

Title	Ehrlich腹水腫瘍細胞の放射線感受性に及ぼす Misonidazole併用効果について
Author(s)	竹内, 博
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1986, 46(10), p. 1230- 1239
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/15033
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

Ehrlich 腹水腫瘍細胞の放射線感受性におよぼす Misonidazole 併用効果について

京都府立医科大学放射線医学教室

竹 内 博

(昭和60年11月20日受付)

(昭和61年5月26日最終原稿受付)

Effect of Misonidazole on Radiosensitivity of Ehrlich Ascites Tumor Cells

Hiroshi Takeuchi

Department of Radiology, Kyoko Prefectural University of Medicine

Research Code No. : 407.1

Key Words : Misonidazole, Ehrlich ascites tumors cells, Growth
phases, Enhancement Ratio (E.R.)

The effect of Misonidazole on radiosensitivity of Ehrlich ascites tumor cells was studied *in vivo*.

Ehrlich ascites tumor cells growing intraperitoneally (ICR/SIC mice) for either 1, 4, 6 or 10 days were irradiated *in vivo* (whole body irradiation) with or without Misonidazole.

Immediately after irradiation tumor cells were transplanted intraperitoneally into new animals. Four days later, the propagated surviving cells were removed and counted for analyses.

Enhancement ratio of Misonidazole at the surviving fraction of 0.1 were 1.0 (for 1-day-old), 1.3 (for 4-day-old), 1.9 (for 6-day-old), 1.9 (for 10-day-old) and 2.8 (for anoxic cells) respectively. The gradual increase of the enhancement ratio of the ascites tumor cells during intraperitoneal growth from 1 through 10 days might be attributed to an increase of hypoxic tumor cells.

Cytotoxicity was not observed at 0.1 mg per gram body weight of Misonidazole but was at 1 mg per gram body weight of Misonidazole in 6-day-old and 10-day-old Ehrlich ascites tumor cells which were supposed to contain hypoxic cells.

These results suggest that Misonidazole may prove an effective radiosensitizer for hypoxic tumor cells.

はじめに

Nitroimidazole 系の放射線増感効果が注目され、その中で、5-nitroimidazole 系の Metronidazole (商品名 Fragyl) 及び 2-nitroimidazole 系の Misonidazole が研究されている。これらの薬剤は特に低酸素圧細胞に対して放射線の効果を増強することが示され、その放射線増感効果比は Metronidazole よりも Misonidazole の方が幾分か大きいことが報告されている^{1)~4)}。

一方、腫瘍内に存在する低酸素圧細胞は常酸素圧細胞に比較して、放射線抵抗性であり、この hypoxic cell の放射線感受性の比は aerobic cell に比べ $1/2 \sim 1/3$ と低い。これら放射線抵抗性細胞の存在が腫瘍の根治を防げる 1 つの原因と考えられている。

Ehrlich 腹水腫瘍細胞はしばしば、固型腫瘍のモデルとして実験に用いられているが、その理由は腹腔内にて増殖している腫瘍細胞は固型腫瘍と

同様な動態を示すからである。一般に、腹水系腫瘍細胞をマウス腹腔内に移植すると、腫瘍細胞は通常下記の4つの増殖相に分けることができる。すなわち (1) initial lag phase, (2) exponential growth phase, (3) transitional phase と (4) stationary phase である。これら各増殖相にある腫瘍細胞の放射線感受性は異なることが報告されている⁵⁾⁶⁾。これら各時期の腫瘍細胞の放射線感受性については stationary phase を除き、酸素効果で説明されている⁵⁾⁶⁾。

本実験では、Ehrlich 腹水腫瘍細胞の in vivo マウス腹腔内で増殖した各増殖相の腫瘍細胞に対する Misonidazole による放射線感受性の修飾効果について検討した。

実験材料及び方法

実験動物—腫瘍系 実験に用いた動物は全て ICR/SIC 系の 8 週齢雌マウスである。これら動物は静岡実験動物研究所より 7 週齢で購入し、1 週間われわれの空調化された動物飼育室 (23℃ ± 2℃) で飼育後、実験に用いた。用いた腫瘍細胞は Ehrlich 腹水腫瘍細胞である。この腫瘍細胞は ICR 系マウスの生後 24 時間以内の仔マウス腹腔内に 1 細胞を移植し、増殖して株化した細胞である。これら細胞を同系マウスにて継代移植しているものでこれを実験に供した。実験には継代移植の腫瘍細胞を採集し 0.05% の trypan blue 液で染色して生細胞を計数しその生細胞の一定数をマウス腹腔内に移植した。尚、これら細胞の計数は hemocytometer で行なった。移植後 4 日目の対数増殖期にある腫瘍細胞を全ての実験に用いた (Fig. 3 参照)。

放射線照射 この実験の放射線照射は全て ⁶⁰Co-γ 線を用いた。⁶⁰Co-γ 線照射は島津製回転形アイソトープ治療装置 RTGS-2D 型である。照射野は 30×30cm の最大開放とし、線源から動物体中心までの距離 60cm で照射した。線量率は 55 rad/min. であった。線量測定には Victoreen Condenser R-meter, Probe No. 621 を用いた。被照射マウスの中心点に相当する場所に probe を設置して測定し、照射野内の 2 点を各数回測定し、その測定値の平均の R 値を求め、これに気温、気圧

