ラット正常および担癌膀胱における温熱療法の 組織血流に及ぼす影響

—水素ガスクリアランス法による血流測定—

日本大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 岸本 孝教授)

清 滝 修 二

AN EXPERIMENTAL STUDY OF THE TISSUE BLOOD FLOWS UNDER HYPERTHERMIA IN NORMAL RAT BLADDER AND BLADDER TUMOR —Method of Hydrogen Gas Clearance—

Shuji Kiyotaki

Department of Urology, Nihon University School of Medicine

(Director: Prof. T. Kishimoto)

Tissue blood flow of the bladder in Wistar rat was measured by hydrogen gas clearance method to determine regional bladder circulation of normal and bladder tumor.

Under anesthesia with pentobarbital the bladder was exposed through a midline laparotomy. A reference electrode was placed into subcutaneous layer and a platinum electrode was inserted into the aimed portion of the bladder wall.

Firstly, the blood flows in normal bladders and bladders with tumor were determined. The mean values of regional submucosal and muscular blood flow in normal bladders were 95.1 ± 32.0 (M $\pm$ SD)/ml/min/100 g and 110.9 ± 29.5 (M $\pm$ SD)/ml/min/100 g, respectively. On the other hand, in the bladder with BBN induced transitional cell carcinoma Grade 1—2, the values of regional tumor and muscular blood flows were 87.7 ± 40.1 (M $\pm$ SD)/ml/min/100 g and 138.2 ± 41.7 (M $\pm$ SD)/ml/min/100 g, respectively.

Secondly, the experiments were designed to investigate the effect of hyperthermia on the microcirculation of normal and tumor tissues. The hyperthermia was induced by the method of irrigation with saline heated at 44°C. Then, the differences of the flow were investigated between pre-hyperthermia and hyperthermia phases. In normal bladders, remarkable changes of blood flow in the muscular layer were not observed in the two phases. However, in the bladder tumor, the value of blood flow was markedly decreased in 60 minutes with hyperthermia. Histopathological findings of the tumor tissue after irrigation at 44°C confirmed the effects of hyperthermic action as the disturbance in the tumor circulation.

Thus, the disturbance of blood circulation in the tumor was regarded as one of the important thermal effects.

要旨: Wistar 系ラットの正常膀胱および BBN (N-butyl-N-(4-Hydroxybutyl) nitrosamine) により誘発した移行上皮癌を有する膀胱 (担癌膀胱) を対象として水素ガスクリアランス法を用いてそれぞれの組織血流測定をおこなった。さらにこれらの測定値を対照として, 44°C の加温生理食塩水灌流を施行した際の血流変化を測定することにより, 温熱の組織血流に及ぼす影響とその効果を検討した。

その結果, 正常膀胱の筋層における組織血流は, 110.9 ± 29.5 (M $\pm$ SD) ml/min/100g であり, 担癌膀胱の筋層においては 138.2 ± 41.7 (M $\pm$ SD) ml/min/100g と正常膀胱筋層にくらべて高血流を示した。また, 正常膀胱の粘膜下層の血流は 95.1 ± 32.0 (M $\pm$ SD) ml/min/100g で担癌膀胱の腫瘍部では 81.7 ± 40.1 (M $\pm$ SD) ml/min/100g と腫瘍部分は低血流を示し担癌膀胱筋層の血流と比べ明らかな差を認め

た。

44℃温水灌流を60分間施行した際の血流を測定したところ、筋層の血流変化のパターンは正常膀胱および担癌膀胱とも明らかな差異は認められなかったが、腫瘍部の血流は温水灌流後には著明に減少することが確かめられた。

緒 言

近年、温熱の細胞に及ぼす殺細胞効果や腫瘍に対する傷害効果については、多くの報告が相次ぎ、それらの機序は解明されつつある。しかしそれらの報告の多くは *in vitro* ないしは *in vivo* においてであって、実際の治療における腫瘍に対する温熱の効果機序に関してはまだ未解明の部分が多い。腫瘍とは腫瘍細胞のみならず、間質、脈管などの多構造より成り立っているものであり、温熱の効果を解明するにあたってはそれら間質脈管系への影響を無視することはできない。したがって腫瘍全体像への効果を解明することは腫瘍に対する実際の治療を行う上でも有意義であると考えらる。

