

## 抗癌剤門脈内反復投与による肝転移予防の実験的研究

山梨医科大学第2外科

岩崎 甫 中込 博 上野 明

都立墨東病院外科

梅 北 信 孝

### AN EXPERIMENTAL STUDY OF REPETITIVE INTRAPORTAL INFUSION CHEMOTHERAPY AS A PROPHYLACTIC TREATMENT OF LIVER METASTASIS

Masaru IWASAKI, Hiroshi NAKAGOMI and Akira UENO

Second Department of Surgery, Yamanashi Medical College

Nobutaka UMEKITA

Department of Surgery, Tokyo Metropolitan Bokutou Hospital

抗癌剤の門脈内反復投与による肝転移予防効果について VX2腫瘍とアドリアマイシンを用いて実験的に検討した。家兎の門脈にカテーテルを留置し、VX2浮遊液(3~4×10<sup>4</sup>個/ml) 1mlを注入し、門注群(N=6)には当日から1週間0.8mg/kg アドリアマイシンをカテーテルより投与し、対照群(N=6)には同期間生食水を投与した。4週間後、門注群は全例生存し肝転移も2羽に散在性に認めただけであったが、対照群では全例に多数の肝転移を認めた。平均肝重量は門注群107g、対照群350gであった。抗癌剤の門脈内反復投与方法は明らかな肝転移抑制効果を示し、これを消化管癌術直後から開始することにより肝転移を予防できる可能性のあることが示唆された。

索引用語：抗癌剤門脈注入法、肝転移、アドリアマイシン、VX2腫瘍

#### はじめに

消化管悪性腫瘍における肝転移は予後を決定する大きな因子の一つであり、発生を予防もしくは抑制することができれば成績の向上がもたらされることが予想される。この肝転移は門脈を経由して発生するとされており、門脈内に腫瘍細胞が流出する機会はその原発巣手術時が最も多いと考えられる<sup>1)</sup>。したがって手術直後から門脈内へ反復して抗癌剤を投与すれば、これらの逸脱した腫瘍細胞の肝組織内への着床を防止し、肝転移巣の形成を予防できる可能性がある。

この抗癌剤の門脈内反復投与は、臨床的にはすでに Taylor らにより試みられており、投与群に肝転移の発生が少ないことが報告されている<sup>2)3)</sup>。しかし、これは経過観察による結果の報告であり、この方法による肝転移の予防・抑制効果についての基礎的検討は報告さ

れていない。

今回、私どもは家兎可移植性 VX2腫瘍を用い、また抗癌剤として肝組織への集積性が高いとされるアドリアマイシン(以下 ADR と略す)を選び、抗癌剤の門脈内反復投与による悪性腫瘍の肝転移予防・抑制効果の有無を実験的に検討したので報告する。

#### 方法

##### 1. VX2浮遊細胞液の作成

VX2肝癌家兎(協和発酵研究所より提供を受けた)をネブタール25mg/kg 静注にて全身麻酔を施し、右下肢に移植・生育した VX2腫瘍を切除し、壊死となっている腫瘍中央部を捨て、白色の硬い腫瘍辺縁部を選び、これを CMF-Hanks 液中にて眼科用剪刀を用いて、ほぼ5~6mm 大の腫瘍片を作成した。この腫瘍片をメスにて細切後メッシュにて濾過し CMF-Hanks 液を加えて希釈した。Neubauer 血球計算板にて腫瘍細胞数を計測し、3~4×10<sup>4</sup>個/ml に調整し、これを VX2細胞浮遊液として次の実験に用いた。

