骨肉腫担瘤マウスに対するレーザーサーミア

脇田 郷, 松井 宣夫, 太田 弘敏,
大塚 隆信, 服部 正広, 山田 邦雄

名古屋市立大学医学部整形外科

Experimental Study of Laserthermia on Osteosarcoma Bearing Mice

Satoshi Wakita, Nobuo Matsui, Hirotooshi Ohta, Takanobu Ohtsuka, Masahiro Hattori and Kunio Yamada

Department of Orthopedic Surgery, Nagoya City Univ. Medical School

ABSTRACT

We have investigated the effects of local hyperthermia using Nd:YAG laser and shortwave radiofrequency. Groups of C3H/He mice transplanted tumors (Dunn osteosarcoma) were treated with local hyperthermia. Heating was performed for 15 minutes in laserthermia and 60 minutes in radiofrequency. After the treatment with each heating systems at 42.5~43°C, animals were subsequently sacrificed at 3 and 7 days. We observed the pathohistological and electron microscopical changes in the tumor cells and tissue. In spite of using different heating systems and treating different heating time, almost same tumor destructive changes were observed. These results suggest that hyperthermia is one of the effective treatment methods for osteosarcoma and in addition to heat, Nd:YAG laser energy may have another effect.

はじめに

近年, 悪性腫瘍に対する局所温熱療法は手術療法, 化学療法, 放射線療法などとの併用療法として用いられ, その有用性が評価されている。しかし骨肉腫など整形外科領域における温熱療法に関する報告例は少なく, 治療効果, 作用機序など不明な点が数多く残されている。今回我々は, レーザー加温とRF誘電加温による局所温熱療法が骨肉腫細胞に及ぼす影響と加温方法による相違について, 実験的に検討した。

実験材料・方法

使用した動物は3週令C3Hマウスで, この背部皮下にDunn骨肉腫を移植し, 腫瘍径が約1.5cmになったところでペントバルビタール(ネンブタール, 大日本製薬)で腹腔内麻酔を行い局所温熱療法を行った。加温はSLTコンタクトレーザーCL50(SLTジャパン社製)と, 実験用RF誘電加温装置RF-iv(山本ビニター社製)の2つの装置を用いて行った。レーザー加温はセラミック製穿刺型高拡散マイクロチップを皮膚に小切開を加え腫瘍内に穿刺し, 2Wの出力でNd:YAGレーザー(波長1.06μm)を照射し, 誘電加温(8MHz)は直径20mm(陽極)と30mm(陰極)の電極間に腫瘍をはみ4W~7Wの出力で行った。温度測定は腫瘍内に温度センサーを刺入して行い, 抗腫瘍効果が認められている42.5°C~43°Cに維持し, 加温時間はレーザー加温15分, 誘電加温60分とした。

それぞれの加温方法につき病理組織標本, 電頭標本を加温後3日および1週で採取し比較検討した。電頭標本については, 温熱療法により生じた壊死組織に隣接する腫瘍組織より採取した。

結 果

誘電加温群の病理組織標本では、加温電極直下の部位を中心に表層部まで出血を伴う壊死と結合組織の増生、浮腫がみられたが、腫瘍底部の深部筋層に壊死はみられず辺縁部には腫瘍細胞が残存していた(Fig.1)。加温後1週を経過すると残存した辺縁部腫瘍細胞の増殖がみられ、血管の新生、結合組織の増生も観察された(Fig.2)。電顕標本ではミトコンドリアの膨化、破壊とクロマチンの凝集、核の粗造化、細胞間隙の拡大などの細胞機能の低下を示す所見がみられ、これらの変化は加温後1週を経過しても観察された(Fig.3)。

レーザー加温群では刺入したレーザープローブを中心とした腫瘍組織の出血を伴う壊死が観察され(Fig.4)、加温後1週を経過すると、残存した辺縁部腫瘍細胞の増殖がみられ壊死領域内には結合組織の増生もみられた(Fig.5)。電顕標本ではミトコンドリアの膨化、破壊など誘電加温群と同様の変化がみられた(Fig.6)。

Fig. 1 RF誘電加温 (3日後)

Fig. 2 RF誘電加温 (1週後)

Fig. 3 RF誘電加温 (電顕像)

Fig. 4 レーザー加温 (3日後)

Fig. 5 レーザー加温 (1週後)

Fig. 6 レーザー加温 (電顕像)

以上の結果より、温熱療法単独では、いずれの加温方法でも腫瘍端辺縁部に生腫瘍細胞が残存するため、より強い抗腫瘍効果を得るために化学療法を併用した温熱化学療法を追加していった。化学療法剤は2種類のリン脂質を用いた熱感受性リポソーム内にシスプラチンを包埋したTAC-1043 (武田薬品より供与)を使用し、温熱療法の直前に5 μ g/gを尾静脈より静脈内に投与した。TAC-1043は38 $^{\circ}$ C以下でのシスプラチン放出率は10%以下であるが、41 $^{\circ}$ C以上では瞬時にリポソームが融解し包埋されたシスプラチンの70%以上を放出する特性を持っている (Fig. 7)。この化学療法剤を併用した結果、RF加温群、レーザー加温群の両群に温熱療法による壊死領域が拡大する傾向がみられ、辺縁部の残存腫瘍細胞内には、点状する小壊死巣がみられた。この辺縁部にみられた小壊死領域は、化学療法の効果と考えられた (Fig. 8)。

