

## ラットの肝転移モデルに対するヒト型 Angiotensin II 誘導昇圧化学療法の基礎的検討

東京大学医学部第3外科学教室

酒 井 滋

Angiotensin II (以下, AT II) を用いた昇圧化学療法 (induced hypertension chemotherapy, 以下 IHC) の意義を検討する目的で, ラットの肝被膜下に腹水肝癌 AH100B を移植して, 以下の実験を行った。AT II の投与により, 平均動脈血圧は約55%上昇し, 水素ガスクリアランス法による組織血流量測定では, 腫瘍組織血流量は $56.2 \pm 16.4 \text{ ml/min/100g}$  から  $88.7 \pm 35.3 \text{ ml/min/100g}$  へと有意に増加した ( $p < 0.05$ )。また同時に経静脈的に投与された Adriamycin (以下, ADM) の腫瘍組織内濃度は, IHC 群では ADM 単独投与群の約4倍の高値を示した。化学療法施行後9日目の剖検所見では, IHC 群 ( $n=6$ ) の1例で腫瘍径の増大が抑制され, また腫瘍重量は, IHC 群  $1.317 \pm 1.007 \text{ g}$  であり, 無処置群  $3.027 \pm 0.362 \text{ g}$  に対し, 有意に腫瘍増殖の抑制効果が認められた ( $p < 0.05$ )。以上より, 昇圧化学療法は, 肝転移巣に対しても選択的に高濃度の抗癌剤を集積させ, 有効な化学療法となりうる可能性が示唆された。

**Key words:** angiotensin II-induced hypertension chemotherapy, drug delivery system, hydrogen gas clearance method, tissue adriamycin concentration, rat hepatic metastasis model

### I. はじめに

抗癌剤を腫瘍組織に選択的に到達させることは, 腫瘍組織内の抗癌剤濃度を高め, 抗腫瘍効果を高めることと同時に, 他臓器における副作用を軽減するためにも重要な意義がある。このような観点から, 標的となる腫瘍に薬剤を選択的に集積させることを意図して設計された薬剤の投与方法, すなわち drug delivery system (以下, DDS と略記) に大きな関心が寄せられている<sup>1)</sup>。この DDS の一種である昇圧化学療法 (Induced hypertension chemotherapy: 以下, IHC と略記) は, 鈴木ら<sup>2)</sup>により考案された独特の抗癌剤投与方法であり, 腫瘍血管の Angiotensin II (以下, AT II と略記) に対する反応の特性を利用して, 腫瘍組織に選択的に高濃度の抗癌剤を到達させる方法である。すなわち, 従来の DDS は選択的な動注法にみるように, 主として抗癌剤の投与経路に依存するのに対して, IHC は腫瘍自身の特性を targeting の対象としている点が大きな特徴であり, 筆者はこの IHC の腫瘍指向性に着目し, 詳細な検討を行う価値があるものと考えた。

この IHC の理論的根拠については既に Suzuki ら<sup>3)</sup>, 阿部ら<sup>4)</sup>の詳細な検討があるが, 抗腫瘍効果についての実験的検討は比較的少ない。また基礎的検討の多くは皮下移植腫瘍を対象としており<sup>5)</sup>, 消化器癌を想定したモデルにおける検討さらには乏しい。

そこで著者は, より臨床像に近い再発転移モデルにおける IHC の意義と有効性を知ることが目的として, 肝転移を想定したモデルを作製して以下の実験を行った。

### II. 方 法

実験 1. Angiotensin II 誘導昇圧下の組織血流量と組織内抗癌剤濃度の検討

#### (1) 材料

腫瘍株としては, 東北大学加齢医学研究所癌細胞保存施設より供与された腹水肝癌 AH100B を腹腔内で継代して使用した。対象動物は雄性ドブリュウラット (5~6 週齢, 平均体重約180g, Charles River 社) を用い, 固形飼料 (日本クレア) と水分を自由に摂取させた。抗癌剤は Doxorubicin hydrochloride (Adriamycin, 協和発酵[株], 以下, ADM と略する) を用いた。ヒト型 Angiotensin II (TY-10721, トーアエイヨー[株], 以下, AT II と略する)  $50 \mu\text{g}$  を生理的

食塩水25mlで溶解し、0.002 $\mu$ g/mlに調整して用いた。

(2) 麻酔方法

麻酔にはネプトールを腹腔内投与(20mg/kg)し、適宜エーテル吸入を追加した。

(3) 実験モデルの作製

腹水より採取した腫瘍細胞AH100Bをラットの腋窩皮下に移植し、10~14日後に固形化した腫瘍を採取した。採取した腫瘍は、壊死のない充実性の実質部分を剪刀で鋭的に細切し、約1mm角の腫瘍片とした。モデルとするラットを上腹部で開腹し、Ridgeら<sup>6)</sup>の方法に準じて肝被膜に小孔を穿ち、被膜下に腫瘍片を包埋した。腫瘍包埋部を圧迫止血した後に、腹壁を2層に閉腹した。腫瘍移植後14日目に実験モデルとして使用した。

