

癌化学療法の基礎的，臨床的研究

(Ⅲ) 抗癌剤動脈内注入時の血管像の変化

京都大学医学部外科学教室第2講座 (指導：日笠頼則教授)

金 沢 利 定

〔原稿受付：昭和53年7月7日〕

Experimental and Clinical Studies of Cancer Chemotherapy

III. Vascular Changes induced by Intra-arterial Injection of Anti-Cancer Agents

TOSHISADA KANAZAWA

The Second Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University

(Director : Prof. Dr. YORINORI HIKASA)

In our previous papers, we have reported morphological changes of the blood vessels in the development of cancer. The cancerous tissue has gradually become hypovascular according to its advancement.

As one of cancer chemotherapies, alkylating agents are used to be directly injected into the arterial vessels, which supply the blood to the cancerous tissue. Such one shot injection of anti-cancer agents is usually effective at first, but in proportion to the repetition of this treatment the tumor effect gradually renders. The exact reason of this problem is still uncertain.

In this study we have examined vascular changes following intra-arterial injection of anti-cancer agents. Adult rabbits were used as experimental animals. VX 2 tumors were transplanted into the wall of intestine, as described previously. Ten days after transplantation re-laparotomies were done and animals were divided into two groups. One group was the control group of no treatment and in the other group, a Mitomycin solution was injected in the superior mesenteric artery or the first branch of it. One week later microangiographic and histological studies were made of the small intestinal segments.

The fourth or fifth branches of the superior mesenteric artery, which were clearly elucidated within the intestinal wall in the control group, were microangiographically seen

Key words : Vascular changes, Mitomycin, One-shot injection.

Present address : The 2nd Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto, 606, Japan.

as narrowed or occluded vessels in the mitomycin group. And it was histologically found that their endothelium partly degenerated, combined with inflammatory cell infiltration in the perivascular area.

緒 言

前2編^{4,5)}において、悪性腫瘍の血管像が、病期とともに変化することを報告した。早期には hypervascular type を呈するが、腫瘍の増大するに従って、腫瘍自体の圧迫による血管像の変化が認められるようになる。すなわち、血管の断裂、太さの不同、狭窄像、異常屈曲、さらに、走行の乱れや束状走行が観察される。これら腫瘍の血行異常は、抗癌剤の動脈内注入療法では不利な条件と考えられる。しかし臨床的には高岡、里村⁶⁾らの報告のように、かゝる病期においても、抗癌剤動脈内注入 one shot 療法は、少なくとも3回は有効性が確認されている。同療法の回数を重ねるに従って効果が急激に減少する理由として、腫瘍血管自体の変化も考えられるが、抗癌剤そのものの血管に対する作用も当然考慮されねばならない。本研究には、抗癌剤の血管に及ぼす影響を検討し、動脈注入した抗癌剤の腫瘍に到達する阻害因子の一部の解明を試みた。

研究材料および研究方法

試験として体重3 kg前後の家兎を用いた。移植腫瘍 VX2 は第2報にのべた処理と全く同様に継代移植したものを使用した。すなわち、愛知がんセンターから提供を受けた VX2 腫瘍を家兎大腿筋内に継代移植を行なった。本実験でも、無菌操作によって切除した腫瘍を Hanks 液に浸漬、細切し、攪拌を十分に施行した後、4枚ガーゼを用いて濾過した。濾液を800 G、5分間遠沈し、沈渣を Hanks 液で20%浮遊液となるよう稀釈し、移植に供した。この浮遊液は $10^6 \sim 10^7$ 個/ml の割合に VX2 腫瘍細胞を含有している。

上記 VX2 細胞浮遊液 0.1~0.3 ml を、Nembutal® (25mg/kg) 静脈麻酔下に開腹した家兎、空腸粘膜炎下、27G 注射針を用いて注入、移植を行った。

