



Title	移植腫瘍の放射線効果におよぼす貧血の影響 : 果糖肉腫による実験
Author(s)	田中, 紀元; 前田, 盛正; 長谷川, 正秀
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1969, 29(1), p. 49-54
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/18194">https://hdl.handle.net/11094/18194</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

# 移植腫瘍の放射線効果におよぼす貧血の影響

## — 果糖肉腫による実験 —

京都府立医科大学生物学教室\*

田 中 紀 元

京都府立医科大学放射線医学教室

前田 盛正 長谷川正秀

(指導・金田 弘教授)

(昭和43年7月24日受付)

The Influence of Anemia to Radiation Effect in Transplanted Tumour  
—Studies on the Fructose Sarcoma—

Norimoto Tanaka

Institute of Biology, Kyoto Prefectural University of Medicine

Morimasa Maeda Masahide Hasegawa

Department of Radiology, Kyoto Prefectural University of Medicine

(Director: Prof. Hiromu Kaneda)

Oxygen effect in radiation therapy of malignant tumours has been emphasized and practical use of high pressure oxygen becomes popular in recent years.

On the other hand, the influence of anemia in radiotherapy is almost ignored and has been studied by only few people.

In this paper, the growth and cure rates of transplanted tumour were investigated in normal and anemic mice.

The dd strain mice were inoculated with fructose sarcoma cell suspension of 3  $\mu$ l in right thigh and then assigned into two groups, normal and anemia. Anemia was induced by intraperitoneal injection of 0.125 mg/g phenylhydrazine hydrochloride 24 hours before irradiation.

X-ray doses of 500, 1000 and 2000 R were given to the right thigh of mice of both groups, 48 or 72 hours after tumour transplantation.

As the tumour growth curve is the same in non-irradiated mice of both groups (Fig. 2), phenylhydrazine or anemia has no affect on the growth rate when not irradiated. The dose-dependent decrease of growth rate was seen in normal and anemic mice and in the latter less markedly than in the former for 3 weeks after irradiation, as shown in fig. 3.

The cure rates at 60th day after irradiation were less in anemic than the normal at the dose levels of 500 and 1000 R.

From these results, it is obvious that radiosensitivity of subcutaneous tumour of an anemic mouse is decreased in comparison with a normal mouse.

\*現在：京都府立医科大学放射線医学教室

生体の放射線感受性が呼吸代謝を変える種々の処理によつて影響されることはよく知られた事実である。放射線感受性に対するこのような効果は細胞の酸素含量の変化に起因するものと考えられ (Plaslicka (1962), Tanaka (1966), Vacek (1966)), いわゆる酸素効果として、放射線生物学上の問題にとどまらず、放射線治療の臨床における興味ある問題として脚光をあび、最近の数年間いちぢるしい進展をしめしつつある。

ひるがえつて、その歴史を顧みると、1921年に Holthusen が、蛔虫卵が無酸素下では、 $\gamma$ 線に抵抗をしめすという実験結果を報告したのに始まり、1933年には Crabtree and Cramer がマウス移植癌の薄い切片を窒素下で照射すると、放射線感受性が低下するという事実を見出している。しかし、この問題を単に放射線生物学上の課題にとどめず、これを臨床面に進展せしめ、悪性腫瘍の放射線治療における酸素の意義の重要性をあきらかにしたのは1953年以後の Gray 一派の研究である。かれらは肺癌について組織学的に検討し、間質から 160~200 $\mu$ 以上の距離にある中心部腫瘍細胞は栄養素や酸素の欠乏から壊死におちいつており、そのような場の癌細胞は放射線感受性が低く、放射線治療上の問題点であることを指摘した。それ以来、腫瘍の中心部における低酸素圧の問題について数多くの検討が加えられている。しかし、酸素の担体である赤血球の減少、すなわち貧血の影響についての研究はきわめて貧困であつて、Fletcher, Murphy, Paterson など放射線治療学の成書にも、貧血のある患者は、照射開始前の輸血によつて血液像を改善すべきであるとのべているにすぎず、これに関する臨床的ならびに実験的研究ははなはだすくない。

Mottram and Eidinow (1963) はラットに Jensen's sarcoma を移植し、照射後の発育曲線を観察し、照射直前に、採血によつて貧血を誘起したラットの腫瘍は、非採血のものよりも抵抗性を示すことを見出している。しかし、かれらはこの抵抗性は、照射によつて産生された毒性物質の血中より内皮性細胞への流入が、貧血によつて減少したことによるものと考えた。一方、臨床的観察で