かねてより温熱療法の実際においては岸本ら¹⁾、岡田ら²⁾が報告しているごとく、膀胱腫瘍の出血に対しても温水灌流が有効であり、止血効果を発揮することが観察されている。このことから腫瘍間質とくに脈管系の器質的、機能的变化が大きく関与していると考えられ、腫瘍の血流測定は温熱効果を知るうえで不可欠な検索対象として提起される。

今回水素ガスクリアランス法を用いてラット正常膀胱の血流測定をおこない、さらに BBN の経口投与により発癌させた担癌膀胱に対しても血流測定を試み、それらに44℃加温生理食塩水灌流を施行した場合の血流変化について検討を加えた。

対象および実験方法

<1>対象

平均体重約550gのWistar系雄性ラットの膀胱を対象とした。膀胱腫瘍の誘発には同系雄性ラット平均体重約200g(生後約7週齢)のものに0.05%BBN(N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine)を添加した水道水を自由摂取させて約3カ月間から5カ月間にわたり投与した。今回の対象腫瘍は病理所見より全例移行上皮癌であり、Grade 1~2, pTa~pT1の範囲のものをもちいた。また腫瘍部分として、有茎乳頭状の部分を対象とした。対照群として、同周齢のものにBBN非添加水道水を自由摂取させた正常膀胱をもちいた。

<2>血流測定について

ラットをネブタール麻酔下(30mg/kg体重)にま

図1 水素ガスクリアランス法による血流測定に使用した装置。UH-MeterMHG-D1および記録計

ず前胸部下に不関電極である塩化銀プレートを埋没させる。次に下腹部を最小限切開し膀胱を露出したのち直径100μmの白金線よりなるワイヤー型白金電極UHE-201(ユニークメディカル社)を目的局所に刺入した。これら2本の電極を血流測定測定器であるUH-Meter MHG-D1(ユニークメディカル社)(以下MHG-D1)(図1)に接続して測定値を得た。関電極であるUHE201は先端より約30mmの位置に長さ約1mmに及び白金黒と呼ばれる関電極部が露出しており、同部以外は絶縁コーティングされている。この白金黒の部分は金属の単なる平滑面と比べ、血流と接触する表面積の増大が得られることから感知度の向上を得る仕組みとなっている(図2)。膀胱局所への刺入については、膀胱内尿貯留状態下と排尿直後状態とでは血流量の差異が生じることが考えられること、また実際には膀胱壁が極めて菲薄なために、尿貯留状態下での電極を目的部位に刺入することが困難なことから、膀胱を収縮させた後に関電極刺入操作をおこなった。すなわち23G皮下注射針で膀胱の血管分布に注意して、主血管の損傷をきたさない部分から穿刺導尿を施行した。つぎに実体顕微鏡下に別の23G注射針を膀胱の血流測定目的部に刺通させ、針先端孔より関電極を針筒内に通したのちに注射針を抜去して白金黒部を注意深く組織内に留置した(図3)。

皮下注射針を組織内に刺入する際、また針抜去後に

図2 ワイヤ型白金電極 UHE-201の白金黒部分の拡大写真

図3 膀胱腫瘍部に刺入されたワイヤ型白金電極 UHE-201. 白金黒の部分組織内に留置したところ。

局所出血をきたす場合がある。特に血腫形成をきたした場合では、測定値に誤差が生じるために対象より除外した。これらの刺入時の出血は実験開始当初に多く経験したが、実験回数の増加とともに発生率の減少を認めた。一般に電極刺入に際して電極直径が組織に及ぼす影響は100~300 μ m程度のものであれば、有意の差は生じないとの報告³⁾もあるが、実際に測定してみると、太い径の関電極刺入では局所の組織にあたえる圧迫などによる阻血変化が肉眼的にも明らかであり、また出血をきたす率も高いことから径100 μ mの電極を使用した。電極刺入後は約数分間の局所安静をたもち、電極周囲の生理的状態の安定をMHG-D1をモニターとして確認した。電極周囲の生理的安定状態の悪いものは穿刺部位を変更した。麻酔下ラットの呼吸・循環系の安定状態についての確認は、呼吸数・血流量

