The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	抗癌剤の血管壁に与える影響-組織学的および薬理学的検討-
Author(s)	坂井, 豊彦; 林, 信成; 木本, 達哉 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1996, 56(12), p. 818-821
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19475
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

抗癌剤の血管壁に与える影響
—組織学的および薬理学的検討—

坂井　豊彦[1)]　林　信成[1)]　木本　達哉[1)]
北川　学[1)]　石井　靖[1)]　村松　郁延[2)]

1)福井医科大学放射線科学教室　2)同薬理学教室

Effects of Anticancer Drugs on Vascular Wall : Histological and pharmacological studies

Toyohiko Sakai[1)], Nobushige Hayashi[1)], Tatsuya Kimoto[1)], Manabu Kitagawa[1)], Yasushi Ishii[1)] and Ikunobu Muramatsu[2)]

The effects of epirubicin (EPIR), 5-fuluorouracil (5-FU) and mitomycin C (MMC) on the vascular wall were examined histologically and pharmacologically.

The popliteal arteries of rabbits were observed under a microscope one week after the injection of each anticancer drug. The histological change was not apparent.

The rat thoracic aorta was removed and placed in the Krebs, solution. Helical strips were made, mounted in organ chambers and incubated with 10^{-5} mol/l (M) of each anticancer drug for 2 hours. After incubation, the relaxation response to acetylcholine (Ach) in endothelium-intact strips and that to sodium nitroprusside (SNP) in endothelium-denuded strips were evaluated. EPIR affected the relaxation response to Ach but not to SNP. 5-FU and MMC did not affect the relaxation responses to Ach and SNP. These results revealed that EPIR impairs the nitric oxide function at the level of endothelium. This effect of EPIR may be connected with arterial change following transarterial chemotherapy.

Research Code No. : *399*

Key words : *Chemotherapy, Endothelium, Nitric oxide*

Received Sep. 25, 1995; revision accepted Jan. 23, 1996

Department of Radiology[1)] and Pharmacology[2)], Fukui Medical School

はじめに

近年肝腫瘍に対する経動脈的治療は著しい進歩を遂げている．肝動脈塞栓療法，抗癌剤あるいはlipiodolと組み合わせるchemoembolizationやリザーバーを使用した抗癌剤持続動注療法などが考案されてきた．現在主流となっているのはいずれも抗癌剤と組み合わせた治療法である．

これらの治療を繰り返すことにより肝動脈が狭小化あるいは閉塞し，時には治療の継続が不可能となる[1)]．さらにchemoembolizationや抗癌剤動注療法による硬化性胆管炎や胆管壊死などの重篤な合併症も報告されており，細小血管障害の関与が示唆されている[2)-6)]．これらの血管障害と抗癌剤との関係を評価した報告は散見されるが，形態学的な評価にとどまっている[7)]．そこでわれわれは，抗癌剤の血管壁に与える影響を形態学的のみならず機能的にも検討してみた．

対象および方法

実験 1

抗癌剤の血管壁に与える影響を形態学的に検討するために2-2.5kgの12羽の家兎を使用した．ネンブタールによる静脈麻酔下に家兎の伏在動脈を本間らの方法に準じて23-27 G針で穿刺した[8)]．透視下に造影剤を手圧で注入すると伏在動脈および膝窩動脈が造影された(Fig.1)．次に同様に伏在動脈を穿刺した後，各種抗癌剤を手圧で注入した．使用した抗癌剤はおのおのepirubicin (EPIR) を 1 mg (1mg/ml)，5-fuluorouracil (5-FU) を 25mg (25mg/0.5ml) または mitomycine C (MMC) を0.5mg (0.5mg/ml) である．この 3 剤は実際の臨床で動注療法に頻用されており，また薬剤使用量はヒトと家兎の体重差を考慮して臨床使用量の1/20-1/50を使用した．またコントロールとして生理食塩水 1 mlを動注した．おのおの 3 羽ずつ施行し，1 週間後にネンブタールにより屠殺した後，動注と同側の膝窩動脈を取り出しホルマリンで固定した．標本をH.E.染色し光顕で観察した．

