

Anginex 投与による腫瘍内酸素分圧の変化と 抗腫瘍効果に関する研究

長谷川 武夫^{1),2)}, 石原 太一¹⁾, 具 然和^{1),2)}, 石原 隆博¹⁾, 内田 雄己¹⁾,
石川 智士¹⁾, 岩井 悠治¹⁾, 武田 丈二¹⁾, 西田 崇¹⁾, 天野 守計²⁾,

¹⁾ 鈴鹿医療科学大学・保健衛生学部 放射線技術科学科

²⁾ 鈴鹿医療科学大学・大学院 保健衛生学研究科

キーワード: 制癌剤, 腫瘍内酸素分圧, 抗腫瘍効果, 温熱治療, 放射線治療,

1. はじめに

現在がんの治療法として外科的療法, 化学療法, 放射線療法, 温熱療法などが挙げられる¹⁾。中でも化学療法に関しては種々の抗がん剤が研究され広く用いられている。そこで本実験では, 種々の抗がん剤の中でも, 癌の新生血管形成を抑制する Anginex を用いて抗腫瘍効果を検討した。

Anginex は強力な抗血管形成作用を有する β -peptide を含んでいる。従って Anginex は内皮細胞の増殖を抑制する作用が強く, アポトーシスを引き起こす²⁾。癌細胞の新生血管は内皮細胞によって形成されているため, Anginex により増殖の抑制, 破壊が行われ, がん細胞への栄養と酸素供給は断たれ, 孤立したがん細胞は成長を止め死滅していくと考えられる。

がんの治療では化学療法のみを使用することは少なく, 他の治療法と併用されることが多い。よって本実

験でも, 放射線療法と Anginex の併用, 温熱療法と Anginex の併用により相乗効果を得ることが可能かを検討した。

2. 原理

2-1 抗がん剤

癌の治療は, 「局所療法」と「全身療法」に分けることができる。局所療法は「手術療法」と「放射線療法」があり, 手術は正常組織を含め, 癌を取り除く治療法, 放射線療法は癌細胞に高エネルギーの放射線を照射, あるいは小線源を腫瘍の近くに埋め込み, 癌を治癒する方法である。

一方, 全身療法は抗がん剤, ホルモン剤などの薬剤を, 内服や静脈内注射により投与する薬物療法が主体となる。

ここでは, 全身療法である抗がん剤について述べる。

抗がん剤の起源はエジプト、ギリシャ、ローマ時代から草根木皮などにより悪性造成物を治療しようとした試みが記録に残っているといわれる⁴⁾。欧州においては癌の研究は、まずその病理学的研究から開始されたといってよい。錬金術の時代から近代科学の時代に入ると、悪性腫瘍に対する積極的な治療法が検討されるようになった。

1865年に白血病を亜硫酸カリウムで治療した報告がある³⁾。また Coleys toxin として今日でも知られている菌体制剤が報告されたのは1892年である⁴⁾。20世紀に入り、第一次および第二次世界大戦が終わると、1946年にウレタン (urethane) による慢性白血病および多発性骨髄腫の治療報告がなされた⁴⁾。癌の化学療法が化学的基盤の上に立脚し、組織学的な研究に発展してきたのは、ちょうどこの頃からである。後述する nitrogen mustard 系化合物や、estrogen や androgen によるひとの癌の治療成績が次々と発表されるようになった⁴⁾。

特に1950年代からは今日も癌の臨床上で広く利用されている抗がん剤が数多く登場してきた。

がんに対する薬は現在約100種類近くあり、その中には飲み薬（経口薬）もあれば注射（注射薬）もある。また、その投与期間や作用機序もさまざまである。ひとつは、それ自体ががんを殺す能力を持ったものが抗がん剤で、もう一方は、自分自身はがんを殺すことはできないが、がんを殺すものを助ける機能を持つ薬で、免疫賦活剤と呼ばれるものである。

「薬」は、一般に「効果」と「薬物有害反応（副作用）」の2つの作用がある。通常、使用している薬は、効果が非常に強く、薬物有害反応がほとんどないか、軽度である。例えば風邪薬は、大半のひとに有効に効いて薬物有害反応も制癌剤ほど強く無く、効果と薬物有害反応のバランスがとれている。しかし、抗がん剤の場合は、効果と薬物有害反応が同時に見られる場合もあり、また制がん効果よりも薬物有害反応のほうが大きい場合もある。抗がん剤の薬物有害反応が他の薬に比べて非常に強いことは確かである。悪心、嘔吐、脱毛、白血球減少、血小板減少、肝機能障害、腎機能障害な

どの症状があらわれ、薬によっては、薬物有害反応の種類や程度は異なり、また個人差もある。これらの薬物有害反応を何とか軽くしようという努力、あるいは一人一人の状態での薬物有害反応を予測し、軽くするための努力がなされているが、完全になくすことはできていない。

なぜ一般の薬と抗がん剤とは大きな違いがあるのか。薬は一般に投与量を増やすと効果が出て、更に投与量を増やすと今度は薬物有害反応が出てくる。この効果と薬物有害反応が出現する投与量の幅が非常に広いのが一般の薬である。通常量の10倍くらい投与しても、それによって命を落とすことはまずありえない。これに対して抗がん剤は、効果をあらわす量と薬物有害反応を示す量がほぼ同じ、あるいは場合によってはこれが逆転している場合さえある。すなわち、投与量が少ない段階で薬物有害反応が現われ、さらに投与量を増やすと効果が出るような場合がある。したがって、抗がん剤で効果を得るためには薬物有害反応が避けられないことが多い。

2-2 抗がん剤の種類

抗がん剤は作用の仕方や由来などにより、「細胞障害性抗がん剤」と「分子標的治療薬」に分類される。

「細胞障害性抗がん剤」はさらに、代謝拮抗剤、アルキル化剤、抗がん性抗生物質、微小管阻害薬などに分類される⁴⁾。

1) 代謝拮抗剤⁴⁾

代謝拮抗剤は増殖のさかんながん細胞に多く含まれる酵素を利用して、増殖を抑え込もうとする薬であり、プロドラッグと言われ、本来の働きをする前の化学構造を持った薬として投与される。これががん細胞の中にある酵素の働きを受けて活性化され、抗がん剤としての効果を発揮するようにつくられている。しかし、この酵素は正常細胞にも存在するので、ある程度の薬物有害反応は避けられないことになる。この薬はがん細胞が分裂する時に効果を発揮するため、個々のがん細胞が分裂する時をねらって、長時間、持続的に薬を

投与する必要がある。

2) アルキル化剤⁴⁾

もともと毒ガスの研究から開発された薬である。遺伝情報の伝達など生命の本質に重要な役割を果たしている DNA に働く薬である。アルキル化剤は強力で異常な結合を DNA との間につくる。すると DNA の遺伝情報が障害され、また DNA そのものも損傷を受け細胞が分裂してがん細胞が増殖する際には、アルキル化剤が結合した場所で DNA はちぎれ、がん細胞は死滅する。

3) 抗がん性抗生物質⁴⁾

細菌に対してペニシリンといった抗生剤が選択的に効くように、がん細胞に対しても選択的に働く抗生物質の存在が予測され、抗癌性抗体物質が開発された。ある種の抗生物質と同じように土壌に含まれる微生物からつくられたもので、もともと細菌やカビに効く構造を持った抗生物質の化学構造を変化させたりすることにより、がん細胞を死滅させる効果を発揮するようである。

4) 微小管作用薬⁴⁾

細胞の分裂に重要な細胞内微小管の働きを止めることにより、がん細胞を死滅させる。微小管に対する作用の違いにより、ビンカルカロイドとタキサン⁵⁾の2種類の化学物質に分類され、微小管は神経細胞の働きにも、重要な役目を有し、これらの抗がん剤によって、手足のしびれなどの神経障害が出ることがある。

