

— 原著 —

血管鑄型法を用いたハムスター正常舌の RF ハイパーサーミア
による経時的变化に関する研究

鶴 巻 浩, 大 橋 靖, 鈴 木 誠*

新潟大学歯学部口腔外科学第二講座

(主任: 大橋 靖教授)

新潟大学歯学部附属病院臨床検査室*

(室長: 中島民雄教授)

Sequential Changes in the Normal Tongue of Golden Hamster
after Radiofrequency Hyperthermia: Scanning Electron
Microscopic Study of Vascular Casts

Hiroshi Tsurumaki, Yasushi Ohashi, Makoto Suzuki*

Second Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Niigata University

(Chief: Prof. Yasushi Ohashi)

*Laboratory for clinical investigation, Niigata University Dental Hospital**

(Chief: Prof. Tamio Nakajima)

Key words : Hyperthermia (温熱療法), Vascular injury (血管障害), Normal tongue (正常舌),
Golden hamster (ゴールデンハムスター), Vascular cast (血管鑄型)

Abstract : The purpose of this study was to identify sequential histological alterations and changes in the vascular system in normal tongue of golden hamsters following hyperthermia treatment.

Adult golden hamsters of both sexes were divided into 2 heated groups and a control group. The tongue was heated with a 13.56MHz radiofrequency (RF) capacitive heating system. In the 2 heated groups, the inside of the tongue was heated to 42.0°C and 43.0°C, respectively, for 40 minutes. Histological changes were investigated by light microscopy, and vascular changes were observed by scanning electron microscopy of vascular casts.

The results were as follows;

1. Histologically, in the 42°C treated group, changes such as relatively mild edema, capillary dilatation, and congestion were observed, but there was almost complete recovery within 48 hours. In the 43°C treated group, however, severe congestion, interstitial edema, focal hemorrhage and capillary rupture occurred immediately after heating, and interstitial fibrosis was present 4 weeks after heating.

2. Scanning electron microscopic examination in the 42°C treated group showed avascular areas where the resin was not present in part of the tongue surface within 24 hours, but this was no longer observed 48 hours after heating. In the 43°C treated group, there were very extensive avascular areas in the heated area from immediately after heating up to 48 hours later, and morphologic irregularities in the vascular network were observed 1 week after heating.

3. These results indicate that transient vascular injury may occur as a result of 42°C hyperthermia, but that severe circulatory impairment and irreversible vascular injury occur when normal vessels are exposed to 43°C hyperthermia.

4. This tongue model was very useful for observing vascular injury induced by hyperthermia.

抄録：本研究の目的は、正常舌組織をモデルとして、加温による血管障害の経時的変化を明らかにすることである。成熟ゴールデンハムスターの正常舌を加温対象とし、加温装置は周波数13.56MHzのRF誘電型加温システムを使用した。設定温度は42.0℃および43.0℃とし、各々40分間1回加温を行った。その経時的変化について、組織学的観察および血管鋳型法を用いた電顕的観察を行い、以下の結論を得た。

1. 組織学的観察においては、42℃加温群では、血管拡張、うっ血、間質浮腫等の変化がみられたものの、ほぼ48時間で回復した。43℃加温群では、強度のうっ血、間質浮腫、出血および一部で毛細血管壁の破綻が直後から観察され、4週後に一部線維化を後遺した。
2. 血管鋳型法による観察では、42℃加温群では、加温直後から24時間後まで表層の毛細血管の欠損が小範囲でみられたが、48時間後には欠損はみられなかった。43℃加温群では、直後から48時間後まで血管の欠損した部分が加温領域の広範囲に認められ、1週後にも血管網の形態変化がみられた。
3. 以上より、正常血管は42℃40分の加温では、一過性の血行障害が生じる可能性があるものの、48時間前後で回復し、非可逆的な血管障害は生じないが、43℃40分の加温では、相当の血行障害および一部で非可逆的な血管障害も生じることが示唆された。
4. 血管鋳型法を用いた本実験モデルは、ハイパーサーミアによる血管障害を観察するうえで非常に有用であった。

結 言

ハイパーサーミアは顎口腔領域においては早期癌から高度進展癌や再発性の難治性癌にいたるまで広く適応され、主に放射線療法ないし化学療法との併用により、その有効性が報告されている¹⁻⁷⁾。

ハイパーサーミアの作用機序については温熱による細胞への直接的傷害に加えて種々の要因が挙げられており、その一つとして加温による血管の障害も注目され、種々検討されている⁸⁻¹⁵⁾。ハイパーサーミアの施行においては腫瘍のみならず周囲正常組織も同時に加温されるが、その際の周囲正常組織の血管の動態は、放射線療法との併用においては放射線抵抗性の低酸素細胞が増加する問題¹⁶⁾、化学療法との併用においては抗癌剤の到達性の問題¹⁷⁾と関連すると考えられる。その意味で正常組織の血管系の動態を把握することは重要であると考えられるが、ハイパーサーミアによる正常組織の血管障害について経時的に詳細に検索した報告は少ない^{13,18,19)}。

正常組織の血管の変化をハイパーサーミアの影響も含めて観察するためには、血管系に富み、しかもハイパーサーミアによる加温が直接的に関与し、他の修飾を受けることのない臓器を対象とすることが重要であると思われる。そこで、口腔内においてこの条件を備えた部位として、著者らは血管系に富み、均一な組織構造を示すハムスターの正常舌を実験対象とした。また、血管系の変化を組織学的に観察すると同時に三次元的にも観察し得るものであれば、より有用な所見が得られると考えられる。その点で、血管鋳型法は血管構築を三次元的に、しかも微細に観察可能であり、種々の病態、治療における血管系の関与、血管変化の解明に有用な方法として知られている²⁰⁻²⁵⁾。

以上のことから、ハムスター正常舌を対象にRF誘電

加温を行い、血管系の経時的変化について、血管鋳型法を用いた電顕的観察を第Ⅷ因子関連抗原染色を含めた組織学的観察所見と対比し、正常舌の加温による動態について検索し、若干の知見を得たので報告する。

対象および方法

実験には成熟ゴールデンハムスター105匹を使用した。正常舌を加温対象とし、加温装置は周波数13.56MHzのRF誘電型加温システムを使用した²⁶⁾。アプリケーションは直径10mmの電極板に導電性ゼリー付きスポンジが付与された心電図用生体電極を使用し、これを独自に作製した固定装置に取り付け、舌を無圧的に挟んだ(写真1)。温度測定は誤動作防止用フィルター付き銅コンスタンタン熱電対温度計 TM-54H (インターノバ社製)を用いて行った。温度センサーは舌内、舌背、舌下面および食道内に設置した。なお、舌内への設置にあたっては、舌側縁より舌中央部に20G 静脈内留置用套管針を刺入後内筒

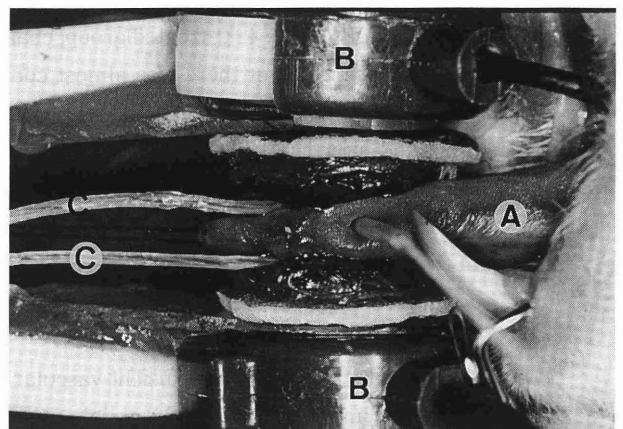


写真1 舌加温時

A: 舌, B: アプリケータ, C: 温度センサー

を抜き、内腔に温度センサーを挿入した。加温操作は、ペントバルビタール麻酔下に動物を仰臥位に固定し、舌を上下的にアプリケータで挟み、舌内を設定温度に保つよう出力を調節した。設定温度は42.0℃および43.0℃とし、各々40分間1回加温を行った。

