

抗腫瘍療法を見出す際の効率的な実験法(その3) : マウス固型腫瘍に対する放射線+温熱療法に併用する 薬物の投与時期

木下, 洋夫
九州大学医療技術短期大学部一般教育

<https://doi.org/10.15017/177>

出版情報 : 九州大学医療技術短期大学部紀要. 15, pp.23-30, 1988-03-28. 九州大学医療技術短期大学部
バージョン :
権利関係 :

抗腫瘍療法を見出す際の効率的な実験法（その3）

—マウス固型腫瘍に対する放射線+温熱療法に併用する薬物の投与時期—

木下 洋夫*

An Efficient Experiment in Discovering Antitumor Treatment (III)

— The Administration Time of a Drug Combined with Radio-Hyperthermotherapy on a Mouse Solid Tumor —

Nadao Kinoshita

緒言

悪性腫瘍に対する理想的な治療とは、宿主に何ら侵襲を加えることなく、腫瘍組織のみを選択的に攻撃し、これを完全に壊滅させるものであろう。しかし、腫瘍細胞の性質が宿主正常細胞と似通っているため、このような理想的な治療法を見つけ出すことは可成り困難なことと思える。これに 대응するために現在は外科療法、放射線療法、温熱療法、薬物療法、免疫療法などの個々に発展してきた治療法の利点を生かして強力な抗腫瘍効果を編み出そうとする集学的治療法に関心が注がれている。

本研究はマウスの固型腫瘍を用いて放射線、温熱、薬物の三者併用療法の検討を行ったものである。悪性腫瘍に対する理想的な治療法を見出すために著者が考案して、2年前から採用している簡易スクリーニング法⁴⁾⁵⁾により放射線照射直後温熱療法を施す治療³⁾に併用して、さらに抗腫瘍効果をあげる目的で、薬物の投与時期を検討して見たので報告する。薬物には著者がこれまで使用して来た副作用の少ないUFT (Tegafur 製剤 → masked 5-FU)を用いた。

実験材料と方法

1) 腫瘍動物の調製

SPFでSlc:ICR系マウス(静岡実験動物

研究所)の雌性、5週齢、体重20~22gを48匹入手し、実験動物室でさらに2週間飼育した後、体重が27~29g台の24匹を選び、以下の実験に供した。別途、マウス sarcoma 180腹水系腫瘍細胞を7日毎に同種マウスの腹腔内に移植継代し、継代1週目の細胞の 2×10^6 個を10 μ lの滅菌生食水懸濁液として、上記24匹のマウスの右下肢に移植した。マウスに腫瘍細胞を移植する際にネンブタール注射液(アボツトラボラトリー製)を滅菌生食水で10倍に希釈して、その0.25mlを各マウスの腹腔内に注入し、麻酔後マイクロシリンジを用いて腫瘍細胞の移植を行った。腫瘍移植後9日目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で見立てて体重30~32g台で腫瘍サイズ3.2~5.2mm巾の12匹を選び治療実験に用いた。実験動物室は常時21~24 $^{\circ}$ Cを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)は1日のうち午前9時から午後6時まで飼育ケージから外して絶食させ飼育した。水は自由に与えた。

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

*九州大学医療技術短期大学部一般教育

た。この際、腫瘍部と尾部以外の部分は厚さ 3 mm の鉛板で庇護した。

3) 温熱処置

シマデン卓上型精密温度調節器 (型式 DSM 0210 P 6207) とワトローシリコンラバーヒーター (1×10inch, 120V, 50W) を組み合わせて製作した自家製の温熱治療器を用いた。腫瘍部に温熱を施した時間は25分であったが、治療温度を41.0~43.0°C と考えた場合、治療開始から10分たつて治療温度に到達し、さらに15分温熱療法を施行したことになる。

4) 薬物の調製と投与量

a) UFT 投与の場合。UFT カプセル (大薬品工業株式会社試供品) から350mg の粉末 Tegafur 量として108mg に相等) を採取し、乳、で corn oil と共に摺りつぶし、7.2ml の乳濁液とする。これに温水で溶かして作った10%ゼラチン (SIGMA 社の calf skin からのもの) 溶液14.4ml と、同じく温水で溶かして作った20%デキストリン (SIGMA 社 type III) 溶液14.4 ml を加え、ミキサーで乳状液剤とする。これを5~6ml づつに分けて常時は冷蔵庫に保存しておき、凝固したものを用时に50°C に温めて融解し、再度ミキサーで均一乳状液剤としたものを1回につき0.1ml づつを経口投与した。体重30g のマウスに換算すると、Tegafur 量にして10mg/kg の投与量に値する。b) 薬物を投与しない動物の場合。上記と同じ方法で UFT を加えないで調製した乳状液剤を同様保存、0.1ml を経口投与した。

