

動注癌化学療法における血流変化の与える影響に 関する研究 (第 I 報)

川崎医科大学 消化器外科
(指導: 佐野開三教授)

瀬 尾 泰 雄

(昭和58年2月26日受付)

Studies on the Influence of Vasoactive Agents in Intra-Arterial Infusion Chemotherapy. (Part I)

Yasuo Seo

Division of Gastroenterology, Department of
Surgery, Kawasaki Medical School.

(Accepted on February 26, 1983)

肝癌の治療成績向上のために、家兎 VX2 肝癌を実験モデルとして、動注癌化学療法に、**angiotensin II**, **epinephrine**, **prostaglandin E₁** の3種の血管作動薬を併用し、腫瘍組織血流および他臓器血流の変化、腫瘍組織制癌剤濃度および血中制癌剤濃度の変化を検討し、以下のような結果をえた。

1. 家兎 VX2 肝癌は、ほとんど肝動脈栄養であった。
2. 腫瘍組織血流は、**angiotensin II** により 76.5%、**epinephrine** により 18.2%、**prostaglandin E₁** により 48.2% 増加した。
3. 腫瘍組織 **bleomycin** 濃度は、**angiotensin II** により 98.1%、**epinephrine** により 22.6%、**prostaglandin E₁** により 53.6% 増加し、腫瘍組織血流の増加率と腫瘍組織制癌剤濃度の増加率は類似していた。
4. 血中 **bleomycin** 濃度は、**angiotensin II** により高値を、**prostaglandin E₁** により低値を示した。
5. 血中 **mitomycin C** 濃度には著差を認めなかった。
6. 中枢神経系および骨髄には、いわゆる “**Autoregulation**” の存在が示唆された。
7. 動注癌化学療法における腫瘍組織血流の増加は、制癌剤の局所到達性を高め、特に、**angiotensin II** を併用すると、高い抗腫瘍効果がえられるものと考えられた。

Influence of various vasoactive agents (**angiotensin II**, **epinephrine**, **prostaglandin E₁**) on the changes in tissue blood flow of tumor and another normal organs, and concentration of anti-cancer agent in tumor tissue and serum were investigated in intra-arterial infusion chemotherapy on hepatic VX2 carcinoma of rabbit.

The results were as follows; (1) Blood supply of transplanted hepatic VX2 carcinoma of rabbit was mainly arterial; (2) Tissue blood flow in VX2 carcinoma was increased 76.5% in **angiotensin II**, 18.2% in **epinephrine** and 48.2% in **prostaglandin E₁**; (3) Concentration of **bleomycin** in tumor tissue was increased

98.1% in angiotensin II, 22.6% in epinephrine and 53.6% in prostaglandin E₁. Thus, the increasing rates of tumor blood flows were very close to those of concentrations of bleomycin in tumors; (4) Concentrations of serum bleomycin were higher in angiotensin II and lower in prostaglandin E₁; (5) Concentrations of serum mitomycin C showed no significant differences; (6) So-called "Autoregulation" of blood flow was considered to exist in central nervous system and bone marrow; (7) On intra-arterial infusion chemotherapy, an increase of tumor blood flow elevated the concentration of chemotherapeutic drug in tumor tissue, and additional administration of angiotensin II was thought to be superb on the enhancement of anti-cancer activities.

Key Words ① Intra-arterial infusion ② Vasoactive agents ③ Tissue blood flow

緒 言

原発性肝癌および転移性肝癌に対する治療としては、根治的な病巣の切除が望ましいが、切除できる症例は僅少で、姑息的療法に頼らなければならないことが多く、このため以前から主として、肝動脈内への制癌剤注入^{1)~5)}が行われ、臨床上有用であることが知られている。この他、肝動脈結紮術^{6),7)}、門脈結紮術、門脈内制癌剤注入なども行われ、切除不能肝癌の治療に対して、今日まで幾多の努力がなされてきた。最近では、Gelatin spongeを用いた肝動脈塞栓術⁸⁾や、マイクロカプセル化制癌剤による微小血管塞栓術⁹⁾が考案実施され、臨床的にもあるていどの評価をえているが、それぞれに長短があり、なお、改善されるべき点があるように思われる。

動注癌化学療法(以下動注療法と略す)は、腫瘍局所へより高濃度の制癌剤を作用させ、しかも、全身的副作用を軽減できる有用な治療法の一つで、切除術の補助療法として、あるいは切除不能または再発癌の治療として広く普及している。なかでも、動注療法の最も適した標的臓器は肝臓と考えられ、以前から、肝癌の治療に制癌剤の肝動脈内注入が行われてきたゆえんであろう。

動注療法における腫瘍組織周辺への制癌剤の分布は、腫瘍局所の組織血流量に多大の影響をうけることはいうまでもない。したがって、腫瘍組織への制癌剤の到達性を増し、抗腫瘍効果

を高めることを目的として、pharmacoaangiography に用いられる epinephrine¹⁰⁾ および angiotensin II¹¹⁾ の血管収縮剤と、経動脈の門脈造影に用いられる血管拡張剤の prostaglandin E₁¹²⁾ の3種の血管作動薬を動注療法に併用し、腫瘍組織血流量および全身諸臓器血流量の変化、腫瘍組織および血中制癌剤濃度の変化を、実験的肝癌モデルを用いて検討した。

実験材料および方法

1. 実験動物

体重 2 kg 前後の成熟白色家兎を用いた。

2. 移植腫瘍

家兎の肝臓への移植腫瘍には VX2 腫瘍¹³⁾ を用いた。本腫瘍は、 Shope papilloma virus により家兎に誘発された、乳頭腫の悪性変化した未分化型扁平上皮癌である。

3. 使用薬剤

血管作動薬として epinephrine, angiotensin II および prostaglandin E₁(以下 EPI, ANG II, PGE₁ と略す)を、制癌剤として VX2 腫瘍に感受性を示す bleomycin¹⁴⁾ および mitomycin C¹⁵⁾ (以下 BLM, MMC と略す)を用いた。

4. 実験方法

1) 家兎 VX2 肝癌の作製

岩城¹⁶⁾の方法に準じて行った。家兎の大腿筋肉内に継代した VX2 腫瘍を無菌的に摘出、中心壊死部を除いて周辺の灰白色充実性癌組織を採取し、phosphate buffer saline(以下 PBS

と略す) 中で細切, 0.2 mm の金属網で濾過後 PBS 中に浮遊, これを5分間静置して細胞塊を沈澱させ, その上清をトリパンブルー染色し, 生存細胞数が 1×10^6 個/ml となるよう調整した.

家兎を pentobarbital sodium (20 mg/kg) の耳静脈注入で入眠させた後, 上腹部正中切開を加え, 肝左葉前区に, 上記の細胞浮遊液 0.5 ml (細胞数 0.5×10^6 個) を, 26 G/ml 注射器で直接注入し, 浮遊液の漏出予防のために刺入部を電気凝固し閉腹した.

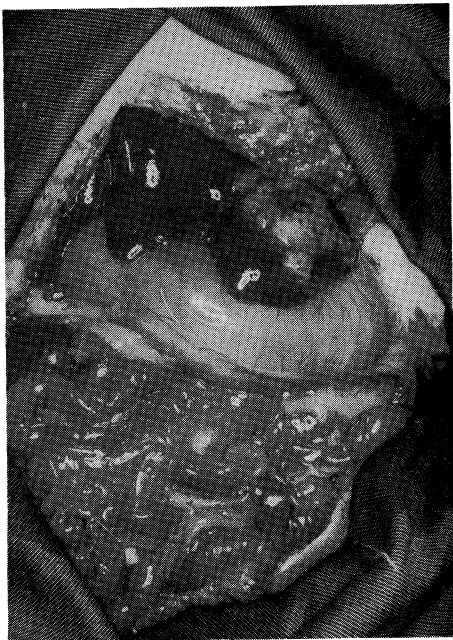


Fig. 1. Solitary VX2 carcinoma formed in the liver, 2 weeks after transplantation

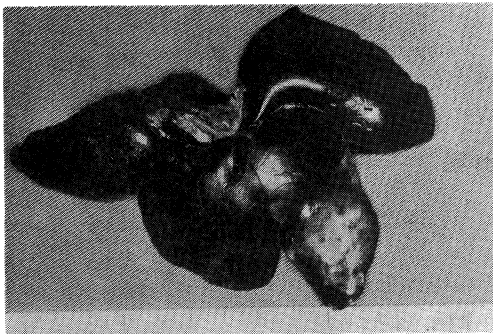


Fig. 2. Gross findings of the liver shown in Fig. 1.

