

薬剤輸送経路としてのリンパ管の検証

藤村 朗¹⁾、小野寺政雄¹⁾、野坂洋一郎¹⁾、太田敏博²⁾、齊藤恒夫²⁾

二ツ川章二³⁾、世良耕一郎⁴⁾

¹⁾ 岩手医科大学歯学部口腔解剖学第一講座
020-8505 岩手県盛岡市中央通 1-3-27

²⁾ 岩手医科大学歯学部口腔外科学第一講座
020-8505 岩手県盛岡市中央通 1-3-27

³⁾ 日本アイソトープ協会滝沢研究所
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村留が森 348-58

⁴⁾ 岩手医科大学サイクロトロンセンター
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村留が森 348-58

1 はじめに

我々はウサギの正常舌のリンパ管構築¹および移植舌癌の成長に伴うリンパ管構築の変化²を観察し、報告した。さらに、移植舌癌が増殖した後、腫瘍周囲に血管新生阻害薬を注入した際のリンパ管構築の変動を観察し、報告した^{3,4}。これらの研究では、腫瘍の増殖は抑制され、腫瘍周囲のリンパ管の数および分布域は減少していた。さらに、所属リンパ節における転移癌細胞の増殖をも抑制または消失させていた。この結果を我々は、腫瘍周囲を取り囲むリンパ管に血管新生阻害薬が吸収され、所属リンパ節に選択的に輸送されたものと推測した。残念ながら、血管新生阻害薬が所属リンパ節に到達したという証拠を我々は証明できなかった。今回我々はその構造内に白金を有する抗癌薬(シスプラチン)に注目し、ウサギ移植舌癌周囲に直接この薬剤を注入し、白金の定量を行うことにより、抗癌剤が原発巣周囲からリンパ管を経由して所属リンパ節に輸送されることを証明することを計画した。

2 実験方法

2.1 予備実験

5匹の正常マウス舌にシスプラチン(cis-diamminedichloroplatinum:MW:300.05, Randa Injection[®]:日本化薬)を1mg/ml、10 μ lを注入し、経時的に屠殺し、所属リンパ節である顎下リンパ節を摘出した。試料は150 $^{\circ}$ Cにて乾燥し、乾燥重量を測定後、硝酸灰化法により溶解し、内部標準としてインジウムを添加した。シスプラチンの構造内には生体には存在しない白金が含まれているため(Fig. 1)、PIXE (a small size cyclotron (baby cyclotron) established for positron nuclear medicine (PET) at NMCC (Nishina Memorial Cyclotron Center) provides a 2.9 MeV-proton beam on a target after passing through a beam collimator, which

defines spot size of the beam) により白金を計測することによりシスプラチンの組織から所属リンパ節への移行を証明できるものと考えた。

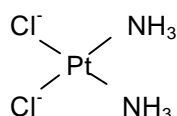


Fig. 1 シスプラチンの化学構造

2.2 本実験 材料と方法

12匹のウサギが本研究では用いられた。

9匹の正常ウサギにはシスプラチン(100 μl of 1, 0.1 and 0.01 mg/ml)が舌左側辺縁部に注入された。注入1, 3, 7日後、ウサギは過麻酔により屠殺され、試料として、血液、舌、腎臓、左右深頸リンパ節が採取された。採取された試料は直ちに予備実験と同様に乾燥され、白金の元素分析が PIXE により行われた。

3匹のウサギには VX2 癌細胞が舌左側辺縁部に移植され(Fig.2)、腫瘍が生着した3日目からシスプラチン(100 μl of 1, 0.1 and 0.01 mg/ml)を隔日で4回注入し、最終注入の翌日過麻酔により屠殺、同様に試料を摘出後、舌は腫瘍の増殖を肉眼で観察し、その後、他の試料とともに予備実験と同様の処理が施され、白金の元素分析が PIXE により行われた。



Fig. 2 VX2 癌細胞移植後、11日目の腫瘍増殖を示す。

3 結果と考察

3.1 予備実験 (Fig. 3)

