

■ REVIEW ARTICLE

腫瘍のhypoxiaと放射線・温熱感受性 —最近の進歩と治療への応用—

田中 敬正, 池田 茂樹, 志賀 淑子

TUMOR HYPOXIA AND RADIO-THERMOSENSITIVITY — RECENT DEVELOPMENTS AND APPLICATION FOR CANCER TREATMENT —

Yoshimasa TANAKA, Shigeki IKEDA, Toshiko SHIGA

Abstract: Oxygen deficient hypoxic cells, which are resistant to sparsely ionizing radiation, have been identified in most animal and some human solid tumors. This hypoxia (H.) can be divided into 2 type of hypoxia, namely chronic H. arising from an oxygen diffusion limitation and acute H., resulting from transient stoppages in microregional blood flow.

Although clinical trial have attempted to overcome, these defirencies, results have been far from satisfactory. Recent studies have shown that nicotinamide could improve tumor blood perfusion in tumors.

In many solid tumors, the pH of the extracellular fluid is acidic, low oxygen tension and decreased blood flow. During hyperthermia at the temperature usually applied clinically (above 43°C), the heat induced reduction in blood flow is often greater in tumors than in normal tissues and then, their temperature rises higher.

However, recent studies revealed that modest temperature hyperthermia (MTH) may be an efficient and useful means to improve the oxygenation of human tumors.

Recent studies showed that hypoxia induces apoptosis in transformed cells and that further genetic alterations, such as p53 mutation and bcl-2 overexpression, substantially suppress apoptosis induced by radiation and chemotherapy. These results explain the resistance of tumors to cancer therapy.

Recently, hypoxia plays an important role for to increase VPF (vascular permeability factor) expression in tumor angiogenesis.

These useful developments in tumor angiogenesis inhibitors are quite important for cancer therapy.

Key words: Tumor hypoxia, Radiosensitivity, Thermosensitivity, Tumor angiogenesis.

はじめに

1955年, Thomlinson, Grayらの研究で, 半径が160 μ m以下の腫瘍コードには壊死はないが, 200 μ m以上では必ず中心壊死を伴うことを見つけた. 以後, 放射線感受性が癌細胞の酸素濃度と如何に関与するかがわかってきて以来 (酸素効果), 高圧酸素療法, ミソニタゾールなどの低酸素細胞増感剤, Fluosol, ペントキシフィリンなどが次々

と臨床面に応用されたが, 有効性が認められなかった. 最近, 腫瘍内のhypoxiaは全く異なる2つのメカニズムがあり, 一つは慢性のhypoxiaで, 組織内での酸素の拡散しうる距離が限られていることに由来している (diffusion hypoxia) ものであり, 細胞は長期にわたりhypoxicになる. 急性のhypoxiaは, 血流が一時的に止まることによりおこり (perfusion hypoxia), 一過性のものである. acute hypoxiaに対する機序と治療方法についても

ヨーロッパを中心に広く研究されている。

最近、腫瘍における血管新生の重要性が叫ばれており、癌が引き起こした異常な血管新生はそのバランスが崩壊したものと考えられ、癌治療にはこれらを熟知しなければならない。腫瘍血管新生には、hypoxiaが大きな役割を果たしていることがわかっている（後述）。これには有力な angiogenesis inhibitor の出現が望まれる。また、腫瘍組織内の低pH、hypoxiaや低血流量などの環境因子の変化は、いわゆるストレスの変化ではあるが、p53の変異やbcl-2らの過発現と密接に関係し、これが腫瘍の放射線感受性を低下させる重要な役割を演ずると考えられ、今後の放射線治療に最も重要なことであろう。今回は、今まで腫瘍の hypoxia に対して行われた治療の役割と、今後の問題点について簡単に述べてみたい。

腫瘍血管の特異性と治療との関連¹⁾

正常細胞が癌化し、ある大きさになると血管生成因子（Angiogenesis Factor）が働いて腫瘍発育に大切な腫瘍血管の形成を促す。この様にして作られた微小血管系は、形態、機能面で正常血管と異なる。¹⁾³⁾

- (1)形態上の異常：蛇行A-V shuntが見られ、ところどころ大きなpoolingやlakeなど形態の異常を見る。
- (2)平滑筋の欠除：腫瘍血管には平滑筋を欠如することが多く、このために血管作動性物質により正常血管とは異なった反応をおこす。
- (3)リンパ組織の欠除：多くの固形腫瘍にはリンパ系がなく、間質内液の排出が困難になるため、一般に腫瘍内は間質圧（interstitial fluid pressure）が高くなっている。これが腫瘍血管内圧よりもむしろ高いために腫瘍血管の開通が妨げられている。
- (4)腫瘍内が低pHであること：腫瘍の細胞外pHは一般に酸性であるが、これは細胞の異常増殖と不完全な血流のためである。
- (5)腫瘍血流量は腫瘍により異なるが、大きくなると正常組織よりも低下をおこす。
- (6)腫瘍内は大きなもののほど低酸素状態（Hypoxia）である。放射線治療の場合、これが抵抗性をも

