



Title	腫瘍の局所照射が自然肺転移におよぼす影響と免疫賦活剤によるその修飾
Author(s)	茂松, 直之
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1990, 50(9), p. 1139-1146
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/15897
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

腫瘍の局所照射が自然肺転移におよぼす影響と 免疫賦活剤によるその修飾

慶応義塾大学医学部放射線科学教室（指導：橋本省三教授）

茂 松 直 之

（平成2年2月6日受付特別掲載）

（平成2年7月16日最終原稿受付）

Modification of Spontaneous Lung Metastasis by Local Radiation Combined with or without Immunomodifier

Naoyuki Shigematsu

Department of Radiology, Keio University, School of Medicine

Research Code No. : 407

Key Words : Spontaneous lung metastasis, Radiotherapy,
Immunomodifier

This study was carried out to determine the effect of local irradiation of the NFSa tumors on the incidence of lung metastases. The spontaneous lung metastases were found in those animals whose tumors were grown in size bigger than 10 mm in diameter. The incidence of metastases and the number of lung nodules were increased in those animals of irradiated group when compared to those of control group with the same size. This is probably because the irradiation of tumors resulted some retardation in their growth and thus, the irradiated tumors took a longer time to reach a given size than those unirradiated control tumors. The incidence of spontaneous lung metastases was significantly reduced by subcutaneous administration of OK-432 (2.5KE/mouse) locally into the surroundings of the tumor immediately after irradiation. The administration of OK-432 after the metastasis development was no longer effective. Both of intraperitoneal and subcutaneous administrations of OK-432 into opposite side of unirradiated thigh showed no suppression of metastasis. These results suggest that an appropriate immunostimulation combined with radiotherapy may be important for the suppression of tumor metastases.

はじめに

癌の治療成績は、早期癌患者が全体の中で占める割合が多くなったことや、局所治療法の改良により向上した。しかし、これらの局所療法が進歩しているにもかかわらず、癌患者全体の治療成績がめざましく改善しないのは、遠隔転移の発生がその主な要因になっていると思われる^{1)~3)}。早期癌患者でも、予想外に遠隔転移があったり、局所治療に成功しても後に遠隔転移が出現し、結局治

療としては不成功に終わることは周知のごとくである。したがって、遠隔転移の出現はどのようにして発生するのか、その予防が可能であるか否かは今後の癌治療における最大の課題の一つと考えられる。実験的には放射線照射が局所腫瘍の転移を促進するという報告もあるが、放射線照射そのものは転移を促進することはないという報告もあり⁴⁾、必ずしも確立した結果は得られていない。化学療法などによる遠隔転移の治療が十分な効果を

あげていない現状では、遠隔転移を発生させないことが癌の治療成績を改善させる近道と思われる。実験的には、転移を抑制する手段のひとつとして、免疫賦活剤の併用が報告されており^{6)~7)}今後の課題である。

本研究は、癌治療の有力な手段の一つである放射線治療において、腫瘍の制御が一次的に成功しない場合、遠隔転移がどのように発生しているのか、その予防法はあるのか、免疫賦活剤の転移抑制作用はあるのか等の問題について、動物実験により検討を行い、若干の知見を得たので報告する。

材料と方法

1. 実験動物と移植腫瘍

C₃H 雄マウスを静岡実験動物センターより8週齢で購入し、クリーンラックで5~7日間飼育後、実験に供した。

移植腫瘍はC₃H マウスに自然発生し、免疫原性の極めて少ない線維肉腫(NFSa)を用いた⁸⁾。液体窒素下に凍結保存したものをマウス皮下に移植し、直径2cmの時点で摘出した。摘出した腫瘍より壊死部分を除去し、トリプシン処理を行って単一細胞浮遊液を作製した。トリパンプルーによる腫瘍細胞のviabilityは約90%であった。腫瘍細胞はマウスの右大腿部皮下に、 $2 \sim 3 \times 10^5$ /mouseを移植した。移植後、ノギスを用いて腫瘍径の3方向を週3回以上測定し、3腫瘍径の平均値を腫瘍サイズとした。