(4) 昇圧方法と動脈血圧モニターの方法

ラットの左大腿動脈よりポリエチレン製カテーテル(Intramedic社、外径0.96mm)を挿入し、血圧測定用トランスデューサー(Gould Statham instruments Inc.)を介して、モニター装置(Recti-Horiz, 8K21)に接続し、連続的に平均動脈血圧を測定した。AT IIは、尾静脈に留置したカテーテルから微量注入ポンプ(Harvard Apparatus Co.)を用いて、持続的に注入した。AT IIは、投与開始後2分以内に140~150mmHgに到達することを目標として、30秒ごとに血圧の上昇曲線をみながら注入速度を0.15~0.30 $\mu$ g/kg/minの範囲で調節した。

(5) 組織血流量の測定

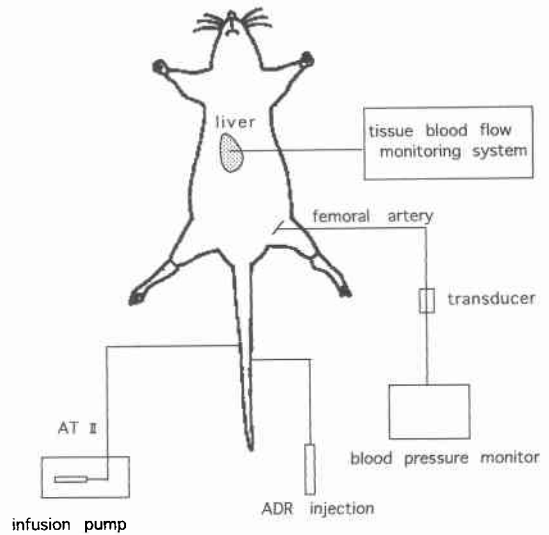
組織血流量の測定はStosseck<sup>7)</sup>、中田<sup>8)</sup>らの方法に従い、電解式水素ガスクリアランス計(RBF-1, Biomedical Co.)を用いて行った。不閉電極は腹壁皮下に、水素ガス発生電極は測定対象の組織内に約5mmの深さにそれぞれ刺入した。電解条件は20mA $\times$ 25秒に設定した。電解により発生した水素ガス濃度は、同一電極内のセンサーにより経時的に測定され、得られた水素ガスのクリアランス曲線を片対数グラフにプロットし、直線部分の半減時間から組織血流量(F)を算出した。片対数グラフのプロットとFの算出は、電解式組織血流計データ解析装置(BDA-2, Biomedical Co.)を用いて行った。

(6) 実験方法

① 組織血流量の測定

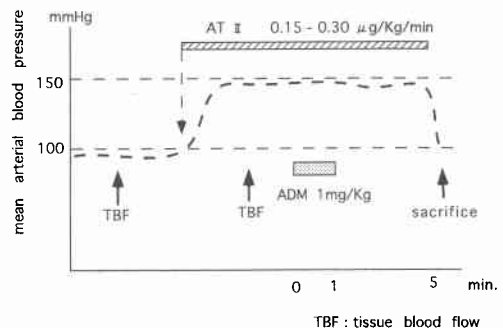
昇圧とともにADM投与を行う群(n=6, 以下, IHC群と略する)では、AT IIの持続注入を開始して平均

Fig. 1 Monitoring and infusion system in the experimental model



Tissue blood flow was measured by the electrolytic hydrogen gas clearance method. Mean arterial blood pressure was monitored from the femoral artery. Angiotensin II and adriamycin were administered separately from the tail vein.

Fig. 2 Experimental design



Angiotensin II was administered in concentrations from 0.15 to 0.25  $\mu$ g/Kg/min, until the mean arterial blood pressure reached 140-150 mmHg. Tissue blood flow of the tumor was measured before and during induced hypertension.

動脈血圧が140~150mmHgに達した時点で、ADM(1mg/kg)を1分間かけて尾静脈から投与し、さらに4分間昇圧を持続した後に、AT II注入を中止した。AT II注入終了後、平均動脈血圧が昇圧前の値に復した時点でラットを犠死させた(Fig. 1)。組織血流量は、昇圧前と、昇圧中(平均動脈血圧が140~150mmHgに達した時点)に、肝の腫瘍部と非腫瘍部でそれぞれ測定した(Fig. 2)。昇圧を行わずに抗癌剤を投与する群

(n=5, 以下, non-IHC 群と略する)では, 尾静脈から ADM (1mg/kg) を1分間かけて静注し, その4分後に犠死させた。

## ② 組織内 ADM 濃度の測定

IHC 群, non-IHC 群のラットから犠死後に肝の腫瘍部, 心臓, 腎臓の各組織を採取し, 直ちに $-40^{\circ}\text{C}$ で凍結保存し, 高速液体クロマトグラフィー法 (High performance liquid chromatography: 以下, HPLC 法と略する) により, これらの組織内 ADM 濃度を測定した<sup>9)</sup>。

## 実験 2. 腫瘍移植モデルに対する抗腫瘍効果の検討

実験方法: 23匹のラットを用いて実験 1 と同様にして移植モデルを作製した。腫瘍を移植した後, 9日目に試験開腹して腫瘍移植部を観察した。このうちの4匹には, 肉眼的に腫瘍の生着が確認できず, 対象から除外した。腫瘍が生着した19匹(生着率82.6%)を IHC 群 (n=6), non-IHC 群 (n=7), 抗癌剤治療を行わない control 群 (n=6) に無作為に振り分けた。IHC 群の AT II の投与速度は, 先の実験結果から確実に昇圧が期待できる $0.30\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  に一律に設定した。昇圧の維持時間は ADM 投与後5分間とした。IHC 群, non-IHC 群の ADM 投与量は $1\text{mg}/\text{kg}$  とした。各群ともそれ以後は抗癌剤は投与せず, 水分と飼料を自由に摂取させ, 実験18日目に犠死せしめ, 剖検を行った。