図4 加温生理食塩水灌流法および水素ガスクリアランス法のシェーマ

(1) 水素ガスクリアランス法

(2) 温度測定装置：Termo CTM203

灌流温度：膀胱部 平均44℃

灌流速度：平均 10 ml/min

態の肉眼的観察をもっておこない、水素ガスを約10%濃度に保つようにして約20~30秒の間自発呼吸により吸入させた。水素ガス吸入濃度については、高濃度吸入では血流動態に当然変化をおよぼすことが考えられることから、その適正濃度が問題となるところである。水素濃度を10%にすれば循環動態には変化をきたさないとの報告⁴⁾があり、今回はその濃度となるよう水素ガス流出量を調節した。吸入後間もなく記録計にクリアランス曲線の立ち上がりが見られ、曲線が描かれる。MHG-D1測定器により自動演算された値がえられるが、この曲線図を比較検討し得られた演算値の適正を追試した。測定後膀胱刺入電極は毛髪と置換し、膀胱を摘出して10%緩衝ホルマリン固定を行い、光顕的に刺入部位についても追加検討をおこなった。

<3>膀胱の温水灌流

生理食塩水を温水槽で加温し、エラストー針2本を膀胱に刺入し、1本を流出管として膀胱内圧に変化をきたさない様にして加温生理食塩水灌流をおこなった。温度は心筋温モニターTermo CTM-203を使用して測定目的部温度が44℃となるように調節した。灌流速度は10ml/分の流量でおこなった(図4)。灌流時間は60分間とし、温水灌流中の実験動物の呼吸循環動態を観察し、著明な変化が生じた場合には除外した。

結 果

(1) 温水非灌流時における血流

<1>ラット正常膀胱筋層

正常膀胱の血管は肉眼的観察では数本の主血管が頂部方向へ向かって走行しており、膀胱内に尿貯留を認める場合では、膀胱は光透過性の良好な嚢状形態を呈し、微小血管もふくめ滑らかな血管走行および血管網が観察される(図5)。関電極を主血管の直下に刺入して血流を測定したところ、180ml/min/100gの血流値

図5 下腹部正中切開により露出した正常膀胱の拡大写真

がえられた。

同血管の比較的根部で血管結さつ処理をすると、測定値は60ml/min/100gと明らかな値の減少をきたした。同部分において血流を再開通させて再度測定すると、170ml/min/100gと血管結紮処理前の値にほぼ復帰する現象を認めた。

すなわち太い血管部分の極めて近傍の部分ではその血管の血流のためか、ガス拡散に影響を及ぼす現象が起きると考えられることから、これらの現象を回避するための電極刺入点は膀胱前壁から両側壁部の主血管分布部分より可及的距離をおいた位置を選択した。正常膀胱筋層部の血流は 110.9 ± 29.5 ml/min/100g (n=10)であった。

正常膀胱の粘膜層血流測定については電極の粘膜内留置は実際の手技上不可能に近く、測定の信頼性に欠けることから今回は測定外とした。正常膀胱粘膜下層に毛細血管腔をはじめ、比較的多くの脈管分布が認められた。しかし今回の測定では 95.1 ± 32.0 ml/min/100g (n=10)と筋層と比べむしろ低値を示した(図6)。

<2> 担癌膀胱

担癌膀胱の肉眼的所見は図7にみられるがごとく、血管の走行は不正であり、血管の怒張や新生血管の分布とみられる脈管の増加を認め、膀胱尿貯留時の漿膜側よりの透光像では腫瘍発生部分に一致して不透明領域がみられた。特に血管走行形態は正常膀胱の場合と著しく異にした様相を呈しており、少なくとも肉眼的観察からは明らかに膀胱血流量の増加を示唆する所見を得た。筋層測定結果では 138.2 ± 41.7 ml/min/100gと正常膀胱筋層血流に比べ高値を示した。一方腫瘍部血流は 87.7 ± 40.1 ml/min/100gと正常膀胱筋層や粘

