

Title	分割照射されたマウス皮膚の回復と再増殖
Author(s)	増田, 康治
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1983, 43(3), p. 511-517
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/15808
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

分割照射されたマウス皮膚の回復と再増殖

九州大学医学部附属病院放射線部

増 田 康 治

(昭和57年 3月29日受付)

The Recovery and Repopulation of Mouse Skin During Multi-fractionated Gamma Rays Exposures

Kouji Masuda

Department of Radiology, Faculty of Medicine, Kyushu University

Research Code No. : 403.7

Key Words : Recovery, Early skin reaction, Modifying factor

Mice hind legs were exposed to single and multifractionated irradiation with various time intervals from 12 hours to 15 days. The early skin reaction on ventral side of the irradiated legs was scored, using an arbitrary scale, every one to two days from one week to 40 days after irradiation. The highest level of reaction during this scoring period was employed as a level of the early skin reaction for each mouse.

Two-dose survival curves were shown to be Elkind-type. However, the target cells for skin reaction on the ventral side seemed to recover and repopulate relatively slowly compared to those on the dorsal side of the legs, suggesting that the optimum fractionation schedule could be variable from the tumor location to location when an early skin reaction is a dose limiting factor. It was also suggested that the dose response curves of the target cells for early skin reaction was an inverse S shape on the semilogarithmic scale and that there were two or more subpopulation of cells.

I. 緒 言

放射線治療において、多くの場合、正常組織の障害が治療総線量を規制する因子となるので、正常組織の放射線に対する反応に関する研究は重要である。ことに分割照射の際に正常組織にみられる4R (recovery, repopulation, redistribution, reoxygenation)に関する研究は、腫瘍にみられるこれらの現象に関する研究と同様に、放射線治療における最適分割間隔を求めるうえから重要である。

正常組織のなかでも、皮膚は放射線に対して感受性が比較的高く、その障害が観察しやすく、また悪性腫瘍の外照射においてはいつも放射線にさらされるので、その放射線障害は臨床的にだけでなく¹⁾⁻³⁾、実験動物⁴⁾⁻¹⁰⁾を用いて詳細に検討されてきた。分割照射の際に皮膚にみられる回復と再

増殖については、ネズミや⁵⁾⁻¹⁰⁾ブタ⁴⁾¹³⁾を用いてあるいは臨床的¹³⁾に検討されている。そして、①障害の一部は分割照射することによって回復する。②照射日数が永くなると、皮膚反応の標的細胞は再増殖する、③回復ののち、再増殖がみられるまでの期間は照射条件に依存する¹¹⁾¹²⁾ことなどが明らかにされている。

ところで皮膚の放射線感受性が部位によってちがうことが、実験動物¹³⁾¹⁴⁾を用いてまた臨床的¹⁵⁾にすでに知られている。もし一回照射に対する反応量だけでなく、分割照射中にみられる“4R”に関しても同様に、部位によってちがうならば、そのことは分割照射における照射方法を、病巣の部位毎に変更しなければならないかもしれないということの意味している。

前の報告¹⁴⁾では、マウス下肢の腹側および背側

の皮膚を一回照射および32均等分割照射して、急性皮膚反応を比較検討した。一回照射に対しては腹部側、背部側の皮膚で線量効果関係にちがいはみられなかった。ただあらかじめ剃毛すると、背部側がより強く反応し、等効果線量の比は1.2であった。ところが、32分割照射に対しては、腹部側がより強く反応し、等効果線量の比は1.1であった¹⁴⁾。ここでは、分割照射における回復および再増殖が皮膚の部位によってちがうかどうかについて検討したので報告する。

II. 実験材料と方法

すでに前の論文でくわしくのべたが¹⁶⁾、要約すると次の通りである。

実験材料：12～14週齢の雌の廿日ネズミ C₃Hf/Bu の下肢の皮膚を材料とした。動物はすべて無菌的に生れ、飼育されたものである (specific pathogen free)。

