

## 直腸癌に対する温水灌流による温熱化学療法

山口大学医学部外科学教室第2講座(指導:石上浩一教授)

工藤明敏

〔原稿受付:昭和60年9月12日〕

### Studies on Hyperthermic Chemotherapy for Cancer of the Rectum: Especially the Intraluminal Administration with Perfusion of Adriamycin Containing Warmed Saline Solution

AKITOSHI KUDO

The Second Department of Surgery, Yamaguchi University School of Medicine  
(Director: Prof. Dr. KOICHI ISHIGAMI)

The author made a fundamental investigation on the hyperthermic chemotherapy for rectal cancer in dogs. Hyperthermia was attained by perfusion of warmed saline solution using newly invented two way catheter and adriamycin (ADM) was administered intraluminally at the dose of 10, 50 and 100 mg/l.

- 1) The temperature of the colonic mucosa was successfully kept between 41-44°C, while the temperature of the water bath was 50°C, and that of the drainage fluid ranged between 44~46°C.
- 2) ADM was not inactivated by heating.
- 3) ADM concentration in the colonic mucosa was determined by HPCL method. ADM levels in the colonic mucosa were increased in the hyperthermic (43°C) group, as compared with normothermic (36~37°C) group ( $p < 0.01$ ).
- 4) The localization of ADM was observed on the frozen section of the colon fluorescence-microscopically. ADM in the nuclei of the epithelial mucosa was demonstrated with orange red cytofluorescence. The cytofluorescence localization of ADM in the colon and the ADM concentration in the colonic mucosa were well correlated.
- 5) Using INAS (Inhibition of nucleic acid synthesis) method, the effect of hyperthermia on the sensitivity of tumor cells to ADM was investigated. Hyperthermia enhanced the sensitivity of tumor cells to ADM.
- 6) Two cases with rectal cancer had undergone this type of hyperthermic chemotherapy.

Key words: Hyperthermia, Local perfusion, Adriamycin, Cytofluorescence, INAS.

索引語: 温熱療法, 局所灌流法, アドリアマイシン, 螢光性, 制癌剤感受性試験.

Present address: The Second Department of Surgery, Yamaguchi University School of Medicine, 1144 Kogushi, Ube 755, Japan

However, no remarkable effect was observed.

It was thought that hyperthermic chemotherapy was valuable for cancer of the rectum. However, the temperature of all parts of the large tumor could not be elevated satisfactorily with perfusion of warmed solution alone.

## はじめに

体温を正常より数度上昇させることによって癌を治療しようという試みは、歴史的にはかなり以前からみられる。温熱療法は近年著しい進歩をとげ、癌治療の第5の柱とさえいわれており、化学療法および放射線療法との相乗作用もみられ、すでに臨床に応用されている。加温方法にも種々の開発がなされ、1)マイクロ波、2)RF波、3)超音波、4)温水灌流、5)体外循環を用いた全身加温に大きく分けられる。著者は装置が簡単で安価であるという点より、温水灌流を用いて実験を行った。Adriamycin (以下 ADM と省略) は広域スペクトラム抗腫瘍性抗生物質であり、殺細胞効果が強力で、組織移行性が高く、温熱との相乗効果があるといわれている。高腸癌に対する温熱療法の報告は少ない。著者は灌流液中に ADM を加えた大腸内温水灌流法について動物を用いて基礎実験を行い、大腸粘膜中の ADM 量を測定することによって、ADM の効果増強の状態を検討した。さらに本法を臨床2例に応用した。

## 実験材料と方法

### 実験1.

43°C における薬剤の安定性を検討するために以下の実験を施行した。ADM を生理食塩水および20% calf serum-MEM に溶解し、恒温槽中で加温した。ADM 濃度は10, 50および100 μg/ml とし、保存温度は37°C (対照群) および43°C (温熱群) とした。ADM 濃度は、加温開始後、1, 2および4時間目に各々を増地<sup>16)</sup>による高速液体クロマトグラフィー (以下 HPLC 法) で測定し、初濃度を100とした残存率で表わした。

### 実験2.

まず、直腸内に留置する温水灌流用のチューブを製作した。チューブは、教室内山<sup>25)</sup>の考案した4 way catheter (Fr. 18) を2 way catheter として使用した (図1)。温水は恒温槽中の coil を用いて加温し、

pump (Sarns S10 KII) を用いて2 way catheter に導くことにした。この装置で正常雑種成犬の大腸(直腸)内を灌流し、大腸壁温を測定した。正常犬(10~15 kg)にネブタール(25 mg/kg)の静脈内投与をしたのち、気管内挿管し、レスピレーター (Aika VENTILATOR R-60) を用いた調節呼吸のもとで麻酔管理を行った。左下腹部に、回盲部より約15 cmの大腸で双孔式人工肛門を造設し、約1週間遠位大腸(直腸)を空置したのち、同様の麻酔管理のもとで以下の実験を施行した。開腹したのち、双孔式人工肛門より遠位側大腸内に2 way catheter を留置し、灌流液の漏れをなくするために、2箇所で大腸を結紮し、長さ約10 cmの閉鎖腔をつくった。これを温水灌流装置に接続し、生理食塩水を用いて大腸閉鎖腔内を灌流した(図2)。流量は60 ml/min とした。同時に thermistor (Bailey TH-6) の probe を腸間膜対側の大腸粘膜下層に刺入・固定し、大腸壁温を測定した。また、排液温も catheter に probe を刺入し、計測した。温度は灌流中継続して測定した。大腸壁温がそれぞれ37°C (Normothermic perfusion, 以下 NTP 群) および43°C (Hyperthermic perfusion, 以下 HTP 群) 前後に維持できる条件を検討した。また、その条件下での大腸組織標本を採取して観察した。

