

高圧酸素環境下における実験的腫瘍の 血行性転移に関する基礎的研究

近畿大学医学部第2外科学教室（指導：久山 健教授）

梅 村 博 也

〔原稿受付：昭和52年1月10日〕

Experimental Studies on the Hematogenous Metastasis of Tumors in Mice under Hyperbaric Oxygenation

HIROYA UMEMURA

The 2nd Department of Surgery, Kinki University, School
of Medicine, Osaka (Director : Prof. Dr. TAKESHI KUYAMA)

In this report, using Ehrlich ascites carcinoma cells and MH134 hepatoma cells, both tumor metastasis to the lung histologically and survival time were studied under hyperbaric oxygenation.

About $3 \times 10^5 / 0.05\text{cc}$ tumor cells of Ehrlich ascites carcinoma and MH134 ascites hepatoma were injected into the tail vein of the DDD and C3H strain mice respectively.

DDD mice and C3H mice were divided into 4 groups,

inoculated 48 hours before exposure to OHP (hyperbaric oxygenation)

inoculated 24 hours before exposure to OHP

inoculated just before exposure to OHP

control group.

One half of each group was sacrificed immediately after the twelfth exposure to OHP and the others were retained to examine survival time.

The results obtained are as follows.

- (1) Both in Ehrlich ascites carcinoma and in MH134 ascites hepatoma, the frequency of metastasized foci to the lung is greater in the group inoculated just before exposure to OHP than in the control group.
- (2) On the contrary, the number of metastasized foci to the lung is less in the group inoculated 48 and 24 hours before OHP administration than in the control group.
- (3) 50% survival time of DDD mice bearing Ehrlich ascites carcinoma and C3H mice

Key words : Hyperbaric oxygenation, hematogenous pulmonary metastasis.

Present address : The 2nd Department of Surgery, Kinki University, School of Medicine,
Sayama-cho, Minamikawachi-gun, Osaka, 589, Japan.

bearing MH 134 ascites hepatoma was shortened in the group inoculated just before exposure to OHP.

- (4) On the other hand, 50% survival time was prolonged in the group inoculated 48 and 24 hours before exposure to OHP in the above mentioned two experimental tumors.
- (5) It was concluded that there was a close relation between the 50% survival time and the frequency of metastasis to the lung.

Based on these preliminary results, the following experiments were designed to clarify the main causative factor which resulted in the high frequency of pulmonary metastatic foci in the group inoculated just before exposure to OHP.

Using DDD mice bearing Ehrlich ascites carcinoma and C3H mice bearing MH 134 ascites hepatoma, ascites containing malignant cells were transplanted in the peritoneal cavity 10 days before were used.

Ehrlich ascites carcinoma cells and MH 134 ascites hepatoma cells in the physiological saline solution were exposed in vitro to 100% oxygen at 2ATA for 2 hours, air at atmospheric pressure.

As for the in vivo experiment, DDD mice bearing Ehrlich ascites carcinoma and C3H mice bearing MH 134 ascites hepatoma were exposed to 100% oxygen at 2ATA for 2 hours, air at atmospheric pressure.

Suspension of Ehrlich ascites carcinoma cells and MH 134 ascites hepatoma cells in the physiological saline solution were exposed to 100% oxygen at 4ATA and air at atmospheric pressure.

Using supravital staining by Reif, viable and dead cells were calculated microscopically in each group.

The results obtained were as follows.

- (1) Both in vivo and in vitro, there were no remarkable changes in regard to viable and dead cells between the group exposed to 100% oxygen at 2ATA and the control group.
- (2) In the case of a 4ATA atmospheric condition, there were also no significant differences regarding viable and dead cells in these 3 groups.

Using DDD mice bearing Ehrlich ascites carcinoma and C3H mice bearing MH 134 ascites hepatoma, $3 \times 10^5 / 0.05\text{cc}$ malignant cells were injected into the tail vein of the mice. One half of these mice were exposed to 100% oxygen at 2ATA and others were exposed to air at atmospheric pressure. These mice were sacrificed immediately after exposure to OHP. After sectioning into thin slices, the appearance of tumor cell emboli in a small arterioles as well as in alveolar capillaries in the lung were calculated microscopically in each group.

The results obtained are as follows.

- (1) Both in Ehrlich ascites carcinoma and in MH 134 ascites hepatoma, tumor cell emboli were observed more in the small arterioles or in capillaries of less than 150μ in diameter in the group exposed to OHP than in the control group.
- (2) Tumor emboli consisting usually of clumps or fragments of solitary cell were more in

the control group than in the group exposed to OHP.

(3) There were significant differences in these two groups.

Based on these results, it is concluded that enhancement of hematogenous metastasis to the lung in the group inoculated before exposure to OHP is not the effect of 100% oxygen or pressurized atmospheric condition on malignant cells, but changes of mechanic-ocirculatory changes or alveolar damages caused by hyperbaric oxygenation.

From these data, it is supposed that clinical operations on malignant diseases under a hyperbaric oxygenated environment should be conducted cautiously.

結 言

1955年イギリスの Churchill Davidson¹⁾ は悪性腫瘍に対し放射線療法と高圧酸素療法とを併用することによって抗癌作用の増強をみることを報告したが、1956年オランダの Boerema²⁾ は “Life without blood” という学説を掲げ心臓外科領域にそれを応用したが、それと共に高圧酸素療法なるものが広く臨床的に注目されるに至ったことは周知の通りである。なお、わが国では昭和33年齊藤³⁾ が脳卒中後遺症の14例に高圧酸素療法を行ったのが最初とされている。

今日高圧酸素療法の有効性としては、

(1) 血中、組織中の PO_2 を上昇せしめ、酸素供給の低下をきたすに至った場合でもそれをよく代償せしめる。

(2) グルコースや焦性ブドウ酸の代謝抑制や-SH基 (Sulphydryl Co-Enzyme) の酸素による不活性化、更には高燐酸塩基の形成阻害を惹起し、それにより従来考えられてきたとは全く異った酵素代謝を現出せしめるように働く。

(3) 血中に気泡を生じた際でも高圧そのものの効果によって気泡を消失せしめる。

(4) 嫌気性菌に対する殺菌効果が認められる。といったことがあげられている。

他方、悪性腫瘍の転移についてはリンパ行性にそれが行われることが多いとされているが、また血行性転移の屢々みられることもよく知られて来た事実である。

本研究はこのうち悪性腫瘍の血行性転移なる現象に対して高圧酸素環境が如何なる影響を及ぼすものであるかという点を検索する目的で行われた。というのも、手術を契機として起る悪性腫瘍巣の形成、進展の機序としては術前すでに潜在性転移として存在していたものが増殖する他に、当然手術操作中にリンパ管内

