



Title	ラット移植腫瘍RIB5に対するX線照射の効果修飾因子について 1) 5%Co2+95%O2混合ガス常圧下吸入時のX線1回照射のRIB5腫瘍に対する効果
Author(s)	渡辺, 哲敏; Thomlinson, R. H.
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1968, 27(12), p. 1558-1571
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/16252
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

ラット移植腫瘍 RIB5 に対する X線照射の 効果修飾因子について

- 1) 5% CO_2 + 95% O_2 混合ガス常圧下吸入時の X 線 1 回
照射の RIB₅ 腫瘍に対する効果

渡 辺 哲 敏* R.H. Thomlinson

*東京大学医学部放射線医学教室 (主任: 宮川 正教授)

Medical Research Council Experimental Radiopathology Research Unit, England.

(昭和42年6月13日受付)

Factors Modifying the Effect of Single Dose of X-rays on
Regression of the Transplanted RIB5 Tumour

- I) Effect of Breathing 5% Carbon Dioxide and 95% Oxygen
at Atmospheric Pressure on Tumour Regression

By

Noritoshi Watanabe, M.D*, and R.H. Thomlinson, M.A., M.B., B. Chir.,

Medical Research Council, Experimental Radiopathology Research Unit, Hammersmith Hospital,
Ducane Road, London, W. 12, ENGLAND.

Radiosensitivity of the fibrosarcoma R.I.B.. 5 in rats were studied at various atmospheric conditions. This was done because the radiosensitivity of the tumour can be altered by changing the concentration of oxygen respired during irradiation (Thomlinson and Craddock, 1967) and because the breathing of carbon dioxide has been shown to increase the sensitivity of tumour in mice (du Sault et al, 1963; W.R. Inch et al, 1966).

The tumours were transplanted to form spherical masses beneath the skin of the flank and were irradiated with 250 kv x-rays when they were between 8 and 10 mm. in diameter. One hundred and thirty five tumours were used, and the mean diameter of the tumours at the time of irradiation was 8.8 ± 0.23 mm. Irradiation was given when the animals were breathing the following gases: air, pure oxygen at 3 atms, 5% carbon dioxide and 95% oxygen at atmospheric pressure, and when the tumours had been made anoxic by clamping the circulation.

The results of irradiation were determined from daily measurement of the size of tumours and from the mean time taken by each group of tumours to grow to the diameter of 20 mm.

The radiosensitivity of tumours were divided into aerobic (radiosensitive) fraction and anaerobic, radioresistant fraction.

* Present address: Department of Radiology, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo, JAPAN.

The aerobic fraction increased as oxygen concentration increased and as oxygen pressure increased.

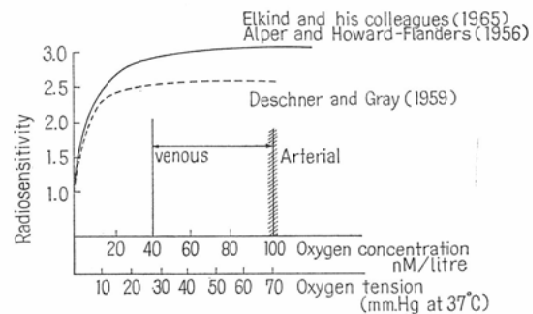
However, there was no significant difference between gas mixture at 1 atm. group and 100% pure oxygen at 3 atm. group when both of groups were irradiated with single dose of 1.500 rads. Therefore, this gas mixture inhalation at atmospheric pressure is entitled to be a chosen therapeutic technique among those investigated.

緒 言

悪性腫瘍の放射線治療において高圧酸素下に照射する所謂 hyperbaric oxygen therapy が最近とり上げられているが、その理論的な裏付けとして、1) 高、低両濃度酸素圧下にある細胞に対する放射線の効果は常に後者に少なく、2) 哺乳動物の体内には低濃度酸素下に生存する細胞が常に存在すること、3) 腫瘍を anoxic の状態におくことにより細胞の放射線感受性は低下する事が挙げられている。これらの所謂、“Oxygen effect” は既に、1909年 Schwarz¹⁾ によつて最初に認められ、その後多くの観察報告がなされて来た (Jolly²⁾, 1924; Mottram³⁾, 1924, 1936⁴⁾; Mottram⁵⁾ and Eidinow, 1932; Crabtree⁶⁾, 1932; Crabtree^{7,8)} and Cramer, 1933, 1934; Lacassagne⁹⁾, 1942; Evans¹⁰⁾, Goodrich and Slaughter, 1942; Thoday¹¹⁾ and Read, 1947; Dowdy¹²⁾, Benett and Chastain, 1950). 併し最近, Gray (1953¹³⁾, 1959¹⁴⁾, 1961¹⁵⁾年) 等によつてなされた報告は、その重要性が人癌の放射線治療に対して認められ、多くの人の注意を引きつけた。

照射の際に存在する酸素濃度と細胞の放射線感受性に対する影響は、まず Alper¹⁶⁾ と Howard-Flanders (1956年) の E. Coli にする実験によつて確認され、次いで Gray と Deschner¹⁷⁾ (1959年) の、又 Elkind¹⁸⁾ (1965年) の報告も見られる。この oxygen concentration (tension) と radiosensitivity との相関々係は Fig. 1 で示される。これと同様の報告は人間の腎細胞を用いた Barendsen¹⁹⁾ (1961年) によつても報告されている。このカーブについて Gray¹³⁾ (1953年) は“酸素濃度が0から上昇するにつれて、radiosensitivity の急速な増加がみられる”と説明している。そして又、その後“いかに酸素濃度が上つても radiosensitivity が殆んど変らなくなる”状態に引きつ

Figure 1. Curves relating the radiosensitivity of cells in arbitrary units to the oxygen concentration in their environment at the time of irradiation (Deschner and Gray: Ehrlich ascites tumour cells, Elkind and his colleagues: Chinese hamster cells; Alper and Howard-Flanders: E. Coli)



がれる事はこのカーブから容易に理解出来る。この傾向は“general in nature, ”であり、放射線治療の際の“oxygen effect”を考える基礎である。最初の急速な感受性の上昇について Gray¹⁵⁾ (1961年) は、もし酸素が4 mmHgのとき、最大効果の $\frac{1}{2}$ に達する事を報告している。そして20 mmHg (mixed venous blood の圧の $\frac{1}{2}$) から1,200 mmHg (100% oxygen $1\frac{1}{2}$ 気圧) に上昇しても、結果的には、10%しか radiosensitivity は上らない事を報告している。この事は酸素を放射線治療に使用する際の根本的な概念になるものである。従つて組織の放射線感受性に対する酸素濃度は、生理学的に正常に血管の分布したものと、明らかに酸素濃度が違っている組織の中の細胞の proportion に大いに関係するものである。ここで必然的に問題となることは、その様に通常の生理的状態と著しく異つた酸素濃度の組織中に“clonogenic cell”があるか、どの程度にあるのか、という事である。このような anoxic clonogenic な少数の細胞のある場所の酸素圧を、もし oxygen electrode で