の補正を行ない、更に吸収線量補正值 0.96 を乗じて rad 値とした。放射線照射はマウスが一匹ずつ入る個室が 12 個放射状に並んだプラスチック製のケース (Fig. 1) を用い、これにマウスを麻酔せずに入れ、このケースを照射中毎分 15~20 回転させながら全身照射を行なった。照射は室温でおこなった。このケースの線源側のプラスチックの厚さは 3mm である。

薬剤 (Misonidazole) Misonidazole の構造式を Fig. 2 に示した。薬剤は日本ロッシュ社より提供された。この実験に用いた投与薬量は全て 1mg/gram body weight である。Misonidazole を生食

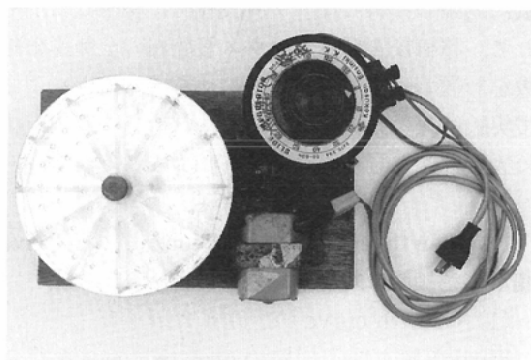


Fig. 1 Apparatus.

Misonidazole

Ro-07-0582

C₇H₁₁N₃O₄

M. W. 201.18

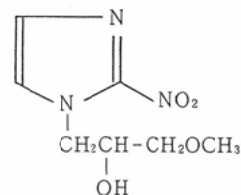


Fig. 2 Structure of Misonidazole.

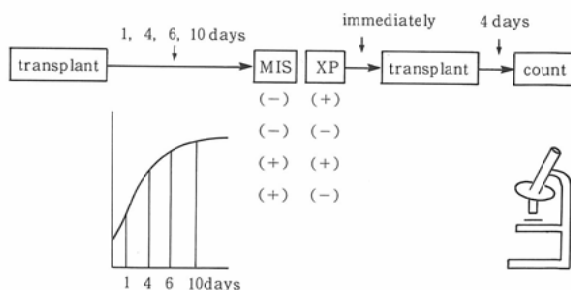


Fig. 3 Experimental Method.

で上記投与量になるように溶解し、放射線照射30分前に実験マウス腹腔内に注射した。Misonidazoleの単独投与による死亡個体は無かった。

実験方法 実験方法の概要を Fig. 3に示した。すなわちあらかじめ Ehrlich 腹水腫瘍細胞の一定数を移植された動物の4日目の腫瘍細胞を採集し、生細胞を計数した。この細胞の 1×10^6 をマウス腹腔内に移植し、Control群、放射線照射単独群、薬剤処理+放射線照射群を設けた。移植後1, 4, 6及び10日目にそれぞれ実験に供した。これらの処理直後に、マウス腹腔内より腫瘍細胞を採集し、生細胞を計数し、実験処理に応じて(例えば放射線照射線量の大小、薬剤併用等)適当な細胞数に調整して新たなマウス腹腔内に移植した。そして、移植後4日目のマウス腹腔内の全腫瘍細胞数を計数し、移植細胞数との比をとることによって実験結果の分析を行なった。これらの実験方法の概要は、栗冠ら¹¹⁾、長谷川に示されている¹²⁾。

実験結果

1) Growth curve と Misonidazole の in vivo 腹水腫瘍細胞に対する毒性

(1) Growth curve

Ehrlich 腹水腫瘍細胞の growth curve を得るために 6.7×10^5 の生細胞を27匹の ICR/SIC 雌マウス腹腔内に移植した。移植後、2, 3, 5, 7そして10日目にそれぞれ5~7匹を屠殺し、腹腔内より腫瘍細胞を採集した。採集には5% calf serum を含む Hanks 液にて、少なくとも5回は腹腔内を洗浄して採集した。生細胞を計数し、得られた全生細胞数を移植後の日数に対してプロットし、growth curve として示した (Fig. 4)。

(2) Misonidazole の細胞毒性の検討

移植後4日目の腫瘍細胞の 2.1×10^6 をマウス腹腔内に移植し、1, 6そして10日目の時点で、それぞれのマウスに Misonidazole 0.1mg 及び1mg/gram body weight を腹腔内に注射して30~40分間、薬剤に接触させた後、屠殺した。この際、薬剤注射後2~3分、腹部をもむ事によって薬剤の腫瘍細胞に対する接触を試みた。尚、10日目のマウスに対しては腫瘍細胞の漏出をさけるため背部より薬剤を注射した。屠殺したマウスよ