移植後10日目に再開腹を施行、前編⁵⁾に報告したように、今回の実験においても、径約1.0 cm に増大した VX2 腫瘍を確認し、抗癌剤の動脈注入を行った。

使用抗癌剤、注入量、注入部位について。

腹部悪性腫瘍の相当数は腺癌であり、高岡ら⁶⁾の臨床経験でも動脈注入療法の対象として腺癌が高率であ

った。腺癌に対しては Mitomycin® が有効性が認められ多用されている^{1,2,6)}。したがって、本研究においても Mitomycin® を採用した。さて VX2 腫瘍に Mitomycin® が作用するか否かを確認する必要がある。

家兎の耳介に VX2 腫瘍浮遊液を注射移植し、径約1.0 cm の腫瘍を形成したのを確認し、耳動脈から Mitomycin® 2mg, および 0.5mg を、それぞれ1 ml の溶液として注入した。注入後、7日前後にほとんどの腫瘍は縮小、消失し、触知不能となった。

以上の予備実験の結果を参考とし、本実験では Mitomycin® 4mg および 1mg をそれぞれ2 ml の溶液として用いた。1.3mg/kg, 0.3mg/kg 体重当りの投与量であり、上腸間膜動脈本幹、あるいは、その第1分枝に注入した。

第3回目の開腹術は7日後、すなわち初回 VX2 移植時から17日目に行なった。

開腹後、直ちに上腸間膜動・静脈にポリエチレンチューブを挿入し、第1報に報告した方法で、当該腸管 segment の灌流を施行、造影剤の注入を行なって、超軟線撮影を実施した。撮影条件は前2報に準じた。

使用造影剤

生理的食塩水	250ml
硫酸バリウム (Micropaque®)	100g
ゼラチン	10g

超軟線撮影の条件：線源 Softex

線量	25KVP
電流	10mA
管球距離	40cm
時間	90sec
使用フィルム	

Sakura Lith film 100ES

さらに Barium 注入を施行した腸管の一部を切除、5% のパラフィン切片を作成、ヘマトキシリン・エオジン染色をも行なって鏡検した。

成 績

a) VX2 腫瘍移植、抗癌剤非投与群の micro-angiogram.

腸管壁内血管像は、壁に進入した後、第5分枝まで

造影されている。

第I編で報告したヒト胃壁血管像(断面)では、漿膜下血管網、筋層枝、粘膜下血管網、粘膜血管(毛細管)が観察されたことを報告した。これに胃壁進入血管を加えると、第5分枝にまで分岐することになる。

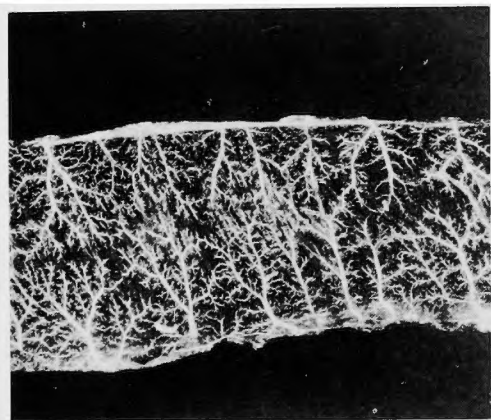


図1 家兎正常腸管 microangiogram 腸管壁進入后第5分枝(毛細血管)像まで追及し得る

小腸の血管構築も全く同数の分枝を形成していることが、その平面像からも理解される。

VX2 腫瘍は径約1.2cmの大きさで、中央部の hypo-avascular area (blank space) と、周辺部の hypervascular zone が認められる。后者を形成する血管は、第4分枝(あるいは第5分枝)に相当する。

