



Title	超音波の放射線効果に及ぼす影響 第4報 移植腫瘍の増殖に対する効果の検討
Author(s)	石垣, 武男; 牧野, 直樹; 水谷, 弘和 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1978, 38(12), p. 1137-1144
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/17432
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4報 移植腫瘍の増殖に対する効果の検討

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）

石垣武男* 牧野直樹 水谷弘和
藤田勝三 佐久間貞行

（昭和53年4月21日受付）

（昭和53年6月19日最終原稿受付）

Effect of Ultrasound on Ionizing Radiation Effects.

IV. Effect on Growth of Transplanted Tumors

By

Takeo Ishigaki, Naoki Makino, Hirokazu Mizutani, Shozo Fujita and
Sadayuki Sakuma

Department of Radiology, Nagoya City University Medical School
(Director: Prof. Sadayuki Sakuma)

Research Code No.: 499

Key Words: Ultrasound, X-irradiation, Walker 256 Sarcoma, Combined effect

The combined effect of ultrasound (1 MHz, 3 W/cm²) and X-rays on growth of Walker-256 sarcoma was studied. The tumors were transplanted subcutaneously in the left flank of male Wistar rats of 100—120 g body weight. At the time of the treatment, tumors had a volume of 500 to 750 mm³. The tumors were treated at random with X-rays alone, with ultrasound alone, and with X-rays plus ultrasound. The tumors were measured in the usual way after treatment and the growth curve was drawn for each.

The growth curve of the tumors exposed to ultrasound for 10 or 30 min showed no significant inhibition compared with the control group. The growth inhibition of tumors irradiated with X-rays of 500 to 3000 R depended on the dose of X-rays. At a dose of 3000 R, 7 out of 8 tumors disappeared within a month after treatment. In the experiments of simultaneous treatment with X-rays and ultrasound, the growth curve of tumors irradiated with 500 R and ultrasound for 10 min corresponded to those of 1000 R alone. In the case of 1000 R irradiation and ultrasound for 10 min, 12 out of 16 tumors disappeared within a month after treatment and four tumors regrew corresponding to the growth curves of 2000 R alone. From these results, the ultrasonic radio-enhancement ratio was estimated to be about 2.

There was no difference in the growth curves of tumors between X-ray irradiation before ultrasound

* 現在：岐阜大学医学部放射線医学教室

and *vice versa*. The temperature of a tumor exposed to ultrasound for 10 min at 3 W/cm^2 was measured immediately before and after the treatment by a thermistor. The rise in temperature measured was only 0.15° . Therefore the combined effect of ultrasound and X-rays seemed unlikely to be due to the rise in temperature.

緒 言

培養細胞 FM3A と家兎正常耳介及び腎に対し、放射線と超音波を同時併用照射した効果は既に報告した^{1,2)}。本実験は、移植腫瘍に併用照射したときの放射線効果に対する超音波の増感の有無を腫瘍成長曲線によつて検討したものである。

材料及び方法

1) 移植腫瘍

Walker 256 Sarcoma(阪大微研外科由来)を、摘出後直ちに培養液(Hanks 199)中で1mm径に切り、移植針にとり、生後4~5週、体重100~120gのWistar系雄性ラットの左肩径部から左側腹皮下に刺入し移植した。移植後4~6日で、移植部皮下に腫瘍を触知した。移植成功率は304/375, 81%であつた。

2) 超音波照射

伊藤超音波装置 KUS-2 を用いた。発振子の直径は25mmである。周波数1MHz、発振子表面強度 3 W/cm^2 の超音波を10分間と30分間照射した(Table 1)。

3) X線照射

日立X線深部治療装置 TR-30R-B を用いた。管電圧は250kV、フィルターは0.25mm Cu+0.5mm Al(半価層: 1.1mm Cu), 照射野は5cm×5cmである。照射量はX線単独では500Rから3,000Rまで、超音波併用では400Rから1,500Rである。照射時間を一定とするため線量率は40R/minから150R/minの間とした¹⁾。線量はピクトリソのラドコンⅡ(型式555、プローブ100MA、校正剤)を用いて測定した。