測定してみても、果してその場所を測定したものであるか、又その場所にある細胞が clonogenic であるかどうかを知る事は極めて困難な問題である。

この問題に対して Gray¹⁵⁾ (1961年) は、Hewitt²⁰⁾ と Wilson (1959年) の data に基いて、anoxic cells の mixed population 中の割合を計算した (Fig. 2)。

Figure 2. Typical cell survival curves for cells under anoxic and oxygenated conditions and a composite curve for a mixed population of 1% anoxic cells in 99% oxygenated cells (Powers and Tolmach)

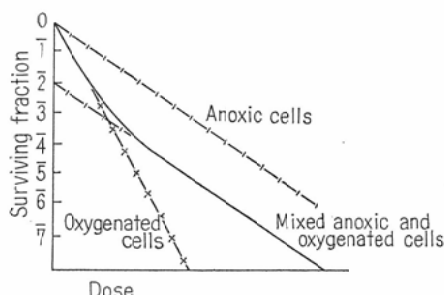
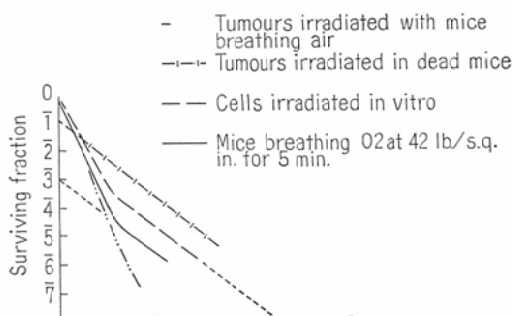


Figure 3. Cell survival curves showing the effect of varying the respired oxygen concentration on the anoxic component of the composite survival curve for a mixed population of cells (Powers and Tolmach)



又、Fig. 3 は Powers²¹⁾ と Tolmach (1964年) の data であるが、これ等の分析から anoxic clonogenic cell は、約 1% 含まれていると考えられている。勿論この巾は広く、腫瘍の中の anoxic な細胞の分布は 0~50% を示しているが、この 1% という数字がもつとも定型的なものとされてい

る。

この anoxic な細胞と aerobic な細胞とを照射して同一の効果をうるには、anoxic の時は、約 2.5~3.0 倍の線量を必要とする。即ちこの時に oxygen enhancement ratio が 2.5~3.0 と云う。

即ち腫瘍の中には血管の分布状態によつて Necrosis (血管より 180 μ をはなれたとき (Thomlinson²²⁾ and Gray, 1955年) の部分を持ち、anoxic によつて放射線障害からまぬかれる相当数の細胞を含んでいる事が推定出来る。そして、これらの anoxic の細胞が何らかの他の対策を立てないことには、普通の放射線治療の際に生き残つて、再発の原因となるものと考えられている。

この Radioresistant な anoxic の細胞 (Fig. 6) に対応する方法として、

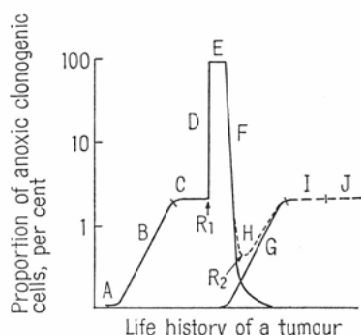
- 1) 特別に anoxic の細胞をねらつて殺す
- 2) 腫瘍の酸素要求をへらす
- 3) 出来だけ酸素圧を上昇させる

などである。

1) について 1 つの試みとして Thomlinson²³⁾ (1963年) の報告がある。RIB₃ tumour をもつ rat を 8% O₂ の中で 24 時間放置後、90 分空气中に戻してから照射すると、かかる前処置なしの 2,900 R は処置後の 2,000 R と同一の效果を得ている。即ち、45% の dose-reduction が得られた。即ち anoxic の細胞が hypoxia の状態を或る期間つづけると死亡する可能性があることを示しているが、人間をこのような hypoxic の条件におく事は危険を伴うことであろう。又 Fig. 5 に示す f_N も一方である。即ち f_N の o.e.r は X-ray よりも小さいからである (Fowler²⁴⁾ and Morgan 1963)。

2) 酸素要求を減少させることによつて anoxic cell の割合を減少させる。この方法としては、生理、化学、薬学などの色んな方法が考えられる。例えば、metabolic rate を減少させるための hypothermia, oxidative enzymes による poisoning 等であるが、いまだ実用面では特別の方法がなされているわけでもない。併し放射線の治療におい

Figure 4. Diagram of changes in the proportion of anoxic clonogenic cells in a tumour.



A, when a tumour is very small there are likely to be no anoxic cells: in some tumours they probably never occur.

B, if any anoxic cells are produced they appear as the tumour grows.

C, the proportion becomes limited to a level characteristic of the type of neoplasm, dependent on its growth rate, degree of differentiation and site.

D, if a dose of radiation be given, R-1, the proportion of anoxic clonogenic cells amongst the survivors of radiation injury rises, perhaps to 100%. E, the proportion remains high until cells divide after irradiation.

F, when cells divide irradiation injury to death, cessation of metabolism and relative increased availability of oxygen; the anoxic proportion therefore falls, at a rate dependent on the cell cycle time of the tumour and the number of injured cells.

G, surviving clonogenic cells re-grow the tumour at a rate dependent on cell-cycle time in the post-irradiation environment.

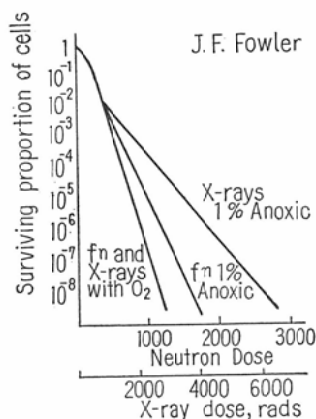
H, the mean proportion of clonogenic cells reaches at a time dependent on the type of tumour and its growth rate, this time is optimal for a second dose, R-2.

I, the characteristic level is restored. J, late irradiation ischemia is not likely to alter the anoxic proportion greatly unless it were previously zero

て最も、そして常に重大な問題である“fractionation,, がこの2) に対して考えられなければならない。

まず、single irradiation で well-oxygenated の細胞は死亡し、若しこのものを十分に殺すに必

Figure 5. Re-plotted experimental cell survival curves for mouse Ehrlich ascites tumour cells as determined by Hornsey and Silini (1963). The survival curves for well-oxygenated cells are superimposed by choosing the dose scales to have a ratio equal to the r , b , e , of 2.2. The anoxic curves are drawn originating from 1 per cent instead of 100 per cent, to represent a tumour containing 1 per cent of anoxic cells



要なだけの線量を照射すれば、hypoxic cells の割合は生存細胞の 100%を占める (Fig. 25) 4). しかし生存細胞は再び増殖し、hypoxic cellsの割合は、再び最初のものと同じになる。この hypoxic cells の割合、再増殖の速度は原則的に云つて、腫瘍細胞の cell cycle time に関係する。従つて hypoxic cells の割合の最高、最低は腫瘍の増殖の速度によつて左右されるものである。この点について Thomlinson²⁵⁾(1966年)は急速に増殖する性質の RIB₅ (Rat) tumour を使用して hypoxic cells の割合の上昇と下降についての実験を行つた。この hypoxic cell の割合が、最低のときが 2nd dose を与える最適の時である。併し、現在この点についての解決はまだ見出されていない。将来 idcal は分割照射の原則が確立すれば、その治療の或る部分において高圧酸素療法との組合せを行い、腫瘍中の anoxic の細胞による問題を完全に解決したいものである。