2. ADR 門脈内反復投与による肝転移抑制実験

体重2.5~3.5kgの家兔 (Japanese white) 12羽を用い、ネブタール25mg/kg 静注にて全身麻酔し自発呼吸下に開腹、前腸間膜静脈の分枝である回盲腸静脈を露出、この静脈よりヘパリン・コーティング・カテーテルを門脈へ挿入・固定した。カテーテルは兎による破損防止と以後の薬剤注入のため開腹創から皮下を經由し背部へ誘導・固定した。固定後このカテーテルを通して、先に準備した VX2浮遊細胞液1mlを門脈内へ注入した。この後、家兔を同数ずつ抗癌剤門脈内反復投与群 (以下門注群と略す) と、生理的食塩水投与群 (以下対照群と略す) に分けた。すなわち門注群とした家兔には VX2細胞注入1時間後に0.8mg/kg ADR を門脈内留置カテーテルを通して注入し、その後ヘパリン加生食水1mlにて洗浄しカテーテルの閉塞を予防した。以後連日6日間、1日1回同量の ADR をカテーテルより注入した。これに対し対照群では生理的食塩水を同期間同様に2ml ずつ注入した。VX2細胞投与後は両群とも通常の方法にて飼育して4週間まで観察した。4週間後、生存した家兔も犠牲死させ、両群の個々の症例につき生存日数・肝転移状況・肝重量を比較検討した。

結 果

門注群：6羽全例が4週間生存した。肝転移状況は、4羽では肉眼的には肝転移巣を全く認めなかった。他の2羽の肝表面には散在性に数個の白色結節が観測され、組織学的検索により VX2細胞を認め転移巣と診断された。肝臓の重量は肝転移の認められなかった家兔で80~100g、平均85gで、散在性に転移を認めた2羽では100~200g、平均150gであり、門注群全体の平均肝重

図1 VX2投与4週間後の門注群(No. 3)の摘出肝標本。肝臓表面に転移巣の形成は認められず、ほぼ正常肝の状態を示した。肝重量は80gであった。



量は107gであった (図1)。

対照群：4週間生存した家兔は2羽のみで、他はそれぞれ15日目、17日目、25日目、26日目に腫瘍死した。腫瘍死亡時および犠牲死時の肝臓の検索では、すべての症例で肝臓の著しい腫大と直径1~2cmの多数の白色結節を認め、VX2細胞による転移巣と診断された。肝臓重量は270~420g、平均350gであった (図2)。

両群の結果をまとめて表1に示す。平均肝重量は両群間で有意な差を示した (p<0.01)。

考 察

肝臓は悪性腫瘍における血行性転移の好発部位であり、特に消化管悪性腫瘍では剖検時に約半数の症例に肝転移が認められる<sup>4)</sup>。肝転移をきたした症例の予後は現在でもきわめて不良であり、北條は<sup>5)</sup>大腸癌の肝転移非切除例で3年生存例は140例中4例のみであり

図2 VX2投与4週間後の対照群(No. 11)の摘出標本。肝臓全体に多数の転移巣が認められ、著しい腫大を示した。肝重量は290gであった。

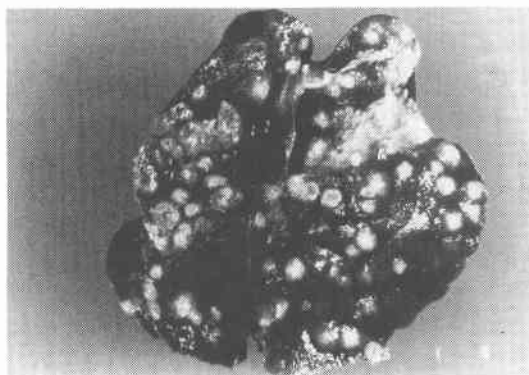


表1 VX2投与後4週間までの門注群および対照群での生存日数・肝転移状況・肝重量および両群の平均肝重量(S;生存,+;死亡)。門注群は全例生存したが、対照群では生存例は2例のみであった。転移巣の形成も両群間で著しい差を認め、平均肝重量は有意な差を示した (p<0.01)。

