ハムスター舌におけるデキストラン・マグネタイト 複合体 (DM) の昇温効果

和田 重人

Temperature rise effect of dextran magnetite complex (DM) on hamster tongue

Shigehito WADA

Abstract: Dextran magnetite complex (DM) is a colloidal suspension of subdomain particles that efficiently generates heat when exposed to an alternating current (AC) magnetic field. Inductive heating using DM has attracted attention as a new method that can overcome various problems associated with currently available techniques for local hyperthermia. This study was performed to clarify the usefulness of DM for oral cancer hyperthermia.

DM suspension was locally injected into the normal tongue and the tumor-bearing tongue of golden hamsters. The tongues were heated to 43.0–45.0°C by exposure to an AC magnetic field of 500 kHz. The following results were obtained:

(I) Experiment on heating of normal tongue

a) When DM was injected into the tongue in concentrations of 112, 56, and 42 mg (as Fe/ml), the tongue temperature reached 43.0°C at 60, 120, and 570 seconds after treatment, respectively.

b) By injecting DM in a concentration of 56mg Fe/ml and changing the intensity of the AC magnetic field, the temperature in the tongue could be maintained at 43.0–45.0°C for 30 minutes. Furthermore, the temperature rise in the rectum, used as control, was only 0.4°C during this period.

c) Histological examination revealed brown uniform DM accumulation in the connective tissue between fibers of the tongue muscle.

(II) Experiment on heating of tumor-bearing tongue

d) The central and marginal temperature of the tumors reached 43.0°C at 180 and 540 seconds, respectively, and both temperatures were maintained at 43.0–45.0°C for 30 minutes.

e) An increase in tumor volume was associated with prolongation of the time required for the central temperature of the tumor to rise to 43.0°C.

f) Histological examination revealed the brown uniform accumulation of DM in the stroma at the tumor margin.

These results suggest that this local hyperthermic system may be useful in the oral region, where the tumor can be directly observed and palpated.

Key words: dextran magnetite complex (デキストラン・マグネタイト複合体), hyperthermia (温熱療法), tongue cancer (舌癌), inductive heating (誘導加温), alternating current magnetic field (交流磁場)

緒 言

現在、悪性腫瘍に対する局所温熱療法は全身のさまざまな部位に臨床応用され、その有用性が確認されている。口腔領域で用いられている局所温熱療法には RF (radio-frequency) 加温法、マイクロ波加温法および超音波加温法があり、なかでも RF 加温法は周波数 8 MHz 帯あるいは 13.56 MHz 帯を用いた誘電加温法と周波数 500 kHz 前後を用いた誘導加温法に大別されている。誘電加温法は、現在もなお局所温熱療法の主流となっているが、目的とする加温領域のみならず周囲正常組織の加温を伴うこと、加温領域と非加温領域の境界が不明瞭であること、さらに生体深部の加温が困難であるという問題点を有している¹⁾。一方、誘導加温法は、組織内に埋入あるいは注入された各種磁性体の誘導磁場下での発熱効果を応用した加温方法であり、誘電加温法における種々の問題点を克服しうる加温法として注目され、基礎的実験²⁻¹²⁾ および臨床応用¹³⁻¹⁶⁾ が試みられている。

デキストラン・マグネタイト複合体 (Dextran Magnetite complex : 名糖産業製、以下 DM と略す) を用いた誘導加温法の基礎研究の先駆者である田澤らのグループは、過去に DM の昇温効率、加温の選択性および移植腫瘍モデルでの抗腫瘍効果を検討し、本誘導加温システムが従来の加温システムにおける多くの問題点を克服しうる可能性を報告している^{1-5, 10, 17)}。著者は、本加温システムの臨床応用には、より臨床的なモデルにおける加温の選択性、均一性および維持性を確認すべきことを着想し、本誘導加温システムをゴールデンハムスター正常舌および担癌舌に適用し、その昇温効果を中心に検索を行ったので報告する。

材 料 と 方 法

(I) 正常舌における加温特性

1. 実験動物

生後 6 週齢雄性ゴールデンハムスター 12 匹を用い、実験期間中は CE-2 固形飼料 (日本クレア社) および水道水を自由に摂取させ予備飼育した。体重が 100g 以上になった時点で実験に用いた。

2. 誘導加温装置および温度測定装置

誘導加温装置は山本ビニター社製 TY-1 型 (最大出力 : 7 kW, 固定周波数 : 500 kHz) であり、交流磁場発生部は巻数 4 のパンケーキ型水冷中空コイルにより構成されている。温度測定装置は Luxtron 社製光センサー式 3000 型を用いた。

3. 磁性体

DM は名糖産業より譲与され、製造時の鉄濃度が 335 mg/ml (6 M) の懸濁液を原液とし使用した。この原液を滅菌蒸留水で希釈し、鉄濃度 112 mg/ml (2

写真1 DM注入終了直後の黒染状態 (舌背側より観察)