剖検時には腹腔および胸腔内を観察して, 腫瘍の進展状況を観察し, その後に肝の腫瘍結節を摘出して, 腫瘍の最大径と湿重量を計測した。腫瘍の計測後に, 腫瘍結節および採取された心臓, 腎臓, 胃, 非腫瘍部肝臓の各組織を10%ホルマリン液で固定し, ヘマトキリンエオジン染色標本を作製した。腫瘍は最大割面を標本面にした。作製された標本を光学顕微鏡で観察し, 腫瘍については大腸癌取扱い規約<sup>10)</sup>の組織学的効果判定基準に従い, 治療効果を検討した。さらに, 心臓, 腎臓, 胃, 非腫瘍部肝臓の病理組織学的所見を各群で比較検討した。

統計学的処理: 実験結果の数値は, 平均 $\pm$ 標準偏差で示した。統計学的検討については, 独立した2群間の平均は Mann-Whitney test で, 対応のある2群間の平均は Wilcoxon signed ranks test で検定を行った。多群間における比較は, 分散分析で有意差を検証した後, 多重比較検定 (Fisher's protected least significant difference) を行った。すべて  $p < 0.05$  をもって有意とした。

## III. 成績

### 1. 実験 1:

肝への腫瘍移植後14日目の開腹所見では, 対象とした11匹のラットの肝における最大腫瘍径の平均は $18.7 \pm 4.2\text{mm}$ であった。

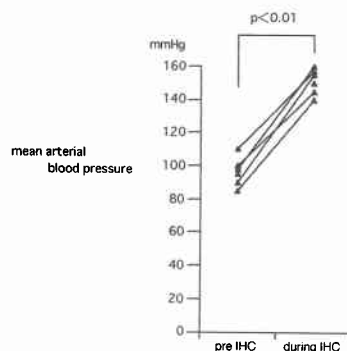
#### (1) AT II 投与による平均動脈血圧の変化

IHC 群のラット (n=6) では, 昇圧前の平均動脈血圧は $96.7 \pm 8.7\text{mmHg}$ であった。昇圧前の組織血流量を測定した後, AT II を注入速度 $0.15\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  で開始し, 最終的には6例中の3例は $0.20\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  で, 1例は $0.25\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  で, 2例は $0.30\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  でそれぞれ平均動脈血圧が目標レベルに到達した。到達した目標レベルの平均動脈血圧は $150 \pm 7.1\text{mmHg}$ であり, 昇圧前と比較すると有意な血圧上昇と認められた ( $p < 0.01$ , Fig. 3)。目標血圧レベルに達するまでの平均時間は,  $130 \pm 31.6$ 秒であった。目標血圧レベルに達した後, 1例では平均血圧が $170\text{mmHg}$ まで上昇したため AT II の投与速度を減じたが, 他の5例は $160\text{mmHg}$ 以下で経緯したため, AT II の投与速度は一定に保った。AT II の投与を中止すると60秒から90秒で, 昇圧前の血圧に復した。

#### (2) AT II 投与による組織血流量の変化

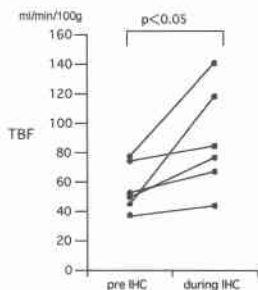
IHC 群のラット (n=6) の腫瘍部の組織血流量は, 昇圧前で $56.2 \pm 16.6\text{ml}/\text{min}/100\text{g}$ であった。AT II 投与による昇圧時には全例で組織血流量が増加し,  $88.7 \pm 35.3\text{ml}/\text{min}/100\text{g}$ に達した。組織血流量の平均の増加率は $159 \pm 56\%$ であった。統計学的には, 昇圧前と昇圧時では腫瘍の組織血流量に有意の差が認められた ( $p = 0.028$ , Fig. 4)。

Fig. 3 Mean arterial blood pressure, before and during induced hypertension.



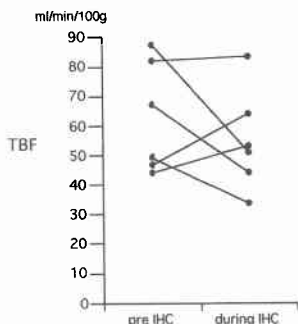
Mean arterial blood pressure was increased 150% by continuous infusion of AT II.  $p < 0.01$

**Fig. 4** Tissue blood flow of the implanted liver tumor.



During IHC, the tissue blood flow was increased about 160% compared with that in normotension ( $p < 0.05$ ).  
TBF : tissue blood flow

