

動脈内挿管投与による Mitomycin C の動態に関する研究

京都大学医学部整形外科科学教室（指導：伊藤鉄夫教授）

吉 栖 正 博

〔原稿受付：昭和42年2月20日〕

Study on the Antineoplastic Agent "Mitomycin C" by the Intra-arterial Infusion Method to the Extremities

by

MASAHIRO YOSHIKUMI

From the Department of Orthopedic Surgery Kyoto University Medical School
(Director : Prof. Dr. TETSUO ITO)

In the treatment of malignant tumor of the extremities, although singly or in combination with surgical treatment, chemotherapy or radiological therapy has been used, and sufficient results have not as yet been obtained. Recently, surgical therapy with chemotherapy by intra-arterial administration has been popularly utilized in order to obtain better local effects of anti-neoplastic agents to lessen the side effects. The high concentration and the activity of this agent on the tissue and its long validity are necessary to demonstrate the effects of the anti-neoplastic agent in vivo, in spite of the mechanisms of the function of the drug. The author has observed how an anti-neoplastic agent brings about a change in vivo by the intra-arterial administration in patients which have been operated on and in normal rats. And, in rats with a WALKER tumor transplanted in to their bone marrow, their blood distribution, absorption and inactivation in the tissue of all organs has been investigated using Mitomycin C (MMC) as index.

1) The inactivation of MMC is remarkably demonstrated in the value of 0.004 mcg/ml and 0.08 mcg/ml of MMC in the rats' blood; this seems to have a higher concentration in the red blood corpuscles; however, there seems to be no influence on the serum. MMC, therefore, is probably absorbed or inactivated by the erythrocytes.

2) Remarkable decreasing tendencies of MMC activity have been noted in WALKER Carcinosarcoma (100%), liver (69-100%) and kidney (43-100%) of rats. The muscle, bone and bone marrow of the extremities of the rat revealed 30% loss of activity half hour after contact with MMC. Internal organs indicated the loss of 10 to 20 % of MMC activity in-vitro.

3) The content of MMC in rat tissue through various methods of application; such as intra-arterial, intra-venous, subcutaneous, muscular and intra-peritoneal administration was continually estimated and showed the highest degree in the last method, which gave 1mg/kg in several of the rat's organs. The experiment with MMC activity in rats demonstrated a characteristic alteration with various methods of administration: above all

the concentration in the right muscle of the thigh of the rats produced a beneficial effect resulting from the method of arterial infusion through the left femoral artery. The above was accomplished through the insertion and fixation of a Polyethylen tube at the branch of abdominal artery.

4) The tumor bearing rats, especially with a subcutaneous of back transplanted WALKER Carcinosarcoma when infused through intra-venous or intra-arterial femoral vein with as much as 1 mg/kg of MMC did not show any concentration. However, in the transplanted WALKER tumor in the tibial bone marrow of the rat a concentration 15 times higher appeared through intra-arterial application. And, on the intermittent intra-arterial infusion method which was continued for 5 days a larger content appeared due to the longer duration of the drug in the tissue, this in marked contrast with the single arterial trials.

5) Clinically in 8 cases of osteogenic sarcoma of the extremities the intra-arterial infusion of MMC was performed under activity of MMC in venous blood or in blood around the sarcoma. Thereafter, the content in the blood around the sarcoma was of a higher degree than in the venous blood in the first trial though it gradually deteriorated over a period of time. When intra-arterial infusion was performed for 8 days, the activities of MMC in blood around the sarcoma was again estimated. After continually administration of MMC for 8 to 14 days by an infusion pump (Chronometric infusor), the prominent elevation of the activity of MMC especially in the blood around the sarcoma increased, but which was continued application over a long period.

6) After the infusion therapy for 8 days with MMC, in 6 cases amputation of the lower extremity was performed in order to estimate the MMC activities. The author obtained results which showed that the values were in the tumor tissue, the bone marrow or the intra-articular fluid 2 to 3 times greater than in the subcutaneous tissues or muscles.

第1章 緒 言

悪性腫瘍に対する化学療法剤は外科的療法の補助手段として或は切除不能例に対して広く用いられるようになった。しかし、今日知られている各種制癌剤⁹⁾¹⁰⁾の殆どすべてが正常組織へも影響を及ぼし、且つ全身性の副作用が極めて強く、しばしば有効量の制癌剤投与を続行できないことがある。また副作用の強いもの程その制癌効果が大きであると考えられている。一方、悪性腫瘍の制癌剤に対する感受性については未だ不明の点が多く、実際の治療に当っては適応の判定が困難なため、多くの場合、殆ど無選択的に種々の制癌剤が用いられている状態である。

従つて、新しい制癌剤の開発、研究と同時に、現在用いられている制癌剤の投与法を改善し、これらをより有効に使用するためには、どのような方法を用うべきかが当面におけるわれわれの課題の一つである。

このような観点から、悪性骨腫瘍に対する外科的療

法の補助手段として、局所主幹動脈内挿管投与法(Klopp²⁰⁾, 1950年), 次いで腫瘍部分を全身血液循環から遮断して、ここに大量の制癌剤を作用させる局所灌流法(Creech⁵⁾, 1958年)などが開発され、多くの臨床的および実験的研究が行なわれつつあるのは当然の事と考えられる。

しかしながら、化学療法剤の使用目的は転移再発の予防、残存腫瘍の発育抑制、手術不能例の延命効果にあり、遠隔臓器への転移に対しても、また流血中の向肺性腫瘍細胞に対しても、それらを追跡しながら肺転移の形成を抑制するために³⁾、制癌剤は全身的に使用される方がより合目的と考えられる。この目的からすれば、動脈内挿管投与法 Intra-arterial infusion, すなわち腫瘍主幹動脈内への制癌剤の直接投与法を用いれば、局所腫瘍に濃厚な制癌剤が作用し強い制癌効果が得られる。また同時に、全身の効果も期待され、しかも副作用を軽減させることができるという点で、他の投与法にくらべてより合理的と考えられる。

本法は1950年 Klopp²⁰⁾21)52) によりはじめて報告されて以来、Bierman⁴⁾, Cormer⁶⁾, Grady¹¹⁾, Sullivan⁴⁴⁾, Hester¹⁵⁾らの報告がある。本邦でも、中村³¹⁾, 酒井³⁵⁾³⁶⁾, 白羽³⁹⁾⁴⁰⁾, 井口¹⁶⁾, 増田²⁸⁾³⁰⁾, Suwa⁴⁹⁾らは悪性腫瘍の手術不能例、放射線療法治療後の再発例に対し、あるいは外科の手術と併用して用いているが、静脈内あるいは経口投与などにくらべて、より優れた局所効果と副作用の軽減を認めている。さらに合併症を少なくし、臨床的效果を高めるために、装置の技術的改良³⁾¹⁸⁾⁴⁴⁾⁴⁷⁾⁵⁶⁾⁵⁷⁾, 拮抗剤の使用⁷⁾⁴⁵⁾, あるいは投与形式¹¹⁾¹⁵⁾²⁰⁾³⁴⁾⁴²⁾⁴⁶⁾⁴⁷⁾⁵⁷⁾などについても種々の改善工夫が行なわれて来た。

われわれは昭和38年来¹⁹⁾, 30数例の悪性骨腫瘍について、根治手術と併用して、術前後に制癌剤の動脈内挿管投与を行ないかなりの効果をあげている。本法を行なった場合、生体内で制癌剤がどのような変動をしめすかについて、基礎的、臨床的研究を試みた。すなわち、制癌剤の中で癌細胞抑制効果が比較的大で、しかも生体内変動を比較的容易に検出する Mitomycin C¹³⁾¹⁴⁾²²⁾³⁷⁾⁵⁰⁾⁵³⁾⁵⁴⁾ (以下 MMC と略す) を用いて、血中力価、臓器内分布、組織吸着および不活性化の問題を検討したが、若干の興味ある知見を得たので、ここに報告する。

第2章 MMC 力価測定法

第1節 実験材料

寒天培地、ブイオンを使用し、それぞれ加温溶解後 125℃ (1.5kg/cm²) で20分間高圧滅菌を行なった。なお、検定菌としては大腸菌 B 株を用いた。

第2節 実験方法

第1項 薄層寒天平板の作成

滅菌寒天培地を加温溶解して、5ml づつ分注した滅菌試験管を、沸騰した重氫中に入れて培地を充分溶解した後、室温に放置し徐々に重氫中の温度を下げて、これを50℃に保つ。あらかじめ大腸菌 B 株の1白金耳をブイオン培養液に加え24時間増菌したものを、各々試験管に2滴宛加え充分に混和した後、滅菌規格ペトリシャーレに流し込み、手早く払って平板をつくる。薄層寒天は均等な厚さを必要とするため水平台の上で払って固化させる。

冬期には均等な厚さの平板をつくるためには、ペトリシャーレの加温を必要とする。この平板はその都度作成し実験に供した。

第2項 標準曲線の作製

薄層寒天平板上に滅菌した真鍮性カップ (外径8mm ± 0.1mm, 内径6mm ± 0.1mm, 高さ10mm) を2~4個垂直に立て試料を満し、直ちに冷蔵庫に入れて4℃で正確に試料を20時間滲透させたのち、37℃にさらに18時間培養し、翌日出現した阻止円 (図1) の直径をノギスを用いて計測した。片対数方眼紙を用いて、対数目盛に MMC の力価を、普通目盛に阻止円の直径をとる。両者の間には図2のようにほぼ直線関係が成立するが、この直線から試料の阻止円直径に対応する力価を求める。すなわち、MMC を 0.2, 0.1, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 mcg/ml の8段階に滅菌磷酸緩衝液を用いて希釈して標準曲線を作製した (表1, 図2)。

表1 E. Coli B を用いた薄層カップ法における MMC力価と阻止円直径との関係

力 価 (mcg/ml)	阻止円直径 (mm)
0.2	38.5 ± 0.24
0.1	35.1 ± 0.22
0.08	33.5 ± 0.48
0.04	30.0 ± 0.32
0.02	26.2 ± 0.16
0.01	22.5 ± 0.22
0.005	18.5 ± 0.28
0.0025	15.0 ± 0.25

第3項 エーテルドライアイス凍結片⁴¹⁾による 生体各臓器乳剤

生体各臓器内 MMC 力価の測定にあたっては、臓器重量の一定量を正確に測定し得ること、酵素による影響をうけにくいこと、乳化し易いことなどが必要条件である。組織内酵素による薬剤の不活性化作用を測定する方法としては、好気性下又は嫌気性下に試料を熱処理する方法があるが、著者は好気性下に低温 (-20℃) でこれを処理した。すなわち、氷結箱を用いて、100cc のビーカーにエーテルを入れ、ドライアイスの細片を順次投入し、ドライアイスの気泡が出なくなるに至つて、無菌的に採取した臓器をこれに投入し、瞬間的にこれを凍結することによつて、制癌剤に対する組織酵素の影響を少なくした。凍結した臓器は、その重量を正確に測定し得るのみならず、これを細片化するのも容易である。滅菌乳鉢および乳棒を用いて滅菌磷酸緩衝液を臓器に加えて乳化した。