	生存日数 (days)						肝転移 状況	肝重量 (g)	平均 肝重量
	0	5	10	15	20	25-28			
門注群	No. 1	●●●●●●●●●●●●●●●●	S	(-)	80	107 g			
	No. 2	●●●●●●●●●●●●●●●●	S	(-)	80				
	No. 3	●●●●●●●●●●●●●●●●	S	(-)	80				
	No. 4	●●●●●●●●●●●●●●●●	S	(-)	100				
	No. 5	●●●●●●●●●●●●●●●●	S	散在	100				
	No. 6	●●●●●●●●●●●●●●●●	S	散在	200				
対照群	No. 7	●●●●●●●●●●●●●●●●	+	多数	350	350 g			
	No. 8	●●●●●●●●●●●●●●●●	+	多数	420				
	No. 9	●●●●●●●●●●●●●●●●	+	多数	390				
	No. 10	●●●●●●●●●●●●●●●●	+	多数	380				
	No. 11	●●●●●●●●●●●●●●●●	S	多数	290				
	No. 12	●●●●●●●●●●●●●●●●	S	多数	270				

5年生存例はなかったと報告している。

消化管悪性腫瘍の肝転移は、そのほとんどが門脈經由とされており<sup>6)</sup>、腫瘍細胞の門脈内への逸脱は腫瘍の増大に伴う自然経過を別とすれば、手術操作時の場合が最も大きいと考えられる<sup>7)</sup>。Turnbullによる isolation technique での成績の向上<sup>8)</sup>は、逆に術中に細胞の逸脱する機会の多いことを示しているといえる。これらの遊離した細胞は数日の経過の後に着床して微小転移巣を形成する<sup>9)</sup>ことから、腫瘍細胞が個々の細胞単位で存在している手術直後の段階で抗癌剤を作用させれば腫瘍細胞の着床を妨げて、肝転移の形成を未然に防止できる可能性があり、この点に門注療法の意味があるといえる。

腫瘍細胞は小葉間静脈または洞様毛細血管で捕捉されると考えられる。洞様毛細血管には肝動脈からの血流もあることから抗癌剤の動脈内注入(動注)でも門脈内注入(門注)と同様な効果があるものと思われる。しかし門注ではいずれかの門脈の末梢枝から抗癌剤を投与すれば、そのすべては肝臓へ流入するのに対して、動注では肝臓以外の臓器への抗癌剤の流入を防止する必要があり、いまだ転移巣の形成されていない状態での予防的投与には門脈からの注入法が合目的的といえる。また、すでに形成された肝転移巣はそのほとんどが肝動脈支配となるため門脈からの薬剤投与では治療が困難であるが、被膜や小転移巣は門脈支配の部分もあり<sup>10)</sup>、門注療法は動注療法の補助療法としての意義もあると思われる。

これまでにもこのような観点から門脈内への抗癌剤投与は試みられていたが、多くの場合は術中の1回投与であった<sup>11)</sup>。梅北らによれば<sup>12)</sup>抗癌剤の門脈投与による有効血中濃度の持続時間は短く30分後にはほぼ投与前のレベルにもどることが示され、1回のみ投与では門脈中の腫瘍細胞の多くを死滅させることは困難と推測される。Taylor らの良好な結果<sup>23)</sup>からも、術後に門脈内へ散逸した癌細胞の肝組織への着床を防止するためには一定期間の抗癌剤の持続的投与が必要なことと考えられる。

VX2腫瘍は Shope virus 由来の家兎可移植性腫瘍<sup>13)</sup>でその維持および細胞分離などが比較的容易なため実験腫瘍として広く用いられている。今回の肝転移実験モデルは分離した VX2細胞を門脈血中に直接注入する方法を取った。対照群では全例に肝臓に白色の腫瘍結節が形成され、この結節を転移巣と見なすことにより肝転移のモデルとしてほぼ臨床の状態に即したものを

を提供していると考えた。また動注療法では濃度依存性抗癌剤がより有効とされており<sup>14)</sup>、門注でも同様と考えられるため今回の実験には組織吸着性も強く、また VX2腫瘍に感受性を示す<sup>15)</sup>アドリアマイシンを抗癌剤として選択した。

