



Title	悪性腫瘍の放射線治療における放射線瘢痕化と治癒機轉との問題I動物實驗
Author(s)	網野, 三郎
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1958, 18(3), p. 335-343
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/16541
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

悪性腫瘍の放射線治療における放射線瘢痕化と治癒機転との問題

I 動物実験

癌研究会附属病院放射線科（指導 部長塙本憲甫）

網野三郎

（昭和32年12月24日受付）

序論

悪性腫瘍に対して放射線治療を行つた場合に、照射された局所の腫瘍組織には種々な反応が現れるが、その一つとして照射後に現れる放射線瘢痕化 (Radiofibrosis) の問題がある。

この放射線瘢痕化の発現過程については、多くの文献に見受けられるところであるが、現在なお不明の点が少くない。

しかしながら、結果的に現われたこの放射線瘢痕化が治療効果にある影響をもつであろうと云う事は従来から色々と考えられて來たところである。

例えば、放射線治療中に腫瘍組織に非常に多量の瘢痕化が生じた場合には放射線に対して却つて抵抗性を示す場合があり、また或期間内に適當な瘢痕化を生ぜしめた場合には放射線による腫瘍細胞の破壊に対して、効果的に働くのではないか等の意見がある。

我々もまた、日常の悪性腫瘍の放射線療法に際して放射線照射後に腫瘍組織に現われる適當な瘢痕化が放射線の治癒的効果の一つの表現ではないかと考えられる多数の症例を経験しているので、放射線瘢痕化という現象が腫瘍組織の治癒機転に關して如何なる役割をもつかについて検討を加えて見たいと考え次の実験を行つたのである。

瘢痕化の Indicator の問題

著者は放射線による瘢痕化の状態を定量的に表わしたいと考え、其のために何を Indicator とす

るかを先ず問題とした。

従来、放射線による瘢痕化の発現状態を観察するには、Collagen 染色法、すなわち、Mallory の染色、Van-Gieson の染色等により病理組織学的に定性的に観察が行われて來た關係上、その定量的問題に關しては可成り主観的な点が見受けられる。

附図 I ~ 10 は、吉田腹水肉腫をラット大脚部皮下に移植して 5 日後に X 線照射 3000r を 1 回に与え、その後 3 日、5 日、7 日、3 週日に摘出し、Mallory および Van-Gieson の染色を行つたものであるが、これ等にも見られる通り、瘢痕化の進行が時間的経過にともなつて増加していくのが見受けられる。けれどもこれをさらに定量的に表現するためには、この Collagene fasern の増加の状態を放射線による瘢痕化の Indicator として定量することが適當であると考え、次の方法によつて実験を行なつたのである。

研究目標

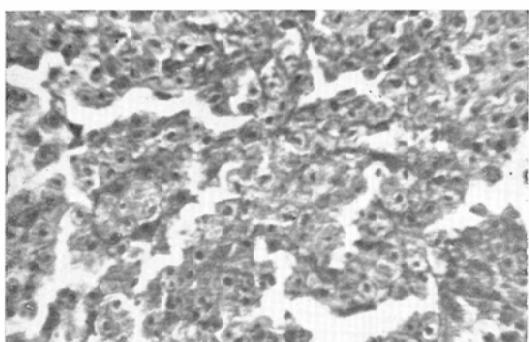
悪性腫瘍に対して放射線照射を行い、照射後に腫瘍組織に現われる放射線瘢痕化を時間的経過に従い摘出し定量すると同時に、一方においてその組織内における活動性腫瘍細胞の減衰状態をも観察し、放射線の治癒的効果とこの両者との関係を追求する。