可動舌のほぼ右半分に境界明瞭な黒染帯の形成を認める。(DM注入条件 : 濃度 56 mg/ml, 200 μ l / 3分)

写真2 温度測定探子の留置状態 (舌下面側より観察)

加温部位 (H : 黒染帯辺縁の舌筋内) および対照部位 (C : 左側舌筋内) に留置された温度測定探子。

M), 56 mg/ml (1 M), 42 mg/ml (0.75 M), および 28 mg/ml (0.5 M) の DM 懸濁液を作製し実験に用いた。

4. 実験方法

ペントバルビタール (Nembutal Abbott Lab. 20~30 mg/kg) 麻酔下に、右側舌縁部 (以下、加温部位とする) の舌筋内に、各濃度に調整された DM 懸濁液 200 μ l を 26G 皮内反応針およびディスポーザブルシリリングにて約 3 分間かけ注入した (写真1)。DM 注入による黒染部の辺縁舌筋内にポリエチレン・チューブ

図1 加温方法の模式図

を挿入し、その内腔に温度測定探子を留置した。同様に対照部位として左側舌縁部の舌筋内および直腸内に温度測定探子を留置した(写真2)。加温部位がパンケーキ型コイルの中心に位置するように、仰臥位で舌を絹糸にて牽引しつつ動物の四肢を厚さ約1mmのプラスチック板に固定した(図1)。DM注入終了5分後から磁場印加を開始し、各部位における温度推移を30秒ごとに記録した。

a) DM 至適濃度決定に関する実験

種々の鉄濃度に調整された各DM懸濁液において加温実験を行った。経時的温度変化を記録しつつ、加温部位の温度が43.0℃以上に達するまで磁場の印加を継続した。

b) 加温部位の温度維持に関する実験

実験a)によって決定された至適濃度において、加温部位の温度維持実験を行った。加温部位を43.0～45.0℃で1800秒間維持することを目標に、磁場強度の増減を行い経時的温度変化を記録した。磁場強度の増減は、温度モニターを監視しつつ加温部位が43℃以上になった時点から開始し、プラスチック板の移動により加温部位とパンケーキ型コイル中心との水平的距離を変化させることにより行った。また、同時に対照部位の経時的温度変化を記録した。

c) 正常舌におけるDM分布に関する検討

温度維持実験終了直後に舌を採取し、歯科用X線撮影装置(撮影条件; 60KV, 10mA, 0.1sec)を用い、X線写真におけるDM分布を検討した。さらに採取した舌をホルマリン固定後、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色(以下HE染色と略す)を施し検鏡し、組織学的にDM分布を検討した。

(II) 担癌舌における加温特性

1. 実験動物および舌扁平上皮癌モデルの作製

生後6週齢雄性ゴールデンハムスター10匹を用い、

実験期間中はCE-2固形飼料(日本クレア社)および水道水を自由に摂取させ飼育した。発癌処置は藤田ら¹⁸⁾の方法に準じた。すなわち、生後8週から発癌処置を開始し、週3回エーテル吸入麻酔下にて、右側舌縁部粘膜を歯科用クレンザー針(松谷製作所社製No1)により擦過後、同部に毛筆で0.75% 9, 10-dimethyl-1, 2-benzanthracene アセトン溶液(以下DMBAと略す)を塗布した。発癌操作は肉眼的に癌形成が確認されるまで継続し(20～25週間)、その後腫瘍長径が8mm以上に発育した時点で実験に用いた。

2. 誘導加温装置および温度測定装置

正常舌における加温特性の実験に準じた。

3. 磁性体

正常舌における加温特性の実験により決定されたDM至適濃度と考えられる鉄濃度56mg/ml(1M)のDM懸濁液を使用した。

4. 実験方法

a) 腫瘍組織の温度分布および温度維持に関する実験

正常舌における加温特性の実験に準じた麻酔下にて、腫瘍組織の大きさを測定し、体積を以下の式により算定した。

$$V = (\pi / 6) \times a \times b^2$$

V: 腫瘍体積(mm³),

a: 腫瘍長径(mm), b: 腫瘍短径(mm)

DMの注入は、絹糸による梱包(写真3)あるいはモスクート・ペアンでの把持(写真4)により腫瘍組織の血流を一過性に遮断した後、30G針および歯科用カートリッジにて緩圧で約3分間かけを行った。なお、DMの注入量は腫瘍組織全体が黒染されることを目標に、個々の症例に応じて適宜増減した。DM注入終了後に血流遮断を即座に解除し(写真5, 6)、黒染された腫瘍の辺縁部および中心部にポリエチレン・チュー

写真3 梱包直後の担癌舌所見 (舌背側より観察)
腫瘍の約2～3mm外側に設定された梱包領域。

写真4 把持直後の担癌舌所見 (右側舌縁側より観察)
腫瘍の約2～3mm外側に設定された把持領域。
(二回目のDM注入のため、初回に注入されたDMの残存を舌背部に認める)