**Fig. 5** Tissue blood flow of the non-tumorous liver.



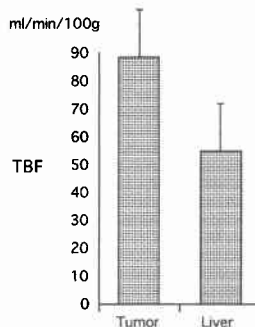
There was a slight decrease in the mean value of the tissue blood flow during IHC. However no significant change was observed between normotension and induced hypertension groups.  
TBF : tissue blood flow

非腫瘍部の肝組織においては、昇圧前の組織血流量は  $63.2 \pm 18.5 \text{ ml/min/100g}$  であり、AT II 投与による昇圧により、3例は組織血流量が増加し、3例は低下した。全体としては組織血流量は  $55.2 \pm 17.1 \text{ ml/min/100g}$  で、昇圧の前と比較すると平均  $91.3 \pm 31.2\%$  に低下したが、統計学的に有意な差は見られなかった (Fig. 5)。腫瘍と肝の組織血流量の比較では、昇圧前では両者に有意な差は見られなかったが、昇圧時では腫瘍での組織血流量は肝組織より高値を示す傾向が見られた ( $p = 0.0547$ , Fig. 6)。

(3) 組織内 ADM 濃度

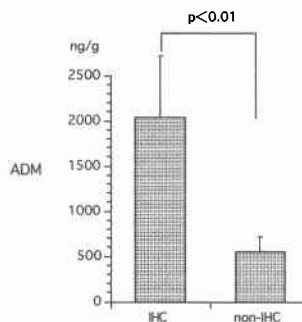
HPLC 法による ADM 濃度の測定では、IHC 群の腫瘍組織  $2,030 \pm 680 \text{ ng/g}$  に対して、non-IHC 群  $550 \pm$

**Fig. 6** Tissue blood flow of the tumor and non-tumorous liver during IHC.



It was suggested that the tissue blood flow of the tumor was higher than that of the liver ( $p = 0.054$ ).  
TBF : tissue blood flow

**Fig. 7** Tissue ADM concentrations of the tumor.



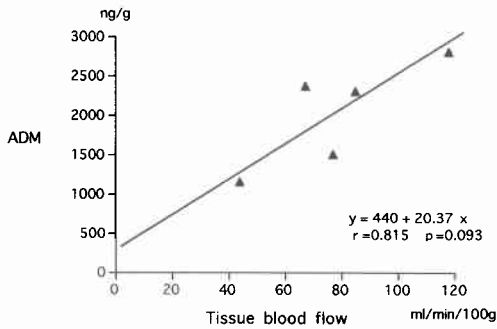
Tissue ADM concentrations were revealed to be four times higher in the IHC group than in the non-IHC group. ADM : adrimycin

$162 \text{ ng/g}$  であり、前者は有意に高値を示した ( $p < 0.01$ , Fig. 7)。IHC 群の腫瘍組織における昇圧時の組織血流量と組織内 ADM 濃度の相関をみると、相関係数  $r = 0.815$  であり、組織血流量と組織内 ADM 濃度の間に正の相関が存在する可能性が示唆された ( $p = 0.093$ , Fig. 8)。腫瘍以外の臓器で見ると、心組織内の ADM 濃度は、IHC 群  $3,434 \pm 244 \text{ ng/g}$ 、non-IHC 群  $3,197 \pm 144 \text{ ng/g}$ 、腎臓組織内の ADM 濃度は、IHC 群  $6,316 \pm 988$ 、non-IHC 群  $7,052 \pm 874 \text{ ng/g}$  であり、いずれの臓器においても IHC 群と non-IHC 群で有意な差は見られなかった。

2. 実験 2 :

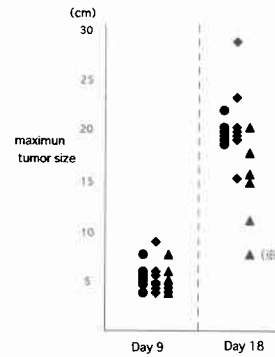
腫瘍を移植した 9 日目の開腹所見では、腫瘍が生着した 19 匹の腫瘍最大径は  $5.0 \pm 1.6 \text{ mm}$  であった。腫瘍

**Fig. 8** Correlation between tissue blood flow and tissue ADM concentrations of the tumor in the IHC group.



It was suggested that a significant correlation existed between tissue blood flow and tissue ADM concentration ( $r=0.815, p=0.093$ ).  
ADM : tissue adriamycin concentration

**Fig. 9** Changes in the maximum tumor size between Day 9 and Day 18 after implantation



In the one case in the IHC group (\*), tumor size remained almost unchanged. In all of the other case, tumor were increased in size.  
● : control group    ◆ : non-IHC group    ▲ : IHC group

移植後18日目 (IHC 群, non-IHC 群では ADM 投与 9 日目) の剖検時の所見は以下の通りであった。

(1) 肉眼的な癌の進展状況

control 群では 6 例中 2 例 (33.3%) に腹膜播種と血性腹水の貯留があり, 4 例 (66.7%) に肝内転移と腹壁浸潤が認められ, さらに 1 例 (16.7%) で多発性の肺転移が確認された。non-IHC 群では 7 例中の 1 例 (14.3%) に腹膜播種と血性腹水が認められ, 4 例 (57.1%) に肝内転移と腹壁浸潤が見られた。一方, IHC 群では, 6 例中の 2 例 (33.3%) に肝内転移があり, 3 例 (50%) では開腹創の腹壁に腫瘍が浸潤していたが, 腹水が貯留したものは見られなかった (Table 1)。

