

# 四肢悪性腫瘍に対する制癌剤の動脈内 持続注入療法に関する実験的研究

松 井 猛

信州大学医学部整形外科教室 (主任: 藤本憲司教授)

## Experimental Study of Continuous Intra-Arterial Infusion of Anticancer Agents for Malignant Tumors of Extremities

Takeshi MATSUI

Department of Orthopedic Surgery, Faculty of Medicine,  
Shinshu University

(Director: Prof. K. FUJIMOTO)

### I 緒 言

悪性腫瘍細胞を化学療法剤によって特異的に破壊しようとする試みは、多数の研究者によって進められ、制癌剤の開発、改良に関する基礎的、臨床的成績の報告はすでに多くをかぞえている。しかし、現段階における制癌剤はほとんどすべてが強い毒性を持っているために、生体内の悪性腫瘍細胞が破壊されると同時に、宿主の正常組織細胞も薬剤による強い影響を避けることができない。そこで、腫瘍内の薬剤濃度を高め、全身への影響をできるだけ少なくする制癌剤の局所性投与方法として Klopp (1950)<sup>1)</sup>らによる動脈内注入法 (以下、動注法と略す) や Creech (1958)<sup>2)</sup>らによる局所灌流法が開発された。

局所灌流法に関しては、信州大学整形外科教室では、藤本<sup>3)</sup>ら、宮下<sup>20)</sup>の基礎的研究を経て、木下<sup>12)</sup>が担瘤家兎を用い、組織学的効果と延命効果を追求した結果を報告している。

制癌剤の動注法の目的は、栄養動脈を通じて投与された薬剤が腫瘍細胞に高濃度で作用し、ある程度不活性化されたのち体循環に入ることにより、全身への副作用を少なくすることにある。本法は薬剤の投与形式により、一時的投与方法、間歇的投与方法および持続的投与方法に分けられ、それぞれ特徴ある効果を発揮するといわれている。とりわけ、持続的投与方法は、① 制癌剤を長期間、腫瘍細胞に持続的に作用させることができる。② 造血臓器への影響が比較的少ない。③ 局所灌流法や動脈内一時大量投与の際にみられるような局所性の副作用が少ない。④ 手技が簡単で手術侵襲が小さいなどの特長を有するすぐれた投与方法であると考えられる。

動注法に関する多くの報告は主として臨床成績に関

するものである<sup>1)7)8)9)17)30)34)</sup>。しかし、人の腫瘍および担瘤個体の多様性や対照選定の難しさなどの点で成績の判定に問題を有しているため、成績について一定の結論をえていない。一方、動物実験では腫瘍および担瘤個体の均一化によって成績判定が比較的容易である。本法の実験的研究はラットを用いた Trams<sup>33)</sup>らの報告以来、実験動物としては主としてラットが用いられているようである<sup>26)32)38)</sup>。しかしラットでは挿管手技および術後管理の困難性から、制癌剤の投与方法は一時的または間歇的投与方法のみに限定されている。一方、家兎ではこれらの問題点はほとんど解決可能である。Straub<sup>28)</sup>らは white New Zealand rabbit の後肢に Vx2 carcinoma を移植して持続的に動注を行なうと、腫瘍の発育抑制効果のみをみており、Yoshizumi<sup>37)</sup>は家兎の胃に移植した Brown-Pearce 癌に持続動注を試みて酵素学的変動を追求している。

人の四肢悪性腫瘍に準じて持続動注法の動物実験を行なうためには、① 腫瘍は四肢に移植可能で担体が腫瘍死する。② 移植腫瘍への栄養血管はカテーテル挿管を行なっても正常に近い血流を保てる太さを有する。③ 術後長期間にわたって拘束管理ができるなどの条件が必要である。著者は以上の条件を満足させるために、Brown-Pearce 癌を移植した家兎について実験を行なうのが最適と考えた。

本実験は家兎の後肢に移植した Brown-Pearce 癌に持続動注法を行ない、腫瘍組織の形態学的変化を追求し、さらに担瘤家兎の延命効果を検討することを目的として行なわれた。

### II 実験方法

#### 1) 実験動物、実験腫瘍および移植方法

2~3kgの雑婚系白色雄性家兔の前脛骨筋に Brown-Pearce 癌を移植した。移植方法に関しては当教室の木下<sup>12)</sup>が詳述しているので、省略する。

2) 動注方法

a) カテーテル動脈内挿管手技

鼠径部に約 2 cm の縦切開を加へ、大腿動脈に達する。大腿動脈とその内側の筋枝を愛護的に剝離し、血管周囲組織を除くと動脈は太く怒張する。ヘパリンをみたした外径 0.8mm、内径 0.5mm のポリエチレンチューブを筋枝を通じて大腿動脈本幹の末梢にむけて 5 mm 挿入し、チューブへ血液が逆流するのを確かめる。ついで筋枝上よりチューブを結紮固定する。実験の当初は 4% patent blue 0.5ml を注入し、下腿が青色を呈することにより、チューブが正しく挿管されているのを確認した。チューブの他端は家兔の皮下を経て、背部より引出し皮膚に固定したうえで動注器に接続した。

b) 動脈内持続注入装置、薬剤注入速度および注入期間

実験の前半はツルース多段変速注入器、後半は Watkins-USCI chronofusor を使用した。いずれを用いても、微量の薬剤を持続的に長期間注入しえた。薬剤の注入速度は 5 ml/24時間 とし、注入期間は原則として 12時間~4 日間とした。

c) 実験家兔の管理

持続動注を行なう間は、家兔の全身状態を障害しないように、ある程度の運動を許可しつつ、しかも動脈内に挿管されているカテーテルが損傷されないように

管理する必要がある。著者は自家製の 12cm×15cm×30cm の拘束ケージに家兔を入れてカテーテルの損傷を防止した。対照群の家兔もまったく同様の条件下で管理した。

III 持続動注法の基礎的実験

1) 非担癌家兔の動注による<sup>32</sup>P 標識テスパミンの体内分布

非担癌家兔の一侧大腿動脈から<sup>32</sup>P 標識テスパミン 1mg/kg を 5 ml の生食水に溶解し、1 時間にわたり動注を行ない、1 例は注入終了直後に脱血により屠殺し、他の 1 例は注入 2 日後に脱血死させた。1 匹ずつ試料皿に採取した各臓器をハサミでできるだけ細片とし、試料の厚さを一定にして、G. M.-counter で<sup>32</sup>P のカウント数を測定した (図 1)。

注入終了直後の家兔では、<sup>32</sup>P 標識テスパミンは注入側の前脛骨筋および脛骨々髄には非注入側に比べて数倍もの値を示し、肝、腎にも多く分布する。注入 2 日後では前脛骨筋および脛骨々髄には注入側と非注入側の<sup>32</sup>P 標識テスパミンの分布の差が少なくなり、肝への蓄積がみられる。

2) 移植腫瘍の血管造影

Brown-Pearce 癌を前脛骨筋に移植した家兔の大腿動脈から微粒子バリウム液を注入しつつ、家兔を脱血により屠殺した。腫瘍は 10%ホルマリンで固定し、腫瘍中心部から厚さ 2 mm の横断切片を採取し、ソフテックスで撮影した (図 2, a.)。腫瘍部には同様に処置

