

加温による舌血流量の変化についての実験的研究

大部, 一成
九州大学歯学部口腔外科学第1講座

<https://doi.org/10.15017/7333735>

出版情報：福岡醫學雑誌. 84 (12), pp.497-511, 1993-12-25. Fukuoka Medical Association
バージョン：
権利関係：



原 著

加温による舌血流量の変化についての実験的研究

九州大学歯学部口腔外科学第1講座(指導: 田代英雄教授)

大 部 一 成

Experimental Studies on the Effect of Heating on Blood Flow
in the Tongue of Golden Hamsters

Kazunari OOBU

*First Department of Oral and Maxillofacial Surgery (Chief: Prof. H. Tashiro),
Faculty of Dentistry, Kyushu University 61, Fukuoka 812.*

The effect of hyperthermia on the tongue of hamsters was evaluated histologically and by measuring blood flow.

The dorsal tongue surface of the male mature golden hamster was heated at 41°C-45°C (surface temperature) by 2450MHz microwave for 60 min, and the regional blood flow was measured using the hydrogen clearance method at 6, 24, 42, and 60 min during heating.

When heated at 41°C (9 animals), 42°C (11 animals), 43°C (8 animals), 44°C (8 animals), or 45°C (8 animals), the temperature of the measurement at 0.5 mm deep from the tongue surface was $38.4 \pm 1.0^\circ\text{C}$, $39.3 \pm 0.6^\circ\text{C}$, $40.2 \pm 0.6^\circ\text{C}$, $40.8 \pm 0.5^\circ\text{C}$, or $43.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ (Mean $\pm$ S. D.), respectively. In the groups heated at 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, the blood flow was significantly increased at the first measurement (6 min) and remained elevated during heating. The blood flow was further increased during the second heating which took place after a 2 hour interval. The group heated at 45°C showed a gradual decrease in the blood flow after the initial increase. The second heating induced a slight increase to a lower blood flow than the control.

Histologically, dilation and congestion of venules, hemorrhage, interstitial edema in the musculature, and swelling of muscle fibers were found. Dilation, congestion, and rupture of capillaries beneath the mucosal epithelial layer were found also. These damages were more severe with an increase in heating temperature and duration. Additionally, thromboses were found in the group heated at 45°C which was examined 2 hours after heating. The heated part was necrosed in every case heated at 45°C.

These results suggest that the critical surface temperature at which the tongue of hamsters receive irreversible damage lies between 44°C and 45°C.

key words: Hyperthermia, Tongue, Hamster, Blood flow, Microwave

緒 言

癌に対する温熱療法は手術, 放射線療法, 化学療法に次ぐ治療法として注目されており, 最近は口腔領域においてもいくつかの臨床成績が報告されるようになって²²⁾³⁰⁾⁴³⁾いる。

温熱の抗腫瘍効果について, 個々の細胞を比較した場合には正常細胞と腫瘍細胞とで温熱感受性に差はな

い⁶⁾³²⁾といわれている。しかし, 組織として考えた場合には腫瘍組織は正常組織に比べて熱に対する感受性が高い。この点において血流や血管系が重要な役割を果たしており, 腫瘍の場合, 血管密度が低く血流の分布も不均一であるために⁴¹⁾, 低血流, 低酸素状態である。その上, 急速に発達した血管は内皮細胞が脆弱で平滑筋を欠き不規則に屈曲している。したがって温熱が与えられた時, 正常組織では血流量は増加し冷却作用が

働くのに対し、腫瘍組織では血流量の増加による冷却が不十分なために熱が蓄積してゆく³⁹⁾。さらに低酸素状態に伴う低 pH、低栄養という腫瘍の環境も組織の熱感受性を強める¹⁴⁾といわれている。

このように温熱療法は腫瘍に特異的な治療方法であるが、加温の際には通常、周囲正常組織も加温領域に含まれ、ある一定の温度を越えた場合には正常組織も障害を受けることとなり、治療を制限する因子となる。一般に加温を行うと局所の血流量は増加するが、ある一定の温度以上では加温中に血流量が減少しはじめることが指摘されている。正常組織ではラットやマウスの足の筋肉や皮膚を加温したときの血流量の変化については今までにも報告がある³⁶⁾⁴⁰⁾⁴⁴⁾が、血流量が増加から減少に転じる時の温度については報告者によりまちまちである。

また、舌癌に対する温熱の効果について興味があるが、それにはまず正常な舌における所見を知る必要があると考える。

さらに、加温後にみられる組織学的な変化については光顕¹⁰⁾¹⁷⁾²³⁾²⁴⁾²⁹⁾、電顕³⁾⁵⁾¹³⁾¹⁶⁾、血管造影²⁷⁾²⁸⁾³³⁾などの方法を用いて検討されているが、加温中に血流量が減少に転じる時の血流量の変化と組織学的な変化との関係についてはいまだ明らかにされていない。

そこで、本研究では舌癌のモデル¹¹⁾¹²⁾³⁵⁾として用いられているハムスターの正常舌をマイクロ波で加温を行い、加温中、加温後の血流量を測定し、さらに再加温を行うことと組織学的に検索することにより、血流に影響を与える非可逆的变化を起こす温度を検討した。

材 料 と 方 法

1. 動物

実験には6～13週齢の成熟雄ゴールデンハムスターの舌を用いた。飼料は日本クレア社製 CE-2 固形飼料を、また飲料水は水道水を常時与えた。

2. 加温装置およびアプリケータ

加温には2450 MHz マイクロ波加温装置（アロカ社 HMS-015）を用いた。アプリケータは既製の直径2 mm、長さ40 mm のもれ同軸型アプリケータ（アロカ社 HTA-2450-5-1）を屈曲させて、長径18 mm、短径8 mm の「U」字形にしたものを用いた。

3. アプリケータの加温特性の測定

アプリケータの加温特性を調べるためにまず厚さ2 mm のハムファントムをアプリケータの上に置き、加温した時のファントム表面の温度分布を赤外線サーモグラフィー装置（日本電子 Thermo viewer JTG-

3310）にて観察した。

次にハムスターを多量のエーテルで屠殺し、心停止直後の血流のない状態の舌を加温しながら深さ0.5 mm の面で舌の長軸方向に2 mm 間隔で温度センサーの引き抜きを行い、温度分布を測定した。引き抜き実験には針状の温度センサー（センサーテック社 MT-29/5）を用いた。

測定は舌背表面温度41°C（4匹）、42°C（4匹）、43°C（3匹）、44°C（5匹）、45°C（3匹）で行った。

4. 加温方法

動物実験においては把持部が平坦なピンセットの内面にアプリケータを取りつけ、そのピンセットで舌を強く圧迫しないようにはさみ、加温を行った（写真1）。加温時間は設定温度に達してから60分間とした（図1）。2回加温を行う場合には1回目の加温後120分間の休止を行い、さらに60分間の加温を行った。

5. 温度測定

温度の測定には銅-コンスタンタン熱電対を用いた。舌背面に接するアプリケータ表面の最も高温となる点、およびこの点に対応する舌下面の表面に温度センサーを設置し、それぞれ舌背表面温度、および舌下面表面温度とした。また、舌背粘膜直下深さ0.5 mm に直径0.4 mm、長さ20 mm の温度センサー付き血流計関電極（写真2）を舌尖から刺入し、関電極先端部の温度センサーによって測定された温度をもって舌内血流測定点の温度（以後、舌内部温度とする）とした。また、加温装置に付属している温度記録計によりこれら3点の温度を連続的に記録した。加温装置の出力はアプリケータに接する舌背の温度を一定に保つため、舌背面に設置した温度センサーの温度により制御し、この温

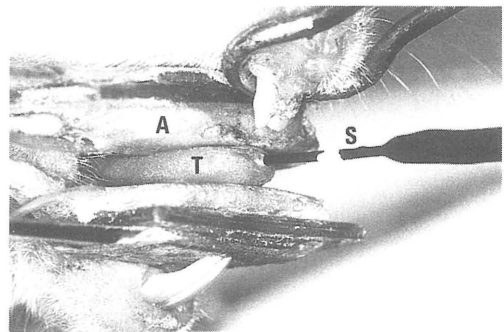


写真1 ハムスターの舌にアプリケータを密着させて加温を行う。
A：アプリケータ S：温度センサー付き血流計関電極 T：舌

表1 血流量の変化 (平均値±標準偏差)