図6 ラット膀胱の組織血流量(M±SD)ml/min/100g。正常膀胱筋層および粘膜下層における血流

図7 下腹部正中切開により露出した担癌膀胱の拡大写真

膜下層血流より低値を示し、担癌膀胱筋層における血流と比較して明らかに低値を示した(図8)。

(2) 温水灌流時における血流

これらの対照実験のデータをもととしてラット正常膀胱および担癌膀胱に対し44℃加温生理食塩水灌流による組織血流量の変化を検討した。

<1> 正常膀胱における血流変化

まず筋層での変化につき測定した。温水灌流前後約5分間の37℃～38℃加温生理食塩水灌流では非灌流群との間には有意差は認められなかったが、44℃灌流開始後10分から15分経過時点では多くは血流増加をきたした。一部には血流低下をきたす部分もあった。しか

図8 ラット膀胱の組織血流量(M+SD)ml/min/100g
g. 担癌膀胱筋層および腫瘍における血流

し60分経過後には再び灌流前値へ復帰する傾向がみられ、いずれも灌流終了後の値は灌流前値と大差ない範囲に復帰した(図9(1))。

<2>担癌膀胱における血流変化

(a) 筋層における変化

温水36℃～38℃の灌流下では血流は軽度増加する傾向を示した。

44℃灌流開始後血流は同様に軽度ないし中程度の増加を示す傾向にあった。

灌流60分後には血流は減少傾向を示し、経過をみるに灌流約15分から30分をピークにして血流減少を示すようであり、灌流前に比較して血流の差を認めた。しかし血流の大小差はあれ、正常膀胱筋層と担癌膀胱筋層とはほぼ同様の血流変化パターンを示した(図9(2))。

(b) 腫瘍部における血流変化

44℃灌流前に36℃から38℃で加温生理食塩水灌流を施行して、生理的な温度における血流の変化の有無を確認した。同温度における60分間の温水灌流においては血流の変化は軽度であった。温水灌流を44℃で開始すると約15分経過時点で血流減少をきたすものが約50%に認められた。30分経過後では血流増加例もあるが、多くは減少傾向をしめし、60分経過後では全例に血流減少を認めた。さらに灌流終了5分経過後の血流を追加して測定してみると著明な減少を示しており、なかには血流の停止状態をきたしていると推測される

図9 加温生理食塩水灌流による血流変化。44℃灌流
(1) 正常膀胱筋層

(2) 担癌膀胱筋層

図10 加温生理食塩水灌流による血流変化。担癌膀胱、44℃灌流

腫瘍部分もみられた(図10)。すなわち温熱による腫瘍部血流の低下とその血流減少が持続性である可能性を示唆する結果を得た。肉眼的観察では、温水灌流前の腫瘍の表層は滑らかであり微細な血管が透視されそれらの血流も良好にみられた(図11)。温水灌流を60分施

図11 加温生理食塩水灌流前の膀胱腫瘍の肉眼的観察。実体顕微鏡下に膀胱を切開して撮影

図12 加温生理食塩水灌流後の膀胱腫瘍の肉眼的観察。実体顕微鏡下に膀胱を切開して撮影

行後では、腫瘍の表層は白濁し表層部分の剝離脱落がみられ、微細血管は不明瞭となり腫瘍の色調は暗赤褐色に変化して、顕著な局所変化を認めた(図12)。灌流60分後の光顕学的所見では、腫瘍表層細胞の剝離、細胞膨化、破壊所見が随所に認められ、腫瘍間質においては浮腫、微小血管の拡張、血栓形成などを呈しており、なかには血管腔構造のゴースト化などの著明な変性所見がみられた(図13)。これらの変化は腫瘍の部分により形態的に侵襲程度の軽微な箇所もあり、必ずしも腫瘍全体に均一な障害変化を認めるわけではないが、温水灌流による腫瘍構造上の著しい変化は腫瘍細胞レベルにも増して間質の場でも前述のごとき著明な変化を認めた。

図13 温水灌流施行後の膀胱腫瘍の光顕像。H-E染色, $\times 40$ magnif.