写真5 DM注入、梱包解除直後の担癌舌所見 (舌背側より観察)
梱包領域にはほぼ一致した黒染帯を認める。(DM注入条件: 濃度56mg/mlのDM約400～600 μ lを3分間で注入)

写真6 DM注入、把持解除直後の担癌舌所見 (右側舌縁側より観察)

把持領域にはほぼ一致した黒染帯を認める。(DM注入条件: 濃度56mg/mlのDM約300～500 μ lを3分間で注入)

写真7 温度測定探子の留置状態 (右側舌縁側より観察)

腫瘍中心部(T)および辺縁部(M)に留置された温度測定探子。

ブを挿入し、その内腔に温度測定探子を留置した(写真7)。動物の設置方法、磁場印加開始時期および磁場強度の増減方法は正常舌における加温特性の実験に準じ、腫瘍辺縁部および中心部の温度推移を30秒ごとに記録した。なお磁場強度の増減は、原則的に腫瘍辺縁部と中心部の温度を43.0～45.0℃の範囲で維持することを目標とした。

b) 腫瘍組織におけるDM分布に関する検討

温度維持実験終了直後に担癌舌を採取し、正常舌における加温特性の実験に準じた方法により、X線写真および組織学的にDMの分布を検討した。また、ホルマリン固定後、約2mm間隔の前額断連続切片を作

表 1 各 DM 濃度における昇温曲線

表 2 磁場強度変化による温度維持曲線 (DM 濃度 : 56mg/ml)

製し、肉眼的に DM の分布を検討した。

結 果

(I) 正常舌における加温特性

a) DM 至適濃度決定に関する実験

112mg/ml 群および56mg/ml 群では、磁場印加直後から加温部位の温度はほぼ直線的に上昇し、各群の平均温度が43.0℃以上となるまでの時間（以下 $T^{43℃}$ と略す）は、112mg/ml 群で60秒、56mg/ml 群

で120秒であった。また42mg/ml 群では、前二群に比べて緩やかな昇温勾配となり、 $T^{43℃}$ は570秒であった。各群の $T^{43℃}$ における平均温度は、112mg/ml 群で $44.5 \pm 1.2℃$ （平均±標準偏差）、56mg/ml 群で $43.7 \pm 1.0℃$ 、42mg/ml 群で $43.0 \pm 0.5℃$ であった。さらに28mg/ml 群では660秒間の磁場印加にもかかわらず、平均温度は43.0℃に到達することなく平衡状態を呈し、660秒値で $40.1 \pm 0.7℃$ であった（表1）。

b) 加温部位の温度維持に関する実験

56mg/ml の濃度の DM 注入舌において、磁場強度

写真8 DM注入正常舌のX線像(舌下面側から照射)

舌半側に辺縁やや不整の、均一なDM陰影を認める。(DM注入条件:濃度56mg/ml, 200 μ l/3分, 約43℃で30分間加温, 撮影条件: 60KV, 10mA, 0.1sec.)

写真10 DM注入正常舌の組織像(HE染色:×66)
上皮内におけるDMの蓄積は認めない。(DM注入条件:写真9と同じ)

写真9 DM注入正常舌の組織像(HE染色:×13.2)

舌筋線維間の結合組織内において茶色を呈するDMの均質な蓄積を認める。(DM注入条件:濃度56mg/ml, 200 μ l/3分, 約43℃で30分間加温直後にホルマリン固定)

を変えつつ加温部位の平均温度を43.0~45.0℃の範囲で1800秒間維持することが可能であった。また対照部位の平均温度の経時の変化では、左側舌縁部舌筋内は緩やかな温度上昇傾向を認め、磁場解除直前の1800秒値で $34.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ (0秒値: $31.5 \pm 0.7^\circ\text{C}$) であった。また、直腸内における温度上昇はほとんど認めず、1800秒値で $31.4 \pm 0.4^\circ\text{C}$ (0秒値: $31.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$) であった(表2)。

c) 正常舌におけるDM分布に関する検討

肉眼所見では鉄濃度112mg/ml, 56mg/ml,

42mg/ml, および28mg/mlのいずれのDM注入舌においても、境界明瞭な黒染帯が認められた。X線所見では、注入部位に一致した辺縁やや不整の均一なDM陰影が認められ、その境界は明瞭であった。また、その範囲は一部正中を越え対側の舌へ達していた(写真8)。組織学的所見では舌筋線維間の結合組織に茶色を呈するDMの均一な蓄積像が認められた。また上皮内へのDMの蓄積は認められなかった(写真9, 10)。

