

●原 著

ヌードマウス可移植性ヒト胃癌に対する放射線・高圧酸素併用療法（第1報）

—とくに正常および腫瘍組織内酸素濃度について—

田中宣威* 恩田昌彦* 山下精彦*
 森山雄吉* 徳永 昭* 滝沢隆雄*
 金 徳栄* 松倉則夫* 森野一英*
 西 恵吾* 吉行俊郎* 清水康仁*
 小島範子*

胃癌に対する放射線療法に高圧酸素を併用した治療をはじめにあたり、正常および癌組織における組織酸素濃度を測定した。

ヌードマウス可移植性ヒト胃癌を用いて大気下、 O_2 6l/minおよび高圧酸素(3ATA)下における正常および癌組織の酸素濃度を PO_2 monitor system (ポラログラフィー)により測定した。

直径2 cm以下の腫瘍をもつ担癌ヌードマウスの正常組織における PO_2 値は移植をしていないヌードマウスと同じであったが、直径3 cm以上の担癌ヌードマウスの正常組織では低下していた。

大気下、 O_2 6l/minおよびOHP 3ATA下で、癌組織における PO_2 値は正常組織より明らかに低かった。しかし癌組織におけるOHP下での PO_2 値はroom airの約11倍であり、正常組織の13倍とほぼ同様の上昇が認められた。

癌の組織型により PO_2 値に差は認められなかった。

以上の結果より胃癌に対する放射線療法はOHP下で行うことが必要である。

キーワード：組織酸素濃度，高圧酸素，胃癌，ヌードマウス

Combined use of radiation therapy and hyperbaric oxygen(HBO) for human gastric cancer transplanted in nude mice. Comparison of oxygen tensions in normal and tumor tissues.

Noritake Tanaka, Masahiko Onda, Kiyohiko Yamashita, Yukichi Moriyama, Akira Tokunaga, Takao Takizawa, Deog Young Kim, Norio Matsukura, Kazuhide Morino, Keigo Nishi, Toshiro Yoshiyuki, Yasuhito Shimizu and Noriko Kojima
 The First Department of Surgery, Nippon Medical School

This study was performed to measure actual oxygen tensions in normal and tumor tissues prior

to study whether gastric cancer is radiosensitive under HBO condition.

Oxygen tensions in normal and tumor tissues during exposure to normobaric (O_2 6 l/min) and HBO (3 ATA) conditions were measured by polarographic technique in nude mice being transplanted human gastric cancer. In normal tissue which had tumor less than 2cm in diameter, PO_2 was almost equal to non-transplanted mice, but those carried tumor more than 3cm showed lower PO_2 . Under normobaric condition, PO_2 in cancer tissues were distinctly lower than normal tissue, however, under HBO condition, it was 11 times higher than room air breathing and 13 times higher than normal tissue. There was no differences of PO_2 according to the histological characters of cancer tissue. From these results, it is

*日本医科大学第一外科

preferable to perform radiation therapy for gastric cancer under HBO condition.

Keywords :

Oxygen tension
Hyperbaric oxygen
Gastric cancer
Nude mice

はじめに

一般に癌組織は低酸素状態にあり、放射線治療に対して抵抗性を示す一因子となることが知られている。すなわち、腫瘍組織のなかには aerobic で放射線感受性の高い細胞と、hypoxic で放射線抵抗性の細胞とが混在するとされている。この hypoxic な細胞が腫瘍に対する放射線治療にあたって critical な点となっており、これら細胞をいかに減少せしめるかが治療効果を左右する鍵と考えられてきている¹⁾。この hypoxic な状態を取り除くために高圧酸素 (OHP) により組織の酸素濃度を上昇させることで、放射線に対する感受性を高めようとする試みがなされ、これまでに多くの報告がみられる^{2)~7)}。これら報告では放射線治療に際し OHP を併用することにより治療効果がある²⁾³⁾とする一方、無効であるとの報告も見られ^{4)~7)}、その効果については未だ議論の多いところである。

ところで、大気下あるいは OHP 下における組織中とくに癌組織中の酸素濃度 (PO₂ 値) がどの位であるのか、これを直接測定した報告はほとんどみられていない。癌に対する放射線療法に OHP を併用した治療をはじめると、我々はヌードマウス可移植性腫瘍をもちいて癌組織および正常組織における PO₂ 値を測定した。