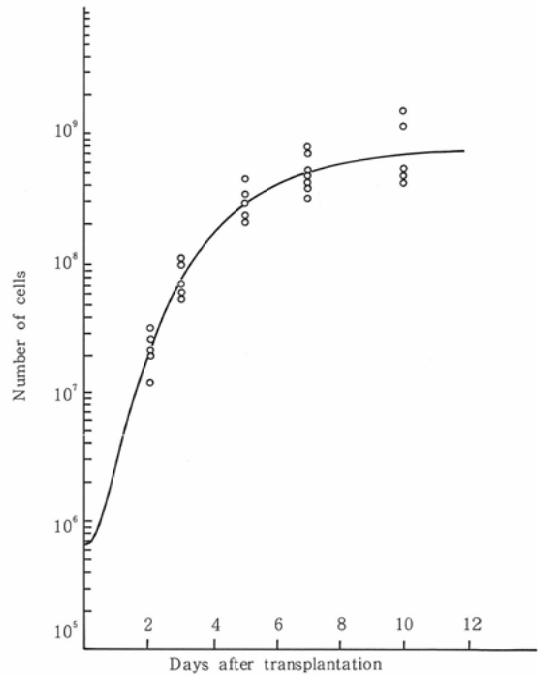


Fig. 4 Growth curve of Ehrlich ascites tumor cells in peritoneal cavity of mouse after transplantation with 6.7×10^5 viable tumor cells.

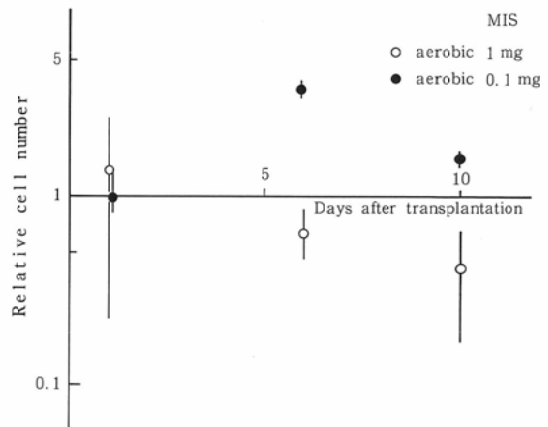


Fig. 5 The cytotoxicity of misonidazole following mouse intraperitoneal transplantation of Ehrlich ascites tumor cells.

り腹水腫瘍細胞を採集し、生細胞のみを新しいマウス腹腔内に移植した。これら細胞を移植後、4日目に採集し、全腫瘍細胞数を計数した。Fig. 5に各時期に得られた control 値を1とした時の相対値を示した。尚、control は薬剤非処理群である。

図に示されているように、0.1mg/gram body weight の投与量に対しては、1日目を除き、6日目10日目共に control 値より増加している傾向がみられる。すなわち薬剤の細胞毒性がないのに対して1mg/gram body weight 処理群では、1日目を除き6日目、10日目共に control 値よりやや減少の傾向が認められる。投与薬量の増加及び移植後日数の増加と共に、Misonidazole 単独処理による効果、すなわち細胞毒性があるものと思われる。同様な結果は *in vitro* 培養細胞でも示されている^{13)~15)}。

2) Ehrlich 腹水腫瘍細胞に対する Misonidazole による放射線増感効果

Ehrlich 腹水腫瘍細胞をマウス腹腔内に移植後の各日数に対する実験は各々2~3回繰返し行ない纏めて平均値を算出し、線量-細胞生存率曲線を描出した。薬剤との併用群では、薬剤投与は放射線照射30分前にマウス腹腔内に注射し、麻酔を行わないで全身照射を行なった。

(1) 移植後1日目の腫瘍細胞の Misonidazole による放射線増感効果

移植後1日目の腫瘍細胞に対して放射線単独群

及び Misonidazole 併用群とに分けて所定の方法で実験した。照射した放射線線量は放射線単独群では2.5~18Gy の線量範囲を4線量レベルに分けて、併用群では2.4~18Gy の範囲を4線量レベルに分けて行なった。得られた放射線線量-生存率曲線を Fig. 6に示した。(相関係数 r 値は放射線単独群で0.95であり、併用群で0.98であった。)図に示されているように、1日目の腫瘍に対する Misonidazole は、放射線の効果を修飾していない。腫瘍細胞の生存率を0.1にするに要する放射線線量から Enhancement Ratio (以後 E.R.値と記す)を算出すると1.0である (Table 1)。

(2) 移植後4日目の腫瘍細胞に対して

Table 1 Enhancement ratio (At the level of 0.1 of the surviving fraction)

	Dose(rad)		E.R.
	MIS(-)	MIS(+) 1mg/g.b.w.	
Anoxic cell	2420	880	2.8
1-day-old	770	780	1.0
4-day-old	840	630	1.3
6-day-old	1600	850	1.9
10-day-old	1500	800	1.9

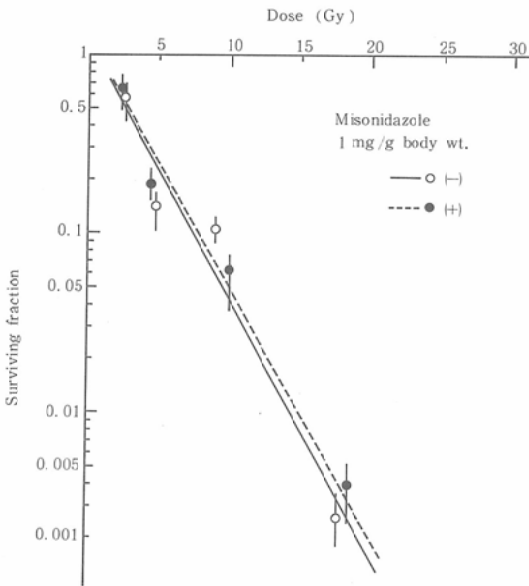


Fig. 6 Effects of Misonidazole on the radiosensitivity of 1-day Ehrlich ascites tumor cells irradiated in vivo.

