

Title	膵腫瘍に対する凍結融解壊死療法の臨床応用に向けた基礎的研究
Sub Title	Experimental study for the clinical application of cryosurgery for pancreatic tumors
Author	北郷, 実(Kitagō, Minoru) 板野, 理(Itano, Osamu) 中塚, 誠之(Nakatsuka, Seishi) 松田, 祐子(Matsuda, Sachiko) 大西, 彰(Ōnishi, Akira) 淵本, 大一郎(Fuchimoto, Daiichirō)
Publisher	
Publication year	2018
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2017. )
JaLC DOI	
Abstract	<p>膵腫瘍疾患に対する最も治療効果の高い治療法は切除による外科手術であるが、膵臓の外科手術は高侵襲かつ術後合併症の頻度が高いことで知られる。そこで我々は治療効果が高くかつ低侵襲である局所療法として期待される凍結融解壊死療法を膵臓に応用するため、その安全性と有効性を検討し、臨床応用に向けた基礎的エビデンスの創出を目的として実験を行った。ブタを用いた実験により、本手法は開腹または腹腔鏡手技で安全に実施可能であり、有効な膵組織の壊死が得られること、少なくとも膵炎を含めた重篤な合併症を引き起こさないことが示され、実臨床における治療選択肢に応用しうる可能性が示唆された。</p> <p>The treatment of pancreatic tumor is mainly surgery. However, pancreatic resection involves a high perioperative complication rate. Cryoablation is a potentially less invasive locoregional ablation modality that has been used to treat malignancy in various organs. We conducted experiments to evaluate the efficacy and safety of this method.</p> <p>The experiments included assessment of acute-phase response, procedural availability, and evaluation of postprocedural course. Cryoablation of porcine pancreas was technically practicable by both open and laparoscopic approaches. Histological findings proved that the pancreatic tissue was effectively necrotized by cryoablation and that the degree of necrosis was more severe in proportion to the distance from the freeze center. Serum amylase and lipase levels showed transient elevations shortly after the procedure, followed by rapid decrease to normal level, indicating that the cyroablation of the pancreas did not cause severe pancreatitis.</p>
Notes	研究種目：基盤研究(C)(一般) 研究期間：2015～2017 課題番号：15K10196 研究分野：外科
Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_15K10196seika">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_15K10196seika</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10196

研究課題名(和文) 膵腫瘍に対する凍結融解壊死療法の臨床応用に向けた基礎的研究

研究課題名(英文) Experimental study for the clinical application of cryosurgery for pancreatic tumors

研究代表者

北郷 実 (Kitago, Minoru)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師

研究者番号：70296599

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：膵腫瘍疾患に対する最も治療効果の高い治療法は切除による外科手術であるが、膵臓の外科手術は高侵襲かつ術後合併症の頻度が高いことで知られる。そこで我々は治療効果が高くかつ低侵襲である局所療法として期待される凍結融解壊死療法を膵臓に応用するため、その安全性と有効性を検討し、臨床応用に向けた基礎的エビデンスの創出を目的として実験を行った。ブタを用いた実験により、本手法は開腹または腹腔鏡手技で安全に実施可能であり、有効な膵組織の壊死が得られること、少なくとも膵炎を含めた重篤な合併症を引き起こさないことが示され、実臨床における治療選択肢に応用しうる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The treatment of pancreatic tumor is mainly surgery. However, pancreatic resection involves a high perioperative complication rate. Cryoablation is a potentially less invasive locoregional ablation modality that has been used to treat malignancy in various organs. We conducted experiments to evaluate the efficacy and safety of this method.

The experiments included assessment of acute-phase response, procedural availability, and evaluation of postprocedural course. Cryoablation of porcine pancreas was technically practicable by both open and laparoscopic approaches. Histological findings proved that the pancreatic tissue was effectively necrotized by cryoablation and that the degree of necrosis was more severe in proportion to the distance from the freeze center. Serum amylase and lipase levels showed transient elevations shortly after the procedure, followed by rapid decrease to normal level, indicating that the cryoablation of the pancreas did not cause severe pancreatitis.