5) 各種治療法と効果判定

治療法は放射線照射直後温熱療法施行 (以下、放射線+温熱と略す) の直前、1時間前、3時間前、6時間前に UFT を投与した場合と放射線+温熱直後、1時間後、3時間後、6時間後に UFT を投与した場合を設けた。この他に放射線+温熱のみ、UFT のみ、対照無処置を設けて効果判定にあてた。実験は簡易スクリーニングの段階として、それぞれ一匹の担腫瘍マウスで行った。治療日と治療回数は Fig.4 と Fig.5 の中に示してある。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0.1mm 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.4 ならびに Fig.5 のグラフ中で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) に動物が腫瘍のため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21週目で中止した。

結果とまとめ

1) 治療実験に用いる担腫瘍マウスの選別

実験動物業者より5週令で体重20~22g の中のマウス48匹を購入して、さらに2週間、当実験動物室で飼育して体重の測定を行った結果を Fig.1 に示した。棒グラフ斜線は0.5g 単位で分けた場合の匹数で、棒グラフ白枠は1g 単位で分けた場合の匹数の分布である。成長が極端に遅いマウス (20g と24g) と極端に早いマウス (34g と35g) がいることが解る。Fig.1 は腫瘍移植用マウスの24匹が27g 台10匹、28g 台12匹、そして29~29.5g が2匹で構成されていることを表している。Fig.2 は先に選んだ生後7週齢、体重巾27~29.5g の24匹に sarcoma 180 腫瘍細胞の 2×10^6 個を右下肢に移植して9日目の腫瘍サイズと体重の分布を表しているが、Fig.1 で示した如く生後7週齢のマウスの体重巾を27~29.5g の2.5g に制限したグループ24匹が、その後9日して、さらに27~33g と7g の巾に分散していることが解る。図中、線グラフは腫瘍の大きさを表しているが、簡易スクリーニング法を施行するとき最も重要なポイントである体重と腫瘍の大きさをできる限り揃えるため、体重が30~32g 台で腫瘍サイズ3.2~5.2 mm 巾を持つ12匹の担腫瘍マウスを次の抗腫瘍実験に用いることにした。

2) 温熱治療器の昇温状態

前回⁴⁾⁵⁾ まではスライダックトリボンヒーターの組み合わせで製作した温熱治療器を用いていたが温度調節もマニュアル形式で調節の中も40.5~43.5°C と3°C で幾分不満であった。今回は精度の高い自動温度調節器を使用したので可成り

Table 1 抗腫瘍実験に用いた動物の治療法と Fig.4, Fig.5 中の表示法

実験動物の符号	治療法	Fig.4 Fig.5 中の表示法	実験動物の符号	治療法	Fig.4 Fig.5 中の表示法
C	無処置 (対照)	—◎—◎—	6BRH	RH 6 時間前 UFT	---△---△---
D	UFT のみ	—○—○—	ARH	RH 直後 UFT	—■—■—
RH	放射線照射直後温熱	—●—●—	1ARH	RH 1 時間後 UFT	—□—□—
BRH	RH 直前 UFT	—▲—▲—	3ARH	RH 3 時間後 UFT	---□---□---
1BRH	RH 1 時間前 UFT	—△—△—	6ARH	RH 6 時間後 UFT	---□---□---
3BRH	RH 3 時間前 UFT	---△---△---			

対照を含めて各種治療法には担腫瘍マウス 1 匹があてられており、先に、抗腫瘍実験に使用するために選んだ 12 匹のマウスのうち 1 匹が事故死をし、総計 11 匹を使用した。