第4項 小括

MMC の投与量は通常、他の制癌剤にくらべて著し

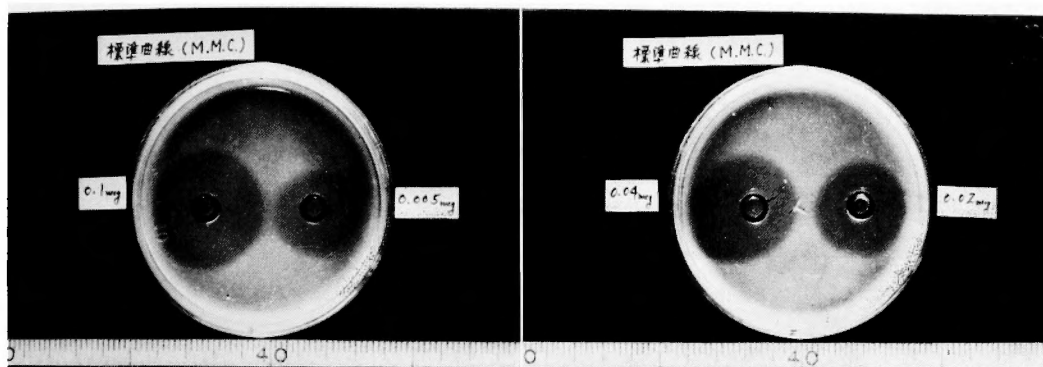


図 1

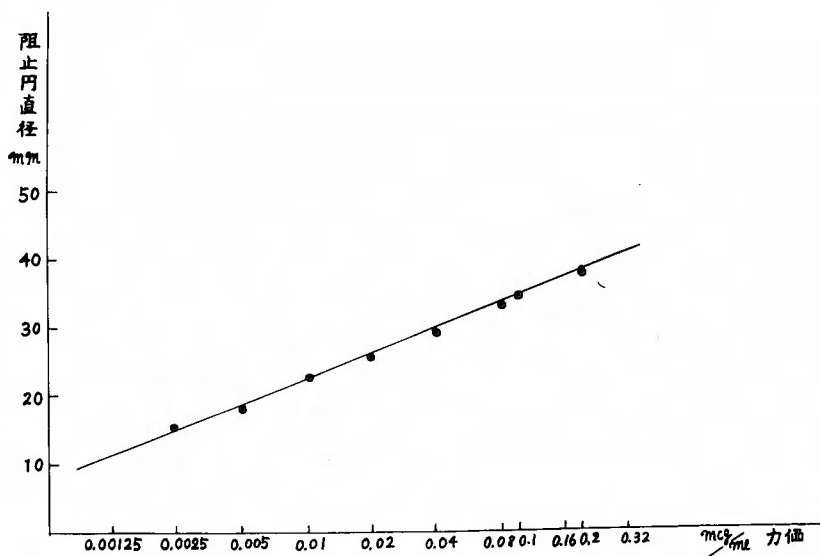


図 2 標準曲線 (片対数グラフ)

く少量であるため、体液中の力価も低く、これを測定するには一層鋭敏な方法を用いる必要がある。宮村²⁷⁾らは大腸菌B株がMMCに対し特に鋭敏であり、その0.00125mcg/mlで菌の発育が完全に阻止されると報告している。著者は宮村²⁷⁾らの方法に従つて、標準曲線を作製した。本法の測定誤差範囲は渡辺⁵⁵⁾も指摘しているように10%程度である。さらに被検臓器をエーテルドライアイス法で凍結することによつて、その重量を正確に測定し得たのみならず、MMCに対する組織酵素の影響を少なくした。

第3章 動物実験

第1節 試験管内生体諸臓器のMMC力価に及ぼす影響

第1項 血液および血清内におけるMMC力価の変動

ヒトおよびラットのヘパリン加血液に各々0.2, 0.08, 0.04mcg/mlになるようにMMCを混入した後、37°Cの孵卵器に移し経時的に力価の変動を測定した。

実験成績：図3のように血液においては、0.08, 0.04mcg/mlの低濃度群では、それぞれ15分後に10~15.1%, 9~14%の力価の低下がみられたが、ヒトおよびラット血液の間にはほとんど差異がみられなかつた。

ヒトおよびラットの血清について同様の処理を加え、経時的力価の変動を測定したが、MMC濃度および経時的力価の変動はほとんど認められなかつた。またヒトとラットの両者の間にも特に顕著な差異はなかつた。

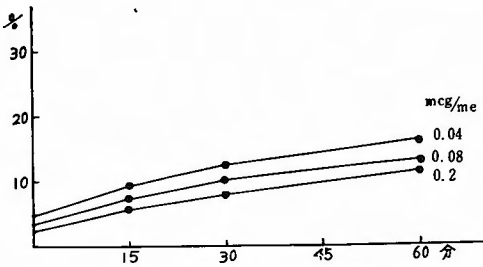


図3 血中におけるMMC不活性化率 (37°C)

第2項 赤血球のMMC力価に及ぼす影響

ヒトおよびラット赤血球をそれぞれ生理的食塩水で3回洗浄して得た赤血球沈澱を用い、3段階の赤血球・総量比の液をつくり、これに一定濃度・一定量のMMC溶液を加えて最終濃度を同じくし、37°Cの孵卵器に移し、経時的に力価を比較した。同様の実験を0.02, 0.08mcg/mlの2段階の濃度をもつたMMC液について行なった。

実験成績：MMC各濃度の液は赤血球附加によつて図4のようにMMC力価の低下をきたした。しかも赤血球濃度の異なるほどその低下が大であつた。

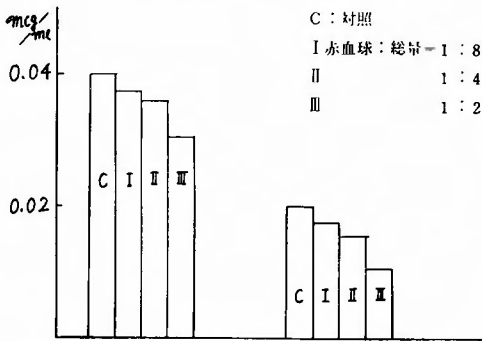


図4 赤血球におけるMMC不活性化率 (37°C)

第3項 ラット各臓器乳剤内におけるMMC力価の変動

臓器内力価の測定に先だつて、ラット各臓器、Walker Carcinoma 256¹⁾²⁾⁸⁾ (以下 Walker 腫瘍と略す) および四肢組織のMMC力価の変動を測定した。

実験方法：100g前後の岐阜呑竜系ラット (以下ラットと略す) をネブタール腹腔内麻酔のもとに脱血死させ、各臓器の血液量をできるだけ除いたのち無菌的にとり出し、直ちにエーテルドライアイス中に投入して凍結片とする。各臓器1gをできるだけ細片化し、滅菌磷酸緩衝液2mlを加えて乳剤を作製した。ついでMMCを添加して、最終濃度を0.02mcg/mlとし

て37°C孵卵器内におき、経時的に力価を測定した。

実験成績：MMC 0.02mcg/mlの濃度においては、図5のように15分から30分にかけて筋肉では30%、骨髓および骨組織においては、12~30%の不活性化がみられた。内臓諸臓器およびWalker腫瘍では、同濃度のMMCにおいて、Walker腫瘍、肝、腎に著明な不活性化がみられ、脾、心筋、肺では10~30%の力価の低下がみられた (図6)。

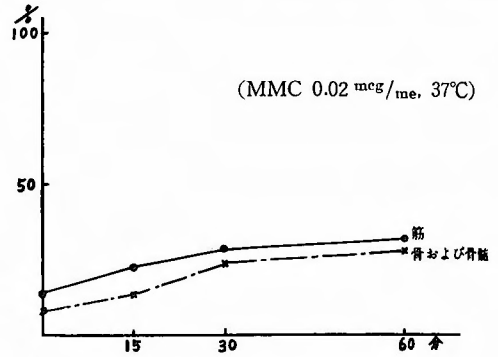


図5 ラット四肢組織乳剤のMMC不活性化率

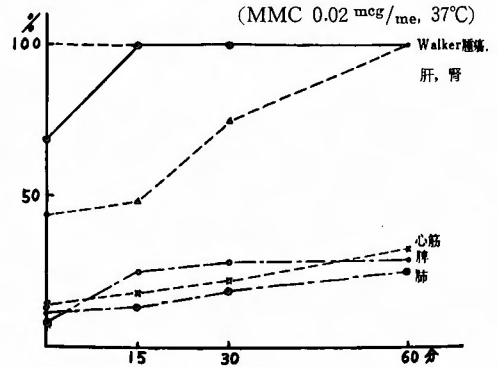


図6 ラット各臓器乳剤・Walker腫瘍のMMC不活性化率

第4項 小括

試験管内生体諸臓器のMMC力価に及ぼす影響について検討した。

1) 血液の影響については、MMCの低濃度液の添加 (0.08, 0.04mcg/ml) をした場合、15分後に10乃至15%の力価低下がおこる。赤血球濃度の異なるほど強いMMC不活性化がおこつた。その反面、血清における影響はほとんど認められなかつたことから、MMCは赤血球によりある程度吸着されるか或は不活性化されるものと思われる。

2) 組織乳剤とMMCの接触試験では好気性下にお

いて、Walker 腫瘍、肝、腎に著明な力価低下がみられた。四肢組織においては30分後に筋肉、骨髄および骨組織に30%前後の力価低下が認められた。他の内臓諸臓器では10~20%程度であつた。

第2節 MMC の各種投与法における正常ラット臓器内力価

第1項 実験材料および投与法

本実験に使用したラットの体重は100g前後で、Poly-ethylen tube (以下 PE 管と略す) は米国 Clay-Adams 社製 (内径 0.11 吋, 外径 0.024 吋) PE 10 を用いた。MMC を一定量の生理的食塩水で溶解した後、1 mg/kg 宛、ラットの皮下、左大腿筋、腹腔、左大腿動脈、左大腿静脈の各群 5 匹宛、計 75 匹に投与し、直後、5 分後、10 分後、20 分後、30 分後に動物を脱血死させ、心血血清、肺、肝、脾、腎、右大腿筋等の組織片をエーテルドライアイスに投入処理し、臓器各 1 g あたりの MMC 力価を測定した。

さらにラット大腿動脈および大腿静脈内投与をするためには、ラットをネブタール腹腔内麻酔の後、大

腿内側皮膚切開を行ない、大腿神経、動脈および静脈を分離露出した後、中枢側方向に PE 管を挿入した。PE 管の挿入先端を腹部大動脈あるいは静脈分岐部に固定するが、血管挿入部より通常 29~30mm で分岐部に到達する。さらに大腿動脈の組織内分布領域の確認のためには、5% Fluorescin を注入し暗室内で蛍光ランプを用いてその Pattern を観察した。

制癌剤を毎日 1 回連日投与を行なう場合には、PE 管を皮下組織を通して背部に露出させ、PE 管の先端を焼灼又は糸糸で結紮して閉鎖し、絆創膏を以て固定した。

第2項 実験成績

各臓器内 MMC 力価は片対数グラフを用い、各臓器毎に平均値をもつて図示した (図 7~12)。

心血血清中 MMC 力価 (図 7) は、大腿動脈および大腿静脈投与後、時間の経過とともに漸次下降するが、大腿静脈内投与の方が力価は高い。また、皮下、筋肉内投与においては、投与 5 分後に最高となり、皮下投与の場合は 10 分後より血中力価は急速に低下する。

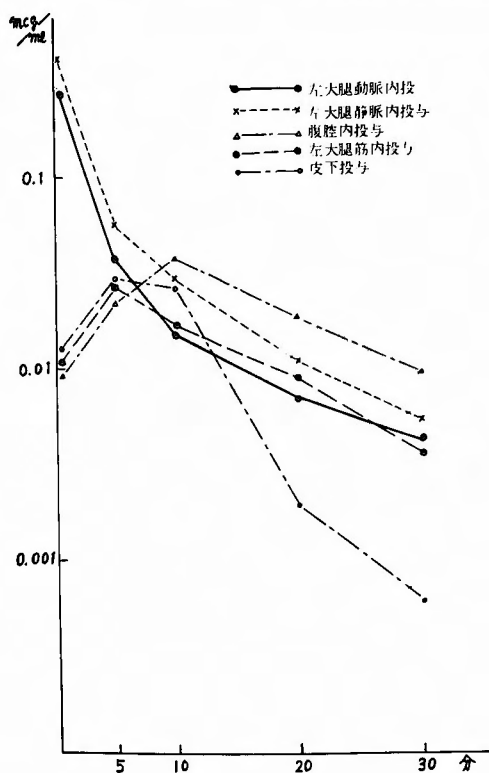


図 7 MMC 1 mg/kg 1 回各種投与後のラット心血血中力価 (片対数グラフ)