### 実験3.

実験2における温水灌流装置および方法を使用して、正常雑種成犬(10~15 kg) 12匹について実験を行った。双孔式人工肛門造設後、約1週間遠位大腸を空置したのち、ネブタール麻酔下に、大腸閉鎖腔内を1時間灌流した。流量は60 ml/min とし、灌流液には ADM を溶解させた。ADM 濃度は10, 50および100 mg/l とした。大腸壁温を36~37°C (NTP 群) 及び41~44°C (HTP 群) に1時間保ったのち、大腸壁を採取した。採取した大腸壁の粘膜面を十分に生理食塩水で洗浄したのち、粘膜層をとりだした。また、脾静脈よりカットダウンチューブを挿入し、先端を門脈内に留置したのち、灌流開始前、30分および終了直後の計3回にわたり、門脈血を採血した。大腸粘膜層および

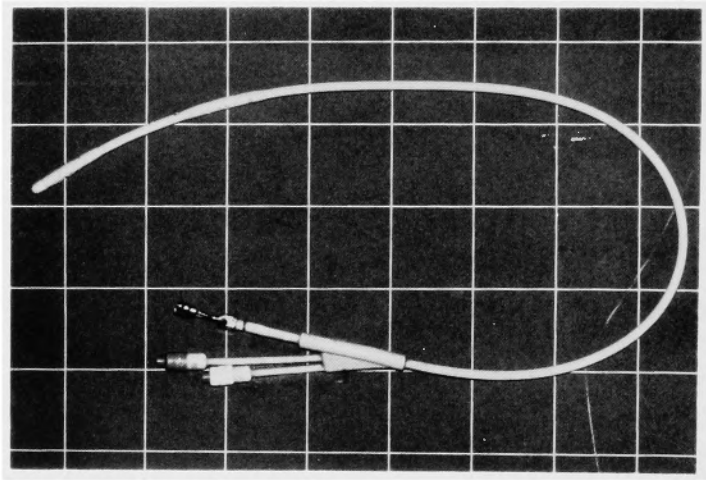


図1 灌流用 2Way catheter

門脈血中の ADM 濃度は HPLC 法で測定した。また、ADM の大腸粘膜内浸透度を、その蛍光性<sup>1,6)</sup> (488 nm の波長で励起されると、556 nm と 562 nm とに peak を呈する蛍光を発する) を利用し、蛍光顕微鏡で観察した。まず、それぞれの標本をクリオスタット (Histo STAT MICROTOME) で 6~7  $\mu\text{m}$  の切片を作成し、スライドガラス上にのせたのち、リン酸緩衝液: グリセリン (9: 1), pH 8.5 でカバーした。orange red に蛍光された ADM の浸透度を落射型蛍光顕微鏡 (Leitz) で観察した。写真撮影はフィルムフジクローム 400, デイライト RHP ASA 400 を使用し、シャッタースピードは各倍率にあわせ、50秒~4分の間で調節した。

#### 実験4.

in vitro で ADM および 温熱の影響を調べるために、DNA 生合成の阻害効果を指標とした制癌剤感受性試験である Inhibition of Nucleic Acid Synthesis (以下 INAS 法<sup>8,9)</sup>, 図3) を用いて、以下の実験を行った。検体は1984年11月より1985年4月までの当教室における手術摘出標本22例を用いた。内訳は胃癌9例、大腸(直腸)癌13例であった。まず新鮮手術摘出標本から、比較的均質で、しかも壊死巣のない腫瘍組織を採取し、Stadie-Riggs の Slicer で厚さ 500  $\mu\text{m}$  の均一な組織スライスを作製した。この組織 Slice を秤量し、湿重量 200 mg ずつをワールブルグのフラスコに入れ、ADM の存在下に、20% calf serum-MEM 中で、4時間 preincubation を行った。incubation の水槽温は 37°C (対照群) および 43°C (温熱群) とした。

