

■ REVIEW ARTICLE

放射線治療と温熱療法：その基礎医学的背景

加納 永一^{*1}, 林 幸子^{*1}, 上田 公介^{*2}, 大坪 俊雄^{*3},
河原 謙一^{*4}, 塩浦 宏樹^{*1}, 北井 隆平^{*5}, 馬嶋 秀行^{*1}

RATIONALE ON RADIOTHERMOTHERAPY

Eiichi KANO^{*1}, Sachiko HAYASHI^{*1}, Kousuke UEDA^{*2}, Toshio OHTSUBO^{*3},
Ken-ichi KAWAHARA^{*4}, Hiroki SHIOURA^{*1}, Ryuhei KITAI^{*5}, Hideyuki MAJIMA^{*1}

Abstract Chronicles of hyperthermia oncology, especially differential cellular thermosensitivities based on the heating temperature, cell phase response to heating under given condition, hyperthermic modification of radiosensitivities of cells and tissues, heat shock proteins as a part of physiological stress proteins etc were reviewed.

Key Words: Radiothermotherapy, The rationale for cells and tissues, Thermosensitivities, Hyperthermic radio-enhancement and Physiological stress proteins and heat shock proteins.

Ⅰ 緒 言

放射線基礎医学的観点からみて、腫瘍放射線治療の臨床は相当程度の比率で集学的治療が行われていると言えよう。殆ど全ての放射線照射法は局所照射であり、併用される他様式治療法は主として化学療法であり、化学療法剤はsystemicに投与され、症例によっては種々のinterventionにより腫瘍局所の化学療法剤濃度を高めて投与する事も試みられる。腫瘍切除術が適応である場合の術後（放射線）照射或いは術前照射、及び術前放射線照射による腫瘍切除術適応の拡大等は、放射線治療と併用される一つの大きい集学的制癌様式であるが、この稿においては総説の主題を放射線治療

と温熱療法に限定して論述しようとするので化学療法剤或いは外科的切除術と放射線治療との併用については論述を避けたい。

これ等の種々の様式の集学的放射線治療に付け加えられるべき今一つの治療様式としてこの稿で述べられる温熱療法がある。この温熱療法は加温原理が異なると熱エネルギー付与の体内深部分布が異なり、従って深部温度分布が異なる。又、同じ加温原理でも加温装置或るいはその装置の稼働条件が異なると同様に深部温度分布が異なる結果と成る。この事は温熱療法の特徴であるが、各種線源による放射線照射の深部線量分布においても類似の事情が見られる。生体各組織では、種々の加温原理による熱エネルギー付与に対する組織特

*1 福井医科大学 放射線基礎医学講座

Departments of Experimental Radiology and Health Physics, Fukui Medical University

*2 名古屋市立大学医学部泌尿器科学講座

Department of Urology, Nagoya City University School of Medicine

*3 福井医科大学 耳鼻咽喉科学講座

Department of Otorhinolaryngology, Fukui Medical University

*4 福井医科大学 皮膚科学講座

Department of Dermatology, Fukui Medical University

*5 福井医科大学 脳神経外科学講座

Department of Neurosurgery, Fukui Medical University

異的熱インピーダンスが異なる。例えば脂肪と筋肉では脂肪組織の方が熱インピーダンスが高いので脂肪組織は過熱して火傷をおこしやすく、その下層にある筋肉組織は効果的には昇温し難い場合もある。又、骨と筋肉の境界では、特に超音波による加温の場合、両者の界面にある骨膜が隣接他臓器よりも著しく昇温する事になる。従って、加温原理、加温装置、加温条件等は各症例ごとに、又加温局所によって選択的に設定されるべきである。これと共に測温装置の選択とその施術も等しく重要不可欠な事である。これらの優れてME学的諸局面の説明は他の温熱療法の成書に譲りたい^{1),2)}。

温熱療法の一つの特徴として、温熱細胞致死の為の活性化エネルギーが43℃近辺で急激に変わると言う事があげられる。平易に表現すれば、43℃またはそれ以上の温度環境下では生残細胞画分を一定の比率迄減少させる為の（温熱細胞致死の為の）熱エネルギーが、43℃以下の温度環境下におけるそれに較べて著しく少量で済む事になる。即ち、腫瘍組織を43℃またはこれを若干上回る温度に昇温させ、隣接正常組織はこれを下回る温度迄しか昇温させない事に成功すれば、一定加温時間後の腫瘍及び正常両組織間で生残細胞画分に合目的的な差異を生じる事になるのである³⁾。

温熱療法には、温熱耐性の誘導と言う問題が付きまとう。即ち、加温後生残細胞は一過性に温熱感受性の減弱を示し、これを温熱耐性の出現と言う。この温熱耐性は3日またはそれ以内に消失して本来の細胞温熱感受性に戻る。それ故、温熱療法の施術にはその間隔時間（日数）が重要となるのである^{4),5)}。

治療クルのどの時点で、毎回加温条件としての局所加温々度は何度で、加温時間はどれ程に設定し、加温間隔日時はどれ程にし、表在～深部温度分布を如何様に設定して、どの様な他治療様式と併用して加温すれば、臨床経験上及び統計学上充分な治療効果、従って良好な遠隔成績、を期待できるかが検討課題となる。又温熱療法併用による等効果放射線々量の減少も同様に重要な課題である。