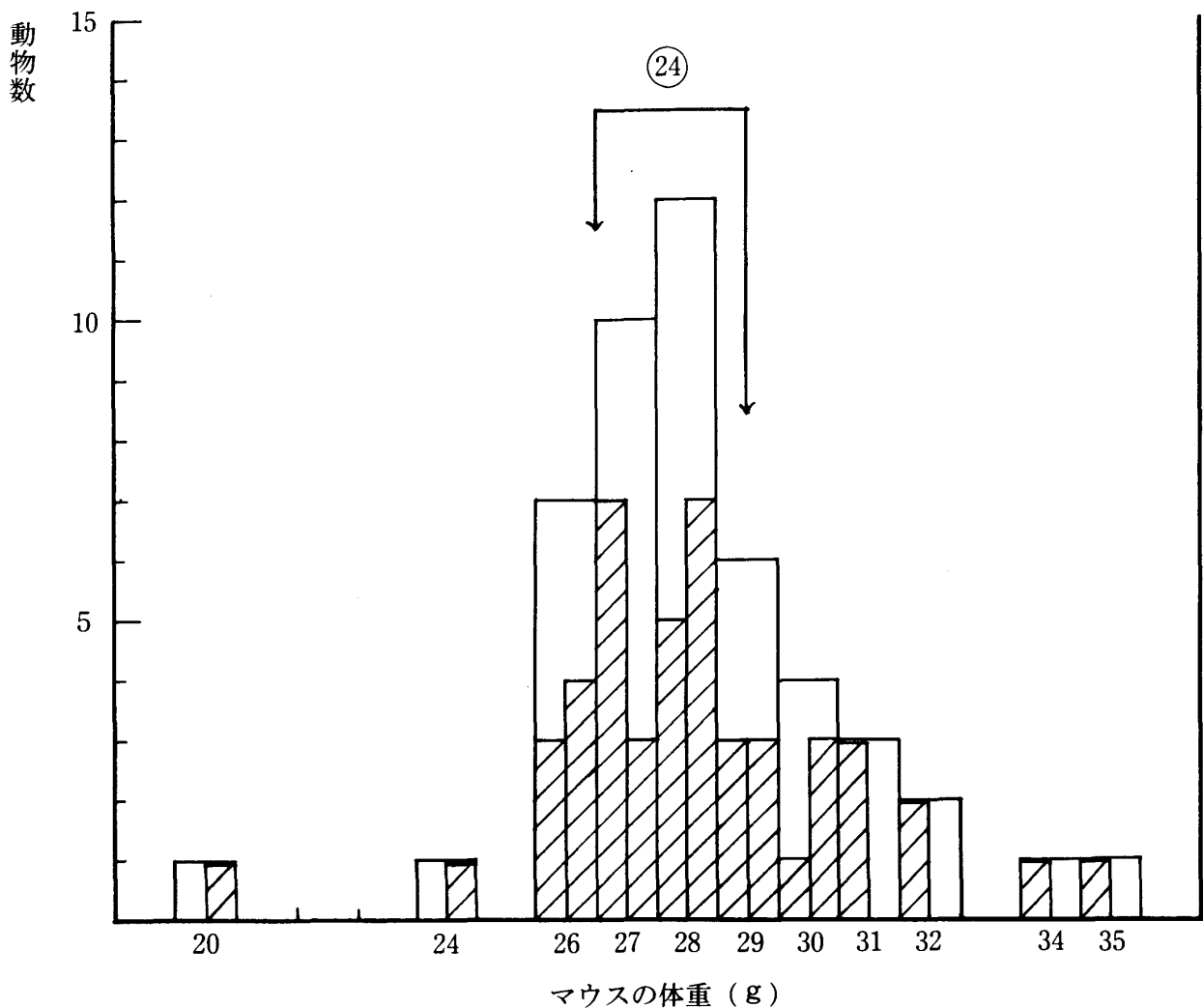


Fig.1 7 週齢時におけるマウス (48 匹) の体重分布と腫瘍移植用マウスの採択

斜線棒グラフは 0.5g 単位、白棒グラフは 1g 単位分割で表わした動物数。
○内数値は腫瘍の移植に用いたマウス数。

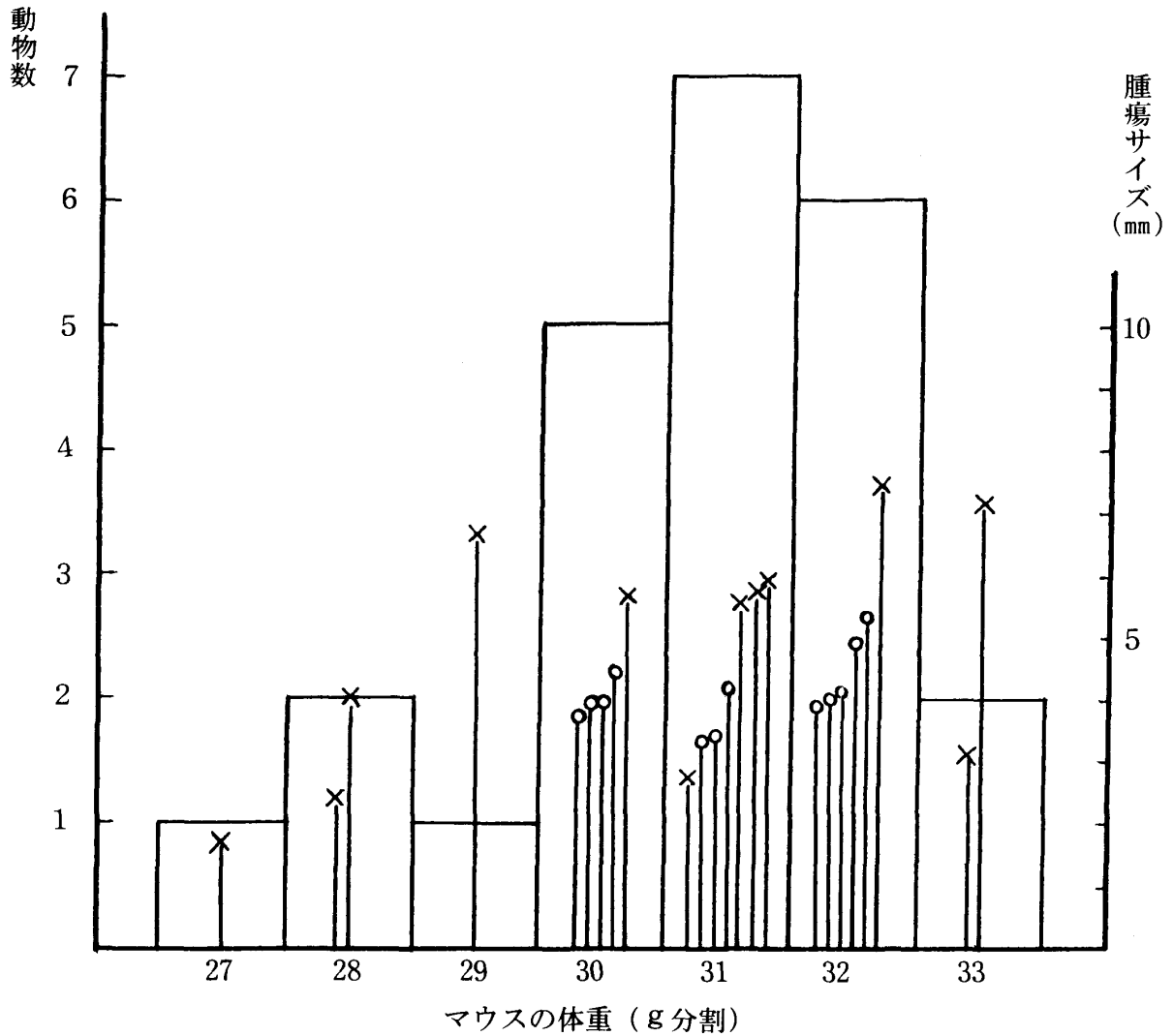


Fig.2 腫瘍移植マウス (24匹) の体重と腫瘍サイズの分布, ならびに治療用マウスの採択

白棒グラフは動物数, 線グラフは腫瘍サイズを表わしている。
○印は抗腫瘍実験に用いたもの。×印は廃棄したもの。

の精度で温熱治療ができた。Fig.3 は治療部位に温度計を挿入して昇温状態をしらべたものである。2台の使用温熱治療器の昇温状況を表しているが治療時間が25分で有効治療時間15分 (41~43°C) を示している。

3) 放射線+温熱以前に UFT を投与した場合の治療効果

放射線と温熱の併用による治療は隔日に施行し, 10回行った。さらに UFT を併用する場合はその直前 (BRH), 1時間前 (1BRH), 3時間前 (3BRH), 6時間前 (6BRH) の4種類を検討した。併用療法日以外の日は必要なもの

だけに UFT を正午に投与し, 全部で20日間の治療計画をすませた。Fig.4 はそれらの治療成績を示している。放射線+温熱のみ (RH) が最も効果があり, 先に UFT を与えた後で放射線+温熱による治療を行ったマウスのすべてが効果減であった。前回⁴⁾ 同様, 薬物だけ (D) の場合は対照 (C) とあまり差は見られなかった。

4) 放射線+温熱以後に UFT を投与した場合 Fig.5 で解るように放射線+温熱のみ (RH) の抗腫瘍効果と較べて UFT を1時間後に投与したマウス (1ARH) は抗腫瘍効果, 延命効果のいずれも上がっており, 6時間後に UFT を