照射方法：ネンブータルで麻酔させたのち、背臥位にネズミを固定した。上下一対の¹³⁷Cs 線源を用いて、足部をのぞく下肢を直径3cm の照射野で照射した。線量率はrad換算で、1,060～1,070 rad/分であった。分割回数、分割間隔、線量等は Table 1 に示す通りであった。照射は原則的には午前8時前後から開始し、遅くとも午前中には終了した。分割照射において、照射間隔が1日以上の際は常に同時刻に照射した。ただし12時間間隔照射は午前8時と午後8時とに照射を開始した。

判定：照射終了後、経時的に1～2日間隔で観察し、皮膚反応の程度にしたがって、Table 2 に示すように点数をつけた。皮膚反応の程度が最高に達し、治癒し始めるまで継続した。観察期間中の最高値を、その動物の反応値とした。マウスの下肢では、腹部側皮膚は背部側皮膚よりも、潜在的に増殖能をもっている細胞が少ないと思われる¹⁴⁾ので、この実験では腹部側の皮膚を観察した。

照射方法毎に、ある一定の反応値以上の障害を、実験動物の50%にもたらす線量 (SRD 50) を計算した。こうしてえられた等効果線量を用いて、分割照射中にみられる生物学的現象の解析をおこなった。

Table 1 Treatment regimen and number of animals used

No. of fractions	Time interval between doses (days)	Dose range (rad)	No. of animals
Single		1,200- 6,000	341
	two	0.5	1,600- 7,000
4	1	2,000- 7,000	76
	2	1,600- 6,700	63
	4	2,400- 8,000	59
	15	2,500- 8,000	48
	0.5	2,800- 8,100	74
	1	2,800- 8,500	57
	2	2,000- 8,200	86
	5	3,200- 8,800	46
	10	4,000-12,000	56
	8	0.5	4,500- 8,700
16	1	3,600- 9,300	80
	2	4,500- 8,700	57
	0.5	4,500- 9,300	53
32	1	5,000-11,000	95
	2	5,000-13,000	56
	0.5	5,000-12,200	37
	1	7,000-16,000	37

Table 2 Scoring of early skin reaction

Score	Definition
0.5	Slight hair loss and/or very slight reddening
1.0	Severe reddening and/or dry scaly appearance
1.5	Scaly appearance with moist breakdown of one small area
2.0	Breakdown of larger area
2.5	Breakdown of about 50% of the skin
3.0	Breakdown of most of the skin
3.5	Breakdown of entire skin of irradiated area of leg with severe moist exudation

III. 結果

1. 放射線感受性の日差変動

マウスの放射線感受性に関連して、日差変動のあることが報告されている¹⁷⁾。

そこで、照射間隔が1日未満の時の皮膚反応に関する実験結果を、より正しく解釈するために、皮膚反応の日差変動の有無について検討した。

同じ日の午前8時と午後8時とに一回照射して、皮膚反応と線量との関係を Fig. 1 に示した。いずれの皮膚反応の程度を指標にしても、等効果線量は午後8時に照射された群が大きい傾向にあったが、統計的には有意差はみられなかった。

2. 照射間隔と等効果線量との関係

Fig. 2, 3, 4, 5 および 6 に、それぞれ 2, 4, 8, 16 および 32 分割照射の実験結果を示している。等効果線量を分割間隔あるいは総照射日数の関数と

してあらわした。

二等分割照射では、分割間隔が大きくなるにつれて等効果線量は次第に大きくなり、分割間隔が 12 時間をこえると逆に小さくなった。分割間隔が

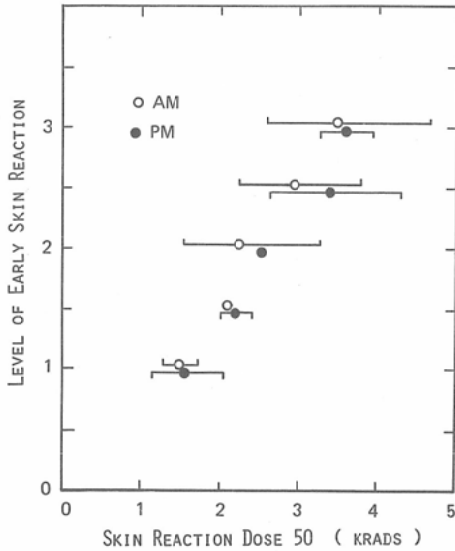


Fig. 1 Single-dose response curves of mouse skin exposed to gamma rays at 8.00 in the morning (○) and at 8.00 in the evening (●).

