

Title	直腸癌に対するBrdU局注療法の放射線増感効果に関する組織学的検討
Author(s)	奥村, 敏之; 轟, 健; 菅間, 博 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1991, 51(9), p. 1059-1067
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/18880">https://hdl.handle.net/11094/18880</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 直腸癌に対する BrdU 局注療法の放射線増感効果に 関する組織学的検討

- \*1 茨城県立中央病院放射線科
- \*2 筑波大学臨床医学系外科
- \*3 筑波大学基礎医学系病理
- \*4 筑波大学臨床医学系放射線科
- \*5 千葉大学第一外科
- \*6 筑波大学附属病院放射線科

奥村 敏之\*1 轟 健\*2 菅間 博\*3 大原 潔\*4  
立崎 英夫\*4 更科 広美\*5 折居 和雄\*2 菅原 信二\*6  
吉田 次男\*6 小形岳三郎\*3 板井 悠二\*4

（平成3年5月1日受付，特別掲載）

（平成3年6月12日最終原稿受付）

## Histopathological Evaluation of Radiosensitizing Effects of Intratumoral Injection of BrdU for Rectal Cancer

Toshiyuki Okumura<sup>1)</sup>, Takeshi Todoroki<sup>2)</sup>, Hiroshi Kamma<sup>3)</sup>, Kiyoshi Ohara<sup>4)</sup>,  
Hideo Tatsuzaki<sup>4)</sup>, Hiormi Sarashina<sup>5)</sup>, Kazuo Orii<sup>2)</sup>,  
Shinji Sugahara<sup>5)</sup>, Tsuguo Yoshida<sup>6)</sup>,  
Takesaburo Ogata<sup>3)</sup> and Yuji Itai<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Radiology, Ibaraki Central Hospital

<sup>2)</sup>Department of Surgery, Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba

<sup>3)</sup>Department of Pathology, Institute of Basic Medical Science, University of Tsukuba

<sup>4)</sup>Department of Radiology, Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba

<sup>5)</sup>Department of Surgery, School of Medicine, Chiba University

<sup>6)</sup>Department of Radiology, University of Tsukuba Hospital

---

Research Code No. : 605.4

---

Key Words : Rectal neoplasm, Preoperative radiotherapy,  
Intratumoral injection, Bromodeoxyuridine,  
Immunohistochemistry

---

We delivered preoperative radiotherapy with intratumoral injection (ITI) of radiosensitizer, 5-bromodeoxyuridine for patients with locally advanced cancer originating in lower rectum. We identified immunohistochemically the tumor cells that incorporated BrdU, and evaluated the radiosensitizing effect of BrdU histopathologically. (1) BrdU-labeled nuclei of cancer cells were identified in twenty-three cases out of 24 (96%). Mean labeling index was 18.5%, and tended to decrease as time progressed. (2) The parameters representing volume of residual tumor nests (Tumor Nest Index) or degrees of tumor extension (Depth of Extramural Tumor and Depth of Extramural Fibrosis) for patients with ITI were compared to those for patients without ITI. Those parameters tended to

decrease when ITI was combined with radiotherapy. However, the difference was not significant statistically.

Intratumorally injected BrdU can incorporate with cancer cells, but a methodological invention is required for yielding clinically measurable radiosensitization.

## 1. 緒 言

下部直腸癌はその他の大腸癌に比して術後局所再発の頻度が高く、補助療法を加えた集学的な治療が展開されている。この集学的治療において術前照射の果たす役割は大きく、34.5Gy から60Gy の線量が用いられた報告では局所制御率の向上が認められている<sup>1)~4)</sup>。筑波大学においても1979年より局所進行下部直腸癌に対して40~42.6Gy の術前照射を施行してきた。さらに放射線治療効果を高める目的で、bromodeoxyuridine (BrdU) の腫瘍内局注も併用してきた。この研究の目的は BrdU 局注併用による局所効果の増強作用を組織学的に評価することである。

## 2. 対象および方法

### 2-1. 対象

1979年2月より1987年6月までに筑波大学附属病院において術前照射を施行し直腸癌58例の内、病理組織像を確認できた56例を対象とした。全例初回治療例であった。

### 2-2. 術前照射

照射方法はコバルト60ガンマ線による前後対向2門照射で、線量は年代によって多少異なるが、主なものは次の2つであった。

1群(39例)：全骨盤腔(平均16×16cm)に30.6Gy/17回/3.5週照射した後原発巣及び側方リンパ節領域に限局した照射野で12Gy/4回/1.5週を追加。2群(13例)：全骨盤腔に30Gy/10回/3.5週、縮小した照射野で12Gy/4回/1.5週を追加。その他全骨盤腔に36Gy/12回照射したものが2例、39Gy/13回照射したものが2例であった。原発巣に対するTDF値<sup>5)</sup>は1群で68.8、2群で77.7であった。全照射期間は27日から45日、平均34日であった。放射線治療開始から手術までの期間は1群で平均50日、2群で平均48日であった。