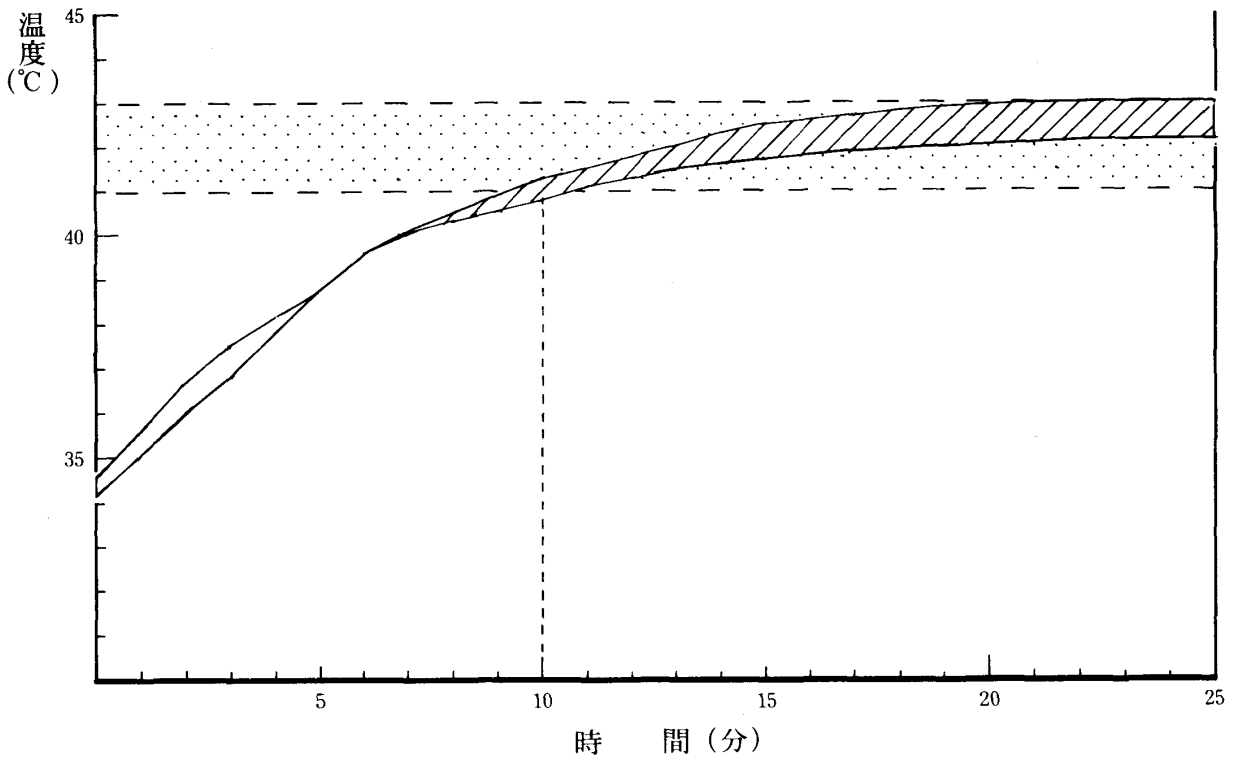


Fig.3. 温熱治療器の昇温状態

は治療有効温度巾を示している。

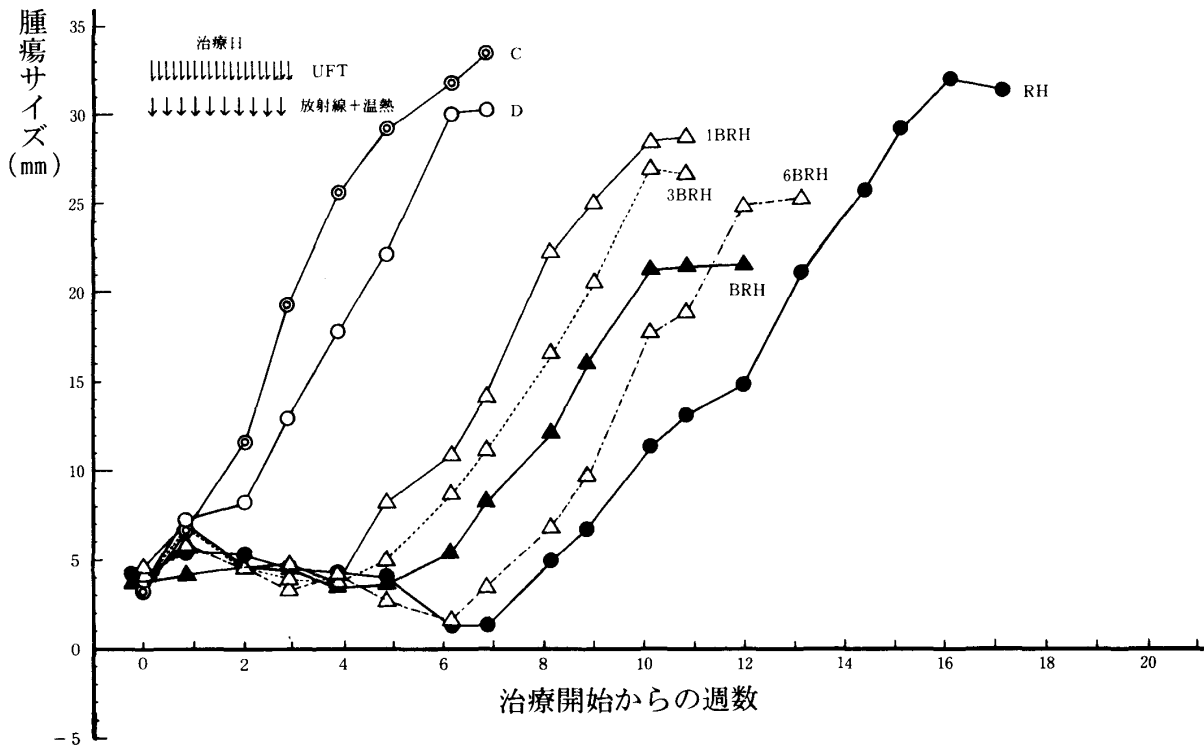


Fig.4 放射線+温熱療法前に UFT を投与した場合のマウス sarcoma 180腫瘍に対する治療効果

図中の符号・表示法については Table 1 を参照

併用したマウス (6ARH) は完全に治癒した。直後 (ARH), 3 時間後 (3ARH) に UFT を併用した場合には効果が抑えられた結果となった。確かにこの実験の動物数では ARH 効果減, 1

ARH 効果増, 3ARH 効果減, 6ARH 効果激増とは云いきれないが, Fig.4 と Fig.5 を比較して明らかに UFT の前投与と後投与の違いがあることは理解出来る。

