



Title	温熱療法の血管系に及ぼす影響に関する実験的研究-特に家兎VX2腫瘍における血管造影並びに組織像との対比による検討-
Author(s)	大槻, 修平; 佐古, 正雄; 広田, 省三
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1988, 48(2), p. 130-143
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19893
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

温熱療法の血管系に及ぼす影響に関する実験的研究

—特に家兎 VX2腫瘍における血管造影並びに組織像との対比による検討—

神戸大学医学部放射線医学教室（主任：河野通雄教授）

大槻 修平 佐古 正雄 広田 省三

（昭和62年3月23日受付）

（昭和62年7月18日最終原稿受付）

Experimental Studies of Hyperthermic Effect on Vascular System —Evaluation with Angiographic-Histologic Correlations in VX2 Tumor Transplanted in Rabbit—

Shuhei Ohtsuki, Masao Sako and Shozo Hirota

Department of Radiology, Kobe University School of Medicine

Research Cord No. : 508.4

Key words : *Hyperthermia, Angiography, VX2 Rabbit Carcinoma,
Tumor Vessel, Vascular Damage*

Hyperthermic effect on the vascular system was studied using VX2 rabbit carcinoma implanted at the lower leg. The tumors were examined angiographically and histologically before and after hyperthermia in the following 4 groups; Group A: 43°C heating (18 tumors), Group B: 41°C heating (5 tumors), Group C: 43°C heating twice at intervals of 48hours (5 tumors), Group D: without heating (6 tumors). Hot bathing was employed to maintain the tumor at required temperature for 30minutes.

On angiograms made immediately after 43°C heating (Group A), there were marked narrowing and occlusion of tumor vessels and of feeding arteries in all rabbits, as compared with those of before heating. Histologically, there were predominant damages to the vessels, such as intimal injury, bleeding and thrombus formation. However, these vascular changes was transient, becoming less prominent from 24hours after heating, and almost completely subsided on day 7. The tumor stains of 7days after heating moderately decreased in size and density, comparing with those of 6 untreated, companion tumors (Group D). Histologic sections of tumors 7days after heating revealed that minute, intralesional vessels decreased in number with extensive tumor necrosis.

Five rabbits with 41°C heating (Group B) did not show any vascular damages after heating.

In case of 43°C twice-heating (Group C), the vascular damages seen immediately after the second heating were less prominent than those of after the first heating, suggesting a presence of thermotolerance on vascular system.

Conclusively, arterial damages after heating, though they were transient, will more or less contribute to the therapeutic effect of hyperthermia providing ischemic effect on tumors. The results will also provide an important information to determine when chemotherapy or radiotherapy should be combined with hyperthermia. Thus, angiography is considered to be an useful diagnostic modality to evaluate the hyperthermic effect on tumors.

緒 言

温熱療法は、悪性腫瘍の治療に対する新しい補助療法として、今日その地位を確立しつつある。しかしながら、温熱療法の生体内での作用機序は必ずしも全て明らかにされていない現状である。

培養細胞の温熱感受性に関する最近の研究では、悪性細胞と正常細胞との間に特に明らかな差がないとされているが¹⁾²⁾、生体内における研究では、悪性組織の温熱感受性は正常組織より高いことが報告されている³⁾。即ち、培養細胞と生体内とで感受性に差がみられることは、生体では細胞をとりまく間質系が大きく関与しているためと考えられ、間質系の変化に伴う組織の内部環境の差異が温熱に対する細胞の感受性を決定する重要な因子であると考えられる。

特に、組織の内部環境に対し、血管が果たす役割が注目され、この面での研究^{3)~9)}から、温熱の血管系に及ぼす影響や、これに起因する組織の内部環境の変化、更にこれに伴う腫瘍細胞の温熱感受性の変化が次第に解明されつつある。

これまでの研究^{5)~9)}で、腫瘍血管の温熱感受性は正常組織内の血管に比べより高いことが報告されている。また、組織が低酸素状態の場合、細胞の温熱感受性は高まり、殺細胞効果が増強することが知られている¹⁰⁾。即ち、温熱により腫瘍血管が損傷を受け、腫瘍内の血流低下が生じると腫瘍組織は低酸素状態となり、殺細胞効果が一層増強されることになる。

このように、温熱療法における血管系の果たす役割はきわめて重要で、温熱療法に際し、血管系の状態や変化を評価することは、治療効果の予測や判定のみならず、放射線療法や化学療法を併用する際の適切な時期を決定する上で不可欠である。温熱療法の臨床に際し、血管系の変化を把握するには、臨床的に汎用されている画像診断法を用いる必要があるが、画像診断法を用いた評価方法に関する報告は、我々が検索し得た範囲内ではまだみられない。

この観点から、著者等は、担癌家兎を用い、温熱が血管系に及ぼす影響を血管造影並びに組織学的に検討を加え、更に温熱療法における血管造影

の診断的意義についても検討した結果、有用な知見を得たので報告する。

対象並びに方法

(1) 担癌家兎及び実験手技

家兎 VX2腫瘍の作製は、我々の研究室で継代移植している VX2腫瘍を剔出後破碎均等化し、これを滅菌生理食塩水で遠沈洗浄する。次いで、得られた腫瘍細胞含有液2.5mlを下腿の筋肉組織内に注入移植すると、移植2週間後、中心壊死巣を伴った長径4.0~6.0cmの固形癌が発育する。実験は体重2.0~3.0kgの家兎34羽に上記方法で VX2腫瘍を作製したものをを用いた。

実験方法は、家兎に Sodium pentobarbiturate (20mg/kg) を静脈内投与して全身麻酔を施した後、加温前の血管造影を行った。造影は、健常肢の大腿動脈を切開して3フレンチのカテーテル (Cook Inc., Bloomington, IN 47402) を挿入し、透視下でその先端を担癌肢の総腸骨動脈内に進めた。次に、65% methylglucamine diatrizoate 3ml を2秒間で手圧注入し、注入開始と同時に1秒間1枚の割合で10秒間の撮影を行った。尚、必要に応じて2倍拡大連続撮影も併用した。

造影後、腫瘍部局所の加温を行った。加温は、担癌肢を恒温槽 (Thermobox M100 THERMONICS INC., Tokyo) 内で温浴させる方法を用い、腫瘍内部が少なくとも30分間、目的温度に維持されるよう適宜温度の調節を行った。

温度測定は、digital thermometer (2190A JOHN FLUKE MFG Co. INC., WASHINGTON) を用い、針型センサー (0.8mm ϕ , 5cm) を予め腫瘍内に刺入した18G エラスト針を介して行い、センサーを徐々に引き抜くことにより、中心壊死部及び腫瘍辺縁部を含む少なくとも2点以上において行った。また測定は5分毎に行い、目的温度を確認した。更に、同様の方法で腫瘍部皮下温の測定と、前肢筋肉内にて体温の測定も行った。

これら家兎に対し、加温直後より7日後まで経時的に血管造影を行った後、屠殺し、腫瘍部を中心とした組織を剔出し HE 染色による組織学的検討を行った。

(2) 腫瘍の加温温度

34羽の家兎は、以下の加温計画に基づき、次の各群に分け実験に供した。

A群(18羽)は腫瘍内温度を30分間42.0~44.0℃(以下43℃加温)に維持した群で、このうち12羽は加温直後にも造影を行った後生存させ、その後、更に3時間、24時間、48時間後にそれぞれ3羽ずつに対して再造影を行い、また残り6羽は7日後まで生存させ再び造影を行った。