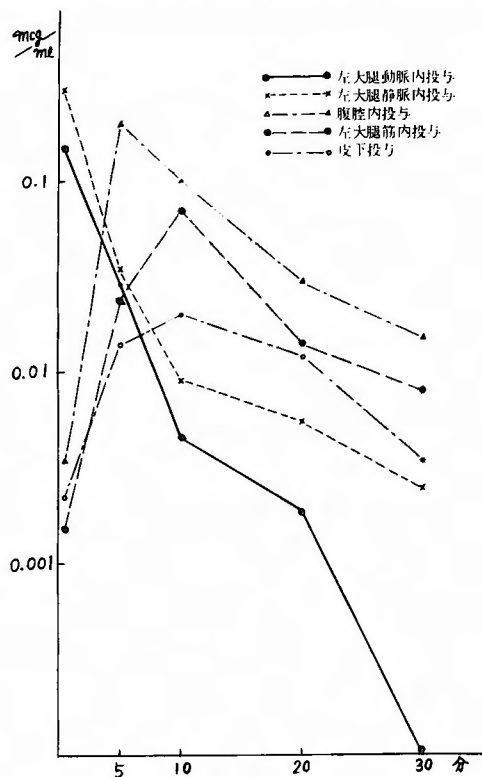


図 8 MMC 1 mg/kg 1 回各種投与後のラット肺内力価 (片対数グラフ)

腹腔内投与の場合、他の投与法によると同じく、時間の経過とともに力価は漸次低下するが、他の投与法にくらべると比較的高い力価を長時間維持する傾向が認められた。

肺内力価(図8)も血中の場合とほぼ同じような傾向が認められるが、腹腔、筋肉、皮下投与による方が、大腿動脈あるいは大腿静脈内投与法にくらべて臓器内力価は高く、腹腔内投与では30分後においても平均0.015mcg/mlの力価を保持している。

心筋内力価(図9)は、各投与群ともほぼ等しく、投与直後より力価の減少が認められ、投与後30分を経過すると、腹腔内投与を除き臓器内力価は測定し得ない程に低下した。また、大腿静脈内投与では直後より20分後までは、大腿動脈、腹腔、筋肉、皮下投与法を用いた場合に比べて、高い力価の保持が認められたが、30分後においては力価の著しい低下が認められた。

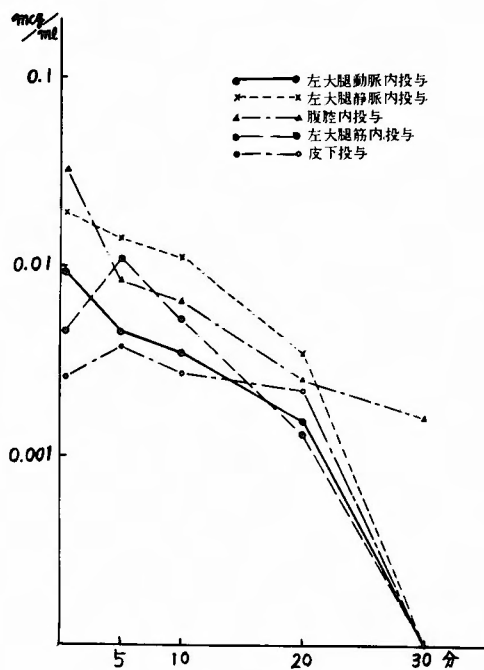


図9 MMC 1 mg/kg 1回 各種投与後のラット心筋内力価(片対数グラフ)

脾内力価(図10)は、大腿動脈および大腿静脈投与法を用いた場合、5分後最高となり、約20分後に消失したが、大腿静脈内投与法を用いた方が力価は高い。皮下、筋肉投与においては投与10分後に最高力価とな

り、30分後に消失した。腹腔内投与では時間の経過とともに漸次力価の低下を認め、30分後では他の投与法にくらべ高い値を示した。

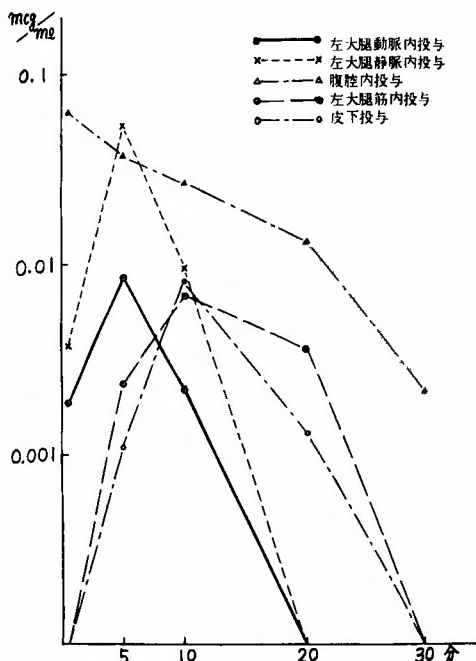


図10 MMC 1 mg/kg 1回、各種投与後のラット脾内力価(片対数グラフ)

腎内力価(図11)については、腹腔内投与の場合が、他の投与法によるよりも高い力価を維持し、血中力価とほぼ同じ推移をしめしたが、大腿静脈内投与では5分後最高20分後に消失し、大腿動脈内投与では直後、5分後には臓器内MMC力価を測定することができず、10分後に最高力価となり、30分後においても1g中、0.0012mcg/mlの力価が認められた。皮下、筋肉投与では大腿筋内力価と同じ傾向がみられた。

左大腿動脈および大腿静脈投与法を用いた場合、右大腿筋内力価は図12にみられるように、ほぼ一定の差をもつて平行力価関係を維持しながら時間の経過とともに減少するが、動脈内投与法を用いた場合の方が高い力価が認められたが、これは左大腿動脈に挿入されたPE管が腹部大動脈分岐部まで挿入され、薬剤の一部が直接に右大腿動脈内に注入されたためと思われる。左大腿筋内、皮下投与では5分後最高力価となり、30分後に消失する。腹腔内投与では10分後最高となり、他の投与法によるよりも高い値をしめした。

さらに肝内においては、如何なる投与法によつても

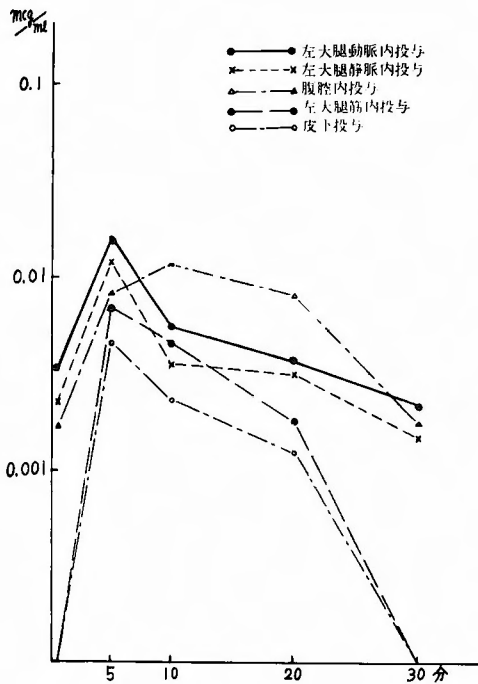


図11 MMC1mg/kg 1回、各種投与後のラット腎内力価（片対数グラフ）

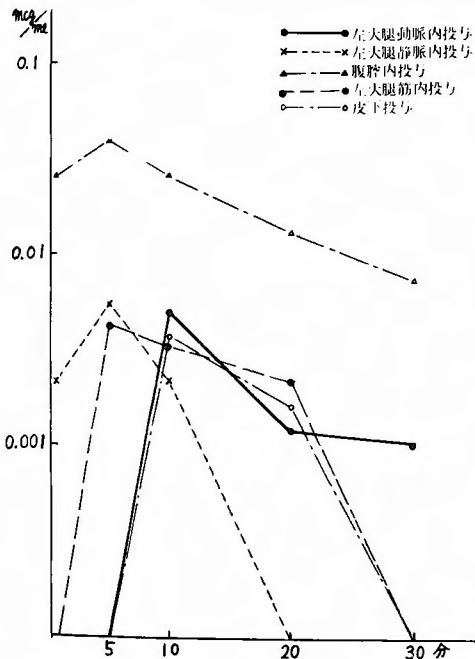


図12 MMC1mg/kg 1回、各種投与後のラット右大腿筋の力価（片対数グラフ）

MMC 1 mg/kg の投与量では、MMC 量は測定値に達しなかった。

第3項 小括

1) 腹腔内投与法を用いた場合、他の投与法にくらべ、何れの臓器も高い MMC 力価をしめし、以下順次到大腿静脈、大腿動脈、筋肉、皮下投与法を用いた場合の力価がこれに続く。

2) 何れの投与法によつても、MMC 1 mg/kg 投与量では肝内に MMC を証明することができなかった。

第3節 MMC の各種投与法における Walker 腫瘍移植ラット臓器の力価

実験材料：使用した腫瘍は塩野義研究所において累代移植、保存されている Walker 腫瘍で、教室においてラットの皮下に累代移植を続け、実験には移植後 7～9 日目の皮下腫瘍を使用した。

第1項 Walker 背部皮下腫瘍について

実験方法：体重 100g 前後のラットを用い、Walker 皮下腫瘍の実質性組織片を 0.5～1 mm³ に細切し、自家製硝子 トロアカルあるいは塩野義製移植針を用いて、経皮的にその一定量をラット右背部皮下に移植した。このような担腫瘍ラット 40 匹を 2 群に分ち MMC 1 mg/kg を、第 1 群には大腿動脈より、第 2 群には大腿静脈より投与した。

実験成績：左大腿動脈および大腿静脈投与いずれの場合においても、投与直後、5 分後、10 分後、20 分後、30 分後に腫瘍内に MMC が証明されず、諸臓器内 MMC 力価も正常ラットに投与したと同様の力価の推移が認められた（図 7～12）。

第2項 Walker 腫瘍脛骨々髄内移植ラットに対する各種投与法による 1 回注入後の MMC 力価の変動

実験方法：体重 100g 前後のラットにネンブタール 3～4 mg/rat 腹腔内麻酔を行なつた後、右後肢脛骨の近位関節面より脛骨々端を穿孔して骨髓まで 1 mm 径の注射針で孔を穿ち、あらかじめ Walker 腫瘍を自家製硝子トロアカルに充填した腫瘍片を挿入し、マンドリンを以て腫瘍組織の一定量を骨髓内に移植した。移植操作は常に無菌的に行なつた。止血および移植剤の洩出を防ぐために刺入部を数分間圧迫した。

以上のように操作したラットを無処置のまま固型飼料と水で 12～14 日間飼育し、腫瘍が充分発育した後、MMC 1 mg/kg を左大腿動脈、大腿静脈、腹腔、筋肉、皮下の各群 10 匹宛、計 150 匹にそれぞれ 1 回注入を行ない、直後より経時的に腫瘍内 MMC 力価を測定し

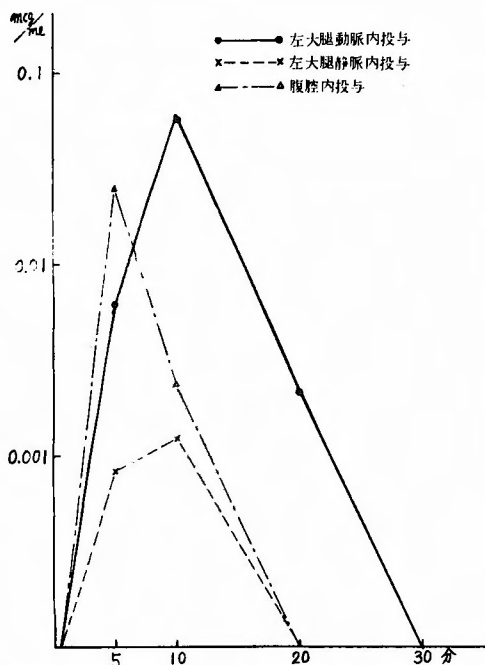


図13 MMC 1 mg/kg 1回, 各種投与後のラット脛骨々髄内移植腫瘍の力価 (片対数グラフ)