5) その他⁴⁾

白金製剤は DNA と結合することにより、がん細胞の細胞分裂を阻害する。

トポイソメラーゼ阻害剤は DNA を合成する酵素（トポイソメラーゼ）の働きを阻害することにより、がん細胞の分裂を阻害する。

6) 分子標的治療薬⁴⁾

従来の抗がん剤は、偶然に発見された細胞障害作用のある物質の研究によって開発されてきた。そのため、それらはがん細胞を殺す能力に重点が置かれてきたため、がん細胞と正常細胞を区別する力が乏しく、多くの薬物有害反応が生じた。しかし、近年の分子生物学の急速な進歩により、がん細胞だけが持つ特徴を分子レベルでとらえられるようになり、それを標的とした薬は、分子標的薬と呼ばれ、開発が進んでおり、白血病、乳がん、肺がんなどにおいて、有効な治療手段となりつつある。

2-3 薬物有害反応⁵⁾

抗がん剤には、がん細胞を死滅させるとともに、正常な細胞も傷害させてしまうという作用（薬物有害反応）がある。理想的な抗がん剤はがん細胞だけに作用して、正常な組織には作用しないが、残念ながらそのような薬は現在のところ存在していない。もちろん分子標的薬のように腫瘍にのみ作用する抗がん剤の開発、あるいは投与の工夫によりなるべく腫瘍への選択性を高めるための研究が行われているが、薬物有害反応をゼロにすることはできない。しかし、薬物有害反応を薬により軽減させることも薬物療法の大きな役割である。治療を受ける患者が薬物有害反応に十分耐えることができ、そして十分効果的にがん細胞を破壊できる抗がん剤が実際の治療に使用されている。

近年では、薬物有害反応の異なる複数の抗がん剤を併用して、薬物有害反応を分散させ、がんに対する効果も増強させる多剤併用化学療法が行われている。特徴の異なる薬剤を組み合わせることによって、すべての薬物有害反応が軽く済み、軽い薬物有害反応なら薬物有害反応防止剤で克服できるということである。以下に主な薬物有害反応について述べる。

1) 血液毒性—骨髄抑制⁵⁾

抗がん剤の多くは、増殖がさかんな細胞に作用するため、骨髄細胞や毛根等頻繁に細胞分裂する正常細胞もダメージを受けやすく、骨髄細胞（幹細胞）は血液

中の細胞（白血球，赤血球，血小板）のもととなる細胞のため，これらがダメージを受けることにより，血液中の白血球，赤血球，血小板の減少がおこる⁵⁾。これらの細胞は，免疫，酸素運搬，血液凝固といった大切な役割を持っているので，減少の度合いが強いと，命にかかわる危険性がある。そのため，抗がん剤を投与する時は，頻回に採血をし，毒性をモニターすることが重要となる。

2) 白血球の減少と発熱⁵⁾

ほとんどすべての抗がん剤に白血球減少がみられるため，抗がん剤の投与量が規制される。白血球減少は，最も高頻度にあられる薬物有害反応といえる⁵⁾。白血球が減少する時期は抗がん剤の種類によって異なるが，3～4週間の間隔で注射をする場合，多くは10～14日後に最も減少し，減少する程度は個人差がある。そして，白血球数が2,000/ μ l以下になり免疫力が低下し，発熱，感染症（肺炎など）の可能性があると判断した場合には抗生物質を投与することがある。白血球減少に対して，抗がん剤を投与した後に顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）を皮下注射，または静脈注射して，白血球減少を予防し，回復を早めることがある⁵⁾。

3) 血小板の減少と出血傾向⁵⁾

血小板は出血作用があり，血小板が減少すると出血しやすくなり，皮下に出血斑ができたり，歯を磨いた時に出血するようになる⁵⁾。さらに血小板減少が重症化すると，脳出血や，消化管出血のおそれが強くなるので，入院をして，血小板輸血をしなければならぬ場合もある⁵⁾。

4) 血色素の減少と貧血⁵⁾

赤血球は白血球に比べて，寿命が長いため，抗がん剤により高度の貧血をおこすことはまれであるが，軽度の貧血はよくおこり，血色素が7～8g/dlになるとめまいなどの症状が出ることもある⁵⁾。抗がん剤の投与により，消化管出血などをおこしやすくなるため，出血による貧血もおきやすくなる。短期間で貧血を改

善する薬はまだないので，貧血が高度の場合は，輸血による治療を行う。

5) 抗がん剤に対する吐き気や嘔吐⁵⁾

抗がん剤による吐き気は，投与1～2時間後からおきる早期のものと，1～2日後から出てくる遅発性のものがある⁵⁾。ともに個人差が大きく，精神的な影響も関係するせいか，女性に多くみられる。多くの抗がん剤で共通する薬物有害反応だが，その機序は研究段階である。早期の吐き気は24時間以内におさまることが多いが，シスプラチンなどの薬剤は24時間を超えても持続し，患者さんにとっては，つらい薬物有害反応のため，抗がん剤の治療においては，吐き気がおきる前に制吐剤を抗がん剤と一緒に投与する。メトクロプラミド，ステロイドホルモン，塩酸グラニセトロン，塩酸オンダンセトロンなどが使用され，昔に比べると吐き気はかなり薬でコントロールできるようになった。遅発性の吐き気が出現した場合，早期の吐き気に比べて，薬でのコントロールが難しいとされている⁵⁾。

6) 抗がん剤に対するしびれ感⁵⁾

微小管作用薬などの治療では，指先や足先からはじまるしびれ感がある。進行すると手足の感覚がなくなり，食事中にはしを落とすような症状が出ることもある⁵⁾。指先の運動など血行をよくすることが大切であるが，回復しづらい症状のため，悪化させないためには抗がん剤の投与を中止する必要がある⁵⁾。

がんの化学療法は，化学物質（抗がん剤）を用いてがん細胞の分裂を抑え，がん細胞を破壊する治療法である。抗がん剤は，投与後血液中に入り，全身をめぐる体内のがん細胞を攻撃し，破壊する。どこにがん細胞があっても，それを壊滅させる力を持っているので，全身的な効果がある。がんは全身病と呼ばれるように，早期にはある部位に限定している局所の病巣が，次第に全身に拡がって，全身的な病気になる。主ながんの治療法のうち，外科療法と放射線療法は局所的ながんの治療には強力であるが，放射線を全身に照射す

ることは、副作用が強すぎて不可能であり、全身に散らばったがん細胞すべてを、手術でとり出すことはできない。全身病を治すということからすると、化学療法は全身くまなく治療できる点でより適した治療法と考えられる。

抗がん剤のそれぞれの長所を生かし、いくつかを組み合わせ併用することで、手術の不可能な進行がんも治療できるようになり、これからも新薬の開発とあわせて、併用療法（抗がん剤を2剤以上組み合わせて行う治療法）の研究が重要になると考えられる。

2-4 Anginex（新生血管形成阻害剤）²⁾

悪性腫瘍の成長（増殖、湿潤、転移）には血管新生が必要となる。そのため、がん細胞は栄養と酸素供給のために新生血管を構築し、正常な血管へと結びつき、栄養補給路とする。この新生血管の形成を抑制することができれば、腫瘍の栄養補給路は遮断され、がん細胞は死滅していくと考えられている⁶⁾。

2-5 正常血管と腫瘍血管の構造のちがい²⁾

正常な血管は内皮細胞を含む内膜、平滑筋層からなる中膜、外皮に相当する外膜の3層から構成されている。そして、この内膜の内皮細胞は血管の内側をおおっている細胞であり、新生血管をつくるのに重要な役割を果たす。がん細胞のつくる新生血管はこの内皮細胞の増殖により作られたもので、中膜、外膜は存在しないため細く、各種刺激にもろい血管である⁷⁾。

2-6 Anginex の薬理作用^{2), 6), 7)}

Anginex は強力な抗血管形成抑制に関与する β -peptide を含み、特に内皮細胞の増殖を抑制し、アポトーシスを引き起こす⁸⁾。したがって、内皮細胞によって形成されたがん細胞の新生血管は破壊され、がん細胞への栄養と酸素供給の道は断たれ孤立したがん細胞は成長を止め死滅していくと考えられる。また、正常な血管は前述のように3層の構造をしているため、内皮細胞を破壊されても他の2層から血管を栄養することができるため、血管へのダメージは少ないと考えら