(1) 組織学的観察

加温直後、12時間後、24時間後、48時間後、1週間後、2週間後、4週後にエーテル麻酔下に舌を摘出し、脱血安楽死させた。尚、各時間3匹のハムスターを使用した。摘出舌は10%ホルマリン溶液で固定後、通法に従ってパラフィンワックスに包埋し、5 μ mの厚さで前額断方向に半連続切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジン染色、マッソントリクローム染色を施した。また、一部の標本は免疫組織化学的観察として第VIII因子関連抗原染色を施して検鏡した。免疫組織化学染色は、一次抗体としてポリクローナルウサギ抗ヒト第VIII因子関連抗原抗体(IgG抗体、DAKO社製)を使用し、二次抗体反応以下はヒストファイン(ニチレイ社製)を用いたSAB法にて行い、ヘマトキシリンで核染色を施した。

(2) 血管鑄型法による観察

組織学的観察結果をもとに42℃加温群では加温直後、12時間後、24時間後、48時間後に、43℃加温群ではさらに1週間後、2週間後に、ペントバルビタール麻酔下に開胸し心臓を露出させ、左心室より大動脈まで21G注射針を挿入し、ヘパリン加生理食塩水を灌流しながら、右心耳を切開して脱血安楽死させた。灌流液が透明になったことを確認して、メチルメタクリレート(25%の割合で加えて粘度を下げた常温重合レジン(MercocxCL-2CR; 大日本インキ社製)10ccを注入した。レジン硬化後、舌を切り出し、20%水酸化カリウムで軟組織を腐食除去した。得られた鑄型標本を流水で十分水洗し、自然乾燥させ、白金蒸着を施し、走査型電子顕微鏡(日立社製 S-2300)で観察した。各時間3~5匹のハムスターを使用した。なお、対照群として温度センサー設置のための套管針を40分間刺入した舌の鑄型標本を作製した。

結 果

1. 温度測定結果

舌内の設定温度が43.0℃における各部位の平均温度は、舌背、舌下面とも42.8℃であり、設定温度が42.0℃では、舌背が41.8℃、舌下面が41.9℃と、加温時の舌背、舌下面の温度は設定温度よりも0.1-0.2℃低い温度で推移した(図1)。また、加温時の舌背表面の温度分布をサーモグラフで調べた結果、アプリケータ直下の加温領域はほぼ全体的に一樣に加温されていた(写真2)。

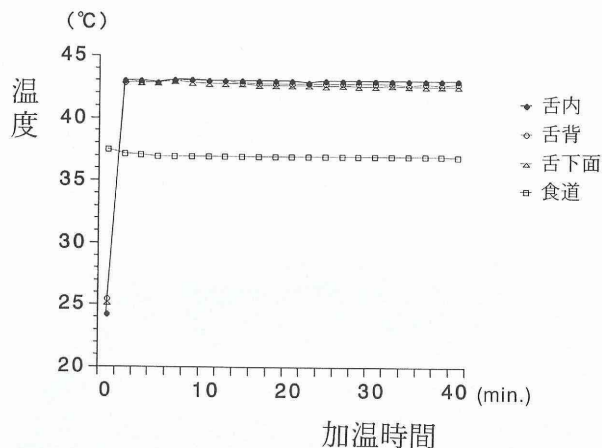


図1 43℃加温時の温度推移グラフ

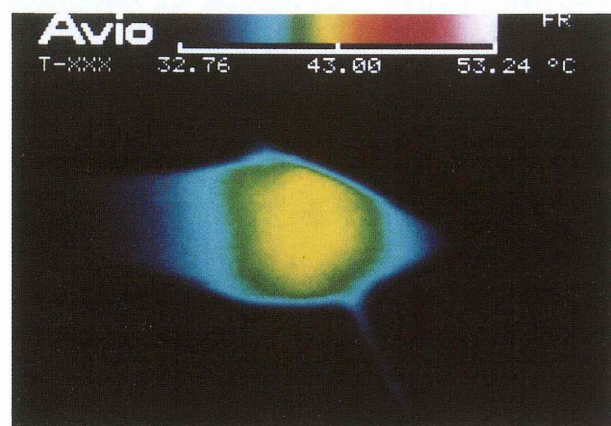


写真2 43℃加温時のサーモグラフ

アプリケータ直下の加温領域は一樣に加温されている。

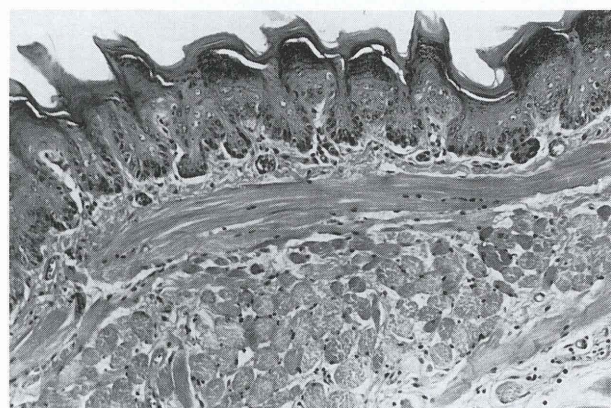


写真3 42℃加温直後の組織像

上皮下の毛細血管には拡張、うっ血がみられる。
(×50, H-E染色)

2. 組織学的観察

(1) 42℃加温群

加温直後では、上皮下毛細血管の拡張、うっ血がみられたが、間質に浮腫はみられなかった。また、筋線維の

変性もみられなかった(写真3)。

加温12時間後では、毛細血管の拡張、うっ血、間質浮腫、および好中球主体の炎症性細胞の軽度の浸潤がみられた(写真4 A)。第Ⅷ因子関連抗原染色標本では血管内

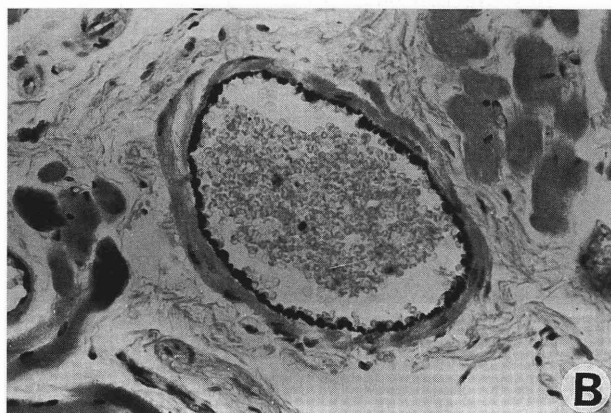
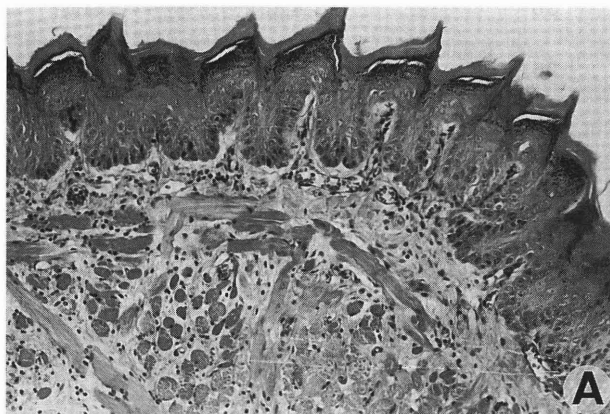