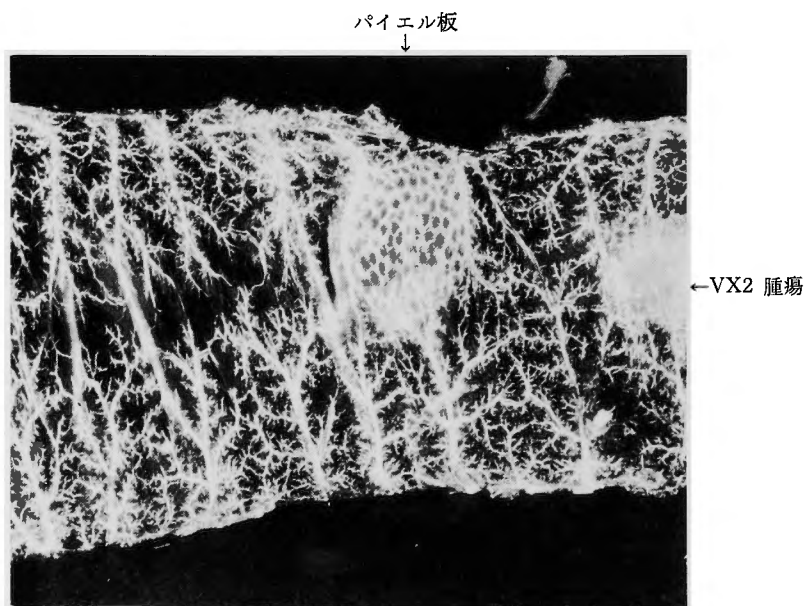
なお、Peyer 板は網目状の血管像として観察された。

b) VX2 腫瘍移植后抗癌剤 Mitomycin 注入群の microangiogram.

非投与群に比し、最も著明な変化は、造影像の粗鬆化である。特に高濃度の Mitomycin 流入部腸管では、第3乃至第4分枝が辛じて造影されるにすぎない。しかし Peyer 板は非投与群と同程度に描出されている。

VX2 腫瘍移植部を含めた segment に壊死による広範囲の blank space が認められる。

その中に薄く、homogen に造影された腫瘍がみられる。この壊死部に接した口側、肛門側両側の segment は長軸の方向に短縮した像を呈する。一見 hypervascular にみえるが、壁内第1分枝相互間の距離が、他



- ・ VX2 腫瘍は中心部の blank space の周辺部 hypervascular zone を示す。
- ・ 正常 Peyer's patch の血管構造は網状を呈する

図2 VX2 腫瘍移植家兎小腸の microangiogram

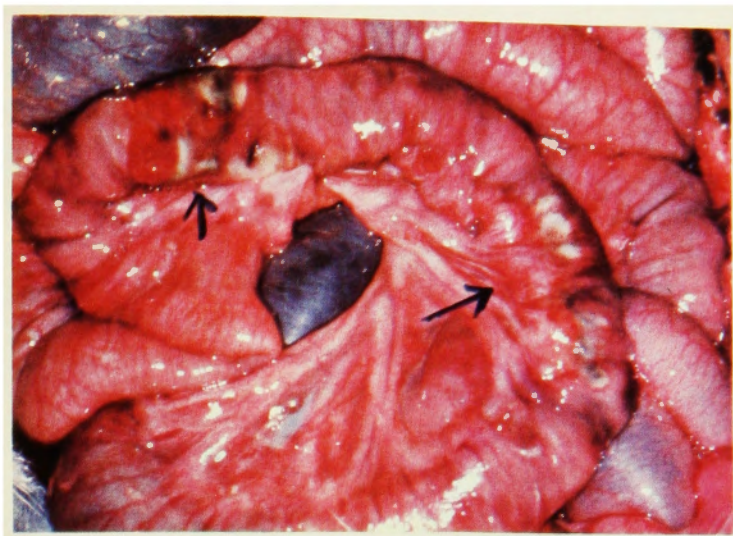


図3 VX2 腫瘍移植后10日に Mitomycin 1mg/2ml 溶液を A. mesenterica sup. の第1分枝から注入した家兎腸管の，さらに7日后（初回手術から17日）の肉眼的所見
（↑印）壊死を来した腸管部に白く VX2 腫瘍が認められる。