つことで最も大切なことであり、acute, chronic hypoxiaに分けて後述する。

- (7)神経支配の欠除：このために血管作動性物質によっても正常組織とは異なった反応を示す。

以上が主な腫瘍血管の特異な点であるが、このため腫瘍血流分布の低下と不均一をおこし、ひいては放射線治療および化学療法に対して抵抗性を示す。これはHypoxiaや腫瘍血流量を改善することにより治療効果をますことにつながると考えられる。

腫瘍の中の低酸素細胞（Hypoxic cell）

腫瘍の放射線感受性に酸素分圧が関係し、低酸素細胞の存在が放射線治療の抵抗性の大きな因子と考えられてきた。それ以来、高圧酸素放射線治療や低酸素細胞増感剤（ミソニタゾールなど）のトライアルが行われたが有効性は認められなかった⁴⁾。

多くの実験腫瘍について低酸素細胞が腫瘍内に含まれており、この割合は1%以下から80%以上まで分布しており、一定していない⁵⁾。

この違いは、腫瘍細胞の血管誘導能や酸素消費能・低酸素状態での寿命などによっておこると思われる。

患者の腫瘍については低酸素細胞の存在はまだ十分明らかになっていないが、最近の新しい記述によって明らかになりつつある。すなわち、①PETを用いて¹⁸F、⁷⁵Brで低酸素細胞増感剤をラベルして調べたり、②¹⁹Fなどで増感剤を標識し、NMRでフッ素の信号をとらえる試みや、③低酸素細胞増感剤に対する抗体を作製し、増感剤のみを患者に投与したのち、腫瘍組織切片上で増感剤の局在を免疫組織学的に調べる方法である。

- 1) 腫瘍の再酸素化の問題：放射線治療中に腫瘍内の低酸素細胞の割合が変化する。照射後は酸素分圧の高い高感受性の細胞が死に、低酸素細胞の割合は増えてくるが、その後、腫瘍内微小循環系が変化して酸素分圧が高まり、元の状態に戻ってくる⁶⁾。

これを再酸素化（reoxygenation）といい、これが腫瘍内で十分おこる様に照射の分割を変化

することが試みられている。

2) 2種類のhypoxiaの存在(chronic, acute): 腫瘍が Hypoxiaになるのは次の理由による。微小血管から放出された O_2 が組織内へ拡散することにより、組織内酸素分圧が保たれる。血管から100~150 μm 以上離れると PO_2 が低下してhypoxiaが起こり、腫瘍低酸素細胞 (Hypoxic cell) が出現する。これはchronic Hypoxiaであり、diffusion-limited Hypoxiaと考えられている。

一方、腫瘍微小血管は、一時的に閉じたり開いたりしている考えがBrown J.M.らにより提唱された⁷⁾。一時的に閉じた血管周辺の腫瘍細胞はacute hypoxiaになるわけであり、時間が経過すれば血管の開通とともにreoxygenateされる。このhypoxiaは血流遮断により引き起こされるので、perfusion-limited hypoxiaと呼ばれる。この現象は、移植腫瘍を用いて間接的に証明されており、Chaplinらは⁸⁾2種類の蛍光色素(Hoechst33342とDiOC₂)を20分の間をあけて静注し、腫瘍血管が間欠的に開閉されていることを証明している。その結果、マウス扁平上皮SCCVII腫瘍では最大9%の腫瘍血管が20分以内で開閉していると報ぜられている。2種の色素が共存しない血管の頻度を計測し、perfusion mismatchとした。大きな腫瘍ほど大であった。(Fig. 1)⁸⁾

perfusion-limited hypoxiaが他の腫瘍でも認められるかを調べる必要があるまた、腫瘍血管は筋層を欠いているので、どのようなメカニズムで血管の開閉が起こるかを解明する必要がある。

Horsman⁹⁾らは、2つtypeのhypoxiaが如何にして起こるかを図示している。(Fig. 2)

機能的血管 (functional blood vessel) からdiffusionで酸素を放出するが、150 μm 離れるともうnecroticになる。一方、血管が一過性に閉塞するとacute hypoxiaとなる⁹⁾。

低酸素酸素細胞による放射線抵抗性の克服

放射線抵抗性の大きな原因と考えられる低酸素細胞の酸素化に関しては、今まで多くの研究がな

された。詳細については今まで多くの論文があり、これを参照していただきたい。acute H.についてのみ詳述する。

(1)腫瘍血流量の増強として、

angiotensin II, noradrenalin, calcium antagonistの

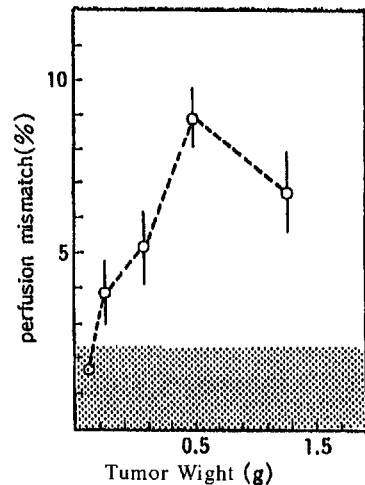


Fig. 1 The Frequency of opening or closing of the tumor vasculature. Perfusion mismatch is determined by various SCCVII size, which is larger in bigger tumors than smaller tumors.