写真4 42℃加温12時間後の組織像

A: 毛細血管の拡張、軽度の間質浮腫がみられる。

(×50, H-E 染色)

B: 血管内皮細胞は明瞭に染色されている。

(×100, 第Ⅷ因子関連抗原染色)

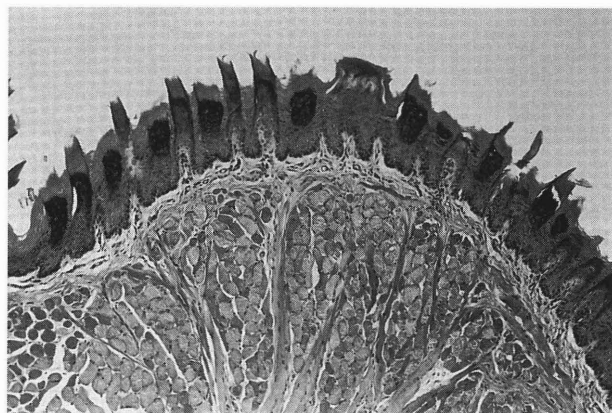


写真5 42℃加温1週後の組織像

血管拡張、間質浮腫等の変化は改善している。

(×25, H-E 染色)

皮細胞は明瞭に染色されていた(写真4 B)。

加温24時間後では、毛細血管の拡張とうっ血は軽減し、間質浮腫も軽度となっていた。

加温48時間後では、毛細血管のうっ血、間質浮腫はわずかとなり、加温1週後では上述の変化は消失していた(写真5)。

加温2週後、4週後の結果も同様であった。

(2) 43℃加温群

加温直後では、静脈は拡張、うっ血が強く、一部の血管では赤血球の崩壊が認められ、間質浮腫も著明であった(写真6 A)。好中球が充満している血管もみられた。第Ⅷ因子関連抗原染色標本では、血管壁の破綻している毛細血管が認められた(写真6 B)。

加温12時間後では、毛細血管の拡張、うっ血はさらに高度となり、間質浮腫もさらに強くなっていた。間質には好中球を主体とした炎症性細胞浸潤および出血がみられた(写真7 A)。また、マッソントリクローム染色標本では変性した筋線維がみられた(写真7 B)。第Ⅷ因子

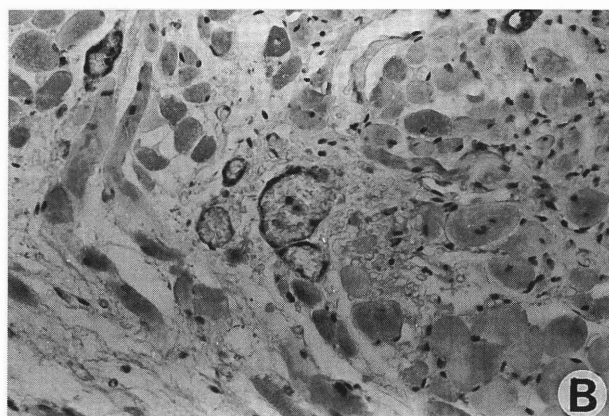
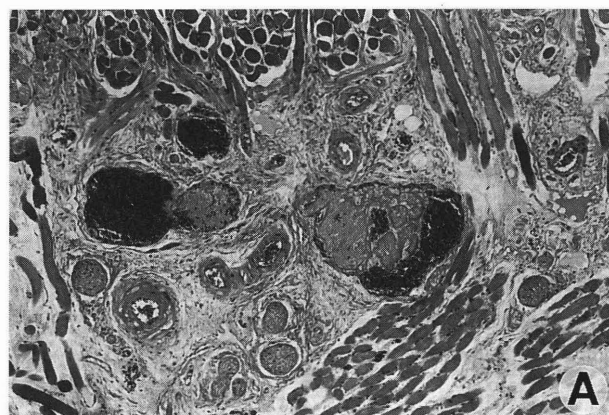


写真6 43℃加温直後の組織像

A: 静脈は拡張、うっ血が強く、赤血球の崩壊がみられる。

(×25, H-E 染色)

B: 毛細血管壁の破綻がみられる。

(×100, 第Ⅷ因子関連抗原染色)

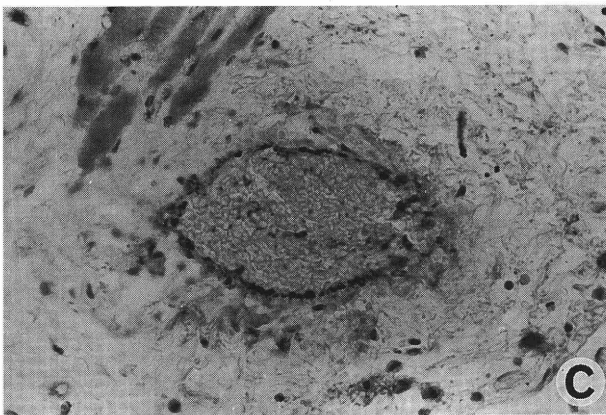
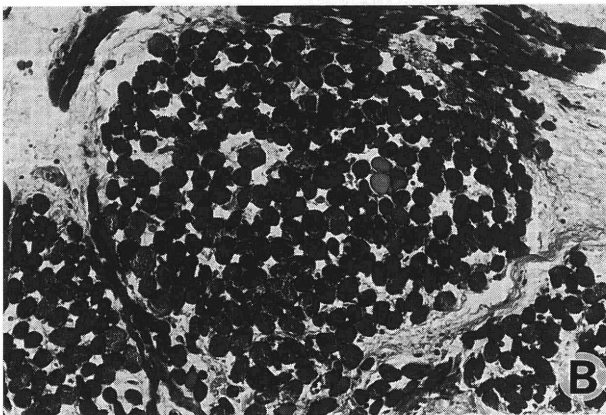
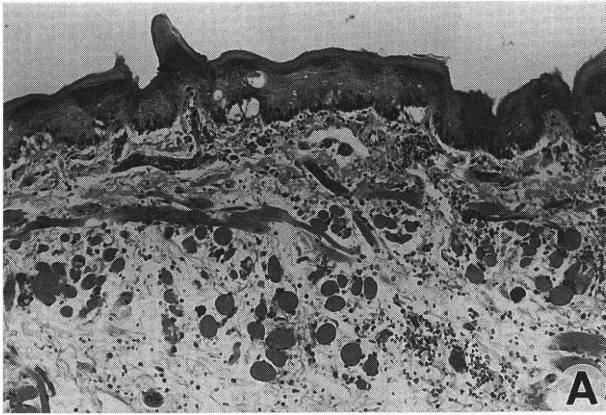


写真7 43℃加温12時間後の組織像

- A：著明な血管拡張，間質浮腫および出血がみられる。
 (×50, H-E 染色)
 B：一部に変性した筋線維がみられる。
 (×50, マッソントリクローム染色)
 C：内皮細胞の染色性の低下している血管がみられる。
 (×100, 第Ⅷ因子関連抗原染色)