材料および方法

(1) 動物および可移植性腫瘍

動物は BALB/c-nu ヌードマウス (三共ラボサービス)、雄、6 週齢のものを用いた。ヒト胃癌継代株は、教室で切除された胃癌を可移植性として樹立した NMS2 (中分化型腺癌)、NMS11 (印環細胞癌)、NMS12 (低分化腺癌) および国立がんセンターより供与された G/F (低分化腺癌) を使用した。

(2) 組織 PO₂ の測定

組織 PO₂ の測定には生体内酸素分圧連続測定装置 (PO-2080, 三菱レイヨン製) を用いた。

(3) 高圧酸素治療装置

動物実験用高圧タンク (羽生田鉄工所製) を用いた。

ヌードマウスをネンブタール麻酔後、直径 130 μ m のセンサーを組織内に留置し、room air, O₂6l/min および OHP3ATA100% O₂ 下でそれぞれ連続測定した。なお正常組織における PO₂ 値はマウス皮下で測定した。

結 果

(1) 無処置および担癌ヌードマウス正常組織における PO₂ 値 (表 1)

room air, O₂6l/min, OHP3ATA とそれぞれ各条件下 3 分後の測定値である。無処置マウス、腫瘍径 2 cm 以下の担癌マウスでは、大気下および O₂6l/min で差がみられなかった。OHP3ATA 下では担癌マウスの方が低値を示すものの、両者の間に有意の差は認められなかった。腫瘍径 3 cm 以上の担癌マウスでは無処置マウスに比べ room air, O₂6l/min, OHP3ATA 下で PO₂ 値の低下がみられた。

(2) 担癌ヌードマウスにおける正常および癌組織 PO₂ 値 (表 2)

room air では正常組織で 44.5 \pm 8.5mmHg、癌組織で 22.8 \pm 3.8mmHg と癌組織の PO₂ 値は正常組織に比べかなり低値を示した。この傾向は O₂6l/min, OHP3ATA でも同様で、正常組織ではそれぞれ 55 \pm 21, 604 \pm 174mmHg であるのに対し、癌組織では 37.3 \pm 8.3, 187.5 \pm 71.6mmHg であっ

表 1 無処置および担癌ヌードマウス正常組織における PO₂ 値

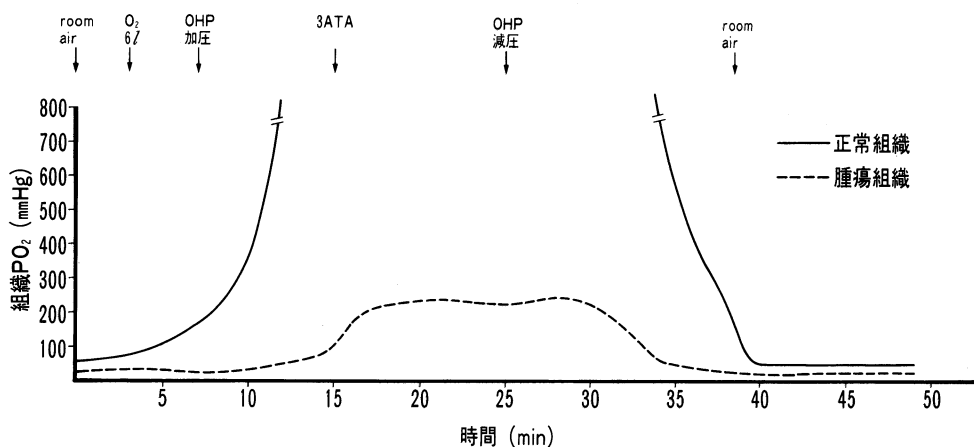
マウス	n	組織 PO ₂ (mmHg)		
		room air	O ₂ 6l/min	OHP3ATA
無処置マウス	3	43.3 \pm 10.6	58.6 \pm 23.2	800 \uparrow
担癌マウス (腫瘍径 2cm 以下)	3	44.5 \pm 8.5	55 \pm 21	604 \pm 174
担癌マウス (腫瘍径 3cm 以上)	3	29.6 \pm 7.3	36.3 \pm 7.5	366 \pm 66.2