今回の実験結果から1週間の抗癌剤の門脈内への反復投与は VX2腫瘍の肝組織への着床を防止して肝転移に対する明らかな抑制効果のあることが示された。今後は薬物の至適投与期間や至適投与量などの設定や、インターロイキンなどの各種のサイトカインを加えた場合、また徐放性薬剤を使用した場合<sup>16)</sup>などの抗癌剤効果を検討する必要がある。今回の結果は VX2腫瘍という比較的増殖速度の早い実験腫瘍を使用している結果であるので、ここで得られた結果をそのまま臨床の場において期待することは難しいと思われる。臨床で遭遇する腫瘍はおのおの異なった組織型や増殖速度を示すため、この方法の臨床応用の際には投与薬剤の選択、投与期間および投与経路の設定など臨床の場に即した形でこれらの点が解決されなければならない。しかし抗癌剤の門脈内への反復投与法は消化管悪性腫瘍の肝転移の抑制に効果の高い方法であり、これを臨床的に用いることにより消化管悪性腫瘍の成績の向上がもたらされるものと期待される。

#### 結 語

家兎可移植性 VX2腫瘍を用い、また抗癌剤としてアドリアマイシンを選択して、抗癌剤の門脈内反復投与による肝転移抑制効果について検討した。門注群では6羽中4羽に全く転移を認めず、他の2羽に少数の転移を見たのみであったが、対照群では全例に多数の肝転移を認め、反復的門注による転移抑制効果の高いことが示された。

この方法を消化管悪性腫瘍の手術直後から施行することにより臨床的にも肝転移を予防ないし抑制できる可能性のあることが示唆された。

本論文の要旨は第29回日本消化器外科学会総会において発表された。

#### 文 献

- 1) Fisher B, Turnbull ER: The cytological demonstration and significance of tumor cells in the mesenteric venous blood in patients with colorectal cancer. *Surg Gynecol Obstet* 100: 102-107, 1955
- 2) Taylor I, Brooman P, Rowling JT: Adjuvant liver perfusion in colorectal cancer: Initial results of a clinical trial. *Br Med J* 19:

- 1320—1322, 1977
- 3) Taylor I, Rowling J, West C: Adjuvant cytotoxic liver perfusion for colorectal cancer. *Br J Surg* 66: 833—837, 1979
  - 4) 海藤 勇, 伊藤俊一: 転移性肝癌. 吉利 和, 中尾喜久, 山形敏一ほか編. 新内科学大系 Vol 2 23, 肝疾患IV, 中山書店, 東京, 1986, p341—344
  - 5) 北條慶一: 進行大腸癌の外科治療. 癌と化療 13: 2282—2290, 1986
  - 6) Engel HC: Cancer cells in the circulating blood. *Acta Chir Scand [Suppl]* 201: 1—69, 1955
  - 7) Fisher B, Fisher ER: Experimental studies of factors influencing hepatic metastasis. III. Effect of surgical trauma with special reference to liver injury. *Ann Surg* 150: 731—743, 1959
  - 8) Turnbull RB Jr: Cancer of the colon. The five-and ten-year survival rates following resection utilizing the isolation technique. *Ann R Coll Surg* 46: 243—250, 1970
  - 9) 螺良英郎, 西川秀樹, 智片英治ほか: 臨床の立場から転移の問題点を探る. 癌と化療 12: 1189—1195, 1985
  - 10) Brecidis C, Young G: The blood supply of neoplasms in the liver. *Am J Pathol* 30: 969—977, 1954
  - 11) Morales F, Bell M, McDonald GO et al: The prophylactic treatment of cancer at the time of operation. *Ann Surg* 146: 588—595, 1957
  - 12) 海北信孝, 岩崎 甫, 中込 博ほか: 門脈内注入時の Adriamycin の薬物動態. 山梨医大誌 2: 69—72, 1987
  - 13) Rous P, Kidd JG, Smith WE: The progression to carcinoma of virus-induced rabbit papillomas(Shope). *J Exp Med* 62: 523—548, 1935
  - 14) 田口鐵男: 動脈内投与法の理論とその臨床応用. 癌と化療 12: 839—843, 1985
  - 15) Swistel AJ, Bading JR, Raaf JH: Intraarterial versus intravenous adriamycin in the rabbit VX2 tumor system. *Cancer* 53: 1397—1404, 1984
  - 16) 山崎謙治, 今野俊光, 宮内好正ほか: 油性制癌剤門脈内投与による肝転移予防の実験的研究. 癌と化療 14: 1224—1228, 1987
-