れる²⁾。

3-1 放射線療法

放射線療法は細胞のDNAに障害を与えることで作用する¹³⁾。標的組織の酸素分圧や温度により治療成績が左右されるが、障害は主としてDNA鎖が切断されることに起因する¹³⁾。細胞はDNA損傷を修復する機構を持っており、DNA鎖の両方が同じ位置で切断された場合は、DNA変異（遺伝子の転位・組み換え）が発生し細胞の特性が変わるなど重大な影響を受けることがある。癌細胞の場合、一般に未分化の性質を示し、細胞分裂が亢進している。したがって分化した普通の細胞よりは細胞死につながる障害を受けやすい。また、照射された細胞の死滅は、細胞分裂を幾度か繰り返した後に生じる現象であるので、腫瘍の反応は分裂時間の短い細胞あるいは成長の早い細胞のほうがより早く現れるのである¹³⁾。DNAの変異は細胞分裂後も継承され、癌細胞の障害も重積され、細胞死や細胞増殖の速度が遅くなる。また、重篤なDNA損傷はアポトーシスによる細胞死を引き起こす¹³⁾。

3-2 細胞の放射線に対する応答と機能変化

細胞に放射線があたったときの生物学的反応を図1に示した。

3-3 放射線による細胞死の機構

放射線による生体の損傷のうち、重要なもののひとつがDNAの損傷であり、ガンや突然変異の原因となる¹⁴⁾。細胞死の主たる原因はDNAの二重鎖切断と考えられている。膜やmicrotubrus（微小管）の損傷は二次的な現象である。光子は物質を構成する原子と反応し高速電子を放出する。この高速二次電子がDNAの原子を直接に電離したり励起して切断を起こすのが直接作用である。一方、二次電子は生体の水分子と反応し、反応活性の非常に高いOH・などのラジカルを生成する。このラジカルの寿命は 10^{-6} 秒のオーダーである¹⁵⁾。したがって、影響を及ぼす範囲がごく狭く、DNAから半径200Å（2 μ m）の範囲内で発生したもの

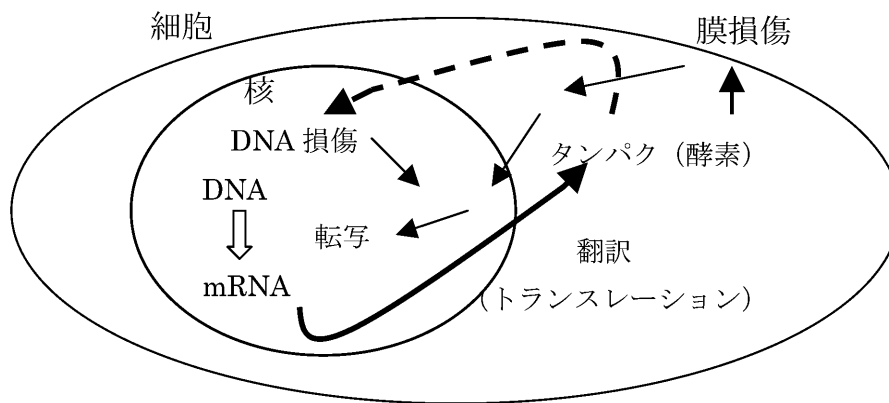


図1 放射線に対する細胞応答と機能変化

放射線はまず細胞膜やDNAに損傷をあたえる。損傷を受けるとシグナル伝達系を介して、ある種の遺伝子が活性化され転写が起こりmRNAができる。次にこのmRNAの配列に対応したたんぱく質がつくられDNAの損傷を修復する¹⁴⁾。

のみがDNA障害を起こしうる。光子による哺乳動物細胞のDNA障害の75%は間接作用によって起こる¹⁵⁾。これに対して、高速中性子、パイ中間子では生体構成原子との相互作用によって生じた反跳陽子や破砕原子核が、また重イオンではそれ自身による直接作用が作用機構の中心である。

3-4 放射線による細胞死

放射線生物学においては増殖能の損失を細胞の“死”とみなす。これには照射後、分裂を経て死に至る分裂死と、分裂せずに死に至る間期死がある。また、病理学的には2つの型の細胞死、すなわち、ネクローシス（壊死）とアポトーシス（プログラム死）がある¹⁵⁾。ネクローシスでは変化がミトコンドリアやリソソームなどの細胞質内の細胞小器官から始まり、ATP産生能の喪失を経て細胞の膨化、融解に至り核の変化は少ない。一方、アポトーシスでは細胞膜と核内の構造変化を伴う細胞サイズの縮小から始まるのが特徴である¹⁵⁾。クロマチンDNAのリンカー部位で切断が生じ、ヌクレオソームの単量体、2量体、3量体といったDNA断片が生成し、これらを電気泳動で分析するとDNAラダーが観察される。アポトーシスは細胞質が縮小断片化し、アポトーシス小体とよばれる構造が見られる。また、染色体DNAが約200bp程度の長さ

の倍数に断片化し、DNAの電気泳動にてDNAラダーと呼ばれるハシゴ状のDNA断片が見られる。このようなアポトーシスは数時間で完了する。

哺乳類胸腺細胞の放射線細胞死はアポトーシスの代表である。DNA損傷からアポトーシス、細胞周囲の一時停止に至るシグナル伝達では遺伝子p53がキー遺伝子として働く。アポトーシス、細胞周囲の停止、修復に至るシグナル伝達にかかわる遺伝子の概略を図2に示した。

3-5 温熱療法

3-5-1 温熱治療の特徴

がん治療の原則はどの治療法でも同じで、正常組織とがん組織（腫瘍）とを区別してがん組織だけを選択的に排除することである。これは外科的療法、放射線療法、化学療法でも変わらない¹⁾。

外科的療法では肉眼的にこの2つを区別する。しかし細胞レベルでの区別は出来ない。放射線療法では一見正常細胞とがん細胞とで感受性が違うのではないかと予測されるが、そのような差は認められず、外科的療法と同じように肉眼的な線量分布を正確に計算することでがん組織だけを照射する努力が行われている¹²⁾。化学療法ではこの区別が不十分であるため多くの副作用が現れる。この点でハイパーサーミアは副作