		41 °C(n=9)	42 °C(n=11)	43 °C(n=8)	44 °C(n=8)	45 °C(n=8)
加 温 前 ①		29.18± 9.35	23.25± 6.19	22.75± 8.23	24.46± 6.64	24.51± 8.22
1 回 目 加 温	6 分 ②	67.16±17.46	57.74±14.91	54.89±14.65	56.89±14.21	58.98±12.73
	24 分 ③	62.87±10.59	56.91±11.24	54.58± 7.26	69.70±14.69	57.25±15.26
	42 分 ④	58.59±11.00	56.88± 9.97	54.21± 7.98	70.15±10.51	51.00±21.67
	60 分 ⑤	60.16±10.20	60.26±11.60	56.21± 9.03	69.30±11.33	37.39±13.39
加 温 休 止 中	⑥	27.39± 7.01	25.85± 6.53	24.31± 7.55	26.93± 6.24	28.80± 9.64
	⑦	24.37± 7.52	19.41± 3.80	17.70± 5.64	22.50± 4.32	22.11± 9.38
	⑧	23.00± 6.70	17.33± 3.91	17.63± 4.49	16.43± 2.74	17.38±11.18
	⑨	21.13± 7.17	15.48± 4.47	13.74± 5.15	16.98± 2.86	15.28± 7.08
	⑩	18.04± 6.61	13.95± 3.20	12.26± 2.37	13.48± 2.60	11.64± 7.36
	⑪	18.06± 8.57	12.73± 3.74	11.08± 1.41	13.15± 0.85	11.91± 8.66
2 回 目 加 温	6 分 ⑫	59.08±15.49	44.36±13.27	48.58± 9.73	45.54±10.78	15.71±11.07
	24 分 ⑬	62.53±18.10	46.25±11.27	45.61± 9.67	53.89±14.13	15.13±11.05
	42 分 ⑭	58.07±10.83	46.80±10.95	46.60± 7.11	54.90±12.49	11.10± 7.82
	60 分 ⑮	56.71± 9.53	43.13±11.49	47.88± 9.01	54.96±13.23	9.01± 6.14
加 温 後 ⑯		30.21± 8.56	21.44± 7.96	22.40± 5.84	22.13± 6.91	8.38± 8.19

①～⑯は図1の番号に対応する。

温を行う場合にはその休止中にも6回(20分間隔)の血流量の測定を行った(図1)。

7. 実験群

1) 2回加温群

設定温度は舌背表面温度で41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°Cの5群に分け, 各実験群にそれぞれ9, 11, 8, 8, 8匹のハムスターを用いた。また, コントロール群として温度センサー付き関電極を刺入したのみの群(5匹)を設けた。

2) 加温中摘出群

舌背表面温度44°Cと45°Cにおける組織障害の違いを検討するために各設定温度において1回目の血流測定直後(6分間加温), 2回目の血流測定直後(24分間加温), 3回目の血流測定直後(42分間加温), 4回目の血流測定直後(60分間加温), および60分間加温し120分間常温に置いた後に舌を摘出し, それぞれの組織障害を検討した(各3匹 計30匹)。

8. 病理組織学的観察

2回加温群では加温後経時的に舌の肉眼所見の変化

を観察した後に, また44°Cと45°Cの加温中摘出群では加温中止直後に舌を摘出して病理組織学的検索を行った。病理標本作製にあたってはハムスターを多量のエーテルで屠殺し舌を摘出して, 10%ホルマリン溶液で固定後, 3mm厚さにさしように切り, 通法にしたがってパラフィン包埋を行い, 4μの厚さで半連続切片を作製し, ヘマトキシリン・エオジンにて染色を行い顕微鏡にて観察した。

結果は- (組織障害なし), + (軽度), ++ (中等度), +++ (高度)の4段階に分類した。

結 果

1. アプリケータの加温特性

動物実験に用いたアプリケータでハムファントムを加温した時の温度分布をサーモグラムで示す(写真3)。ファントムの表面では類円形同心円の温度分布を示し, 5mm×4mmの類円形の範囲が温度最高点から温度差0.5°C以内に加温された。

次に, 温度センサーの引き抜き実験から得られた血

流のない状態のハムスター舌内深さ 0.5 mm の面における温度分布は、舌背表面温度 41°C から 45°C の各温度において類円形同心円となった。舌背表面温度 41°C～45°C における 19 匹の平均では 4.4 mm×3.4 mm の範囲が舌背表面温度と温度差 0.5°C 以内に加温された。例として 42°C の場合の温度分布を図 3 に示す。舌内深さ 0.5 mm の面における同心円の中心の温度と舌背表面設定温度との関係について回帰曲線を求めたところ、

$$y = -1.85 + 1.04 x$$

となり、両者はよく一致した。

ファントム実験と温度センサー引き抜き実験の結果から、血流のない状態では舌背粘膜直下の血流測定点

の近傍は舌背表面の温度と温度差 0.5°C 以内に加温されることがわかった。

2. 加温時の舌内部温度の変化と血流量

各温度における舌内部血流測定点の温度（各群内の平均値）の推移を図 4 に示す。

舌内部血流測定点の温度は加温を始める前には 27°C～28°C であった。舌背表面温度 41°C で加温した時には第 1 回、第 2 回いずれにおいても加温中徐々に上昇した。第 1 回目の加温中の平均温度は 38.4 ± 1.0 °C（平均値±標準偏差、以下同様）であった（図 4-1）。舌背温度 42°C、43°C、および 44°C の加温では第 1 回目の加温の途中に一時的な舌内温度の下降が観察されたが、その後は徐々に上昇した。第 2 回目の加温時には

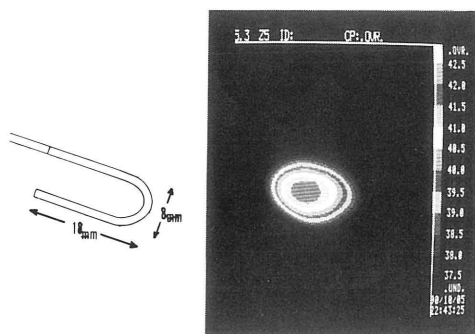


写真 3 ハムファントムを加温した時の温度分布。5 mm×4 mm の範囲が 0.5°C 以内で均一に加温されている。

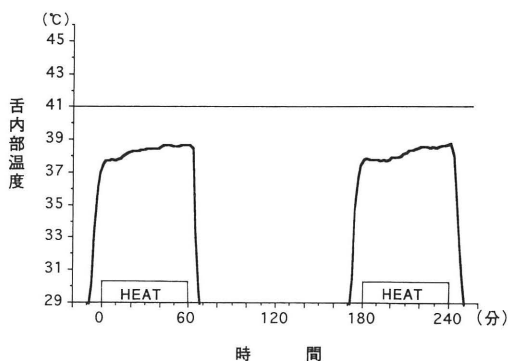


図 4-1 加温中の舌内部血流量測定点の温度の推移（平均値）[41°C (n=9)]