種々の集学的腫瘍治療様式の内、この章においては、放射線治療における温熱療法の併用につい

ての基礎医学的知見を記述する。

II 癌温熱療法の歴史

癌温熱療法の歴史は古代エジプト時代まで遡ると言われている。発掘された粘土板に神聖文字 Hieroglyph で描かれた腫瘍温熱療法についての記載があり、それによると腫瘍は灼熱した金属で焼灼しなければならないと書いてあるそうである。古代の事であるから麻酔は未だ無く酒を飲ませて酩酊状態で施術し、癌の局在も体表ないし浅在性の癌に限られて居たであろうと想像される。古代ギリシャにおいても腫瘍を含む各種の疾病と発熱の関係が論じられ、発熱は疾病の徴候であるだけでなく、発熱によってその疾病に対する治療機作を生体自らが提供していると言う概念が既に成立していた。中世近世においても腫瘍を含む各種の疾病に対するいわゆる温熱療法は世界各地で多数行なわれており、我邦においても伝統的東洋医学の治療法としての温熱療法は現在も行われている。近代以前の腫瘍治療法のうち今もその科学的根拠を評価し得る手法は、少数の経験医学的草根木皮の他は温熱療法しか見当たらないのではないかと云へば極言に過ぎようか。近代科学的学術論文に温熱療法が取り上げられるのは、Busch⁶⁾、Coley⁷⁾、及び Westermarck⁸⁾からであろうと思われる。Busch⁶⁾の論文では丹毒（Erysipelas、溶連菌まれにブドウ球菌による真皮の炎症。数日の潜伏期の後高熱を含む全身症状を呈し、皮膚に境界明瞭な鮮紅色の硬い発赤腫張を見る。全経過を通じて弛張性または稽留性に発熱する。）に罹患した顔面腫瘍の患者で腫瘍が著しく退縮したと報告している。Coley⁷⁾は癌患者に丹毒菌を人為的に反復感染させて癌患者に発熱させている。Westermarck⁸⁾は潰瘍を呈する子宮頸癌に経腔的温湯灌流を反復し子宮頸部の癌性潰瘍を軽快させている。執筆者自身の臨床の見聞でも、制癌剤投与による免疫能の低下に伴い菌叢に在ったフォーカス感染巣の悪化による稽留性発熱が、抗菌抗生剤の投与にかかわらず2週間にも及び、解熱後には頭頸部腫瘍が消失した症例を知っているが、これらは殆ど全て再発するものである。即ち、体内発熱によっても充分には加温されずに生残した腫瘍細胞から再発するも

のと考えられる。このような内部発熱は、加温装置による外部加温よりも優れた効果を与えていると言われているが、この20年間の加温装置のME学的発展もまた素晴らしく近年は数種の加温原理による臨床使用に耐え得る相当多種の装置が既に開発され医療機器として認可されている。

III 温熱感受性

先ず最初に弁えなければならない事は、癌温熱療法における熱エネルギー付与は、平常長大な期間310°K (37℃) で熱エネルギーに被曝しつつ生存増殖して来た細胞に、相対的には極めて短い期間(数分から数時間) 平常体温を少し上回る温度すなわち、313°Kから318°K (40℃から45℃) で付加的に熱エネルギーを付与する事であり、細胞についての温熱致死感受性はこの加温期間中に与えられた熱エネルギー量に対する生残細胞画分を表す関係式の中で係数として記述されるものである。

$$S = N / N_0 = f(E) \quad (1)$$

$$S = f(e^{-at}) \quad (2)$$

ここにSは生残細胞画分、 N_0 は加温前の細胞集落形成能(細胞増殖能)を有する生細胞数、Nは加温後この N_0 個中で細胞集落形成能をなお存続している生残細胞数、Eは付与熱エネルギー量、及びaは細胞温熱致死感受性を示す。なおeは自然対数の底である。一定温度の加温では、

$$E = bt \quad (3)$$

と表す事が出来る。ここにtは加温時間、及びbはその温度での単位加温時間あたりの付与熱エネルギー量である。それ故、(2) 式は

$$S = f(e^{-at}) = f(e^{-abt}) = f(e^{-ct}) \quad (4)$$

と表す事が出来、一定温度条件下では生残細胞画分はその温度での加温時間tの関数として表され、ここにcはその温度における細胞温熱致死感受性を表す係数となる。同じ考え方によって電離放射線(以下単に放射線と言う)の線量(エネルギー量)～生残率関係も、いわゆる線量率が正確に一定であれば照射時間～生残率関係として表示する事が出来、加温温度はエネルギー量率とほぼ同義と言う事になる。