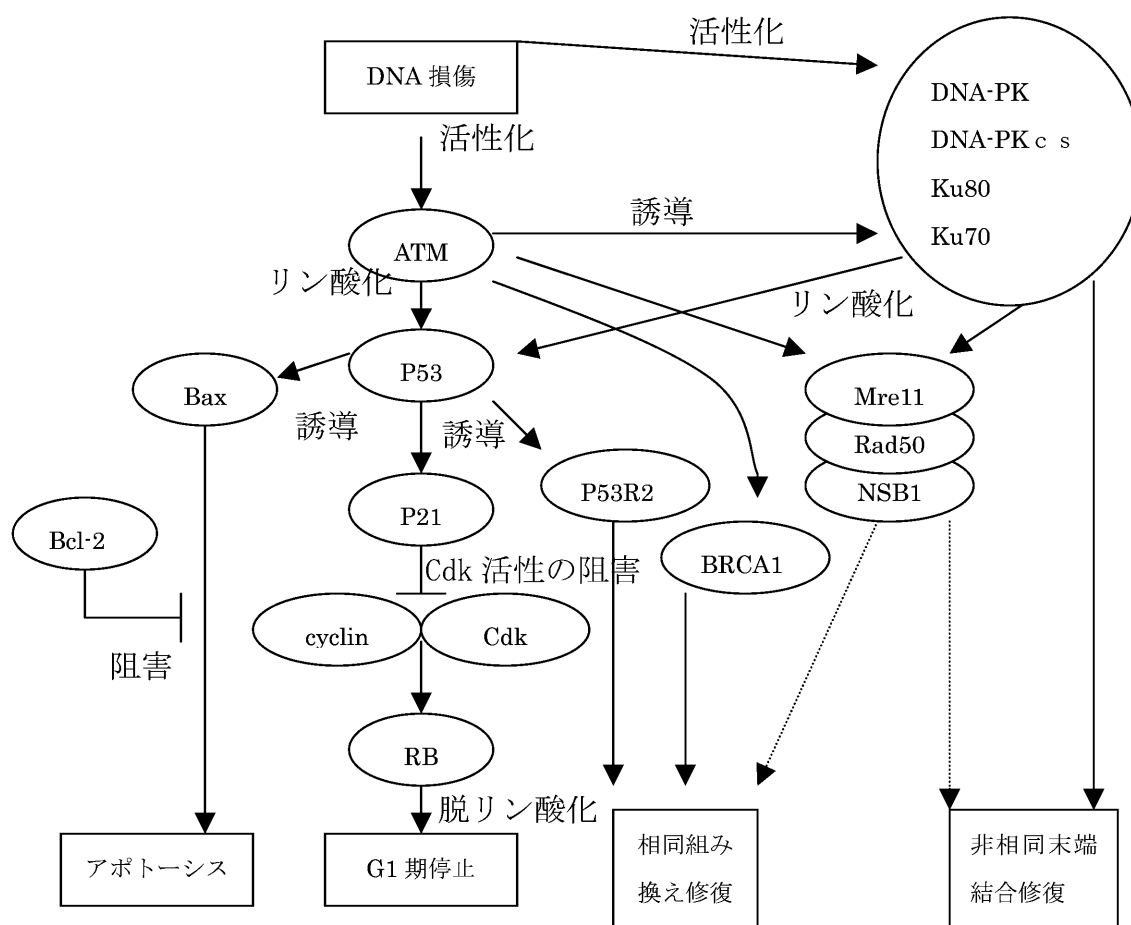


図2 放射線照射による DNA 損傷の発生からアポトーシス、周期停止、修復に至るシグナル伝達機構の概略¹⁵⁾。DNA が損傷されると活性化、リン酸化、誘導などが生じる。その結果、アポトーシス、G1 期停止、相同組み換え修復、非相同末端結合修復が行なわれる。

用が少ないことで優れている。がん細胞は正常細胞に比べると熱に弱い性質があり、細胞は環境が酸性になるほど温度感受性が高くなり死滅しやすくなる¹³⁾。がん細胞は正常な細胞と比べて酸性であり、温度感受性が高いため熱を加えるとさらに酸性に傾き、死滅していくのである¹³⁾。正常細胞は血管を拡張するなどによって熱を逃がすことができるため、がん細胞のみを選択的に治療することができる。

がん細胞が着床し、増殖を続け、固形腫瘍に成長すれば成長が速いため新生血管構築がおいつかず血流は不足し、酸素不足で嫌気性解糖によって乳酸が作られ酸性にかたむく。前述のように一般に細胞は環境が酸性になるほど温度感受性が高くなり死に易くなる¹³⁾。また、血流が少ないと熱拡散による放熱効果が

低下して、温度は上がり易い。放射線やある種の制癌剤は細胞の DNA に傷をつけるが、細胞自身はある程度修復することが出来る(図1)。ところが温熱療法では正常組織は 40℃を越えると 45℃までは皮膚や筋肉が血管拡張によって血流を増やし、熱拡散を大きくし、加温温度よりも 0.5~1.0℃くらい低くなる。加温停止とともに血流による熱拡散により、急速に温度低下を示す。しかし、がん腫瘍は急速に発育した血管系は不規則に屈曲し、1 層の薄い内皮細胞のみで、血管壁の筋層、結合組織を欠き、神経支配やレセプターがないため、温度などのストレスに微妙な調節機構が働かず、外部の反応に受動的に作動することにとどまる¹⁴⁾。したがって、血流が遅くなり、熱拡散が少なく周辺健全組織よりも高い温度となる。正常細胞の血流

は加温によって8~10倍になるが、がん細胞は1.5倍程度で、さらに温度が上昇すると逆に血流が減少し、がん細胞だけが高温になる。また、細胞の温度は42℃以上になると細胞の修復が働かなくなり細胞は死に易くなる。そこで、がん病巣が43℃前後になるように加熱すれば周囲の正常組織は41℃程度にしかならないため正常組織はほとんど障害を受けず、がん細胞だけを死滅させることができる。

がんは悪性度が進むほど細胞間の連絡が悪くなるだけでなく、分裂もしばしば異常になるが、がん細胞の分裂機構は熱に弱く、従ってがん細胞は熱に対して弱くなると考えられる。また短期間の温熱抵抗性は生じるものの、制癌剤の場合のように抵抗性のために無効になるということもない。したがって、ある程度の期間をおけば何度でも繰り返して治療が可能である。

また、温熱治療は皮膚、頭頸部、軟部組織、乳癌等の浅部の癌腫瘍、肺、食道、胃、肝、脾、子宮、膀胱、腎臓、直腸、前立腺等の深部の癌腫瘍まで、脳、眼球以外のほとんどの部位に適用することができる¹⁾。

3-5-2 温熱療法の利点¹⁴⁾

温熱療法はがん特異的という点において極めて優れており、正常組織と腫瘍の differential response は、よい方向に向かっている。組織レベルにおいて温熱ががん治療に好都合である点は、生物学的見地からみて次のごとく考えられる¹⁴⁾。

- 1) 温熱によりがんの血流量は治療域温度(43℃前後)で低下するが、正常組織では増加して熱拡散が大となり、腫瘍の温度がより上昇する。
- 2) 熱は低酸素細胞も定常細胞と同様に障害を与える。
- 3) 腫瘍に多い栄養欠乏状態の細胞は、栄養されている細胞よりも熱感受性が高い。
- 4) 熱は、pHが低いときにいっそう障害を与える。
腫瘍は嫌気性代謝により酸性に傾いており、温熱よりさらにpHは低下する。
- 5) がん細胞が正常細胞よりも感受性が高い可能性が

ある。

- 6) 放射線感受性が低いS期で熱感受性が高い。

- 7) X線による潜在的致死障害の回復(PLDR)が熱により抑制される。PLDRは腫瘍では観察されるが、正常組織では起こらないので好都合である。

3-5-3 温熱感受性¹⁴⁾

がん温熱療法における熱エネルギー付与というのは、平常長大な期間310°K(37℃)において熱エネルギーを被爆した細胞に、相対的にはきわめて短い期間(数十分から数時間)、これを少し上回る温度、315~318°K(42~45℃)で付加的に熱エネルギーを吸収させることであり、細胞温熱感受性は、与えられた熱エネルギー量に対す生残細胞画分を表す関係式の中で一種の係数として表されるものである。その関係式は一般に次のように理解できる¹⁴⁾。

$$S = \frac{N}{N_0} = f(E)$$

$$S = f(e^{-aE})$$

ここに S は生残細胞画分、 N_0 は加温前の細胞集落形成能を有する生細胞数、 N は加温後 N_0 中になお細胞集落形成能を残している生細胞数、 E は熱エネルギー量、および a は細胞温熱感受性を示す。なお e は自然対数の底である。

一定温度の加温では、と表すことができる。

ここに t は加温時間、および b はその温度での加温時間を熱エネルギーに換算するための係数である。それ故、(2) 式は、 $S = f(e^{-aE}) = f(e^{-abt}) = f(e^{-ct})$ と表すことができ、一定温度条件下では細胞生残画成分はその温度での加温時間 t の関数として表され、 c はこの温度における細胞温熱感受性を表すことになる¹⁴⁾。

3-5-4 温熱耐性¹⁴⁾

温熱耐性は加温された細胞に一過性に現れるが、耐性の程度と、その出現および消失の時間的経過は、加温の条件(温度、期間、間隔時間など)によってある程度異なるものである。V-79細胞株では耐性出現は加温後3~6時間でピークに達し、24時間までその水

準を維持し、その後、ほぼ3日間かけて消失する。

この温熱耐性出現と消失の機作に関して重要なのはヒートショックタンパク (HSPs) の細胞内含有量、その細胞内局在とその合成の消長である¹⁴⁾。

温熱耐性の発現は大きく分けて2つの加温法で認めることができる。すなわち1つは、分割加温の感覚時間 (37℃) の間に耐性が発現し、2回目の加温に対して最初の加温時よりも温熱感受性が低下する。もう1つは、43℃以下での加温では加温中に耐性が発現し、温熱感受性は低下していく。例えば42℃2時間前加温されたV-79細胞に引き続き間隔時間なしで44℃加温を行うと、44℃単独加温時に比べて、44℃温熱感受性の著しい低下を示す¹⁵⁾。この2つのパターンの耐性発現の機作には何らかの違いがあるかもしれず、少なくともある細胞では前者の分割加温の感覚時間には耐性を発現するが、後者の低温度加温 (mild hyperthermia) 途中では耐性を発現しない。