関連抗原染色標本では，内皮細胞が明瞭に染色されない血管が多数みられた（写真7 C）。

加温24時間後の状態は12時間後とほぼ同様であった。

加温48時間後では，毛細血管の拡張，うっ血は引き続き存在したが，間質浮腫はやや改善していた（写真8）。

加温1週後では，毛細血管の拡張，うっ血は軽度となり，浮腫もわずかとなっていた（写真9 A）。筋束に沿っ

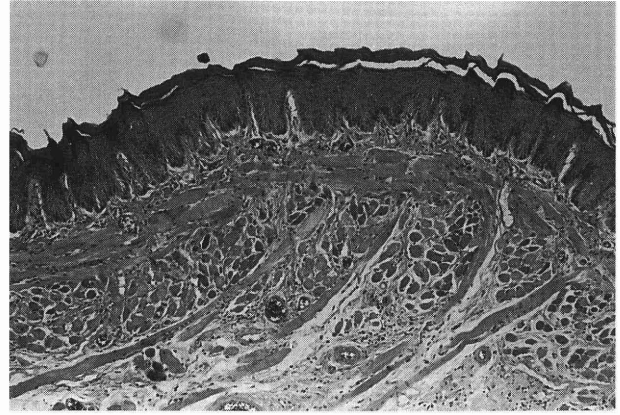


写真8 43℃加温48時間後の組織像

血管拡張はみられるが，間質浮腫は軽度となっている。
 (×25, H-E 染色)

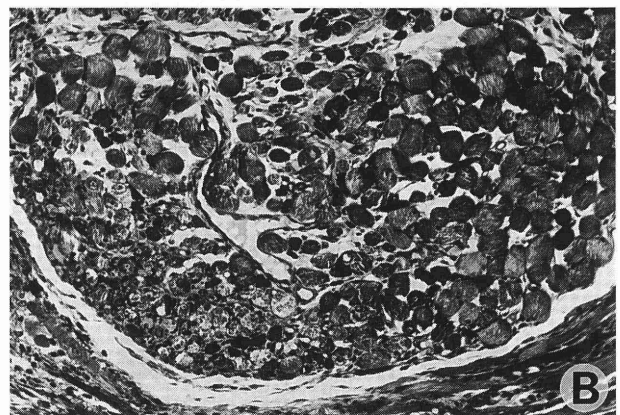
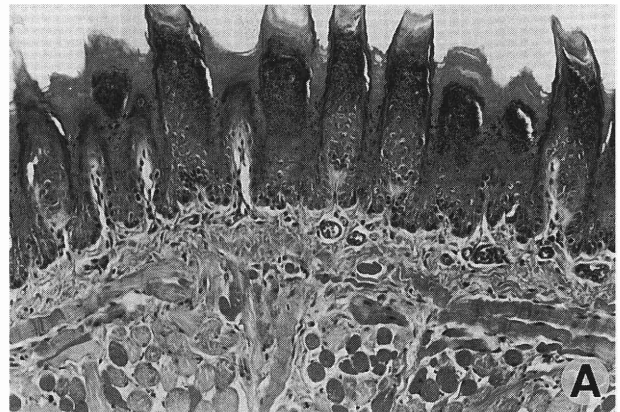


写真9 43℃加温1週後の組織像

- A：血管拡張，うっ血は軽度となっている。
 (×50, H-E 染色)
 B：間質には一部線維化している部分がみられる。
 (×100, マッソントリクローム染色)

て，ヘモジデリンを貪食したマクロファージが散在していた。また，線維化を示す部分も一部みられた（写真9 B）。加温2週後では，血管系の変化は回復していたが，間質の軽度の線維化を後遺していた（写真10）。

加温4週後も同様であった。

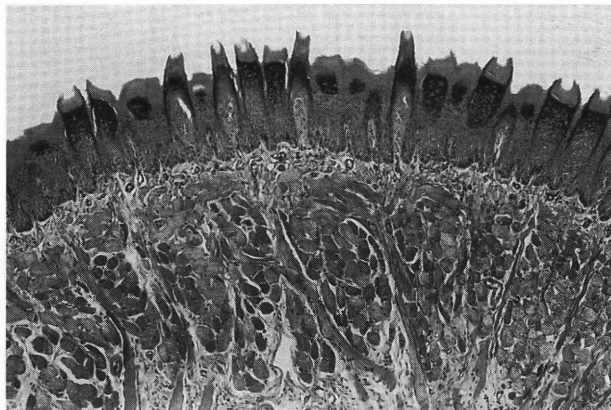


写真10 43℃加温 2 週後の組織像
血管拡張, 間質浮腫は回復している。(×25, H-E 染色)

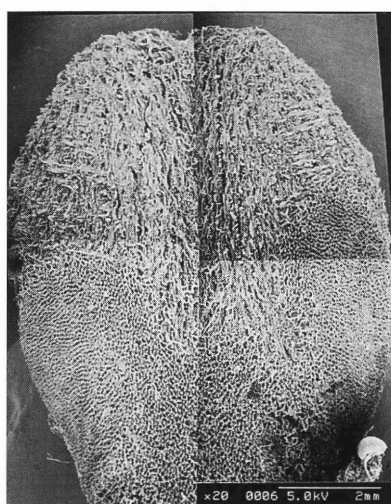


写真11 套管針40分間刺入直後の血管鋳型像
舌は密な毛細血管網からなりたっている。また, 欠損部はほとんどなく, レジンほぼ全体的に注入されている。(舌尖; 上方)

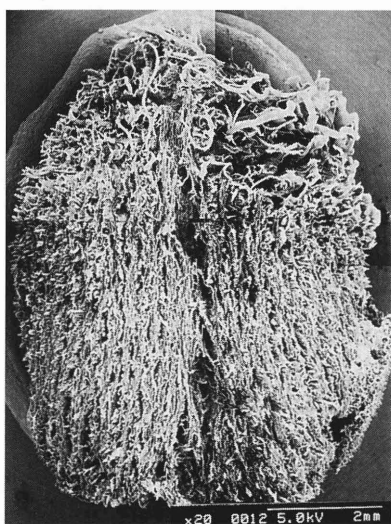


写真12 42℃加温直後の血管鋳型像
加温領域の舌尖部では表面の毛細血管まで注入されず, 筋層の毛細血管および太い血管が露出している。(舌尖; 上方)

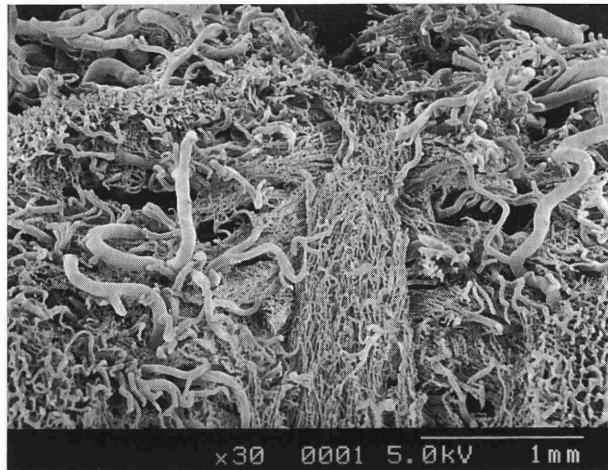


写真13 42℃加温12時間後の血管鋳型像
中央部は筋層の毛細血管が直接露出している。島状に粘膜表面まで注入されている部分も認められる。(舌尖; 上方)