B群(5羽)は腫瘍内温度を30分間41.0~41.9℃(以下41℃加温)に維持した群で、加温前後に造影を行った。

C群(5羽)は30分間43℃加温を48時間の間隔で2回行った群で、血管造影は各加温前後に行った。

D群(6羽)は加温を行わずに、A群の対照とした群で、初回の血管造影の後7日後に再び造影を行った。

(3) 血管造影像並びに組織像の分析

腫瘍部での血管造影像の分析は、加温前後での血管増生度・腫瘍濃染度の変化について行った。血管増生度はその多少により(++)~(-)の4段階とした。又、腫瘍濃染度の評価は、加温前の腫瘍濃染度中の骨・血管を除く任意の3点を選び、各々の濃度を白黒透過濃度計(NDD-400 DAI-NIPPON SCREEN MFG. CO., LTD. KYOTO JAPAN)を用いて測定し、その平均値Aを求め、同様に非癌部の任意の3点を選びその平均値Bを算定した。次いで、両平均値の比A/Bを基準として、加温後に求めた同様の比A'/B'を百分率で表示した($A' \times B \times 100 / A \times B'$)。

腫瘍周囲組織では、動脈径の変化及び還流静脈の造影の有無につき加温前後で比較した。動脈径の変化は、造影像で大腿動脈・膝窩動脈・伏在動脈及び栄養動脈の途絶の有無、更に狭小化については、それぞれの動脈の任意の点での径の計測後、加温後のそれぞれの径の値と比較し、50%以上の狭小化を狭小化ありと判定した。

組織標本の作製に関しては、各群3羽に対し、栄養動脈と他の既在動脈が最も多く分布する膝窩部を横断し、屈側及びその対側で中心壊死巣を含

まない腫瘍部及び正常部の組織を切除し、おのおのにつき3~5枚のプレパラートを作製した。

腫瘍部組織像の分析は、腫瘍内血管の形態的变化及び一視野当りの血管数の変化、更に腫瘍組織の変性・壊死の程度を観察した。

腫瘍周囲組織での分析は、主として栄養動脈を含む既在動脈の経時的な形態的变化の有無につき検討した。

更に、これら組織像を加温後の血管造影像と対比し、血管造影の診断的意義につき検討を加えた。

(4) 温熱単独による腫瘍縮小効果の評価

A群の6羽と同時期に移植したD群6羽を対照とし、得られた6組について、加温前及び加温7日後の血管造影の腫瘍濃染像の長径と短径の積を求め、これらを腫瘍径とした。対照群に対しても、同時期に行った血管造影から同様の方法で腫瘍径を求め、両者を比較した。加温前後の腫瘍径の比、即ち腫瘍増大率(加温後腫瘍径/加温前腫瘍径)を求め、これを同様に算定した対照群の腫瘍増大率と比較し、両者の差を検討した。

成 績

(1) 局所加温中の温度分布

加温を行った28腫瘍中21腫瘍では、腫瘍辺縁部の温度は中心部より平均0.81℃低く、残り7腫瘍では逆に腫瘍辺縁部の温度が中心部より平均0.24℃高かった。また、腫瘍部の皮下温度は全例で腫瘍辺縁部より0.1~3.4℃(平均1.78℃)高かった。加温中、体温が0.4~4.6℃(平均1.82℃)と上昇した。1℃以上上昇した場合は氷嚢による躯幹部の冷却を行った。

(2) 加温前における VX2腫瘍の血管造影像並びに組織像

担癌肢の血管造影・動脈相(Fig. 1, Fig. 2-A)で、腫瘍の栄養動脈は後大腿動脈・無名動脈・前及び後脛骨動脈で、腫瘍部に一致して新生血管増生及び栄養動脈の広狭不整が認められた。伏在動脈は腫瘍による圧排偏位を示すのみであった。次に静脈相(Fig. 2-B)では、腫瘍部に一致して不均一な腫瘍濃染像が認められた。

剔出標本の断面では、腫瘍中央部に全体の約50%を占める空洞や凝固壊死が認められた。腫瘍

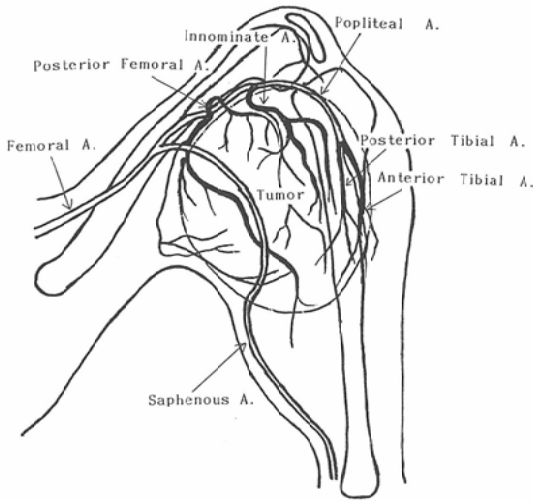


Fig. 1 Anatomy of Arteries of Tumor-Bearing Leg.

辺縁部の組織学的検索では、腫瘍細胞は腫瘍血管を中心に配列し、壊死巣は全くみられなかった。

(3) 加温による血管造影像及び組織像の変化

a) A群(43℃加温群)について

i) 血管造影像

Table 1は、43℃加温直後に得られた12羽の血管造影動脈相の分析結果である。加温前と比べ全例に栄養動脈の狭小化及び途絶が認められ、更に、中枢側の既存動脈や非栄養動脈である伏在動脈にも狭小化や途絶が高頻度に認められた。腫瘍の血管増生度は、加温前と比べ(++)→(+):1例,(++)→(+):6例,(++)→(-):2例,(++)→(-):3例と著明に減少していた(Fig. 2-C)。

Table 1 Angiographic Evaluation for The Changes of Arteries, Before and Immediately after Hyperthermia (42.0-44.0℃). N=12

Findings	Arteries	Proximal* Arteries	Saphenous Artery	Feeders**
No Change		2	0	0
Narrowing of More Than 50%		7	8	0
Narrowing with Occlusion		3	4	12

*: Femoral and Popliteal Artery.

**: Posterior femoral, Innominate, Anterior tibial and Posterior tibial Artery.

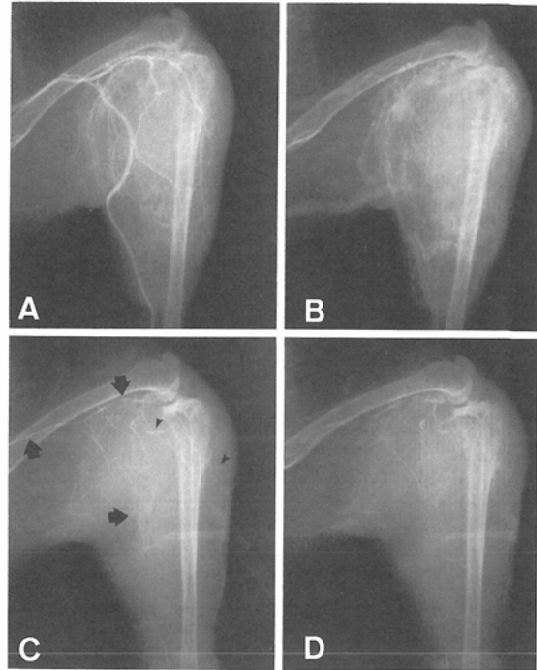


Fig. 2 Angiograms of VX2 rabbit carcinoma, before and immediately after 43℃ heating.