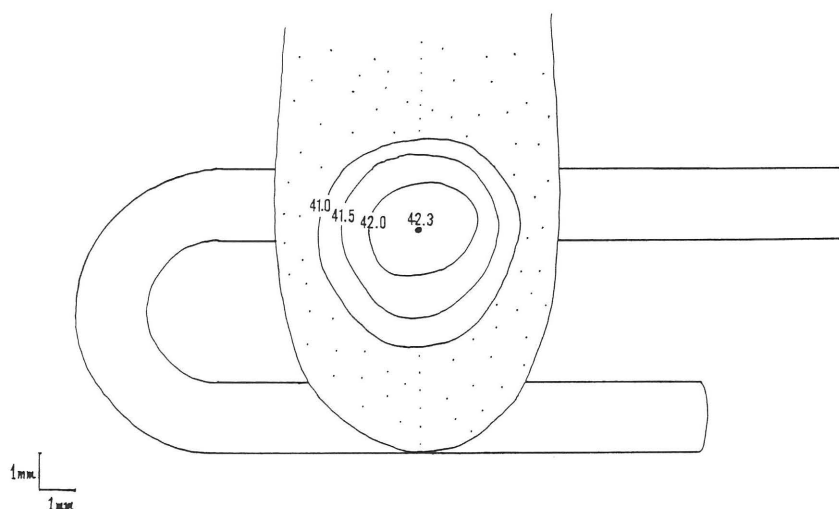


図 3 舌背表面温度 42°C の場合の深さ 0.5 mm の面における温度分布

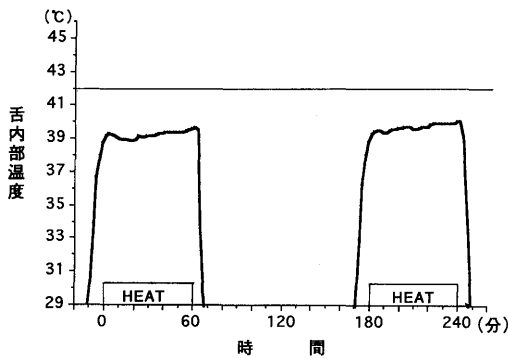


図 4-2 加温中の舌内部血流量測定点の温度の推移 (平均値) [42°C (n=11)]

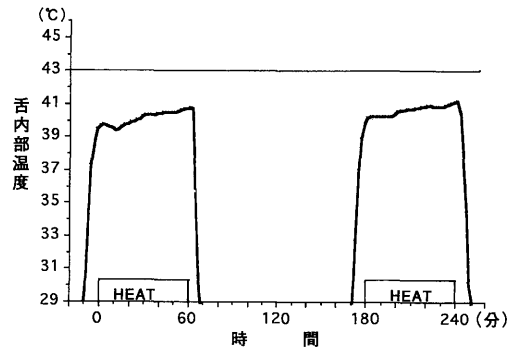


図 4-3 加温中の舌内部血流量測定点の温度の推移 (平均値) [43°C (n=8)]

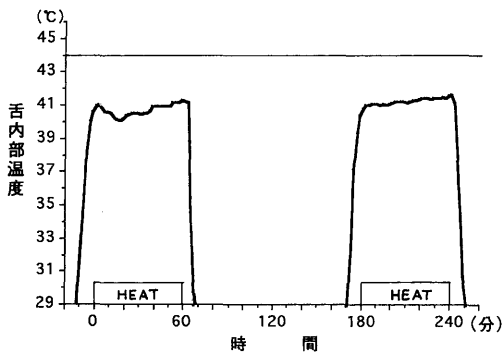


図 4-4 加温中の舌内部血流量測定点の温度の推移 (平均値) [44°C (n=8)]

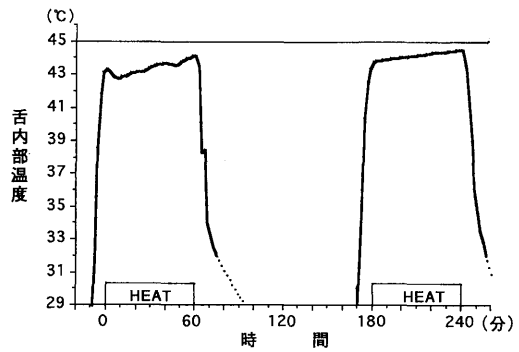


図 4-5 加温中の舌内部血流量測定点の温度の推移 (平均値) [45°C (n=8)]

一時的な温度の下降はみられず、舌内部温度は加温開始後から徐々に上昇した。第1回目の加温中の平均舌内部温度はそれぞれの群で $39.3 \pm 0.6^\circ\text{C}$ 、 $40.2 \pm 0.6^\circ\text{C}$ 、 $40.8 \pm 0.5^\circ\text{C}$ であった (図 4-2~4-4)。

舌背表面温度 45°C 加温群においては、 42°C 、 43°C 、 44°C 加温と同様、第1回目の加温初期に一時的な舌内部温度の下降が観察された。第2回目の加温時には温度の下降はみられなかった。舌内部温度と舌背表面温度との差は 41°C ~ 44°C 加温群に比べて小さかった ($p < 0.01$)。第1回目の加温中の平均舌内部温度は $43.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ であった。加温をやめた後の舌内部温度の低下は舌背表面温度 41°C ~ 44°C 加温群では加温後10分以内に加温前の温度近くまで戻ったのに対し、舌背表面温度 45°C 加温群では温度の下降がゆるやかで加温後10分を過ぎても 33°C 台までしか戻らなかった (図 4-5)。舌背表面温度 41°C ~ 45°C 加温群における舌背表面温度と平均舌内部温度との関係を図 5 に示す。

次に、舌背表面温度 41°C ~ 45°C 加温時の血流量の測定値 (各群とも平均値±標準偏差) を表 1 に示す。またこれをグラフにして図 6~11 に示す。

コントロール群では、最初 $27.36 \pm 13.72 \text{ ml/min/100 g}$ (平均値±標準偏差、以下同様) であったが、時間の経過とともに徐々に減少した (図 6)。

舌背表面温度 41°C 加温群では加温前の血流量は $29.18 \pm 9.35 \text{ ml/min/100 g}$ であった。1回目の加温開始後、血流量はすみやかに増加し $67.16 \pm 17.46 \text{ ml/min/100 g}$ となった。その後加温中は一定であった。第1回目の加温を終ると血流量は減少し、ほぼ加温前の血流量に戻った ($27.39 \pm 7.01 \text{ ml/min/100 g}$)。その後の120分間の休止の間は血流量は徐々に減少した。つづいて第2回目の加温を行ったところ、血流量は再びすみやかに増加し、 $59.08 \pm 15.49 \text{ ml/min/100 g}$ となり加温中は一定であった (図 7)。

舌背表面温度 42°C 、および 43°C 加温群でも血流量

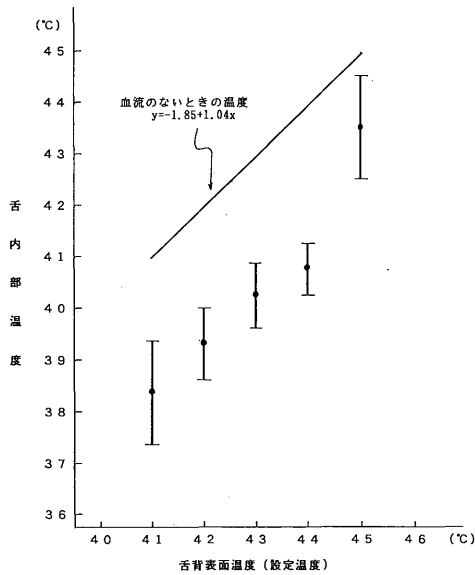


図5 舌背表面温度（設定温度）と舌内部温度との関係
(平均値±標準偏差)

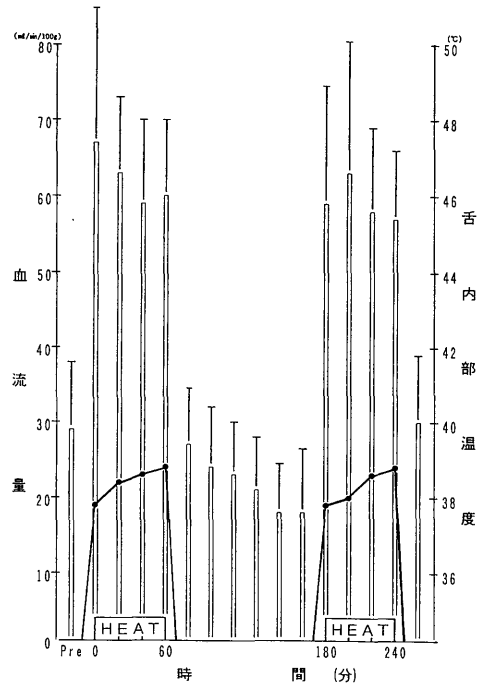


図7 舌背表面温度 41°C 加温時の血流量の変化 (n=9). 折れ線は平均舌内温度を示す。

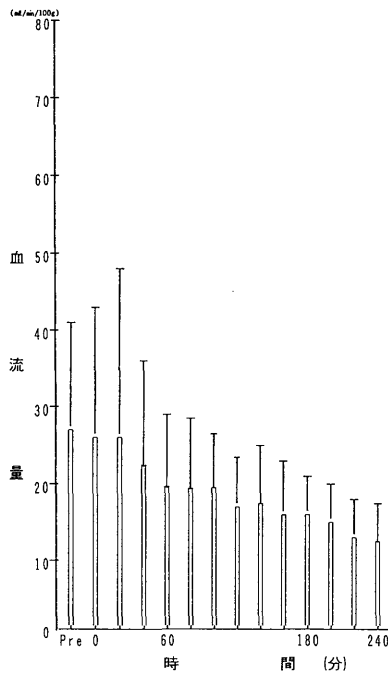


図6 コントロール群の血流量の変化 (n=5)