3-5-5 温熱療法と酸素の関係¹⁴⁾

低酸素環境が温熱に対して、増感的に働くという報告がある^{16), 17)}。酸素は温熱の細胞致死作用に対して低酸素細胞には防護的に作用する可能性が考えられる。また、生体内がん組織の一部を構成する低酸素性組織は血管 (または血管新生) が乏しいために誘導される現象であるが、同じ要因によってさらに2つの環境 (低pHと低栄養) をも併せて誘導している¹⁴⁾。培養細胞系において指数増殖期の細胞を急性に低酸素化した直後にその対象細胞と同じpHに保って加温すれば、温熱感受性には影響がみられないことが報告されている¹⁸⁾。したがって、低酸素環境それ自体がどれほど直接的に温熱増感に関与しているかはわからない。

4. 実験方法

4-1 腫瘍内酸素分圧測定

1) 薬剤および群構成

使用する薬剤はAnginexを一匹あたり0.25mg/0.25mlとなるように蒸留水にて調整し、マ

ウス腹部に投与した。腫瘍内酸素分圧測定の群構成を以下に示す。

腫瘍内酸素分圧測定マウス群 (各群8匹を使用)

- (1) Control 群
- (2) Anginex (0.25mg) alone 群
- (3) X-ray (8Gy) alone 群
- (4) Hyperthermia (42℃, 1hr) alone 群
- (5) Anginex + X-ray 群
- (6) Anginex + Hyperthermia 群

1) Control 群

担癌マウスに対して処置は行わなかった。

2) Anginex (0.25mg) alone 群

担癌マウスに対して実験開始から1日目と3日目にAnginex 0.25mg/0.25mlを腹腔投与した。

3) X-ray (8Gy) alone 群

担癌マウスに対して実験開始から1日目にX-ray (8Gy)を連続局所照射した。

マウスは専用のアクリル容器に右大腿部を粘着テープで固定し、X線 (200kV, 9mA, 0.2mmCu, 2mmAl) を局限して照射するように固定し、鉛遮蔽円盤を用いて、均等に照射した。照射中は身体を鉛円盤でX線遮蔽し、遮蔽板の中央の穴に照射部位を設置して、均等に照射されるよう回転しながら照射した。

4) Hyperthermia (42℃, 1hr) alone 群

担癌マウスに対して実験開始から5日目に42℃で1時間のWaterBath法にて腫瘍のある右大腿部を局所的に加温した。

5) X-ray + Anginex 群

担癌マウスに対して実験開始から1日目にX-ray (8Gy) 連続局所照射を行い、実験開始から1日目、3日目にAnginex 0.25mg/0.25mlを腹腔投与した。

なお、薬剤の投与はX-ray (8Gy) 連続局所照射の後に行った。

6) Anginex + Hyperthermia 群

担癌マウスに対して実験開始から1日目、3日目にAnginex 0.25mg/0.25mlを腹腔投与し、5日目に42℃で1時間の恒温水槽にて腫瘍のある右大腿部を局

所的に加温した。

4-2 腫瘍細胞（SCC-VII）培養と移植

本実験には腫瘍細胞として SCC-VII 腫瘍を用いて、マウス的大腿部に移植し腫瘍内酸素分圧測定した。マウス 1 匹に対して SCC-VII 腫瘍を 2×10^6 個 / 0.05ml を大腿部皮下（右足）に移植した。以下に腫瘍細胞の培養方法を示す。

a) 培養方法

- ① 腫瘍細胞（SCC-VII）を含む冷凍チューブ（10% DMSO + 30% FBS + 60% D-MEM）内の液体を 37℃ で急速解凍した。（DMSO：Dimethyl sulfoxide, FBS：fatal bovine serum, D-MEM：Eagle の minimum medium を Dulbecco が改変したもの）
- ② 解凍した細胞を 10ml D-MEM 入りの 10～15ml 遠心管に無菌状態で移した。
- ③ 時間が経過すると DMSO の毒性により細胞が死亡し、遠心管内に浮遊するため細胞は氷上で維持した。
- ④ 1000rpm にて 5 分間遠心した。
- ⑤ 細胞は沈下して遠心管の底にペレット沈殿を作る。
- ⑥ 遠心管の底の細胞を吸い出さぬよう、遠心管を傾けて加熱滅菌した針で上澄み液を吸引し、除去した。
- ⑦ 新たに無菌の 10% FBS + 90% D-MEM 液を約 10ml 加えて攪拌した。
- ⑧ シャーレに約 10ml の 10% FBS と 90% D-MEM 液を加え、この中に⑦の浮遊細胞を液ごと滅菌パスツールピペットで 0.5～1ml まきつけた。
- ⑨ 2～3 日後に細胞がシャーレの底に付着していることを確認し、シャーレ内の培養液を無菌操作にて除去し、新しく培地（10% FBS + 90% D-MEM）を加え培養を継続した。
- ⑩ コンフルエンス状態（細胞が密着した状態）になったら実験に使用した。

b) シャーレから細胞をはがす方法

- ① シャーレ中の培地を加熱滅菌した針にて吸引し除去した。（生存している腫瘍細胞はシャーレの底に付着している）
- ② 無菌 PBS（CMF-PBS：Dulbecco's Ca, Mg-free phosphate buffered saline）を 10ml 加え、4～5 分間放置し細胞表面を洗浄した。
- ③ 洗浄後の CMF-PBS 液を加熱滅菌した針にて吸引し除去した。
- ④ PBS 液に希釈して調整した 0.025% トリプトシン液（無菌）を 2～3ml 培養液除去後のシャーレ内に加えて 2～3 分間 37℃ で放置した。
- ⑤ 顕微鏡に細胞が丸くなったことを確認した。
- ⑥ 無菌パスツールピペットにより、シャーレ中のトリプトシン液を使い底に付着している細胞をピペティングして剥がした。
- ⑦ 剥がされた細胞を 10ml D-MEM 入りの遠心管に移した。
- ⑧ 1000rpm にて 5 分間遠心し、細胞とトリプトシンを分離した。
- ⑨ トリプトシンと D-MEM を含む上澄み液を無菌パスツールピペットにより吸引し除去した。
- ⑩ 沈殿した細胞が入っている遠心管内に 4～5ml の 10% FBS + 90% D-MEM を加えピペットで攪拌した。
- ⑪ ⑩ から 100～200 μ l 採取しセルカウントした。

c) 細胞数計測法

- ① 上述⑩の細胞浮遊液をエッペンチューブに 100～200 μ l とった。
- ② 別のエッペンチューブに、4.25% NaCl を 1, 0.2% トリパンブルー液を 4 の割合で混合液を調整した。
- ③ ②の調整液 100ml と①の細胞浮遊液を 100 μ l 混合し、攪拌後血球計測盤にのせて細胞数を計測した。

2) 腫瘍内酸素分圧測定

SCC-VII 腫瘍をマウスの大腿部皮下に 2×10^6 個移植後、腫瘍長径が平均 7mm に成長した時点で、POG-203PO₂ Monitor を使用し酸素分圧の測定を行った。Anginex は合計二回投与とし、投与方法はマウス 1 匹に対して腹腔より 0.25mg/0.25ml を、マウスの右大腿部皮下に投与した。一回目投与 24 時間後に二回目を投与し、その 24 時間後に酸素分圧の測定を開始した。始めにマウス 1 匹に対して麻酔薬（ネブタール）を腹腔より 0.2mg 投与した。PO₂ クラーク針を腫瘍内の 5mm ほどの深さに刺入し、POG-203PO₂ Monitor にて酸素分圧が平衡状態になるまで静観した。刺入している PO₂ クラーク針を少しずつ引き抜きながら測定値を読み取ることで、一度の刺入により 5point ずつ、同一腫瘍の計 5 箇所を測定した。薬剤投与後の酸素分圧を 5 箇所 $\times$ 5point 測定するため 1 匹のマウスより 25point の測定を行った。Anginex 投与後、マウス 8 匹使用し合計 200point ずつ測定した。

