

琉球大学学術リポジトリ

[原著]高気圧酸素環境下でのブレオマイシン併用による実験的研究

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学保健学部 公開日: 2014-07-18 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 有村, 徹, 竹中, 静広, 伊藤, 悦男, 湯佐, 祚子, Arimura, Touru, Takenaka, Shizuhiko, Ito, Etsuo, Yusa, Toshiko メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016291

高気圧酸素環境下でのブレオマイシン併用による実験的研究

琉球大学保健学部 産婦人科
有村 徹 竹中静広

琉球大学保健学部 病理学教室
伊藤悦男

琉球大学保健学部 麻酔科
湯佐祚子

緒 言

抗腫瘍剤の発達はめざましいものがあるが、癌治療の主流は、やはり手術療法である。しかし手術不能例には、抗腫瘍剤投与および放射線療法にたよらなければならない。これらの治療効果を高めるために、種々のあたらしい試みがおこなわれてきている。

その一方法として高気圧酸素環境下療法の併用が考えられた。つまり、一般に腫瘍内組織酸素分圧は低く、また酸素分圧の低い部分は放射線感受性が低いといわれ、また同時に組織酸素分圧をあげると放射線感受性が高まるということも知られている。¹⁾ そこで Gray²⁾ は、腫瘍内組織酸素分圧を上げることが、放射線感受性を高めるであろうという想定にもとづき、実験的に高気圧酸素環境下 (以下OHP) で腫瘍細胞に十分な酸素供給をおこなって放射線を照射し、無酸素下照射にくらべ約3倍の放射線効果が高まることを証明した。

Churchill-Davidson³⁾ が、この論理を臨床に応用してOHP下の放射線照射が臨床的にも有効であることを証明して以来、OHPは放射線療法との併用の形で発達してきた。^{4,5,6,7)}

一方アルキル化剤の細胞への作用も、この放射線照射の細胞への作用と類似していることをButler⁸⁾ が述べている。また Gerschman⁹⁾ は、OHPによって酸化遊離基 (oxydizing free radical) がふえ、これが細胞に障害をあたえること、そしてその障害作用がX線照射によって生じる free-radicalの細胞への障害作用と類似していることを認めている。また Krementz¹⁰⁾ は実験的にOHP下でエールリッヒ腹水癌細胞移植マウスにナイトロジェンマスタードを投与し、増強効果があったと報告した。それ以来OHP下での抗腫瘍剤投与も種々試みられているがその増強効果の有無、併用療法の意義については賛

否両論がある。^{11,12,13,14,15,16)}

1965年梅沢¹⁷⁾ によって発見されたブレオマイシン (以下BLM) は、扁平上皮癌、ホジキン病、リンパ肉腫に有効な抗腫瘍剤で、その抗腫瘍作用はDNAの低分子化作用によるといわれ¹⁸⁾、この効果は酸素や free-radical 産生系によって促進されることが報告されている。^{19,20,21)}

そこで、われわれはエールリッヒ腹水癌細胞をマウス皮下に移植したのち、OHP下でBLMを投与しその抗腫瘍効果の増加の有無について実験をおこなったので報告する。

実 験 (I)

平圧下でのBLM単独治療と、OHPとBLM併用療法の抗腫瘍効果の比較を種々条件を変えておこなった。

実験方法および材料

実験腫瘍および治療群：実験動物はICR-JCL系マウス4週令、体重18-19gのものを用い、これらのマウスの右後肢皮下にエールリッヒ腹水癌細胞5×10⁶個を移植した。移植8日目腫瘍が確実に発育したことを確認したのち、マウス10匹を1群として以下のような実験目的に従い7群に分けた。

実験群の第1群は無処置対照群、第2群はBLM 5 mg/kg単独投与群、第3群はBLM 10 mg/kg単独投与群、第4群はBLM 5 mg/kgとOHP 2絶対気圧 (以下ATA) 併用群、第5群はBLM 5 mg/kgとOHP 2.5 ATA併用群、第6群はBLM 10 mg/kgとOHP 2 ATA併用群、第7群はBLM 10 mg/kgとOHP 2.5 ATA併用群である。

投与に際しては BLM を生理的食塩水に溶解し、腫瘍細胞移植 8 日、11 日、14 日後の 3 回腹腔内投与をおこなった。OHP は 1 日 1 回 10 日間処置した。

高気圧酸素環境下治療条件は(図 1)日本酸素 K.K 製 KS-305 型の多人数用高気圧治療装置を使用した。この装置は、装置本体は直径 3m、長さ 6m の横置円筒型耐圧構造の鋼製タンクで、本体内部は耐圧隔壁によって長さ 4.2m の内室と 1.8m の外室に区別されている。両室とも別個に、または同時に加圧、減圧が可能で最高 8 ATA まで可圧可能である。

