

腎癌凍結療法の基礎と臨床応用

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-12-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: KODA, Wataru メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00049295

【総説】

腎癌凍結療法の基礎と臨床応用

Cryoablation of renal cell carcinoma: a review of mechanisms, clinical outcomes and advances in therapy

金沢大学医薬保健研究域医学系 放射線科学
香 田 渉

1. はじめに

近年、悪性腫瘍に対する低侵襲治療として経皮的アブレーション治療が幅広く実施されるようになってきた。これは画像診断装置の技術革新により断層画像によるリアルタイムな治療モニタリングが可能になったことが一因である。エタノール注入療法をはじめとする化学的アブレーションが利用されることもあるが、現在の治療の中心は熱エネルギーによるアブレーションであり、ラジオ波焼灼術 (radiofrequency ablation: RFA) やマイクロ波凝固療法のように高温を利用するものと凍結療法のように低温を利用するものがある。いずれも境界明瞭な壊死領域が得られ治療成績も遜色ないが、保険診療上の適用疾患は異なる。現在、凍結療法の適応は小径腎癌のみであり、金沢大学附属病院では2017年4月より腎癌に対する凍結療法を開始した。

本稿では、新たに導入された凍結療法の治療原理と臨床的な治療成績を概説し、現在注目を集めている凍結免疫についても紹介する。

2. 凍結療法の歴史

腫瘍に対する凍結療法は、1850年にJames Arnottが乳癌や子宮頸癌に対して生理食塩水と氷を用いて行ったものが最初とされている。最初は直視下での治療であったが、1963年にCooperは液体窒素を細い管の中に灌流させてパーキンソン病の治療を行った。しかし、当時は治療のモニタリングが不十分であったため病変の残存や再発が頻発し、1970年代に凍結療法は一時衰退した。その後ヘリカルCTやオープンMRIといった画像診断装置が進歩し、1980年代後半から画像モニタリング下での経皮的凍結療法が施行されるようになってきた。1995年に京都府立医科大学泌尿器科の内田らにより世界初の腎癌に対する経皮的凍結療法が施行され、2001年3月から2002年10月には慈恵医科大学附属柏病院と北海道大学病院の共同で肝腫瘍、腎腫瘍、子宮筋腫を対象とした臨床治療が実施された。その後約10年を経て2010年1月8日に冷凍手術器「CryoHit」の薬事承認が得られ、翌2011年7月に小径腎癌に対する凍結療法が保険収載された。深在病変用の冷凍手術器は高額でガス配管などの設備も必要なためなかなか普及しなかったが、2017年8月までに全国で約20施設に導入されている。金沢大学附属病院では2017年1月に装置が導入され、ファントムを用いた治療

シミュレーションなどを経て、2017年4月より腎癌に対する臨床使用を開始した。

3. 凍結療法の原理

①凍結壊死の機序

腎臓では凍結により中心域の均一な凝固壊死とその辺縁数mmの部分的壊死および炎症反応を生じる。また、細胞死に至るには -20°C ～ -40°C 以下まで温度を下げる必要があるとされている。

低温障害による壊死には主に直接的細胞傷害と血管障害が関与している (図1)。組織の温度を下げていくと脂質二重膜に保護された細胞内より先に細胞外に氷が形成される。細胞外は高張になり、浸透圧勾配に従って細胞内の水は細胞外に移動し細胞内脱水と細胞の収縮が起こる。また、細胞外に形成された氷による機械的な力で細胞膜が破壊される¹⁾。さらに温度を下げていくと細胞内にも氷が形成され、細胞内小器官と細胞膜を破壊する。解凍するときには細胞内が高張になるため、水が細胞内へ移動し細胞の腫脹と破裂を生じる²⁾。一方、微小血管では低温により内皮細胞と細胞結合が傷害され、血小板凝集と微小血栓形成が起こる。その結果、血管閉塞による虚血を生じ、さらなる凝固壊死が引き起こされる。

凍結領域の中心には凝固壊死を生じるが、その末梢の亜致死性低温域には可逆性障害を生じる。ここにはアポトーシスが誘導されることも報告されている。また、凍結領域辺縁の部分的壊死を小さくするためには凍結-解凍サイクルを繰り返すことが有効とされており、腎臓で