4-3 腫瘍成長抑制効果

3) 薬剤の調整及び腫瘍成長測定マウスの群構成

使用する薬剤は Anginex を 0.25mg/0.25ml となるように蒸留水にて調整した。腫瘍成長測定の群構成を以下に示す。

腫瘍成長測定（各群 11 匹の C3H マウス使用）

- (1) Control 群
- (2) Anginex (0.25mg) alone 群
- (3) X-ray (8Gy) alone 群
- (4) X-ray + Anginex 群

実験をするにあたり、腫瘍細胞が生成しなかったマウス、同一群において実験データが著しくことなるマウスはデータから除外した。

1) Control 群

担癌マウスに対して処置は行わなかった。

2) Anginex (0.25mg) alone 群

担癌マウスに対して実験開始から 1 日目と 3 日目に Anginex 0.25mg/0.25ml を腹腔投与した。

3) X-ray (8Gy) alone 群

担癌マウスに対して実験開始から 1 日目に X-ray (8Gy) を連続局所照射した。

マウスは専用のアクリル容器に右大腿部を粘着テープで固定し、X 線 (200kV, 9mA, 0.2mmCu, 2mmAl) を局限して照射するように固定し、鉛遮蔽円盤を用いて、均等に照射した。照射中は身体を鉛円盤で X 線遮蔽し、遮蔽板の中央の穴に照射部位を設置して、均等に照射されるよう回転しながら照射した。

4) X-ray + Anginex 群

担癌マウスに対して実験開始から 1 日目に X-ray (8Gy) 連続局所照射を行い、実験開始から 1 日目、3 日目に Anginex 0.25mg/0.25ml を腹腔投与した。

なお、薬剤の投与は X-ray (8Gy) 連続局所照射の後に行った。

4-4 腫瘍細胞（SCC-VII）移植

本実験では腫瘍細胞として SCC-VII 腫瘍を用いて、マウスの大腿部に移植後 7mm 径に成長した腫瘍内酸素分圧測定した。マウス 1 匹に対して継体培養した SCC-VII 腫瘍を 2×10^6 個 / 0.05ml を大腿部皮下（右足）に移植した。

4-5 腫瘍成長抑制効果

SCC-VII 腫瘍をマウスの大腿部に 2×10^6 個移植後、腫瘍長径が平均 7mm に成長した時点で、実験を行なった。実験はマウスの体重測定と腫瘍の長径 (x) と短径 (y) を 1 日おきに測定した。

腫瘍の体積 (V) は次式から求めた。 $V = (\pi/6) xy^2$, x は長径, y は短径を示す。

本実験では、測定開始日の腫瘍体積を 1 と規格化し、その後の相対腫瘍体積の変化を観察した。

5. 結果

5-1 腫瘍内酸素分圧測定結果

Control 群とそれぞれ Anginex alone 群, X-ray alone 群, Hyperthermia alone 群, Anginex + X-ray 群, Anginex + Hyperthermia 群における 24 時間後の酸素分圧を比較したグラフを以下に示した。

図 3 は Anginex 投与 1 日後における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧を測定し、ヒストグラムにて表したものである。

Control 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は $19.5 \pm 5.0\text{mmHg}$ (150 回測定) であり, Anginex 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は, $13.7 \pm 2.9\text{mmHg}$ (175 回測定) であった。比較すると 5.8mmHg 下がり有意差が見られた。

図 4 は X-ray 照射における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧を測定し、ヒストグラムにて表したものである。

Control 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は $19.5 \pm 5.0\text{mmHg}$ (150 回測定) であり, X-ray alone 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は, $12.4 \pm 2.7\text{mmHg}$ (175 回測定) であった。比較すると 7.1mmHg 下がり有意差が見られた。

図 5 は Hyperthermia 後の SCC-VII 腫瘍内の酸素

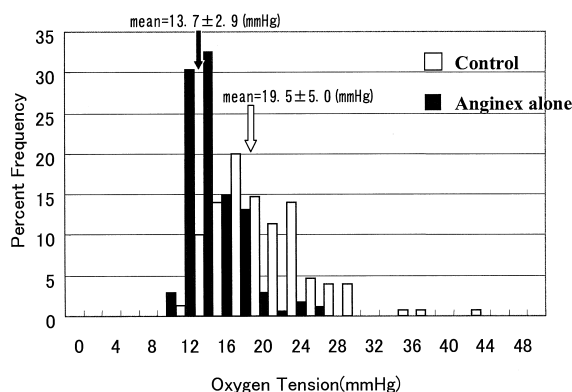


図 3 Anginex alone と無処理群との比較

図 3 は Anginex alone と無処理群との組織内酸素分圧の比較を示す。縦軸はその酸素分圧を示す数, 横軸は酸素分圧を示す。各マウスの腫瘍部に pO₂ センサーを 200 箇所刺入して酸素分圧を測定した。

分圧を測定し、ヒストグラムにて表したものである。

Control 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は $19.5 \pm 5.0\text{mmHg}$ (150 回測定) であり, Hyperthermia alone 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は, $20.5 \pm 4.0\text{mmHg}$ (150 回測定) であった。比較すると 1.0mmHg 上がり有意差は見られなかった。

図 6 は X 線照射と Anginex 投与における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧を測定し、ヒストグラムにて表したものである。

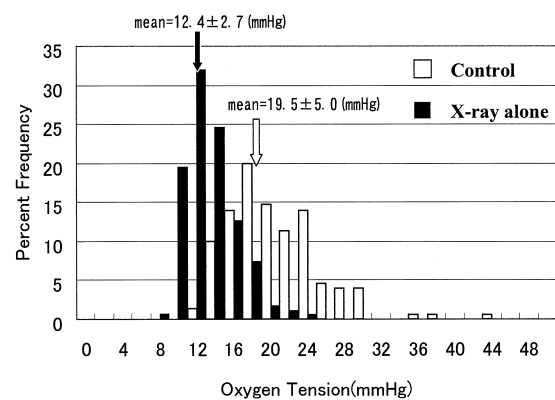


図 4 X-ray alone と無処理群との比較

図 4 は X-ray alone と無処理群との組織内酸素分圧の比較を示す。縦軸はその酸素分圧を示す数, 横軸は酸素分圧を示す。各マウスの腫瘍部に pO₂ センサーを 150 から 175 箇所刺入して酸素分圧を測定した。

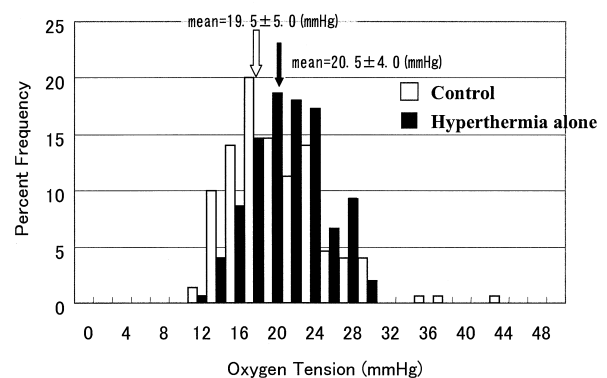


図 5 Hyperthermia alone と無処理群との比較

図 5 は Hyperthermia alone と無処理群との組織内酸素分圧の比較を示す。縦軸はその酸素分圧を示す数, 横軸は酸素分圧を示す。各マウスの腫瘍部に pO₂ センサーを 150 箇所刺入して酸素分圧を測定した。

