

Effects of cardiopulmonary bypass on in vitro proliferation of human pancreatic cancer cells and plasma growth factor levels



Seidai Katagiri^{1†}, Tomoaki Itaya^{1*†}, Makoto Sano¹, Naoto Kiuchi¹, Yuta Toyoshima¹, Shunichi Takagi¹ and Takahiro Suzuki¹

人工心肺が成長因子関連サイトカインとヒト膵癌細胞の増殖に及ぼす影響

背景

- ▶ 近年、心臓疾患と癌を併発する患者が増加しているが、心臓手術と癌手術のどちらを先行するかは、施設や麻酔科医によって決定されている。
- ▶ 人工心肺(CPB)の使用により…
 - ▶ IL-6、IL-8、TNF α が上昇する。
 - ▶ 悪性黒色腫、肺癌の発生率が増加する。(vs. off-pump)
 - ▶ 患者血清の肺癌細胞の増殖抑制作用が減少する。(in vitro)
- ▶ 膵管腺癌(PDAC)は5年生存率も低く、切除可能例では手術が治療の第一選択となる。
- ▶ 本研究では、心臓手術患者の血液を用いてCPBが成長因子関連サイトカインの変化、in vitroで膵癌細胞の増殖に及ぼす影響を評価した。

方法(対象)

- ▶ 弁置換・弁形成術を受ける20-79歳の患者10人。
- ▶ 除外基準
 - ▶ ASA risk \geq IV
 - ▶ 感染症(感染性心内膜炎など)
 - ▶ 重度の肝・腎機能障害
 - ▶ コントロール不良の糖尿病
 - ▶ ステロイドの投与
 - ▶ 2nd pump run

方法(麻酔・CPB)

- ▶ 麻酔導入: プロポフォール、フェンタニル、レミフェンタニル
- ▶ 麻酔維持: セボフルラン or プロポフォール

- ▶ CPB回路: ソリン レボリューション 遠心血液ポンプ
テルモ CAPIOX FX25 アドバンス酸素供給器
- ▶ プライミング液: 晶質液(1000-1500 ml)、HES溶液 500 ml
- ▶ 心筋保護液: 晶質液(KCl 10 mEq、マンニトール15%)、患者血液
- ▶ 体温: 32-34°C(中等度低体温)

方法(解析法)

- ▶ CPB前群: 正中切開後 - ヘパリン投与前に動脈ラインより血液を回収。
- ▶ CPB後群: CPB離脱後にポンプ残血より血液を回収。
- ▶ 回収した血液を遠心分離→血漿: サイトカインアレイ、血清: 膵癌細胞の増殖アッセイ

- ▶ サイトカインアレイ: RayBio® Growth Factor for Human Cytokine Antibody Array

- ▶ 増殖アッセイ

細胞株: PANC-1、PK-1

培養液: D-MEM(10%FBS+1%ペニシリンストレプトマイシン)