マウスによる予備実験では、麻酔下におけるシスプラチン注入後、30分では所属リンパ節(顎下リンパ節)には白金は検出できなかった。麻酔から覚醒した1時間後に急激に検出され、その後、24時間まで徐々に増加していた。シスプラチン注入時麻酔の効いていたマウスはほとんど舌を動かしていなかった。シスプラチン注入後30分から1時間の間にマウスは麻酔から覚醒し、動き始めていた。すなわち、この現象は舌に注入されたシスプラチンが舌の動きによってリンパ源流から吸収されるようになったものと考えられた。すなわち、筋ポンプの存在を改めて証明したものと考えた。しかも、明らかにシスプラチンは舌から所属リンパ節に移行していた。他の諸臓器では白金は検出できなかった。

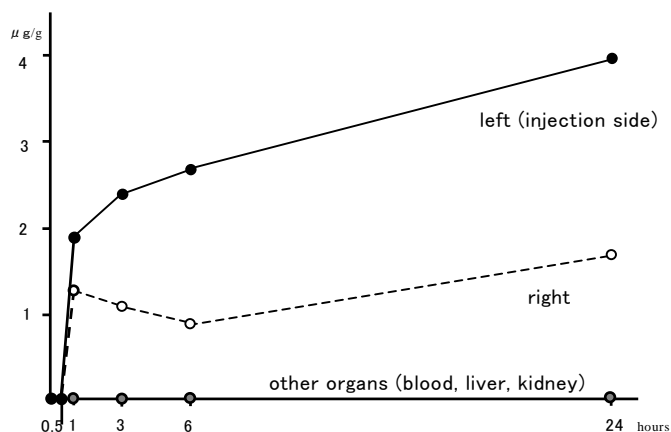


Fig. 3 諸器官の経時的白金蓄積量

3.2 正常ウサギ

正常ウサギの舌にシスプラチンを 1 回注入し、1、3、7 日後に屠殺した動物の所属リンパ節を含む諸臓器の白金蓄積量を検索した。所属リンパ節ではデータに多少のばらつきはあるが、シスプラチン注入 1 日後より経日的に白金の蓄積量は減少していることが分かる。シスプラチンの濃度では 1mg/ml が最も移行量が多く、0.1 mg/ml が最も少なかった(Fig. 4、5)。他の臓器もほとんど同じ動向を示したが(Fig. 6、7)、血液では白金をほとんど検出することができなかった(Fig. 8)。

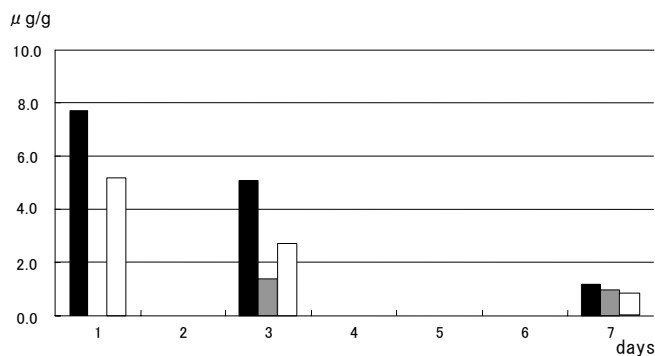


Fig. 4 右側深頸リンパ節

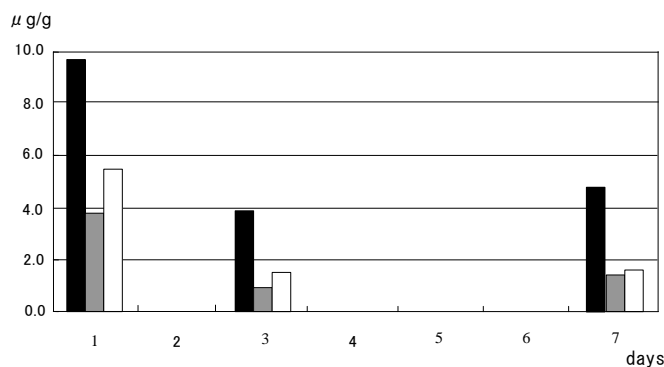


Fig. 5 左側深頸リンパ節(注入側)

