

# 免疫療法が同時に可能な新しい脊椎がん根治手術の開発

金沢大学 医薬保健学 域機能再建学（整形外科学）

村上 英樹

## 1. はじめに

これまで金沢大学整形外科では、転移性脊椎腫瘍や原発性脊椎悪性腫瘍に対し積極的に根治切除（腫瘍脊椎骨全摘術total en bloc spondylectomy ; TES）を施行し、良好な成績を報告してきた<sup>1-3)</sup>。しかし、このTESはあくまでも局所根治のみを目的とした手術で侵襲の大きなものであった。そのため、その適応は極めて狭く限られ、転移性脊椎腫瘍患者では、2年以上の予後の見込まれる重要臓器転移のない単発性転移症例に対してのみTESの適応があった。我々は脊椎悪性腫瘍患者のさらなる生存率の向上を目指して、これまで局所根治のみを目的としていたTESに腫瘍凍結免疫を応用し、がん免疫の増強が同時に期待できる新しいTESを開発した。この新しいTESの成績を報告する。

## 2. 方法

### 新しいTESの開発

Cryosurgeryの分野では、乳癌や前立腺癌、肝癌、腎癌などのがんの経皮的凍結手術後に遠隔転移巣が縮小あるいは消失するなど全身のがん免疫が増強する現象が以前から知られている<sup>4-6)</sup>。当教室の土屋らはこの腫瘍凍結免疫に着目し、四肢や骨盤の悪性骨腫瘍に対して、がんに侵された骨を切除して体外に取り出し液体窒素処理を施し、再び生体に戻す自家液体窒素処理骨移植を開発した<sup>7)</sup>。その結果からも、がんに対する細胞性免疫活性が術後に明らかに上昇することが証明されている<sup>7-11)</sup>。

我々は、この自家液体窒素処理骨移植による腫瘍凍結免疫をTESに応用することによって、脊椎悪性腫瘍の局所根治のみならず、全身的ながん免疫の増強をも可能にするのではないかと考え、さらなる生存率の向上を目指した新しいTESを開発した。実際に2010年6月より臨床応用を開始している。

### 新しいTESの手術方法

これまでのTESでは、脊椎腫瘍を一塊として切除した後の間隙には、腸骨または腓骨からの自家骨をパッキングした円柱型cageを挿入して脊柱を再建していた。一方、この新しいTESでは、一塊として切除した腫瘍脊椎骨（椎弓と椎体）から、椎間板を含めた周囲の軟部組織と腫瘍部分を搔爬し、その腫瘍脊椎骨を20分間、-196℃の液体窒素で凍結する。その後、凍結処理した腫瘍脊椎骨を小さく砕いて移植骨としてcage内に十分にパッキングする。そのcageを椎体間に挿入してinstrumentationを行い脊柱を再建する（図1）。さらに2011年4月からは、切除した腫瘍組織の一部を凍結して手術終了時に片側の腋窩に皮下移植している。

### 新しいTESの患者と評価

2010年6月から60例に新しいTESを施行した。転移性脊椎腫瘍が53例、原発性脊椎腫瘍が7例である。転移性脊椎腫瘍における原発の内訳は、腎癌13例、乳癌9例、甲状腺癌8例、大腸癌3例、肺癌3例、平滑筋肉腫2例、軟骨肉腫2例、前立腺癌1例、消化管間質腫瘍1例、上咽頭癌1例、胃癌1例、子宮癌1例、食道癌1例、腎盂癌1例、尿管癌1例、骨肉腫1例、血管肉腫1例、原発不明癌3例である。原発性脊椎腫瘍の内訳は、骨巨細胞腫4例、骨肉腫1例、多形癌1例、滑膜肉腫1例である。

60例中、術前に他の遠隔転移を認めた症例が35例（58.3%）で、そのうち15例に肺転移、2例に肝転移、27例に骨転移を認めていた。すなわち、我々はかなりがんの進行した症例にも積極的に新しいTESを施行している。