移植2週間後, 同様の麻酔下に再開腹を行い, 孤立性 VX2 肝癌が作製されていることを確認し, 腫瘍径が約 3 cm 前後の約 90 羽を以下の実験に供した (Fig. 1, 2).

2) VX2 肝癌の栄養血管の検討

造影用硫酸バリウム水溶液を, 肝動脈または門脈より注入して肝を摘出し, 10%ホルマリン液で固定後, マンモグラフィ用フィルム (Kodak 社, X-Omat TL) にて, 40 Kv, 100 mA, 0.08 sec の条件で撮影, VX2 肝癌の血管支配を microangiography 像から検討した.

3) 組織血流量の測定

組織血流量の測定には, RI-microsphere 法 (以下 MS 法と略す) を用いた^{17), 18)}. これは, radioisotope で標識した microsphere (以下 MS と略す) を, 動脈内へ投与して末梢血管床に捕捉させ, 目的臓器の放射能を測定し, 計算式より血流量を求めるものである.

移植2週間後の家兎において, 左大腿動脈より動注用カテーテルを挿入し, 先端が腹腔動脈起始部直上になるよう X線透視下で第11胸椎上縁に留置した. 右大腿動脈内へもカテーテルを挿入し, 圧トランスデューサー (日本光電社, MPU-0.5 型) に接続して動脈圧を測定するとともに, 三方活栓により, 後述の reference blood 採取にも用いた. また, 右総頸動脈より左心室へカテーテルを挿入, 同じく圧トランスデューサーに接続して, 血圧波形を指標に左心室挿入を確認し, 圧測定とともに, 活栓により MS 注入にも用いた. 挿入管としては, すべて 4 French のポリエチレンカテーテル (Cook 社) を用いた. また, 動脈血を適宜採取し血液ガス分析を行い, PO_2 および P_{CO_2} をほぼ一定に保つよう留意した.

まず, control 群の血流量測定のために, ^{51}Cr で標識した MS を左心室内へ注入した. 循環動態に変化のないことを確認して30分後に, ANG II 群, EPI 群, PGE_1 群の3群に分け, それぞれの薬剤を $0.1 \mu\text{g/kg/min}$ で動注用カテーテルより注入開始, 以後1分毎に, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, $1.0 \mu\text{g/kg/min}$ と漸増し, $1.0 \mu\text{g/kg/min}$ で5分間維持, 血圧, 心拍

数, 左心室圧が安定していることを確認後, ^{125}I で標識した MS を左心室内に注入した. また, MS 注入と同時に, 右大腿動脈へ挿入したカテーテルから, 定速で6分間 3 ml の動脈血(reference blood)を採取した. なお, reference blood 採取終了まで, 血管作動薬を持続注入した. MS の左心室内注入は, 注入前に注射器をよく振盪し, 約 20 秒かけて緩徐に行った. 注入後は, カテーテル内を生食水で洗浄した.

血管作動薬投与群の reference blood 採取後, 直ちに脱血屠殺し, 開心にて左心室内へカテーテルが留置されていることを確認して, VX2 肝癌および全身諸臓器を摘出した. 湿重量を測定後, 試験管に移し, 放射能活性を, Auto-gamma-scintillation-spectrometer (Packard 社, 5320 型) で測定した.

組織血流量および心拍出量は, 以下の公式より求めた.

$$F = C1/C2 \times f \times 100$$

F: 組織血流量 (ml/min/100 g tissue)

C1: 組織 1 g 当たりの放射能 (cpm)

C2: reference blood の放射能 (cpm)

f: reference blood の採取速度 (ml/min)

$$CO = D/C2 \times f$$

CO: 心拍出量 (ml/min)

D: 投与した MS の放射能 (cpm)

MS は, 直径 $15 \pm 3 \mu$, 比放射能 10 mCi/g, ^{51}Cr および ^{125}I で標識された carbonized microsphere の生食懸濁液 (3M 社) で, 1 ml 中に約 10 万個の MS を含み, 1 回投与量は 0.5~2.0 ml とした. MS 法による血流量測定の様式図を Fig. 3 に示した.

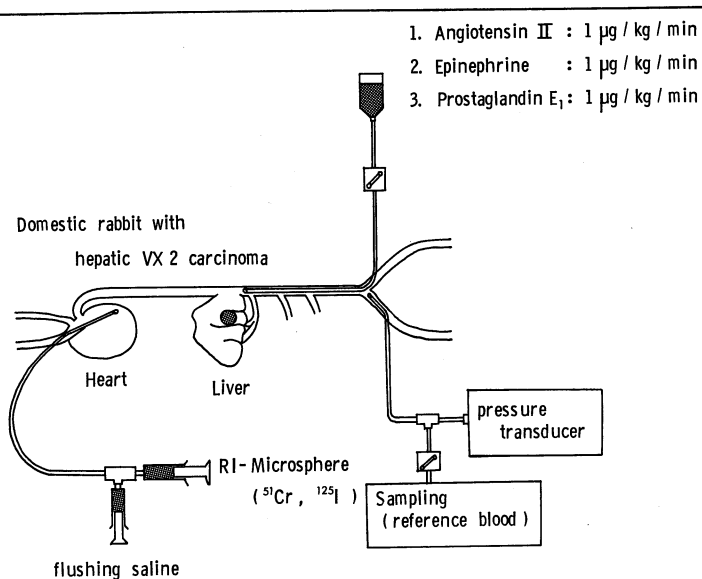


Fig. 3. Scheme on estimation of tissue blood flow with radioactive microsphere method

4) 組織内および血中制癌剤濃度の測定

(a) 組織内制癌剤濃度測定のための検体採取

3) の操作と同様に, 動注用および動脈圧測定用カテーテルを挿入, control 群と 3 種の血管作動薬投与群の 4 群に分け, 血管作動薬は前述の如く持続注入し, BLM 7.5 mg/kg (3 mg/ml に溶解したもの) を one shot 動注した. 直ちに腹部大動脈と下大静脈を切断し, 脱血屠殺後, VX2 肝癌および正常肝を摘出して凍結保存した.

(b) 血中制癌剤濃度測定のための検体採取

(a) と同様の操作下に, BLM または MMC 7.5 mg/kg の one shot 動注後, 5 分, 10 分, 20 分, 30 分, 60 分後に, あらかじめ右大腿静脈より下大静脈内に挿入しておいたカテーテルより採血し, 血清分離後に凍結保存した.

(c) 濃度測定手技

藤田¹⁹⁾, 宮村²⁰⁾ らの方法に準じ, 薄層カップ法を用いた Bioassay で測定した. BLM の測定は, 試験生物に *Bacillus subtilis* ATCC 6633, 培地に Müller-Hinton を, MMC 濃度の測定には, 試験生物に *Escherichia coli* B, 培

地には、ペプトン 5g, 肉エキス 3g, 寒天 15g に蒸留水 1000ml を加えたものを用いた。凍結しておいた組織検体は、解凍後、組織 5g に PBS 5ml を加え、6000 回転で 1 分間 homogenize し、10000g で 20 分間遠心、その上清を検体とした。血清は解凍したものを検体とした。

実験結果

1. VX2 移植肝癌の栄養血管の検討

肝動脈 microangiography で、正常肝組織は均質な微細血管網を呈しているが、VX2 肝

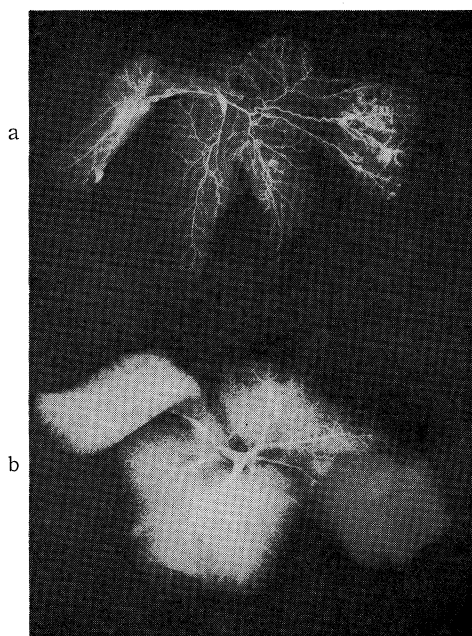


Fig. 4. Microangiography with barium sulfate

a: hepatic artery microangiography
b: portal vein microangiography

癌部においては hypervascular tumor stain を認め、血管壁の不整化、血管径の大小不同、血管の蛇行、動静脈短絡が顕著であった (Fig. 4-a).