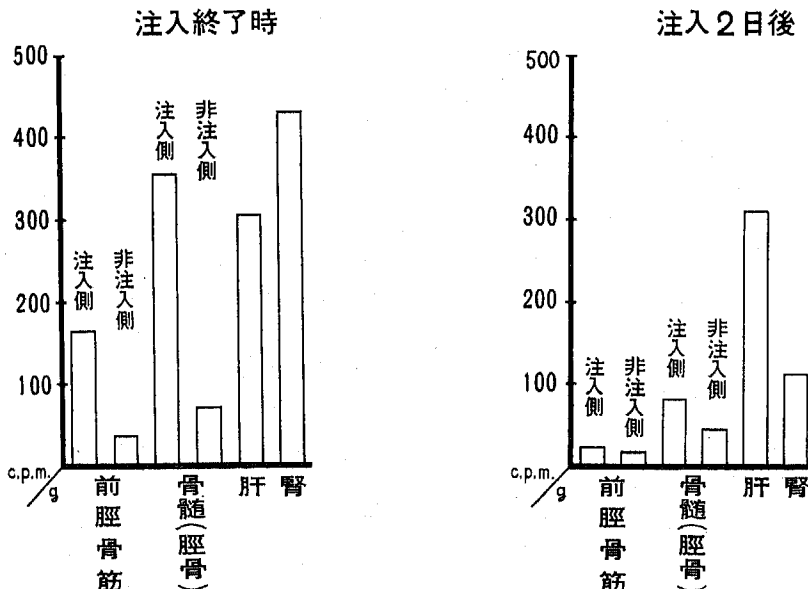


図 1. 大腿動脈注入後の<sup>32</sup>P 標識テスパミンの体内分布

した正常家兔前脛骨筋(図2, b.)にくらべ不規則な微細血管像が多くみられ, Brown-Pearce 癌が血管に富むことを示している。

### 3) 注入薬剤の種類および投与量

注入薬剤を選択するために, 家兔の前脛骨筋に移植した Brown-Pearce 癌に対し, マイトマイシンC, エンドキサンおよびテスパミンを用いて動注を行なった。この結果, マイトマイシンC  $1mg/kg$ , エンドキサン  $25mg/kg$ , テスパミン  $1mg/kg$ の投与量ではいずれの薬剤も, Brown-Pearce 癌に対する著明な組織学的効果を認め, 注入肢に潰瘍, 脱毛などの局所性副作用の出現をきたした例はなかった。また造血臓器である骨髓, 脾に組織学的に変性像を認めず, 注入後の経時的な白血球測定でも白血球減少を示した例はなかった。エンドキサンは神前<sup>15)</sup>らの研究で大部分は肝で賦活化されて制癌効果を発揮すると考えられ, 動脈内投与には不相当であるとされている。マイトマイシンCはテスパミンにくらべ骨髓障害が比較的軽微で, 感受性も広範囲であるとされ, Brown-Pearce 癌に対する組織学的効果も著しいことから<sup>12)</sup>, 本実験にはマイトマイシンCを用いることとし, 副作用を防ぐためにその使用量は  $1mg/kg$ とした。

### 4) 小括

a) <sup>32</sup>P 標識 テスパミンを非担癌家兔の一侧大腿動脈に注入して, 各臓器への薬剤分布状態を G. M.-counter で測定した結果, 注入終了直後では注入側の前脛骨筋および脛骨々髓は非注入側にくらべて数倍もの値を示し, 前脛骨筋内の局所濃度が高まっていることがわかった。

b) 大腿動脈からの血管造影では, 前脛骨筋に移植された Brown-Pearce 癌は不規則な微細血管を豊富に有し, 腫瘍に微粒子バリウムが十分に到達することを示している。

c) マイトマイシンC, エンドキサンおよびテスパミンを大腿動脈に注入した結果, いずれも Brown-Pearce 癌に対する組織学的効果は認められたが, 各薬剤の特性を検討してマイトマイシンCを用いることにし, 投与量は  $1mg/kg$ とした。

## IV 持続動注後の組織学的変化

### 1) 検索方法

持続動注法後の組織学的効果を追求する家兔群では Brown-Pearce 癌を一侧の前脛骨筋に移植し, 腫瘍がふれるようになる5日後に, 腫瘍の発育がほぼ同等と思われる2頭を選び, 1頭には大腿動脈からマイトマイシンC  $1mg/kg$ を12時間から24時間にわたって注

入した。他の1頭は無処置のまま対照群とした。家兔を経時的に脱血により屠殺し, 腫瘍を一塊として摘出して10%ホルマリンで固定した。腫瘍の中心部と近位部から横断切片を, 遠位部にて縦断切片を採取し, 組織標本を作製してヘマトキシリン・エオジンで染色したのち, 組織学的に検討した。

### 2) 実験成績

#### a) 経時的变化

持続動注終了直後の組織像では, 腫瘍細胞の境界は鮮明であるが, 細胞間には軽度の浮腫や蛋白成分の漏出がみられる。核膜はよく保存されており, 核分裂像も多く, 細胞変性はほとんど認められない(図3)。既存の変性壊死層と考えられる部分に接した小血管の拡張と, 軽度の出血がみられる。

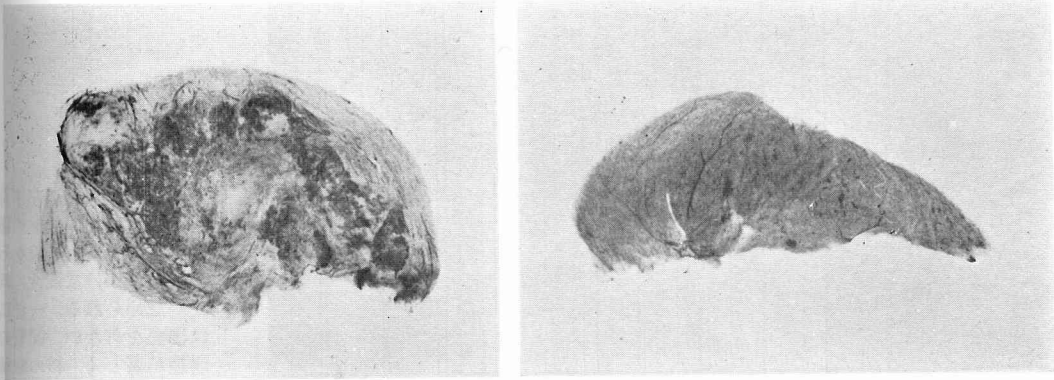
注入後2日経つと, 組織学的変化が明らかに認められるようになる。すなわち, 腫瘍被膜と被膜下を中心とした小血管の豊富な部において, 血管周囲性に腫瘍細胞の変性壊死像が認められる。このような部では, 細胞間浮腫が著明で腫瘍細胞は分離している。細胞膜は不明となり胞体は腫大し, その中に空胞, 粗大顆粒が出現し, 胞体の好塩基性は消失している。また核の多くは核濃縮をおこし, とくに出血巣では腫瘍細胞の核崩壊も認められる(図4)。

4日後では, 変性壊死は広汎となる。さらに毛細血管の変化が強くあらわれ, 出血を伴ったうっ血を呈する部では変性壊死が強く(図5), 一方血管が空虚になって内皮細胞の消失をきたし, 拡張性の小血管をとりまく腫瘍細胞は変性像を示しているが, 壊死像は著明でない(図6)。

6日後では, 4日後(図5, 6)と同様で, 大部分の細胞は小さく, 密に配列し, 核濃縮をおこしており, 腫瘍中央部に出血を伴った壊死巣が目立っている。しかし, よくみると血管を中心として, 放射状に細長い好塩基性の胞体をもち, 核濃縮をおこした腫瘍細胞が残っている(図7)。

これらの腫瘍細胞の変性壊死は注入8日後に, その範囲, 程度とも最も高度になる。胞体は好酸性が増強し, 細胞境界は不鮮明で, ときには消失している。核の多くは核濃縮をおこし, 染色性の低下, 核小体およびクロマチン網の消失をきたしており, さらには裸核, 核崩壊による核塵がみられる。しかしながら腫瘍組織の一部には核膜が比較的よく保たれ, クロマチンの網目構造を残した腫瘍細胞が, 島状に残存している部もみられる(図8)。

10日後では, 上記残存した腫瘍細胞巣が増加しており, さらに12日後以降では, 新生毛細血管を中心とし



a.

b.

