

三酸化二砒素とハイパーサーミアの 併用による抗腫瘍効果の増強 ～併用する順番の違いによる抗腫瘍効果の比較～

長谷川 武夫^{1),2)}, 門田 隼¹⁾, 名本 裕一¹⁾, 森 俊彰¹⁾,
長田 和成¹⁾, 山下 大輔¹⁾, 鈴木 友昭²⁾, 伊田 和司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 医療画像情報学専攻

1. はじめに

現在癌の治療法において放射線療法と温熱療法、放射線療法と化学療法など治療法を併用する併用療法が著しく発達してきている。特に温熱療法は、放射線療法において低酸素細胞、低 pH などの抗腫瘍効果あまり得られない部分を補うことができる¹⁾。温熱療法は 1866 年にドイツの医師 W. Busch により顔にできた肉腫の患者が発熱で肉腫が消失したのをはじめ、1960 年には細胞培養法が確立され、熱の細胞に対する殺細胞効果が定量的に分析されるようになったことを機に²⁾、現在では、温熱装置の開発、非侵襲的温度測定、温熱による殺細胞効果など数々の研究が意欲的に取り組まれている²⁾。本大学の昨年の実験では、この温熱療法と化学療法を併用することで、相乗効果が得られることがわかった。

化学療法では、近年小児の白血病にもっとも有効であると言われている三酸化二砒素を使用した。これは、今まで知られていた液状腫瘍に対する抗腫瘍効果だけでなく、固形腫瘍に対する抗腫瘍効果が得られた。三酸化二砒素による新生増殖血管へのダメージ、さらに温熱療法の併用による血流増加に伴うダメージを確

認できたことを報告した。そこで、本実験では温熱療法と化学療法の併用の順番を変えることで抗腫瘍効果の変化がどうなるかを試みた。

2. 使用機器、材料

- C3H/HeJ マウス ♂ 6 週齢
55 匹；各群 1 匹（1 匹病理用）
- 三酸化二砒素 濃度；8 [mg/kg]
* 昨年の研究と同様の濃度。
- 腫瘍 SCC-VII（扁平上皮癌）
2×10⁶ [個/0.05 ml]

3. 実験方法および測定方法

① 6 週齢の C3H/HeJ マウスを全 5 群に分けて 1 週間予備飼育した。

② SCC-VII 腫瘍を右足大腿部に担癌した。(2×10⁶ 個/0.05 ml)

③ 腫瘍サイズが 7 mm×7 mm になったところで下記の 5 群の各処理を行った。

(本来なら 5 mm×5 mm で実験を開始するはずであるが、今回は腫瘍の血管の量を増加させて最大限に三酸化二砒素の効果を引き出すために 7 mm×7 mm を

使用した)

④各処置後1日おきに腫瘍測定・1日後に病理検査用マウスを病理解剖し組織を抽出して組織学的変化を測定した。

④の各処置について

1. 無処理群を Control 群とした。
2. 腹腔投与群を Drug 群とした。
3. 温熱療法群を Heat 群とした。
4. 腹腔投与した後2時間後に温熱療法した群を Drug → Heat 群とした。
5. 温熱療法した後2時間後に腹腔投与した群を Heat → Drug 群とした。

4. 結果

4-1 腫瘍成長率

1日おきに腫瘍測定した結果を図1の腫瘍成長率に示す。Drug → Heat 群, Heat → Drug 群ともに他の群より腫瘍成長率が低いことがわかる。しかし Drug → Heat 群, Heat → Drug 群は、ほぼ同じ腫瘍成長率だった。

図1のグラフから腫瘍成長率が3倍になった日数を

測定し、Control 群の成長率を1.0としてその成長比を表1に表した。この表から Drug → Heat 群, Heat → Drug 群には、有意差はないといえる。また併用することで三酸化二砒素の血管損傷作用を温熱療法で増感