2. 放射線照射

右大腿部に移植した腫瘍が7mmに達した時点で、腫瘍に対する放射線照射を行った。6MeVリナック電子線(三菱ML6MA)を線量率3Gy/minにて用いた。マウスは無麻酔下に固定器具に固定し、右下肢上に5mm厚の水等価物質(フローテーション・ベット・パット、サクラ医療器)をボラスとして載せた。

3. 薬剤

免疫賦活剤として、OK-432を使用した。OK-432(中外製薬(株)より供与された)は、50KE/vialの中に生理食塩水を0.4ml注入して溶解し、腫瘍部の皮下に(一実験では腹腔内に)マイクロシリンジを用いて週2回0.02ml(2.5KE)投与した。



Fig. 1 Metastatic lung nodules which spontaneously developed from NFSa tumor transplanted to the right thighs.

OK-432の投与を行わなかった対照群には同部位に生理食塩水0.02mlの投与を行った。

4. 下肢切断と自然肺転移

いくつかの実験では、右大腿部に移植した腫瘍があるサイズに達した時点で、60mg/kgのペントバルビタール麻酔下に右下肢の切断を行い腫瘍を除去した⁹⁾。下肢切断時まで発生した自然肺転移を肉眼的に算定できるようにするため、切断後18日間転移巣が増殖するのを待って肺を摘出した。摘出した肺はブアン液にて固定し、肺表面に認められる転移結節数を肉眼的に算定した(Fig. 1)。右下肢の切断を行わない場合には、腫瘍サイズが20~21mmに達した時点で肺を摘出して転移結節数の算定を行った。

5. 統計的評価

実験結果の評価は、ノンパラメティック Mann-Whitney U testを用いた。P値が0.05未満の場合に有意差があると判定した。

結 果

1. 放射線照射が腫瘍増殖におよぼす影響

Fig. 2は、腫瘍が7mmに達したところで、30Gyの照射を行い腫瘍を治療した群と、無処置の群の腫瘍の増殖曲線を示している。腫瘍が7mmに達したところで放射線治療を行うと、腫瘍の増殖は遅延する。しかし、30Gyではこの腫瘍を制御することはできず、最終的には全ての腫瘍が増大している。すなわち、今回の実験は放射線治療を行った場合、腫瘍が放射線抵抗性のために増殖遅延効果しか得られないモデルとなっている。

2. 放射線治療が転移の発生におよぼす影響

右下肢に移植した腫瘍に対し、7mmで30Gyの局所放射線治療を行った場合と非照射腫瘍につい

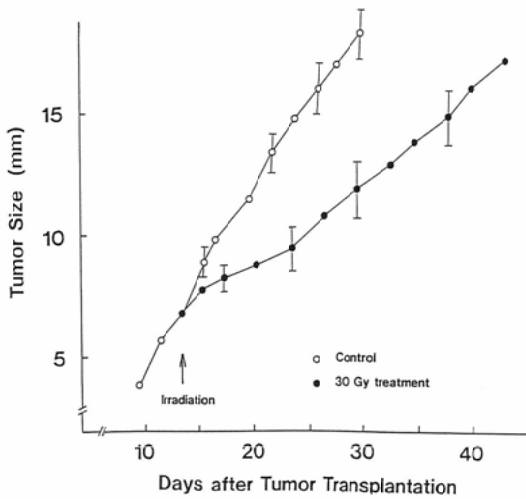


Fig. 2 Growth of NFSa tumor, which were untreated or received irradiation when the tumor grew 7mm of size with 30Gy single dose of electron beams. The curves trace growth in untreated (○), and irradiation received (●) mice. Bars are S.E. of the mean.

て、肺転移の発生を検討し Fig. 3 に示した。いずれの場合も腫瘍サイズが 6～15mm に達した後、右下肢を切断して腫瘍を除去し、この腫瘍サイズに達するまでに発生した自然肺転移の結節数と、腫瘍サイズの関係を示している。無治療の場合は、腫瘍サイズが 10mm を越えると自然肺転移が発生し、腫瘍が大きくなると転移の頻度と肺転移結節数が増加した。例えば、腫瘍サイズが 12mm 未満では、転移の頻度は 14% で平均結節数は 0.3 個であったが、12mm 以上では 65% で結節数は 2.6 個となり差異を認めた。一方、放射線治療群では、10mm 以下の腫瘍にも転移が認められ、13mm 以

