



| | |
|--------------|---|
| Title | 全身照射を受けた免疫ラットの抗腫瘍性に対する Misonidazoleの影響に関する実験的研究 |
| Author(s) | 三橋, 紀夫 |
| Citation | 日本医学放射線学会雑誌. 1981, 41(12), p. 1209- 1219 |
| Version Type | VoR |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/17605 |
| rights | |
| Note | |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

全身照射を受けた免疫ラットの抗腫瘍性に対する Misonidazole の影響に関する実験的研究

群馬大学医学部放射線医学教室 (主任: 永井輝夫教授)

三 橋 紀 夫

(昭和56年5月21日受付)

(昭和56年7月17日最終原稿受付特別掲載)

The Effect of Misonidazole on Anti-Tumor Activity of Immunized Rats that received Total Body Irradiation

Norio Mitsuhashi

Department of Radiology, Gunma University, School of Medicine, Maebashi, Japan

(Director: Prof. Teruo Nagai)

Research Code No.: 408

Key Words: Hypoxic cell sensitizer, Misonidazole, Enhancement of normal tissue with Misonidazole, Tumor immunity, Immunized rat, Total body irradiation

The hypoxic cell sensitizer Misonidazole (MIS) was considered to sensitize the hypoxic tumor cells selectively. But some recent data suggests that MIS has a smaller sensitizing effect on normal tissue. In view of this, the experimental studies were performed to investigate the effect of MIS on anti-tumor activity of immunized rats that received total body irradiation (TBI).

Male Wistar strain rats that received subcutaneous transplantations of Yoshida sarcoma cells (Y.S.) were cured at high rates with Tetramethylthiuram disulfide (TMTD), and at the same time, they acquired transplantation immunity that resists completely retransplantation of 10^7 Y.S.. When these immunized rats received TBI, they lost their anti-tumor activity and died of the tumor after intraperitoneal retransplantation of 10^7 Y.S.. The mortality rates varied depending on the radiation doses of TBI. In immunized rats with TBI alone, the mortality rates were 0% at 450 rad, 12% at 550 rad and 44% at 650 rad. On the contrary, in immunized rats with MIS (0.5 g/kg i.p.) plus TBI, the mortality rates were 20% at 450 rad, 41% at 550 rad and 65% at 650 rad. The radiation dose for 50% abolishment of anti-tumor activity (50% death radiation dose) was 690 rad in immunized rats that received TBI alone and 580 rad in immunized rats that received TBI with MIS. These results suggest that MIS caused enhancement of radiation damage in anti-tumor activity of immunized rats. The enhancement ratio was 1.2.

Then the neutralization test was made to investigate the effect of MIS on the anti-tumor activity of peritoneal exudate cells (PECs). Each PECs from immunized rats with 550 rad TBI alone and with MIS plus TBI were added to Y.S. and incubated at 37°C for 30 minutes. The mixtures were injected intraperitoneally to untreated normal rats respectively. The PECs from the immunized rats with MIS plus TBI did not inhibit the proliferation of Y.S. sufficiently and the survival time of the untreated normal rats was shorter than those of immunized rats with TBI alone. MIS was therefore thought to damage also the anti-tumor activity of PECs.

I. 緒 言

放射線治療による悪性腫瘍の局所制御を妨げている重要な因子の一つとして、腫瘍中に存在する低酸素細胞の放射線感受性が低いことがあげられてきた¹⁾。したがって、“いかにして腫瘍組織中の低酸素細胞を減らすか、あるいは、低酸素細胞をいかにして死滅させるか”が悪性腫瘍の放射線治療の成否を左右する大きな要因とされてきた。生物学的現象を利用した分割照射法の考案²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾、高圧酸素タンク療法⁶⁾⁷⁾⁸⁾あるいは混合ガス吸入下での照射⁹⁾、増感剤の開発、利用¹⁰⁾¹¹⁾などさまざまな工夫がなされたが、今日までのところ腫瘍組織のみならず正常組織にも増感効果を示し、治療効果としての利益は期待されたほどの大きな成果をあげるに至っていない。

近年、細胞の酸素濃度によって作用があまり左右されない、すなわち OER の小さい高 LET 放射線の医学利用が急速にすすみ、放射線抵抗性腫瘍の局所制御に希望がもたれる時代になってきた¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾。しかし高 LET 放射線の治療機器は極めて高価であり、現況では限られたわずかな施設のみにしか設置困難なため、多くの患者を対象とすることは望むべくもない。

一方、放射線増感剤の研究も進み、放射線抵抗性である低酸素細胞のみに選択的に増感効果を示す低酸素細胞増感剤が開発された¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾。この薬剤は高 LET 放射線に比して安価であり多くの施設で臨床応用が可能であることから、Hyperthermia¹⁸⁾とともに、放射線難治性腫瘍の治療に大きな期待が寄せられている。

Misonidazole は、電子親和性薬剤として毒性が弱く代謝も安定していることから、低酸素細胞増感剤として現在もっとも注目されている¹⁹⁾²⁰⁾。これまでの多くの薬剤は、腫瘍組織中の血流の不十分な領域すなわち低酸素細胞領域には十分に到達しえなかったのに反して、Misonidazole は血中から組織内へは拡散により到達するため²¹⁾、血中濃度を一定値以上に保つならば壊死巣にも容易に入ることができる²¹⁾²²⁾²³⁾。しかも投与後、時間が経過し血中濃度が低下すると、濃度勾配に従っ

て組織中の Misonidazole も集積したときと逆の経路をたどり血中にもどり、排泄される。したがって、投与後一定時間を経過すると、低酸素細胞領域の方が血流の豊富な領域よりも濃度が高くなることにもなりうる²²⁾²³⁾。さらに Misonidazole は低酸素細胞のみを選択的に増感するばかりでなく¹⁹⁾²⁰⁾²⁴⁾²⁵⁾、その代謝産物に低酸素状態で細胞毒性があることが証明されたことから²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾、放射線治療上の利益はさらに高まることが期待される²⁴⁾²⁵⁾。

