

血流増加電気刺激を併用した放射線照射療法について

小倉隆英¹, 鈴木 滯¹, 根城信仁¹, 半田康延²

¹東北大学大学院医学系研究科 保健学専攻 画像情報学分野, ²東北大学 名誉教授

Radiation Therapy Combined with Electrical Stimulation to Increase Tumor Blood Flow

Takahide OGURA¹, Rei SUZUKI¹, Shinji NEJO¹ and Yasunobu HANDA²

¹Department of Medical Imaging and Applied Radiology, Health Sciences, Tohoku University Graduate School of Medicine

²Professor Emeritus, Tohoku University

Key words : radiation therapy, blood flow, tumor, electrical stimulation

One of the problems in radiation and chemo therapy is the existence of a hypoxic region with a low oxygen partial pressure in the tumor. Therefore, improving hypoxia in the tumor is thought to improve therapeutic outcomes. In any case, controlling the tumor blood flow is very important for treating cancer. In contrast, the electrical stimulation has the effect to control the blood flow.

In this study, we examined the effect of radiation therapy when increasing the blood flow of the tumor using electrical stimulation. C3H/HeJ mice and SCC-VII tumor cells were used. The tumor was transplanted to outside of the thigh. The Surface electrical stimulation method was used. The stimulation site was decided lumber-sacral area (Th12-S4) considering the femoral dermatome. After applying electrical stimulation for 15 minutes, 5 Gy irradiation was performed only once. Thereafter, the tumor volume was continuously measured every day, and a tumor growth curve was prepared.

As a result, a group combined electrical stimulation and radiation had significantly slower growth than radiation alone ($p < 0.01$). Electrical stimulation might be a very effective tool for radiation therapy.

1. はじめに

今日の癌治療における三大療法として手術療法・化学療法・放射線療法が知られており、我が国ではこれらを中心に病状に適した複数の治療法を組み合わせる治療を行う集学的治療法をとるのが一般的である¹⁾。

しかし、腫瘍内には組織酸素分圧の低い低酸素領域²⁾が存在し、これが放射線に対し抵抗性で、放射線によるがんの治療効果を低下させる一要因

となっている事が知られている³⁾。また、がん組織が低酸素状態であることは、がん細胞の低酸素応答を惹起し、低酸素に反応する転写因子である hypoxia-inducible factor 1 (以下 HIF-1)⁴⁾ を介して血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor: 以下 VEGF)⁵⁾ をはじめとする関連遺伝子を誘導する。その結果、腫瘍血管新生や腫瘍増殖が引き起こされ、再発や転移が促進され、腫瘍の悪性度が増加することが分かっている²⁾。したがって、腫瘍内低酸素細胞の存在が現在の集

学的癌治療の成績を低下させる最大要因であり、現在の癌治療の成績を向上させ、予後改善に向けた新規癌治療を開発するためには腫瘍内低酸素領域の克服が重要であると言える。

一方、2019年、我々はリハビリテーションやペインクリニック領域で主に用いられる電気刺激を用い、皮膚表面から電気刺激を行うことで、腫瘍の血流を自在に制御できることを報告した¹⁾。これをもとに、本研究においては、電気刺激を用い腫瘍の循環血流を増加させた上で放射線照射を行った場合、治療効果はどのように変化するか基礎的検討を行った。

2. 方 法

C3H/HeJ (7週齢♀ SLC Inc. Japan) を用いた In vivo 実験を行った。腫瘍細胞はマウス由来の扁平上皮癌株 SCC-VII とした。90%D-MEM+10%FBS を用い、37°C5.0%CO₂ 調整のインキュベータ内で培養し実験に使用した。

培養した腫瘍をマウス大腿部遠位に移植し担癌マウスとした (図 1-A)。担癌マウスは、治療を行わない「コントロール群」、放射線照射のみを行う「放射線単独群」、血流増加電気刺激を行っ