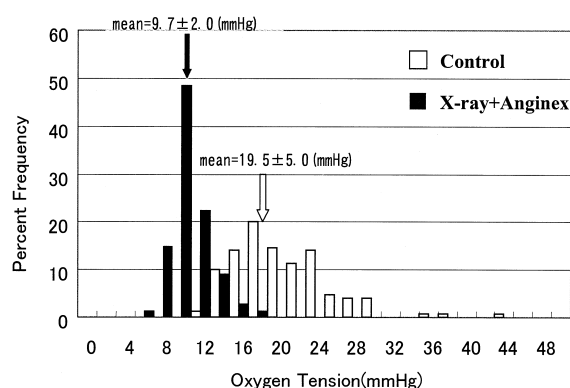


図6 X-ray + Anginex と無処理群との比較

図6はX-ray + Anginex 併用群と無処理群との組織内酸素分圧の比較を示す。縦軸はその酸素分圧を示す数、横軸は酸素分圧を示す。各マウスの腫瘍部にpO₂ センサーを150 から175 箇所刺入して酸素分圧を測定した。

Control 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は 19.5 ± 5.0 mmHg (150 回測定) であり、X-ray + Anginex 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は、 9.7 ± 2.0 mmHg (175 回測定) であった。比較すると 9.8 mmHg 下がり有意差が見られた。

図7は Anginex 投与と Hyperthermia における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧を測定し、ヒストグラムにて表したものである。

Control 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は 19.5 ± 5.0 mmHg (150 回測定) であり、Anginex + Hyperthermia 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は、 12.5 ± 2.7 mmHg (175 回測定) であった。比較すると 7.0 mmHg 下がり有意差が見られた。

5-2 腫瘍容積変化

各処理後、3日置きに腫瘍径を計測し、最初の腫瘍容積を1に規格化し、プロットした曲線が図8である。

図8より、実験開始日の腫瘍体積を1と規格したとき、相対腫瘍体積が3倍になる日数を次に示す。

control では約6日、Anginex alone では約7日、8Gy alone では約10日、8Gy + Anginex では約16日であり、Anginex と放射線を併用した群が最も腫瘍成

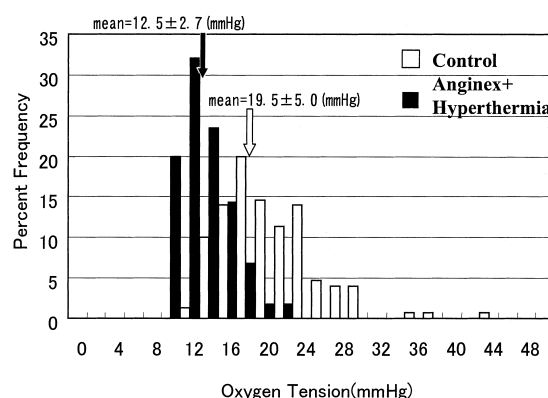


図7 Anginex + Hyperthermia と無処理群との比較

図7は Anginex + Hyperthermia 併用群と無処理群との組織内酸素分圧の比較を示す。縦軸はその酸素分圧を示す数、横軸は酸素分圧を示す。各マウスの腫瘍部にpO₂ センサーを150 から175 箇所刺入して酸素分圧を測定した。

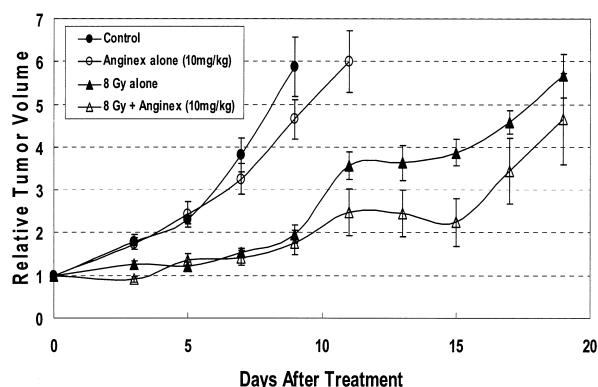


図8 経過日数による相対腫瘍体積の変化

図8 各処理後の腫瘍容積変化

縦軸は相対腫瘍容積、横軸は処理後の日数を示す、各マークの付いている場所はその群の平均値を示し、マーク上の縦棒は標準偏差を示す。●は無処理群、○は Anginex 単独処理群、▲は放射線処理 (8Gy) 単独群、△は Anginex + 放射線併用群を示す。

図8 経過日数に対する相対腫瘍体積

実験開始日の腫瘍体積を1と規格したときの経過日数に対する相対腫瘍体積の変化を表したものである。control と Anginex alone, 8Gy alone, 8Gy + Anginex それぞれを比較してみると、すべてにおいて抗腫瘍効果がみられた。なかでも、8Gy + Anginex は最もよい効果が得られた。

長が遅れ、抗腫瘍効果の強い事が示された。

6. 考察

6-1 腫瘍内酸素分圧測定

6-1-1 Control 群に対する Anginex alone 群

4. 実験結果に示した図3のヒストグラムより、Control 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は $19.5 \pm 5.0\text{mmHg}$ (150 回測定) であり、Anginex 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は、 $13.7 \pm 2.9\text{mmHg}$ (175 回測定) であった。比較すると 5.8mmHg 下がり有意差が見られた。これは、Anginex によって新生血管の形成を阻害し、腫瘍に栄養を届けることができずに腫瘍が壊死したため、酸素分圧の低下が見られたと考えることができる。

6-1-2 Control 群に対する X-ray alone 群

4. 実験結果に示した図4のヒストグラムより、Control 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は $19.5 \pm 5.0\text{mmHg}$ (150 回測定) であり、X-ray alone 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は、 $12.4 \pm 2.7\text{mmHg}$ (175 回測定) であった。比較すると 7.1mmHg 下がり有意差が見られた。これは、X-ray が腫瘍細胞を直接破壊したため、腫瘍が死滅し、酸素分圧の低下が見られたと考えられる。

6-1-3 Control 群に対する Hyperthermia alone 群

4. 実験結果に示した図5のヒストグラムより、Control 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は $19.5 \pm 5.0\text{mmHg}$ (150 回測定) であり、Hyperthermia alone 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は、 $20.5 \pm 4.0\text{mmHg}$ (150 回測定) であった。比較すると 1.0mmHg 上がり有意差は見られなかった。これは温熱処理によって正常または周辺の血流は血管拡張で増加するため酸素が高い部分から低い部分に流れて腫瘍は酸素分圧が上昇したと考えられる。

6-1-4 Control 群に対する X-ray + Anginex 群

4. 実験結果に示した図6のヒストグラムより、Control 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は $19.5 \pm 5.0\text{mmHg}$ (150 回測定) であり、X-ray + Anginex 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は、 $9.7 \pm 2.0\text{mmHg}$ (175 回測定) であった。比較すると 9.8mmHg 下がり有意差が見られた。これは、X-ray が腫瘍細胞を直接破壊し、さらに Anginex によって新生血管の形成を阻害し、腫瘍に栄養を届けることができずに腫瘍が壊死したため、酸素分圧の低下が見られたと考えることができる。

6-1-5 Control 群に対する Anginex + Hyperthermia 群

4. 実験結果に示した図7のヒストグラムより、Control 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は $19.5 \pm 5.0\text{mmHg}$ (150 回測定) であり、Anginex + Hyperthermia 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は、 $12.5 \pm 2.7\text{mmHg}$ (175 回測定) であった。比較すると 7.0mmHg 下がり有意差が見られた。これは、はじめに Anginex によって腫瘍の新生血管の形成を阻害し熱の逃げ場をなくすことにより、Hyperthermia の効果がより増強されたため腫瘍が壊死し、酸素分圧の低下がみられたと考えられる。

6-1-6 Anginex alone 群に対する X-ray + Anginex 群

Anginex alone 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は、 $13.7 \pm 2.9\text{mmHg}$ (175 回測定) に対し、X-ray + Anginex 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は、 $9.7 \pm 2.0\text{mmHg}$ (175 回測定) であった。比較すると 4.0mmHg と有意差が見られた。これは、Anginex 単独で使用するよりも、X-ray と併用することによって、X-ray が腫瘍細胞を直接破壊し、さらに Anginex によって新生血管の形成を阻害し、腫瘍に栄養を届けることができずに腫瘍が壊死したため、酸素分圧の低下が見られたと考えることができる。