一方、Misonidazole には神経毒性がある²⁹⁾³⁰⁾ことから、臨床応用にあたって、この点が最も懸念された。しかし本邦における臨床第 I 相試験の結果では、中枢神経障害ならびに末梢神経障害の発症頻度はそれぞれ 5.2%、7.2%と低く、症状も軽微であった³¹⁾。また消化器症状、発熱、発疹などといった神経系障害以外の副作用も軽かったことから、臨床第 II 相試験が進行中である。

ところで悪性腫瘍は系統的疾患にもかかわらず放射線治療ならびに手術といった局所治療によって高率に治癒している。これは悪性腫瘍の治癒に宿主の影響が密接に関与していることを示唆するもので、悪性腫瘍の治療においては腫瘍宿主関係を無視するわけにはいかない⁴⁾⁵⁾³²⁾。したがって、放射線治療に Misonidazole を併用することにより局所制御率をひきあげ得ても、宿主の生体反応に対して悪影響を及ぼすことになれば治癒率の向上には、つながらず、治療上の利益も得られない。

今回著者は、宿主の生体反応とくに抗腫瘍性に及ぼす Misonidazole の影響について検討する目的で、吉田肉腫に対して抗腫瘍性を獲得した免疫ラットを用いて実験的研究をおこなったので報告する。

II. 材料および方法

免疫ラット：免疫ラットの作製法は新部らがすでに報告した方法に準じておこなった³³⁾³⁴⁾。すなわち、体重約 120g の Wistar 系雄性ラットの背部皮下に 10^6 個/0.1ml の吉田肉腫細胞を移植し、同部に腫瘤を形成する移植後 7 日目に細胞毒である

TMTD (Fig. 1) 15mg/0.3ml を腫瘍内に注入する。腫瘍は変性壊死に陥り潰瘍を形成し約2週間で脱落治癒する。以上の操作によって吉田肉腫に対して抗腫瘍性を獲得せしめたラットを免疫ラットとして実験に供した。実験に先だて、免疫ラットが 10^7 個/mlの吉田肉腫細胞の腹腔内投与を完全に拒絶することを確認した (Fig. 2).

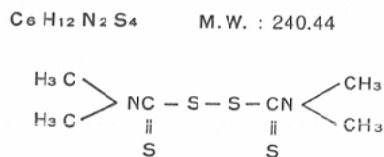


Fig. 1 TMTD (Tetramethylthiuram disulfide)

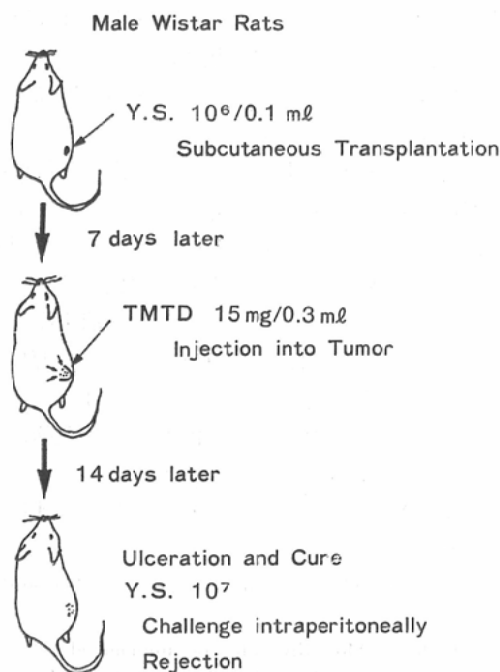


Fig. 2 Immunization of Rats

吉田肉腫細胞：佐々木研究所より供与を受け当教室で腹水型として継代移植している細胞を用いた。腹腔内投与に用いる腫瘍細胞は、ラット腹腔内で純培養状態になった腹水をトリス緩衝液で溶血させることにより得た。

照射装置ならびに照射方法：アクリル板で照射箱を作製し、その中にラットを5～6匹ずつ入

れ、無麻酔下で照射した。照射は東芝 RCR-120 C1 型回転コバルト装置で、線源病巣間距離80cm 対向二門で行った。

Misonidazole：生理的食塩水で50mg/mlの濃度に調製したものを、照射1時間前にラット体重当り0.5g/kg 腹腔内投与した。

腹腔滲出細胞の採取：腹腔内洗滌法を用いた。すなわち生理的食塩水約20mlを腹腔内に注入し、腹部を軽く揉んだのち注射器にて吸引した。この操作をさらに2度くり返し行うことによって、ラット当り $2\sim 3 \times 10^7$ 個の腹腔滲出細胞の採取が可能であった。

免疫ラットの全身照射による抗腫瘍性の消失実験：免疫ラットに前述の方法で350radから650radまでの線量を全身照射し、最も抗腫瘍性の低下する照射5日後に 10^7 個/mlの吉田肉腫細胞を腹腔内投与した。その後2日間隔で腹腔穿刺を行い塗抹標本を作製して腹腔内の免疫状態を観察するとともに、照射線量の違いによる抗腫瘍性の消失率の差を、被照射免疫ラットの腫瘍死率で比較した。さらにこの系を用い、照射にMisonidazoleを併用し、Misonidazoleの抗腫瘍性に及ぼす影響を検討した (Fig. 3).