た上で放射線照射を行う「放射線+電気刺激併用群」の3群にそれぞれ分け実験を開始し、移植した腫瘍体積が 150 mm³ となった時点で治療実施とした。また、腫瘍体積が 1,000 mm³ を超えた時点をもって end point とした。

治療に関し、放射線照射は高エネルギー X 線照射装置 HF-320 (PANTAK 社製) を用い、管電圧 200 kV、付加フィルタ 0.5 mmCu+1.0 mmAl の線質にて、5 Gy を 1 回のみ照射とした。照射の際、腫瘍部以外の体幹および四肢は厚さ 5 mm の鉛箱に入れ、不要の被ばくを避けるよう工夫した (図 2)。

一方、電気刺激はポータブル電気刺激装置のどか (リントック株式会社) を用い、刺激条件はパルス幅 200 μsec、周波数 30 Hz、40 V の血流増加条件¹⁾ とし、腫瘍移植部位を含む下肢全般の循環動態を制御できるよう、表面電極にて下部胸椎から仙椎レベルを 15 分間一回のみ刺激した。マウスのデルマトームと刺激電極位置および腫瘍の位置関係を図 1-B に示す。なお、治療は全てインフルラン吸入による全身麻酔にて行った。

腫瘍を移植し実験を開始した日から、毎日継続的に腫瘍長径 x (mm) および短径 y (mm) を測

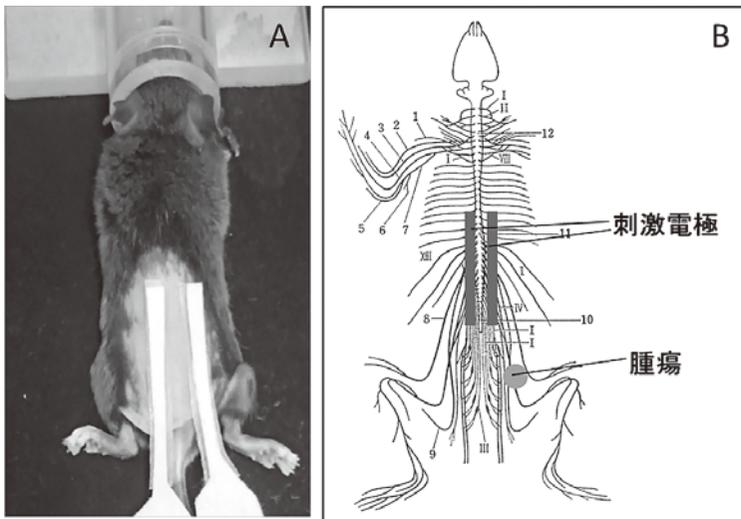


図 1. A: 右大腿部遠位に腫瘍を移植した担がんマウスと貼付した表面電極
B: マウスのデルマトームと刺激電極および腫瘍の位置関係

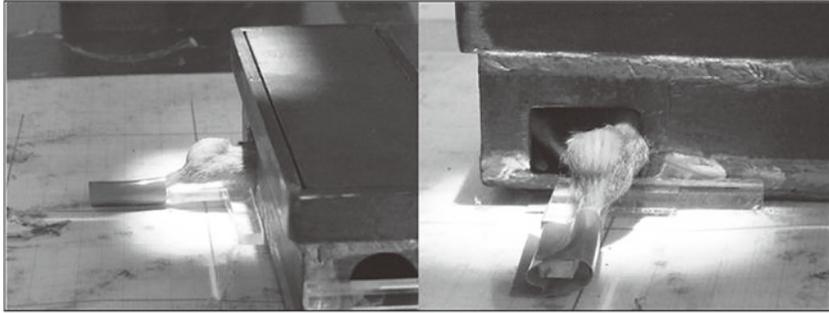


図2. 照射の実際。被照射マウスの体幹を5 mm厚の鉛箱に入れ腫瘍を移植した右下肢のみにX線が照射されるようターゲティングした。照射野は腫瘍が十分に含まれる大きさに設定した