一方、門脈 microangiography では、腫瘍部への造影剤の流入はほとんど見られず、あたかも、嚢胞様病変を思わせる所見であった。

以上より、VX2 肝癌の栄養血管は肝動脈であることが判明した。

2. 循環動態の変動

平均動脈圧は、control 群 98 ± 15 mmHg であったが、ANG II 群 131 ± 19 mmHg, EPI 群 123 ± 12 mmHg と有意に上昇し、PGE₁ 群は 81 ± 16 mmHg と下降した。

心拍数は、EPI 群で有意に減少したが、他の 2 剤により著変はなく、しかも、3 剤ともに重篤な不整脈の出現を認めなかった。

平均左心室圧は、平均動脈圧と同様の変化を示した。

心拍出量は、control 群 453.8 ± 86.3 ml/min で、ANG II および EPI 群はやや減少傾向を示し、PGE₁ 群は 776.6 ± 77.9 ml/min と著増した (Table 1)。

3. 組織血流量の変化

1) VX2 肝癌と肝臓 (肝動脈系)

VX2 肝癌の control 群の血流量は、 68.1 ± 17.9 ml/min/100g で ANG II 群 120.2 ± 25.8 ($p < 0.01$), PGE₁ 群 100.9 ± 45.5 ml/min/100g ($p < 0.05$) とそれぞれ有意に増加した。EPI 群は 80.5 ± 30.2 ml/min/100g とわずかに増加した。

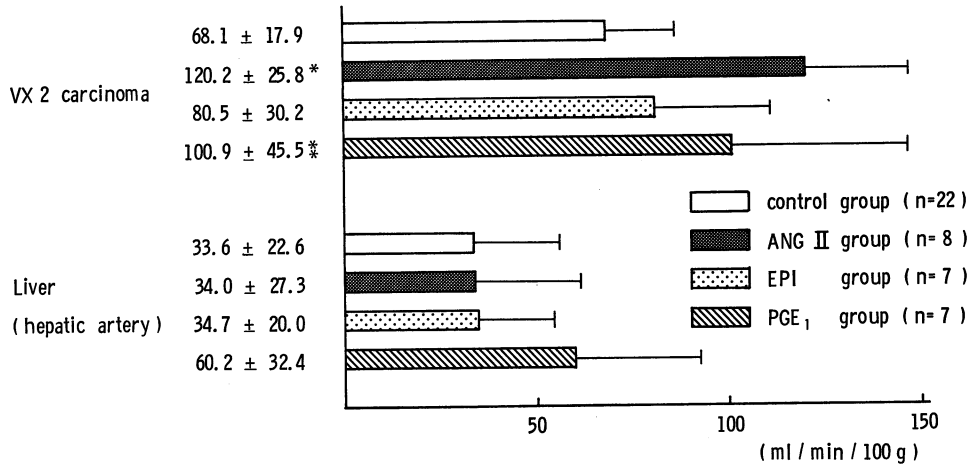
Table 1. Changes in hemodynamic data

	Control group (n=22)	ANG II group (n=8)	EPI group (n=7)	PGE ₁ group (n=7)
Mean blood pressure (mmHg)	98 ± 15	$132 \pm 19^*$	$123 \pm 12^*$	81 ± 16
Heart rate (rate/min)	286 ± 27	278 ± 15	$248 \pm 29^{**}$	300 ± 16
Mean left ventricular pressure (mmHg)	62 ± 15	$81 \pm 16^*$	$79 \pm 14^{**}$	60 ± 21
Cardiac output (ml/min)	453.8 ± 86.3	380.2 ± 47.4	403.5 ± 72.2	$776.6 \pm 77.9^{**}$

* $P < 0.01$ compared with control group

** $P < 0.05$ compared with control group

(mean \pm S. D.)



*p < 0.01 compared with control group
 *p < 0.05 compared with control group

(mean ± SD)

Fig. 5. Changes in tissue blood flows of VX2 carcinomas and normal livers

一方、VX2 肝癌の栄養血管である肝動脈系の血流量は、VX2 肝癌の血流量の変化と異なり、ANG II および EPI 群では著変なく、PGE₁ 群でやや増加傾向にあったが、有意差を認めなかった (Fig. 5)。

2) 消化器系臓器

消化管は、胃、小腸、大腸の総和とし、これに脾、脾成分を加えたものを門脈系、さらに肝動脈成分を加えて肝全体の成分として、前述の公式に従って計算した。

消化管および門脈血流量は、EPI 群で減少

(*p* < 0.05), PGE₁ 群で増加 (*p* < 0.01) した。脾血流量は、ANG II および EPI 群で減少傾向、脾血流量は、3 剤ともに有意に減少したが、特に EPI 群では著減した (Table 2-a)。

3) その他の主要臓器

心筋血流量は、3 剤ともに有意に増加した。肺は気管支動脈のみの血流量を示すが、PGE₁ 群で有意に増加した。腎血流量および皮膚血流量は、ANG II 群で有意に減少した。筋血流量は、EPI および PGE₁ 群で増加した。しかし、大脳、小脳、脳幹、脊髄などの中枢神経系と骨

Table 2-a. Changes in tissue blood flows of abdominal organs (ml/min/100g)

	Control group (n=22)	ANG II group (n=8)	EPI group (n=7)	PGE ₁ group (n=7)
GI-tract	92.4 ± 35.9	101.3 ± 21.5	50.3 ± 23.8**	156.0 ± 37.7*
Portal vein	93.7 ± 35.3	100.8 ± 21.1	49.8 ± 24.5**	156.5 ± 37.1*
Liver (arterial)	33.6 ± 22.6	34.0 ± 27.3	34.7 ± 20.0	60.2 ± 32.4
Liver (total)	73.6 ± 28.5	86.4 ± 23.2	44.5 ± 17.5**	132.0 ± 29.9*
Pancreas	73.7 ± 37.3	36.9 ± 20.4**	14.1 ± 6.6*	92.9 ± 54.4
Spleen	289.2 ± 184.1	105.4 ± 59.3**	13.9 ± 2.5*	99.7 ± 25.8**
Omentum	30.6 ± 20.7	6.5 ± 4.8*	2.4 ± 2.0*	63.0 ± 20.6**

* P < 0.01 compared with control group

** P < 0.05 compared with control group

(Mean ± S. D.)

Table 2-b. Changes in tissue blood flows of another normal organs (ml/min/100 g)

	Control group (n=22)	ANG II group (n=8)	EPI group (n=7)	PGE ₁ group (n=7)
Heart	401.6 ± 88.0	516.9 ± 111.2**	587.5 ± 73.5**	639.0 ± 108.6*
Lung	109.8 ± 79.6	66.3 ± 28.2	49.2 ± 13.8	237.7 ± 104.1*
Kidney	634.1 ± 169.8	167.6 ± 47.7*	454.4 ± 170.6	706.0 ± 142.9
Skin	20.6 ± 12.2	5.73 ± 3.4**	10.0 ± 2.0	14.8 ± 7.31
Muscle	7.56 ± 4.01	5.73 ± 3.4	21.2 ± 11.8**	23.5 ± 10.2**
Bone marrow	32.4 ± 17.8	20.3 ± 9.87	21.0 ± 10.0	27.2 ± 11.6
Cerebrum	86.7 ± 30.8	76.5 ± 29.6	68.7 ± 21.0	91.3 ± 24.4
Cerebellum	87.6 ± 23.5	87.2 ± 44.7	71.4 ± 28.0	90.6 ± 24.4
Brain stem	70.5 ± 16.5	71.4 ± 33.7	66.7 ± 5.0	81.3 ± 20.3
Spinal cord	34.4 ± 13.5	29.4 ± 11.4	27.8 ± 3.35	38.7 ± 8.57

* P<0.01 compared with control group

(Mean ± S.D.)