実験 2

抗癌剤が血管壁に与える影響の機能的検討を試みた．250-

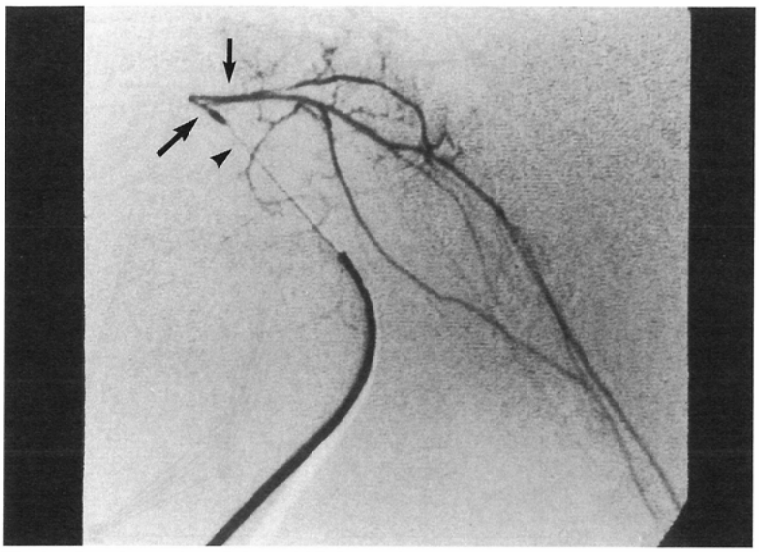


Fig.1　Arteriography of the rabbit-lower leg. The contrast medium is injected from the saphenous artery (large arrow). The popliteal artery (arrow) is visualized. arrow head : 23 gauge needle

350gのウイスターラットの胸部大動脈を取り出し，螺旋状に切り出して索状標本を作成した．血管標本を培養液中(Modified-Krebs solution)に吊しforce transducerに接続した．血管壁に対する抗癌剤の影響を検討するために10^{-5}MのEPIR，5-FUおよびMMCとともに血管標本を2時間incubationした．その後α1作用薬であるphenylephrineを10^{-7}M加えて収縮させ，最大収縮に達した後，acetylcholine(Ach)およびnitroprusside(SNP)を累積的に加えて弛緩反応を張力の変化として記録した．Achの反応には内皮つき，SNPの反応には内皮なしの血管標本を用いた．弛緩反応はphenylephrineによる最大収縮を100%とし，ある濃度のAchあるいはSNPにより何%弛緩したか(% relaxation)により評価した．

結　果

実験 1

肉眼的にはEPIR動注群の3羽中2羽において動注同側の下肢に色調変化を認めたが潰瘍はみられず，軽度の壊死性変化と思われた．5-FU，MMC，生食動注群には明らかな肉眼的変化を認めなかった．組織学的には各群とも血管壁に明らかな変化を認めなかった(Fig.2)．各群において血管内腔にわずかに赤血球の残存を認めた．

実験 2

ウイスターラットの内皮つき大動脈を用いたAchに対する弛緩反応は10^{-5}MのEPIRの2時間incubationによって，コントロールと比較し有意に抑制されていた ($P < 0.01$, Student's-t-test) (Fig.3(A))．同一条件の5-FU，MMCとのincubationでは，Achに対する弛緩反応においてコントロールとの有意差を認めなかった (Fig.3(A))．それに対し，内皮なしのラット大動脈を用いたSNPに対する弛緩反応は，10^{-5}MのEPIR，5-FUおよびMMCとの2時間incubationによって有意な抑制は認められなかった．(Fig.3(B))．