(4) 式で表される一定温度加温時間～生残細胞画分曲線は、片対数グラフ紙上に縦軸は上から

下へ生残率の対数を、横軸は左から右へ加温時間をリニアプロットして描かれる。この曲線は左上から右下へ向い、加温開始当初の時間帯で上に凸の肩状の湾曲を示した後、片対数グラフ上で直線の減衰、即ち指數的減衰、を示す。これは、恰も人を含む哺乳動物細胞における放射線線量～生残率曲線と同様の曲線である。尚、43℃以下の加温温度では加温開始当初の上に凸の肩状湾曲について加温途中約2時間でこの右下へ向かう曲線の勾配は緩やかになり、上に凹の湾曲を示し、細胞温熱致死感受性が低下し、温熱耐性が誘導された事が観察される。43℃以上の加温温度でも温熱耐性誘導については原理的に同様であるが、培養細胞実験手技上フラスコ当りの当初播種細胞数、上式の N_0 にはほぼ同義、に上限があるので実験可能な加温時間は実際上著しく短縮され(44℃の加温時間は実験では60分以内)、実験結果をグラフに描いても温熱耐性出現の時間帯迄を追跡し切れないのである。その為、43℃以上の加温では恰も温熱耐性が誘導されないかの様に誤解してはならない。もう一つ、電離放射線々量～生存率曲線の横軸上に示される線量は電磁波のエネルギー量ではあるが、その内の電離能力を有する電離放射線による電離の量に依存する放射線々量のみで、被照射細胞はその前後に電離放射線による電離の事象は何等与えられていないのである。これに反して、加温時間～生残率曲線の場合は被加温細胞にとって与えられた全ての熱エネルギー量(37℃)は長時間にわたって膨大なものであり、加温時間として横軸上に表示されるのは計画された升温期間のみであるので、この加温期間中に被曝する熱エネルギー量はその前後の長大な期間に被曝するそれに較べれば軽微なものと言わざるを得ない。加温期間中の常温を上回る細胞環境温は単に物理学的に熱エネルギーを供給する以外に如何様の生物学的機作でもって殺細胞効果を顕しているのであろうか。しかも加温における升温幅は310°K (37℃)からは僅かしか上がっていないので単位時間当り付与エネルギーも加温前後のそれに較べて僅かしか増加していないのである。

43℃以上の温度におけるとこれ以下39℃前後迄の温度におけるとでは細胞温熱致死の為の活性化

エネルギー（温熱細胞致死と言う生化学的集積の反応に要する熱エネルギー）は各々、約160kcal/molと約350kcal/molであり、43℃以上では生残細胞を1/eにしそれ以外の細胞が死ぬために必要な熱エネルギーは43℃以下の加温に較べて半分以下でよい事になり、このような場合には細胞温熱致死と言う一種の生化学的多段階的累積反応の様式が部分的に相当異なっている事を示唆している。即ち、43℃以上ではそれ以下の加温では見られない蛋白凝固等の現象が付け加わっている事を示唆しているのである。このように考えられるにもかかわらず、一定温度の加温時間～生残率関係及び同曲線は比較的簡単な数式として実際上表記され得るのは、一定温度の加温時間と言う横軸上の表記が単にその期間中に付与される熱エネルギー総量を間接的に表しているのでは無く、加温期間中の上昇した温度によって付与される熱エネルギー分のみを表現しているかのようである。加温期間中に細胞に与えられる致死効果の機作は厳密には何に基づいているのであろうか。

IV 細胞株間における温熱感受性の差異

ヒトを含む哺乳動物細胞の培養株は、温度高感受性突然変異細胞株^{9), 10)}を除けば大部分の細胞株ではほぼ同様の温熱細胞致死感受性を示す。これを(4)式の係数 c またはこの逆数によって表示する事が出来る。一定温度加温時間～生残率曲線が片対数グラフ紙上直線となる部分、即ち加温時間に対して生残率が指数的に減衰する部分、でこの指数的減衰部分のみを加温時間～生残率曲線として数式化すれば、

$$S = e^{-ct} \quad (5)$$

となり、この生残率を1/eに減衰せしめるに要する加温時間を T_0 と特定した場合には、

$$S = 1/e = e^{-1} = e^{-cT_0} \quad (6)$$

と表す事が出来る。それ故、生残率が1/eとなる場合には常に

$$cT_0 = 1 \quad (7)$$

となり、この場合の加温時間 t を T_0 時間と呼ぶ。 cT_0 は常に1であるから $c = 1/T_0$ となり、この T_0 時間の逆数は平均細胞温熱致死反応速度、或いは細胞温熱致死感受性、を表す係数であり、 T_0 時間はこ

れの逆数と言う事になる。ヒトを含む大部分の哺乳動物細胞株では、この T_0 時間は、42℃加温中の温熱耐性出現以前では100～150分、同出現以後では120～400分、44℃では5～20分となる¹¹⁾。染色体数が正二倍体性を示しoncogeneが特定されているヒト腫瘍細胞株においてもほぼ同様である。例えば、ヒト肺腺癌A-549細胞株はoncogene k-rasを持っている事が同定されて居るが、この細胞株の T_0 時間は、42℃加温中の温熱耐性出現以前では約120分、同出現以後では約390分、44℃では約12分となる¹²⁾。しかし長期継代培養細胞株によっては温熱高感受性の株もあり、マウスL細胞では T_0 時間は42℃加温中の温熱耐性出現以前では約12分、同出現以後では約27分、44℃では約2.5分となる¹³⁾。細胞温熱致死感受性は細胞遺伝学的に規定されている様であるが、ヒトのoncogeneで細胞温熱致死感受性とリンクしているものは今のところ判明していないようである。

V 温熱に対する細胞周期反応

殆ど全ての細胞侵襲は、特にそれが細胞周期上特定の位相に特異的な諸機構と関わる種類の侵襲である程、被侵襲時の細胞周期位相によってその侵襲からの生残率が異なる。このように細胞周期位相によって異なる侵襲応答を細胞周期応答、cell phase response或いはage responseと言う。