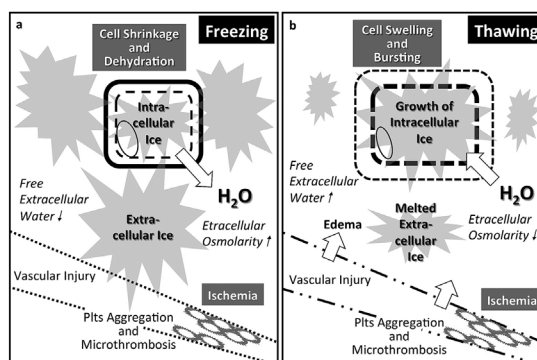


図1. 凍結療法における細胞死の機序

- a. 凍結 (Freezing)
b. 解凍 (Thawing)

は通常2サイクル凍結を行う。2サイクル凍結とは、十分な凍結領域を得た後、しばらく自然解凍し、辺縁が解けて凍結領域が小さくなったところで再度凍結を行い前回と同じ凍結領域を得ることである。これにより凍結領域の辺縁の組織は凍結-解凍-凍結-解凍と多くの相変化を受け、組織損傷の程度が増強される。

②凍結治療装置のメカニズム

本邦で薬事承認が得られている深部病変用の冷凍手術器「CryoHit」では、1.5mm径(17G)の凍結ニードルを病変に刺入し、このニードルを低温にすることで周囲の組織を冷却・凍結させる。ニードルの冷却には圧縮した気体を細孔から噴出させて膨張させたときに気体の温度が変化する現象(ジュール・トムソン効果)を利用している(図2)。アルゴンガスが凍結ニードルの末梢端で小さなチャンパー内に膨張すると吸熱して -160°C まで温度が低下する³⁾。低温のガスはニードル内の熱交換器で往路のガスに暖められて室温となり、二重管の外腔に戻って排気される。ガスをヘリウムに切り替えれば、逆にニードル先端部を加温することができる。アルゴンガスの送気を開始するとすぐにニードルは組織に凍結固着するが、ヘリウムガスの送気によりニードルが加温され抜去可能となる。

凍結領域(ice ball)は長軸方向に広いが短軸方向は狭い(図3)。また、凍結領域の境界は約 0°C の温度域であり、壊死が得られる -20°C ~ -40°C 以下の温度域はかなり内側に存在する。特に短軸方向の壊死領域は10~12mmと狭いことに留意する必要がある。1本のニードルで得られる壊死領域は狭いが、複数のニードルを使用してice ballを癒合させることにより大きな壊死領域が得られる(図3)。ニードルの間隔が離れすぎるとice ballが癒合しないため、治療時にはニードルのサイズと数の選択ならびに腫瘍全体を内包する凍結領域を形成するためのニードルの配置を考慮する必要がある。この点は重ね焼きによって大きな壊死領域を得るRFA(multiple overlapping法)とは考え方が異なる。

③凍結領域のモニタリング

本邦では最初にMRIで凍結領域のモニタリングが行われた。Ice ballはT2緩和時間が著明に短縮するため無信号となり明瞭に描出される。周囲臓器の描出も良好で任意の断面での撮像が可能であり、被曝もないためモニタリングには適しているが、日常診療のなかでMRIをモニタリング装置として利用できる施設は少ない。欧米ではCTでモニタリングしている報告が多く、本邦でも新たに導入した施設の多くはCTを利用している。金沢大学附属病院では320列面検出器CTを搭載したIVR-CTシステムと冷凍手術器が併設しており、CTでモニタリングを行っている。

凍結組織の体積膨張により電子密度が低下するため、CTでice ballは30HUほど低吸収の領域として明瞭に描出される(図4)。周囲臓器の描出も良好ではほぼリアルタイムに画像を表示することができ、日常診療でも利用しやすい装置である。放射線被曝があること、MRIのよう

に任意の断面での撮像はできないことが欠点としてあげられるが、当院の320列面検出器CTでは16cmの範囲でvolume scanが可能であり、数秒で任意の断面の画像を得ることができる。また、各種の被曝低減技術も搭載されており、許容できる範囲の被曝量に抑えられている。