や流血中に放出された腫瘍細胞が更に着床し、増殖して転移巣を形成するに至ることが十分に考えられるからである。腫瘍のマッサージが腫瘍の転移を促進することや腫瘍をマッサージする度にその領域静脈内に腫瘍細胞のシャワー現象が起ることは動物実験や臨床的に既に確かめられているし⁴⁻¹⁰⁾、また静脈内に移植された腫瘍細胞数と肺に形成される転移巣との間には相関関係の成立することもよく知られている^{11,12)}。このような点から本研究では一定数の腫瘍細胞を人為的に血行転移せしめた際にみられる肺並びにその他の実質臓器への転移巣形成の様相から、血行転移に及ぼす高圧酸素環境の影響を検討しようと試みた。

実 験 成 績

(A) 高圧酸素環境が実験的腫瘍の肺並びにその他の実質臓器への血行性転移及び延命効果に及ぼす影響

(a) 肺への血行性転移について

実験材料および実験方法

試験としては京都大学純系動物センター及び近畿大学ライフサイエンスより供給された体重 20g 前後の DDD 系雄マウスと C3H 系雄マウスとを使用した。

DDD 系マウスにはエールリッヒ腹水癌細胞を、C3H 系マウスには MH134 腹水肝癌細胞をそれぞれ血行性に移植したがそのための腫瘍細胞の採取には移植後 7~10日目の腹水を使用し、それを生理食塩水で2回繰返し遠心洗浄した上、 $3 \times 10^5/0.05cc$ の割合となるような腫瘍細胞の生理食塩水浮遊液を調製し、その 0.05cc をマウスの尾静脈内にそれぞれ注入した。1群 15匹とし実験は次の各群についてそれぞれ行った。

第1群 OHP (高圧酸素) 開始48時間前に移植したもの。

第2群 OHP 開始24時間前に移植したもの。

第3群 OHP 開始直前に移植したもの。

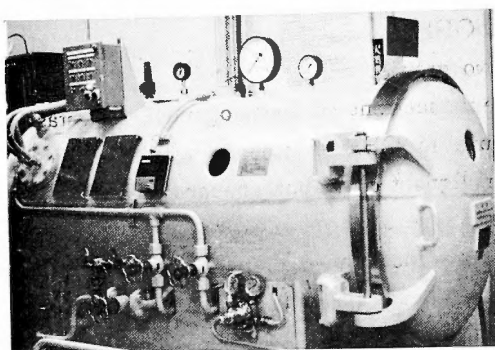
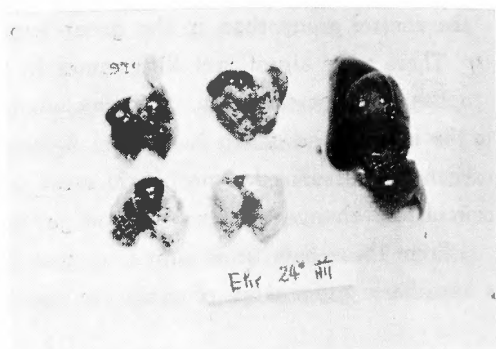
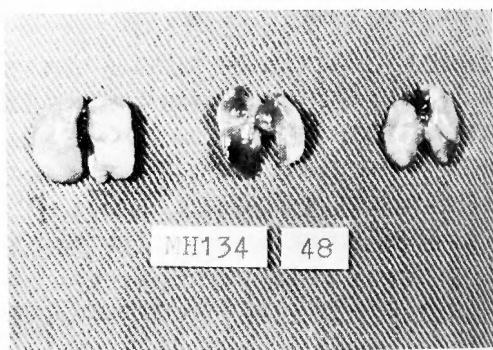


写真1 高圧酸素治療装置 (川崎重工業社製)

写真2 全身転移のみられた DDD マウス
(エールリッヒ腹水癌)写真3 肺転移巣の肉眼標本エールリッヒ腹水癌
MH134 腹水肝癌

第4群 対照群 (OHPなし).

OHP は 2ATA (絶対気圧), ボトムタイム (最高加圧時間) は 1 時間としその加圧, 減圧にはそれぞれ 10 分を要するようにした. OHP は 1 日 1 回毎日連続して 12 回施行, 各群何れにおいても 12 回の OHP 終了直後に屠殺, 剖検した. 肺については両側肺をそれぞれ 10% ホルマリン液で固定し, 常に同一部位で切断し, 標本を作成した上肺転移の部位, 大きさ (縦径×横径) をしらべ, 肺への転移巣の形成, 増殖に対する OHP の影響を検討した.

成 績

(イ) エールリッヒ腹水癌の場合

顕微鏡下に各群試験獣についてそれぞれの肺転移巣の縦径と横径とを測定した. その結果を一括図示したのが図 I である. 転移巣は肺の辺縁より 5mm 以内にあるものを辺縁部転移巣とし, 残りの 5mm の中心部に存在する転移巣を中心部転移巣とした.

転移巣の大きさは 0.1mm^2 以下, $0.11\sim 0.3\text{mm}^2$, $0.31\sim 0.7\text{mm}^2$, 0.71mm^2 以上というように分類して検討す

ると共に, また各群の肺転移巣の合計数についても検討を加えた. 一般に肺の辺縁部に転移巣が特に多くみられるということではなく, 肺野全体に亘たり一様に転移巣は分布してみられた.

移植後 12~14 日目に屠殺したマウスの肺転移巣の大きさは 0.7mm^2 以上を示すものは少なく, その多くは 0.7mm^2 以下であった. 0.1mm^2 以下, $0.11\sim 0.3\text{mm}^2$, $0.31\sim 0.7\text{mm}^2$, 0.7mm^2 以上の大きさを示す肺転移巣の何れについてみても, 辺縁部転移巣, 中心部転移巣共にその数は OHP を行った群の方が一般にコントロール群に較べ少なかった. したがって転移巣数の合計についてみても同様のことがいえる. 但し何れの大きさの転移巣についてみても, 一般に腫瘍移植後遅れて OHP を開始したものの程転移巣の数が少ないという傾向が認められ, 移植と同時に OHP を開始した群のみはコントロール群に較べて却って転移巣が多く認められる傾向を示した.