図 2. a. 前脛骨筋内に移植した Brown-Pearce 癌の血管造影。血管が不規則かつ豊富に分布している。  
 b. 正常家兎の前脛骨筋の血管造影。血管が均等に造影されている。

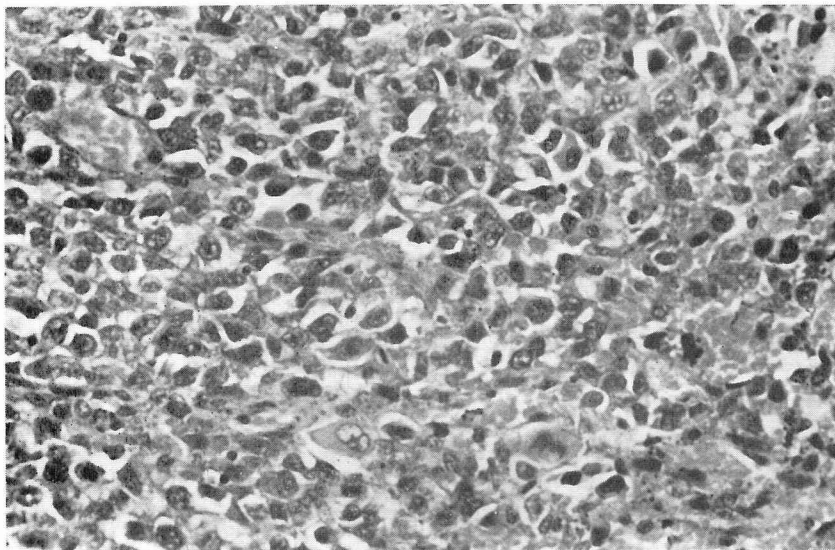


図 3. 動注直後。腫瘍細胞にはほとんど著しい変化は認められず、胞体や核の性状は対照群のそれと同様で、核分裂像も 2, 3 みられる。しかし、細胞間に浮腫や蛋白成分の漏出がみられる。

(H. E. 200×)

て、核や胞体のしっかりした腫瘍細胞が濾胞状、島状にその数を増して認められるようになる (図9)。

以上のような組織学的変化を壊死巣、変性細胞巣および増殖細胞巣の3群にわけて、経時的にその推移を

検討した。壊死巣とは組織学的に生存能力を失ったと考えられる細胞巣である。すなわち、胞体は消失、崩壊し、核膜が不鮮明となり核陰影像として認められるもの、あるいは核崩壊をおこした細胞である。変性細

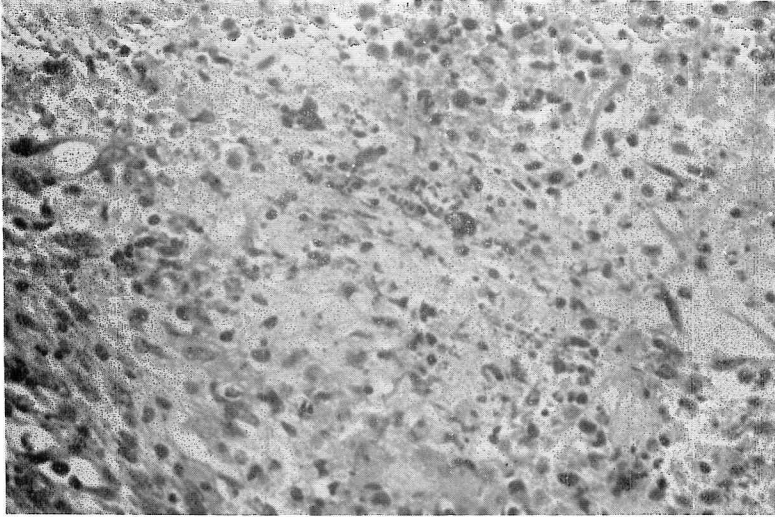


図 4. 動注 2 日後。左下部には正常に近い腫瘍組織がみられるが、中央から右上部にかけて変性、壊死が認められる。一部には出血を伴ない、間質の浮腫が著しく、核の融解や崩壊もみられる。右上部には破綻した血管内皮細胞の一部がみられる。  
(H. E. 200×)

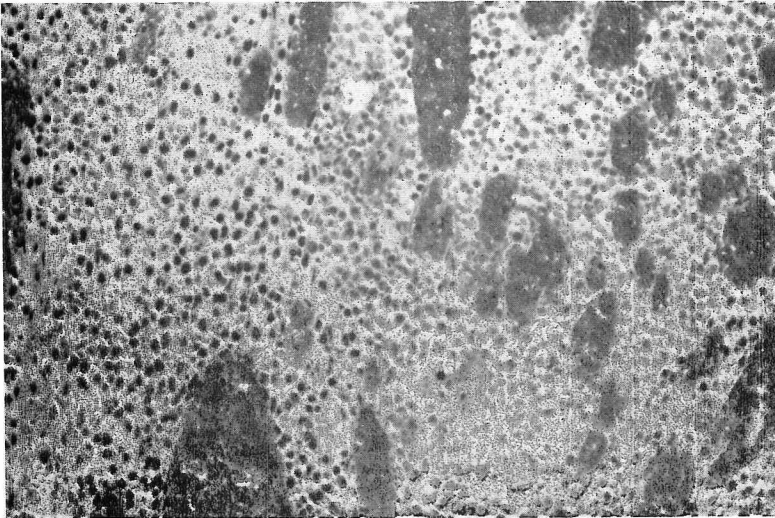


図 5. 動注 4 日後。血管拡張と赤血球の充満が著しく、血流停止もきたし、一部では出血を伴っている。このような部では細胞間の浮腫や腫瘍細胞の変性壊死が強くおこっている。  
(H. E. 200×)

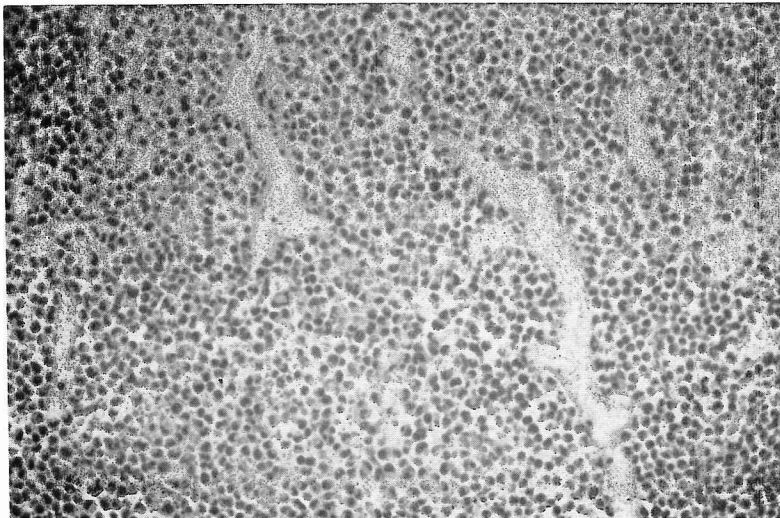


図 6. 動注 4 日後。腫瘍細胞の小型化、円形化および核の濃縮が広範にみられる。このような部の小血管は拡張性であり、内腔には淡紅染性、無構造な小顆粒の蛋白様物質を入れ、血管内皮細胞は消失し、血管壁の一部には線維素の沈着が認められる。  
(H. E. 200×)