研究方法

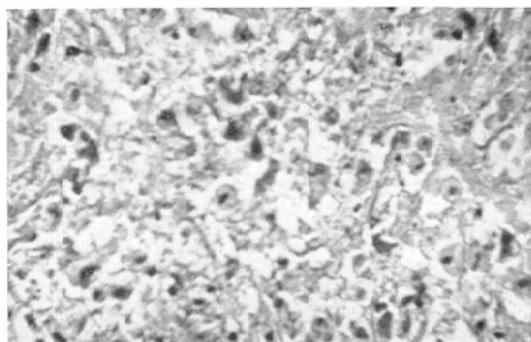
I 実験材料

a) 動物：雑系成長ラット、体重平均 150

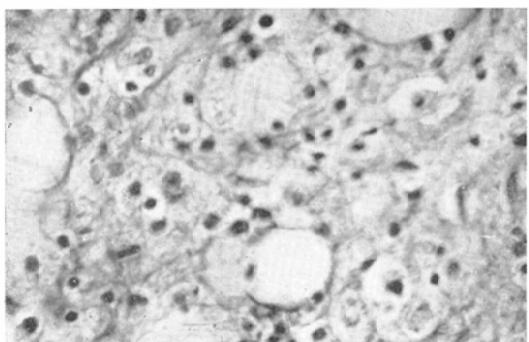
附図 1.



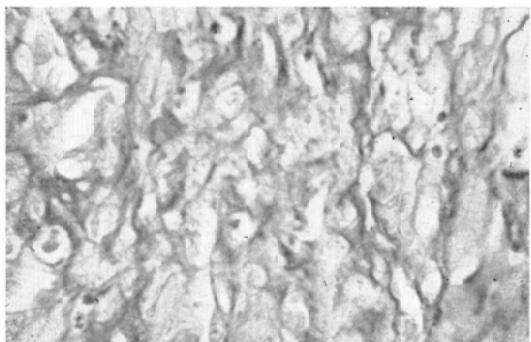
附図 2.



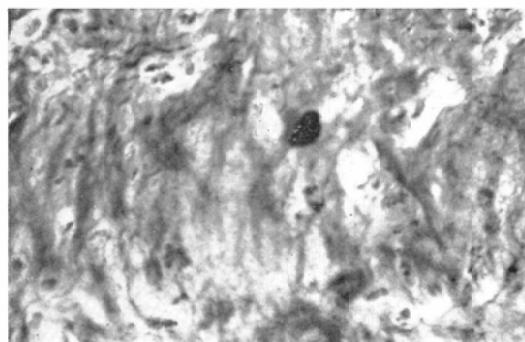
附図 3.



附図 4.



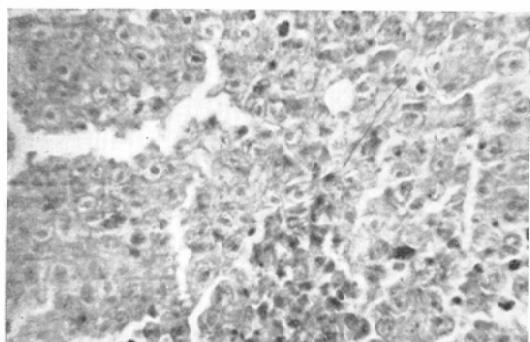
附図 5.



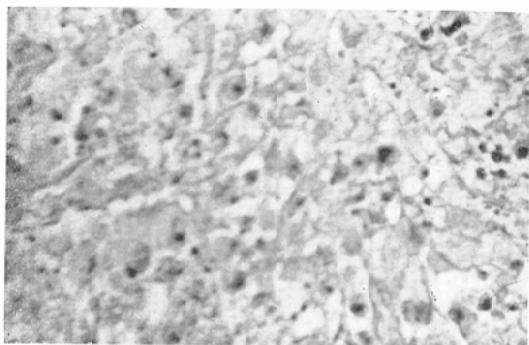
A) Mallory の染色, ラツテ大腿部皮下に吉田肉腫を移植し 5 日後に X 線 3000r 1 回照射せるもの。

1) Kontrol. 2) 照射後 3 日 3) 照射後 5 日 4) 照射後 7 日 5) 照射後 3 週日

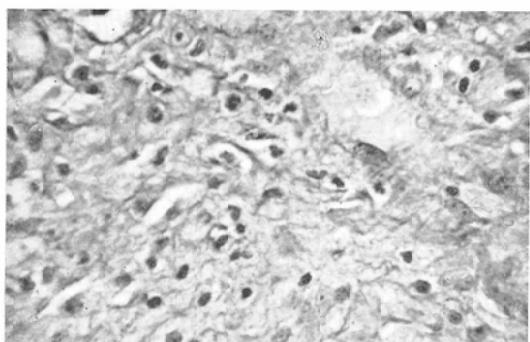
附図6.