この両室を使って、圧縮器を用いて空気加圧として、目的加圧まで 10 分間、加圧維持 50 分間、減圧 15 分間を要するように計画した。加圧開始から減圧終了まで加圧室内の換気は充分におこなった。

酸素の投与方法としては、酸素ボンベより減圧器を通し、ゴム管で連結した。

このゴム管を 24cm×12cm×12.5cm の大きさのマウスゲージのはいった 100cm×90cm の大きさのビニロンバッグ一端につなぎ固定し、バッグ他端には約 2cm の小孔を開け、排気を充分におこなった。ビニロンバッグは透明なものを使用し、マウスの状態がタンクの窓より観察できるようにした。このようなバッグに加圧開始から減圧終了まで酸素を 1 分間に 15 リッターの割合で流した(図 2)。

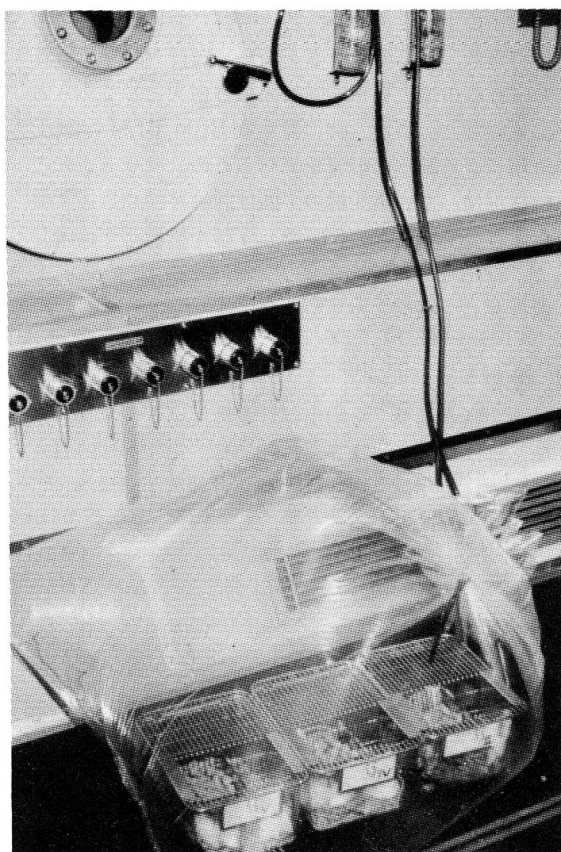


Fig. 2. Pressure chamber which was utilized for the hyperbaric oxygen treatment.

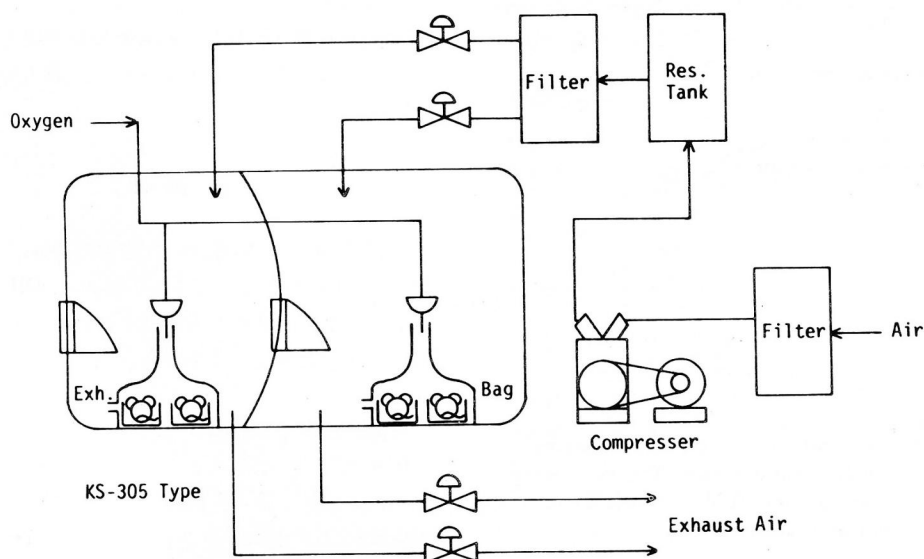


Fig. 1. Chamber for O.H.P. Treatment.

