

抗腫瘍療を見出す際の効率的な実験法(その2)：マウス固型腫瘍に対する放射線と温熱の併用効果

木下, 洋夫
九州大学医療技術短期大学部一般教育

<https://doi.org/10.15017/166>

出版情報：九州大学医療技術短期大学部紀要. 14, pp.29-33, 1987-02-28. 九州大学医療技術短期大学部
バージョン：
権利関係：



抗腫瘍療を見出す際の効率的な実験法(その2)

——マウス固型腫瘍に対する放射線と温熱の併用効果——

木下洋夫*

An Efficient Experiment in Discovering Antitumor Treatment (II)

——The Effect of Combined Radiation and Heat on a
Mouse Solid Tumor——

Nadao Kinoshita

諸 言

悪性腫瘍を放射線で治療する場合に温熱療法を併用すると治療効果が上がることが解ってきた。実際、これを臨床面に応用するとなると両者の順序と間隔が重要な問題となる。

著者は昨年の本誌に悪性腫瘍に対する新しい治療法の開発について簡単で効率の良いスクリーニング法を紹介した。⁽⁵⁾ この度、更にその真価を問う意味もあって同様な手法によりマウスの移植腫瘍を用いてX線と温熱のいろいろな組み合わせで、特に両者の順序と間隔の問題を取りあげて併用効果の検討を行って見た。その結果、本実験法が前回⁽⁵⁾と同様に悪性腫瘍の新しい治療法の開発に有力なスクリーニング法になり得ることが判明したので報告する。

実験材料と方法

1) 腫瘍動物の調製と実験動物の設定

SPFマウスでSlc:ICR系(静岡実験動物研究所)の雌性、6週令を50匹入手し、実験動物室で更に2週間飼育した後、体重が28~31gの範囲の32匹を選び、以下の実験に供した。動物に腫瘍を移植するためネンブタール注射液を滅菌生理食塩水で10倍に希釈して、その0.25mlを各マウスの腹腔内に注入、麻酔後、腹水型sarcoma

180腫瘍の 5×10^5 cells/ 5μ l(滅菌生理食塩水)をマイクロシリンジを用いて各マウスの右下肢に移植した。8日後に右下肢の腫瘍部の最大径と正常左下肢の同部位の大きさをノギスで0.1mmまで測り、その差を腫瘍の大きさと見立て $\times 1.8$ ~3.6mmの巾の腫瘍をもつS系列群9匹と、3.8~5.5mmの巾の腫瘍をもつL系列群9匹の2つの系列群を設けた。治療を施す場合の実験動物の配分はTable 1に示してあるが、各系列内の配分は無作為に行った。実験動物室は常時21~24°Cに保ち、飼育はクリーンラック内で行い、餌(船橋固型飼料、F-2)と水は自由にあたえた。

2) X線照射

装置はSOFTEX CMBW 2S型(ソフテックス株式会社製)を用いた。60KVP、5mA 0.2mm Alフィルターを使用し、距離23.5cm、1回の照射時間は2分9秒で線量は4Gyであった。この条件で腫瘍に対して背側と腹側からそれぞれ1回づつ計8Gy照射し、1日量とした。この際、腫瘍部以外の部分は厚さ3mmの鉛板で庇護した。

3) 温熱処置

前回⁽⁵⁾の実験と全く同様に行った。市販のリボンヒーターとスライダックを組み合わせて製作した自家製の温熱器を用い、治療中の温度巾の変動は40.5~43.5°C、治療時間は20分間と

*九州大学医療技術短期大学部一般教育

抗腫瘍療を見出す際の効率的な実験法（その2）

した。

4) 治療法と効果の判定

Table 1 に治療の種類と方法を、Fig.1 ならびに Fig.2 に治療日、治療回数を示している。治療成績の経過は 1 週間毎に腫瘍部の最大径と正常反対足の同じ部位の大きさをノギスで 0.1 mm まで測り、その差で追跡し、マウスが腫瘍死す

