

口腔癌治療後の障害とその対策

I. 口腔癌治療過程における剝離細胞学的研究

島 田 桂 吉

I. 緒 言

近時、口腔癌の治療成績の向上は誠に目覚ましいものがある。従来から行なわれていた外科的手術療法、放射線療法の技術的進歩もさることながら、化学療法の導入とともに、新しい抗腫瘍剤、および放射線増感物質の開発が進み、これら3者を併用することにより今日、口腔癌の治療成績は著しく高まった。このように、過去死に直結した病気であつた癌の治療成績が向上し、多くの患者の社会復帰が期待出来る段階に至つたことは、医学の進歩発展の速さに目を瞠るばかりであるが、他方、急速な癌の治療成績の向上と並行して、顎口腔領域では、従来、治療上二義的な配慮でしかなかつた顔貌の変形、口腔機能障害などの諸事項が、治療後における患者の社会復帰に関連して、新たな問題点として浮かび上つてきた。

特に、顔面および口腔領域は、人間の社会生活上重要なポイントであり、治療にあつては、治るものならばなるべく治療による一次的、二次的な障害を最小限にとどめるような配慮が必要である。口腔癌は、ただ癌そのものを治せばよいという時代は去ろうとしているからである。

この観点に立つて、東京大学医学部附属病院口腔外科においては、口腔癌の治療に際して、放射線増感物質併用による放射線療法¹⁻³⁾、制癌剤の動脈内持続注入療法⁴⁾、および外科的手術療法の3者を、症例に応じて、適宜併用している。しかし一方、最近のように、新しい薬剤の改良開発のめざましいときには、新薬の使用にあつては、薬剤が制癌作用を有する反面、それに伴う新たな副作用についての十分な基礎的、臨床的検討が不可欠である。

以上の諸点にもとづく検討の一環として、著者は、細胞診断学的見地から、患者にほとんど苦痛を与えることなく頻回の検査が出来、検査操作も簡便で容易な細胞診を用いて、確実に被検材料が採取出来る扁平上皮癌を対象に選び、制癌化学療法剤5-Fluorouracil(以下5-Fu)、7員環化合物で放射線増感効果の確認されている放射線増感物質 Ametohepazon¹⁻³⁾(以下 AMH)併用による放射線治療に際し、使用薬剤量および照射線量の各段階において、癌細胞がどのような形態学的変化を示すかを観察した。その変化の程度から感受性を推定して、抗癌剤および放射線増感剤の投与量、照射線量などによる、治療効果の判定基準を確立し、それをもつて治療指針とする目的で、本研究を行なつた。

II. 研究方法

昭和42年3月より昭和43年9月迄の1年6カ月の間に、東大医学部附属病院口腔外科において、根治の目的で、舌動脈または浅側頭動脈に、血流の方向に対して順行性または逆行性に挿入留置した Polyethylene 管を介して、制癌剤5-Fuを持続注入し、さらに放射線増感剤 AMHを併用して、

Keikichi Shimada

東京大学医学部口腔外科学教室 (主任: 林一教授)

放射線照射を行ない、主として、2者併用療法をうけた扁平上皮癌患者より、細胞診を施行して、照射前、照射途上および照射後にわたって、経時的ならびに照射線量別に細胞診で追跡調査し得た5症例を選び、検索症例とした。

他方、国立ガンセンター病院頭頸部において、昭和42年9月より昭和43年12月までの1年3カ月にわたり、当初より、放射線治療のみに終止した口腔扁平上皮癌患者40余例のうちから、細胞診による追跡調査が、照射前より照射後に至る照射の各時点において、十分に行なわれた10症例を選出した。これらの症例より得られた資料を、前記5症例について、治療の進行に随伴して生ずる癌細胞の形態学的変化を検索する上での対象とした。

表Iは、被検扁平上皮癌の部位別症例数を示したものである。全症例に舌癌、頬部癌を選択した理由は、多少環境に相違のみられる二箇所病院での検体採取にあたって、これらの癌腫が、部位的に、ほぼ同一条件下で、確実に検体を得ることが出来たためである。