定し、次式より腫瘍体積 V (mm^3) を求めることで腫瘍成長曲線を作成し各群の治療効果を評価した。

$$V=xy^2/2$$

統計解析には non-paired t test を用い Hochberg 法にて多重比較補正した。

本研究は東北大学大学院医学系研究科動物実験専門委員会の承認を受け、国立大学法人東北大学

における動物実験に関する規定に則り実施した。

3. 結 果

治療開始時の腫瘍体積を1とした場合の相対腫瘍体積の変化を図3に示す。実験の途中で腫瘍が割れたものや、明らかに腫瘍成長の度合いが異なったマウスを解析から除外した結果、各群における解析マウスの匹数は、コントロール群11匹、放射線単独群7匹、放射線+電気刺激併用群7匹

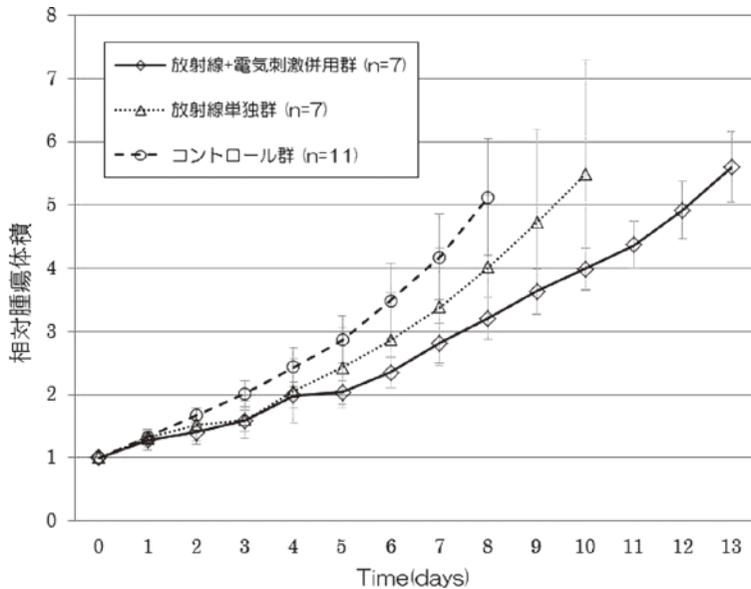


図3. 相対腫瘍体積の変化
治療開始時の腫瘍体積を1に正規化した場合の腫瘍体積の変化を示す

となった。

コントロール群において9日目以降、放射線単独群において11日目以降、放射線+電気刺激併用群においての14日目以降は、多くのマウスにおいて腫瘍体積 1,000 mm³ を超え、設定した end point を迎えたため安楽死を行った。そのため腫瘍サイズ計測は行えていない。

図4に腫瘍体積が測定開始時の5倍になるまでの日数を示す。コントロール群は 8.5±1.0 日、放射線単独群は 10.5±1.2 日、放射線+電気刺激併用群は 12.7±0.6 日であった。

腫瘍体積が5倍になる日数について、放射線を照射した群は放射線を照射しなかった群に比べて腫瘍の成長に有意な遅延がみられた ($p<0.05$)。さらに、放射線+電気刺激併用群は照射単独群よりも腫瘍の成長に平均で2.2日遅延が認められ、両群の成長速度の間には有意差が認められた

($p<0.05$)。

一方移植から同じ経過日数、ここでは7日目での相対腫瘍体積を比較したところ、コントロール群においては 4.2±0.7、放射線単独群においては 3.4±0.9、放射線+電気刺激併用群においては 2.8±0.3 となりいずれにも有意の差は検出されなかった。

4. 考 察

腫瘍体積が測定開始時の5倍に達する日数において、放射線を照射することで腫瘍の成長に成長遅延が生じた。特に、放射線を照射していない「コントロール群」と、放射線照射のみを行った「放射線単独群」の比較において約1.24倍、有意な腫瘍の成長遅延 ($p<0.05$) が認められた。これは放射線による通常の抗腫瘍効果が表れたものと考えられる。