は加温開始後すみやかに増加し、加温前にそれぞれ 23.25 ± 6.19 ml/min/100 g, 22.75 ± 8.23 ml/min/100 g であった血流量は 57.74 ± 14.91 ml/min/100 g, 54.89 ± 14.65 ml/min/100 g となり加温中は一定であった。第1回目の加温を終了すると加温前の血流量に戻った(それぞれ 25.85 ± 6.53 ml/min/100 g, 24.31 ± 7.55 ml/min/100 g)。第2回目の加温では血流量は再び増加し、それぞれ 44.36 ± 13.27 ml/min/100 g, 48.58 ± 9.73 ml/min/100 g となった(図8, 9)。

舌背表面温度 44°C 加温群では加温前の血流量は 24.46 ± 6.64 ml/min/100 g であった。第1回目の加温後6分後の測定で 56.89 ± 14.21 ml/min/100 g に増加し、24分後の測定でさらに 69.70 ± 14.69 ml/min/100 g に増加した。すなわち6分後に比べて24分後の方が有意に大きく ($p < 0.01$)、血流量は徐々に増加するのが観察された。24分以後は42分後、60分後と血流量は一定であった。第1回目の加温を終了すると 26.93 ± 6.24 ml/min/100 g となった。つづく第2回目の加温でも6分後に 45.54 ± 10.78 ml/min/100 g, 24分後に 53.89 ± 14.13 ml/min/100 g と6分後に比べて24分後の方が有意に大きく ($p < 0.01$)、血流量は

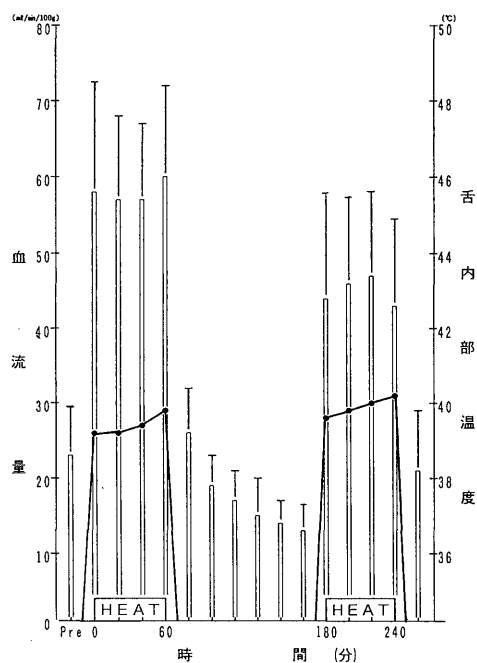


図8 舌背表面温度 42°C 加温時の血流量の変化 (n=11)。折れ線は平均舌内温度を示す。

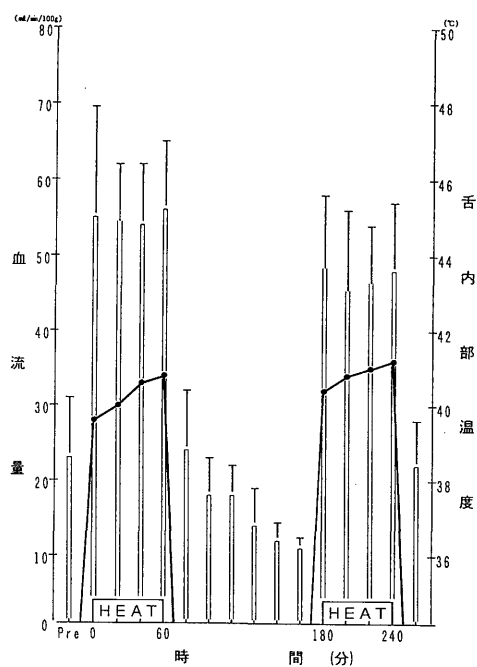


図9 舌背表面温度 43°C 加温時の血流量の変化 (n=8)。折れ線は平均舌内温度を示す。

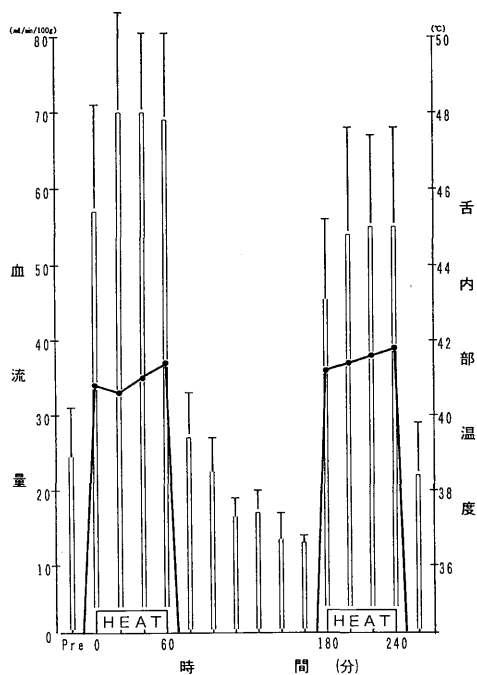


図10 舌背表面温度 44°C 加温時の血流量の変化 (n=8)。折れ線は平均舌内部温度を示す。

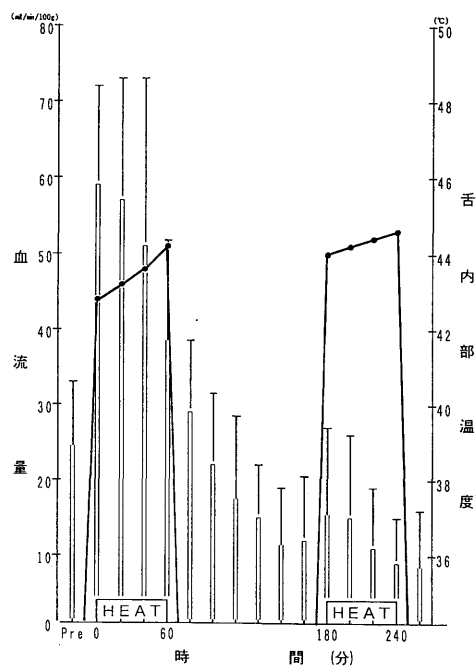


図11 舌背表面温度 45°C 加温時の血流量の変化 (n=8)。折れ線は平均舌内部温度を示す。

徐々に増加した。24 分以後は一定だった (図 10)。

舌背表面温度 45°C 加温群では加温前の血流量は 24.51 ± 8.22 ml/min/100 g であった。第 1 回目の加温開始後 6 分後に血流量は 58.98 ± 12.73 ml/min/100 g に増加したが、その後、徐々に減少し、60 分後の加温終了時の測定では 37.39 ± 13.39 ml/min/100 g になった。120 分間の休止中、血流量はさらに減少した。つづく第 2 回目の加温では血流量はわずかに増加したが、第 1 回目加温前より低く、6 分後に 15.71 ± 11.07 ml/min/100 g となり、その後は減少した (図 11)。