** P<0.05 compared with control group

髄は、ほとんど血流量に変化なく、後述のいわゆる“Autoregulation”の発達した臓器と思われた (Table 2-b).

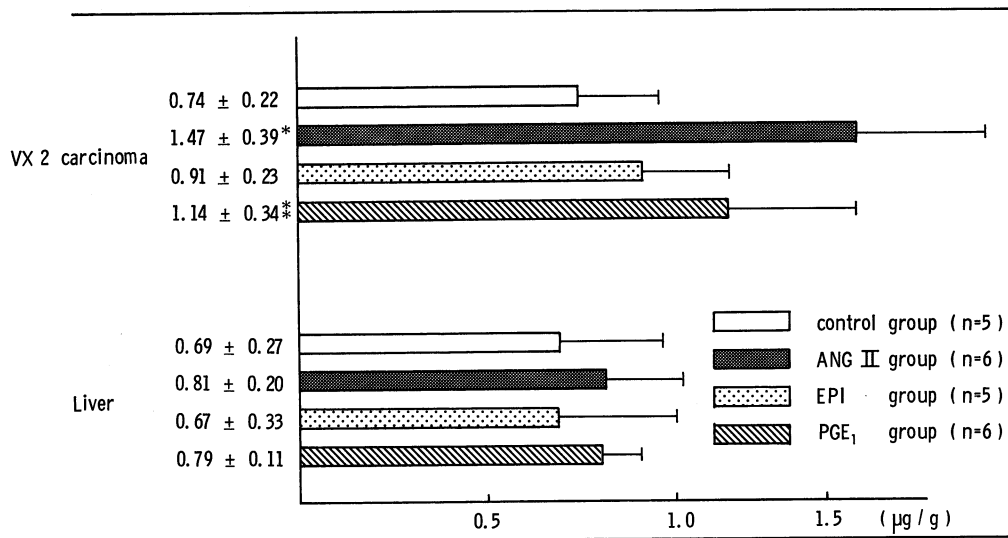
4. 組織内 BLM 濃度の変化

1) VX2 肝癌

control 群は 0.74 ± 0.22 μg/g で、ANG II 群は 1.47 ± 0.39 μg/g (p<0.05), PGE₁ 群は 1.14 ± 0.34 μg/g (p<0.1) とそれぞれ有意に

増加、EPI 群は 0.91 ± 0.23 μg/g とわずかに増加した (Fig. 6).

また、VX2 肝癌の組織血流量と組織 BLM 濃度の変化率を、control 群値を 100% として比較すると、血流量の増加率は、ANG II 群 76.5%, EPI 群 18.2%, PGE₁ 群 48.2% であり、組織 BLM 濃度のそれは、ANG II 群 98.1%, EPI 群 22.6%, PGE₁ 群 53.6% で、両者



* p<0.05 compared with control group

‡ p<0.1 compared with control group

(mean ± SD)

Fig. 6. Changes in tissue BLM concentrations of VX2 carcinomas and normal livers

の増加率は、きわめて類似していた (Fig. 7).

群 $0.79 \pm 0.11 \mu\text{g/g}$ と、4群間に著差を認めなかった (Fig. 6).

2) 正常肝組織

control 群 $0.69 \pm 0.27 \mu\text{g/g}$, ANG II 群 $0.81 \pm 0.20 \mu\text{g/g}$, EPI 群 $0.67 \pm 0.33 \mu\text{g/g}$, PGE₁

5. 血中 BLM 濃度の推移

ANG II 群は、投与後5~10分にかけて他群

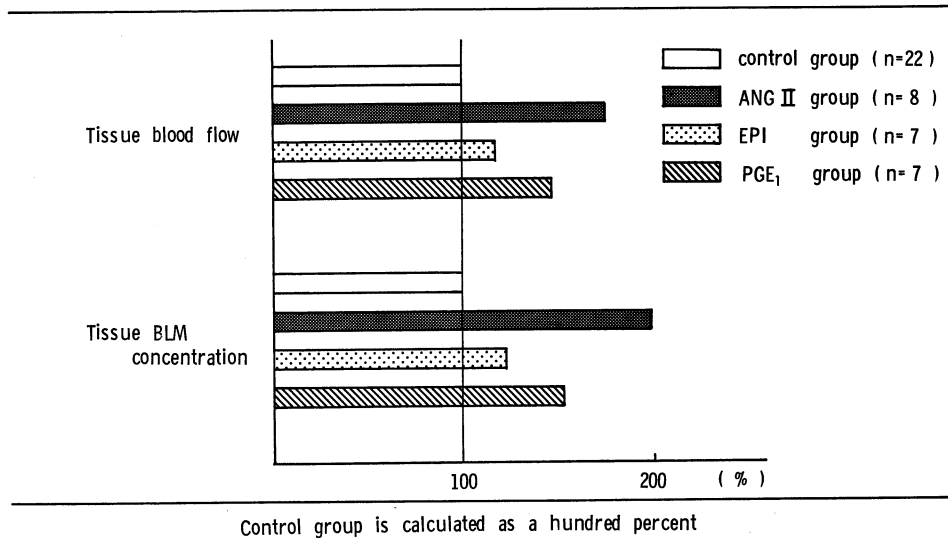


Fig. 7. Percent changes in tissue blood flows and BLM concentrations of VX2 carcinomas