Fig. 4 の J の部分、即ち fractionation の際の tumour bed に対する影響はよくわかつていないが少くも早期においては、その影響は殆んどない

Figure 6. X-ray and fast neutron doses required to reduce the number of surviving cells to 0.1 (i. e. 90% chance of cure) in tumours of various diameters in oxygenated and anoxic conditions. Neutron doses have been multiplied by the r. b. e. (data used for calculation: X-ray: D_0 —160 rads; o. e. r. —2.5; extrapolation number—2. Neutrons: D_0 —55 rads, r. b. e. —2.9, o. e. r. —1.7, n —2)

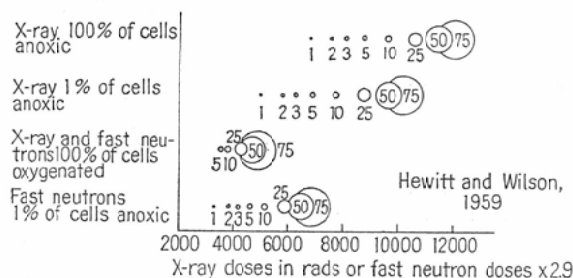
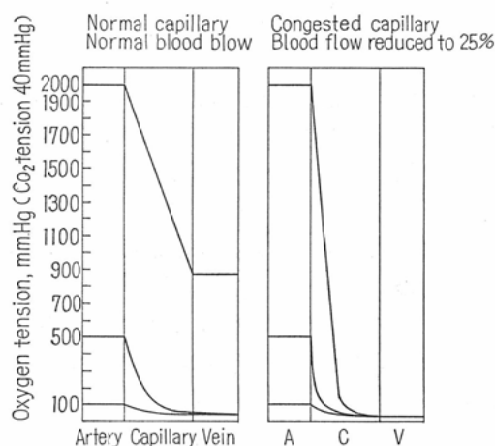


Figure 7. Curves showing the calculated effect of slowing of the capillary circulation on the oxygen concentration in capillary and venous blood. (Churchill-Davidson, Sanger and Thomlinson, 1957) Br. J. Rad



が後期には、bed の ischemia と fibrosis を来し O_2 の利用を減少させるであろう。

3) に対する方法は既に古くから色々と試みられて来た。即ち、 H_2O_2 の静注(Holcroft et al²⁶⁾ 1952年; Silver²⁷⁾ and Cater, 1963年, Mallams Balla and Finney, 1965年) であり, hyperbaric oxygen therapy である。この場合、腫瘍内の血管の分布が最も大切な示標となることは (Thomlinson²⁸⁾, Sanger and Churchill-Davidson 1957 年) により既に発表されている。この関係を Fig.

7に示す。hyperbaric oxygen therapy は、臨床的に1954年以来行われており (Churchill²⁹⁾-Davidson, Sanger and Thomlinson, 1955年, 1957年²⁸⁾, 1960年²⁹⁾ 31) 32), 1966年; Hultorn and Forsberg³³⁾, 1954年), 患者が麻酔なしに安全に耐えられるものは、2~3 atm と考えられている。4 atm に上げると反つて2~3 atm の時に比べて反つて効果が落ちるとされている (肺の傷害, 肺浮腫, 及び Vasospasm; (Thomlinson³⁴⁾, Lambertsen³⁵⁾ and his colleagues, 1955, Dollery³⁶⁾ and his colleagues, 1964年)。併しこれらのことが腫瘍内で実際におこるかどうかについては、はつきりしていない。併しながら du Sault³⁷⁾ (1963年) 及び W.R. Inch³⁸⁾ 等 (1966年) は、5% CO_2 + 95% O_2 1 atm の吸入が、マウスの実験で spontaneous mammary adenocarcinoma, lymphoma を使用して、 O_2 3 atms と殆んど同様の tumour curability を得ている。しかも両者共に本法の副作用が極めて少いことを報告している。5% CO_2 + 95% O_2 1 atm の有効の原因としては、1) blood pressure の増加, 2) 毛細管の拡張, 3) gas exchange の増加が上げられ、又 Lambertsen 等によれば cerebral arteries の vasospasm を減少させると考えられている。

従つて或る種の腫瘍に対して、この混合ガス 1 atms 下の吸入照射の方法が、高圧酸素吸入時の照射とほぼ同等の効果を期待出来るとすれば、

本法は臨床面に於いて、1) 簡易法、2) 安全性、3) 経済性等の利点と共に、極めて魅力ある方法と考えられる。

本文の目的は、Rat の RIB₅ (fibrosarcoma) を用いて、5% CO₂+95% O₂ 1 atm の効果を air, O₂ 3 atm, anoxia, の各実験条件下の照射と比較するものである。又かかる照射方法が通常の (air) 照射の場合とくらべて、転移の促進を行うかどうか、併せて考察する。更らに、du Sault 等の報告に見られる様に、1 atm, pure oxygen と air の場合に、殆んど効果に差がみられないかどうか併せて観察する。

実験材料と実験方法

本実験の材料、方法の詳細については、既に協同実験者の R.H. Thomlinson (1960年³⁹⁾, 1967年²⁵⁾) により報告されているので、簡単にその概略のみを述べるにとどめる。

動物: John's strain の Wister 系 rat の雌を使用、自家繁殖による。腫瘍移植時の体重は約 200 grs 前後であつた。

腫瘍: Benzopyrene の皮下注入により得られた fibrosarcoma で、1945年に確立され、その後引続き使用されており、RIB₅ と命名されている。

腫瘍移植方法: RIB₅ tumour の細片を sodium alginate と混ぜ、1% NaCl に滴下し、tumour 片の表面を Ca-alginate の被膜で形成を見たものを、幼弱ラットの反転した腸に入れ、“sausage”を作り之を rat の腹部、側腹部の皮下に移植する。

この方法で移植された tumour は平均2週間で8~10mm直径となる。

すべての実験は tumour 直径、8~10mm になつた時より開始される。実験順位は予め計画された実験表に、乱数表より得られた数字で順位を決定して行つた。

照射: Marconi Industrial Model X-ray set 250 kV, 15ma, 0.3mmCu+1.0mmAl 400rads/min. Target-mid tumour distance 21cm.