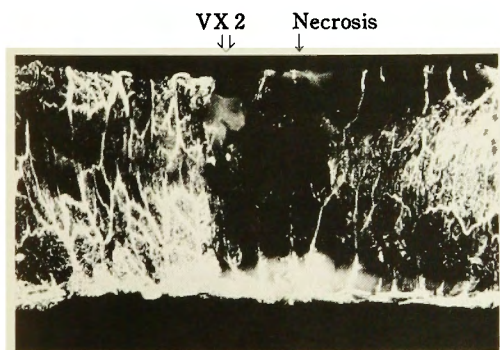


図4 図3の家兎腸管壊死部の microangiogram. 壊死部（↓印）は広い blank space を呈しその中に薄く homogen に造影された VX2 腫瘍（↑印）を認める。
（Mitomycin 1mg/2ml 溶液を A. mesenterica sup. 第1分枝に注入した例）

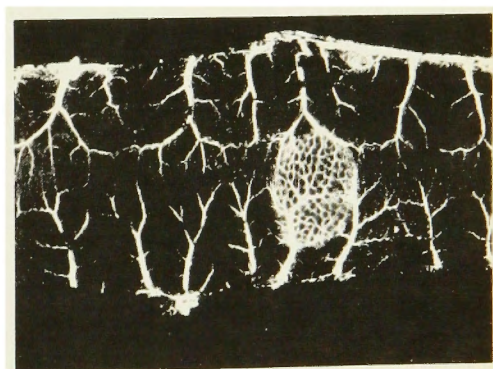


図5 図3，4と同じ家兎の腸管 microangiogram Peyer patch は正常とほぼ同様の血管像を示す。壁内血管は極めて粗鬆となり，第3分枝が辛うじて認められる。（Mitomycin 1mg/2ml 溶液を A. mesenterica sup. の第1分枝から注入）

の部分の $\frac{1}{2}$ ～ $\frac{1}{3}$ である。

c) 組織学的所見

microangiography の操作，処理のため，血管腔内に Barium の充填と，その周囲組織の浮腫が認められる。

Mitomycin 投与群では血管内皮の剥離，周囲の細胞浸潤が認められる。しかし，microangiogram に認め

られた狭小像を説明するに十分な変化とは云い難い。
なお腫瘍周辺部では，腫瘍細胞の変性像が認められた。

d) 抗癌剤 Mitomycin 動脈注入時の血管変化の防止の検討

Mitomycin® の動脈注射によって血管炎が起り，その結果血管の狭小化を来すのなら，ステロイド剤の

同時使用によって、その変化が軽減され得ることが予想される。

そこで、5羽の家兎を用いて、腸間動脈第1分枝から Mitomycin 2mg Decadron® 8mg を 2ml の溶液として注入し、さらに3日間にわたって Decadron® 1mg/day の筋注を行った。

Mitomycin® と Decadron® を併用した注入群の microangiogram に認められた腸管血管の変化は、やはり第4、5枝の狭小化であった。しかし、その程度は非注入群と注入群のちょうど中間の状態をしめし、

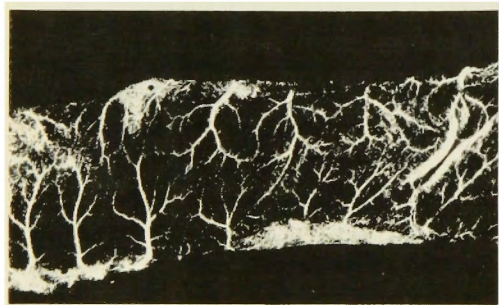


図6 図3、4、5と同じ家兎 脈管の狭小化ちりめん状の像が特徴的である (Mitomycin 1mg/2ml 溶液を A. mesenterica sup. 第1分枝から注入)

やはり Decadron® の抗炎症作用の効果が認められた。

考 按

腫瘍組織、細胞に障害を与える抗癌剤は、当然、正常組織、細胞にも、程度の差こそあれ変化をもたらす。抗癌剤の注入経路である脈管系にまずその影響が現われる。抗癌剤の組織損傷の程度は、その濃度に左右される。今回の実験においても、4mg/2mlを上腸間膜動脈に注入した群よりも、1mg/2mlを上腸間膜動脈第1分枝に注入した群の方に、腸管血管の変化、組織変化が強かった。