各モダリティで観察されるice ballは約 0°C 以下の温度域であり、腫瘍の壊死領域はそれよりかなり内側になる。腎臓で腫瘍の完全壊死を得るには6mm以上の凍結マージンが必要とされている⁴⁾。

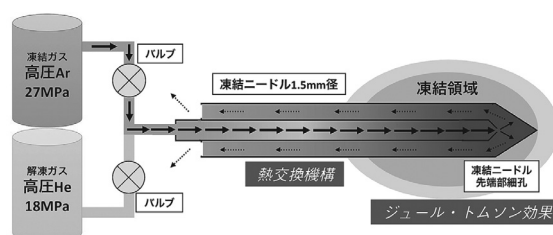


図2. 凍結装置の動作原理

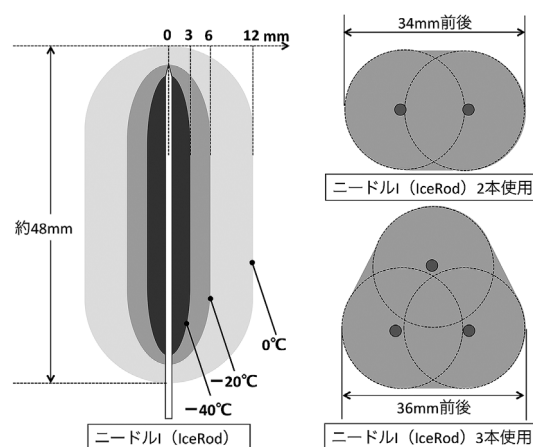


図3. 凍結ニードルの isotherm と凍結範囲



図4. 凍結領域のモニタリング(hydrodissection併用例) 左腎(LK)の腫瘍は下行結腸(DC)と近接していたため、希釈造影剤(矢印)を注入してhydrodissectionを施行した。凍結領域(矢頭)はCTにて明瞭な低吸収域として描出される。

4. 腎癌治療における凍結療法の臨床応用

①治療成績

腎癌に対する凍結療法の局所再発率は6～13%だが、再アブレーション治療によりほとんどの患者で局所制御され⁵⁾、5年無病生存率、5年癌特異的生存率はそれぞれ97%、100%と報告されている⁶⁾。多変量解析により腫瘍径の増大が腫瘍残存および局所再発に関連する予測因子となり、2.6cmより大きな腫瘍では局所再発率が増加することが示されている。

凍結療法とRFAを直接比較するランダム化比較試験は存在しないが、これらの無再発生存率あるいは癌特異的生存率といったアウトカム、腎機能への影響、合併症発生率は同等であることが報告されている⁷⁾。

腎部分切除術とアブレーション治療を比較したメタアナリシス⁸⁾によると、無再発生存率は腎部分切除術が優れている(リスク比:0.37, 95% CI:0.15-0.89)が、アブレーション治療を繰り返すことにより二次的有効性は同等になり、癌特異的生存率、無転移生存率、全生存率は同等である。また、腎機能の低下、慢性腎疾患の発生率、合併症発生率は同等であるが、失血量、輸血率、開放手術への移行率、入院期間といった周術期のアウトカムはアブレーション治療のほうが優れていることが示されている。

②合併症

重篤な合併症の発生率は、腎癌凍結療法では0～7.5%^{6,9)}、RFAでは0～6%、腎部分切除術では4～30%と報告されている。

凍結療法とRFAでは全体の発生率は同等であるが、前者では血尿、出血が多く、後者では尿路狭窄、尿路損傷、神経損傷が多い。そのため、凍結療法では出血および播種の予防に術前塞栓術を併用することも多い。神経損傷は肋間神経あるいは陰部大腿神経の損傷が多いが、永続的な傷害はRFAで多く、凍結療法ではほとんどが一過性のものといわれている。凍結療法に特有な合併症としてcryoshockとIce ball crackingが知られている。前者は肝臓の広範囲の凍結治療で発生することがあり、細胞内壊死物質の放出によりクッパー細胞が刺激され、放出された炎症促進性メディエーターにより全身性炎症反応症候群、播種性血管内凝固、多臓器不全、さらには死亡を引き起こすものである。後者は凍結領域に亀裂を生じるもので、解凍後に出血するおそれがある。