(ロ) MH134 腹水肝癌の場合

この際にも図 II に示すように肺転移巣は辺縁部にも中心部にも一様に分布して認められた. 転移巣の大き

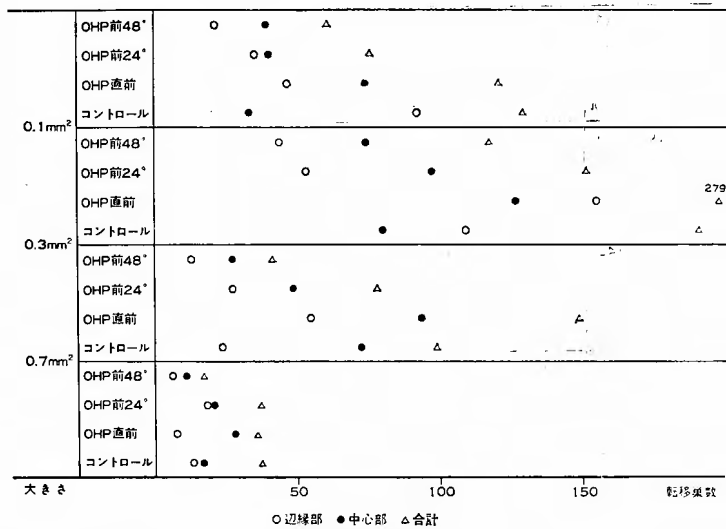


図 I 肺転移巣の大きさ（縦径×横径）エールリッヒ腹水癌（各群共15匹の平均値）

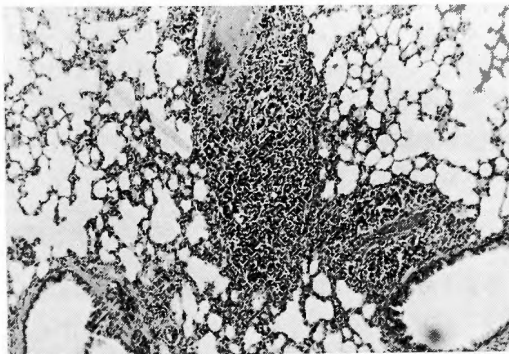


写真4 エールリッヒ腹水癌の肺転移巣，12回のOHP終了直後屠殺 H.E 染色 ×100

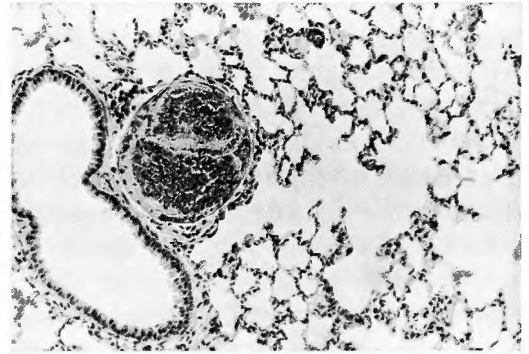


写真6 肺血管内に浮遊するMH134腹水肝癌細胞，2ATA，2時間のOHP1回終了直後屠殺 H.E 染色 ×200

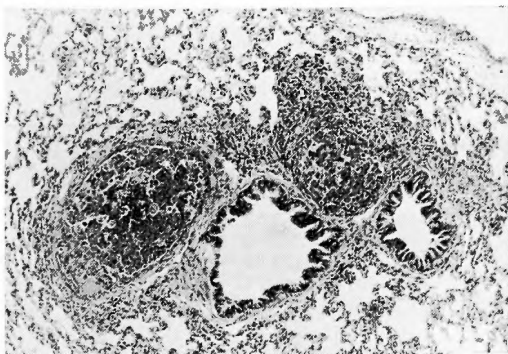


写真5 MH134腹水肝癌の肺転移巣，肺血管内で増殖している。12回のOHP終了直後屠殺 H.E 染色 ×100

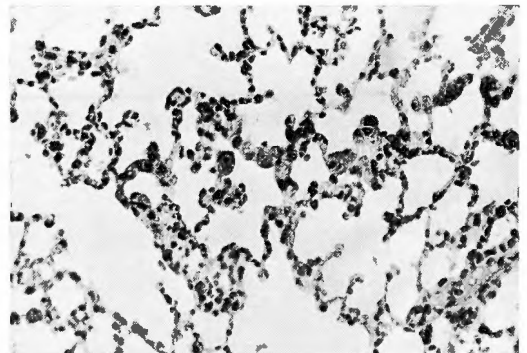
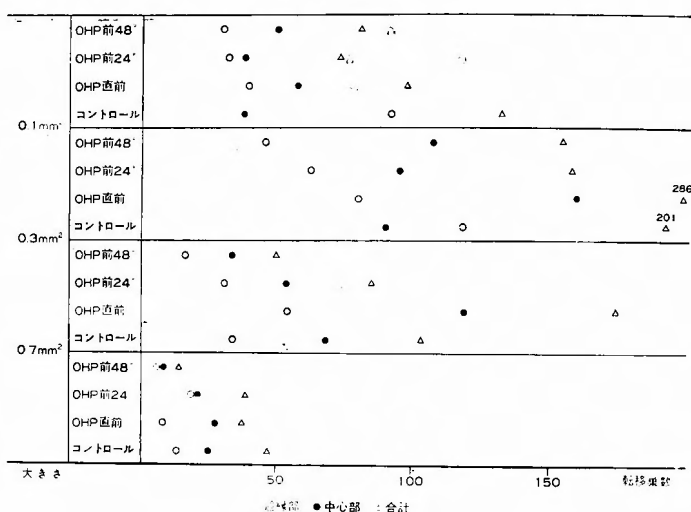


写真7 肺毛細血管内にみられるエールリッヒ腹水癌細胞 H.E 染色 ×400



図Ⅱ 転移巣の大きさ (縦径×横径) MH134 腹水肝癌
(各群共15匹の平均値)

さは 0.7mm^2 以上を示すものは少なく、やはりその大部分は 0.7mm^2 以下であった。 0.1mm^2 以下, $0.11\sim 0.3\text{mm}^2$, $0.31\sim 0.7\text{mm}^2$, 0.7mm^2 以上の大きさを示す転移巣の何れにおいても、この際も亦、辺縁部転移巣についてみても、中心部転移巣についてみても共に OHP を行ったものの方が全体としてコントロール群よりもその転移巣の数は少なく、したがって、その合計においてもエールリッヒ腹水癌の場合と同様の傾向が認められた。また何れの大きさの転移巣についてみても、移植後遅れて OHP を開始したもの程一般に転移巣の数は少ないという傾向を示した。但しこの際にも移植と同時に OHP を開始したものだけはコントロール群よりも却って転移巣が多くみられるという傾向が特異的な所見として認められた。

(b) 肺以外の実質臓器への血行性転移について

実験方法

以上各群のマウスについてそれぞれ移植後12～14日目に屠殺し、その脳、肝臓、心臓、腎臓を取り出し、常に同一部位で切断し、その断面にみられる転移巣について顕微鏡的に検索した。なお、本実験では各群の使用匹数を増加して、実験を施行した。

成績

表Ⅲに示すように肺以外の実質臓器への転移巣としてエールリッヒ腹水癌、MH134 腹水肝癌の何れにおいても時に肝臓、心臓、脳、腎臓への転移が認められたが肺における程転移巣が多くみられないこともあって各群の間に転移巣に関し一定の傾向や有意の差を認めることはできなかった。

肺 転 移 数
表Ⅰ Ehrlich ascites carcinoma

	OHP開始48° 前移植群	OHP開始24° 前移植群	OHP開始直前移植群	対 照 群
$<0.1\text{mm}^2$	80	68	94	128
$0.11<0.3\text{mm}^2$	152	155	286	201
$0.31<0.7\text{mm}^2$	49	83	171	101
$0.71>\text{mm}^2$	12	37	35	36
total	293	343	586	466
平均 値	19.5	21.6	39.0	31.0
S.D.	3.57	5.2	8.3	6.5

(各群共15匹の平均値)