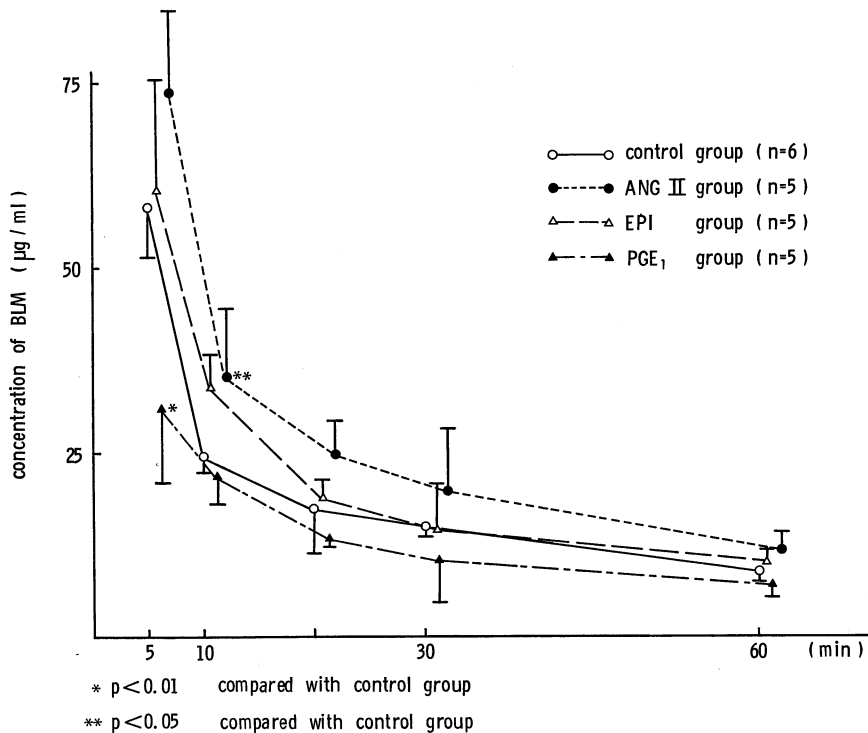


Fig. 8. Changes in serum BLM concentrations

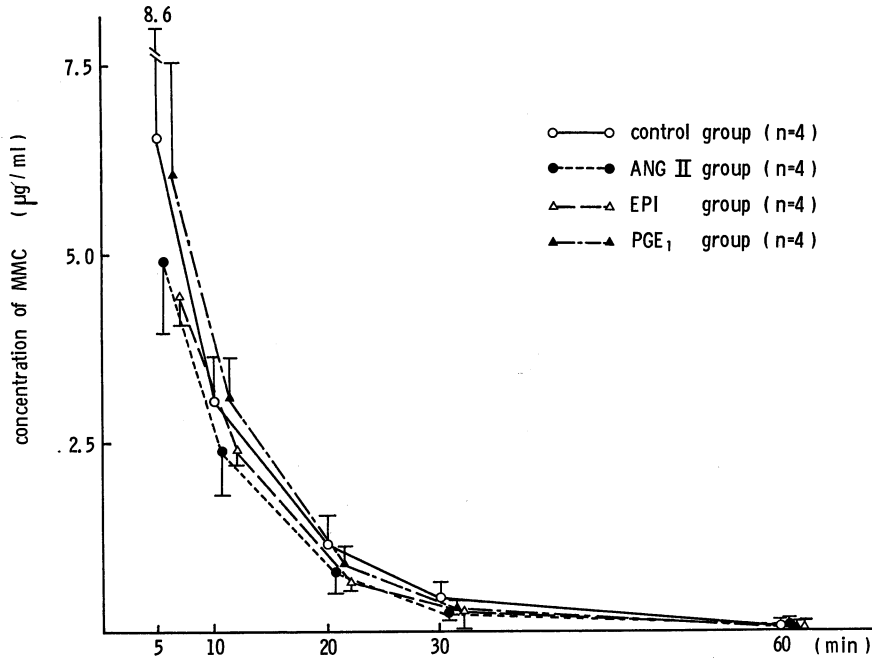


Fig. 9. Changes in serum MMC concentrations

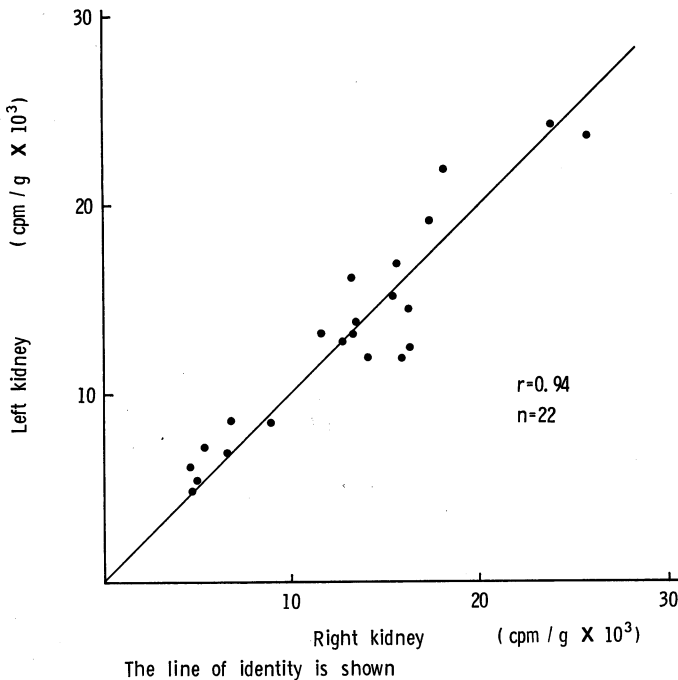


Fig. 10. The relationship of radioactivity per one gram of tissue between right and left kidney

に較べ有意に高値 ($p < 0.05$) で、その後も高値を示した。PGE₁ 群は、投与後5分値は他群に較べ低く ($p < 0.01$) で、その後も低値を保った。EPI 群は、control 群に類似していた (Fig. 8)。

6. 血中 MMC 濃度の推移

血中 MMC 濃度の推移は、BLM と異なり、4 群間に著差を認めなかった (Fig. 9)。

7. MS 法による血流量測定 の 妥当性の検討

1) 血流中での均等分散性の検討

control 群 22 羽の左右腎の 1g 当たりの放射能活性を比較検討した。Fig. 10 のように $r = 0.94$ で、両者間に相関性を認めた。

2) MS の末梢血管床での捕捉 の 検討

control 群 5 羽において、4

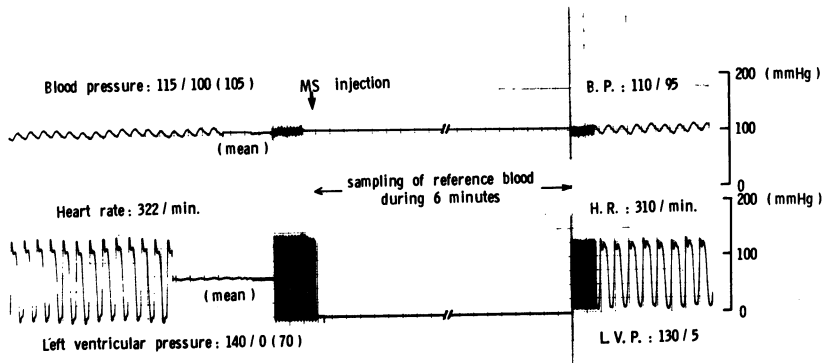


Fig. 11. Effect of microsphere injection on hemodynamics in rabbit.

French のポリエチレンカテーテルを、右内頸静脈より右心房近傍に挿入し、MS 投与と同時に定速で6分間3mlの採血を行い、放射能を測定したが、reference bloodの放射能に較べ低値であった。

3) MS 投与の循環動態への影響

MS 投与、あるいは reference blood 採取によっては、動脈圧、心拍数、左心室圧に著しい変化を認めなかった。Fig. 11 にその1例を示すが、循環動態に著しい影響を与えていない。

考 案

1. 原発性肝癌治療の現況と問題点

原発性肝癌に対する治療としては、癌病巣の切除によってのみ治癒が期待されるが、1979年の日本肝癌研究会の調査報告²¹⁾によると、原発性肝癌4,031例中、切除しえた症例は361例、切除率9.0%と低く、その1年生存率は28.8%、3年生存率11.6%、5年生存率0.5%と甚だ悲観的な成績である。これは、原発性肝癌の大半が多発結節型またはびまん型であり、たとえ塊状型でも肝門部占居型であったり、83.5%に肝硬変を合併していること、遠隔転移などから、切除不能となることが多いためである。このことより、原発性肝癌の治療に際しては、肝切除もさることながら、大半をしめる切除不能肝癌の治療成績を向上させるための努力がなされなければならない。

なお、肝癌研究会の報告によると、切除不能例に対しては、制癌剤の肝動脈内注入431例、門脈内注入23例、静脈内投与274例、経口投与101例、肝動脈結紮術117例、門脈結紮術33例と、動注療法が大半を占めている。これら療法のうち、門脈内制癌剤注入および門脈結紮術は症例も少なく、適応範囲も狭いことから検討外とし、それらの1年生存率をみると、動注5.6%、静注5.5%、経口0%、肝動脈結紮術5.7%となっており、経口投与以外の治療法の予後には差が認められない²²⁾。しかし、肝動脈結紮術は、術後1カ月以内に約30%の死亡例があり、開腹術という負担、術後の急性肝不全の発症などによる死亡、門脈内腫瘍塞栓例には施行できないという欠点もある。また、長末²³⁾は、肝動脈結紮術後、早期より横隔膜、十二指腸、脾、門脈系より側副血行路の形成(collateralization)がおこるため、本法には動注療法を併用することが望ましいと報告している。

また最近、肝動脈結紮術に似た方法として、Transcatheter arterial embolization therapy^{8),9)}が試みられ、良好な結果が報告されている。本法は、肝動脈を末梢より充填する点で結紮術と異なるが、1回の塞栓術では十分な阻血効果は得られない。Burgener²³⁾は、家兎VX2肝癌に対して、175 μ のpolystyrene microsphereによる塞栓術を行い、1週間後に血管の再疎通(revascularization)が認められたとしている。また、本法は臨床で、発熱、

疼痛などの副作用は必発で、さらには、胆のうの阻血性壊死など、改善されるべき幾多の問題点が残されている。

動注療法は、非観血的に Seldinger 法によって超選択的に catheterization が可能となり、静脈内投与に較べ、より高濃度の制癌剤を腫瘍に作用させることができる。本法による諸家^{1)~5)}の治療成績をみると、投与方法および薬剤がまちまちで、対象とした肝癌の分類、Stage も異なるが、対象症例の約 60% に明らかな抗腫瘍効果が認められ、全身的投与とは比較にならない良い成績を示している。