表I 扁平上皮癌の部位別症例数

	舌	頬粘膜・歯肉	計
東大附属病院 口腔外科	3	2	5
国立ガンセンター病院 頭頸部	6	4	10

材料の採取は原則的に、鋭匙を用いて病巣の表面を軽く擦過し、検体をすくい上げる擦過法⁵⁾に従ったが、一部に舌ブラシによるブラッシング法⁶⁾も用いた。

検索材料は、採取後、直ちに清拭せるスライドガラス上なるべく均等に塗抹し、エーテル・アルコール等量混合液にて湿固定(30分以上)後、HarrisのHematoxylin, OG-6およびEA-50(すべてOrtho社製)の3種の色素液を用い、Papanicolaou変法(Walter-Reed Army Hospital変法)によつて、Papanicolaou染色を施こした。

2者併用療法の場合、5-Fuは250mg~500mg/dayで、動脈内持続注入法により投与し、総量は、患者の病態、全身状態などによつて異なつたが、略々2000mg~6000mgであつた。

放射線は週4~5日間にわたつて、病巣線量で180~210R/dayの分割照射が行なわれた。1週間の放射線量は約720~1000Rで、総線量は、2者併用療法で約4000~6000R、根治の目的で、当初より放射線照射のみ行なつた場合は、約7000~12,000Rであつた。

これらの標本を用いて、各症例につき、経時的線量別に癌細胞の形態変化を観察した。

また、照射各時点で、細胞の形、大きさ、染色性、細胞質の構造、核質の構造などの変化所見を中心に細胞変性に関するCytogram⁷⁾を作製して、比較検討を容易にした。

表II 扁平上皮癌細胞の判定基準(国立ガンセンター細胞診検査室)

細胞群	散在性
細胞形	種々(円~楕円~多辺)
奇妙な形	多数(卅)
細胞質	青緑・黄褐—重厚感
核	不整~楕円, 種々
核膜	ゴツゴツ不整~不明
染色質	細~粗~濃
核小体	不整~不明 2~6

細胞像に対する組織学的裏付けとして、なるべく細胞採取時に一致した時点の Hematoxylin-Eosin 染色標本を選び、検討の参考に供した。

表Ⅱは、細胞診によつて、細胞診断を行なう際に用いられる、扁平上皮癌細胞に関する判定基準である。このような組織型判定基準は、人によつて多少の差異があるが、著者は、国立ガンセンタ一細胞診検査室の判定基準(すなわち表Ⅱ)に従つて、判定を行なつた。

III. 研究成績

1) 放射線療法例における癌細胞の線量別形態変化

放射線照射経過に従い、線量別に観察した扁平上皮癌細胞の形態的变化を中心に記載する。

a) 500~1500R: 癌細胞として確認したどの細胞にも、100%細胞腫大が認められた。この所見は、細胞質のみならず、照射前の癌細胞に比して、核質の腫大、膨化が著明であつた。染色性(細胞質における)の変化はほとんど認められず、角化型の細胞では、細胞質が、赤黄色に明るく輝いて見えた。非角化型の細胞では、多くのものに、細胞質内に小泡状の空胞形成が生じているのが目立つ所見であつた。

b) 1500~2500R: 細胞質内空胞形成が顕著で、a) に比して、約30%に大型の空胞形成を有する細胞の混在がみられた。このような細胞では、細胞質はほとんど細胞辺縁部に圧縮された様相を呈しており、染色性の低下(淡染)が認められた。また、細胞質の均質化、細胞境界不鮮明、細胞質消失(裸核)などの細胞質構造の変化が現われ、それと並行して、核形の不整像および核縁の肥厚、濃染化が目立つ細胞も認められた。変性著明な核の一部に、部分的色質融解などがみられる2~3の角化型の細胞に、細胞内封入物(異物)が認められ、腫瘍細胞相互の大小不同性がますます高度になつた。(図1)

c) 2500~3500R: 角化型、非角化型を問わず、癌細胞群に、細胞質均質化、細胞境界不明瞭化、細胞内封入物、細胞質消失、核形不整、核縁肥厚・濃染、核染色質粗大化、核内空胞、核濃縮、核破碎、核融解などの種々な形態変化が現出していたが、一方において、異型(いわゆる奇妙な形態)細胞の出現が散見された。(図2, 図3)