肺 転 移 数
表 2 MH134 ascites hepatoma

	OHP開始48° 前移植群	OHP開始24° 前移植群	OHP開始直前移植群	対 照 群
<0.1mm ²	60	74	92	124
0.11<0.3mm ²	116	149	279	189
0.31<0.7mm ²	41	77	148	95
0.71>mm ²	17	37	35	36
total	234	337	554	444
平均 値	15.6	22.4	36.9	29.6
S.D.	5.8	5.8	12.1	7.2

(各群共15匹の平均値)

表 3 肺以外の臓器への転移
エールリッヒ腹水癌

	Brain	Heart	Liver	Kidney
OHP開始48° 前移植群	0/17	1/15	1/10	1/15
OHP開始24° 前移植群	0/11	0/10	1/10	1/10
OHP開始直前移植群	0/10	0/10	1/10	2/12
対 照 群	0/12	0/10	1/10	1/10

MH 134 腹 水 肝 癌

	Brain	Heart	Liver	Kidney
OHP開始48° 前移植群	3/31	4/29	0/30	2/27
OHP開始24° 前移植群	0/28	5/27	1/33	6/31
OHP開始直前移植群	0/34	3/40	0/31	1/23
対 照 群	6/30	1/31	2/30	2/27

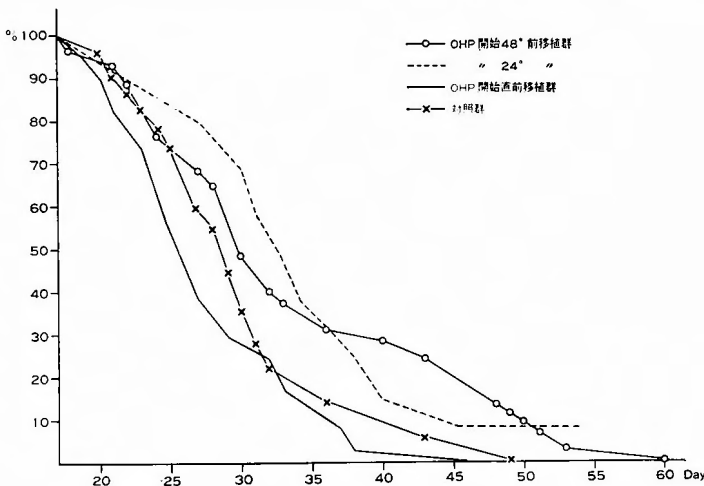
(c) 延命効果について

実験方法

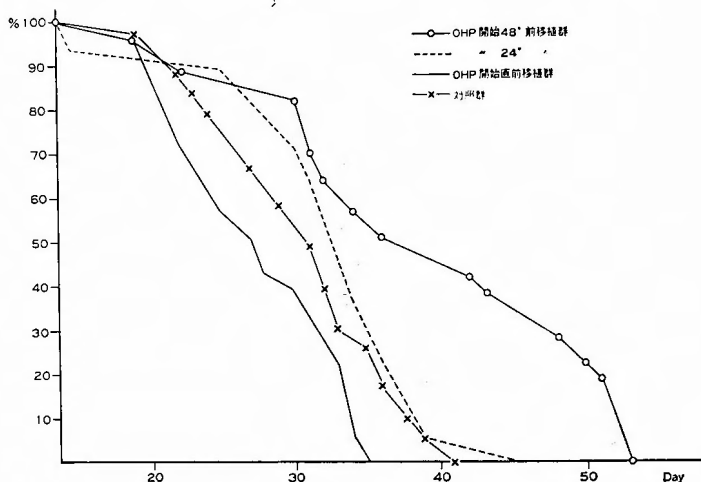
上記2つの実験腫瘍細胞を用いてそれぞれ4群のマウスについて高圧酸素療法の延命効果についても検討を加えた。

(イ) エールリッヒ腹水癌の場合

図Ⅲに示すように50%死亡率で腫瘍移植後の生存日数をみると OHP 直前移植群では平均26日、コントロール群では平均28.4日、OHP開始48時間前移植群では平均29.8日、OHP 開始24時間前移植群では平均32.4日となっている。OHP 直前移植群の50%死亡率は有意



図Ⅲ 延命率エールリッヒ腹水癌 (各群共15匹の平均値)



図Ⅳ 延命率 MH134 腹水肝癌 (各群共15匹の平均値)

の差としては認め難いがコントロール群に較べどうも促進される傾向があるようであるし、また OHP は移植後遅れて開始した方が延命効果の点でも優れているという傾向が確にあるように思われた。

(四) MH134 腹水肝癌の場合

図Ⅳに示すように50%死亡率で移植後生存日数をみると OHP 直前移植群では平均27日、コントロール群では平均31.4日、OHP 開始24時間前移植群では平均32.4日、OHP 開始48時間前移植群では平均36日となり前述のエールリッヒ腹水癌においてみられた傾向が一層顕著に認められた。即ち OHP 直前移植群ではコントロール群に比べ50%死亡率が高く、逆に OHP 開始48時間前移植群ではコントロール群に較べ平均 5.6 日の生存日数延長が認められた。

小 括

以上の結果より OHP 直前に癌細胞を静脈内に移植するとコントロール群に較べ転移巣の形成は却って多くなる傾向を示し、その50%死亡率も高くなる傾向が認められた。この傾向は特に MH134 腹水肝癌においてより一層顕著である。

その反面、OHP 開始48時間前、24時間前に静脈内に移植された悪性腫瘍細胞の肺への転移はエールリッヒ腹水癌、MH134 腹水肝癌の何れにおいてもコントロール群に較べ低下するようであり、その効果は50%死亡率においても亦示された。要するに、以上の事実からすると、OHP は潜在性の既に存在する転移巣に

は抑制的に作用するが、OHP 下での手術操作そのものによって撒布される転移巣の形成に対しては却って促進的に作用、不利であるように思われる。

(B) 高圧酸素環境が何故、肺への血行性転移を促進せしめるか？

その原因としては

(i) 高気圧、高酸素濃度が癌細胞そのものに与える影響⁵¹⁾

(ii) 末梢血管抵抗、肺血流、肺泡などに与える影響^{52,53)}

(iii) 高圧酸素環境が肺組織そのものに与える器質的变化⁵²⁾

などが考えられる。これらの原因を探る目的で更に次のような実験を行った。

(a) 腫瘍細胞そのものに対する酸素、圧力の影響

試験および実験方法

20g前後のDDD系マウスにエールリッヒ腹水癌細胞を移植後10日目の腹水を採取した。また同様に20g前後のC3HマウスにMH134腹水肝癌細胞を移植し移植後10日目の腹水を採取した。そしてこれら腹水中に含まれる腫瘍細胞を用いて高圧酸素環境がそれらの細胞に如何なる影響を及ぼすものであるかを *in vitro* および *in vivo* においてそれぞれ検索した。