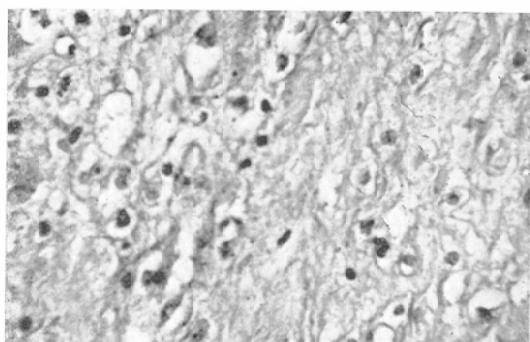
附図7.



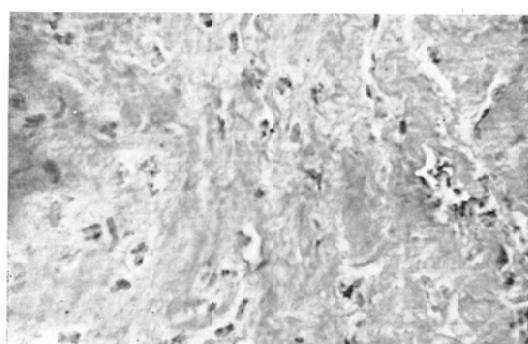
附図8.



附図9.



附図10.



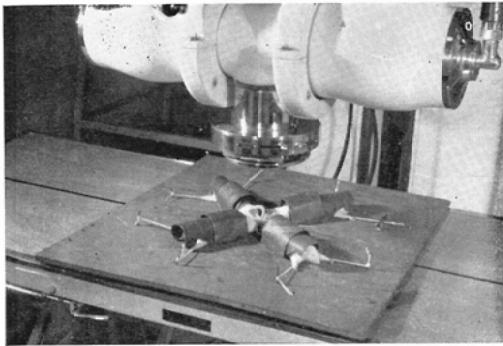
B) Van-Giesonの染色

6) Kontrol. 7) 照射後3日 8) 照射後5日 9) 照射後7日 10) 照射後3週日

g.

- b) 腫瘍：吉田肉腫
 c) 照射条件：島津製信愛号，管電圧 180 kVp, 管電流 15mA, 濾過板 0.7mmCu + 0.5 mmAl 半価層 1.1Cu
 焦点腫瘍距離 40cm, 線強度 64r/min
 d) 照射装置：附図11にみられる如く、ラッテの体表を 2mm の鉛板で頭部より下腹部まで被い、さらに背部より下腹部までを 2mm の鉛板で被

附図11. 照射装置



つて、その大腿部を露出する様に被覆箱を製作した。この装置によると被護鉛の後端より 1cm 上部（下腹部に相当する所）に於ける上記照射条件下の照射中の線量は、シーメンス製線量計により測定し、1.4r/min であるから照射による全身の影響は大してないことを確かめた。なお、大腿部に於ける線量は、72r/min であった。

II Collagen 定量法

Fitch 等の発表による組織の Collagen を抽出する方法を用いた。すなわち、加温 5% 三塩化醋酸を用いる方法によつた。

まず、摘出腫瘍組織の一定重量 (Wet weight) に 5% 三塩化醋酸を一定量加え、粉細器により組織を均等に粉細し、加温器に入れ 90°C にて 30 分間加温し、冷却後、遠心沈澱器を使用し上清をとつた。この操作を 2 回繰返し、3 回目に冷却 5% 三塩化醋酸にて洗い、同様に上清をとつた。

この方法にて抽出した Collagen を定量するため、Collagen 中の hydroxyprolin を抽出する。これは、Collagen 中の hydroxyprolin は 13.5 ±

0.24% で安定であるので hydroxyprolin 量を測定し、Collagen 量を換算定量する。

上清の一定量に等量の濃塩酸を加え、封管に入れ密封し、油加温器に入れ 110°C にて 24 時間加水分解し、hydroxyprolin を抽出し、hydroxyprolin の発色定量を行つた。比色計は Leitz の光電比色計を用い、濾過板 550 を用いた。hydroxyprolin 量が判明したならば、係数 7.46 を乗することにより、Collagen 量を換算した。

次式による。

$$\frac{\text{microgram hydroxyprolin in } 1\text{ml hydrolystate}}{\text{microgram tissue represented in } 1\text{ml hydrolystate}} \times 7.46$$