6-1-7 Anginex alone 群に対する Anginex + Hyperthermia 群

Anginex alone 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は、 $13.7 \pm 2.9\text{mmHg}$ (175 回測定) に対し、Anginex + Hyperthermia 群における SCC-VII 腫瘍内の酸素分圧の mean は、 $12.5 \pm 2.7\text{mmHg}$ (175 回測定) であった。比較すると 1.2mmHg と有意差が見られた。これは、Anginex 単独で使用するよりも、Hyperthermia と併用することによって、Anginex によって腫瘍の新生血管の形成を阻害し熱の逃げ場をなくすことにより、Hyperthermia の効果がより増強されたため腫瘍が壊死し、酸素分圧の低下が見られたと考えることができる。

6-2 腫瘍成長抑制効果

Anginex には抗腫瘍効果があり、腫瘍成長を遅らせる効果があることがわかった。これは Anginex の新生血管形成、内皮細胞の増殖を抑制し、アポトーシスを引き起こすという抗腫瘍作用が働いたためだと考えられる。そのため、がん細胞への栄養と酸素供給の道が断たれ、がん細胞の成長が遅れたということが出来る。

図 8 より相対腫瘍体積が 3 倍になるまでの日数を比較すると、Control 群では、約 6 日で実験開始日より腫瘍体積は指数関数的に増加している。Anginex alone 群では約 7 日で Control 群とはあまり差がないため、単独の使用では腫瘍抑制効果はないと考えられる。X-ray alone 群では約 10 日で Control 群や Anginex alone 群とは大きな差が見られたため腫瘍成長抑制効果があったと考えられる。X-ray + Anginex 群では約 16 日で X-ray alone 群と同じく Control 群や Anginex alone 群と大きな差が見られた。さらに X-ray alone 群とも差が見られたため X-ray に Anginex を併用することで、より大きな効果が得られたと考えられる。

また、Anginex を単独で使ったときよりも X 線照射と Anginex を併用したときのほうが、同じ腫瘍成長率に達するまで約 2 倍近くの時間を要している。

これは X 線照射を先に行い腫瘍にダメージを与え、それから Anginex という新生血管形成阻害剤を投与することにより内皮細胞の増殖を抑制し、アポトーシスを引き起こしたと考えられる。従って、Anginex を単独で使用するよりも、X 線照射を併用することによって相乗効果が得られたと考えられる。

7. 今後の課題

現在、Anginex が放射線照射との併用により、治療効果があるかについて研究してきたが、血管形成を阻害した後に温熱療法を行うことにより、血管遮断に伴う温熱療法の効果が期待できると思われるので、今後は温熱療法についての検討をしていきたいと考えている。

8. 結語

- ・ Anginex は腫瘍内の酸素分圧を下げる。
- ・ Anginex と温熱療法を併用することで腫瘍内の酸素分圧は下がる。
- ・ Anginex と X 線照射を併用することで腫瘍内の酸素分圧は下がる。
- ・ Anginex には腫瘍成長を遅らせる効果がある。
- ・ Anginex と X 線照射を併用することによって相乗効果がある。

参考文献

- 1) 泉雄勝, 末舛恵一, 西満正, 野田起一郎: 癌診断・治療法マニュアル. 篠原出版. pp. 4-29, p. 34~40 年 1 月 10 日 (1989)
- 2) Ruud P. M. Dings, Daisy W. J. van der Schaft, Balazs Hargittai, Judy Haseman, Arjan W. Griffioen, Kevin H. Mayo: Cancer Letters 194 p55-66 (2003)
- 3) Lissauer in Bendorf: Zwei Falle Leucaemic. Berl. klin. Wschr. 40, 403, (1865)
- 4) 古江尚, 太田和雄, 田口鐵男, 仁井谷久暢, 藤田浩, 塚越茂: 癌化学療法の基本と臨床. 第 4 版. pp. 6. pp. 127-218. 10 月 3 日 (1986)
- 5) 清水直容: 薬剤による副作用と中毒. 株式会社ミ

- クス. pp. 184-193. 初版発行 7 月 25 日 (1989)
- 6) Kevin H. Mayo, Arjan W. Griffioen. *Drugs of the Future* 28 (4) : 337-346 (2003)
 - 7) Daisy W. J. van der Schaft, Richard E. B. seftor, Elisabeth A. seftor, Angela R. Hess, Lynn M. Gruman, Dawn A. Kirschmann, Yumi Yokoyama, Arjan W. Griffioen, Mary J. C. Hendrix: Effects of Angiogenesis Inhibitors on Vascular Network Formation by Human Endothelial and Melanoma Cells: *Journal of the National Cancer Insititute*, Vol. 96, No19, October 6 p1473-7 (2004)
 - 8) Griffioen AW, van der Schaft DW, Barendsz-Janson AF, Cox A, Struijker Boudier HA, Hillen HF, Mayo KH. *Biochem J.* Mar 1 ; 354 (Pt 2) : 233-42. (2001)
 - 9) 青木幸昌, 赤沼篤夫: 放射線治療ガイドブック. 医療科学社. pp. 48-49. 6 月 25 日 (1992)
 - 10) 菅原努, 青山喬: 放射線基礎医学. 金芳堂. pp. 148, pp. 157-191. 5 月 25 日 (2001)
 - 11) 平岡真寛, 笹井啓資, 井上俊彦: 放射線治療マニュアル. 中外医学社. 初版 1 刷. pp. 95, 96. 4 月 10 日 (2001)
 - 12) 福士政広: 診療放射線技師 イエローノート 臨床編. メジカルビュー社. p. 364. 初版第 1 版 7. 20 (2003)
 - 13) Rhee, J. G., Kim, T. H., Levitt, S. M. & Song, C. W.: Changes in acidity of mouse tumor by hyaperthermia. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 10 : 393, (1983)
 - 14) 中山三郎平: 放射線医学大系 特別巻 3 ハイパーサーミア 中山書店 第 1 版. pp. 9-24. 10 月 23 日. (1987)
 - 15) Ohtsuka, K., Furuya, M., Nitta, K. & Kano, E.: Effect of cycloheximide on the development of thermotolerance and synthesis of 68 kilo Dalton heat shock protein in Chinese hamster V79 and mouse L cells in vitro. *J. Radiat. Res.* 27 : (1986)
 - 16) Schulman, N. & Hall, E.: Hyperthermia; It's effect on proliferative and plateau phase cell cultures. *Radiology* 113: 207 (1971)
 - 17) Kim, S. H., Kim, J. H. & Hahn, E. W.: Enhanced Killing of hypoxic tumor cells by hyperthermia. *Br. J. Radiol.* 48 : 872: (1975)
 - 18) Nielsen, O. S.: Effect of fractionated hyperthermia on hypoxic cells in vitro. *Int. J. Radiat. Biol.* 39: 73: (1981)

Change of oxygen partial pressure in tumor using Anginex as chemotherapy

Takeo Hasegawa^{1),2)}, Taichi Ishihara¹⁾, Yeunwha Gu^{1),2)},
Takahiro Ishihara¹⁾, Yuhki Uchida¹⁾, Satoshi Ishikawa¹⁾, Yuji Iwai¹⁾,
Jouji Takeda¹⁾, Takashi Nishida¹⁾, Morikazu Amano²⁾,

¹⁾Department of Radiological Technology, Suzuka University of Medical Science.

²⁾Department of Health Science, Graduate school of Suzuka University of Medical Science.

Key Words: Key Words: Anti-Cancer Drugs, Oxygen Tension, Anti-tumor Effects, Hyperthermia, Radiation Therapy,

Abstract

In clinically, the cancer treatment were performed by a surgical treatment, a chemotherapy, a radiotherapy and thermotherapy or their combination therapy. This paper described the Anginex as chemotherapy. Anginex contains powerful effect for anti-blood vessels formation, which prevents the vessel formation due to the performance of beta-peptide. The cancer tissue need the nutrition as amino acid for growth of the tumor tissues. The anginex has effect to suppress multiplication of vessel wall cells. Therefore, we investigated the anti-tumor effect due to the suppress the nutrition and oxygen tension by anginex as anti-cancer drugs, and conformed the decreased the blood flow, oxygen tension in the tumor tissue after injected the anginex to C3H mice bearing SCC-VII tumors.