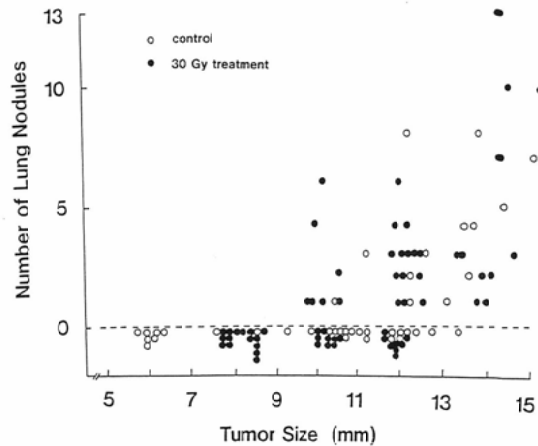


Fig. 3 Relationship between number of lung nodules and tumor size at amputation. Mice were transplanted NFSa cells in the right thighs which were untreated (○), or received irradiation when the tumor grew 7mm of size (●) with 30Gy single dose of electron beams. Mice were killed 18 days after leg amputation and the number of lung nodules were scored macroscopically.

上の腫瘍では全例に転移が出現した。腫瘍サイズ 12mm 以上と未満で転移の頻度を比較すると、40% と 92% となり有意差があったが、平均転移結節数はそれぞれ 1.0 個と 3.5 個で有意差とならなかった。

無治療群と放射線治療群において、腫瘍サイズごとの肺転移発生頻度を Table 1 にまとめて示した。腫瘍サイズ 9～11mm で比較すると、無治療群は 11% であったが放射線治療群は 44% となり、後者に多発する傾向がみられた ($0.05 < p < 0.1$)。11mm 以上に達すると両群ともに高頻度に転移が発生し差異は認められなかった。

Table 1 Relationship between tumor size at amputation and lung metastasis with or without local radiotherapy.

Tumor size (mm)	No treatment		30Gy treatment	
	No. of mice	No. of mice with metastasis	No. of mice	No. of mice with metastasis
5-7	7	0(0%)	—	—
7-9	2	0(0%)	15	0(0%)
9-11	9	1(11%)	16	7(44%)
11-13	14	4(29%)	22	14(64%)
13-15	8	7(88%)	11	11(100%)

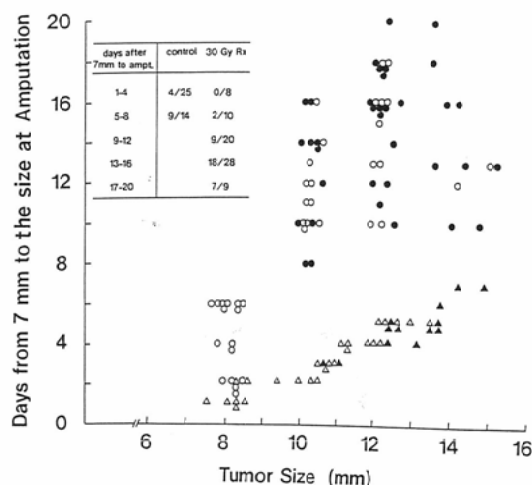


Fig. 4 Relationship between tumor size at amputation and days from 7mm size to amputation. Mice were transplanted NFSa cells in the right thighs which no treated (Δ , $\blacktriangle$) and received irradiation when the tumor grew 7mm of size ($\circ$, $\bullet$) with 30Gy single dose of electron beams. Mice were killed 18 days after leg amputation, some showed no lung nodules (open symbols) and others showed spontaneous lung metastasis (closed symbols).