③凍結療法の適応と治療アルゴリズムにおける位置づけ

現在、Stage I・IIの腎癌に対する標準治療は外科的切除とされている。小径腎癌に対する腎部分切除術と腎摘除術の治療成績の比較では、制癌性は同等であるが、腎摘除術では腎機能障害による合併症等により全生存率が低下することが示されている。そのため、慢性腎臓病の予防の観点から腎機能温存が重要視されるようになり、腎部分切除術の適応が拡大している。2017年7月に改訂された腎癌診療ガイドラインでも、4cm以下のT1a腫瘍はできる限り腎部分切除術を実施するように推奨されている。

また、pT1腎癌のリンパ節転移の頻度は1.1%と低く、リンパ節郭清の有無はoncologic outcomeに影響しないため、画像上リンパ節転移を認めない場合にはリンパ節郭清は不要とされている。このような腎癌の生物学的態様はアブレーション治療にも適したものであると考えられる。

アブレーション治療は外科的切除と比較して、合併症発生率の低減、周囲組織や機能の維持、入院期間の短縮、poor surgical candidateに対する治療が可能などの利点もあるが、初回治療における腫瘍残存や再発が多く、再治療率が高いという欠点がある³⁾。腎部分切除術とのランダム化比較試験は存在せず、凍結療法の治療成績が腎部分切除術を上回ることを示した報告もない。

これらの結果から凍結療法は小径腎癌に対するオプシオンの治療として位置づけられており、良い適応は、4cm未満のT1a腎癌(3cm以下であればさらに良い)、外科手術の施行が困難な患者(高齢、重篤な合併症を有するhigh risk患者)、腎機能の温存が必要な患者(慢性腎障害、単腎、両側腎癌、von Hippel-Lindau病あるいはBirt-Hogg-Dube症候群などの多発腎癌の遺伝的素因)、外科手術を希望しない患者とされている。

一方、禁忌と考えられるのは、著しい凝固異常(PT<50%, 血小板数<60,000/mm³)を有する患者であり、抗血小板剤や抗凝固薬を投与されている患者では休薬が必要になる。しかし、高齢で期待余命の短い患者では、監視療法と外科的切除の癌特異的生存率は同等なので、薬剤休止による脳梗塞や心筋梗塞などの合併症発生リスクを十分に考慮した上で適応を判断する必要がある。低肺機能、低腎機能などは必ずしも除外されない。嚢胞性腎癌についてはアブレーション治療を施行している施設も多いが、播種の可能性などについて懸念もあり、American Urological Associationガイドラインではさらなる検討が必要とされている。

④治療手技

凍結療法は治療中の疼痛がほとんどないため局所麻酔下で施行できる。まず、CTを撮像してニードルのサイズ、本数、穿刺ルートなどの治療計画を確認し、皮膚マーキングする。消毒後にドレープと手術用フィルムで被覆し完全防水にする。清潔野が整ったら凍結ニードルのガス漏れなどの安全性を確認する。その後局所麻酔を行い、画像誘導下に凍結ニードルを計画通りに刺入する。腸管などの重要臓器がニードルに近接し、凍結による損傷の発生が危惧される場合には、これらの間に希釈造影剤を注入して距離を確保している(hydrodissection法)(図4)。central typeの腫瘍は穿刺時に腫瘍の同定が困難である。また、大きな腫瘍や多血性の腫瘍では出血のリスクが高くなる。そこで、これらの腫瘍の場合にはあらかじめリビオドール+エタノール混合液にて塞栓と腫瘍のマーキングを施行している(図5)。予定通りニードルが配置できたところで、凍結(15分)－自然解凍(5分)－凍結(10～15分)－解凍の2サイクル凍結を行う。凍結中は冷却