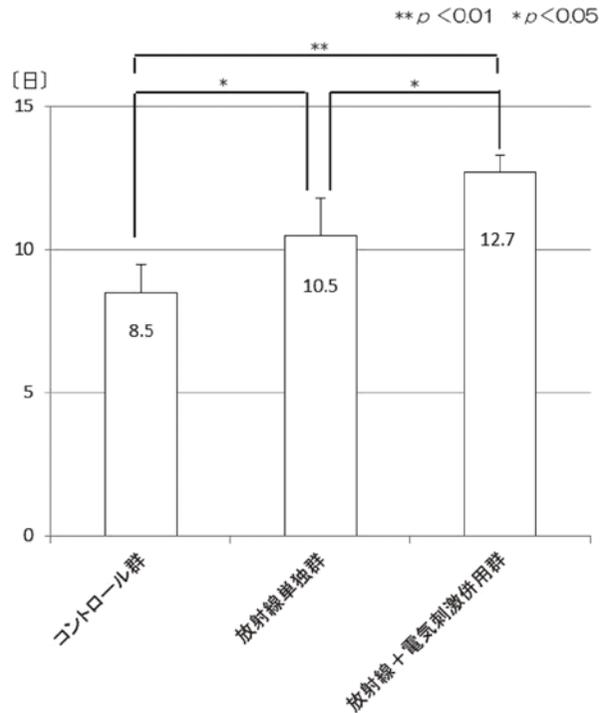


図4. 腫瘍体積が5倍になる日数
腫瘍体積が5倍になるのに要する日数について放射線照射と電気刺激を併用したものは放射線単独よりも2.2日ほど有意な成長遅延が認められた。

一方、放射線照射と血流増加電気刺激を併用した「放射線+電気刺激併用群」は放射線照射のみを行った「放射線単独群」よりもさらに腫瘍の成長に遅延が生じた。無治療である「コントロール群」との比較では、約1.46倍有意に腫瘍の成長が遅くなり ($p < 0.01$)、放射線照射のみを行った「放射線単独群」と比較しても、約1.21倍有意に腫瘍の成長が遅くなった ($p < 0.05$)。このような腫瘍成長速度の違いを生じさせた要因は電気刺激による腫瘍近傍の循環血流量の変化によるものと推察できる。

また、同じ経過日数7日目での相対腫瘍体積の比較においては、コントロール群の相対腫瘍体積が最も大きく、反対に放射線+電気刺激併用群の相対腫瘍体積が小さい傾向が見られたが、統計的に有為の差は検出できなかった。各群におけるオーバーラップが大きく、個体差によるバラツキが影響しているものと思われる。例数を増やし検討することが必要と考えられる。

我々はこれまでの研究で、電気刺激によって腫瘍近傍の血流量を約22%増加させることに成功しており、これが腫瘍中心部に存在する低酸素領域の再酸素化に寄与することを報告している¹⁾。一方、腫瘍中心部の低酸素細胞は通常の腫瘍細胞に比べ、放射線に対し2~3倍の抵抗性を有することが知られている^{6,7)}。「放射線単独群」よりも「放射線+電気刺激併用群」の抗腫瘍効果が高くなった理由は、電気刺激による腫瘍近傍の血流増加が腫瘍内部の酸素分圧を上昇させたことで腫瘍内低酸素領域が改善され、SCC-VII腫瘍の放射線感受性が高まったものとしても矛盾はないものと考えられる。血流が増加し、低酸素領域の酸素分圧が上昇すれば、放射線照射によるフリーラジカルの生成が助長され、放射線による治療効果は増加するものと考えられることができるからである。

腫瘍の放射線治療においては低酸素細胞増感剤というのがある。低酸素細胞増感剤は投与されると腫瘍内において酸素の肩代わりをし、腫瘍内低酸素領域を改善して放射線感受性を高める作用を持つ薬剤である。これは疑似的に腫瘍内の血流改善を行っている薬剤とみなすことができる。た

