



Title	超音波の放射線効果に及ぼす影響 第2報 -培養細胞について-
Author(s)	藤田, 勝三; 石垣, 武男; 佐久間, 貞行
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1976, 36(8), p. 744-747
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/15443
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

超音波の放射線効果に及ぼす影響（第2報）

培養細胞について

名古屋市立大学医学部放射線医学教室（主任：佐久間貞行教授）

藤田 勝三 石垣 武男 佐久間貞行

（昭和51年1月12日受付）

（昭和51年3月25日最終原稿受付）

The influence of ultrasonud on ionizing radiation effects

2nd Report. Cultured Mammalian Cells

By

Shozo Fujita, Takeo Ishigaki and Sadayuki Sakuma

Department of Radiology, Nagoya City University Medical School

(Director: Prof. Sadayuki Sakuma)

Research Code No.: 408

Key Words: FM3A mammary carcinoma cells

Cultured mammalian cells were irradiated with ionizing radiation, with and without simultaneous ultrasound treatment. The mouse mammary carcinoma cells, FM3A, were irradiated with 100-500 R of X-rays at the dose rate of 100 R/min. with and without 1 MHz ultrasound at the intensity of 0.5-3 W/cm². The cells were irradiated in suspension at a concentration of 4×10^3 /ml in Petri dish (Falcon, 60 × 15 mm). The dish was held at the distance of 3 cm from the ultrasound transducer through the medium of water. Cell survivals were determined from their colony-forming ability.

The effects of ultrasound on radiosensitivity of cells was apparent at the intensity over 2 W/cm².

1. 目的

培養細胞についてX線と超音波を各々単独または同時照射し、併用の効果があるかどうかを調べた。

2. 材料及び方法

細胞 FM3A 細胞 (C3Hマウス乳癌由来) を用いた。培養は10%の仔牛血清を加えたイーグルMEM培地で、密栓した試験管内で行なつた。細胞数倍化時間は36.7±0.5°Cで13時間であった。実験には対数的増殖をしている状態のものを用いた。照射直前に、細胞濃度を1ml当たり4×

10^3 コに希釈して照射した。

細胞懸濁液5mlを入れたペトリディッシュ（ファルコン、60×15mm）は、超音波発振子との間に薄いゴム製の袋に脱気水100mlを入れ、3cmの厚さとし、これを介して置いた (Fig. 1).

超音波とX線の照射条件 超音波照射には久保田製 Therasonic (周波数1MHz, 強度0.5W/cm² 間隔可変で最大5W/cm²) を使用した。発振子の直径は5cmである。超音波強度は0.5W/cm²から3W/cm²までを使用した。

X線照射には、日立製深部治療装置 (TR-30 R-

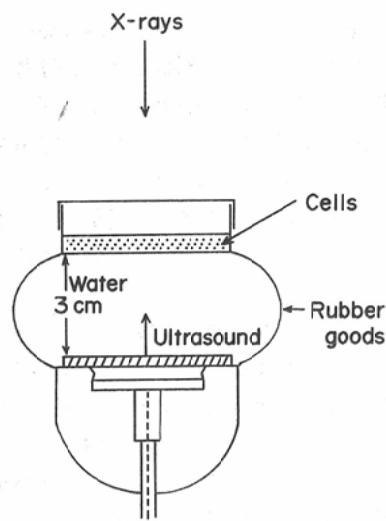


Fig. 1. Diagram of irradiation method on cells
The direction of ultrasound progress is opposed to x-rays.

B) を使用した。照射条件は管電圧 250KV, 管電流 8mA, 焦点試料間距離40cm, フィルタ0.25 mmCu + 0.5mmAl (半価層 1.1mmCu) で空中線量率は 100R/min である。線量の測定はラドコン II (型式 555, プローブ 100MA) により行なつた。

コロニー形成 0.15%寒天(Difco, Special agar-noble) 培地中で行なつた。30%の仔牛血清を加えた2倍濃度のイーグルMEM培地と0.3%寒天溶液を等量混合したものを40°Cに保つた。非照射及び照射細胞懸濁液は、1試験管当り100ヶのコロニーが形成するように希釈し、その0.5mlを各試験管に移し、用意した0.15%寒天培地4.5mlを入れ、直ちに冷水中で寒天を凝固させた。10~14日間のインキュベーション後に拡大率2倍のルーペを用いてコロニーを数えた。各実験には5本の試験管を用意し、非照射細胞と照射細胞のコロニー数の比から細胞生存率を求めた。非照射細胞のコロニー形成率は85~97%であつた。

3. 結 果

超音波のみを強度1, 2及び3 W/cm²で照射したときの細胞生存率をFig. 2に示した。1 W/cm²と2 W/cm²はともに照射時間5分間までは影響

がなかつた。3 W/cm²は1, 3分間照射とも影響があつた。その生存率は、1分間照射で0.84±0.29, 3分間照射で0.82±0.36であつた。次に、X線量 100R 及び 300R と、それぞれに超音波