図7. 動注6日後。大部分の腫瘍細胞は変性におちいっているが、一部には小血管を中心放射状に配列した好塩基性の胞体を有する腫瘍細胞が残存している。このような部の血管壁は膨化し、閉塞性であるが、一部ではかなりしっかりしており、内腔に赤血球を入れている。

(H. E. 200×)

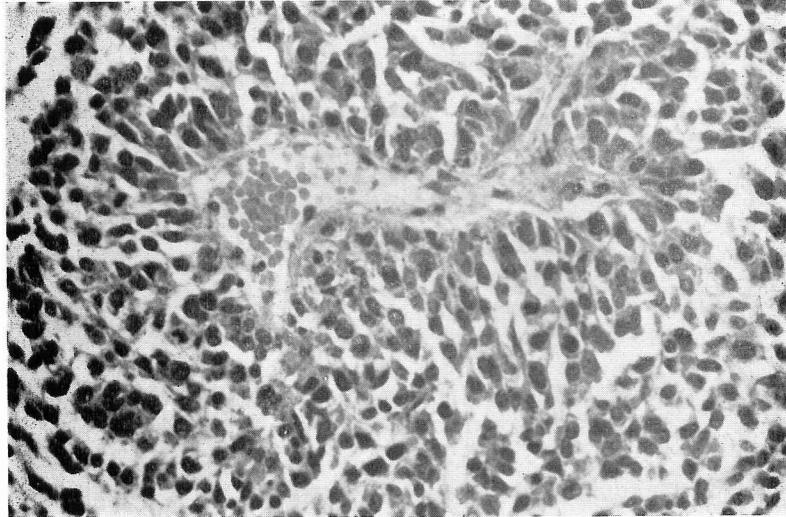


図8. 動注8日後。血管の変化が高度で、わずかにその輪廓を残すのみである。腫瘍細胞の変性壊死も強く、出血を伴っている。核の融解や崩壊がおこり、核塵もみられる。しかし左下の一部には変性の程度があまり強くない腫瘍細胞が残されている。

(H. E. 200×)

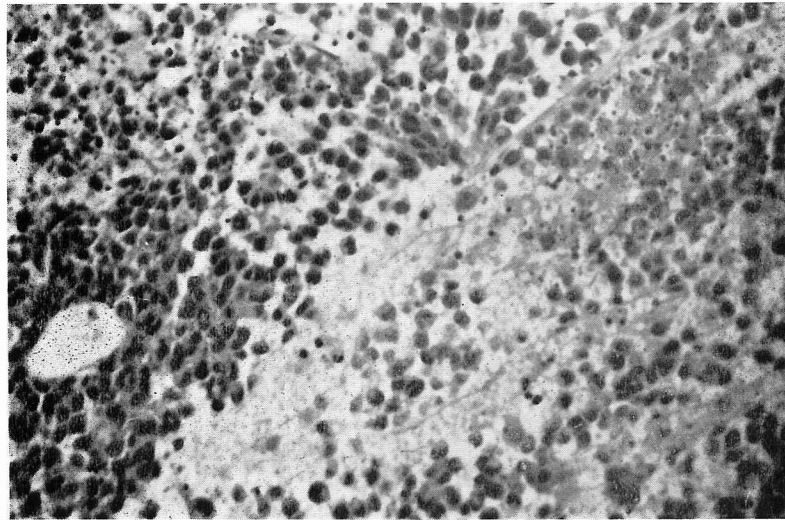
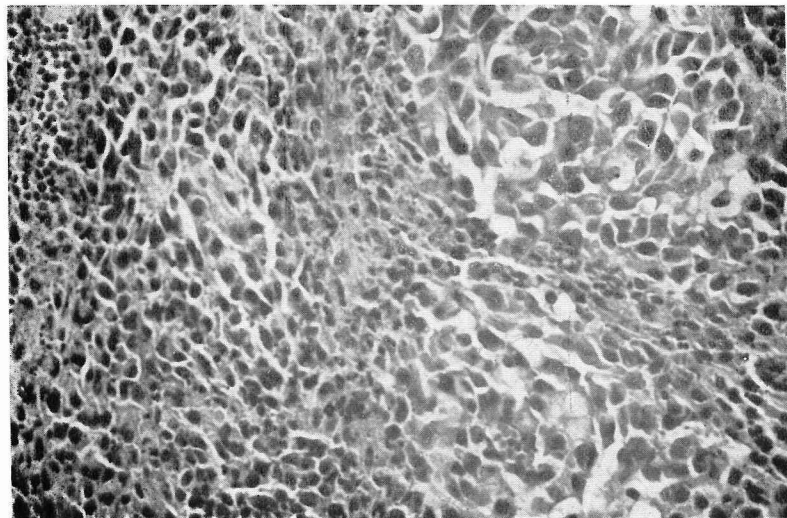
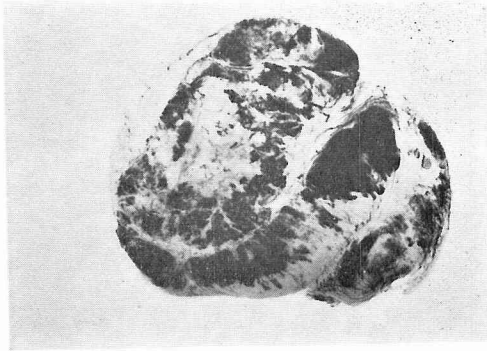


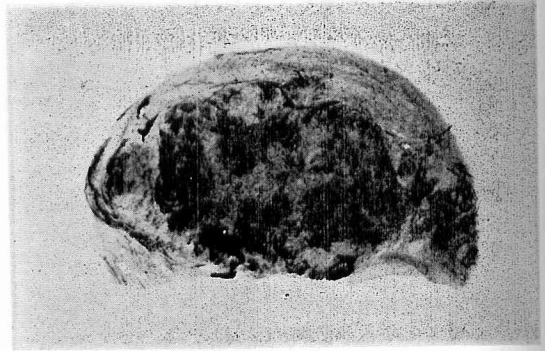
図9. 動注12日後。出血、変性、壊死におちいった腫瘍組織内に新生毛細血管を中心にして、好塩基性の強い胞体をもつ、大型の腫瘍細胞が濾胞状、島状に増加している。

(H. E. 200×)





a.



b.