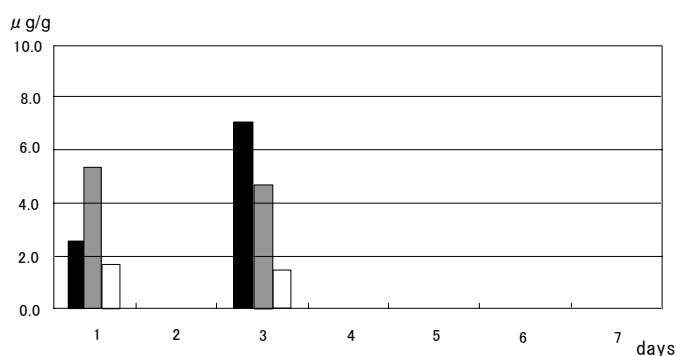


Fig. 6 腎臓

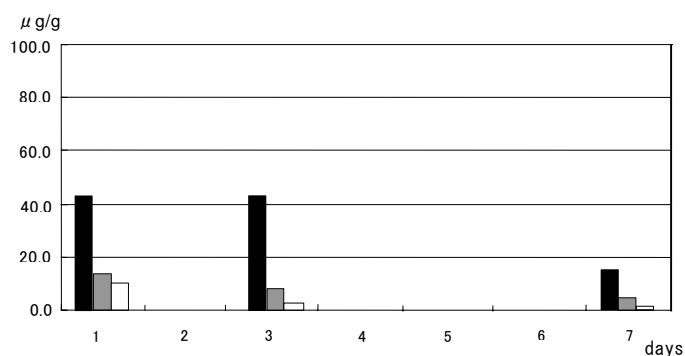


Fig. 7 舌

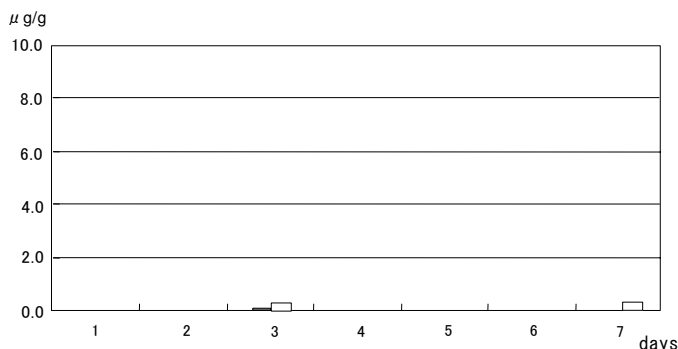


Fig. 8 血液

我々は、血液中に白金をほとんど検出できなかった。にも関わらず、白金は所属リンパ節に移行していた。すなわち、舌に注入したシスプラチンの白金は舌内のリンパ源流において吸収され、リンパ管を經由して所属リンパ節に到達したものと推測できた。

3.3 VX2 癌細胞移植ウサギ

シスプラチンの腫瘍周囲注入は腫瘍の増殖を明らかに抑制した。しかし、シスプラチンの濃度は重要な意味を持っていた。濃度 1 mg/ml は腫瘍の増殖を抑制したが、シスプラチン注入部位に広い範囲で舌組織の壊死を引き起こした(Fig. 9a)。一方、濃度 0.01 mg/ml では腫瘍の増殖を抑制できなかった(Fig. 9b)。濃度 0.1 mg/ml では腫瘍の増殖を抑制し、しかも、舌組織の壊死は腫瘍の範囲に限定されていた(Fig. 9c)。