(Chaplin, D.J., 1986)⁸⁾

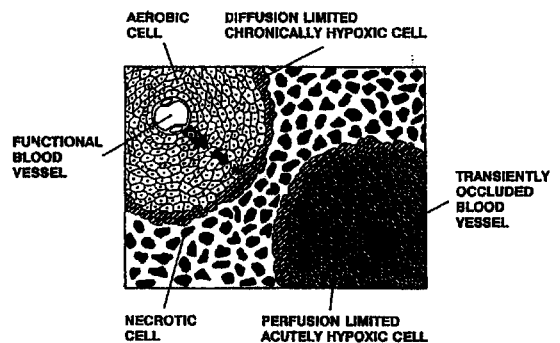


Fig. 2 Hypoxia model

The left side of the figure depicts chronic nutrient deprivation in which the blood vessel is not perfused.

Depicted on the right side is intermittent nutrient deprivation in which the blood vessel is alternatively perfused and non perfused.

(Horsman, M.R., 1995)⁹⁾

使用, 麻酔薬の使用などである。

- (2) 酸素分圧を高める手段として, 酸素吸入 Carbogen吸入 (95%O₂+5%CO₂) (高圧酸素) perfluorochemicalsの使用, ペントキシフィリンなどがある。
- (3) 一方, ミソナダゾールを初めとする低酸素細胞増感剤 (bio-reductive / radiosensitizing drug) が有名である。
- (4) nicotinamide (Vit B3) (NA) または関連物質の研究

NA, Benzamideは, 初めは放射線障害の修復阻害剤として有効であると報告されたが, Horsmanらによって^{9), 10)}, これらの薬剤は前述の腫瘍のperfusion mismatchを減少し, 腫瘍のoxygenationを改善することを報じた。これらを移植腫瘍に投与することにより, 放射線増感効果を認めている。

Nicotinamideは人体に無害であるために, 既に英国のグループによりARCON (accelerated radiotherapy with carbogen and nicotinamide) が提唱された。腫瘍の低酸素状態をNAとcarbogenで克服する一すなわちcarbogen (95%O₂+5%CO₂) はchronic hypoxiaに作用し, NAはacute hypoxiaに作用する。2つのTypeのhypoxiaを同時に解消する大変興味ある考え方であり, 既にクリニカル・トライアルが行われている。

NAの作用機序はまだ十分わかっていないが, 次のように考えられている¹¹⁾。(Fig. 3)

- (1) 腫瘍の間質圧の減少 (Interstitial Fluid Pressure: IFP)

多くの悪性腫瘍は, 正常組織に比べてIFPが高いこと, 不均一 (heterogeneity) であること, 抗癌剤の腫瘍内分布がよくないことを示す原因と考えられている。NAはこのIFPを低下させることが知られている。Fig. 3に示す様にNA (500-1000mg/kg) を投与すると, IFPの一過性の低下をまじ, 初めの値の約半分になることが知られている。

- (2) 血管拡張効果: NAはラットの動脈にphenylephrineの血管収縮効果を阻止すると言われている。
- (3) NAは, 血管内皮細胞のICAM-1 receptorの発現を抑制し, 血管壁への白血球の粘着を減少する。

Hypoxiaによりおこるアポトーシス —癌関連遺伝子との関係—

Apoptosisは遺伝子的にはプログラム死と言われており, いろいろの生理的状況により活性化される。

hypoxiaとnecrosisは, 固形腫瘍のいつもある現象である。hypoxiaは癌化した細胞がapoptosisをおこし, 癌中心のnecrosisを生じる。更にこの状態が続くと, p53癌抑制遺伝子のmutantをつくり, アポトーシスを防止する。また, bcl-2遺伝子の過発現といった遺伝子の変化がおこり, hypoxiaにより生じた細胞死を減少する。

以上のように癌抑制遺伝子p53は, 遺伝的不安定性, 癌化, 悪性化, 奇形などを抑え, 生体防御機構として働いていると考えられる。

多くの抗癌剤や放射線照射により, 癌細胞のアポトーシスを誘導することはよく知られている。最近, p53, Rb遺伝子は細胞周期調節因子として作用し, 細胞のアポトーシスに密接に関係することが明らかになってきた。C-myc遺伝子は, トランスフォーメーション能をもつ癌遺伝子として, 細胞を増殖し癌化する働きを持ち, その高発

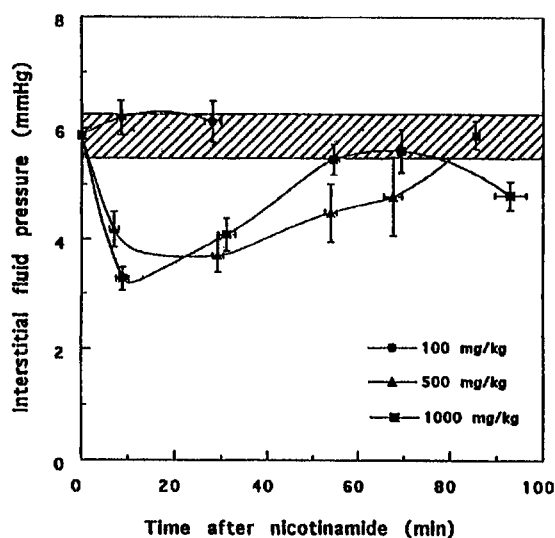


Fig. 3 Nicotinamide induced reduction in interstitial fluid pressure in intradermal NT carcinomas in mouse.