Fig. 7 TAC-1043

熱感受性リポソーム包埋シスプラチン

Fig. 8 温熱化学療法 (3日後)

考 察

悪性腫瘍に対する温熱療法の歴史は古く、近代的なものは1866年Busch¹⁾の顔面に生じた肉腫が丹毒による発熱により消失したという記述に始まるとされており、1963年にはCrile²⁾が実験腫瘍に対するWater Bathを用いた温熱効果について報告している。これ以後、加温技術の進歩により、さまざまなエネルギーが温熱療法に利用されている。しかしそれらの作用機序や骨肉腫に対する効果などについては不明な点が数多く残されている。今回我々の用いたRF誘電加温では深達性や加温範囲が大きく、非侵襲的加温という点ではレーザー加温に優れると思われるが、一方、Nd-YAGレーザー加温ではポータブル機器で行えるため専用室は不要であり、短時間の処置で効果が得られ深部の小腫瘍も治療可能である利点を持っている。

従来、温熱療法による抗腫瘍効果は43 $^{\circ}$ C前後の加温で得られ腫瘍血管系の障害が大きく関与していると報告され、Emamiら³⁾は、ラットの横紋筋肉腫に対するRF波を用いた局所温熱療法において最初に腫瘍血管系の変化が生じたと報告している。今回、我々の実験においても腫瘍内出血などの腫瘍血管への作用が観察され骨肉腫に対する温熱療法の有用性が示唆された。レーザーサーミア群では、RF加温群に比べ短時間の加温処置で同等の抗腫瘍効果が発現した。これは田尻ら⁴⁾がヒト肝癌を用いた実験で指摘したNd-YAGレーザーエネルギー自体の持つ殺細胞効果の関与を示唆している。

温熱による腫瘍細胞の微細構造に対する影響について印牧ら⁵⁾はLewis肺癌を用いた実験でレーザーサーミアの最初の標的器官がミトコンドリアである可能性について述べており、楊ら⁶⁾はヒト胃癌細胞株に対する恒温水による加温実験の初期像として腫瘍細胞の離開や核、クロマチン、ミトコンドリアなどの変化について述べている。骨肉腫細胞では両加温群にミトコンドリアの膨化、破壊などこれらの報告例と類似した変化が観察され、レーザーエネルギーによる標的器官の確認は困難であった。しかし前述の如くレーザー加温ではRF加温に比し短時間の処置であるにもかかわらず、両者には同様な抗腫瘍性的変化が観察されて

おり、加温処置による抗腫瘍効果の発現に先行してレーザーエネルギーによる障害が発現するとも推測された。また、今回温熱化学療法に用いた化学療法剤TAC-1043は、加温部でシスプラチンが放出されるため、より有効なシスプラチンと腫瘍細胞との接触が可能となりRF加温やレーザー加温などの局所温熱療法の併用療法薬剤として有用な薬剤であるとおもわれた。

結 語

- 1) RF 誘電加温とNd-YAG レーザー加温の骨肉腫に及ぼす組織学的影響につきマウス移植腫瘍(Dunn osteosarcoma)を用い実験的に検討した。
- 2) 加温処置により骨肉腫組織には血管損傷などの変化がみられ、電顕的にも微細構造に細胞障害性の変化が観察された。これらにより骨肉腫に対する温熱療法の有用性が示唆された。
- 3) レーザーサーミア群ではより短時間の加温処置で抗腫瘍効果の発現がみられ、骨肉腫に対するNd-YAGレーザー自体が持つ殺細胞効果の存在が示唆された。
- 4) 熱感受性リポソーム包埋シスプラチンTAC-1043は局所温熱療法の併用薬剤として有用であると考えられた。

文 献

- 1) Busch, W.: Über den einfluss welchen heftigere Erypipelen Zuweilen auf organisierte Neibildungen ausuben. Verhandeln Nature Press Rhein Westphal, 23: 28-35, 1866.
- 2) Crile, G., Jr.: The effects of heat and radiation on cancers implanted on the feet of mice. Cancer Res., 23: 372-380, 1963.
- 3) Emami B., Nussbaum G.H., TenHaken R.K., Hughes W.L.: Physiological effects of hyperthermia: Response of capillary blood and structure to local tumor heating. Radiology, 137: 805-809, 1980.
- 4) 田尻久雄, 齊藤大三, 塩谷英史, 他: 光化学療法および局所温熱療法の検討- 実験的研究を含めて-. Gastroenterol. Endosc., 28: 2282-2289.

1986.

- 5) 印牧直人, 恒川洋, 伊藤圓: Nd:YAGレーザーを用いたレーザー温熱療法(レーザーサーミア)に関する病理組織学的研究, 日本レーザー医学会誌, 10: 11-18, 1990.
- 6) 楊虎川, 胡慶和, 鄂征: ハイパーサーミア(40~44°C)によるヒト胃癌細胞株KATO-IIIの生物学的反応と微細構造の変化について, 東京医学, 92: 114-122, 1985.