されたニードル周囲の皮膚に凍傷を発生する恐れがあるため、刺入部には加温生食を持続的に滴下している (図6)。凍結開始から5分ごとにCTを撮像してice ballの範囲と合併症の有無を確認し、2サイクル凍結後十分な凍結マージンが確保されていれば抜針して終了する。

腎癌では治療効果の判定は造影CTまたは造影MRIで行う (図7)。壊死領域は造影されず、腫瘍内に造影効果を認めれば腫瘍残存と判定する。ただし、凍結療法では治療後早期には治療されていても腫瘍の濃染が持続することがあり、その頻度は2~3日後で60%、5~7日後で52%、1ヶ月後で4%と報告されている¹⁰⁾。2017年8月現在、当院では7名の腎癌患者に凍結療法を施行し、1ヶ月後の治療効果判定を実施した6名では明らかな腫瘍の残存を認めなかった。今後、6ヶ月から1年毎に造影CTまたは造影MRIにて経過観察を続けていく予定である。

5. 凍結免疫と今後の展開

①アブレーション治療と腫瘍免疫

原発腫瘍の凍結療法後に転移性腫瘍が退縮することがある。これは直接的な細胞傷害作用ではなく未治療の腫瘍組織に対する免疫反応の活性化によるものと考えられ

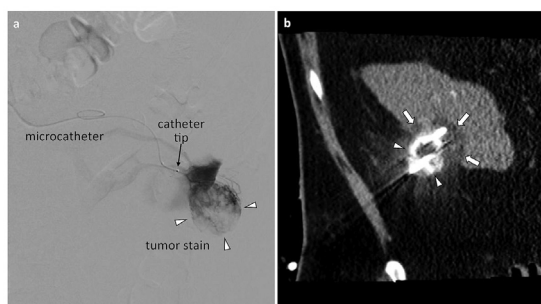


図5. TAE/Lipiodol marking

- a. DSA (左腎動脈分枝造影)
b. CT (斜冠断像：凍結中)

腎癌 (矢頭) の栄養動脈までマイクロカテーテルを選択的に挿入し、Lipiodol+ethanolにて動脈塞栓と腫瘍のマーキングを施行した。治療時のCTでマーキングされた腫瘍 (矢頭) が明確に同定できる。腫瘍 (矢頭) は凍結領域 (白矢印) に内包され、凍結マージンも十分である。

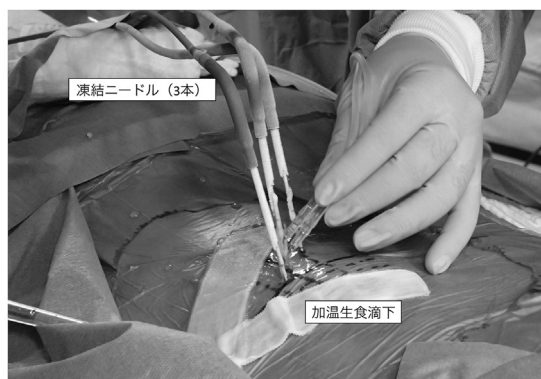


図6. 凍結中の皮膚凍傷予防

凍結中はニードル周囲の皮膚の凍傷予防のため、加温生食を持続的に滴下している。

ている。外科切除術と異なりアブレーション治療では細胞死を来した腫瘍塊が局所にとどまるため、壊死した腫瘍細胞から腫瘍抗原や熱ショック蛋白、DNA、RNA、尿酸、High Mobility Group Box 1等のdanger signalが放出される。また、組織障害に反応してInterleukin (IL)-1 β 、IL-6、IL-8およびTumor necrosis factor (TNF)- α といった炎症性サイトカインが誘導され、凍結療法では顕著に上昇する¹¹⁾。一方、腫瘍細胞からはIL-10やTransforming growth factor (TGF)- β といった抑制性サイトカインも放出される¹¹⁾。