は、Garcia (1961) は正常な血液像をしめす子宮癌患者の治癒率は65%であるが、貧血患者では49%に低下しているとのべており、Evans and Bergsich (1965) は同じく子宮癌患者について、同じ進度でも血色素量11g%以下のものは予後が悪く、輸血によつて貧血を改善して照射したものは対照群と同じ生存率が得られたと報告している。前田・中塚・織坂 (1966) は肺癌患者について検討し、進度が同じでも赤血球 350万以下の貧血をしめすものでは、傾向として予後がわるかつたと述べている。

酸素効果が腫瘍の治癒に大きな影響をあたえることがあきらかにされ、高圧酸素下における放射線治療の効果がようやく認識されつつある現在、癌患者にしばしばみられる貧血の放射線効果におよぼす影響について検討を加えることは意義あることと信じる。

著者らは実験的にこの問題を追求しようとして、塩酸フェニールヒドラジン (以下 PHH と略す) による溶血性貧血マウスの皮下に移植した果糖肉腫の放射線感受性について検討した。

#### 実験材料および方法

##### A) 実験材料

1) 試獣 体重23±5gの dd 系マウスを実験にさきだち、1~2週間恒温飼育室にて飼育したのち使用し、腫瘍移植後乱数表によつて8群にわけた。もちいたマウスの総数は253匹である。

2) 移植腫瘍 1961年以後、京都府立医科大学放射線医学教室で経代移植をしている果糖肉腫 (Takizawa, 1952) をもちいた。Urano (1966) がのべている方法で腫瘍細胞浮游液を作製し、これをマウス右大腿皮下に3 $\mu$ l 移植し、48または72時間後に照射した。この時期にはまだ外部より腫瘍を触知することはできないが、移植部位の皮膚を切開してしらべると1~2mmの白色小腫瘍を多くの動物にみとめることができる。この移植量による移植率は95%であつて、治癒率に若干の影響が考えられるが、実験結果にはこの点を特に考慮しなかつた。

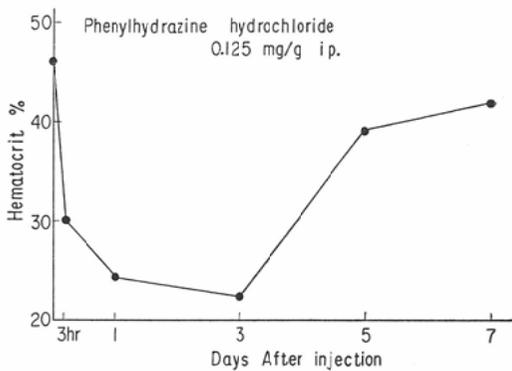
##### B) 実験方法

1) 照射条件  $\gamma$ 線発生装置は東芝製 KXC-18:

型深部治療装置をもちい、管電圧 180kVp、管電流25 mA、濾過板は 2.0 mmAl、距離は23cmである。線量率は約 500R/minである。なお測定には島津直示型線量計 R-M-1 型をもちいた。

2) 貧血の誘発 本実験にさきだち、貧血の経時的变化を観察した。貧血をおこさせるには PH H 0.125 mg/g 体重を水溶液として腹腔内に注射した。貧血の測定にはヘマトクリット値をもちい、処理後3、24、72、120および168時間の各時期の値をもとめ、図1のような曲線をえた。3

Fig. 1. Anemia induced by phenylhydrazine hydrochloride



時間後にはすでにヘマトクリット値の急激な減少がみられ、24時間後には正常値の約1/2に降下している。レ線は PH H 処理後24時間目に照射した。なお、このヘマトクリット値は36時間以後には回復の傾向をしめすが、7日目になつても前値にはならない。

3) 観察の方法ならびに期間 3回の実験をおこなつた。照射前72時間(2実験群)と48時間(1実験群)にマウス右大腿皮下に腫瘍を移植し、貧血誘発は照射前24時間に上記の方法でおこない、同時に非貧血群を対照群としてもうけた。レ線照射はネブタール 0.07 mg/g 体重による麻酔下に腫瘍移植部位に局部照射をした。照射後の観察は3週間までは3~5日毎におこない、以後60日目までは1週に1度観察した。言うまでもなく、これらの実験期間中は平均25°Cの恒温室(コイトロン)にて飼育し、固型飼料(船橋マウス用)と

水を自由にあたえた。

4) 移植腫瘍の計測 腫瘍発育の計測は、腫瘍の長径、短径および厚さを計り、厚さの値は同一動物左大腿の厚さを差引いた値とした。これらえられた値を次式にあてはめて腫瘍体積を計算した。