### 2-3. 化学療法

併用療法として52例(93%)に対し、5-FU系抗

癌剤(Tegafur)を診断確定時より手術前日まで坐剤(750mg/day)あるいは経口剤(800mg/day)で投与した。

また34例(61%)においては原則として最後の4回の照射当日、照射の4時間前に放射線増感剤5-Bromodeoxyuridine (BrdU)：500mg及び抗癌剤Peplomycin：10mgを腫瘍内に注入した(以下“局注”)。方法は、長さ10cmの直腸鏡で局所を観察しながら、22Gの長針で腫瘍の中心部(潰瘍底)と腫瘍隆起部の各々2カ所、計4カ所に分注するものである。局注は当初できる限り全例に試みたが、1985年以降は封筒法にて実施を決定した。注入回数は1回：2例、3回：4例、4回：25例、5回：3例で、投与間隔は48時間ないしは72時間であった。3回以下の施行例は下痢、発熱などの理由で以後の局注を休止したものであった。5回施行例は初期の症例で、原発巣が大きかったために追加をしたものであった。最後の局注から手術までの期間は最短1日、最長21日、中央値14日であった。

上記局注併用例の内、1回のみ併用の2例と、原則通りの局注に手術前日の局注を追加した変則的な症例1例を除いた31例(以下局注併用群)、局注非併用例22例(以下照射単独群)の計53例について以下の検討を行った。

手術標本を10%ホルマリンにて固定し、腸管の縦軸に平行で病変の最大径に沿った切片を切り出した。切片はパラフィンにて包埋し、4ミクロンの薄切切片とした。

### 2-4. 免疫組織化学的検討

局注併用群31例のうちパラフィン切片が良好な状態で保存され、標本中に残存癌細胞が確認された24例について以下の要領にて免疫組織化学染色を行った。

#### 免疫組織化学染色

Sugihara<sup>6)</sup>、Hayashi<sup>7)</sup>、Schutte<sup>8)</sup>らの方法に準

じて、以下のごとくABC法 (Vectasta in ABC Kit: Vector社) にて行った。

1) 切片をキシロール, エタノールにて型の如く脱パラフィン。

2) 0.05% protease にて digestion. (37°C, 10分間)。

3) 0.6% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> methanol にて内因性ペルオキシダーゼをブロック (室温, 30分間)。

4) 4N HCL にて denaturation (37°C, 30分間)。

5) ホウ素ホウ酸緩衝液にて HCL を中和。

6) 正常ウマ血清による blocking (室温, 30分間)。

7) 50倍希釈抗 BrdU ウマ抗体 (Becton Dickinson Monoclonal Center, Mountain View, USA) と incubation (4°C, 16時間)。

8) 2次抗体 (ビオチン化抗マウス IgG ウマ血清) と反応 (室温, 30分間)。

9) ABC Reagent と反応 (室温, 60分間)。

各操作間では0.01M PBS にて十分洗浄を行った。

10) 3, 3'-diaminobenzidine (DAB) ·H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> による発色 (10分間)。

11) ヘマトキシリンにて核染色。

以上の処理後、鏡検にて BrdU 陽性細胞は核が褐色に染色され、その判定は容易であった。

各症例毎に以下の項目につき検討した。

BrdU 標識細胞核の形態および標識率

BrdU にて標識された細胞核の形態の特徴を検討した。また各症例につき中拡大にて適当な4視野を選び、その視野内の癌巣における癌細胞核の BrdU 標識率 (labeling index<sup>9)</sup>) を求めた。

## 2-5. Hematoxylin and Eosin (H & E) 染色標本による残存腫瘍の定量的検討

残存腫瘍の定量指標として腫瘍表面積, Tumor Nest Index, 残存腫瘍深達度 (Depth of Extramural Tumor) を、また癌の最高深達度の指標として線維化深達度 (Depth of Extramural Fibrosis) を次の如く定義した (Fig. 1)。

a. 腫瘍表面積 (surface area of tumor): 直腸粘膜面における腫瘍表面積。固定標本の実寸大コピーをもとに算出した (単位: cm<sup>2</sup>)