(2) 腫瘍径と腫瘍重量

移植した部分の腫瘍はいずれも境界明瞭な結節を形成しており, 周囲の正常肝組織から容易に剝離摘出が可能であった。これらの腫瘍結節の最大径は, IHC 群

14.7±4.4mm, non-IHC 群20.3±4.2mm, control 群 19.3±1.5mm であり, IHC 群は他の 2 群に較べて有意に低値を示した ( $p<0.05$ )。しかしながら抗癌剤投与時の平均腫瘍径は IHC 群5.2±1.2mm, non-IHC 群 5.0±1.6mm であり, control 群を含めたいずれにおいても剖検時点での平均腫瘍径は抗癌剤投与時点よりも有意に増大していた ( $p<0.05$ )。個々の例についてみると, non-IHC 群と control 群ではすべての例で腫瘍径は増大していたが, IHC 群の 1 例で腫瘍径は ADM 投与時点とほぼ不変であった (Fig. 9)。腫瘍重量でみると IHC 群1.317±1.007g, non-IHC 群 2.186±1.380g, control 群3.027±0.362であり, 多重比較検定では IHC 群と control 群の間に有意な差が認められたが ( $p<0.05$ ), IHC 群と non-IHC 群, non-IHC 群と control 群との間には有意差は見られなかった (Table 2, Fig. 10)。

(3) 病理組織学的検討

**Table 1** Tumor progression at 18 days after implantation

	intrahepatic metastasis	abdominal wall invasion	peritoneal dissemination	distant metastasis
control (n=6)	4 (67%)	4 (67%)	2 (33%)	1 (17%) (*)
non-IHC (n=7)	4 (57%)	4 (57%)	1 (14%)	0 ( 0%)
IHC (n=6)	2 (33%)	3 (50%)	0 ( 0%)	0 ( 0%)

(\*) : multiple lung metastasis

There was no peritoneal dissemination or distant metastasis in the IHC group, but no significant difference in tumor progression was observed among the three groups.

Table 2 Results of the treatment

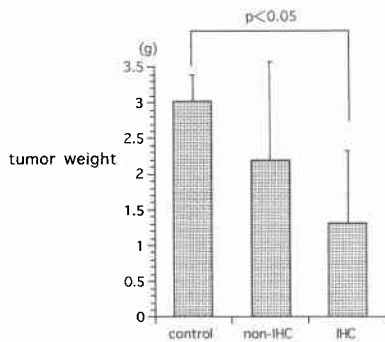
		IHC (n=6)	non-IHC (n=7)	control (n=6)
Day 9	body weight (g)	206.6±5.2	218.1±7.8	215.0±15.4
	tumor size (mm)	5.2±1.2	5.0±1.6	5.3±1.5
Day 18	body weight (g)	237.5±11.5	248.2±15.9	254.6±33.1
	tumor size (mm)	14.7±4.4*	20.3±4.2	19.3±1.5
	tumor weight (g)	1.317±1.007**	2.186±1.380	3.027±0.362

\* : p&lt;0.05 vs non-IHC and control

\*\* : p&lt;0.05 vs control

There were no significant differences in body weight of the rats and tumor size of liver before the treatment at Day 9. At Day 18, tumor size in the IHC group was significantly lower than those in the non-IHC group and control group (p<0.05), and tumor weight in the IHC group was lower than that in the control group (p<0.05).

Fig. 10 Tumor weight in the three groups



Tumor weight in the IHC group was lower than that in the control group (p<0.05).

control 群の肝に生着した AH100B の病理組織学的所見では、腫瘍細胞は全体に敷石状に密に配列し、胞体および核の大小不同が目立ち、異型の強い核を有する細胞が混在していた。腫瘍の中央部では壊死傾向が強く、腫瘍の辺縁部にも巣状の壊死巣が所々に認められた。IHC 群および non-IHC 群においても、同様に中央部を中心とした腫瘍の壊死像が認められ、「取扱規程」判定基準<sup>10)</sup>の1a)から1b)に相当する所見であったが、腫瘍壊死巣の拡がりの程度では control 群との間に有意な差は見られなかった。同時に摘出した心臓、腎臓、胃粘膜、非腫瘍部の肝組織では、病理組織学的所見に 3 群間で差は認められなかった。