腫瘍細胞の検索には超生体染色法¹¹⁾を応用、顕微鏡下に高圧酸素環境に曝された腫瘍細胞の生死を判定した。高圧酸素環境の作製には常に加圧時間10分、ポト

ムタイム 2 時間, 減圧時間 10 分のスケジュールを採用した。

(i) 2ATA で OHP と純酸素吸入群

平圧で空気吸入群

何れについても in vitro および in vivo の実験を施行した。

(ii) 4ATA で OHP と純酸素吸入群

4ATA で OHP と空気吸入群

平圧で空気吸入群

各群について in vitro の実験のみを施行した。

成 績

(i) エールリッヒ腹水癌細胞の場合

図 V に示すように 2ATA の高圧酸素環境に曝され

2ATA Ehrlich ascites carcinoma

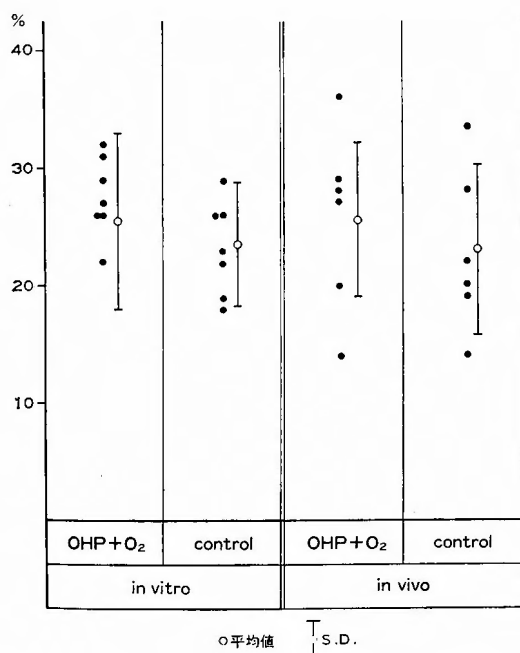


図 V 死細胞数 $\left(\frac{\text{死細胞数}}{\text{全細胞数}} \right)$

ても in vivo および in vitro の実験の何れにおいてもコントロール群に較べて生細胞と死細胞数の比は何等有意の差を示さなかった。また各群について in vivo の成績と in vitro のそれとを比較してみてもそれぞれ有意の差をこの際も認めることはできなかった。

4ATA においても表 VII に示すように, 各群の間に生

4ATA Ehrlich ascites carcinoma

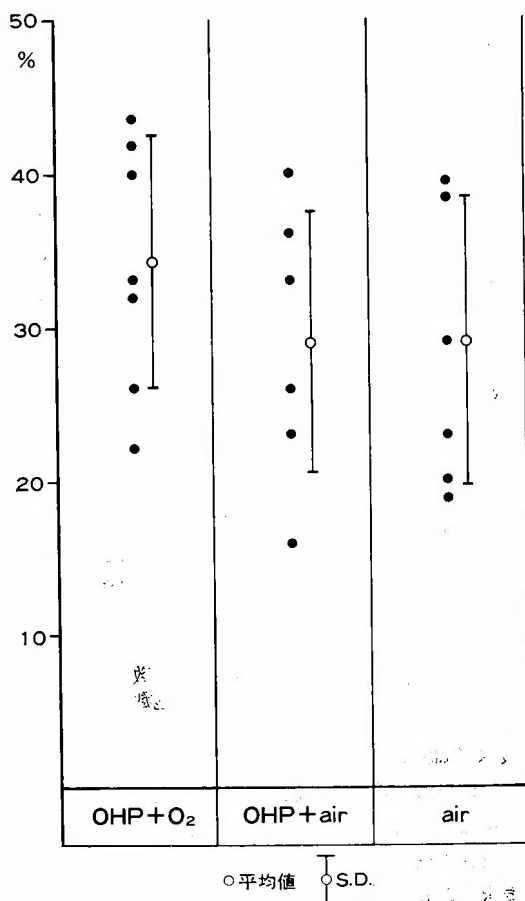


図 VI 死細胞数 $\left(\frac{\text{死細胞数}}{\text{全細胞数}} \right)$

細胞数と死細胞数の比は何等有意の差を示さなかった。

(ii) MH134 腹水肝癌細胞の場合

表 VII, 表 VIII に示すように 2ATA 下, 4ATA 下の何れの条件下においても各群の間にはエールリッヒ腹水癌の場合と同様, in vivo および in vitro の実験共, 何等有意の差を認めることはできなかった。これらの成績よりエールリッヒ腹水癌細胞, MH134 腹水肝癌細胞の何れにしても酸素および圧力因子は何等影響を及ぼすものでないことが判明した。

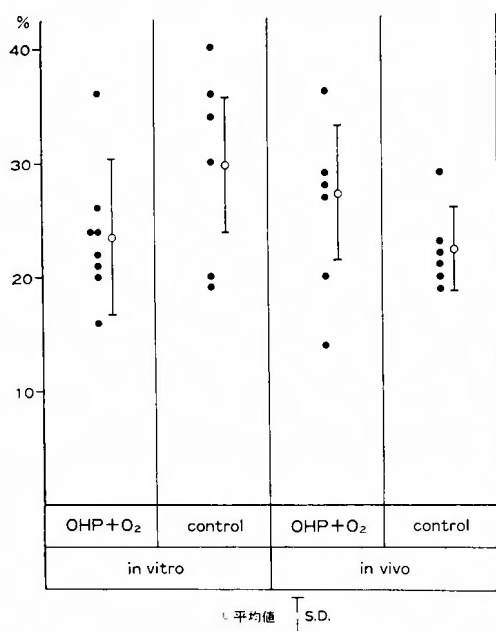
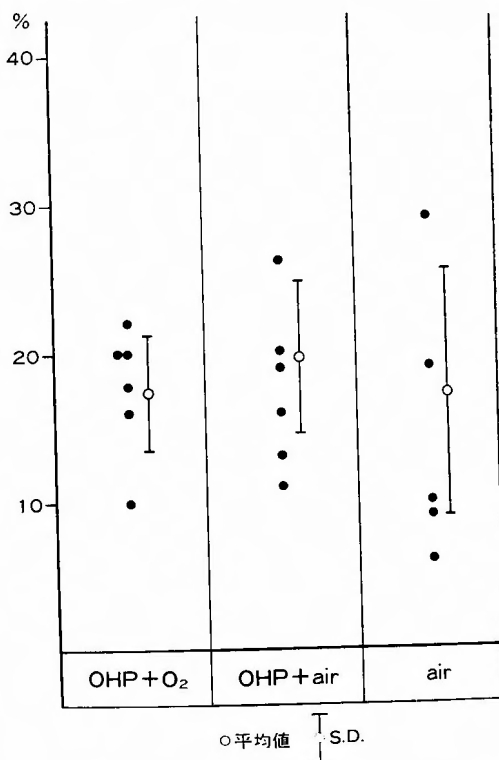
(b) 高圧酸素環境が生体そのものに与える影響

試験および実験方法

(a) の場合と同様に DDD 系マウスにエールリッヒ

2ATA MH134 ascites hepatoma

4ATA MH134 ascites hepatoma

図Ⅶ 死細胞数 $\left(\frac{\text{死細胞数}}{\text{全細胞数}} \right)$ 図Ⅷ 死細胞数 $\left(\frac{\text{死細胞数}}{\text{全細胞数}} \right)$