d) 3500~4500R: c) の細胞群と内容的に細胞の形態的变化は類似していた。

全体として、核質構造の変化、すなわち、核内空胞、著しい核染色質融解、核濃縮、核破碎、核融解などの目立つ細胞の増加が認められた。また、巨核巨細胞(反応性巨細胞)の出現も認めた。

e) 4500~6000R: 組織の壊死による無構造物の急激な増加に伴なつて、細胞成分の減少著明、散見する癌細胞は、細胞核に高度の変性所見(核内空胞、核濃縮、核破碎、核融解など)が認められた。

f) 6000R 以上: 細胞診上、資料に癌細胞は認められず、完全に陰性所見を呈した。

2) 2者(放射線および化学療法)併用療法例における癌細胞の線量別形態変化

a) 500~1500R: 1) の a) における所見に加えて、細胞質に、細胞質境界不鮮明、細胞質均質化、細胞内異物封入、細胞質消失(裸核)などの形態変化を有する癌細胞が混在し、一部に、核形不整などの核質構造に形態変化が認められる細胞も出現していた。(図4)

b) 1500~2500R: 核内空胞、核染色質の高度の融解、核濃縮、核破碎、核融解消失などの細胞像が変性所見の主体をなしていた。(図5~8)

c) 2500~3500R: 出現する癌細胞数が激減し、残存細胞のほとんどが、核破碎、核融解などの細胞死に至る最終段階像であつた。

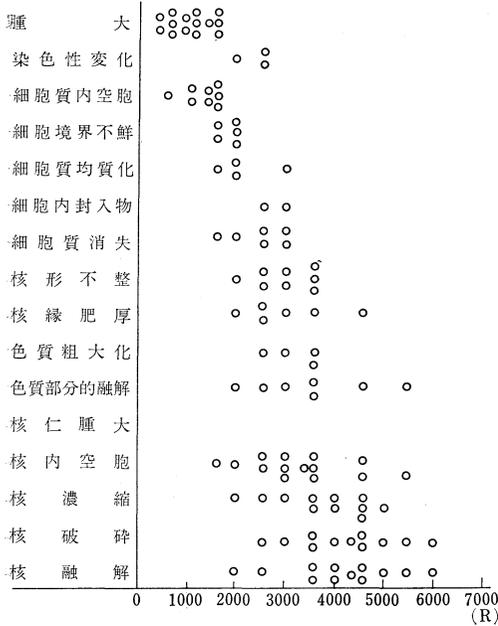


図 9 放射線療法における線量別細胞形態変化

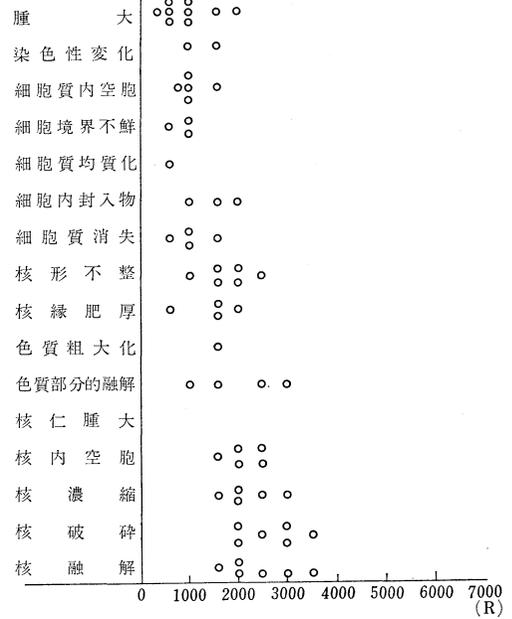


図 10 2者併用療法における線量別細胞形態変化

d) 3500R 以上 : 1) の f) と同所見。

3) Cytogram による所見

以上の 1), 2) における癌細胞の線量別形態変化をまとめて, Cytogram (図 9, 図 10) を作製した。これらの Cytogram を比較検討して, 次の結果を得た。

a) 口腔扁平上皮癌における細胞形態変化は, 照射線量との間に, 一定の相関関係があり, 一定の線量区分間では, 細胞群はほぼ同一の形態的变化を示していることがわかった。

b) 2者併用療法で治療を行なった症例は, 放射線単独照射した場合に比較して, その癌細胞が, 同一の細胞形態変化(細胞損傷)をうけるのに, 放射線の必要線量は, 放射線単独照射の $\frac{1}{2} \sim \frac{2}{3}$ であることが認められた。