(II) 担癌舌における加温特性

a) 腫瘍組織の温度分布および温度維持に関する実験

腫瘍辺縁部の平均温度は、磁場印加直後からほぼ直線的に上昇し、 $T^{43^\circ\text{C}}$ は、180秒であった。腫瘍中心部の平均温度は、前者に比べて緩やかな昇温勾配となり、 $T^{43^\circ\text{C}}$ は540秒であった。各部位の $T^{43^\circ\text{C}}$ における平均温度は、腫瘍辺縁部で $43.9 \pm 1.0^\circ\text{C}$ (平均 $\pm$ 標準偏差)、腫瘍中心部で $43.2 \pm 0.8^\circ\text{C}$ であった。また、磁場強度を変えつつ腫瘍辺縁部と中心部の平均温度を43.0~45.0℃の範囲で1800秒間維持することが可能であった(表3)。個々の症例における加温部位が 43.0°C 以上となるまでの時間(以下 $t^{43^\circ\text{C}}$ と略す)と腫瘍体積との関係では、腫瘍辺縁部の $t^{43^\circ\text{C}}$ と腫瘍体積との間に相関は認められなかった($Y=0.06X+162$, $R=0.198$, $P=0.587$, $n=10$)。一方、腫瘍中心部の $t^{43^\circ\text{C}}$ と腫瘍体積との間には統計学的に有意な相関は認められないものの($Y=0.34X+358$, $R=0.429$, $P=0.216$, $n=10$)、腫瘍体積の増加に伴い $t^{43^\circ\text{C}}$ が延長する傾向が認められた(表4)。

表 3 腫瘍辺縁部および中心部における昇温曲線

表 4 腫瘍体積と t^{43°C} の関係

b) 腫瘍組織における DM 分布に関する検討

X 線所見では、注入部位に一致した限局性の辺縁不整、やや不均一な DM 陰影が認められ、その境界は正常舌の DM 陰影と比べて不明瞭であった (写真11)。ホルマリン固定後の連続切片における肉眼所見では、腫瘍組織の中心部の小範囲に非黒染部が認められたが、他部位での腫瘍組織にはほぼ均一な黒染帯の形成が認められた (写真12)。組織学的所見では舌筋内へ浸潤する扁平上皮癌の形成が確認され、その間質に茶色を呈する DM の均一な蓄積像、および間質を経由し腫瘍組

織表面へ達する DM の流出像が認められた。また、塊状に増殖する腫瘍細胞集団における DM の間質細胞への蓄積像は認められなかった (写真13, 14)。

考 察

近年、癌温熱療法において選択的加温の可能性を秘めた誘導加温法が開発され、各種磁性体を用いたさまざまな誘導加温法に関する基礎的および臨床的研究が試みられている。従来より使用されている磁性体には、

写真11 DM注入担癌舌のX線像(舌下面側から照射)

舌根部を除く舌全体に、辺縁やや不整のDM陰影を認める。DM注入正常舌のX線像と比較して、その境界は不明瞭である。(DM注入条件:濃度56mg/mlのDM約300~500 μ lを3分間で注入。撮影条件:60KV, 10mA, 0.1sec.)

写真13 DM注入担癌舌の組織像(HE染色:×13.2)

舌筋内へ浸潤する高分化型扁平上皮癌の形成が認められる。その間質に茶色を呈するDMの均一な蓄積像、および間質を経由し腫瘍組織表面へ達するDM流出像(矢印)が認められる。

(DM注入条件:濃度56mg/mlのDM約400~600 μ lを3分間で注入)

写真12 DM注入担癌舌の連続切片所見(前額断)

1:舌尖部. 2, 3:舌中央部(腫瘍存在部).

4:舌根部.

腫瘍組織の中心部において、DMが浸透していない非黒染帯(矢印)が認められる。(DM注入条件:濃度56mg/mlのDM約400~600 μ lを3分間で注入、ホルマリン固定後切片を作製)

写真14 DM注入担癌舌の組織像(HE染色:×66)

塊状に増殖する腫瘍細胞集団においては、DMの間質細部への蓄積像は認められない。

(DM注入条件:写真13と同じ)

針状または粒状のインプラント体^{15, 16, 19, 20)}と微粒酸化鉄^{6~8, 13, 14)}の二者があり、いずれの報告においてもその選択的加温の可能性が示唆されている。しかしながら、前者においては、刺入操作による腫瘍細胞の播種、温度分布の不均一性および腫瘍の変性に伴うイ

ンプラント体と腫瘍の密着性低下という問題点が、後者においては、生体に対する毒性、コロイド安定性の欠如および低昇温効率という問題点が現在もなお懸念されている。これら従来の誘導加温法における問題点を克服すべく開発され、口腔領域への応用を含む多くの可能性を秘めた加温法が、DMを用いた誘導加温法^{1~5, 9~11, 17)}である。