家兎の腸管脈管系は、上腸間膜動脈に発し、第1分枝は12~15本に分岐する。従って、第1分枝へ注入した場合は、上腸間膜動脈へ注入したときの濃度の10倍以上の抗癌剤が腸管組織に達することになる。4mg/2mlを上腸間膜動脈に注入した時の腸管内抗癌剤濃度を1とすると、1mg/2mlを第1分枝に注入した場合には、3~4倍の濃度の抗癌剤が腸管組織に達入することになる。

動脈注入療法を行なう場合、可及的、目標腫瘍に近い動脈枝から注入するのが効果を高める一方法である。

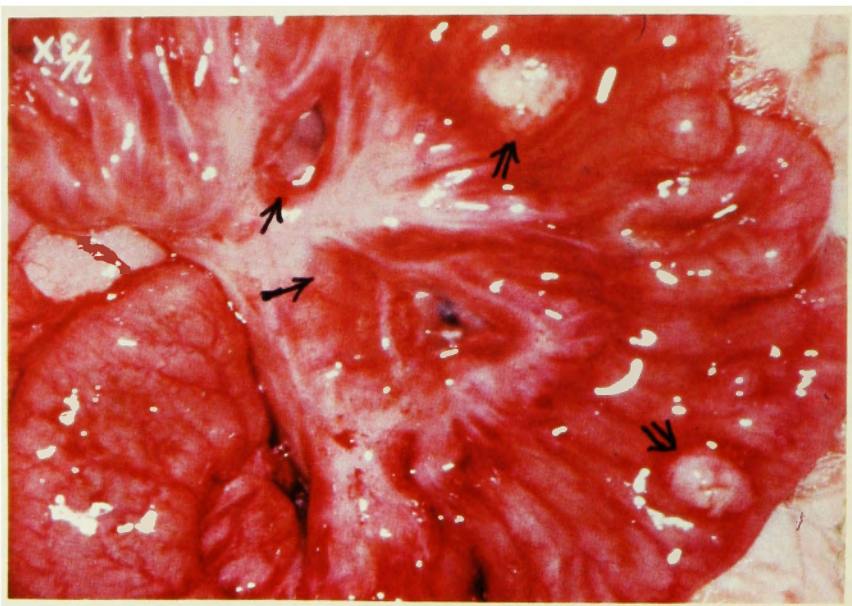
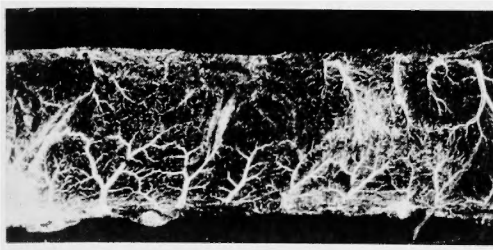
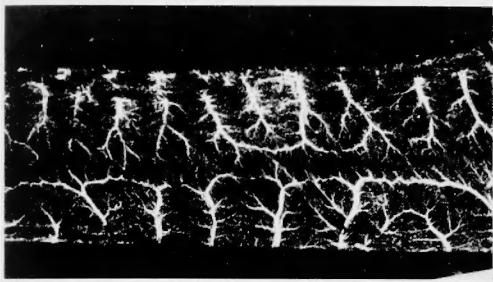


図7 VX2 腫瘍移植10日后に Mitomycin 4mg/2 ml溶液を A. mesenterica sup. に注入7日后 (初回移植手術后17日) の小腸、腸間膜の肉眼的所見
↑印 Mitomycin による perivascularitis 像
△印 生着、発育した VX2 腫瘍



a



b

図8 (a, b) 図7の家兎の microangiogram, Mitomycin 4mg/2ml 溶液を A, mesenterica sup. 本幹に注入7日後の所見