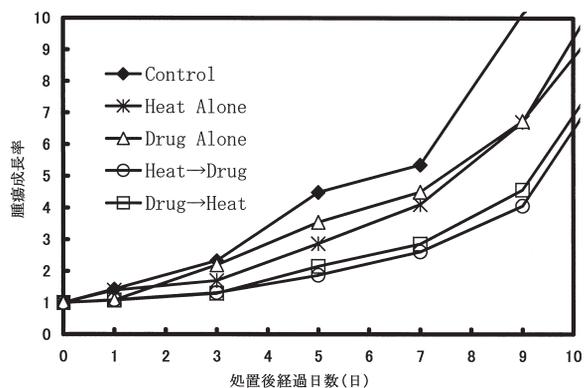


図1 腫瘍成長率

表1 腫瘍成長率が3倍になる日数と成長比

処理方法	3倍になる日数(日)	成長比 (日)
Control	3.5	1.0
Drug	4.1	1.1
Heat	5.0	1.4
Drug → Heat	7.0	2.0
Heat → Drug	7.5	2.1

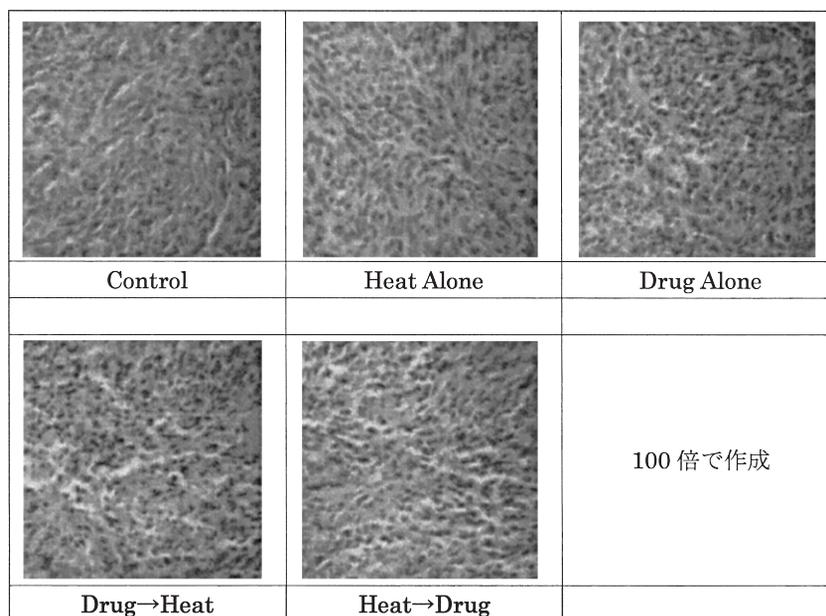


図2 病理切片像

する相乗効果がみられた。

4-2-1 病理切片

病理用マウスの腫瘍を薄いスライスで病理切片 (6 μm の厚さ) を採取し、HE 染色をしたものを図 2 に示した。図 2 より、Drug 群では細胞の崩壊や細胞膜内の流出等の所見からネクローシスが観測された。また、Drug \rightarrow Heat 群、Heat \rightarrow Drug 群では併用群以外に対してネクローシス核の空胞化が顕著に見られた。

4-2-2 ピクノーシス数/細胞数

図 2 より目視評価により得たピクノーシス数と細胞数を図 3 に示した。縦軸にピクノーシスと細胞破壊が生じていない正常な細胞の比、横軸には各処理群を示した。図 3 より Drug \rightarrow Heat 群、Heat \rightarrow Drug 群ともに他の群よりピクノーシス数/細胞数が多いことがわかる。これは、三酸化二砒素による細胞の破壊より生じた DNA の切断、核の破壊が顕著に見られ、かつ温熱による損傷の増感が起きているからである。しかし Drug \rightarrow Heat 群、Heat \rightarrow Drug 群は、ほぼ同等な組織学的変化を示していた。Control 群のピクノーシス数/細胞数が多少増加したのはマウスの皮膚の新陳代謝によるものと考えられる。