樹状細胞は放出された腫瘍抗原を取り込みサイトカインやdanger signalにより成熟する。成熟した樹状細胞はMHC分子を介してT細胞に抗原提示を行い腫瘍特異的免疫反応が惹起されるが、この抗原提示能はRFAより凍結療法の方が優っている¹²⁾。RFAでは熱により腫瘍抗原蛋白に変性が起こること、熱凝固により組織が固定され十分な抗原蛋白が体循環中に流れ出ないことが原因と考えられている¹³⁾。抗原提示により腫瘍特異的T細胞が活性化され、細胞傷害性T細胞 (CTL) は細胞傷害物質であるパーフォリン、グランザイム、TNFなどを放出し、腫瘍細胞を攻撃する。ヘルパーT細胞 (Th) も活性化され、Th1細胞はIL-2やIFN- γ を産生することでCTLの働きを補助する。

一方、アブレーション治療はT細胞を抑制する方向に

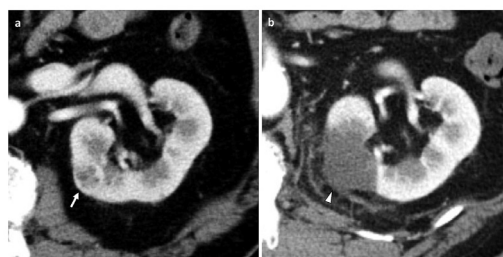


図7. 凍結療法後の効果判定および経過観察

- a. 治療前ダイナミックCT (動脈優位相)
b. 治療後ダイナミックCT (動脈優位相)
治療前は左腎背側の腎癌 (矢印) に明瞭な早期濃染を認めるが、治療後の腫瘍 (矢頭) には明らかな濃染を指摘できない。

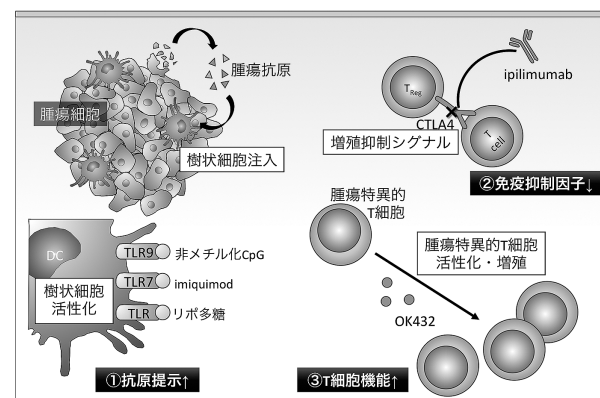


図8. アブレーション治療との併用における免疫療法のターゲット
TLR: Toll様受容体, T_{Reg}: 制御性T細胞, CTLA4: 細胞傷害性Tリンパ球抗原4

も作用する。自己抗原の放出や樹状細胞による danger signal を伴わない apoptosis 細胞の取り込みは末梢性免疫寛容を誘導する。また、腫瘍細胞から放出された IL-10 や TGF- β といった抑制性サイトカインは、制御性 T 細胞 (T_{Reg}) や骨髄由来免疫抑制細胞といった免疫抑制性細胞を誘導し、免疫寛容に導かれることがある。

②アブレーション治療と免疫療法の相乗作用

アブレーション治療単独で刺激される免疫応答では腫瘍塊を完全に消滅させるだけの力はない。そこで、抗腫瘍反応を増強させることを目的としたアブレーション治療との各種併用療法が前臨床段階で試みられており、①抗原提示を高める方法、②免疫抑制因子を抑える方法、③ T 細胞の機能を高める方法などがある (図8)。

抗原提示を行う樹状細胞は補助免疫療法のよいターゲットになる。樹状細胞の細胞膜上の Toll 様受容体 (Toll-like receptor, TLR) は様々な経路で樹状細胞を活性化させる。例えば、非メチル化 CpG は TLR9 を介して、imiquimod は TLR7 を介して、リポ多糖は TLR を介して樹状細胞を活性化させ、それぞれ凍結療法との併用により腫瘍免疫応答の増強が得られたことが報告されている。体外で樹状細胞を培養し、活性化させてから再注入する方法や無感作樹状細胞を注入してアブレーション誘発壊死で放出された腫瘍抗原により効果的に生体内で腫瘍ワクチンを生産する方法も RFA との併用で試みられている。