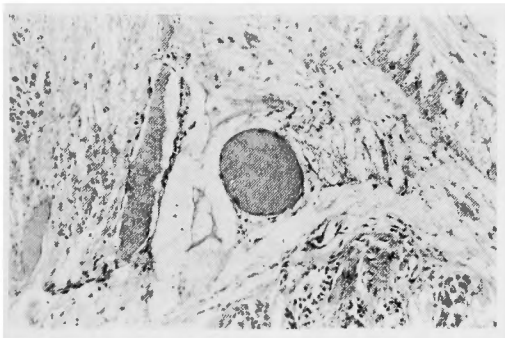


図9 Mitomycin 非注射部の小腸壁の組織像
Hematoxylin-Eosin 染色×100
(microangiography のための浮腫が認められる)

組織学的所見から、血管内膜炎、血管炎が抗癌剤 Mitomycin によって惹起され、これが血管狭窄の原因と考えられる。しかし、組織学的所見よりも、microangiogram に認められた狭窄像の方が著明であった。この事実は、static な血管内腔容積よりも、注入時の抵抗、流体力学的な条件の変化が強いことに起因すると考えられる。capillary sludge, A-V fistula の開通等が推定される。本実験で認められた血管系の 変

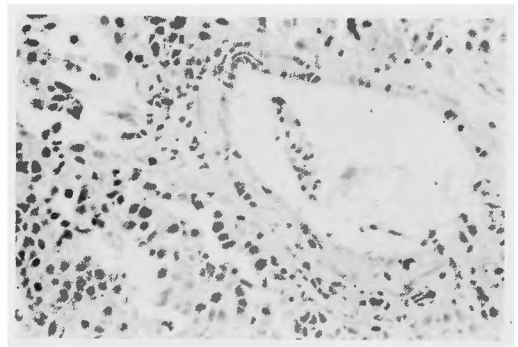


図10 Mitomycin 注入群の小腸壁組織像
T: VX 2 腫瘍
内皮の剥離した血管像
Hematoxylin-Eosin ×200

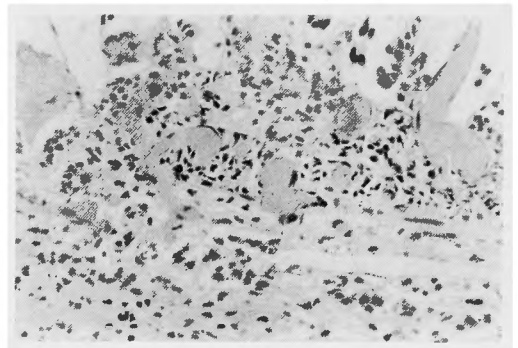


図11 Mitomycin 注入群の小腸壁組織像. 血管周囲に細胞浸潤を認める. Hematoxylin-Eosin ×200

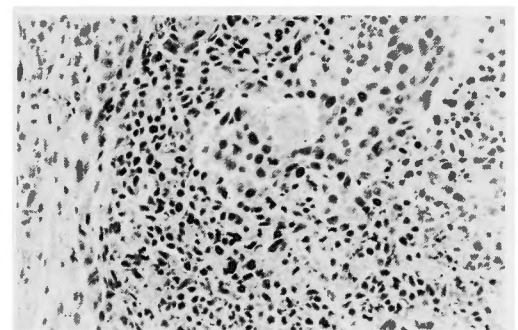
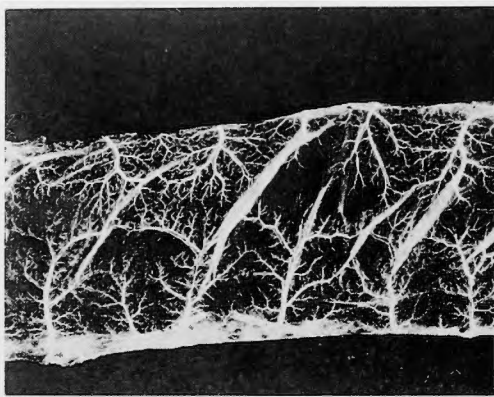