だしここにも問題があり、この薬剤が腫瘍内にデリバリーするためには血流がなければならない、すなわち、低酸素領域にはそもそも薬剤がデリバリーされにくいという性質があることを無視できないのである。この点我々の電気刺激による血流制御法は、腫瘍近傍の循環血流量を直接的に増加させ、その結果として腫瘍内低酸素領域を改善するというもので、生理的に理にかなった方法としても矛盾はないと考える。

Matsushimaらの研究⁸⁾によると、電流はそれ自体に細胞破壊効果をもつと報告されているが、本研究では殺細胞効果をえられるほどの大きな電流は用いておらず、マウスの皮膚に火傷を負わせることすらなかった。すなわち本研究での制癌効果上昇はあくまでも低酸素領域の改善によるものであって、電流による殺細胞効果ではないと考える。むしろ本法における電気刺激は生体非侵襲である。既存の放射線治療との組み合わせにより制癌効果増が実現可能である本法は、対費用的にも安価でかつ対社会的にも導入が容易と考えられ、非常に有効であろうと考える。

一方、電気刺激のみで腫瘍の成長遅延が起こるかどうかについて、本研究においては電気刺激を単独で行う群を設定しておらず、論じることができない。先行研究においては、腫瘍に対し直接電気刺激を行ったところ腫瘍の成長を抑制することができた⁹⁾という報告も存在する。しかし、その研究では640~1,200 [V]という非常に高い電圧での電気刺激を用いており、本研究であつかう電気刺激とはそもそも考え方が異なるものである。我々の研究での電気刺激による腫瘍血流の増加回復は電気刺激後の一時的なものと考えられることができ、そのような刺激そのものが腫瘍の成長に直接に影響を与えるかどうかは、今後の検討課題である。

また、本研究において用いたSCC-VII以外の癌株、特にヒト癌株に対してどの程度の効果があるかは今後最も重要な検討課題であろうと考えている。

5. 結 語

電気刺激によって腫瘍近傍の血流量を増加させ放射線を照射することで、放射線照射単独より1.21倍高い抗腫瘍効果が得られた。電気刺激は集学的治療の治療成績向上のため、特に放射線治療の成績向上に非常に有効な手段かもしれない。

文 献

- 1) 小倉隆英, 根城信仁, 半田康延: 電気刺激を用いた腫瘍血流の制御について, 東北大学医学部保健学科紀要, **28**(1), 45-51, 2019
- 2) Harris, A.L.: Hypoxia-A key regulatory factor in tumor growth, *Nat. Rev. Cancer*, **2**, 38-47, 2002
- 3) Rajendran, J.G., Wilson, D.C., Conrad, E.U., Peterson, L.M., Bruckner, J.D., Rasey, J.S., Chin, L.K., Hofstrand, P.D., Grierson, J.R., Eary, J.F., Krohn, K.A.: [(18)F] FMISO and [(18)F] FDG PET imaging in soft tissue sarcomas: correlation of hypoxia, metabolism and VEGF expression, *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, **30**(5), 695-704, 2003
- 4) Wang, G.L., Jiang, B.H., Rue, E.A., Semenza, G.L.: Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **92**(12), 5510-5514, 1995
- 5) Ferrara, N., Davis-Smyth, T.: The biology of vascular endothelial growth factor, *Endocrine Reviews*, **18**(1), 4-25, 1997
- 6) Kumar, P.: Impact of anemia in patients with head and neck cancer, *Oncologist*, **2**, 13-18, 2000
- 7) Harrison, L., Blackwell, K.: Hypoxia and anemia: factors in decreased sensitivity to radiation therapy and chemotherapy?, *Oncologist*, **5**, 31-40, 2004
- 8) Matsushima, Y., Amemiya, R., Liu, J.S., Tajika, E., Takakura, H., Oho, K., Hayata, Y., Hara, S.: Direct current therapy with chemotherapy for the local control of lung cancer, *Nihon Gan Chiryō Gakkai Shi*, **24**(10), 2341-2348, 1989
- 9) Sersa, G., Cemazar, M., Parkins, C.S., et al.: Tumour blood flow changes induced by application of electric pulses, *European Journal of Cancer*, **35**(4), 672-677, 1999