図 10. a. 動注直後。腫瘍周辺部に著明な造影剤の血管外漏出を認める。  
b. 対照。動注を行わないと、造影剤が均等に分布している。

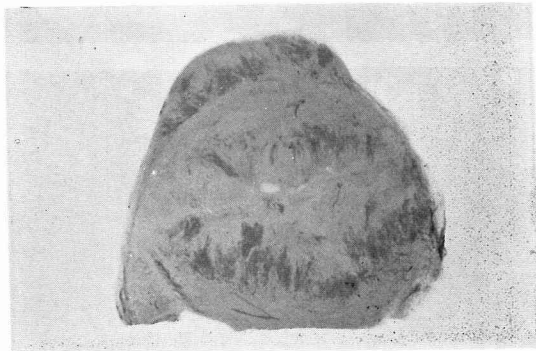


図 11. 動注 4 日後。腫瘍周辺部に軽度の造影剤の貯留をみるが、腫瘍中心部には造影剤は少ない。



図 12. 動注 8 日後。腫瘍内には造影剤は著しく少なく、わずかに散在するのみである。



図 13. 動注 12 日後。腫瘍周辺部に微細な血管が造影されている。

胞巣とは胞体は好塩基性に乏しく、輪廓は明らかで、胞体の膨化あるいは縮小、細胞間の開離などがあるが、核膜は明瞭で、染色性の軽度の低下および核濃縮をおこした細胞である。増殖細胞巣とは増殖能力があると考えられる細胞で、胞体は好塩基性を保ち、境界は明らかで、核膜は明瞭で、核クロマチンの好塩基性は強く、あるものは網目構造をもち、あるものは核質濃染 (hyperchromatic) の像を呈し、核分裂像も散見されるものである。その結果、増殖細胞巣は動注後急激に減少し、8日後には最も少なくなる。しかし、完全消失には至らず、その後わずかに増加する傾向が認められた。変性細胞巣は、動注後急激に増大し、8日後ごろに最も広汎に認められた。一方、壊死巣は動注後、漸次増加する傾向を認めた。

#### b) 部位的差異

持続動注群では、腫瘍被膜および被膜下に変性壊死が強く認められ、健常部との境界は不鮮明であるのに対し、対照群では腫瘍被膜および被膜下に強い組織学的変化を認めず、退行性変化を示す部と健常部とは明らかに境している。

#### c) 小 括

i) 持続動注法による組織学的変化は、注入終了2日後からあらわれ、漸次増大し、変性壊死像の程度および範囲は8日後にもっとも高度であった。しかし、10日後から腫瘍細胞が再び増殖する傾向が認められた。

ii) 腫瘍細胞の退行性変化は多くは血管周囲性であるが、そうでない部分も認められた。腫瘍細胞が再び増殖する部では、中心に小血管がみられた。

iii) 動注群の腫瘍被膜および周辺部では、変性壊死が対照にくらべ著明であった。

### V 持続動注後の血管造影上の所見

#### 1) 検索方法

持続動注法がおよぼす腫瘍内の血管分布の変化を血管造影により追求した。この群では、Brown-Pearce 癌を前脛骨筋に移植し、移植5日後からマイトマイシンC  $1mg/kg$  を12時間にわたって注入し、無処置の対照家兎とともに経時的に脱血により屠殺し、血管造影を施行した。血管造影法は次の通りである。すなわち、屠殺直後生食水でみたした内径  $1.5mm$  のポリエチレンチューブを大腿動脈に挿入し、大腿静脈を切断する。 $39^{\circ}C$  に加温した生食水  $50ml$  で後肢を洗浄したのち、微粒子バリウム  $2.5ml$  を注入した。大腿動静脈を結紮し、股関節から後肢を離断して10%ホルマリンで固定し、腫瘍の中心部から約  $2mm$  の厚さの横断切片を取出

し、ソフテックスで撮影した。

#### 2) 実験成績

持続動注終了直後の血管造影では、腫瘍周辺部に血管外漏出と考えられる著明な造影剤の貯留像を呈するのに対し、中心部には造影剤がわずかに点在するのみである (図10, a.)。対照例では、大小不同の小血管が不規則な走行を示し、腫瘍内にほぼ均等に分布している (図10, b.)。

4日後では、腫瘍周辺部を主として造影剤の貯留像がみられる (図11)。8日後になると腫瘍内の血管分布は著しく減少しており、周辺部には小血管が存在するが、中心部では血管が造影されてないところが多い (図12)。12日後以降になると、新生血管と思われる微細な血管が周辺部を主として豊富に造影されてきて、中心部にも血管像が認められる (図13)。

#### 3) 小 括

持続動注直後では、腫瘍周辺部の血管外漏出が著明であった。8日後には微細血管像は著しく減少し、12日後から再び増加する傾向が認められた。

### IV 持続動注法による延命効果

#### 1) 検索方法

延命効果を追求する家兎群では、Brown-Pearce 癌移植5日後からマイトマイシンC  $1mg/kg$  の持続動注を行なった。注入期間による延命効果の差をみるために、実験家兎群を短期間群と長期間群とにわけた。すなわち、12時間から48時間にわたって薬剤を注入した家兎群を短期間持続動注群 (25頭)、49時間～4日にわたって注入した家兎群を長期間持続動注群 (17頭) とした。対照は持続動注期間中、動注家兎と同型の拘束ケージで飼育した無処置担癌家兎で、その動物数は処置群と同数である。実験動物は死後すべて剖検し、臓器転移の有無を確かめ、腫瘍死と認めたもののみである。

#### 2) 実験成績

短期間持続動注群25頭と長期間持続動注群17頭の生存頭数減衰曲線を図14, a, b. に示す。両群とも対照群と比較して明らかな延命効果は認められなかった。最短生存日数および最長生存日数は持続動注群では14日～45日、対照群では15日～39日であるが、持続動注群では早期に死亡するのも多いが、42頭中5頭は対照群の最長生存日数以上に生存した。

#### 3) 小 括

持続動注法による延命効果を注入期間により短期間群と長期間群とにわけて追求したが、両群とも対照群に比して延命効果は認められなかった。



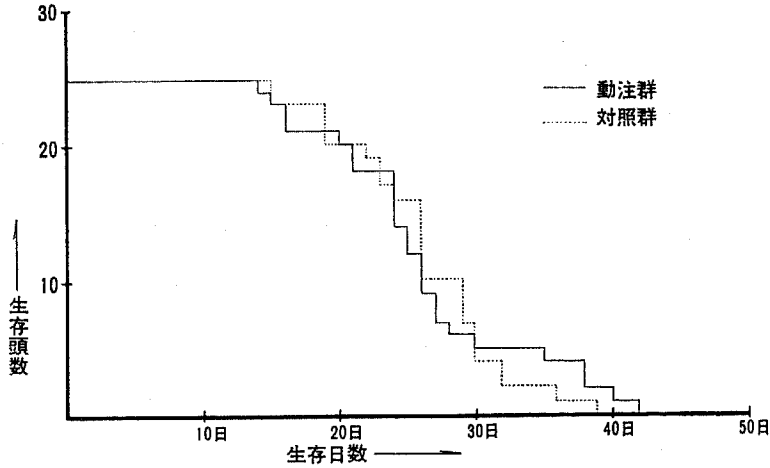


図 14. a. 家兎生存頭数減衰曲線 (短期間持続動注群)

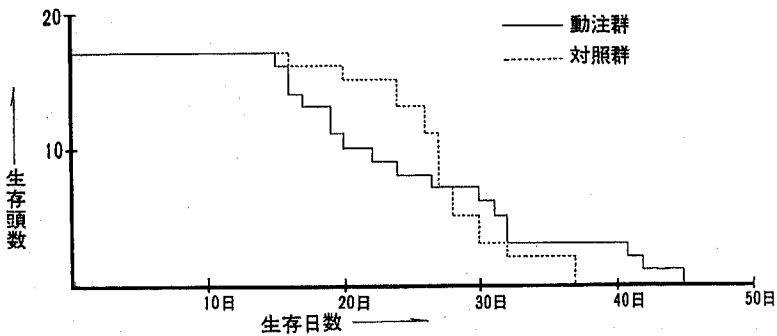


図 14. b. 家兎生存頭数減衰曲線 (長期間持続動注群)