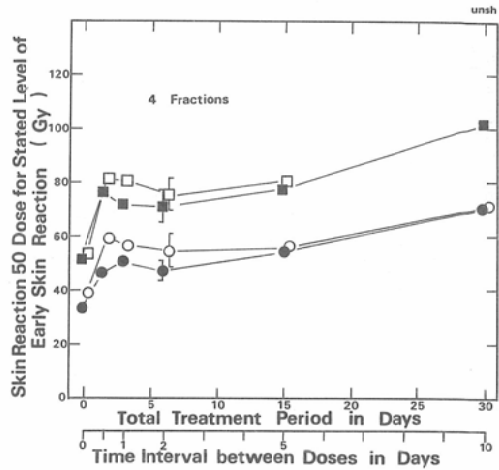


Fig. 3 The effect of the varying time interval between fractions on the total dose to produce a given reaction, 1.5 (●), 2.0 (○), 2.5 (■) and 3.0 (□) of an arbitrary scale. The ventral side of mouse hind leg was exposed to four equal fractions of gamma rays.

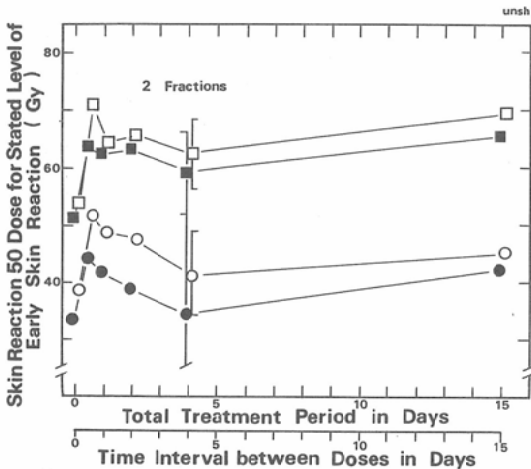


Fig. 2 The effect of the varying time interval between fractions on the total dose to produce a given reaction, 1.5 (●), 2.0 (○), 2.5 (■) and 3.0 (□) of an arbitrary scale. The ventral side of mouse hind leg was exposed to two equal fractions of gamma rays.

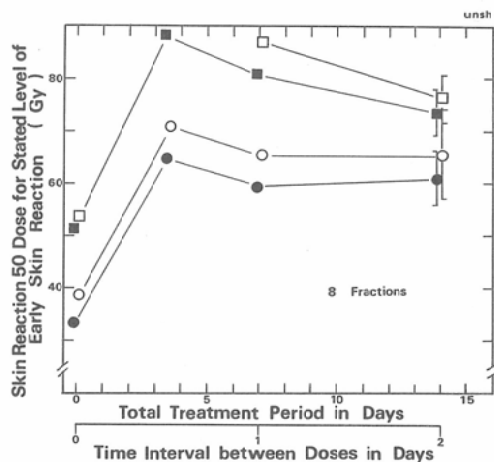


Fig. 4 The effect of the varying time interval between fractions on the total dose to produce a given reaction, 1.5 (●), 2.0 (○), 2.5 (■) and 3.0 (□) of an arbitrary scale. The ventral side of mouse hind leg was exposed to eight equal fractions of gamma rays.