以上のような条件で、各治療群におけるマウスの生存日数、腫瘍の大きさを長径×短径 (mm²) で計算し、腫瘍の増大を平均腫瘍面積の増大としてあらし比較した。また、肺に対する BLM, BLM と OHP 併用による肺への影響を調べるため、マウスを死亡時に剖検した。第 5 群の 1 匹は腫瘍移植 45 日後までも生存していたために断頭して肺を摘出して検索した。剔出肺は 10 倍ホルマリン液固定後 H-E 染色し顕微鏡にて観察した。

結果

1. 延命効果：平均生存日数は、第 1 群は 16.4 日、第 2 群は 18.9 日、第 3 群は 18.5 日、第 4 群は 21 日、第 5 群は 27.5 日、第 6 群は 22.5 日、第 7 群は 28.8 日であった (図 3)。

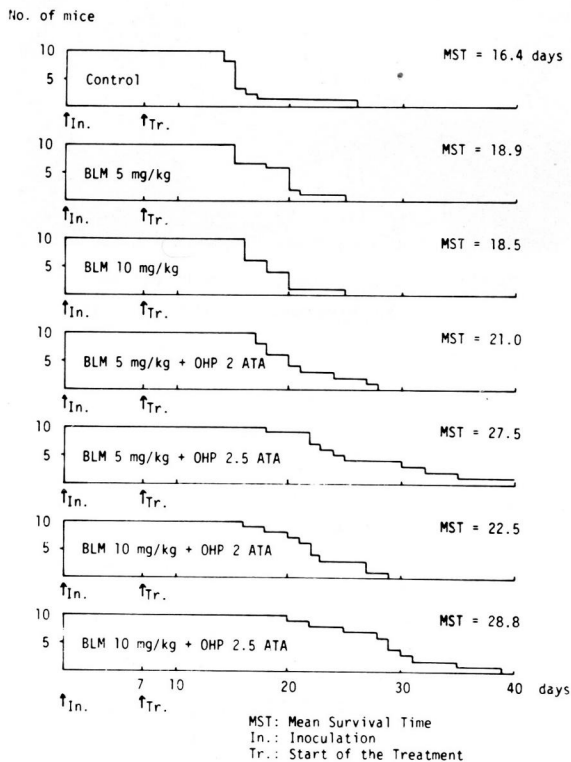


Fig. 3. Survival time of the mice bearing Ehrlich solid tumor. The mice were treated with BLM and O.H.P. in variable combination.

BLM 単独治療群でも対照群よりわずかながら平均生存日数が延長していた。さらに BLM 単独群よりも、BLM に OHP を併用したほうが平均生存日数は延長し、BLM 投与量が同量の時は、加圧条件が高いほうが平均生存日数は延びることがわかった。OHP 加圧が同圧の時は、BLM 投与量が多いほうが生存日数は長かった。

2. 腫瘍抑制効果：対照群と第 2 群、第 3 群との間に大差はなく、第 3 群はむしろ対照群よりも腫瘍面積は大きくなった。しかし、治療開始 3 週間後からは、腫瘍面積の増大する割合は減少した。対照群 BLM 単独群よりは、BLM に OHP を併用した第 4、5、6、7 群のほうが腫瘍面積は小さく、腫瘍が抑制されたことがわかる。BLM と OHP の併用では、BLM 量に関係なく OHP 加圧が高いほど腫瘍面積は小さく、同じ加圧条件では BLM 量が多いほど腫瘍面積は小さかった。最も腫瘍面積が小さかったのは第 7 群であった (図 4)。

3. 肺の組織所見：各治療群における死亡時の肺の主な変化は肺胞内出血、肺うっ血、細胞浸潤、線維素析出、肺水腫、癌転移及び無気肺等であったが治療群別による差はあまりなかった。これらは大部分腫瘍死にみられる非特異的な病変で、治療による影響は特別考えられず、BLM 治療に特異的といわれる間質性肺炎等の所見もほとんどなく、当然肺線維症まで進展した病変もなかった。各群に癌転移がみられたが、特に BLM と OHP 併用群に転移が多いようにみうけられた。しかし、これは治療により平均生存日数が延長した結果転移巣が増大し、目立つようになったためと考えられた (表 1)。

実験 (II)

OHP 併用により BLM の効果の増強がみられたが、BLM の効果を増強しているのは、OHP における加圧および酸素のうちのいずれであるかを検討するため次の実験をおこなった。

実験方法および材料

ICR-JCL 系マウス 5~6 週齢、体重 20~25g のものに、実験 (I) と同様に、エールリッヒ腹水癌細胞 3.3×10^6 個をマウス右後肢皮下に移植し、マウス 10 匹を 1 群として 13 群に分けた。すなわち、第 1 群は無処置対照群、第 2 群は BLM 5 mg/kg と平圧

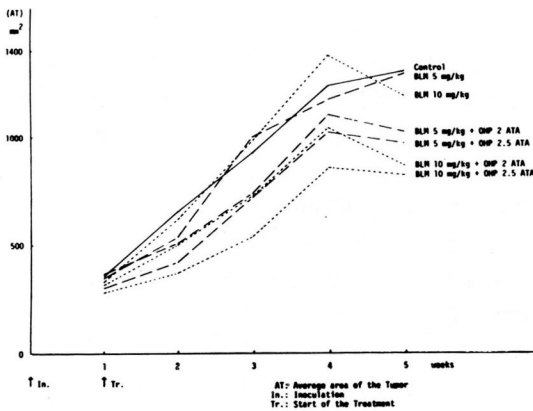


Fig. 4. Antitumor effects of BLM and O.H.P. on the subcutaneously induced solid tumor inoculating Ehrlich ascites carcinoma cells.

