局所灌流療法の基礎的研究

昭和39年10月17日 受付

信州大学医学部整形外科学教室
(指導：藤本憲司教授)
大学院学生　宮下雷平

Basic Study upon the Partial Perfusion Therapy

Raihei Miyashita
Department of Orthopedic Surgery, Faculty of Medicine,
Shinshu University
(Derector : Prof. Kenji Fujimoto)

第一章　緒　言

悪性腫瘍に対する治療法は，外科的療法，放射線療法および化学療法に大別される。近年，化学療法として抗癌剤の進歩発達は著しいものがあり，悪性腫瘍治療に新しい分野をひらいたといえる。しかし抗癌剤の多くは副作用として造血組織におよぼす障害が高度であるため，大量投与がしばしば不可能となり，充分な効果を期待し得ない現状である。

抗癌剤の副作用防止に関しては多数の研究報告があり，種々の使用方法が考案されているが，いまだ充分満足すべき方法はない。

1950年 Kloop[8][9]らは，抗癌剤の副作用を軽減し，同時に抗癌剤の抗腫瘍効果を高める方法として動脈内注射法を推奨した。1958年 Creech[3]，Ryan[19]らは，この方法をさらに発展させ，人工心肺装置を応用し，薬剤を選択的に罹患局所にのみ灌流し，腫瘍組織に対して高濃度の抗癌剤を反復作用させ，治療効果の増大をはかる方法を考案し，動物実験および，臨床例についての成果を報告した。

本邦においても，この方法は抗癌剤投与の画期的な一新法として取入れられ，1960年佐野[51]らの報告を初めとして多数の報告がみられる。当教室でも，1961年以来，局所灌流療法の装置および手技の改良進歩を目標として研究を重ね，第35回日本整形外科学会総会[27]において，試作改良した四肢悪性腫瘍治療用の体外循環装置を発表し，翌年の総会[28]においては，本装置を用い本法に関する基礎的事項の研究結果を発表した。なお，試作した局所灌流装置の性能ならびに操作法については，藤本[29]らと共著ですでに発表した。

著者は，この研究をさらにおしすすめ，薬剤漏出を最少限にとどめる方法の検索，ならびに抗癌剤による局所および固有循環域の正常組織に対する障害につき検討した。その結果，従来の局所灌流手技に 2，3 の改良を加えることができ，より安全に本法が行ないうるようになつたので報告する。

第二章　文献的考察

局所灌流療法の発展過程を振り返つてみるに，まず1948年 Björk[3]は直視下心臓内手術のため，犬の選択的脳灌流法について詳細な報告をした。1958年 Kloop[8]らは，Nitrogen mustard を動脈内に注射する方法を推奨し，同一量の静脈内投与にくらべ，抗腫瘍効果が強く，逆に正常組織に対する障害は少いと報告した。

Creech[3]，Ryan[19]らは，人工心肺装置を用い腫瘍存在部を一時的に固有循環域から遮断し，薬剤を選択的に局所に灌流することによつて，高濃度の抗癌剤を腫瘍組織に作用させ，治療効果の増大をはかる方法を開拓した。

1958年 Ryan[19]らは，犬を用いた実験の結果，局所灌流療法の利点として，1）全身的副作用を最少限に止めうること，2）局所灌流薬剤量は普通投与薬用量より高濃度にすることができること，3）高酸素圧が維持できること，4）血管を通じて確実なる薬剤の散布をなしうること，5）結合せず残つた薬剤を治療の終りに洗いだしうること，6）長時間にわたつて活性のある抗癌剤は，その作用の持続している間組織に接しさせておくことができ，活性の短かい抗癌剤は，少量ずつ最大耐容量まで繰返し投与しうるなどを報告した。続いて，同年 Creech[3]らは，本法を24例の臨床例に応用し，灌流操作，副作用，灌流効果などにつき詳細な報告を行ない，局所灌流療法は延命効果と症状の改善に役立つ方法であると結論した。

Creech らの報告により局所灌流療法は抗癌剤投与の画期的な方法として注目をあび，以後今日に至るま

で，本療法の灌流手技，効果，さらに副作用に関する実験的ならびに臨床的研究が数多く報告されている。しかし，局所灌流療法は現在なお充分に安全であるとはいえず，いくつか未解決の問題を含んでいる。以下，従来報告された文献について灌流諸条件に関する検討を加える。

灌流装置について，局所灌流用のポンプは Sigma 型①③④⑤⑦⑫⑳㉑⑬㊿，De Bakey 型⑮㉗㉘㉙㉚㉝㉟㊶㊸㊺㊾㊿の二つが主に使われ，酸化装置には，もつぱら気泡型が使われている。灌流に用いる灌流液は，ヘパリン加新鮮血が主に用いられているが，この灌流血液節減㉟の観点より代用灌流液⑬㊾，および装置の小型化などが研究されている。

灌流に先立ち，全身血のヘパリン化が行なわれる。このヘパリンは灌流終了後に硫酸プロタミンによつて中和が行なわれるが，Krementz⑱(1963)らは，血栓形成の危険が増加し，癌の転移率がより高くなるということから中和は行なわない方が良いとの見解を報告した。

灌流中に酸化装置に流される酸素流量については，種々の量が報告されている。河村㉟(1961)らのように，新鮮血を用いれば，30分位の四肢局所灌流療法には酸素の供給は不必要との報告もみるが，酸化は抗癌剤の活性度増加の要因として，また正常状態維持のために必要であるとの見解が大方の意見であり，酸素飽和度については一致した見解がみられていない現状である。この酸化に使用する酸素は，100％の酸素を用いるよりも5％の炭酸ガスを混入したものを用いた方が，乳酸や他の老廃物蓄積が少ないと報告⑬㊶されている。

灌流液温については，常温灌流が広く用いられているが，副作用防止の点より，Shingleton⑳(1960)，Rochlin⑰(1961)らは，固有循環域を低体温にし，局所灌流域は常温で灌流するのが理想的であると論じている。

局所灌流療法において，最も重要な問題である漏出を左右する因子として，止血帯の有無，送血量，灌流時間，灌流圧，薬剤投与法などがあげられる。送血量については，漏出，薬剤効果，正常状態維持などの観点より，高流量使用者③⑩⑬㊿㊾㊿㊿㊿㊸と低流量使用者①㉘㉙㊴㊷の二つの見解があり，まだ一致した結論がでていない。灌流時間については，30～60分灌流を行なつているものが大部分であるが，この灌流時間についても，漏出の多少，薬剤の性質などにより適宜に時間をかえる必要があるとの見解が多く，薬剤投与法と関連した研究報告も多数みられる。止血方法は，Creech らの報告以来，種々工夫されている。下肢止血法の一つとして，膝窩動静脈灌流の場合は，大腿部に容易に止血帯を装着することができるため，ほとんど完全な止血が得られるが，股動静脈灌流の場合は止血帯の装着が困難であり，また，ずれやすいため腰バンド付空気止血帯㊶，二重止血法㉘㉙などが考案され，比較的安全な止血法と報告されているものの，充分満足すべき方法ではない。さらに上肢灌流においては，Creech，Stehlin，その他③④⑦⑬⑮⑳㉒㉓㉛㉝㊼㊿㊿の方法が発表されているが，その止血効果はきわめて不充分であり，安全な止血法はないといつても過言ではない。

漏出した薬剤の測定には，指標として Creech③(1958)らは Evans blue を使用していたが，1960年 Shingleton⑳，Stehlin㉑㉒らは Isotope を指標として取入れた。測定方法は，現在なおサンプリング法が広く行なわれているが，Stehlin (1960年)，伊藤(1963) らは，Continuous monitoring の方法を導入し，術中常に漏出状態を知ることにより患者管理をより安全なものとした。

灌流局所の正常組織に対する障害に関係する因子として，送血量，灌流圧，酸素流量，薬剤投与法，薬剤濃度などがあげられる。抗癌剤の最大投与可能量を決定し，灌流効果増大をはかるため，正常組織障害度と抗癌剤の投与量との関係を追求することは重要な問題である。この点については，砂田㊼(1961)らの詳細な研究報告をはじめとして，数多く報告されている。

洗浄灌流は，局所に残存している薬剤および腫瘍組織の破壊，その他の反応によつて生じた有害産物を洗いだすために重要なものとされ，Creech④(1959) らは洗浄によつて，造血機能の障害を最少限になしうると報告した。

副作用に関する報告は，臨床例で観察されたものが主である。Krementz⑫(1962)，Reemtsma⑯(1963)らは，四肢のみならず，肺，脳，骨盤などに局所灌流療法を行ない，観察された合併症を，手術によるもの，灌流によるもの，抗癌剤によるものの三群にわけ，詳細な報告をしている。四肢局所灌流療法の場合の全身的副作用は，漏出した抗癌剤による造血機能の障害が一番問題とされている。本邦においては，砂田㊼，白羽㊿，坂内㊾，三木㊶らはこの造血機能障害を末梢血液像の段階でとらえ，特に変化の著しいものとして，白血球数の変化を追究している。このほか全身的副作用としては，発熱，悪心，嘔吐，食欲不振などが報告されている。局所的副作用としては，灌流肢の一過性の浮腫，静脈血栓，手術創治癒の遷延，紅斑，

水疱形成などがあげられている。

灌流効果については，1958年 Creech③らは，延命効果と症状の改善に役立つ方法であると報告し，1962年 Yates㉕は，ラットの実験結果より，灌流療法は腫瘍の成長を阻害するが，動物の生存期間を延ばすことはないと報告した。しかし，多くの報告者は，局所灌流療法を外科的治療の補助手段として優れた方法であると評価している。

第三章　研究目的

前章で述べたごとく，局所灌流療法に関する研究は米国ならびにわが国でかなり広く行なわれているが，灌流手技，効果ならびに副作用に関する実験的あるいは臨床的知見について未解決の問題が少なくない。

例えば，局所灌流装置も各種のものが発表されているが，それぞれ，その性能に一長一短があり，とくに従来は，心臓外科領域で開発された装置そのものを局所灌流に転用しているものが多く，満足すべきものではなかつた。われわれは，さきに四肢の局所灌流用として特に試作した装置を発表したが，この装置を実際に操作して行なつた実験結果の詳細についてはまだ発表していない。そこで，著者は，この装置を用いての局所灌流操作法について種々検討を加えた。

局所灌流療法の最も重要な問題は，使用薬剤の固有循環域への漏出である。しかし，実際に全身の副作用を問題とする場合には，固有循環域への漏出よりも，灌流局所を含めた個体内にどの程度の使用薬剤が残つているかが問題となる。この点に関して，従来は固有循環域への漏出のみを取りあげており，灌流局所への残存薬剤量に関しての研究報告は見当らない。また所定の灌流時間終了後に行なわれる洗浄についても，洗浄によつてどの程度の薬剤が洗いだされるかについての報告は，わずかに Lawrence⑭(1961) らの報告をみるのみである。著者は，この個体内残留量をより少くし，また洗浄効果をあげうる方法を検索した。

漏出に直接関係する要因である止血方法については，前述のように，膝窩動静脈灌流の場合を除いては，従来報告されている止血方法はすべて充分に有効であるとはいえない。そこで止血方法についての改良を行ない，とくに上肢灌流および股動静脈灌流の場合にも充分有効に使用しうる方法を検索した。

灌流域正常組織に対する障害の問題については，砂田㊼らの報告があるが，全身的障害とあわせて行なつた研究報告は少ない。著者は，局所灌流を行なつた場合に，固有循環域の各臓器ならびに灌流域正常組織のこうむる障害を同時に検索し，あわせて投与可能な薬用量を検討した。

第四章　灌流方法の改善に関する検討

第一節　灌流装置

灌流装置は図1に示すとおりである。その性能に関しては，すでに詳細に報告㉙してあるので，その概要を述べるにとどめる。

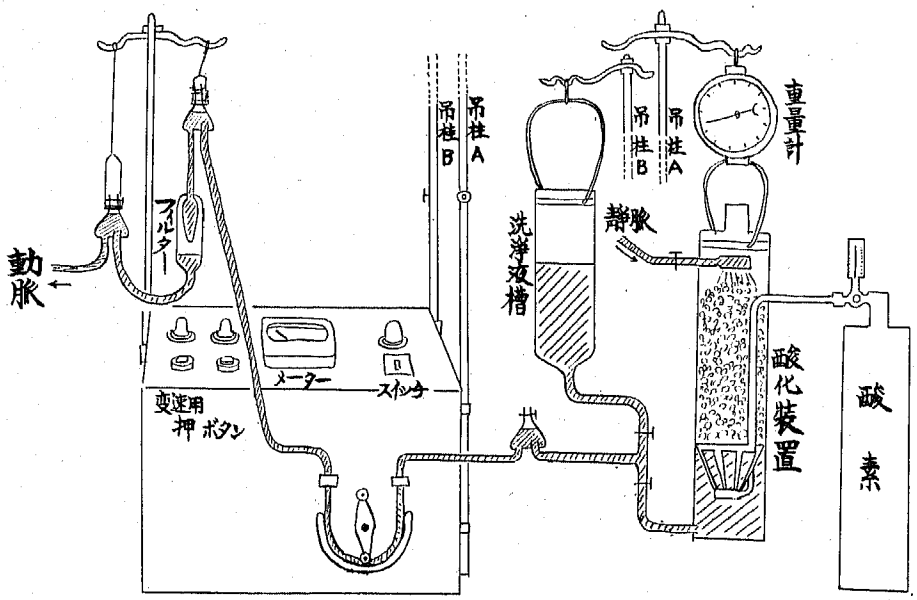

図 1　　局所灌流装置模式図

血液駆動部分は，2翼の駆動桿よりなるDe Bakey型で，この駆動桿を動かすモーターは押ボタンにより，容易かつ平滑に2～50回転/秒の範囲の変速が可能である。酸化装置はWaud-Salisbury[2]の気泡型酸化装置と同じ原理のもので，95%の酸素飽和度をうるに要する酸素流量は，大体血流量と同じ量か，それ以下の量で充分である。また送脱血のバランスの良・不良は，酸化装置を吊り下げてある精度5gの重量計によつて容易に知ることができる。