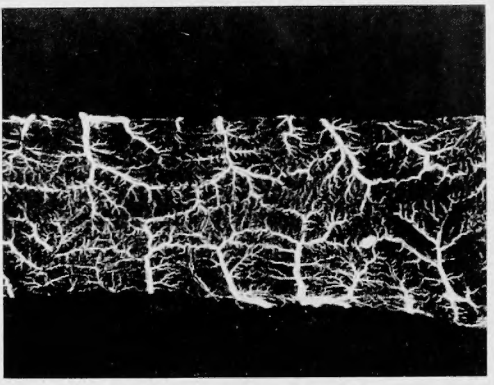
図12 Mitomycin 注入群の小腸壁中央部に VX2 腫瘍組織がみられるが周辺部に Mitomycin によって障害を受け、濃染、凝縮した腫瘍細胞が認められる. Hematoxylin-Eosin ×200

化は、爾後の抗癌剤動脈注入療法の効果を激減させるものである。

目標腫瘍周辺の血管狭小による循環障害は、単に動



a



b

図13 (a, b) Mitomycin®2mg+Decadron®8mgを2mlの溶液として A. mesenterica sup. の第1分枝から注入した家兎の infused segment の microangiogram Mitomycin® 単独注入例よりも遙かに血管狭窄像が軽微である。

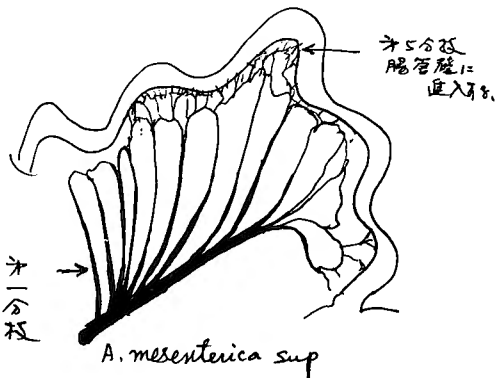


図14 家兎 A.mesenterica Sup. の分枝像

脈注入した抗癌剤の到達を阻害するだけでなく、正常組織、正常血管への流入量が相対的に増加するために無為に健常部により多くの障害をもたらす危険がある。抗癌剤動脈注入療法の重要な欠陥である。

その対策として、抗炎症剤、ステロイドホルモンの使用効果が認められた点、ステロイドホルモン自体の腫瘍あるいは腫瘍担体に及ぼす影響を十分に検討した上で、併用する価値があるものと判断された。

結 語

家兎小腸に移植した VX2 腫瘍に対し Mitomycin の腸間膜動脈およびその分枝からの注入 one-shot 療法は、腫瘍抑制の効果がある。しかし、同時に、Mitomycin 流入域血管の狭小化を惹起し、爾後の同療法の効果を期待し難くする傾向を認めた。その1つの対策としてステロイドホルモンの同時使用が効果を増大せしめる可能性がある。

文 献

1. Hashimoto Y: Fundamental investigations on local chemotherapy for liver cancer. Arch Jap Chir 47: 302-318, 1978.
2. 本多平八郎: 胃癌に対する抗癌剤術前投与の臨床病理学的研究 日外宝 47: 333-363, 1978.
3. 市岡五道: 胃癌に対する抗癌剤 (Mitomycin c) の術前投与に関する研究. 日外宝 43: 124-145, 1974.
4. 金沢利定: 癌化学療法の基礎的、臨床的研究 (I) Microangiopathy による各種消化器疾患と悪性腫瘍の血管変化の比較検討. 日外宝 47: 446-458, 1978.
5. 金沢利定: 癌化学療法の基礎的、臨床的研究 (II) 実験的移植癌 VX2 腫瘍における微細血管構造の変化と、ヒト癌との比較. 日外宝 47: 459-466, 1978.
6. 高岡水東, 山本正文, 他: 進行癌 165 例に対する one-shot 動注大量化学療法. 日癌治誌 11: 317-318, 1976.