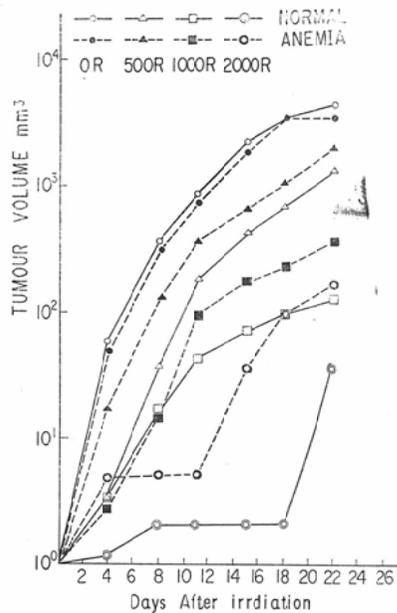
腫瘍体積 =  $4/3\pi (a/2 \cdot b/2 \cdot c/2)$  aは長径、bは短径そしてcは厚さ

また、外部より腫瘍が触知できないものは1 mmφ、腫瘍存在を触知するが計測できにくいものを2 mmφとして計算し、全数を加算してそれを全匹数で割つた平均値をもつて腫瘍体積とした。

実験結果

照射後の腫瘍発育曲線は3回の実験とも同じ傾向をしめし、1実験群の経時的变化は図2にみら

Fig. 2. Tumour growth curves after irradiation



れるように、レ線照射をおこなつていない群では、対照群と貧血群の発育曲線はまったく同一であつて、 $10^2 \text{mm}^3$  の大きさに発育するのに照射後5~6日を要しているにすぎない。しかし、照射された群においては、あきらかに貧血群の腫瘍発育の率は対照群より高い傾向をしめしており、500R照射では、対照群は $10^2 \text{mm}^3$  に達するのに

は、10日、貧血群では7～8日であり、1,000R照射では、対照群は18日、貧血群は10～11日となっている。さらに、2,000R照射では3週間を経ても、上記の大きさにまで発育しないが、貧血群では18日目ですでにその大きさになっている。このように、これら腫瘍発育曲線をみると、明らかに両者の間に差がみとめられる。なお、腫瘍発育の経過を20日までとしたのは、それ以後には腫瘍死する個体があらわれることのほか、その後は対照群と貧血群との差異がなくなるからである。照射後3週間目の腫瘍体積と線量との相関をみると図3にみるごとく貧血群の方が腫瘍が大き

Fig. 3. Tumour volume 3 weeks after irradiation

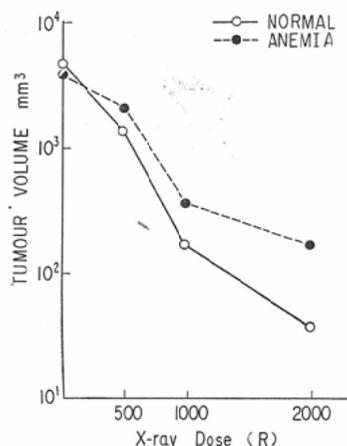


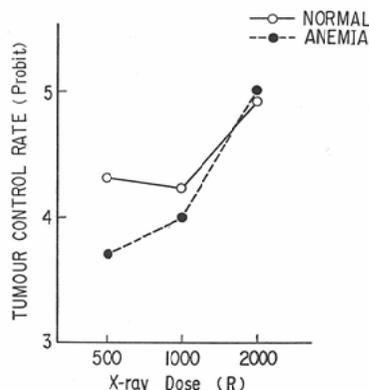
Table 1 Cure rates of fluctose sarcoma at 60th day after irradiation  
Cure Rate (60th day after irradiation)

	500R	1000R	2000R
Normal	6/24 (25%)	5/23 (22%)	12/25 (48%)
Anemia	4/37 (10%)	5/31 (16%)	17/34 (50%)

く、線量がますにつれて、その傾向がいちぢるしい。なおかつ、腫瘍発育はあきらかな線量依存性がしめされていることがわかる。

つぎに治癒率について検討する。照射後60日目の移植部位における腫瘍形成の存否によつて治癒率を決定した。なお、この時期までに腫瘍死した個体をふくめたことは言うまでもない。さらに、