VII 考 按

1) 制癌剤動注法の動物実験についての検討

1950年, Klopp<sup>31)</sup>らは放射線療法が局所性に用いられれば造血系や他臓器への傷害をきたさないことに着目し, 従来全身的投与にのみ頼っていた制癌剤を腫瘍を支配する栄養動脈に注入する動注法を創始した。Klopp らは本法を人癌の治療に用いて腫瘍の著しい縮小を認めたと報告し, この作用を chemical radiation と名付け, 動注法が腫瘍局所内の薬剤濃度を高め, しかも全身的副作用は軽微であることを強調した。以来, 動注法は制癌剤の局所性投与方法として, 臨床的に盛んに用いられるようになっていく。本法は, ① 大量の制癌剤を短時間に1回だけ投与して腫瘍細胞に衝撃的な効果をあげようとする一時的投与方法, ② 比較的大量の薬剤を連日ないし数日おきに短時間で注入し, 反覆することにより効果の増強を期待する

間歇的投与方法と, ③ 長期間にわたって微量ずつ持続的に注入する持続的投与方法に分けられる。一時的投与方法は, 薬剤の腫瘍内濃度に関しては Creech<sup>4)</sup>らにより開発された局所灌流法にはるかに劣るので, 現在ほとんど用いられなくなった。これに反し, 間歇的投与方法および微量持続的投与方法の臨床報告は多い。とりわけ, 微量持続的投与方法は腫瘍細胞と薬剤との接触時間を長くし, かつ全身的副作用を軽減させることができ, さらに腫瘍細胞の1世代に相当する期間にわたって制癌剤を作用させて, すべての腫瘍細胞の細胞分裂を抑制させうる可能性をもった理論的にもすぐれた投与方法で, 現在では動注法の主流をなしている。

動注法の動物実験の報告は, 腫瘍の移植が可能なたん鼠か家兎に限られている。たん鼠を用いた実験としては Trams<sup>32)</sup>ら, 寺中<sup>32)</sup>, 吉栖<sup>36)</sup>, 柴田<sup>26)</sup>らの報告をみるが, 小動物であるたん鼠では, 麻酔や動脈挿

管手技による手術侵襲が大きすぎ、またラットの習性から一定期間拘束して持続的に動注を行なうのは困難であり、投与方法は一時的あるいは間歇的投与方法に限られてしまう。しかし家兎では実験手技や術後管理の問題は解決でき、Straub<sup>28)</sup>らは Vx2 carcinoma を用い、Yoshizumi<sup>27)</sup>は Brown-Pearce 癌で持続動注法を試みている。本実験で用いた Brown-Pearce 癌は、移植率は100%ではなく、時には自然治癒がおこる点からは必ずしも理想的な実験腫瘍とはいえないが、入手が容易な白色雑婚系家兎に移植できるので、実用的な実験腫瘍と考えられる。

カテーテルの動脈内挿管手技は、臨床的にはほぼ完成されている。腫瘍の存在する部位によりその栄養動脈への挿管法は異なるが、経皮的にカテーテルを挿入する方法<sup>17)</sup>、手術的に動脈に直接挿入する方法<sup>18)</sup>や動脈枝を通じて動脈本幹に挿入する方法<sup>13)17)</sup>などがある。

ラットでは、Trams<sup>29)</sup>ら、寺中<sup>32)</sup>、柴田<sup>26)</sup>は後肢に移植した腫瘍に対し、対側の大腿動脈からカテーテルを逆行性に大動脈分岐部まで挿入して制癌剤の注入を行なっている。しかし、この方法では注入薬剤の全量が必ずしも目的とする腫瘍領域へ到達しないおそれがある。家兎では、Straub<sup>28)</sup>らは後肢の腫瘍に対し、下腹壁動脈から大腿動脈本幹にカテーテルを挿入している。著者は外径0.8mm、内径0.5mmのポリエチレンチューブを大腿動脈の筋腔を経て本幹に挿入したが、この方法では大腿動脈本幹の血管壁を損傷しないので後肢の血流をよりよく保ちつつ、しかも移植した腫瘍領域に薬剤を確実に到達させようと考えられる。

腫瘍の栄養動脈の選択にあたっては、松田<sup>19)</sup>は、以前に放射線療法や手術などを受けた部位では、思わぬ副血路の形成をみる必要があるから解剖書のみならず、fluorescin test の施行を推奨しており、Helsper<sup>8)</sup>らは薬剤が腫瘍部に到達するか否かを確かめるために、血管造影や fluorescin あるいは methylen blue の注入を行なっている。著者は基礎的実験で大腿動脈から造影剤を注入して前脛骨筋へ移植した腫瘍内に豊富な血管像を認め、さらにカテーテル挿管後も patent blue を注入して薬剤の流入領域の確認を行なった。

動注期間については、臨床上是種々な報告がある。Straub<sup>28)</sup>らは拘束した家兎において7日～10日間の持続動注を行なっている。著者は12時間～4日間の持続動注を行なったが、この期間内では対照家兎でも拘束による全身状態への影響は少ないようであった。

動注法に用いる制癌剤を選択するために、腫瘍に対

する制癌剤の感受性を検討する必要がある。制癌剤の感受性試験として、Schrek らの組織学的判定法、Mc Fadyen らの癌細胞の移植率による判定法、西岡ら (I. N. K. 法)<sup>21)</sup>、近藤ら (S. D. I. 法)<sup>14)</sup>の腫瘍細胞の脱水素酵素の活性を指標とする判定法や Di Paolo<sup>5)</sup>の組織培養法など多くの報告をみるが、いずれの方法にも未解決な点が多い。吉栖<sup>30)</sup>は動脈内注入法で、さらに木下<sup>12)</sup>は局所灌流法でマイトマイシンCの Brown-Pearce 癌に対する制癌効果を組織学的に証明している。著者も基礎実験において、Brown-Pearce 癌に対する各種の制癌剤の効果を検討した上でマイトマイシンCの制癌効果が最もすぐれていたため、本実験ではマイトマイシンCのみを使用したわけである。

持続動注法の副作用について、临床上、Reemtsma<sup>23)</sup>や上村<sup>24)</sup>らは胃腸障害、術部感染、下腿静脈炎、浮腫、発疹や白血球減少を報告し、Packham<sup>22)</sup>らは動脈内挿管手技中におこる副作用として動脈の攣縮を重視している。Straub<sup>28)</sup>らは家兎での実験で、局所性副作用として後肢の壊死、血腫や局所感染をあげている。著者の実験では動脈内挿管の際に血管の攣縮を認めたが、動脈周囲組織を一部剝離し、プロカインを滴下すると攣縮は除去できた。注入肢の壊死、脱毛や浮腫などは認められなかった。

動注法の実験方法を検討した結果、Brown-Pearce 癌を移植した家兎においては臨床上行なわれている動注手技とほぼ同様に行なうことができ、さらに腫瘍および担癌個体の均一な条件下で動注の効果を判定できるといえる。実験動物における持続動注法の制癌効果を腫瘍の大きさの変化から追求している報告がみられるが<sup>28)</sup>、軟部組織内に存在する腫瘍を外部から計測するのは実際上困難である。吉栖<sup>30)</sup>は制癌効果を腫瘍組織の酵素活性の変動からみている。著者は Brown-Pearce 癌を移植した家兎に持続動注法を行ない、形態学的変化および延命効果の面から本法の制癌効果を追求した。

## 2) 持続動注法後の組織学的変化および血管造影上の変化について

持続動注法がおよぼす組織学的影響を詳細に追求した報告は少ない。赤星<sup>1)</sup>らは人の四肢悪性骨腫瘍において、持続動注直前に行なった試験切除標本と注入後に採取した腫瘍組織とを比較し、後者で腫瘍細胞数の減少、細胞の破壊や線維性組織の増生をみたと述べている。しかし試験切除で半ば盲目的しかも部分的に採取された腫瘍組織は、資料としての信頼性に問題がある。