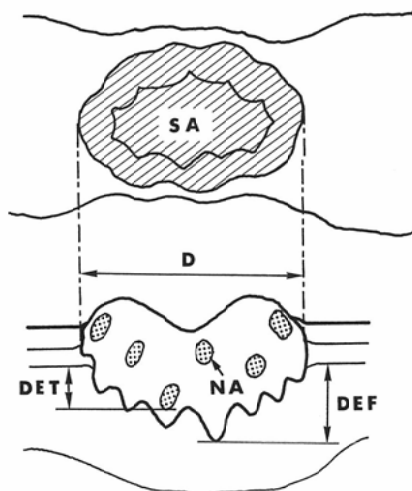


Fig. 1 Measurements made for each case. SA: surface area; NA: Area of residual tumor nest; D: largest diameter of the tumor; DET: Depth of Extramural Tumor, that is distance between the outer aspect of the muscular layer and the deepest portion of the direct tumor spread; DEF: Depth of Extramural Fibrosis, that is distance between the outer aspect of the muscular layer and the deepest portion of the fibrous changes. Tumor Nest Index (TNI) =  $SA \times \sum NA \div D$

b. Tumor Nest Index (以下 TNI): 切り出した腫瘍の最大径を通る断面を弱拡大で検鏡し、1こま0.0625mm<sup>2</sup>のスケールを用いてその断面に含まれる生残可能と思われる癌細胞の占める全面積を実測した。これと腫瘍表面積 (SA: mm<sup>2</sup>) の積を、腫瘍径 (D: mm) で除したものを TNI (mm<sup>3</sup>) と定義した<sup>10)</sup>。

c. Depth of Extramural Tumor (以下 DET): U1-III 以下の病変では固有筋層の外縁から、U1-IV の病変では断裂した筋層の下縁を結んだ線から癌先進部までの距離を H & E 染色標本上で実測したもの (単位: mm)。

d. Depth of Extramural Fibrosis (以下 DEF): 残存癌巣は常に線維化組織に囲まれており、残存癌の先進部から線維化巣の最深部までの距離は症例によってまちまちであった。また線維化の範囲は肉眼上でも同定可能であった。そこで DET と同様に線維化の最深部までの距離を実測した (単位: mm)。

各症例毎に以上の4つのparameterを算出し、局注の有無による差を検討した。

なお統計学的有意差検定には平均値の差の検定として Student の t 検定、或は Welch の t 検定を、独立性の検定として  $\chi^2$  検定を用いた。

### 3. 結 果

#### 3-1. 免疫組織化学的検討

24例中23例(96%)に BrdU 陽性癌細胞核を確認できた。BrdU を取り込んだ細胞核は全体に膨化や濃縮等の変性を示すことが多かった (Fig. 2)。標識率を求めるにあたっては、400個以上の細胞核を計数するよう努めたが、症例によっては残存癌細胞数が少なく、100個あまりしか計数できなかったものも存在した。殆どの場合どの部位の癌巣もほぼ同一の標識率を示したが、残存腫瘍量が多い症例には癌巣の腫瘍内における局在によって標識率が異なり、腫瘍表層の標識率よりも腫瘍先進部の標識率が高い傾向を示したものが数例あった。各々の症例における癌細胞の BrdU 標識率は最低4.6%、最高44.4%、平均18.5%であった。また BrdU による標識が認められなかった1例は、最後の局注から手術までの期間が18日で、腫瘍細胞は病巣辺縁の表層部にわずかに残存するのみであった。

次に最後の局注から手術までの期間と標識率の

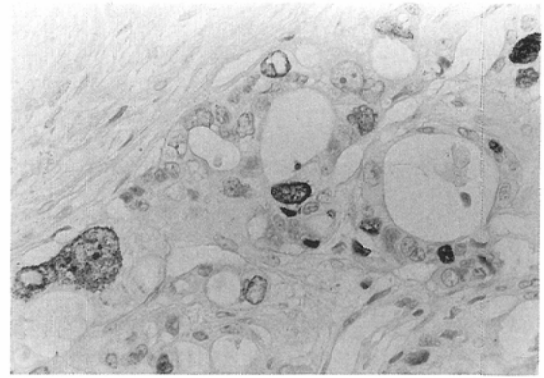


Fig. 2 A nest of cancer cells infiltrating the adventitia. Nuclei which incorporated BrdU are severely pleomorphic and degenerative. (BrdU immunostaining,  $\times 400$ )

関係について検討した。手術までの期間と標識率の相関係数は  $-0.47$  ( $p < 0.05$ ) で、期間が長い程標識率も低くなる傾向が認められた (Fig. 3)。