In the arterial phase before heating (A), hypervascularity and irregular encasement were recognized. In the venous phase (B), a dense, inhomogenous tumor stain and dilated drainage veins were noted. Angiogram made immediately after heating (C) showed marked narrowings (arrows) and occlusions (arrow heads) of feeding arteries with decreased vascularization of the tumor. In the venous phase (D), the tumor stain became to be hazy, and showed no contrast filling to drainage veins.

静脈相では、加温直後に温浴せしめた担癌肢に淡い均一な染まりがみられたが、全例に8~40%(平均22%)の腫瘍濃染度の減少が認められた(Fig. 3)。また、加温前にみられた還流静脈は加温直後では全例で全く造影されなかった(Fig. 2-D)。

加温3時間後の動脈相(Fig. 4)では、既存動脈にみられた狭小化・途絶が、全例で加温前に比べより中枢側へ進展し、栄養動脈や腫瘍の血管増生度の変化[(++)→(-):3例]も増強していた(Fig. 5-B, C)。静脈相(Fig. 3)では、腫瘍濃染度は加温前と比べ36~63%(平均45%)減少していた。還流静脈も全例で全く造影されなかった。

Density Rate (DR)*
of Tumor Stain.

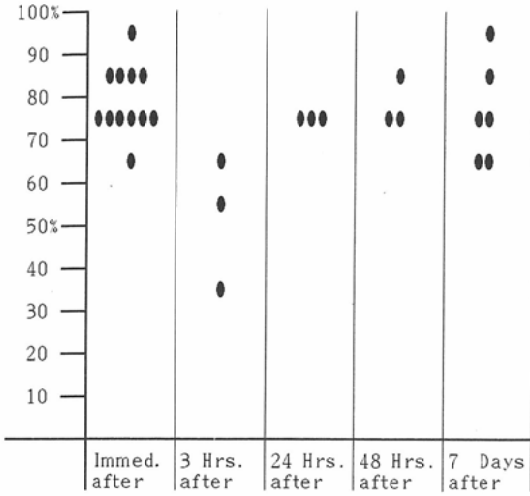


Fig. 3 Comparison of Angiographic Densities of Tumor Stain, Before and After Hyperthermia (42.0~44.0°C).

※ : DR=X×100/Y

X : Ratio of mean densities of tumor stain and surrounding soft tissue stain after heating.

Y : Ratio of mean densities of tumor stain and surrounding soft tissue stain before heating.

加温24時間後の動脈相 (Fig. 6) では、全例において腫瘍血管増生度の減少 [(++) → (+) : 2例, (+) → (+) : 1例] が認められるものの、既存

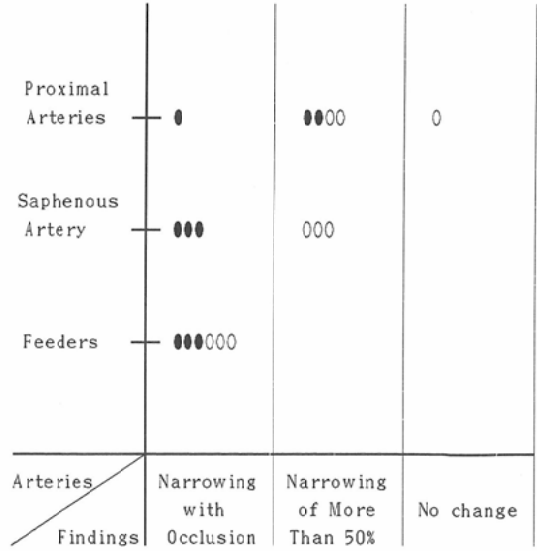


Fig. 4 Comparison of Angiographic Changes of Arteries, Before and After Hyperthermia (42.0~44.0°C). N=3 ○ : Immed. after Heating.

● : 3Hours after Heating.

動脈の変化は軽度となっていた (Fig. 7-B, C). 静脈相 (Fig. 3) では、腫瘍濃染度は加温前に比べ 22~27% (平均25%) 減少していた。還流静脈は全例で淡く描出されていた。

加温48時間後の動脈相では、全例に腫瘍血管増生度の減少 [(++) → (+) : 2例, (+++) → (+) :

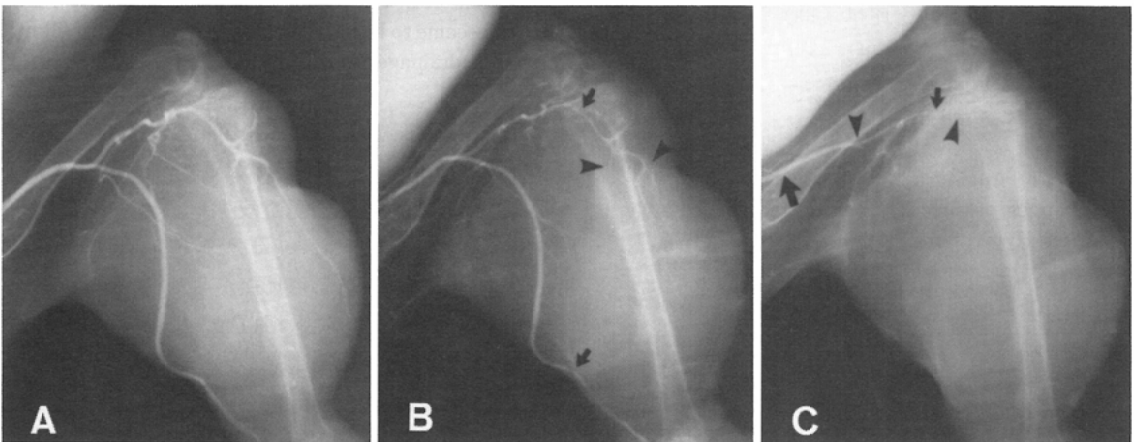


Fig. 5 Angiograms 3hours after 43°C heating.

(A) : Angiogram before heating. Angiogram 3hours after heating (C) revealed more marked narrowings (arrows) and occlusions (arrow heads) of feeding arteries, when compared with those of immediately after heating (B).

Proximal Arteries		000	000
Saphenous Artery	00	000	●
Feeders	000000		
Arteries	Narrowing with Occlusion	Narrowing of More Than 50%	No change
Findings			

Fig. 6 Comparison of Angiographic Changes of Arteries, Before and After Hyperthermia (42.0 ~ 44.0°C). N=3 ○: Immed. after Heating. ●: 24Hours after Heating.