研究分野：外科

キーワード：膵腫瘍 局所療法 凍結融解壊死療法 開腹手術 腹腔鏡下手術 膵炎

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 膵腫瘍性に対する外科的治療の問題点

膵癌をはじめとする膵腫瘍疾患の治療において、最も治療効果の高い治療法は切除による外科手術である。しかしながら、膵臓の外科手術は難易度が高く、また高侵襲かつ術後合併症の頻度が高いことで知られる。このため本領域において外科手術に代わる、局所根治性が高く、低侵襲性かつ機能温存も兼ね揃えた治療法が確立されれば、その意義は非常に大きいと言える。

### (2) Cryoablation について

Cryoablation (凍結融解壊死療法) は組織を凍結・融解させることによる組織障害を治療に応用するものである(図1)。この手法は種々の腫瘍性疾患に対する局所療法として既に実臨床で応用されている。Cryoablation では液体窒素による低温や Joule-Thomson 効果を用いた超低温が治療に用いられており、後者にはアルゴンガスによる急速な凍結とヘリウムガスによる急速な融解による一連の温度変化が広く利用されている。

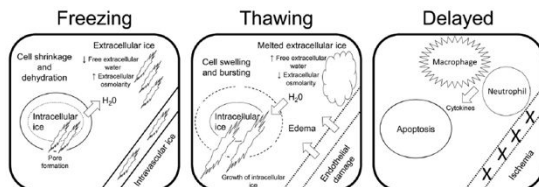


図1. Cryoablation による組織障害の原理 (Erinjeri J. J Vasc Interv Radiol 2010).

我々のグループでは、既に実臨床において、肝腫瘍・肺腫瘍に対する Cryoablation を行っており、基礎的実験の成果と併せて報告してきた。ところが本手法を膵臓に応用した報告はこれまでに極めて少なく、周囲に重要臓器や大血管の多い膵臓に対する手技そのものの安全性や、膵組織の凍結による変化、膵炎等の合併症の可能性など、あらゆる情報が欠如した状態にある。そのため、膵臓に対する Cryoablation の実臨床応用のためには、その根拠となる基礎的研究が不可欠である。

## 2. 研究の目的

本研究では、治療効果が高くかつ低侵襲である局所療法として期待される Cryoablation について、この手法がいまだ研究段階である膵腫瘍に目を向け、膵臓に対する Cryoablation の安全性と有効性を検討し、臨床応用に向けた基礎的エビデンスの創出を目的とする。具体的な研究内容としては、(1)Cryoablation を膵組織に対して行った場合にどのような組織変化をきたすのかを解明すること、(2)臨床応用に向けた手技として腹腔鏡下 Cryoablation を実施し評価すること、(3)膵炎や周囲臓器損傷など手技の安全性を確認すること、の3つのテーマを設定したうえで実験を計画した。

## 3. 研究の方法

### (1) 膵臓に対する Cryoablation の条件設定と組織学的評価

膵臓に対する Cryoablation の条件設定の決定を目標に2頭のブタを用いて全身麻酔下・開腹下に Cryoablation を行った。各々膵臓の異なる箇所をアルゴンガス/ヘリウムガスによる Cryoablation system で凍結し、生じた凍結域径の測定を行った。1頭で温度センサーを probe 周囲に放射状に配した装置を用いて手技中の組織の温度変化を測定した(図2)。手技終了直後に膵を摘出し組織学的評価を行った。

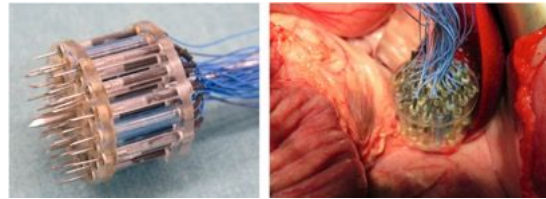


図2. 温度センサーを配した Cryoprobe.