Fig. 4 は、無治療の腫瘍と30Gyの放射線治療を行った腫瘍について、右下肢の切断を行った時の腫瘍のサイズと、7mm（照射時）の腫瘍がそのサイズに達するまでの日数の関係を示し、その時の自然肺転移の有無を示した。無治療群は、放射線治療を行ったものより早期に腫瘍が発育し、7mmに達した後、下肢切断時のサイズに達するまでの期間は短かった。この場合、7mmに達した日から3日以上経過しないと転移は発生しなかった。一方、放射線治療を行った群では発育が遅延し、照射後8日以上経過しないと転移は発生しなかった。すなわち、放射線治療を行った群では、腫瘍の照射後一定期間以上経過しないと転移は起こらず、無治療群より遅れて転移が出現してきた。腫瘍の切断を行うまでの期間を、4日毎にまとめてFig. 4の上方に示したが、5～8日後に下肢の切断を行った場合、無治療群は64%に転移がみられたが、治療群では20%で有意差を認めた ($p < 0.05$)。

3. OK-432の転移におよぼす影響

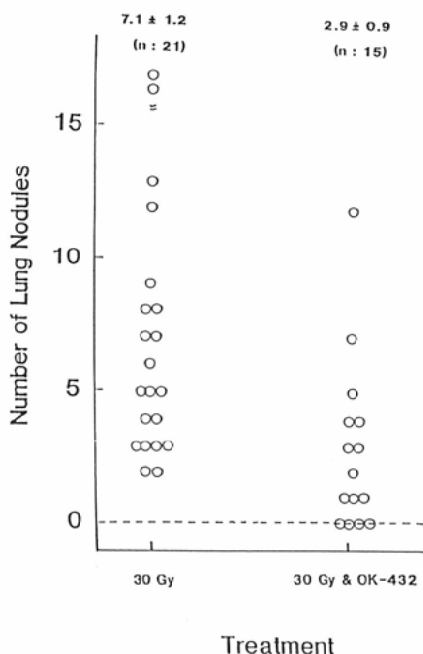


Fig. 5 Effect of OK-432 on lung metastases in mice received irradiation (at 7mm size of tumor) with 30Gy single dose of electron beams. OK-432 administration was started immediately after irradiation and given locally into the normal tissue around the tumor in dose of 2.5KE twice a week. The difference between radiation alone and combined radiation and OK-432 groups is significant by Mann-Whitney U test ($p < 0.02$).

本研究では7mmサイズの腫瘍を30Gyの1回照射で治療し、腫瘍の照射直後より2.5KEを週2回、腫瘍周囲の皮下に局注し、腫瘍が12mmに達したところで右下肢の切断を行った。すなわち、放射線治療を行った腫瘍からの自然肺転移が、OK-432により抑制されるか否かの検討を行い、結果をFig. 5に示した。OK-432を投与していない場合は、21匹全部に転移が発生し、平均転移結節数は7.1個であったが、OK-432投与群では、転移の発生率は73% (11/15)と低下し、転移結節数も2.9個と減少した ($p < 0.02$)。放射線照射30GyとOK-432を併用しても、右下肢に移植した腫瘍の増殖速度は放射線単独群と同様で、腫瘍増殖抑制効果は認められなかった(Fig. 6)。したがって、OK-432の局所投与は照射後の局所腫瘍の発育に影響を与えなかったが、自然肺転移を有意に抑制

Table 2 Effect of the timing of OK-432 administration on lung metastasis.

Treatment	No. of mice	No. of mice with metastasis	No. of lung nodules (Mean $\pm$ S.E.)
30 Gy only	21	21(100%)	7.1 $\pm$ 1.2
30 Gy & OK-432 before amputation*	15	11(73%)	2.9 $\pm$ 0.9***
after amputation**	14	13(93%)	5.6 $\pm$ 1.1

*Administration of OK-432 was started immediately after radiotherapy (30 Gy), twice a week until leg amputation.

**Administration of OK-432 was started after amputation to the counter side legs, twice a week until killing the mice.

***The difference between radiation alone and radiation + before amputation OK-432 administered groups is significant by Mann-Whitney U test ($p < 0.02$).