T_{Reg} 細胞は腫瘍抗原に対する免疫寛容を促進することがある。発現されている受容体の1つが細胞傷害性 T リンパ球抗原4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 : CTLA4) であるが、これは T リンパ球増殖に抑制シグナルを送り抗腫瘍応答を下方制御させる。阻害抗体である ipilimumab を用いて CTLA4 をブロックすることにより抗腫瘍免疫が増強されることが示されている¹⁴⁾。

腫瘍特異的 T 細胞は OK-432 の注入により活性化し、腫瘍の退縮を引き起こすことが動物モデルで示されている¹⁵⁾。抗腫瘍抗体と IL-2 を組み合わせることで抗腫瘍 T 細胞活性を増強させる方法や RFA 後に IL-7 と IL-15 の局注を行う方法も報告されている。

6. おわりに

凍結療法は非侵襲的な局所療法であるが、免疫反応への作用も注目されている。全身の抗腫瘍効果の増強が得られるとすれば多くの患者に恩恵を与えることになり、局所療法としてのアブレーション治療が新たな局面を迎えることになると考えられる。

参 考 文 献

1) Lovelock JE. The haemolysis of human red blood-cells by freezing and thawing. *Biochimica et biophysica acta*. 1953;10(3):414-26.

2) Sabel MS. Cryo-immunology: a review of the literature and proposed mechanisms for stimulatory versus suppressive immune responses. *Cryobiology*. 2009;58(1):1-11.

3) Ahmed M, Brace CL, Lee FT, Jr., et al. Principles of and advances in percutaneous ablation. *Radiology*. 2011;258(2):351-69.

4) Georgiades C, Rodriguez R. Renal tumor ablation. *Techniques in vascular and interventional radiology*. 2013;16(4):230-8.

5) Buy X, Lang H, Garnon J, et al. Percutaneous renal cryoablation: prospective experience treating 120 consecutive tumors. *AJR American journal of roentgenology*. 2013;201(6):1353-61.

6) Georgiades CS, Rodriguez R. Efficacy and safety of percutaneous cryoablation for stage 1A/B renal cell carcinoma: results of a prospective, single-arm, 5-year study. *Cardiovascular and interventional radiology*. 2014;37(6):1494-9.

7) Kunkle DA, Uzzo RG. Cryoablation or radiofrequency ablation of the small renal mass : a meta-analysis. *Cancer*. 2008;113(10):2671-80.

8) Pierorazio PM, Johnson MH, Patel HD, et al. AHRQ Comparative Effectiveness Reviews. Management of Renal Masses and Localized Renal Cancer. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2016.

9) Zargar H, Atwell TD, Cadeddu JA, et al. Cryoablation for Small Renal Masses: Selection Criteria, Complications, and Functional and Oncologic Results. *European urology*. 2016;69(1):116-28.

10) Takaki H, Nakatsuka A, Cornelis F, et al. False-Positive Tumor Enhancement After Cryoablation of Renal Cell Carcinoma: A Prospective Study. *AJR American journal of roentgenology*. 2016;206(2):332-9.

11) Erinjeri JP, Thomas CT, Samoilia A, et al. Image-guided thermal ablation of tumors increases the plasma level of interleukin-6 and interleukin-10. *Journal of vascular and interventional radiology : JVIR*. 2013;24(8):1105-12.

12) den Brok MH, Suttmuller RP, Nierkens S, et al. Efficient loading of dendritic cells following cryo and radiofrequency ablation in combination with immune modulation induces anti-tumour immunity. *British journal of cancer*. 2006;95(7):896-905.

13) Jansen MC, van Hillegersberg R, Schoots IG, et al. Cryoablation induces greater inflammatory and coagulative responses than radiofrequency ablation or laser induced thermotherapy in a rat liver model. *Surgery*. 2010;147(5):686-95.

14) Waitz R, Solomon SB, Petre EN, et al. Potent induction of tumor immunity by combining tumor cryoablation with anti-CTLA-4 therapy. *Cancer research*. 2012;72(2):430-9.

15) Hamamoto S, Okuma T, Yamamoto A, et al. Radiofrequency ablation and immunostimulant OK-432: combination therapy enhances systemic antitumor immunity for treatment of VX2 lung tumors in rabbits. *Radiology*. 2013;267(2):405-13.