1例)が認められたが、動脈の変化は24時間後像と比べ更に軽微となり(Fig. 8), また静脈相(Fig. 3)にて腫瘍濃染度の13~27%(平均25%)の減少が認められるものの、還流静脈の描出もみられ、更に加温前の造影像に復する傾向を示していた。

加温7日後の動脈相(Fig. 9)では、全例において、加温直後にみられた動脈の変化は全く認めら

れなかった(Fig. 10-A)。しかし、血管増生度及び腫瘍濃染度を加温前及び同時期に移植した対照群の7日後の血管造影像と比較すると、全例において低下がみられ、腫瘍濃染度では、加温前に比べ10~36%(平均24%), 対照群と比べ17~37%(平均25%)の減少が認められた(Fig. 10-B, C, D)。還流静脈は全例で造影されていた。

ii) 組織像

各群で認められた所見を代表例にて示す。

43°C加温直後の腫瘍辺縁部(以下腫瘍部)及び周囲非癌部の組織像(Fig. 11)で、血管の拡張・鬱血・破綻性出血が認められた。また、非癌部の比較的太い動・静脈の内皮細胞に空胞化や基底膜からの解離がみられ、動脈の中膜に浮腫性変化を伴っていた。

加温3時間後(Fig. 12-A)では、腫瘍内微細血管(主として200μ以下)には広汎な血栓形成がみられ、これら血管周囲の腫瘍細胞は変性に陥っていた。しかし、同一視野でも血栓形成のみられない微細血管もあり、この周囲の腫瘍細胞には変性が認められなかった。一方、非癌部(Fig. 12-B)では、動脈損傷の程度は加温直後とほぼ同様の所見を呈し、血栓形成は主として静脈内にみられた。

加温24時間後の腫瘍部(Fig. 13-A)では、広範囲な壊死巣がみられたが、なお腫瘍細胞塊が残存

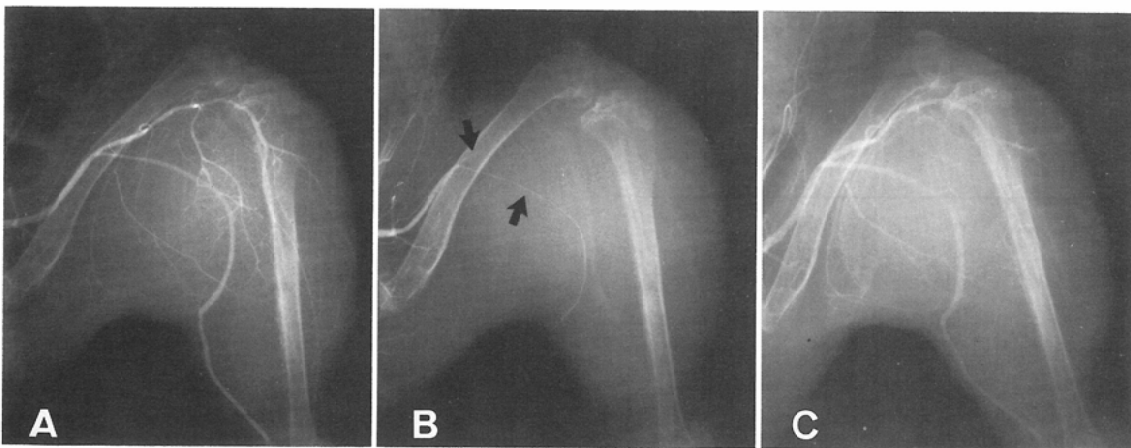


Fig. 7 Angiograms 24hours after 43°C heating.

(A): Angiogram before heating. Angiogram 24hours after heating (C) showed the tendency of recovery from the initial damages of arteries (B), such as narrowing and occlusion. However, tumor vascularity still remained decreased.

Proximal Arteries		000	●●●
Saphenous Artery		000	●●●
Feeders	●●●●●	●	
Arteries Findings	Narrowing with Occlusion	Narrowing of More Than 50%	No change

Fig. 8 Comparison of Angiographic Changes of Arteries, Before and After Hyperthermia (42.0 ~ 44.0°C). N=3 ○ : Immed. after Heating. ● : 48Hours after Heating.

Proximal Arteries			●●●●●●
Saphenous Artery			●●●●●●
Feeders			●●●●●●
Arteries Findings	Narrowing with Occlusion	Narrowing of More Than 50%	No change

Fig. 9 Comparison of Angiographic Changes of Arteries, Before and After Hyperthermia (42.0 ~ 44.0°C). N=6 ● : 7Days after Heating. Angiography of immediately after hyperthermia was not performed.

している部分があり、その中心部には血栓形成を伴わない血管を認めた。腫瘍内微細血管の一視野

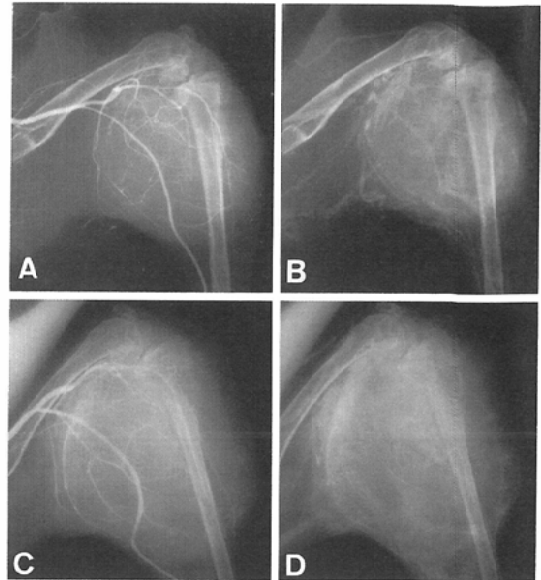


Fig. 10 Angiograms 7days after 43°C heating. Angiogram 7days after heating showed no different changes on arteries (A), when compared with those of controls (C). However, the tumor stain decreased definitely in size and density (B), when compared with that of controls (D).

当りの数は、加温 3 時間後に比べ減少していた。一方、非癌部 (Fig. 13-B) では、動・静脈の損傷は加温 3 時間後に比べ軽微であり、修復の傾向が認められた。

加温 48 時間後の腫瘍部では、血管系の変化は、加温 24 時間後に比べ明らかな差異を認めなかった。また非癌部でも、加温直後にみられた血管損傷像は殆ど認められなかった。

加温 7 日後の腫瘍部 (Fig. 14-A) では、壊死は広範で、散在性に腫瘍細胞巣を認めるのみであった。また、腫瘍内の血管数は減少していた。これら所見を加温を行わなかった対照群 (D 群) (Fig. 14-B) と比較すると、対照群の腫瘍部では壊死巣が殆どなく、また血管数は加温群に比し、一視野当たり約 3 倍の数を示した。一方加温群の非癌部では、血管損傷は全く認められず、完全に修復していた。