下酸素吸入 (以下 OAP) 20 L./min., 第3群はBLM 10 mg/kg と OAP 20 L./min., 第4群は BLM 5 mg/kg と OAP 10 L./min., 第5群は BLM 10 mg/kg と OAP 10 L./min., 第6群は BLM 5 mg/kg と 空気加圧 (以下 AHP) 2.5 ATA, 第7群は BLM 10 mg/kg と AHP 2.5 ATA, 第8群は BLM 5 mg/kg と AHP 2 ATA, 第9群は BLM 10 mg/kg と AHP 2 ATA, 第10群は OAP 20 L./min. のみ, 第11群は OAP 10 L./min. のみ, 第12群は AHP 2.5

ATAのみ, 第13群は AHP 2 ATAのみの各群である。

各治療群別による効果の比較は, 実験 (I) と同様な方法で計測された平均腫瘍面積により検討した。

結果

AHP 単独および OAP 単独群では, 一般に無処置群よりも平均腫瘍面積はむしろ大きく, 腫瘍抑制よりも腫瘍増大を助長しているように思えた。しかしこれは対照群の腫瘍が増大しすぎて, 腫瘍移植後4週頃より乾絡壊死に陥り, 10匹中2匹において腫瘍が壊死組織として脱落してしまったためと思われる。この腫瘍塊の乾絡壊死脱落は, AHP 2 ATA単独群, BLM 5 mg/kg と AHP 2 ATA 群, BLM 5 mg/kg と AHP 2.5 ATA 群の各群に1匹ずつみられたが, 対照群の腫瘍脱落が最大であった。BLM を AHP, OAP に併用すると腫瘍抑制効果は AHP, OAP の各単独群よりも強くみられ, しかも全般的に BLM と OAP 併用群のほうが, BLM と AHP 併用群よりも腫瘍抑制効果は強く, 腫瘍面積は小さかった。BLM と AHP 併用の中では, BLM 量が多いほど腫瘍面積は小さく, しかも BLM 量が同量の場合は, 加圧条件が高いほど腫瘍抑制効果は大きくなる傾向があった。BLM と OAP の併用群の間は, 腫瘍抑制効果には大差なかったが, ここでも抑制効果は, 酸素投与量よりも BLM に平行するようであ

Table 1. Histopathological findings of the lungs of the mice treated with varied concentration of BLM and varied oxygen pressure

	Control	BLM 5 mg/kg	BLM 10 mg/kg	BLM 5 mg/kg OHP 2 ATA	BLM 5 mg/kg OHP 2.5 ATA	BLM 10 mg/kg OHP 2 ATA	BLM 10 mg/kg OHP 2.5 ATA
Pneumonitis	○○	○○○	○◎	○○	○○		○○
Broncho pneumonia	○○◎●	○○○○	○○◎	○○○	○○○	○○◎●	○○◎●
Atelectasis	○○○	○◎	◎●	○	○○	○◎	○○◎
Pulmonary edema	○○	○○○	○○	○○○	○○	○○◎●	○○◎
Emphysema	○	○	○◎	○	○◎●	○○	○○◎●
Pulmonary congestion	○○◎●	○○◎●	○○●●	○○◎●	○○○	○○◎◎●	○○○
Pulmonary hemorrhage	○○◎	○○◎	◎●	○○◎●	○○●	○○●●●	○○◎●
Metastasis of the tumor	large	○	○	○◎	○	○◎	○
	middle			○	◎◎	○	
	small	○	○○	○○	○	○○	○○

○ : lenient damage of the lung
 ◎ : moderate damage of the lung
 ● : severe damage of the lung
 One circle indicates one mouse

り、最も良い腫瘍抑制効果は BLM 10 mg/kg と OAP 20 L./min. の組み合わせであった (図5)。

考 察

抗腫瘍剤の発展はめざましいものがあるが、いま一步抗腫瘍効果をはっきりしないのが現状である。そのため抗腫瘍剤の効果をさらにあげるために投与経路、多剤併用、adjuvant therapy の併用、その他が検討されている。そのうち、OHP に関しては、1953年に Gray²⁾らが OHP と放射線療法を併用して実験的に有効であったと発表し、1966年には Churchill-Davidson³⁾が臨床的にも有効であったと証明している。そのため臨床的には、OHP は放射線療法とともに発展してきた。