IV. 総括ならびに考案

1) 染色法の選択について

剝離細胞を検査対象として, Papanicolaou⁹⁾ によつて創始された細胞診は, その後, 臨床の各分野で広く応用され, ますます普及化して, 今や悪性腫瘍の臨床に必要, 欠くべからざる有力な診断法の一つになっている。細胞診の信頼度を高める最大の要因は, 染色法および染色技術であるが, なかんづく, 染色法の選択は重要である。

問題の細胞の特徴を把握するために, その構成要素ならびに化学成分をそれぞれ鮮明に染め出し, その成分の質や量が, 正しく反映されるような染色法が望まれる。細胞の化学的成分が, 細胞機能の状態により, 甚しく変動することは, よく知られるところであるが, この化学成分が染色性物質(細胞の)と密接な関連があり⁹⁾, 細胞内の化学的動態が, それぞれの時点で特異的に染別され得るならば, 従来, 形態学的変化のみを中心に資料の集積がなされてきた細胞診の分野に細胞化学的な

側面が附加されて、一層、診断技術の向上に役立つものと思われる。田嶋ら¹⁰⁾は検体別染色法を述べて、扁平上皮癌に対する染色法の第一は、Papanicolaou 染色(以下 Pap 染色)であると指摘した。また、口腔のように唾液が混入するような検体中より、腫瘍細胞を発見し、常に鑑別上、困難さに悩まされる異型増生上皮細胞との鑑別にも Pap 染色は最良である。染色技術も平易で、特殊な経験、テクニックを必要としないなど、数々の利点にもとづいて、著者らは改良 Pap 法である Walter-Reed Army Hospital 変法を採用した。

2) 放射線による線量別細胞形態変化について

従来、放射線照射の細胞に及ぼす障害^{7,11)}として、

- a) 細胞分裂の遅延
- b) 細胞分裂の完全抑制
- c) 細胞分裂期における傷害(主に染色体)
- d) 多核細胞、巨核細胞の出現
- e) 分裂静止期の状態においての変性崩壊消失

など放射線による細胞傷害は、細胞分裂期に著しい。それ故に癌の治療原理は腫瘍細胞集団の増殖能を指標¹²⁾にして、もつぱら研究が集積され、中心的検討がなされてきた感が強い。

擦過塗抹標本においてみる限り、核分裂像に遭遇することはほとんどまれである。大部分は、細胞分裂静止期における細胞質の形態変化、および核質の変性像を観察しているわけで、今のところ、放射線に特有の細胞形態変化は確認されていない。

Cytogram (図9) 上に、細胞集団として把握された細胞群の形態変化を、500~1500R, 1500~3500R, 3500~6000R の3群の線量区分間に分けると、各グループに含まれる細胞群の形態変化は同一グループ内ではほぼ同一の傾向を示している。

最初のグループ、すなわち500~1500R の線量区分間にある群をA群、以下順次B群、C群とし、各群の細胞形態変化を内容的に分類すると次の如くであった。

A群：細胞腫大、細胞質内空胞形成

B群：細胞境界不鮮明化、細胞質均質化、細胞内封入物、細胞質消失、核形不整、核縁肥厚・濃染、核染色質粗大化、部分的色質融解

C群：核内空胞形成、核染色質融解、核濃縮、核破碎、核融解

3) 2者併用療法における線量別細胞形態変化について

2者同時併用療法の Cytogram (図10) に示された結果について、検討を加えた。細胞形態変化像を中心に、線量との関係を調べると、500~1000R, 1000~2500R, 2500~3500R の3群の線量区分間における細胞形態変化は、各グループ内ではほぼ同一の変化傾向を示しており、それぞれの区分間では、それぞれ細胞の変性内容が、放射線単独照射の場合のA群、B群、C群の細胞変性とよく対応していることがわかった。従つて、対応する細胞群をそれぞれA'群、B'群、C'群として、放射線量との関係を要約すると、