(Hirst, D.G., et.al.)¹¹⁾

現によりアポトーシスの誘導があると考えられている^{12,15)}。(Table. 1)

Table. 1にみるように、P53^{+/+} (E/A, Ha-ras) と P53^{-/-} (E/A, Ha-ras) 細胞をマウス背部に移植したものをを用いた。アポトーシスの変化を調べると、P53^{+/+}のときはhypoxicの方がaerobicに比べ7.2倍多く出現するが、P53^{-/-}のときは1.9倍にすぎなかったことを示している。西村らによると、C-myc遺伝子を導入した細胞はhypoxicのとき、アポトーシスをおこす細胞が増加するが、p53が欠損あるいはbcl-2を導入した細胞はhypoxicのときもアポトーシスを呈さない^{16,17)}。

このことは極めて重要なことを意味しており、今まで腫瘍が大きくなった場合、小さいのに比べて放射線抵抗性になるが、これを酸素効果のみで説明するのは間違いであることを物語っている。hypoxicなときには腫瘍組織には抗癌剤は到達しがたく、放射線の効果も十分には得られない。この様に治療が困難な状況下の細胞、言い換えれば低pH, hyp-oxicな環境下に長くいる細胞は、そのあとの生存、増殖に有利な形質を有することになり、放射線治療に抵抗性となり、癌治療にとって大変問題であり、今後の重要な研究課題である。

大西らは、各種の環境ストレス (UV, 各種放射線, 温熱, 低温, 低pH, プロラインキナーゼ阻害剤, ACNU) によるp53とwaf1遺伝子を中心としたシグナルトランスダクション誘導を分子レベ

ルで明らかにしている。2種の神経膠芽腫瘍培養細胞A-172とT98Gを用いて、低温 (4°C, 1h) あるいは低pHに処理した。

この様に、DNA damageを伴わないこのようなストレスによっても、転写因子p53が活性化され、それに続くmRNA合成、蛋白合成といった一連の細胞応答が誘導されることを示した。

また、個体の腫瘍組織中のpHはacidicあるので、低pHでWAF1が誘導されるという実験結果は腫瘍組織の増殖及び悪性化の問題と関わり興味深い。

大坪らは¹⁸⁾、人のGlioblastoma cellを用いて低pH (pH: 6.5) での培養で、p53依存性のWAF1の誘導を調べた。(Fig. 4) 野生型のp53遺伝子をもつA-172細胞において、低pHの場合、Waf1とp53の増加が見られたが、変異型のp53遺伝子をもつT98G細胞では見られなかった。ノーザンブロット法でも、低pHでおこったWAF1遺伝子の活性化は、A-172細胞のみに見られた。中性状態に細胞をもどすと、増加したWAF1蛋白とmRNAレベルは正常レベルにもどった。これらの所見は、p53依存性のシグナルトランスダクション系の活性化であり、人のGlioblastoma細胞の低pHによるWAF1遺伝子の活性化と考えられる。

大西らによると、Fig. 5の如くp53を中心としたシグナルトランスダクション経路を示し、これにより細胞周期、細胞死が制御されている。

WAF1はとくに直接アポトーシスにも関係している。我々の子宮頸癌の放射線治療のデータでも、p53の発現にはあまり変化はないが、WAF1とアポトーシス発現がむしろ著明に関連していることがわかった。

一方、腫瘍が大きくなると腫瘍は低PO₂, 低pHが増え、子宮癌では野生型p53はあまり変化がないが、WAF1が著明に減少してくることがわかった。このことは、低PO₂のとき、WAF1蛋白レベルを測定出来れば放射線感受性や予後因子に大きな影響を及ぼすと考えられる。

温熱療法による腫瘍の微小循環系に及ぼす影響

癌の温熱療法は、放射線治療または化学療法との併用においてそれらの効果を増強することで有効性が認められ、臨床に応用されている。

Table. 1 p53-modulated hypoxic induction of apoptosis *in vivo*

	Number of apoptotic cells per 0.01mm ²		Fold Increase
	Aerobic regions	Hypoxic regions	
p53 ^{-/-}	4.1 ± 1.8	7.9 ± 4.4	1.9
p53 ^{+/+}	3.7 ± 1.7	26.8 ± 9.4	7.2
Ratio	0.9	3.4 (6.1*)	
+/+ to -/-			

Quantification of apoptosis was performed on the TUNEL and EF5 stained sections. Fields containing both aerobic (EF5-negative) and hypoxic (EF5-positive) regions were randomly chosen while blinded to the apoptosis staining results. The number of apoptotic cells per unit area then (n=16, 4 tumours for each genotype).