4) 照射方法

ラット左側腹の腫瘍部を中心に剃毛し、無麻酔下で背臥位で固定した。Fig. 1に示すごとく、超音波発振子に脱気水100mlを入れたゴム袋をかぶせ、腫瘍部の皮膚表面の凹凸を補正し、空気層の

Table 1. Treatment plan

Treatment	Number of rats
Control	18
Ultrasound : (3 W/cm^2)	5 6
X-rays :	6
500 R	6
800 R	8
1000 R	10
1500 R	7
2000 R	12
2500 R	5
3000 R	9
X-rays plus ultrasound for 10 min	4 8 6 12 4
X-rays 1000R after ultrasound 10 min	7
X-rays 1000R before ultrasound 10 min	7
Total	134

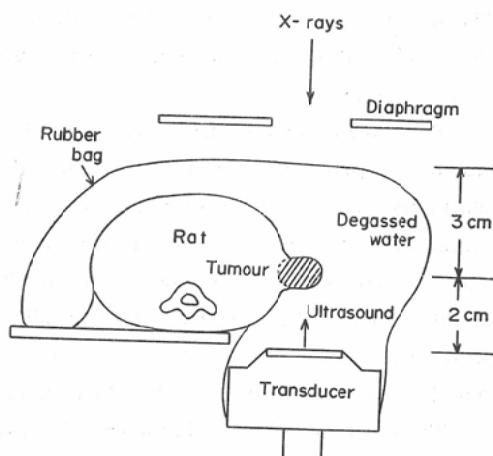


Fig. 1 Irradiation system: Transverse section

介在をなくすため、ラットの胴体に巻いた、皮膚表面とゴム袋の間には流动パラフィンを十分に塗布して、密着性を高めた。超音波を背側から、X線を腹側から互いに対向して照射した(Fig. 1)。超音波及びX線を単独で照射したときもこの配置は変わらない。照射の方法とそれぞれ使用したラットの匹数を表1に示した。X線と超音波の併用照射は全く同時に照射した群のほか超音波の照射をそれぞれX線照射の直前と直後にも行つた。

5) 測定方法

照射後、毎日定期にノギスを用いて腫瘍径を計測して体積を算出した。腫瘍を橢円体とみなして、体積を $\frac{4}{3}\pi \left(\frac{a \times b \times c}{8} \right)$ [a, b, c は、それぞれ腫瘍の直角最大三方向径] で表わした。腫瘍の体積は、移植後6～9日で $500\sim750\text{mm}^3$ となつた。最大径が15mmを越えるもの及び腫瘍体積が $1,000\text{mm}^3$ を越えるもの、腫瘍を2ヶ以上触れたものは実験には用いなかつた。従つて、実験に用い得たものは134/304, 44%であつた。実験開始時の腫瘍体積との比から腫瘍成長曲線を求めた。対照群は移植後5週間、照射群は照射後4週間即ち、移植後5週間まで観察した。その後屠殺して