酸化装置は200倍の逆性石けん液により滅菌を行ない，血液回路は駆動部ゴム管を含めて一括し，130°C 30分のオートクレーブ滅菌をほどこしたものをキットとして保存し，いつでも使用できるようにしてある。

第二節　実験動物と灌流操作

局所灌流実験には，10kg以上（平均12.2kg）の雑種成犬を用いた。

前記の灌流装置を組立てた後，5%ブドウ糖液で試験運転を行ない，全回路の気泡を放出した後，このブドウ糖液を血液で置換する。この血液は，あらかじめ7～8kgの雑犬より採血したもので，血液100ccに対し，5%ブドウ糖10ccとヘパリン4mgを含み，同時に所定の抗癌剤および漏出量測定のための指標を混入したものである。

実験犬の麻酔はミンタール30mg/kgの割合で筋肉注射で行ない，全身血のヘパリン化は15mg/kgの割合で静脈注射を行なつた。灌流肢は原則として右後肢を選び，鼠径部を剃毛し皮膚消毒をして股動静脈を露出した。動静脈はともに幅約5mmの綿テープにより確保し，この綿テープの両端を，内径3～4mm，長さ約10mmのビニール管の中を通し，血管を緊迫し，ビニール管をクレンメではさんで血流を遮断した。血管露出後，止血帯をかけ，灌流肢を固有循環域より遮断してからカニューレの挿入を行なつた。

灌流中は重量計によつて，送脱血のバランスに注意を払いながら送血量40～200cc/min，酸素流量50～100cc/minで30～40分間の灌流を行なつた。30～40分の薬剤灌流後，5%ブドウ糖液，またはモリアミン液500～1000ccで20分間洗浄灌流を行なつた。灌流終了後はカニューレを抜去し，血管縫合を行ない，血流が充分に回復したことを確認してから，皮膚縫合を行なつた。

第三節　薬剤濃度比，個体内残留率，洗浄率の定義と測定方法

第一項　薬剤濃度比

局所灌流において，灌流局所の薬剤がどの程度固有循環域に漏出したかを知ることは重要である。しかし，サンプリング法で真の漏出率を測定するには，局所灌流域と固有循環域の血液量が正確にわからなければ計算できない。しかし，局所灌流中，固有循環域と局所循環域との間の血流は完全に遮断されることはなく，また輸血，輸液などが行なわれているので，この両域の血液量を継時的に正確に測定することは困難である。しかし，局所循環血中の薬剤濃度と固有循環血中の薬剤濃度との比がわかれば，使用薬剤量より漏出薬剤量の概量を知ることはできる。そこで局所循環血1cc中の薬剤濃度に対する固有循環血1cc中の薬剤濃度の比を薬剤濃度比と定義した。また局所循環血中の薬剤濃度が継時的に稀釈されてゆく過程を端的に知るために，灌流前の薬剤量を基準として，各時間の薬剤濃度を稀釈率で算出した。これらを計算式で表わすと次のようになる。

$$\text{薬剤濃度比}=\frac{\text{固有循環血 1cc の c. p. m.}}{\text{局所循環血 1cc の c. p. m.}}\times 100$$

$$\text{稀釈率}=\frac{\text{灌流経過中の血液 1cc の c. p. m.}}{\text{灌流開始前の灌流用血液 1cc の c. p. m.}}\times 100$$

第二項　個体内残留率

局所灌流療法で実際に全身的副作用を問題とするとき，灌流局所を含めたその個体内に，どの程度の薬剤が残留しているかを知ることが大切である。そこで，使用した薬剤全量に対する個体内残存薬剤量の比を個体内残留率と定義した。これを計算式で表わすと次のごとくなる。

$$\text{個体内残留率}=\frac{\text{使用した全量}-\text{回収した量}}{\text{使用した全量}}\times 100$$

第三項　洗浄率

洗浄灌流により，薬剤がどの程度洗いだされるか，この洗浄灌流の効果を知るため，洗浄灌流開始時，局所灌流回路中にある全薬剤量に対し，洗いだされた全薬剤量の比を洗浄率と定義した。これを計算式で表わすと次のごとくなる。

$$\text{洗浄率}=\frac{\text{洗浄灌流により回収した量}}{\text{洗浄灌流開始直前の個体内残留量}}\times 100$$

実際の測定にあたつては，洗浄灌流開始以後の静脈血は別の容器に貯留させる。その血液中の薬剤量が洗浄灌流により回収した量である。また洗浄灌流開始とともに遮断され，洗浄灌流回路外に取り残された血液，すなわち，酸化装置と貯血槽をかねた装置内の血液中の薬剤量を測定し，その値を使用した全薬剤量からひいた差を洗浄灌流開始直前の個体内残留量とした。

第四項　測定方法

以上薬剤濃度比，個体内残留率，洗浄率の測定のた

め，指標として RISA，P^{32}-labelled Tespamin を用いた。

試料採取法として，局所側の対照は，採血した血液500cc 中に所定の抗癌剤および指標を入れ，良く混和した後，その 1cc を取り対照とした。また局所側の各時間の試料は，静脈側カニューレの側枝より 1cc ずつ採血して測定した。Back ground を正確に測定するため，固有循環域の対照として，灌流開始前に前肢の静脈より 1cc の血液を採血し測定し，各時間の試料も同じ前肢静脈より 1cc ずつ採血し測定した。

測定装置は，RISA を用いた場合には Scintillation counter を用い，いずれも5分計測を行ない，各試料の c. p. m. を算出した。また P^{32}-labelled Tespamin の場合には，G. M. counter を用い，いずれも5分計測で各試料の c. p. m. を算出した。

第四節　止血方法

固有循環域より灌流局所を遮断する手段である止血法は，四肢局所灌流では下肢止血法と上肢止血法に大別できる。つぎに，この両止血法につき，著者らが用いて来た方法をその発展段階にしたがつて述べる。

下肢止血法には，図2のように4つの方法を用いた。単一止血法（図2のⅠ）は，本研究開始当時の数例に行なつたもので，単に大腿部に止血帯をまきつけて止血する方法で，下腿の手術などで一般に広く行なわれている方法である。しかしこの方法では，止血帯がずれやすく，そのためカニューレを圧迫し，脱血が阻害され，送脱血のバランスを保つことが困難であり，かつ完全な遮断がえられない欠点があつた。骨盤釘止血法（図2のⅡ）は，腸骨櫛にねじ釘または Steinman pin を打ちこみ，これに止血帯をかけて止血帯のずれを防ぐ方法で，Creech[3](1958)，Krementz[10](1959)，Stehlin[21](1960) ら多くの人々[4][5][7][13][18][19][20][22][23]によつて行なわれた方法であるが，腸骨櫛に打ちこんだねじ釘が抜けやすく，また止血帯が大腿部に直角に作用しないためか，完全な遮断が得られなかつた。二重止血法（図2のⅢ）は，上記の2方法の欠点を除くために著者らが考案した方法である。これは，腹部につけた止血帯の一端と，大腿部の止血帯の一端とを結合し，止血帯のずれを防ぐとともに，腹部に 300mmHg，大腿部に 600mmHg の圧をかけて，腹部でもある程度の止血を行ない，止血効果の増加をねらつたものである。この方法による結果は，第36回日本整形外科学会総会[28]および，藤本[29]らと共著ですでに発表したごとく，低流量ではかなり完全な止血効果をあげえたが，高流量ではバランスがくずれやすく，漏出が多くなる欠点があつた。

分割止血法（図2のⅣ）は，二重止血法に代る方法として，著者らが1963年に開拓したものである。この止血方法は，鼠径部直下で大腿の前内側から大腿骨の前面あるいは後面を通つて，大腿後外側にぬける線で大腿中枢部を二分し，主として大腿四頭筋を含む前外側部と内転筋群，屈筋群および坐骨神経を含む後内側部を，それぞれ独立に緊縛する方法である。この場合，カニューレを挿入する股動静脈は，止血バンドよ

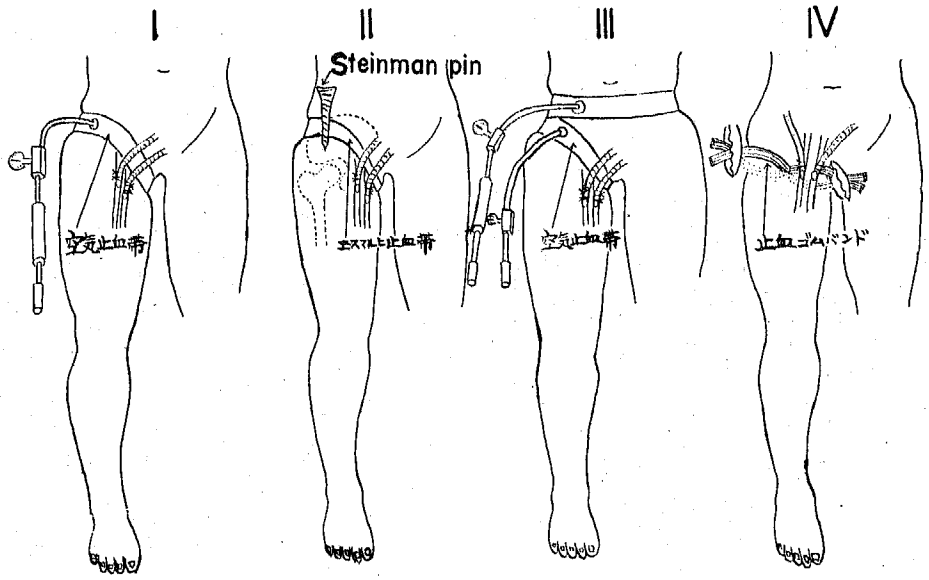

図 2　　当教室で用いた下肢止血法

り除外して遮断を行なうもので，カニューレ挿入部より中枢で，独自にテープをかけて遮断する。

上肢止血法についても多くの試みが報告されているが，著者らが実験したのは次の3方法である。図3のⅠは，多くの報告者が行なつている方法で，カニューレを挿入してある血管と，術野にみられる血管分枝のみを結紮する方法である。したがつて副血行路よりの漏出はさけられず，止血効果は不充分であつた。図3のⅡは Stehlin[21](1960) が発表した方法で，鎖骨下動静脈より腋窩動静脈に向け，硬いカニューレを挿入し，カニューレの上より止血帯をかけ圧迫する方法である。この方法の欠点は，カニューレが屈曲しやすいこと，カニューレの上より圧迫するため，圧迫力に制限があることで，完全な遮断を得ることは困難であつた。図3のⅢは，分割止血法を上肢に応用した図で，腋窩を通る神経および血管を分離し，上腕中枢部を二分して緊縛する方法である。動物実験および屍体実験より，本法は下肢における分割止血法と同様に，有効な止血効果が得られる見通しがついたが，現在までのところ，上肢灌流の症例が少なく，臨床応用例の結果は出すに至つていない。

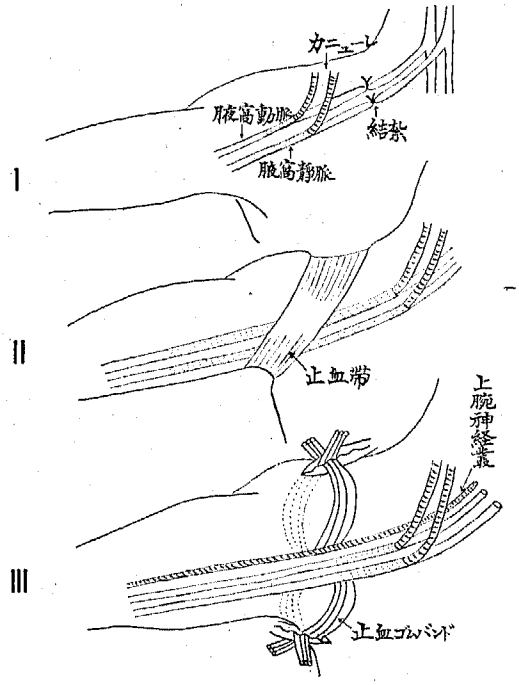

図 3　　当教室で用いた上肢止血法

第五節　考　　按

心臓外科で用いている人工心肺ポンプは，弥政[61](1959) によると Dale Schuster 型，De Bakey 型，Sigma 型，Vanton 型の4型がある。このうち局所灌流用ポンプには，Sigma 型，De Bakey 型が主に使用されている。McCaughan[15](1958)，はこの両型のポンプによる溶血の比較研究を行ない，閉鎖性 De Bakey 型に比し，Sigma 型は溶血を起しやすいと報告した。著者らの用いた装置は De Bakey 型であり，この装置による犬の後肢灌流での溶血度は少なく，溶血による副作用は認められなかつた。