他方抗腫瘍剤については、1950年 Butler⁸⁾がアルキル化剤とX線照射の細胞への障害作用における類似性を述べ、1961年には Krementz¹⁰⁾が、OHPとナイトロジェンマスタードを併用し、有効であったと発表している。

現在までにいくつか OHP と抗腫瘍剤との併用療法が試みられて有効あるいは無効の報告がある。しかしそのいずれもが実験癌についてであり、臨床的に OHP を利用した報告は少ない²²⁾

また BLM に関しては、OHP との併用による治療報告は少ない^{23,24)} しかし BLM の作用機序に関

して、DNA 切断作用が酸素や free-radical 産生系によって増強されることが報告されており、OHP 併用による効果増強が予想されたので、BLM と OHP による併用実験を今回おこなった。その結果、腫瘍面積増大の抑制効果がみられたので、BLM の効果を OHP が増強させていることが考えられた。平均生存日数、平均腫瘍面積については、OHP の作用によって圧が高いほど平均生存日数は長く、腫瘍増大抑制は大きかったが、これは組織酸素分圧が上がり、実験 (II) からわかるように BLM の作用が、酸素によって増強されたためと考えられよう。

また BLM 量がふえると、BLM による肺障害をおこしやすくなるが、^{25,26)} OHP が高いことも加わって、OHP による高濃度酸素のための肺障害も惹起されやすくなり、²⁷⁾ 肺に対しては、2重の負荷になるのではないかということも、肺の組織学的検索からうかがわれた。OHP そのものによる肺の変化は、動物が小さいほど、また幼若なほど強いとされているが、²⁴⁾ 今回の使用マウスは4週令と若く、これらの条件も肺の炎症性変化を強く発生させたものではないかと考えられた。しかし原²⁸⁾が述べているほど OHP 下での肺の変化は強くなかった。これはわれわれの実験が原のように純酸素加圧でなく、空気加圧純酸素吸入法であったためと考えられるが、仁瓶²⁹⁾によると Ledingham は、高压室内で間歇的に酸素マスクを使うことにより、十分に目的が達せら

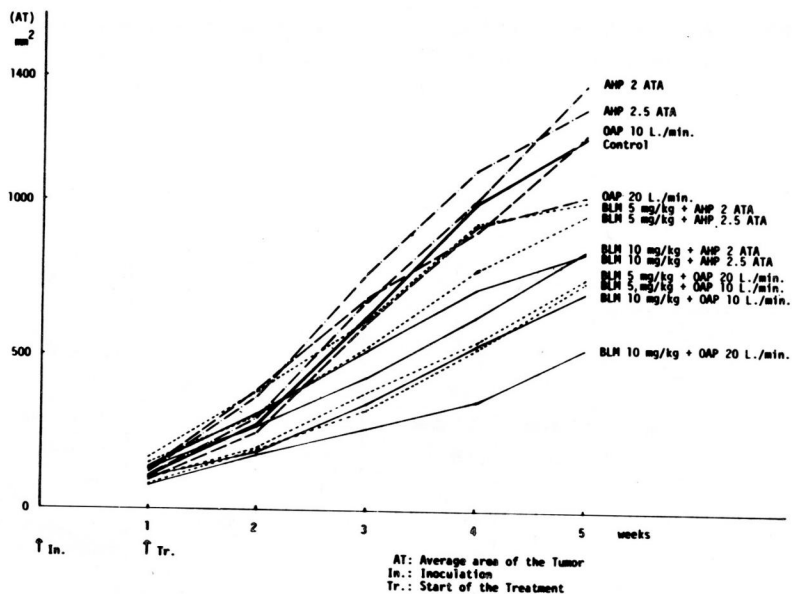


Fig. 5. Comparison of tumor sizes of the each group treating by A.H.P., O.A.P., BLM with O.A.P., and BLM with A.H.P..

れると同時に OHP による肺障害を避けることができると述べている。

また笹本³⁰⁾は 2 ATA 2 時間では、酸素中毒はおこらないと報告しているところから、われわれの方法でも十分に目的は達せられていると考えられる。

剖検時、腫瘍の肺転移が OHP 併用群に多いようにみうけられるが、これは OHP 併用によって延命効果がみられ、そのため肺転移も多く、大きくなったと考えられる。OHP 併用によって転移が多くなる報告と^{31,32)}、加圧されることによって腫瘍細胞が病巣から剝離しにくくなり、また心拍出量が減り血流量が減少するため、転移は少なくなるという報告^{33,34)}がみられるが、結論はまだ出ていない。