線量は shutter 前面にある monitor で controll した。

Oxygen Chamber: 半球型の pressure chamber の中で照射された。chamber 内の温度は thermostat で 30° ± 2°C に controll されている。照射の前に動物は、Sodium-amylbarbitone で麻酔され、chamber 内に入れ、腫瘍の部分のみが照射された。この際、tumour は何ら外的な traction も support も受けずに全く free の状態におかれた。

正確に腫瘍部分が照射された否かは、照射の前後2回に、歯科用 film を用い、照射部位に正しく固定されたと考えられる位置で expose して、検定した。正しい位置で照射が行われなかつた結果を、film より想定出来るものは実験 data の中から之を除外した。

加圧実験 (pure oxygen 3 atm) の際の処置は、1) まず、4分間 chamber 内の空気を pure oxygen で flush out して、次いで約3分間で圧を 3 atm まで上げ、30分間そのままに加圧した後で、照射を行つた。照射後は1分間で常圧に戻した。2) 5% CO₂+95% O₂ 1 atm のときは、1)の際の処置から、加圧を除いただけで、他は全く同様である。

線量 1. Untreated control

2. in Air. 500, 1,000, 1,500, 2,000, 3,000Rads

3. O₂ 3 atm, 500, 1,000, 1,500, 2,000, 2,500Rads

4. anoxic, 2,000, 3,000, 4,000rads

5. 5% CO₂ 95% O₂ 1 atm, 500, 1,000, 1,500, 2,000, 2,500rads

いずれも Single exposure である。

Anoxic にするには、腫瘍部分を馬蹄型のクリップで照射前6分間 clamp up した。

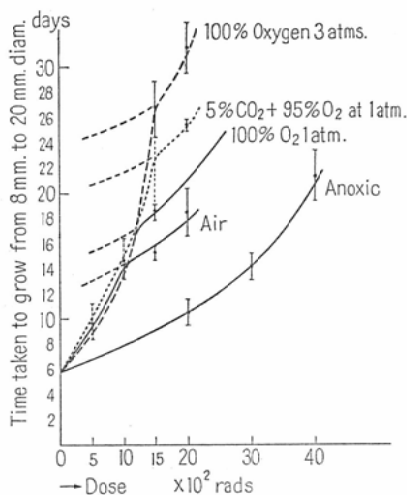
実験条件、動物数、実験開始時の腫瘍の平均直径を一括して Table 1 に示す。

結 果

各実験の結果は毎日の腫瘍直径 (3方向の平均値) を基準とし、最終の分析は、腫瘍照射時の直径 (8~9 mm) から、20mm直径の大きさに至るのに要した日数と線量の関係を各実験群間で比較

Table 1

Type	Number of animals	Mean diameter of tumours (mm.)
Untreated control	7	8.6
Rat breathing air at atmospheric pressure		
500 rads	11	8.7
1000 rads	6	8.6
1500 rads	3	8.8
2000 rads	11	9.1
3000 rads	5	8.9
Rat breathing oxygen at 3 atm.		
500 rads	7	8.8
1000 rads	8	9.0
1500 rads	6	8.7
2000 rads	9	9.0
2500 rads	9	8.9
Rat breathing 5% carbon dioxide and 95% oxygen at atm. pressure		
500 rads	6	8.6
1000 rads	6	8.6
1500 rads	6	8.7
2000 rads	6	8.9
2500 rads	8	8.7
Rat irradiated with tumour anoxic		
2000 rads	9	9.0
3000 rads	6	8.5
4000 rads	6	8.7
total	135	8.8±0.24

Fig. 8. Tumour RIB₅ Response to Single doses of x-rays

検討することによって得られた。この一括表を Table 2 に示し、図表化して Fig. 8 に示す。又、すべての動物は、腫瘍が 25mm 直径をこした場合は、

Table 2

Type of treatment	Time taken to grow from 9 mm. diam. to 20 mm. diam. (days)	95% confidence limits
Untreated control	5.7	0.58
Rat breathing air at atmospheric pressure		
500 rads	9.6	0.26
1000 rads	14.6	1.70
1500 rads	15.3	1.26
2000 rads	18.5	3.80
Anoxic tumours		
2000 rads	10.6	1.80
3000 rads	14.2	2.04
4000 rads	21.4	4.14
Rat breathing oxygen at 3 atm. pressure		
500 rads	9.3	1.12
1000 rads	13.6	1.0
1500 rads	25.5	4.40
2000 rads	31.5	2.20
Rat breathing 5% CO ₂ and 95% oxygen at atm. pressure		
500 rads	10.2	1.4
1000 rads	15.7	1.52
1500 rads	22.8	3.70
2000 rads	25.3	0.44

又は仮令観察期間内でも死亡した場合は、これらを全部検屍し、その際に mediastinal contents, axillar, iliac, inguinal の lymphnode metastases の有無につきしらべた。各部位の転移率はその実験条件、線量、実験開始後の日数、等に従って分析検定した。

腫瘍生育曲線について

1) Untreated control (Fig. 9, 10)

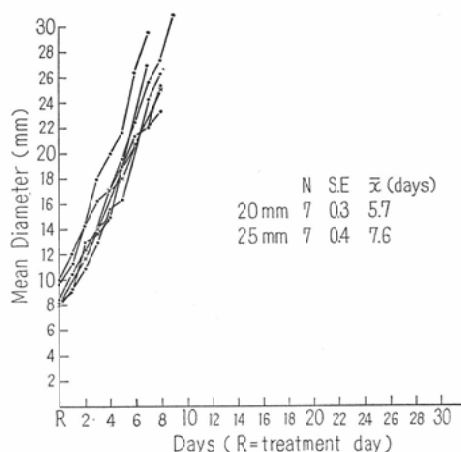
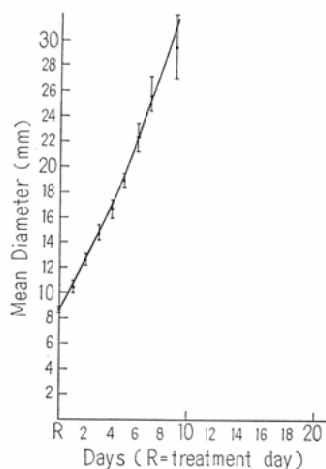
第 9 図に示す様に各個の腫瘍の生育の状態はバラツキも少なく、この RIB₅ 腫瘍にかかる種類の実験に適していることを良く示している。

in Air での実験結果を各線量別に示し、Fig. 11 はそれを一括したものである。

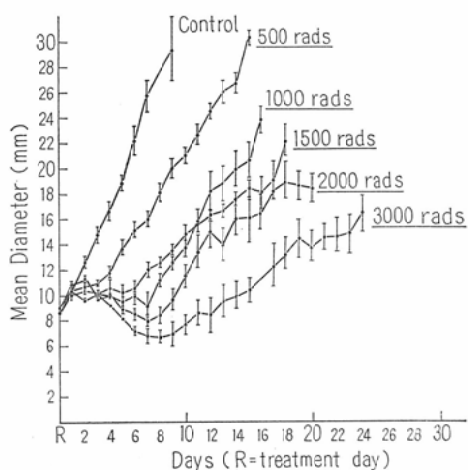
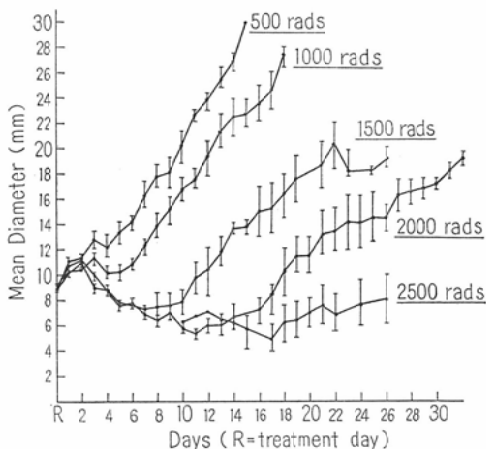
Fig. 12 は pure oxygen 3 atm.