組織標本を作製した。

6) 腫瘍内温度の測定

超音波照射による腫瘍内の温度の変化の有無を

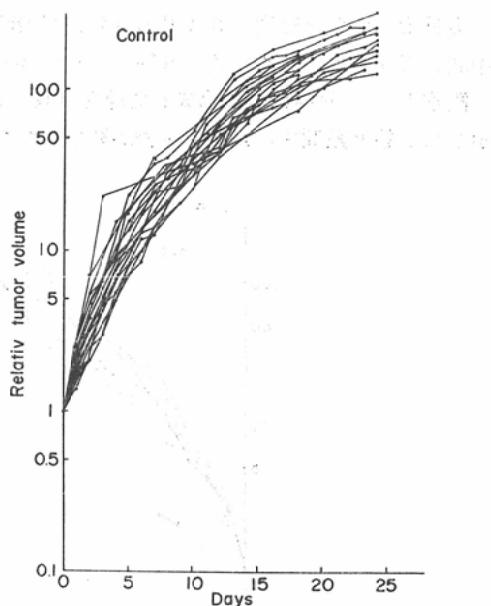


Fig. 2 Growth curves of Walker-256 sarcoma of control group

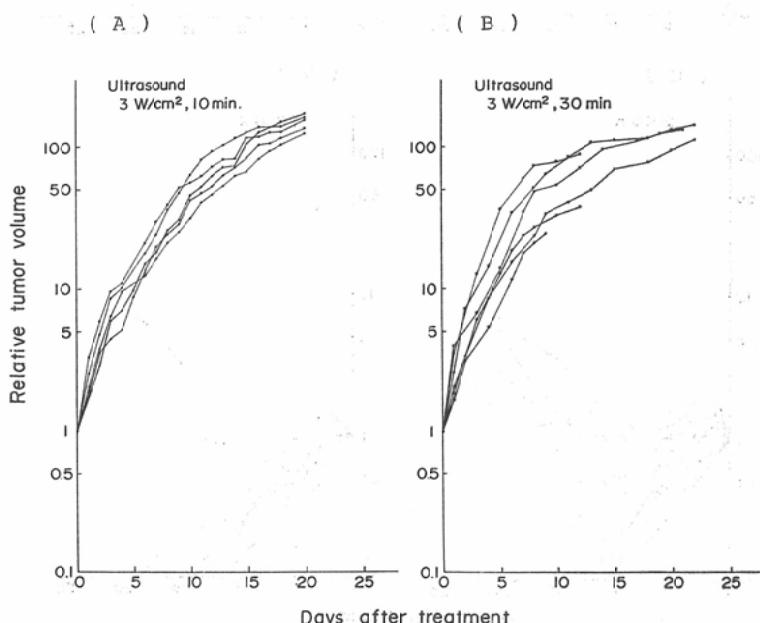


Fig. 3 Growth curves of Walker-256 sarcoma exposed to ultrasound for 10 min(A) or 30 min(B)

みるために、照射前後にサーミスク温度計の感熱部を腫瘍内に刺入して、温度を測定した。

結 果

1) 対照群

実験を行つた全経過の8カ月のうち、開始時、中間、終了時の三時点で各々6匹づつ対照群として観察した。対照群の腫瘍成長曲線をFig. 2に示した。観察期間中に18例中9例が死亡したが、

いずれも腫瘍増殖のためと考えられた。

2) 超音波単独照射

図3に超音波単独照射群の腫瘍成長曲線を示した。超音波10分間(A)及び30分間(B)照射の両群とも対照群の成長曲線との間に差は認められず、腫瘍の成長抑制はみられなかつた。観察期間中に11例中3例死亡した。