アッセイ法: MTSアッセイ 吸光度490nm

96wellに 7×10^3 cells/wellに患者血清を30%添加

48時間インキュベート

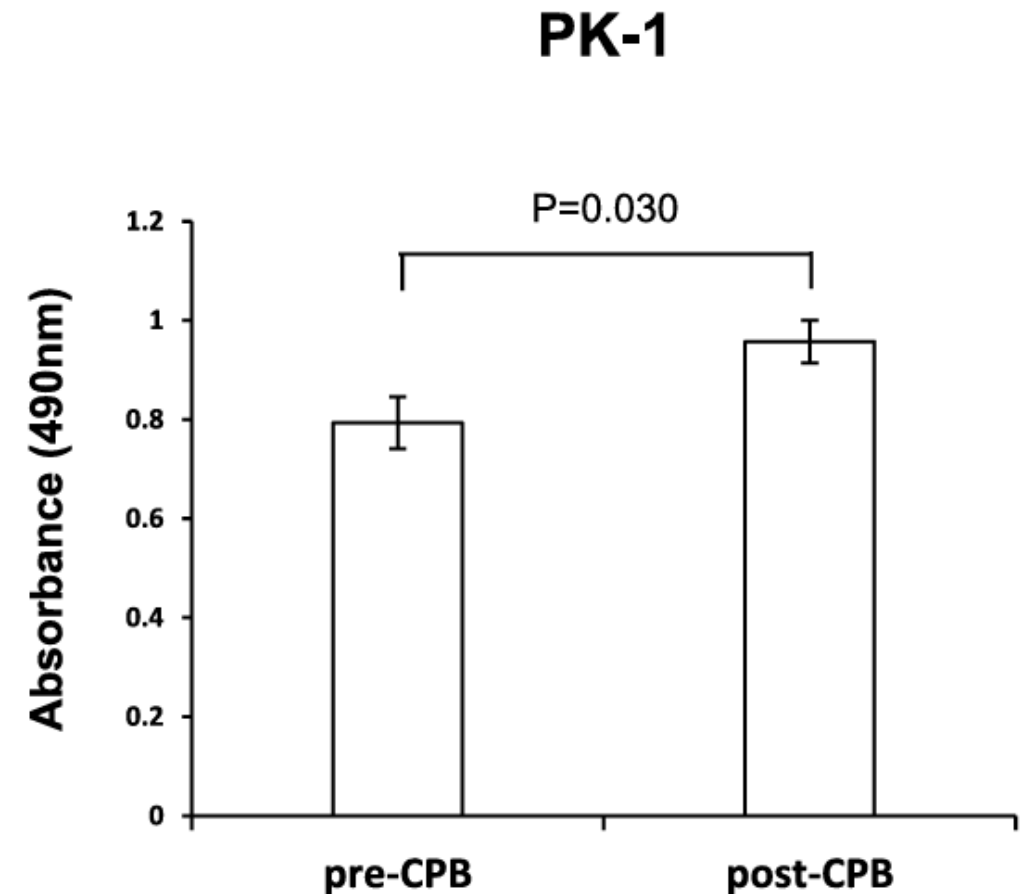
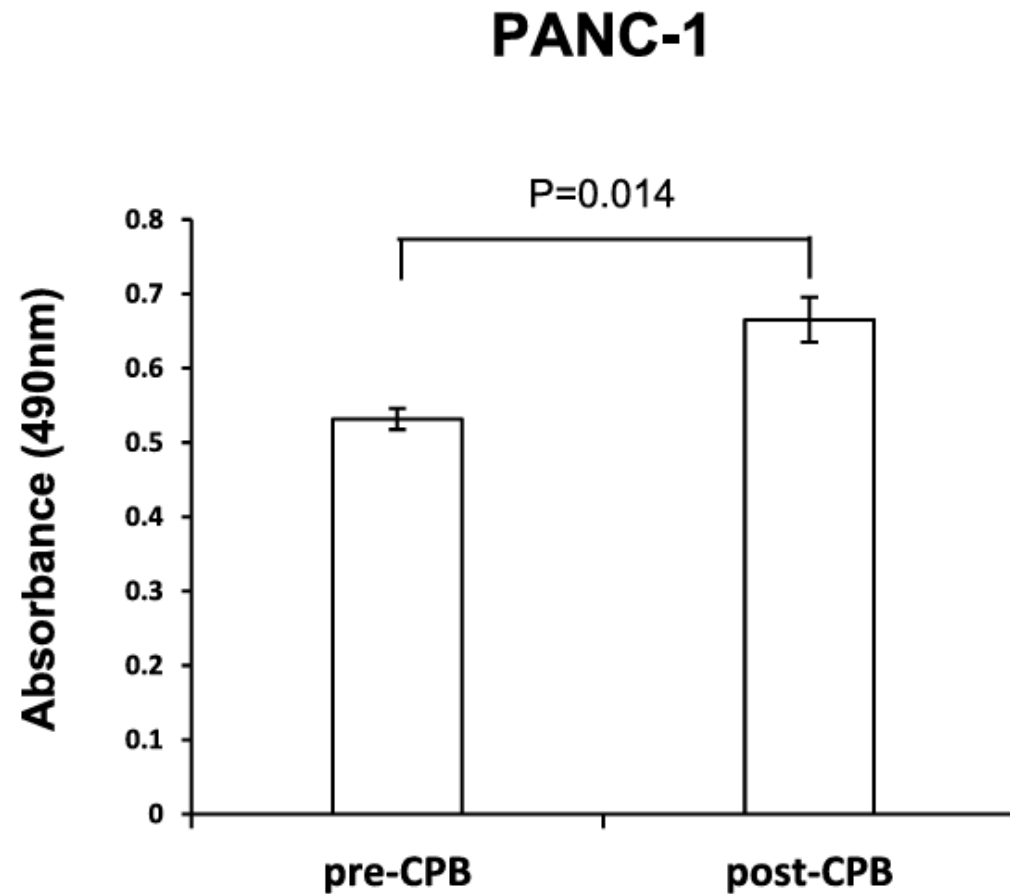
結果(患者背景)