腹水癌細胞を、C3H 系マウスに MH134 腹水肝癌細胞それぞれ移植し、移植後10日目の腹水を採取し、その中に含まれるそれぞれの腫瘍細胞を生理食塩水で $3 \times 10^5 / 0.05\text{cc}$ の割合となるように腫瘍細胞の生理食塩水浮遊液を調製し、マウスの尾静脈内にその 0.05cc を注入した後、加圧10分、ボトムタイム2時間、2ATA, 減圧時間10分の高圧環境下で純酸素を吸入せしめた群と平圧下に空気を吸入せしめた群（コントロール群）との2群につき実験を施行した。高圧酸素環境下で純酸素を吸入せしめたものは減圧直後、頸椎脱臼により屠殺した。それぞれの肺組織標本については顕微鏡学的に直径 150μ 以下の細小血管および肺胞内に存在する腫瘍細胞数と直径 151μ 以上の血管内に栓塞ないし浮遊している腫瘍細胞数とをそれぞれ区別して算出した。また 151μ 以上の直径を有する肺血管内に存在する腫瘍細胞数と各群試獣の全肺野に存在する腫瘍細胞数との比をも算出した。

成 績

表Ⅴに示すようにまずエールリッヒ腹水癌では OHP 処置群においては肺の 151μ 以上の血管内に栓塞または浮遊している腫瘍細胞数が少ないのに対して 150μ

μ 以下の細小血管や肺胞内へおしこまれた腫瘍細胞数は多くなっている。ところがコントロール群では 150μ 以下の細小血管や肺胞内に存在する腫瘍細胞数が少ないのに対して、 151μ 以上の血管内に浮遊または栓塞している腫瘍細胞数は多いことが判明した、

MH134 腹水肝癌についてもエールリッヒ腹水癌の場合と同様の傾向がみられ、コントロール群との間に明らかな差異がみられた。即ちこの際にも 150μ 以下の肺細小血管や肺胞内におしこまれた腫瘍細胞数は明らかに OHP 群において多かった。

小 括

以上 a, b の実験から、少なくとも高圧酸素環境は腫瘍細胞そのものには影響を与えなくても、それが生体、特に肺胞に与える浮腫、出血、肺血流量の変化、肺胞壁の損傷などを介して、その肺細小血管内への移行を容易にし、更には肺胞内への漏出をも促がし、それが肺への着床をしやすい条件を醸し出す条件とな

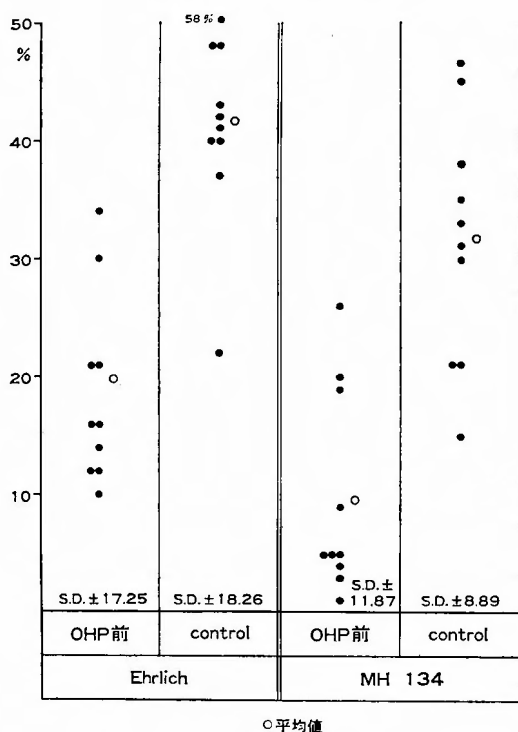


図4 肺血管内腫瘍細胞数

$$\left(\frac{\text{直径} 151\mu \text{ 以上の血管内腫瘍細胞数}}{\text{肺血管内全腫瘍細胞数}} \right)$$

っていることが判明した。

考 案

高圧酸素療法のガン治療への応用については欧米においては Fischer¹²⁾, Auler¹³⁾, Almeida¹⁴⁾ らの報告がみられ、何れも何らかの抗腫瘍効果があるとしているが、Warburg¹⁵⁾ も亦高圧酸素療法の抗癌作用を指摘、高濃度の酸素は癌細胞に対して抗腫瘍性に作用することを提唱した。Boerema¹⁶⁾ は1964年疼痛のある癌末期患者の数例および上肢 melanosarcoma の1例に対して高圧酸素療法を行い、それ単独でも既に効果のあることを認め、Kluft¹⁷⁾ と共に外科手術中に高圧酸素療法を応用すると腫瘍の遊離細胞の転移と増殖とを妨げる可能性のあることを指摘している。他方高圧酸素療法が無効であるとする報告もみられ、Cambell¹⁷⁾, Mc Credie¹⁸⁾ などは何れもそのような作用は認め難いとしている。

本研究は血行性に移植された実験的腫瘍細胞の各臓器に、特に肺に対する血行性転移が高圧酸素環境によって如何なる影響を受けるかを検索し、ひいては臨床

的に悪性腫瘍患者を高圧酸素環境下で手術したりすることが果たして妥当なものであるかどうかを知る目的で行なわれた。

佐藤¹⁹⁾, 伊藤²⁰⁾ によると尾静脈内に移植された腫瘍細胞はその移植直後には肺血管内の随所に認められるが24~48時間もするとそれは殆んど認められなくなるところから肺血管内に移行した腫瘍細胞の大部分は24~72時間もすると肺血管を通過してしまうか、あるいは変性、死滅するものとされ、僅かに生き残ったごく一部の腫瘍細胞のみが肺に着床し、増殖して転移巣を形成するに至るものとされてきた。

本実験においては OHP 直前に実験的腫瘍細胞を移植した群では肺転移巣が多く惹起され延命効果においてもコントロール群に劣る反面、OHP 開始48, 24時間前にそれが移植された群では移植後屠殺までの日数が他の群に較べてそれぞれ2~1日多いにもかかわらず肺転移巣も少なく、延命効果も認められるという結果を示した。即ち移植と同時に高圧酸素環境に曝された個体においては腫瘍細胞の肺細小血管内への移行、着床が却って促進されるのに対して移植後48, 24時間経た後 OHP が開始されたものにおいては着床した腫瘍細胞が増殖しはじめる時期に一致して高圧酸素環境に個体が曝されることになり、それが一旦着床した腫瘍細胞の増殖に対しては抑制的に働き、ひいては転移巣の形成に抑制的に作用、延命効果をもたらすように思われる。

高圧酸素環境下における悪性腫瘍の転移に関する研究は少ないが、Johnson et al.²¹⁾ は L51784 lymphoblastic leukemia cell の固形癌を DBA/2 マウスに移植し、それに 3ATA, 90分宛、個体が腫瘍死するまで OHP を継続、反覆し癌の増殖と転移に対する影響を調査しているがコントロール群との間に大差がなかったと報告している。この報告は Suit et al.²²⁾, Feder et al.²³⁾ たちの主病巣と転移形成との間に高圧環境が仮令作用してもそれは何等の好影響を及ぼすものではないとした実験成績あるいは Van den Brenk et al.²⁴⁾ の臨床経験例ともよく一致する。