Fig. 4. Cure rates of fluctose sarcoma at 60th day after irradiation



この時点まで生残しているすべての動物を剖検し、確認した。

表1ならびに図4は腫瘍治癒率をしめたものである。

表1は、もちいた線量にたいする正常血液群と貧血群の治癒率を実数とパーセントであらわしたものである。

図4は腫瘍治癒率のパーセントをプロビットとして縦軸にとり、横軸には線量をとつて正常群と貧血群の治癒曲線を描いた。線照射にたいするこの腫瘍での正常血液群と貧血群の治癒率は、ほぼ線量依存性をしめしているが、500Rならびに1,000Rでは差異がみとめられ、2,000Rでは差異がみとめられなかつた。ことに、500R照射群ではあきらかに貧血群の治癒率がひくい、すなわち正常血液群に比し貧血群の方が放射線感受性がひくいことをしめしている。

#### 考 案

貧血をおこさせる方法として採血による方法、薬物による溶血性貧血、放射線による貧血などが考えられるが、実験動物が小さいことから、第一の方法は困難であり、第三の方法は諸臓器への影響が大きく、動物を致死せしめる危険がある。われわれの使用したPHHは、投与方法が簡単であり、投与後すみやかに溶血性貧血をきたし、その個体差はすくなく、貧血をおこさせる方法としてすぐれているのではないかと思う。PHHは、メトヘモグロビンの形成剤として知られ、最終的に

は赤血球を破壊し、溶血性貧血を生ずる(原, 1963). 図2の発育曲線にみられるように, PHHによる貧血の移植腫瘍への影響はない.

Bush et al. (1956) はブタをもちいて PHHの作用を検討し, 正常値がヘマトクリット値37.6 (ml/100ml), 赤血球体積  $30.4 \pm 5.4$  (ml/kg) および血色素量  $12.7 \pm 1.0$  (gm/100ml) に対し, 溶血性貧血動物ではそれぞれ25.9, 22.1, および6.8と減少し, 本実験のヘマトクリット値からも, これらの結果から推測し, 完全な貧血を生じたとおもわれる. 本剤を投与すると動物は急速に元気をうしない, 褐色の尿を出し, 24時間の間に体重は1~2グラムばかり減少する. したがって, 恒温室にて慎重に飼育管理する必要がある.

正常動脈血の含有する酸素量は約19ml %といわれ, また組織の必要とする酸素は約5ml %であるという. 酸素分圧について Campbell (1931) は組織中の分圧は, 静脈血およびリンパ液における圧力と等しく20~40mmHgであることを報告している. 貧血動物では組織が必要とする酸素圧が充分にあたえられていないと思われるが, 本実験での PHH 誘起貧血による腫瘍内の酸素分圧との関係は現在なお不明であり, 腫瘍内の血管分布などとの関連において今後の研究にまちたい.

つぎに腫瘍の大きさと酸素圧を考えるに, Gray et al. (1953) および Thomlinson and Gray (1955) の観察からも大きい腫瘍ほど低酸素あるいは無酸素の部分が多い.

Suit and Maeda (1966) は C3H マウスの皮下移植乳癌について, 8mm直径のもの, 1mm直径, さらに移植後72時間というまだ腫瘤を形成していない時期の3種について低酸素下, 空気下および高圧酸素下の照射実験をおこない, 腫瘍の小さいものほど放射線感受性がたかく, また高圧酸素の効果が著明である. すなわち, 大きな腫瘍では腫瘍の大部分が低圧酸素状態であつて, 血行を介しての酸素の供給の大小が放射線感受性に影響する. このことから, 本実験では移植後48~72時間のはやい時期のものをもちいた.

実験の結果, 照射後3週間までの腫瘍の発育曲線においては貧血群の方が発育がすみやかであ

り, 貧血動物における腫瘍の放射線感受性があきらかに低下している事実がみとめられる. この傾向は線量の大きなるほどいちぢるしい. また, 60日後の腫瘍の治癒率では貧血群の方が低く, 放射線感受性の低いことがしめされている. ただし, 500R照射群では差があきらかであるが, 2,000R照射群では両群に差がみとめられない.

照射後の腫瘍の発育は線量に比例して遅延がみられることは図3に示されているとおりであるが, 3週以後, 正常群の腫瘍増殖がおくれておこり, 60日後には2,000R照射群において治癒率に貧血群と差がなくなつてきている. このことは, われわれの実験方法では, 2,000Rの線量が, 貧血下における放射線効果をうわまわるほど大きかつたのかもしれない.

以上のことから, しばしば悪性腫瘍患者にとりなつてみとめられる貧血の放射線治療成績におよぼす影響については, さらにきめの細かい検討を加えなければならず, 今後の課題として残されている.