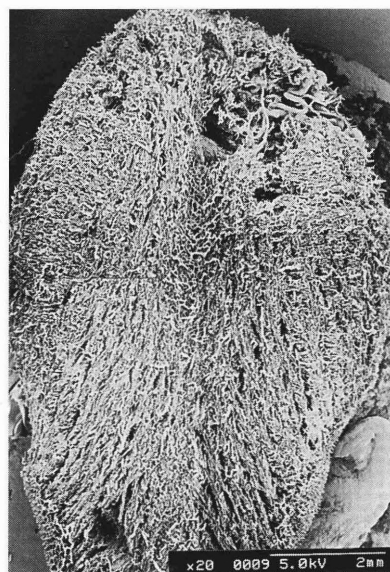


写真14 42℃加温24時間後の血管鋳型像
舌尖の一部に注入されない部分が認められる。(舌尖; 上方)

3. 血管鋳型法による観察

対照群では舌の血管系は主に密な毛細血管網から成り, 舌背表面のループを形成する毛細血管の太さは10 μm 前後であった。加温直後の標本で套管針刺入部が極めて小さな無血管領域としてみられたが, レジンはほぼ全体的に注入されており, 套管針刺入による影響はほとんど認められなかった (写真11)。

(1) 42℃加温群

加温直後では, 加温領域の舌尖表面部では太い血管が露出し, 表層の毛細血管は欠損していた (写真12)。

加温12時間後では, 加温直後とほぼ同様であり, 筋層

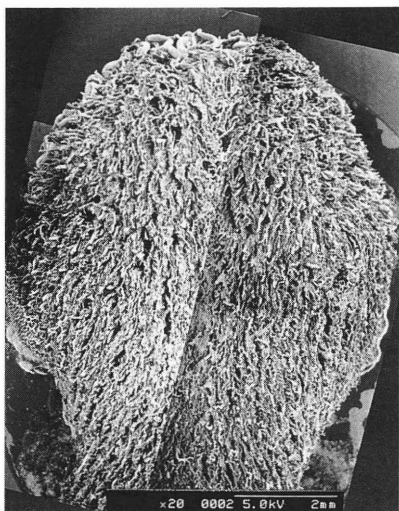


写真15 42℃加温48時間後の血管鋳型像
ほぼ全体的に注入されている。(舌尖；上方)

の毛細血管が露出している部分が認められ、表層の密な毛細血管はところどころ欠損していた(写真13)。

加温24時間後では、毛細血管の欠損は加温領域である舌尖の小範囲に縮小し(写真14)、加温48時間後では、対照と同様に、毛細血管の欠損はほとんどみられなかった(写真15)。

(2) 43℃加温群

加温直後では、加温領域の舌尖から舌背にかけて広い範囲で毛細血管が欠損し、その範囲は42℃加温群に比し著明に拡がっており、血管密度も疎な状態となっていた。加温部は太い血管のみで構成され、血管の拡張もみられた(写真16A)。また断裂している血管の断端は、先細りを呈するものや切断されたような形態がみられた(写真16B)。

加温12時間後では、舌尖から舌背に血管の欠損する範囲はさらに拡大し、加温部には拡張し、蛇行した血管がみられた(写真17A)。径が100 μ mを越える血管にも断裂がみられた(写真17B)。

加温24時間後では、欠損の範囲は加温12時間後とほぼ同様に、舌尖から舌背前方に及んでいた。

加温48時間後では、欠損範囲は縮小傾向にあり、加温部中心では血管密度が疎であるものの、加温領域の辺縁には血管網がみられるようになっていた(写真18)。

加温1週後では、加温部中心の舌背表面が一部陥凹し、血管網の形態も変形しているが、概ね全体的に対照と同様の構造を示した(写真19A, B)。

加温2週後では、加温1週後と同様に加温部中心の血管網は変形したままであった。

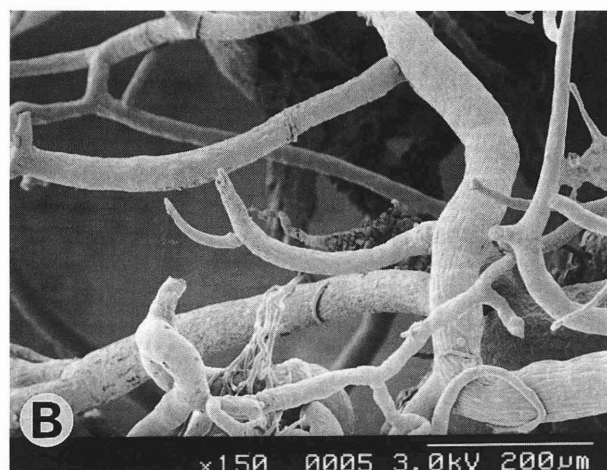
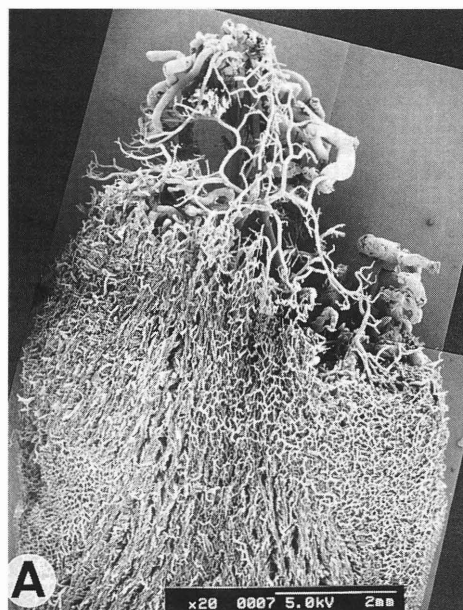


写真16 43℃加温直後の血管鋳型像

A：舌尖から舌背にかけての血管密度は非常に疎な状態となっている(舌尖；上方)。

B：断裂している血管の断端は先細りを呈するものや切断されたようなものがみられる。

考 察

1. 実験方法について

今回、ハイパーサーミアによる血管障害を観察するモデルとしてハムスター正常舌を用いた。舌は骨格筋の塊を粘膜がつつんだものとみなすことができ、筋線維束間の疎性結合組織中には豊富な血管がみられる組織である²⁷⁾。また、ハムスターの舌は前後的に長く²⁸⁾、加温操作が容易であり本実験には適していた。

加温方法については、RF誘電型加温システム²⁶⁾を使用した。RF波は深部加温特性に優れ、加温対象に対して適切な大きさのアプリータを使用すれば、一様な加温が

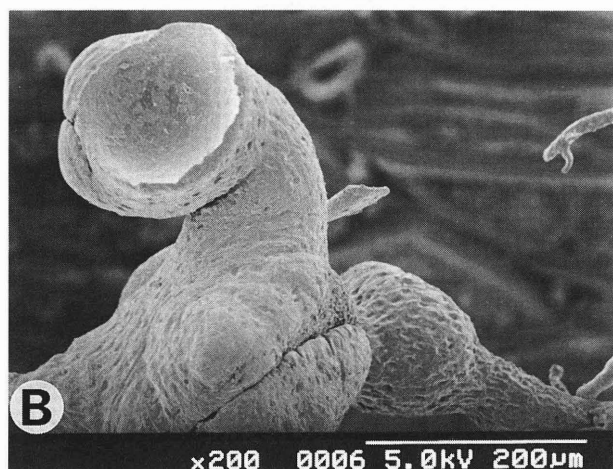
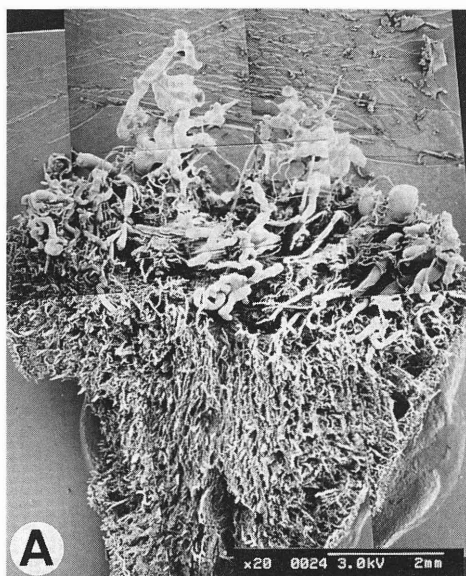