次に BLM の効果を増強させたものは、加圧、酸素のいずれであるかを調べた実験(II)では、BLM と OAP 併用群が、BLM と AHP 併用群よりも腫瘍面積の増大を抑制していた。このことは、酸素が BLM の効果を増強させていることを示していると考えられたが、しかし腫瘍面積の増大抑制は投与酸素量には、さほど平行しなかった。ヘモグロビンにおける酸素結合能は、投与酸素量を 10 L./min. から 20 L./min. にふやしても平圧下ではほぼ一定で増加しない。ヘモグロビンは、大気圧下での純酸素吸入時には、すでに酸素とはほぼ 100% 結合飽和しているため、これ以上の量の酸素は、ヘモグロビンを介する酸素輸送には関与しないことになる³⁵⁾。以

上より平圧下では、投与酸素量をふやしてもヘモグロビンによる組織酸素分圧は上がらず、BLM 量をふやしてもその効果には差がでなかったのであろう。

また、BLM と AHP 併用群の場合は空気中の酸素は約 21% であるが、加圧により組織の酸素分圧も上がることが考えられ、そのため BLM と AHP 併用群は、BLM 量と加圧に平行して腫瘍抑制効果がみられたものと思われた。つまり肺胞気的气体圧はその生体を囲む環境気圧と等しく、全肺胞内圧(PTO₂, 760 mmHg)は、酸素分圧(PAO₂)、炭酸ガス分圧(PACO₂)、不活性ガス分圧(PAN₂)、水蒸気分圧(PAH₂O)の総和であり、肺胞内酸素分圧は、

$$PAO_2 = PTO_2 - \frac{PACO_2}{R} + [PACO_2 \cdot F_1O_2 \cdot \frac{(1-R)}{R}]$$

で表わされる。³⁵⁾ R はガス交換率を示し、大気圧吸入時は 0.8、純酸素吸入時は 1 とされ、F₁O₂ は酸素のガス分画濃度である。これを今回の我々の実験の各条件にあてはめてみると、結果は表 2. のようになる。

37°C 1 気圧空気吸入時の肺胞内酸素分圧 PAO₂ は約 150 mmHg となり、その際の動脈血酸素分圧 PaO₂ は換気血流分布が均一であり、拡散障害がなければ近似的に 95-100 mmHg となる。この肺胞内酸素分圧と動脈血酸素分圧の較差によって、酸素は組織に運ばれるわけであるが、その運搬方法に二通りある。一つは、赤血球中のヘモグロビンと酸素分子と

Table 2. Ideal dissolved oxygen content

	PIO ₂ (mmHg)	PAO ₂ (mmHg)	O ₂ Content		
			Hb-O ₂ (vol %)	Dissolved-O ₂ (vol %)	Total (vol %)
1 ATA : air	159.6	102	19.5	0.32	19.8
2 ATA : air	319.2	262	20.1	0.81	20.9
2.5 ATA : air	399	341	20.1	1.06	21.0
1 ATA : O ₂ (10 L./min.) (20 L./min.)	760	673	20.1	2.09	22.2
2 ATA : O ₂	1520	1433	20.1	4.44	24.5
2.5 ATA : O ₂	1900	1813	20.1	5.62	25.7

の結合という形でおこなわれる。これは前述したヘモグロビンの酸素解離曲線で説明される。他の一つは、酸素が血漿内に物理的に溶解した形である。この量はヘンリーの法則により分圧に比例する。つまり、溶解酸素は溶解係数 q と酸素分圧 K の積で示され、37°Cの人間の場合 q は0.003である。各条件下の溶解酸素は表2.の如くとなり、AHPでは空気中の酸素は21%しかいないため加圧しても溶解酸素はさほど増加しないのに対し、OHPは溶解酸素量が非常にふえてくる³⁶⁾。2.5 ATA、純酸素吸入時は、1 ATA、空気吸入時より溶解酸素は17.5倍もふえている。この点にOHPとBLMとの併用の意義があるように思える。渡部³⁷⁾らが述べているように、抗腫瘍剤とOHPの併用療法をおこなう場合、その薬剤の抗腫瘍効果が酸素依存性であるかどうか、効果を左右する因子となる。

OHPとBLMの併用療法の場合は、副作用の注意さえおこなえば、目的にかなった治療法ではないかと思われる。

総括

抗腫瘍効果増強を目的として、高気圧酸素環境下でプレオマイシンを併用し、平均生存日数の延長、腫瘍面積増大の抑制が併用群にみられた。また、プレオマイシンの効果を増強させたのは、酸素であることもわかった。

高気圧酸素環境下でのプレオマイシンの使用は、副作用に注意して併用すれば有効であり、同時におこなった肺の組織学的検索でも、肺胞内出血、肺うっ血、細胞浸潤、線維素析出、肺水腫、無気肺及び癌転移などがみられたが、これらは、大部分腫瘍死にみられる非特異的な病変で、治療による影響とは特別に考えられず、治療群別による差もあまりなかった。