局注の回数と標識率の間には一定の傾向を認めなかった。

以上より、局所に直接注入された BrdU は確かに癌細胞核に取り込まれ、時間とともにその量が減少する傾向があることが示された。

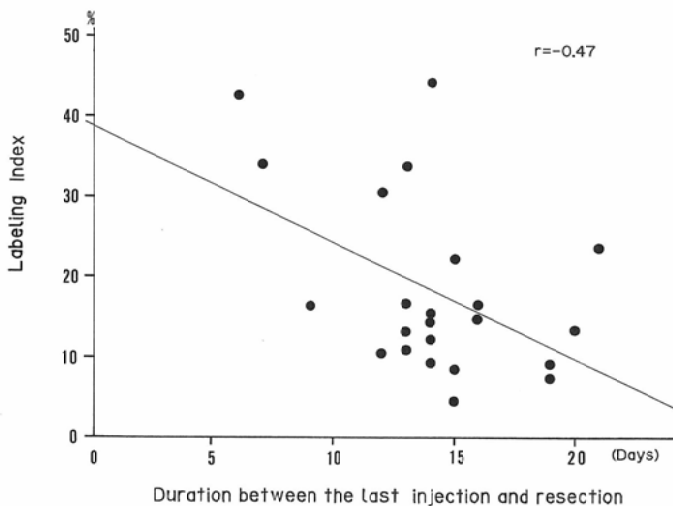


Fig. 3 Relationship of labeling index of rectal cancer and the duration between the last injection of BrdU and surgery.

Table 1 Patients for study

	Surgery and Radiotherapy	
	without ITI	with ITI
No. of case (M/F)	22 (17/5)	31 (22/9)
Age (mean)	55.9	56.4
Pathology*		
WDA	19	23
MDA	3	8
Staging*		
I	2	4
II	13	15
III	2	4
IV	1	7
V	4	1

ITI: Intratumoral injection of BrdU

WDA: well differentiated adenocarcinoma

MDA: moderately differentiated adenocarcinoma

\*: According to the classification by Japanese Research Society for Cancer of Colon and Rectum

### 3-2. H & E 染色標本による残存腫瘍の定量的検討

症例構成 (Table 1)

照射単独群22例, 局注併用群31例の男女比(M:F)は各々17:5, 22:9であり, 統計的には有意差を認めなかった. 平均年齢は各々55.9歳, 56.4歳と差を認めなかった. 各群毎の組織型の分布は照射単独群で高分化型腺癌/中分化型腺癌/低分化型腺癌=19/3/0, 局注併用群は23/8/0で, 両群間に差を認めなかった.

照射後の残存腫瘍局所深達度, リンパ節転移, 肝転移所見にもとづいた病期分類は, 照射単独群は Stage I: 2, II: 13, III: 2, IV: 1, V: 4例で, 局注併用群は Stage I: 4, II: 15, III: 4, IV: 7, V: 1例であった. 照射単独群では Stage V 即ち血行性転移例が, 局注併用群では Stage IV 即ちリンパ節転移例が多い傾向があった.

定量的評価

#### a. 腫瘍表面積 (Fig. 4)

照射単独群の腫瘍表面積は平均15.6cm<sup>2</sup> (±9.1), 局注併用群の平均は15.1cm<sup>2</sup> (±10.1)であり, 両群間に有意差はなかった.

#### b. Tumor Nest Index (Fig. 5)

照射単独群と局注併用群の TNI 平均値は各々

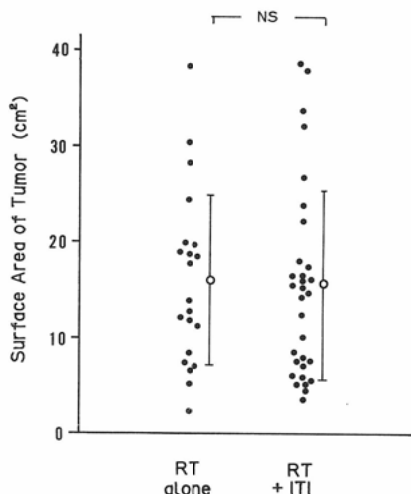


Fig. 4 Surface area of tumors treated with or without intratumoral injection therapy. (mean±S.D.)

RT: preoperative radiotherapy; ITI: intratumoral injection therapy

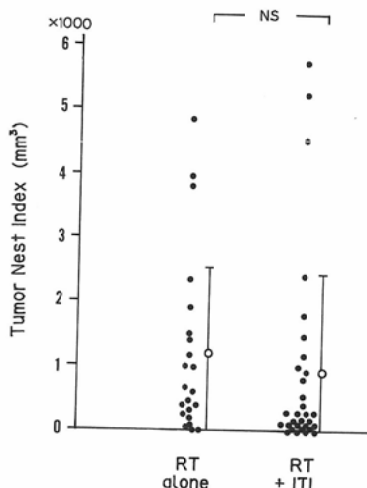


Fig. 5 Tumor Nest Index in two groups of patient treated with or without intratumoral injection therapy. (mean±S.D.)

RT: preoperative radiotherapy; ITI: intratumoral injection therapy

1200 (±1380), 907 (±1550) で局注併用群のほうが低値を示したが, 両群間には有意差を認めなかった.