A'群：500~1000R

B'群：1000~2500R

C'群：2500~3500R

であった。3500Rads を越えると癌細胞は消失し、Cytogram 上では陰性所見として示された。

4) 放射線療法と2者併用療法における線量別細胞形態変化の比較、検討

結論的にいつて、放射線単独照射と2者同時併用療法とにおける細胞形態学的変化は、ほとんど

質的に、類似所見を示していた。その内容は、細胞腫大、細胞質内空胞形成、細胞境界不明瞭化、細胞質均質化、細胞内封入物、細胞質消失などの細胞質に関する所見と、核形不整、核縁肥厚・濃染、核染色質粗大化、核内空胞形成、核染色質融解、核濃縮、核破碎、核融解などの核質構造の変化に関する所見とであった。この結果から、放射線単独照射および2者併用療法を行なった扁平上皮癌細胞のどちらに、放射線による細胞障害がより高度に認められたかについて、Cytogramを参照して、比較、検討を行なった。

細胞形態学的にみて、細胞死を運命づける細胞所見^{9,13,14)}については、いまだ不明な点が多いとされているが、図9、図10にみられる如く、A群(またはA'群)、B群(またはB'群)を経て、C群(またはC'群)の変化が認められた細胞は、放射線の影響を強く受けたわけで、放射線に対する感受性が高いと考えられる。

生体が受ける放射線照射量には限度があり、無制限に放射線療法を続けるわけにはいかないから、放射線を用いて、治療効果を大ならしめるためには、A群(またはA'群)、B群(またはB'群)を経て、C群(またはC'群)の細胞変化を生起させるのに必要な放射線量をなるべく最小限にして、実質の有効線量の増加を計るように考慮することが望ましい。

本研究における5-FU動注併用療法は、C群(またはC'群)の細胞変性を生起させるのに必要な放射線量において、放射線単独照射の場合の $\frac{1}{2}\sim\frac{2}{3}$ であることがわかり、治療効果の点で、優れていることが認められた。Friedmanら¹⁶⁾も口腔領域の扁平上皮癌に、放射線および制癌剤の2者同時併用療法を行ない、著効を認めている。

一方、5-FUには制癌作用の他に、放射線増感作用のあること^{15,17,18)}が知られている。今回認められた2者併用療法のすぐれた治療効果からも、5-FUには放射線増感効果が期待出来るように思われた。

また5-FU併用例において、口腔扁平上皮癌に対し、細胞形態学的見地よりみて、放射線による細胞障害形態と質的な相違を思わせる変化像は、認められなかつた。

V. 結 論

本研究は、口腔癌の治療後における障害を最小限にとどめる目的で、治療効果の判定に剝離細胞診を応用し、主として、癌細胞の形態的变化を中心に検索を行なった。

1) 擦過法によつて採取した口腔扁平上皮癌細胞を検索材料にして、Papanicolaou染色を施し、検鏡した結果、放射線照射によつて生起する細胞変性を分類すると、3グループに大別された。

2) 放射線単独照射および放射線と5-FU動注による2者併用療法の治療効果について、細胞形態学的変化所見を中心にして判定基準をもうけ、両治療法を比較検討して、細胞診断学的に、2者併用療法の優れていることが認められた。

3) 制癌剤5-FUには、細胞形態学的に特異な作用はみあたらず、放射線照射の結果として生ずる細胞変性像との間に、質的差異は認められなかつた。

稿を終るに臨んで、終始、御懇篤な御指導と御鞭撻を賜りました恩師林一教授に深甚なる感謝の意を捧げますと共に、本研究に関して、日頃より御鞭撻と御助力を頂いております東京大学医学部口腔外科学教室山下一郎講師に対し、慎しんで感謝の意を表します。また、御教示を賜り、常に便宜をお与え下さつた国立ガンセンター細胞診検査室田嶋基男博士、ならびに室員各位、国立ガンセンター病院口腔科鷺津邦雄博士に深謝致します。共同研究者、宮原考子、高田勲、須賀雅博の教室員各位に、御協力を厚く御礼申し上げます。