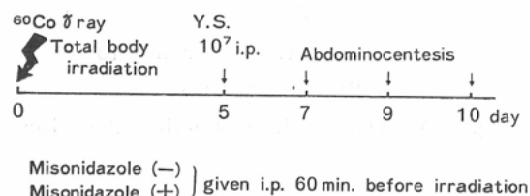


Fig. 3 Effect of total body irradiation on anti-tumor activity

腹腔滲出細胞の抗腫瘍性に対するMisonidazoleの影響(中和テスト)：Misonidazoleの抗腫瘍性に対する影響が、直接、免疫担当細胞である腹腔滲出細胞の抗腫瘍性に障害を与えたものか、あるいはMisonidazoleの全身の影響による二次的な抗腫瘍性の低下によるものであるかを検討するため中和テストを行った。全身550rad照射単独およびMisonidazole併用免疫ラットの腹腔滲出細

胞を照射5日後に採取し吉田肉腫細胞と *in vitro* で10:1 および100:1 の割合で混合した。37°C 30分間培養したのち、正常無処置ラット腹腔内にもどし、腫瘍増殖を抑制し治癒するか、あるいは腫瘍が増殖し腫瘍死するかを観察した (Fig. 4)。また腫瘍死例については、死亡までの日数で腹腔滲出細胞の抗腫瘍性の強さを比較した。

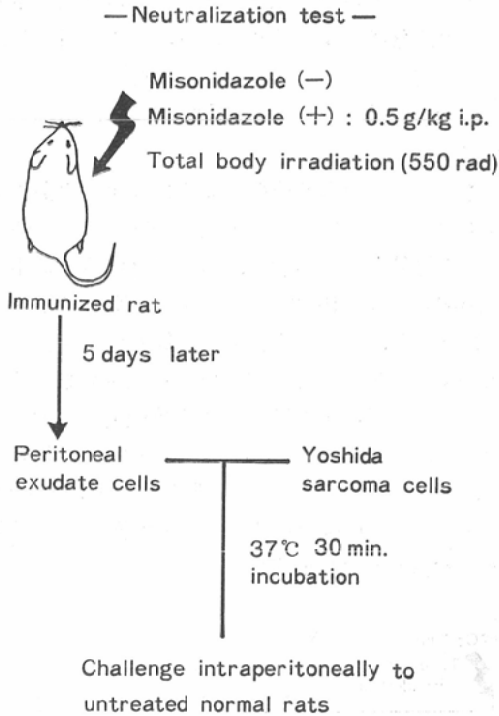


Fig. 4 Anti-tumor activity of peritoneal exudate cells

III. 結果

1. 全身照射による抗腫瘍性の消失

(1) 照射単独群

全身 350rad の照射では抗腫瘍性の障害は全く認められず、腹腔内チャレンジ2日後には、腫瘍細胞は腹水中から消失した (Fig. 5)。全身450rad の照射では、一過性に腫瘍細胞の増殖がみられるラットも認められたが (Fig. 6)、抗腫瘍性を消失し腫瘍死したラットはなく、全例治癒した (Table 1)。

しかし全身照射線量を 550rad および 650rad と

Table 1 Mortality rates of immunized rats that received total body irradiation after retransplantation of tumor cells

—Radiation alone—

| Dose (rad) | No. of Rats | No. of Death | Death Rate (%) |
|------------|-------------|--------------|----------------|
| 350 | 5 | 0 | 0 |
| 450 | 5 | 0 | 0 |
| 550 | 17 | 2 | 12 |
| 650 | 18 | 8 | 44 |

増加すると腫瘍死するラットが出現し、死亡率はそれぞれ12% (2/17), 44% (8/18)であった。なお腫瘍死ラットは、吉田肉腫細胞チャレンジ4日後より認められはじめ、死亡時の腹水では腫瘍細胞が出血を伴いほとんど純培養状態に増殖していた (Fig. 7)。一方、チャレンジ後14日以降の死亡例は認められなかった。

(2) Misonidazole 0.5g/kg 腹腔内投与併用群
Misonidazole を全身照射に併用したラットでは、照射単独群では腫瘍死例が認められない450radでも抗腫瘍性が低下し死亡する例が認められた。線量を増加すると、抗腫瘍性の消失率は、550rad で41% (7/17), 650rad で65% (11/17)と、照射単独群に比して明らかに増加した。なお、350rad の全身照射との併用群では抗腫瘍性の低下は認められなかった (Table 2)。

(3) Misonidazole の投与量による抗腫瘍性の変化

全身照射線量を 550rad と一定とし、Misonida-

Table 2 Mortality rates of immunized rats that received total body irradiation after retransplantation of tumor cells

—Radiation combined with Misonidazole—

| Dose (rad) | No. of Rats | No. of Death | Death rate (%) |
|------------|-------------|--------------|----------------|
| 350 | 5 | 0 | 0 |
| 450 | 5 | 1 | 20 |
| 550 | 17 | 7 | 41 |
| 650 | 17 | 11 | 65 |

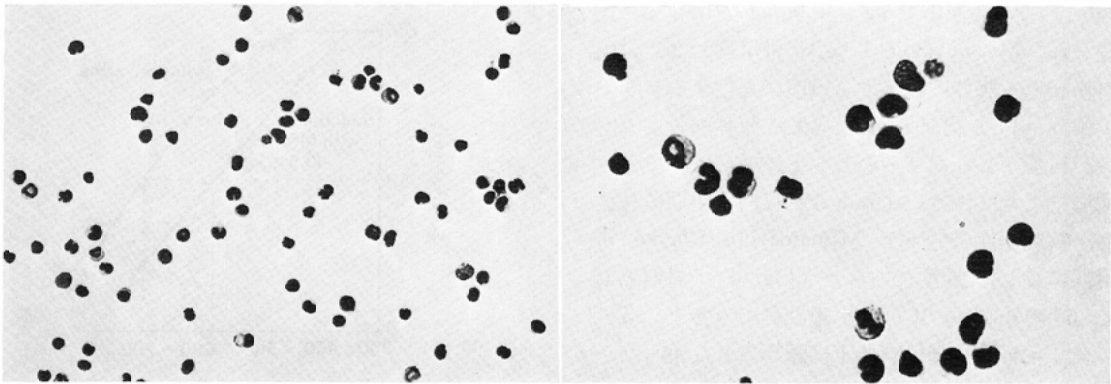


Fig. 5 The findings in ascitic fluid of a rat with strong anti-tumor activity at 2 days after the tumor transplantation. There is a strong infiltration of reactive cells such as monocytes, granulocytes and lymphocytes, but tumor cells are not present. (Giemsa's stain, $\times 200$ & $\times 400$)