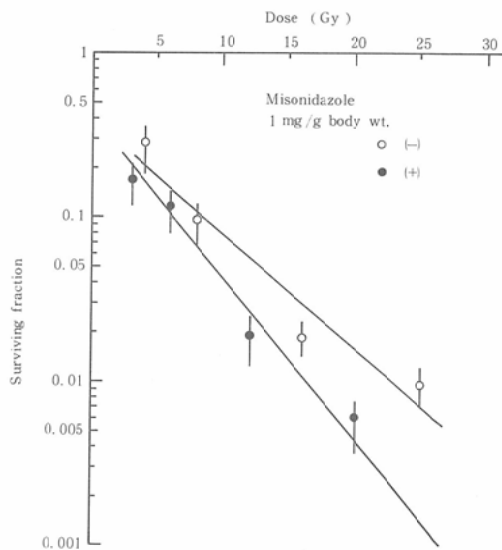


Fig. 7 Effects of Misonidazole on the radiosensitivity of 4-day Ehrlich ascites tumor cells irradiated in vivo.

これらの腫瘍細胞に対しての放射線線量は放射線単独群では 4~25Gy の線量範囲を 4 段階に分けて照射し、併用群では 3~20Gy を 4 線量段階に分けて照射した。得られた放射線線量、細胞生存率曲線を Fig. 7 に示した。(相関係数 r 値は放射線単独群で 0.96, 併用群で 0.87 であった。)図に示されているように、1 日目の腫瘍細胞の反応とは異なり、Misonidazole 併用群では放射線単独群に比して放射線に対する増感効果が認められ、その勾配も急峻となっている。生存確率 0.1 での放射線線量からの E.R. 値は 1.3 である (Table 1)。

(3) 移植後 6 日目の腫瘍細胞に対して

これらの腫瘍細胞に対して用いた放射線線量は放射線単独群では、2.5~25Gy の線量範囲を 5 段階線量で、併用群では 2~19Gy を 4 段階の線量である。得られた放射線線量-生存率曲線を Fig. 8 に示した。Misonidazole を併用することで、明らかに放射線感受性は増している (相関係数 r 値は X 線単独群で 0.95, 併用群で 0.87 である。)E.R. 値は 1.9 であった (Table 1)。

(4) 移植後 10 日目の腫瘍細胞に対して

この腫瘍細胞に対しては 3~24Gy を 4 段階に、併用群でも 3~24Gy を 4 段階の線量で照射

した。Fig. 9 に線量-生存率曲線を示し、E.R. 値は 1.9 であった (Table 1)。

Fig. 9 に示されているように Misonidazole 併用群は放射線単独群に比して、感受性を増加させているが、両者の直線の勾配はほぼ平行となっている。(相関係数 r 値は X 線単独群で 0.97,

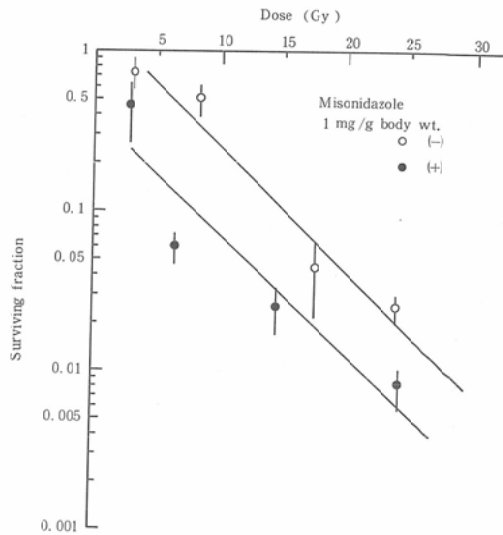


Fig. 9 Effects of Misonidazole on the radiosensitivity of 10-day Ehrlich ascites tumor cells irradiated in vivo.

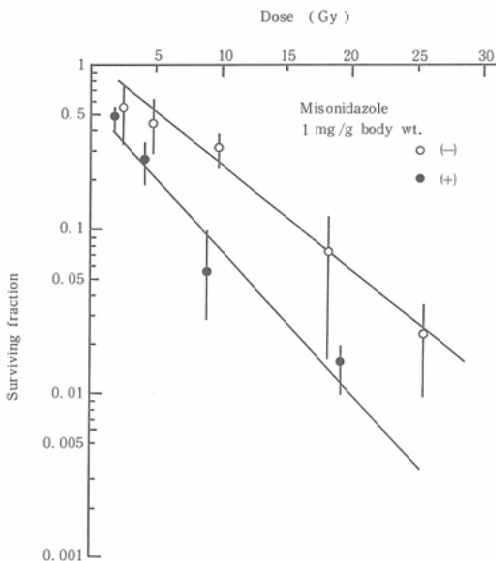


Fig. 8 Effects of Misonidazole on the radiosensitivity of 6-day Ehrlich ascites tumor cells irradiated in vivo.