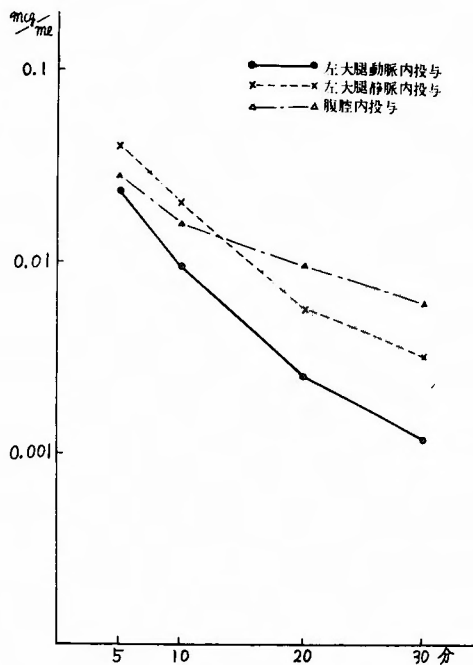


図14 MMC 1 mg/kg 1回, 投与後の右脛骨々髄内 Walker 腫瘍移植ラットの血中力価 (片対数グラフ)

た。

実験成績: Walker 腫瘍脛骨々髄内移植ラットの腫瘍内力価 (図13) は, 左大腿動脈および大腿静脈 1回投与により, 投与 10 分後にそれぞれ 最高力価を示すが, 左大腿動脈投与は大腿静脈投与にくらべて約15倍の高値を示し, 投与30分後においてもなお証明可能の範囲にあつた。静脈内投与では, 投与20分後に MMC の証明ができなくなつた。腹腔内投与では 5 分後に力価が最高となり, しかも大腿静脈内投与の場合に比しかなり高い力価が証明されたが, 20分後には MMC の証明ができなくなつた。さらに皮下, 筋肉内投与によつては, 全く腫瘍内 MMC 力価は測定し得ず, 内臓諸臓器では正常ラットにおけると同じ時間的推移がみられた。

第3項 低濃度 MMC (0.1mg/kg) 1回注入による
右脛骨々髄内 Walker 腫瘍移植ラットの
臓器の力価

実験方法: 右脛骨々髄内 Walker 腫瘍移植ラットを 12~14日間飼育したものに対して, MMC 0.1mg/kg を左大腿動脈, 大腿静脈, 腹腔内の各投与法により, それぞれ 1回投与を行ない経時的に動物を脱血死させ, ラット生体各臓器, Walker 腫瘍内力価を測定した。

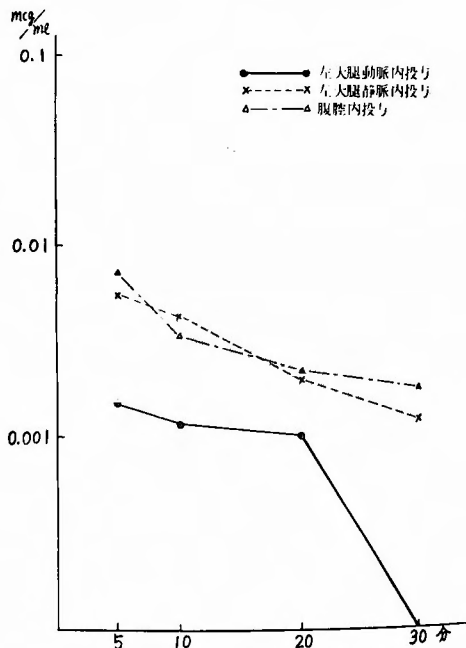


図15 MMC 0.1 mg/kg 1回投与後の右脛骨々髄内 Walker 腫瘍移植ラットの肺内力価 (片対数グラフ)

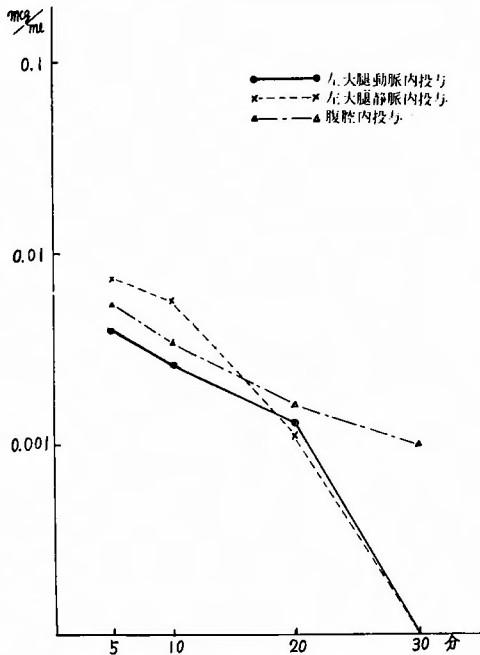


図16 MMC 0.1mg/kg 1回投与後の右脛骨髄内 Walker 腫瘍移植ラットの心筋内力価 (片対数グラフ)

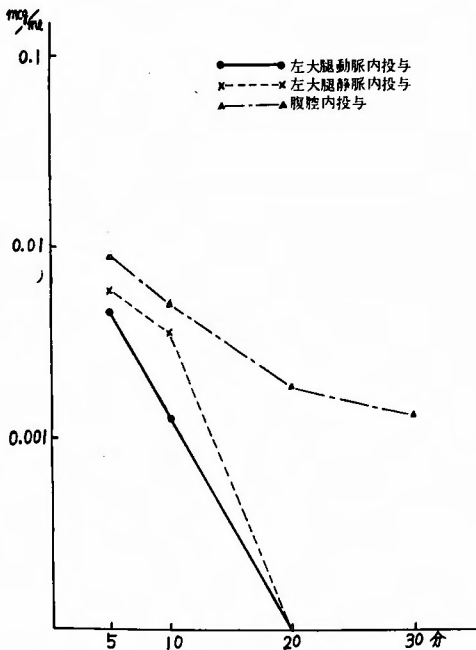


図17 MMC 0.1 mg/kg 1回投与後の右脛骨々髄内 Walker 腫瘍移植ラットの脾内力価 (片対数グラフ)

使用した動物は60匹である。

実験成績：各投与法によつて，ラット臓器の MMC 力価の推移は正常ラットにおける MMC 1 mg/kg 1回投与の場合とほぼ同じである。すなわち，心血血清，肺，心筋，脾の力価（図14, 15, 16, 17）は，大腿静脈および腹腔内投与法を用いた場合，大腿動脈内投与によるよりも各臓器の力価は高く，腎（図18）においては，大腿動脈および腹腔内投与の方が，大腿静脈内投与にくらべ高い力価をしめした。また，Walker 腫瘍，筋，肝では上記各投与法を用いた場合，MMC を測定することができなかつた。

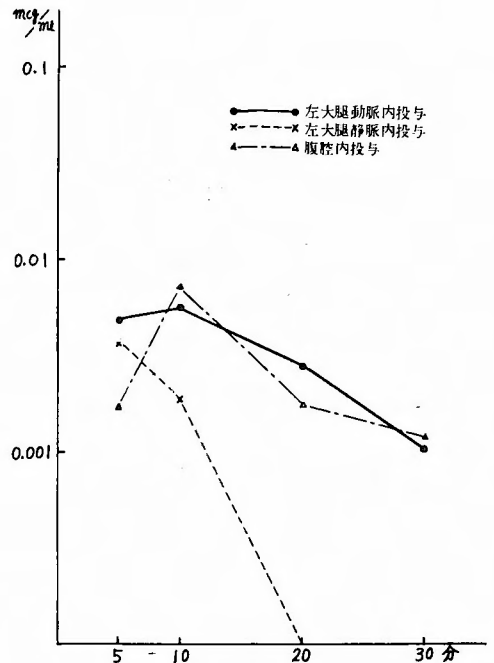


図18 MMC 0.1 mg/kg 1回投与後の右脛骨々髄内 Walker 腫瘍移植ラットの腎内力価 (片対数グラフ)

第4項 Walker 腫瘍脛骨々髄内移植ラットの MMC 1日1回5日間連続注入群

実験方法：右脛骨々髄内に Walker 腫瘍を移植し，体重120 g 前後のラットを用いて，左大腿動脈に留置・固定した PE 管を通じ，無麻酔下に MMC 1 mg/kg を 1日1回連日5回注入した。第5回目注入直後，10分後，20分後，30分後に動物を脱血死させ，各臓器および腫瘍の MMC 力価を測定した。使用した動物は40匹である。

実験成績：左大腿動脈投与後の平均力価について，

1回注入後のMMC臓器内力価と連日5日間投与群のそれとを比較検討した。

血中力価(図19)は時間の経過とともに両群とも漸次下降をしめすが、連日5日間投与群の方が各採血時間ともより高い力価をしめしている。肺内力価(図20)は1回投与群では20分後より急速に低下し、30分後には消失したが、連日5日間投与群では高力価を持続し、30分後においても平均0.0015mcg/mlの力価が認められた。心筋内力価(図21)も肺内力価とほぼ同じ傾向がみられ、1回投与の場合は30分後に力価の消失をみたが、連日5日間投与群では、平均0.00128mcg/mlの力価が認められた。脾内力価(図22)は、1回投与群では5分後最高となり、20分後に消失したが、連日5日間投与群では、直後より30分後にいたる間ほぼ同じ値をしめした。腎内力価(図23)は、1回投与群では、10分後はじめて0.005mcg/mlとなり、5日間連日投与群では5日後すでに0.0025mcg/mlとなり、10分

後両者共に最高値に達し、その後平行して下降した。

腫瘍内力価(図24)は、1回投与群においては10分後最高値に達し、30分後には下降して測定し得なかつた。一方、5日間連日投与群では20分後に最高値に達し、30分後においてもなおかつ0.004mcg/mlをしめし、一定力価を長時間維持する傾向がみられた。すなわち、動脈内挿管投与に際しては1回注入によるよりも5日間連日動脈内投与による方が、臓器内、脛骨々髄内移植腫瘍とも一定力価を長時間維持する傾向が明瞭に窺われた。

第5項 小括

1) 背部皮下移植 Walker 腫瘍について、それぞれ左大腿動脈および大腿静脈に MMC 1mg/kg を1回投与した場合、Walker腫瘍内 MMC 力価は、直後、5分後、10分後、20分後、30分後に全く測定することができない。しかし、諸臓器では正常ラットにおける MMC 1mg/kg 1回注入の場合と同じ力価が測定された。

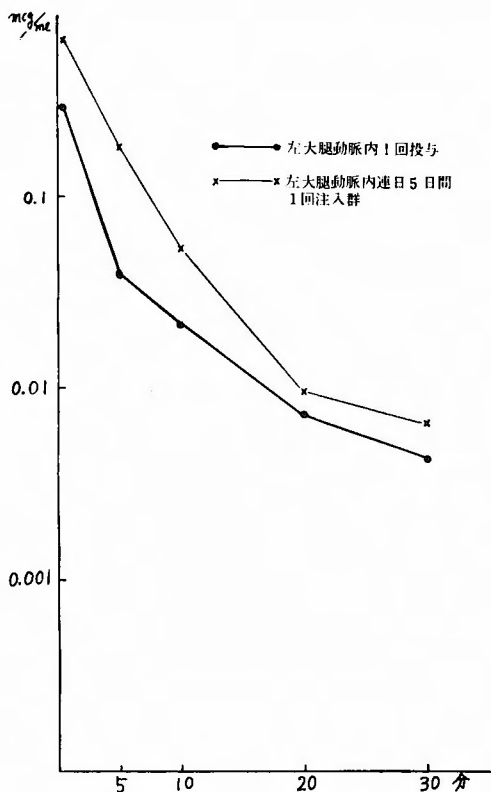


図19 MMC 1mg/kg 連日5日間1回投与後の右脛骨々髄内 Walker 腫瘍移植ラットの血中力価 (片対数グラフ)

