除不能な転移性肺癌8例に対してdoxorubicinによる分離肺灌流を施行し、肺組織および腫瘍内への薬剤の取り込みが良好であり、全身の副作用の少ないことを示した。しかし、完全および部分寛解症例は得られなかった。上述の四肢原発の肉腫および悪性黒色腫の患者に対する分離四肢灌流療法では大部分の患者で部分または完全寛解が得られたことは対照的であるが⁴⁾、その理由としては後者では多剤による分離灌流が行われたことが一因であることが推察される。分離肺灌流に用いる薬剤の種類および多剤による灌流療法も今後の検討課題であると考え。

結 論

ウサギおよびラットを用いた分離肺灌流の急性および慢性実験により、分離肺灌流療法の安全性が示された。

参考文献

- 1) Thomford NR, Woolner LB, Clagett OT: The surgical treatment of metastatic tumors in the lungs. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 49: 357-363, 1965.
- 2) Shimizu J, Oda M, Hayashi Y, et al.: Results of surgical treatment of pulmonary metastasis. *J Surg Oncol* 58: 57-62, 1995.
- 3) Potter DA, Glenn J, Kinsella T: Patterns of recurrence in patients with high grade soft-tissue sarcomas. *J Clin Oncol* 3: 353-366, 1985.
- 4) Lienard D, Ewalenko p, Delmotte JJ, et al.: High-dose recombinant tumor necrosis factor alpha in combination with interferon gamma and melphalan in isolation perfusion of limbs for melanoma and sarcoma. *J Clin Oncol* 10: 52-60, 1992.
- 5) Weksler B, Ng B, Lenert JT, and Burt ME: Isolated single-lung perfusion: a study of the optimal perfusate and other pharmacokinetic factors. *Ann Thorac Surg*, 60: 624-629, 1995.
- 6) Ng B, Hochwald SN, and Burt ME: Isolated lung perfusion with doxorubicin reduces cardiac and host toxicities associated with systemic administration. *Ann Thorac Surg*, 61: 969-72, 1996.
- 7) Wang HY, Ng B, Blumberg D, et al.: Pulmonary artery perfusion of doxorubicin with blood flow occlusion: pharmacokinetics and treatment in a metastatic sarcoma model. *Ann Thorac Surg*, 160: 1390-1394, 1995.
- 8) Weksler B, Ng B, Lenert JT, and Burt ME: Isolated single-lung perfusion with doxorubicin is pharmacokinetically superior to intravenous injection. *Ann Thorac Surg*, 56: 209-219, 1993.
- 9) Pogrebniak HW, Witt CJ, Terrill R, et al.: Isolated lung perfusion with tumor necrosis factor: a swine model in preparation of human trials. *Ann Thorac Surg*, 57: 1477-1483, 1994.
- 10) Kaneda Y, Liu D, Brooks A, et al.: Toxicity and pharmacokinetics of isolated lung perfusion with cisplatin in rat. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg*, 49: 443-448, 2001.
- 11) Abolhoda A, Brooks A, Choudhry M, et al.: Characterization of local inflammatory response in an isolated lung perfusion model. *Ann Surg Oncol*, 5: 87-92, 1998.

- 12) Furrer M, Lardinois D, Thormann W, et al.: Isolated lung perfusion: single-pass system versus recirculating blood perfusion in pigs. *Ann Thorac Surg*, 65: 1420-1425, 1998.
- 13) Furrer M, Lardinois D, Thormann W, et al.: Cytostatic lung perfusion by use of an endovascular blood flow occlusion technique. *Ann Thorac Surg*, 65: 1523-1528, 1998.
- 14) Van Schil P, Hendriks J: Isolated lung perfusion for the treatment of pulmonary metastases an experimental study in the rat. *Verh K Acad Geneeskde Belg*, 61: 517-550, 1999.
- 15) Weksler B, Lenert J, Ng B, and Burt M: Isolated single lung perfusion with doxorubicin is effective in eradicating soft tissue sarcoma lung metastases in a rat model. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 107: 50-54, 1994.
- 16) Wang HY, Hochwald S, Ng B, and Burt M: Regional chemotherapy via pulmonary artery with blood flow occlusion in a solitary tumor nodule model. *Anticancer Res*, 16: 3749-3753, 1996.
- 17) Abolhoda A, Brooks A, Nawata S, et al.: Isolated lung perfusion with doxorubicin prolongs survival in a rodent model of pulmonary metastases. *Ann Thorac Surg*, 64: 181-184, 1997.
- 18) Johnston MR, Minchen RF, and Dawson CA: Lung perfusion with chemotherapy in patients with unresectable metastatic sarcoma to the lung or diffuse bronchioloalveolar carcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 110: 368-73, 1995.
- 19) Burt ME, Liu D, Abolhoda A, et al.: Isolated lung perfusion for patients with unresectable metastases from sarcoma: a phase I trial. *Ann Thorac Surg*, 69: 1542-1549, 2000.