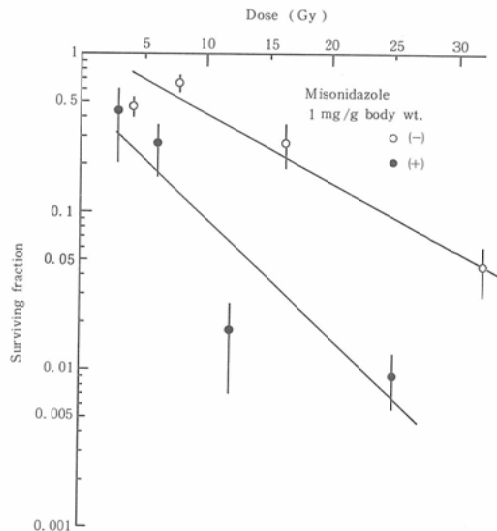


Fig. 10 Effects of Misonidazole on the radiosensitivity of 1-day anoxic Ehrlich ascites tumor cells irradiated in vivo.

併用群では0.71である。)

(5) anoxic cell に対する Misonidazole による放射線増感効果

anoxic cell 腫瘍細胞に対する反応を試みた。通常の方法で Ehrlich 腹水腫瘍細胞の一定数をマウス腹腔内に移植し、1日目の腫瘍細胞を実験に用いた。放射線単独群では、マウスを cervical dislocation にて屠殺後、5分にて、放射線照射を開始し(4~32Gyを4段階)、照射直後に腹腔内より細胞を採集した。併用群においては Misonidazole をマウス腹腔内に投与した後30分間、腹腔内で薬剤と接触させた後に、屠殺した。屠殺後5分間を経てから放射線を照射した(3~25Gyを4段階)。なお、control 群においては屠殺後40分を経てからマウス腹腔内より細胞を採集した。これは最大の放射線線量を照射するに要する時間が約35分かかることを考慮したからである。得られた線量-生存率曲線を Fig. 10 に示した。(相関係数 r 値は放射線単独群で0.96、併用群で0.90であった。)

E.R.値は2.8であった(Table 1)。さらに、生存率曲線の上で細胞生存率を0.1にするに要する放射線線量から anoxic (1-day)/aerobic (1-day) の比をとると約3.1となり、これを酸素増強効果とすると、この値はほぼ他の細胞で得られている値の範囲内に入る。

以上の各結果を Table 1 および Fig. 11 にまと

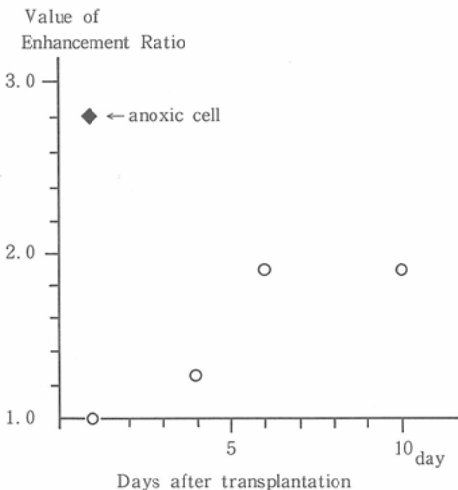


Fig. 11 Enhancement ratio.

めた。

論 議

哺乳動物細胞の放射線に対する反応、すなわち細胞の再増殖能の損失を放射線線量の函数として描いたものが線量-細胞生存率曲線である。かかる生存曲線は in vitro では HeLa 細胞を用いて Puck & Marcus (1956) により colony formation を指標としてはじめて調べられた。In vivo では Hewitt & Wilson (1959) による CBA 系マウスに自然発生したリンパ球性白血病を同系移植し、その白血病リンパ球の TD_{50} 値を指標にした方法が最初で dilution assay technique として知られ Berry & Andrews 等により発展せられた。この方法は観察期間に数十日を要し、動物を多く使う点が難点である。又、Till & McCulloch (1962) の骨髓細胞による脾コロニー法では、判定は10日程度であるが使用可能な細胞は骨髓系に限られ観察能率が極めて悪い。

本実験では Ehrlich 腹水腫瘍細胞を用いて、処理した細胞を新しいマウスに移植し、増殖させる方法によった。すなわち、in vivo → in vivo 分析法である。この方法の問題点は栗冠等¹⁾によればいくつか指摘されているが利点として、イ) 計数できる細胞は 7×10^8 に至るので、相対標準偏差が小さくなる。ロ) 放射線照射、移植後4日間で効果判定ができる。ハ) 移植細胞の90%以上が観察可能細胞になる等と報告している。