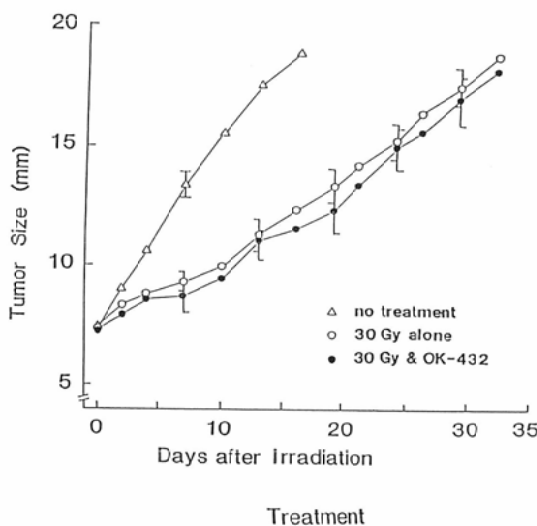


Fig. 6 Growth of NFSa tumor which were untreated and received irradiation (at 7mm size of tumor) with or without OK-432 administration. Tumors were irradiated with 30Gy single dose of electron beams and OK-432 administration was started immediately after irradiation and given locally into normal tissue around the tumor in dose of 2.5KE twice a week. The curves trace growth in untreated (Δ), irradiation alone ($\circ$) and combined irradiation therapy and OK-432 treated ($\bullet$) mice. Bars are S.E. of the mean.

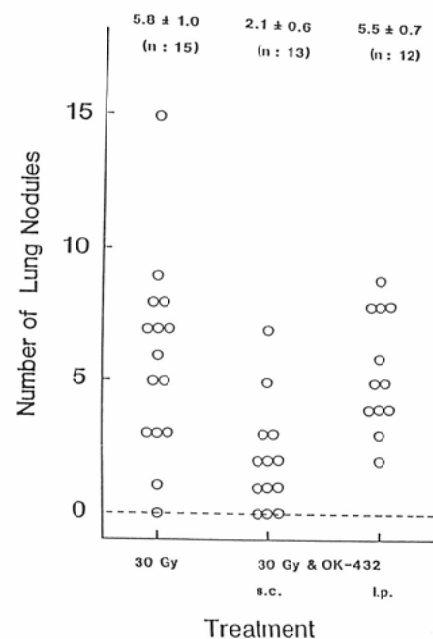


Fig. 7 Effect of the difference of OK-432 administration site on lung metastasis in mice received irradiation (at 7mm size of tumor) with 30Gy single dose of electron beams. OK-432 was given locally into the normal subcutaneous tissue around the tumor or intra-peritoneum in dose of 2.5KE twice a week. The difference between subcutaneous and intra-peritoneal OK-432 administration groups is significant by Mann-Whitney U test ($p < 0.05$).

した。

OK-432の投与開始時期の違いによる転移抑制効果を検討し Table 2 に示した。腫瘍が12mmに達した時点で右下肢の切断を行ったが、一群は放射線治療直後より、OK-432の腫瘍周囲皮下投与を開始し、右下肢の切断時まで続けた。他群では右下肢の切断直後より、反対側の左下肢にOK

-432の投与を開始し、マウスを殺し肺の摘出時まで続行した。照射から切断までの期間にOK-432を投与した場合は、転移の発生率は73%、転移結節数は2.9個と、OK-432非投与群に比べ自然肺転移が明らかに抑制された($p < 0.02$)。これに対し、

腫瘍が12mm まで成長し、肺転移の形成が推測される段階で右下肢の切断を行い、その後、OK-432の投与を開始した群では転移の発生率は93%、転移結節数も5.6個となり、OK-432による有意な肺転移の抑制は認められなかった。

4. OK-432の投与方法による効果の差異

7mm の腫瘍に対して30Gy の照射を行い、照射直後より週2回 OK-432 2.5KEを投与したが、OK-432の投与方法による違いが、転移の抑制におよぼす影響について検討した。すなわち、OK-432を腫瘍周囲の皮下に局所投与した場合と、腹腔内に投与して全身的作用を期待した場合と比較して、肺転移の発生を Fig. 7 に示した。

OK-432を腫瘍周囲皮下に投与した群では、腹腔内投与群に比べ肺転移発生率、肺転移結節数とも有意に少なかったが ($p < 0.05$)、腹腔内投与群は放射線単独群との間に有意差を認めなかった。