Fig. 13 は 5% CO₂ + 95% O₂ 1 atm.

Fig. 14 は tumour anoxic のときのもあるある。即ち Fig. 14 に示す様に tumour anoxic の場合には、照射の効果を tumour の regression と regrew の speed からみると、他の群にくらべて明らかに、この anoxia の tumour が radio-

Fig. 9. Tumour RIB₅, Untreated controlFig. 10. Tumour RIB₅, Untreated control

resistant であることが理解出来る。又、すべての成長曲線において、照射の線量が大きくなるに従って tumour の regression と regrowing の delay が大きくなっている。Fig.15に示す様に 2,000 rads anoxia の場合は Air, O₂ 3 atm, 5% CO₂+95% O₂ 1 atm の 500rads と同様の効果を示し、又 4,000rads anoxic のときは 2,000rads air の場合と同様の効果しか得られない。今 biological end point を、照射後20日にとると、この RIB₅ tumourの o.e.r.は 3.0となる。Fig. 8, Fig.15¹⁶⁾, 16に示す様に、dose と実験開始より20mm直径になる迄の日数との関係から data を分析すると、

Fig. 11. Tumour RIB₅, Rats breathing airFig. 12. Tumour RIB₅, rats breathing pure oxygen at 3 atm

1,000rads まで、では anoxia の群を除き、実験条件の如何にかかわらず、殆んど同様の効果を示しており、1,000rads を越して O₂ 3 atm, 5% CO₂+95% O₂, air の3者の間に効果の優劣を示し始める。1,500rads になると (air) 群が他の2群にくらべて、より効果が少なくなり、O₂ 3 atm, と 5% CO₂+95% O₂ 1 atm の間には、この Dose-level では両者の間に有意差は認められず、2,000rads の level では、O₂ 3 atm の効果は、5% CO₂+95% O₂ 1 atm よりも有意で優れた結果を示した。即ち 1,000r が RIB₅ の

Fig. 13. Tumour RIB_s, rats breathing 5%CO₂ and 95%O₂ at atm. pressure

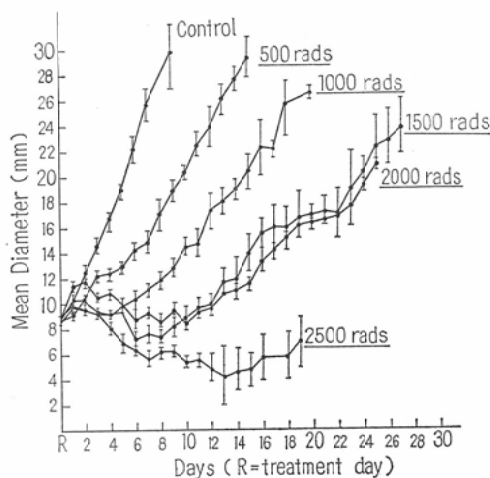


Fig. 14. Tumour RIB_s, tumour anoxic

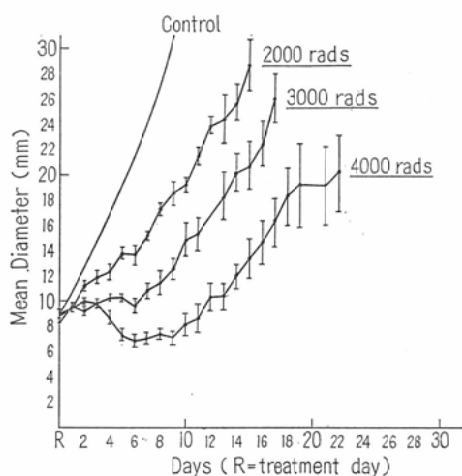


Fig. 15. Tumour RIB_s

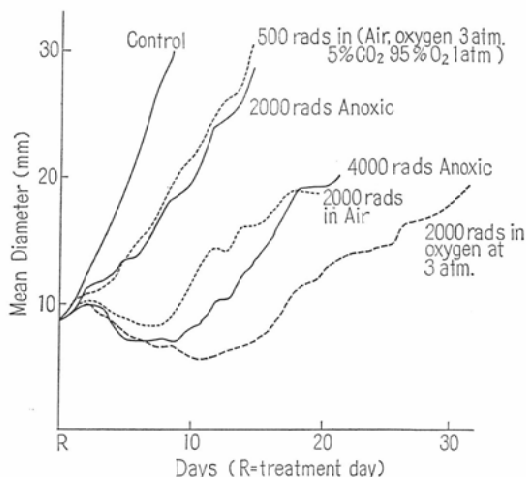
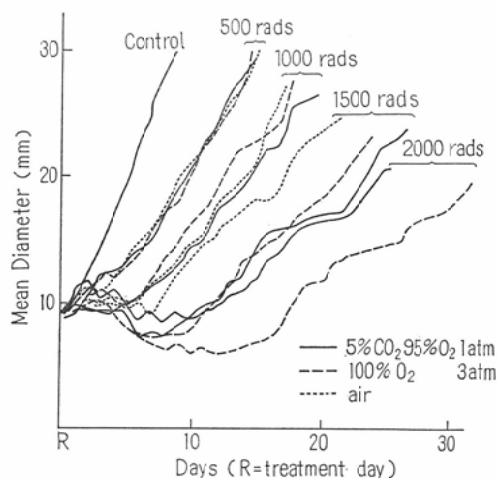


Fig. 16. Tumour RIB_s



transition region of the dose である。

Autopsy の結果を一括して Table 3 に示す。各実験群の間には転移の発生について有意差は認められていない。

Discussion

5% CO₂ を用いての tumour oxygenation の改善については、既に Hollocroft²⁶⁾等 (1951年) の発表があり、最近では du Sault 等 (1963²⁷⁾) W.R.Inch²⁸⁾等 (1966年) のマウスの spontaneous mammary adenocarcinoma, lymphoma を使用し

での発表がみられる。これ等の結果は、混合ガス 1 気圧が pure oxygen 3 atm. の吸入加圧照射とほぼ同様の腫瘍治癒率を上げたことを報告している。その原因としては W.R. Inch²⁸⁾等の発表によれば、5% CO₂ の吸入によつて C₃H 系マウスでは、1) anoxic の部分の blood flow の約30%の増加、2) respiration rate の約4%の増加、3) capillary の permialility の増加等の利点がみられたことを報告している。