マウス腹腔内で増殖している腹水腫瘍細胞の放射線に対する反応については加納¹⁶⁾が Ehrlich 腹水腫瘍細胞について in vitro, in vivo 両者についての放射線感受性を検討しており、生体内と試験管内で差異が認められ生体内の方が n 値が大きくなり Do 値はかわっていないことを報告している。また、Belli and Andrews⁹⁾が P-388 leukemia cell でそして Ehrlich 腹水腫瘍細胞で田中⁵⁾が、移植後の日数を研究対象として検討している。移植後1日目の腫瘍細胞は aerobic な細胞の放射線感受性を示すのに対し、4日目以降は hypoxic cell population を含む放射線の反応を示すことを報告している。すなわち腹水腫瘍細胞における移植後の日数の経過と共に、放射線に対する感受性の

低下についての解釈は彼らによれば oxygen concentration の低下であろうことを指摘している。このことは、マウス腹腔内にて増殖している細胞の増加と共に、例えば腸管膜等の血管系よりの酸素の拡散のとどこかぬ cell population が、腹腔内腫瘍細胞の増加とともに増加して、このような低酸素圧細胞群を生成し、その結果放射線の感受性の低下として現れるのであろう。田中は腹腔内の oxygen tension を Beckman physical analyser を用いて Ehrlich 腹水腫瘍細胞を移植後、経時的に計測した。その結果は、1~3日の腹水腫瘍細胞での oxygen tension は 40 mmHg で静脈血の oxygen tension とほぼ同じであり、4日目では 10~40 mmHg、そして7日目になると 0~10 mmHg となることを報告している⁹⁾。

しかしながら、stationary phase の腫瘍細胞の放射線感受性については複雑で、他の増殖相で示される oxygen 効果のみにては説明できない。この時期の放射線感受性については cell age に関係していることが報告されている^{9)~10)}。Berry et al¹⁰⁾によれば stationary phase の細胞は G₁ stage に蓄積されている。しかし、Sinclair¹⁷⁾の報告によると、培養 Chinese hamster 細胞における stage-dependent の修飾効果はそれら細胞の oxygen effect による原因よりも大きい。さらに、stationary phase においては potentially lethal damage (以後 PLD と記す) の repair に関与しているのではないかといわれている。現在のところ、この PLD の repair の機構については明らかではない。菅原、中津川¹⁸⁾は Chinese hamster hai 細胞を用いて、PLDR に対する Misonidazole の効果を plating efficiency を指標として検討したが、PLDR を修飾する可能性が考えられるが完全な阻害剤とは言えないと報告している。一方、渡辺、中川¹⁹⁾はマウス白血病性 L5178Y 細胞を用い、in vivo→in vitro 分析法で PLDR はみられないようだと言っている。この PLD の repair は癌の放射線治療に対して現在では重要な課題となっているが、その評価も一定していない。この事は、細胞 line の違いによるのかもしれないが、我々の現在の結果では、4、6日と 10日目との生存曲線の型が異なり Stationary phase

では放射線単独群と Misonidazole 併用群とでパラレルな曲線が得られている。現在これに対しては明確な結論を出し得ないが、PLDR を含む研究が今後の課題として残された。もし Misonidazole が stationary phase に対して radiosensitizing effect を有し、尚且つ PLDR をも阻害するのであれば癌の放射線治療にとってより有用な薬剤と考えられる。

Misonidazole はいくつかの点で優れた特色もっていることが、多くの in vitro のデータから示されている¹³⁾¹⁵⁾。常酸素圧細胞には作用せず、低酸素状態の細胞に作用すること。すなわち Fig. 5 に示されているように、1mg/g.b.w. の Misonidazole を用いた時、低酸素圧細胞が増加する4日目以降はやや生存確率の低下がみられる。又、文献的にも、Hall & Roizin-Towle は in vitro で V79 Chinese hamster cell を用い、人工的に作った hypoxia のもとでのみ Misonidazole による細胞毒性を示すことを報告している。同様に母里ら¹⁵⁾も HeLa S3 細胞を用いて示している。

一方、in vivo においても田中、坂崎²⁰⁾は正常組織に対する効果をマウス LD 50 値を指標として検討し、Misonidazole 1mg/g.b.w. をマウス腹腔内に投与した群と、放射線単独群との間に LD 50/5 値、LD 50/30 値においても差のないことを報告している。彼らは、用いた対象の正常組織(細胞)が常酸素圧細胞で構成しているが故に、放射線感受性に差がなかったと解釈している。

Misonidazole の放射線照射による殺細胞効果の機構として、電子親和性の高い物質として oxygen mimic の作用によると言われている²²⁾。

さらに、我々の他の実験においても、今回の我々の得た結果と同様な data が得られている。すなわち Ehrlich 腫瘍細胞をマウス右大腿皮下に移植し、48時間の小腫瘍に対しても、その TCD 50 値は air 条件下で照射してもほぼ同一であり、Misonidazole の放射線増感効果は認められず²¹⁾、又、in vitro 培養細胞にても air 条件下で照射された細胞では Misonidazole は放射線の効果を増感させていない^{13)~15)}。