酸化装置も，砂田[49](1959)らの分類によると，透析膜型，気泡型，フイルム型の3型がある。局所灌流用としては，装置が簡単で安価であるためか，もつぱら気泡型が用いられている。この気泡型には，さらにDe Wall 型，Colley 型，Waud-Salisbury 型，Foregger 型などがある。著者らの用いた装置は，Waud-Salisbury 型の気泡型酸化装置と同じ原理のもので，少量の酸素流量で充分な酸素添加量が得られるため，酸素の噴出で血球破壊を起すことは少ない。また本装置は，貯血槽をもかねたものであり，この酸化装置を重量計につるし，重量計の指針の変化によつて送脱血のバランスが容易にわかるようにしてある。本装置は操作が容易であり，四肢局所灌流用体外循環装置として，小型でかつ充分な性能をそなえたものといえよう。

局所灌流療法では，灌流域の組織をできるだけ正常に近い状態に維持することが望ましい。そのためには，灌流液に新鮮血を用いるのが理想的であるが，保存血でも副作用なく灌流できれば，採血のわずらわしさが避けられる。卜部[62](1959)は，全身体外循環における血液の変化を研究するため，新鮮血輸血，保存血輸血および体外循環後，それぞれ出血時間，プロトロンビン時間，トロンボプラスチン形成試験，フイブリノーゲン量，線維素溶解現象などを測定した結果，体外循環には充分な量の新鮮血の準備が肝要であると報告した。

著者らもヘパリン加新鮮血を使用したが，出血傾向など，灌流血液による障害と思われるものは経験しなかつた。しかしこの新鮮血は，採血の煩雑さと価格の点で問題があり，心臓外科用の灌流装置を転用したものでは，容量が大きいので，血液も大量を必要とする。したがつて，新鮮血節減のため，装置の小型化，代用灌流液など種々工夫されている。著者らもこの点につき研究した結果，前述のような装置の小型化に成功した。本装置の容量は従来報告されているどの装置のそれよりも少ない。また代用灌流液については，Krementz[13](1963)らが，デキストラン，生食液，グルコース，血漿などを用いて研究した結果，これらの

灌流液は全血に比し，著明な浮腫や灌流域の組織障害を起しやすく，血液に代る灌流液は見当らないと報告したが，坂内[54](1964)らは，同じ目的で，代用血液，あるいは5%ブドウ糖液を用い，満足すべき結果を得たと報告した。著者は，この代用灌流液の検索は特に行なわなかつたが，洗浄灌流で用いた5%ブドウ糖液，またはモリアミンは，全血に比し灌流肢の浮腫を生じやすいことを経験した。したがつて，これらを代用灌流液として用いることは困難であると考える。

血液が体外に誘導され，酸化装置や回路など異物に接するために起る凝血や血栓形成などを防ぐため，ヘパリンが用いられるが，ヘパリンの量が多過ぎると逆に出血傾向などの危険も考えられる。そのため適当なヘパリンの量を知ることは大切なことである。多くの報告者[7][13][23][39][50][51]は全身血のヘパリン化には 1.5～2.0mg/kg のヘパリンを使用し，局所灌流に使用する血液100cc中にヘパリン5mgを加えると報告している。著者らは，全身血のヘパリン化は 1.5mg/kg の割合で行ない，採血した新鮮血には4mg/100cc の割合でヘパリンを混入して灌流を行ない，何等の障害もなく充分に灌流を行なうことができた。

1961年 Creech[7]らは，酸化装置は灌流域組織に適当な酸素を供給することと，組織酸素圧を上昇させるために必要であると報告した。この酸化装置に送る酸素流量は，種々の量が報告されている。Creech[7](1961)，Rochlin[17](1961)，Krementz[13](1963)らは，1) アルキル化剤は作用時 Radiomimetic であるので，組織酸素圧の上昇は，抗癌剤の効果をますこと，2) 灌流域組織を正常状態に保つため，適当な酸素供給が必要であることなどを報告し，佐野[52](1961)らは，組織酸素圧と抗癌剤活性度の関係を研究し，Mitomycin では，酸素張力が低い方が作用が強く，Tespamin では，その作用力は酸素張力に関係しないと報告した。酸素による灌流液の変化につき，Creech[7](1961)，Krementz[13](1963) らは，100% の酸素を使うと灌流域の炭酸ガスが除かれ，pH が上昇し，低炭酸血となり，乳酸や他の老廃物が蓄積するので，5% の炭酸ガスを混入することを推奨した。著者は，犬の後肢の場合，50～100cc/min の酸素流量で灌流し，充分な酸化を得ることができ，特に薬剤によつて酸素流量をかえることは行なわなかつた。

灌流液の温度について，Krementz[13]らは，はじめ高温灌流を推奨していたが，後に，高温灌流は薬剤活性度が上昇する一方，局所組織の障害が増加するなどの理由から高温灌流を否定したが，1) 灌流液が冷いと血管収縮が起るので目的域の灌流量が減じること，2) Nitrogen mustard のようなアルキル化剤の活性度は温度が10度上昇あるいは下降することによつて，それぞれ倍加あるいは半減するなどの理由から常温灌流を推奨している。Ausman[1](1961)も，犬の実験結果より常温灌流を推奨し，そのほか，Shingleton[20](1960) は38°～40°C，Yates[25](1962) は35°～45°C，白羽[60](1962) は 38°～39°C で灌流を行なつていると報告した。Shingleton[20](1960)，Rochlin[17](1961) らは，温度が上昇するとアルキル化剤は組織に着きやすくなるので，固有循環域は冷却し，逆に局所循環域の温度は上昇させて病巣への薬剤吸着を促進してやるのが理想的な方法であると報告し，藤森[31](1963)，東[35](1962)らも同じ見解を述べている。

Ausman[1](1961)は，生理的機能障害を最少にし，Nitrogen mustard の組織吸着を最大にする灌流条件を検索する目的で，犬の後肢で実験を行ない，低流量，常温灌流，70%の酸素飽和度，パパベリンなどの末梢神経遮断剤の添加の4つの条件が有効であると報告した。このように灌流手技については，いろいろな試みが行なわれているが，基本的な事項は，1) 灌流局所の組織をできるだけ正常状態に近く維持するため，送血量，酸素添加量，灌流液温などを調節すること，2) 薬剤効果をなるべく増加するため，酸素添加量，灌流液温などを薬剤活性度に応じ変化させ，さらには末梢血管拡張剤などの添加によつて，できるだけ充分に薬剤を腫瘍組織中に散布すること，3) 固有循環域の副作用をできるだけ最少限におさえること，などである。著者らの灌流手技も，この基本的事項にしたがい，かつ，その簡便化をはかつたものである。局所灌流の臨床的応用に際しては，その手技が簡便であることもきわめて重要である。次にのべる止血法の改善と相まつて，著者らは局所灌流手技を簡便でかつ安全なものとなしえたと信ずる。

局所灌流療法の最も重要問題は，局所灌流に使用する薬剤が多少とも固有循環域へ漏出することである。この薬剤の漏出を極力少くすることは，局所灌流の最大の利点である全身的副作用の防止に直結する問題であるので，数多くの論議が発表されている。まず漏出に関係する一番大きな因子である止血法を，下肢止血法，上肢止血法の2つに分けて考えてみる。

下肢止血法については，1958年 Creech[3]らは腸骨に Steinman pin を打ちこみ，この pin によつて止血帯を適当な位置に保持することを考えた。しかし，この方法では，充分な遮断はえられない。Stehlin[21](1960) らは，この止血法を用い，灌流々量 100～125 cc/min，60分灌流で漏出率10～20%と報告している。

この方法は，多くの報告者⑤⑩⑱⑲㉒㉓が採用している方法であり，著者らも，この方法を実験開始当時2～3例に用いてみたが，pin が抜けやすく，また止血帯が大腿部に対し，斜めに装着されるので止血効果が悪く，充分な遮断は得られなかつた。1961年 Creech⑦らは，図4のⅠのように，鼠径部で止血して，low femoral の level でT字型のカテーテルを使用し，high femoral perfusion と同じ効果をあげる方法を報告した。著者らは，腹部にもう一本の止血帯を装着し，これに下肢に装着した止血帯を連結し，止血帯のずれを防ぐとともに，腹部にも止血の役目をある程度おわせる方法を考案し，二重止血法と命名し発表した。また三木㊶(1964)らは，二重止血法と同じ原理である腰バンド付空気止血法を発表した。

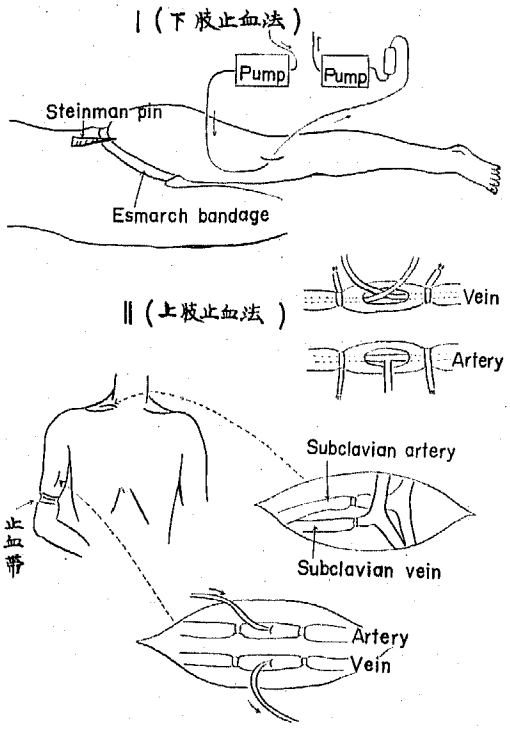

図 4　1961年 Creech が発表した止血方法

以上のべた止血帯の共通の欠点としては，止血帯のずれによるカニューレの圧迫が主な原因であり，また止血帯が大腿部に直角に作用しない点にあると思われる。これらの原因を取り除いた方法が分割止血法である。したがつて，この分割止血法の特長としては，1) 止血帯が大腿中央部を貫通して装着されるため，止血帯のずれは起らない。2) 圧迫力が軟部組織に対して常に直角に作用するため，また軟部組織を二分して止血するので圧迫効率が良い。3) 止血帯はカニューレを挿入する血管の下側を通し，止血帯中に血管を含まないためカニューレ挿入の操作が極めて容易であり，また止血帯装着の操作も容易である，などであるが，一方欠点として軟部組織損傷が多少とも避けられない点があげられる。この分割止血法を実際に犬後肢灌流に応用し，実験した結果，1) ほとんど完全に近い遮断を得ることができた。2) カニューレ圧迫の障害がなく，バランスがくずれることはなかつた。3) 高流量灌流でも漏出は少く，洗浄灌流で流量をあげることができ，同一時間内で低流量の4～5倍の能率で洗浄が可能となつた。このことより，分割止血法はきわめて有効な止血法と考える。

上肢止血法については，1958年 Creech⑧らはカニューレを挿入した動静脈，およびこの血管分枝を中枢側で結紮し，止血する方法を報告した。現在なお，この方法は多くの実験者によつて使われているが，充分な遮断は得られないと報告されている。Stehlin㉑(1960)は硬いカニューレを鎖骨下動静脈より腋窩動脈まで挿入し，カニューレの上より止血帯をかける方法を考案し，実際に応用した結果，カニューレの先端が三角筋附着部より末梢にある low axillar perfusion では漏出はないが，カニューレの先端が三角筋附着部より中枢にある high axillar perfusion では漏出はほとんど防ぎ得なかつたと述べている。著者もこの止血法を臨床例に用いてみたが，カニューレ自身が止血帯圧迫部または挿入部で屈曲したり，カニューレ上に止血帯がかかつているため，止血帯の圧迫力を制限しなければならず，遮断は非常に不充分なものとなつた。このため，バランスがくずれやすく，灌流を途中で中止しなければならなかつた。1961年 Creech⑦らは，上肢止血法として図4のⅡのように，鎖骨下動静脈をその中枢端で結紮し，腋窩動静脈に上腕末梢端より逆に中枢側に向うように，カニューレを挿入し，肘関節部に止血帯をかけて灌流する方法を行ない，送血量 100～150cc/min，60～90分灌流で漏出は1～10%と報告した。そのほか，Stehlin㉓(1963)は Esmarch を使い，Rochlin⑱(1963)は Steinman pin を1本は肩甲骨に，1本は鎖骨の末梢端より胸鎖関節にかけて打ちこみ，止血帯をこの pin にかけて止血帯のずれを防ぎ止血を行なつている。本邦においても，Esmarch による方法，あるいはカニューレを挿入した血管のみをその中枢部で結紮する方法が多くとられている。しかし上肢の場合完全な止血法はなく，坂内㊸(1962)らは上肢では Esmarch はかけにくいと述べ，三木㊶(1964)らは鎖骨下および腋窩灌流では，止