3. 肉眼所見の経時的変化

加温後の経時的な肉眼所見の変化は、舌背表面温度 41°C~43°C 加温群では加温直後から加温領域および末梢側にかけての粘膜の発赤・腫脹がみられたが、これらの変化はいずれも 3~4 日目までには消退した。また 44°C では発赤・腫脹に加えて舌背の加温領域に一致してびらんや水疱形成がみられた。舌背表面温度 45°C では加温直後からうっ血、腫脹が強くみられ、4 日目までには全例において加温領域が壊死脱落した (写真 4)。44°C 以下の群では加温領域の壊死脱落は認められ

なかった。

4. 病理組織学的所見

1) 2 回加温群

舌背表面温度 41°C 2 回加温および 42°C 2 回加温では筋層内の出血や静脈の拡張・うっ血、舌背側の乳頭内毛細血管の拡張が軽度ないし中等度認められた。これらの所見は加温後日数がたつにしたがって弱くなった。

舌背表面温度 43°C 2 回加温では半数に上皮下的水疱形成がみられた。間質の浮腫や筋線維の変化は軽度であったが筋層内の静脈や毛細血管の拡張・うっ血が強くみられた。4 日後に摘出したものではこれらの所見が軽度であった。

舌背表面温度 44°C 2 回加温では舌背表面全域にわたる水疱形成が認められ、間質の浮腫、筋層内の出血、静脈の拡張・うっ血は中等度ないし強度であった。舌背側の乳頭内毛細血管の拡張や筋線維の腫大も強くみられた。

2) 加温中摘出群

a) 44°C 加温群 (表 2)

44°C 6 分加温直後 (第 1 回目の血流量測定直後) では上皮にびらんや水疱形成の所見はみられなかった。舌背側の乳頭内毛細血管や筋層における血管の拡張や出血は認められず、筋線維にも変化は認められなかった。

44°C 24 分加温直後 (第 2 回目の血流量測定直後) では上皮に著明な変化はみられなかった。筋層の静脈の拡張とうっ血が軽度みられ、動脈には軽度の充血が認められた。舌背側の乳頭内毛細血管や筋線維には変化はほとんどみられなかった。

44°C 42 分加温直後 (第 3 回目の血流量測定直後) では舌背側の上皮下に軽度の水疱形成がみられた。また、間質の浮腫が軽度認められた。血管系では筋層内の静脈の拡張とうっ血が軽度みられたが、動脈には変化がみられなかった。舌背側の乳頭内毛細血管の拡張が軽度みられた。筋線維の腫大が軽度認められた。

44°C 60 分加温直後 (第 4 回目の血流量測定直後) では舌背側の上皮下的水疱形成が 42 分加温直後に比べて広範囲にみられた。中等度の筋層内の静脈の拡張とうっ血がみられ、また、血管外への赤血球の漏出が軽度認められたが、動脈には変化はみられなかった。乳頭内毛細血管の拡張は舌背側の広い範囲にみられた。筋線維の腫大が軽度みられた。

44°C 60 分加温後 2 時間目に摘出したものでは筋層内の静脈の拡張とうっ血および舌背側の乳頭内毛細血管周囲の出血が軽度ないし中等度認められた。

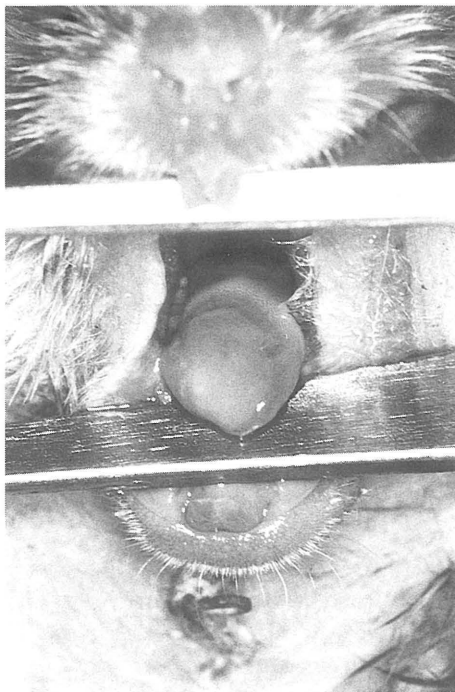


写真 4 舌背表面温度 45°C 60 分 2 回加温後 5 日目の肉眼所見。舌の前 1/2 が壊死脱落している。

表 2 44℃加温途中摘出群の組織所見

加温時間	動物番号	上皮下水疱形成	間質浮腫	出血	静脈うっ血	静脈拡張	動脈充血	舌背側乳頭拡張	内毛細血管出血	筋線維腫大
6分	005	—	—	—	+	—	—	+	—	—
	008	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	012	—	—	—	—	—	+	—	—	—
24分	003	—	—	—	+	—	+	—	—	—
	006	—	—	—	+	—	+	—	—	—
	011	+	+	+	+	+	—	+	—	—
42分	004	—	+	—	+	+	+	+	+	+
	009	+	+	+	+	+	—	+	—	+
	016	—	+	—	+	+	—	+	—	+
60分	007	+	+	+	+	+	—	+	—	+
	014	—	+	—	+	+	—	+	—	+
	018	+	+	+	+	+	—	+	—	+
60分加温 2時間後	001	—	+	—	—	—	—	+	—	—
	010	+	+	+	+	+	—	+	+	+
	013	—	+	—	+	+	—	+	+	—

表 3 45℃加温途中摘出群の組織所見

加温時間	動物番号	上皮下水疱形成	間質浮腫	出血	静脈うっ血	静脈拡張	動脈充血	舌背側乳頭拡張	内毛細血管出血	筋線維腫大	筋線維変性
6分	084	—	—	+	+	+	—	+	—	+	—
	085	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
	089	—	—	+	+	—	+	—	—	—	—
24分	083	—	+	+	+	+	—	+	—	+	—
	092	—	+	—	+	+	—	+	—	+	—
	093	—	+	+	+	—	+	+	—	+	—
42分	087	+	+	—	+	+	—	+	—	+	—
	088	—	+	+	+	+	—	+	+	+	—
	090	—	+	+	+	—	—	+	—	+	—
60分	091	—	+	+	+	+	—	+	+	+	+
	094	—	—	—	+	—	—	—	—	+	—
	095	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+
60分加温 2時間後	002	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	015	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	017	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+

*は血栓が認められたことを示す

b) 45℃加温群 (表 3)

45℃ 6分加温直後では上皮にはびらんや水疱形成はみられなかった。筋層の静脈のうっ血が軽度みられたが動脈には著明な変化はみられなかった。舌背側の乳頭内毛細血管の拡張や出血は認められなかった。筋線維の腫大はみられなかった。

45℃ 24分加温直後では上皮にはびらんや水疱形成はみられなかった。間質には軽度の浮腫がみられ、筋層内の静脈の軽度の拡張と軽度ないし中等度のうっ血がみられた。また動脈の充血が軽度認められた。舌背側の乳頭内毛細血管の拡張は軽度であった。筋線維には腫大が軽度認められた。

45℃ 42分加温直後では一部上皮下に水疱形成が認められた。間質には軽度の浮腫がみられ、筋層における静脈の拡張とうっ血、および血管周囲の出血が軽度ないし中等度認められた。舌背側の乳頭内毛細血管の

軽度ないし中等度の拡張がみられ、毛細血管の周囲には出血が軽度認められた。舌背側の筋線維の腫大が軽度ないし中等度認められた (写真 5)。

45℃ 60分加温直後では上皮下に水疱形成がみられた。間質の浮腫がみられ、筋層内の静脈のうっ血が軽度ないし中等度認められた。間質の出血もみられた。舌背側の乳頭内毛細血管の拡張と出血が軽度ないし中等度認められた。舌背側で筋線維の腫大と変性・消失が中等度認められた (写真 6)。

45℃ 60分加温後 2時間目では上皮下に水疱形成がみられた。間質の浮腫が中等度みられた。筋層内の静脈のうっ血と拡張が強くなり、拡張した静脈の一部には内腔に血栓の形成が認められた。動脈の充血も軽度認められ、出血は中等度みられた。舌背側の乳頭内毛細血管の拡張は強度で出血もみられた。舌背側の筋線維の腫大と変性・消失が中等度みられた。