#### c. Depth of Extramural Tumor (Fig. 6)

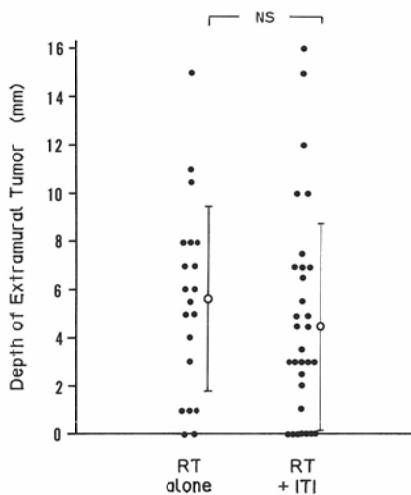


Fig. 6 Depth of Extramural Tumor in two groups of patient treated with or without intratumoral injection therapy. (mean±S.D.)

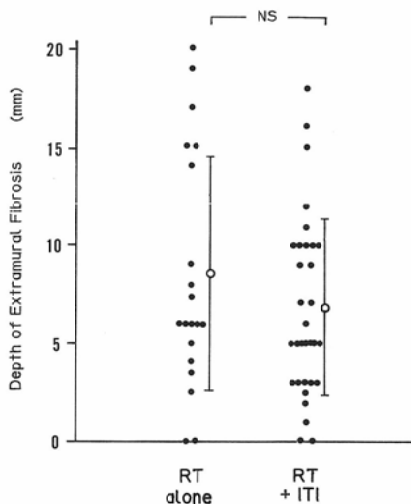


Fig. 7 Depth of Extramural Fibrosis in two groups of patient treated with or without intratumoral injection therapy. (mean±S.D.)

照射単独群の DET 値の平均は 5.6mm (±4.0), 局注併用群の DET 値の平均は 4.4mm (±4.4) と局注併用群のほうが低値を示したが, 統計学的には有意差を認めなかった。

#### d, Depth of Extramural Fibrosis (Fig. 7)

照射単独群の DEF の平均は 8.5mm (±6.1), 局注併用群の平均は 6.8mm (±4.5) とこれも局注併

用群で低値を示したが, やはり, 統計学的には有意差は見られなかった。

#### 4. 考 案

術前照射により局所進行直腸癌の局所再発率を低下させ得ることは多くの報告で示されている<sup>1)~4)</sup>。Gerard ら<sup>3)</sup>の randomized trial では 34.5 Gy の術前照射による局所制御率は 85% で, コントロール群の 65% に対して有意な改善を認めている。また Reed ら<sup>4)</sup>の non-randomized trial では 40Gy から 45Gy の照射で, 局所制御率が 69% から 91% に向上している。筑波大学では 1979 年より下部直腸原発の進行癌に対して 42.6(40)Gy/21(14)回/5 週の術前照射を施行してきた。我々の線量は諸家の報告と比較すると中等度の線量であるが, 局所効果を高める目的で, BrdU の腫瘍内局注療法を併用してきた。本稿の目的はこの局注療法の意義を明らかにすることであり, そのために BrdU が癌細胞核に取り込まれていることを証明し, 更に局注療法が照射単独の場合に比べてどれだけ治療効果をあげているかを定量的に評価した。

Bromodeoxyuridine (BrdU) はハロゲン化ピリミジン類に属し, thymidine analogue として腫瘍細胞の DNA 鎖に取り込まれることにより放射線増感効果を発揮する物質である。しかし増感効果のメカニズムは完全には明らかにされていない。Erikson と Szybalski<sup>12)</sup>はヒトの骨髓細胞を用いた実験で, 増感効果は BrdU と置き替わった thymidine の割合によって変化し, 40% の thymidine が置き替わると放射線単独による効果に比べて 3~4 倍の効果が期待できると報告している。しかし臨床的には脳腫瘍等一部の腫瘍に対して有用性を示す報告はあるが<sup>13)</sup>, 必ずしも細胞実験から期待されるほどの効果は実証されていない。その原因として以下のことが考えられる。(1) BrdU は細胞の DNA 合成期 (S 期) に DNA 内に取り込まれるので, 腫瘍細胞に効率よく取り込まれるためには腫瘍細胞の細胞周期が正常組織細胞の細胞周期よりも短いことが必要であること。(2) 腫瘍内の non-growing fraction (G0 期) には取り込まれないので, 腫瘍内に少しでも BrdU を取り込まな

い細胞があると、腫瘍全体の増感効果は期待したほど大きくないこと。(3) BrdUは肝臓に於て急速に脱ハロゲン化されて失活するので<sup>14)</sup>、薬剤を腫瘍の栄養血管に直接注入(動注)する必要がある<sup>15)</sup>こと。(4)たとえ栄養血管に注入したとしても薬剤の核への取り込みは非特異的なものであり、正常組織の増感作用による放射線障害が無視できなくなること。