又 CO₂ の吸入は血管の拡張を来すことは、mouse, rat の実験によつて吸入直後より、足

Table 3

Type of Treatment	Dose (rads)	Radiation to death (days)	Metastases to			
			M. Contents	Axilla	Inguinal	Iliac
pure xrygen at 3 atm	500	14.9	2/6	6/6	1/6	0/6
	1000	18.1	2/8	4/8	0/8	1/8
	1500	26.5	1/8	7/8	1/8	1/8
	2000	38.3	3/4	3/4	1/4	1/4
		23.1	8/26	20/26	3/26	3/26
5% CO ₂ +95% O ₂ at 1 atm	500	15.0	3/6	6/6	1/6	1/6
	1000	18.3	3/7	6/7	2/7	0/7
	1500	25.5	2/6	3/6	0/6	1/6
	2000	26.0	2/4	3/4	1/4	1/4
		20.6	10/23	18/23	4/23	3/23
Air	500	14.7	0/10	7/10	1/10	0/10
	1000	20.5	1/6	4/6	2/6	0/6
	1500	22.8	2/4	4/4	1/4	2/4
	2000	34.4	5/13	11/13	3/13	4/13
		24.5	8/33	26/33	7/33	6/33
附 Anoxia	2000	16.3	2/6	4/5	1/6	0/6
	3000	19.6	2/5	4/5	0/5	0/6
	4000	32.2	2/6	6/6	1/6	0/6
		22.9	6/17	14/17	2/17	0/17

蹠, 尾, 耳の赤調が見られることでも知られる。又, 心搏数の増加も吸入の直後より認められる。併し既に充分の血液の供給をうけている tumour (well vascularized) については, もはや CO₂ 吸入の効果がないことも知られている (W.R. Inch et al³⁸⁾1966年)。

この5% CO₂ の混入実験については, 照射の影響を, 1) single dose 2) fractionated exposure の2つの方法で報告されている。まず single exposure では Hollocroft et al²⁶⁾ (1952年) によれで, A系の♂, 各群20匹のマウスに lymphosarcoma を移植して, 180kV の X線 1,300rads の1回照射を行い, その効果を tumour の regression より (min.tumour size/tumour size at treatment) 判定して 5% CO₂+95% O₂ 1 atm が, 他のair, 92% N₂+8% O₂ と比較して, 照射4日後に最低値を示した事を報告している。併し, 照射6日後には, 各群の tumour-size は同一の大きさを示している。

2) Fractionation 法

du Sault (1959⁴⁰⁾, 1963³⁷⁾, W. R. Inch³⁸⁾ (1966年) の報告は du Sault では C₃H 系のマウスの spontaensus mammary adenocarcinoma に

Fig. 17. Du Sault et al (1963)

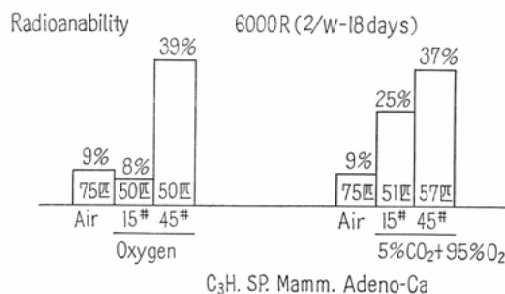
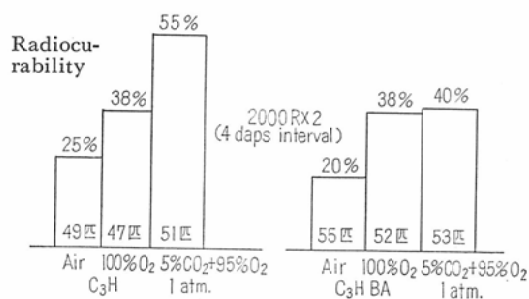
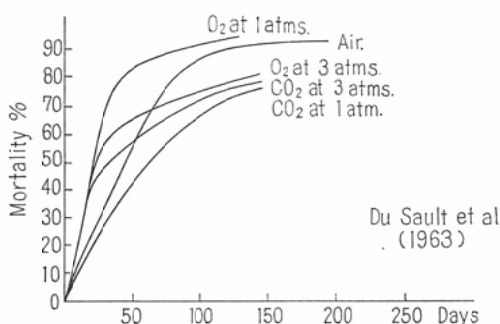


Fig. 18. W. R. Inch et al (1966)



1週2回, 各1,000R宛, 合計6,000R (3週間18日) の照射を行い, Fig.17に示す結果を得ている。

Fig. 19. Survival time and rates of mice with tumours in the treated area after beginning treatment with 1,000R twice a week to 6,000R in 18 days while breathing pure oxygen at one atmosphere, air, pure oxygen at three atmospheres, 95 % oxygen plus 5 % carbon dioxide at one and three atmospheres respectively. early part of the curve shows death during and immediately after treatment and is a measure of the severity of the technique, a more rapid rise indicating greater mortality and morbidity. Later deaths are sometimes due to regrowth of the treated tumours, sometimes due to development of new tumours.



又 W. R. Inch は 2,000R × 2 回 (4 日間の interval) で Fig. 18 に示す結果を得た。即ち Fig. 33 からみて 5 % CO₂ + 95 % O₂ の 1 atm では pure O₂ 1 atm よりも遙かによい結果を示し (air と O₂ 1 atm 間には殆んど同一の結果, 8 % と 9 %), pure O₂ 3 atm とほぼ同一の結果を得ている (25%~39%)。

Fig. 18 の W. R. Inch 等の結果は, pure O₂ 1 atm は Air よりも良い結果を示したが, 5 % CO₂ + 95 % O₂ 1 atm の方が pure O₂ 1 atm よりすぐれている事を C₃H 系の tumour では示している。併しすでに血液の供給が充分である C₃HBA 系のマウスでの tumour では O₂ 1 atm と 5 % CO₂ + 95 % O₂ 1 atm とはほぼ同様の結果を示している。Fig. 17 と 19 との間の Air と O₂ 1 atm の結果の逆転について du Sault の報告及び W. R. Inch 等の CO₂ と O₂ の side-effect の項が充分に説明している。

我々の実験腫瘍 RIB₅ については, 1960 年と R. H. Thomlinson²⁵⁾ によつて, その後 1967 年に

Thomlinson²⁵⁾ 及び Miss E. A. Craddock によつて更に詳細に述べられている様に tumour は 4,000 rads の照射までは, すべての tumour は照射後数日間引き続き tumour-size の増大を示す。in Air の実験でこの tumour の縮小を示すに必要な最少の線量は 2,000 rads であつた。即ち, RIB₅ tumour と C₃H の lymphosarcoma とは, その腫瘍自体の性質の相違, 又はその他の要因 (死亡した細胞の除去の速度, 生存細胞の multiplication の程度の相違, 生存細胞の fraction, cycle time, tumour bed の相違等々) に起因するものであろう。従つて分割方法, 腫瘍, biological endpoint の相違などの色々の factor を含めた各実験者間の data を比較することは直ちに行い難い事である。併し Du Sault 等の 5 % CO₂ + 95 % O₂ 3 atm の方法は, 後述する副作用の面から, 仮令その結果が数字の上で同様ガスの 1 atm に優れておつても, 利用することは実際には非常に困難な問題である。併し RIB₅ の実験結果を含めて, 5 % CO₂ + 95 % O₂ 1 atm の結果は, 1) in Air の時よりも遙かに優れた結果を示しており, 又, 2) oxygen 1 atm よりはそれ以上のよい結果を得ている。