血帯の装着が不可能なため遮断が困難で，薬剤漏出も大となると報告している。われわれは犬の実験において，分割止血法を上肢灌流に応用し，上述の種々の難点を解決し得ることを確認した。さらに屍体における検索結果から，人体の上肢についても，腋窩を走る神経および血管を分離して止血帯を通すことが解剖学的に容易であることを確かめた。現在までのところ上肢に対する分割止血法の臨床応用の機会がえられていないが，分割止血法は上肢灌流にも有効な方法と考えられるので，臨床応用の結果を確かめた上でいずれ発表したい。

薬剤の漏出量測定には，Creech③(1958)らは Evans blue を指標として使用していたが，1961年彼等⑦は，この指標による測定は，測定誤差が大きいと報告した。1960年 Shingleton⑳らは，I^{131}を指標として犬を用い実験し，同年 Stehlin㉒らは，1) 取扱いが容易なこと，2) 測定に長時間かからないこと，などの理由から RISA を指標として局所灌流における漏出の問題を検討している。著者らは，宮村㊵㊷らが報告している Mitomycin の生物学的定量法も追試してみたが，Isotope による測定と比較し，測定法が繁雑なだけでなく，測定原理が Mitomycin の抗菌力を利用したものであるため，術前，術後に用いる抗生物質の影響なども加わり，誤差が大きかつた。そこで主として RISA および P^{32}-labelled Tespamin を用いて実験した。

Stehlin㉒らは固有循環血 1cc あたりの c. p. m. を測定し，漏出量は次式により計算している。

$$\text{Leakage factor (\%)} = \frac{\text{c. p. m.}/m\ell\ \text{blood} \times m\ell\ \text{blood in patient and pump}}{\text{c. p. m. injected}} \times 100$$

この計算式中で固有循環血液量として，体重 1kg あたり 69mℓ という推定量を用いている。またこの計算式で測定誤差が生じる理由を，1) 血液量推定の誤差が大きいこと，2) 灌流中に血液量の変化があること，3) 血管外へ少量の RISA が移行すること，4) 全身血中と灌流血中のヘマトクリット値の小さな差があることなどをあげたが，累積的誤差は20%以下であり，RISA を指標として計算した漏出量は，抗癌剤の漏出量と，ほとんど近似の値を示すと報告した。同年彼等㉑は，サンプリング法によつて灌流終了後に漏出量が判明するのでは，術中患者管理の意味が少いので，external scintillation probe, rate meter, rectilinear recorder からなる装置を用いて，術中常に Leakage factor を知り得るよう continuous monitoring を行なつていると報告した。

1961年 Lawrence ら⑭は，指標として Na^{24}, K^{42}, RISA, Cr^{51}-tagged red blood cells などを使用し，骨盤灌流における漏出の諸問題を検討している。彼等は，perfusion (c. p. m./cc)/systemic (c. p. m./cc) を濃縮率とし，また 1) 灌流回路の内外への移動は比較的一定の割合で起ること，2) 個々の灌流回路の量は，灌流過程を通じ一定であること，の2つの仮定のもとに次の計算式を用いている。

$$\text{\% leakage } Cr^{51}\text{-tagged R. B. C.} = \frac{\text{c. p. m/cc R. B. C. (time t)} \times \text{volume systemic circuit RCM}}{\text{total c. p. m. } (Cr^{51}) \text{ injected into perfusion circuit}} \times 100$$

しかし，上記2つの仮定は実験的に正確でないことは明らかであると述べ，測定誤差の生じる理由として，異なつた抗癌剤の拡散量の差，細胞内外の比較的の濃度差，物質代謝の速度の差，抗癌剤の腎排泄量の差などをあげているが，藤森㉜らも同じ見解を報告している。

サンプリング法で漏出率を正確に計算する場合には，局所灌流域と固有循環域の血液量を正確に測定しなければならないが，前述のごとく，術中に循環血液量の変動が常に起つているので，Stehlin や Lawrence の方式で薬剤漏出量を算出すると，その誤差は非常に大きいと考えられる。そこで著者は，Lawrence の濃縮比と同じく，灌流局所と固有循環域の薬剤濃度比を測定した。さらに次に述べる個体内残留量とあわせて検討し，これらによつて薬剤の全身的副作用を追求した。

実際に抗癌剤による副作用を問題とするときには，灌流局所を含めたその個体内にどの程度の薬剤が残つているかを知ることが大切である。この点についての文献的報告は見当らないが，著者は，前述のように個体内残留率を定義した。この計算式で個体内残留量に含まれるものに，装置内に附着して回収できなかつた薬剤量も含まれるので，真の個体内残留率は，この計算式でえられた価よりも少く，副作用防止の観点からは充分に使用しうるものである。

Creech④(1959)らが，灌流終了後に局所の薬剤を洗い流すことによつて，造血機能の障害を最少限にしうると述べているが，著者らは，これを洗浄灌流と名付け，洗浄灌流によつて洗い出される薬剤量を前述のごとき洗浄率によつて測定した。従来，洗浄灌流の効果に関する報告は少く，Lawrence⑭(1961)らは，1000ccのデキストランで洗いだされるものは，細胞外薬剤よりも血管内薬剤の方が多いと述べている。著者

らも，最近は，漏出量測定に Stehlin の Continuous monitoring を併用しているが，判断を即時的に下しうる点は確かにすぐれている。しかしサンプリング法でも，計数装置を局所灌流を行なつているすぐ近くにおけば，数分以内に薬剤濃度比を決定することができる。本研究においては，全身的副作用を起すことなく，局所灌流に使用しうる薬剤の最大投与量を知る目的で，とくに個体内残留率と洗浄率を追求した。

第六節　小　括

1) 当教室で小型化および操作の簡易化をめざして試作した四肢局所灌流用体外循環装置を用い，犬後肢で，局所灌流療法の基礎的研究，特に全身の副作用に直結する薬剤の漏出に関する問題として，薬剤濃度比，個体内残留率，洗浄率を定義し実験を行なつた。

2) 止血方法は，新しい方法を考案し，分割止血法と名付けた。この方法を下肢灌流療法に実際に応用した結果，ほとんど完全に近い遮断が得られ，灌流のバランスも非常に取りやすく，本法は優秀な止血法と考えられる。

第五章　漏出に関する研究

第一節　実験方法

薬剤の漏出は種々の因子によつて左右されるが，ここでは止血方法と送血量を検討するため，次の各群につき実験し，薬剤濃度比，個体内残留率，洗浄率を追究した。

第一群：RISA を指標として実験したもの

A）二重止血，低流量灌流群　(15頭)

B）分割止血，低流量灌流群　(4頭)

C）分割止血，高流量灌流群　(5頭)

第二群：P^{32}-labelled Tespamin を指標として実験したもの

A）二重止血，低流量灌流群　(6頭)

B）分割止血，低流量灌流群　(4頭)

C）分割止血，高流量灌流群　(5頭)

ここで，低流量灌流とは，100cc/min 以下で灌流することをいい，高流量灌流とは，100cc/min 以上で灌流することを意味する。

第二節　実験成績

（I）灌流経過

1) RISA を指標としたもの（図5，6，7）

固有循環血中への薬剤の漏出は，薬剤濃度比で表した。薬剤漏出は，二重止血，低流量の場合，図5のごとく灌流全経過を通じ，9％以下の値が大部分であるが，2例で灌流後40分にそれぞれ23％，27％の高い漏出を示した例がみられた。しかし，分割止血法では，低流量（図6），高流量（図7）とも，12％が最高の値で，大体10％以下の安定した値がえられた。

局所灌流血中の薬剤濃度は，稀釈率で表した。これによると，局所灌流血中の薬剤濃度は，灌流開始後10分で，3群ともに急激な下降を示す例がみられ，減少率は4％から60％の範囲である。しかし，10分以後はゆるい下降線をたどり，灌流後40分で最低33％，最高84％の薬剤濃度を保持していた。

洗浄灌流開始後10分で灌流血中の薬剤濃度は急激に下降し，20分後には，二重止血，低流量で3％以下，分割止血法では，低流量，高流量とも1％以下の値を示した。

2) P^{32}-labelled Tespamin を指標としたもの（図8，9，10）

固有循環血中への薬剤漏出は，RISA の場合と同じく薬剤濃度比で表した。すなわち薬剤漏出は，二重止

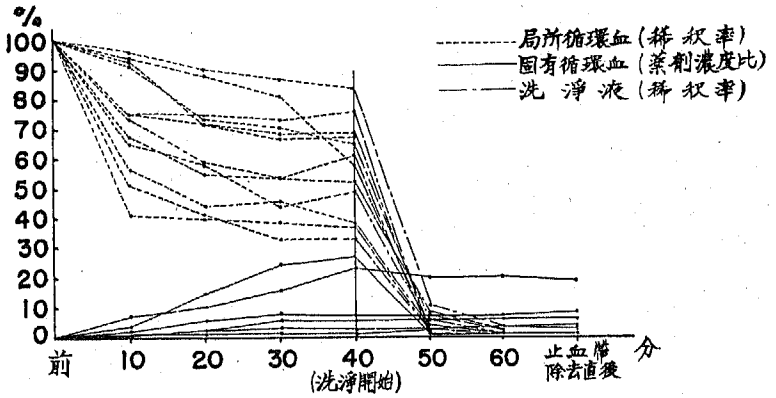

図 5　二重止血，低流量の場合の灌流経過（RISA）

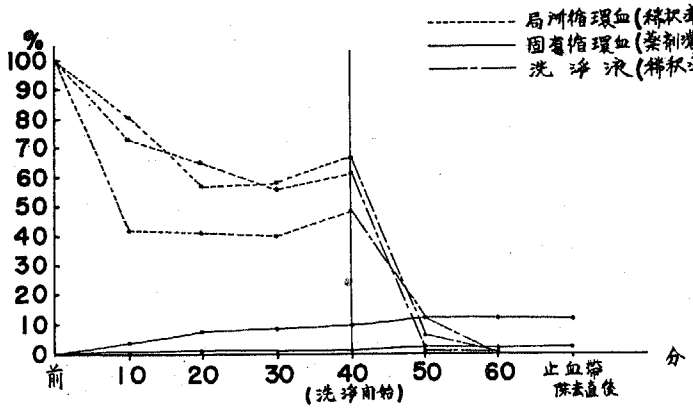

図 6　　分割止血，低流量の場合の灌流経過
（R I S A）

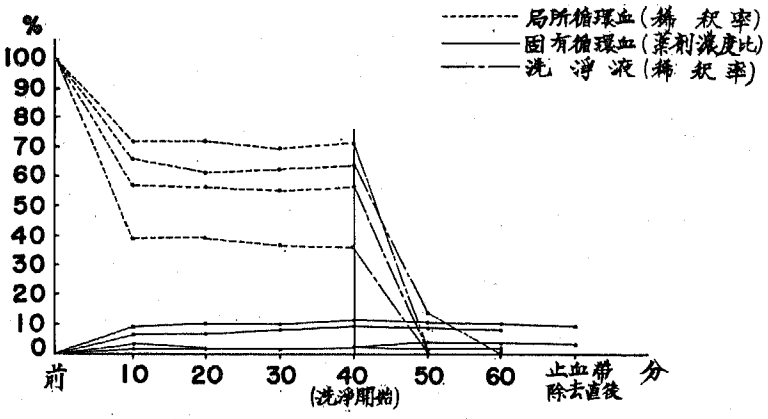

図 7　　分割止血，高流量の場合の灌流経過
（R I S A）

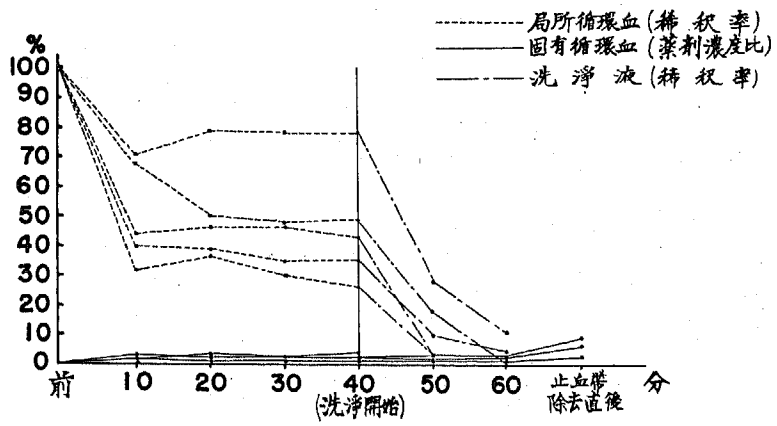

図 8　　二重止血，低流量の場合の灌流経過
（P^{32}-labelled Tespamin）

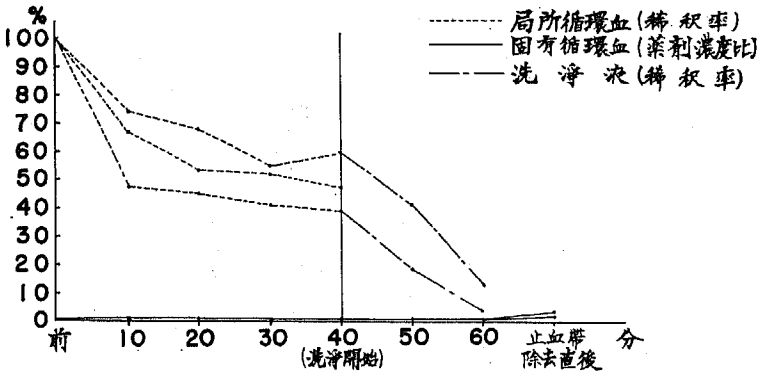

図 9　分割止血，低流量の場合の灌流経過
(P^{32}-labelled Tespamin)