図2 DM複合体の物理化学的特性および模式図

(1) DM および本加温システムに関して

DM は、超微粒酸化鉄の周囲にデキストランが化学的に結合しており、各種溶媒や血清との混和においても凝集、沈殿することなく、コロイドとして安定する複合体である^{1~6)}(図2)。Hasegawa ら²¹⁾は、DM の物理化学的特性に関する検討を行い、酸化鉄部の平均粒子径が5~10nm、保磁力が3oe、飽和磁化が約80~90emu/gFe と、粒子径が非常に細かいにもかかわらず、磁化の程度が大きいこと、製造条件を変えることにより、鉄濃度、平均粒子径、および磁化率の調整が可能であることを報告している。毒性に関しては、通常酸化鉄のLD50値が300~600mg/kg であるのに対して、DM のLD50値は2000~6000mg/kg と高く²²⁾、その毒性はきわめて低いと報告されている。また、田澤ら¹⁾は、DM の周波数500kHz 帯での誘導加温における温度特性を、酸化鉄、純鉄およびフェライトと比較し、DM がより低濃度で効率の良い発熱をもたらしたと報告している。これらの物理化学的な特性を有するDM は、誘導加温法のための発熱効率の良い、頻回加温が可能な新しい磁性体としてきわめて有用と考えられる。

一般に交流磁場に置かれた磁性体は、その最大径がmm レベルでは主に渦電流損(eddy current loss)と磁気履歴現象(histerisis)の二者により発熱することが知られている²³⁾。しかしDM や酸化鉄などの

磁性体粒子では発熱のメカニズムは若干異なり、粒子径が μm レベルにおいては渦電流損は減少し磁気履歴現象による発熱が優位となり、nm レベルでは両者による発熱はともに減少し、代わって酸化鉄粒子の磁化ベクトルの回転および粒子自体の物理的な回転が発熱のメカニズムに大きく関与していると考えられている^{1, 8)}。

(2) 正常舌における加温特性に関して

ハムスター正常舌における種々の濃度のDM200 μl の注入直後の肉眼所見では、いずれの濃度においても可動舌のほぼ半側に境界明瞭な黒染帯の形成が確認され、目的とする加温領域の明示が可能であった。この黒染帯は、DM の肝臓¹¹⁾、腎臓⁹⁾、皮下^{2, 4, 12)}および腹腔^{2, 4)}への投与実験では認められない舌に特有の所見であり、腫瘍を直視し触知しうる口腔領域、特に舌での局所注入におけるDM の有用性を示唆する所見と考えられる。

DM 至適濃度決定に関する実験に関しては、112mg/ml 群では $T^{43^\circ\text{C}}$ は60秒と著しく短く、磁場強度変化による加温部位の温度調節が困難であることが予測された。さらに42mg/ml 群と28mg/ml 群ではDM の経時的拡散あるいは血流による冷却作用に起因すると考えられる昇温不良が認められたことから、ハムスター正常舌におけるDM 至適濃度を暫定的に56mg/ml とした。この濃度は、Masuko ら¹²⁾のラッ

ト皮下腫瘍における DM 局注濃度である 43mg/ml に近似しており、口腔領域において腫瘍組織と近接する正常組織を過剰加温することなく 45.0°C 以下に制御する意味からも、DM 局所注入濃度の重要な基準値であると考えられる。

一般に加温部の温度測定は、腫瘍中心部、腫瘍辺縁部および腫瘍に近接する正常組織部の三点計測が温度分布を知る上で必須²⁴⁾とされているが、正常舌の実験では加温部の温度分布を黒染帯辺縁部の舌筋内をもって代表した。その理由として、舌筋内に注入された DM は、黒染帯辺縁部において最も低濃度となり血液あるいは組織液による希釈および冷却作用を受けやすく、黒染された部位のうち最も低温となっていると予想されたこと、さらに今回使用した小動物における複数部位あるいは黒染部の中心への温度測定探子の挿入は、出血による DM の組織外流出を惹起し、DM 局所濃度に大きく影響すると予想されたことが挙げられる。正常舌の加温の実験では肉眼および X 線所見のいずれにおいても DM の均一な分布が確認され、黒染部はほぼ均一に加温されているものと推定される。また組織学的所見では上皮内における DM の蓄積は認められなかったものの、上皮直下の結合組織には均一な DM の分布が確認され、熱伝導による上皮内の昇温は十分期待しうると考えられる。

温度維持に関する実験では、加温部位の温度は平均 $43.0\sim 45.0^\circ\text{C}$ の範囲で 1800 秒間維持可能であり、従来より臨床で目標とされている一回あたりの加温条件を満たすものと考えられる。また、一般に交流磁場に置かれた生体組織は、誘導電流の発生により磁性体の有無にかかわらず発熱し、その発熱量は主に交流磁場の周波数と相関し、発熱量を低下させるためにはより低周波数であることが要求される¹³⁾。本実験で使用した 500kHz の低周波加温システムにおいても、対照部の直腸内における温度上昇は 1800 秒間の加温で平均 0.4°C ときわめて軽度であり、本加温システムにおける過去の報告^{1, 2, 12)}と同様に加温の選択性が示唆された。また、対照部位の舌筋内においては、経時的な DM の組織内拡散あるいは加温部位からの熱伝導に起因すると考えられる温度上昇が確認されたが、この温度上昇は 1800 秒間の加温で平均 3.0°C ときわめて軽度であり、正常組織に対する障害にはなり得ないと考えられる。