*Subtracted aerobic value.

(Graeber, T.G., et.al., 1996)¹⁶⁾

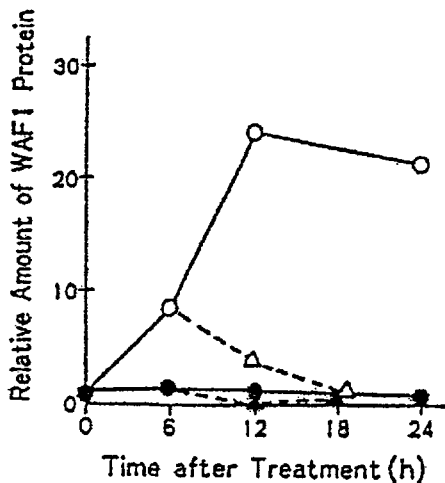
(1) がん組織が正常組織よりも温熱感受性が高い理由

in vitroでは、一般に腫瘍細胞と正常細胞との間に温熱感受性の差がない¹⁹⁾。しかし、in vivoで腫瘍のほうが熱感受性が高いのは、腫瘍の微小循環系および腫瘍環境の特異性と、温熱によって生じる血流量、生理状況の差に関係がある^{20), 21)}。すなわち、

①加温時の温度分布は局所血流量により大きく影響され、血流量が増すと温度は低下する。臨床に用いる43°C前後では、腫瘍血流量は正常に比べいっそう低下するため、腫瘍の方がより高い温度となる。

②腫瘍は一般に、pHおよび局所酸素圧 (TPO₂) が低い。加温により局所血流量が低下すると、さらに腫瘍のpH、TPO₂は低下し、熱感受性

A



B

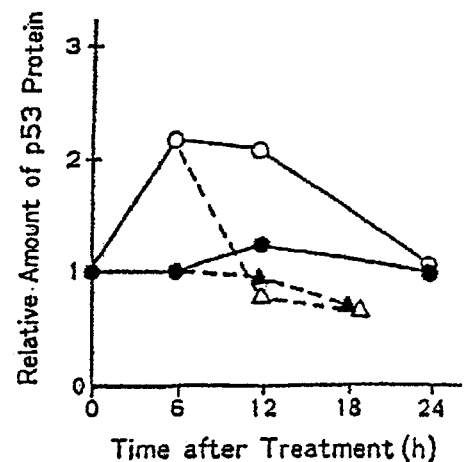


Fig. 4 Induction of WAF1 and p53 accumulation using an acidic culture condition.

A, relative levels of WAF1 protein at different time points after acidic treatment.

as compared with those of nontreated cells (time, 0h). Cells were exposed to an acidic condition (pH6.5) for graded periods. ○, A-172; ●, T98G. Cells were exposed to an acidic condition (pH6.5) for 6h, followed by culturing in a normal condition of pH7.4 for graded periods. △, A-172; ▲, T98G. B, relative levels of protein compared with those in control cells. Symbols are the same as those in A.

(Ohtsubo, T)¹⁸⁾

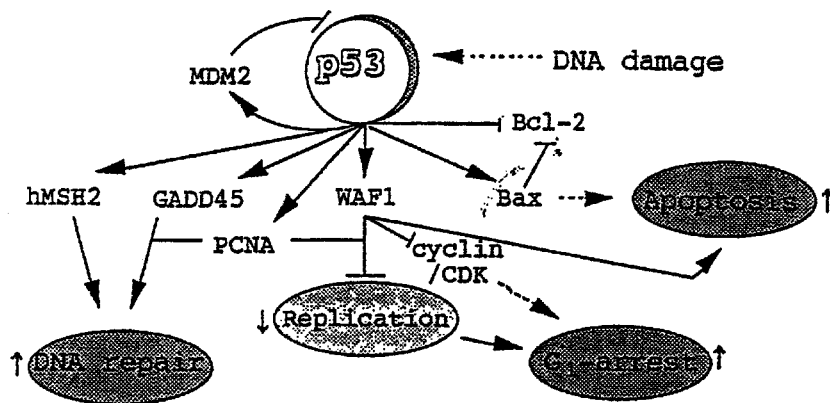


Fig. 5 Signal transduction around p53

を高め、熱耐性の発生を阻止する。

- ③加温後の血流量の低下は24時間以上続いたため、細胞の障害回復の阻止に力がある^{22), 23)}。

温熱による腫瘍血管系の変化は、腫瘍の大きさ、種類、血管構築 (vascularity)、ひとと移植腫瘍によりそれぞれ異なる。

(2) 腫瘍血管の特異性と温熱時の形態的变化

腫瘍の血管系ならびに微小血管系は、形態的、機能的な面で正常血管と異なる²³⁾。すなわち、形態的には、腫瘍の血管系には1層の薄い内皮細胞しかなく、不規則に屈曲し、A-Vシャントを有している。また、平滑筋や神経支配を欠いており、リンパ系もなく、腫瘍内の間質圧が高くなっている。正常血管のように、加温を含めたいろいろのストレスに対してうまく反応できない。腫瘍が大きくなるにつれて、機能をもった毛細血管の容積は次第に小さくなり、さらに血流はいつそう遅くなってきて腫瘍内のpHは低下する。また、腫瘍内の部位によって血流分布は一様でなく (heterogeneity) 中心部は壊死に陥る。