この新しいTESにおける術前後のがん免疫の増強効果を評価するために、術前と術後1ヶ月、3ヶ月に末梢血から採血を行い、サイトカイン（IL-12）を測定した。通常、液体窒素処理してapoptosisに陥ったがん細胞はがん抗原を提示する。樹状細胞はそのがん抗原を取り込み、抗原提示細胞としてIL-12を産生する。IL-12は直接的にnatural killer cellやcytotoxic T lymphocyteを増殖・活性化し、さらにはtype 1 helper T cell（Th1）を誘導し、増殖・活性化することでTh1によるnatural killer cellやcytotoxic T lymphocyteの活性化も促す。そしてがん細胞を攻撃する。術前と術後に採血可能であった症例は60例中52例で、うち26例は腋窩に腫瘍を移植した症例である。

また、術後半年、1年、1年半、2年の時点で、液体窒素処理骨の骨癒合の状態や、腫瘍の局所再発の有無、全身の転移の状態について、CT、MRI、FDG-PETなどを用いて追跡調査を行った。

### 3. 結果

52例中38例（73.1%）で術後のIL-12値の上昇を認めた。各症例における術前のIL-12値を100として術後の増減を評価した結果、52例のIL-12は術後1ヶ月で平均261、術後3ヶ月で421と有意に漸増していた（図2）。腫瘍を腋窩に移植していない26例では術後1ヶ月で280、術後3ヶ月で373であったのに対し（図3）、移植した26例では術後1ヶ月で242、術後3ヶ月で471であり（図4）、腫瘍を腋窩に移植した群で術後3ヶ月のIL-12の上昇率が高かった。

全60例中10例は他の転移巣の増大により術後平均10.9ヶ月（4-20ヶ月）で死亡した。生存している50例中、16例がdisease freeで、34例がalive with diseaseである。また、凍結処理骨や凍結腫瘍組織の移植による有害事象は認めなかった。

経過中に転移巣の増大や新たな転移巣の出現を認めた症例は60例中33例であった。経過観察期間は最長でも30ヶ月と短い、残る27例は新たな転移やすでに存在する転移巣の増大を認めていない。この27例中16例は術前から他に遠隔転移のない症例で、4例は術前に認めた肺転移の増大なく、また、8例で術前から存在する骨転移の増大を認めていない。

術後になんら他の治療をしていないにもかかわらず転移巣の縮小や腫瘍マーカーの減少を認めた症例が3例あった。甲状腺癌の脊椎転移の2例でサイログロブリン値の減少を認め、乳癌の脊椎転移の1例では、術後に腋窩リンパ節転移の縮小を認めた。

### 4. 考察

TESはその手技が年々改良され侵襲が小さくなってきていたが、さらに新しいTESは、これまでのような腸骨や腓骨などからの大量の採骨を必要としないために、手術時間が短く、周術期の出血量も少なく、術後の採骨部痛もない。新しいTESではさらに手術侵襲が小さくなった。

そして新しいTESは、腫瘍に侵された脊椎骨を液体窒素で凍結し腫瘍細胞を死滅させた上で再び生体に戻すことによって患者のがんに特異的な免疫増強が期待できる。今回の結果から、術後にIL-12の有意な上昇が確認され、新しいTESにより患者のがん免疫が実際に増強していることが示唆された。また、凍結腫瘍組織の腋窩移植を追加することでさらにがん免疫の増強が期待できることが分かった。特に転移性脊椎腫瘍患者では、がんは細胞レベルですでに全身に播種されているものと推測できる。そのため、新しいTESにより局所根治に加えて画像で捉えられないレベルも含めた転移巣に対する全身的治療も同時に行うことができることは正に一石二鳥で、転移性脊椎腫瘍患者にとって願ったり叶ったりである。今後は、新しいTESにより脊椎悪性腫瘍患者のさらなる生存期間延長が期待できる。

手術適応に関しては、これまでのTESの適応は主要臓器転移がなく、転移であれば単発の脊椎転移という非常に限られたものであった。しかし、これからは肺転移や肝転移などの主要臓器転移がすでに存在する症例や多発骨転移の症例に対しても、患者や家族と十分に相談した上で、免疫増強効果を期待して新しいTESを行っても良いのではないかと考えている。