この動注療法において、腫瘍組織周辺への制癌剤の分布は、腫瘍局所の組織血流量に影響をうけることから、腫瘍血流量を変化させ、それによる腫瘍制癌剤濃度の変化から、抗腫瘍効果を高めることを目的として本研究を行った。

2. Pharmacangiography と腫瘍血流量

Pharmacangiography は、血管造影に血管作動薬を併用するもので、1964年、Abrams²⁴⁾が腎癌の血管造影に EPI を併用し、腫瘍陰影が増強したと報告して以来、腹部悪性腫瘍の血管造影に EPI¹⁰⁾ や ANG II¹¹⁾ が併用されてきた。

この機序については次の二つが考えられており、一つは、正常血管と腫瘍血管の機能的特性の違いによるもので、正常血管は血管収縮剤に反応し収縮するが、腫瘍血管は反応せず、造影剤が腫瘍へ集積するとするもので、他の一つは、脾癌などの脾疾患に対する腹腔動脈造影に際し、脾へ分布する血管を鮮明に描出するために、血流の多い肝動脈、脾動脈を収縮させて、脾への血流量の増加がはかれるとするものである。

腫瘍血管が血管作動薬に反応しないとすることに関して、Wickersham²⁵⁾、奥平²⁶⁾らは、腫瘍血管の壁は菲薄で、平滑筋層の発達は乏しく、したがって、血管作動薬に対する反応は弱いと説明している。また、Ackermanら²⁷⁾は、ラット Walker 肝癌に種々の血管作動薬を動注し、腫瘍血管の微細な変化を立体顕微鏡

を用いて詳細に検討している。非投与群では、腫瘍周辺に緻密な新生血管叢があり、腫瘍中央にかけて血管は乏しくなり、新生血管叢からの穿通動脈を数本みるのみであるが、EPI 投与により、新生血管叢を介して、中央に向けて微細な血管網が形成され、その血管は太く不規則で、一部に vascular lake が形成され、ANG II では、周囲の新生血管叢はさらに緻密になったとしている。鈴木ら²⁸⁾は、腫瘍血管は passive vascular bed と表現している。その他にも腫瘍血管は血管作動薬に反応しないとする報告^{10), 11), 24), 29)}が多いが、否定的な意見^{30), 31)}もある。

また、血管拡張剤である PGE₁ を上腸間膜動脈造影に併用すると、その動脈血流量を増加させることによって門脈血流量も増加するため、直接的門脈造影に匹敵する造影がえられ、経動脈的門脈造影として臨床的に用いられている¹²⁾。

PGE₁ などの血管拡張剤による腫瘍血流量の変化を検索した報告は少なく、EPI, ANG II の血管収縮剤との3剤による、腫瘍および全身諸臓器の血流量の変化を MS 法で検討した。

投与方法は、PGE₁ が静脈内に投与される際、1回の肺組織通過により 95% が不活性化され、投与後 90 秒には血中にその 3% しか存在しないこと³²⁾、ANG II の半減期が 2~4 分であること³³⁾ などより、持続的動脈内投与とした。投与量は、臨床的に血管造影に用いられる量が、EPI: 0.1~0.3 μg/kg¹⁰⁾、ANG II: 0.2~0.4 μg/kg¹¹⁾、PGE₁: 0.3~0.5 μg/kg¹²⁾ で、しかもこれは選択的 catheterization 下の量であり、本実験では、超選択的 catheterization ということから、それぞれ 1.0 μg/kg/min とした。

3. 肝癌の血管支配

Breedisら³⁴⁾は、家兎 VX2 肝癌とヒトの転移性肝癌 13 例(原発巣: 胃、大腸、肺、腎、乳腺、子宮)の剖検時に、それぞれ色素を用いて栄養血管を検討し、VX2 肝癌は 100%、ヒト転移性肝癌は 80~100% が肝動脈栄養であっ

たと報告している。奥平ら²⁶⁾は、剖検時、あるいは手術時に摘出された肝細胞癌20例の栄養血管を、バリウムゲラチンを用いて検討し、100%肝動脈栄養であったとしている。

本研究の検討でも、家兎 VX2 肝癌は肝動脈より栄養され、動注療法の実験モデルとして適当と考えた。

4. ANG II, EPI, PGE₁ による種々の変化について

1) 循環動態

血圧は、ANG II および EPI による心収縮力増大、末梢血管の収縮により上昇したが、心拍数、心拍出量はやや減少傾向にあり、血圧上昇に伴う迷走神経反射によって心拍数の減少がおり、心拍出量が低下したためと考えられる。一方、PGE₁ 群では、末梢血管拡張による末梢抵抗の減弱が、血圧下降、心拍数、心拍出量の増加をもたらしたものと思われる。

2) VX2 肝癌と肝動脈の血流量の変化と“Autoregulation”について

VX2 肝癌の血流量の増加率は、ANG II 群: 76.5%, EPI 群: 18.2%, PGE₁ 群: 48.2% であった。ANG II は、腫瘍組織の微細な血管網とほぼ同径の毛細血管前細動脈に作用することから³³⁾、それら正常血管の収縮により、腫瘍血流量は受動的に増加したものと思われる。EPI は、比較的太い動脈から細動脈、毛細血管前括約筋、細静脈を収縮させることから³⁵⁾、正常肝および VX2 肝癌組織よりも中枢側の動脈をも収縮し、ANG II 程には腫瘍血流量を増加させなかったものと思われる。一方、腫瘍血管は PGE₁ に反応したかにも見えるが、その作用血管が、中太の動脈、細動脈、細静脈であり³²⁾、腫瘍組織レベルよりも中枢側の動脈拡張に伴う腫瘍血流量の増加と考えるべきであると思われる。

しかし、VX2 肝癌を栄養する肝動脈の肝組織内での血流量は、PGE₁ 群に増加傾向が認められたが、4群間に有意差はなく、いわゆる“Autoregulation”の存在が考えられた。鈴木ら²⁸⁾は、AH 109A 肝癌皮下移植腫瘍をもつ

ラットに ANG II を投与したところ、腫瘍血流量は4~6倍に増加したが、脳、肝、骨髄の血流量に変化はなく、正常組織には“Autoregulation”が存在すると述べている。また、Mundschau ら³⁶⁾は、肝動脈系は消化管血管床に比し神経性調節は少なく、内因性調節、つまり“Autoregulation”が大いに関与すると報告している。

この“Autoregulation”とは、動脈血圧の変動に対して、血管床は血管抵抗を変え、組織血流量を一定に保とうとする現象で³⁷⁾、腎³⁸⁾、肝³⁹⁾、消化管⁴⁰⁾、心筋⁴¹⁾、脳²⁹⁾、骨格筋⁴²⁾などに存在が認められているものの、未だ十分解明されていない。

この現象の機序として、1) tissue pressure theory, 2) metabolic theory, 3) myogenic theory の3つが考えられている。1) は、臓器への流入血管の圧上昇とともに組織圧も上昇し、動脈を周囲組織が圧迫することにより、血管抵抗が増大し血流量を一定に保とうとするもので、この機序は、腎のような被膜をもつ臓器にみられる。Bounous ら⁴³⁾は、腎動脈圧上昇により腎組織圧も上昇するとし、“Autoregulation”の存在を報告している。2) は、臓器血管の収縮、拡張による血流量の変化により、組織の酸素、二酸化炭素分圧、乳酸、カリウム、アデノシン濃度の変化し、これが直接、血管平滑筋に作用するというもので、脳、心筋、肝、筋肉などがこの範疇に入る。3) は、血管内圧の上昇により、血管平滑筋の収縮性が高まり、伸展性は減少するかに思われるが、実際には却って増加し、血流量を保とうとするものである。