(3) 軽度の温熱療法 (modest temperature hyperthermia: MTH) による腫瘍PO₂の上昇

腫瘍の血管は構造的に未熟であり、正常血管に比べて熱によって傷つきやすいことを前述した。今までの温熱療法は、直接に腫瘍細胞を殺し、又は放射線増感作用を期待すると同時に、腫瘍の血管障害をおこすことであった。しかし、臨床面では、上記の血管障害をおこすだけの十分な加温をすることは装置の不完全のために今のところ難しいことが多い。そこで軽度の温熱療法 (MTH) は腫瘍の酸素状態を改善し、腫瘍の血流量をますことにより増感作用が得られることを示している^{25), 27)}。

岩田らは²⁷⁾、C3Hマウスに移植したFSaII腫瘍を用い、EppendorfのPO₂のヒストグラムにより、7-8mm直径のときは、PO₂平均 6.5 ± 0.5 mmHgであったが、1時間41.5°C加温すると 16.6 ± 1.1 mmHgになった。R3230AC腫瘍のときは、10mm直径のとき平均PO₂は 3.7 ± 0.3 mmHgであったが、

42.5°C30分加温すると、 12.2 ± 1.8 mmHgにまじた。

FSaII腫瘍のPO₂は、41.5°C1時間加温したあと24時間後にも加温前のPO₂よりも高かったと報じている。また、MTHにより5mmHgより低いPO₂値を示す頻度はMTHにより著明に減じたことを示した。同時に岩田らは、Fig. 6に示すように40.5°C、41.5°Cに加温したときには、5.0mmHg以下のPO₂の頻度はコントロールに比して著明に減少するが、42.5°C以上ではまた増加している。ちなみに5.0mmHg以下では放射線感受性が低い。上記の傾向は腫瘍の種類によって大いに異なることも示している。

しかし、Horsmanら²⁸⁾はCDFIマウスの下肢にC3Hの乳癌を用いて38.5~41.5°C1時間加温した。やはり加温中は温度上昇によるPO₂の増加を見ている。しかし、加温後、速やかに酸素状態は元に戻り低下していった。上記のデータより見ると、臨床的には加温と放射線同時併用すればPO₂増加による放射線増感効果がのぞめる。しかし、臨床的には同時併用は装置の面で大変

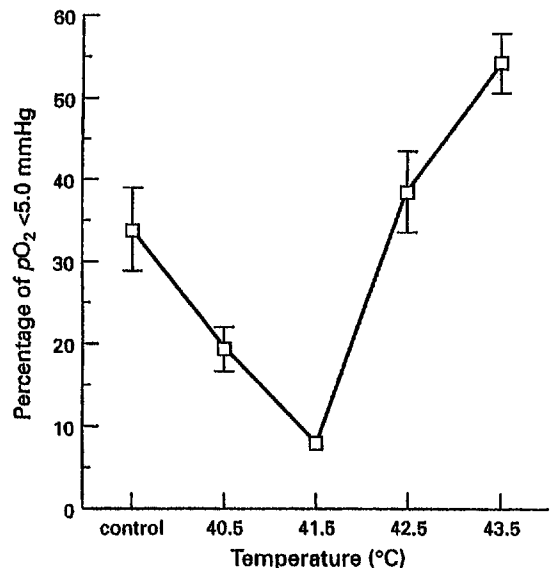


Fig. 6 Relative frequency (%) of pO₂ readings lower than 5.0mmHg in FSaII tumors heated for 1h at different temperatures. Each data point shown depicts an average of 15-20 tumors and the bars are 1 s.e.

(Iwata, K., et al., 1996)²⁶⁾

難しいことであると述べている。今後ひとの腫瘍について、MTHのときの酸素状況を詳しく調べる必要がある。

血管新生因子

1) ヒトの腫瘍は、発生の初期にはangiogenicではなく、in situの癌は初めのうちは血管新生なしに存在し、数mm³以下の小重量にとどまっている。腫瘍はangiogenic phenotypeにswitchが変わり、細胞増殖を支持する新しい毛細血管が補給される。血管新生は、腫瘍血管も含め以下の一連の経過を経て形成されることが知られている。

- ①蛋白分解酵素による既存血管の基底膜の分解
- ②基底膜の局所的破壊部分から血管内皮細胞の出芽
- ③血管内皮細胞の増殖
- ④血管内皮細胞の直接的配列による分生血管の形成と管腔形成
- ⑤新生血管の形成成熟の各段階の存在が明らかになっている。

さらに腫瘍の増殖は腫瘍を通る血液の灌流からだけでなく、新しい毛細血管内皮で産生される多くの増殖因子とマトリックス蛋白による腫瘍細胞へのparaclinal刺激が可能となる。