考　察

膝窩動脈を用いた組織学的検討では血管壁に明らかな変化は認められなかった．上述したように各群で血管内腔にわずかに赤血球の残存を認めたが，同様の変化はコントロールでも認められ，これは血栓ではなく固定の際のアーチファクトの可能性が高いと考えられた．

上田らも対側大腿動脈より挿入したカテーテルより抗癌剤(adriamicin, MMC, cisplatine)を注入し，その組織像を検討しているが，大腿動脈の組織学的変化は軽微であったと報告している[7]．また上田らが同時に施行した耳介動脈を用いた検討(adriamicin)では組織学的に血管内皮細胞の増生および硝子体様変成を認め，抗癌剤動注による病理学的変化は血管内皮細胞障害が主体であると考察しているが[7]，この実験は耳介動脈の穿刺部末梢2cmの血管を使用しており，穿刺自体による影響を完全には否定できないものと考えられる．一方，本実験モデルは，動注に先立って施行した造影の結果から(Fig.1)，膝窩動脈に関してはカテーテル操作の影響を除外した純粋に抗癌剤のみの影響を反映しているものと考えられる．本実験の結果を考慮すると，やはり動注後血管の形態学的な変化をとらえるためには抗癌剤の反復動注が望ましいと考えられる．しかし家兎を用いた本実験モデルでは技術的に施行困難であった．

一方，機能実験ではEPIRはAchに対する弛緩反応を障害

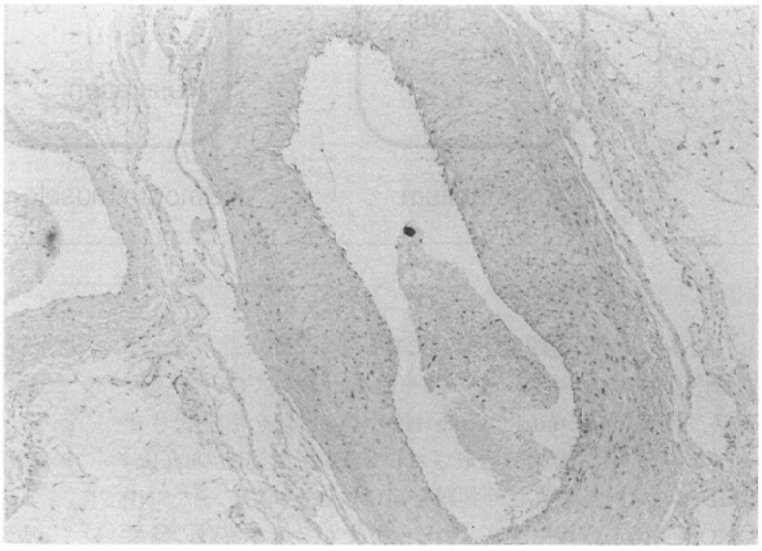
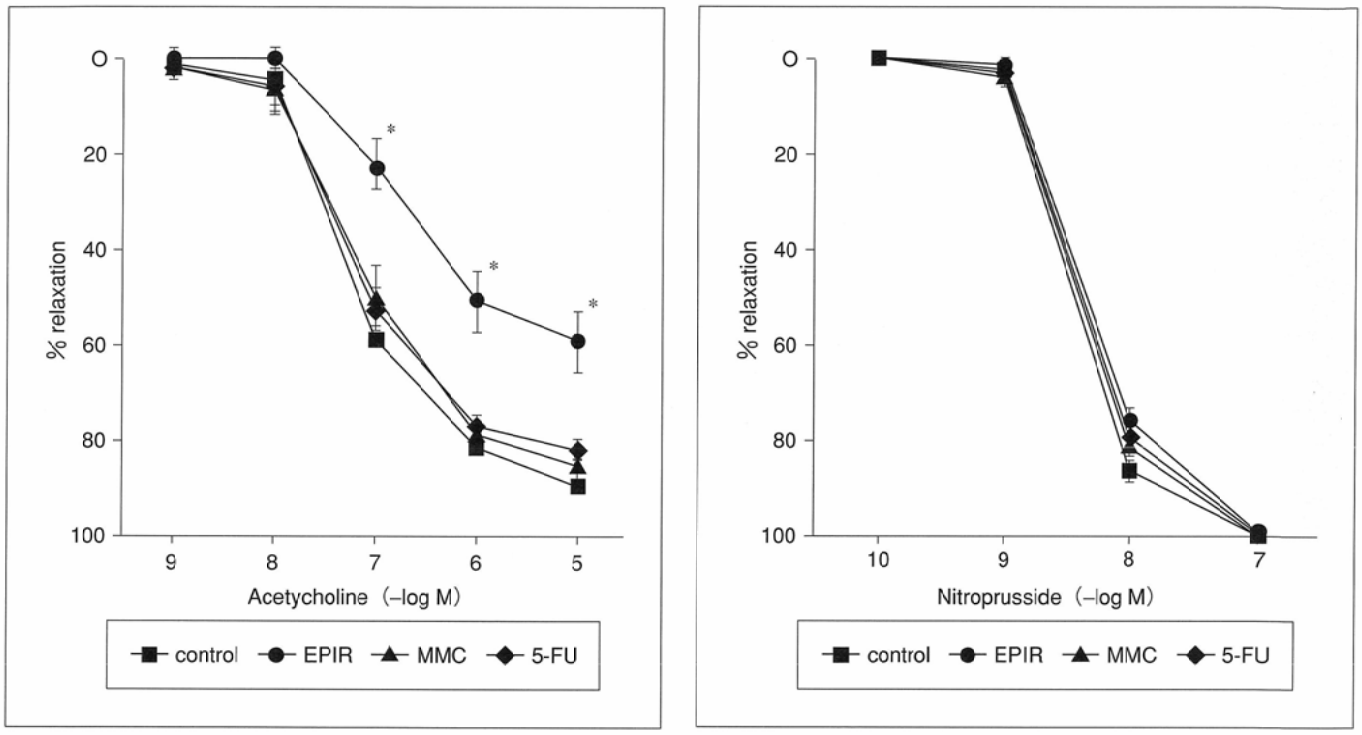