最後に、我々の開発した新しいTESでは、樹状細胞を介して患者のがんに特異的なT細胞が誘導され、抗腫瘍効果を発揮することが期待されるため、脊椎悪性腫瘍の局所根治だけでなく、生存期間延長の可能性がある。

## 5. 発表論文、参考文献

### 発表論文

- Murakami H, Demura S, Kato S, Nishida H, Yoshioka K, Hayashi H, Inoue K, Ota T, Shinmura K, Yokogawa N, Fang X, Tsuchiya H. Increase of IL-12 following Reconstruction for Total En Bloc Spondylectomy Using Frozen Autografts Treated with Liquid Nitrogen. *PLoS One* 8: e64818, 2013
- Murakami H, Kato S, Demura S, Yoshioka K, Hayashi H, Inoue K, Ota T, Shinmura K, Yokogawa N, Fang X, Tsuchiya H. Novel Reconstruction Technique Using a Frozen Tumor-bearing Vertebra From a Total En Bloc Spondylectomy for Spinal Tumors. *Orthopedics* 36: 605-607, 2013
- 村上英樹、出村諭、加藤仁志、吉岡克人、林寛之、井上啓、太田敬、新村和也、横川文彬、石井孝佳、方向、西田英司、土屋弘行. 第42回日本脊椎脊髄病学会優秀論文集 癌免疫増強効果が期待できる新しい腫瘍脊椎骨全摘術. *J Spine Res* 4: 1346-1350, 2013
- Murakami H, Kato S, Ueda Y, Fujimaki Y, Tsuchiya H. Reconstruction using a frozen tumor-bearing vertebra in total en bloc spondylectomy can enhance antitumor immunity. *Eur Spine J*. 2013 Oct 5. [Epub ahead of print]

### 参考文献

1. Tomita K, Kawahara N, Baba H, et al : Total en bloc spondylectomy for solitary spinal metastasis. *Int Orthop* 18 : 291-298, 1994.
2. Tomita K, Kawahara N, Murakami H, et al : Total en bloc spondylectomy for spinal tumors: improvement of the technique and its associated basic background. *J Orthop Sci* 11 : 3-12, 2006.
3. Kawahara N, Tomita K, Murakami H, et al : Total en bloc spondylectomy for spinal tumors: surgical techniques and related basic background. *Orthop Clin North Am* 40 : 47-63, 2009.
4. Ablin RJ, Soanes WA, Gonder MJ, et al : Prospects for cryo-immunotherapy in case of metastasizing carcinoma of the prostate. *Cryobiology* 8 : 271-279, 1971.
5. Sabel MS, Nehs MA, Su G, et al : Immunologic response to cryoablation of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 90 : 97-104, 2005.
6. Osada S, Imai H, Tomita H, et al : Serum cytokine levels in response to hepatic cryoablation. *J Surg Oncol* 95 : 491-498, 2007.
7. Tsuchiya H, Wan SL, Sakayama K, et al : Reconstruction using an autograft containing tumor treated by liquid nitrogen. *J Bone Joint Surg* 87-B : 218-225, 2005.
8. Nishida H, Yamamoto N, Tanzawa Y, et al : Cryoimmunology for malignant bone and soft-tissue tumors. *Int J Clin Oncol* 16 : 109-117, 2011.
9. Tsuchiya H, Nishida H, Srisawat P, et al : Pedicle frozen autograft reconstruction in malignant bone tumors. *J Orthop Sci* 15 : 340-349, 2010.
10. Kawano M, Nishida H, Nakamoto Y, et al : Cryoimmunologic antitumor effects enhanced by dendritic cells in osteosarcoma. *Clin Orthop Relat Res* 468 : 1373-1383, 2010.
11. Nishida H, Tsuchiya H, Tomita K : Re-implantation of tumour tissue treated by cryotreatment with liquid nitrogen induces anti-tumour activity against murine osteosarcoma. *J Bone Joint Surg* 90-B : 1249-1255, 2008.