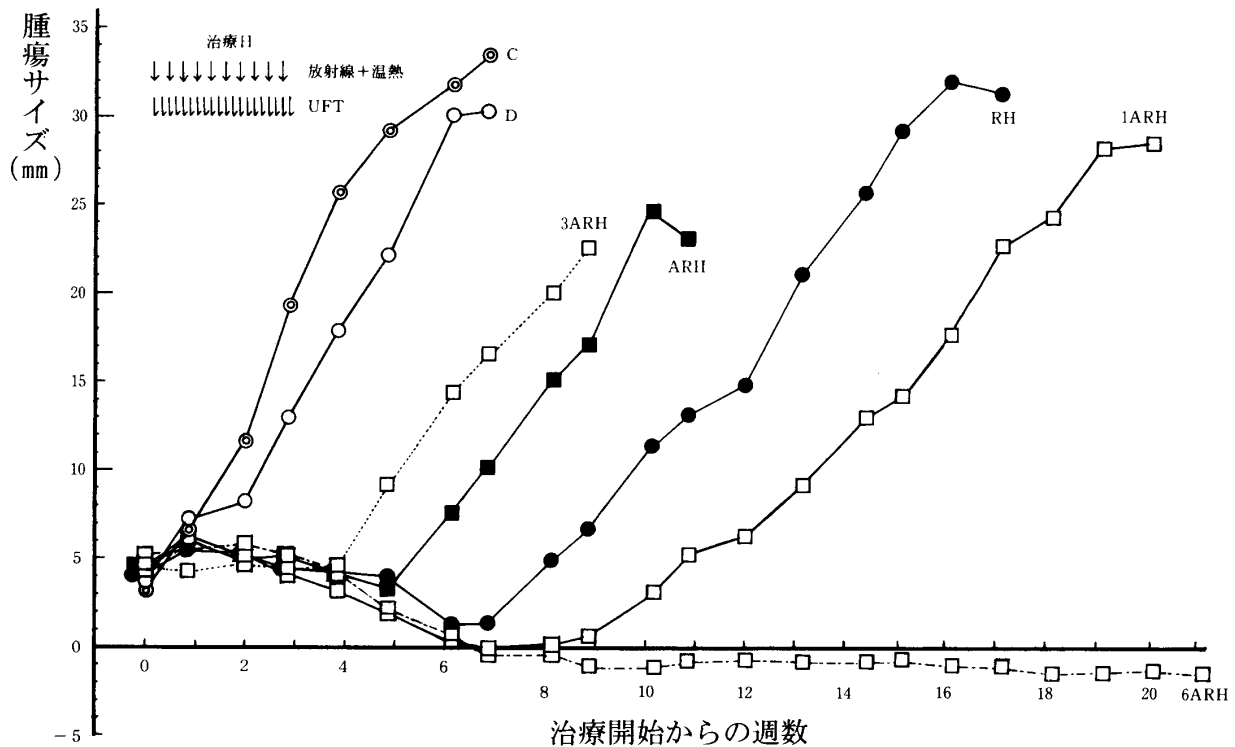


Fig.5 放射線+温熱療法後に UFT を投与した場合のマウス sarcoma 180腫瘍に対する治療効果

図中の符号・表示法については Table 1 を参照

考 察

本研究は悪性腫瘍に対する放射線, 温熱, 薬物の三者併用療法をとりあつたもので, 特に各治療法の順序と間隔がもたらす効果の検討をした。悪性腫瘍に対して温熱療法が本格的にとり上げられて日も浅いが, 制癌に対する緊急必要性から放射線との併用あるいは薬物との併用例は比較的多数見ることができる。しかし, 放射線, 温熱, 薬物の三者併用療法となると報告は極めて少ない。Sugimachi 等¹⁰⁾は食道癌患者13名に対し外科的切除の前に Co⁶⁰ 照射 (1~1.5Gy) 後, 温熱療法 (42~43°C/30分) を施行し, 同時にブレオマイシン (5 mg) を静注し, これを各患者に 4 回から 10 回行って著しい治療効果の進歩を見た。甲斐³⁾はマウス Ehrlich

癌に対して温熱, ブレオマイシン, X線の三者併用がそれぞれの二者併用のどれよりも高い生存率が得られたと述べている。in vitro の実験で松岡等⁶⁾も腫瘍細胞の性格を有する株化細胞 V-79 に対する生存率が 42°C, 60分 で 50%, ブレオマイシン 0.02 μg/ml で 30分間処理で 89%, X線量 2 Gy で 71%であったが三者併用では 11% という相乗効果を得た。最近, 藤村等²⁾により温熱, 薬物, 放射線療法で切除可能となった頭頸部腫瘍の 3 症例の報告があった。このように悪性腫瘍に対する三者併用のすばらしい効果が認められつつある。だが, 併用療法の際の各治療法の順序と間隔については殆ど検討されていない。甲斐はその報告³⁾の中でブレオマイシンと 2 Gy の X線の二者同時併用に対し種々な時