移植後の各日数に示された E.R. 値はその各日

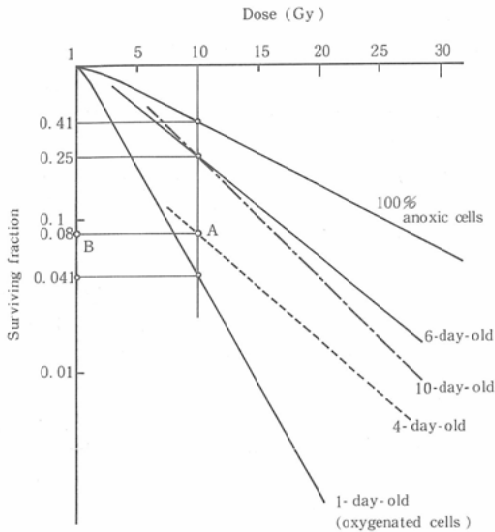


Fig. 12 Survival curves for determining the proportions of hypoxic cell fractions.

数における腹水腫瘍細胞の中に、低酸素圧細胞が存在していることを示していると思われる。そこで1つの試みとして、hypoxic cellの割合を推定してみた。Fig. 12に示したごとく傾斜のもっともきつい曲線は aerobic cellのものであり、もっとも緩やかな曲線が anoxic cellのみからなる細胞集団のものである。4日目、6日目、10日目の Misonidazole を併用しない群の曲線はこれらの間にあり、hypoxic cell と aerobic cell との混合集団である。そこで10Gy を照射した時の hypoxic cell fraction の割合を求めてみた。4日目の曲線で10Gy を照射した時 (A 点) の surviving fraction は0.08 (B 点) であり、

hypoxic cell fraction の割合を X

aerobic cell fraction の割合を Y とすると次の2式が成り立つ

$$(1) X + Y = 1$$

$$(2) 0.08 = 0.41X + 0.041Y$$

これらの式から X は0.11すなわち10Gy 照射した時の hypoxic cell の割合は11%であった。同様にして6日目と10日目の割合を求めるとそれらはほぼ同じ57%であった。

これらの結果を用いて4日目、6日目、10日目の10Gy 照射時の Misonidazole 併用群の surviv-

Table 2 Expected surviving fractions as compared with actual surviving fractions

	Expected	Actual
4-day-old	0.046	0.040
6-day-old	0.069	0.076
10-day-old	0.069	0.068

ing fraction の期待値を求め、実験値と比較してみた。

4日目の Misonidazole 併用群の surviving fraction の期待値は Fig. 10 と Fig. 12 により

$$\frac{11}{100} \times 0.09 = 0.0099$$

$$\frac{89}{100} \times 0.041 = 0.03649$$

すなわち surviving fraction は0.046である。又、この実験値は Fig. 7より0.040であった。

同様にして6日目、10日目の値を求めると Table 2に示したごとくであった。これらから、各日数に於ける期待値は実験で求めた値とほぼ一致していることがわかる。

現在、腫瘍の放射線治療に際して、腫瘍内に含まれる低酸素圧細胞の存在は重要な問題であり、これら細胞を増感させることに多くの研究が試みられている。生体を構成する細胞は常酸素圧細胞と考えられるので放射線治療にとって正常組織の反応の如何は腫瘍に対する治療の成績を左右する大きな要因である。それ故に、この Misonidazole によって得られた結果は、大きく放射線治療に貢献できると思われる。

結 論

Radiosensitizer, Misonidazole を用いて、Ehrlich 腹水腫瘍細胞の in vivo 中での異なる増殖相に対する効果について次の結果を得た。

(1) Misonidazole のマウス in vivo Ehrlich 腹水腫瘍細胞に対する細胞毒性は投与量に依存して各増殖相に認められた。すなわち、0.1mg/gram body weight では各増殖相に対して細胞毒性はなく、1mg/gram body weight で、移植後の経時日数と共に認められた。これは各増殖相における細

胞数の増加と共に増すであろう腹腔内腫瘍細胞の低酸素圧細胞に起因すると思われる。

(2) マウス腹腔内にて増殖した Ehrlich 腹水腫瘍細胞の各増殖相に対する Misonidazole 1mg/gram body weight の投与量と放射線との併用効果を線量-細胞生存率曲線で示し、その増感効果の分析を細胞生存率を0.1にするに要する放射線量の ratio にて決定した。

各時期での Misonidazole 投与による放射線増感率 Enhancement Ratio 値は、移植後 1 日目 (initial lag phase) で 1.0, 4 日目 (exponential phase) で 1.3, 6 日目 (transitional phase) で 1.9 として 10 日目 (stationary phase) で 1.9 であった。尚、anoxic 条件下での併用効果では Enhancement Ratio は 2.8 の値を得た。

(3) 10Gy 照射した時の hypoxic cell の割合を求めた。移植後 4 日目で 11%, 6 日目で 57%, 10 日目 57% であった。又、各日数における 10Gy 照射時の Misonidazole 併用群の期待値を求め、実験値と比較してみると両者はほぼ一致していた。