考 察

1. 研究方法および加温方法について

温熱療法に関する動物実験においては従来から恒温槽を用いた報告が多く、マイクロ波やRF波などの実際に臨床で行われている加温法を用いた報告は少ない。本実験では、著者らが臨床で主として用いている加温法であるマイクロ波による加温法を選択した。

マイクロ波の欠点として、組織を通過する際に急激に減衰する性質がある。ゆえに組織外から加温を行った場合には、マイクロ波の持つエネルギーは組織の表面にもっとも多く吸収され、組織内の深さが増すにしたがって温度が低下する。そこで本実験では、血流量測定実験に先立ち、ハムスターの舌内部におけるマイクロ波の減衰の程度を検討した。これには屠殺した血流のない状態のハムスターの舌を用いた。粘膜直下に相当する舌背表面から深さ0.5 mmの面における温度分布を測定したところ、舌背表面の温度分布と同じく類円形同心円となり、その中心点の温度はアプリケーションの舌背表面設定温度と温度差0.5°C以内であった。したがって血流のない状態のハムスターの舌においては粘膜直下まで均一な加温が得られることがわかった。そこで血流量測定実験においては温度センサー付き関電極を舌背粘膜下0.5 mmに刺入し、血流量測定と舌内部温度測定を同時に行った。

しかし、血流のある状態で加温を行うと内部では血流による冷却作用が働くためにアプリケーションが接している舌背表面と舌内部血流量測定点との間の温度勾配が増大する。予備実験において舌内部の血流量測定点の温度で加温装置の制御をおこなったところ、舌内部温度を一定に維持しようとしてマイクロ波の出力が増加し、その結果、舌背表面粘膜が過熱され、また表面温度の変動も大きくなった。それゆえ本実験においては舌背面に設置した温度センサーの温度、すなわち舌背表面温度を一定の温度に保つように加温装置の制御を行い、血流がなければこの温度と0.5°C以内に加温される舌背粘膜直下の温度が血流量の変化に伴ってどのように変化するかを観察した。

血流量の測定には水素クリアランス法を用いた。クリアランス法は不活性ガスを用い、その希釈率または消退率から血流量を求める方法で、Ketyら¹⁹⁾が笑気ガスを用いた脳血流測定法を発表したのが最初である。その後Auklandら⁴⁾によって初めて水素ガスを用いた血流量の測定が行われた。この方法は侵襲的な測定法であるために組織に何らかの損傷を与えること、1

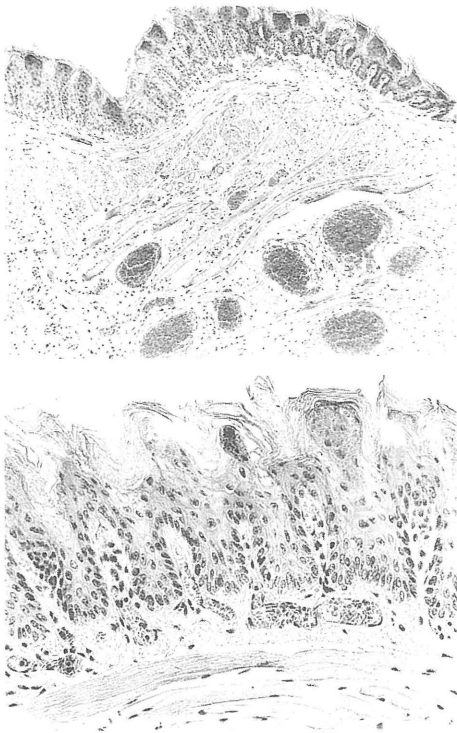


写真5 45°C 42分加温直後の組織像。
上段：粘膜固有層に毛細血管の拡張がみられる。筋層に軽度の浮腫がみられ、静脈の強い拡張とうっ血が認められる。(×67)
下段：粘膜固有層および乳頭内の毛細血管の拡張を認める。(×220)

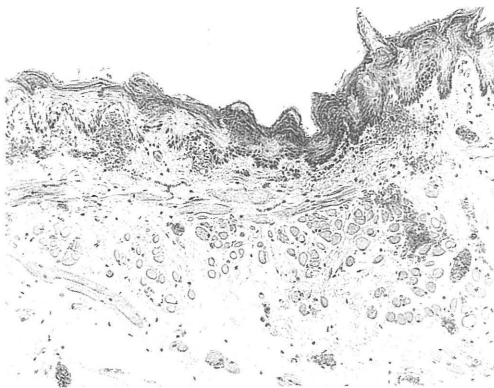


写真6 45°C 60分加温直後の組織像。
乳頭内の毛細血管の拡張と出血が認められる。筋層においても軽度の出血がみられ、著明な浮腫をきたし、各筋線維の変性を認める。(×128)

回の測定に15分～20分を要し、したがって連続測定ができないことなどの短所がある。しかし、測定が簡便であり、循環動態に影響を及ぼしにくく、同時に多点の血流量測定が可能であるほか組織血流量を絶対値として求めることができることが最大の利点である¹⁸⁾。関電極はかなり細いものが使用でき、関電極さえ刺入できれば応用範囲が広く、本実験においてもアプリケーションの適合に影響を及ぼすことなく血流量の測定が可能であった。

また、本実験では、血流量測定点の温度を正確にモニターすることと組織侵襲を可及的に小さくすることを目的として温度センサーと関電極を張り合わせて用いた。さらに、温度測定に対するマイクロ波の影響を少なくするために、張り合わせた電極の表面をテフロンで被覆した²⁶⁾⁴²⁾。

2. 血流量の変化について

血流は局所の栄養・物質交換・老廃物の運搬などを司っており、また熱放散や保温にも関わっている。温熱療法においては血流は局所に蓄積する熱を放散するための主たる手段となる²⁵⁾³¹⁾⁴⁴⁾。血流の調節は血管の収縮と弛緩によって行われており、温熱刺激に対して、正常血管は拡張し血流量の増加させることにより熱を放散し局所の冷却を行うが、腫瘍血管は不規則に屈曲し、血管壁の平滑筋を欠くために受動的に拡張するのみで、熱を能動的に運び去ることができない¹⁾²⁾⁵⁾³⁴⁾。このような正常組織と腫瘍組織との血流分布および血流調節機能の差異が温熱によって組織が受ける障害の強弱を決定する因子となっている。とはいえ、温熱療法の際には正常組織も加温範囲に含まれるため、その障害を考慮にいられた加温を行わなければならない。そこで本実験では、正常舌組織を加温した際に非可逆的な変化に陥る温度がどれほどであるか、また加温温度と血流量の変化との間にはどのような関係があるかについてハムスターの舌を用いて検討を行った。その結果、舌背表面温度41℃～44℃では加温開始後すみやかに血流量は増加し、60分間の加温中は増加したままであった。さらに120分間の休止期間をおいた後の第2回目の加温時にも、血流量は増加したことから第1回目の舌背表面温度41℃～44℃加温においては温熱による血管障害が小さく、血流に与える影響も小さかったと考えられる。加温による正常組織血流量の変化について舌組織で測定を行った報告はなく、足の筋肉や皮膚で測定したものがほとんどである。Songら³⁹⁾はC3Hマウスの足の筋肉を温水で60分間加温し、41.5℃～43.5℃までは血流量は増加し続け、44.5℃では加

温中に減少しはじめたと報告している。またVaupel⁴⁴⁾らはラットの足を加温し、42℃60分間の加温では血流量は増加し続けたが、44℃では加温中に減少しはじめたことを報告している。一方、血流の増加率は、たとえば42℃では1.6倍から10倍までの報告があり⁹⁾²¹⁾³⁶⁾、動物の種類や加温温度、加温方法によってまちまちである。本実験における41℃～44℃の結果はShrivastavら³⁹⁾がラットの足の筋肉を44℃で加温を行った実験で血流量が10分後に約2.5倍に増加し、その後60分まで増加したままであったことと比較的よく一致する。