写真17 43℃加温12時間後の血管鋳型像

A: 舌尖では太い血管にしか注入されず、舌背前方の血管密度も疎である(舌尖; 上方)。

B: 径が100μmを越える血管にも断裂がみられる。

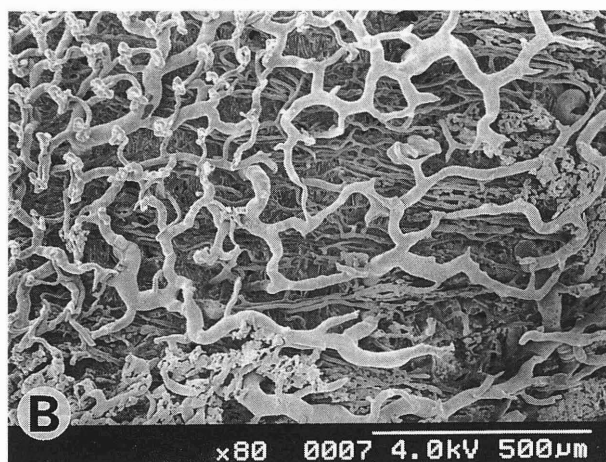
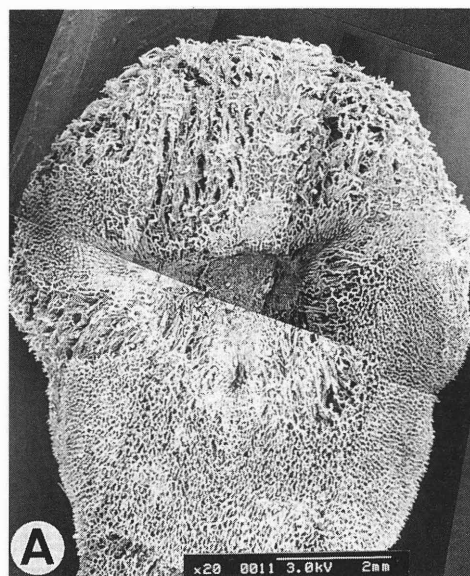


写真19 43℃加温1週後の血管鋳型像

A: 加温部中心の舌背表面の血管網は変形している。

B: 左は正常な舌背表面の血管ループを呈するが、右はループを形成していない。

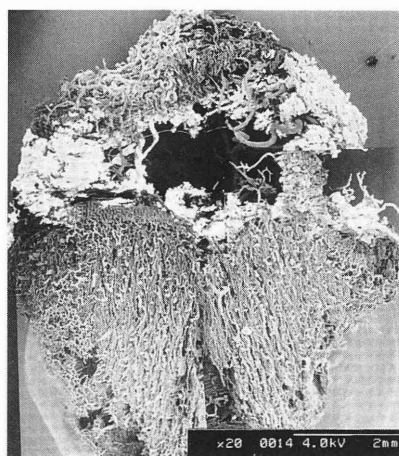


写真18 43℃加温48時間後の血管鋳型像

加温部中心の血管密度は疎であるが、加温領域辺縁には血管網がみられる。(舌尖; 上方)

可能であるとされる²⁹⁾。本実験においても、サーモグラフで示したように、アプリケータで挟まれた加温領域は目的の温度に均一かつ一定に加温され、ホットスポットは生じていなかった。一方、RF加温の問題点として脂肪層の過熱や骨周囲組織へのRF波の収束³⁰⁾が挙げられるが、今回の実験に用いた舌ではこの点も問題とならない。

血管障害については、血管内皮細胞を特異的に染色する第Ⅷ因子関連抗原染色を用いて観察し、血管鋳型法を用いて立体的電顕観察を行った。

第Ⅷ因子関連抗原染色では小動静脈、毛細血管の内皮細胞は非常に良く染色されるが、リンパ管内皮細胞は染色されにくいとされ³¹⁾、血管侵襲の観察に用いられている^{31,32)}。

ハイパーサーミアによる血管系の変化について血管鋳型法を使用した報告は正常組織、腫瘍組織ともに見当た

らない。しかし、本法は放射線照射後の血管系の変化^{20,23)}やレーザー照射後の治癒過程における血管構築の動態の観察²⁵⁾等に用いられている。一方、当科ではラットおよびマウスの胎児における口蓋形成過程を本法を用いて観察し、微細な血管系の構造を三次元的に観察し得る有用な方法であることを確認している^{21,24)}。

ハイパーサーミアの血管障害については、血流量の変化を調べた生理学的研究^{8,10,12,15,19,23)}や光顕^{9,11,13,18)}、電顕^{13,34)}、血管造影法^{15,35,36)}を用いた形態学的研究がある。しかし、いずれも局所的な所見から全体を類推するものであり、全体像の把握は困難である。これらの方法に対して、血管鋳型法は血行障害に陥っている範囲や程度、および障害からの回復の過程が立体的に把握でき、さらに同一標本で微細な血管の変化も観察可能であり、非常に有用な方法であると考えられた。

2. 実験結果について

(1) 組織学的観察

正常組織においては加温により血管拡張、血流増加が生じるが、臨界温度、臨界時間を超えると血流は減少し、血行静止、出血等の血管障害が生じるとされている^{15,18,37,38)}。

42℃加温群では、加温直後より血管拡張、うっ血が生じ、加温12時間後で間質浮腫がみられたが、それらの変化はほぼ48時間で回復し、可逆的であった。

加温による血管拡張は、加えられた熱を逃がそうとする正常組織特有の反応とされている^{18,37,39)}。うっ血、間質浮腫などの変化は加温により血管透過性が増加することより、血漿成分の血管外漏出が進んだ結果と考えられる。

42℃では正常血管では非可逆的变化はみられない³⁶⁾が、肝中心静脈では損傷を受けるものが多い¹⁸⁾との報告もあり、組織特異性は問題となろう。

43℃加温群では、血管の組織学的変化について第Ⅷ因子関連抗原染色を用いた内皮細胞の変化をも含めて考察すると、加温直後から強度のうっ血、間質浮腫および出血等の末梢循環障害が観察され、さらに一部の毛細血管では血管壁の破綻といった非可逆性の変化もみられた。

この結果は正常血管は43℃以上では非可逆性の変化を呈することを示しており、先の42℃加温の所見と併せて血管損傷における臨界温度といえる。この点について、Badylak ら¹³⁾、Fahim ら³⁴⁾は組織所見、電顕所見から同じく内皮細胞の変化を観察し、同様に43℃で障害のおこることを示している。また培養内皮細胞の温熱処理では43℃以上から急激に細胞障害がみられている⁴⁰⁾。

(2) 血管鋳型法による観察

42℃加温群では、舌表層において加温直後から24時間

後まで加温領域内に小範囲の毛細血管の欠損した部分がみられたが、48時間後には血管の欠損はほとんどみられず、対照と同様の形態を示した。これに対し43℃加温群では、広範囲に加温直後から48時間後まで毛細血管レベルのみならず、小動静脈レベルの太い血管にいたるまで欠損していた。これらの経時的变化はそのまま組織学的に観察された血管障害の経時的变化、程度によく対応していた。すなわち、加温群にみられた血管の欠損部は、組織学的に観察されたうっ血ないし血液粘稠度の増加により血行障害を生じ、レジンが注入されない範囲を表しているものと考えられた。血管造影法においても、うっ血している血管には造影剤が注入されず、循環している血管と区別可能である¹⁴⁾とされている。