Fig.2　Photomicrograph of the specimen of the rabbit-popliteal artery a week after the injection of epirubicin (hematoxylin-eosin staining, ×200). There is no apparent histological change in this specimen.



(A) (B)

Fig.3 Results of functional studies after incubation with each anticancer drug with arterial strips of rat thoracic aorta. The graphs demonstrate the relaxation responses to Ach (3-A) with endothelium-intact arterial specimens and SNP (3-B) with endothelium-denuded arterial specimens. The preparations were precontracted with 10^{-7} M phenylephrine, and the contractile amplitude was taken as 100%. ■ : control. After treatment of 10^{-5} M EPIR (●), MMC (▲) and 5-FU (◆) for 2 hours. Mean ± SE of 6 experiments. ＊: significantly different from control ($P<0.01$, student's-t test)

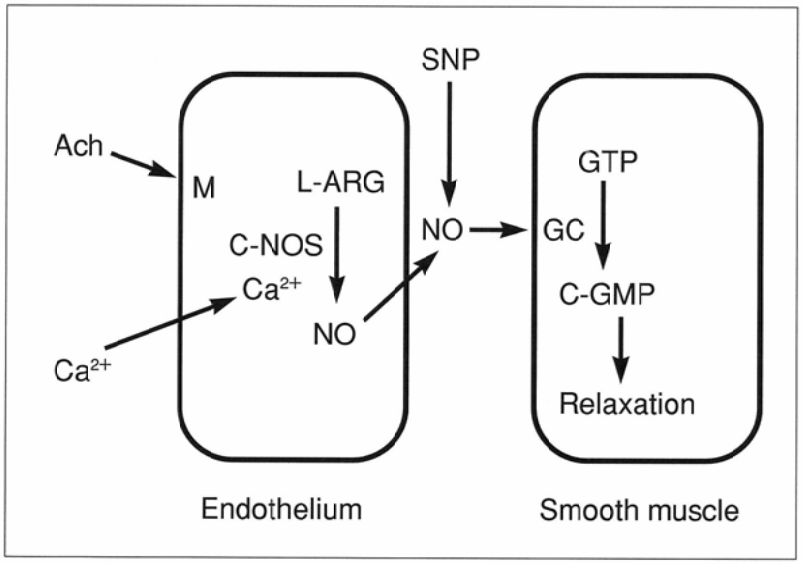


Fig.4 L-arginine-nitric oxide (NO) pathway in vascular wall is demonstrated. Acetylcholine (Ach) acts on the muscarine receptor (M) and leads to increase the concentration of Ca^{2+} in endothelium. The constitutive NO synthase (C-NOS) in the endothelium is Ca^{2+}-dependent and generates NO from L-arginine (L-ARG) in response to receptor stimulation. The released NO activates the soluble guanylate cyclase (GC) in vascular smooth muscle cells, increasing the concentration of cyclic guanosine monophosphate (C-GMP) with consequent vascular relaxation. Sodium nitroprusside (SNP) releases NO and it directly acts on GC in vascular smooth muscle cells, leading to vascular relaxation. This figure is quoted from Moncada S and Higgs A, New Engl J Med 30, 2002-2012, 1993.

し，SNPに対する弛緩反応には影響を与えなかった．Achは血管内皮のムスカリンリセプター(M)に作用してCa^{2+}を流入させ，内皮細胞のnitric oxide (NO) 合成酵素を活性化させる．このNO合成酵素で合成されたNOは平滑筋内のcyclic-GMP (c-GMP) を上昇させ弛緩を起こす(Fig.4)[9]．またSNPはNOを遊離し直接平滑筋に働く．したがって本実験の結果は，EPIRが平滑筋機能には影響せず，内皮細胞レベルのNO関連機能を減弱させていることを示している．このNOは平滑筋弛緩作用に加え，血小板凝集抑制作用や平滑筋増殖抑制作用をもち，血管のpatencyに関係すると考えられている[10)-13)]．よってEPIRは内皮のNO関連機能を低下させ，局所循環に悪影響を与えている可能性がある．実際動脈硬化あるいは高コレステロール血症など局所循環が悪化する他の病態でも，Achによる内皮由来の弛緩が障害されていることが報告されている[14),15)]．

さらにAch-NOを介する反応系は内皮細胞レベルではムス

カリンリセプター，Ca^{2+}の流入，NO合成酵素，NOの流出といくつかの段階からなるが，今回の実験結果からはEPIRがどの段階に影響しているかは明らかでない．だがDasanらは，アンスロサイクリン系抗癌剤がラット小脳のNO合成酵素活性を低下させることを生化学的に証明しており[16]，アンスロサイクリン系抗癌剤の一つであるEPIRもまた血管内皮のNO合成酵素活性を低下させている可能性がある．

一方，本実験では5-FUおよびMMCの血管壁に与える影響は証明できなかった．しかし，これは実際の臨床と必ずしも一致した結果ではなく，5-FUの動注のみで動脈の狭窄や閉塞を来すことも経験される[1]．この臨床との差が生じた理由としては，薬剤濃度や接触時間など条件面での問題も考えられるが，やはりNO系以外の機序を考える必要があろう．

また，実験1で認めた下肢の肉眼的変化はEPIR動注家兎のみに認められ，この結果は実験2における内皮機能障害の有無と一致していた．したがって下肢の壊死性変化とNO機能障害が関連している可能性もあるが，EPIRによる組織毒性により生じた可能性もあり，壊死性変化とNO機能障害との関連は推論の域をでない．この壊死性変化を認めた例でさらに末梢の血管を観察すれば血栓形成などの局所循環障害を示唆する形態学的変化をとらえられた可能性はあるが本実験では施行していない．