b) B 群 (41°C 加温群) について

41°C 加温直後の血管造影像では、3 例全例において、Fig. 15-A に示す如く、43°C 加温でみられた

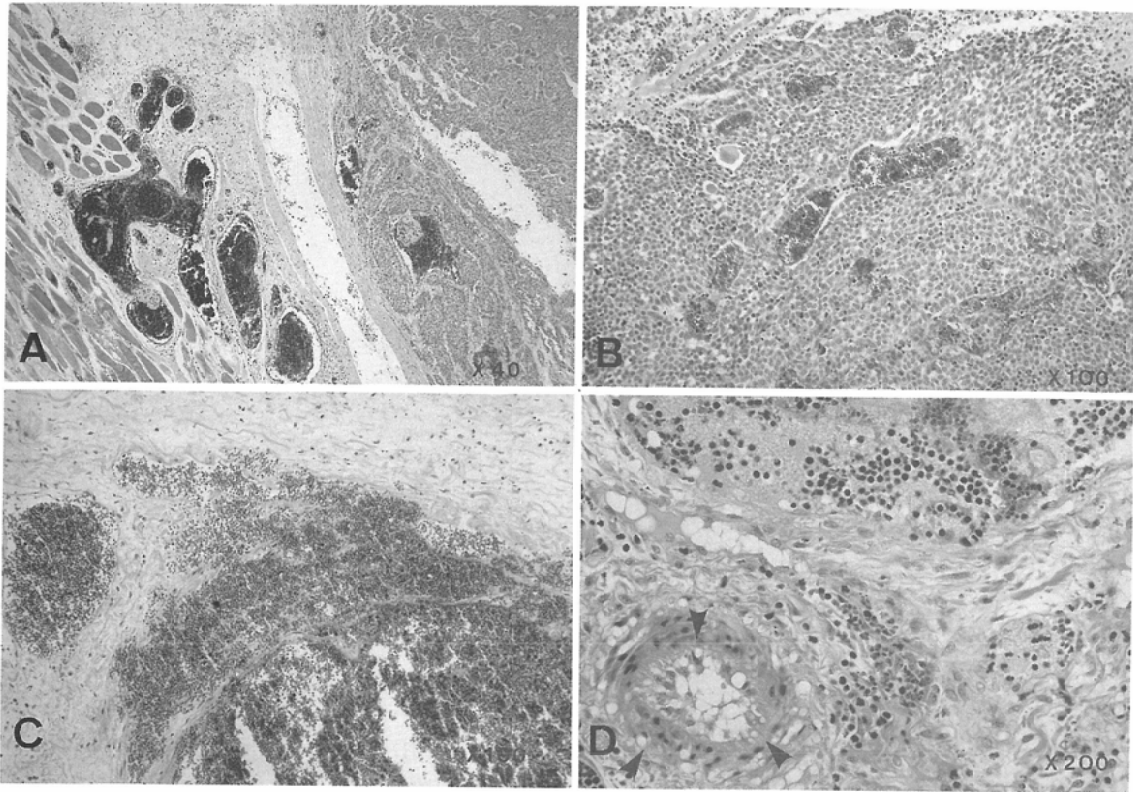


Fig. 11 Histologic sections immediately after 43°C heating.

Dilatation of vessels with stasis of blood were shown in the tumor and its surrounding normal tissue (A, B). Rupture of veins and bleeding were also noted (C). In the normal tissue around the tumor (D), endothelial cells of arteries and veins were vacuolated, being dissecting from the basement membrane (arrow heads).

血管系の変化は全く認められず、加温前の造影像 (Fig. 15-B) と全く同様の所見を呈していた。このため以後の経時的血管造影は行わなかった。

組織像では、腫瘍部 (Fig. 16-A) で明らかな血管損傷は認められなかったが、非癌部 (Fig. 16-B) では、動脈の中膜に軽度の空胞化と浮腫がみられた。

c) C群 (43°C・2回加温群) について

Fig. 17 は各加温直後の造影所見を分析した結果である。1回加温直後については、既にA群の項で述べた如く、同様の結果を示していた (Fig. 18-A, B)。

2回加温直後の動脈相 (Fig. 17) では、2回加温前と比べ、全例において、栄養動脈の一部に狭小化・途絶と腫瘍の血管増生度の減少がみられる

以外著明な変化は認められなかった (Fig. 18-C, D)。しかし、2回加温直後の造影像は、1回加温直後の造影像と比べ、既存血管の変化は極めて軽微なものであった (Fig. 17, Fig. 18-B, D)。腫瘍濃染度は、1回加温直後では加温前に比べ10~30% (平均20%)、2回加温直後では8~37% (平均24%) 低下していた (Fig. 19)。

2回目加温直後の腫瘍部組織像 (Fig. 20-A) では、壊死の範囲は43°C・1回加温と比べより広範囲であった。また、非癌部の組織像 (Fig. 20-B) では血管系損傷は殆ど認められなかった。

(4) 血管造影による温熱療法の治療効果の評価

43°C加温群 (A群) において、加温前の腫瘍径と加温7日後のそれを比較すると、6羽全例に腫瘍の増大がみられた。しかし、腫瘍増大率は、加

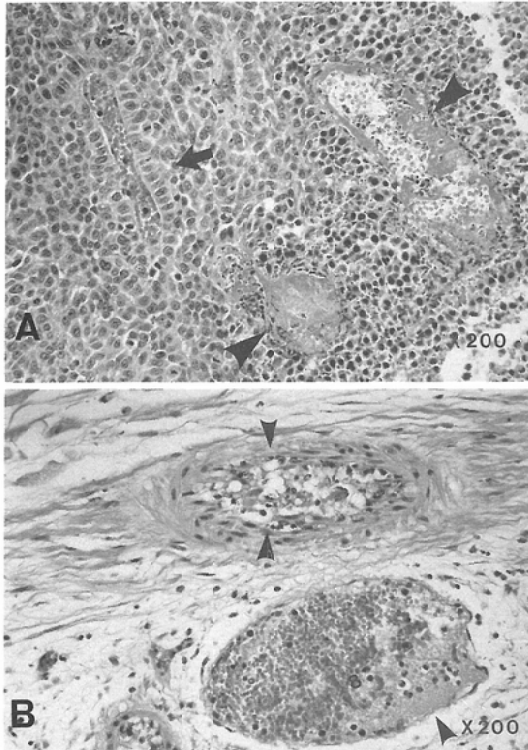


Fig. 12 Histologic sections 3hours after 43°C heating.

Histologic section 3hours after heating (A) demonstrated thrombus formations (arrow heads) within most of fine, intraluesal vessels surrounded by degenerated tumor cells. However, there were some areas of viable cells, where the vessels had no thrombus formations (arrow). In the normal tissue (B), the vascular damages still existed, such as vacuolation of endothelial cells and their dissection from basement membrane. Thrombus formations were recognized mainly in the veins.

温群で 1.6 ± 0.30 (mean \pm 1SD), 対照群で 2.5 ± 0.95 (mean \pm 1SD)と差がみられ, 加温群で増大率が低かった (Table 2).

考 案

血管造影法を用いて, 温熱による血管系の変化を検討した報告は, Booksteinの短報¹¹⁾をみるのみである.

Bookstein¹¹⁾は, 移植3週間後直径2~4cmに発育した家兎 VX2腫瘍を用い, 高周波誘導加熱装置による加温前後の血管造影像について検討した.

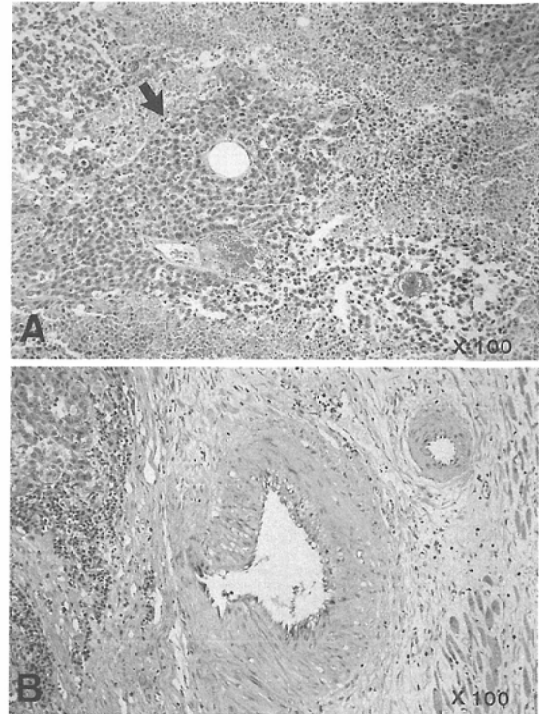
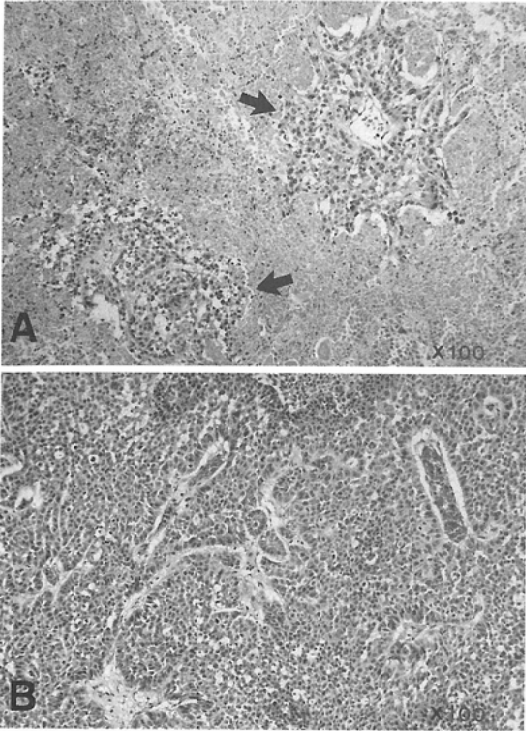


Fig. 13 Histologic sections 24hours after 43°C heating.