このような条件のもとに、まず直腸癌がBrdU投与のよい適応であるかどうかを考えてみる。直腸癌の細胞周期に関してCamplejohnら<sup>16)</sup>はstathmokineticな検討から直腸癌の細胞周期は192時間で正常直腸粘膜(82時間)の2倍以上であると述べている。またHammarbergら<sup>17)</sup>はflow-cytometricな検討から直腸癌にはG0期の細胞が多いことを報告している。このような性質は上記(1)(2)の条件からはずれぬものであり、直腸癌はBrdUの適用としては必ずしも適当ではないといえるであろう。

ただ放射線抵抗性であるS期細胞に特異的に取り込まれて放射線増感作用を発揮する薬剤であるだけに、併用療法としての価値はあると考えられる。その為には効率的に増感細胞数を増やすことが必要である<sup>18)</sup>。この点、直腸癌は直接BrdUの注入が可能な部位にあり、しかも局所に線維化が起きているような時期に局注すれば薬剤のwash-outが遅延し、腫瘍組織内濃度を高値に維持できる可能性がある<sup>19)</sup>。このような理由から当施設では腫瘍内局注というかたちで併用を試みてきた。基礎的検討として動物実験においては確かに増感効果は認められており<sup>20)21)</sup>、dose modifying factorは50% tumor regrowth timeを指標とした場合、oxicな状況で1.29、hypoxicな状況で1.26と報告されている。そこで局注したBrdUが実際に腫瘍細胞に取り込まれていることを確認するために免疫組織化学的手法を用いた。

1982年GratnyerはBrdUと特異的に反応するmonoclonal antibodyを得ることに成功し<sup>22)</sup>、これと免疫組織染色の技術によりBrdUを核内に取り込んだ細胞すなわちS期細胞を光顕上で、それも短時間で確認できるようになった。標識の方

法としてはin vivoの他にin vitroでも可能であり<sup>8)</sup>、このことも局注によって腫瘍細胞を標識することの妥当性を裏付けている。

一般に標識の程度は全腫瘍細胞数に対する標識腫瘍細胞数の比(labeling index)として表現される。labeling indexは悪性度の指標ともされるが<sup>23)24)</sup>、直腸癌については指標とならないとする報告もある<sup>25)</sup>。免疫組織化学的に求めた直腸癌のlabeling indexは、Risioら<sup>8)</sup>の報告では16.85~30.83%(mean, 21.23%)で、autoradiography等で得られた値<sup>25)26)</sup>とほぼ同等である。今回の検討では96%の症例にBrdUの癌細胞核への取り込みが確認され、labeling indexは平均18.5%であった。

また直腸癌の細胞周期が8日であるとする<sup>16)</sup>、今回は約3細胞周期の期間の観察したことになるが、局注実施からの日数に比例してlabeling indexが低下する傾向を認めた。これは標識細胞核の脱落と腫瘍組織のrepopulationにともなって標識率の低下が起こったものと考えられる。従って局注終了直後のlabeling indexの平均値は18.5よりも大きかったことが推測される。しかし局注回数が平均4回であったことを考えると、この値は決して高い値とはいえないであろう。また1例においてlabeling indexが0であった原因は、腫瘍細胞が表層に、しかも少量しか残っていなかったことに加えて、局注から手術までの期間が18日あり、標識細胞が手術までの間に脱落してしまった可能性が高いと考えている。いずれにしても、局注によってBrdUは癌細胞核に取り込まれ得ることが実証された。

一方BrdUを取り込んだ核は他の腫瘍細胞核に比べて異型の度合いが強く、形態的にもBrdUの効果が示唆された。以上よりBrdU局注療法は放射線増感の方法として妥当であることが示された。

次に照射効果を定量的に評価するために4つのparameterを設け、局注の有無によるparameter値の差を検討した。この内TNIは照射後に局所に残存する腫瘍細胞の容積を代表するものであり、その値は大星下里分類<sup>27)</sup>による治療効果判定



とも対応する性質を有する<sup>10)</sup>。DET は術前照射後の腫瘍の局所深達度を代表する値である。照射前の局所深達度に関しては、照射後の組織像からそれを推定する方法を矢ヶ崎ら<sup>28)</sup>が報告している。彼らによると、線維化巣、小細胞浸潤、変性癌細胞の存在は照射前にそこまで腫瘍細胞の浸潤があったことを示しているという。このことより、照射前の腫瘍の局所深達度を代表する値として DEF を考案した。