本論文の一部は、第12回日本口腔外科学会総会(昭和42年8月:札幌)において発表した。なお、本研究の一

部は、厚生省がん研究助成金によるものであることを付記して感謝の意を表する。

文 献

- 1) 林一, 他: 1-(2-dimethylaminoethyl) chcloheptimidazol-2(1H)-one の癌治療効果に関する研究 (第1報) 使用効果のあることを知る端緒となつた2症例について, 口科誌, **16**: 303, 1967.
- 2) 林一, 浅野泰彦: 1-(2dimethylaminoethyl) chcloheptimidazol-2 (1H)-one の癌治療効果に関する研究 (第2報) 放射線照射による家兎耳の脱毛に及ぼす RCH-317の影響について, 口科誌, **16**: 475, 1967.
- 3) 浅野泰彦: 1-(2-dimethylaminoethyl) chcloheptimidazol-2 (1H)-one の癌治療効果に関する研究 (第3報) RCH-317の投与時期ならびに放射線照射併用による担癌動物の生存日数に及ぼす本剤の影響について, 口科誌, **17**: 110, 1968.
- 4) 今井利広: 制癌剤の動脈内持続注入療法に関する研究, 口科誌, **17**: 55, 1968.
- 5) 渡辺義男: 口腔・鼻腔の細胞診, 日本臨床, **24**: 36, 1966.
- 6) 宮西: 細胞診被検材料の処理について, 日臨細胞診, **4**: 39, 1965.
- 7) 柴田偉雄, 他: 経時的細胞診による肺癌の放射線療法および化学療法の効果判定について, 癌の臨床, **14**: 310, 1968.
- 8) Papanicolaou: The sexual cycle in the human female as revealed by vaginal smears, Am. J. Anat. **52**: 519, 1933.
- 9) 大星章一, 他: 癌放射線療法の病理, [I] 癌組織の治癒過程の組織学的追跡(その1), 医学のあゆみ, **61**: 618, 1967.
- 10) 田嶋基男, 他: 検体処理と染色技術, 日本臨床, **24**: 19, 1966.
- 11) 牟田信義: 吉田肉腫に対する放射線の作用, I. 日本医放線会誌, **10**: 30, 1950. II. 同誌, **11**: 35, 1951.
- 12) 松沢大樹: 癌細胞の放射線感受性, とくに細胞集団内の感受性の偏移について, 癌の臨床, **13**: 575, 1967.
- 13) Gray, L. H: Cellular Radiobiology, Radiation Res., Suppl., **1**: 73, 1959.
- 14) Koss, L.: Diagnostic Cytology and its histopathologic Basis, Lippincott, 1960.
- 15) 柄川順: 放射線増感剤としての5-Fluorouracil. 癌の臨床, **13**: 9, 1967.
- 16) Friedman, M., et al: Combined irradiation and chemotherapy in the treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck, Tra. Amer. Acad. Ophthal. Otolaryng, **68**: 625, 1964.
- 17) 黒田康正, 他: 5-Fu の放射線増感作用, 第26回日本医放線学会, 1967.
- 18) Lawton R. L., et al: Simultaneous high-energy irradiation and chemotherapy, Arch. Surg., **91**: 155, 1965.

(昭和44年6月30日受付)