3) 主要他臓器の血流量の変化について

ANG II は、毛細血管前細動脈の収縮を惹起するが、腎、皮膚、消化器系には強力で、特に腎は感受性が高い³³⁾。本研究においても、腎および皮膚血流量は有意に減少した。消化器系では、脾、脾、大網の血流量は減少したが、消化管、門脈系への影響はみられなかった。心筋血流量は、ANG II の交感神経刺激作用³³⁾による血圧上昇、心筋の活動亢進、前述の metabolic

autoregulation も関与し増加したものと思われた。

EPI による変化としては、消化管、門脈、脾、脾の血管は、 α -receptor 優位であることから、血管収縮により血流量は減少した。中でも脾は EPI に強く反応して、貯蔵血を流血中にしぼり出すために血流量は著減した。心臓は β -receptor 優位であり、ANG II と同じような機序から心筋血流量は増加した。筋肉も β -receptor 優位であり、血管拡張により血流量は増加した。

PGE_1 による変化としては、消化管および門脈血流量は増加し、経動脈の門脈造影に本剤を用いて有用であることを裏付けた。脾は減少傾向にあったが、脾は交感神経に強く支配されていることから、 PGE_1 による血圧下降により交感神経系の緊張が高まり、脾が収縮したものと思われた。心筋血流量は、直接的冠血管の拡張、心拍数、心拍出量の増加により増大した。

また、中枢神経系、骨髄は、ANG II, EPI, PGE_1 投与にもかかわらず、血流量はほぼ一定に保たれ、全身諸臓器の中で最も、“Auto-regulation” の発達した臓器と思われた。

4) 腫瘍組織血流量と制癌剤濃度

Chen ら⁴⁴⁾ は、動注療法では腫瘍局所への流入血管の流速が遅く、しかも、薬剤がその局所で代謝され、全身への薬剤の流出が少ない程、理論的に高い局所濃度が得られ、全身的副作用が軽減されると述べている。しかしながら、原発性肝癌の動注療法において、流入血管の流速を遅くするには肝動脈結紮兼動注療法が考えられるが、既述のような欠点が危惧され、たとえば他の方法で血流速度を遅らせることができても、腫瘍以外の正常組織にも高濃度の制癌剤が作用して障害をもたらすであろう。特に原発性肝癌では、大半に肝硬変を合併しており、この点でもその方法は不適当と考えられる。

しかし、本研究では、3種の血管作動薬により、腫瘍組織血流量の増加がもたらされるとともに、腫瘍組織制癌剤濃度も増加し、ANG II においては特に顕著であり、高い抗腫瘍効果が期待されるものと思われた。

5) 血中制癌剤濃度の推移

血中 BLM 濃度の検討で、ANG II 群は高値を示したが、これは、ANG II による腎血流量の減少が主因であろう。BLM の体内消失は尿中排泄が重要な役割を演じており¹⁹⁾、井口⁴⁵⁾ は、BLM の one shot 動注後の尿中回収率は、100分後 43~62%と報告している。また、ANG II は、supraoptic neuron を刺激して抗利尿ホルモンを分泌させる作用もあり³³⁾、これも本現象に幾分関与していると思われる。このことから、尿中への排泄により体内から消失する制癌剤と ANG II を併用すると、高濃度の薬剤が血中に停滞することになる。一方、 PGE_1 群では低値を示したが、これは血流量の増加した諸臓器へ BLM が移行したためであろう。

血中 MMC 濃度は 4 群間に著差がなかったが、これは、MMC が肝を主とする組織中で速やかに不活化され、腎血流量などに影響されないためと思われる。藤田ら¹⁹⁾ は、MMC の尿中回収率は 24 時間で 10%以下であり、投与後、肝、脳、脾、心では不活化が高度で、MMC を証明しえなかったと報告している。MMC のように組織で速やかに不活化される薬剤と、これらの血管作動薬を併用しても血中濃度に影響はないものと思われた。

5. MS 法による血流量測定の妥当性

MS 法を用いて血流量を測定する場合には、次の 3つの条件が必要で¹⁸⁾、1) MS が血流中で十分に混和し、血流量に比例して末梢に分布すること、2) MS が末梢血管床に完全に捕捉されること、3) MS 投与により循環動態に影響を与えないこと、である。1) に関して、心筋血流量も測定するのであれば左房内投与が望ましいが、心筋以外の臓器血流量の測定には、左心室投与でもさしつかえないとされている¹⁷⁾。しかし、Bartrum ら¹⁸⁾ は、左心室内投与でも、心筋血流量は十分測定できるという。本研究においても、心筋血流量の値のばらつきは小さく、左右腎へも均等な MS 分布を認めた。2) に関して開原ら¹⁷⁾ は、15 μ の MS は、投与量の 98%が体循環血管床に捕捉される

と報告している。Bartrum ら¹⁸⁾は、右心室へ catheterization し、reference blood と同様に採血したところ、放射能は reference blood の1%以下であったとしている。3) に関しては、MS の投与量が多いと測定精度は上がるが、却って副作用を増す危険性もある。家兎の1回投与量は10万個前後とされており¹⁸⁾、本研究では5~20万個を投与したが、循環動態にさほどの影響を認めなかった。

結 語

家兎 VX2 肝癌を用いて、その動注療法に、ANG II, EPI, PGE₁ の3種の血管作動薬を併用し、腫瘍組織血流量および正常他臓器血流量の変化、腫瘍組織制癌剤濃度および血中制癌剤濃度の変化を検討した。

1. 家兎 VX2 肝癌は、肝動脈栄養であった。
2. 腫瘍組織血流量は、ANG II により76.5%、EPI により18.2%、PGE₁ により48.2%の増加を認めた。
3. 腫瘍組織 BLM 濃度は、ANG II により98.1%、EPI により22.6%、PGE₁ により

53.6%の増加を認め、腫瘍血流量と腫瘍制癌剤濃度の増加率はきわめて類似していた。

4. 血中 BLM 濃度は、ANG II 群で高値を、PGE₁ 群で低値を示した。
5. 血中 MMC 濃度には、著差を認めなかった。
6. 中枢神経系および骨髄は、いわゆる“Autoregulation”の発達した臓器と思われた。
7. 動注療法における腫瘍血流量の増加は、制癌剤の局所到達性を高めるが、特にANG IIを併用すると、高い抗腫瘍効果がえられるものと考えられた。

本論文の要旨は、第20回日本癌治療学会総会(昭和57年9月)および第21回日本消化器外科学会総会(昭和58年2月)において発表した。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った川崎医科大学消化器外科佐野開三教授に深甚なる謝意を捧げるとともに、腫瘍を提供して頂いた当大学放射線科梶原康正助教授に感謝致します。また、本研究に御協力して頂いた教室員各位ならびに当大学動物実験センター技術員各位に心よりお礼申し上げます。

なお、本研究の一部は当大学プロジェクト研究助成金(57-211)による。

参 考 文 献

- 1) Watkins, E. Jr., Khazel, A. M. and Nagra, K. S.: Surgical basis for arterial infusion chemotherapy of disseminated carcinoma of the liver. *Surg. Gynecol. Obstet.* 130: 581-605, 1970
- 2) Ansfield, F. J., Ramirez, G., Davis, H. L. Jr., Wirtanen, G. W., Johnson, R. O., Bryan, G. T., Manalo, F. B., Borden, E. C., Davis, T. E. and Esmaili, M.: Further clinical studies with intrahepatic arterial infusion with 5-fluorouracil. *Cancer* 36: 2413-2417, 1975
- 3) Misra, N. C., Jaiswal, M. S. D., Singh, R. V. and Das, B.: Intrahepatic arterial infusion of combination of Mitomycin C and 5-fluorouracil in treatment of primary and metastatic liver carcinoma. *Cancer* 39: 1425-1429, 1977
- 4) Bern, M. M., McDermott, W. Jr., Cady, B., Oberfield, R. A., Trey, C., Clouse, M. E., Tullis, J. L. and Parker, L. M.: Intraarterial hepatic infusion and intravenous Adriamycin for treatment of hepatocellular carcinoma; A clinical and pharmacology report. *Cancer* 42: 399-405, 1978
- 5) Reed, M. L., Vaitkevicius, V. K., Al-Sarraf, M., Vaughn, C. B., Singhakowinta, A., Sexon-Porte, M., Izbicki, R., Baker, L. and Straatsma, G. W.: The practicality of chronic hepatic artery infusion therapy of primary and metastatic hepatic malignancies; Ten-year results of 124 patients in a prospective protocol. *Cancer* 47: 402-409, 1981
- 6) Fortner, J. G., Mulcare, R. J., Solis, A., Watson, R. C. and Golbey, R. B.: Treatment of primary and secondary liver cancer by hepatic artery ligation and infusion chemotherapy.