Histologic section (A) revealed the decrease in number of vessels with extensive necrosis of the tumor. However, there were some, non-damaged vessels surrounded by small nest of viable cells (arrow). The degree of arterial damages in the normal tissue (B) were less prominent than that of 3hours after heating.

VX2腫瘍は一般に hypervascular な腫瘍とされているが¹²⁾, 彼の報告では, 加温前の造影で腫瘍は hypovascularity を呈し, 49°C・30分間加温後の造影像では, 大腿筋肉枝の拡張と筋肉の濃染度の増強がみられたが, 腫瘍部には何等変化が認められなかったとしている. この結果は著者等の成績と相反するものであるが, その原因として, 用いた VX2腫瘍の系統及び加温方法が異なっていることが挙げられる. 即ち, このことは, 温熱による血管系の変化が, 腫瘍の血管増生度や加温方法の違いのみならず腫瘍の種類や大きさの違いにより異なってくる可能性を示すものである. 従って, 温熱療法の臨床に際しては, 個々の症例について, これらの因子を考慮し, 血管系の変化を的確に評



価する必要がある。血管造影は、血管系の評価に対し現在最も優れた診断方法であり、この観点から我々は血管造影を中心に研究を行った¹³⁾。

(1) 加温後の血管系の経時的变化について

腫瘍血管は正常組織の血管系に比べ、温熱に対する感受性がより高いとされている^{5)~8)}。しかし、今回の成績では、43°C加温により非癌部の血管系にも著明な変化が認められた。非癌部血管系の変化に関しては、Badylak等¹⁷⁾も42~44°Cで正常組織内の血管が損傷を受けることを示している如くで、我々の実験では担癌肢全体を温浴にて加温したため、腫瘍部より表在及び遠位の非癌部の温度がより高く、血管系に損傷がより生じ易かったものと考えられる。しかし、この変化は、血管造

Fig. 14 Histologic sections 7days after 43°C heating.

Histologic section in the heated tumor (A) showed wide spread necrosis of tumor cells with scattered foci of viable cells (arrows), and the intralesional vessels revealed a decrease of two-thirds in number, when compared with those of control group (B).

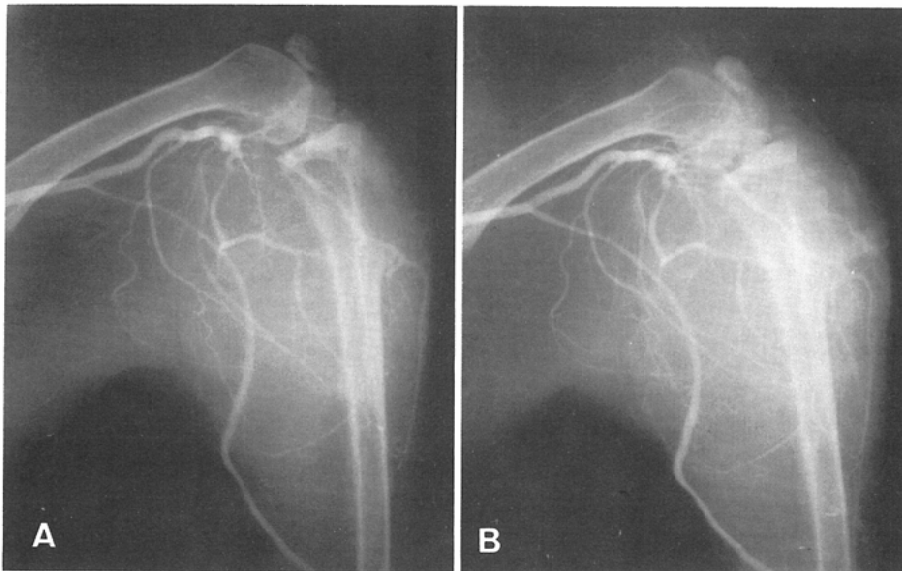


Fig. 15 Angiograms immediately after 41°C heating. Angiograms before (A) and immediately after heating (B) revealed no difference between them.

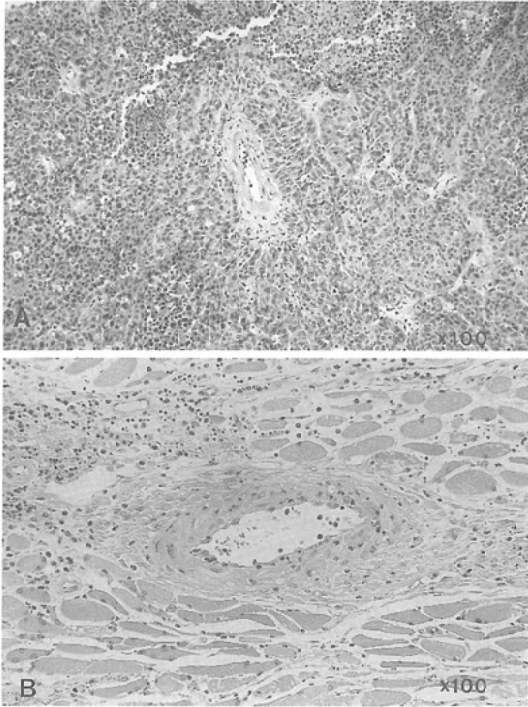


Fig. 16 Histologic sections immediately after 41°C heating.

Histologic section immediately after heating (A) showed predominant sheets of viable cells without vascular damages. In the normal tissue (B), however, minimal changes of vacuolation and edema were noted in the arterial media.

影でもまた組織学的にも加温24時間後より徐々に消失し始め、7日後には完全に消失し、腫瘍血管の変化に比べ一過性のものであることを示していた。

一方、加温直後から3時間後の組織像でみられた腫瘍血管内の鬱血・血栓形成等の所見は腫瘍内の血流減少を示すものであり、血管造影像上、腫瘍の血管増生度の減少・腫瘍濃染度の低下として評価されたものと解される。このことから、遠位部既存動脈や栄養動脈の変化は、血管損傷とこれに起因する担癌肢全体の血流減少によるものと考えられる。

更に、興味深いことは、組織像で血栓形成を伴った血管周囲の腫瘍部に壊死がみられたことで、Badylak 等の報告¹⁷⁾の如く、加温による血管損傷は同時に周囲組織の虚血性変性や壊死を惹起し、

Proximal Arteries	0000	0	●●●●
Saphenous Artery	00	000	●●●●
Feeders	00000	●●●●	
Arteries Findings	Narrowing with Occlusion	Narrowing of More Than 50%	No change

Fig. 17 Comparison of Angiographic Changes of Arteries, Before and after Twice-Hyperthermia (42.0~44.0°C). N=5

○ : Immed. after the first hyperthermia. ● : Immed. after the second hyperthermia.