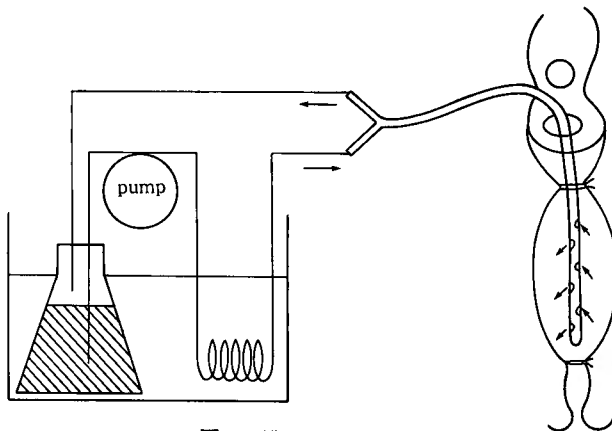


図2 灌流装置

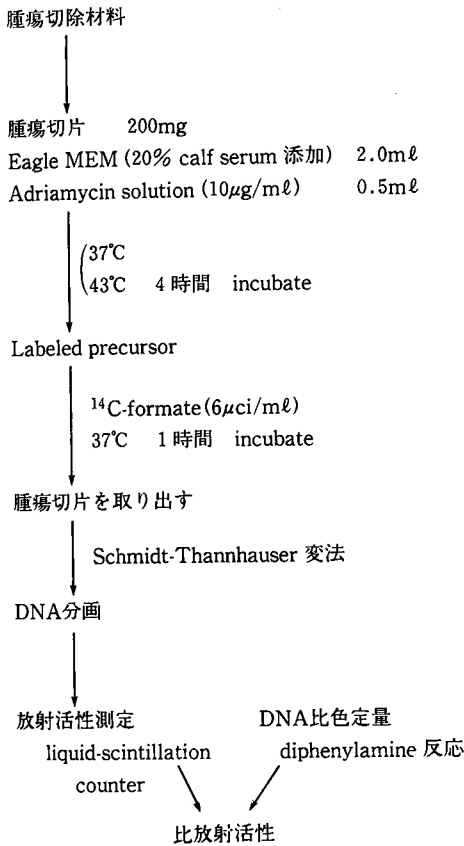


図3 制癌剤感受性試験法 (INAS 法)

ひき続いて labeled precursor として, <sup>14</sup>C-formate を添加して, 水槽温 37°C で 1 時間 incubation した. incubation 終了後, 腫瘍切片を取り出し, Schmidt-Thannhauser 変法<sup>2D)</sup>で DNA 分画の抽出及び比放射活性を算出した.

$$\text{比放射活性 (cpm/}\mu\text{g DNA)} = \frac{\text{DNA 分画の放射活性 (cpm/ml)}}{\text{DNA 量 (}\mu\text{g/ml)}}$$

ADM による DNA 生合成抑制の程度は, 対照の DNA 生合成能を100とした百分率で表わした.

結 果

実験1.

生理食塩水および20% calf serum-MEM でのADM 残存率は90%程度までであった (表1). これにより, 37°C および 43°C の両浴液中での ADM は安定であり, 以下の実験で施行する ADM 加温水灌流および INAS 法では ADM の失活は問題にならないと思わ

表1. ADM の生理食塩水中での安定性 (残存率 :%)

温度 °C	濃度 µg/ml	経過時間 hrs			
		0	1	2	4
37	10	100	95.9	95.0	90.9
	50	100	99.8	100.6	97.4
	100	100	94.9	95.5	92.6
43	10	100	94.3	91.2	89.3
	50	100	101.9	97.3	96.9
	100	100	98.8	96.8	91.5

ADM の 20% Calf-Serum-MEM 中での安定性 (残存率 :%)

温度 °C	濃度 µg/ml	経過時間 hrs			
		0	1	2	4
37	10	100	98.7	93.8	93.6
	50	100	96.5	96.3	99.3
	100	100	97.2	97.1	89.9
43	10	100	93.0	90.2	88.0
	50	100	100.5	97.0	95.6
	100	100	95.5	90.2	98.9

(HPLC 法)

れた.

実験2.

大腸壁温 (粘膜下層) を 43°C 前後に維持する条件 (HTP) を検討した. 恒温槽温 50°C, 排液温 44~46°C とすれば, 1 時間の灌流時間中は, 大腸壁温を 41~44°C に安定させることができた (図4). また, 大腸壁温は灌流開始後 5 分以内に安定し, 灌流終了後よりすみやかに 38°C にまで復した. なお, 大腸の蠕動運動が強い犬では probe の位置が定まらず, 43°C より低温 (39~41°C) で表示された. この条件下での組織学的変化として, 部分的な上皮の剥離と, 粘膜固有層の浮腫, 細血管の拡張・充血がみられた. なお, 粘膜筋板は断裂することなく保たれ, 粘膜下層には変化は認められなかった (図5).

次に大腸壁温を 37°C 前後に維持する条件 (NTP) を検討した. 恒温槽温 41°C, 排液温 38°C とすれば, 大腸壁温を 37°C に保つことができた. この条件では, 組織学的に灌流による変化は認められなかった.

実験3.

灌流液に ADM を溶解させ, 大腸内に投与した場

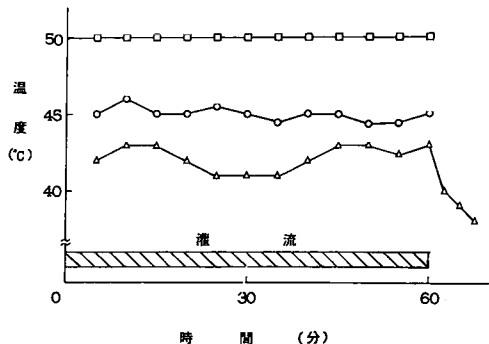


図4 温水灌流中の各温度  
 □ 恒温槽温  
 ○ 排液温  
 △ 大腸壁 (粘膜下層)