混合ガス (5 % CO₂ + 95 % O₂) 1 atm. の臨床応用に際して最も重要な課題となることは, 重篤な副作用なしに最大の組織酸素圧を来す CO₂ の濃度と, その吸入持続期間との問題である。

まず動物実験より得られた data よりこれらの問題を眺めて見ると, Du Sault⁷³⁾ 等 (1963 年) によれば, 5 % CO₂ + 95 % O₂ の吸入の場合には, pure oxygen の場合と比らべて, 1 atm, 3 atm, の両方の場合でも, CO₂ 吸入の方が O₂ 吸入の場合よりも, 死亡率が少ないことに注目している。(Fig. 19) に示す様に重篤な副作用 (死) は CO₂ 1 atm にもつとも少く, 仮令 3 atm に上げて CO₂ は O₂ (pure) よりも良い事示している。特にこの図で明らかな様に CO₂ 1 atm の場合 “early death” が非常に少い事である。Du Sault の結論は, この副作用の最も少く, そして, pure oxygen 3 atm と似た良い curability

より見て、5% CO_2 +95% O_2 1 atm の治療法が最も良い方法である、と述べている。注目すべきことは、pure oxygen 1 atm の場合、early death が最も高いことである。この oxygen の toxic effects については、Du Sault の1959年の論文にも触れられている点である。又 W.R. Ince³⁸⁾ 等 (1966年) の実験結果においては、5% CO_2 +95% O_2 1 atm. で、1例の死亡も認められない事を報告している。我々の実験における rat の場合においても、他の治療法とくらべて、特に死亡 (early death) が高くなつた事はない。併し、5% CO_2 +95% O_2 でも之れを“3気圧”に上げると pure oxygen の場合と同様に、oxygen の toxic effects の場合の様に“early death”を来す。

臨床面においては、 CO_2 の人間に対する副作用について Churchill-Davidson²⁸⁾ 等 (1957年) によれば、高圧酸素用 chamber 内に残留している CO_2 の存在は、患者の“convulsion”の発現を早めるであろう、と考えている。従つて彼等は治療に際して、chamber 内を 100% oxygen で flush out している。併し Hegedus⁴¹⁾ と Shackelford (1965年) は“5% CO_2 in air”の条件で“cerebrovascular disease”の患者に、10分間吸入させたが、何ら重篤な副作用を認めなかつた事を報告している。恐らくこの5% CO_2 という濃度が臨床的に使用し得る最高の CO_2 濃度ではないかと推論している。

次いで問題となるのは、5% CO_2 +95% O_2 ガスの吸入時間の問題である。このことは、1) 副作用の軽減、2) 治療時間の短縮—容易性、から見て重要な点である。この点に関して動物実験よりの data から眺めてみると、Du Sault⁴⁰⁾ 等 (1959年)、Hollocroft²⁶⁾ 等 (1952年) によれば、Mouse の lymphosarcoma の radiocurability からみて CO_2 吸入の直後から効果が見られたとしている。即ち、 CO_2 吸入の3~5分後には—relative blood flow の増加は最高度に達し、次いで plateau を形成し、15分後には減少の方向に転ずる (W.R. Ince³⁸⁾ 等1966年) と報告されて

いる。この事実を裏付ける実験として Du Sault の、1) 5% CO_2 を照射前30分より吸入群、2) 5% CO_2 吸入開始より2分後に照射の2群とに分けた。tumour の response は、1), 2)共に同様の反応を示したと報告されている。我々も試みに、照射開始前3分間の5% CO_2 吸入群でも、30分間吸入群と全く同様の効果を得た。いずれにしても、吸入時間を短縮することは、本法の応用をより簡単且つ安全にすることであり、本法のより大きい利点となるものである。又、Table 3 に述べた様に本法の応用が、特に他の方法とくらべて、転移の発生を促進する事実も認められていない。

以上の実験的結果に基づいて、5% CO_2 +95% O_2 常圧下の照射方法は、1) 簡易性、2) 安全性、3) 有効性、の点より見て、高圧酸素下照射法と共に今後の照射技術の1つとして、充分に利用し得るものであると考えられる。この際照射の対象となるものは、矢張り“poorly vascularized tumour”が選ばれる可きであろう。

結 語

Benzylphenene 皮下注より得られた RIB₅ tumour を使用して、空气中、酸素、炭酸ガス、tumour anoxic の各実験条件下に X 線の1回照射を行つた。

1,000 rads 迄の線量レベルでは、空気、酸素、炭酸ガスの各実験群相互間に我々の効果判定基準 (照射時腫瘍 8~9 mm より 20 mm, 直径になるに要する日数と線量の相互関係) よりみて有意差が認められていない。

1,500 rads レベルでは、各照射が、他の群より離れて (anoxic proportion 1%) 来るが、2,000 rads において air と O_2 1 atm は有意差なく O_2 3 atm は 5% CO_2 +95% O_2 1 atm よりも、又 5% CO_2 +95% O_2 1 atm は O_2 1 atm よりも有意に効果的であつた。

Anoxic の tumour は実験の当初より有意に radioresistant であつた。

又、リンパ腺転移を促進する実験は認められなかつた。

以上の事実からみて、5% CO₂+95% O₂ 1 atm 下の照射は、その技術的簡易性、安全性、及び経済性よりみて、O₂ 3 atm 下の照射法と共に有力な照射方法の1つたり得るものと考えられる。

謝

本実験を行う機会を与えられた Dr. Tikvah Alper (Director, Medical Research Council, Experimental Radiopathology Research Unit, Lecturer in Radiology, Royal Postgraduate Medical School, London) に深く感謝すると共に、技術的な援助を与えて下さった M.R.C, E.R.R.U の technician Miss E.A. Craddock に感謝いたします。