温熱療法による治療効果の一端を担う因子であると考えられる。

加温直後の静脈相において、加温領域に一致して筋肉部にも淡い均等な濃染像がみられたが、これは、Lefor 等¹⁴⁾が報告している如く、加温により血管の透過性が亢進した結果、造影剤が血管外へ漏出したためと考えられる。

41°C加温では、血管損傷の所見はみられなかったが、諸家の研究⁴⁾⁵⁾¹⁵⁾¹⁶⁾でも、この温度帯では単に腫瘍内血流の増加やこれに伴う腫瘍血管の拡張のみ生じることが報告されている如くで、一致する成績である。

以上述べた如く、41°C及び43°C加温の血管系に与える経時的变化の成績は Badylak 等¹⁷⁾や Song 等³⁾¹⁸⁾の生理・組織学的検討による報告とも良く合致し、今回の血管造影所見は、これら血管系の組織学的変化のみならず、血流の変化をも良く反映していた。

(2) 温熱療法の治療効果と熱耐性について

43°C・1回加温群においては、対照群の腫瘍増大率と比較して、腫瘍増大に対する抑制効果が確認されている。また、43°C・2回加温では更に広

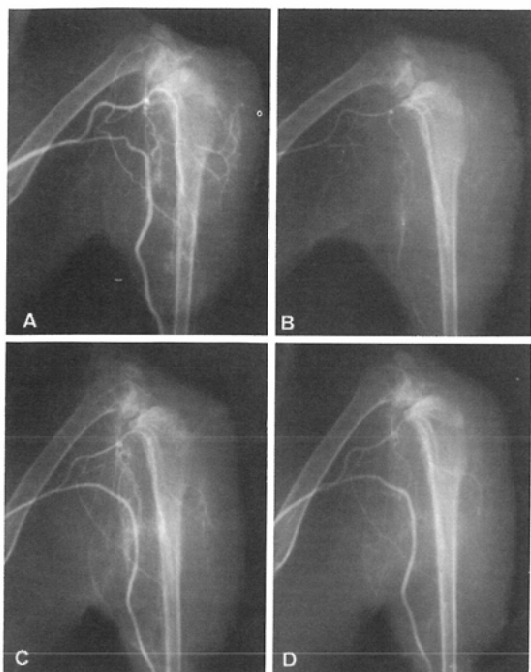


Fig. 18 Angiograms of Group C (43°C twice-heating).

(A): Angiogram before the first heating. (C): Angiogram before the second heating. The degree of arterial changes, such as narrowing and occlusion, was less prominent after the second heating (D) rather than that of immediately after the first heating (B).

Table 2 Comparison of Growing Rate (GR) of Tumors.

Case No.	1	2	3	4	5	6	Mean±S.D.
GR ¹ of Treated Cases	1.8	1.4	2.1	1.8	1.2	1.5	1.6±0.30
GR ² of Control Cases	2.6	1.1	4.1	3.1	1.8	2.2	2.5±0.95

GR¹=width×length 7 days after hyperthermia/
width×length before hyperthermia.
GR²=width×length 7 days later/
width×length 7 days before.

範な壊死がみられていることから、2回加温により治療効果が増強されたものと考えられる。

温熱療法を頻回に行う場合、正常組織のみならず腫瘍組織にも熱耐性を生じることが知られている¹⁹⁾。今回の実験で、2回目加温直後の栄養動脈や腫瘍内血管の変化が1回目加温時より軽微であつ

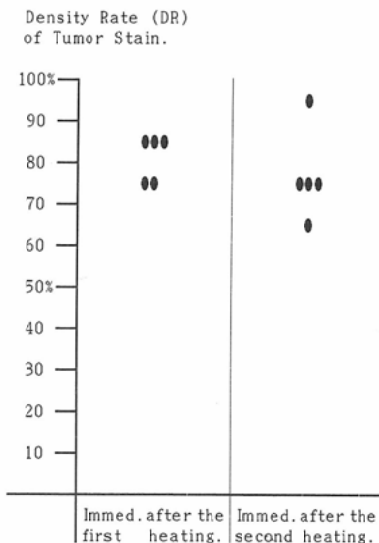


Fig. 19 Comparison of Angiographic Densities of Tumor Stain, Before and After Twice-Hyperthermia. (42.0~44.0°C). N=5

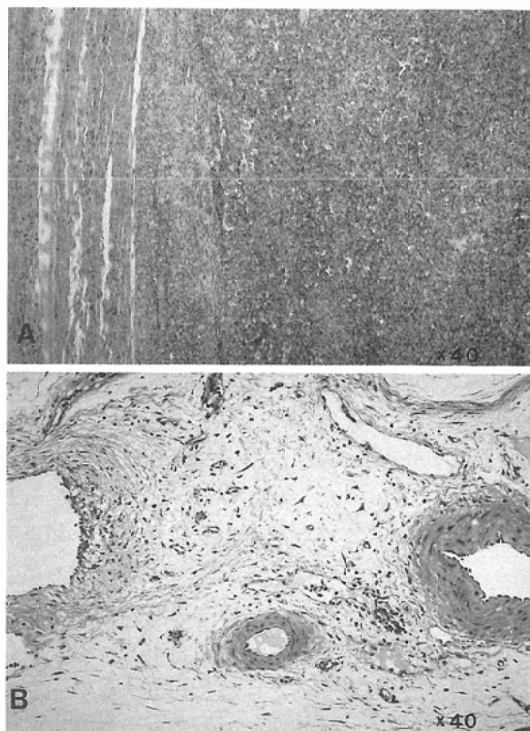


Fig. 20 Histologic sections immediately after the second 43°C heating.

Extensive necrosis of the tumor was shown with marked decrease of tumor vessels. No vascular damages were noted in the normal tissue (B).

たことは、これら血管系に熱耐性が生じた可能性を示唆している。

しかし、2回加温直後の血管系の変化が軽微であったにもかかわらず、治療効果が増強されていたことは、腫瘍細胞死の原因が血管系の変化に基づくものよりむしろ温熱の直接効果によるものと考えられる。このことは、熱耐性は腫瘍内部環境が低pH・低酸素状態であればあるほど生じ難いとする報告²⁰⁾からも理解される。

熱耐性の問題は未だ十分に解明されていない現状にあり、血管造影所見と加温回数並びに熱耐性との関連性、更に有効加温回数と治療効果については今後の課題としたい。

(3) 他療法との併用について

温熱療法は臨床的には単独で用いられることは少なく、放射線療法あるいは化学療法と併用し、その相加ないし相乗効果を図る方法が行われつつある。その際、これら他療法をいつどの様な方法で併用するかは重要な問題である。今回の成績からも、温熱により生じた血管障害は、腫瘍内に低酸素細胞を増加せしめ放射線に対する抵抗性を高めるため、放射線療法は温熱療法の前に行われるのが妥当であると考えられる。

化学療法を温熱療法と併用する場合、その時期や増強効果については未だ必ずしも明らかにされていない²¹⁾。その理由として、各種制癌剤が効果を発揮する至適温度や温熱との併用による作用機序が明らかでないことがあげられる。しかし、今回の成績から、腫瘍組織への薬剤到達性につき考えると、化学療法は温熱療法後24時間以内では血管障害が強くその効果が期待できないと考えられる。一方、著者等の初期の研究結果では、加温開始30分後の血管造影で栄養動脈・腫瘍血管の拡張が認められた。このことは、加温開始早期であれば同時併用が可能であることを示唆しており、この時期に、予め動脈内に留置したカテーテルを介して注入を行えば、高濃度の制癌剤を腫瘍組織内へ到達させることができ、極めて効果的であると思われる。また、近年血管造影手技を応用した動脈塞栓術が切除不能肝癌等の治療に広く行われている。塞栓術後に温熱療法を行うと、血流が遮断