42℃加温における血行動態について、対照群および48時間後の鋳型標本においては血管の欠損はみられず、加温直後から12時間後まで一時的な血行障害が生じている可能性が示唆された。この点について、血管造影法による観察で、41℃加温後に血流の低下がみられたとする報告³⁵⁾、42℃加温後に血管途絶はみられなかった³⁶⁾とする報告がある。ハイパーサーミアの臨床適用においては腫瘍内の温度を42.5℃～43℃^{1,2,4,6,7)}に加温することを目標に行われることが多いが、加温領域内においては、正常組織の温度は血流による冷却作用により、腫瘍内の温度よりも低く保たれるとされており^{8,13,39,41)}、周囲正常血管の温度は42℃前後であろうと推察される。本実験の組織学的所見、血管鋳型所見より、42℃加温で正常血管は一過性の血行障害を生じる可能性があるものの、48時間前後には回復し、非可逆的な血管障害は生じないものと考えられた。

43℃加温群の血行動態については、組織学的に太い血管においても強度のうっ血が観察され、血行静止が生じていることがうかがわれたが、血管鋳型法により、その範囲が加温直後から24時間後までは加温領域のほぼ全域にわたっていることが示唆された。加温による血行静止のメカニズムについては、(1)内皮細胞の変化、白血球の粘着等の血管壁の変化、(2)赤血球の柔軟性の低下、赤血球の凝集等の血液流動性の変化、(3)浮腫の形成、微小血管抵抗性の増加等の微小血行力学の変化、などの要因が複雑にからみ合っているといわれている³⁸⁾。これらのうち、本研究の43℃加温群では組織学的に内皮細胞障害および赤血球の変性が観察されており、さらに間質浮腫が著明であったことから、血管透過性の増加、血漿成分の血管外漏出による血液粘稠度の増加が生じ、大きな血行障害を惹起したのであると考えられた。なお、Matsuda ら¹⁹⁾は43℃20分加温後の腫瘍周囲正常肝の局所血流量について回復に2日を要したとし、高温加温では障害からの回復も遅延する傾向が認められている^{19,35)}。

血管障害の時間的变化については、組織所見、血管鋳

型所見ともに、加温直後よりも加温12時間～24時間後で最強であった。これは前述の如く、種々の要因が絡み合っている生じる血行静止を成立させるのに要する時間を表現しているのであろう。一般に血管障害のピークは、加温直後よりもある一定の時間を経過した後に生じているという報告が多い^{13,18,19,33)}。しかし、いずれの実験も私達の実験ほど細かな時間設定のもとに観察されておらず、最も強く障害された後に回復する時間経過について詳細に記述されたものはみられない。

微細な血管変化として、43℃加温群の血管鑄型の断端の形態で先細りという所見が観察された。血管径の減少を示すものと考えられ、血管自体の変化、あるいは強度の間質浮腫による影響などが考えられる。この点について、組織学的観察では血管径の一断面しか観察しえず、実際に起こっている血管全体の複雑な変化をとらえることは困難である。このことから血管鑄型法は微細な血管変化の全体像を把握するうえで有用な方法であると考えられる。

結 語

ハムスター正常舌を周波数13.56MHzのRF誘電型加温システムで42℃および43℃40分間1回加温を行い、血管障害を中心とした経時的变化について、組織学的および血管鑄型法を用いた電顕的観察の結果、以下の結論を得た。

1. 組織学的観察においては、42℃加温群では、血管拡張、うっ血、間質浮腫等の変化がみられたものの、ほぼ48時間で回復した。43℃加温群では、強度のうっ血、間質浮腫および出血等の末梢循環障害が加温直後から観察され、さらに毛細血管壁の破綻や筋線維の変性といった変化も一部でみられた。4週後にも一部で線維化を後遺した。

2. 血管鑄型法による観察では、42℃加温群では、加温直後から24時間後まで表層の毛細血管の欠損が加温領域内の小範囲でみられたが、48時間後には欠損はみられなかった。43℃加温群では、加温直後から48時間後まで血管の欠損した部分が加温領域の広範囲に認められた。また、1, 2週後でも血管網の形態変化がみられた。

3. 以上より、正常血管は42℃40分の加温では、一過性の血行障害が生じる可能性があるものの、48時間前後で回復し、非可逆的な血管障害は生じないが、43℃40分の加温では、相当の血行障害および一部で非可逆的な血管障害も生じることが示唆された。

4. 血管鑄型法を用いた本実験モデルは、ハイパーサーミアによる血管障害を観察するうえで非常に有用である。

稿を終えるに臨み、終始御懇篤なる御指導を賜りました口腔外科学第2教室星名秀行博士に深く感謝いたします。電顕観察について御助言を賜りました同教室永田昌毅博士に深謝いたします。また、本実験を進めるに当たり御協力を頂きました同教室長島克弘先生に深謝いたします。最後に種々御援助いただきました口腔外科学第2教室の皆様感謝いたします。

なお、本論文の一部は、第9回新潟ハイパーサーミア研究会(平成6年6月、新潟市)、第49回日本口腔科学会総会(平成7年4月、岐阜市)、第4回国際口腔癌会議(平成7年9月、大垣市)、第11回新潟ハイパーサーミア研究会(平成8年5月、新潟市)、平成8年度新潟歯学会第1回例会(平成8年7月、新潟市)において発表した。

引 用 文 献

- 1) 大関 悟, 大部一成, 田代英雄: 2450MHz マイクロ波による口腔癌の温熱療法の試み. 日口外誌 33: 627-634, 1987.
- 2) 又賀 泉, 尾崎守男, 近藤帥典, 堀川恭勝, 成田保之, 東野信昭, 岡野篤夫, 土川幸三, 加藤譲治: 当科における頭頸部癌・温熱療法の現況. 日口外誌 35: 1227-1241, 1989.
- 3) 星名秀行, 鶴巻 浩, 小柳広和, 笠井直栄, 山本恵理子, 大橋 靖: 下顎歯肉癌の顎下部再発巣に血管収縮剤局注下ハイパーサーミアが奏効した1例. 日口外誌 40: 1293-1295, 1994.
- 4) 藤内 祝, 林 康司, 上田 実, 小林達也, 松井正顕: 口腔癌に対する Implant Heating System (IHS)を用いた温熱化学療法の効果と適応. 日本ハイパーサーミア誌 11: 76-85, 1995.
- 5) 飯田明彦, 星名秀行, 鶴巻 浩, 小林竜彰, 長島克弘, 大橋 靖: 高度進展下顎歯肉癌に対する針型アプリーケーターを用いたRF組織内加温法の応用. 日口外誌 43: 610-612, 1997.
- 6) 星名秀行, 大橋 靖, 鶴巻 浩, 長島克弘: 頭頸部癌に対する温熱・放射線・化学療法—10年間21症例27病巣—. 新潟医学会誌 111: 289-294, 1997.
- 7) Valdagni, R. and Amichetti, M.: Report of Long-term Follow-up in a Randomized Trial Comparing Radiation Therapy and Radiation Therapy Plus Hyperthermia to Metastatic Lymphnodes in Stage IV Head and Neck Patients. Int J Radiat Oncol Biol Phys 28: 163-169, 1994.
- 8) Song, C. W.: Effect of Hyperthermia on Vascular Functions of Normal Tissues and Experimental Tumors: Brief Communication. J Natl Cancer Inst 60: 711-713, 1978.