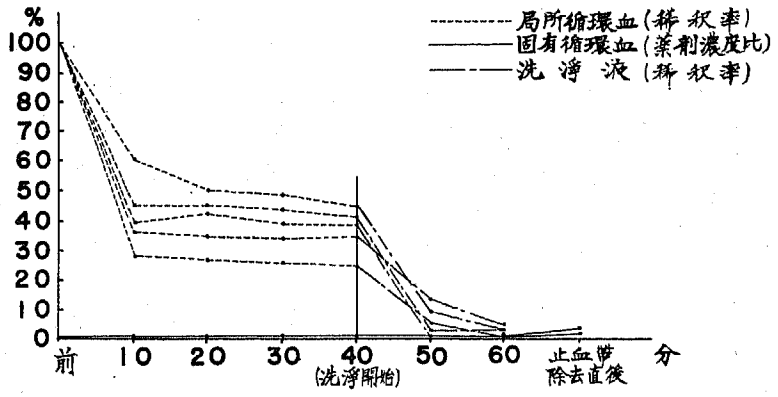

図 10　分割止血，高流量の場合の灌流経過
(P^{32}-labelled Tespamin)

血，低流量の場合図8のごとく，灌流全経過を通じ，4% 以下の濃度比を示し，止血帯除去後も最高9% の濃度比で，ほぼ満足できる値であつた。しかし分割止血法では，低流量（図9），高流量（図10）ともに，一層理想に近い値を示した。すなわち，灌流全経過を通じ，漏出はなく，止血帯除去後に低流量で最高3%，高流量で最高2% の濃度比を示したにすぎなかつた。

局所灌流血中の薬剤濃度は稀釈率で表した。灌流開始後10分で RISA の場合と同じように，薬剤濃度は73%から28%の範囲で減少し，10分以後は，やはり，ゆるい下降線となり，灌流後40分で最低27%，最高80%の薬剤濃度を保つていた。

洗浄灌流開始後も，RISA と同じく10分で急激な下降を示すが，0% となることはなく，20分後における薬剤濃度は，二重止血法，低流量の場合，最高10%，分割止血法，低流量で13%，高流量で4% の値を示した。

（Ⅱ） 個体内残留率

1) RISA を指標としたもの（図11）

二重止血，低流量の場合，実験例の $^2/_3$ では30%以下の値を示し，最低では4% と非常に残留率の少なかつた例もあるが，$^1/_3$ は30%以上の残留率を示し，最高75%と非常に高い残留率を示した例があり，バラツキの範囲は大きかつた。

分割止血法では，低流量の場合最高22.5%，最低6.5%，高流量で，最高16%，最低5.5% とバラツキの少ない安定した低い値がえられた。

2) P^{32}-labelled Tespamin を指標としたもの（図12）

二重止血，低流量の場合，実験例の半数は15%以下の低い値を示し，半数は35%以上の残留率で，最高は66%と高い値を示した。分割止血法では，低流量の場合，最高19.5%，最低4%，高流量では，最高10%，最低1.5%とバラツキの少ない安定した低い結果をえ

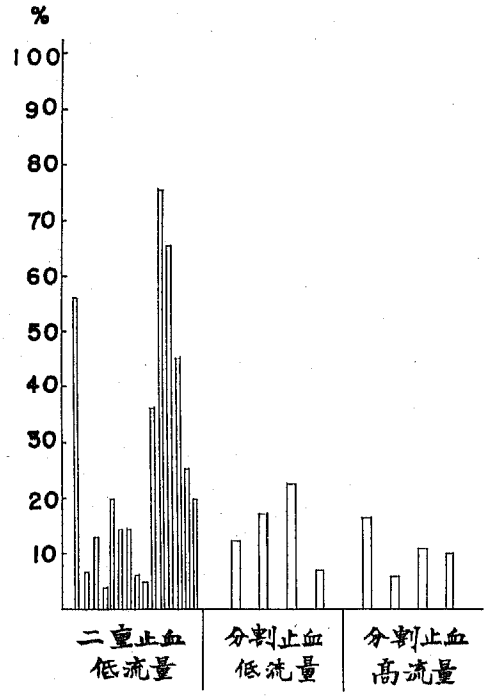

図11　個体内残留率
(RISA)

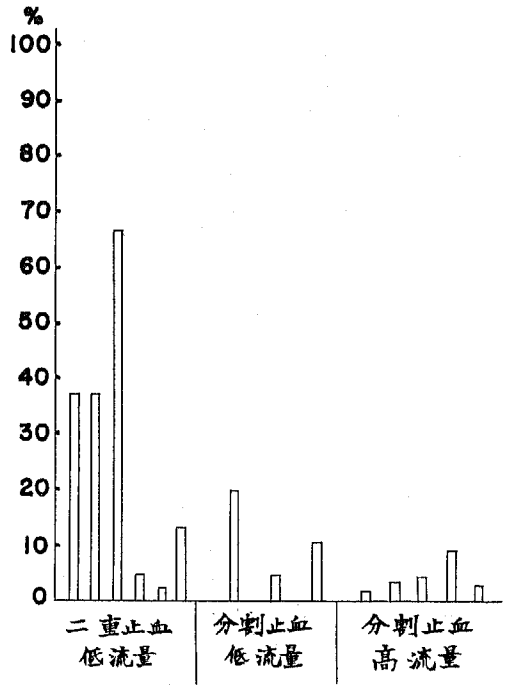

図12　個体内残留率
(P^{32}-labelled Tespamin)

た。

3)　送脱血のバランスとの関係（図13）

送脱血のバランスの良，不良と個体内残留率の関係をみると図13のごとき関係がみられた。すなわち，送脱血のバランスがわるいと個体内残留率は増加し，バランスが良く，灌流が円滑に行なわれた場合には個体内残留率も少なくなり，この両者の間には密接な関係があることが判明した。

（Ⅲ）洗浄率

洗浄率は，送血量との関係をみるため，止血法を分割止血法で一定にし，低流量，高流量との関係を比較研究した。

1)　RISA を指標としたもの（図14）

低流量では，最高82.5%，最低58%の洗浄率であり，高流量では，最高86.5%，最低66%の値をえた。すなわち，洗浄灌流の流量を増加すれば，ある程度

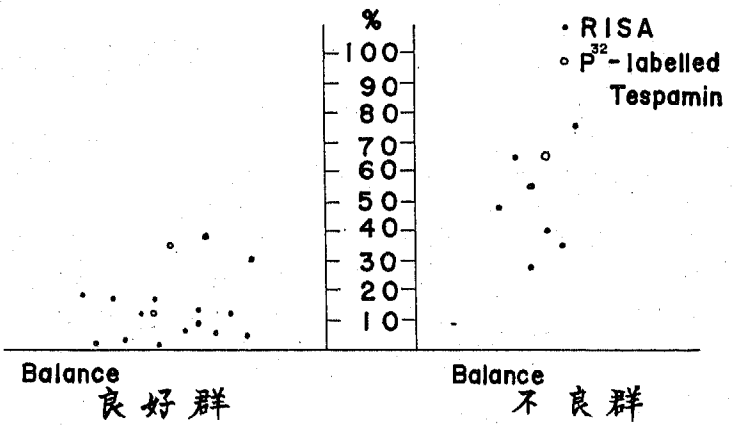

図 13　送脱血の Balance と個体内残留率の関係

まで洗浄率も増加することが判明した。

2) P^{32}-labelled Tespamin を指標としたもの (図15)

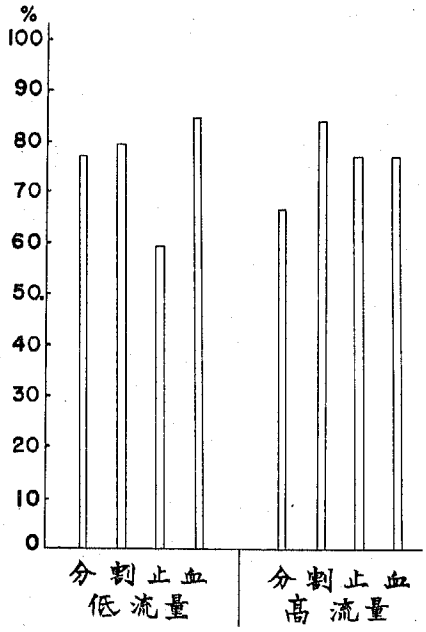

図14　洗　浄　率
(RISA)

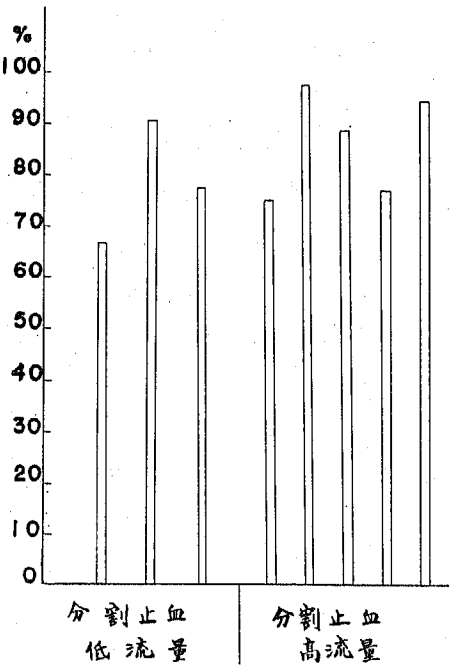

図15　洗　浄　率
(P^{32}-labelled Tespamin)

低流量では，最高90.5%，最低66%，高流量では，最高98%，最低75%と RISA の場合と同じく，洗浄灌流の流量を増加すれば，ある程度まで洗浄率も増加することが判明した。

第三節　考　　案

局所灌流療法の最大の利点である全身的副作用防止に直結する問題として，漏出に関する問題は，数多くの論議が発表されている。藤森[92](1963)らは，この漏出に影響する因子として，1) 止血帯の有無，2) 送血量，3) 灌流時間，4) 灌流圧，5) 薬剤投与法，6) 薬剤の種類などをあげている。

臨床例における四肢局所灌流の送血量について，Stehlin[21](1960)らは，下肢においては 100～125cc/min，Creech[7](1961)らは，下肢で 150～200cc/min，上肢で 100～150cc/min と低流量灌流を行なつており，Krementz[13](1963)らは，四肢において 200～400cc/min，上村[60](1962)らは，下肢で 300～500cc/min，白羽[50](1962)らは，280～330cc/min と高流量灌流を行なつている。佐野[51]らは，1960年の報告では 400～500cc/min と高流量灌流を用い，翌1961年[47]の報告では 150～200cc/min と低流量灌流を報告している。

このように，高流量灌流と低流量灌流とどちらが良いかについて，現在までのところ各報告書の見解は一致していない。まず，低流量灌流を行なつている報告者は，1) 漏出が少ないこと，2) 薬剤が腫瘍組織に長時間接するので，薬剤の腫瘍組織への吸着が促進されること，3) 腫瘍細胞剥離の危険が少いこと，4) 浮腫などの局所障害が少ないことなどの長所をあげている。

一方高流量灌流を推奨している上村[60](1962)らは，1) 患肢は健康肢に比して循環血液量が多いこと，2) 低流量では，血管が反射性収縮を起して，局所への薬剤の円滑な環流および滲透を妨げ，治療の目的に充分そいえないこと，3) 正常状態に最も近い状態にするのが生体の機能保持の上に最も好ましいことなどを理由としている。

犬後肢での送血量は，Ausman[1](1961)は100～125cc/min，砂田[47](1961)らは 30～40cc/min，と報告している。著者は，犬後肢の場合，100cc/min 以下を低流量灌流，100cc/min 以上を高流量灌流と名づけて実験した。その結果，二重止血法では，低流量灌流を行なわないと送脱血のバランスがくずれやすく，また漏出も多くなる危険があつたが，分割止血法を用い，止血が完全になつてからは，高流量，低流量にかかわらず，バランスがくずれることはなく，また，漏

出が増加する危険もなく灌流しうるようになつた。結局，止血法が完全であれば，送血量のちがいによつて，漏出量はあまり変動することなく，一様に少ない漏出量で灌流することができることが判明した。