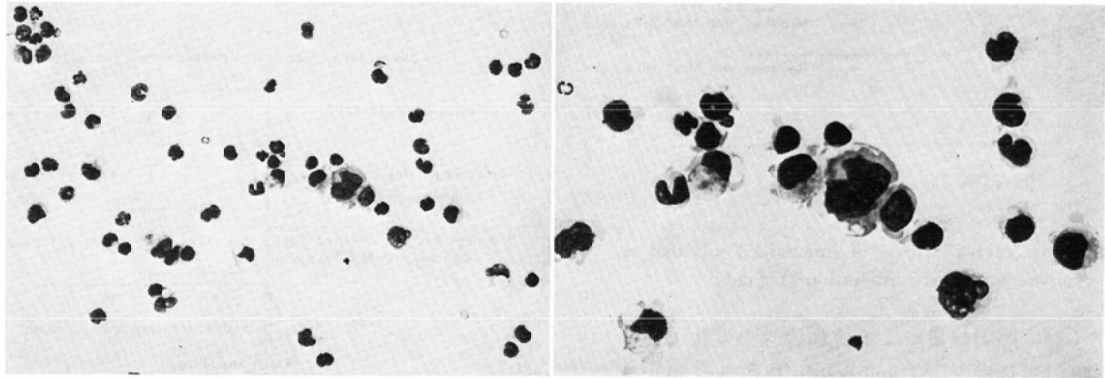


Fig. 6 The findings in ascitic fluid of a rat with slightly damaged anti-tumor activity at 2 days after the tumor transplantation. Slight proliferation of tumor cells was observed. Some tumor cells were attacked by reactive cells and underwent degeneration. (Giemsa's stain, $\times 200$ & $\times 400$)

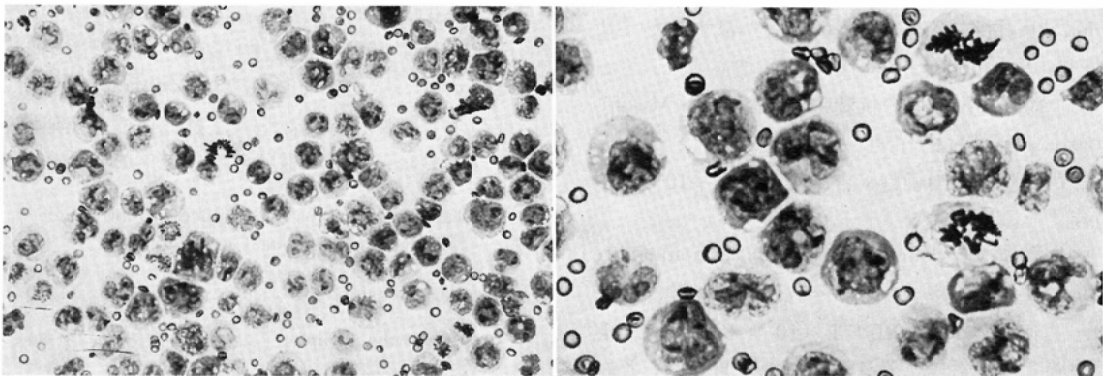


Fig. 7 The findings in ascitic fluid of a rat without anti-tumor activity at 4 days after the tumor transplantation. The reactive cells almost disappeared and the tumor cells showed such proliferation as if in a "pure culture" state with bleeding. Many tumor cells showed mitotic figures. (Giemsa's stain, $\times 200$ & $\times 400$)

zole の投与量を0.5g/kg と1.0g/kg とに変えて比較した。Misonidazole 1.0g/kg 併用群では、吉田肉腫細胞を腹腔内投与する以前に死亡するラットが20% (1/5) 認められた。また腹腔内チャレンジが可能であった4匹のラットについてみても、腫瘍死した2匹はいずれも5日以内と早期に死亡し、抗腫瘍性の低下が Misonidazole 0.5g/kg 併用群に比して顕著であった (Fig. 8)。対照として Misonidazole 0.5g/kg 単独群でみると、5匹が全て治癒し抗腫性の低下は認められなかった。

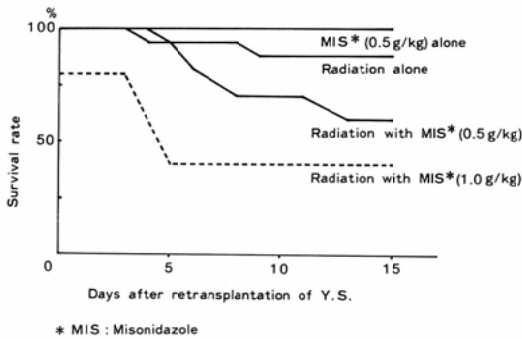


Fig. 8 Survival curve of immunized rats that received total body irradiation (550rad)

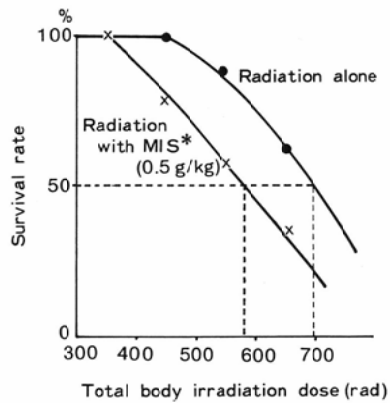
(4) 照射線量による抗腫瘍性の変化

照射単独群と Misonidazole 0.5g/kg 併用群の線量効果曲線を描くと Fig. 9 のごとくなり、50%抗腫瘍性消失線量で比較すると、照射単独群690rad, Misonidazole 併用群580rad となり Misonidazole 併用により110rad 線量が減少した。すなわち Enhancement Ratio は1.2であった。