温熱に対するcell phase responseでは、生残率は G_1 期後半から G_1 ～S期境界で高く、S期中央で低く、 G_2 ～M期で中等度となり、1細胞周期間に一峰性の曲線を描く^{13), 14)}。これに対し放射線照射の生残率は、 G_1 期が充分長期にわたる場合には G_1 期中央で高く、 G_1 期が短い場合にはこのピークは明確で無く、 G_1 ～S期境界で低くS期中央～後半で最も高く、 G_2 ～M期で低くなり1細胞周期間に G_1 期の長さによって一～二峰性の曲線を描く¹⁵⁾。又、紫外線(UVC)に対するcell phase responseでは、生残率は G_2 ～M期に高く、 G_1 期を通じて低下し、S期中央で最低となり、 G_2 期へ向かって上昇し、1細胞周期間に一峰性の曲線を描く¹⁶⁾。

温熱と放射線各々の細胞周期反応曲線は、 G_1 ～S期境界、特にS期中央部において著しく鏡像様に相反する曲線(Mirror image)を描き、その位相

特異的細胞温熱致死効果が相補的關係となる為、この2様式の治療要因の併用における相互効果が原理的に証明されている事になる。一方UVCの温熱及び放射線各々に対する同相補的關係は、温熱と放射線における程に著しいとは言えない。

VI 加温温度域による細胞温熱致死感受性の差異

1899年Arrheniusは、化学反応速度と絶対温度との間に相関関係があり、化学反応速度定数を α 、絶対温度をKとすれば

$$d \ln \alpha / d K = E / R K^2 \quad (8)$$

なる関係式が成立すると報告した。ここにRは気体恒数、Eは各々の化学反応式に固有な定数である活性化エネルギーである。このEが少ない程その化学反応は起こり易く又進み易いと言える。この(8)式を積分すると

$$\int d \ln \alpha = (E/R) \int (1/K^2) d K \quad (9)$$

$$\ln \alpha = -2E/RK + \beta \quad (10)$$

となる。ここで

$$2E = E^* \quad (11)$$

とおけば

$$\ln \alpha = -E^*/RK + \beta \quad (12)$$

となる。ここに β は積分定数である。Arrheniusの式は化学反応における反応速度と絶対温度との相関関係を示した式であったが、細胞温熱致死を連続的に累積された一連の生化学的反應として理解すると、細胞温熱致死についてもより単純な化学反応におけると同様にこの相関関係が成立する。この(10)式について反応速度定数 α の対数、 $\log \alpha$ を縦軸に、絶対温度Kの逆数、 $1/K$ を横軸にプロットすると、或る化学反応に要する活性化エネルギー E^* が変化しない限り、片対数グラフ紙上直線のグラフが描かれる。反応速度が反応速度定数に比例している条件下では、反応速度の逆数をもって反応速度定数に替えてプロットしても同様に片対数グラフ紙上直線を描くはずである。横軸

に37～50℃迄の領域でその絶対温度の逆数をlinear scaleでプロットしようとする事は、310～323°Kの領域で $1/310^{\circ}K \sim 1/323^{\circ}K$ 迄を1°K刻みにプロットする事になり、その間隔は実際上ほぼ等間隔なのでこの様に狭い温度域内のプロットでは横軸に絶対温度を等間隔にプロットしても、又理解し易いように摂氏温度を等間隔にそのままプロットした場合でさえ、このグラフは実際上誤り無く描く事が出来るのである。それ故、片対数グラフ紙上縦軸に平均細胞温熱致死時間(T_0 時間)の逆数を対数で、横軸に摂氏温度を左から右へとlinearにプロットすると左下から右上へと向かう直線が得られ、43℃近辺で勾配の緩い方へと折れ曲がる。活性化エネルギーは43℃以上では $\Delta H = 148 \text{ kcal/mol}$ 、43℃以下では $\Delta H = 365 \text{ kcal/mol}$ と報告されている¹⁷⁾。

このプロットが43℃近辺で折れ曲がる(breakする)生物学的意義は、43℃以上の温度域では加温による細胞致死の主たる生化学的反應にそれ以下の温度域ではみられない反応様式が添加されるか、43℃以下の温度域ではそれ以上の温度域ではみられない温熱障害回復乃至障害阻止の機構が効果的に作動しているかのどちらかまたは両方であろうと考えられる。

VII 温熱による放射線感受性の修飾(細胞水準)

放射線被照射細胞の一部は照射線量に依存して亜致死的放射線損傷(sublethal damage: SLD)を受けており、これらの細胞は亜致死的放射線細胞損傷を修復(SLD-repair: SLDR)して生残細胞画分に含まれるのが通常である。又、放射線SLDを受ける細胞の確率は比較的低線量の領域で大きい。温熱の併用はこの修復を阻害し放射線SLDを受けている細胞をして致死細胞画分へ追い遣り、併せて致死的放射線損傷(lethal damage)に関する細胞感受性をも増大する。