(3) 担癌舌における加温特性に関して

DMBA 誘発口腔癌は、正常粘膜上皮から上皮過形成、上皮異形性を経て発癌し、この一連の過程はヒト口腔扁平上皮癌での前癌病変からの発癌過程にきわめて類似する^{18, 25)}と報告されている。著者は、本加温システムの臨床応用にはより臨床的な腫瘍モデルにおける加温特性の検索が必要と考え、本研究の対象として移植腫瘍とは異なる本モデルを選択するに至った。

DM の投与方法に関して、実験当初は腫瘍中心部へ

の直接注入を行ったが、組織抵抗の小さい正常舌側への DM の回避あるいは腫瘍表面への DM の流出の問題点が生じ、投与方法の改良を余儀なくされた。手指による腫瘍組織の圧迫下での注入あるいは複数刺入点からの注入を試みるも、DM の限局化はきわめて困難であり、最終的に腫瘍組織を梱包あるいは把持し血流を一過性に遮断し、DM を腫瘍背側の正常組織から注入することにより、DM を目的とする加温領域へ限局化させることが可能となった。これら梱包あるいは把持による投与法は処置侵襲も少なく、器具操作が比較的容易かつ腫瘍の進展範囲が触知可能な口腔領域において有用な投与方法と考えられる。

腫瘍組織の加温実験に関しては、腫瘍辺縁部における $T^{43^\circ\text{C}}$ (180 秒) が、正常舌における $T^{43^\circ\text{C}}$ (120 秒: DM 濃度 56mg/ml 群) と比較してやや延長する傾向が認められた。一般に腫瘍組織の発育に伴い周囲の血管密度は高くなるという既存の事実²⁶⁾を考慮するならば、この延長傾向には血流による冷却効果および血管内への DM 吸収率の増大が少なからず関与しているものと考えられる。また、腫瘍中心部における $T^{43^\circ\text{C}}$ は 540 秒と著しい延長傾向が認められ、それに一致した X 線所見における不均一な DM 分布、肉眼所見における腫瘍組織中心部での非黒染帯の存在、および組織学的所見における腫瘍塊の間質細部における DM 分布の欠如が確認された。加温の全過程において、腫瘍中心部の温度は経時的に腫瘍辺縁部の温度に近づく傾向を示したが、腫瘍辺縁部の温度を越えることはなく、腫瘍中心部における昇温は DM が均一に分布する周辺部からの熱伝導効果にその大部分を依存しているものと考えられる。しかし、腫瘍組織の最高温度点と考えられる辺縁部および最低温度点と考えられる中心部がいったん $43.0\sim 45.0^\circ\text{C}$ の範囲で保温されると、その後両者の温度はこの範囲を逸脱することなく 1800 秒以上維持された。この結果は腫瘍組織におけるあらゆる部位の温度が、ほぼ均一に $43.0\sim 45.0^\circ\text{C}$ の範囲で維持され得ることを意味するものであり、ハムスター担癌舌においても本加温システムの加温の均一性および温度の維持性が示唆された。

個々の症例における $t^{43^\circ\text{C}}$ と腫瘍体積の関係では、腫瘍辺縁部の $t^{43^\circ\text{C}}$ は腫瘍体積にほとんど影響を受けず、ほぼ一定の値を示した。一方、腫瘍中心部の $t^{43^\circ\text{C}}$ は腫瘍体積の増加に伴い延長傾向を示した。この結果は、腫瘍体積の増加に伴い DM の腫瘍中心部への分布はより困難となることを意味し、先に述べた腫瘍中心部における昇温は熱伝導効果に依存せざる得ないという問題点をさらに強調し、また梱包あるいは把持を併用した DM 投与法の限界を示唆すると考えられる。

(4) 本加温システムの口腔領域における発展性に関して

今後の課題は、腫瘍中心部での $t^{43^\circ\text{C}}$ の延長が予想さ

れる大きな腫瘍組織に対し、いかに選択的かつ均一に DM を分布させるかに集約され、新しい DM 投与方法の考案が本加温システムの臨床応用に向けての急務と考えられる。DM の新しい投与方法に関して、Mitsumori ら^{9, 11)} はウサギにおいて、肝動脈および腎動脈からの塞栓を目的とした DM-リポドール乳濁液の投与を行い、腎では 147mg/ml の濃度で平均 $12.7^\circ\text{C}/10\text{min}$ の温度上昇を、肝では 83mg/ml の濃度で $0.5\sim 1.4^\circ\text{C}/5\text{min}$ の温度上昇を認めたと報告している。本投与法は、十分な昇温効果を得るために高い DM 濃度を必要とすること、温度維持が困難であることなどの欠点を有しているが、舌動脈、顎動脈、顔面動脈を介しての選択的薬物投与が可能な口腔領域においては利用価値の高い投与方法と思われる。また、Gordon ら²⁷⁾ および田澤ら^{4, 17)} は、腫瘍細胞の貪食能を利用し、細胞内に酸化鉄粒子を取り込ませた後、誘導加温により細胞内部より発熱を誘導する細胞内加温法の有用性を提唱しており、口腔癌の大部分を占める扁平上皮癌における DM の貪食能の検討を進めることも今後の研究課題の一つと考えられる。