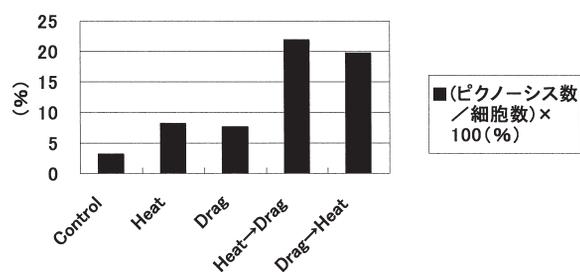


図 3 ピクノーシス数と細胞数の割合

5. 考察

5-1 腫瘍成長率、腫瘍成長率が3倍になる日数と成長比

三酸化二砒素投与とハイパーサーミアの併用する順

番の違いによる抗腫瘍効果は同等であることが分かった^{3), 4)}。これは併用の処理間隔が長すぎてしまい、ハイパーサーミアの特徴のひとつである血流量増加の効果を得られなかったと考えられる。ハイパーサーミアには薬剤投与で得られた DNA 損傷の、修復による障害からの回復を阻害するという相互作用があるという報告がある⁵⁾。このことから、Heat \rightarrow Drug 群では、温熱療法をして血流量増加したあと三酸化二砒素投与し、また Drug \rightarrow Heat 群では、三酸化二砒素を投与し全身に三酸化二砒素が回った後に温熱療法による血流量増加したため、双方とも DNA 損傷の修復により障害からの回復が起こりハイパーサーミアの作用をうまく併用できなかったと考えられる⁶⁾。血流量増加中に三酸化二砒素投与できれば腫瘍周辺の正常組織及び腫瘍組織内にまんべんなく三酸化二砒素がいきわたり、毛細血管の中にも充満することで、三酸化二砒素による、更に高い新生血管の破壊が期待できる⁶⁾。これらの作用により腫瘍への栄養を今以上遮断でき、腫瘍成長を抑制し高い抗腫瘍効果を得られると考えられる。よって併用の処理間隔を短縮することで血流増加による相乗効果が生まれ、併用する順番に有意な差を得ることができるのではないかと考えられる。

表 1 の様に、腫瘍が 3 倍に成長する日数で抗腫瘍効果を評価した時、両併用群の成長比が約 2 倍となった結果として、三酸化二砒素の濃度が 8 [mg/kg] と濃かった点が考えられる。C3H/HeJ マウスの体重が約 100 [g] であったので人の致死量が 0.1~0.3 [g] であることから³⁾、投与量が多かった事が処理順番に相異を示さなかったと考えられる。

5-2 病理切片、ピクノーシス数と細胞数の割合

三酸化二砒素が腫瘍中心に大きいダメージを与え、その周囲組織へのダメージは小さいという結果は、血流阻害によるものであるという報告がある⁶⁾。本実験でも同様の機序が考えられた。図 2 より、Drug 群では細胞の崩壊や細胞膜内の流出等の所見からネクローシスが観測されており、両併用群において腫瘍内部の染

色濃度が薄いく、より多くの腫瘍細胞が壊死を起こしていると言える。また、両併用群は同等の細胞障害効果が得られている。

図2より、ピクノーシスの特徴である核の濃縮や細胞の縮小が確認できた⁷⁾。このことにより細胞の大きな損傷を与えていることが分かる。また、図3より Drug → Heat 群, Heat → Drug 群ともに他の群よりピクノーシス数/細胞数が多いことがわかる。これは、三酸化二砒素による血管細胞の破壊より生じた低酸素, 低栄養状態が腫瘍細胞の DNA の切断, 核の破壊が顕著に見られ, かつ温熱による損傷の増感が起きているからである。