それ故放射線の線のエネルギー付与linear energy transfer (LET)が低い程¹⁸⁾、また線量率が低い程¹⁹⁾、温熱による放射線増感は著しい。

前者は、組織内或いは細胞内の3次元的電離事象の密度が比較的低く且つdiffuseである。従って同じ線量の被曝から放射線SLDを受ける細胞の確

率がより高く、このような線質（例えばX線）による照射においては線量～生存率曲線のいわゆる肩の部分の肩幅に相当する線量Dqが粒子線におけるそれに比べて大きい。この線量域では照射されて放射線SLDを被る細胞の、集団中に占める割合が大きい事になる。温熱の併用は、放射線SLD-Rを阻害しこれらの細胞を致死的損傷を受けた細胞集団へと移行せしめるので、この温熱併用による致死的放射線障害感受性の増大によって放射線線量生残率曲線の指数的（直線状）減衰部分の勾配は急峻化し、又肩幅を示す線量Dqも著明に減少する。これらの事が一定線量に対する生残率の著明な減少に貢献する²⁰。

後者は、組織内或いは細胞の電離事象における、一定時間内の頻度が低いと言う事であって、放射線細胞損傷が短時間内に高線量率で多事象的に与えられる場合にはその細胞の被った損傷（主として細胞の生存増殖に不可欠な細胞内小器官またはその周辺への種々のタイプの電離による機能の喪失または阻止）の総和により細胞は致死的放射線損傷を受けた細胞として致死細胞画分に含まれるが、たとえ損傷の総和が同じであってもそれらが与えられるに要する時間経過が比較的長く照射が低線量率であれば、損傷は次から次へと与えられつつ修復されていき、致死細胞画分へ入るためのcriticalな線量は増大する事となる。この様な低線量率照射でも放射線SLDの、温熱の併用による修復障害が放射線障害を未修復のまま蓄積させ細胞を致死画分へと移行させるので温熱による放射線増感が観られる事になる。

放射線被照射細胞の損傷修復にはこの他に潜在的致死的障害の修復（potentially lethal damage repair: PLD-R）がある。放射線損傷を受けた後の細胞致死は殆ど全てが被曝後の細胞分裂死であるが、特に大線量の照射（数十Gy）を被曝した場合には分裂間期死、apoptosisが観られる。被曝後可能な限り早期に細胞周期位相を回転すれば主として次の分裂期に分裂死する程度（或いは性質）の放射線障害を受けている細胞でも、すぐには細胞周期位相を回転させずその前に時間を与えると修復は進み、その後細胞周期位相を回転しても分裂死を免れ生存細胞画分に移行する範疇の損傷修

復をPLDRと言う。PLDRにはfast typeと slow typeが認められている。PLDRの能力も温熱の併用によって減弱させられる²¹。

細胞周期応答において放射線と温熱が相補的鏡像関係にあり、その細胞致死効果における相補性によって温熱併用が放射線効果を増大している事はV項に述べた通りである。放射線の細胞致死効果は酸素分圧によって大きく影響され、細胞内酸素分圧が生理的で飽和の状態に有る細胞（正酸素細胞）に比較すると、短期間一過性の無酸素状態或いはこれに近い低酸素状態の細胞（低酸素細胞）ではその放射線細胞致死感受性は約40%に低下する。即ち、約2.5倍の線量を照射して初めて同じ程度の致死効果を得る事になる。低酸素細胞は放射線低感受性ではあるが、正酸素細胞に較べると温熱致死感受性が高いだけでなく、温熱併用による放射線増感効果も著しいので、放射線と温熱を併用すると酸素効果比oxygen enhancement ratio (OER) が減少することになる²²。

VIII 温熱による放射線感受性の修飾（組織水準）

長い進化の過程で正常組織は正酸素環境を維持するべく血管の分布新生を行なうよう遺伝学的にプログラムされており、又血管運動神経機能も良好に維持されている。然し腫瘍は細胞増殖しても血管新生がこれに伴って正酸素環境を維持するとは保証されていないようである。特に上皮細胞の層はこれ自体の中への血管新生は出来ず、本来皮下、或いは粘膜下、組織中に血管が新生するので上皮細胞性腫瘍である癌では一部に毛細血管から遠い部分が生じて低酸素性腫瘍組織となり更には無酸素性腫瘍組織となる。生物物理学的計算によれば、最も近い毛細血管からの距離が150 μ m以上になると細胞は低酸素（無酸素）、低栄養、低pHの環境となりいわゆる中心壊死に陥る²³とされているが、腫瘍組織中を走る毛細血管からの機能的酸素透過距離は、毛細血管に比較的近い腫瘍細胞による酸素消費の影響を受けて毛細血管の動脈側で約70 μ m、同静脈側ではそれ以下の距離までしか酸素を供給出来ない事が判ってきた²⁴。低酸素低栄養環境は放射線感受性を低下させるが、温熱感受性は増大させる。低pHが放射線感受性をど