考 案

水素ガスクリアランス法は1964年に Aukland¹³⁾により、局所血流測定の新しい方法として報告されて以来、動物実験での多くの臓器血流測定のみならず人体においても同一個体で多臓器の血流測定を同時に施行することができること、水素ガスの再循環を無視できること、生体にとって水素ガスは使用範囲内の濃度では無害であるなどの利点から繁用されている。血流量算出の基本的理論としては、Kety⁹⁾の blood tissue exchange theory と Zierler¹¹⁾の stochastic analysis とがあり、また Kety の理論を基礎として Lassen らは脳を対象として環境因子の異なる組織における血流の算出に関して、理論式を導き出している。いずれにしてもこれらはクリアランス理論に基づいているため、原則から逸しない条件のもとで血流測定を行うことが必要とされている。しかし実際生体上ではこれらの原理に則した諸条件を完璧に満たすことは不可能と考えられ、例えば胃、腸管などの臓器においてはそれらの生理学的または解剖学的見地からしても、Kety らの仮定条件を満たすことは困難であるが、筋肉⁶⁾、腸⁷⁾⁸⁾、脳⁴⁾、胃⁹⁾、肝¹⁰⁾などの臓器血流をはじめ腫瘍組織の血流がすでに水素ガスクリアランス法で測定され、それらの測定値は十分に評価されている。

したがって、多少の原則条件からの逸脱の可能性があっても、同一条件下での血流量算定をおこない、それらの諸環境を考慮して得られた値を解析、検討すれば、その目的は十分達しえるものと考えられる。

今回のように膀胱灌流をおこなうことにより、膀胱組織に与える影響が生じたとしても、前述したとき Lassen ら¹²⁾の理論に準じて考えれば膀胱組織の血流

図14 水素ガスクリアランス曲線

(a): 正常膀胱筋層における非灌流時の測定例
(b): 正常膀胱筋層における灌流時の測定例

を算出できるものと判断した。実際に膀胱に灌流を施行して得られた曲線は図 14b のごとく明らかな biexponential なものとしてえられた。灌流を施行せず測定した場合は図 14a のごとくほぼ monoexponential として得られ、その非灌流時血流量は灌流時測定における slow component で得られる値に近似することから、今回の灌流下血流測定で得られたクリアランス曲線の 2 相成分のうちの slow component に求める組織血流量が反映しているものと考えた。従って実験測定上、曲線よりの演算にあたっては slow component から血流量を求めた。

スクリアランス法を用いた他臓器の血流量測定結果の報告をみると、犬の小腸固有筋層では 0.81 ± 0.24 ml/min/g 粘膜粘膜下層側では 1.31 ± 0.38 ml/min/g 大腸固有層で 0.92 ± 0.23 ml/min/g 大腸粘膜粘膜下層側で 1.29 ± 0.37 ml/min/g であったと重松ら⁸⁾は報告しており、種、臓器は異なるといえども、膀胱の血流と著明な差異は認められなかった。

水素ガスクリアランス測定値に影響を与える諸因子として、PH、酸素分圧、温度、アスコルビン酸などについて検討が加えられ¹³⁾、酸素分圧の変動を除いては他の影響因子は無視しえる程度のものといわれており、今回の温熱温度範囲では拡散電流変化は実測上では無視しえる程度と考えられる。

一方、本法における問題点として局所に関電極刺入をおこなわなければならない、従って組織損傷による出血や浮腫性変化は測定値に影響をあたえるものであり、今回実験にあたっては腫瘍や浮腫を著明に來したものは測定対象より除外した。また電極径の差による測定値の差異の有無については $100\mu\text{m} \sim 300\mu\text{m}$ 程度の範囲では測定値に差は生じないとの報告もあるが、太い電極刺入はそれなりの局所組織変化を与えることを確認し、局所の障害を最小限にとどめるためにも今回の実験においては $100\mu\text{m}$ 径の関電極を用いた。さらに問題となる点は、膀胱灌流下の水素ガスクリアランス測定の際に、実測血流への影響が灌流という操作で生じるか否かである。一般に血流量の多い場合には血流量測定差は生じ易いと考えられている。

それ以外にも太い動脈からの水素ガスの逸脱が初期の急速洗い流し曲線部分として表現されてくるとの考えもあるが、今回の実験でも太い脈管近傍に電極を留置して測定すると、高血流量値が実測され、この脈管を結紮することにより周囲組織血流と近似の血流に低下してしまうという事実より、これらの現象を裏付ける結果を得た。さらに灌流下でのクリアランス測定については問題となるところであるが、条件的には、灌流の場を比較的高速の血流を有する部分と考えれば、灌流の場と膀胱組織という 2 種の違った部分における