るまで観察した。Fig.1 ならびに Fig.2 のグラフ中それぞれのプロットの終点はそれから 1 週間以内（次の測定日まで）に動物が死亡したことを意味している。実験は生存マウスの治療部位の状況から完全に治癒したと判断し得た 18 週目の時点で中止した。

Table 1. 実験動物の配分と治療法ならびに Fig.1 と Fig.2 中の表示法

実験動物		治療法	Fig.1, Fig2 中の表示法
S 系列	L 系列		
群 数	群 数		
SC 1	LC 1	無処置（対照）	——○——○——
SH "	LH "	温熱のみ	——○——○——
SR "	LR "	X線のみ	——△——△——
SHR "	LHR "	温熱直後 X 線	——●——●——
SHR 50 "	LHR 50 "	温熱 50 分後 X 線●.....●.....
SHR 150 "	LHR 150 "	温熱 150 分後 X 線	——●-----●-----
SRH "	LRH "	X 線直後温熱	——▲——▲——
SRH 50 "	LRH 50 "	X 線 50 分後温熱▲.....▲.....
SRH 150 "	LRH 150 "	X 線 150 分後温熱	——▲-----▲-----

結果とまとめ

1) S 系列群の治療成績

Fig.1 は腫瘍の巾が 1.8~3.6 mm の比較的小さい S 系列群の治療成績を表わしている。対照 (SC) と比較すると、すべての治療群に抗腫瘍効果が見られた。つぎに、X 線のみの治療 (SR) を標準に考えると、温熱との併用効果はすべて陽性であり、併用の有用性が示唆された。特に、X 線照射直後 (SRH) ならびに 50 分後 (SRH50) に温熱療法を施した動物は完全に治癒しており、X 線照射後 150 分たってから温熱療法を行った場合 (SRH150) の併用効果は明らかに低くなっていることが解った。これに対して温熱処置後 X 線治療を行った群 (SHR, SHR50, SHR150) はいずれも満足すべき併用効果は期待出来なかつた。但し、S 系列群では温熱単独 (SH) で完全に治癒しており、この点に関して後で述べることにする。

2) L 系列群の治療成績

Fig.2 は腫瘍の巾が 3.8~5.5 mm と比較的大きい L 系列群の治療成績を表わしている。S 系列群の場合 (Fig.1 参照) と同様に対照 (LC) と較べて治療効果はすべての場合に見られた。この場合も X 線のみ (LR) の効果に対して、X 線直後 (LRH) または 50 分後 (LRH50) の温熱療法が最も効果があり、X 線後 150 分 (LRH150) たって温熱を施した場合は治療初期には併用効果が示されたが結局 X 線のみ (LR) と変わらない結果となつた。S 系列群の結果と特に異なる点は温熱効果が著しく低下していることで (LH), この事が併用効果の全てに影響を与えているような結果と云える。温熱直後 X 線治療 (LHR) の異常な結果は実験途中から当該マウスの左側後頭部に腫瘍の転位があり、この転位腫瘍の急速な増殖の影響を受けて早期に死亡したためと考えられる。

