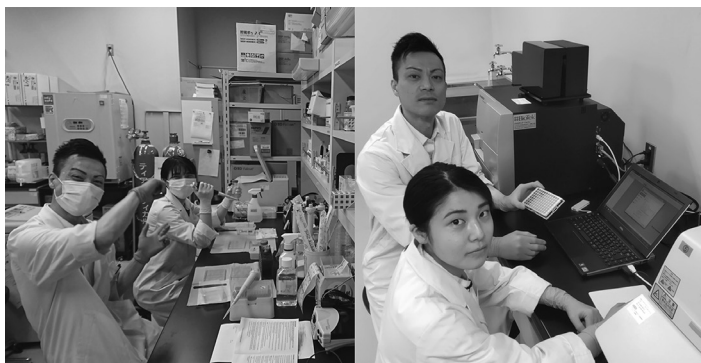


地域の“腹水難民”撲滅を目指した 新規治療標的の探索と治療効果判定のための バイオマーカーの確立

小堀 宅郎 ●大阪大谷大学 薬学部 臨床薬理学講座 助教



ヒト由来癌細胞の増殖活性を測定する様子

要旨

癌性腹膜炎患者にみられる大量の腹水貯留は、腹部膨満感や呼吸苦等を生じて患者の日常生活動作を著しく低下させる。当該患者の中には、腹水に悩み病院を転々とする“腹水難民”の存在も知られている。

難治性腹水に対する新たな治療手段の腹水濾過濃縮再静注法(CART)は、濾過器による採取腹水(原腹水)中の細胞成分の除去と濃縮器による余分な水分除去を組み合わせ、回収腹水(濃縮腹水)を作成して再静注する治療法である。癌性腹水中には様々なサイトカイン類が含まれ、癌の一般症状や生命予後との関連性が解析されている。

一方、原腹水および濃縮腹水中におけるサイトカイン類の残存率は不明であり、それらの再静注による一般症状や生命予後への影響も解明されていない。本研究では、CART施行患者の原腹水、および濃縮腹水中サイトカインレベルの網羅的解析により、濃縮腹水中で濃度変動する因子の探索後、それらがヒト癌細胞の増殖活性へ及ぼす影響の解明を目的として、大阪府—京都府間における多職種協働・地域医療連携型の研究を実施した。

1. 背景と目的

癌性腹膜炎による難治性腹水は、腹腔内圧の亢進による腹部膨満感や嘔気、呼吸苦、嚥下困難等の症状をきたして患者の日常生活動作を著しく低下させる。さらに、大量の癌性腹水に伴う腹部や下背部の強い疼痛症状は、麻薬性鎮痛薬等の薬物療法でも緩和が非常に困難であることから、患者の生きる希望を奪ってしまう場合もある。中には、腹水に苦渋して病院を転々とする“腹水難民”の存在も知られている(写真1)。

難治性腹水に対する新たな治療手段として、腹水濾過濃縮再静注法(CART)が広く普及しつつある。CARTは、患者から採取した腹水(原腹水)を濾過器に通して、血球・癌細胞・細菌等の細胞成分を除去した濾過腹水を調製し、次に濃縮器によって余分な水分の除去を行うことで、タンパク質が濃縮された回収腹水(濃縮腹水)を作成して点滴静注する治療法である(図1)。最近になり、癌性腹水中における炎症促進性あるいは抑制性サイトカイン濃度と癌による一般症状、癌のステージ並びに生命予後との関連性が解析されている。

しかしながら、CART施行時の原腹水および濃縮腹水中における炎症性・抑制性サイトカイン類の残存率は不明であり、それらが再



写真1 CART施行前後における腹部の変化

静注後における腹水量・性状や一般症状並びに生命予後へ及ぼす影響についても解明されていない。そこで本研究では、CART施行時に余剰となった癌患者由来原腹水、および濃縮腹水中におけるサイトカインレベルを網羅的に測定し、CART施行前後で腹水中濃度が変動する因子を探索すると共に、それらがヒト由来癌細胞の増殖活性へ及ぼす影響を明らかにすることを目的として、大阪府—京都府間における多職種協働・地域医療連携型の研究を実施した。

2. 活動の方法

① 原腹水の採取・試験用試料の調製

のおまさクリニックにてCARTを定期的に施行中の癌性腹膜炎患者（膵臓癌4名、卵巣癌、大腸癌、乳癌 各2名、胃癌、肝細胞癌 各1名）より同意を得て、CART施行前後の原腹水および濃縮腹水を分取した。その後、大阪大谷大学薬学部にて各々の腹水を遠心分離して上清（試験用試料）を調製し、 -80°C にて凍結保存した。

② 原腹水および濃縮腹水中サイトカインレベルの網羅的解析

サイトカインアレイキットを用い、原腹水及び濃縮腹水中における102種類のサイトカインレベルを網羅的に測定した（写真2）。

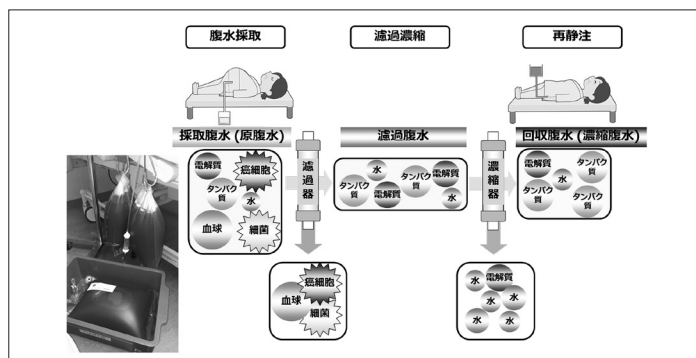
③ 原腹水および濃縮腹水が膵臓癌細胞の増殖活性へ及ぼす影響の解析

ヒト膵臓管状腺癌由来KP-2細胞を96-wellプレートへ播種後、膵臓癌患者由来の原腹水・濃縮腹水上清並びに対照群としてリン酸緩衝食塩水を添加した。2日間培養後、生細胞数測定用の蛍光試薬を添加し、細胞増殖活性を評価した。

3. 現状の成果・考察

本助成金受領後の早期に収集できた膵臓癌患者と卵巣癌患者各2名の原腹水、および

図1 CARTの模式図



濃縮腹水中のサイトカインレベルを網羅的に測定した結果、当初の予想に反し、濃縮腹水中のインターフェロン (IFN) $-\gamma$ 、インターロイキン (IL) -12 等の癌細胞増殖に対して抑制的に作用する因子の濃度が増加した。そこで、まずは膵臓癌患者の原腹水・濃縮腹水について、KP-2細胞の増殖活性へ及ぼす影響を解析した。その結果、CART施行後の濃縮腹水添加群において、対照群と比較してKP-2細胞の増殖活性が有意に低下した。

4. 今後の展望

卵巣癌および大腸癌を含む他の癌種についても、3名分の試験用試料が揃い次第、膵臓癌と同様にそれぞれ対応するヒト由来癌細胞の増殖活性へ及ぼす影響を評価し、癌種間での違いを解析する。また、薬理学的手法を用いた追加実験を行い、研究成果を論文としてまとめて国際誌へ投稿して広く情報発信する予定である。地域の“腹水難民”撲滅を目指して本研究を継続することで、CART施行による治療効果判定のためのバイオマーカーの確立に加え、例えば、癌細胞増殖抑制効果のあるサイトカインを腹腔内へ注入するような新規治療戦略の開発につながる事が期待される。



写真2 腹水中サイトカインレベルの網羅的解析画像 白色のスポットの強度が大きいほど各々のサイトカインレベルが高いことを示している