考 察

転移の発生機序に関しては様々な考え方があるが、大きく分けて2つの流れがある。第一はB16腫瘍を用いた実験に代表され、特殊な形質を持つ細胞の出現を仮定している¹⁰⁻¹⁶。すなわち、腫瘍細胞が無秩序な分裂を繰り返している間に、転移形成能力を持つ細胞が出現するというものである。これに対して第二は、全てのclonogenic細胞に転移を起こす能力があり、実際に転移巣を形成するか否かは転移形成過程におけるat randomな現象であるという考え方である¹⁷。本実験に用いた腫瘍は、自然肺転移を発生させ、転移巣を摘出して他のマウスに移植を繰り返して行っても、転移を高頻度に発生させる腫瘍株は分離されなかった¹⁸。したがって、本腫瘍の転移の発生は腫瘍細胞の形質の変化より、血中に流出する細胞数の増加によるところが大きいと考えられる。

無治療の腫瘍の場合、腫瘍サイズが10mm を越えると転移が発生し、12mm 以上になると高頻度に転移が起こり、転移結節数も増加した。すなわち、腫瘍サイズが大きくなると転移の頻度が上昇し、転移結節数も増加傾向を示した。一方、放射線治療群では9mm を越えると転移が発生し、無治療群より小さな腫瘍サイズで転移が発生してい

た。腫瘍サイズの増大とともに、無治療群と同様に、転移頻度や転移結節数は増加する傾向が認められたが、著明でなかった。これは照射群では割合小さな腫瘍サイズ(9~12mm)で転移が多く発生したため、大きなサイズとの差が明確にできなかったことによるものと思われる。腫瘍が7mm に達した後下肢の切断までの期間と転移の発生を検討すると、無治療群では4~8日後に転移が多発していたが、治療群では8日以上経過しないと転移は発生しなかった。すなわち、治療群は無治療群に比べて小さな腫瘍サイズで転移を発生したが、発生時期は遅れた。この遅れた理由としては、腫瘍の局所照射を行った場合の、腫瘍より血中に流出する細胞数の減少が考えられる¹⁹。すなわち、腫瘍を照射すると腫瘍サイズは減少しなくても腫瘍内のviable cellsは著しく減少し²⁰、さらに間質の血管産生も傷害され²¹、血流低下などの間質環境が変化することなどにより、血中に流出する細胞数が減少すると考えられる。血中に流出する細胞数の増加と肺転移巣の増加の間には相関が報告されている²²。しかし本実験で、照射された腫瘍は同一サイズの非照射腫瘍に比べ転移が多い点が矛盾している。この2つの現象を併せて考えると、照射群では単位期間あたりの腫瘍細胞の血中流出数は減少するが長期間にわたるため、総細胞数としては増加している可能性が考えられる。この実験は再発腫瘍で照射部位に発育する腫瘍であり、前もって移植部位に照射した腫瘍での実験(Tumor bed effect: TBE)と同様に見なすこともできる^{23,24}。TBEと肺転移の報告では照射部位に腫瘍を移植した場合、非照射群の同じサイズの腫瘍に比べて自然肺転移は増加し²⁵、この現象は照射後数時間から半年間位持続すると報告されている²⁶。照射部位で発育している腫瘍よりの転移の増加する機序として、照射により血管・リンパ管の透過性が亢進すると仮定する報告^{25,27}と、腫瘍の発育遅延により非照射群と同一腫瘍サイズに達するまでの期間が長くなり、単に転移を起こす機会が多くなるという考え方がある²⁶。本実験の照射後の腫瘍よりの転移の場合、腫瘍細胞そのものも照射されるため形質の変化や、サイズで比較

しているが実際の生存腫瘍細胞数やその構成の違いなどの因子が加味され複雑となる。しかしいずれにしても、腫瘍がある一定サイズに達しないと転移は発生しなかった。照射された腫瘍は非照射腫瘍に比べ小さいサイズで転移を起こす可能性があることを临床上注意が必要である。