又経済的援助については The British Council に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Schwarz, G.: Ueber Desensibilisierung gegen Röntgen und Radiumstrahlen. Münch. med. Wschr., 56, 1217, (1909).
- 2) Jolly, J.: Action des Rayons X sur les Cellules. Modifications de la Radiosensibilité par Ligature de Connexions Vasculaires, C.R. Soc. Biol. Paris, 91, 351. (1924)
- 3) Mottram, J.C.: On the skin Reaction to Radium Exposure and their Avoidance in Therapy; an Experimental Investigation. Br. J. Radiol., 29, 174. (1924)
- 4) Mottam, J.C.: A Factor of Importance in the Radiosensitivity of Tumours, Br. J. Radiol., 9, 606. (1936).
- 5) Mottram, J.C. and Eidinow, A.: On the Effect of Anaemia on the Reactions of the Skin and Tumours to Radium Exposure. Br. J. Radiol., 19, 481. (1932)
- 6) Crabtree, H.G.: Changes in Carbohydrate Metabolism Induced by Radium Irradiation of Tissues, Teuth Sci. Rep. Cancer Res. Bd., P. 33. (1932)
- 7) Crabtree, H.G. and Cramer, W.: The Action of Radium on Cancer Cells. Proc. Roy. Soc., B 113, 238. (1933)
- 8) Crabtree, H.G. and Cramer, W.: Eleventh Sci. Rep. Cancer Res. Bd., P. 89. P. 103. (1934)
- 9) Lacassagne, A.: Chute de la Sensibilité aux Rayons X Chez la Souris Nouveue-Nee et Etot d'Asphyxie. C.R. Acad. Sci. Paris. 215, 231. (1942)
- 10) Evans, T.C., Goodrich, J.P. and Slaughter, J.C.: Temperature and Radiosensitivity of skin of New-Born Rats. 4. Effects of Decreased Circulation and Breathing during Irradiation. Radiology. 38, 201. (1942)
- 11) Thoday, J.M. and Read, J.: Effect of Oxygen on the Frequency of Chromosome Aberrations Produced by X-rays. Nature, London, 60, 608. (1947).
- 12) Dowdy, A.H., Bennett, L.R. and Chastain, S.M.: Protective Action of Anoxie Anoxia Against Total Body Irradiation of Mammals. Radiology, 55, 879. (1950).
- 13) Gray, L.H., Conger, A.D., Ebert, M., Hornsey, Shirley and Scott, O.C.A.: The Concentration of Oxygen Dissolved in Tissues at the Time of Irradiation as a Factor in Radiotherapy. Br. J. Radiol., 26, 638. (1953).
- 14) Gray, L.H.: Influence of Oxygen an Response of Cells and Tissues to Ionising Radiation. Scienete. Basis Med., 7, 314. (1959).
- 15) Gray, L.H.: Radiobiologic Basis of Oxygen as a Modifying Factor in Radiation Therapy. Am. J. Roentgenol, 85, 803. (1961).
- 16) Alper, Tikvah and Howard-Flanders, P.: The Role of Oxygen in Modifying the Radiosensitivity of E. Coli B. Nature, London, 178, 978. (1956).
- 17) Deschner, E.C. and Gray, L.H.: The Influence of Oxygen Tension on X-ray induced Chromosomal Damage in Ehrlich Ascites Tumour Cells Irradiated in vitro and in vivo. Radiat. Res., 11, 105. (1959).
- 18) Elkind, M.M., Swain, R.W., Alescio, T., Sutton, H. and Moses, W.B.: Oxygen, Nitrogen Recovery and Radiation Therapy. In Cellular Radiation Biology, p.p. 442~466. Baltimore; Williams & Wilkins. (1965)
- 19) Barendsen, G.W.: Damage to the Reproductive Capacity of Human Cells in Tissue Culture by Ionising Irradiations of Different Linear Energy Transer. In The Initial Effects of Ionising Radiations on Cells, pp. 183—194. London and New York; Academic press. (1961).
- 20) Hewitt, H.B. and Wilson, C.W.: A Survival Curve for Mammalian Leukaemic Cells Irradiated in vivo. Br. J. Cancer, 13, 675. (1959).
- 21) Powers, W.E. and Tolmach, L.J.: Demonstration of an Anoxic Component in a Mouse Tumour-cell Population in vivo Assay of Survival Following Irradiation. Radiology, 83, 328, (1964).

- 22) Thomlinson, R.H. and Gray, L.H.: The Histological Structure of Some Human Lung Cancers and the Possible Implications for Radiotherapy. *Br. J. Cancer*, 9, 539. (1955).
- 23) Thomlinson, R.H.: A Comparison of Fast Neutrons and X-rays in Relation to the Oxygen Effect in Experimental Tumours in Rats. *Br. J. Radiol.*, 36, 89. (1963).
- 24) Fowler, J.F. and Morgan, R.L.: Pre-therapeutic Experiments with the Fast Neutron Beam from the Medical Research Council Cyclotron; VIII. General Review, *Br. J. Radiol.*, 36, 115. (1963).
- 25) Thomlinson, R.H. and Craddock, E.A.: The Effect of Oxygen on the Response of Intact Tumours to Single Doses of Irradiation. *Br. J. Cancer*, In Press (1966).
- 26) Hollocroft, J.W., Lorenz, E. and Matthews, M.: Factors Modifying Effect of X-irradiation on Regression of Transplanted Lymphosarcoma. *J. Nat. Cancer. Inst.*, 12, 751. (1952).
- 27) Cater, D.B., Hill, D.W., Lindop, P.H., Nunn, J.F. and Silver, I.A.: Oxygen Washout Studies in the Anaesthetised Dog. *J. appl. physiol.*, 18, 888. (1963).
- 28) Churchill-Davidson, I., Sangor, C. and Thomlinson, R.H.: Oxygenation in Radiotherapy. *Br. J. Radiol.*, 30, 406. (1957).
- 29) Churchill-Davidson, I., Sangor, C. and Thomlinson, R.H.: High-Pressure Oxygen and Radiotherapy, *Lancet*, 1, 1091, (1955).
- 30) Churchill-Davidson, I.: The Oxygen Effect in Radiotherapy. *Proc. R. Soc. Med.*, 57, 635. (1964).
- 31) Churchill-Davidson, I.: High-Pressure Oxygen and Radiotherapy. *Anglo-German Med. Rev.*, 2, 519. (1964).
- 32) Churchill-Davidson, I., C.A. Foster, G. Wiernik, N.C.D. Pizey. and P.P. Purser.: The Place of oxygen in radiotherapy. *Br. J. Radiol.*, 39, 321. (1966).
- 33) Hultborn, K.A. and Forssberg, A.G.: Irradiation of skin Tumours during Pure Oxygen Inhalation. *Acta Radiol.*, 42, 475. (1954).
- 34) Thomlinson, R.H.: Oxygen Therapy-Biological Considerations III, *Modern Trends in Radiotherapy*, pp. 52, Butterworths, (1966).
- 35) Lambertsen, C.J., Ewing, J.H., Kough, R.H., Gould, R. and Stroud, M.W.: Oxygen Toxicity, Arterial and Internal Jugular Blood Gas Composition in Man during Inhalation of Air, 100% O₂ and 2% CO₂ in O₂ at 3.5 Atmospheres Ambient Pressure. *J. appl. Physiol.*, 8, 255. (1955).
- 36) Dollery, C.T., Hill, D.W., Mailer, C.M. and Sousa Ramalho, P.: High Oxygen Pressure and the Retinal Blood vessels. *Lancet*, 2, 291. (1964).
- 37) du Sault, L.A.: The Effect of oxygen on the Response of Spontaneous Tumours of Radiotherapy. *Br. J. Radiol.*, 36, 749. (1963).
- 38) W.R. Inch, J.A. McCredie and J. Kruuv.: Effect of Breathing 5% Carbon dioxide and 95% Oxygen at Atmospheric Pressure on Tumour Radiocurability. *Acta radiol.*, 1, 17, (1966).
- 39) Thomlinson, R.H.: An Experimental Method for Comparing Treatments of Infact Malignant Tumours in Animals and its Application to the Use of Oxygen in Radiotherapy. *Br. J. Cancer*, 14, 555. (1960).
- 40) du Sault, L.A., Eyler, W.R. and Dobben, G.D.: Combination of Oxygen and Optimum Fraction in Radiation Therapy of Adenocarcima. *Am. J. Roentgenol.*, 82, 638. (1959).
- 41) Hegedus, S.A. and Shackelford, R.T.: Carbon dioxide and obstructed cerebral blood flow. *J. Amer. Med. Ass.*, 191, 279. (1965).