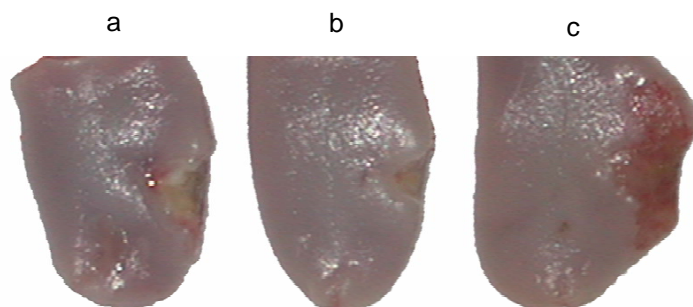


Fig. 9 シスプラチンの腫瘍周囲注入による VX2 癌細胞増殖抑制

a: 1mg/ml Inhibition + necrosis b: 0.1mg/ml Inhibition only c: 0.01mg/ml No inhibition

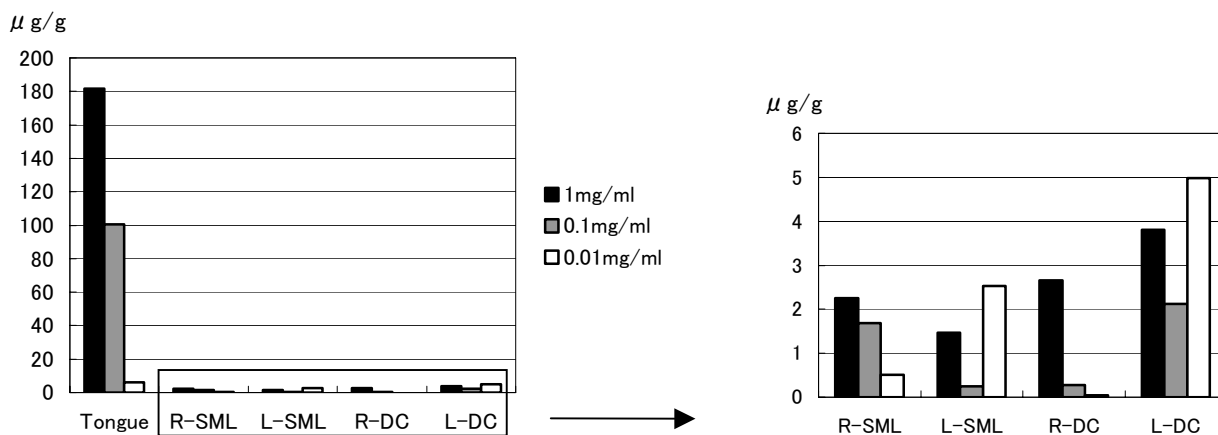


Fig. 10 シスプラチンの濃度の違いによる白金蓄積量

血液中の白金は PIXE による検出限界を越えて低かったと推測され、検出できなかった。所属リンパ節における濃度 0.1 mg/ml がもっとも低い蓄積量を示していた(Fig. 10)。

シスプラチンのウサギ VX2 舌癌モデルへの静脈内投与量は通常 4mg/kg (すなわち 4 $\mu\text{g/g}$) である。全身投与の場合には腫瘍に到達した抗癌剤の約 10%が抗癌作用を示すといわれており、静脈内注射の場合の腫瘍周囲の有効なシスプラチン濃度は理論上 0.4 $\mu\text{g/g}$ となる。一方、腫瘍周囲へシスプラチンを注入した場合は、舌の中には 0.001mg/25g (すなわち、0.04 $\mu\text{g/g}$) 注入したことになり、全身に対しては 0.001 mg/2.5 kg (0.0004 $\mu\text{g/g}$) 投与したことになる。すなわち、静脈内注射による濃度より少ない濃度で原発巣を抑制することができたということになる。さらに、全身に対する投与量は腫瘍周囲注入法では 1/100 に減らすことができたことになる。抗癌剤の問題点はほとんどが副作用の出現にあった。しかも、副作用のほとんどは全身に対する投与量に依存していた。すなわち、全身に対する投与量が少なければ副作用の出現を抑えることができると推測される。本法はリンパ管に注目しており、その構築、走行から、以下のような抗癌剤の輸送が推測された (Fig.11)。すなわち、腫瘍周囲に注入された抗癌剤は癌細胞がリンパ源流から所属リンパ節に転移した経路と同じ経路を通過して所属リンパ節に到達する。