文献

- 1) Mottram, J. C.: A factor of importance on the radiosensitivity of tumours. *Brit. J. Radiol.* 9, 606-614, 1936.
- 2) Gray, L. H., Conger, A. D., Ebert, M., Hornsey, S. and Scott, O. C. A.: The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. *Brit. J. Radiol.* 26, 638-648, 1953.
- 3) Churchill-Davidson, I., Chir, B., Foster, C. A., Wiernik, G., Collins, C. D., Pizey, N. C. D., Skegg, D. B. L., and Purser, P. R.: The place of oxygen in radiotherapy. *Brit. J. Radiol.* 39, 321-331, 1966.
- 4) Clapp, P., Charyulu, K. K. N., Tayao, M, S., Tyree, E. B., Nickson, J. J., and Lawrence, W.; Regional oxygenation and therapeutic response to irradiation. *Cancer* 18, 927-936, 1965.
- 5) Emery, E. W., Lucas, B. G. B., and Williams, K. G.: Technique of irradiation of conscious patients under increased oxygen pressure. *Lancet* 1, 248-250, 1960.
- 6) Hollcroft, J. W., Lorenz, E., and Matthews, M.: Factors modifying the effect of X-irradiation on regression of a transplanted lymphosarcoma. *J. Nat. Cancer Inst.* 12, 751-763, 1952.
- 7) Flicher, G. H., Lindberg, R. D., Caderao, J. B., and Wharton, J. T.: Hyperbaric oxygen as a radiotherapeutic adjuvant in advanced cancer of the uterine cervix. *Cancer* 39, 617-623, 1977.
- 8) Butler, J. A. V., Gilbert, L. A., and Smith, K. A.: Radiomimetic action of sulphur and nitrogen mustard on deoxyribonucleic acid. *Nature* 165, 714-716, 1950.
- 9) Gerschman, R., Gilbert, D. L., Nye, S. W., Dwyer, P., and Fenn, W. O.: Oxygen poisoning and X-irradiation: A mechanism in common. *Science* 119, 623-627, 1954.
- 10) Krementz, E. T., Harlin, R. and Knudson, L.: The enhancement of chemotherapy by increased tissue oxygen tension. *Cancer Chemo. Rep.* 10, 125-130, 1960.
- 11) Kinsey, D. L.: Hyperbaric oxygen and 5-Fluorouracil in the treatment of experimental melanoma. *Surg. Forum.* 15, 205-206, 1964.
- 12) Ruckert, R. R. and Mueller, G. C.: Effect of oxygen tension on Hella cell growth. *Cancer Res.* 20, 944-949, 1960.
- 13) Krementz, E. T. and Knudson, L.: The effect of increased oxygen tension on the tumoricidal effect of nitrogen mustard. *Surg.* 50, 266-273, 1961.