3) X線単独照射群

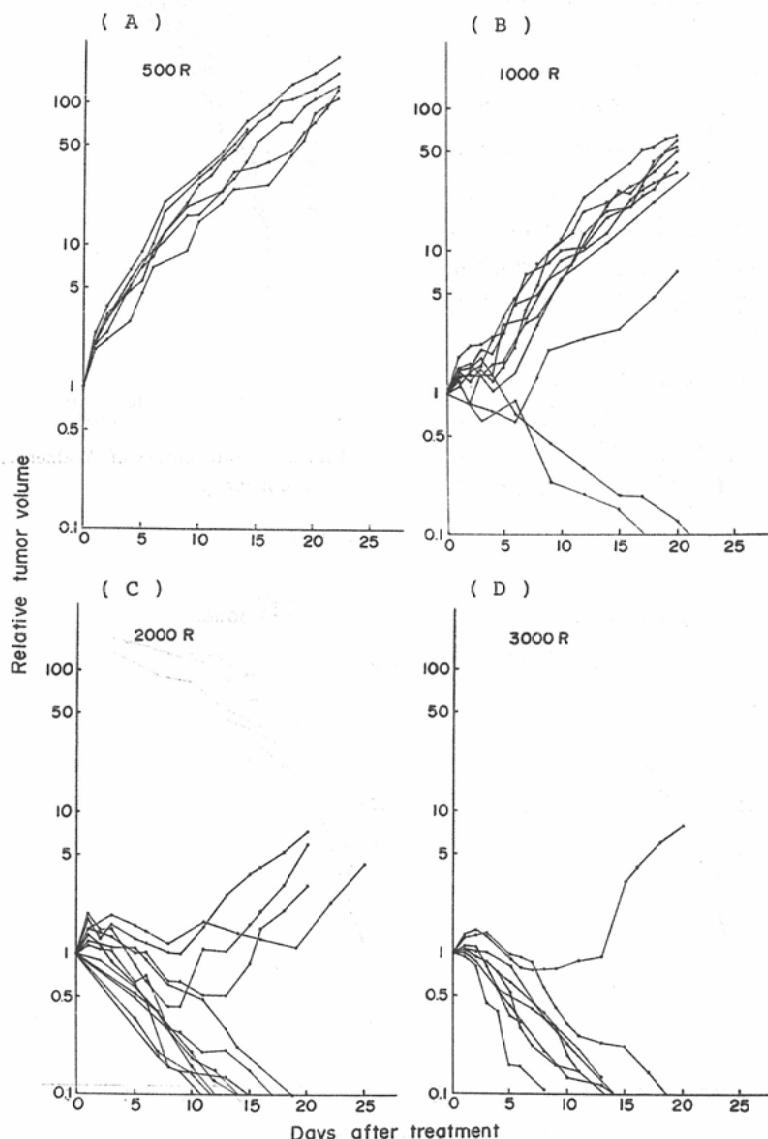


Fig. 4 Growth curves of Walker-256 sarcoma irradiated with x-rays

Fig. 4 にX線単独照射群の腫瘍成長曲線を示した。500R 照射群（A）は、対照群に比べて成長の抑制がみられたが、腫瘍の体積縮小又は消失は認められなかつた。1,000R 照射群（B）は、照射後5日頃までは腫瘍体積の一時的縮小又は成長の抑制がみられたが、それ以降は、腫瘍が消失した2例を除き他の8例は再成長を示した。2,000R 照射群（C）では7例中3例、3000R 照射群（D）