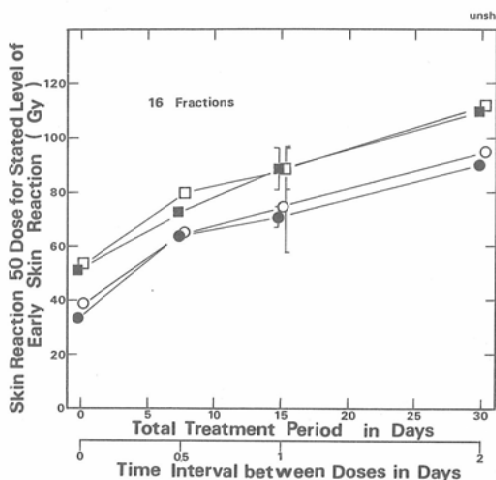


Fig. 5 The effect of the varying time interval between fractions on the total dose to produce a given reaction, 1.5 (●), 2.0 (○), 2.5 (■) and 3.0 (□) of an arbitrary scale. The ventral side of mouse hind leg was exposed to sixteen equal fractions of gamma rays.

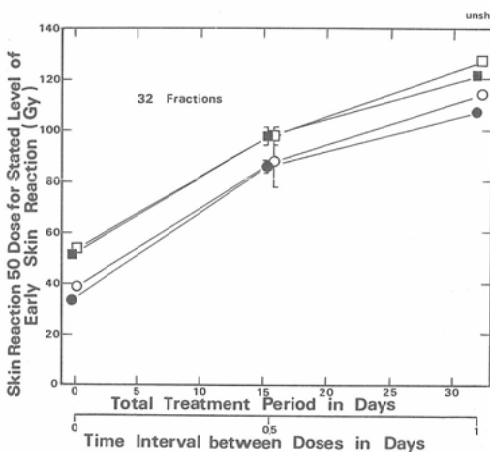


Fig. 6 The effect of the varying time interval between fractions on the total dose to produce a given reaction, 1.5 (●), 2.0 (○), 2.5 (■) and 3.0 (□) of an arbitrary scale. The ventral side mouse hind leg was exposed to 32 equal fractions of gamma rays.

4日で最低値をとり、分割照射間隔の延長とともに等効果線量は再度大きくなった。等効果線量の算出に用いた、皮膚反応の程度のいかんにかかわらず、常に同じ傾向にあった。この実験では4日間隔で照射した時の等効果線量が、分割照射した

時の等効果線量の中では最も小さかったが、それでも一回照射の時の等効果線量に比較すると大きかった。

分割回数が4以上の群でも、分割間隔が大きくなることによって、等効果線量は増加した。実験した範囲内では、4および8分割では等効果線量は次いで減少し、谷が観察され、その後再度増加した。初めの山はいずれの照射群でも照射間隔0.5日であらわれた。また谷は、2分割照射では照射間隔4日でみられたが、4および8分割照射では、照射間隔2日であらわれた。いずれの分割照射群をとってみても、これらの結果は、観察する障害の程度、いかえると線量の大きさに関係なく、常にほぼ同じ傾向にあった。

16および32分割の時は、分割間隔が0.5日、1日と増すにつれて、等効果線量は増加し、実験した範囲内では、等効果線量の経時的变化には波はみられなかった。

IV. 考 察

マウスの下肢腹側の皮膚をγ線で分割照射し、急性皮膚反応の標的細胞の回復および再増殖について検討した。

実験材料と方法：各分割照射は必ずしも同時には出来ず、実験開始から終了までに、約一年を要した。実験期間中のマウスの皮膚の放射線感受性が同一であることを確認するために、実験開始時、終了時そして中間において、一回照射実験をおこなった。データを示していないが、線量効果関係には差異を見出しえなかった。また午前8時に一回照射した群と午後8時照射群との間で、線量効果関係に有意差は見い出されなかった。この実験に用いた動物の放射線感受性は均一であったといえる。