表2. 大腸粘膜内 ADM 濃度

ADM conc. (mg/l)	ADM conc. (μg/g tissue)	
	NTP	HTP
10	0.170	3.950
	0.440	5.452
50	0.705	11.217
	0.598	12.538
100	7.343	27.325
	17.753	35.462

NTP; normothermic perfusion  
 HTP; hyperthermic perfusion temp.;  $F_0=26.5902$   $p<0.01$   
 conc.;  $F_0=28.6538$   $p<0.01$

合には、大腸粘膜内の ADM 濃度 (HPLC 法) は、NTP 群に比べて HTP 群では高い値を示した ( $p<$

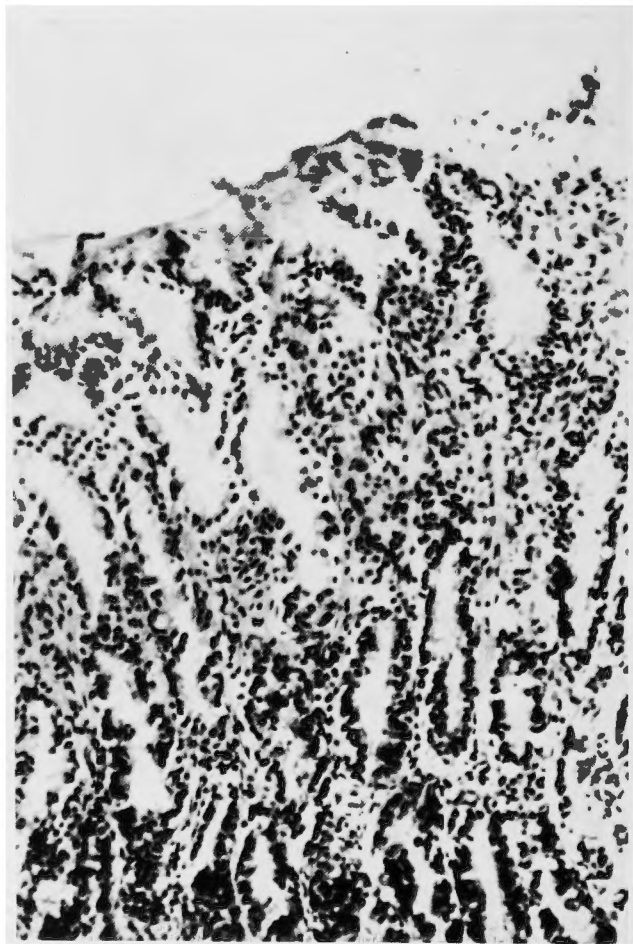


図5 温水灌流1時間後のイヌ大腸粘膜の組織像 (HE 染色 ×100)



図6 43°C, ADM 加生理食塩水による灌流1時間後のイヌ大腸粘膜の蛍光顕微鏡所見(粘膜上皮細胞の核内にADMの取り込み)

0.01). また、濃度依存性にも差を認めた ( $p < 0.01$ ) (表2). 門脈血中のADMはすべての例で検出できなかった. また, ADMの粘膜内浸透度を凍結切片作製後, 落射型蛍光顕微鏡で観察した. 灌流液中のADMは大腸粘膜上皮の核内にとりこまれており, orange redの蛍光として観察された. なお, 粘膜筋板および筋層はgreenに蛍光され, 蛍光顕微鏡所見のみでADM所在部位は判定可能であった. ADMの浸透度とその粘膜内濃度とはよく相関した. 灌流液中ADM濃度が100 mg/lのHTP群では, 粘膜筋板近くまでADMが浸透していた. また, そのADMの局在は粘膜上皮核内のみならず間質にも浸透していた(図6). 対照であるADM 100 mg/lのNTP群とはADMの浸透度に明らかな差がみられた(図7).

ADM 10 mg/lのNTP群では粘膜表面に部分的にわずかに浸透しているのみであった. いずれの標本もADMは粘膜筋板を越えておらず, また粘膜表面に付着するADMは観察されなかった. したがって, HPLC法で測定された粘膜内ADM濃度は粘膜層にとりこまれたADM量をしめしているといえる. なお, ADM濃度100 mg/lでHTP施行後, 第2, 3および5日目のADM濃度( $\mu\text{g/g}\cdot\text{tissue}$ )はそれぞれ6.376, 0.462, 検出不能であり, 大腸壁内に浸透したADMは3日目を降急速に消失した. ADM量の解析には二元配置分散分析を用いた.

#### 実験4.

胃癌9例, 大腸(直腸)癌13例の計22例の腫瘍についてINAS法でADMおよび温熱の効果を判定した.