癌は血管新生が異常に亢進し、これを抑制する機構が破綻した疾患と言えよう。すなわち、及川らによると²⁹腫瘍血管新生は正の調節因子の発現が亢進すると共に、負に調節因子の発現が低下・消失することにより成立するものであるとしている。

正の調節因子としては、現在までに約20種の因子が報告されているが、主なものとしてはbFGF (basic fibroblast growth factor)、VEGF/VPF (vascular endothelial growth factor/ vascular permeability factor) などがある。VEGFは、血管新生の場では内皮細胞の増殖因子のみならず、血管透過性を亢進する役割も重要である。

負の調節因子として初めて明らかにされたのは、細胞外マトリックスに局在する糖タンパク質TSP-1 (Thrombospondin-1) と考えられた。これは、血管内皮細胞のいろいろの機能を抑制す

ることによって、血管新生を抑えることが明らかにされた。TSP-1の転写は、p53の支配下にあることが、癌患者の線維芽細胞より得られた。

p53と血管新生抑制機構が関連があることを示すこれらの知見は、発癌と血管新生発現の間に密接な関係があることを予測させ興味深い。

2) 腫瘍血管新生におけるHypoxiaの役割

腫瘍血管新生において、VPFの発現を亢進させる因子として低酸素 (hypoxia) が重要な役割を果たしている。

hypoxiaは次のstepにより、腫瘍のangiogenesisを促進する。

1. 内皮細胞の増殖
2. 新しい血管形成に必要なFibrin matrixの形成
3. 基底膜と細胞外基質の基底膜が退化し、これが内皮細胞による細胞外基質のmigrationと浸潤を完成させる。

最近、低酸素によるVEGF (venous endothelial growth factor) の発現機構にC-srcの活性化を中心とするシグナル伝達系が関与を示すモデルが提唱されている。Aspergillus fumigatusから得られたfumagillin (TNP-470) は、有力な血管阻止物質と認められているが、西村ら³⁰は、C3H/Heマウスに移植可能なSCCVIIを用い、温熱療法と併用し血管障害をまし、抗腫瘍効果を示した。

ま と め

癌の放射線治療に低酸素細胞の存在は放射線の低感受性を生み出す大きな役割を演ずることは今も変わらない。そのため、ここ30年あまり前より、腫瘍内のPO₂を高めるためにいろいろの手段が行われて来た。また、腫瘍の感受性を知る先行指標としてPO₂の測定は重要であるが、同時にhypoxicのときに関連癌遺伝子の変異による抵抗性の研究とその効果は重要な問題であり、今始まったばかりである。

また、癌の腫瘍血管の発育も、すべて癌遺伝子の抑制のもとにあるが、hypoxicのときは発育が盛んであり、今後有力なAnti-angiogenic compoundの発現が必要である。