高度な手術療法、化学療法および放射線療法の進歩に伴い、年々口腔癌の治療成績は向上する傾向にある。しかし、これらが奏功せず根治的な治療適応を逸脱した症例においては、これら三者に続く決定的な救済療法が見あたらないという現実がある。著者は、近い将来に、本温熱療法システムがこれら症例における有力な救済療法となることを期待しつつ、治療効果および DM の投与方法の改善等に関する研究を継続して行く所存である。

結 語

今回著者は、デキストランと超微粒子酸化鉄の複合体で、液状、黒色の磁性体であるデキストラン・マグネタイト複合体を用いた選択的加温実験をハムスター正常舌および担癌舌において行い、以下の結果を得た。

(I) 正常舌における加温特性に関して

1) DM 濃度が低くなるにつれ昇温勾配の低下が確認され、DM 濃度 112mg/ml , 56mg/ml , および 42mg/ml における $T^{43^\circ\text{C}}$ は、60, 120, および 570 秒であった。ハムスターの舌における DM 至適濃度は、加温部位の温度調節性を踏まえて 56mg/ml が妥当と考えられた。

2) 磁場強度を変化させることにより、加温部位を 43.0°C 以上に 1800 秒間維持することが可能であった。この間の対照部位の温度上昇は、左側舌筋内で平均 3.0°C 、直腸内で平均 0.4°C ときわめて軽度であった。

3) X 線所見および肉眼所見において、DM の注入部位に一致した均一な分布が確認された。

(II) 担癌舌における加温特性に関して

4) 腫瘍辺縁部および腫瘍中心部の $T^{43^\circ\text{C}}$ は 180 秒および 540 秒であり、両者の温度は $43.0\sim 45.0^\circ\text{C}$ の範囲で 1800 秒間以上維持された。

5) 腫瘍辺縁部の $t^{43^\circ\text{C}}$ と腫瘍体積との間に相関は認められなかった ($Y=0.06X+162$, $R=0.198$, $P=0.587$, $n=10$)。一方、腫瘍中心部の $t^{43^\circ\text{C}}$ と腫瘍体積との間には統計学的に有意な相関は認められないものの ($Y=0.34X+358$, $R=0.429$, $P=0.216$, $n=10$)、腫瘍体積の増加に伴い $t^{43^\circ\text{C}}$ が延長する傾向が認められた。

6) 連続切片における肉眼所見では、腫瘍組織の中心部の小範囲に非黒染部が認められたが、他部位での腫瘍組織にはほぼ均一な黒染帯の形成が認められた。

7) 組織学的所見では舌筋内へ浸潤する扁平上皮癌の形成が確認され、その間質に茶色を呈する DM の均等な蓄積像が認められた。また、塊状に増殖する腫瘍細胞集団における DM の間質細部への蓄積像は認められなかった。

8) 今後の課題は、腫瘍中心部での $t^{43^\circ\text{C}}$ の延長が予想される大きな腫瘍組織において、DM をいかに選択的かつ均一に分布させるかに集約された。

謝辞

稿を終えるにあたり、本研究の機会を与えて下さり、懇切なる御指導、御校閲を頂きました恩師 古田 勲教授ならびに本学医学部看護学教室 田澤賢次教授に心から感謝いたします。また本研究に際し御協力いただいた歯科口腔外科学教室ならびに第二外科学教室の皆様にも深く感謝いたします。さらに貴重な DM を快く提供して下さい、名糖産業名古屋研究所 長江英夫氏に厚くお礼を申し上げます。

本論文の要旨は第 52 回日本口腔科学会総会 (平成 10 年 4 月、松山)、The Second Congress of the Asian Society for Hyperthermic Oncology (September 1998, Tokyo)、および第 40 回日本口腔外科学会総会 (平成 10 年 10 月、松本) において発表した。

引 用 文 献

- 1) 田澤賢次, 竹森 繁, 他: Dextran magnetite (DM) 粒子を用いる誘導加温法. 日本ハイパーサーミア誌 11: 86-92 1995.
- 2) 竹森 繁, 田澤賢次, 他: Hyperthermia における DDS の研究—特に Dextran magnetite (DM) を用いる inductive heating について—. 日本 DDS 誌 6: 465-470 1991.
- 3) 竹森 繁, 田澤賢次, 他: Dextran magnetite を用いる誘導加温による癌温熱療法の研究 (第 1 報)—Dextran magnetite の磁性体としての特性について—. 日本ハイパーサーミア誌 7: 373-380 1991.
- 4) 田澤賢次, 長江英夫, 他: Dextran magnetite