図7 37°C, ADM 加生理食塩水による灌流1時間後のイヌ大腸粘膜の蛍光顕微鏡所見 (温水灌流群にくらべ, ADM の取り込み少ない)

DNA 合成能が70%以下に抑制された腫瘍を ADM に感受性ありと判定した<sup>8,9)</sup>。また, 温熱効果も同様に70%以下に抑制された腫瘍を温熱感受性ありと判定した。ADM 感受性例は9/22例 (41%), 温熱感受性例は15/22例 (68%), ADM+温熱感受性は17/22例 (77%)であった (表3)。ADM 群と温熱群を比較すると, 温熱群に感受性が多くみられた ( $P < 0.10$ )。また, ADM 群と ADM+温熱群を比較すると, ADM+温熱群に感受性例が多くみられた ( $P < 0.01$ )。しかし, 温熱群と ADM+温熱群には差はみられなかった。ADM 感受性または温熱感受性のある腫瘍はすべて ADM+温熱感受性例であった。また, ADM+温熱感受性群は大部分 (88%) 温熱感受性例であった。統計は  $\chi^2$  検定により処理した。

表3. 制癌剤感受性試験 (INAS 法)

	感 受 性	非感受性	p
ADM	9 (41)	13	] * **
温 熱	15 (68)	7	
ADM+温熱	17 (77)	5	

( ) ; %

Sample size = 22

\*;  $p < 0.10$

\*\* ;  $p < 0.01$

## 臨 床 応 用

### 材料と方法

臨床に応用するため, 3 way catheter (Fr. 36) を作製し (図8), ヒト大腸 (直腸) 内を温水灌流した。

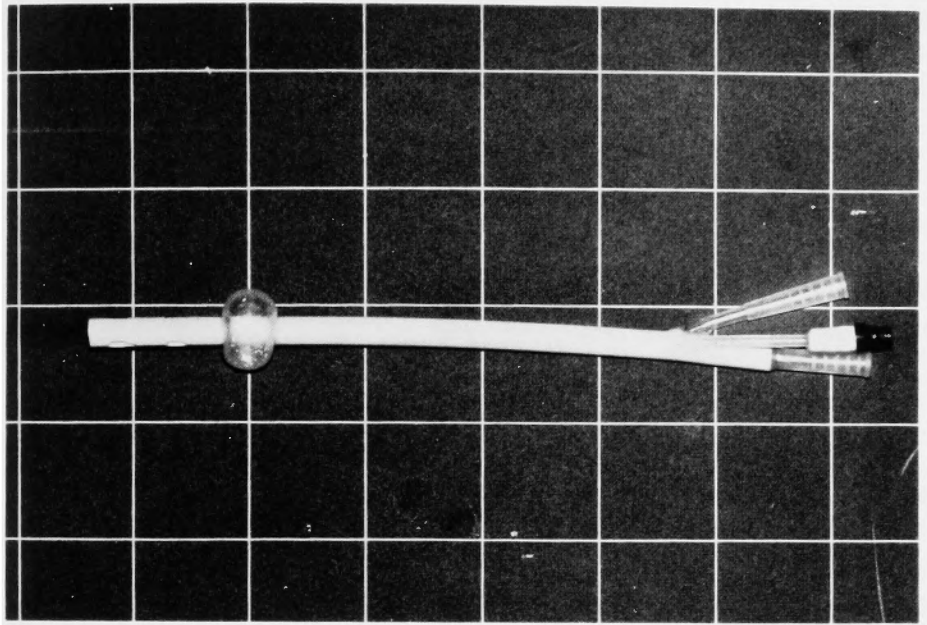


図8 臨床例に使用する灌流用3 Way catheter

pump および接続チューブは実験2で考案した装置を使用した。灌流液には ADM を 50 mg/l の濃度で生理食塩水中に溶解した。3 way catheter を自然肛門および人工肛門より挿入したのち、バルーンを膨らませ、大腸(直腸)内を閉鎖腔とした。恒温槽温は 50°C、排液温は 43~46°C に維持し、1時間灌流した。施行中の体位は側臥位あるいは仰臥位とし、体温、血圧、脈拍数をモニターした。また、施行前および後の末梢血検査、生化学検査なども施行した(表4)。

## 結 果

### 1) 治療成績

症例1は癌末期悪液質のため、温水灌流は1回施行したのみで、施行後10日目に死亡した。症例2では注腸透視上無変化(固型癌化学療法直接効果判定基準)であり、CEA は灌流施行前および灌流5回目施行後で変化はみられなかった。しかし、灌流施行直後の大腸内視鏡による観察では腫瘍の充血、出血などが認められた。また、同時に biopsy を施行し、腫瘍の凍結切片作製後、蛍光顕微鏡において観察したところ、部分的に腫瘍内に ADM の浸透が認められた(図9)。摘出標本の組織学的検討では腫瘍組織の変性はみられなかったが、間質には充血、fibrin の析出などが目出っていた。正常大腸には一部でびらんが観察された。

表4. 直腸内温水灌流臨床例

#### 症例1 79才♂

直腸癌(Ra)末期

1984年2月、イレウスにより、双孔式人工肛門造設(P<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, S<sub>3</sub>, N<sub>4</sub>)

1985年2月、温水灌流、1回施行

#### 症例2 73才♂

直腸癌(RaRb)

1985年3月、イレウスにより、双孔式人工肛門造設

温水灌流2回/週 5回施行

5Fu, OK 432, IVH 併用

初回手術より1か月目、根治手術施行

### 2) 副作用

灌流施行中、体温、血圧および脈拍数は安定していた(図10)。症例2では頻便感(1日10数回)が出現し、直腸内にキシロカインゼリーを挿入したが軽快しなかった。しかし、第3回目灌流以後は頻便感は消失した。また、白血球が一時的に増加したが、3日目後には正常値となった。灌流施行日には食欲減退を訴えたが、IVH 併用のため、全身状態には問題はなかった。一般生化学検査に変化はみられなかった。