2. 腹腔滲出細胞の抗腫瘍性に対する Misonidazole の影響 (中和テスト)

(1) 腹腔滲出細胞：吉田肉腫細胞=10：1の場合

無処置、全身550rad 照射および Misonidazole 0.5g/kg 併用免疫ラットのそれぞれの腹腔滲出細胞と吉田肉腫細胞を10：1 (10⁶コ：10⁵コ) で混合培養し、正常無処置ラットにチャレンジした結果、各群のラットが腫瘍死するまでの日数は、Fig. 10 のごとくなり死亡までの平均日数および標準偏差はそれぞれ、11.2±1.17日、11.6±1.35



* MIS : Misonidazole
Fig. 9 Dose-response curves for disappearance of anti-tumor activity in immunized rats

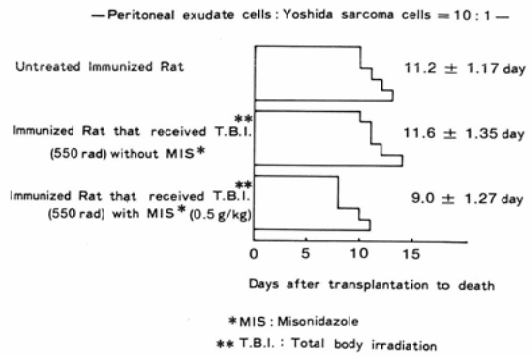


Fig. 10 Anti-tumor activity of peritoneal exudate cells

日、9.0±1.27日であった。この結果について分散分析を行うと、 $p < 0.05$ で有意の差が認められた (Table 3)。すなわち、Misonidazole 併用免疫ラットの腹腔滲出細胞では抗腫瘍性が無処置免疫ラットおよび照射単独免疫ラットの腹腔滲出細胞

Table 3 Analysis of variance on anti-tumor activity of peritoneal exudate cells

| Variation factor | d.f. | S.S. | M.S. |
|--------------------|------|------|------|
| between the groups | 2 | 19.6 | 9.8 |
| within the groups | 12 | 24.0 | 2 |
| Total | 14 | 43.6 | |

$F_{2,12} = 4.96 \quad p < 0.05$

胞に比して、明らかに低下した。

(2) 腹腔滲出細胞：吉田肉腫細胞=100：1の場合

腹腔滲出細胞と吉田肉腫細胞の割合が10：1では治癒し生存するラットが認められなかったため、両者の割合を100：1 (10⁶コ：10⁴コ)として同様の実験を試みた。

移植後20日目までの観察でみると、無処置免疫ラットの腹腔滲出細胞は80% (4/5) のラットを治癒せしめた。しかし照射単独ラットおよび Misonidazole 併用ラットの腹腔滲出細胞では、それぞれ20% (1/5), 17% (1/6) とラットの治癒率は低下した (Fig. 11)。しかし両群ラットの生存日数を比較すると、Misonidazole 併用ラットの腹腔滲出細胞の方が吉田肉腫細胞の増殖抑制効果が乏しく生存期間の短いラットが多かった。移植後15日目の死亡状況について検討したところ (Table 4)、照射単独ラットの腹腔滲出細胞投与

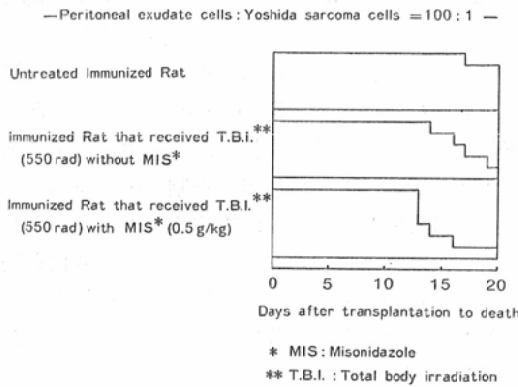


Fig. 11 Anti-tumor activity of peritoneal exudate cells

Table 4 Deaths at the 15th day after transplantation of peritoneal exudate cells and Yoshida sarcoma cells (100 : 1)

| | No. of Death | No. of Survival | Total |
|----------------------------|--------------|-----------------|-------|
| Radiation alone | 1 (2.3) | 4 (2.7) | 5 |
| Combined with misonidazole | 4 (2.7) | 2 (3.3) | 6 |
| Total | 5 | 6 | 11 |

$\chi^2=2.499$ d.f.=1 n.s. (): expected value

では生存率80% (4/5) であったが、Misonidazole 併用ラットの腹腔滲出細胞投与では33% (2/6) と生存率の低下が認められた。

IV. 考 案

今回実験に用いた免疫ラットは、細胞毒である TMTD 処理により皮下移植吉田肉腫を治癒させ、同種移植免疫を獲得させたものであり、こうして獲得した抗腫瘍性は吉田肉腫細胞10⁷個の再移植を腹腔内にうけても完全に排除しうるほど強力なものである。すでに新部らが³⁴⁾報告したように、免疫ラットは全身照射された場合にのみ抗腫瘍性を一時的に完全に消失するものであり、もし一部でも免疫組織が保護されるならば、抗腫瘍性は障害されない。全身照射による抗腫瘍性の低下は照射後2日目より出現し、約7日間持続するが、照射後9日経過すると回復が認められる。こうした実験根拠をもとに実験方法を考案し、全身照射線量の違いによる抗腫瘍性の消失率の差を照射単独ラットで求め、これを対照として Misonidazole の正常組織とくに抗腫瘍性に対する影響を定量化しようと試みた。