- 14) Leather, R. P. and Eckert, C.: Hyperbaric oxygenation and mechlorethamine effectivenss. Arch. Surg. 87, 144-147, 1963.
- 15) Schötz F. and Stubbe, W.: Bedeutung der lokalen O₂-Spannung in Ehrlich-Ascites-Tumor für die Wirkung von 2, 5-Bis-n-propoxy-3-6-bisathylen-imnobenzoichinon(1,4). Naturwiss. 49, 211-212, 1962.
- 16) Nathanson, L., Brown, B., Maddock, C., and Hall, T. C.: Effects of antitumor agents and hyperbaric oxygen in normal and tumor bearing rodents. Cancer 19, 1019-1025, 1966.
- 17) Umezawa, H.: Bleomycin and other anti-tumor antibiotics of high molecular weight. Antimicrobial agents and Chemotherapy 5, 1079-1085, 1965.
- 18) Suzuki, H., Nagai, K., Yamaki, H., Tanaka, N. and Umezawa, H.: On the mechanism of action of bleomycin: Scission of DNA strands in vitro and in vivo. J. Antibiotics 22, 446-448, 1969.
- 19) Ishida, R. and Takahashi, T.: Increased DNA chain break age by combined action of bleomycin and superoxide radical. Biochem. Biophys. Res. Commun. 66, 1432-1438, 1975.
- 20) Onishi, T., Iwata, H., and Takagi, Y.: Effects of reducing and oxidizing agents on the action of bleomycin. J. Biochem. 77, 745-752, 1975.
- 21) Yamanaka, N., Kato, T., Nishida, K., and Ota, K.: Stimulation of NADPH-dependent lipid peroxidation of microsomes by bleomycin-Cu²⁺ and its inhibition by tinoridine. Personal Commun.
- 22) Kuyama, T.: Clinical experimences on cancer chemotherapy mytomycin-C at the hyperbaric theater. Proceedings of the fourth international congress on hyperbaric medicine 422-427, Igaku Shoin LTD. TOKYO, 1970.
- 23) 有村徹, 竹中静広, 伊藤悦男, 森一郎, 山田栄一郎: 高圧酸素環境下での子宮頸癌へのプレオマイシンの持続動注法について—とくに光顕的電顕的所見について—. 日産婦誌 28, 1025-1026, 1975.
- 24) 有村徹, 竹中静広, 東政弘, 永山孝, 伊藤悦男: 子宮頸癌に対する高圧酸素環境下の各種制癌剤併用療法の検討. 日産婦誌 30, 922-923, 1978.
- 25) Ishizuka, M., Takayama, H., Takeuchi, T. and Umezawa, H.: Activity and toxicity of bleomycin. J. Antibiot. 20, 15-24, 1967.
- 26) 森久博司: Bleomycin 治療14例検例にみられた肺線維症. 米子医誌 21, 125-143, 1970.
- 27) Fuson, R. L., Saltzman, H. A., Smith, W. W., Whalen, R. E., Osterhout, S., and Parker, R. T.: Clinical hyperbaric oxygenation with severe oxygen toxicity. New Eng. J. Med. 273, 415-419, 1965.
- 28) 原利章: 高気圧環境下における酸素中毒の基礎的研究—特に肺の変化について—. 慈恵医誌 87, 392-410, 1972.
- 29) 仁瓶正教: 実験的四肢動脈閉塞における出血部組織変化におよぼす高気圧酸素療法及び Cytochrome C 投与の影響. 日外会誌 69, 229-245, 1968.
- 30) 笹本浩, 中山英明, 太田保世: 高気圧酸素療法と酸素中毒. 日本医事新報 2211, 9-13, 1966.
- 31) McCredie, J. A., Inch, F. W. R., Kruuv, J., and Watson, T. A.: Effects of hyperbaric oxygen on growth and metastases of the C3HBA tumor in the mouse. Cancer 19, 1537-1542, 1966.
- 32) Wildermuth, O.: Hybaroxic radiotherapy: Some observations in the development of clinical application and technique. Am. J. Roentgen. 96, 171-176, 1966.
- 33) DeCosse, J. J. and Rogers, L. S.: Influence of highpressure oxygen and chemotherapy on the AMel 4 hamster melanoma. Cancer Res. 26, 287-292, 1966.
- 34) 武市瞭: 吉田肉腫の転移に関する実験的研究—とくに高気圧酸素環境 (OHP) の影響について—. 日外会誌 69, 213-288, 1968.
- 35) 高木健太郎, 岡本彰裕: 生理学大系 II, P389-1011, 医学書院, 東京, 1968.
- 36) 榊原欣作: 臨床生理 6, 419-427, 1976.
- 37) 渡部達夫, 影山浩, 高橋清, 高杉健太, 吉田清

：制癌剤と高圧酸素併用療法に関する実験的研究.
癌と化学療法 4, 157-161, 1977.

Experimental Study of Bleomycin Therapy in Combination with Hyperbaric Oxygenation

Touru ARIMURA^{*}, Shizuhiko TAKENAKA^{*}, Etsuo ITO^{**},
and Toshiko YUSA^{***}

Department of Obstetrics and Gynecology^{*},
Department of Pathology^{**},
Department of Anesthesiology^{***},
University of the Ryukyus, College of Health Sciences

Procedures: Ehrlich ascites carcinoma cells (5×10^6 cells) were transplanted subcutaneously under the right thigh skin of mice and the treatment (combination of oxygen at high pressures-hereafter OHP- and Bleomycin-hereafter BLM-) was started one week after inoculation. We observed the anti-tumor effects of the treatment by means of the mean survival time of the mice and the inhibition of tumor growth.

We set two transparent vinyl plastic bags in the pressure chamber which was maintained at 2 ATA pressure, and connected a rubber oxygen tube on one end of each plastic bag, then we allowed pure oxygen to flow into the bags. On the other end of each plastic bag, there was a 2 cm² approx hole through which the oxygen could escape. The mice were kept in plastic cages, 10 in each cage. The cages of mice then placed in the plastic bags, and the condition of the mice was observed through the pressure chamber window.

The experiments: The first experiment performed was on, 1) mice treated with BLM alone; and 2) mice treated with both BLM and OHP. We found that the antitumor effects were working better in the latter 2.

However, we couldn't tell which of the two factors, high pressure itself, or concentrated oxygen, has dominantly enhanced the antitumor effects of BLM. Therefore, we performed another experiment; 1) BLM with air at high pressure, and 2) BLM with oxygen at atmospheric pressure. In this experiment, we found that the latter experimental condition produced better effects. Therefore, the results show that oxygen enhanced the antitumor effects of BLM more than high pressure itself.

We observed the histological changes of the lungs in this experiment. Conspicuous changes in the lungs were metastatic carcinoma, atelectasis, hemorrhages and congestion. But there was no interstitial pneumonia or severe fibrosis in the lungs.