本腫瘍の転移抑制のためには、転移が発生する以前に免疫賦活剤 OK-432 の腫瘍周囲投与を開始することが有効であった。しかし転移の成立後は薬剤を投与しても減少させることはできなかった。一般的に免疫賦活剤による転移の修飾は、転移成立以前に投与すると著効を示すが、転移が成立した後では効果がなく、この点からは他の薬剤と同様である¹²⁾。ただし OK-432 では、自然肺転移に対しては腫瘍周囲に局注した場合にのみ有効で、全身的な投与では効果は期待できなかった。その作用機序については不明であるが、局注した OK-432 の作用についてはいくつかの報告がある²⁸⁾²⁹⁾。向井らは放射線と OK-432 を併用した場合、局注すると腫瘍内に多くのリンパ球浸潤が認められ放射線の治療効果を増強すると報告し²⁹⁾、腫瘍内の viable な細胞数を減少させている可能性が考えられる。しかし、今回の実験では腫瘍の増殖曲線上は併用群と照射単独群の間に明らかな差異はなく、腫瘍細胞の減量が起こっていたか否か不明である。一方、局注した OK-432 は腫瘍細胞の血中への流出を減少させることが示唆されており³⁰⁾、何らかの機序により流出する細胞が減少したことが考えられる。この意味からも転移の抑制には、血中への腫瘍細胞流出を抑制することが重要因子となっているものと推測される。

初回治療時にすでに転移の発生している場合、その治療はきわめて難しいと考えられるが、まだ転移の起こっていない場合は、初回治療時に腫瘍細胞の血中への流出を抑制することができれば、転移を減少させ、癌治療の成績を向上できるのではないかと考えられる。

まとめ

C₃H マウスに自然発生した線維肉腫(NFSa)を C₃H マウスの右大腿部皮下に移植し、これより発

生する自然肺転移が、放射線照射により受ける影響および免疫賦活剤によるその修飾について研究を行った。この腫瘍からの自然肺転移は、移植した腫瘍サイズが直径10mmを越えると出現した。一方、移植腫瘍が7mmに増殖した後に30Gyの放射線照射を行うと、非照射群に比べて小さな腫瘍サイズで肺転移が出現した。すなわち、同一腫瘍サイズで比較すると、照射群では肺転移の頻度も、転移結節数も増加した。この理由として、放射線照射により腫瘍の発育速度が遅延し、非照射群と同一のサイズに達するまでの期間が延長することによるものと思われた。

本腫瘍からの自然肺転移は、免疫賦活剤 OK-432 の腫瘍部局注により、明らかに減少した。しかし、転移発生後に薬剤の投与を開始しても、転移を抑制することはできなかった。これらの実験結果は、腫瘍が放射線単独での制御が難しいと推測される場合、転移の発生を抑制するためには、放射線照射開始とともに免疫賦活剤等の併用が勧められることを示唆するものと考えられた。

本研究の一部は第48回日本癌学会総会(平成元年名古屋)において発表した。また、文部省科研費(課題番号63570497)、伊東テルミー研究助成金(平成元年度)によって記して謝意を表します。直接に御指導を頂いた伊東久夫助教授、照射に御協力頂いた教室員および放射線治療室の技師諸氏、ならびに実験に御協力頂いた山田佐世子さん、御指導御校閲を頂いた橋本省三教授に深謝します。

文 献

- 1) Poste G: Pathogenesis of metastatic disease: Implications for current therapy and for the development of new therapeutic strategies. *Cancer Treat Rep* 70: 183-199, 1986
- 2) Fidler IJ, Poste G: The cellular heterogeneity of malignant neoplasms: Implications for adjuvant chemotherapy. *Semin Oncol* 12: 207-221, 1985
- 3) Lee Y-TM: Patterns of metastasis and natural courses of breast carcinoma. *Cancer Metastasis Rev* 4: 153-172, 1985
- 4) Hahn EW, Alfieri AA, Kim JH: The significance of local tumor hyperthermia/radiation on the production of disseminated disease. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 5: 819-823, 1979
- 5) Milas L, Hunter N, Mason K, et al: Immunological resistance to pulmonary metastases in C3Hf/Bu mice bearing syngeneic fibrosarcoma of different sizes. *Cancer Res* 34: 61-71, 1974