さらにまた、何らかの前処置をしておくと、それによってG₀期の細胞が刺激され、分裂周期ののってくるために、前処理後の時間によって標的細胞数が増える可能性がある²¹⁾。しかしこの実験においては何らの前処理もしていないので、一回照射における標的細胞の数と、分割照射における標的細胞数とは、分割照射中に照射に原因する増加はあっても、基本的には同じであったといえる。

結果の解釈：実験結果の解析にあたり、急性皮膚反応の標的細胞は、表皮、皮脂腺、毛包の幹細胞であり、照射方法のいかんにかかわらず、急性皮膚反応の程度が一定であれば、生存標的細胞数は常に一定である、と仮定した。

2等分割照射では間隔の延長とともに、当初は等効果線量は上昇したが、次いで低下し、さらに間隔が延長すると、再度上昇した (Fig. 2)。これは、*in vitro* 培養細胞あるいは *in vivo* 実験系を用いてすでに報告されている曲線¹⁸⁾¹⁹⁾に基本的にはよく一致している。この傾向は分割回数が増しても同様に観察されたが、分割回数の増加につれて、波の中は小さくなり、16分割以上では、谷はみられず分割間隔が長くなるにつれて、等効果線量は増加し続けた。

この等効果線量の変化は、皮膚反応に関する標的細胞の亜致死の損傷からの回復、re-distribution、増殖、酸素分圧の変化によって説明されるであろう。ことに多分割照射において、谷がみられなくなる現象は、次のように説明されるだろう。

① 分割回数が多いときは、分割間隔の延長につれて、総照射期間が長くなり、生存標的細胞数の増加による等効果線量の増加が、re-distributionによる等効果線量の低下を凌駕する。② 分割回数が多くなると、一回線量はそれとともに小さくなり、*in vitro* 培養細胞ではすでに確認されている²⁰⁾ように、分裂の遅延する時間が短くなる。

また分割間隔の延長とともに、等効果線量が大きくなる理由として、もともと分裂増殖していた細胞の増殖ということの他に、もともとはG₀期にあった細胞が、一回目の照射によって分裂し始めることがあげられる²¹⁾。つまり一回目の照射では標的細胞でなかった細胞も標的細胞となり、総標的細胞数が増す。

これまでの報告との比較：二分分割照射における等効果線量の山と谷とがあらわれる照射間隔は、それぞれ0.5日、4日であった。照射間隔の実験点が少ないので、これらの山と谷のあらわれた照射間隔が、真の山と谷との時期を、必ずしも正確には示していないかもしれない。しかしそのような限界を考慮しても、谷の出現時期は明らかに遅れ

ている。照射前に毛を剃った、背部の皮膚では、山と谷とはそれぞれ、照射間隔8～9時間、12～14時間にみられた⁷⁾¹⁰⁾。下肢の皮膚を用いたFowlerの報告⁹⁾では、それぞれ8時間、18時間であった。同じ部位をあらかじめ1,000R照射し、次いで種々の線量をかけて、等効果線量と照射間隔との関係を見ると、山と谷とはそれぞれ1日目と2日目にあらわれた⁹⁾。

山と谷とのあらわれる照射間隔が、従来の報告とちがう理由としては、いくつかの点が考えられる。① 腹部側の皮膚と他の部位とでは、標的細胞の世代時間がちがう。そのために、初めの照射によって部分的に同調された標的細胞集団が、re-distributeするまでの時間に差が生じる。② 部位によって、細胞の放射線誘発分裂遅延の程度がちがう。③ 部位によって血管状態がちがうために、照射による血管障害にもとづく、支配領域の酸素分圧の低下のあらわれ方にちがいがあ

結果の意味すること：分割照射における、等効果線量と照射間隔との関係が、部位によって異なった。これは少なくとも皮膚の急性障害が治療における線量制限因子となるときは、最適線量配分が照射部位によって変わる可能性があることを示唆している。