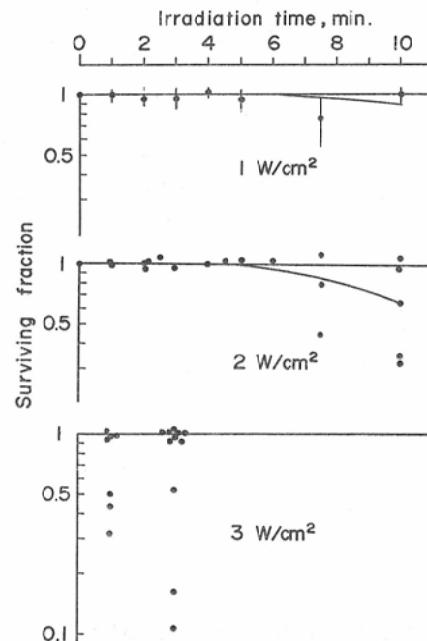


Fig. 2. Surviving fraction of FM3A cells in the irradiation of ultrasound (1, 2 and 3 W/cm²).

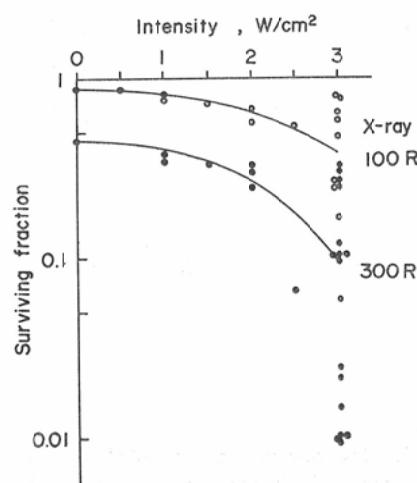


Fig. 3. Survival curves of FM3A cells exposed to 100R (empty circles) and 300R (full circles) of x-rays with simultaneous ultrasound at intensities of 0.5 to 3 W/cm².

0.5 W/cm^2 から 3 W/cm^2 までを同時照射したときの結果を Fig. 3 に示した。両方の曲線から、細胞生存率は X 線のみの場合に比べて超音波強度が 1 W/cm^2 から徐々に減少し、 2 W/cm^2 以上では明らかな差があることがわかる。Fig. 4 に、X 線と超音波 $1, 2, 3 \text{ W/cm}^2$ を同時照射したときと X 線のみ照射したときの生存率曲線を示した。 1 W/cm^2 では、 300 R 以下にはつきりとした併用の効果はみられないが、 2 W/cm^2 では効果のあることが認められる。 3 W/cm^2 では、はつき

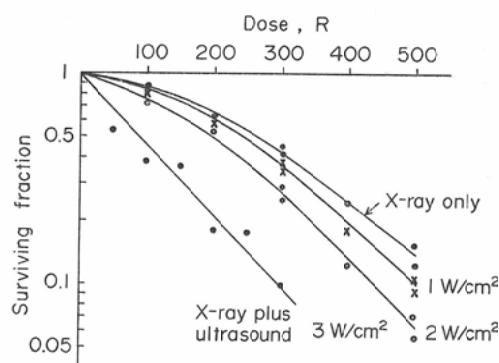


Fig. 4. Survival curves of FM3A cells

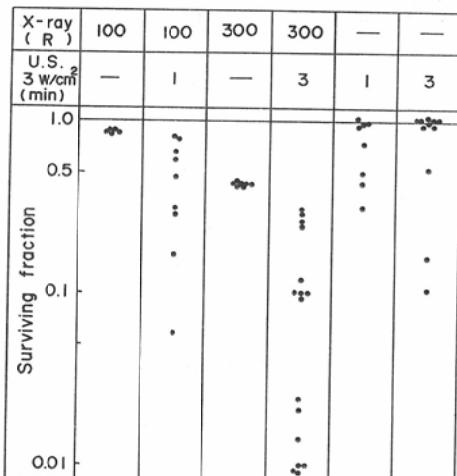


Fig. 5. Surviving fractions of FM3A cells exposed to x-rays and ultrasound separately and both radiations simultaneously. Individual points are average values obtained from five test tubes each experiment. To compare the amount of scatter, data are illustrated as they are.