#### IV. 考 察

鈴木ら<sup>2)</sup>により提唱された IHC は、腫瘍血管の AT II に対する収縮能の欠如を応用した独特の抗癌剤投与

方法であり、腫瘍特異性の DDS として注目されている。鈴木ら<sup>11)~14)</sup>によれば、担癌臓器では終末動脈のレベルで腫瘍組織と正常組織への血流が分岐するが、AT II が投与されると正常組織を還流する終末動脈は収縮する一方で、これと並列関係にある腫瘍血管は AT II に対する反応を欠くため、相対的に血流抵抗が減弱した腫瘍組織の血流量が増加する、とされている。また腫瘍血管では血圧の変化に対する自動調節能を欠くことが、このような現象を引き起こす重要な要因であるとしている。Sitzmann ら<sup>15)</sup>は原発性および転移性肝腫瘍について AT II receptor binding assay を行い、非腫瘍部の肝と比較するといずれの腫瘍においても AT II receptor が減少していることを示し、このため腫瘍では AT II に対する収縮能が減弱するとしている。このような担癌臓器における AT II 投与時の組織血流の不均衡を利用して、腫瘍組織に選択的に高濃度の抗癌剤を集積させることを意図したのが IHC である。すでに IHC は優れた臨床成績も示されているが<sup>16)17)</sup>、抗腫瘍効果についての実験的検討は漆山<sup>18)</sup>、杉山ら<sup>19)</sup>の報告を除き比較的乏しい。著者は IHC の腫瘍特異性に着目し、消化器癌の再発転移巣に対する治療法としての有用性を知ることを目的として今回の検討を行った。実験には肝転移を想定したモデルを Ridge ら<sup>9)</sup>の方法により作製し、作用が濃度依存性で、かつ sampling から凍結までの時間内で組織内濃度の減衰の少ない ADM を抗癌剤として用いた。今回行った実験ではモデルの平均動脈血圧は AT II の投与速度に鋭敏に反応して上昇し、また投与速度を一定にすることで、安定した血圧を維持できた。目標血圧は臨床例で生理的な許容範囲とされる 150mmHg に設定した<sup>17)</sup>

が、この時の腫瘍組織血流量は、昇圧前と比較して約160%増加した。鈴木ら<sup>14)</sup>は、AH100Aの肝内移植モデルでの成績で400%の血流量の増加を報告しており筆者の成績と差があるが、それぞれの成績を比較すると両者の昇圧後の血流量は近似しているが、昇圧前の値は鈴木らでは $16.4 \pm 5.7 \text{ ml/min/100g}$ と低く、このため増加率として見た場合に大きな差となったものと考えられる。いずれにしても、このような腫瘍組織への選択的な血流量の増加は抗癌剤の到達性を高めるためには有利に作用する可能性がある<sup>20)21)</sup>。実際にAT IIを投与すると腫瘍組織内の薬剤濃度あるいは放射線活性は、AT IIを併用しない場合に比較して2倍から4倍程度増加すると報告されている<sup>22)~27)</sup>。今回の実験では腫瘍内ADMは約4倍の増加が認められ、諸家の成績のなかでも高い値を示した。この点に関連して、筆者ら<sup>28)</sup>は腫瘍組織血流量と5-Fluorouracil代謝産物であるF-dUMPの組織内濃度の相関をみた実験で、局所の組織血流は、薬剤の到達性と同時に排泄能にも関与することを指摘した。すなわち、AT II投与による昇圧下では薬剤投与以後の昇圧維持時間が長すぎた場合は、腫瘍からの薬剤の排泄が増加し、結果的に十分な腫瘍内薬剤濃度が得られない可能性がある。筆者は木村ら<sup>29)</sup>の基礎的検討に従い、抗癌剤投与開始後の昇圧維持時間を5分間に設定したが、このために10分間の昇圧維持時間としたSasakiら<sup>23)</sup>の成績より高い腫瘍内薬剤濃度が得られた可能性はあり、適切な昇圧維持時間の設定は臨床実地上は注意すべき点と考えられた。

なお、今回の実験では、腫瘍組織血流量と腫瘍内抗癌剤濃度の間に正の相関があることが示唆されたが、筆者が検索した限りでは同一個体においてこの両者を測定し、両者の相関関係を直接証明した報告は見られていない。またADMの副作用の標的臓器である心臓と、ADMの排泄臓器である腎臓の組織内ADM濃度を測定したが、結果的にはIHC群とnon-IHC群で有意差は認められなかった。IHCは腫瘍に選択的な抗癌剤集積効果があることから、他の臓器では抗癌剤濃度が低下することが期待されたが、抗癌剤投与量が等しければ他臓器の組織内抗癌剤濃度も等しいという結果であった。ただし、腫瘍組織内に同程度の抗癌剤を到達させるためには、IHCでは投与する抗癌剤を少なくすることは可能であり、この意味ではIHCは副作用の軽減という意味でも有用といえよう。なお、木村ら<sup>29)</sup>はIHCを行うと、腎血管の収縮により薬剤の排泄が低下

する可能性について言及しているが、5分間の昇圧維持時間とした著者の検討では、前述したとおり両臓器への過大な抗癌剤の蓄積はみられなかった。

次に実験2では、実際にこのような方法でIHCを行った場合の抗腫瘍効果について検討した。その結果、抗癌剤投与後9日目の剖検結果では肉眼的所見として癌性腹水の貯留や遠隔臓器への転移はなく、またこの時の最大腫瘍径では他の2群に対して有意に低値を示した。腫瘍重量でみると、non-IHC群とcontrol群には差がなかったのに対して、IHC群ではcontrol群に対して有意に低値を示しており、IHCの臨床的な有用性が示唆された。しかしながら、実験9日目と18日目の腫瘍径を個々の例で比較して見ると、IHCで腫瘍増殖を抑制しえたと評価しうるのは1例のみであり、腫瘍が縮小あるいは消失した例はなく平均値で比較しても明らかに腫瘍径は増大していた。小西ら<sup>5)</sup>のウサギの皮下移植モデルを用いた実験的検討では、2週まではIHC群に明らかな腫瘍縮小効果が認められているが、併用する抗癌剤を動注していることが両者の差として現れた可能性は考えられる。今回の実験ではIHCは腫瘍増殖の速度を抑制し、その有用性を示唆することができたが、急速に進行するラットの肝転移モデルに対しては、腫瘍縮小効果という意味では今回の実験デザインでは不十分であった可能性も考えられ、今後は抗癌剤の選択、抗癌剤投与量、IHC施行回数などに工夫が必要と考えられた。

