

論文内容要旨

目 的

1980年, Chaussyらは体外水中衝撃波を腎尿管結石の破碎に用いたが,これが体外水中衝撃波の最初の臨床応用である。その後,体外水中衝撃波による腎尿管結石の破碎法は,非侵襲的な結石の治療方法として広く世界に広まり,その有用性と安全性は確立されつつある。ところで,本法は非侵襲的に,限局した領域に高エネルギーの衝撃波を当てることができるので,悪性腫瘍の局所療法への応用が期待できる。Rusoらは *in vivo*, *in vitro* で高エネルギー水中衝撃波で癌細胞の増殖抑制をみたと報告している。一方,高エネルギーに比べて低エネルギーの衝撃波はより非侵襲的で合併症も少ないと期待されるが,その癌細胞に対する影響をみた報告はまだない。

そこで,今回,低エネルギー水中衝撃波の *in vivo* における癌に対する影響を明らかにする目的で,マウス乳癌細胞を用い低エネルギー水中衝撃波の腫瘍増殖と組織像および細胞周期に与える影響につき検討を行った。

方 法

可移植性腹水型マウス乳癌細胞(MM48)と8週齢,メス,C3H/He同系マウスを用いた。

1) MM48細胞 10^6 個をマウスの右足底に移植する。この細胞はマウス皮下に移植すると固形腫瘍を形成して,未分化腺癌の組織像を呈する。移植後7日目に,直径100mm,の1-piece piezo ceramicで励起した低エネルギーの水中衝撃波を足底の腫瘍に焦点を合わせ照射した。照射される水中衝撃波は,焦点における圧が250bar,曲率半径が180mm,焦点領域が 35×4 mm,周波数は5Hzである。発射数は,900から50000発とし,非照射群をコントロールとした。照射後,各群とも経時的に2週間,foot padの厚さを測定し,照射の腫瘍の成長曲線に及ぼす影響を見た。また,照射直後と2週間後に屠殺し,腫瘍の組織学的変化を見た。

2) MM48細胞 10^6 個をマウス腹腔内に投与した後,7日目に腹腔に同様に低エネルギーの水中衝撃波を照射した。照射前,照射後1,3,6,12,24時間と腹水を穿刺採取し,腹水細胞を70%エタノールで固定後,Crismanの方法に準じてpropidium iodideでDNA染色した。染色した細胞のDNA解析をフローサイトメトリーで行った後,MM48細胞の細胞周期各期をKosugiらのコンピューター解析プログラムを用いて解析した。同時に,非照射群をコントロールとして同様に処理した。発射数は9000から21600発とした。

結 果 と 考 察

1) 腫瘍増殖：腫瘍の増殖は衝撃波の発射数を900から50000発まで増加させても各照射群とコントロール群間に差を認めなかった。即ち、今回の実験条件下では、低エネルギー水中衝撃波による腫瘍増殖への影響は認められなかった。尚、同様な系での10mgのアジ化鉛ペレットによる微小発破を用いた高エネルギー水中衝撃波での予備実験では、発射数に依存して腫瘍増殖が抑制される傾向を認めている。

2) 組織像：照射直後の組織像では皮下および腫瘍内出血と血管障害像が特徴的であった。皮下出血の程度は衝撃波の発射数が増すにつれ高度になる傾向を認めた。血管障害像は、静脈系では、静脈の鬱血、拡張、さらには壁の破裂、動脈系では、内皮細胞のpyknosis、内弾性板の破裂を認めた。こうした所見はコントロール群には認められず、水中衝撃波によるものと考えられた。現時点ではその障害発生機構は不明であるが、血液、血管壁各層におけるインピーダンスの相違、照射により発生したcavitation bubblesなどが重要な役割を果たしていると推測される。2週間後の組織像では hemosiderine の沈着を伴う広汎な壊死組織像を認めたが、コントロール群に比して有意ではなかった。腫瘍細胞については、照射直後の組織像で腫瘍組織の辺縁部の細胞に一部変成像を認めたがコントロールに比し有意とはいえず、その障害像は明らかではなかった。

3) フローサイトメトリー：フローサイトメトリーによるMM48細胞のDNA解析では、各時間の照射群と非照射群との間でDNAヒストグラム上にも、細胞各周期間にも差を認めなかった。

結 語

in vivo での低エネルギー水中衝撃波のMM48マウス乳癌細胞に与える影響を検討したが、今回の実験条件では、腫瘍増殖および細胞動態に及ぼす影響は認められなかった。組織学的には腫瘍細胞に対する影響は明らかでなかったが、血管障害とそれに伴う出血が特徴的であった。

審査結果の要旨

体外水中衝撃波結石破碎法と経皮的に内視鏡を用いて結石を摘出する方法の登場により、尿路結石の治療法は大きく変わった。それぞれの方法の利点と欠点に関し臨床的観点から様々な検討が行われている。水中衝撃波に関しては、結石治療に用いられる限り臨床的に問題となる様な重大な欠点は今の所ない。しかし、治療の目的とはいえ、水中衝撃波が人体に多量に照射されるのは有史以来はじめてのことであり、未知の部分が多い。水中衝撃波による結石治療後、血尿の出現は必発であり、時には腎被膜下に大きな血腫が生ずる。また、実験的にも腎実質内の比較的大きな動脈が破れ腎実質内に血腫が生ずることなどが次第に明かとなってきた。

即ち、水中衝撃波が生体組織に何らかの影響を与えることは事実である。これらの事から、結石治療の目的には、生体組織に影響を与えないで結石のみを破壊する水中衝撃波の条件設定が強く望まれている。

本論文は、水中衝撃波の生体組織に対する作用を癌治療に利用できないかと考えて行った実験成績である。

マウス乳癌細胞 (MM48) を female inbred C 3 H mice の足底皮下と腹腔内に移植し、1週間後にそれぞれの部位に水中衝撃波を照射した。その後移植腫瘍の growth curve と腹水中癌細胞の flow cytometric DNA analysis を検討した。用いた水中衝撃波は、比較的 low energy (250 bars) で、これは臨床的に用いられるものよりやや低目である。結果は、growth curve, DNA 分析ともに対照群と大差なかった。しかし、照射例の腫瘍内と皮下に出血が認められた。

以上より、low energy 水中衝撃波は、用いた癌細胞の growth curve と DNA 分析には何ら影響を与えなかったが、腫瘍内の血管系に対する影響が示唆されたと述べている。

水中衝撃波という未知のエネルギーを癌治療に用いようとする考えは斬新なものであり、今後水中衝撃波の適切な条件設定により新しい癌治療が生まれる可能性を示した研究であり、博士論文に値するものと思われる。