舌背表面温度45℃加温群においては、41℃～44℃加温群とは異なり第1回目の加温当初は血流量が増加したが、その後加温中に血流量が減少し始めた。そして120分間の休止後の第2回目の加温時にも6分後にわずかに増加したが、この時の血流量は第1回目の加温前より小さかった。そして全例において加温領域の壊死脱落が認められた。このことは舌背表面温度45℃加温では第1回目の加温中に温熱による血管系の障害が生じたこと、そしてこの障害が加温をやめても回復しないことを示しており、舌背表面温度44℃と45℃との間に非可逆的な変化に陥る境界点があることが示唆された。

この点について組織学的に検討するために加温中に血流量の減少がみられた45℃加温群と血流量の減少がみられなかった群のうち44℃加温群とにおいて第1回目の加温の途中に舌を摘出し、組織学的変化を観察した。

3. 組織学的所見について

温熱を与えた組織に特徴的な所見として、Emamiら¹⁰⁾、Matsudaら²³⁾、Meshorer²⁴⁾、大槻ら²⁸⁾は血管の拡張、うっ血、静脈内の血栓の形成、出血などを挙げ、これらの所見は加温温度が高いほど強く認められたことを報告している。また、加温直後と加温後時間が経過してからとを比較した場合、加温3時間後では障害の程度はほぼ同じ²⁸⁾か加温3時間後の方が障害が強い¹⁰⁾と報告されている。今回の組織学的所見は加温終了直後よりも加温終了2時間後の方が障害が強い傾向を示しており、Emami¹⁰⁾の報告とよく合致している。

血管の拡張は血流量の増加を示しており、これは局所の温度が上昇して代謝が活発になり酸素要求量が増すことによるものと考えられている⁷⁾¹⁵⁾³⁷⁾。一方、血流量減少の原因としては出血性の変化³⁶⁾、フィブリン塊の形成や血栓の成長、血液の粘性の上昇³⁸⁾、赤血球の変形能の低下⁴⁰⁾、白血球の粘着、血管外の浮腫による組織

内圧の増加による血管の圧迫²¹⁾などが報告されているが、本実験でも確認された加温中の血流量の減少に特徴的な組織所見は、筋層における静脈のうっ血や出血性の変化が強いこと、および舌背側の乳頭内毛細血管の拡張と出血が強いことであった。さらに 45°C 加温 2 時間後に認められた静脈内の血栓は血流量の減少が非可逆性であったことを示しており、加温後 4 日目までに加温領域が壊死脱落したことからも裏付けられる。

舌背表面温度 44°C 加温群においては加温を行っているあいだ血流量は増加したままであったが、組織学的には筋層内において血管の拡張と同時に出血、うっ血、間質の浮腫といった血流量を減少させる方向に働くと考えられる所見が認められたことは Law ら²⁰⁾が述べているように、体温以上の温度はすべて障害的に作用しているものと考えられる。しかし、120 分の休止後の再加温時に血流量は再び増加したことから舌背表面温度 44°C 以下における血管障害は血流量の増加に支障をきたさない程度であったと考えられる。

45°C 60 分加温直後、および 45°C 60 分加温 2 時間後にみられた筋線維の腫大と消失は急速な障害を示す所見であり、Meshorer ら²⁴⁾、あるいは Badylak ら⁵⁾が言う筋線維の急性壊死(凝固壊死)と同一の所見であると考えられる。

4. 温度上昇と血流量の変化

舌背表面温度 42°C~45°C 加温において第 1 回目の加温中に舌内部温度が一時的に下降するのが認められた。このような現象は Lokshina ら²¹⁾も指摘しており、血流量の急激な増加によって冷却効果が加速され熱の蓄積を上回ったためと考えられている。舌背表面温度 41°C~44°C 加温群と比較して舌背表面温度 45°C 加温群の場合、加温温度と舌内部温度との差が加温初期から小さく、屠殺により血流のない状態のハムスター舌を加温した時に近い温度を示した。これは舌背温度 45°C 加温群において加温の初期から血管系の障害を生じたため血流による熱の運搬が不十分となり、局所の冷却作用がきかなくなり熱が蓄積したためで、このことは筋層におけるうっ血や出血、乳頭内毛細血管の出血などの組織所見からも裏付けられた。

培養細胞に熱を与えた場合の加温効果を温度と細胞致死効果との関係で表すと、43°C 付近を境に直線の傾きが異なり、これより高い温度では不活性化に要するエネルギーが小さくなり、細胞致死効果が高まるという報告がある⁸⁾。本実験において、舌背表面温度 45°C 加温群では第 1 回目の加温中の平均舌内部温度が 43.5 ± 1.0 °C(下限は 42.5°C)であり、舌背表面温度 41

°C~44°C 加温群では 40.8 ± 0.5 °C(上限は 41.3°C)以下であったことと舌背表面温度 45°C 加温群でのみ血流量の非可逆的な減少がみられたことから、可逆性変化と非可逆性変化を分けるような温度の存在が確認され、その温度は舌背温度で 44°C と 45°C の間、すなわち舌内部温度では 41.3°C~42.5°C の範囲にあることが示唆された。

結 語

ハムスターの正常な舌を 2450 MHz マイクロ波を用いて舌背表面の温度を設定温度として 60 分間の加温を行い、加温中・加温後の舌内部の血流量を水素クリアランス法により測定し、病理組織学的に検索した結果以下のような結論を得た。

1. 舌背表面温度が 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C の時の加温中の舌内部深さ 0.5 mm の血流量測定点の平均温度はそれぞれ 38.4 ± 1.0 °C, 39.3 ± 0.6 °C, 40.2 ± 0.6 °C, 40.8 ± 0.5 °C, および 43.5 ± 1.0 °C であった。

2. 舌背表面温度 41°C~44°C では加温開始後、血流量は増加し、60 分間の加温中は増加したままであった。120 分間の休止の後の再加温でも血流量は増加した。

3. 舌背表面温度 45°C では加温開始直後の血流量は増加したが加温中に減少しはじめ、120 分間の休止の後、再加温を行ったときには血流量はほとんど増加しなかった。

4. 舌の組織学的な観察では筋層におけるセンサー刺入部以外の出血、静脈の拡張・うっ血、筋線維の腫大、間質の浮腫、および舌背側の乳頭内毛細血管の拡張と出血などの所見が加温温度が高くなるとともに、また同じ加温温度では加温時間が長くなるとともに強くみられた。これらの所見のうち血流量の減少がみられた舌背表面温度 45°C 加温群において血流量の減少過程に特徴的な所見は筋層における静脈のうっ血や出血が強いことと舌背側の乳頭内毛細血管のうっ血と出血であり、組織障害は加温終了後も進行し、血栓の形成さらには加温領域の壊死脱落にいたるものと考えられた。

5. ハムスターの正常舌組織は加温温度が高くなると、ある温度以上では非可逆的な変化におちいり、その温度は舌背温度で 44°C と 45°C の間、すなわち舌内部温度では 41.3°C~42.5°C の範囲にあることがわかった。

稿を終えるにあたり、終始ご懇切なるご指導とご校閲を賜りました本教室主任田代英雄教授に謹んで感謝の意を表します。また、多くのご教示とご助言をいただきました本教室の大関悟講師に心より感謝いたしますとともに本研究の遂行にご協力いただきました口腔外科学第1講座教室員の皆様にお礼申し上げます。