(4) stationary phase の腫瘍細胞において、Enhancement Ratio の値が 1.9 の値を得たことは癌の放射線治療に際して有効な値である。何故ならば、定常的な固型腫瘍においてはこの stationary phase の cell population が model となり得るからである。

稿を終えるに当たり、御指導御校閲を賜りました恩師村上晃一教授に深甚なる謝意を捧げます。また、本研究に際し、絶大なる御協力を賜りました京都第二赤十字病院放射線科部長山田親久博士に感謝の意を表します。さらに本研究に際し、絶えず御助言御指導御協力を頂いた京都府立医科大学放射線医学教室講師田中紀元博士に感謝の意を表します。

この研究は文部省科学研究費補助がん特 1、小野山班の一部資金の援助によることを付記する。

この論文の要約は昭和 57 年 3 月 24 日の第 41 回日本医学放射線学会総会 (東京) にて発表した。

文 献

- 1) Basaga, S.H., Dunlap, J.R., Searle, A.J.F. and Willson, R.L.: Metronidazole (Flagyl) and misonidazole (Ro-07-0582): Reduction by facultative anaerobes and cytotoxic action on hypoxic bacteria and mammalian cells in vivo. *Br. J. Cancer*, 37(Suppl. III): 132-135, 1978
- 2) Brown, J.M.: Selective radiosensitization of the hypoxic cells of mouse tumors with the nitroimidazoles metronidazole and Ro 7-0582. *Radiat. Res.*, 64: 633-647, 1975
- 3) Asquith, J.C., Foster, J.L. and Willson, R.L.: Metronidazole (Flagyl) A radiosensitizer of hypoxic cells. *Brit. J. Radiology*, 47: 474-481, 1974
- 4) Stone, H.B. and Withers, H.R.: Tumor and normal tissue response to metronidazole and irradiation in mice. *Radiology*, 113: 441-444, 1974
- 5) Tanaka, N.: Radiosensitivity of Ehrlich ascites tumor cells in different growth phases and its enhancement by iodoacetamide. *J. of Radat. Res.*, 14(3): 236-247, 1973
- 6) Belli, J.A. and Anderws, J.R.: Relationship between tumor growth and radiosensitivity. *J. Natl. Cancer Inst.*, 31: 689-703, 1963
- 7) Little, J.B.: Differential response of rapidly and slowly proliferating human cells to X-irradiation. *Radiology*, 93: 307-313, 1969
- 8) Hahn, G.: Failure of chinese hamster cells to repair sublethal damage When X-irradiated in the plateau phase of growth. *Nature*, 217: 741-742, 1968
- 9) Madoc-Johns, H.: Variations in radiosensitivity of a mammalian cell line with phase of the growth cycle. *Nature*, 23: 983-984, 1964
- 10) Berry, R.J., Hall, E.J. and Gavanagh, J.: Radiosensitivity and the oxygen effect for mammalian cells cultured in vitro in stationary phase. *Br. J. Radiol.*, 43: 81-90, 1970
- 11) 栗冠正利, 松沢大樹, 佐々木俊作: 7 系の大黒鼠腹水腫瘍細胞の放射線反応. *日医放会誌*, 27: 1049-1055, 1967
- 12) 長谷川正秀: Ehrlich 腹水腫瘍細胞の生体内における 5-Fluorou-racil と放射線の併用効果について. *京府医大誌*, 73: 359-368, 1969
- 13) Hall, E.J. and Roizin-Towle, L.: Hypoxic sensitizers, radiobiological studies at the cellular level. *Radiology*, 117: 453-457, 1975
- 14) Roizin-Towle, L.A. and Hall, E.J.: Enhanced cytotoxicity of antineoplastic agents following prolonged exposure to misonidazole. *Br. J. Cancer*, 44: 201-207, 1981
- 15) 母里知之, 芝田千恵子, 大泉幸雄, 前澤 博, 宇城信吾, 堀 均, 稲山誠一: Hypoxic Cell Sensitizer, In vitro. *癌の臨床*, 27: 1447-1452, 1981
- 16) 加納永一: 試験管内及び生体内における Ehrlich 腹水腫瘍細胞の放射線感受性に関する比較的研究

- 究. 日医放会誌, 25:1007-1012, 1965
- 17) Sinclair, W.K. and Morton, R.A.: X-ray sensitivity during the cell generation cycle of cultured chinese hamster cells. *Radiat. Res.*, 29: 450-474, 1966
- 18) 菅原 努, 中津川重一: Personal communication, 1978
- 19) 渡部郷雄, 中川圭介: Personal communication, 1980
- 20) 田中紀元, 坂崎富夫: Unpublished data 1980
- 21) 田中紀元, 坂崎富夫, 長谷川隆, 岡部春海, 山下正人, 村上晃一, 竹内 博: 実験動脈腫瘍に対する放射線と Misonidazole の併用効果. *癌の臨床*, 27: 1453-1460, 1981
- 22) 小野山靖人: Hypoxic cell sensitizer. 放医研シンポジウムシリーズ, 癌の臨床学的治療, 298-318, 1980
-