- 9) Eddy, H. A.: Alterations in Tumor Microvasculature During Hyperthermia. *Radiology* 137 : 515-521, 1980.
- 10) Song, C. W., Kang, M. S., Rhee, J. G. and Levitt, S. H.: Effect of Hyperthermia on Vascular Function in Normal and Neoplastic Tissues. *Ann NY Acad Sci* 335 : 35-47, 1980.
- 11) Emami, B., Gilbert, H. N., Hahn, N., Piro, A. J., Dritschilo, A. and Quimby, F.: Histopathological Study on the Effects of Hyperthermia on Microvasculature. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 7 : 343-348, 1981.
- 12) Dudar, T. E. and Jain, R. K.: Differential Response of Normal and Tumor Microcirculation to Hyperthermia. *Cancer Res* 44 : 605-612, 1984.
- 13) Badylak, S. F., Babbs, C. F., Skojac, T. M., Voorhees, W. D. and Richardson, R. C.: Hyperthermia-Induced Vascular Injury in Normal and Neoplastic Tissue. *Cancer* 56 : 991-1000, 1985.
- 14) Nishimura, Y., Hiraoka, M., Jo, S., Akuta, K., Yukawa, Y., Shibamoto, Y., Takahashi, M. and Abe, M.: Microangiographic and Histologic Analysis of the Effects of Hyperthermia on Murine Tumor Vasculature. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 15 : 411-420, 1988.
- 15) Brown, S. L., Hunt, J. W. and Hill, R. P.: Differential thermal sensitivity of tumour and normal tissue microvascular response during hyperthermia. *Int J Hyperthermia* 8 : 501-514, 1992.
- 16) 西村恭昌, 石垣 孝, 村田るみ, 平岡真寛, 阿部光幸: 温熱療法のターゲットとしての腫瘍血管. *日本ハイパーサーミア誌* 11 : 13-20, 1995.
- 17) 坂本泰宏, 柳谷謙一, 間野和哉, 高戸 毅, 赤川徹弥: CDDP を用いた温熱化学療法の薬剤投与時期に関する基礎的検索. *口科誌* 43 : 128-134, 1994.
- 18) Nishimura, Y., Jo, S., Akuta, K., Masunaga, S., Fushiki, M., Hiraoka, M., Takahashi, M. and Abe, M.: Histological Analysis of the Effect of Hyperthermia on Normal Rabbit Hepatic Vasculature. *Cancer Res* 49 : 4295-4297, 1989.
- 19) Matsuda, H., Sugimachi, K., Kuwano, H. and Mori, H.: Hyperthermia, Tissue Microcirculation, and Temporarily Increased Thermosensitivity in VX2 Carcinoma in Rabbit Liver. *Cancer Res* 49 : 2777-2782, 1989.
- 20) 柄川 順, 石岡邦明, 尾形知子: 腹部臓器及び実験腫瘍の微小血管構築と, これに対する放射線照射並びに制癌剤投与の影響—樹脂鑄型法による走査電顕観察—. *帝京医学雑誌* 1 : 269-281, 1978.
- 21) 千葉順一: 正常ならびにビタミンA誘発口蓋裂ラット胎仔の二次口蓋形成過程における血管構築の推移. *日口蓋誌* 13 : 182-203, 1988.
- 22) 高木律男, 大橋 靖, 吉田重光, 小林茂夫: 血管鑄型走査電顕法による成熟家兔顎関節の微細血管構築—第1報 閉口時について—. *日顎誌* 1 : 102-109, 1989.
- 23) 蜂矢裕司: Co⁶⁰照射がラット骨膜毛細血管に及ぼす影響に関する研究—血管鑄型法による走査電顕観察—. *日口外誌* 38 : 544-559, 1992.
- 24) Amin, N., Ohashi, Y., Chiba, J., Yoshida, S. and Takano, Y.: Alterations in Vascular Pattern of the Developing Palate in Normal and Spontaneous Cleft Palate Mouse Embryos. *Cleft Palate-Craniofacial Journal* 31 : 332-344, 1994.
- 25) 磯部 誠: 高出力 Nd: YAG レーザーによる舌創とその治癒過程に関する基礎的研究—毛細血管構築の形態観察を中心として—. *日口外誌* 40 : 14-33, 1994.
- 26) 星名秀行, 大橋 靖, 鶴巻 浩, 斎藤義明: ハムスター正常舌に対する RF ハイパーサーミアの影響. *日本ハイパーサーミア誌* 10 : 49-57, 1994.
- 27) 藤田尚男, 藤田恒夫: 標準組織学各論, 66-70頁, 医学書院, 東京, 1981.
- 28) 藤田浄秀, 大村 進, 鈴木信治, 小田島哲世, 大谷隆俊: ハムスター舌背の形態学的研究—特に解剖名に関して—. *日口外誌* 28 : 829-839, 1982.
- 29) 斎藤義明, 加藤和夫, 松田甚一: RF 誘電加温方式の加温特性—深部有効加温の為の数値解析—. *日本ハイパーサーミア誌* 1 : 19-24, 1985.
- 30) 不破信和: 臨床サイドから見た望まれる加温機器. *日本ハイパーサーミア誌* 12 : 117-123, 1996.
- 31) 加藤孝男, 木村恒人, 村木 博, 神尾孝子, 藤井昭芳, 山本和子, 浜野恭一, 平山 章: 第VIII因子関連抗原染色を用いた乳癌の血管侵襲と病理学的因子との関係についての検討. *日臨外医学会誌* 51 : 1397-1403, 1990.
- 32) 次田 正, 鈴木博孝, 鈴木 茂, 福島靖彦, 喜多村陽一, 勝呂 衛, 太田重久, 新井田正枝, 安康晴博, 小林誠一郎, 羽生富士夫: 胃癌切除標本における静脈侵襲判定法について—各染色法の比較—. *日癌治* 23 : 688-695, 1988.
- 33) 大部一成: 加温による舌血流量の変化についての実験的研究. *福岡医誌* 84 : 497-511, 1993.
- 34) Fahim, M. A. and El-Sabban, F.: Hyperthermia Induces Ultrastructural Changes in Mouse Pial Microvessels. *The Anatomical Record* 242 :

- 77-82, 1995.
- 35) 坂本泰宏, 水谷 雄, 塩田重利: 加温処置の家兎 VX2癌に及ぼす影響—血管造影による腫瘍内血流の検索—. 日本ハイパーサーミア誌 4: 221-233, 1988.
- 36) 中島幹雄: ラット正常顎下腺に対する RF 加温の影響. 日口外誌 40: 39-54, 1994.
- 37) Song, C. W.: Effect of Local Hyperthermia on Blood Flow and Microenvironment: A Review. Cancer Res(Suppl) 44: 4721s-4730s, 1984.
- 38) Reinhold, H. S. and Endrich, B.: Tumour micro-circulation as a target for hyperthermia. Int J Hyperthermia 2: 111-137, 1986.
- 39) Storm, F. K., Harrison, W. H., Elliott, R. S. and Morton, D. L.: Normal Tissue and Solid Tumor Effects of Hyperthermia in Animal Models and Clinical Trials. Cancer Res 39: 2245-2251, 1979.
- 40) 伊藤要子, 相原真理子, 小栗 隆, 宮田伸樹: 血管内皮細胞の温熱障害. 日本ハイパーサーミア誌 10: 34-40, 1994.
- 41) 星名秀行: ハムスター頬粘膜癌に対する RF ハイパーサーミアの抗腫瘍効果に関する研究. 日口外誌 37: 1950-1960, 1991.