総合的血流測定と解釈することができ、したがって fast component である初期洗い流し曲線部分のなかに灌流流量が反映していると考えられる。また求めるべき膀胱組織の血流量は slow component に反映されていると仮定し実際の灌流下における測定を施行して比較したところ、非灌流時の測定値と灌流下測定曲線の slow component より得られた測定値とは近似値を示した。以上のことから、灌流下においても今回の条件下でおこなえば組織血流測定は可能であり、正しい結論が導きだせるものと判断した。

悪性腫瘍の治療には放射線や超音波などの物理的作用を利用した方法をはじめ、化学的作用、免疫学的作用、などの様々の方法があるが、なかでも温熱療法は特異な性格を有している。

泌尿器科領域においては膀胱がその解剖学的特性からして早くより温熱療法の対象となり、多くの基礎的、臨床的検討がなされてきた¹⁾²⁾¹⁵⁾¹⁸⁾¹⁹⁾。

温熱療法は細胞レベルでの作用機序解析については多くの研究者により報告されてきたごとく、加温による細胞致死効果は明白な事実である¹⁶⁾²⁰⁾²³⁾。in vitro で細胞株を用いた腫瘍細胞の温度感受性、細胞周期依存性、PH への影響などが詳細にわたり解析されていて、一般に43℃を境界として細胞に対する障害効果が著明に現れるということは多くの報告者の一致するところである。

しかし実際の温熱治療効果は腫瘍細胞レベルの障害のみならず、腫瘍間質ないしは腫瘍脈管系での障害が加わっているものと考えられる。本来、腫瘍の構造は正常組織とは異なるとされており、腫瘍細胞の発育および増殖とそれに伴う血管系の発育は以下に述べるごとく正常組織と同質のものではない。腫瘍組織には当然その栄養血管が分布しており、近年、腫瘍組織における微小循環レベルでのそれらの循環動態の特性が解明されつつある²²⁾²³⁾。腫瘍血管は宿主本来の血管から誘導され形成されるが成熟することではなく、時として宿主血管も腫瘍組織内に取り込まれ、本来の機能を失い腫瘍血管化していく²³⁾。また腫瘍血管は staging によっては、形態のみならず血流量や血管透過性機能なども微妙に変化するため、腫瘍においてはその循環動態の解析や抗腫瘍剤の組織内濃度を論ずる際には留意しなくてはならない点であるといえる²³⁾。腫瘍組織の血流は個体差が大きく、一概にはいえないが、血流量が極めて少ない部分や時として血流のみられない腫瘍部分も観察されるという報告は興味深い²²⁾²³⁾。また腫

瘍血管には宿主血管に存在する様な正常の構造はなく、毛細血管レベルや細動脈レベルでも筋層構造が欠落しており、血管機能としての種々の刺激系に対する反応が認められないとされている²⁴⁾。

今回の組織血流測定ではラット正常膀胱筋層組織血流量は $110.9 \pm 29.5 \text{ ml/min/100g}$ という値がえられた。これは他臓器の筋層、特に胃、腸の血流量と大差なく血流という面からの臓器特異性は認められなかった。担癌膀胱筋層では $138.2 \pm 41.7 \text{ ml/min/100g}$ と、正常膀胱筋層より高血流を示した。一方、膀胱腫瘍部血流量は $81.7 \pm 40.1 \text{ ml/min/100g}$ と比較的低血流を示し、担癌膀胱筋層で血流が多いにもかかわらず、腫瘍組織での血流が多くないという矛盾が生じた。腫瘍組織の血流が増加していない理由を考えるについては、腫瘍組織の不均一性や血管構築の特殊性などのいくつかの要因を考慮しなくてはならないが、ひとつに正常粘膜組織の体積と腫瘍組織の体積の絶対量比を考えてみる必要がある。すなわち対象の膀胱腫瘍は乳頭状発育をしており、正常上皮粘膜の体積と比べて明らかに多く、従って膀胱筋層の血流が増加していても即、腫瘍の単位体積あたりの血流が増加しているとはいえず、腫瘍組織に分散した循環血流量は逆に低いこともありうる。