なお、本研究の一部は日本ハイパーサーミア学会第8回大会(1991年10月、東京)および第47回日本口腔科学会総会(1993年5月、弘前市)において発表した。

文 献

- 1) 阿部郁夫, 鈴木磨郎: 癌の微小血管とその意義. 臨床科学 22: 577-582, 1986.
- 2) Anghileri L and Robert J: Hyperthermia in Cancer Treatment II pp.2-16, CRC Press Inc., Boca Raton Florida, 1989.
- 3) Arancia G, Trovalusci PC and Mondovi B: Ultrastructural changes induced by hyperthermia in Chinese hamster V79 fibroblasts. Int. J. Hyperthermia 5: 341-350, 1989.
- 4) Aukland K, Bower BF and Berliner RW: Measurement of local blood flow with hydrogen gas. Circ. Res. 14: 164-187, 1964.
- 5) Badylak SF, Babbs CF, Skojac TM, Voorhees WD and Richardson RC: Hyperthermia-induced vascular injury in normal and neoplastic tissue. Cancer 56: 991-1000, 1985.
- 6) Bhuyan BK: Kinetics of cell kill by hyperthermia. Cancer. Res. 39: 2277-2284, 1979.
- 7) Cotran RS: Studies on inflammation: Ultra structure of the prolonged vascular response induced by *Clostridium oedematiens* toxin. Lab. Invest. 17: 39-60, 1967.
- 8) Dewey WC, Hopwood LE, Sapareto SA and Gerweck LE: Cellular responses to combinations of hyperthermia and radiation. Radiology 123: 463-474, 1977.
- 9) Dickson JA and Calderwood SK: Temperature range and selective sensitivity of tumors to hyperthermia: A critical review. Ann. N. Y. Acad. Sci. 335: 180-205, 1980.
- 10) Emami B, Nussbaum GH, TenHaken RK and Hughes WL: Physiological effects of hyperthermia: Response of capillary blood flow and structure to local tumor heating. Radiology 137: 805-809, 1980.
- 11) 藤田浄秀, 賀来 亨, 佐々木元賢, 小野江為則: 舌癌の実験的形成に関する研究 第1編: 9, 10-dimethyl-1, 2-benzanthraceneの塗布による舌癌の実験的形成. 口科誌 21: 999-1012, 1972.
- 12) 藤田浄秀, 賀来 亨, 佐々木元賢: 舌癌の実験的形成に関する研究 第7編 舌背部における舌癌形成過程の組織学的研究. 口科誌 22: 550-562, 1973.
- 13) 藤原康次: 温熱単独, 放射線単独および温熱併用放射線治療に対する腫瘍内血管の反応. 日本ハイパーサーミア誌 3: 375-389, 1987.
- 14) Gerweck LE, Jennings M and Richards B: Influence of pH on the response of cells to single and split doses of hyperthermia. Cancer. Res. 40: 4019-4024, 1980.
- 15) Granger HJ, Goodman AH and Cook BH: Metabolic models of microcirculatory regulation. Fed. Proc. 34: 2025-2030, 1975.
- 16) Hammersen F, Endrich B and Messmer K: The fine structure of tumor blood vessels. Int. J. Microcirc. Clin. Exp. 4: 31-43, 1985.
- 17) Hill SA and Denekamp J: Histology as a method for determining thermal gradients in heated tumours. Br. J. Radiol. 55: 651-656, 1982.
- 18) 飯島一彦: 水素クリアランス法. 循環制御 7: 643-651, 1986.
- 19) Kety SS and Schmidt CF: The determination of cerebral blood flow in man by the use of nitrous oxide in low concentrations. Am. J. Physiol. 143: 53-66, 1945.
- 20) Law MP, Ahier RG and Field SB: The response of the mouse ear to heat applied alone or combined with X rays. Br. J. Radiol. 51: 132-138, 1978.
- 21) Lokshina AM, Song CW, Rhee JG and Levitt SH: Effect of fractionated heating on the blood flow in normal tissues. Int. J. Hyperthermia 1: 117-129, 1985.
- 22) 又賀 泉, 尾崎守男, 近藤帥典, 堀川恭勝, 成田保之, 東野信昭, 岡野篤夫, 土川幸三, 加藤譲治: 当科における頭頸部癌・温熱療法の現況. 日口外誌 35: 1227-1241, 1989.
- 23) Matsuda H, Sugimachi K, Kuwano H and Mori M: Hyperthermia, tissue microcirculation, and temporarily increased thermosensitivity in VX2 carcinoma in rabbit liver. Cancer. Res. 49: 2777-2782, 1989.
- 24) Meshorer A, Prionas SD, Fajardo LF, Meyer JL, Hahn GM and Martinez AA: The effects of hyperthermia on normal mesenchymal tissues. Arch. Pathol. Lab. Med. 107: 328-334, 1983.
- 25) Milligan AJ: Canine muscle blood flow during fractionated hyperthermia. Int. J. Hyperthermia 3: 353-359, 1987.
- 26) 水品静夫: 温熱療法機器開発の経過. 最新医学 40: 2471-2476, 1985.
- 27) Nishimura Y, Hiraoka M, Jo S, Akuta K, Yukawa Y, Shibamoto Y, Takahashi M and Abe M: Microangiographic and histologic analysis of the effects of hyperthermia on murine tumor vasculature. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 15: 411-420, 1988.
- 28) 大槻修平, 佐古正雄, 広田省三: 温熱療法の血

管系に及ぼす影響に関する実験的研究—とくに家兎 VX2 腫瘍における血管造影像ならびに組織像との対比による検討—. 日本医放会誌 48: 130-143, 1988.

29) Overgaard J: Simultaneous and sequential hyperthermia and radiation treatment of an experimental tumor and its surrounding normal tissue *in vivo*. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 6: 1507-1571, 1980.

30) 大関 悟, 大部一成, 田代英雄: 2450 MHz マイクロ波による口腔癌の温熱療法の試み. 日口外誌 33: 627-634, 1987.

31) Proctor MH, Eltaki AM, Wright RJ and Milligan AJ: The effects of fractionated hyperthermia on normal canine muscle blood flow. Int. J. Hyperthermia 6: 943-950, 1990.

32) Raaphorst GP, Romano SL, Mitchell JB, Bedford JS and Dewey WC: Intrinsic differences in heat and/or X-ray sensitivity of seven mammalian cell lines cultured and treated under identical conditions. Cancer. Res. 39: 396-401, 1979.

33) 坂本泰宏, 水谷 雄, 塩田重利: 加温処置の家兎 VX2 癌に及ぼす影響—血管造影による腫瘍内血流の検索—. 日本ハイパーサーミア誌 4: 221-233, 1988.

34) Scheid P: Functionale Besonderheiten der Mikrozirkulation im Karzinom. Bibl. Anat. 1: 327-335, 1961.

35) 重岡 潔, 赤沢 登, 西元孝雄, 平田義博, 繁田幸慶, 安積幹雄, 石田寿夫, 中西孝一, 島田桂吉: DMBA 誘導ハムスター舌腫瘍の形成と治療に関する研究 第 I 編 ハムスター舌腫瘍の自立的増殖能獲得時期について. 口科誌 30: 378-386, 1981.

36) Shrivastav S, Kaelin WG, Joines WT and Jirtle RL: Microwave hyperthermia and its effect

on tumor blood flow in rats. Cancer. Res. 43: 4665-4669, 1983.

37) Silva MRE and Antonio A: Release of bradykinin and the mechanism of production of a thermic edema (45°C) in the rat's paw. Med. Exp. 3: 371-382, 1960.

38) Song CW, Lokshina A, Rhee JG, Patten M and Levitt SH: Implication of blood flow in hyperthermic treatment of tumors. IEEE Trans. Biomed. Eng. 31: 9-16, 1984.

39) Song CW, Patten MS, Chelstrom LM, Rhee JG and Levitt SH: Effect of multiple heatings on the blood flow in RIF-1 tumours, skin and muscle of C3H mice. Int. J. Hyperthermia 3: 535-545, 1987.

40) Stewart F and Begg A: Blood flow changes in transplanted mouse tumours and skin after mild hyperthermia. Br. J. Radiol. 56: 477-482, 1983.

41) 鈴木磨郎, 堀 勝義, 阿部郁夫, 斉藤祥子, 佐藤春郎: 腫瘍血管の機能病理学的研究. 癌の臨床 28: 592-598, 1982.

42) 田村 晃, 浅野孝雄, 卓 允佑, 間中信也, 平川公義, 佐野圭司: 水素クリアランス法による脳局所血流量の測定—方法および Venous Out Flow 法との相関—. 脳と神経 30: 47-54, 1978.

43) 藤内 祝, 後藤康之, 林 康司, 金田敏郎, 小林達也, 木田義久, 松井正顕: 舌癌に対する Implant Heating System による組織内温熱療法. 日本ハイパーサーミア誌 6: 450-461, 1990.

44) Vaupel P, Kluge M and Ambroz MC: Laser Doppler flowmetry in subepidermal tumours and in normal skin of rats during localized ultrasound hyperthermia. Int. J. Hyperthermia 4: 307-321, 1988.

(受付 1993-11-2)