正常組織の線量効果関係、ことに臨床的により重要な低線量域での線量効果関係を、直接的に求めることは今日技術的にできない。そこでこれを多分割照射方法を用い、その結果から理論的に算出する試みがいくつかなされている^{22)~24)}。その場合、各照射において細胞集団の放射線感受性が同一であるという前提が必要である。ところで、計算に必要な基礎資料としての線量効果関係を求めるとき、部位毎に、分割照射の間隔を変えなければならないことを、ここで得られた実験結果は示唆している。

二等分割照射した場合の等効果線量と照射間隔との関係において、この実験に用いた材料では、分割間隔4日で谷があらわれた。この照射間隔は、標的細胞集団の放射線感受性が照射前と同じになり、再増殖している細胞数が最も少ない時期である仮定すると、(D₂-D₁)値は線量効果曲線上で、

$D_2/2$, D_1 に対応する2つの点をむすぶ直線とX軸との交点の値に相当する²³⁾。障害の程度毎に(それに伴って用いる線量も変わるが), (D_2-D_1) 値を計算して Table 3 に示した。この実験に用いた範囲では, 障害の程度がすすむにつれて, つまり線量域が大きくなるにつれて, (D_2-D_1) 値は次第に小さくなり, 次いで大きくなった。これは急性皮膚反応に関する標的細胞の線量効果関係が, 逆S字型を呈していること, つまり, 照射された標的細胞集団が放射線感受性に関して, 均一でないことを示唆している。これはこれまでの実験結果²⁵⁾とよく一致している。

Table 3 Calculated values of (D_2-D_1) (rad)

Early skin reaction	Isoeffect doses		D_2-D_1
	2 fractions in 4 days	Single exp.	
0.5	2413	1621	792
1.0	2830	2132	698
1.5	3458	3348	110
2.0	4135	3878	257
2.5	5935	5129	806
3.0	6260	5377	883
3.5	7398	6040	1358

要 約

マウスの下肢腹側の皮膚を γ 線で多分割照射し, 急性皮膚反応に関して照射間隔と等効果線量との関係を検討した。分割照射における回復および再増殖の様子は皮膚の部位によってちがひ, 急性皮膚反応が放射線治療における線量制限因子となる場合は, 照射部位によって照射方法を変えるべきであることが示された。急性皮膚反応に関する標的細胞の線量効果関係は, 片対数グラフ上で逆S字型であり, 放射線感受性に関して均一でないことが示唆された。

Acknowledgement

The author has pleasure in thanking Dr. H.R. Withers for his interest and support: Mrs N. Hunter for her assistance with the mouse irradiation and for her help with the skin reaction scoring. This investigation was supported by NIH Research Grants CA-06294 and CA-

11138 from the National Cancer Institute, U.S. A. and Research Grant 00548373 (Grant-in Aid for Scientific Research) from the Ministry of Education, JAPAN.

文 献

- 1) Dutreix, J., Wambersie, A. and Bounik, C.: Cellular recovery in human skin reactions: Application to dose fraction number overall time relationship in radiotherapy. *Europ. J. Cancer*, 9: 159-167, 1973
- 2) Field, S.B., Morgan, R.L. and Morrison, R.: The response of human skin to irradiation with X-rays or fast neutrons. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 1: 481-486, 1976
- 3) Turesson, I. and Notter, G.: Skin reaction as a biologic parameter for control of different dose schedules and gap correction. *Acta Radiol Ther. Phys., Biol.*, 15: 162-176, 1976
- 4) Berry, R.J., Mole, R.H. and Barnes, D.W.H.: Skin response to X-irradiation in the guinea-pig. *Int. J. Radiat. Biol.*, 30: 535-541, 1976
- 5) Cheshire, P.J. and Lindop, P.J.: The influence of intracellular recovery and hypoxic cells on the radiation response of mammary tumours and skin in C3H mice. *Brit. J. Radiol.*, 42: 215-223, 1969
- 6) Denekamp, J., Ball, M.M. and Fowler, J.F.: Recovery and repopulation in mouse skin as a function of time after X-irradiation. *Radiat. Res.*, 37: 361-370, 1969
- 7) Emery, E.W., Denekamp, J., Ball, M.M. and Field, S.B.: Survival of mouse skin epithelial cells following single and divided doses of X-rays. *Radiat. Res.*, 41: 450-466, 1970
- 8) Fowler, J.F., Kragt, K., Ellis, R.E., Lindop, P.J. and Berry, R.J.: The effect of divided doses of 15 MeV electrons on the skin response of mice. *Int. J. Radiat. Biol.*, 9: 241-252, 1965
- 9) Hayashi, S. and Suit, H.D.: Effect of fractionation of radiation dose on skin contraction and skin reaction of swiss mice. *Radiology* 103: 431-437, 1972
- 10) Withers, H.R.: Recovery and repopulation in vivo by mouse skin epithelial cells during fractionated irradiation. *Radiat. Res.*, 32: 227-239, 1967
- 11) Denekamp, J.: Changes in the rate of repopulation during multifraction irradiation of mouse skin. *Brit. J. Radiol.*, 46: 381-387, 1973
- 12) Douglas, B.G. and Fowler, J.F.: The effect of multiple small doses of X-rays on skin reac-