- 6) Milas L, Hunter N, Ito H, et al: Studies on the antitumor activities of pyrimidinone-interferon inducers. Part 2 potentiation of antitumor resistance mechanisms. *Clin Expl Metastasis* 3: 213—222, 1983
- 7) Kijima-Suda I, Miyazawa T, Itoh M, et al: Possible mechanism of inhibition of experimental pulmonary metastasis of mouse colon adenocarcinoma 26 sublines by a sialic acid: Nucleoside Conjugate. *Cancer Res* 48: 3728—3732, 1988
- 8) Murray DW, Jenkins T, Meyn RE: The efficiency of DNA strand-break repair in two fibrosarcoma tumors and in normal tissue of mice irradiated in vivo with X rays. *Rad Res* 100: 171—181, 1984
- 9) Milas L, Mason K, Withers HR: Therapy of spontaneous pulmonary metastases of murine mammary carcinoma with anaerobic carbynebacteria. *Cancer Immunol Immunother* 1: 233—237, 1976
- 10) Fidler IJ: Review: Biologic heterogeneity of cancer metastasis. *Breast Cancer Res Treat* 9: 17—26, 1987
- 11) Fidler IJ, Hart IR: Biological diversity in metastatic neoplasms: Origins and implication. *Science* 217: 998—1003, 1982
- 12) Poste G, Fidler IJ: The pathogenesis of cancer metastasis. *Nature* 283: 139—146, 1980
- 13) Heppner GH: Tumor heterogeneity. *Cancer Res* 44: 2259—2265, 1984
- 14) Gavilondo J, Fernandez A, Lage CA: Neoplastic progression evidenced in the L929 cell system. I. Selection of tumorigenic and metastasizing cell variants. *Neoplasia* 29: 269—279, 1982
- 15) Fidler IJ, Kripke ML: Metastasis results from preexisting variant cells within a malignant tumor. *Science (Wash DC)* 197: 893—895, 1977
- 16) Heppner GH, Miller BE: Therapeutic implications of tumor heterogeneity. *Semin Oncol* 16: 91—105, 1989
- 17) Weiss L: Random and nonrandom processes in metastasis and metastatic inefficiency. *Invas Metast* 3: 193—207, 1983
- 18) Milas L, Peters LJ, Ito H: Spontaneous metastasis: Random or selective? *Clin Expl Metastasis* 1: 309—315, 1983
- 19) Suzuki N: Radiation response of “clonogenic” tumor cell release from NFSa2ALM1 tumor. *Radiat Res* 98: 649—655, 1984
- 20) Hermens AF, Barendsen GW: Changes of cell proliferation characteristics in a rat rhabdomyosarcoma before and after X-irradiation. *Eur J Cancer* 5: 173—189, 1968
- 21) Saeki Y, Shimazaki S, Urano M: Radiation effect on the vascularization of a C3H mouse mammary carcinoma. *Radiology* 101: 175—180, 1971
- 22) Graves D: Correlation between circulating cancer cells and incidence of metastases. *Br J Cancer* 48: 665—673, 1963
- 23) Milas L, Hunter N, Ito H, et al: Effect of tumor type, size, and endpoint on tumor radio-protection by WR-2721. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 10: 41—48, 1984
- 24) Suit HD, Sedlacek R, Fagundes L, et al: Time distribution of recurrences of immunogenic and nonimmunogenic tumors following local irradiation. *Radiat Res* 73: 251—266, 1978
- 25) van den Brenk HAS, Crowe MC, Stone MG: Reactions of the tumour bed to lethally irradiated tumour cells, and the Revesz effect. *Br J Cancer* 36: 94—104, 1977, 14
- 26) Milas L, Hunter N, Peters LJ: The tumor bed effect: Dependence of tumor take, growth rate, and metastasis on the time interval between irradiation and tumor cell transplantation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 13: 379—383, 1987
- 27) Rappaport DS, Brown JM: Influence of localized preinoculation of the foot on lymphatic metastasis from a primary tumor growing in the foot. *Radiat Res* 78: 108—121, 1979
- 28) 穀内勇夫, 森 武貞, 弥生恵司, 他: OK-432 に対する Delayed Hypersensitivity と抗腫瘍効果. 第2報, OK-432 腫瘍内投与による抗腫瘍効果と遅延型過敏反応との関連について, 日外会誌, 86: 758—265, 1985
- 29) Mukai M, Ando K, Koike S, et al: Effect of combination therapy of radiation and local administration of OK-432 on a murine fibrosarcoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 17: 125—130, 1989
- 30) 鈴木紀夫, 水越てるみ: OK-432 によるマウス腫瘍転移の抑制効果, 放射線と免疫併用療法研究会, 第4回, p57—68, 1988