### (2) 腹腔鏡下手術を用いた膵臓への Cryoablation の評価

実臨床への応用を念頭に、腹腔鏡下 Cryoablation を実施しその手技の特色、実施可能性等につき評価した。また開腹下での実験との相同性・相違性を確認と評価を行った。2頭のブタを用いて全身麻酔下に腹腔鏡下 Cryoablation を実施した。手技に際してはカメラポートを含む4ポートを用いて腹腔内で膵臓を露出し、Cryoprobe 挿入および腹腔内温度計測用の温度計挿入のために異なる2ポートを挿入して実施した(図3)。アルゴンガス/ヘリウムガスによる Cryoablation system を用いて凍結し、生じた凍結域および iceball の径の測定、腹腔内温度の測定を行った。手技終了直後に膵を摘出し組織学的評価を行った。



図3. ポート配置.

### (3) 膵臓への Cryoablation の合併症と安全性の評価

膵炎や周囲臓器損傷を含めた、膵臓への Cryoablation の安全性を確認するために、術後に一定期間飼育し、各個体の生存、膵炎などの合併症について評価した。3頭のブタを用いて全身麻酔下・開腹下に液体窒素を凍結源とする Cryoablation を各1箇所行った。各個体は術後21日目に sacrifice されるまでの期間で合併症評価を行い、また術前・術直後および術後1/3/5/7/10/14/21日目の血清 AMY、Lipase を測定した。Sacrifice した個体から得られた膵臓の組織学的評価を行った。

4 . 研究成果

(1)膵臓に対する Cryoablation の条件設定と組織学的評価

全身麻酔下・開腹下に直視で確認しながら膵臓に対する Cryoablation を行った。-160 度 / 5 分間 / 2 サイクルの Cryoablation によって、典型的な iceball の形成はなかったものの膵表面の穿刺部を中心に「凍結域」を生じた。膵尾部の凍結域は 1 サイクル目終了時点で 2.5cm、2 サイクル目終了時点で 3.5cm となった。膵組織の凍結域径は凍結時間の延長、サイクル数の追加、設定温度の低下により各々拡大することが示された ( 図 4 ) 。

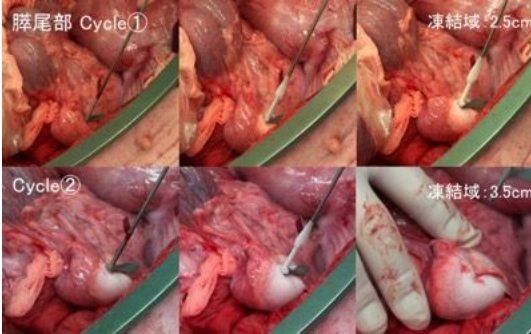


図 4 . 開腹下の膵 Cryoablation における経時の変化と凍結域の形成 .

Cryoablation 後の膵臓は凍結域に一致する部位で肉眼的に暗赤色の色調変化をきたした。Cryoablation 終了直後に摘出した標本をホルマリン固定すると、同じ部位が辺縁明瞭な黒色の領域として認められた ( 図 5 ) 。

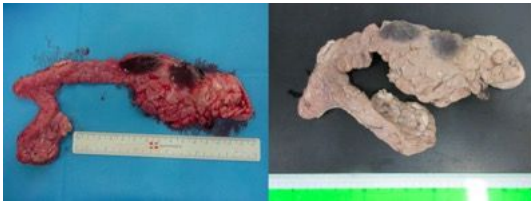


図 5 . 開腹下の膵 Cryoablation 後の膵臓(マクロ) .