一般に腫瘍血流量についての報告をみると、多くは担癌臓器の血流量に比較して低値を示している。例えばラット腹水肝癌 AH109A の移植固型腫瘍においては、その測定する部位により血流量の極めて少ない部分や、血流の認められない部分が多く観察されたと言う報告もみられる²²⁾。これらの理由として腫瘍増大に伴う中心壊死巣の増大のためと解釈されているが、今回の実験でもちいられた腫瘍では、温熱療法前において壊死性変化は認められず、腫瘍における低血流の理由として他要因を考えることが妥当である。前述したこと以外に、腫瘍血管の解剖生理学的な質変性も推測しえるものであり、解明されるべき重要点であると考ええる。本実験で最も重要なこととして腫瘍部分での血流は、温水灌流処置により著しく血流の減少をきたし、温水灌流後もその現象が持続したことである。この効果、すなわち温熱効果は腫瘍組織血流を著しく減少させ、結果的に腫瘍細胞レベルのみならず腫瘍組織をも壊死におちいらせるであろうことが判明した。一方、正常膀胱および担癌膀胱筋層ではこのような明らかな不可逆的血流変化は認められなかった。

以上の実験結果は文献的に示されている腫瘍血管の

物理的, 化学的作用に対する無反応性を証明するとともに腫瘍血管系における温熱作用の特性である腫瘍血管への易障害能を示すものである。すなわち *in vitro* における温熱の癌に対する作用を腫瘍間質の立場よりとらえ, さらに膀胱腫瘍に対する温熱療法の効果を解明したものと考える。

結 語

Wistar 系ラットの正常膀胱および担癌膀胱の組織血流を水素ガスクリアランス法を用いて測定した。

その結果, 膀胱筋層の組織血流は正常では 110.9 ± 29.5 ($M \pm SD$) ml/min/100g であり, 担癌膀胱では 138.2 ± 41.7 ($M \pm SD$) ml/min/100g と担癌状態では膀胱筋層の血流は増加していることが確かめられた。

また膀胱粘膜下層部の血流は 95.1 ± 32.0 ($M \pm SD$) ml/min/100g であり, 膀胱腫瘍部では 81.7 ± 40.1 ($M \pm SD$) ml/min/100g と腫瘍部分は低血流の傾向を示した。

さらに正常膀胱および担癌膀胱に対し 44°C 温水灌流を施行しそれぞれの局所血流量をみた。筋層の血流変化は正常, 担癌膀胱との間に差異はみられなかったが, 腫瘍部血流は60分温水灌流後には著明に減少する傾向を示した。これらの組織血流減少は温熱による腫瘍部の微小循環血流障害に基づくものであり, 腫瘍部分に不可逆的な変性をもたらす主要な要因であると考えた。