灌流時間については，多くの報告者③⑤⑱㉑㉓㉘㉙㉝㊴㊿(60)(63)は，30～60分間の灌流を行なつている。この場合，灌流時間が長くなると，漏出が増加するので，漏出の多少によつて適宜時間を短縮しなければならないとの報告(41)もみられるが，止血法か完全であれば，これも，漏出の点からは問題にならないものである。Krementz(13)(21)(1963)らは，活性の短かい抗癌剤(Nitrogen mustard, Actinomycin D, Mitomycin など)は，分割投与で少量ずつ最大耐容量まで投与し，その後は少くとも10分間の灌流を行ない，これに反して，長時間にわたつて活性のある抗癌剤(TSPA, AB-100 など)は，あまり分割せずに投与し，40～60分間灌流を行なうのが良いと報告し，薬剤の性質によつて適宜灌流時間を変えることを推奨している。このほか，薬剤投与方法に関する見解として，砂田(47)(1961)らは，1) 動脈回路中に全量を一時に混入する方法（一時的投与），2) 動脈側より5分間隔で4回に分割注入する方法（分割投与），3) 薬剤全量をあらかじめポンプ血中に混入する方法（混入）の3方法につき実験した結果，漏出率は混入の場合が一番多く，ついで一時的投与，分割投与の順に少なかつたと報告している。白羽(59)(1962)らは，薬剤を一時的に大量混入した場合の局所灌流血中の薬剤濃度は，比較的短時間内に減少し，かつ全身血中への漏出も多いが，薬剤を数回に分割して局所灌流血中に混入した場合には，灌流血中薬剤濃度が常に高く，しかも全身血中への漏出も少いと述べ，分割投与法を推奨している。著者は，すべて混入法で実験したのであるが，止血方法さえ完全であれば，漏出に対しては，薬剤投与法の差異は影響が少ないと考えられる。しかし，局所灌流血中の薬剤濃度は，灌流後10分でかなり減少した例もみられたので，薬剤投与方法もさらに検討の余地があるようである。

漏出測定のための指標の種類により，測定した値に差が生じる理由として，Lawrence(14)(1961)らは，1) 薬剤の拡散量の差，2) 細胞内外の比較的の濃度差，3) 物質代謝の速度の差，4) 薬剤の腎排泄量の差などをあげているが，藤森(32)(1963)らも同じ見解を報告している。Stehlin(22)(1960)らは，RISA による Leakage factor は，抗癌剤漏出量とほとんど近似の値を示すと報告し，砂田(47)(1961)らは，RISA での測定値の$^1/_{10}$が，Mitomycin 定量値や P^{32}-labelled Tespamin での測定値と大体同じであると報告した。著者の実験結果からも，漏出に関しては，砂田らと同じく，RISA での測定値は P^{32}-labelled Tespamin での測定値とくらべ，約10倍前後高い値がえられた。このように，指標とした物質によつて漏出量に差が認められるので，抗癌剤の真の漏出量を知るためには，抗癌剤そのものを定量する必要があり，また測定方法の容易な点から，P^{32}-labelled Tespamin のように，Isotope でラベルした抗癌剤を利用することがもつとも理想的である。しかし，すべての抗癌剤を Isotope でラベルするわけにはいかないので，RISA などが利用されるわけであるが，RISA による漏出量と抗癌剤そのものの漏出量との比較検討が必要となる。Creech(7)(1961)らは，抗癌剤の幾分かの量は組織に吸着し，また灌流中に効力が変るので，RISA と抗癌剤の漏出量の間には直接的関係はないが，RISA による Leakage factor は，血流遮断の完全性をみるためには価値あるものであると報告している。

実際に抗癌剤による副作用より患者を安全に守るためには，術中常に固有循環域への薬剤の漏出状態を知ることと，術後その個体内にどの程度の薬剤が残留しているかを知る必要がある。前者については，Stehlin(21)(1960),伊藤(38)(1963)らの Continuous monitoring の報告をみるが，後者についての報告はみあたらない。著者は，この灌流域を含めた個体内に残存する薬剤量と，使用した全薬剤量の比を個体内残留率と定義し，測定したのであるが，この個体内残留率には次のごとき意義がある。すなわち，1) 術後患者管理の点で一つの指針となること，2) 灌流手技が安定し，個体内残留率が一定範囲に固定すれば，薬剤の全身投与量を個体内残留率で除してえられた値まで薬剤を灌流しても，固有循環域に副作用を起すことはない。例えば，著者の実験結果より，分割止血法を用いれば，個体内残留率は常に20%以下であり，理想的灌流状態では4%である。従つて，全身投与量の5倍までの量を局所灌流に使用することができる。さらに，灌流手技が向上すれば25倍までの量を使用できるといえる。

洗浄は，余分な薬剤を洗い出し，個体内残留率を少くして副作用を防止し，また有害産物を洗い出すために必要な操作である。しかし，洗浄効果についての報告は，わずかに Lawrence(14)(1961)らの報告をみるのみで，洗浄効果と流量との関係についての報告はみあたらない。著者は，流量と洗浄効果の関係をみるため，止血法を一定にし，低流量および高流量での洗浄率を測定した結果，低流量では60～80%の洗浄率であ

るが，高流量では70～90%の洗浄効果をあげえた。すなわち，流量を増加することによつて洗浄効果もあげうることが判明した。

第四節　小　　括

1) 止血方法と送血量について検討するため，a）二重止血，低流量，b）分割止血，低流量，c）分割止血，高流量の3群につき漏出に関する研究を行なつた。

2) 漏出薬剤の濃度比は，3群とも大体10%以下の低い値であつた。しかし，二重止血，低流量群では，2例において高い薬剤濃度比を示した例がみられた。

3) 個体内残留率は，二重止血，低流量の場合は，4～75%とバラツキが非常に大きい。これに反して，分割止血法では，低流量で4～22.5%，高流量で1.5～16%と安定した値が得られた。また送脱血のバランスの良，不良は個体内残留率と密接な関係があることがわかつた。

4) 洗浄率に関しては，止血方法が完全であれば，流量を上昇させることによつて，ある程度まで洗浄効果を増加しうることが判明した。

5) 以上のことから，著者らが考案した分割止血法は，送脱血のバランスが保ちやすく，かつ充分な遮断が得られる優秀な止血方法であることが確認された。その結果，高流量灌流が可能となり，洗浄効果を増加することができる。したがつて個体内残留率も非常に少い量にとどめることが可能となつた。

第六章　副作用に関する研究

第一節　実験方法

灌流装置および灌流操作方法は，前章の実験と同一であるが，抗癌剤と組織障害度の関係を研究するため，抗癌剤に，Tespamin，Mitomycin の2種類を用い，Tespamin は1mg/kg，2mg/kg，3mg/kg の3群につき，Mitomycin は1mg/kg，2mg/kg の2群につき，それぞれ3頭ずつの割合で灌流し，灌流後1週間で屠殺解剖し，各組織を採取した。

全身的副作用を研究するため採取した組織は，心臓，肺臓，肝臓，腎臓，脾臓，腸管，性殖器であり，局所の副作用研究のためには，皮膚，筋肉，血管，骨髄を採取した。これらの対照として，固有循環域の臓器に対するものは，局所灌流は行なわず，全身的に普通薬用量の10倍の濃度の薬剤を投与し，1週後に屠殺したものを用い，局所循環域の組織に対するものは，非灌流肢の各組織を用いた。

第二節　固有循環域に対する副作用

第一項　実験動物の全身状態の変化

灌流実験後，麻酔から覚醒するまで実験犬の全身を毛布で包み保温した。灌流後2日間位は食欲減退，起立不能が目立つたが，3日ごろより，これらの症状は軽快し，4日後には，ほとんど灌流前の状態にまで回復したが，歩行時，灌流肢の接地時間の短縮が目立つた。しかし，嘔吐など重篤な症状を示したものは，みられなかつた。

第二項　末梢血白血球数の変動（図16）

造血機能の障害を研究するため，灌流後1週間，末梢血白血球数の変化を追究した。その結果は図16に示すごとく，灌流の翌日には，かなりの高率で白血球数の増加がみられ，2日後には減少傾向を示し，3～5日で術前以下にまで減少するのが観察された。しかし少数例において，1週間以内に回復の徴候を示したものもみられた。

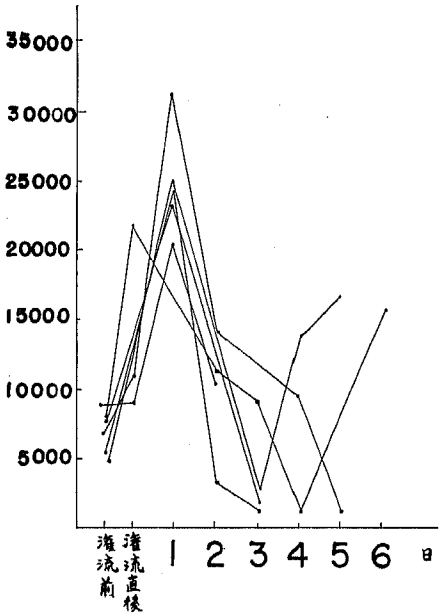

図16　　末梢血白血球数の推移

第三項　各臓器の組織学的変化

組織学的検査を行なつた臓器のうち，心，肺，肝，腸管においては，実験例および対照例ともに組織学的変化は認められなかつた。しかし，腎，脾，および性殖器には，かなりの変化が認められた。すなわち，腎臓では腎絲毬体の変化は少ないが，尿細管の硝子様変性が目立ち，特に Tespamin 3mg/kg では図17のごとく，著明な変化がみられ，Mitomycin 2mg/kg でも同様の変化で観察された。脾臓では，Tespamin 3mg/kg で図18のごとく，白脾髄の萎縮と脾洞の拡大がみ

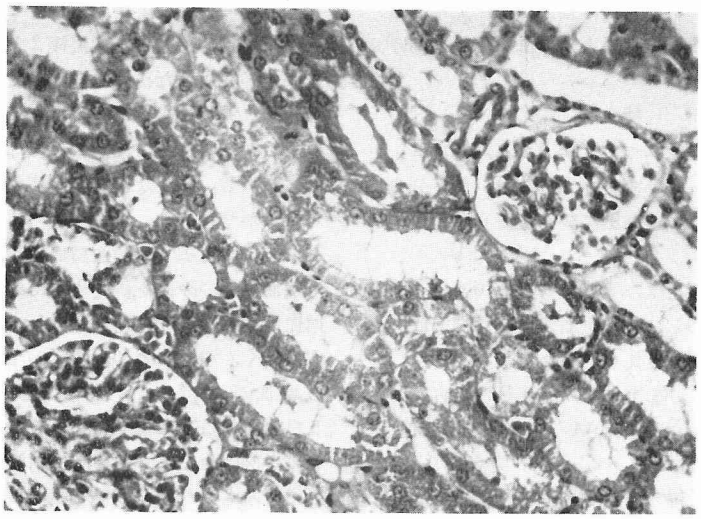

図 17　Tespamin 3mg/kg の割合で灌流した犬の腎臓：尿細管の硝子様変性がみられる。　(H-E　200×)

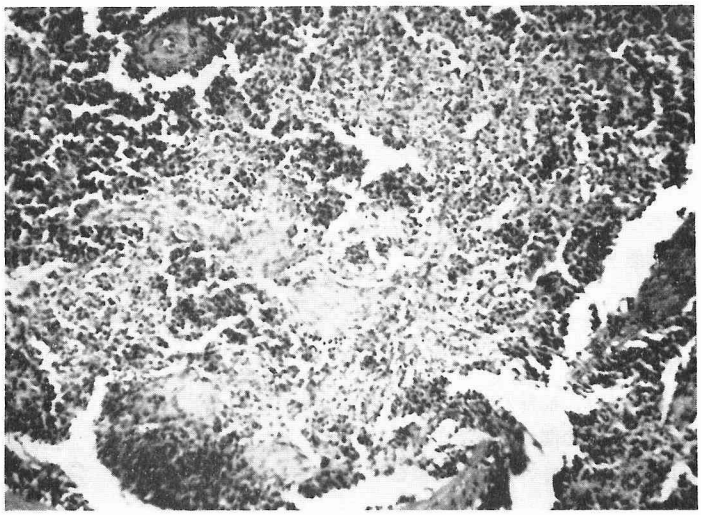

図 18　Tespamin 3mg/kg の割合で灌流した犬の脾臓：脾洞の拡大がみられる。　(H-E　100×)

られ，Mitomycin 2mg/kg でも軽度ながら同様の変化が観察された。性殖器系の変化として，卵巣では，Tespamin 2mg/kg で図19のごとく，卵胞の変性萎縮がみられ，ほとんど全体が黄体でしめられている状態が観察され，睾丸では，Tespamin 2mg/kg で図20のごとく，精細胞の減少が目立ち，Mitomycin 2mg/kg でも，同様の変化が観察された。

第三節　局所灌流域に対する副作用

第一項　灌流肢の肉眼的所見

灌流中は，特に目立つた変化は認められないが，洗浄灌流において，5% ブドウ糖液，あるいはモリアミン液を使用すると，灌流肢に浮腫が現われてくるのが観察された。灌流後2日間は，灌流肢の浮腫がかなりつよく認められるが，3日ごろより，これらの症状は軽快しはじめ，5日後には，ほとんど灌流前の状態にまで回復する。しかし，7日後の解剖時に，手術創の完全閉鎖が起らず離開していた例が多数観察された。