6. 結語

- 1) 三酸化二砒素は、固形腫瘍に対しても抗腫瘍効果を持つ。
- 2) 温熱療法は三酸化二砒素を増感する。
- 3) 温熱処理と三酸化二砒素を併用したものには、核の濃縮や細胞の縮小によるピクノーシスが顕著に観測できる。
- 4) Drug と Heat の併用する順番の違いによる抗腫瘍効果は同等である。

参考文献

- 1) 高橋正治：第三章 放射線治療技術/7 ハイパーサーミア。図解 診療放射線技師実践ガイド 第一線で必ず役に立つ知識・実践のすべて。文光堂 第

一版第2刷。P 1063～1065。2002年4月27日

- 2) 小川篤, 松井幸正, 畑中真紀ほか：対向小型コイルアンテナのスキャンによる非侵襲的温度モニターの試み。鈴鹿医療科学大学 紀要 第9号。P 64～75
2002年8月30日
- 3) 玉虫文一, 富山小太郎, 小谷正雄ほか：理化学辞典 岩波書店 第三版第9刷。P 523, 1085。1978年5月10日
- 4) 松田忠義：第一章 ハイパーサーミアの展開。ハイパーサーミアの臨床。医療科学社 第一版第1刷。P 8～9。1999年11月15日
- 5) Streffer, C.: Biological Basis of thermotherapy. Gautherie, M., ed., Biological basis of oncologic thermotherapy, 1～71, Berlin, Springer-Verlag, 1990.
- 6) Huang FL, Wang YL, Chan CX, WangHN.: Comparison of antitumor efficacy between ar-sacetyl and arsenic trioxide in vitro. Department of Biomedicine Engineering, College of Automation, Nanjing University of Aeronautics, Nanjing 210016, P. R. China, 395～400, Ai Zheng, 2002.
- 7) Kito M, Matsumoto K, Wada N, Sera K, Futatsugawa S: Antitumor effect of Arsenic trioxide in murine xenograft model. Institute of Applied Biochemistry, Yagi Memorial Park, Mitake, Kanigun, Gifu 505-0116, Japan, 1010～1014, Cancer Sci, 2003.

The Enhancement of Anti-tumor Effect of Hyperthermia Combined with Arsenic Trioxide

Takeo HASEGAWA^{1),2)}, Jun KADOTA¹⁾, Yuichi NAMOTO¹⁾, Toshiaki MORI¹⁾, Kazunari OSADA¹⁾, Daisuke YAMASHITA¹⁾, Tomoaki SUZUKI²⁾, Kazusi IDA²⁾

¹⁾Department of Radiological Technology, Faculty of Health Science, Suzuka University of Medical Science

²⁾Division of Medical Imaging, Graduate School of Health Science, Suzuka University of Medical Science

Key Words: Arsenic trioxide, Hyperthermia, Solid tumor, Anti-tumor effect.

Abstract

The combined use treatment which uses together cures, such as radiotherapy, a thermotherapy and radiotherapy, and chemotherapy, in the cure for the cancer is progressing remarkably. Especially a thermotherapy can compensate the portion from which the anti-tumor effects, such as a low oxygen cell of radiotherapy and low pH, are seldom acquired. At present, research of many, such as the anti-tumor effects by development of warm temperature equipment, the non-invasive temperature measurement, and hyperthermia, tackles very enthusiastically. In the experiment of last year of this university, it turns out by using this thermotherapy and chemotherapy together that a synergistic effect is obtained. Arsenic trioxide was used in the chemotherapy. The anti-tumor effect not only over the anti-tumor effect but the solid tumor to the liquefied tumor by which this was known until now was acquired. It reported that the damage accompanying the damage to the new multiplication blood vessel by arsenic trioxide and the increase in the blood flow according to combined use of a thermotherapy further has been checked. Then, in this experiment, it tried what for change of the anti-tumor effect to have become by changing the turn of combined use of thermotherapy and chemotherapy. We find that anti-tumor effects were increased combined with Arsenic trioxide (8 mg/kg) and hyperthermia as 42.5°C at 1 hour.