されているため血流による冷却効果を妨げることができ、より効率的な加温が得られるとされている²²⁾。我々も既に磁性粒子を用いた塞栓-温熱療法に着手し、研究を続けているが²³⁾²⁴⁾、塞栓術と温熱の併用効果についてはまだ不明な点も多く、今後の解決されるべき課題である。以上述べた如く、悪性腫瘍の温熱療法に際して、病巣内及びその周囲血管系の評価は、治療効果や他療法との併用時期を決定する重要な因子であることが明らかとなり、更に血管造影がこのことをよく反映することから、温熱療法における治療指針としての意義は極めて高く、またその造影手技を応用する動脈内制癌剤注入や塞栓術の併用は、温熱療法の新しい展開が期待できる方法であろう。

今回の研究で得られた成績は、血管造影法が、温熱による血管系の変化を正確に把握し得る手段であることを示唆しており、温熱療法の今後の展開に血管造影法は極めて重要な役割をもつものと考えられる。

結 語

(1) 温熱療法における血管造影の意義を明らかにすることを目的として、家兎 VX2腫瘍に温熱療法を行い、その血管系に及ぼす影響を加温温度との関連の下に、血管造影像並びに組織像より検討した。

(2) 43°C加温直後及び3時間後の血管造影像では、動脈の狭小化・途絶がみられ、24時間以降では徐々に回復した。組織学的には血管障害並びに血栓形成が確認された。

(3) 41°C加温直後では、血管造影上変化は認められなかった。

(4) 43°C加温群では、栄養動脈及び腫瘍血管に一過性の閉塞がみられ、温熱による腫瘍組織への虚血性効果を示唆した。

(5) 43°C加温を2回行った群では、2回目加温直後の血管の変化は、1回目加温直後の変化に比べ軽微であったことから、血管壁への熱耐性の関与が示唆された。

(6) 温熱療法に他療法を併用する場合、温熱による血管障害を十分に考慮した上で行われるべきである。その併用時期は、加温前もしくは血管障

害が回復する加温後24時間以降であることが望ましい。

(7) 温熱による血管系の変化の分析は、腫瘍組織に対する加温効果や治療効果及び他療法の併用時期の評価に重要で、血管造影はこれら変化を良く反映していた。

稿を終えるに臨み、御指導と御校閲を賜りました河野通雄教授に深甚の謝意を表します。また、組織像の評価に際して御指導を賜りました神戸大学医学部附属病院中検病理部・岡田聡助教授並びに終始暖かい御援助をいただきました神戸大学医学部放射線医学教室の諸兄に深く感謝いたします。

本論文の要旨は、日本ハイパーサーミア学会第1回大会(1984年)、第23回(1985年)日本癌治療学会総会、第44、45回(1985、1986年)日本医学放射線学会総会に於て発表された。

文 献

- 1) Bhuyan BK: Kinetics of cell kill by hyperthermia. *Cancer Res* 39: 2277-2284, 1979
- 2) Raaphorst GP, Romano SL, Mitchel JB, et al: Intrinsic difference in heat and/or X-ray sensitivity of seven mammalian cell lines cultured and treated under identical conditions. *Cancer Res* 39: 396-401, 1979
- 3) Song CW, Lokshina A, Rhee JG, et al: Implication of blood flow in hyperthermic treatment of tumors. *IEEE* 31: 9-16, 1984
- 4) Bicher HI, Hetzel FW, Sandhu TS, et al: Effect of hyperthermia on normal and tumor microenvironment. *Radiology* 137: 523-530, 1980
- 5) Eddy HA: Alterations in tumor microvasculature during hyperthermia. *Radiology* 137: 515-521, 1980
- 6) Emami B, Nussbaum GH, TenHaken RK, et al: Physiological effect of hyperthermia: Response of capillary blood flow and structure to local tumor heating. *Radiology* 137: 805-809, 1980
- 7) Song CW: Effect of hyperthermia on vascular functions of normal tissues and experimental tumors. *J Natl Cancer Inst* 60: 711-713, 1978
- 8) Kang MS, Song CW, Levitt SH: Role of vascular function in the response of tumors in vivo to hyperthermia. *Cancer Res* 40: 1130-1135, 1980
- 9) Song CW, Kang MS, Rhee JG, et al: Vascular damage and delayed cell death in tumors after hyperthermia. *Br J Cancer* 41: 309-312, 1980
- 10) Gerweck LE, Nygaard TG, Burlett M: Response of cells to hyperthermia under acute and chronic hypoxic conditions. *Cancer Res* 39: 966-972, 1979
- 11) Bookstein JJ: Thermotherapy of VX₂ rabbit carcinoma. 1. Augmentation by irradiation. *Radioat. Res* 93: 395-405, 1983
- 12) Dickson JA, Caldereood SK: Thermosensitivity of neoplastic tissues in vivo. In: Kristian SF ed. *Hyperthermia in cancer therapy*. 63-140, 1983, GK Hall Medical Publishers, Boston
- 13) 大槻修平, 佐古正雄, 広田省三, 他: 血管造影による加温効果の評価—実験腫瘍(VX₂)における検討—, 日本医放会誌, 45: 1173-1175, 1985
- 14) Lefor AT, Makohon S, Ackerman NB: Effect of hyperthermia on vascular permeability in experimental liver metastasis. *J Surg Oncol* 28: 297-300, 1985
- 15) Sutton CH: "Discussion of the article 'effect of hyperthermia on vascular function in normal and neoplastic tissues' by CW Song, MS Kang, Rhee". *Ann NY Acad Sci* 335: 35-47, 1980
- 16) Emami B, Nussbaum GH, Hahn N, et al: Histopathological study on the effects of hyperthermia on microvasculature. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 7: 343-348, 1981
- 17) Badylak SF, Babbs CF, Skojac TM, et al: Hyperthermia-induced vascular injury in normal and neoplastic tissue. *Cancer* 56: 991-1000, 1985
- 18) Song CW: Effect of local hyperthermia on blood flow and microenvironment: A review. *Cancer Res* 44: 4721-4730, 1984
- 19) Overgaard J, Nielsen OS: The thermotolerance for the clinical treatment with hyperthermia. *Radioth Oncol* 1: 167-178, 1983
- 20) Rhee JG, Song CW, Levitt SH: Changes in thermosensitivity of mouse mammary carcinoma following hyperthermia in vivo. *Cancer Res* 42: 4485-4489, 1982
- 21) Magin RL: Hyperthermia and chemotherapy: When will they be used in the clinical treatment of cancer? *Eur J Cancer Clin Oncol* 19: 1655-1658, 1983
- 22) Boddie AW, Wright K, Frazer JW, et al: Selective occlusion and focal hyperthermia therapy of V-2 tumors in the rabbit hindlimb. *Invest Radiol* 20: 736-741, 1985
- 23) 佐古正雄, 森田瑞穂, 大槻修平, 他: 磁性体粒子による選択的塞栓温熱療法の研究, 日癌治, 19: 2168-2171, 1984
- 24) 佐古正雄, 広田省三, 大槻修平, 他: 磁性体粒子を標的とした誘導加熱による選択的深部加温法の研究, 日本ハイパーサーミア誌, 2: 389-394, 1986