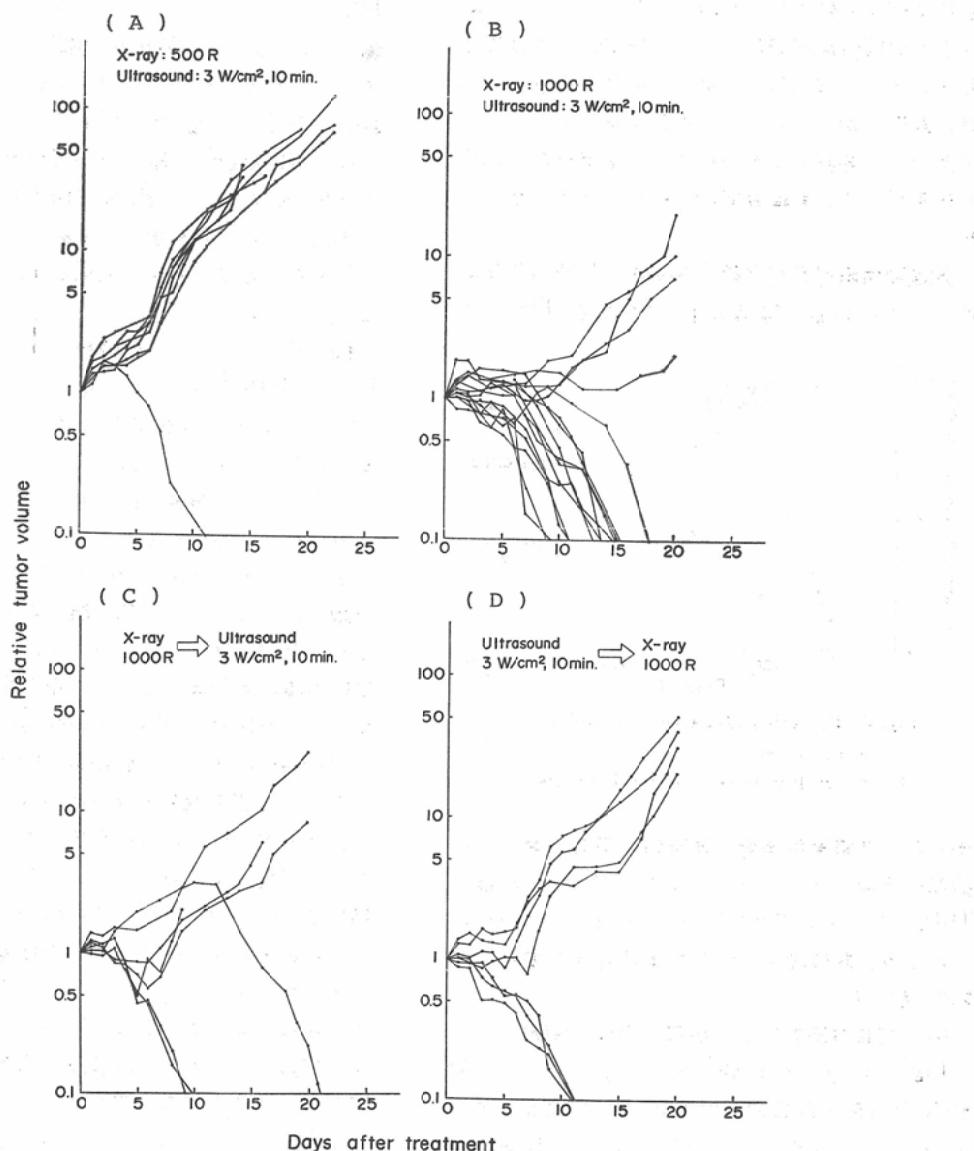


Fig. 5 Growth curves of Walker-256 sarcoma exposed to x-rays and ultrasound

では9例中8例に腫瘍を触知し得ない程縮小を示した。

4) 併用照射群

Fig. 5 にX線と超音波の併用照射群の腫瘍成長曲線を示した。同時併用照射群では、X線500Rと超音波10分間照射群（A）は照射後6～7日までは対照群と比較して腫瘍の成長抑制がみられたが、それ以降は腫瘍の消失した1例を除いて再成

長した。再成長した腫瘍の成長曲線はX線単独1,000R照射の群に類似した。X線1,000Rと超音波10分間照射群(B)は、16例中12例が腫瘍を触知しなくなつた。4例の再成長は、7~8日目よりみられ、腫瘍成長曲線の傾向はX線単独2,000R照射群のそれに類似した。

X線1,000R照射直後に超音波10分間照射した場合(C)と直前に照射した場合(D)の2群ともに7例中3例に腫瘍を触知しなくなつた。両群ともに同時併用照射群に比べ、腫瘍消失率は低下した。また、再成長した群は、成長の抑制がみられた期間が短かく、かつ、成長曲線の立ち上がりが急であつた。各群ともに照射により腫瘍が縮小消失したものでは、観察期間中に死亡した例はなかつた。

X線単独照射及びX線と超音波の同時併用照射について、線量と腫瘍消失率の関係をFig. 6に

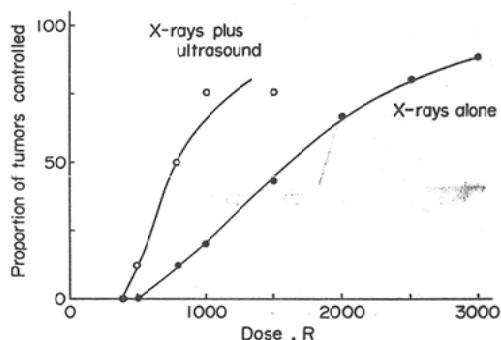


Fig. 6 Radiation dose-tumor control curve

- : x-rays alone
- : x-rays plus ultrasound for 10minutes

示した。X線単独照射と同時併用照射において、腫瘍の半数をコントロールするに要する線量、TCD₅₀は、それぞれ1,600Rと800Rであつた。これより、超音波による放射線効果の増感率は2.0となつた。

5) 超音波照射による腫瘍内温度の測定

Fig. 1に示した実験と同一条件下では、3W/cm²、10分間の超音波照射で0.15°Cの温度上昇があつた。ラット側腹部の超音波射出側に脱気水を入れたゴム袋をあてない場合には3W/cm²、10分