実験腫瘍ではこの点は解決されるが、制癌効果の組

組織学的な判定は、佐藤<sup>25)</sup>、菅野<sup>27)</sup>らが指摘しているように、制癌剤に接触した腫瘍細胞が示す変性壊死像は細胞が自然におこす変化と質的な相違が少ないので、自然壊死と制癌効果との鑑別は実際には困難なことが多い。著者は腫瘍組織の標本作製にあたっては、部位別偏位をなくすため数カ所から横断および縦断切片を採取し、組織学的判定に正確を期すため、対照と比較しながら厳密に検討した。

持続動注後の組織所見では、退行性変化が内皮細胞の変性がおこっている小血管を中心にみられ、腫瘍細胞発育の最も旺盛と考えられる腫瘍周辺部に変性壊死が強く認められることから、これらの変化はマイトマイシンCによると考えた。しかし、腫瘍組織内には広汎な変性壊死部にまじってほとんど常に増殖能を有すると思われる腫瘍細胞が認められ、経時的にはこの残存する腫瘍細胞が血管周囲性に増殖する傾向をみた。すなわち、持続動注法では組織学的に著明な制癌効果を認めるが、腫瘍組織を全滅させることはできないようである。この事実は赤星<sup>1)</sup>、増田<sup>18)</sup>らの臨床報告と一致している。その原因として、① 薬剤が腫瘍内に均等に到達しない。② 薬剤の濃度が局所灌流法のように高くない。③ 薬剤と腫瘍との接触時間の問題などが考えられる。薬剤の腫瘍細胞への到達性の問題は Brown-Pearce 癌のような固型癌では常に避け難い。注入直後に家兎を屠殺して行なった腫瘍の血管造影では、対照例が均等な血管分布を示すのに対し、動注群では腫瘍周辺部に造影剤の貯留がみられ、中心部では血管の造影像が著しく減少していた。これはマイトマイシンCの血管系への傷害を示唆し、腫瘍組織への本薬剤の不均衡な分布状態をうかがわせる。また持続動注法では局所灌流法のごとき薬剤の高濃度投与は期待できず、血管攣縮や血管壁の変化がおこっている条件下では腫瘍内の薬剤濃度が必ずしも有効値に達しているとは限らないことが推察される。薬剤と腫瘍細胞との接触時間すなわち制癌剤の持続動注期間は腫瘍細胞の1世代時間以上持続するのが理想的である。山形<sup>26)</sup>らは autoradiography 法を用いて世代時間を追求し、胃癌細胞の1世代時間は2日～3日であろうと述べ、石川<sup>10)</sup>らは人の癌の世代時間は2週から5ヵ月におよび、実験腫瘍では1日以内と述べている。しかし個々の臨床例について世代時間を測定することはきわめて困難といわざるをえない現状である。

著者の実験した Brown-Pearce 癌については、まだ世代時間が明らかにされていない。従って合理的な動注期間を決定することはできなかった。しかし組織学的な変化を持続動注後経時的に追求した結果では、

増殖能力をもっていると考えられる細胞が動注8日後までは急激に減少し、その後再び増加する現象がみられた。一方、制癌剤持続動注後の血管変化を観察すると12時間の持続投与でさえ、腫瘍内の小血管は破壊されてしまうので、いたずらに長期間持続動注を行なっても、薬剤が腫瘍細胞に到達するとは限らないであろう。血管の破壊も動注終了8日後で最も著明であり、その後数日たった12日後には新生血管が認められた。従って、全身的副作用が発生しなければ、第1回の持続動注終了後10日ないし12日くらいで再び持続動注を行なうことにより、より強力な制癌効果を期待しうるのではなからうか。

### 3) 持続動注法による延命効果について

制癌剤の持続動注法の臨床成績に関する報告は多いが、本法の延命効果については諸家によりまちまちである。Rogers<sup>24)</sup>は咽頭癌、舌癌において、Sullivan<sup>31)</sup>らも歯齦癌で腫瘍の完全な消失を認めた例を報告している。しかし、これらは元来生物学的悪性度の低い扁平上皮癌であり、一般的には悪性度の高い腫瘍では持続動注法のみでは延命効果は期待し難いとされている。

実験腫瘍では、寺中<sup>32)</sup>はラットの Walker's carcinosarcoma を用いた動注法で、生存日数の延長を認めており、柴田<sup>26)</sup>はラットの骨髄内移植において移植後早期に動注を行なった群では延命効果をみたが、晚期群では延命効果はなかったと報告している。

延命効果を判定するための実験では、治療開始時における移植腫瘍の状態が実験成績を左右するので、移植後何日目の動物に対して動注を行なうか問題である。移植直後からの動注は *in vitro* における実験の延長とも考えられ、良好な成績がえられるのは当然であろう。著者は腫瘍が確実に触診できるようになってから持続動注を行なったが、これは臨床での注入時の腫瘍条件に類似性を求めたためである。注入期間を短期間持続動注群と長期間持続動注群とに分けて、対照家兎群と生存期間を比較したが、延命効果は両群とも対照群にくらべ明らかな差はなかった。

延命効果に関しては、腫瘍の遠隔転移の成立時期が問題となる。柴田<sup>26)</sup>はラットの Walker's carcinosarcoma 256 の骨髄内移植で、移植操作による肺転移を認め、実験腫瘍では移植直後から遠隔転移をおこすことが多いと述べている。延命効果が認められなかった著者の実験では Brown-Pearce 癌においても移植直後すでに転移がおきている可能性が考えられる。

制癌剤は本質的には細胞毒であるから、腫瘍-宿主の関係 (tumor-host relation) の立場から延命効果

を検討する必要もある。Sullivan<sup>30)</sup>らは代謝拮抗剤を中和剤と併用して全身に対する毒性を軽減させ好結果を発表しているが、制癌剤の多くはまだ中和剤が開発されていない現状である。従来、臨床的に癌患者への制癌剤の使用で宿主への傷害が強く表面にあらわれ、死をはやめることがあるのは知られており、また末期担癌動物においても制癌剤の使用で生存期間が短縮されたという報告もみられる<sup>26)</sup>。著者の実験では持続動注群と対照群との間に明らかな延命効果はみなかったが、持続動注群においては生存日数にばらつきがあり、早期に死亡するものも多いことから、制癌剤の宿主への影響も無視できないことを示している。

赤星<sup>1)</sup>は持続動注によって、腫瘍局所に作用した制癌剤が向肺性の腫瘍細胞を追跡し、肺転移を抑制するだろうと推測しているが、著者の実験結果からは、持続動注法の肺転移抑制効果を明らかにすることはできなかった。

### VIII 総括および結論

制癌剤の持続動注法が腫瘍におよぼす影響を客観的に追求する目的で、Brown-Pearce 癌を移植した家兎にマイトマイシンCの持続動注法を施行して以下の結論をえた。

1) 組織学的検索では腫瘍細胞の変性壊死はかなり広汎に認められるが、一部にはこれらの変化をまぬがれた細胞群が存在し、ある時期をすぎると腫瘍細胞の増殖がみられる。

2) 血管造影上の所見と組織学的所見とを対比して検討すると、退行性変化の強い時期には血管分布は減少し、腫瘍細胞が増殖してくると新生血管が豊富になってくる。

3) 延命効果については、持続動注群と対照群との間に明らかな差は認められなかった。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜った恩師藤本憲司教授に深甚なる謝意を表わすとともに、組織学的所見について御教示を賜った本学第2病理学教室那須毅教授に深謝する。さらに本研究の実験に多大の御協力をいただいた当教室の寺山和雄講師、間宮典久講師、木下雅夫講師をはじめ骨腫瘍研究班の各位に深謝する。

### 文 献

- 1) 赤星義彦：悪性骨腫瘍に対する制癌剤動脈内挿管投与と手術との併用療法，臨床整形外科，2：539，1967。
- 2) Brown, W. H. and Pearce, L. : Studies based

on a malignant tumor of the rabbit. J. Exp. Med., 37 : 601, 1923.