HE 染色では、マクロでの肉眼的色調変化に一致して明瞭な境界線で腺房細胞の壊死組織、正常組織がわけられていた。壊死の程度は中心部近くでより高度であり、一方で凍結域の辺縁付近では壊死の程度が弱く、正常細胞が混在している所見を認めた。特に脈管構造については、観察可能であった膵管と血管のいずれも、腺房細胞の壊死正常境界よりも少し中心側 5mm 程度でも完全に構造が保たれていた。穿刺の最も中心部に近い部位では上皮細胞は脱核状態にあるも構造管腔は不完全ながら温存されており、このことから腺房細胞に比して脈管構造は Cryoablation 実施によってもある程度保たれることが示された。この治験は、既に他領域における臨床・基礎で得られている知見に合致するものであった ( 図 6 ) 。

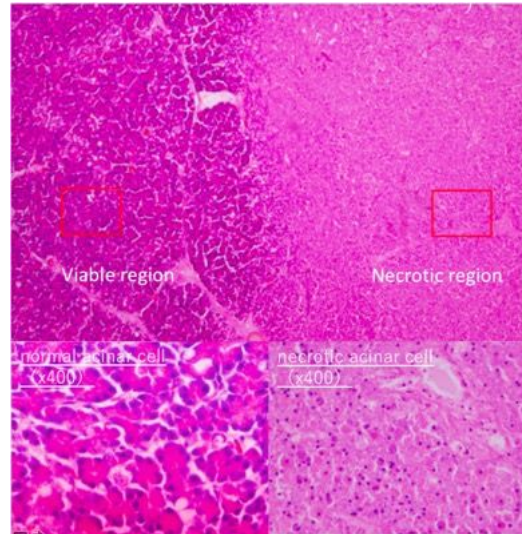


図 6 . 開腹下の膵 Cryoablation 後の膵臓(ミクロ) .

温度センサーを用いた膵臓 Cryoablation の手技中の温度変化を測定した実験では、経時的に穿刺部の超低温域を中心として同心円状に温度が次第に上昇する、即ち Cryoprobe からの距離に比して上昇することが示された。膵表面の凍結域の辺縁と 0 のラインは一致し、0 のラインの径は 1 サイクル目に比して 2 サイクル目で広がること、より長時間での手技によって広がること示された ( 図 7 ) 。この結果は、上記実験における凍結域の径および組織学的評価の所見と対応する結果であった。

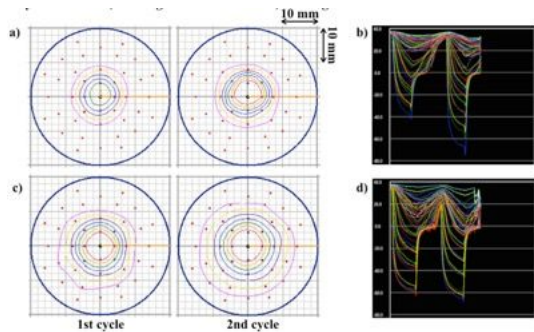


図 7 . 温度センサーを用いた膵 Cryoablation における温度変化の測定 .

(2) 腹腔鏡下手術を用いた膵臓への Cryoablation の評価

腹腔鏡下手術を用いた膵臓への Cryoablation では、4 ポートを用いて通常の腹腔鏡手術と同様に膵表面を露出し、ここにあらたに作成したポート孔から Cryoprobe を挿入・穿刺して手技を行った。開腹手術にして iceball の形成が著明であり、穿刺点を中心に球型の iceball の形成を認めた。この経過を腹腔鏡画面でモニタリングしながら手技を実施可能であり、アプローチとしての feasibility が示された ( 図 8 ) 。

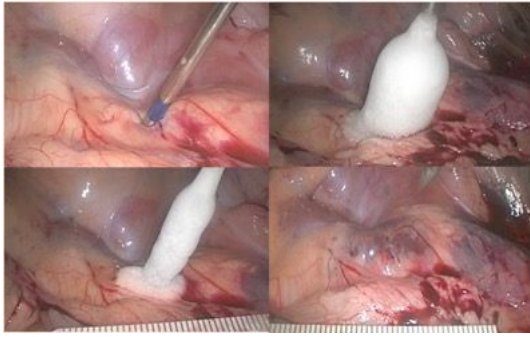


図8. 腹腔鏡下膵Cryoablationにおける経時の変化とiceballの形成.