の様に修飾するかについては種々の相反する報告があり判然としない。この低酸素、低栄養、低pH環境は腫瘍組織における血管新生の不完全さに基づいて同一機作で発生する現象であるが故に生体内腫瘍組織においては程度の差は有れこれらは同時に起こる現象である。この血管新生の不完全さは、腫瘍組織内血流量を隣接正常組織内におけるそれよりも減少させ、これが腫瘍組織内の生理学的環境を低酸素、低栄養、低pHに傾かせる原因となる。この生理学的環境は血液循環による熱の拡散を妨げるので腫瘍組織は隣接正常組織に較べて蓄熱性となり、一様の加熱で腫瘍組織温は隣接正常組織温に較べて徐々に高温となる。これによって腫瘍組織温は前述のArrheniusのプロットを屈曲させる温度、43℃、を少しでも上まわり隣接正常組織温はなおこれを下まわる温度に留める事に成功すれば、温熱細胞致死の為の活性化エネルギーの著明な差異により同一加温期間内の細胞致死効率率は合目的的に異なっていく事になる。即ち温熱療法は、技術的には種々の困難が今なお残っているけれども、原理的には腫瘍組織に或る程度の合目的的で選択的な致死効果をもたらす環境的要因を持っている事を指摘出来る。これに反して放射線療法においては、腫瘍組織に特徴的な低酸素、低栄養、低pHと言う生理学的環境要因、特にその前二者が、腫瘍組織の放射線致死感受性を減弱させる環境的要因と成っている事に注目しなければならない。然し、温熱療法のあとに屢々観察される生残腫瘍細胞が固形腫瘍ではその周辺部に局在しその部位の腫瘍細胞は、それよりも一層中心部に局在する腫瘍細胞に較べて血流量が隣接正常組織のそれに比較的近いが故に、温熱致死効果は低いけれどもその分放射線感受性は比較的に高い事になり、温熱療法と放射線治療とは原理的に相補性が高い事となる。即ちこの両治療様式の併用は細胞水準（VII 温熱による放射線感受性の修飾：細胞水準、及び細胞周期応答の両項参照）においてのみならず組織水準においても合目的的な組合せなのである。

IX 生理学的ストレス蛋白及びその一部分としての熱ショック蛋白

温熱耐性²⁹⁾は加温された細胞に誘導され一過性に出現する。ヒトの細胞の温熱耐性は、HeLa細胞の分割加温で観られたのが最初の報告かと思われる²⁹⁾。温熱耐性の程度及びその出現と消退の時間的経過は加温の条件（温度、期間、間隔時間等）によって或る程度異なるものである。中国ハムスターのV-79培養細胞株では、温熱耐性出現は加温後3～6時間でそのピークに達し、24時間までその水準を維持し、その後約3日間で消退する^{4), 26)}。この消退するまでの期間は臨床温熱療法上特に重要で、この温熱耐性の消退を待つ為、患者の加温は普通は3日に1回週2回施術することが多い。

熱ショック蛋白（heat shock proteins: HSP）は加温による誘導によって産生される誘導型HSP72と、常温の生体内でも或いは常温の培養条件中でも産生され続けている構成型HSC73とが知られている。HSPは数種のポリペプチドで、温熱侵襲によって普通の細胞蛋白産生が減退するのと逆行性に細胞内に蓄積される。HSPに就いての最初の報告は、短い時間の加温を受けたショウジョウバエ唾液腺の多糸染色体にバフ形成が観られるとの論文である²⁷⁾。バフが多い程、転写（mRNA合成）ひいては蛋白合成が促進される。このようにしてショウジョウバエ唾液腺多糸染色体のヒートショックバフによる一連の研究が行われ、加温からHSP合成に至る知見が得られた。このヒートショック関連遺伝子とHSPについての知見は微生物からヒトを含む哺乳動物にまで共通に認められる事が判り、ショウジョウバエではそのヒートショック遺伝子の塩基配列までもが決定されるようになった^{28), 29), 30)}。このHSPは一般にその細胞の温熱感受性を低下させる機能があるが、その機作の詳細は種々の報告によって未だ一定になっていない。

HSPはヒートショックのみならず、他の要因による一過性侵襲によっても産生される場合がある。即ち、生体或いは細胞は種々の生理学的ストレスに遭遇すると、それによって一般に蛋白合成が低下するなかで一部の蛋白は逆にその合成が増大する。このような蛋白を生理学的ストレス蛋白

(physiological stress proteins: PSP) と呼んでいる。温熱以外の各種の生理学的ストレスの内の一つを与えられた結果産生されたPSPには、温熱には被曝していないにも拘らず細胞温熱致死感受性を低下させる点でHSPの機能を併せ持つ場合とHSPの機能は持ち合わせず直前に与えられた当該生理学的ストレスに対する感受性低下の機能のみを持つ場合とがある。HSP活性を併せ持つPSP産生を誘導するストレスとしては、一部の薬剤^{31), 32)}、一部のアミノ酸アナログ^{31), 33)}、一部の遷移元素³²⁾、等があげられ、エタノール、ピューロマイシン、砒素、カドミウム等について報告が有る。

温熱耐性は動力学的には外見上三つの加温法で誘導されるように見えるが、その原理は一つである。即ち、(1) 分割加温の37℃間隔時間中に温熱耐性が出現し2回目の加温に対して最初の加温時よりも温熱感受性が低下する。通常はこの場合の加温は2回とも43℃以上の温度で従って比較的短い時間加温し、これにより亜致死的温熱障害を受けた細胞はこれに引き続く37℃間隔時間中に温熱耐性の誘導を終える³²⁾。(2) 43℃以下の温度の加温中、2~3時間で温熱致死感受性の著明な低下をみ、この加温中に温熱耐性が誘導された事が判る³³⁾。今一つ、(3) いわゆるstep-up加温においても温熱耐性は著明に出現する³⁴⁾が、このstep-up加温とは最初の加温は43℃以下で加温中に温熱耐性を誘導するにたる期間、従って120分前後或いはそれ以上の期間にわたって加温し、その後37℃間隔時間を挿入せず直接43℃以上の温度で加温すると温熱細胞致死感受性の著明な低下を示すものである。いずれの場合についても、温熱耐性誘導の条件には、(a) 亜致死的温熱障害を受ける事、(b) この障害を修復して生残する細胞に温熱耐性が誘導される事、(c) 温熱耐性誘導には最低2時間程度の時間が必要である事、が上げられる。