稿を終わるにあたり御指導, 御校閲を賜った岸本 孝教授および岡田清己教授に深甚なる謝意を表します。

なお本論文の要旨は昭和60年4月第73回日本泌尿器科学会総会において発表した。

文 献

- 1) 岸本 孝, 岡田清己, 滝本至得, 北島清彰, 熊谷振作, 新井律夫, 中村洋三, 広田米造, 清水伸一, 森田博人: 膀胱腫瘍に対する温水療法 (Hyperthermic treatment) の研同。第一報。日泌尿会誌, 66, 485—492, 1975.
- 2) 岡田清己, 清滝修二, 川添和久, 佐藤安男, 田原亮一, 木下正之, 熊谷振作, 北島清彰, 尾上泰彦, 滝本至得, 岸本 孝: 膀胱腫瘍に対する温水療法の研究。第二報。日泌尿会誌, 68, 128—135, 1977.
- 3) 重松 宏, 堀江良秋, 佐藤正典, 三島好雄: 水素ガスクリアランス法, 呼と循, 28(9), 993—997, 1980.
- 4) 田村 晃, 浅野孝雄, 卓 允信, 間中信也, 平川公義, 佐野圭司: 水素ガスクリアランス法による脳血流量の測定—方法および Venous Out Flow 法との相関—。脳と神経, 30, 47—54, 1978.
- 5) Kety, S.S. and Schmidt, C.F.: The determination of cerebral blood flow in man by the use of nitrous oxide in low concentrations. *Amer. J. physiol.*, 143, 53—66, 1945.
- 6) 中村 隆, 鈴木敏己, 立木 楷, 富永詩郎: 水素ガス法による骨格筋の循環動態に関する研究。脈管学, 7, 101—103, 1967.
- 7) 佐藤重樹: 水素ガスクリアランス法による小腸局所血流量と虚血腸管生存性の関係について。脈管学, 20, 777—783, 1980.
- 8) 重松 宏, 堀江良秋, 佐藤正典, 宮沢幸久, 三島好雄: 腸管壁の局所血流測定について—水素ガスクリアランス法を中心として—。日本消化器病学会雑誌, 78(4), 42—49, 1981.
- 9) 北島政樹, 相馬 智: 胃微小循環自動調節からみた急性胃潰瘍の発生の病態生理について。脈管学, 24(1), 5—9, 1984.
- 10) 竹島 徹, 岩崎洋治: 水素ガスクリアランス式組織血流計による肝血流測定 (第一報)。外科減療, 13(6), 701, 1980.
- 11) Zieler, K.L.: Equation for measuring blood flow by external monitoring of radioisotopes. *Circul. Research*, 16, 309—321, 1965.
- 12) Lassen, N.A., Høedt-Rasmussen, K., Sørensen, S.C., Skinhøj, E., Cronquist, S., Bodforss, B., Eng, E. and Ingvar, D.H.: Regional cerebral blood flow in mtn determined by krypton. *Neurology*, 13, 7199—727, 1963.
- 13) Aukland, K., Bower, B.F. and Berliner, R.W.: Mesurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circ. Res.*, 14, 164—187, 1964.
- 14) 田崎義昭, 沢田 徹: 脳血流測定法—Kety の理論と Zieler の理論—。脳循環, 2, 1351—1359, 1976.
- 15) 中嶋和喜, 久住治男, 手林忠雄, 内藤兄輔, 三崎俊之, 黒田恭一: 膀胱癌に対するブレイオマイシン加温熱療法。泌尿器科紀要, 26, 1153—1161, 1980.
- 16) Levine, E.M. and Robbins E.B.: Differential temperature sensitivity of normal and cancer cells in culture. *J. Cell. Physiol.*, 76, 373—380, 1970.
- 17) Giovannella, B.C., Morgan, A.C., Stehlin, J.S. and Williams, L.J.: Selective lethal elect of supranomal temperature on mouse sarcoma cells. *Cancer Res.*, 33, 2567—2579, 1973.
- 18) Kim, J.H. and Hahn, E.W.: The radiosensitization of hypoxic tumor cells by hyperthermia. *Radiology*, 114, 727—728, 1975.
- 19) Yatvin, M.B.: The influence of membrane lipid composition and procaine on hyperthermic death of cells. *Int. J. Biol.*, 32, 513—521, 1977.
- 20) Auersperg, N.: Differential heatsensitivity of cells in tissue culture. *Nature*, 209, 415—416, 1966.

- 21) Wong, R.S.L. and Dewey, W.C.: Molecular studies on hyperthermic inhibition of DNA synthesis in chinese hamsters ovary cells. *Radiat. Res.*, 92, 370—395, 1982.
- 22) 鈴木磨郎, 堀 勝義, 阿部郁夫, 斉藤洋子, 佐藤春郎: 腫瘍血管の機能病理学的研究. *癌の臨床*, 28, 592—598, 1982.
- 23) 鈴木磨郎, 堀 勝義, 阿部郁夫, 斉藤洋子, 佐藤春郎: 悪性腫瘍における脈管の態度 (2) 悪性腫瘍と微小循環. *脈管学*, 19No. 4, シンポ3, 233—236, 1979.
- 24) 鈴木磨郎, 堀 勝義, 阿部郁夫, 斉藤洋子: シンポジウム6, 癌化学療法の新たな展開を求めて, 腫瘍血管の機能病理的特性に基づいた化学療法. *癌と化学療法*, 12No.3, Part2, 751—756, 1985.
- (1987年9月1日受理)
-