- を用いる誘導加温による癌温熱療法の研究（第2報）－特に細胞内加温法（Intracellular hyperthermia）による各種腫瘍細胞に対する治療効果－. 日本ハイパーサーミア誌 7: 381-390 1991.
- 5) 竹森 繁, 田澤賢次, 他: デキストラン・マグネタイト封入体を用いた癌温熱療法の試み. 癌と化学療法 19: 1648-1650 1992.
- 6) Rand, R.W., Snow, H.D., et al.: Thermo-magnetic surgery for cancer. J Surg Res 33: 177-183 1982.
- 7) Luderer, A.A., Borrelli, N.F., et al.: Glass-ceramic-mediated, magnetic-field-induced hyperthermia; response of a murine mammary carcinoma. Rad Res 94: 190-198 1983.
- 8) Jordan, A., Wust, P., et al.: Inductive heating of ferromagnetic particles and magnetic fluids; physical evaluation of their potential for hyperthermia. Int J Hyperther 9: 51-68 1993.
- 9) Mitsumori, M., Hiraoka, M., et al.: Development of intra-arterial hyperthermia using a dextran-magnetite complex. Int J Hyperther 10: 785-793 1994.
- 10) Masuko, Y., Tazawa, K., et al.: Possibility of thermosensitive magnetoliposomes as a new agent for electromagnetic induced hyperthermia. Biol Pharm Bull 18: 1802-1804 1995.
- 11) Mitsumori, M., Hiraoka, M., et al.: Targeted hyperthermia using dextran magnetite complex; a new treatment modality for liver tumors. Hepato-gastroenterol 43: 1431-1437 1996.
- 12) Masuko, Y., Tazawa, K., et al.: Antitumor activity for selective hyperthermia in tumor-bearing rats using thermosensitive magnetoliposomes as a new hyperthermic material. Drug Deliv 4: 37-42 1997.
- 13) Gilchrist, R.K., Medal, R., et al.: Selective inductive heating of lymph nodes. Ann Surg 146: 596-606 1957.
- 14) Gilchrist, R.K., Shorey, M.D., et al.: Effects of electromagnetic heating on internal viscera; a preliminary to the treatment of human tumors. Ann Surg 161: 890-896 1965.
- 15) 籾内 祝, 後藤康之, 他: 舌癌に対する implant heating system による組織内温熱療法. 日本ハイパーサーミア誌 6: 450-461 1990.
- 16) 佐古正雄, 横川修作, 他: 高周波誘導加熱による selective hyperthermia に関する研究－試作装置による基礎的研究－. 医学のあゆみ 115: 447-449 1983.
- 17) Tazawa, K., Takemori, S., et al.: Intracellular hyperthermia for the treatment of cancer (II); raising the high temperature with exciting submicron particles and its effects. Progress in hyperthermic oncology-Proceedings of the second annual meeting of the Japan Society of the Hyperthermia Oncology, Egawa S (Ed.), Shinohara Publishers, Tokyo, pp.248-249 1985.
- 18) 藤田浄秀, 賀来 亨, 他: 舌癌の実験的形成に関する研究 第1編: 9, 10-dimethyl-1, 2-benzanthracene の塗布による舌癌の実験的形成. 日口科誌 21: 999-1012 1972.
- 19) 柄川 順, 築山 厳, 他: 強磁性体組織内加温の初期実験結果－ファントム及び兎を用いた温度分布－. 日本ハイパーサーミア誌 3: 27-34 1987.
- 20) 柄川 順, 築山 厳, 他: 低キュリー点強磁性体刺入による実験腫瘍の組織内加温法. 日本ハイパーサーミア誌 3: 35-39 1987.
- 21) Hasegawa, M., Maruno, S., et al.: Characters and biological behavior of bio-compatible dextran-ironoxide magnetic fluid; Advances in Biomaterials, Vol. 9, Clinical implant materials, Elsevier Science Publishers B V, pp.517-522 1990.
- 22) Hasegawa, M., Hokkoku, S., et al.: Magnetic iron oxide-dextran complex and process for its production. U S Patent 4, 101, 435, July 18, 1978.
- 23) 高橋勘次郎, 久保田喜郎: 誘導加熱. 高橋勘次郎監修: 高周波の基礎と応用. 第1版, 東京電気大学出版局, 東京, 1991, 1-10頁.
- 24) 水品静夫: 温度測定技術について. 山村雄一, 杉村 隆監修: 癌と温熱療法. メジカルビュー社, 東京, 1987, 17-23頁.
- 25) Salley, J.J.: Experimental carcinogenesis in the cheek pouch of the syrian hamster, J Dent Res 33: 253-262 1954.
- 26) Folkman, J.: Tumor angiogenesis, Adv Cancer Res 43: 175-203 1985.
- 27) Gordon, R.T., Hines, J.R., et al.: Intracellular hyperthermia; A biophysical approach to cancer treatment via intracellular temperature and biophysical alterations. Med Hypotheses 5: 83-102 1979.