文 献

- 1) 田中敬正：腫瘍内微小循環－放射線治療の立場から－. *Oncology & Chemotherapy* **13**: 11-15, 1997.
- 2) Vaupel, P.F.: Blood flow, oxygen and nutrient supply and metabolic microenvironment of human tumors. A review, *Cancer Res.* **49**: 6449-6465, 1981.
- 3) Wiig, H. & Gadeholt, G.: Interstitial fluid pressure and hemodynamics in a sarcoma implanted in the rat tail. *Microvasc. Res.* **29**: 176-189, 1985.
- 4) Dische, S.: Keynote address: Hypoxic cell sensitizers: clinical developments. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **16**: 1057-1060, 1989.
- 5) Moulder, J.E., Rockwell, S.: Hypoxic fractions of solid tumors. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **10**: 695-712, 1984.
- 6) Rofstad, E.K.: Hypoxia and reoxygenation in human melanoma xenografts. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **17**: 81-89, 1989.
- 7) Brown, J.M.: Evidence for actively hypoxic cells in mouse tumors and a possible mechanism of reoxygenation. *Brit. J. Radiol.* **52**: 650-656, 1979.
- 8) Chaplin, D.J., Durand, R.E., Olove, P.L.: Actively hypoxia in tumours: implication for modifiers of radiation effects. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **12**: 1279-1282, 1986.
- 9) Horsman, M.R.: Nicotinamide and other Benzamide analogs as agents for overcoming hypoxic cell radiation resistance in tumors. **34**: 571-587, 1995.
- 10) Horsman, M.R., Chaplin, D.J., Brown, J.M.: Tumor radiosensitization by nicotinamide; a result of improved perfusion and oxygenation. *Radiat. Res.* **118**: 139-150, 1989.
- 11) Hirst, D.G.: Tumor vascular physiology. Gray annual report; 4 years of the Gray laboratory. 51-57, 1993.
- 12) 西尾和人, 有岡 仁, 西條長宏：アポトーシスと抗癌剤感受性癌と化学療法 **24**: 216-221, 1997.
- 13) 高橋昭久, 大西武雄：放射線感受性と癌関連遺伝子 日放腫会誌 **9**: 1-13, 1997.
- 14) Bertrand, R., Sarang, M., Jenkin, J., *et al.*: Differential induction of secondary DNA fragmentation by topoisomerase II inhibitors in human tumour cell lines with amplified C-myc expression. *Cancer Res.* **51**: 6280-6285, 1991.
- 15) Evans, G.I., Wyllie, A.H., Gilbert, C.S., *et al.*: Induction of apoptosis in fibroblast in C-myc protein. *Cell* **69**: 119-128, 1992.
- 16) Graeber, T.G., Osmanian, C., *et al.*: Hypoxia mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumors. *Nature* **379**: 88-91, 1996.
- 17) Graeber, T.G., Peterson, J.F., Tsai, M., *et al.*: Hypoxia induces accumulation of p53 protein, but activation of a G1 phase checkpoint by low-oxygen conditions is independent of p53 status. *Molecular and Cell Biol.* **14**: 6264-6277, 1994.
- 18) Ohtsubo T., Song C.W., Onishi T., *et al.*: p53-dependent induction of WAF1 by a low-pH culture condition in human Glioblastoma cells. *Cancer Res., Personal Communication.*, 1997.
- 19) Love, R.: Effect of hyperthermia on normal and neoplastic cells in vitro. *Cancer Res.* **30**: 1525-1533, 1970.
- 20) Song, C.W.: Effect of local hyperthermia on blood flow and microenvironment. A review, *Cancer Res.* **44**: 4721-4730, 1984.
- 21) 田中敬正, 赤木 清, 大島太一, 他：組織環境状態と温熱感受性. *CRC* **2**: 18-25, 1993.
- 22) Emami, B.: Physiological effects of hyperthermia; Response capillary blood flow and structure to local tumor heating. *Radiology* **137**: 805-809, 1980.
- 23) Song, C.W.: Effect of hyperthermia on vascular functions of normal tissues and experimental tumors. *J. Natl. Cancer Inst.* **60**: 711-713, 1978.
- 24) Wiig, H., Gadehold, G.: Interstitial fluid pressure and hemodynamics in a sarcoma implanted in the rat tail. *Microvasc. Res.* **29**: 176-189, 1985.
- 25) Song, C.W., Shakil, A., Osborn, J.L. *et al.*: Tumor oxygenation is increased by hyperthermia at mild temperatures. *Int. J. Hyperthermia* **12**: 367-373, 1996.
- 26) Oleson, J.R.: Hyperthermia from the clinic to the laboratory; a hypothesis. *Int. J. Hyperthermia* **11**: 315-322, 1995.
- 27) Iwata K., Shakil A., Hur-WJ, *et al.*: Tumor PO₂ can be increased markedly by mild hyperthermia. *Brit. J. Cancer* **74**: 219-221, 1996.
- 28) Horsman, M.R., Overgaard, J.: Can mild hyperthermia improve tumor oxygenation? *Int. J. Hyperthermia* **13**: 141-147, 1997.
- 29) 及川 勉：腫瘍における血管新生の機序, 血管新生法－基礎と臨床－, 157-165, 1997, 真興交易(株) 医書 (内田康美編)
- 30) Falkman, J., Shing, Y.: Angiogenesis. *J. Biol. Chem.* **267**: 10931-10934, 1992.
- 31) Nishimura Y, Murata R, Hiraoka M.: Combined effects of an angiogenesis inhibitor(TNP-470) and hyperthermia. *Brit. J. Cancer* **73**: 270-274, 1996.

要旨：40年も前より、腫瘍内にhypoxiaが存在し、とくに PO_2 が5mmHg以下の細胞は放射線抵抗性があることが判明して以来、多くの人々が高圧酸素療法、ミソナゲゾールなどの低酸素細胞増感剤の使用、フルオゾール、ペントキシフェリンなどの多くの手段が臨床面へも応用されてが、有力な手段とはなり得なかった。最近来、腫瘍のHypoxiaは全く異なる2つのメカニズム、chronic H.とacute H.があることがわかり、chronic H.は今までの考え方と同じ、組織内での O_2 の拡散に関するもので、diffusion H.と呼ばれているが、後者は腫瘍血管の一過性の閉塞に関係するものであり、perfusion H.と言われるものである。後者に対してはとくにヨーロッパを中心に研究され、Nicotinamideを中心とした薬剤がこれを改善するものとしてARCONという名で臨床応用がなされている。

癌の温熱療法は、腫瘍の血管系の面より考えると、むしろ血流を低下し、hypoxiaを生じ、微小血管系を破壊することで抗腫瘍効果を発揮する治療であるが、最近、低加温により（MTH 40-42°C）、むしろ腫瘍内酸素圧が高めることがわかり、酸素効果としてこれを利用する試みがなされている。

腫瘍が大きくなると低pH、hypoxicな状況におかれるが、同時にP53の変異あるいは欠損した細胞、bcl-2の高発現した細胞が多くおこることが示唆されている。このことは、大きな腫瘍の放射線抵抗性の説明を酸素効果のみで説明することは間違いであることを意味し、将来の重要な問題を含んでいる。また、腫瘍の血管新生因子は腫瘍の発育、転移に対して重大な影響を及ぼすが、hypoxiaがVPF (vascular permeability factor) の発現を亢進させる因子として重要な役割を果たしている。また、臨床に用い得る抗血管新生因子の発見が重要である。