上記の parameter を用いて治療効果を判定した結果、照射単独群、局注併用群の腫瘍表面積はほぼ同じ値を示し、TNI、DET、DEF はどれも局注併用で低値を示す傾向が見られた。しかし統計学的有意差を示すには至らなかった。今回の検討材料から局注療法の dose modifying factor を求めることはできないが、局注の有無と TNI の関係をみる限り、局注群では確かに TNI の分布が低値に偏位しており、症例によっては有効な増感効果があったことが示唆される。従ってより効率的な増感作用を得るための治療法の改善が今後の課題であり、具体的に次の 2 つを考えている。

まず 1 つは局注併用の時期である。当施設の放射線治療プロトコールでは BrdU を併用するまでのおよそ 3.5 週のあいだに 30~30.6 Gy の分割照射がなされる。Meyer 氏<sup>25)</sup>は分割照射によって S 期細胞が減少することを報告している。我々の症例では諸家の報告とはほぼ同等の平均 18.5% の labeling index が得られたが、これが複数回の局注によって得られた値であることから、若干の標識率低下による増感効果への影響はあると考えられる。よって、照射前半に局注を実施したほうが S 期細胞の実数が大きく、増感効果は大きくなると予想される。さらに、治療早期に S 期細胞分画の放射線感受性を増感し、脱落させることができれば reoxygenation による増感効果が加わる可能性がある。照射終盤に局注を行ったのは前述のように、薬剤の組織内濃度を高く維持できることを期待したからであるが、この時期は同時に reoxygenation が起こりにくい状態にあると考えられる。以上より、BrdU を併用するならばもう少し早い、線維化がまだ起きていない時期で実施し

てみる価値があるであろう。

つぎに、残存腫瘍量が多かった症例で labeling index が部位によって異なるものがみられたことは、局注の薬剤分布の不均一性によるものと考えられる。大きな腫瘍に局注する場合はなるべく刺入点を多くし、腫瘍全体に均一に薬剤が分布するよう心がけることが必要であろう。また薬剤の使用量を腫瘍の大きさに応じて変えることも必要かもしれない。ただし投与した BrdU の一部は体循環系に乗って再び血流を介して運ばれ、正常組織にも取り込まれていると考えられる。そうなると小腸粘膜や皮膚にも増感効果が現れ、急性障害が増す危険性がある。BrdU 自身が持つ細胞毒性、催奇形性、変異原性等の問題もあり<sup>29)</sup>、その使用にはなお慎重さが必要である。以上 BrdU 局注療法の問題点について述べたが、なお工夫の余地はあり、今後検討を重ねて安全かつ効果的な治療方法の確立をめざしたいと考えている。

## 5. まとめ

1. 術前照射に BrdU の局注を併用した直腸癌 24 例の手術標本に免疫組織化学染色を施し、局注された BrdU の癌細胞核への取り込みを確認した。96% (23/24) の症例において BrdU 陽性癌細胞核を確認し、各症例における BrdU 標識率は平均 18.5% であった。BrdU 陽性核の形態は異型度が高い傾向を認めた。以上より BrdU 局注は照射効果を増強する可能性があると考えられた。

2. 照射単独群 (n=22)、局注併用群 (n=31) の手術標本の病理組織像を解析し、局注の有無による組織像の相違を定量的に検討した。原発巣の表面積、Tumor Nest Index、Depth of Extramural Tumor、Depth of Extramural Fibrosis の 4 つの parameter の内、後 3 者は局注併用群で低値を示したが、有意差は認めなかった。即ち、局注の併用によって明らかな組織学的効果の増強は認められなかった。