HSPには分子量や従って電気泳動度等の異なる数種類の蛋白が有り、この内温熱耐性の出現に最も大きく関与しているのは約72~73k Da (ダルトン) の蛋白と考えられている³⁵⁾。このHSPは細胞質にも核にも認められ、加温により細胞質中から核小体へと移動してそこに局在する。加温を中止すると再度速やかに細胞質中へdiffuseに分布する

ようになる³⁶⁾。HSPを含むPSPは、原核細胞から真核細胞まであるいは細菌からヒトまで観られ、細胞或いは生体に与えられるストレスに対する防御機構の一部と考えられ医学生物学に提起され研究が進んでいる比較的新しく重要な研究課題であり、日進月歩の分野である。

X 引用文献

- 1) Kato, H. & Furukawa, M.: Studies of a deep heating apparatus. in "Current Research in Hyperthermia Oncology" Ed. Kano, E., Academic Press, 1988, pp.3~18.
- 2) 加藤博和, 石田哲哉: 加温装置 (ラジオ波) pp 43~61, 菊池 真, 根岸直樹: 加温装置 (マイクロ波) pp 62~80, 齋藤正男: 温度測定技術 pp 83~90, 放射線医学大系 特別巻3: "ハイパーサーミア" 中山書店
- 3) Kano, E., Miyakoshi, J., Furukawa-Furuya, M., Kato, H., Ohsaki, S., Nishida, T. & Heki, S.: Effects of hyperthermia at 50°C on V-79 cells in vitro. *J. Radiat. Res.* 23: 218~227, 1982.
- 4) Miyakoshi, J., Heki, S., Yamagata, K., Furukawa-Furuya, M. & Kano, E.: Induction of thermotolerance by redundant hyperthermia (42, 44 °C) in Chinese hamster cells. in "Fundamentals of Cancer Therapy by Hyperthermia Radiation and Chemicals" Ed. Kano, E. et al. MAG Bros. Inc. 1983, pp.135~147
- 5) Kano, E., Furukawa-Furuya, M., Nitta, K., Ohtsubo, T., Picha, P., Tsuji, K., Tsubouchi, S., Kondo, T. & Puribhat, S.: Effects of anti-tumor drugs on thermotolerance development and thermo-sensitivity of thermotolerant cells. in "Current Research in Hyperthermia Oncology" Ed. Kano, E., Academic Press, 1988, pp.109~125.
- 6) Busch, W.: Ueber den Einfluss welchen heftigere Erysipelen zuweilen auf organisierte Neubildungen ausuben. *Verhandlungen der Naturheilkunde Preuss. Rein. Westphal.* 23: 28~30, 1866.
- 7) Coley, W.B.: The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas: with a report of 10 original cases. *American J. medical Sciences* 105: 487~511, 1893
- 8) Westermarck, F.: Ueber die Behandlung des ulcerierenden Cervixcarcinoma mittels konstanter Wärme. *Centralblatt für Gynaekologie*, 22: 1335~1339, 1898
- 9) Okazaki, T. & Okazaki, R: Mechanism of DNA chain growth (IV): Direction of synthesis of T₄ short DNA chains as revealed by exonucleolytic degradation. *Procs. Nat'l. Acad. Sci.* 64: 1242~1248, 1969
- 10) Thompson, L.H., Mankovitz, R., Baker, R.M., Till, J.E., Simonovitch, L. & Whitmore, G.F.: Isolation of temperature-sensitive mutants of L-cells. *Procs. Nat'l. Acad. Sci.* 66: 377~384, 1970
- 11) Ohtsubo, T., Chang, S.W., Tsuji, K., Picha, P., Saito, H. & Kano, E.: Effects of cis-diamminedichloroplatinum