膵表面の凍結域径、および処置直後に摘出された膵臓の組織学的変化は開腹と同様であった。また手技中に温度計を用いて腹腔内温度をモニタリングしたが著明な温度低下は認めなかった(図9)。

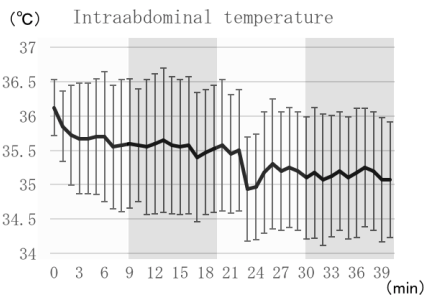


図9. 腹腔鏡下膵臓Cryoablationにおける腹腔内温度の推移.

### (3)膵臓へのCryoablationの合併症と安全性の評価

3頭のブタを用いて全身麻酔下・開腹下に膵臓へのCryoablationを実施し、各々の個体には処置後に通常の飼育が実施された。3頭のブタはいずれも観察期間の21日間生存し、1頭で処置翌日から下痢を認めたが、いずれも良好な体重増加を認めた。血清AMY、Lipaseは処置直後および術後1日目に上昇を認めたが3日目には正常化した。摘出された膵組織標本は、いずれも組織学的には限局した膵組織の壊死領域とそれを取り囲む炎症細胞浸潤が確認された(図10)。

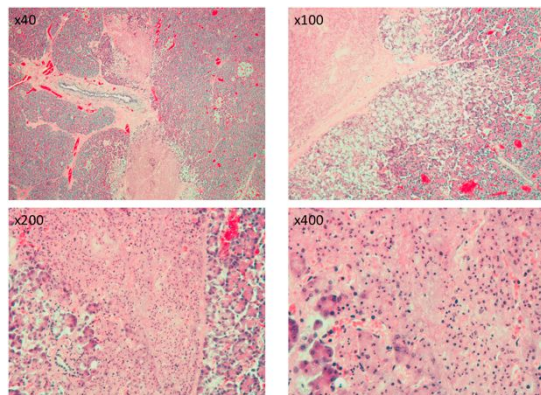


図10. 膵Cryoablation後21日目に摘出された膵標本(ミクロ)。

以上の研究成果から、膵臓へのCryoablationは安全に開腹または腹腔鏡で実施可能であり、また重篤な合併症をきたさない『低侵襲の局所治療法』として、実臨床における治療選択肢に応用しうる可能性が示唆された。

### 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)

〔学会発表〕(計 2 件)

- (1) 今井俊一、北郷実「ブタの膵臓を用いた凍結融解壊死療法の手技に関する基礎的実験」第25回日本消化器外科学会大会、2017年
- (2) 今井俊一、北郷実「The experimental study for procedural availability of cryoablation of porcine pancreas」第28回日本肝胆膵外科学会・学術集会、2016年

### 6. 研究組織

#### (1) 研究代表者

北郷 実 (KITAGO, MINORU)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師

研究者番号: 70296599

#### (2) 研究分担者

板野 理 (ITANO, OSAMU)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師(非常勤)

研究者番号: 90265827

#### (3) 連携研究者

中塚 誠之 (NAKATSUKA, SEISHI)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師

研究者番号: 50188984

松田 祐子 (MATSUDA, SACHIKO)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任講師

研究者番号: 90534537

大西 彰 (ONISHI, AKIRA)

日本大学・生物資源科学部・教授

研究者番号: 30414890

淵本 大一郎 (FUCHIMOTO, DAIICHIRO)

独立行政法人農業生物資源研究所・主任研究員

研究者番号: 10343998