木下洋夫

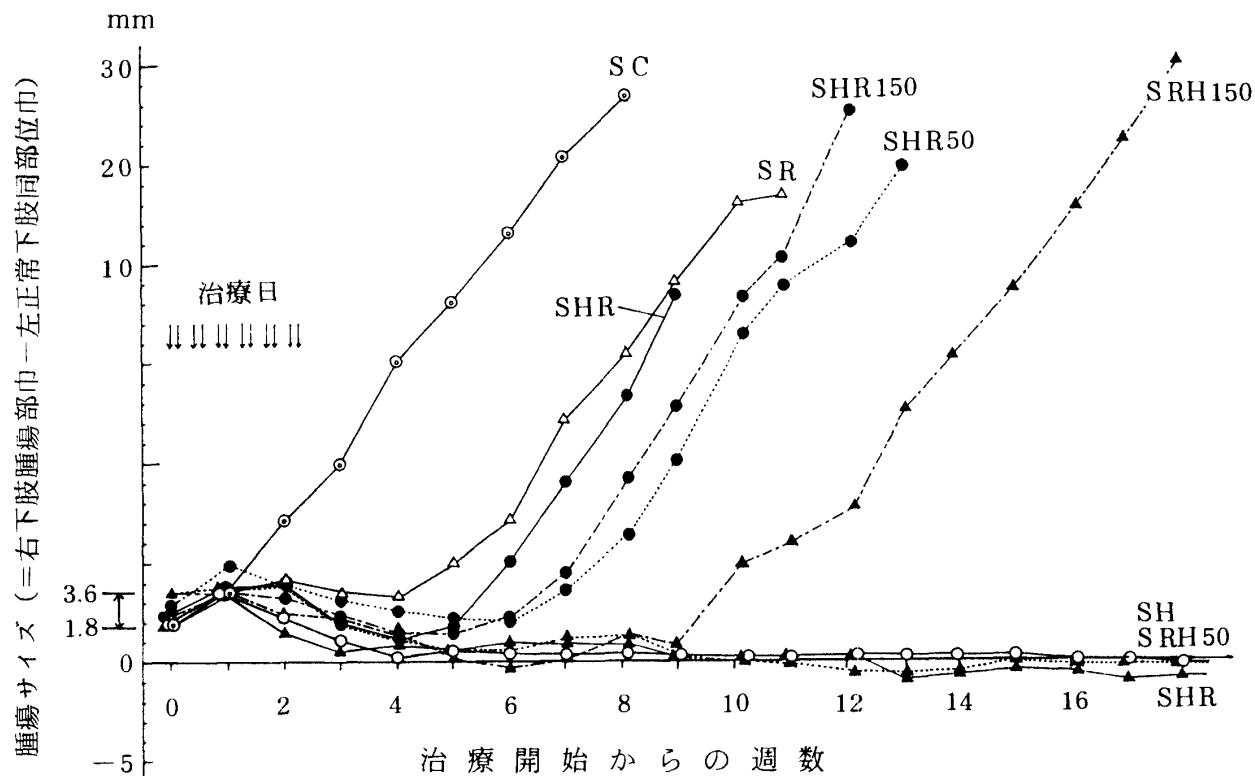


Fig. 1. マウス sarcoma 180 腫瘍 (S 系列: 1.8 ~ 3.6 mm) に対する放射線と温熱の併用効果

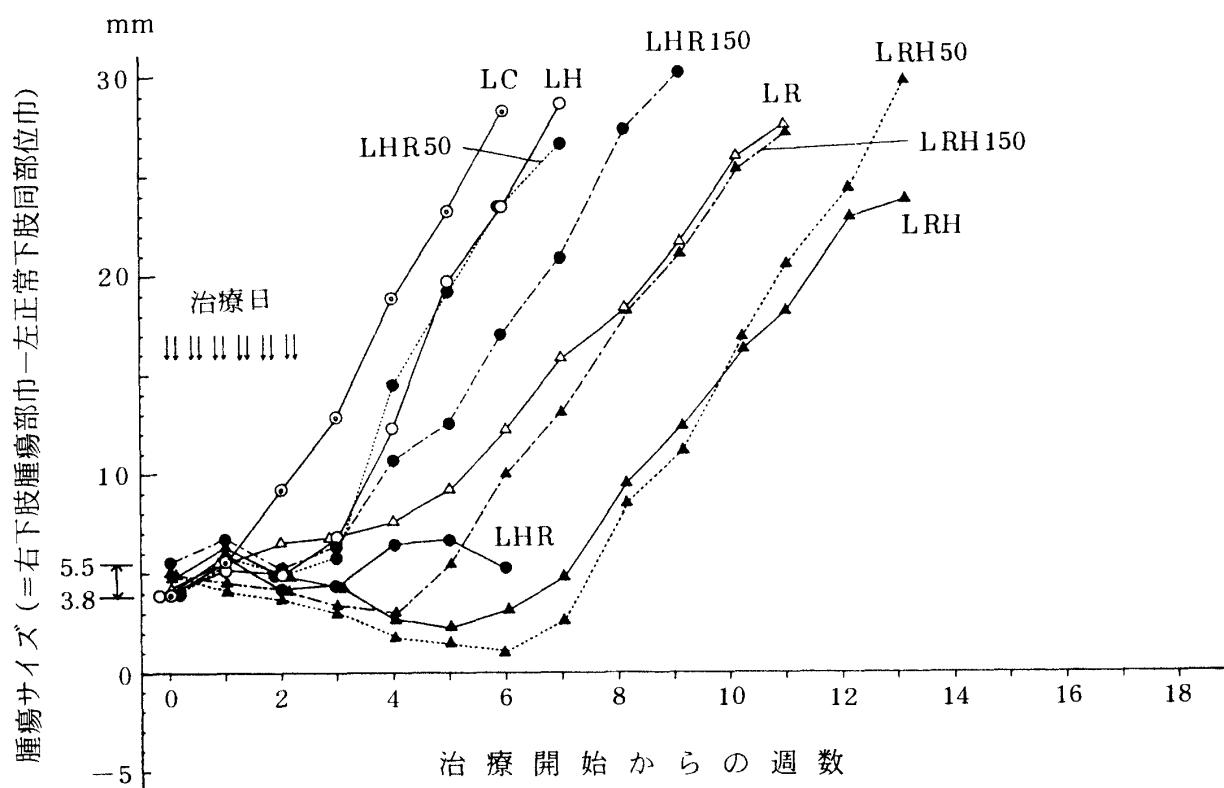


Fig. 2. マウス sarcoma 180 腫瘍 (L 系列: 3.8 ~ 5.5 mm) に対する放射線と温熱の併用効果

抗腫瘍療を見出す際の効率的な実験法（その2）

- 3) S系列群とL系列群の治療成績の比較
小さい腫瘍（S系列群）と比較的大きい腫瘍（L系列群）の治療成績を比較検討してみると、
- ① 放射線治療後に温熱療法を行った場合に相乗的な併用効果が期待出来る。
 - ② 治療開始時の腫瘍が小さければ上記併用効果は劇的に表われる。
 - ③ 放射線治療後直ちに、あるいは遅くとも50分以内に温熱療法を行った場合に著しい併用効果があり、更に間隔が開く（150分の場合）と効果は減少する。
 - ④ 温熱療法だけで完全治癒したSHと同じ治療で著しく効果が落ちたLHの違いは本実験の如く外部から温めて行う温熱療法では腫瘍が少しだけ大きくなるだけで治療効果に大きな影響が出ることを示唆しており、他の治療群を比較した場合にも同様な結論が出せる。

考 察

放射線と温熱がその細胞致死作用において相補的な関係にあることから、悪性腫瘍の治療に両者を併用することは合目的的な手法と云える。その場合、当然のことながら放射線と温熱の順序と間隔が重要な問題となる。