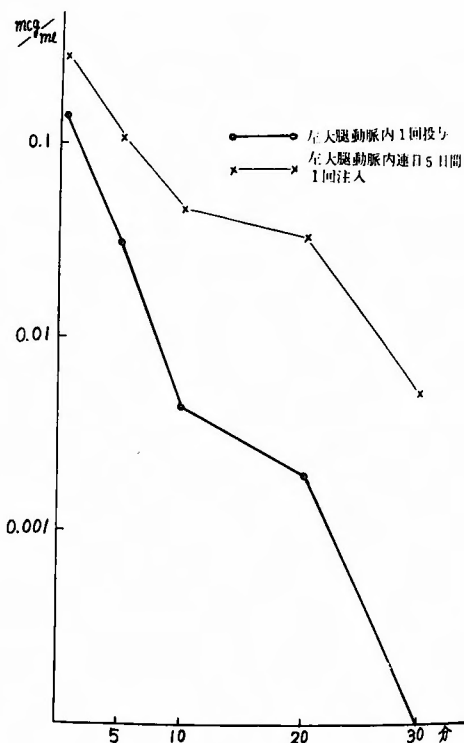


図20 MMC 1mg/kg 連日5日間1回投与後の右脛骨々髄内 Walker 腫瘍移植ラットの肺内力価 (片対数グラフ)

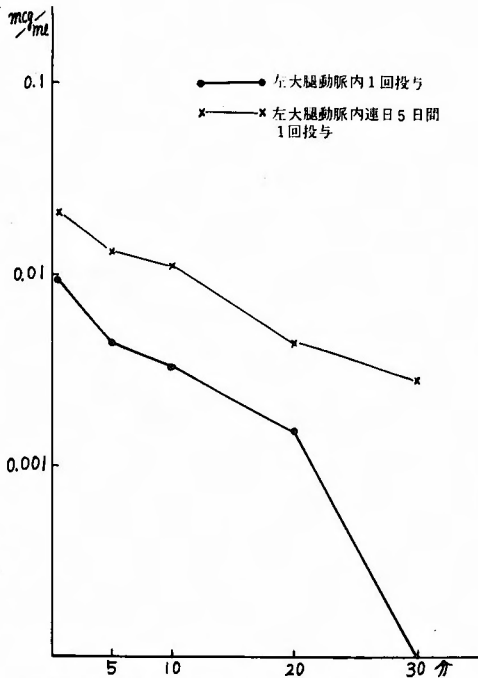


図21 MMC 1 mg/kg 連日5日間1回投与後の右脛骨々髄内 Walker 腫瘍移植ラットの心筋内力価 (片対数グラフ)

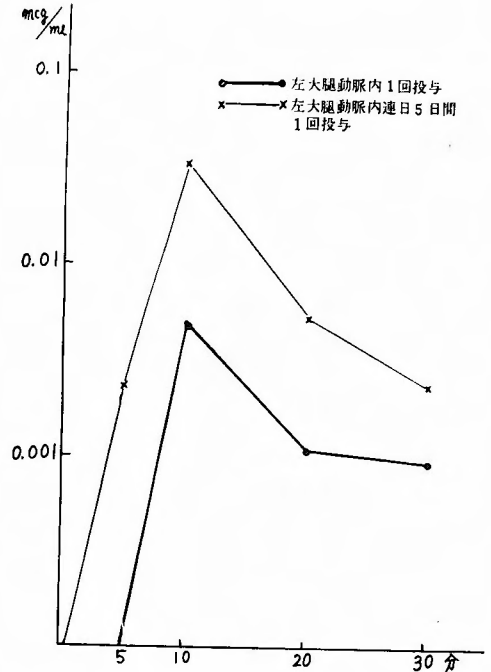


図23 MMC 1 mg/kg 連日5日間1回投与後の右脛骨々髄内 Walker 腫瘍移植ラットの腎内力価 (片対数グラフ)

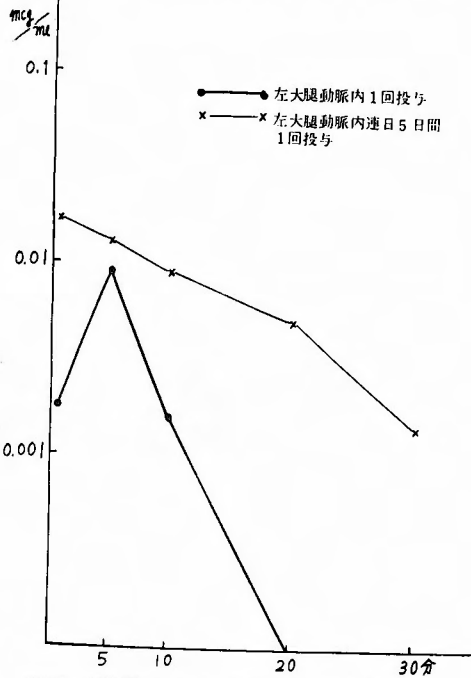


図22 MMC 1 mg/kg 連日5日間1回投与後の右脛骨々髄内 Walker 腫瘍移植ラットの脾内力価 (片対数グラフ)

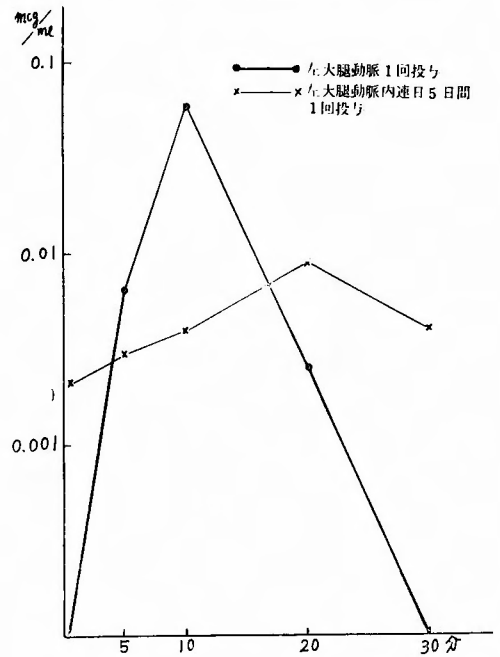


図24 MMC 1 mg/kg 連日5日間1回投与後の右脛骨々髄内 Walker 腫瘍移植ラットの腫瘍内力価 (片対数グラフ)

2) 脛骨々髓内移植ラットについて、諸投与法による腫瘍内力価を検討したが、大腿動脈内投与法では他の投与法によるよりも腫瘍内力価はより高く、かつ長時間持続した。また、諸臓器内 MMC 力価は皮下移植腫瘍の場合と同じく、正常ラットにおける MMC 1 mg/kg 投与の力価と同じ推移を示した。

3) 低濃度 (MMC 0.1mg/kg) 投与群においては、高濃度 (MMC 1 mg/kg) 投与群にくらべ、各臓器内力価はより低い値をしめした。また、腫瘍内 MMC 力価は各投与法において、著しく低く、測定し得なかった。

4) さらに、脛骨々髓内移植ラットに PE 管を留置し、5日間連日1回宛 MMC 動脈内注入を行なった場合と、1回動脈内注入による場合の力価を比較検討したが、各臓器、移植腫瘍とも前者の方法において、高い力価を長時間持続する傾向が明らかに認められた。

第4章 臨床的研究

制癌剤の投与については、全身投与の他に薬剤を腫瘍組織の表面あるいは組織の中へ直接注入したり、周囲組織内に注射して浸潤させる方法も試みられているが、近年もつとも効果的な投与法として、動脈内挿管投与法あるいは局所灌流法⁵⁾²⁵⁾²⁸⁾が行なわれている。

われわれは昭和38年来¹⁹⁾、四肢悪性骨腫瘍患者30数例について、根治手術と併用して動脈内挿管投与による制癌剤の持続投与を試みている。使用薬剤としては MMC, Endoxan, Methotrexate, FUDR などを用いているが、その中 MMC を使用した8例について、動脈内挿管法による投与時の静脈血中 MMC 力価、局所腫瘍血中力価を測定し、さらに切断肢について腫瘍内力価の測定を行ない MMC 力価の変動について検討を加えた。

第1節 研究方法

第1項 動脈内挿管による投与法³⁾¹⁸⁾³⁰⁾

a. 分枝動脈挿管法

手術は腰麻又は全麻で行ない動脈露出に先だつて、薬液ビン (5%糖液又は生理的食塩水500ml にヘパリン2500Uを加えたもの) を適当な高さに保ち、輸液管内の気泡を除去しておく。ポリエチレンチューブを予め注射器に接続しておき、動脈内挿管後タコ管先の鈍注射針に連絡する。目的とする主動脈より分枝した動脈を露出し、周囲より剝離して、挿管予定部の上下にネラトンカテーテルを掛け血液を止める。次に挿管予

定部に血管用小剪刀で、小横切開を加え中枢側のネラトンカテーテルをゆるめて、ポリエチレンチューブを挿入し、分枝部から腫瘍栄養主幹動脈内に逆行性に挿入留置する。中枢側の緊縛をゆるめた瞬間、血液がチューブ内に逆流するから逆流を抑える程度の高さに薬液ビンの高さを調節するか又は直ちに注入ポンプに接続する。さらにチューブは挿入部で1~2ヵ所血管とともに結紮・固定する。挿管後、5% Fluorescin をできるだけゆつくり注入し紫外線を照射して螢光法による薬剤の分布領域を観察し、チューブの先端の位置が正しいか否かを確認する。次いで筋膜縫合を行ないチューブの移動、脱落を防止するため皮膚に縫合・固定する。さらに絆創膏でチューブを皮膚に固定する。動脈の可動性が少なく挿管困難な場合には、チューブ先端に彎針をはめこんだいわゆる Swaged needle catheter⁷⁾⁵⁷⁾ を使用する。動脈壁に小タコ縫合を施し、その中心部に針を刺入して血管腔に入れ、少し離れたところで逆行性に針先を血管外に出す。ついでチューブ先端部を切つて針を除き、残りのチューブを動脈内に残す方法を行なう場合もある。

チューブの抜去時には動脈内挿管部をしばらく圧迫して止血する。

b. 経皮法

主幹動脈の走行状態を確実に触診し得る部位 (例えば大腿動脈) では、挿管予定動脈に対して経皮的に19~20gauge の注射針を刺入し、これを介してポリエチレンチューブを血流と逆行性に挿入する。さらにチューブ先端を適当な位置まですめ、計測法又は螢光法によつてチューブの先端の位置が適当な位置にあることが確認されたら直ちに注入ポンプと接続して薬液を注入する。

第2項 制癌剤注入法および注入期間

制癌剤を持続的に注入するには、1日所要量を5%糖液又は生理的食塩水 500cc に溶解して用いる。時にヘパリン 1日量として 2500 単位を加えて、チューブ内凝血・血栓形成の防止をはかる場合もある。間歇的に制癌剤を使用する場合には、イルリガートルの糖液が50乃至100ccに減じた時、制癌剤を入れて2~3時間で注入し、以後は糖液のみの注入を続ける。又は1日1回ないし数回、間歇的に制癌剤を括腔からゆつくり注入する。注入には従来シャープ製S式 (ロータリー式) を用いたが、最近ではイルリガートルを用いないで、制癌剤の高濃度を極めて徐々に注入するポータブル型 (京大式、シャープ PIP 21) の Chronometric

Infusor を主として用いている。

注入持続期間はいわゆる 腫瘍細胞の doubling time の上限を越すことが望まれるが、doubling time はヒトの癌では、14日～3ヵ月¹⁸⁾、悪性骨腫瘍では少なくとも30日以上と推定されている³⁾。現在の段階では薬剤の中毒作用または合併症のため、長時間持続注入の困難な場合も少なくないが、拮抗剤を用いてコントロールしながら4～5週の持続投与も可能となつた。

第3項 合併症³²⁾ および副作用³¹⁾¹⁸⁾²⁹⁾

手技上の合併症としてチューブの先端の位置の不適、転位、滑脱、薬剤の漏洩、チューブ内凝血、血栓の形成、手術部の感染、出血などがある。チューブ内凝血による閉鎖に対しては、注射器を用いて強力に注入液を押し込むことによつて、多くは開通され注入を持続することが出来る。薬剤による全身中毒作用としては、熱発、悪心、嘔吐、骨髄障害、肝障害が認められる。注入領域の副作用としては、皮膚炎、浮腫、脱毛などがあり、それぞれの薬剤に応じて適当な拮抗剤を使用する必要がある。