この方法によるとほとんど組織中の Collagen は抽出される。Fitch の報告を見ると附図12 の如くである。

III 実験方法

雑系成長ラッテ（平均 150 g）の大腿部の皮下に吉田肉腫の腹水を 0.5cc 移植したもの用いた。腹水はラッテの腹腔内に移植後 7 日目のものを使用した。この実験に用いた各群のラッテには同一株より得た腹水を同時に移植し、夫々の群に対称をおき、その群のラッテではこの腫瘍に対する自然治癒のないことを確かめた。

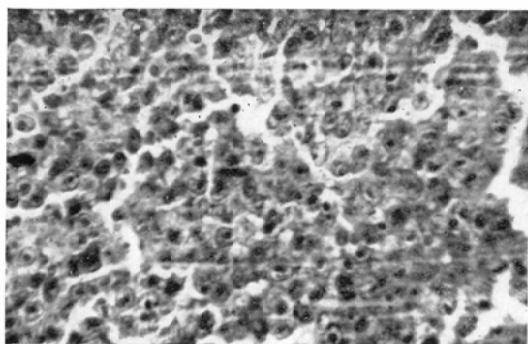
この実験では大腿部皮下移植後 5 日目の腫瘍を用いたが、その時期における皮下腫瘍の大きさは大体に於いて等しく直径約 2.5cm であつた。ラッテ大腿部皮下に吉田肉腫移植後 5 日目に前述の照射条件により、各群の皮下移植腫瘍に対して、X

附図12 Fitch (1955) による Collagen 抽出割合

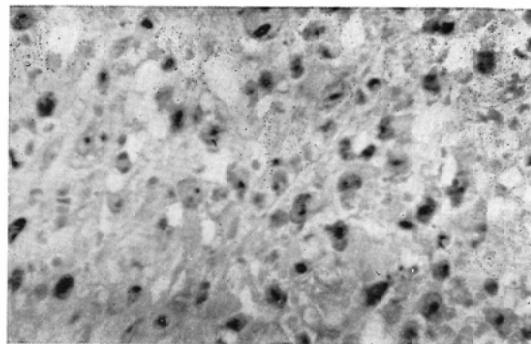
	Collagen extracted (Per cent)
Rat muscle	97.4
Rat skin (with hair)	98.3
Rat tail tendon	100.1
Rat Mammary gland (lactating)	98.0
Rat liver	96.4
Ox liver	92.8
(a) Pulp	92.8
(b) Vessels	97.5

線 1 回照射、1000r、3000r を与え（各群 10～15匹）時間的経過に従い、すなわち、照射後 3 日、

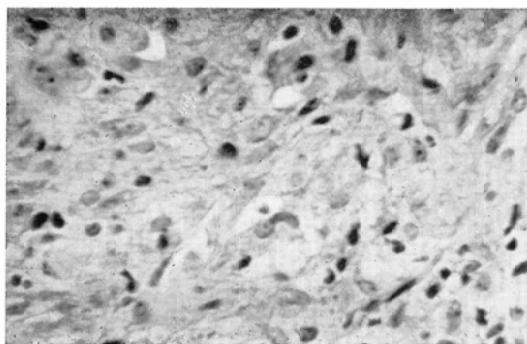
附図13.



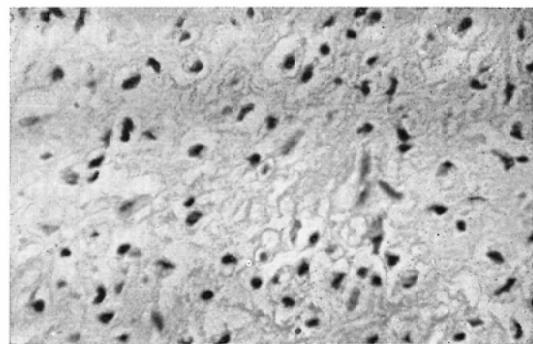
附図14.



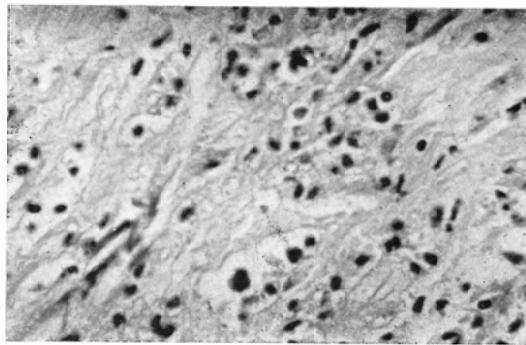
附図15.