当初、多くの報告が¹⁹⁾²⁰⁾²⁵⁾あるように、Misonidazole には正常組織に対する増感作用はなく、したがって当然のことながら、免疫組織に対しても何ら影響を与えないであろうと考えて実験を開始したが、予想に反して実験結果は明らかに Misonidazole が正常組織ならびに免疫組織に対し増感効果と思われる作用を有することを示唆するものであった。Misonidazole を全身照射に併用すると、Misonidazole 単独あるいは照射単独では認められなかった免疫ラットの抗腫瘍性の低下が認められた。抗腫瘍性低下に対する線量効果曲線を作製し、50%抗腫瘍性消失線量で Misonidazole 併用による増感率を算出すると、その値は1.2 (690rad/580rad) であった。

正常組織に対する Misonidazole の増感効果の報告としては、皮膚³⁵⁾³⁶⁾³⁷⁾、睪丸³⁸⁾、軟骨³⁹⁾、尾の壊死⁴⁰⁾などに対するものがあり、Enhancement Ratio は1.1~1.5とされている (Table 5)。Varghese⁴¹⁾らは低酸素細胞にのみ細胞毒性を有する

Table 5 Enhancement of normal tissue with Misonidazole

| System | Enhancement Ratio | Reference |
|---------------------|-------------------|----------------------|
| Leg skin | 1.0~ 1.3 | Brown (1974) |
| Thigh skin | 1.1 | Yuhás, et al. (1977) |
| Testis | 1.3 | Suzuki et al. (1977) |
| Tibial cartilage | 1.3 | Gonzales (1978) |
| Tail necrosis | 1.5 | Hendry (1978) |
| Leg skin | 1.1~ 1.2 | Stewart (1980) |
| Anti-tumor activity | 1.2 | Author (1981) |

とされていた Misonidazole の代謝産物は酸素分圧の十分な細胞に対しても同様の作用を有すると報告している。こうした正常組織に対する増感効果は動物実験のみでなく臨床的にも認められたと Arcangeli ら⁴²⁾は報告している。彼等は頭頸部腫瘍21例に対する Misonidazole の使用経験から、対照群に比して、長期間持続する高度の粘膜炎が比較的早期から出現し、2,500rad~3,000rad で照射を中止せざるをえない症例も認められたと報告している。

Misonidazole の正常組織に対する増感の理由としては、① 低酸素細胞のみでなく酸素分圧の十分な細胞にも増感作用を有する、② 低酸素細胞が正常組織内にも存在する、③ 照射からの回復を抑制する、などの可能性が考えられる。報告の中には、正常組織内に低酸素細胞が含まれているという理由で正常組織に対する Misonidazole の増感効果を説明しているものが多い³⁸⁾⁴⁰⁾⁴³⁾。著者の実験系でも、Misonidazole の腹腔内投与の刺激により、腹腔内に渗出が惹起され低酸素状態に陥る可能性を全く否定するわけにはいかない。しかし率丸³⁸⁾などの一部の組織をのぞき、すべての正常組織が低酸素細胞を含むとは考えにくく、正常組織に対する増感をこの理由のみで説明するには無理がある。したがって酸素分圧の十分な細胞に対しても増感を示す可能性が高いと考えざるを得ない⁴⁴⁾⁴⁵⁾。

次に抗腫瘍性の低下が免疫組織に対する選択的な障害であるのか、全身に対する影響に付随する一部分症であるのかを鑑別するために、この免疫ラットの系で、最も強い抗腫瘍性を有する免疫担当細胞である腹腔渗出細胞を用いて中和テストを行った。1匹のラットから採取しうる腹腔渗出細胞に限度があるためチャレンジするラットの匹数にも制限があり、腹腔渗出細胞：吉田肉腫細胞=100：1の場合には、Misonidazole 併用ラットの腹腔渗出細胞の障害を認めながらも対照群との間に有意差がなかった。しかし比率を10：1にすると Misonidazole 併用ラットの腹腔渗出細胞は有意の差をもって障害された。だがこの障害が Misonidazole の照射に対する増感効果のみによるかは断定しがたい。なぜならば腹腔渗出細胞は照射直後に採取したものでなく、照射5日後の細胞であるため Misonidazole の直接障害の可能性を残す。

Clare ら⁴⁶⁾は Misonidazole により PHA 刺激に対するリンパ球の幼若化率が有意に低下したと報告している。また Lindmo ら⁴⁷⁾は酸素下で細胞周期の抑制作用が Misonidazole にあることを報告している。こうした報告は今回用いた系で抗原刺激を受けた際の免疫担当細胞の機能障害ならびに動員細胞数の減少を示唆するものと考えられる。また従来報告の多くが形態学的な変化を増感効果の指標としていたのに反し、免疫能といった細胞の鋭敏な機能を指標としたことで、わずかな Misonidazole の毒性が強調されて表現されたとも考えうる。

さらに免疫細胞に対する Misonidazole の影響を論ずる際、Misonidazole と同じ nitroimidazole 系の化合物である Metronidazole ならびに Misonidazole に発癌物質としての作用がある⁴⁸⁾⁴⁹⁾ことを考慮しておかなければならない。Rostom⁵⁰⁾は照射を Metronidazole に併用すると、照射野に一致して放射線発癌が増加することをマウスを用いて実証している。このように、*in vitro* で発癌性を示すだけでなく、*in vivo* で発癌率の増加を認めることは、この種の薬剤がただ単に発癌物質と

して作用するのみでなく、宿主の生体防御機構を抑制し、癌を誘発したとも推測しうる。

以上のごとく、① 正常組織に対して増感効果を有するとする報告が増加しつつあること、② リンパ球の PHA 刺激に対する幼若化率を抑制するなど免疫担当細胞の機能障害をひきおこすこと、③ 発癌物質としての作用を有することなどの事実は著者の実験結果を肯定する根拠となりうるものである。