他方また Johnson²⁵⁾, Wildermuth²⁶⁾, Cade²⁷⁾ らのように OHP を使用すると人癌では却って広範囲の転移を早期に発現せしめるとする報告すらある。

また高圧酸素環境下における肺血行転移についての実験的研究としても、きさに Suit et al.²²⁾, Kluft²⁸⁾ の報告があり Suit は OHP 群とコントロール群との間に有意差なしとしたのに対して Kluft は両群の間

に有意差があったとしている。しかしこの何れの実験においてもただ単に転移巣を肉眼的に検索しただけにとどまっている。

今回の実験で12回の OHP 環境におかれた後に屠殺されたマウスの肺転移巣は自由細胞が多いとされる MH134 腹水肝癌²⁹⁾ が応用されても、また島型の集合をなす細胞が多いとされているエールリッヒ腹水癌²⁹⁾ が応用されても、共に高圧酸素環境下におく直前に血行性移植を行った場合には肺の転移巣は却って増加する傾向を示したのに対して血行性に移植されたそれら実験腫瘍細胞が肺に着床し増殖をはじめめる時期である48, 24時間後に初めて OHP を開始した際には寧ろ肺転移巣の形成は抑制されるに至ることが判明したわけである。

血行性転移を左右する要因として宿主の congenital soil theory と mechanico-circulatory theory とがあげられている。前者に関しては実験腫瘍と試獣の種類の組合せによって転移巣の部位と数が異なることが知られているほかに^{30,31)}、転移そのものに対しても宿主側に fertile soil と poor soil³²⁾ とのあることが指摘されているし、また腫瘍細胞に対する免疫学的抵抗性³³⁾、宿主の年令、遺伝学的な systemic factor^{34,35,36)} などがあげられている。

他方、後者に関しては Comann^{37,38)} が指摘したように arteriole に着床した腫瘍細胞は死滅しやすいのに対して Capillary に着床したものは増殖しやすいことが知られているし、また血行性転移を促進させる要因として外傷³⁹⁾、腫瘍のマッサージ⁴⁰⁾、体温や生活環境の温度上昇^{41,42)}、副腎皮質ホルモン^{43,44,45)}、プロゲステロン⁴⁶⁾、凝固機転^{47,48,49)}、出血、麻酔などの要因があげられている。手術は一般的にいつて主病巣をとり除くわけであるから血行性転移に対しては抑制的に作用するものといえるが⁵⁰⁾、高圧酸素環境下での悪性腫瘍に対する手術には問題があり却って不利な結果を招く怖れが充分にあるものと云えよう。即ち今回の実験で腫瘍細胞として島型の集合をなす細胞が多いエールリッヒ腹水癌を用いても、自由細胞の多い MH134 腹水肝癌を用いても何れの際にも共に高圧酸素環境におく直前に腫瘍細胞を移植した際には肺への血行性転移が促進されたためである。これも要は高圧酸素環境が mechanocirculatory factor として悪性腫瘍の血行性転移形成に対し促進的に働くためと思われる。

結 語

(1) 2ATA, 1時間, 12回連続の高圧酸素環境下におく直前にエールリッヒ腹水癌細胞あるいは MH134 腹水肝癌を静脈内に注入した場合、肺の転移巣の形成は促進された。これは高圧酸素環境の腫瘍細胞そのものに対する直接作用ではなくして、肺に対して高圧酸素環境が及ぼす mechanico-circulatory にもとづくものであろう。

(2) しかし腫瘍細胞の血行性移植を行った後48時間, 24時間を経てから同じ条件の高圧酸素環境に初めて個体が曝されるときはエールリッヒ腹水癌においても, MH134 腹水肝癌においてもその肺への転移巣の形成は抑制される。これは腫瘍細胞が着床し、増殖する時期に一致して高圧酸素環境が作用するためによるものと思われるが、この点についての機作の解明は今回の実験では行い得なかった。

(3) このように既に潜在性の転移巣に対しては高圧酸素環境がその進展、発育に抑制的に作用しても、以上の事実は悪性腫瘍に対する高圧酸素環境下での手術が不利なる結果を招く怖れのあることを、仮令その後頻回に亘たり高圧酸素環境下に個体をおいても、なおあることを示唆するものであり、悪性腫瘍に対する手術に際して、それを高圧酸素環境下で行なうことに対しては極めて慎重でなければならないことを教えるものと云えよう。

稿を終るにあたり御指導を戴いた京都大学外科学教室第2講座故木村忠司教授並びに日笠頼則教授、および近畿大学第2外科学教室久山健教授並びに実験に際し心からなる御協力を戴いた現名古屋大学高圧治療部菅原修二氏に感謝の意を表する。

文 献

- 1) Churchill Davidson, I., et al.: High Pressure Oxygen and Radiotherapy. Lancet, 1 1019, 1955.
- 2) Boereema, I. et al.: Clinical application of hyperbaric oxygenation, high atmospheric pressure as an aid to cardiac surgery. Arch. Chir. Neeth., 8 : 193, 1955.
- 3) 斉藤春雄: 気圧療法, 日本医事新報, No. 1808, p. 35, 昭33.
- 4) Knox, L. C.: The relation of massage to metastasis in malignant tumors. Ann. Surg., 75 : 129, 1922.
- 5) Marsch, M. C.: Tumor massage and metastasis in mice. J. Can. Res., 11 : 101, 1927.
- 6) Roberts, S. et al.: Relationship of cancer cells