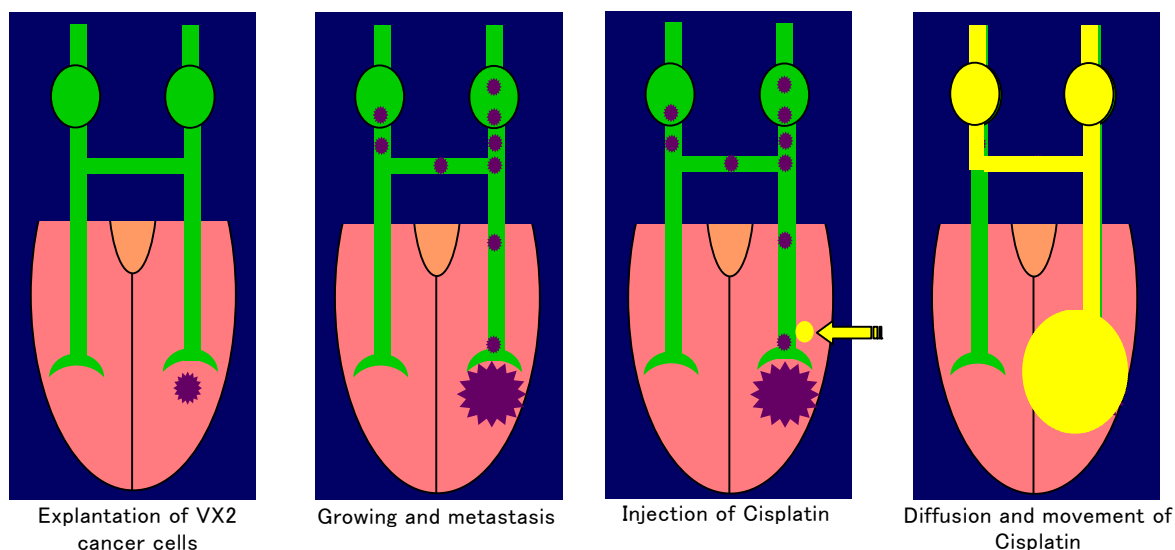


Fig. 11 抗癌剤の腫瘍周囲注入法による輸送経路の模式図

本法の更なる研究により、過去に見捨てられてきた抗癌剤を再検討することにより、現在使用されている抗癌剤より有効なものが再発掘できる可能性もある。さらに、転移リンパ節の郭清を最低限に抑えることができるため、癌治療後の患者の QOL の飛躍的な向上が期待できるものと考えられる。

謝辞

試料の調製に多大なるご助力をいただいた日本アイソトープ協会滝沢研究所の伊藤じゅん先生に感謝申し上げます。

参考文献

1. A. Fujimura and Y. Nozaka; "Analysis of the three-dimensional lymphatic architecture of the periodontal tissue using a new 3D reconstruction method.": *Microscopy Research and Technique* 56(1): 60-65 (2002)
2. A. Fujimura, S. Seki, M-Y. Liao, X. Hu, M. Onodera and Y. Nozaka; "Three dimensional architecture of lymphatic vessels in the tongue.": *Lymphology* 36(3): 120-127 (2003)
3. S. Seki and A. Fujimura; "Three dimensional changes in Lymphatic architecture around VX2 tongue cancer. -Dynamics of growth of cancer-": *Lymphology* 36(3): 128-139 (2003)

4. S. Seki and A. Fujimura; “Three dimensional changes in Lymphatic architecture around VX2 tongue cancer. –Dynamic changes after administration of antiangiogenic agent–”: *Lymphology* 36(4): 199-208, 2003
5. T. Ohta and A. Fujimura; “The anti-angiogenic agent, E7820, induces changes in the architecture of lymphatic vessels around tumors.”: *Dent. J. Iwate Med. Univ.* 29(1): 79-92, 2004