図9 43°C, ADM 加生理食塩水による灌流1時間後のヒト直腸癌の螢光顕微鏡所見

考 察

従来の癌治療法には、1)外科手術による切除、2)放射線治療、3)化学療法、4)免疫療法の4つの大きな柱があったが、温熱療法は第5の柱として近年著しい進歩をとげている。局所加温法には、1)マイクロ波、2)RF波、3)超音波などがあるが、装置が簡単で、しかも安価である点から、温水灌流法も有用な方法である。局所温水灌流法は Westermarck<sup>26)</sup>が1898年に子宮頸癌に試み、その有用性を報告している。体表に近い体内閉鎖腔であれば局所灌流が応用可能であり、主に膀胱

<sup>3,10)</sup>、腹腔<sup>7,13)</sup>、四肢<sup>4)</sup>の悪性腫瘍に対して応用されてきた。そのほか、肝、腎、食道などの悪性腫瘍に対する灌流法も報告され、最近では制癌剤あるいは放射線治療に併用して用いられる<sup>14)</sup>。教室内山<sup>25)</sup>はイヌを用いた実験で、灌流用の4 way catheterを考案し、食道内 bleomycin 加局所温熱療法を行い、臨床例に応用しPRの効果をえた。直腸癌に対する温熱療法の報告は少ない。著者は内山の考案した4 way catheterを2 way catheterとして使用し、大腸内を灌流することとした。まず、正常雑種成犬に温水灌流を行った。恒温槽温50°Cで、排液温44~46°Cに維持させれば、大腸壁温

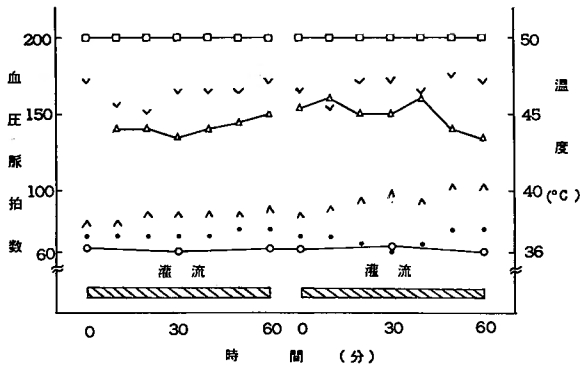


図10 温水灌流中記録 (症例2)  
 □ 恒温槽温    △ 排液温    ○ 体温    × 血圧    ● 脈拍数

(粘膜下層)は41~44°Cに安定させることができた。杉本<sup>22)</sup>らは膀胱癌に対する温水灌流の際の温度測定において、腫瘍の深度5mm以内では42.5°C以上に保つことが可能であること、および腫瘍の方が深さによる温度低下率が低いと報告している。Hall<sup>10)</sup>は膀胱癌症例に対し、膀胱よりの灌流排液温を45°Cに設定し、局所灌流加温療法を行った。著者は排液温を44~46°Cに設定することで、大腸内温水灌流を行った。温水灌流による正常大腸の障害は、部分的な粘膜上皮の剝離、細血管の拡張、充血などの粘膜固有層のみの変化であり、再生可能な障害にとどまっていた。したがって、この装置は臨床的に使用可能と思われた。

ADMはanthracycline系に属する抗腫瘍性の抗生物質である。血液中からの消失が速やかで、組織親和性が高く、静注した際に腫瘍細胞の核のクロマチンに多く分布し、DNAの二重鎖間にその環状構造がintercalationを形成し、DNA-ADM complexをつくる。その結果、DNAの複製およびRNAの合成が阻害され、腫瘍細胞の増殖が抑制されると考えられている<sup>17,19)</sup>。化学療法と温熱療法とは相乗効果があると考えられている。特にADMはEMT-6腫瘍<sup>11)</sup>やマウス乳癌で43°C加温との併用で相乗効果が認められている。また、ヒト腫瘍の例では、ADMと温熱の併用が提唱されている<sup>2)</sup>。しかし、一方では相乗効果はみられないとの報告もある<sup>12)</sup>。また、温熱時間が30分を越えるあたりからADMに対する抵抗性があらわれてくるとも報告されている<sup>13)</sup>。

まず、ADMの43°Cにおける生理食塩水中での安定性を確認した。ADMは局所灌流加温療法の際に用いられる制癌剤として適当なものの1つであると考えられる。in vitroでの定量均一化可能な癌腫を用いた適当な実験系がないため、灌流実験モデルとして正常雑種成犬の大腸を用いた。なお、培養固形腫瘍モデルSpheroid<sup>18,23)</sup>により、制癌剤のpenetrationの問題をよりin vivoに近い状態で観察可能であるが、著者らは灌流法により、37°Cおよび43°Cのもとで、ADMの浸透度を比較・検討することにした。温水灌流群では対照群に比べて大腸粘膜内へのADM浸透度は高く、蛍光顕微鏡観察でも著しい差がみられた。ADMは静脈内投与と同様に、大腸腺上皮細胞の核内に主にとりこまれていた。しかし、ADMの浸透は粘膜筋板を越えず、灌流施行後3日目より急速に大腸粘膜より消失した。一方、門脈血にはADMは検出されず、全身に対するADMの副作用はないものと考えられる。