- (CDDP) and cis-diammine(1,1-cyclo-butanedicarboxylate) platinum(CBDCA) on thermotolerance development and thermosensitivity of the thermotolerant cells. *International J. Hyperthermia* **6**: 1031~1039, 1990
- 12) Kano, E., Picha, P., Hayashi, S., Yamazaki, Y., Furuya, M., Majima, H., Ohtsubo, T., Zhang, S.W. & Kawahara, K.: Cellular Basis on Hyperthermia Oncology. Procs. 11th Asia Pacific Cancer Conf. Nov. 1993 Bangkok in press.
 - 13) Gerweck, L.E., Gillette, E.L. & Dewey, W.C.: Effects of heat and radiation on synchronous Chinese hamster cells: Killing and repair. *Radiat. Res.* **64**: 611~623, 1975
 - 14) Kim, S.H., Kim, J.H. & Hahn, E.W.: The enhanced killing of irradiated HeLa cells synchronous culture by hyperthermia. *Radiat. Res.* **66**: 337~345, 1976
 - 15) Terasima, T. & Tolmach, L. J.: Variations in several responses of HeLa cells to X-irradiation during the division cycle. *Biophys. J.* **3**: 11~33, 1963
 - 16) Kano, E., Miyakoshi, J., Ikebuchi, M., Yamagata, K. & Sugawara, T.: Dose-modifying effect of a cyanidine chloride derivative, keracyanine, for UV irradiation of murine L fibroblasts cultured in vitro. *Radiat. Res.* **77**: 547~560, 1979
 - 17) Dewey, W.C., Hopwood, L.E., Saparetto, S.A. & Gerweck, L.E.: Cellular responses to combinations of hyperthermia and radiation. *Radiology* **123**: 463~474, 1977
 - 18) Gerner, E.W. & Leith, J.T.: Interaction of hyperthermia with radiation of different linear energy transfer. *Internationals J. Radiat. Biol.* **31**: 283~288, 1977
 - 19) Ben-Hur, E., Bronk, B.V. & Elkind, M.M.: Thermally enhanced radioresponse of cultured Chinese hamster cells. *Nature New Biol.* **238**: (85) 209-211, 1972
 - 20) Kano, E., Miyakoshi, J. & Sugahara, T.: Difference in sensitivities to hyperthermia and ionizing radiation of various mammalian cell strains in vitro. in "Cancer Therapy by Hyperthermia and Radiation" Ed. Streffer, C. et al. 1978, pp.188~190
 - 21) Li, G.C., Evans, R.G. & Hahn, G.M.: Modification and inhibition of repair of potentially lethal X-ray damage by hyperthermia. *Radiat. Res.* **67**: 491~501, 1976
 - 22) Kim, S.H., Kim, J.H., & Hahn, E.W.: The radiosensitization of hypoxic tumor cells by hyperthermia. *Radiology* **114**: 727~728, 1975
 - 23) Thomlinson, R.H. & Gray, L.H.: The histological structure of some human lung cancers and the possible implications for radiotherapy. *British J. Cancer* **9**: 539~549, 1955
 - 24) Hall, E.J., The oxygen effect and re-oxygenation in "Radiobiology for the Radiologist" (4th edition) Ed. Hall, E.J., J.B. Lippincott Co., 1994, pp.133~152
 - 25) Gerner, E.W. & Schneider, M.J.: Induced thermal resistance in HeLa cells. *Nature* **256**: 500~502, 1975
 - 26) Kano, E., Yoshikawa, S., Inui, M., Tsubouchi, S., Kondo, T., Miyakoshi, J. & Furukawa-Furuya, M.: Effects of hyperthermia on cultured mammalian cells in "Modification of Radiosensitivity in Cancer Treatment" Ed. Sugahara, T, Academic Press 1984, pp.439~459.
 - 27) Ritossa, F., A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia* **18**: 571~573, 1962
 - 28) Karch, F., Toeroek, I. & Tissieres, A.: Extensive regions of homology on front of the two hsp 70 heat shock variant genes in *Drosophila melanogaster*. *J. Mol. Biol.* **148**: 219~230, 1981
 - 29) Holmgren, R., Corces, V., Morimoto, R., Blackman, R. & Meselson, M.: Sequence homologies in the 5' regions of four *Drosophila* heat shock genes. *Proc. Nat'l. Acad. Sci.* **78**: 3775~3778, 1981
 - 30) Ingolia, T.D. & Craig, E.A.: Primary sequence of the 5' flanking region of the *Drosophila* heat shock genes in chromosome subdivision 67B. *Nucleic Acid Res.* **9**: 1627~1642, 1981
 - 31) Hightower, L.E.: Cultured animal cells exposed to amino acid analogues or puromycin rapidly synthesize several polypeptides. *J. Cell Physiol.* **102**: 407~427, 1980
 - 32) Levinson, W., Opperman, H. & Jackson, J.: Transition series metals and sulfhydryl reagents induce the synthesis of four proteins in eukaryotic cells. *Biochim. Biophys. Acta* **606**: 170~180, 1980
 - 33) Kelly, P.M. & Schlesinger, M.J.: The effect of amino acid analogues and heat shock on gene expression in chicken embryo fibroblasts. *Cell* **15**: 1277~1286, 1978
 - 34) Kano, E., Furuya, M., Nitta, K., Ohtsubo, T., Picha, P., Tsuji, K., Tsubouchi, S., Kondo, T. & Puribhat, S.: Effects of anti-tumor drugs on thermotolerance development and thermosensitivity of thermotolerant cells. in "Current Research in Hyperthermia Oncology" Ed. Kano, E. Academic Press 1988, pp.109~125
 - 35) Ohtsuka, K., Furuya, M., Nitta, K. & Kano, E.: Effect of cycloheximide on the development of thermotolerance and the synthesis of 68-kilodalton heat shock protein in Chinese hamster V-79 cells and mouse L cells in Vitro. *J. Radiat. Res.* **27**: 291~299, 1986
 - 36) 大塚健三, 中村普武, 佐藤周子: HeLa及びブラット3Y1-B細胞における温熱ショックによるHSP70の核小体への蓄積. 日本ハイパーサーミア学会誌 **2**: 13~21, 1986

要旨: 癌温熱療法についての沿革, 細胞温熱感受性, 特に加温温度域による細胞温熱致死感受性の差異, 温熱に対する細胞周期位相反応, 細胞及び組織水準における温熱による放射線感受性の修飾, 生理学的ストレス蛋白の一部としての熱ショック蛋白, 等について概説を試みた。