間の照射で2.0°Cの温度の上昇を認めた。

考 案

移植腫瘍に対する放射線と超音波の併用効果については、Woeben(1965)⁴⁾とClarke(1956)⁵⁾の報告があるがその結果は相反するものである。両者は、使用した超音波の強度及び実験の設定条件が異なり、併用効果の可否を結論づけるには至らない。著者らは、1MHz超音波の強度と化学反応及び水中でのキャビテーションに伴う発泡現象には、強度0.5~1W/cm²の間にしきい値が存在することを確かめて、このしきい値以上の強度の超音波を放射線と併用照射することにより、培養細胞及び家兎正常組織において相加と考える以上の効果が得られたことを既に報告した²⁾³⁾⁶⁾。

本研究は、これを更にすすめ、移植腫瘍に対する放射線と超音波の併用効果を確認しようとしたものである。

梶原等⁷⁾によるとWalker 256 Sarcomaは、Donryu, S.D.系ラットに移植すると腫瘍の径が20mmに達する移植後2週目頃から自然退縮するものが35.8%ある。著者らが用いたWistar系ラットでは、移植後1週間前後で腫瘍を触知するようになり、腫瘍が増殖を示さず、退縮するものは全てその最大径が5~6mmにとどまり、10mmを越えた腫瘍では、自然退縮はみられなかつた。また、期間を異にする時点におけるそれぞれの対照群の腫瘍成長曲線はバラツキが少なく、転移の早いことを除けばWalker 256 sarcomaを移植したWistar系ラットは本実験の目的にかなうものと考える。腫瘍体積が約1,000mm³以上になると、腫瘍内中央部に壊死を生じるので、成長曲線による照射効果の判定には適さないと考えて、腫瘍体積が500~750mm³の時期のものを実験に供した。最大径が15mmを越える腫瘍を実験に用いなかつた理由は、橢円体とみなしえないこと、および超音波発振子の直径が25mmで周辺部では強度が減弱するために、超音波が均等に照射される範囲の大きさの腫瘍を選んだからである。

超音波の生物学的効果を左右する物理的因子として、強度、周波数及び音場をあげることができ

る。超音波が目的とする範囲にどのような強度で伝播したかを知る必要がある。発振子から腫瘍中心部までの距離は2cmである。前報⁹で述べたように、発振子面の強度が3W/cm²のとき、2cm離れた腫瘍中心部では1.5~2.0W/cm²でありこの強度は化学反応及び水中での発泡現象におけるしきい値より高い。発振子と目的部位の密着性については脱気水を入れたゴム袋を用い、流動パラフィンを塗布することにより解決した。

放射線と超音波の同時併用照射による増感効果は、移植腫瘍の成長曲線を指標とすると約2倍、TCD₅₀を基にした場合にも同じく2倍であつた。Woeben等は Walker 腫瘍に強度1W/cm²の超音波を併用し、増感率1.7と報告している⁴。使用した超音波強度が異なるので単純には比較できないが、著者らの成績と近い値である。超音波の生物学的影響は、*in vitro*, *in vivo*ともに放射線との併用照射のみならず、単独照射においても研究者によつて意見が異なる。この原因は、用いた超音波の強度や音場がまちまちで十分検討されていないためであると考えられる。著者らは、超音波の化学的効果と発泡現象の間には密接な関係があり、ともにしきい値があることを確認し、それに基づいて実験条件の設定を行つた。

超音波により生物学的効果を生ずる機序は明らかでないが、振動による機械的破壊作用、キャビテーション、温度効果及びその他の未知の作用があるとされている⁸。Toddら⁹は、培養細胞についてX線照射後に920KHz, 0.14W/cm²の超音波を10分間照射して増感効果を認め、それには温度効果以外の作用機序が働いていると述べている。著者らの測定では、腫瘍内の温度上昇は1°C以内であり、温度効果による放射線増感とは考え難い。しかし、超音波照射によって微小な局所に瞬間に高温が得られている可能性も否定はできない。しかしそれを確認する方法はない。また、照射部位が身体全体に比べ小さく、血流に富んでいる場合は、稀釈され体温上昇にまでは至らないであろう。