表2 担癌ヌードマウスにおける正常および癌組織 PO₂値

組織	n	組織 PO ₂ (mmHg)		
		room air	O ₂ 6l/min	OHP 3ATA
正常組織	6	44.5±8.5	55±21	604±174
癌組織	5	22.8±3.8	37.3±8.3	187.5±71.6

表3 癌組織における PO₂値と組織型

継代株	n	組織型	組織 PO ₂ (mmHg)		
			room air	O ₂ 6l/min	OHP 3ATA
NMS 2	5	中分化型腺癌	25.8±1.4	48.2±1.6	140±20
NMS 11	5	印環細胞癌	18 ±1.6	29.2±1.7	257±52
NMS 12	5	低分化腺癌	21.4±1.2	39.3±3	240±17.3
G/F	3	低分化腺癌	26 ±2.3	32.5±4.3	113±5.8

図1 OHP下における担癌ヌードマウスの腫瘍および正常組織 PO₂値の変化 (NMS11)

た。しかし癌組織における OHP 下での PO₂値は room air の約11倍であり、正常組織の13倍とほぼ同様の上昇が認められた。

(3) 癌組織における PO₂値と組織型 (表3)

実験に用いた各癌組織における PO₂値を比較した。癌の組織型の違いにもかかわらず room air, O₂6l/min, OHP3ATA の各条件下で PO₂値に差はみられなかった。しかし、room air に対する OHP の PO₂値をみると NMS2 では約5倍、NMS11 で14倍、NMS12 で11倍、また G/F では4倍と組織型により PO₂値の上昇に差が見られた。

(4) OHP 下における担癌ヌードマウスの腫瘍および正常組織 PO₂値の経時的変化

図1は NMS11 を用いた OHP 下における正常および癌組織 PO₂値の測定例である。横軸は時間、縦軸は組織内 PO₂値を示す。正常組織では OHP の加圧とともに PO₂値の急激な上昇がみら

れ、加圧後約5分で800mmHg以上となり、減圧に従い直線的に低下した。一方、癌組織では正常組織にくらべ OHP 加圧でもその上昇の度合はゆるやかで、約20分後に200mmHg前後まで上昇し、減圧とともに room air の値に復した。

考 察

近年、癌に対する放射線治療に際し高圧酸素療法を併用した報告が多く見られる^{1)~7)}。OHP を併用する目的は低酸素あるいは無酸素状態にあるため放射線抵抗性を示す腫瘍細胞に酸素を供給することにより放射線に対する感受性を高めようとするものである。しかしながら、その効果についてはいまだに議論の多いところである^{1)~7)}。その理由として、症例の数が少なすぎる、癌の種類により効果が異なること、放射線量の問題などがあげられている⁸⁾。

ところで腫瘍組織内における酸素濃度を実際に測定した報告はほとんど無い。1983年 Mueller らは⁹⁾ cryophotometric micromethod をもちいて、大気圧および OHP 下で Oxyhaemoglobin saturation (HbO₂) 値を測定している。この方法は凍結切片を用いて顕微鏡下に赤血球の吸光度を測定し、Heamoglobin にたいする酸素飽和度を見るものである。また electrode を使用した polarographic technique による測定法が古くから行われているが¹⁰⁾、我々の用いた方法も polarography を利用した分離電極方式によるもので、精度が高く、手技が非常に簡単であり、しかも連続測定が可能である。従って OHP 下の急激な環境変化に伴う組織ガス分圧を有効にモニターし得る。直径 130 μ m の PO₂ センサーを組織内に留置して測定する。センサーの先端を腫瘍組織内に留置するとき、先端の位置を確認することは困難であるが、実験後の組織像により血管内に挿入されることがないことを確認している。

ヌードマウス可移植性腫瘍を用いたのは、ヒトの癌を移植継代することができること、放射線治療を行ったときに、肉眼的に治療効果を直接判定することができるという利点がある。またこれまで腺癌に代表される胃癌では放射線療法が無効であるとされており、実験的に確認するため可移植性胃癌を用いた。移植腫瘍はいずれも腫瘍径が 3 cm 以上になると中心壊死を起こしてくるため、センサー挿入時には腫瘍の辺縁に挿入するようにした。松沢¹¹⁾は低酸素状態の癌細胞は癌塊の周辺ではなく、中心の壊死巣の周辺に存在すると述べているが、癌壊死巣の周辺のみならず癌塊の周辺でも癌組織では低酸素状態にあることが確認された。