抗癌剤のDDSは、抗腫瘍作用の増強と副作用の軽減という両面で極めて大きな意義があるが、著者が今回取り上げたIHCは腫瘍血管の特異性を標的しており、DDSのなかでも大きな特徴を有している。現在、転移性肝腫瘍に頻用されている肝動注療法は局所に対する腫瘍縮小効果は明らかであるが、生存期間の延長という意味では疑問視する見方もある<sup>30)~32)</sup>。実際に、肝動注により局所の腫瘍は縮小しても、肝以外に存在した潜在的な再発病変が増大し、結果的にこれらの肝外転移巣により生存期間を規定された例が経験され、投与経路に依存したDDSの限界とも考えられた。今回の検討も肝病変に対する効果のみ見ているが、IHCの腫瘍特異性はむしろそのような全身の潜在的な転移再発病巣にこそ有効性が発揮される期待がある。したがって、画像診断的に外科的切除が困難な転移性肝腫瘍が認められた場合は、局所に対する動注法とともに、潜在的な転移巣に対する腫瘍特異性のIHCを併用することが生存期間の延長に寄与する可能性が考えら

れ、今後さらに検討を加える必要があろう。

稿を終えるにあたり、ご指導とご校閲を頂きました東京大学第3外科大原 毅教授に深謝申し上げます。またご教示を頂きました東京大学第3外科上西紀夫助教授、技術的にご援助を頂きました筑波 ARL 所長大友昌夫博士、腫瘍株の提供を頂きました東北大学抗酸菌病研究所癌細胞保存施設ならびに教室関係諸氏に謝意を表します。

本論文の要旨は第43回日本消化器外科学会総会（1994年2月、東京）において発表した。

#### 文 献

- 1) 山口俊晴, 萩原明於, 谷口弘毅ほか: 抗癌剤の Drug delivery system の応用. Pharmacokinetics と効果. 癌と化療 20 : 1750—1754, 1993
- 2) Suzuki M, Hori K, Abe I: A new approach to cancer chemotherapy. Selective enhancement of tumor blood flow with angiotensin II. J Natl Cancer Inst 67 : 663—669, 1981
- 3) Suzuki M, Hori K, Abe I et al: Functional characterization of microcirculation in tumors. Cancer Metstsis Rev 3 : 115—126, 1984
- 4) Abe I, Hori K, Saito S: Increased intratumor concentration of fluorescein-isothiocyanate-labeled neocarzinostatin in rats under angiotensin-induced hypertension. Jpn J Cancer Res 79 : 874—879, 1988
- 5) 小西敏郎, 北村正次, 鈴木 力ほか: 進行胃癌に対する Angiotensin II を併用した MMC 局所動注療法. 消外 8 : 1381—1386, 1985
- 6) Ridge JA, Collin C, Bading R et al: Increased Adriamycin levels in hepatic implants of rabbit VX-2 carcinoma from regional infusion. Cancer Res 48 : 4584—4587, 1988
- 7) Stosseck LDW: Determination of local blood flow by electrochemically generated hydrogen. Construction and application of measuring probe. Pflugers Arch 348 : 225—231, 1974
- 8) 中田 進, 森瀬公友, 満間照典: Vasoactive Intestinal Polypeptide の肝血流量に及ぼす影響. 日消病会誌 83 : 72—78, 1986
- 9) 増池健年, 大嶽純一, 武本宣教: 高速液体クロマトグラフィーによる生体資料中のアドリアマイシンとその代謝物の定量. (第1報)直接注入法による組織の分析. 薬理 106 : 614—619, 1984
- 10) 大腸癌研究会編: 大腸癌取扱い規約. 第5版. 金原出版, 東京, 1994, p37—43
- 11) 堀 勝義, 張 秋航, 斉藤祥子ほか: 昇圧剤による腫瘍血流量の増加および減少の微小循環学的機序. 癌と化療 21 : 403—408, 1994
- 12) 鈴木磨郎, 堀 勝義, 阿部郁夫ほか: 腫瘍血管の機能的特殊性. 癌と化療 113 : 287—291, 1979