第2節 研究成績

制癌剤として MMC を使用したものは、表2にみられるように骨原性肉腫6例、上皮癌の骨転移2例であり、外陰部動脈又は外側大腿回旋動脈より大腿動脈に分枝動脈挿管を行なつたもの5例、膝臓動脈より同様の挿管を行なつたもの1例、経皮的に大腿動脈に直接挿管を行なつたものは2例である。初回投与量、維持量および投与期間は表に示す通りである。術後も全身的に Endoxan, Methotrexate, MMC を使用した。手技上の合併症は特にみるべきものはなかつたが、薬剤による全身作用として発熱、悪心、嘔吐、下痢、血小

板減少、全身倦怠感などがみられ、特に Methotrexate 使用例では注入領域の皮膚発赤が強く認められた。

第1項 動脈内挿管投与時の静脈血中および腫瘍血中 MMC 力価

各症例について、動脈内挿管後、表2にしめすように、一定量の MMC を投与し経時的に患肢と対側肢の静脈血および腫瘍内血液を同時的に採取し、MMC 力価を測定した。両者の時間的推移は図25および26にみられる通りである。すなわち、静脈血中 MMC は動脈内挿管投与後5～10分で最高力価をしめし、30～40分後に消失する。腫瘍局所内血中 MMC は注入直

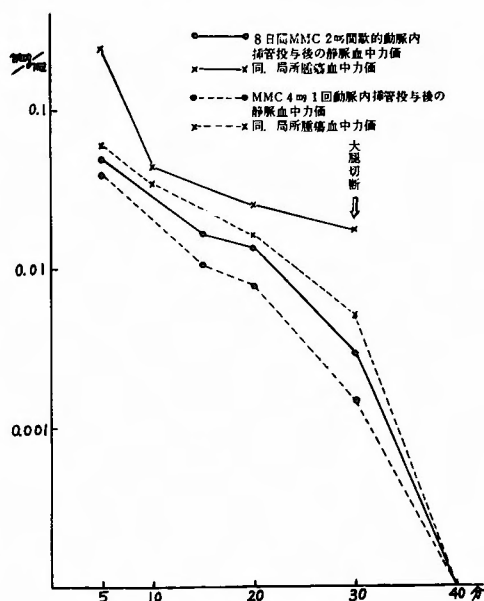


図25 症例2 (片対数グラフ)

表2 症 例

	年令	性	診断名	部 位	挿管動脈	初回 投与量mg	維持量 /日	Infus 日数	手 術	肺転移	併用薬剤
1. Y.W.	20	♂	骨 肉 腫	左大腿骨(遠)	外陰部動脈	10	2	8	大腿切断	—	Endoxan
2. S.M.	12	♂		左大腿骨(遠)	大腿動脈	4	2	8	大腿切断	—	Endoxan
3. T.K.	15	♀		右大腿骨(遠)	外陰部動脈	4	2	8	股関節離断	既存+	Endoxan
4. S.M.	15	♂		右大腿骨(遠)	外側大腿 回旋動脈	4	2	8	大腿切断	3ヵ月+	Endoxan Methotrexate
5. T.T.	26	♂		右脛骨(近)	外陰部動脈	4	2	8	大腿切断	—	Endoxan Methotrexate
6. H.K.	13	♀		右大腿骨(遠)	大腿動脈	8	2	14	Prolonged Infusion	—	FUDR Methotrexate
7. K.M.	49	♀	上骨 皮転 癌移	右踵骨	膝臓動脈	4	2	6	切 断	リンパ 腺 +	Endoxan
8. H.A.	65	♂		右腸骨	外側大腿 回旋動脈	2	0	1	試 切	?	⁶⁰ Co

後最高値をしめし、時間の経過とともに漸次減少するが、30～40分後においても静脈血より高い力価を示し、長時間一定値を維持する。Infusion pump を使用し連日8日間、MMC 2 mg を持続又は間歇的投与を行なった後の測定では、1回投与にくらべ高い力価をし

めした。

第2項 肘静脈 MMC 投与時の反対側 静脈血および局所腫瘍血中の力価

MMC の全身投与の影響を知るために、巨細胞腫の1例(20才, 女)に患肢の肘静脈よりMMC を投与し、

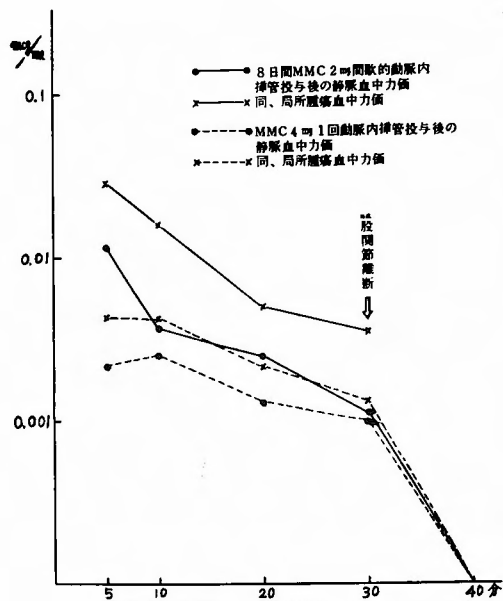


図26 症例3 (片対数グラフ)

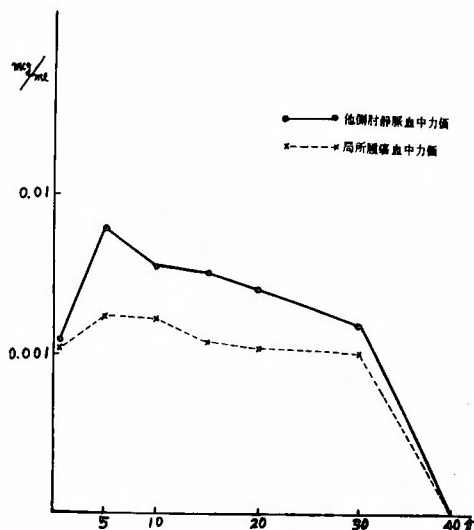


図27 肘静脈内MMC 1回投与による血中力価 (片対数グラフ)

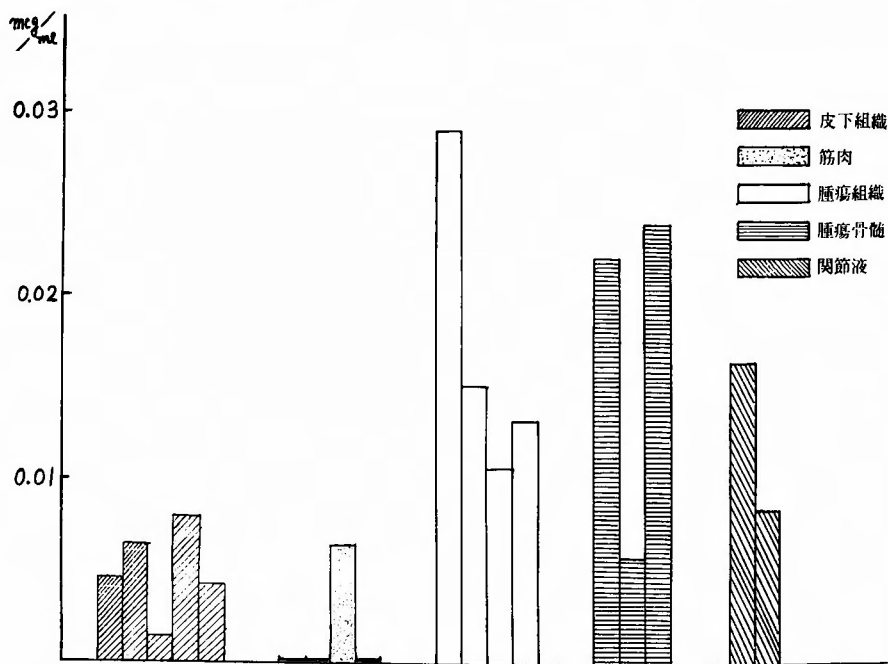


図28 切断肢組織内 MMC力価

反対側肘静脈血と局所腫瘍内血液を同時刻に採取し、MMC 力価を経時的に測定した。図27にみられるように静脈血中力価は5分後に最高値をしめすが、局所腫瘍血中力価は低く、また採取した試験片の腫瘍組織、筋肉、皮下組織各々1g中にはMMCは全く測定し得なかつた。

第3項 切断肢諸組織内 MMC 力価

8日間 MMC を持続的又は間歇的に動脈内挿管投与を行ない、四肢切断、関節離断術を行なつた6例の切断肢について、腫瘍組織、腫瘍部骨髓、筋肉、皮下組織、関節液のMMC力価を測定した。各組織は1g、関節液は1ccを試料とした。図28にみられるように、腫瘍組織、腫瘍部骨髓、関節液においては高力価のMMCが認められ、皮下、筋肉の2～3倍値をしめしていた。3症例においては筋肉MMC力価は著しく低く証明できなかつた。

第5章 総括ならびに考按

1. MMC 濃度測定法について

制癌剤の組織内あるいは体液中濃度の測定法には、制癌剤を放射性同位元素で標識し、その放射性同位元素の分布を測定する方法と化学的定量法がある。制癌剤の濃度を適確に把握するには、勿論直接定量法による方法が望ましいが、一般に広く使用されているNitromin Diemerの化学的定量法にしてもEndoxanの濃度測定法についても、組織内あるいは体液中の微量の制癌剤を検出し得る反面、不活性化された薬剤をも測定値に含まれる欠点をも有しており、まだ確実な方法は見あたらないようである。

現在の段階では、抗生剤の測定に古く用いられている特定菌阻止作用を指標として行なう測定法が比較的確実な方法である。そこで著者は抗生剤であるMMCを使用し、大腸菌B株を用いた薄層カップ法による宮村氏法²⁷⁾によつて検索を行なつた。本法はMMCの大腸菌発育阻止作用¹³⁾¹⁴⁾³⁷⁾を利用しているが、これを用いて行なつた実験は阻止円も明瞭で、微量のMMC力価測定が可能であるのみならずその測定誤差範囲が少ない。また、MMCは検定培地のpHやNaClなどの影響をうけることも少なく、不活性化の問題も容易に検討し得るなどの利点をもっており、この生物学的測定法は微量測定法に匹敵するものと考えられる。

MMCの血中力価の測定については、森田²⁸⁾、田坂⁵⁰⁾、渡辺⁵⁵⁾の報告がみられ、組織内力価については宮村²⁷⁾、田坂⁵⁰⁾、渡辺⁵⁵⁾らの報告がある。すでに田坂⁵⁰⁾、

渡辺⁵⁵⁾らが指摘し、著者の実験にもしめしたように、血球沈渣を赤血球：総量を3段階に分け、一定濃度一定量のMMCの溶液を加えて最終濃度を同じくし、その力価を対照と比較した場合、血中におけるMMC力価の低下は赤血球が高濃度のもの程その低下は著しいことなどから、田坂⁵⁰⁾も指摘しているように、MMC力価は赤血球にもつとも強く影響されるものと考えられる。このような現象は赤血球による単なるMMCの吸着によるものか、ヒトあるいは哺乳動物の無核赤血球のもつ能動輸送能⁶⁰⁾によるものか、他の因子に起因するものか、未だ判然としないがこの点については今後さらに検討を要する。

各組織乳剤のMMC力価に及ぼす影響について、宮村²⁷⁾らは、家兎の肝、腎、脳、肺などの諸臓器について、渡辺⁵⁵⁾は犬の肝、脾、腎、骨髓について検索し、これらの各組織乳剤がMMC力価の著しい低下を来すことを認めている。著者の試験管内での実験では、ラットのWalker腫瘍、肝、腎に著明な力価の低下がみられたが、四肢組織では骨格筋、骨髓および骨組織に30%前後の低下、他の内臓諸臓器では10%程度の低下がみられた。

このようなMMC力価の低下は、諸組織における細胞内蛋白によるMMCの吸着、酵素による不活性化、あるいは細胞内DNAによるMMCの分解などに起因するものであろうと推測されている。従つて、著者は臓器内力価の測定に当つて、組織蛋白による不活性化をできるだけ避け、試料の計測、細分化を容易ならしめるために、前述の如く好気性下にエーテルドライアイス組織凍結法を用いたが、かなり一定した成績を得ることができた。