- in the circulating blood to operation. *Cancer*, **15**, 232, 1962.
- 7) Ross, C. A. : Tumor cells in the blood in bronchogenic carcinoma. Ann. Meeting, Trudeau Ass. Philadelphia, 1958, Griffith et al from "Circulating cancer cell"
- 8) Cole W. H. et al. : Dissemination of cancer. New York. Appleton, Century-Crafts, 1961.
- 9) Griffith, J. D. : The dissemination of cancer cells during operative procedures. *Ann. Roy. Coll. Surg. Engl.*, **27** : 14, 1969.
- 10) Sheinin, T. M. : Effect of surgery upon the occurrence of circulatory malignant cells. *Chir. Scand.*, **124** : 287, 1963.
- 11) Reif, A. E. et al. : A system for quantitative determination of cytotoxic activity of antisera to ascites tumor cells. *Cancer Res.*, **20** : 1235, September, 1960.
- 12) Fisher, A et al. : Ueber das Wachstum von normalen und boesartigen gewebzellen unter erhoehten Sauerstoffdruck. *Zeitschr. Krebsforsch.*, **23** : 12, 1926.
- 13) Auler, H et al. : Beitrage zur Frage der O₂-Ueberdrucktherapie beim Krebskranken Menschen. *Z. Krebsforsch.*, **23** : 466, 1929.
- 14) Almeida, A. O. : Traitment et querison par loxygene du cancer des rats CR. *Soc. Biol. Paris.*, **116** : 1228, 1934.
- 15) Warburg, O. et al. : Ueberden Stoffwechsel von Tumoren in Koerper. *Klin. Wschr.*, **5** : 829, 1926.
- 16) Boerema, I. : Clinical Application of Hyperbaric Oxygen. P123, 1934, Elsevier Publishing Co., Amsterdam.
- 17) Campbell, J. A. : Oxygen poisonig & tumor growth. *British. J. Exp. Path.*, **18** : 191, 1937.
- 18) Mc Credie, J. A. et al. : Effect of hyperbaric oxygen on growth and metastasis of the C-3HBA tumor in the mouse. *Cancer*, **19** : 1537, 1966.
- 19) Sato, H. : Experimental study on the mechanism of metastasis formation. *Acta. Path. Japondica.*, **9** : Suppl. 685-706, 1956.
- 20) 伊藤元彦 : 肺癌手術に対する補助化学療法に関する実験的ならびに臨床的研究. 京都大学結核胸部疾患研究紀要, **3** : 52. 昭44
- 21) Johnson, R. J. R. et al. : The effect of hyperbaric oxygenation on tumor metastasis in mice. *Clin. Radiol.* **22** : 538-540, 1971.
- 22) Suit, H. D. et al. : Effect of daily exposure to high pressure oxygen on tumor growth. *Am. J. Roentogenol.*, **97** : 1019-1022, August, 1966.
- 23) Feder. B. H. et al. : The effect of hyperbaric oxygen on pulmonary metastasis in C3H mice. *Radiology*, **90** : 1181-1184, 1968.
- 24) Van den Brenk et al. : Experience with mega voltage irradiation of advanced malingat disease using hign pressure oxygen. *Proceedings of 1st International Congress on Clinical Application of Hyperbaric Oxygen.* Amsterdam, 1963, New York, Elsevier Pub. Co. pp 144-160
- 25) Johnson, R. E. et al. : Hyperbaric oxygen effect on experimental tumor growth. *Radiology*, **88** : 775-777, April, 1967.
- 26) Wildermuth, O. : The case for hyperbaric oxygen radiotherapy. *J. A. M. A.*, **191** : 986-990, March, 1965.
- 27) Cade, I. S. et al. : Megavoltage radiotherapy in hyperbaric oxygen. *Cancer*, **20** : 8187-821, 1976.
- 28) Kluft, O. and Boererena, I. : Hyperbaric oxygen in experimental cancer in mice. *Proceed. of the 1st Internat. Congr. on Clinical Application of hyperbaric oxygen.* Amsterdam, 1963, New York, Elsevier Publ. Co.
- 29) 佐藤春郎 : マウスの腹水腫瘍. 実験腫瘍学, pp 480~485, 朝倉書店, 昭41.
- 30) Sugarbaker, E. D. : The organ selectivity of experimentally induced metastasis in rats. *Cancer*, **5** : 606-612, 1952.
- 31) Kinsy, D. C. : An experimental study of preferential metastasis. *Cancer*, **13** : 674-676, 1960.
- 32) Paget, S. : The distribution of secondary growth in cancer of the breast. *Lancet*, **1** : 571-573, 1889.
- 33) Mc-Kay, D. G. : Disseminated intravascular coagulation ; an intermediary mechanism of disease. pp 63-72, Harper, New Yerk, 1965.
- 34) Leighton, J. A : method for the comparison of the fate of the intravascular tumor cell emboli in vivo and in organ culture. *Nat. Cancer Instit. Monograph*, **11**, 157-179, 1963.
- 35) Takahashi, M. : An experimentel study of metases. *J. Path. Bacteriol.*, **20** : 1-3, 1915.
- 36) Teel, P. : Vascular invasion as a prognostic factor in breast carcinoma. *Surg. Gynecol. Obst.*, **118** : 1006-1008, 1964.
- 37) Coman, D. R. : Mechanism responsible for the origin and distribution of blood borne tumor metastasis. *Cancer Res.*, **13** : 397-404, 1953.
- 38) Coman, D. R. : Studies on the mechanism of metastasis, the distribution of tumor in

- various organ in relation to the distribution of arterial emboli. *Cancer res.*, **11**: 649-651, 1951.
- 39) Fischer, B.: Trauma and the localization of tumor cells. *Cancer*, **20**: 23-29, 1967.
 - 40) Tyzzer, E. E.: Factors in the production and growth of tumour metastasis. *J. Med. Res.*, **28**: 309-332, 1913.
 - 41) Lucke, B.: The effect of temperature on the growth of frog carcinoma I. Direct microscopic observations on living in intraocular transplants. *J. Exp. Med.*, **72**: 321-330, 1940.
 - 42) Lucke, B. The effect of temperature induction of metasis of frog carcinoma by increase of environmental temperature. *J. Exp. Med.*, **89**: 269-278, 1949.
 - 43) Hartmann, W. H. et al.: Gastroduodenal metastasis from carcinoma of the breast on adrenal steroid induced phenomenon. *Cancer*, **14**: 426-431, 1961.
 - 44) Inversion, H. G. et al.: Influence of corticosteroids on frequency of spleen metastasis in patient with breast cancer. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **44**: 205-212, 1958.
 - 45) Zeidmann, I.: The fate of circulatory tumor cells 3, a mechanism of cortisone action in increasing metastasis. *Cancer Res.*, **22**: 501-503, 1962.
 - 46) Poel, W. E. et al.: Progesterone and tumor metasis. *Lancet*, **2**: 970-972, 1963.
 - 47) Wood, S.: Experimental studies of the intravascular dissemination of ascites V_2 carcinoma cells in rabbit, with special reference to fibrinolytic agents. *Bull. Swiss. Acad. Med. Sci.*, **20**: 92-121, 1964.
 - 48) Wood, S.: Mechanism of metastasis production by blood-borne cancer cells. *Cancer Conf.*, **4**: 167-223, 1961.
 - 49) Clifton, E. E. et al.: Effect of human fibrinolysin on the toxic effect & growth of blood borne metasis of the Brown-Pearce carcinoma and the V_2 carcinoma of rabbit. *Cancer*, **9**: 1147-1157, 1956.
 - 50) Ketcham, A. S. et al.: The development of spontaneous metastases after the removal of a primary tumor. *Lancet*, **14**: 875-882, 1961.
 - 51) Warburg, O.: On the origin of cancer cells. *Science*, **123**: 309, 1956.
 - 52) Bain, W. H. et al.: Pulmonary vascular changes with increased oxygen tensions. Hyperbaric oxygenation, Proceeding of the second International Congress, Glasgow, Sept. 1964, E. & S. Livingstone Ltd., Edinburgh and London.
 - 53) Bird, A. D. et al.: The effect of increased oxygenation on peripheral blood flow. Hyperbaric Oxygenation. Proceeding of the Second International Congress, Glasgow, Sept, 1964, E & S Livingstone Ltd., Edinburgh and London.