Ann. Surg. 178:162—172, 1973

- 7) Nagasue, N., Inokuchi, K., Kobayashi, M., Ogawa, Y., Iwaki, A. and Yukaya, H.: Hepatic dearterialization for nonresectable primary and secondary tumors of the liver. *Cancer* 38: 2593—2603, 1976
- 8) Goldstein, H. M., Wallace, S., Anderson, J. H., Bree, R. and Gianturco, C.: Transcatheter occlusion of abdominal tumors. *Radiology* 120: 539—545, 1976
- 9) 加藤哲郎, 根本良介, 玉川芳春: MMC マイクロカプセルによる微小化学塞栓療法について. *臨放* 26: 59—65, 1981
- 10) Kaude, J. V. and Wirtanen, G. W.: Celiac epinephrine enhanced angiography. *Am. J. Roentgenol.* 110: 818—826, 1970
- 11) Ekelund, L. and Lunderquist, A.: Pharmacoangiography with angiotensin. *Radiology* 110: 533—540, 1974
- 12) Davis, L. J., Anderson, J. H., Wallace, S., Gianturco, C. and Jacobson, E. D.: The use of Prostaglandin E₁ to enhance the angiographic visualization of the splanchnic circulation. *Radiology* 114: 281—286, 1975
- 13) Stewart, H., Snell, K. C., Dunham, L. J. and Schlyen, S. M.: Transplantable and transmissible tumors of animals. *Atlas of tumor pathology, Section XII-Fascicle 40*, ed. by Armed Forces Institute of Pathology. 1959, pp. 38—42
- 14) 太田邦夫, 山本 正, 杉村 隆, 菅野晴夫 編: 癌の制圧. 東京, 南江堂. 1979, pp. 168—192
- 15) 泉 文治, 今野俊光, 平岡武久, 田代征記, 宮内好正: 経門脈的 VX-2 癌移植家兎肝癌に対する MMC 局所投与の癌生着, 発育抑制効果. *日消外会誌* 15: 1118, 1982
- 16) 岩城 篤: 肝癌に対する肝動脈内制癌剤投与における血管収縮剤併用の効果に関する実験的臨床的研究. *福岡医誌* 71: 471—484, 1980
- 17) Kaihara, S., Van Heerden, P. D., Migita, T. and Wagner, H. N.: Measurement of distribution of cardiac output. *J. appl. Physiol.* 25: 696—700, 1968
- 18) Bartrum, R. J., Berkowitz, D. M. and Hollenberg, N. K.: A simple radioactive microsphere method for measuring regional flow and cardiac output. *Invest. Radiol.* 9: 126—132, 1974
- 19) 藤田 浩, 向島 達, 中山 昇, 沢部孝昭, 土田裕子, 青木光子: 抗癌剤の Bioassay について. *メディヤサークル* 92: 259—270, 1967
- 20) 宮村定男, 庭山清八郎, 重野直也: Mitomycin C の体液中濃度測定. *J. Antibiotics. Ser. B14*: 251—254, 1961
- 21) 日本肝癌研究会: 原発性肝癌症例に関する追跡調査—第4報—. *肝臓* 20: 433—440, 1979
- 22) 石川浩一: 原発性肝癌症例に関する追跡調査—第3報—. *肝臓* 17: 460—465, 1976
- 23) Burgener, F. A.: Peripheral hepatic artery embolization in rabbits with VX2 carcinomas of the liver. *Cancer* 46: 56—63, 1980
- 24) Abrams, H. L.: The response of neoplastic renal vessels to epinephrine in man. *Radiology* 82: 217—223, 1964
- 25) Wickersham, J. K., Barrett, W. P., Furukawa, S. B., Puffer, H. W. and Warner, N. E.: An evaluation of the response of the microvasculature in tumors C3H mice to vasoactive drugs. *Bibl. Anat.* 15: 291—293, 1977
- 26) 奥平雅彦, 佐々木憲一, 中 英男: 悪性腫瘍の血管構築. *脈管学* 19: 229—232, 1979
- 27) Ackerman, N. B. and Hechmer, P. A.: Effects of pharmacological agents on the microcirculation of tumors implanted in the liver. *Bibl. Anat.* 15: 301—303, 1977
- 28) Suzuki, M., Hori, K., Abe, I., Saito, S. and Sato, H.: A new approach to cancer chemotherapy; Selective enhancement of tumor blood flow with Angiotensin II. *J. Natl. Cancer Inst.* 67:

- 663—669, 1981
- 29) Palvölgyi, R.: Regional cerebral blood flow in patients with intracranial tumors. *J. Neurosurgery* 31: 149—163, 1969
 - 30) Edlich, R. F., Rogers, W., DeShazo, C. V. Jr. and Aust, J. B.: Effect of vasoactive drugs on tissue blood flow in the hamster melanoma. *Cancer Res.* 26: 1420—1424, 1966
 - 31) Rankin J. H. G., Jirtle, R. and Phernetton, T. M.: Anomalous responses of tumor vasculature to Norepinephrine and Prostaglandin E₂ in the rabbit. *Circulation Res.* 41: 496—502, 1977
 - 32) Moncada, S., Flower, R. J. and Vane, J. R.: Prostaglandins, prostacyclin, and thromboxane A₂. The pharmacological basis of therapeutics, ed. by Gilman, A. G., Goodman, L. S. and Gilman, A. 6th ed. New York, Macmillan. 1975, pp. 668—681
 - 33) Douglas, W. W.: Polypeptides-angiotensin, plasma kinins, and others. The pharmacological basis of therapeutics, ed. by Gilman, A. G., Goodman, L. S. and Gilman, A. 6th ed. New York, Macmillan. 1975, pp. 647—681
 - 34) Breedis C. and Young, G.: The blood supply of neoplasms in the liver. *Am. J. Pathol.* 30: 960—985, 1954
 - 35) Weiner, N.: Norepinephrine, epinephrine, and the sympathomimetic amines. The pharmacological basis of therapeutics, ed. by Gilman, A. G., Goodman, L. S. and Gilman, A. 6th ed. New York, Macmillan. 1975, pp. 138—175
 - 36) Mundscha, G. A., Zimmerman, S. W., Gildersleeve, J. W. and Murphy, Q. R.: Hepatic and mesenteric artery resistances after sinoaortic denervation and hemorrhage. *Am. J. Physiol.* 211: 77—82, 1966
 - 37) Johnson, P. C.: Review of previous studies and current theories of autoregulation. *Circulation Res.* 14 (Suppl 1): 2—9, 1964
 - 38) Hinshaw, L. B., Flaig, R. D., Carlson, C. H. and Thuong, N. K.: Pre- and postglomerular resistance changes in the isolated perfused kidney. *Amer. J. Physiol.* 199: 923—926, 1960
 - 39) Brauer, R. W.: Autoregulation of blood flow in the liver. *Circulation Res.* 14(Suppl 1): 213—224, 1964
 - 40) Johnson, P. C.: Autoregulation of blood flow in the intestine. *Gastroenterology* 52: 435—443, 1967
 - 41) Driscoll, T. E., Moir, T. W. and Eckstein, R. W.: Autoregulation of coronary blood flow; Effect of interarterial pressure gradients. *Circulation Res.* 15: 103—111, 1964
 - 42) Stainsby, W. N.: Autoregulation in skeletal muscle. *Circulation Res.* 14(Suppl. 1): 39—47, 1964
 - 43) Bounous, G., Onnis, M. and Shumacker, H. B. Jr.: The abolition of renal autoregulation by renal decapsulation. *Surg. Gynec. Obstet.* 111: 682—690, 1960
 - 44) Chen, H-S. G. and Gross, J. F.: Intra-arterial infusion of anticancer drugs; Theoretic aspects of drug delivery and review of responses. *Cancer Treat. Rep.* 64: 31—40, 1980
 - 45) 井口次夫: VX2 担癌家兔に投与された制癌剤の血中, 尿中および組織内濃度に関する研究. *九州歯会誌* 28: 89—118, 1974