附図16.



附図17.



C) Haematoxylin-eosin 重染色法

13) Kontrol 14) 照射後3日 15) 照射後5日 16) 照射後7日 17) 照射後21日.

ラツテ大腿部皮下に吉田肉腫を移植し、5日後にX線3000r 1回照射せるもの。

5日、7日、3週日に照射腫瘍組織の一定重量を摘出し、前述の Collagen 定量法によりその組織の Collagen 量を測定した。

一方、活動性腫瘍細胞の減衰状態は、上記の時間的経過によつて摘出した腫瘍組織の一部を同時に Haematoxylin-eosin 重染色法により染色した組織標本について同拡大（400倍）のもとに同一視野数中に現われる腫瘍細胞数を算定した。

腫瘍細胞については所謂 Viable cell として生活力の充分なものと認められるもののみを算定した。

その条件としては次の点を具備したものを活動性腫瘍細胞と認めた。

- a) 核、原形質の各々境界鮮明なもの
- b) 核中の染色質網の明かなるもの
- c) 核小体の明確なもの

対称として非照射の腫瘍細胞数を1000個算え、これと同一視野数における照射例の活動性細胞数を算えた。なお、この切片の作製には最も腫瘍の発育旺盛な壊死に陥ることの少いとされている腫瘍の周辺部を選んだ（附図13-17）。

結 究 結 果

腫瘍組織の放射線照射後に現われる瘢痕化は、附図18の如くである。この数値は単位重量の当りの Collagen 量をmgで表わしたものである。各群の測定結果に対して棄却検定法を行い、その信頼限界は95%以上である。

附図18 腫瘍組織（吉田肉腫）にX線照射後時間的経過により摘出した組織中に含まれる Collagen 量

照射線量	Collagen 量	
	1000r 群	3000r 群
Kontrol	2.52mg/g	2.52mg/g
3日	10.0	8.304
5日	15.08	19.0
7日	17.06	24.1
21日	11.6	35.04

1000r 照射群、および、3000r 照射群を図に表わすと、附図19、20に見られる如く、図の縦軸は組織単位重量中に含まれる Collagen 量をmgで表

わし、活動性腫瘍細胞数を百分率で表わしてある。

横軸はX線照射後の日数である。

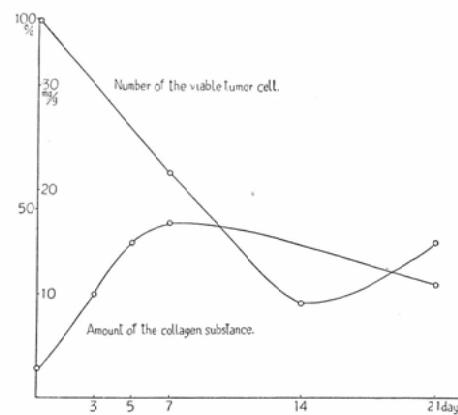
1000r 照射群においては照射後7日迄は急激に Collagen 量は増加し、以後次第に減少することが観察された。

3000r 照射群に於いては7日までは1000r 照射群に比較してより著明な増加を示すのみならず、7日以後に於ても漸増し、3週日附近に於いて最高値に達した。

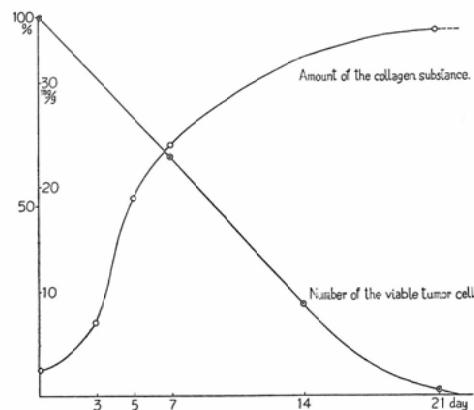
一方活動性腫瘍細胞数の減衰状態は、附図19、20に見られる様に、

1000r 照射群においては2週日迄は直線的減少を示すが以後再び増加しているのに対して、3000

附図19. 1000r 照射群



附図20. 3000r 照射群



r 照射群に於ては、2週日迄は略々同様に直線的減少を示し、その後も指數曲線的に減少して、3週目に於て遂に殆ど0%に近い値を示した。

考按ならびに總括

悪性腫瘍に対して放射線治療を行つた場合に放射線による瘢痕化が生じて来る事実は従来より Mallory および Van-Gieson の染色等により観察されて来た。

