

一般演題5-1

グリオーマの抗癌剤感受性に対する高気圧酸素療法の増強効果

—ヒトグリオーマ株スフェロイドを用いた検討—

内田将司¹⁾ 田中克之^{1,2)} 吉田泰之¹⁾田中雄一郎¹⁾ 橋本卓雄¹⁾

- | | |
|----|------------------|
| 1) | 聖マリアンナ医科大学 脳神経外科 |
| 2) | 川崎市立多摩病院 脳神経外科 |

【はじめに】第44回本学会で発表したように、悪性神経膠腫患者に対する高気圧酸素（以下HBO）併用化学療法は、多変量解析によるKaplan-Meier法を用いたLogrank検定（ $p < 0.01$ ）及びWilcoxon検定（ $p < 0.05$ ）において有意な差を得ている。このような臨床結果を元に、現在当教室では基礎実験にてHBOの抗癌剤の感受性増強効果の裏付けを検討している。HBO下で抗癌剤を投与した場合、大気圧（以下NBO）中の状態と比較し血漿中の濃度が高濃度に保たれることは、これまで昭和薬科大学との共同研究にて立証済みである。今回、HBO条件下での腫瘍内酸素化による抗癌剤の感受性増強効果を実証するため、実際のヒトグリオーマ株の三次元培養スフェロイドを用い、HBO・NBO環境下での抗癌剤の感受性の比較検討を行った。

【方法】ヒトグリオーマ細胞にはA172株を使用した。A172細胞浮遊液を住友ベークライト株式会社製の96well U底プレートを用い、1wellあたり $1 \times 10^4/100 \mu\text{l}$ ずつ散布し、インキュベーター内（5% CO₂ 37℃の条件下）に静置させ、スフェロイドを作成した。

スフェロイドはDay3・Day7のものを用い、抗癌剤はCisplatin (CDDP) ・Carboplatin (CBDCA) ・Temozolomide (TMZ) の3種類を各々の濃度で使用した。HBO群は抗癌剤添加後、直ちに高気圧酸素タンクに2ATA（加圧5分・維持30分・減圧5分のスケジュール）に置いた。抗癌剤添加から96時間後にWST-8を用いて、吸光度を測定し、生細胞率における有意差をstudent t検定を用いて比較検討を行った。

【結果】Day3でのスフェロイドの比較検討では3種の抗癌剤全てにおいてHBO・NBO群で有意な差は得られ

なかった。一方、Day7でのスフェロイドではCDDP及びCBDCAにおいて2群間での生細胞率に優位な差（ $P < 0.05$ ）が得られたが、TMZでは2群間に有意な差は得られなかった。

【考察】腫瘍内酸素化による抗癌剤感受性の増加の機序として、HBOによる低酸素細胞の減少と細胞周期の変化が関与していると考えられている。Grayらは低酸素腫瘍細胞の存在が化学療法に抵抗性を示すものと述べており、AlagözらはHBO治療により腫瘍の乏血部における細胞分裂が促進していることを実験的に報告している。

実際にスフェロイドを用いて、HE染色とG0期以外の細胞周期に特異的に染色するKi-67の免疫染色を行い、病理学的に検討してみた。腫瘍塊の中止部はKi-67にて染色されず、外周部に特異的に染色される所見であった。つまり、腫瘍塊の中心部は休止期の細胞が存在し、外周部に活動期にある腫瘍細胞が多く存在していることを意味している。よって、大気圧の条件下では、外周部の活動期の細胞に抗癌剤は作用するが、中止部にある休止期の細胞は抗癌剤に抵抗を示すと思われ、HBO環境下に置き、腫瘍中心部の休止期にある細胞周期を回転させることで、抗癌剤の感受性が増加するものと思われた。

今回使用した抗癌剤のうちCDDP・CBDCAは細胞周期依存性の抗癌剤であり、HBO・NBOの2群間で有意な差が得られたものと考えられるが、TMZはDNA障害性の抗腫瘍薬でありHBOによる効果が有意に得られなかったものと考えられた。

今後の展望として、腫瘍中心部の低酸素細胞の存在とHBO・NBO各々の環境下でのKi-67染色の比較検討を行い、2群間での差を証明したいと考えている。