Dennis<sup>5)</sup>は細胞膜を変化させる麻酔薬は加温効果を増強することを報告している。また、長岡<sup>20)</sup>はマウスNIH3T3細胞へのADMの取り込みをflow cytometryを用いて測定し、加温によりADMの細胞内取り込みが増加することを報告している。これらのことより、加温により細胞膜の変化が引き起こされ、膜の透過性が増大した結果、ADMの取り込みが増加することが示唆される。

in vitro 制癌剤感受性試験法として、1)癌細胞の酵素活性を利用する方法、2)核酸、蛋白合成能をIsotopeの取り込みでみる方法、3)癌細胞を短期間培養して、細胞の生死や数でみる方法、4)organ cultureを用いる方法、5)孵化鶏卵を用いる方法、6)in vitro colony法がある<sup>24)</sup>。ADMを含め制癌剤の多くが核酸合成系をその利用点としていることから、東<sup>8,9)</sup>らは核酸合成阻害(Inhibition of Nucleic Acid Synthesis)を指標とする制癌剤感受性試験INAS法を考案した。この方法は培養時間が5時間であるという点ですぐれている。制癌剤との接触時間が短いので、生体内での薬剤濃度よりはるかに高い濃度にせざるを得ない。しかし、5時間以内の培養であれば細菌、真菌類の汚染は問題にならない。東らは感受性試験の成績と臨床的な腫瘍効果との一致をみたものは86%であったと述べている。一方、加温によってDNA合成阻害のおこることは、DNA前駆物質の取り込みが急激に減少することにより知られており<sup>27)</sup>、DNA鎖切断も観察されている<sup>28)</sup>。よって著者は腫瘍に対するADMおよび温熱の制癌効果をINAS法によって検討した。東らと同じくDNA合成能が70%以下に抑制された腫瘍をADMあるいは温熱に感受性ありと判定した。ADM感受性群(41%)とADM+温熱感受性群(77%)には差がみられ(p<0.01)、両者併用の有用性が示唆された。また、温熱のみによりすべての腫瘍が抑制されるわけではなく、比放射活性が100以上となる腫瘍もみられ、腫瘍間に温熱感受性の差がみられた。

in vitroでADMと温熱に併用効果のあること、および正常犬の大腸内を灌流した場合、温水灌流群の方がADMは大腸粘膜内により浸透することより、臨床2例に応用した。症例2では、灌流施行終了直後の腫瘍には充血および出血が認められ、また、腫瘍組織内にADMの取り込みが認められたが、温熱化学療法の効果はNCであった。また、手術摘出標本において組織学的に腫瘍組織の変性はみられなかった。直腸癌はII型が多く、イレウスの原因となりやすい。全

身状態が不良の場合、まず人工肛門を造設し、二期的に直腸癌根治手術を行うことがある。この場合、根治手術までの期間、癌に対するなんらかの治療が望まれる。今回の症例において著明な制癌効果がみられなかった理由として、本法の実施期間および回数が不足していたほかに、1) イレウスをおこす腫瘍の中心部までは温熱の影響は及びにくい、2) 実際に温熱の効果が及ぶのは表面のみである、3) 腫瘍の辺縁部は血流が比較的豊富で、温熱による変化が修復された、などの3点が考えられる。したがって、直腸内腔内温水灌流単独により腫瘍全体の温度を上昇させることは、困難であると思われる。直腸癌の温熱療法は少なくとも小骨盤の中を均等に加温することが必要であろう。皮下脂肪の多い症例に対しては、RF 加温によって均等に 43°C 以上に加温することはむづかしいと思われる。この場合、RF 加温に直腸内温水灌流を併用すれば、より加温が容易になるのではないかとと思われる。窪田<sup>15)</sup>らは局所灌流加温療法の効果を深部まで到達させるために、膀胱内灌流法に加え、RF 加温を腹腔より加えた。単独では根治性が否定的である灌流療法の進むべき1つの方向として評価されている。著者らは手術不能進行症例、手術後の局所再発症例、イレウスにより人工肛門造設後の二期分割症例などが、その適応になるのではないかと考えている。

### ま と め

灌流液中に ADM を加えた温水灌流による直腸癌に対する温熱化学療法について検討を加え、以下のような成績を得た。

1. ADM は生理食塩水、20% calf serum-MEM の両溶媒中で、43°C においても安定であった。
2. 正常雑種成犬の大腸内を灌流した際、恒温槽 50°C、排液温 44~46°C に維持させれば、直腸壁温は 41~44°C に安定させることができた。また、組織学的に大腸の変化は再生可能な範囲であった。
3. ADM を灌流液に溶解させ、大腸内腔を灌流したところ、温水灌流群は対照群に比べて大腸粘膜内の ADM は高い値を示した。蛍光顕微鏡における観察でも差がみられた。
4. ADM および温熱の制癌効果を *in vitro* で制癌剤感受性試験 INAS 法により検討したところ、その併用効果がみられた。
5. 臨床的に進行直腸癌症例に応用した。しかし、著明な制癌効果はみられなかった。直腸内腔温水灌流単