併用効果の作用機序について、Karze-Mühl¹⁰

は、クロモゾーム傷害がX線照射後に超音波を照射した場合有意に増強されるので、超音波がX線傷害の回復を阻害するとしている。しかし、本研究では、超音波とX線の照射順序を変えて有意の差は認められず、かつ、これよりも両者を同時に併用照射した場合に効果が最も強くみられた。これは、超音波が細胞のX線傷害からの回復を阻害するのみでないことを示すが、本実験からはそれ以上の推察はできない。

X線と超音波の同時併用照射群と他群の間には、組織学的にも差がみられるが、組織学検索の詳細については次報で述べる。

結語

Wistar系ラットの側腹部皮下に移植した Walker 256 sarcoma にX線と超音波のそれぞれ単独及び併用照射を行い、その効果について腫瘍の成長曲線を指標にして検討した。

1. 超音波強度3W/cm²(腫瘍における推定強度1.5~2.0W/cm²)で10分間及び30分間単独照射した群の成長曲線は、対照群の成長曲線と差が認められなかつた。

2. X線単独500~3,000R照射群では、腫瘍の成長抑制は線量の増加とともに著明になつた。腫瘍消失は1,000R照射群からみられ、腫瘍消失率は線量の増加とともに高くなつた。

3. X線500Rと超音波10分間同時併用照射群の成長曲線は、X線単独1,000R照射群の成長曲線に相当した。X線1,000Rと超音波10分間照射群では、16例中12例の腫瘍が消失し、残り4例の再増殖腫瘍の成長曲線は、X線単独2,000R照射群のものに近似した。この結果は、超音波の同時併用照射により約2倍の放射線増感効果が得られることを示す。TCD₅₀で検討した場合の増感率は同じく2倍であつた。

4. 超音波照射直後にX線を照射した場合と処理順序を変えた場合の間には差は認められず、かつ、同時併用照射に比べて効果は減じた。

5. 超音波10分間照射による腫瘍内の温度上昇は0.15°Cであつた。これより、超音波の放射線増感は一般的にいわれる温度効果によるものとは考

え難い。

文 献

- 1) 伊藤乙正：二十日臍脾臓内血液芽細胞の核分裂より観察せる線強度の検討。日本医放会誌, 15: 879-896, 1956
- 2) 藤田勝三, 石垣武男, 佐久間貞行: 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。日本医放会誌, 36: 744-747, 1976
- 3) 石垣武男, 藤田勝三, 佐久間貞行: 超音波の放射線効果に及ぼす影響(第3報)正常組織; 家兎耳介及び腎臓。日本医放会誌, 36: 748-752, 1976
- 4) Woeber, K.: The effects of ultrasound in the treatment of cancer. in "Ultrasonic Energy: Biological Investigations and Medical Applications" University of Illinois Press, Urbna, 137-149, 1965
- 5) Clarke, P.R., Hill, C.R. and Adams, K.: Synergism between ultrasound and X-rays in tumor therapy. Brit. J. Radiol., 43: 97-
- 99, 1970
- 6) 藤田勝三, 石垣武男, 佐久間貞行, 宮田伸樹: 超音波の放射線効果に及ぼす影響(第1報) $^{60}\text{Co}\gamma$ 線と1MHz超音波の化学的効果の比較。日本医放会誌, 36: 737-743, 1976
- 7) 梶原彌, 川路尚徳, 米田友彦, 木村孝信: 制癌実験法に関する研究(3), 8種のマウス結節腫瘍, 2種のラット結節腫瘍の累代維持成績。武田研年報, 20: 115-163, 1961
- 8) Lehmann, J.F. and Krusen, F.H.: Biophysical effects of ultrasound energy on carcinoma and their possible significance. Arch. Phys. Med. Rehabil., 36: 452-459, 1955
- 9) Todd, P. and Schroy, M.S.: X-ray inactivation of cultured mammalian cells: Enhancement by ultrasound. Radiology, 113: 445-447, 1974
- 10) Karze-Mühl, E.: Chromosome damage in human lymphocytes after different combinations of X-ray and ultrasonic treatment. Excerpta Medica I.C.S., 3-9, 1975