Stewart と Denekamp⁽¹⁰⁾ は transplantable mouse sarcoma を使ってX線処置後42.5°Cの温熱処置が、温熱後X線処置よりもすぐれており、特にX線直後ならびに30分後に温熱処置を行った場合、最も効果が期待出来る結果を示している。Overgaard⁽⁶⁾ の mouse mammary carcinoma を用いた実験でも矢張り、放射線を先きに行つた後温熱療法を施した方が効果が大きいと報告している。また、Gillette と Ensley⁽⁴⁾ は transplantable mammary adenoma を用いて温熱処置中にX線を同時に照射すると治療効果比の上昇が得られたと報じている。しかし、これらに対する反論もある。温熱とX線の順序を変化させてもその効果に差がなかったと Crile⁽²⁾ は述べている。

それでは放射線と温熱の併用を効果の機構面

から考察して見た場合どうなるであろうか。実際の治療では温熱による血流の影響を無視出来ない。腫瘍血流量は41～42°Cの加温直後は増加するが、それ以上では減少し、温熱療法により結果的には血管障害が起きる。^{(3), (8), (9)}

温熱療法を先きに行つと腫瘍内hypoxic fraction が増加して放射線の効果を障害する恐れがある。矢張り、放射線を温熱より先きに施した方が妥当だと考えられる。