2. Walker 腫瘍における MMC の効果

教室の池田¹⁷⁾は骨髓内移植 Walker 腫瘍に対して、各種制癌剤を静脈内、皮下、腹腔内に全身投与を行ない、一定期間後それらの肺転移率、局所レ線学的、組織学的変化、生存率について検討しているが、MMCは移植 Walker 腫瘍にかなり鋭敏に作用し、腫瘍細胞の崩壊と核の濃縮、細胞質の膨化がかなり強いことを認めている。また、所謂中期以後の治療によつても多少とも延命効果が期待し得たと報告している。Sugiura⁴³⁾によれば、Walker 腫瘍の結節型、腹水型ともMMC 1mg/kg 7日間連日投与によつて、腫瘍の増大を阻止しているが、MMC 1.5mg/kg を toxic dosis であるとし、また制癌剤投与を中止することによつて、再度腫瘍の増大と体重減少を来し、その結果腫瘍死を来した

と報告している。寺中⁵¹⁾はWister系ラットの片側大腿部に Walker 腫瘍を移植し、2週後に他側大腿から動脈内挿管投与を行ない、MMC 100mg/rat, 200mg/rat, 300mg/rat および 400mg/rat の4群に分けて連日10日間、留置したPE管を通じ上記のMMC溶液の注入を行なつて、その効果を検索しているが、MMC は移植 Walker 腫瘍の増大を抑制し、延命効果を有すると報告している。また、協同研究者の米沢⁵⁹⁾、柴田³⁸⁾によれば、骨髄内 Walker 腫瘍に対する動脈内挿管投与法による組織学的変化、肺転移率、延命効果などについてみれば、MMC 1mg/kg の大量投与群では、低濃度 0.1mg/kg 投与群よりすぐれた効果が認められ、平均生存日数については低濃度投与群でも延命効果が認められると述べている。

すなわち、以上の実験成績から MMC は、Walker 腫瘍に対してかなり強い抗腫瘍性をしめし、動脈内挿管投与により一層大きい効果があることが明らかにされた。

3. 動物実験成績

a) 正常ラットにおいて MMC 各種投与法を用いた場合の臓器内力価の変化に関しては、従来その報告を見ないが、著者の実験によれば、腹腔内投与ことに高濃度 (1mg/kg) 投与法を用いた場合、各臓器内力価は他の投与法を用いた場合に比べて、最も高い値を示したことは興味ある所見である。この事は動脈内挿管投与、静脈内投与、筋肉、皮下投与法にくらべて、腹膜の薬剤吸収能が高いことや注入薬剤が直接臓器に吸収される場合もありうるものと推察される。また、肝内に MMC 力価が測定されなかつた事実は、肝臓のもつ生理的作用による MMC の不活性化あるいは MMC が分解されたためと考えられるが、投与量、投与法²⁶⁾⁵⁸⁾の問題とも考え合わせて興味深いものがある。大腿動脈内 MMC 投与法を用いた場合には、全身投与法を用いたものに比べ、反対側大腿筋肉 MMC 力価が高いのは PE 管を腹部大動脈分岐部に挿入・留置したために薬剤の一部が反対側動脈に流入したためと考えられる。なお、白羽³⁹⁾によれば Nitromin (NMO) の腹腔動脈内挿管投与法を用いた場合、腎を除く他の臓器に NMO が高濃度に出現するのみならず、肝内濃度が著しく高値を示す。すなわち、対象臓器に対する主栄養動脈内挿管による直接的投与法を用いた場合、該臓器内制癌剤濃度を著しく高くするものと思われる。

b) 右背部皮下移植 Walker 腫瘍について

大腿動脈および大腿静脈に高濃度 MMC (1mg/kg) を投与したが、腫瘍内 MMC は直後より30分後まで著者の測定法をもつては検出し得なかつた。すなわち、腫瘍主栄養動脈を通じないで MMC を投与した場合、腫瘍内 MMC を測定し得なかつた。この事は MMC を使用する場合主栄養動脈を通じないで投与することは余程高濃度か若しくは長期持続投与を行なわない限り、MMC の腫瘍組織に対する効果は期待されない場合もあることを示唆している。

c) 低濃度 MMC (0.1mg/kg)⁷⁾投与群におけるラット内臓諸臓器の力価は、高濃度 MMC (1mg/kg) 投与群にくらべ、各臓器よりも低い力価を示した。特に右脛骨々髄内移植腫瘍については、動脈内挿管投与法によつても MMC を測定し得なかつた。前述のように MMC については、Sugiura⁴³⁾はラットの Walker 腫瘍増大阻止量を1日 1mg/kg, toxic dosis として 1.5mg/kg をあげている。著者は低濃度群に対しては 0.1mg/kg を投与したが、これは Sugiura⁴³⁾の見解によれば極めて少量である。Fluorescin 投与による蛍光法で腫瘍へ MMC が到達したことを確かめた上で、力価測定を行なつたのにもかかわらず、著者の測定法では腫瘍内力価を測定し得なかつたのは、MMC が腫瘍内で不活性化、分解され測定可能力価に達し得なかつたためと思われる。この事は前述の制癌剤の投与法のみならず、制癌剤の有効投与量、有効濃度の問題についても慎重な考慮を要することを指摘しているように思われる。

d) 投与形式についてみると、実験動物が制癌剤の長期大量持続投与に耐えられないこと、また1個体から継続的に各臓器を採集、追求し得ないことから、連日投与群と1回投与群との間の MMC 各臓器内力価の消長について比較検討する方法を採つた。すなわち、左大腿動脈に挿入・留置した PE 管を通じて一定量の MMC を1日1回、連日5日間投与し、1回投与群における MMC 力価の推移と比較した。動脈内挿管投与法を用いた場合、前述のように各臓器とも連日投与群の方が一定力価を長時間持続する傾向が認められた。血中力価における差は余り著しくないが、肺内力価が連日投与群において著しく高いことは柴田³⁸⁾の実験をうらずけるものである。また、連日投与によつて腫瘍内濃度が著しく高く、かつ長時間つづくことは、腫瘍に対する MMC の効果が従来の他の全体的投与法にくらべてより強くかつ持続的であることを推測させるものである。

4. 臨床成績

悪性腫瘍に対して腫瘍の主栄養を司る動脈内への挿管投与を試みた臨床的研究は数多く行なわれており、それぞれ顕著な制癌剤の効果の発現と副作用の軽減を認めている。その投与形式については Kloop²⁰⁾²¹⁾⁵²⁾, Ryan³⁴⁾ らの間歇的投与法があり、間歇的投与と X 線照射の併用²³⁾²⁴⁾などに対して Sullivan⁴²⁾⁴⁶⁾⁴⁷⁾, Watkins⁵⁶⁾⁵⁷⁾ らの長期間持続投与法がある。副作用軽減のためには前者が、効果の点では後者がより優れていると考えられるが、現在使用されている制癌剤ではその何れがよいか断定し難いように思われる。また、いずれも PE 管の経皮的挿管法、PE 管先端の位置の確認のための Fluorescein 蛍光法の応用¹⁸⁾⁵⁷⁾, Chronometric Infusor³⁾³⁰⁾⁵⁶⁾ の開発など幾多の改良が行なわれており、活性度の高い制癌剤を持続的に長期間、動脈内挿管投与することが出来るようになった。また、歩行患者でも長期の継続的薬剤療法を行ない得るようになり、臨床面における本法の実用性は著しく高められたといえよう。

著者は悪性骨腫瘍患者 8 例について、根治手術施行前後に MMC 動脈内挿管投与を行なつて、同時刻に静脈血中および腫瘍局所血中力価の測定を行ない、動脈内挿管投与における MMC 力価の変動について検索した。従来このような研究報告は見られないが、著者の成績によれば、腫瘍内力価は静脈血中力価にくらべ著しく高力価を長時間持続する。すなわち、静脈血中力価は MMC 1 回動脈内挿管投与により 5～10 分後に最高力価に達し、30～40 分後には消失するが、腫瘍内力価は投与直後に最高値をしめし、時間の経過とともに漸次下降をしめすが、30～40 分後においても一定力価を維持していた。さらに Infusion pump による連日 MMC の持続投与後においては、1 回投与法を用いた場合に比べて、局所腫瘍血中力価は著しく高く、より長時間高い力価の持続が認められた。また、8 日間 Infusion pump によつて MMC の一定量を動脈内挿管持続投与したのち、根治手術を施行した 6 症例の切断肢における各組織内 MMC 力価は腫瘍組織、腫瘍部骨髄にもつとも高く、皮下、筋肉組織の 2～3 倍値を示したが、この事は MMC 投与法として本法の妥当性を物語るものであると考えられる。

さらに臨床経過について述べれば、白羽⁴⁰⁾ らは 101 例の悪性腫瘍患者に動脈内挿管投与による MMC の投与を行なつて、多数の症例に一時的な症状軽快がみられると述べている。また、静脈注射群、動脈内挿管

投与群何れも発熱を来す場合もあるが、動脈内投与は静脈内投与法を用いた場合に比べて、食欲不振を訴えるものが少なく、かつ白血球減少症の現われ方もより少なく比較的大量の MMC を投与することができたと報告している。増田²⁹⁾³⁰⁾ らは 23 例の四肢悪性腫瘍患者に対し、制癌剤の動脈内挿管投与を行なつて注入前後の組織像を比較したが、大部分の症例に病理組織学的に有意な変化をみることが出来たと述べている。

われわれの動脈内挿管投与を行なつた 30 数例の臨床的経験からみても、切断肢の検索で組織学的に明らかに有効であつたと思われるものもあつた。副作用については必ずしも軽減したとは思われないが、これは他の投与法に比し、より高濃度の制癌剤を使用しているためで、理論的にも MMC を罹患部に集中して注入する動脈内挿管投与法は他の投与法にくらべて、よりすぐれた方法であろうと考えられる。

以上、動脈内挿管投与法における MMC 力価の変動について検討を行ない、その優れた点を実験的にも臨床的にも確認することができたが、本法実施に際してはなお制癌剤の腫瘍感受性、投与量、適応の問題、Infusion のための制癌剤の開発、あるいは副作用軽減の問題など今後の研究に俟つところが大きい。

第 6 章 結 語

動脈内挿管投与法による制癌剤の体内における変動について、骨髄内移植 Walker 腫瘍ならびにヒトの四肢悪性骨腫瘍症例を中心に検索を行なつた。制癌剤としては Mitomycin C を使用し、その力価測定には宮村氏法に準じ大腸菌 B 株による生物学的定量法を用いた。

1) MMC の血液における力価活性は、全血に対して MMC の 0.04, 0.08mcg/ml の低濃度添加あるいは赤血球の高濃度添加によつて、赤血球の MMC 不活性化に及ぼす影響は強くみられるのに反し、血清の影響はほとんど認められなかつた。このことから MMC は赤血球にある程度吸着不活性化されるものと思われる。

2) ラット諸臓器内の MMC の不活性化に関する試験管内検索では、特に Walker 腫瘍 (100%)、肝 (69～100%)、腎 (43～100%) において著明な不活性化がみられた。四肢組織では 30 分後に骨格筋、骨髄および骨組織に 30% 前後の不活性化がみられる程度で、内臓諸臓器では 10～20% 程度であつた。

3) 制癌剤 MMC の動脈内, 静脈内, 腹腔内, 皮下, 筋肉内など各種投与法による臓器内力価の経時的变化に關しては, 特に MMC 1 mg/kg 腹腔内投与の場合に, 何れの臓器においても最高力価が認められた。また, 各臓器の力価は投与形式によりそれぞれ特徴ある推移を示したが, 大腿動脈内投与によつて反対側下肢の筋内力価が他の投与法によるよりも高い力価を示した。この事は PE 管を腹部大動脈分岐部まで挿入・留置したために薬剤が反対側にも流入したためと思われる。