- 3) Chiappa, S., Galli, G. and Gennari, L. : Arteriography in bone and soft-tissue tumors, in "Vascular roentgenology", ed. by Schobinger, R. A., et al, p. 469, 1964. Macmillan Co., New York.
- 4) Creech, O., Krementz, E. T., Ryan, R. F. and Winblad, J. N. : Regional perfusion utilizing an extracorporeal circuit. Ann. Surg., 148 : 616, 1958.
- 5) Di Paolo, J. A. : The use of human tumor effusions in primary culture for testing chemotherapeutic compounds. Cancer, 17 : 391, 1964.
- 6) 藤本憲司・寺山和雄・宮下雷平・木下雅夫・青木範充：局所灌流用体外循環装置の試作，整形外科，14：422，1963。
- 7) Helman, P. and Sealy, R. : Intra-arterial cytotoxic therapy and X-ray therapy for cancer of the head and neck. Lancet, 1 : 128, 1965.
- 8) Helsper, J. T. and de Moss, E. V. : Regional intra-arterial infusion of 5-fluorouracil for cancer. Surgery, 56 : 340, 1964.
- 9) Herter, F. P., Markowitz, A. M. and Feind, C. R. : Cancer chemotherapy by continuous intra-arterial infusion of antimetabolites. Am. J. Surg., 105 : 628, 1963.
- 10) 石川浩一・草間悟：癌細胞世代時間に基づく抗癌剤投与法，最新医学，19：2312，1964。
- 11) 伊藤鉄夫・赤星義彦・米沢広・山室隆夫・田中三郎・渡辺良・田村清・桑名兼光・藤原祐三・漆谷英礼・石田勝正：悪性骨腫瘍に対する制癌剤動脈内投与と腫瘍剔出術，中部整炎誌，7：445，1964。
- 12) 木下雅夫：四肢悪性腫瘍の局所灌流療法に関する実験的研究，信州医誌，16：1060，1967。
- 13) Klopp, C. T., Alford, T. C., Bateman, J., Berry, G. N. and Winship, T. : Fractionated intra-arterial cancer chemotherapy with methyl bis amine hydrochloride. Ann. Surg., 132 : 811, 1950.
- 14) 近藤達平・高橋秀仁・今村達雄・大久保清：制癌剤適応判定法について，癌の臨床，10：17，1964。
- 15) 神前五郎・青木行俊・日下部博：制癌剤主として Endoxan ならびに Mitomycin C の血中および臓器内濃度について，癌・化学療法，p. 73, 1966,

- 医歯薬出版.
- 16) Lawton, R. L. : Cancer chemotherapy of the gastrointestinal tract with reference to intra-arterial infusion and irradiation. *Am. J. Surg.*, **109** : 47, 1965.
  - 17) 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** : 713, 1966.
  - 18) 増田元彦・福田久俊・石川春津・大江浩・入部兼一郎・篠原典夫 : 四肢悪性腫瘍に対する制癌剤動脈内持続注入後の腫瘍細胞変化の光顕ならびに電顕の追跡, *臨床整形外科*, **2** : 365, 1967.
  - 19) 松田晋 : 制癌剤の使い方・代謝拮抗剤による持続的動注療法の実際, *癌・化学療法*, p. 106, 1966, 医歯薬出版.
  - 20) 宮下雷平 : 局所灌流療法の基礎的研究, *信州医誌*, **13** : 548, 1964.
  - 21) 西岡久寿弥・吉田武彦・山本正・竹内富雄・宮沢政栄・西川正夫・衣川満水・石橋幸雄・藤井源七郎・岡田清資・清水健太郎・永井吉造・浅野哲・竹内正七・小林隆 : 人の悪性腫瘍の制癌性ウイルス及び化学療法に対する感受性試験のこころみ, *日本臨床*, **15** : 1937, 1957.
  - 22) Packham, D. A. and Ludman, H. : Practical difficulties of cancer chemotherapy by intra-arterial infusion. *Brit. J. Surg.*, **52** : 577, 1965.
  - 23) Reemtsma, K. : Complications of regional cancer chemotherapy by perfusion and infusion technics. *Am. J. Surg.*, **105** : 645, 1963.
  - 24) Rogers, L. S. : Cancer chemotherapy by intra-arterial infusion. *Cancer*, **17** : 1365, 1964.
  - 25) 佐藤博 : 動物実験における癌化学療法の判定規準, *癌・化学療法*, p. 123, 1966, 医歯薬出版.
  - 26) 柴田大法 : 制癌剤の局所動脈内挿管投与法の肺転移に及ぼす影響に関する実験的研究, *日外宝*, **37** : 503, 1968.
  - 27) 菅野晴夫・青木幹雄・森田豊彦 : 癌の化学療法と組織像, *癌・化学療法*, p. 128, 1966, 医歯薬出版.
  - 28) Straub, P. W., Nelson, J. H. Jr., Marik, L. R. and Burchenal, J. H. : A technique for prolonged continuous intra-arterial infusion in rabbits. *Cancer*, **17** : 831, 1964.
  - 29) Sullivan, R. D., Mescon, H. and Jones, R. Jr. : The effect of intra-arterial nitrogen-mustard therapy on human skin. *Cancer*, **6** : 288, 1953.
  - 30) Sullivan, R. D., Miller, E. and Sikes, M. P. : Antimetabolite-metabolite combination cancer chemotherapy. *Cancer*, **12** : 1248, 1959.
  - 31) Sullivan, R. D., Miller, E., Chrysochoos, T. and Watkins, E. Jr. : The clinical effects of the continuous intravenous and intra-arterial infusion of cancer chemotherapeutic compounds. *Cancer Chemotherapy Rept.*, **16** : 499, 1962.
  - 32) 寺中達夫 : Mitomycin X の抗腫瘍性に関する研究, *大阪市大医誌*, **7** : 272, 1958.
  - 33) Trams, E. G. and Klopp, C. T. : Investigation of the effects of the intra-arterial administration of nitrogen mustard and chlortetracycline on two transplantable rat tumors. *Antibiotics and Chemotherapy*, **5** : 67, 1955.
  - 34) 上村良一・佐々木襄・松村豪晃・沖井洋一 : 制癌剤の局所性投与法, *外科治療*, **12** : 633, 1965.
  - 35) Vogel, A. W. : Intratumoral vascular changes with increased size of a mammary adenocarcinoma : New method and results. *J. Nat. Cancer Inst.*, **34** : 571, 1965.
  - 36) 山形敏一・宇塚善郎・中野昇 : 進行期癌と癌性腹膜炎, *癌・化学療法*, p. 281, 1966, 医歯薬出版.
  - 37) Yoshizumi, M. : Experimental studies on continuous intra-arterial infusion of anti-tumor agents (with special emphasis on histochemical changes), *日外宝*, **35** : 787, 1966.
  - 38) 吉栖正博 : 動脈内挿管投与による Mitomycin C の動態に関する研究, *日外宝*, **36** : 334, 1967.

(昭和43年10月15日 受付)