

氏名	す どう ま さ き 須 藤 昌 紀
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	乙第205号
学位授与年月日	平成17年 1月14日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	A new animal model of continuous catheterization for investigating mechanisms of arteritis associated with chemotherapy (化学療法に伴う動脈炎のメカニズム解明のための持続カテーテル留置の新しい動物実験モデル)
学位論文審査委員	(主査) 小川 敏 英 (副査) 長谷川純一 領 家 和 男

## 学位論文の内容の要旨

悪性腫瘍に対する抗癌剤の超選択的動脈内持続注入療法は、少量の薬剤投与にもかかわらず腫瘍局所には高濃度の抗癌剤を維持できる。その結果、本療法による抗腫瘍効果は高く、しかも全身的な副作用も最小限におさえることができる。しかし、カテーテル留置による抗癌剤の投与は動脈炎などによる血管障害を伴い、治療成績の向上を妨げる大きな一因となっている。抗癌剤の動脈内注入療法による血管障害に関する研究は少なく、さらに動脈内持続注入療法による血管障害に関する研究は皆無に等しい。そこでわれわれは動脈炎のメカニズムの解明および持続的抗癌剤投与に伴う動脈炎の予防を目的に、ラットを用いた動脈内持続カテーテル実験モデルの開発を行い、動脈に及ぼす影響について検討した。

### 方 法

実験には体重 400~500 g の Sprague-Dawley 雄ラットを用いた。実験はペントバルビタール (50 mg/kg) 麻酔下に腹部大動脈を剖出し、小クリップにてその中枢側、末梢側をそれぞれクランプした。クランプした血管を 3-0 絹糸にて牽引し、カニューレインサーター(IITC Inc. CA, U.S.A.)にて血管壁を穿刺し、そのガイド下にカテーテルを 5 mm 挿入した。カテーテルは太さの異なる 2 種類のポリエチレンチューブ (ALIZA Co, CA, U.S.A.) で作成し、動脈内に挿入する部分は外径 0.61 mm、内径 0.28 mm のポリエチレンチューブ (PE#10) を用いた。ヘパリン添加抗癌剤を注入したポンプ (ALZETmicro-osmotic pump 2 ML 2) に接続する部分は外径 1.27 mm、内径 0.86 mm のポリエチレンチューブ (PE#60) を接続し、そのカテーテルは大動脈壁に結紮固定し、さらにポ

ンプを腹腔内に留置し閉鎖した。抗癌剤は 5-フルオロウラシル(5-FU)、ペプロマイシン(PEP)を使用し、コントロールには生食を使用した。ポンプの注入速度は 5.0 <sup>ml</sup> /hr、投与量は 5-FU が 1.25 mg/day、PEP は 0.025 mg/day とした。7 日後、カテーテル先端より、5 mm、10 mm、20 mm、30 mm の部位でそれぞれ 3 mm ずつ血管を切除し、ホルマリン固定、パラフィン包埋を行い、HE 染色にて血管内皮細胞の炎症性変化を観察した。また TUNEL 法染色にてアポトーシスの観察を行った。

## 結 果

実験開始から 7 日後の終了までに腹部大動脈、下大静脈の閉塞は認められなかった。血管内膜層の浮腫や剥離、血栓などの組織学的変化は認められなかったが、HE 染色にて軽度の血管障害を示す内皮細胞の核濃縮を認めた。核濃縮はアポトーシス細胞死の形態学的特徴を示し、TUNEL 法染色にてアポトーシスを確認した。コントロール群ではアポトーシスはほとんど認められず、5-FU、PEP 投与群でアポトーシスを認めた。アポトーシス発現率は、PEP より 5-FU 投与群で高く、5-FU、PEP 投与群共にカテーテルチップからの距離が遠くなるほど減少した。

## 考 察

血管内皮は血管構造の調節・維持に働いており、内皮細胞の障害は血管の機能異常を引き起こし、ひいては血管炎や血管閉塞をきたす。通常、アポトーシスは血管の恒常性の維持に働いているが、異常に亢進するとアテロームのような血管障害を助長するといわれており、このアポトーシスの増加は、内皮細胞の機能障害の程度を示すと考えられている。血管内皮細胞は血流障害などの刺激により容易にアポトーシスに陥るといわれている。今回われわれが開発したラットの腹部大動脈へのカテーテル留置の動物実験モデルでは、コントロール群でほとんどアポトーシスを認めず、抗癌剤投与群でアポトーシスを認めたことから、この実験モデルは抗癌剤による内皮細胞のアポトーシスに伴う血管障害の初期指標となりえた。また、この実験モデルは安価で操作性に優れており、持続カテーテル留置の化学療法に伴う血管障害の研究に適していると思われた。さらに今回の実験で内皮細胞のアポトーシス発現は、PEP に比べて 5-FU 投与群の方に、カテーテルチップ先端から遠方部でもより多く認めた。これは 5-FU が PEP よりも臨床的に相対的低濃度でアポトーシスを誘導するものと考えられた。

## 結 論

化学療法に伴う動脈炎のメカニズムの解明のための新しい持続カテーテル留置動物実験モデルを開発した。血管内皮細胞においては、5-FU が PEP よりも臨床的に相対的低濃度でアポトーシスを誘導した。この実験モデルは安価で操作性に優れており、アポトーシス発現率を用いて薬剤に伴う血管障害について数値化が可能である。今後、抗癌剤の種類、濃度による抗腫瘍効果の検討、持続カテーテル化学療法に関連した動脈炎の原因、メカニズム、予防などを研究する上で有用なモデルになると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

本研究はラットを用いて、抗癌剤の超選択的動脈内持続注入療法の動物実験モデルの開発を行い、5-FU と PEP の動脈に及ぼす影響について検討したものである。結果は 5-FU が PEP よりも臨床的に相対的低濃度で血管内皮細胞にアポトーシスを誘導した。さらにこの動物実験モデルは操作性に優れ、アポトーシス発現率を用いて薬剤に伴う血管障害について数値化が可能であることを示した。本研究の内容は抗癌剤による内皮細胞のアポトーシスが血管障害の初期指標となることを明確にし、さらにこのラットを用いた動物実験モデルは持続カテーテル化学療法に関連した動脈炎の原因、メカニズム、予防などを研究する上で有用なモデルになることを示唆するものであり、明らかに学術水準を高めたものと認める。