3. 局注併用の時期を照射終盤からより早期へ移行することにより、局注の効果が高まることが期待される。

稿を終えるにあたり、御指導賜った秋貞雅祥前筑波大学放射線科教授、ならびに岩崎洋治筑波大学消化器外科教授

に深甚なる謝意を表します。

#### 文 献

- 1) Stevens KR, Allen CV, Fletcher WS: Preoperative radiotherapy for adenocarcinoma of the rectosigmoid. *Cancer* 37: 2866—2874, 1976
- 2) Knysh VI, Aliev BM, Barsukov YuA: Combined treatment of rectal cancer using two variants of preoperative concentrated gamma-therapy. *Med Radiol* 28(5): 12—17, 1983
- 3) Gerard A, Berrod JL, Pene J, et al: Preoperative radiotherapy and radical surgery as combined treatment in rectal cancer. *Recent Results Cancer Res* 110: 130—133, 1988
- 4) RFeed WP, Garb JL, Park WC, et al: Long-term results and complications of preoperative radiation in the treatment of rectal cancer. *Surgery* 103: 161—167, 1988
- 5) Orton CG, Ellis F: A simplification in the use of the NSD concept in practical radiotherapy. *Br J Radiol* 46: 529—537, 1973
- 6) Sugihara H, Hattori T, Fukuda M: Immunohistochemical detection of bromodeoxyuridine in formalin-fixed tissues. *Histochemistry* 85: 193—195, 1986
- 7) Hayashi Y, Koike M, Matsutani M, et al: Effects of fixation time and enzymatic digestion of immunohistochemical demonstration of bromodeoxyuridine in formalin-fixed, Paraffin-embedded tissue. *J Histochem Cytochem* 36: 511—514, 1988
- 8) Schutte B, Reynders MMJ, Bosman FT, et al: Effect of tissue fixation on anti-bromodeoxyuridine immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem* 35: 1343—1345, 1987
- 9) Risio M, Coverlizza S, Ferrari A, et al: Immunohistochemical study of epithelial cell proliferation in hyperplastic polyps, adenomas, and adenocarcinomas of the large bowel. *Gastroenterology* 94: 899—906, 1988
- 10) 奥村敏之, 菅間 博, 小形岳三郎, 他: 直腸癌術前照射の組織学的治療効果, *日癌治会誌*, 26: 1511—1518, 1991
- 11) 大腸癌取扱い規約, 大腸癌研究会編(改訂第4版), 金原出版, 1985
- 12) Erickson RL, Szybalski W: Molecular radiobiology of human cell lines. V. Comparative radiosensitizing properties of 5-halodeoxycytidines and 5-halodeoxyuridines. *Radiat Res* 20: 252—262, 1963
- 13) 佐野圭司, 星野孝夫: 放射線感受性増強物質を用いた脳腫瘍の治療に関する研究, *日癌治会誌*, 2: 23—32, 1967
- 14) Kriss JP, Revesz L: The distribution and fate of bromodeoxyuridine and bromodeoxycytidine in the mouse and rat. *Cancer Res* 22: 254—265, 1962
- 15) Bagshaw MA, Doggett RL, Smith KC: Intra-arterial 5-bromodeoxyuridine and X-ray therapy. *Radiology* 99: 886—894, 1967
- 16) Camplejohn RS, Bone H, Aherne W: Cell proliferation in rectal carcinoma and rectal mucosa: A stathmokinetic study. *Europ J Cancer* 9: 577—581, 1973
- 17) Hammarberg C, Tribukait B, Oehman U: Early effects of preoperative irradiation upon the cell cycle composition in rectal adenocarcinomas: A flow-cytometric DNA investigation. *Acta Radiol Oncol* 25: 45—50, 1986
- 18) Suit H: Theoretical evaluation of a limitation in the use of pyrimidine analogs in radiation therapy. *Radiology* 87: 1065—1068, 1966
- 19) 更科広美, 轟 健, 折居和雄, 他: 直腸癌術前照射における局所併用療法の治療効果, *日外会誌*, 88: 569—576, 1987
- 20) 碓井貞仁, 轟 健, 小池幸子, 他: BUdR腫瘍内投与による放射線増感作用, *日本医放会誌*, 35: 580—582, 1975
- 21) Todoroki T, Sarashina H, Takase Y, et al: Effects of preoperative irradiation combined with intra-tumor injection of Peplomycin (PLM) and BUdR (5-bromodeoxyuridine) of growth and survival in a mouse fibrosarcoma, and on advanced human carcinoma of the rectum in the lower portion. *J Jpn Soc Cancer Ther* 17(Suppl): 175, 1981
- 22) Gratzner HG: Monoclonal antibody to 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine: A new reagent for detection of DNA replication. *Science* 218: 474—475, 1982
- 23) Meyer JS, Hixon B: Advanced stage and early relapse of breast carcinomas associated with high thymidine labeling indices. *Cancer Res* 39: 4042—4047, 1979
- 24) Hoshino T, Wilson CB: Cell kinetic analyses of human malignant brain tumors (gliomas). *Cancer* 44: 956—962, 1979
- 25) Meyer JS, Prioleau PG: S-phase fractions of colorectal carcinomas related to pathologic and clinical features. *Cancer* 48: 1221—1228, 1981
- 26) Bleiberg H, Buyse M, Garand P: Cell kinetic indicators of premalignant stages of colorectal cancer. *Cancer* 56: 124—129, 1985
- 27) 大星章一, 下里幸雄, 板倉克明, 他: 癌放射線療法の病理. I. 癌組織の治癒過程の組織学的追跡, *医学のあゆみ*, 61: 618—625, 1967
- 28) 矢ヶ崎喜三郎, 加藤 洋: 食道癌術前照射 (3000—4000 rad)の意義, *日消外会誌*, 18: 1784—1792, 1985
- 29) Goz B: The effects of incorporation of 5-halogenated deoxyuridines into the DNA of eukaryotic cells. *Pharmacol Rev* 29: 249—272, 1977