りとした差があらわれているが、超音波のみでも生存率に影響があつた。Fig. 5 は、X 線量 100 R と 300 R 、超音波は 3 W/cm^2 で 1 分間と 3 分間を各々単独及び同時照射したときの生存率をくりかえし行なった実験による値のバラツキとして示したものである。超音波照射が関与したときの生存率のバラツキは X 線のみ照射の場合に比べて大きい。

4. 考 案

放射線効果の増強を目的として、培養細胞に対する放射線に超音波を併用照射した研究は若干行なわれているが、放射線感受性の増強については肯定するものと否定するものがある。Clarke ら (1970)¹² は L5178Y 細胞をゼラチンゲル中で、又、Repacholi ら (1971)²³ はエールリッヒ腹水癌細胞を粘性のある培地で超音波の Cavitation を生じ難くした状態で照射して超音波のみあるいは放射線との併用照射の効果を否定している。肯定するものには、Spring (1969)²⁴ の植物の種子の発芽に関する研究がある。しかし、Spring ら (1970)²⁵ は、HeLa 細胞については線量によって感受性になつたり、抵抗性になつたりすると報告している。また、Todd ら (1974)²⁶ は、M3-1 チャイニーズハムスター細胞に X 線照射後に超音波を照射して併用効果を認めている。

超音波は、放射線との併用照射のみならず、単独照射においてもその効果について様々な意見がある。本研究は、前報でのべた超音波の化学的効果とその化学的効果がキャピテーションにともなう気泡の発生と密接な関係があることを確認して行なわれた。即ち、照射方法は超音波の化学的効果を基にしてきめられた。Fig. 1 に示した方法で、超音波の物理的、化学的、生物学的効果を調べてそのバラツキの程度を比較した。超音波照射条件は、強度 3 W/cm^2 、発振子試料間距離 3 cm 、照射時間 3 分間である。試料容積は 5 ml である。物理的には水の温度上昇を、化学的にはヨウ素濃度反応を利用した吸光度を、生物学的には本実験の結果を、ならべて Fig. 6 に示した。バラツキの程度は、物理的、化学的、生物学的の順に大

Ultrasound: 3 W/cm ² , 3 cm, 3 min		
Physical	Chemical	Biological
Temperature	Optical density	Surviving fraction
2.9°C	0.295	0.941
2.9	0.530	0.160
2.9	0.405	0.946
3.1	0.235	1.000
3.2	0.360	0.943
2.7	0.415	0.106
3.3	0.620	1.015
3.0	0.335	1.027
		1.033
		1.152
		1.035
		0.526
3.00±0.17 (5.7%)	0.399±0.125 (31.3%)	0.824±0.356 (43.2%)

Fig. 6. Physical, chemical and biological effects of ultrasound

きくなり、特に化学的、生物学的效果のバラツキは標準偏差でそれぞれ31.3%，43.2%と大きい。このことは、超音波の化学的、生理学的效果がマクロな温度上昇によるものでないことを示唆するものと考える。

超音波照射が関与したときの細胞生存率のバラツキが大きいのは、同一平面上でも気泡が不均等に発生することから説明できる。即ち、気泡は超音波強度と関係があり、発振子の中心部では強度が強く、周辺部では弱いことがわかる。超音波照射中、細胞がディッシュ中に均等に分布していても超音波の影響を正しく調べたことにはならない。従つて、照射中にディッシュを回転させるとか、発振子を工夫するとかの照射方法の改善が必要なこととともに試料中に吸収される超音波のエネルギーを表わす基準をきめて超音波の生物学的效果を判定することが大切である。

5. 結論

F M 3 A 細胞にX線と超音波を各々単独あるいは同時照射し、細胞生存率から併用の効果があるかどうかを調べたところ次のようない結論を得た。

1) 放射線感受性を超音波は増強すると考えて良いようである。

2) 超音波発振子と細胞懸濁液を入れた容器間距離が3 cmのときは、X線量 100 R, 300 Rともに放射線感受性の増強の傾向を示したのは超音波強度が2 W/cm²以上からである。

3) 超音波照射が関与したときの細胞生存率のバラツキは大きい。この原因は、超音波の強度分布が同一平面上でも不均等であるためであると考えられる。

本論文の要旨は、第49回日本医学放射線学会中部地方会（昭和47年5月）及び第32回日本医学放射線学会総会（昭和48年5月）に於て発表した。

文献

- Clarke, P.R., Hill, C.R. and Adams, K.: Synergism between ultrasound and X-rays in tumour therapy. Brit. J. Radiol., 43 (1970), 97—99.
- Repacholi, M.H., Woodcock, J.P., Newman, D.L. and Taylor, K.J.W.: Interaction of low intensity ultrasound and ionizing radiation with the tumour cell surface. Phys. Med. Biol. 16 (1971), 221—227.
- Spring, E.: Increased radiosensitivity following simultaneous ultrasonic and gamma-ray irradiation. Radiology, 93 (1969), 175—176.
- Spring, E.: Radiosensitivity—Simultaneous ultrasonic and ionizing radiation. in "The modern trade in Radiotherapy-2". Butterworths, London (1972), 51—58.
- Todd, P. and Schroy, M.S.: X-ray inactivation of cultured mammalian cells: Enhancement by ultrasound. Radiology, 113 (1974), 445—447.