第二項　灌流肢の組織学的変化

灌流肢の組織学的変化として，皮膚，筋肉，血管，骨髄の検索を行なつた。対照とした非灌流肢において

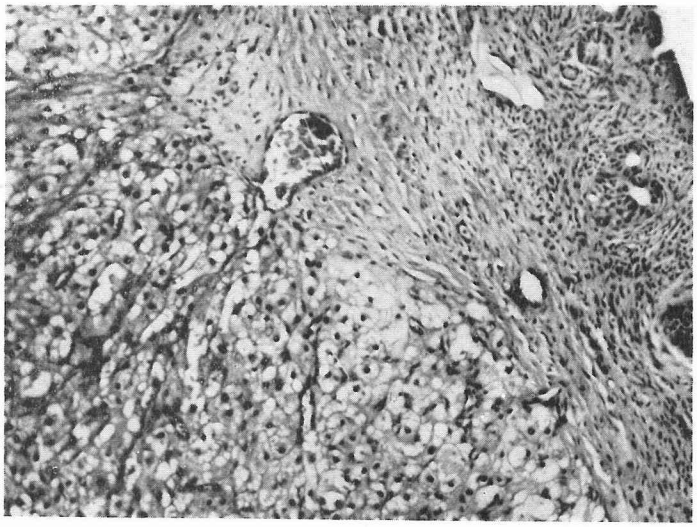

図 19 Tespamin 2mg/kg の割合で灌流した犬の卵巣：卵胞の変性萎縮がみられ，黄体が大部分をしめている。(H-E 100×)

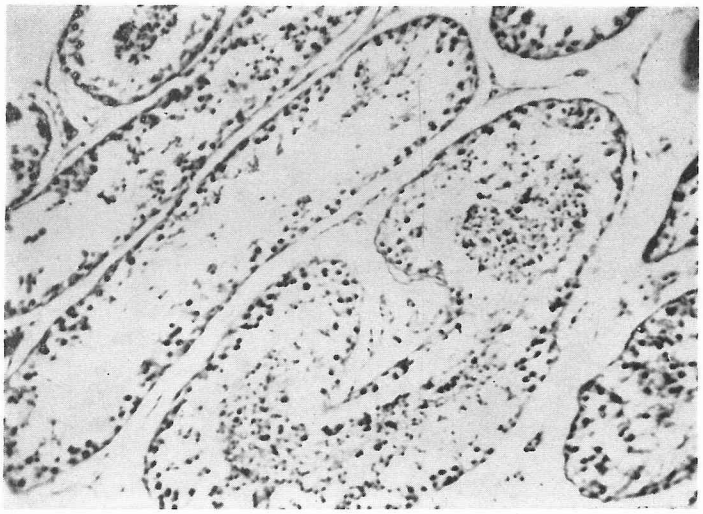

図 20 Tespamin 2mg/kg の割合で灌流した犬の睾丸：精細胞の減少がみられる。 (H-E 100×)

は，組織学的変化はほとんど認められなかつたが，灌流肢において，特に血管及び骨髄にかなり著明な変化が認められた。すなわち，皮膚では，軽度の浮腫と，手術創部に細胞浸潤がみられた程度であり，筋肉でも，Tespamin 3mg/kg または Mitomycin 2mg/kg 投与のものに筋線維の軽度の変性が観察されたほか特に変化は認めなかつた。しかし血管では，動静脈ともに，内膜の変性と血栓形成が著明にみられた。図21は Tespamin 3mg/kg 投与例の所見であるが，同様の変化は，Mitomycin 1mg/kg 投与のものにもみられた。骨髄では，顆粒細胞の減少ないし消失が目立つた。図22は，Tespamin 2mg/kg のものであり，同様の変化は，Mitomycin 2mg/kg のものにもみられた。

以上，抗癌剤の局所灌流による組織学的変化を，(－) は変化のないもの，(±) は軽度の変化を認めるもの，(＋) は変化のあるもの，(卄) は著明な変化が認められるものの4段階に分け，一覧表にすると図23のごとくなる。すなわち，Tespamin は 2mg/kg ま

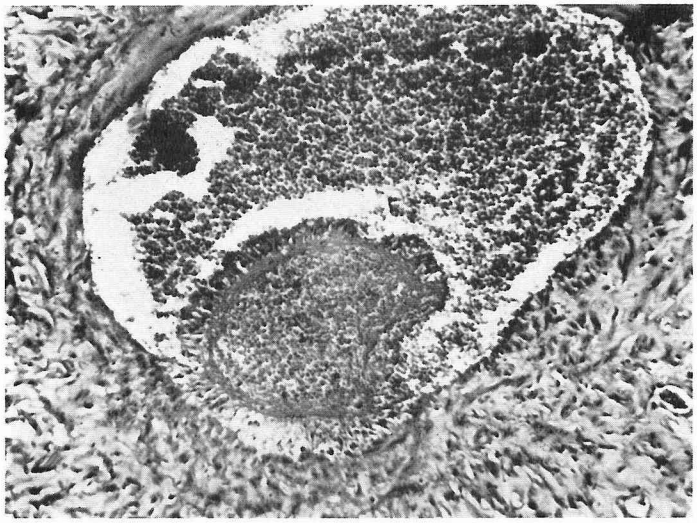

図 21　Tespamin 3mg/kg の割合で灌流した犬の灌流局所の動脈：内膜の変化と著明な血栓形成がみられる。（H-E　100×）

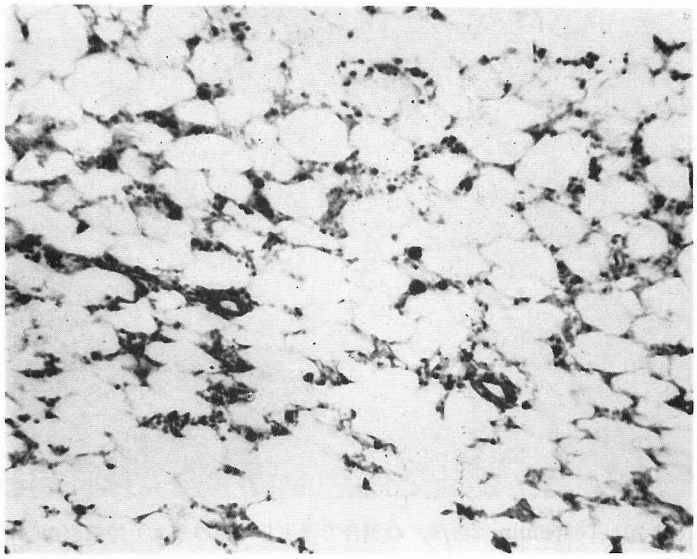

図 22　Tespamin 2mg/kg の割合で灌流した犬の灌流局所骨髄：骨髄細胞の減少がみられる。（H-E・100×）

で，Mitomycin は 1mg/kg までの局所灌流では，固有循環域の諸臓器に重篤な組織学的変化は認められなかつた。局所灌流域では Tespamin 1mg/kg では障害はほとんどないが，Mitomycin は 1mg/kg でも血管ならびに骨髄に障害があきらかに認められた。

第四節　考　　按

四肢局所灌流療法の全身的副作用としては，漏出した抗癌剤による造血臓器の障害が一番問題となる。砂田[47](1961)らは，局所灌流療法後の白血球数，栓球数の変化はいずれも軽微で，本法による全身状態の著明な悪化は認められなかつたと報告した。白羽[50](1962)らは，赤血球数は，ほとんど変化がなく，白血球数は，灌流直後減少したが，20日～25日で回復し，また骨髄系細胞は，灌流後18日で正常値に戻つたと報告し

		灌流域					固有循環域												
		皮膚	筋肉	血管	骨髄	骨	皮膚	筋肉	血管	骨髄	骨	心	肺	肝	腎	脾	腸	性殖器	判定
テスパミン	1 mg/kg	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋	－	－		－
	2 mg/kg	±	－	＋	＋＋	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋	－	－	＋	＋
	3 mg/kg	±	＋	＋＋	＋＋	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋＋	＋	－	＋	＋＋
マイトマイシン	1 mg/kg	－	－	＋	＋	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋	－	－	±	＋
	2 mg/kg	＋	＋	＋	＋＋	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋＋	±	－	＋	＋＋

－：変化なし　　＋：変化を認める
±：軽度の変化を認める　　＋＋：著明な変化を認める

図 23　　抗癌剤灌流による組織変化

た。坂内[53](1962)らは，局所灌流療法後の血液成分の変動として，白血球数は灌流後1～2日は増加し，その後次第に減少すると報告し，三木[41](1964)らも，白血球数は灌流後1～3日は一時増加し，その後次第に減少するが，1週間前後で回復し始め，2週前後で術前値に復したと報告している。著者の実験結果でも，白血球数は，灌流後一時増加し，その後減少するのが認められた。このほか，全身的副作用として報告されているものに，発熱，疼痛，悪心，嘔吐，食欲不振などがあるが，実験犬で観察されたものは，灌流後1～2日間にみられた食欲不振程度で，嘔吐のような重篤な症状はみられなかつた。

固有循環域の各臓器の組織学的変化を検索した報告は，文献に見当らない。著者は，実験犬の固有循環域の各臓器を組織学的に検査した結果，心，肺，肝，腸管にはあまり影響を与えないが，腎，脾，卵巣，睾丸などには，かなりの障害が認められた。これらの諸変化が，可逆性か非可逆性かについては検討の余地があるが，全身的副作用を考慮するときには，造血臓器の障害のみでなく，腎，性殖器についても注目しなければならないと考える。

局所的副作用としては，灌流肢の一過性の浮腫は，多くの報告者が観察している所見であるが，そのほか，Creech[4](1959)，上村[60](1962)，藤森[31](1963)，三木[41](1964)らは，臨床例において，手術創治癒の遷延，水泡形成，疼痛，しびれ感，冷感などをあげている。著者も，実験犬で，浮腫，手術創治癒の遷延などを認めた。砂田[47](1961)らは，犬の後肢で各種抗癌剤による局所灌流を行ない，灌流肢の組織障害について報告しているが，組織所見として，浮腫，壊死，細胞変性，皮下，筋肉内の多量出血，骨髄の著明な細胞数減少などを認めている。Creech[7](1961)らは，肉眼的変化としては，軟部組織の浮腫，皮膚の軽度脱色をあげ，組織学的変化としては，皮膚の膠原線維間と筋束間などに液が平等に含まれている所見を報告している。また彼等は，静脈血栓の可能性を述べ，Nitrogen mustard を用い局所灌流療法を行なつた時の動脈の変化として，血管全層に炎症がみられ，中膜の浮腫と血管腔の狭小化を伴つていたと述べている。著者が観察しえた局所組織所見は，皮膚では，軽度の浮腫と手術創部に細胞浸潤がみられ，筋肉では，Tespamin 3mg/kg または Mitomycin 2mg/kg 投与のものに筋線維の軽度の変性がみられたに過ぎなかつた。しかし，血管では，動静脈ともに，内膜の変性，著明な血栓形成が認められ，特に Tespamin 3mg/kg のものでは，その変化が著明であつた。局所灌流域の組織変化として最も著しいものは，砂田らの報告にもみるごとく，骨髄細胞の著明な減少である。著者も Tespamin 2 mg/kg 以上，Mitomycin 2mg/kg の群で，著明な骨髄細胞の減少を認めた。

薬剤の最大投与可能量については，多くの報告をみるが，四肢局所灌流の場合のみのものを表にすると表1のごとくなる。Tespamin の使用量は，下肢の場合 0.8～1.0mg/kg の量を用いているのが大部分であり，砂田[47]らは 2mg/kg と倍の量を用いている。Mitomycin は主に本邦で用いられており，砂田[47]らは 0.8mg/kg，白羽[50]らは総量30～40mg と報告し，外国では Creech[7]らが，犬の実験で 0.4mg/kg を用いたとの報告をみるのみである。この最大投与量につき，Krementz[19](1963)らは，表示した薬用量のほかに，1) Leakage が多いか少ないか，2) 術前に放射線治療，抗癌剤の使用経験があるかどうか，3) 全身状態，4) 年令，5) 内臓転移の有無，6) 末梢血管障害の有無，7) 四肢の大きさ，なども考えねばならず，また総量としても考える必要があり，もし最大投与量を越える時は，局所の合併症が著明になると報告した。こ

こで用いている最大投与可能量の意味は，灌流域の局所正常組織に障害を起さない最大薬用量の意味である。しかし，局所灌流療法の目的が，罹患肢切断を前提として，延命効果にあるとするならば，灌流肢の正常組織に対する障害を恐れて使用薬剤量を制限するよりも，灌流局所の組織障害は二義的に考えて，固有循環域の副作用のみを考慮した最大投与可能量を決定することが重要である。そしてできるだけ癌組織を死滅させてから切断を行ない，延命効果をねらつた方がより効果的と考えられる。この意味で，著者は，灌流域に多少の副作用があらわれても，全身的副作用を起さない薬剤量を最大投与可能量と規定したい。かかる意味の最大投与可能量の決定には著者が検索した個体内残留率が参考になる。本実験の結果から，その量は，Tespamin では 2mg/kg，Mitomycin では 1mg/kg としてよいと思う。