以上，本実験においてEPIR動注後の血管変化にNO関連機能の低下が関連している可能性が示唆された．NO系を中心とした本実験では証明されなかった5-FUあるいはMMCの血管壁に与える影響もNO系以外の機能面からのアプローチが有用かもしれない．

まとめ

1．EPIR，5-FUおよびMMCの血管壁に与える影響を家兎の膝窩動脈を用いて組織学的に，ラットの大動脈を用いて薬理学的に検討した．

2．各種抗癌剤動注後の家兎膝窩動脈は光顕的には明らかな変化を認めなかった．

3．ラット大動脈を用いた薬理学的検討において，EPIRはNOを介する内皮機能を低下させていた．5-FUおよびMMCにはこの作用を認めなかった．

本研究は文部省の科学研究費(一般研究C，課題番号05670768)の補助を受けた．

文　献

1) Forsberg L, Hafstrom L, Lunderquist A, et al: Arterial change during treatment with intrahepatic arterial infusion of 5-fluorouracil. Radiology 126: 49-52, 1978
2) Makuuchi M, Sukigara M, Kobayashi J, et al: Bile duct necrosis: Complications of transcatheter hepatic arterial embolization. Radiology 156: 331-334, 1985
3) 芦澤和人，松永尚文，林　邦昭，他：肝動注塞栓療法の合併症としてのbile lake．日本医放会誌 51：121-126, 1991
4) Doppman JL, Dunnick NR, Girton M, et al: Bile duct cysts secondary to liver infarcts: report of a case and experimental production by small vessel hepatic artery occlusion. Radiology 130: 1-5, 1979
5) Roger P, Laplanche A, Huguier M, et al: Hepatic arterial infusion of fluoxuridine in patients with liver metastasis from colorectal carcinoma: Long-term results of a prospective randomized trial. J Clin Oncol 10: 1112-1118, 1992
6) Hohn DC, Stagg RJ, Friedman MA, et al: A randomized trial of continuous intravenous versus hepatic intraarterial Floxuridine in patients with colorectal cancer metastatic to the liver: The northern California cancer oncology group trial. J Clin Oncol 7：1646-1654, 1989
7) 上田英二，佐古正雄，廣田省三，他：抗癌剤動注療法の血管系への影響に関する基礎的研究．日本医放会誌　49：1430-1432, 1989
8) 本間　穣，須田博喜，江部和勇，他：家兎VX-2下腿腫瘍に於ける簡便な動注および血管造影法．日本医放会誌　50：426-428, 1990
9) Moncada S, Higgs A: The L-arginine-nitric oxide pathway. New Engl J Med 30：2002-2012, 1993
10) Azuma H, Ishikawa M, Seizaki S: Endothelium-dependent inhibition of platelet aggregation. Br J pharmacol 88: 411-415, 1986
11) Radomski M, Palmer RMJ, Moncada S: Comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor, nitric oxide and prostacycline in platelets. Br J Pharmacol 92: 181-187, 1987
12) Radomski M, Palmer RMJ, Moncada S: The role of nitric oxide and cGMP in platelet adhesion to vascular endothelium. Biochem Biophys Res Commun 148: 1482-1489, 1987
13) Garg UC, Hassid A: Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophoste inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. J Clin Invest 83: 1774-1777, 1989
14) Girerd XJ, Hirsch AT, Cooke JP, et al: L-arginine auguments endothelium-dependent vasodilatation in cholesterol-fed rabbits. Circ Res 67: 1301-1308, 1990
15) Chester AH, O'neil GS, Moncada S, et al: Low basal and stimulated release of nitric oxide in atherosclerotic epicardial coronary arteries. Lancet 336: 897-900, 1990
16) Dasan L, Steven RV: Inhibition of nitric oxide synthase by antineoplastic anthrocyclines. Biochem Pharmacol 47: 2111-2112, 1994