この放射線による瘢痕化という二次的現象が腫瘍細胞の消長に対する反応態度は興味深い問題である。著者の実験において腫瘍組織の完全な消滅には不充分と思われる比較的小線量の1000rを1回に与えた場合には、単位重量の組織に対する瘢痕化は充分でなく、1週間以後再び減少するのであるが活動性腫瘍細胞もまた照射後2週目附近に於て再び増加を認める。

ところが致死線量として充分と思われる3000rを与えた場合には、活動性腫瘍細胞数は2週日以後さらに指數曲線的に減少して遂に0%に至るのであるが、この場合瘢痕化もまた、2週間以後なお漸増の傾向を示し、3週目においてその極値を示すに至るのである。

以上の事より、放射線による腫瘍細胞の障害の程度と腫瘍組織内に生ずる瘢痕化の程度の間には何等か密接な関係があることは想像に難くない。腫瘍細胞の破壊が完全であれば、その組織の瘢痕化が極値に達することより考えるならば、放射線によつて悪性腫瘍が治癒するためには、その組織の修復機転として、瘢痕形成が充分である必要があるようであるが、線量不足の場合に腫瘍細胞が2週間迄は急激に減少しながらも、再び腫瘍細胞が増加の傾向を辿るにつれて瘢痕化が減退するという実験結果は、瘢痕化が不充分であるために腫瘍細胞が再発したと考えるよりは、むしろ、腫瘍細胞の破壊の程度が完全でないために瘢痕化が完成されないと考えるべきであつて放射線による腫瘍組織の破壊化は、あくまでも放射線の腫瘍細胞の破壊に伴う、二次的の該組織の反応と見るべきであろう。

そしてこの間に腫瘍細胞に対する栄養補給の問

題、腫瘍細胞自身の感受性の問題、放射線量の過不足の問題等種々の事態が関連して、腫瘍細胞破壊に対する最後的効果に対して瘢痕化が影響するのではないかと推測される。従つて適當なる瘢痕化を或期間内に生ぜしめる様に放射線治療を行うならば適當な瘢痕化が放射線による腫瘍細胞致死的効果に対して一層有利に働くのではないかと考えられる。この点に関しては現在追加実験中である。

結論

1) 著者は悪性腫瘍（吉田肉腫）に対してX線照射を行い、照射後に腫瘍組織に現われる放射線瘢痕化を時間的経過に従い、隨時摘出し定量し、これと同時に同組織内の活動性腫瘍細胞減衰状態を対比検討した。

2) 致死量としては不充分と考えられる1000rを1回照射した場合は、腫瘍組織に見られる瘢痕化は不充分であり、1週日を極値に以後漸減し、活動性腫瘍細胞数は2週日附近に於て再び増加し始めた。

3) これに反して致死線量にあたる3000rを1回照射の場合には瘢痕化は2週日に於て最高値に達し、活動性腫瘍細胞数も2週日までは直線的減少を示し、以後指數曲線的減少を示し、3週目においては殆ど0%の値を示した。

4) 以上の事実より、放射線によつて腫瘍細胞を完全に破壊するためには、最後的効果として、その組織に適當な瘢痕化が生ずることが必要であること、および、或期間内に適當な瘢痕化を生ぜしめるような照射を行つた場合には放射線による治療効果を一層有利ににすることができるのではないかと考えられた。

本論文の大要は第16回日本医学放射線学会に於いて発表した。

尚、本研究に際し直接御指導を戴いた癌研附属病院放射線科部長、塙本先生、医員北川俊夫先生、並に定量法等御指導戴いた癌研究所、小野先生に深謝致します。

文献

- 1) R. Paterson: The treatment of Malignant Disease by Radium and X-ray. — 2) B. Jolles: X-ray sive therapy in cancer. — 3) A. Gluck-

sman: Brit. Medical Bulletin. Vol. 4, No. 1 p. 26, 1946.—4) S.M. Fitch: Nature, p. 163, July 23, 1955. —5) M. Dempsey: Nature, Vol. 164, p. 368, Aug. 27, 1949. —6) R.E. Neuman and M.A. Logan: J. Biol. Chem., 186, p. 549, 1950. —7) O.H. Lowry, D.R. Gilligan and E.M. Kateraky: J. Biol. Chem. 139, p. 795, 1941. —8) F.B. Mallory: J. Exper. Med. 5 Referent in Z.