間的 timing で温熱療法を併用したところ、Ehrlich癌に対し最も強力な抗腫瘍効果が見られたのは三者の同時併用の場合であり、温熱のこれら二者に対する増感効果は併用時間が2時間以内の場合に認められたが、4時間以上の間隔では加温を併用しない場合とほぼ等しい抗腫瘍効果が得られたにすぎなかったと述べている。現在悪性腫瘍に対する放射線と温熱の併用療法について、それらの順序と間隔のスケジュールは殆ど決まっている。放射線照射を先に行い、直後もしくはなるべく短い間隔で温熱療法を施行することが望ましい¹⁾⁵⁾。放射線+温熱併用療法がこの様に比較的早期にスケジュールが決まったことについて、著者はそれらがいずれも物理的な局所療法のためであると考えている。放射線と薬物⁷⁾あるいは温熱と薬物⁸⁾の併用の場合は可成り複雑である。使用される薬物は抗癌剤や増感剤であるが、①種類が多い、②作用点異なる、③全体に影響を及ぼす等、薬物の多種多様性が原因と考えられる。本研究では一応薬物を副作用の少ないUFTときめて放射線+温熱療法に併用を試みたわけであるが、Fig.4とFig.5から解るようにUFTを前に投与するより後で投与した方が良さそうである。勿論、実験動物が各治療法につき一匹づつと云う簡易スクリーニング法の結果であり、このまま臨床に応用することは問題があるかも知れない。他に例が全く無くて直接比較検討のしようがない。ところで、UFTの有効成分は5-FUであることは良く知られているが、ここに放射線と5-FUの併用による抗腫瘍効果についてVietti等¹¹⁾とNakajima等⁹⁾の大変興味ある報告がある。Vietti等がin vivoにおけるleukemic cellsに対するcytotoxicな効果を放射線と5-FUの併用順序と間隔でしらべたところ、放射線照射後8時間以内に5-FUを投与した場合に最強の相乗効果が出現し、照射前に5-FUを投与した場合は相乗効果が可成り落ちると報告している。又、Nakajima等もin vitroではあるがマウスL-cellsを用いてX線と5-FUによるcytotoxicな効果をしらべ、放射線照射の後に