正常組織における PO₂ 値が実際にどの位の値であるのかをみるために、癌を移植していない無処置のマウスおよび担癌マウスの皮下で測定した。腫瘍径が 3 cm 以上の担癌マウスでは、PO₂ 値が無処置および腫瘍径 2 cm 以下のマウスに比べ低値を示したが、これは腫瘍径 3 cm 以上のマウスでは癌による悪液質の状態にあるため、全身的な循環障害を起こしていると考えられ、実験には腫瘍径 2 cm 以下の担癌マウスを用いて行った。

癌組織における PO₂ 値はこれまでの報告と同様に正常組織に比べ低かった。また組織型の違い

にかかわらず room air, O₂ 6l/min, OHP3ATA の各条件下での PO₂ 値に差は見られなかった。しかし room air に対する OHP 下の PO₂ 値をみると、組織型により上昇の度合に差がみられた。これは各組織の血管構築の違い、間質の量の違いなどによるのであろう。

OHP 下における癌組織の PO₂ 値の経時的変化をみると、OHP 加圧により PO₂ 値は約 200 mmHg 前後まで上昇し減圧とともに room air の値に復した。このことから、放射線療法に OHP を併用するときには、癌組織の PO₂ 値を高く保つために、OHP 下で放射線照射をすることが必要であると考えられた。

ま と め

1. 担癌マウスの正常組織における PO₂ 値は、腫瘍径 2 cm 以下では無処置マウスと差は見られなかったが、腫瘍径 3 cm 以上のマウスでは PO₂ 値の低下がみられた。
2. 癌組織の PtO₂ 値は、正常組織に比し room air, O₂ 6l/min, OHP3ATA のいずれの条件下でも低値を示した。
3. 癌の組織型により PO₂ 値に差は認められなかった。
4. 放射線治療に OHP を併用するときには、癌組織の PO₂ 値を高く保つために、OHP 下で放射線照射をすることが必要であると考えられた。

【参 考 文 献】

- 1) 浦野宗保：腫瘍放射線生物学，癌・放射線療法，癌の臨床別冊，篠原出版 pp 9—15, 1978
- 2) Churchill-Davidson, L., Sanger, C. Thomlinson, R.H.: High pressure oxygen and radiotherapy. *Lancet* I: 1091—1095, 1955
- 3) Henk, J.M.: The influence of oxygen and hypoxia on laryngeal cancer management. *Laryngoscope* 85: 1134—1144, 1975
- 4) Luther, W.B., Henry, P.P., James, A.H., John, R.G., Simon, K., Robert, G.P.: Hyperbaric oxygen therapy for carcinoma of the cervix—Stage IIB, IIIB and IVA: Results of a randomized study by the radiation therapy oncology group. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 7: 991—998, 1981
- 5) William, T.S., Henly, P.P.: Radiation therapy of head and neck tumors: A randomized study of treatment in air vs. Treatment in

- hyperbaric oxygen. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 5:1833—1836, 1979
- 6) John, P.K., Anupam, R., D'Juan, C.: Hyperbaric oxygen as a radiation sensitizer in the treatment of brain tumors. *Surgical Neurology* 17: 233—235, 1981
 - 7) Sealy, R., Cridland, S.: The treatment of locally advanced head and neck cancer with Misonidasole, hyperbaric oxygen and irradiation: An interim report. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 10:1721—1723, 1984
 - 8) Henk, J.M.: Does hyperbaric oxygen have a future in radiation therapy? *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 7: 1125—1128, 1981
 - 9) Mueller, W.K., Vaupel, P.: Tumour oxygenation under normobaric and hyperbaric conditions. *The Brit. J. Radiology* 56: 559—564, 1983
 - 10) Jamieson, D. Van Den Brenk, H.A.S.: Comparison of oxygen tensions in normal tissues and Yoshida sarcoma of the rat breathing air or oxygen at 4 atmospheres. *Brit. J. Cancer* 17: 70—78, 1963
 - 11) 松沢大樹: 癌研究と放射線療法, 癌・放射線療法, 癌の臨床別冊, 篠原出版, pp1—8, 1978