- tions in the mouse and a basic interpretation. *Radiat. Res.*, 66: 401—426, 1976
- 13) Fowler, J.F., Bewley, D.K., Morgan, R.L. and Silvester, J.A.: Experiments with fractionated X-irradiation of the skin of pigs. II. Fractionation up to five days. *Brit. J. Radiol.*, 38: 278—284, 1965
- 14) Masuda, K.: Effects of some physiological conditions on the radiosensitivity of mouse skin. 2. Anatomic site and positioning during irradiation. *Nipp. Acta Radiol.*, 39: 884—889, 1979
- 15) Rubin, P. and Casarett, G.W.: *Clinical radiation pathology*. p. 102, 1968, W.B. Saunders Company, Philadelphia, London and Toronto
- 16) Masuda, K.: Effects of some physiological conditions on the radiosensitivity of mouse skin. 1. Hair shaving. *Nipp. Acta Radiol.*, 39: 878—883, 1979
- 17) Denekamp, J. and Fowler, J.F.: Further investigations of the response of irradiated mouse skin. *Int. J. Radiat. Biol.*, 10: 435—441, 1966
- 18) Elkind, M.M. and Sutton, H.: X-ray damage and recovery in mammalian cells in culture. *Nature*, 184: 1293—1295, 1959
- 19) Bewley, D.K., Field, S.B., Morgan, R.L., Page, B.C. and Parnell, C.J.: The response of pig skin to fractionated treatments with fast neutrons and X-rays. *Brit. J. Radiol.*, 40: 765—770, 1967
- 20) Whitmore, G.F., Till, J.E. and Gulyas, S.: Radiation-induced mitotic delay in L-cells. *Radiat. Res.*, 30: 155—171, 1967
- 21) Burlin, T.E., Challoner, A.V.J., Magnus, I.A. and Szur, L.: The effect of divided doses of X-rays on the regrowth of hair in the mouse. *Int. J. Radiat. Biol.*, 23: 121—131, 1973
- 22) Fowler, J.F., Denekamp, J., Delapeyre, C., Harris, S.R. and Sheldon, P.W.: Skin reaction in mice after multifraction X-irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 25: 213—223, 1974
- 23) Masuda, K. and Withers, H.R.: Method of constructing a dose-response curve for normal cells in situ. *Brit. J. Radiol.*, 49: 351—356, 1976
- 24) Thames H.D. Jr., Withers, H.R., Mason, K.A. and Reid, B.O.: Dose-survival characteristics of mouse jejunal crypt cells. *Int. J. Radiat. Oncology Biol. Phys.*, 7: 1591—1597, 1981
- 25) Potten, C.S.: The cellular and tissue response of skin to single doses of ionizing radiation. (In *Current Topics in Radiation Research Vol. 13* ed by Ebert, M. and Howard, A. pp. 1—59, North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 1978)
-