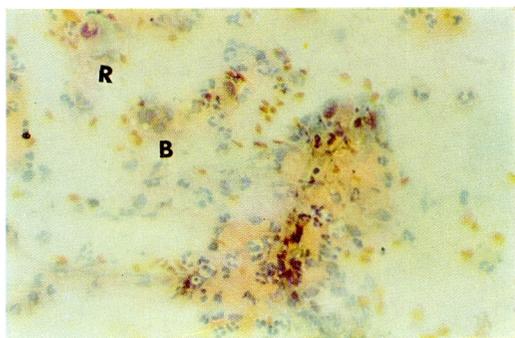


图 1

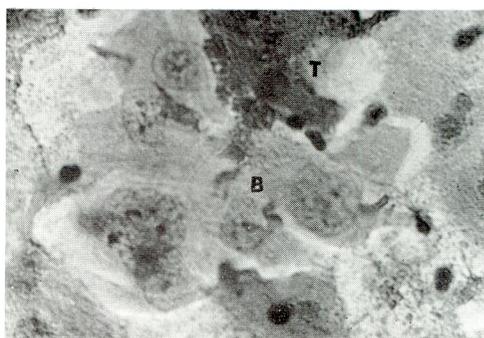


图 2

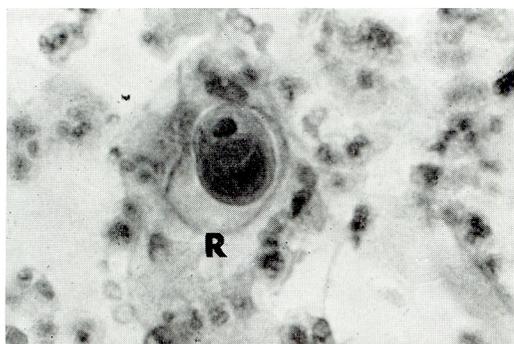


图 3

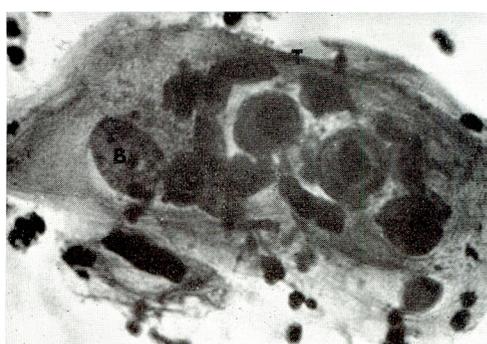


图 4



图 5

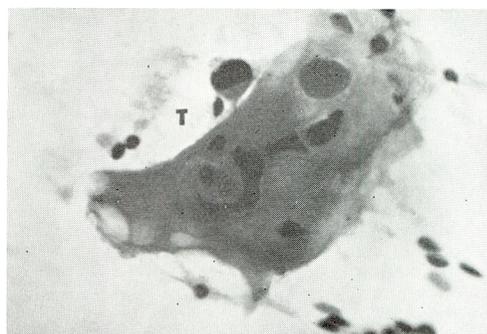


图 6



图 7

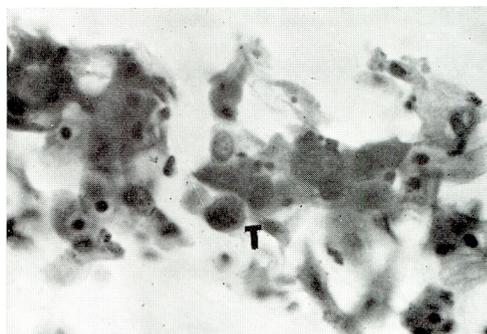


图 8

- 図 1 細胞質内空胞形成，細胞境界不鮮明，核質膨化，核形不整などの所見が目立つ。(R. B: 腫瘍細胞，⁶⁰Co: 1570R)，×100
- 図 2 核の腫大，細胞境界不明瞭，細胞質消失などが認められる。角化型のものでは核の濃染が著明。(T. B: 腫瘍細胞，⁶⁰Co: 3250R) ×1000
- 図 3 巨核異型細胞，細胞内封入物が認められる。(60Co: 3050R)，×600
- 図 4 細胞質内空胞形成，細胞質消失，核質濃染，核形不整などの所見が認められる。(60Co: 1230R, 5-FU: 1500mg)，×1000
- 図 5 核融解，核破碎，核染色質の消失などの核質構造の形態変化が高度である。(60Co: 2260R, 5-FU: 2750mg)，×600
- 図 6 角化扁平上皮癌細胞，細胞質の境界不鮮明，核構造不明，異物封入などの所見が認められる。×1000
- 図 7 非角化型扁平上皮癌細胞，核腫大，および膨化が著明である。×1000
- 図 8 異型増生上皮細胞，癌細胞に比して，形態小，細胞質／核質比小である。×400