Table 1 Patient characteristics

Sex (male / female)	4 / 4
Age (years)	61 ± 10
Height (cm)	161 ± 10
Body weight (kg)	67 ± 5
Operation (min)	270 ± 69
Anesthesia (min)	363 ± 74
Cardiac-pulmonary bypass (min)	125 ± 25
Aortic cross clamping (min)	90 (84–123)
Remifentanyl (mg)	2.5 ± 1.2
Fentanyl (mg)	125 (100–200)
Hypertension (n)	3
Controlled diabetes mellitus (n)	3
AVR / MVR / MVP (n)	3 / 1 / 4
Creatine (mg/dL)	0.91 ± 0.20
White blood cell (10 ³ cells/μL)	5.49 ± 0.72
C-reactive protein (mg/dL)	0.15 ± 0.20

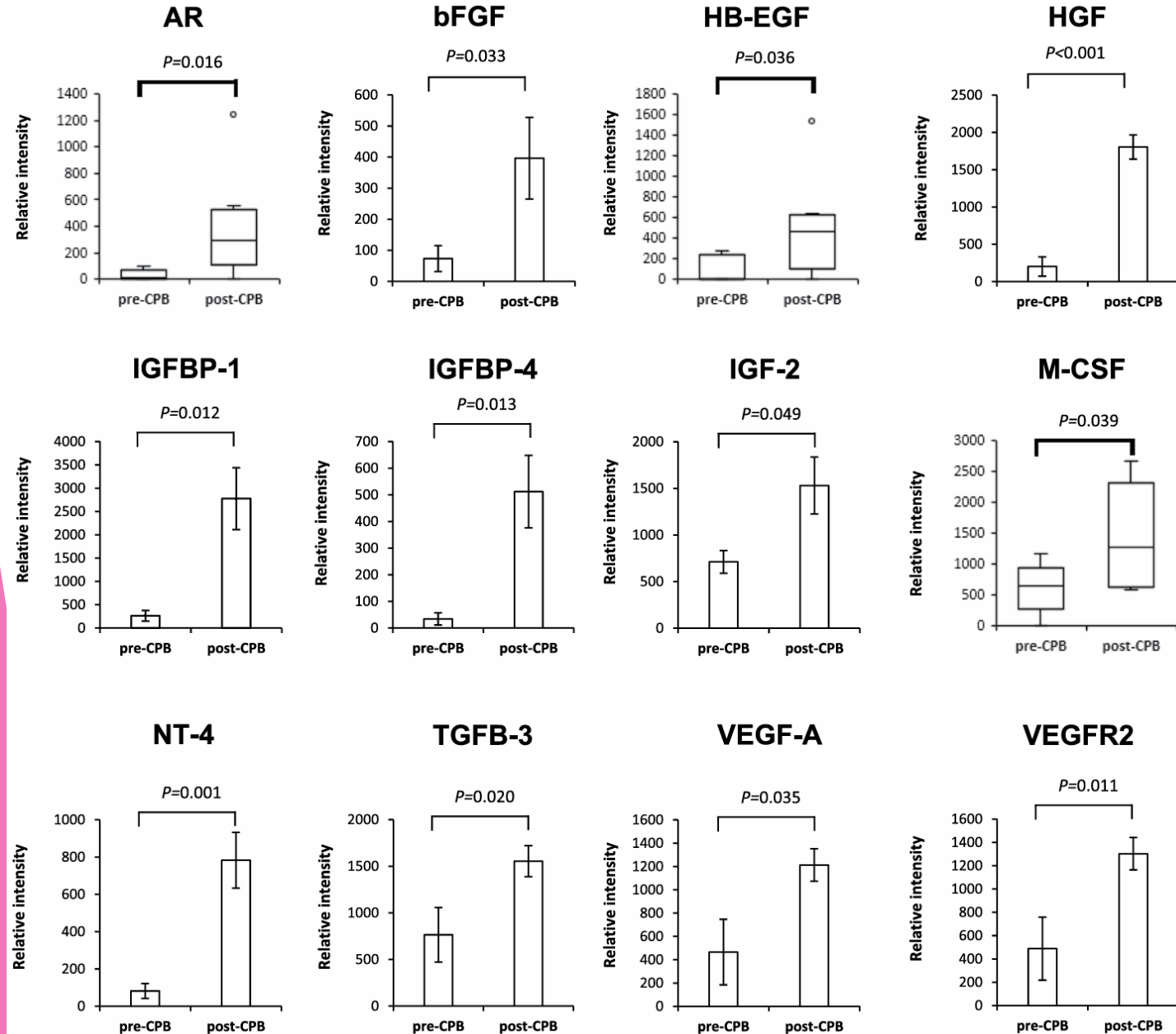
- ▶ 10人中2人が解析除外
血液回収の失敗 1人
同意の撤廃 1人

結果(増殖アッセイ)

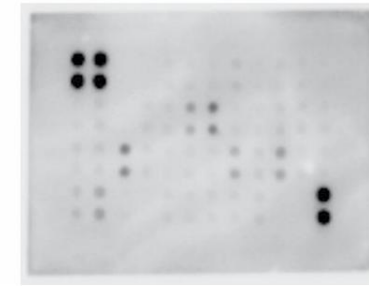


- ▶ CPB後群でCPB前群より膵癌細胞の増殖は有意に増加した。

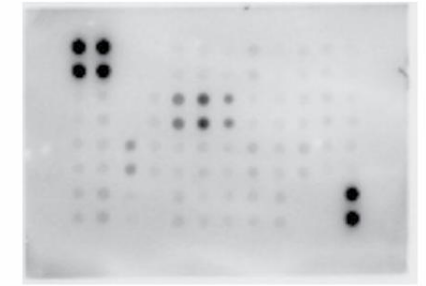
結果(サイトカインアレイ)



代表的なサイトカインヒートマップ



pre-CPB



post-CPB

▶ CPB後群でCPB前群より、成長因子関連サイトカインは有意に増加した。

考察①

- ▶ CPBの使用により、様々な成長因子関連サイトカインが増加し、膵癌細胞の増殖が促進された可能性が示唆された。
- ▶ CPBにより増加した予後マーカー等として報告されているサイトカイン
 - ▶ NT-4: 乳癌、大腸癌、胃癌の予後マーカーである。