- 13) 堀 勝義, 鈴木磨郎, 阿部郁夫ほか: 腫瘍血管新生と微小増殖巣の血管支配の検討. 癌と化療 14 : 961—970, 1987
- 14) 鈴木磨郎, 堀 勝義, 阿部郁夫ほか: 腫瘍血管の機能病理学的研究. 癌の臨 28 : 592—598, 1982
- 15) Sitzmann JV, Wu Y, Cameron JL: Altered angiotensin-II receptors in human hepatocellular and hepatic metastatic colon cancer. Ann Surg 219 : 500—507, 1994
- 16) Goldberg JA, Kerr DJ, Wilmott N et al: Regional chemotherapy for colo-rectal liver metastases; a phase II evaluation of targeted hepatic arterial 5-fluorouracil for colo-rectal liver metastases. Br J Surg 77 : 1238—1240, 1990
- 17) 佐藤春彦, 涌井 昭, 星 正彦ほか: 進行胃癌に対する Angiotensin II Human (TY-10721) を用いた昇圧化学療法の高施設共同による無作為化比較試験. 癌と化療 18 : 451—460, 1991
- 18) 漆山昌伸: 肝転移初期増殖抑制効果と Angiotensin II 昇圧化学療法. 抗研誌 42 : 133—144, 1990
- 19) 杉山克郎: アンギオテンシンII昇圧による薬剤の組織到達性の亢進と腹膜播種性転移の増殖抑制. 抗研誌 42 : 145—159, 1990
- 20) Hemingway DM, Angerson WJ, Anderson JA et al: Monitoring blood flow to colorectal liver metastases using laser Doppler flowmetry: the effect of angiotensin II. Br J Cancer 66 : 958—960, 1992
- 21) Leen E, Angerson WJ, Warren H et al: Hepatic arterial hemodynamics following intra-arterial angiotensin II infusion. Duplex/color doppler sonography. Clin Radiol 47 : 321—324, 1993
- 22) Hemingway DM, Cook TG, Grimes SJ et al: The effect of intra-arterial vasoconstrictors on the distribution of radiolabelled low molecular weight markers in an experimental model of liver tumor. Br J Cancer 63 : 495—498, 1991
- 23) Sasaki Y, Imaoka S, Hasegawa Y et al: Changes in distribution of hepatic blood flow induced by intra-arterial infusion of angiotensin II in human hepatic cancer. Cancer 55 : 311—316, 1985
- 24) Goldberg JA, Kerr DJ, Willmott N et al: Increased uptake of radio-labelled microspheres with angiotensin II in colorectal metastases. Eur J Surg Oncol 14 : 715—721, 1988
- 25) Goldberg JA, Murray T, Bessent RG et al: The use of angiotensin II as potential method of targeting cytotoxic microspheres in patients with intrahepatic tumors. Br J Cancer 63 : 308—310, 1991



- 26) Goldberg JA, Fenner J, Bradnam MS et al: Improved tumor targeting of biodegradable micropheres with angiotensin II. *Br J Surg* 75: 1262-1268, 1988
- 27) Burton MA, Gray BN, Self GW et al: Manipulation of experimental rat and rabbit liver tumor blood flow with angiotensin II. *Cancer Res* 45: 5390-5393, 1985
- 28) 酒井 滋, 山川達郎, 加納宣康ほか: 実験的肝転移モデルにおける組織血流量と 5-Fluorouracil 代謝産物の組織内濃度の相関. *日消病会誌* 92: 1029-1035, 1995
- 29) 木村哲夫, 佐久間孝, 斎 喜明ほか: ヒトアンギオテンシンII昇圧時における抗癌剤の腫瘍組織内濃度の経時的变化. *抗研誌* 42: 161-169, 1990
- 30) Chen HG, Gross JF: Interarterial infusion of anticancer drugs; theoretic aspects of drug delivery and review of responses. *Cancer Treat Rep* 64: 31-40, 1980
- 31) Hohn DC, Stagg RJ, Friedman MA et al: A randomized trial for continuous intravenous versus hepatic intra-arterial flourodeoxyuridine in patients with colorectal cancer metastasis to the liver. The Northern California Oncology Group Trial. *J Clin Oncol* 7: 1646-1654, 1989
- 32) Fortner J: Multivariant analysis of personal series of 247 consecutive patients with liver metastases from colorectal cancer. *Ann Surg* 199: 306-316, 1984

### The Effects of Human Angiotensin II Induced Hypertension Chemotherapy for Liver Metastasis in the Rats

Shigeru Sakai

Third Department of Surgery, Faculty of Medicine, University of Tokyo

To determine the efficacy of angiotensin II induced hypertension chemotherapy (IHC), AH100B tumor tissue was implanted on the surface of the rat liver. Angiotensin II induced a 55% increase in the mean arterial blood pressure compared to the basal values, and the tissue blood flow of the liver tumor was increased from  $56.2 \pm 16.4$  ml/min/100 g to  $88.7 \pm 35.3$  ml/min/100 g as measured by an electrolytic hydrogen gas clearance method ( $p < 0.05$ ). The mean tissue adriamycin concentrations of the tumor in the IHC group was four times higher than that in the normotension group. Nine days after the treatment, one case in the IHC group ( $n=6$ ) showed an obvious tumor suppression effect based on the maximum size and the mean weight of the liver tumors in the IHC group was significantly decreased compared with the control group ( $1.317 \pm 1.007$  ng/g vs  $3./027 \pm 0.362$  ng/g,  $p < 0.05$ ). In conclusion, induced hypertension chemotherapy, which demonstrated accumulation of an anticancer drug selectively in tumor tissue, is considered to an effective drug delivery system for metastatic liver tumors.

**Reprint requests:** Shigeru Sakai Third Department of Surgery, Faculty of Medicine, University of Tokyo  
3-28-6 Mejirodai, Bunkyo-ku, Tokyo, 112 JAPAN