一方、臨床では治療の殆どが多分割治療により行われている。Overgaard⁽⁷⁾ は X線 + 4時間 + 温熱で多分割処置により治療効果比の向上を示している。更に、Arcangeli⁽¹⁾ はランダマイズした臨床治験で、X線 + 4時間 + 温熱、週2回治療のプロトコールで、治療効果比の向上を示している。そしてX線処置後すぐ温熱処置を行うプロトコール（週2または3回治療）でも治療効果比の向上を報告している。

以上、過去の主要な研究成果を紹介したが、今回、著者が考案して提唱している簡易スクリーニング法で行った実験結果と比較して、そこに多くの相似点を見出すことが出来る。つまり、今回、著者が行った実験量を先きに紹介した研究者達のそれと比較すると、途中1例を放棄せざるを得ないこともあったが、十分の一にも満たない実験量ではほぼ類似の結論を得たことになる。今後悪性腫瘍の治療法を見出すための研究を行う場合、当然、集学的手段が優先するであろうし、多種多様な併用療法の効果を比較することになるであろう。放射線と温熱、それに薬物療法、さらに免疫療法との組み合わせとなると実験量は幾何級数的に増加することは避けられない。前回の報告⁽⁵⁾を含め著者が今回でも実証したように、各々の腫瘍動物の体重の分布と腫瘍サイズを出来る限り小さな巾に止めて治療を開始すれば各治療法にそれぞれ実験動物一匹で行っても信頼出来る成績が期待出来、前途に寒がる莫大な実験量の中からすぐれた抗腫瘍療法を早期に発見するのに役立つ筈である。

要 約

1) 本研究は悪性腫瘍に対する治療法を開発する場合の実験の簡易化を目指して試みたものである。簡易化のポイントは治療開始時の担腫瘍マウスの体重の分布、腫瘍サイズの巾を出来る限り細かい集団としておくことで、一匹の動物で一つの治療法の検討が行え、少數の動物で多種類の治療法の検討が出来た。

2) マウス sarcoma 180 腫瘍の治療に放射線と温熱を用いて併用効果を検討した。特に両者の順序と間隔の問題をとりあげたが、放射線直後あるいは遅くとも50分以内に温熱療法を施すとすぐれた治療効果が期待出来、温熱を先に行なった場合は概して良くなかった。前記簡易法で行って得たこの結論は過去の多くの研究成果とほぼ一致しており本研究法の信憑性が保証された。

文 献

- (1) Arcangeli, G. et al.: Tumor control and therapeutic gain with different schedules of combined radiotherapy and local external hyperthermia in human cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 9: 1125~1134, 1983.
- (2) Crile, G. Jr.: The effects of heat and radiation on cancers implanted on the feet of mice. *Cancer Res.* 23: 372~380, 1963.
- (3) Emami, B. et al.: Physiological effects of hyperthermia: Response of capillary blood flow and structure to local tumor heating. *Radiology* 137: 805~809, 1980.
- (4) Gillette, E. L. and Ensley, B. A.: Effect of heating order on radiation response of mouse tumor and skin. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 5: 209~213, 1979.
- (5) 木下洋夫: 抗腫瘍療法を見出す際の効率的な実験法(そのⅠ)ー薬物、放射線、温熱併用療法の場合——. *九大医短部紀要* 13: 15~19, 1986.
- (6) Overgaard, J.: The response to combined hyperthermia and radiation of an experimental mammary carcinoma and its surrounding normal tissue. *Br. J. Radiol.* 51: 935~936, 1978.
- (7) Overgaard, J.: Fractionated radiation and hyperthermia: Experimental and clinical studies. *Cancer* 48: 1116~1123, 1981.
- (8) Song, C. W. et al.: The effect of hyperthermia on vascular function, pH, and cell survival. *Radiology* 137: 795~803, 1980.
- (9) Stewart, F. and Begg, A.: Blood flow changes in transplanted mouse tumors and skin after mild hyperthermia. *Br. J. Radiol.* 56: 477~482, 1983.
- (10) Stewart, F. A. and Denekamp, J.: The therapeutic advantage of combined heat and X-rays on a mouse fibrosarcoma. *Br. J. Radiol.* 51: 307~316, 1978.