## 結 論

塩酸フェニールヒドラジンによつてヘマトクリット値を半減させた貧血マウスにおいて, 果糖肉腫皮下移植後48ないし72時間の腫瘍について放射線感受性を検討した.

1) 腫瘍の発育におよぼす照射の影響は, 正常血液群よりも貧血群において著明であつて, その発育曲線は急峻である. この傾向は, 貧血状態においては, 腫瘍の放射線感受性が低下していることを示している.

2) 照射後60日の治癒率は, 1回照射線量 1,000R以下の照射では, 貧血群の方が低下しているが, 2,000Rでは差がみられない. このことは1回照射線量 2,000Rが, 腫瘍の放射線感受性におよぼす貧血の影響をうわまわるほど大きかつたのではないかと考える.

## 文 献

- 1) Bush, J.A., Jensen, W.N., Ashenbrucker, H., Cartright, G.E. and Wintrobe, M.M.: The kinetics of iron metabolism in swine with various experimentally induced anemias. J. Exp. Med. 103 (1956), 161-172.

- 2) Campbell, J.A.: Gas tension in the tissues: *Physiol. Rev.* 11 (1931), 1—40.
- 3) Crabtree, H.G. and Cramer, W.: The action of radium on cancer cells. II. Some factors determining the susceptibility of cancer cells to radium.: *Proc. roy. Soc.* 113 (1933), 238—250.
- 4) Evans, J.C. and Bergsø, P.: The influence of anemia on the results of radiotherapy in carcinoma of the cervix.: *Radiology* 84(1965), 709—717.
- 5) Fletcher, G.H.: Anemia, *Textbook of Radiotherapy*, p. 471—472. Lea and Febiger, Philadelphia, U.S.A. 1966.
- 6) Garcia, M.: Host factors affecting the radiation response in carcinoma of the cervix.: *Proceedings of the Conference or Research on the Radiotherapy of cancer*, American cancer Society, (1961), 133—138.
- 7) Gray, L.H., Conger, A.D., Ebert, M., Hornsey, S. and Scott, O.C.A.: The concentration of oxygen dissolved in tissues at time of irradiation as a factor in radiotherapy.: *Brit. J. Radiol.* 26 (1953), 638—648.
- 8) 原三郎: 薬理学入門, p. 214, 南江堂, 1963.
- 9) Holthusen, H.: Beiträge zur Biologie der Strahlenwirkung Untersuchungen an Askarideneiern.: *Pflüger's Arch.* 187 (1921), 1—24.
- 10) 前田盛正, 中塚次郎, 織坂豊順: 肺癌の放射線治療と血液像, : 第7回肺癌学会総会抄録集. (1966), p. 42.
- 11) Mottram, J.C. and Eidinow, A.: Effect of anemia on the reactions of the tumors to radium exposure.: *Brit. J. Surgery* 19 (1932), 481—487.
- 12) Murphy, W.T.: Influence of Anemia on Irradiation, *Radiation Therapy*, 2nd edition, p. 595—596, Saunders. 1967.
- 13) Paterson, R.: The choice between curative and palliative therapy condition of patient, *The Treatment of Malignant Disease by Radiotherapy*, 2nd edition, p. 9, Arnold. London. 1963.
- 14) Plaslicka, M., Hill, M. and Novak, L.: Protective action of 2,4-dinitrophenol against X-radiation injury, Radioprotective effect of 2,4-dinitrophenol.: *Int. J. Rad. Biol.* 4(1962) 567—579.
- 15) Sugiura, M. and Takizawa, N.: Experimental studies on the mouse sarcoma produced by repeated subcutaneous injection of concentrated laevulose solution.: *J. Chiba Univ* 28 (1952). 102—107.
- 16) Suit, H. and Maeda, M.: Oxygen effect factor and tumor volume in the C3H mouse mammary carcinoma, A preliminary report.: *Amer. J. Roentgenol.* 96 (1966), 177—182.
- 17) Tanaka, N.: The protective effects of some narcotic substances against X-irradiation in aquatic animals.: *Nipp. Act. Radiol.* 26 (1966), 32—46.
- 18) Thomlinson, R.H. and Gray, L.H.: The histological structure of some human lung cancers and the possible implications for radiotherapy.: *Brit. J. Cancer* 9 (1955), 539—549.
- 19) Urano, M.: Effect of X-irradiated tumor cells. 1. Effect of tumor growth and host survival.: *Nipp. Act. Radiol.* 25 (1966), 1326—1337.
- 20) Vacek, A. and T. Tacev: On the mechanism of the protective effect of thiopental.: *Int. J. Rad. Biol.* 10 (1966), 509—516.