しかしこの点が Misonidazole の臨床応用にあたって大きな問題となるかどうかの結論については慎重でなければならぬ。なぜならば、臨床応用の際には Misonidazole の投与量が極めて少量であり、しかも照射野が限定されているなど、今回の実験系とは使用条件が大きく異なるためである。だが、低濃度でも正常細胞を長時間 Misonidazole にさらすと、短時間では出現しなかった細胞毒性が出現するとの報告⁵¹⁾もあり、臨床応用にあっても、Misonidazole の腫瘍宿主関係に及ぼす影響を全く無視するわけにはいかないであろう。しかしその程度については今後の研究課題と思われた。

V. 結 論

吉田肉腫に対して抗腫瘍性を獲得した免疫ラットを用いて Misonidazole の抗腫瘍性に及ぼす影響について検討したところ、照射単独あるいは Misonidazole 単独では認められない抗腫瘍性の低下が、Misonidazole と照射を併用することにより認められた。さらに免疫担当細胞である腹腔滲出細胞自体の抗腫瘍性も障害された。

本研究にあたり、直接御指導いただいた 新部英男助教授に深謝するとともに、御校閲を賜った 永井輝夫教授に厚く感謝の意を表します。

文 献

- Gray, L.H., Conger, A.D., Ebert, M., Hornsey, S. and Scott, O.C.A.: The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. *Brit. J. Radiol.*, 26: 638—648, 1953
- Elkind, M.M. and Sutton, H.: Radiation response of mammalian cells grow in culture. I. Repair of X-ray damage in surviving chinese hamster cells. *Radiat. Res.*, 13: 556—593, 1960
- 坂本澄彦: 放射線生物学的因子を考慮した放射線抵抗癌の治療: 時間的線量配分について. 癌の臨床, 26: 1480—1485, 1980
- 戸部龍夫: 放射線治療の生物学的考察(宿題報告). *日本医放会誌*, 28: 690—713, 1968
- 新部英男: 放射線病理. 現代産婦人科学大系, 13巻 G. pp. 225—240, 1972, 中山書店, 東京
- Churcill Devidoson, I., Sanger, C. and Thomlinson, R.H.: Oxygenation in radiotherapy. II. Clinical application. *Brit. J. Radiol.*, 30: 406—422, 1957
- van den Brenk, H.A.S.: Hyperbaric oxygen in radiation therapy: An investigation of dose effect relationships in tumor response and tissue damage. *Am. J. Roentgenol.*, 102: 8—26, 1968
- Suit, H.D. and Scott, O.C.A.: Hyperbaric oxygen and irradiation: A review of laboratory experimental and clinical data. (In) *Progress in Radio-Oncology International Symposium, Baden (Austria)*, Kärcher, K.H., et al., ed. pp. 150—161, 1980, Stuttgart, New York
- 渡辺哲敏 and Thomlinson, R.H.: ラット移植腫瘍 RIB 5 に対する X 線照射の効果修飾因子について. *日本医放会誌*, 27: 1558—1571, 1968
- Bagshaw, M.A., Doggett, R.L.S., Smith, K.C., Kaplan, H.S. and Nelsen, T.S.: Intra-arterial 5-bromodeoxyuridine and X-ray therapy. *Am. J. Roentgenol.*, 99: 886—894, 1967
- 星野孝夫: BUdR による脳腫瘍の放射線療法—その生長解析の観点—. 癌の臨床, 20: 67—70, 1974
- Suit, A.M., Goitein, M., Tepper, J.E. and Verhey, L.: Clinical experience and expectation with protons and heavy ions. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 3: 115—125, 1977
- 恒元 博, 荒居竜雄, 森田新六, 石川達雄, 中野政雄: 放医研における速中性子線治療とその評価. 癌の臨床, 24: 1001—1008, 1978
- 加速器の医学利用. 第8回放医研シンポジウム(1976. 12). 癌の臨床, 23, 1977
- Bridges, B.A.: Sensitization of *Escherichia coli* to gamma-radiation by N-ethylmaleimide. *Nature*, 183: 415, 1960
- Adams, G.E. and Dewey, D.L.: Hydrated electrons and radiobiological sensitization. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 12: 473—477, 1963
- 大野忠夫, 色田幹雄: Hypoxic Sensitizer 研究の現況—AF-2 の放射線増感作用について.