 - ▶ IGFBP-4: 肺癌患者の予後を悪化させる。
 - ▶ IGF2: 大腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌の発症リスクの増加と関連する。
 - ▶ TGFB-3: 生存期間の短い乳癌患者で上昇する。
 - ▶ bFGF: 膵癌細胞の遊走を促進させるNカドヘリンを誘導する。
 - ▶ HB-EGF: IL6、TNF α によって上昇し、多くの癌で過剰発現する。

考察②

- ▶ 小児のCPBでHGFが増加することが知られている。本研究でも同様に増加した。
 - ▶ 膵癌患者では血清HGFの上昇が癌の進行と相関する。
 - ▶ CAFはHGFを産生し、癌細胞はCAFでのHGF産生を上方制御する。
- ▶ ARは、TregがCAFの線維化と免疫抑制機能を促進させることを可能にする。
- ▶ M-CSFはVEGF-AとIGFBP-1を増加させると知られているが、本研究でも一致した。
 - ▶ M-CSFは、in vitroで前立腺癌を増殖させる。
 - ▶ M-CSFは、マクロファージをM2様TAM(腫瘍促進)に分化させる。
 - ▶ IGFBP-1は腫瘍血管新生に関与する。
 - ▶ VEGF-A/VEGFR2シグナルの活性化を介して、血管新生が起こされる。

CPBの使用は、癌患者においてM2様TAMとCAFの増殖、血管新生を誘導し、癌の増殖を促進すると推察される。

リミテーション

- ▶ in vitro研究であり、実際の癌患者におけるCPB使用時のサイトカインは調査していない。
- ▶ M2様TAM、CAF、血管新生の変化が引き起こされることを証明はできていない。

- ▶ 今後必要な研究
 - ▶ 実際の癌患者において、CPB使用時のサイトカインを調査する研究。
 - ▶ 癌動物モデルを用いて、CPBを使用し、in vivoで癌微小環境を調査する研究。
 - ▶ CPBの使用時のケモカインや他のサイトカインを調査する研究。

結語

CPBを使用した心臓手術が、
いくつかの成長因子関連サイトカインの血漿濃度を上昇させ、
膵癌細胞の増殖をin vitroで促進させるという
仮説を裏付ける結果を示した。