W.M. Bd. 18. —9) T.D. Day: J. Path and Bact., 59, 567, 1947a. —10) J.W. Hall and M. Friedman: Radiology, 50, 318, —11) F. Windholz: Radiology, 48, 148, 1947a. —12) W.C. Schneider: J. Biol. Chem., 161, 293, 1945. —13) 吉田富三: 吉田肉腫。 —14) 浜崎幸雄: 細胞核の生理と病理。

Connection between Radiofibrosis and Curative Effect of Radiation in Radiotherapy of Malignant Tumor.

I. Animal Experiment.

By

Saburo Amino

Division of Radiology, Hospital of Cancer Institute.

(Cief Radiologist, Kempo Tsukamoto, M.D.)

Introduction

In the radiation treatment of malignant tumors, we observe various reactions which take place in the radiated tumor tissue. Among these reactions we can point out an important problem of radiofibrosis.

As for the mechanism of the occurrence of radiofibrosis after the radiation treatment we know but little until today. However, this kind of reaction might have some connection with the reparation process which induces favorable cure effect to the cancer tissue, for when we are doing radiotherapy of the malignant tumor routinely, we observe many clinical facts suggesting that proper radiofibrosis which takes place during the course of radiotherapy might have useful curative effect in the radiated tumor area.

So I want to investigate this problem of radiation fibrosis further in this paper.

Until today problem of radio fibrosis has been examined only qualitatively in histopathology by the staining method of Mallory or Van-Gieson (Fibs. 1-10), however, I think it is more reasonable if we can measure its increase and decrease directly in the tumor tissue quantitatively, so in my experiment I used the chemical extracting method of Fitch to measure collagen substance in irradiated wet tumor tissue.

Method of Experiment

Animal used: Rats with 150 gr. of body weight.

Tumor used: Subcutaneously implanted tumor of Yoshida ascites sarcoma of the rats.

Conditions of irradiation of the tumor: X-ray 180 Kvp, 15 mA., Filter 0.7 Cu + 0.5 Al, H.V.L. 1.1 mm Cu., dose rate 64 r/min.

Whole body of the tumor bearing rat was shielded with lead plate 2-4 mm in thickness as shown in Fig. 11, except the tumor implanted part of the leg which is exposed to irradiation. Dose of radiation under the lead cover was 1.4 r/min., consequently the effect

of whole body radiation in this experiment is almost negligible.

Yoshida sarcoma was transplanted under the skin of thigh of rats. 5 days after the transplantation the size of the tumors was 2.5 cm in diameter in average, and I used these tumors for this experiment.

A single dose of X-ray given is 1000 r for one group and 3000 r for another, former dose is supposed to be insufficient, and later sufficient for tumor lethal dose.

Irradiated tumor was extirpated 3 days, 5 days, 7 days, and 3 weeks after the radiation of these rats and amount of collagen of each tumor tissue was measured by the method of Fitch.

Result of Experiment.

As it is shown in Figs. 19-20, amount of collagen substance increases until 7 days after the radiation in both 1000 r, and 3000 r irradiated groups. In 1000 r group, however, it decreases after this time gradually, but on the contrary viable tumor cell in the same tissue which was decreasing rapidly until 2 weeks increases again from this period.

In 3000 r irradiated group collagen increases more rapidly than in 1000 r group until 7 days and it increases more slowly until 3 weeks and reaches its maximum at this point, while viable tumor cell becomes 0% at the same time showing exponential curve from the time of radiation.

Conclusion.

In order to completely destroy a certain tumor cell in vivo by radiation, it is necessary to obtain adequate fibrosis in the tumor tissue as a final effect. While if we fail to obtain adequate fibrosis it is difficult to get the complete regression of the tumor in the irradiated tissue. Therefore radiofibrosis should be regarded as one of the favorable reparation processes which essentially follows the radiation treatment. More favorable results of radiotherapy of the tumor could be expected if we find the method of radiotherapy which induces adequate radiofibrosis within a certain period of time after the radiation.