- の臨床, 22: 648—655, 1976
- 18) Field, S.B.: Hyperthermia: Alone or in combination with X-rays? (In) Progress in Radio-Oncology International Symposium, Baden (Austria), Kärcher, K.H., et al., ed. pp. 120—138, 1980, Stuffedart, New York
 - 19) Dische, S., Saunders, M.I., Lee, M.E., Adams, G.E. and Flockhart, I.R.: Clinical testing of the radiosensitizer Ro 07 0582: Experience with multiple doses. Brit. J. Cancer, 35: 567—579, 1977
 - 20) Adams, G.E., Flockhart, J.R., Smithen, C.E., Stratford, I.J., Wardman, P. and Watts, M.E.: Electron-affinic sensitization. VIII. A correlation between structures, one-electron potentials and efficiencies of Nitroimidazoles as hypoxic cell radiosensitizers. Radiat. Res., 67: 9—20, 1976
 - 21) Ash, D.V., Smith, M.R. and Bugden, R.P.: Distribution of Misonidazole in human tumors and normal tissues. Brit. J. Cancer, 39: 503—509, 1979
 - 22) 新部英男: 臨床腫瘍学. 放射線病理学的立場から, 1981, 講談社, 東京
 - 23) 池田 一, 高橋 育, 木村 誠, 須藤久男, 鯉目一郎, 新部英男: 腫瘍組織に対する Misonidazole の修飾効果の検討. 日本医放会誌, 41: 81, 1981
 - 24) Hall, E.J. and Roizin-Towle, L.: Hypoxic sensitizers: Radiobiological studies at the cellular level. Radiology, 117: 453—457, 1975
 - 25) Dische, S., Gray, A.J. and Zanell, G.D.: Clinical testing of the radiosensitizer Ro 07—0582 II Radiosensitization of normal and hypoxic cell. Clin. Radiol., 27: 159—166, 1976
 - 26) Wong, T.W.: Studies on the toxicity and radiosensitizing ability of misonidazole under condition of prolonged incubation. Radiat. Res., 75: 541—555, 1978
 - 27) Whitmore, G.F., Gulyas, S. and Varghese, A.J.: Sensitizing and toxicity properties of misonidazole and its derivatives. Brit. J. Cancer, 37, Suppl. III: 115—119, 1978
 - 28) Stratford, I.J.: Split dose cytotoxic experiments with misonidazole. Brit. J. Cancer, 38: 130—136, 1978
 - 29) Schärer, K.: Selective alterations of purkinje cells in the dog after oral administration of high doses of nitroimidazole derivatives. Verh. Deut. Ges. Pathol., 56: 407—410, 1972
 - 30) 高橋 育, 池田 一, 須藤久男, 鯉目一郎, 玉木義雄, 平岡成恭, 新部英男: 全脳照射におけるミソニダゾールの増感作用ならびに中枢神経毒性に関する病理組織学的研究. 日本医放会誌, 41: 82, 1981
 - 31) Misonidazole 臨床 I 相試験成績, 1980
 - 32) 梅垣洋一郎: 腫瘍免疫と放射線治療—その臨床—. 癌の臨床, 別冊 癌放射線療法, pp. 27—34, 1978
 - 33) Tobe, T., Niibe, H., Yonome, I. and Koike, N.: Effect of ionizing radiation on tumor immunity. I. Effect of radiation on tumor immunity against homologous and heterologous transplantation of tumor. Nipp. Act. Radiol., 28: 150—159, 1968
 - 34) Niibe, H., Tobe, T. and Koike, N.: Effect of ionizing radiation on tumor immunity. II. Roles of the spleen and the lymphnode cells. Nipp. Act. Radiol., 28: 160—168, 1968
 - 35) Stewart, F.: Care with radiosensitizers. Brit. J. Radiol., 53: 378—379, 1980
 - 36) Brown, J.M.: Selective radiosensitization of the hypoxic cells of mouse tumor with nitroimidazoles, metronidazole and Ro 07—0582. Radiat. Res., 64: 633—647, 1974
 - 37) Yuhas, J.M., Yurconic, M., Kligerman, M.M., West, G. and Peterson, D.F.: Combined use of radioprotective and radiosensitizing drugs in experimental radiotherapy. Radiat. Res., 70: 433—443, 1977
 - 38) Suzuki, N., Withers, H.R. and Hunter, N.: Radiosensitization of mouse spermatogenic stem cells by Ro 07—0582. Radiat. Res., 69: 598—601, 1977
 - 39) Gonzales, D.G. and Breur, K.: Dose modifying effect of misonidazole on the radiation response of growing cartilage in mice. Brit. J. Cancer., 37, Suppl. III: 235—236, 1978
 - 40) Hendry, J.H.: Radionecrosis of normal tissue: Studies on mouse tails. Int. J. Radia. Biology., 33: 47—55, 1978
 - 41) Varghese, A.J., Gulyas, S. and Mohindra, J.K.: Hypoxia-dependent Reduction of 1-(2-Nitro-Imidazolyl)-3-methoxy-2-propanol by chinese hamster ovary cells and KHT tumor cells in vitro and in vivo. Cancer Res., 36: 3761—3765, 1976
 - 42) Arcangeli, G., Barocas, A., Mauro, F., Nervi, C., Spano, M. and Tabocchini, A.: Multiple daily fractionation (MDF) radiotherapy in association with hyperthermia and/or misonidazole: Experimental and clinical results. Cancer, 45: 2707—2711, 1980
 - 43) Hendry, J.H.: Sensitization of hypoxic tissue. Brit. J. Cancer, 37, Suppl III: 232—234, 1978
 - 44) Hendry, J.H. and Sutton, M.H.: Care with

- radiosensitizers. *Brit. J. Radiol.*, 51: 927—928, 1978
- 45) Hendry, J.H. and Sutton, M.H.: Care with radiosensitizers. *Brit. J. Radiol.*, 53: 378—379, 1979
- 46) Clare, M.G. and Joslin, C.A.: The effect of misonidazole on lymphocytes. *Brit. J. Radiol.*, 51: 926—927, 1978
- 47) Lindmo, T., Petterson, E.O. and Wibe, E.: Cell cycle inhibition by misonidazole of human cells cultivated in vitro under aerobic conditions. *Brit. J. Cancer*, 40: 755—760, 1979
- 48) Miller, R.C. and Hall, E.J.: Oncogenic transformation in vitro by the hypoxic cell sensitizer misonidazole. *Brit. J. Cancer*, 38: 411—417, 1978
- 49) Rusta, M. and Shubik, P.: Induction of lung tumors and malignant lymphoma in mice by metronidazole. *J. Nat. Cancer Inst.*, 48: 721—729, 1972.
- 50) Rostom, A.Y., Kauffman, S.L. and Steel, G.G.: Influence of misonidazole on the incidence of radiation-induced intestinal tumors in mice. *Brit. J. Cancer*, 38: 530—536, 1978
- 51) Deys, B.F. and Stop, J.: Influence of the hypoxic cell sensitizer misonidazole on the proliferation of well-oxygenated cells in vitro during prolonged exposure. *Brit. J. Cancer*, 40: 761—767, 1977