独で腫瘍全体の温度を上昇させることは困難であるとおもわれた。

稿を終えるに臨み、御指導と御校閲を賜った本学第2外科学教室石上浩一教授に深謝する。また、御協力いただいた第1病理学教室内野文弥教授、横田忠明博士、山下勝氏、および薬剤部神代昭教授、播磨由紀子氏および教室諸兄に感謝する。なお、本論文の要旨は第23回日本癌治療学会総会(1985年11月、広島)において発表した。

### 文 献

- 1) Amin AFM, et al: Cytofluorescence localization of adriamycin—Binding sites of cardiac tissue. *Oncology* **40**: 340-343, 1983.
- 2) Bull JM: Summary of informal discussion of animal modes and clinical studies. *Cancer Res* **39**: 2262-2263, 1979.
- 3) Cockett ATK, et al: Enhancement of regional bladder megavoltage irradiation in bladder cancer using local bladder hyperthermia. *J Urol* **97**: 1034-1039, 1967.
- 4) Cavaliere R, et al: Selective heat sensitivity of cancer cells. *Cancer* **20**: 1351-1381, 1967.
- 5) Dennis WH, Yatin MB: Correlation of hyperthermic sensitivity and membrane microviscosity in *E. coli* K 1060. *Int J Rad Biol* **39**: 265-271, 1981.
- 6) Egorin MJ, et al: Cytofluorescence localization of adriamycin and daunorubicin. *Cancer Res* **43**: 2243-2245, 1974.
- 7) Euler J, et al: Hyperthermie peritoneale perfusion bei Aszitestumoren der Ratte. *Wiener Klin Wochenschr* **86**: 220-225, 1974.
- 8) 東 弘: 核酸合成の阻害効果を指標とした制癌剤感受性試験—INAS 法について. *最新医学* **33**: 2263-2269, 1978.
- 9) 東 弘: 癌化学療法の問題点—制癌剤感受性試験 INAS 法の臨床経験. *癌の臨床* **25**: 761-764, 1979.
- 10) Hall RR, et al: Effects of hyperthermia on bladder cancer. *Brit Med J* **15**: 593-594, 1974.
- 11) Hahn GM, et al: Cytotoxic effects of hyperthermia and adriamycin on Chinese hamster cells. *J Natl Cancer Inst* **57**: 1063-1067, 1976.
- 12) Hahn GM, Braun J, et al: Thermochemotherapy Synergism between hypermia (42~43°C) and adriamycin (or bleomycin) in mammalian cell inactivation. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* **72**: 937-940, 1975.
- 13) 古賀成昌, 他: 胃癌腹膜播種に対する温熱化学療法. *消化器外科* **6**: 1189-1194, 1983.
- 14) 窪田吉信, 他: 膀胱癌の Hyperthermia 療法, Bleomycin および放射線との併用療法について. *日癌治* **13**: 394-405, 1978.
- 15) 窪田吉信, 他: 尿路性器癌への高周波 (RF) 加温

- の検討. 第6回ハイパーサーミア研究会予稿集84, 1983.
- 16) 増地健年, 他: 高速液体クロマトグラフィによる生体試料中のアドリアマイシンとその代謝物の定量, 薬学雑誌 **104**: 614-623, 1984.
- 17) Marco AD: Adriamycin (NSC-123127); Mode and mechanism of action. *Cancer Chemoth Reports* **3.6**: 91-106, 1975.
- 18) Morgan JE, Bleehen NH: Response of EMT-6 multicellular tumor spheroids to hyperthermia and cytotoxic drugs. *Br J Cancer* **43**: 384-391, 1981.
- 19) 根岸嗣治, 他: Adriamycin の細胞核への取り込みおよび DNA との相互作用. 薬学雑誌 **93**: 1498-1508, 1973.
- 20) Nagaoka S, Kawasaki S, et al: Intracellular uptake, retention and cytotoxic effect of adriamycin combined with hyperthermia in vitro. 投稿中
- 21) 大西峰雄: Organ culture を応用した制癌剤感受性試験に関する基礎的研究. 大阪大学医学雑誌 **22**: 21-28, 1970.
- 22) 杉本真一, 望月幸夫: 電磁波および超音波局所加温療法, 深部腫瘍のハイパーサーミア・ハイパーサーミア・マグネトロ出版. 260-261, 1984.
- 23) 田中敬正, 他: 培養固形腫瘍モデル 'Spheroid' における放射線, 制癌剤の影響. 厚生省がん研究助成金によるがん放射線療法における化学的増感の研究: 42-46, 昭58.
- 24) 田口敏男: 制癌剤感受性試験の意義と歴史. 癌と化学療法 **9**: 570-574, 1982.
- 25) Uchiyama T: Studies on hyperthermic chemotherapy for cancer of the esophagus, *Arch Jpn Chir* **53**: 703-720, 1984.
- 26) Westermarck F: Über die Behandlung des ulcerierenden Cervixcarcinomas mittele Konstanter Wärme. *Zbl Gynaek* **22**: 1335-1339, 1898.
- 27) Wong RSL, Deway WC: Inhibition of replicon initiation and DNA elongation in chinese hamster ovary cells by treatment at 45.6°C. *Natl Cancer Inst Monogr* **61**: 41-43, 1982.
- 28) Walters RL, Henje KJ: DNA degradation in heated CHO cells. *Cancer Res* **42**: 4427-4432, 1982.