表　1　　最　大

		1959 CREECH	1959 KREMENTZ	1959 CREECH
上肢灌流	Nitrogen mustard	0.6mg/kg		0.4mg/kg
	Phenylalanine mustard	1.5mg/kg		1.0mg/kg
	TSPA	0.8mg/kg		0.6mg/kg
	TEM			
	5－Fluorouracil	15mg/kg		15mg/kg
	AB－100			
	Actinomycin D	35γ/kg		35γ/kg
	Mitomycin			
下肢灌流	Nitrogen mustard	0.8mg/kg	0.8mg/kg	0.8mg/kg
	Phenylalanine mustard	1.5mg/kg	1.5mg/kg	1.5mg/kg
	TSPA	1.0mg/kg	0.8mg/kg	0.8mg/kg
	TEM			
	5－Fluorouracil	20mg/kg	20mg/kg	20mg/kg
	AB－100			
	Actinomycin D	50γ/kg	50γ/kg	50γ/kg
	Mitomycin			

第五節　小　括

1)　抗癌剤と組織障害の関係を追求するため，Mitomycin 1mg/kg，2mg/kg の2群および Tespamin 1mg/kg，2mg/kg，3mg/kg の3群につき実験した。

2)　全身的副作用として嘔吐など重篤な症状はみられなかつたが，組織学的検索により，Tespamin 3mg/kg，Mitomycin 2mg/kg の群において腎，脾，性殖器系に，かなり著明な変化が認められた。

3)　灌流局所にみられた主な変化は，灌流肢の一過性の浮腫である。その他，手術創の治癒遷延などがみられたが，組織学的検索でみられた最も著しい変化は，Tespamin 2mg/kg，Mitomycin 1mg/kg 以上の群でみられた，骨髄細胞の減少と血栓形成であつた。

4)　以上のことより，局所灌流に使用しうる抗癌剤の最大投与可能量を，灌流域に多少の副作用があつても，全身的副作用を起す危険のない量と定義した場合，著者らの灌流手技によれば，Tespamin 2mg/kg，Mitomycin 1mg/kg であるといえよう。

第七章　総括ならびに結語

本研究は，四肢の悪性腫瘍に対する抗癌剤の局所灌流療法をより効果的に，またより能率的にするためにはいかにすべきかを検討することを目的として行なつたものである。

前述のように局所灌流療法に関しては未解決の問題が多いが，従来は，局所灌流手技上特に重要な止血法が不十分であつたこと，使用した薬剤が洗浄灌流によつてどの程度洗い出しうるか，また使用した薬剤の何%が最終的にその個体内に残留するかということ，従つて固有循環域ならびに局所灌流域の組織が，抗癌剤によつてどの程度の障害を受けるかなどについての検討が不十分であつた。

そこで著者は，四肢の局所灌流用に特に当教室で作成した，操作の簡便な装置を使用し，犬を用いての動物実験により上記の各項目について検討した結果，次のような結果を得た。

1)　鼠径部にエスマルヒ止血帯をかける単一止血法，腹部と鼠径部に止血帯をかける二重止血法及び大腿中枢部の軟部組織を2分して止血する分割止血法を比較検討した結果，分割止血法は，その手技も簡便であり，動静脈カニューレを圧迫したり異常に屈曲させたりすることもなく，止血効果も優秀であり，局所灌流時の止血法としてもつともよい方法であることが判明した。

2)　分割止血法を行なえば，灌流中の局所灌流液中の薬剤濃度に対する固有循環血中の薬剤濃度の比は10%以下である。灌流終了時に灌流肢に残つている薬剤の58～97%を洗浄灌流によつて洗い出すことが可能である。従つて最終的に体内に残留する薬剤量は，使用

投　与　薬　用　量

1960 STEH-LIN	1961 CREE-CH	1963 STEH-LIN	1963 KREM-ENTZ	1963 ROCH-LIN	1961 砂田	1962 上村	1962 橋本	1962 白羽
20～50mg								
50～75mg		50～75mg		1.2mg/kg				
				50γ/mg				
25～40mg	0.8mg/kg		0.6mg/kg					
75～125mg	1.5mg/kg	90～125mg		1.5mg/kg				
	1.0mg/kg		1.0mg/kg		2mg/kg	35～100mg	100mg	
	0.15mg/kg							
	20mg/kg							
	30mg/kg		30mg/kg					
	35～50γ/kg		50γ/kg	50γ/kg				
	0.4mg/kg				0.8mg/kg			30～40mg

した薬剤量の20%以下である。

3) 抗癌剤による組織障害の程度は，Tespaminは2mg/kg，Mitomycinは1mg/kgまでは，局所灌流域の血管や骨髄に不可逆性の変化が認められたものもあつたが，固有循環域では　腎および性殖器に変化は認められたものの，その変化は生命の予後を左右するほど強い変化とは思われなかつた

局所灌流実験は，われわれの装置ならびに手技により簡便化したとはいえ，血管のとりあつかいなどについては術者の熟練度などに左右される面も多く，従つて実験成績にかなりのバラツキがあつた。本報告では実験開始当初の不十分な資料は全部除外した。一方理想的な灌流状態では個体内残留率を4%以下におさえることも可能であつたが，分割止血法を用いた場合，個体内残留率を常に20%以下におさえることができたので，全身投与量の5倍までは常に安心して使用しうる薬剤量であると結論できる。

さらに組織障害についての検討から，Tespaminならば2mg/kg，Mitomycinならば1mg/kgまでは重篤な全身的副作用を起すことなく，局所灌流を行ないうると考えられる。

稿を終るに臨み，御指導，御校閲を賜つた恩師藤本憲司教授に深甚なる感謝の意を表するとともに，本研究の実験に多大の御協力をいただいた寺山講師をはじめ局所灌流研究班の各位に感謝する。

文　献

①Ausman, R. K., et al.: Studies in isolated perfusion chemotherapy. Ann. Surg., 153, 527, 1961. ②Björk, V. O.,: Brain perfusions in dogs with artificially oxygenated blood. Acta Chir. Scand., Suppl. 137, 1948. ③Creech, O., Jr., et al.: Regional perfusion utilizing an extracorporeal circuit. Ann. Surg., 148, 616, 1958. ④Creech, O., Jr., et al.: Experiences with isolation-perfusion technics in the treatment of cancer. Ann. Surg., 149, 627, 1959. ⑤Creech, O., Jr., et al.: Treatment of melanoma by isolation-perfusion technique. J. A. M. A., 169, 339, 1959. ⑥Creech, O., Jr., et al.: Perfusion treatment of patients with cancer. J. A. M. A., 171, 2069, 1959. ⑦Creech, O., Jr., et al.: Cancer chemotherapy by perfusion. Advances in Cancer Research, 6, 111, 1961. ⑧Kloop, C. T. et al.: Fractionated intra-arterial cancer chemotherapy. Ann. Surg., 132, 811, 1950. ⑨Kloop, C. T. et al.: Fractionated regional cancer chemotherapy. Cancer Res., 10, 229, 1950. ⑩Krementz, E. T. et al.: Treatment of malignant tumor of the extremities by perfusion with chemotherapeutic agents. J. Bone Joint Surg., 41—A, 977, 1959. ⑪Krementz, E. T. et al.: The effect of increased oxygen tension on the tumoricidal effect of nitrogen mustard. Surgery, 50, 266, 1961. ⑫Krementz, E. T. et al.: An appraisal

of cancer chemotherapy by regional perfusion. Ann. Surg., 156, 417, 1962. ⑬Krementz, E. T. et al.: Current status of regional chemotherapy by perfusion. Am. J. Surg., 105, 598, 1963. ⑭Lawrence, W. Jr., et al.: Regional perfusion of the pelvis: consideration of the "leakage" problem. Surgery, 50, 248, 1961.
⑮ McCaughan, J. S. et al.: The use of a totally occlusive pump as a flowmeter with observations on hemolysis caused by occlusive and nonocclusive pumps and other pump-oxygenator components. Surgery, 44, 210, 1958.
⑯Reemtsma, K.: Complications of regional cancer chemotherapy by perfusion and infusion technics. Am. J. Surg., 105, 645, 1963.
⑰Rochlin, D. B. et al.: The effect of tissue temperature on the binding of alkylating agents in the isolation perfusion treatment of cancer. Surg. Gynec. &. Obst., 113, 555, 1961.
⑱Rochlin, D. B.: The therapy of sarcomas by isolation perfusion. Am. J. Surg., 105, 615, 1963.
⑲Ryan, R. F. et al.: Selected perfusion of isolated viscera with chemotherapeutic agents using an extracorporeal circuit. Surgical Forum, 8, 158, 1958. ⑳Shingleton, W. . et al.: Studies on abdominal organ perfusion for cancer chemotherapy. Ann. Surg., 151, 741, 1960. ㉑Stehlin, J. S. et al.: Regional chemotherapy for cancer. Ann. Surg., 151, 605, 1960.
㉒Stehlin, J. S. et al.: The leakage factor in regional perfusion with chemotherapeutic agents. Arch. Surg., 80, 934, 1960. ㉓Stehlin, J, S. et al.: Perfusion for malignant melanoma of the extremities. Am. J. Surg., 105, 607, 1963. ㉔Woodhall, B. et al.: Chemotherapy of brain cancer. Ann. Surg., 150, 640, 1959.
㉕Yates, A. et al.: Experimental studies in regional perfusion. Arch. Surg., 85, 827, 1962.
㉖阿久根・ほか：C-15 体外補助循環及び制癌剤局所灌流における循環補助器 H-1 型の使用経験．日外会誌，63，13，1962. ㉗藤本・ほか：四肢の悪性腫瘍治療用の体外循環装置．日整会誌，35，110，1962.
㉘藤本・ほか：局所灌流療法に関する基礎的研究．日整会誌，36，15，1963. ㉙藤本・ほか：局所灌流用体外循環装置の試作．整形外科，14，422，1963.
㉚藤本・ほか：局所灌流療法の実際．日整会誌，37，40，1964. ㉛藤森・ほか：制癌剤の局所灌流法並びに局所高濃度動注法の研究（第1報）．日本癌学会記事，21，35，1962. ㉜藤森・ほか：制癌剤の局所灌流法並びに動注法の研究．手術，17，447，1963.
㉝橋本・ほか：悪性腫瘍に対する制癌剤の局所灌流療法．日本癌学会記事，21，37，1962. ㉞樋口・ほか：マイトマイシンの皮膚癌に対する効果．皮膚と泌尿，21，42，1959. ㉟東・ほか：制癌剤による局所灌流療法の研究（第1報）．日外会誌，63，54，1962.
㊱伊藤・ほか：局所灌流における漏出量連続描記法について．外科，25，786，1963. ㊲河村・ほか：制癌剤の集中的効作法に関する研究．日外会誌，60，13-36，1959. ㊳河村・ほか：体外循環法の応用による抗癌剤の局所的投与に関する 2・3 の問題．日本癌学会記事，20，45，1961. ㊴近藤・ほか：制癌剤による Adverse effect の発生機転．日本癌学会記事，21，36，1962. ㊵香川・ほか：薄層法による Mitomycin C 微量定量法および動物体内分布測定への応用．癌，49，11，1958. ㊶三木・ほか：制癌剤局所灌流法による四肢悪性腫瘍の治療．整形外科，15，87，1964. ㊷宮村・ほか：Mitomycin C の体液中濃度測定．J. Antibiotics, Ser, B. 14, 251, 1961. ㊸小沢・ほか：人工心肺応用による体外循環．日本外科手術全書，4/Ⅱ，1，1962. ㊹篠井・ほか：人工心肺運転に関する諸問題．胸部外科，12，952，1959. ㊺杉江・ほか：体外循環におけるポーラログラフイの研究．日胸外会誌，7，32，1959.
㊻砂田：人工心肺の現況．肺，6，323，1959. ㊼砂田・ほか：制癌剤の局所灌流．外科，23，999，1961.
㊽砂田・ほか：制癌剤局所灌流療法の実験と臨床．日外会誌，62，1513，1961. ㊾白羽・ほか：Mitomycin Cの抗腫瘍性に関する研究．癌の臨床，5，402，1959.
㊿白羽・ほか：制癌剤の局所性投与法．外科治療，6，568，1962. (51)佐野・ほか：体外循環による癌の治療．癌の臨床，6，237，1960. (52)佐野・ほか：実験動物腫瘍に対する制癌剤局所灌流療法の研究と臨床応用例の検討．日本癌学会記事，20，45，1961.
(53)坂内：体外循環による制癌剤の局所灌流．綜合医学，19，167，1962. (54)坂内：制癌剤の局所灌流法．Medical Postgraduates, 2, 19, 1964. (55)瀬在：人工心肺研究の現状．肺，6，335，1959. (56)竜田：人工心肺装置をもつてする体外循環の実験的研究．日外宝，31，426，1962. (57)田坂：Mitomycin に関する基礎的ならびに臨床的研究．癌の臨床，5，411，1959. (58)玉置：Mitomycin C 作用の細胞学的研究．大阪市大医誌，11，131，1962. (59)上村・ほか：人工心肺の適正灌流量について．広島医学，9，1195，1961. (60)上村・ほか：下肢悪性腫瘍に対する制癌剤局所灌流療法の試み．外科治療，7，243，19-62. (61)弓削・ほか：癌の化学療法における白血球減少の防止対策．久留米医会誌，25，177，1962.
(62)卜部：体外循環後にみられる出血傾向について，胸部外科，12，41，1959. (63)矢毛石・ほか：抗癌剤局所灌流後の急性肺水腫発生例について．麻酔，10，581，1961. (64)弥政：人工心肺について．肺，6，360，1959.