4) ラットにおける MMC 力価については, 背部皮下 Walker 移植腫瘍について, 大腿動脈および大腿静脈より MMC 1 mg/kg を投与した場合, 両者とも腫瘍内に MMC を証明することができなかつた。脛骨々髓内移植ラットの Walker 腫瘍内力価は, 大腿動脈内に MMC 1 mg/kg 投与した場合には, 腹腔, 大腿静脈投与の約15倍の高力価を示した。さらに PE 管を左大腿動脈に留置し, 連日1回宛の動脈内注入を5日間行なつた場合, 1回投与によるよりも臓器内および腫瘍内 MMC 力価は著しく高く, また長時間持続することが認められた。

5) 骨腫瘍患者8例に対して局所動脈内挿管による MMC 投与を行ない, 静脈血および局所腫瘍血中 MMC 力価の推移を検索したが, 局所腫瘍血中 MMC は投与直後に最高力価をしめし, 漸次時間の経過とともに減少するが, 静脈血中力価よりも高く長時間, 一定力価を維持した。Infusion pump による8~14日間の MMC 持続投与後における静脈血および腫瘍では, 更に著明な力価の上昇がみられ, 特に局所腫瘍内力価は高く, 長時間持続する傾向がみられた。

6) 8日間 MMC を連日動脈内挿管投与を行なつた後, 切断を行なつた6症例の切断肢における MMC は腫瘍組織, 腫瘍部骨髓, 関節液に高力価をしめし, これは皮下筋肉組織の2~3倍値をしめした。

稿を終えるに当たり, 御懇篤なる御校閲, 御指導を賜わつた恩師伊藤鉄夫教授に深甚なる謝意を表する。また本研究に當つて, 終始御指導, 御助言を戴いた赤星義彦助教授に衷心より感謝すると共に, 実験に当り種々御協力頂いた協同研究者米沢宏講師, 柴田大法学士に心からの謝意を表する。また, 動物腫瘍の提供と御助言を戴いた塩野義研究所山口省三博士, 菌株分譲を戴いた阪大微研小寺健一博士に厚く感謝する。

なお, 本研究には文部省科学研究費および和風会医

学研究所(所長近藤鋭矢名誉教授)より研究費を受けたことを追記して謝意を表する。

本論文の一部は第39回日本整形外科学会総会および第26回中部日本整形外科災害外科学会において発表した。

文 献

- 1) 赤星義彦: 実験的骨腫瘍に就いて. 中部整災誌, 8 (2): 320, 昭40.
- 2) 赤星義彦他: 骨髓内移植腫瘍, 特に Walker 腫瘍の骨髓内移植について. 中部整災誌, 8 (2): 329, 昭40.
- 3) 赤星義彦: Chronometric Infusor, 臨床整形外科, 1 (3): 315, 1966.
- 4) Bierman, H. R. et al.: Therapy of inoperable visceral and regional metastasis by intra-arterial catheterization. *Cancer Research*, 11: 236, 1951.
- 5) Creech, O. Jr., Krementz, E. T. et al.: Chemotherapy of cancer regional perfusion utilizing an extra corporeal circuit. *Ann. Surg.*, 148: 616, 1958.
- 6) Cromer, J. K. et al.: Use of intra-arterial nitrogen mustard therapy in the treatment of cervical and vaginal cancer. *Am. J. Obst & Gynec.*, 63: 538, 1952.
- 7) Duff, J. K. et al.: Antimetabolite-metabolite cancer chemotherapy using continuous intra-arterial methotrexate with intermittent citrovorum factor. *Method of therapy. Cancer*, 14 (4): 744, 1961.
- 8) Fisher, E. R.: Electron microscopic, histologic & histochemical features of the Walker Carcinoma. *Cancer Research*, 27: 527, 1961.
- 9) Golomb, F. M.: Agents used in cancer chemotherapy. *Am. J. Surg.*, 105: 579, 1963.
- 10) Goodman, L. E. et al.: Enzyme alterable alkylating agents VIII. Clinical trials with intra-arterial infusion of an alkylating agents with a half-life of 0.2 second. *Ann. Surg.*, 162 (4): 663, 1965.
- 11) Grady, E. D.: Treatment of cancer by intermittent injection of nitrogen mustard via cannulated arteries. *Ann. Surg.*, 137: 366, 1953.
- 12) Hall, T. C.: Chemotherapy of cancer. *New*

- Engl. J. Med., **266** : 129, 178, 238, 289, 1962.
- 13) Hata, T. et al. : Mitomycin, a new antibiotic from Streptomyces I. J. Antibiot. Ser. A, **9** : 141, 1956.
- 14) Hata, T. et al. : Mitomycin, a new antibiotic from Streptomyces II. J. Antibiot., Ser. A, **9** : 147, 1956.
- 15) Herter, F. D. et al. : Cancer chemotherapy by continuous intra-arterial infusion of antimetabolites. Am. J. Surg., **105** : 628, 1963.
- 16) 井口潔他 : 制癌剤の動脈内持続注入療法 (Methotrexate-Leucovorin) 合併療法. 癌の臨床, **11** : 4, 昭40.
- 17) 池田一郎 : 骨髄内移植腫瘍 (Walker Carcinoma) に及ぼす抗癌剤の影響に関する実験的研究. 日外宝, **32** (2) : 211, 1963.
- 18) 井上諒他 : 制癌剤動脈内持続注入法の手技. 外科治療, **14** (5) : 523, 昭41.
- 19) 伊藤鉄夫他 : 悪性骨腫瘍に対する制癌剤動脈内投与と腫瘍剔出術. 中部整災誌, **7** (3) : 445, 1964.
- 20) Klopp, C. T. et al. : Fractionated intra-arterial cancer chemotherapy with methyl-bis amine hydrochloride, a preliminary report. Ann. Surg., **132** : 811, 1950.
- 21) Klopp, C. T. : Fractionated regional cancer chemotherapy. Scientific Proceedings, **229**, 1950.
- 22) Lapis, K. & Bernhand, W. : The effect of mitomycin C on the nucleolar fine structure of KB cell in cell culture. Cancer Research, **25** : 628, 1965.
- 23) Lawton, R.L. et al. : Metastatic retinoblastoma treated with radiation and continuous intra-arterial infusion of triethylenelamine. Cancer Chemotherapy Rept., **38** : 61, 1964.
- 24) Lawton, R.L. et al. : Simultaneous high-energy irradiation and chemotherapy. Arch. Surg., **41** : 155, 1965.
- 25) 三木威勇治他 : 制癌剤局所灌流法による四肢悪性腫瘍の治療. 整形外科, **15** (2) : 87, 1964.
- 26) 峰下鎮雄他 : 制癌剤の投与形式に関する研究(1) 大量1回投与と分割投与の比較, ネズミ移植腫瘍についての実験. 癌の臨床, **10** (4) : 217, 1964.
- 27) 宮村定男他 : Mitomycin C の体液中濃度測定. J. Antibiot., Ser. B., **14** (5) : 251, 1961.
- 28) 森田茂 : 癌患者に対する手術と制癌剤局所灌流との併用療法. 癌の臨床, **9** (1) : 23, 1961.
- 29) 増田元彦他 : 四肢悪性腫瘍に対する制癌剤の動脈持続注入療法の成績. 整形外科, **17** (9) : 684, 1966.
- 30) 増田元彦 : 四肢悪性腫瘍に対する制癌剤動脈内持続注入療法の実際. 臨床整形外科, **1** (7) : 713, 1966.
- 31) 中村卓次 : Methyl-(bis- β -chloroethyl)-amine-N-oxide 及びの悪性腫瘍に対する動脈内注射療法に関する研究. 日外会誌, **55** (4) : 385, 昭29.
- 32) Reemtsma, K. : Complication of regional cancer chemotherapy by perfusion & infusion technics. Am. J. Surg., **105** : 645, 1963.
- 33) Reich, E. et al. : Bacteriocidal action of mitomycin C. Biochim. Biophys. Acta, **45** : 608, 1960.
- 34) Ryan, R.F., : Fractional intra-arterial chemotherapy for malignant disease. Am. J. Surg., **105** : 640, 1963.
- 35) 酒井克治 : Nirtogen mustard N-oxide の動脈内挿管投与に関する実験的研究. 日外宝, **25** (6) : 727, 1956.
- 36) 酒井克治他 : 実験腫瘍に対する Mitomycin C の抗腫瘍性について. Chemotherapy, **5** (5) : 222, 昭32.
- 37) 芝茂 : マイトマイシンの作用機序. 最新医学, **14** (7) : 1831, 1959.
- 38) 柴田大法 : 未発表
- 39) 白羽弥右衛門 : 抗癌剤の動脈内挿管投与. 癌の臨床, **2** (7) : 534, 1956.
- 40) 白羽弥右衛門 : Mitomycin C の抗腫瘍性に関する研究. マイトマイシン文献集, No. 102, 22, 昭34.
- 41) Soholoff, B. et al. : Experimental studies on mitomycin C. Growth, **23** : 109, 1959.
- 42) Straub, P. W. et al. : A technique for prolonged continuous intra-arterial infusion in rabbits. Cancer, **17** : 831, 1964.
- 43) Sugiura, K. : Studies in a tumor spectrum, VIII. The effect of mitomycin C on the growth of a variety of mouse, rat, and hamster tumors. Cancer Research, **19** (4) : 438, 1959.
- 44) Sullivan, R.D. et al. : The treatment of human

- cancer with intra-arterial nitrogen mustard, utilizing a simplified catheter technique. *Cancer*, **6** : 121, 1953.
- 45) Sullivan, R.D. et al. : Antimetabolite combination cancer chemotherapy. Effects of intra-arterial methotrexate intra-muscular citrovorum factor therapy in human cancer. *Cancer*, **12** : 1248, 1959.
 - 46) Sullivan, R. D. et al. : The clinical effects of the continuous intra venous and intra-arterial infusion of cancer chemotherapeutic compounds. *Cancer Chemotherapeutic Rept.*, **16** : 499, 1962.
 - 47) Sullivan, R.D. et al. : Effect of the prolonged intravenous and intra-arterial infusion of cancer chemotherapeutic compounds. *Am. J. Roentgenol.*, **89** : 590, 1963.
 - 48) Sullivan, R. D. et al. : The clinical effect of prolonged intravenous infusion of 5-fluoro-2-deoxyuridine. *Cancer Research*, **25** : 1025, 1965.
 - 49) Suwa, M. : Nitrogen mustard N-oxide content in the thoracic duct lymph after arterial infusion from celiac axis. *Arch. Jap. Chir.*, **33** (5) : 876, 1964.
 - 50) 田坂定孝他 : Mitomycin の生体内動態および臨床的効果について. *最新医学*, **15** (7) : 1845, 1959.
 - 51) 寺中達夫 : Mitomycin X の抗腫瘍性に関する研究. *大阪市大医誌*, **7** : 24, 1958.
 - 52) Trams, E.G. et al. : Investigation of the effect of the intra-arterial administration of nitrogen mustard and chlortetracycline. *Antibiotics & Chemotherapy*, **5** (2) : 67, 1955.
 - 53) Usubuchi, I. et al. : The effect of mitomycin C on the growth of a variety of rat and mouse tumors. *Gann*, **49** : 209, 1958.
 - 54) Wakaki, S. et al. : Isolation of new fractions of antitumor mitomycins. *Antibiotics & Chemotherapy*, **8** (5) : 228, 1958.
 - 55) 渡辺脩助 : 制癌剤四肢灌流に関する研究—制癌剤 Mitomycin の動態を中心として. *日整会誌*, **39** (10) : 987, 1966.
 - 56) Watkins, E. Jr. : Chronometric infuser : an apparatus for protracted ambulatory infusion therapy. *N. Engl. J. M.*, **269** : 850, 1963.
 - 57) Watkins, E. Jr. et al. : Cancer chemotherapy by prolonged arterial infusion. *Surg. Gynec & Obst.*, **118** : 3, 1964.
 - 58) 山形敏一他 : 制癌剤の投与法の検討. *癌の臨床*, **10** (4) : 217, 1964.
 - 59) 米沢宏 : 未発表
 - 60) 吉川春寿 : 現代の生化学 (下), 135, 化学同人, 東京, 1965.