5-FUで処置した方がその逆の場合より遥かに効果的であったと報告している。著者のこの度の研究では放射線照射に温熱療法を加えていること、5-FUのかわりにUFTを用いている点でVietti等やNakajima等の研究と異なるが作用の面から眺めると放射線と放射線+温熱、そして5-FUとUFTとは非常に似たものと考えられることができる。著者が行ったsarcoma 180腫瘍に対する三者併用による治療成績がVietti等やNakajima等の結果と無関係とは思われない。著者が本報のような簡易法により抗腫瘍療法を検討した研究はこれで3度目である⁴⁾⁵⁾。得られた結果と結論はいずれも過去の多くの報告と差程違ってない。今後、悪性腫瘍に対する集学的併用療法を検討する場合、特に薬物の多種多様性を考えるとき、検討事項の激増は避けられない。本研究法のような簡易法を駆使して検索を行い早く理想的な治療法を見出すことを願っている。

要 約

マウス sarcoma180固型腫瘍に対する放射線・温熱・UFT (Tegafur 製剤) の三者併用効果を検討した。

実験は著者が考案し、開発した簡易スクリーニング法で行い、放射線照射直後温熱療法に併用するUFTの投与時期での治療効果の違いを取り扱った。

結果はUFTを放射線+温熱療法の後に投与した方が前に投与した場合より勝れていた。放射線・温熱・UFTによる併用療法の報告は他に見当らず、本実験の成績を直接比較評価することはできなかったが、放射線と5-FUの二者併用を検討した過去の信頼出来る成績と一致し、悪性腫瘍に対する集学的併用療法での各種治療法の順序と間隔の重要性を示唆できた。

謝 辞

腫瘍の移植ならびに腫瘍サイズの測定に惜しみなく協力を頂いた九州大学大学院研究科博士課程澤原英幸院生に深く感謝の意を表します。

文 献

- (1) 柄川 順：温熱療法と放射線治療。柄川 順 編：癌の臨床別冊，新版／癌・放射線療法，231-239，篠原出版，東京，1987.
- (2) 藤村 隆，他：温熱・化学・放射線療法により切除可能となった頭頸部腫瘍の3症例，日癌治，22，1322-1327，1987.
- (3) 甲斐秀信：悪性腫瘍に対する高温・化学・照射療法に関する基礎的研究，日外会誌，86，901-911，1985.
- (4) 木下洋夫：抗腫瘍療法を見出す際の効率的な実験法（その1）—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.
- (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2）—マウス固型腫瘍に対する放射線と温熱の併用効果—。ibid.，14，29-33，1987.
- (6) 松岡秀夫，他：高温・化学・照射療法に関する実験的研究，癌と化学療法，13，536-541，1986.
- (7) 宮本忠昭，寺島東洋三：放射線と化学療法の併用。柄川 順 編：癌の臨床別冊，新版／癌・放射線療法，55-69，篠原出版，東京，1987.
- (8) 水野左敏：温熱療法による化学療法効果増強。山村雄一，杉村 隆 監修：凶説臨床〔癌〕シリーズ，No.1 癌化学療法の進歩，202-206，メジカルビュー社，東京，1986.
- (9) Nakajima, Y. et al.: Enhancement of Mammalian Cell Killing by 5-Fluorouracil in Combination with X-Rays. *Cancer Res.*, 39 : 3763-3767, 1979.
- (10) Sugimachi, K. et al.: Preoperative Hyperthermo-Chemo-Radiotherapy Effective for Carcinoma of the Esophagus. *J. Surg. Oncol.*, 27 : 199-204, 1984.
- (11) Vietti, T. et al.: Combined Effect of X Radiation and 5-Fluorouracil on Survival of Transplanted Leukemic Cells. *J. Nat. Cancer Inst.*, 47 : 865-870, 1971.