

Title	X線とブレオマイシンとの併用療法に関する基礎的検討
Author(s)	増田, 康治; 高木, 東介; 脇坂, 信一郎
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1982, 42(7), p. 691-700
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/18632">https://hdl.handle.net/11094/18632</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

# X線とブレオマイシンとの併用療法に関する基礎的検討

九州大学医学部放射線基礎医学教室

増田 康治\*

九州大学医学部脳神経外科学教室

高木 東介\*\* 脇坂信一郎\*\*\*

(昭和56年8月6日受付)

(昭和56年12月17日最終原稿受付)

## Effects of X-rays and Bleomycin on Cultured Mammalian Cells

Kouji Masuda<sup>1</sup>

Department of Experimental Radiology, Faculty of Medicine, Kyushu University

1: Department of Radiology, Kyushu University

Tosuke Takaki<sup>2</sup> and Shinichiro Wakisaka<sup>3</sup>

Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyushu University

2: Department of Neurosurgery, Hamanomachi Hospital, Fukuoka

3: Department of Neurosurgery, School of Medicine, University of Occupational and Environmental Health

---

 Research Code No.: 407
 

---

 Key Words: Chemo-radiotherapy, Bleomycin, Cultured cells, Division delay, Reproductive capacity
 

---

The cultured brain tumor cells and established cell lines, HeLa S3 and L5, were exposed to X-rays, with and without combinations of bleomycin, and the reproductive capacity and growth curves of these treated cells were assayed. No enhancement of the cell killing effect was observed when cells were treated with bleomycin following irradiation, while preliminary bleomycin treatment sensitized the cells to irradiation. No division delay was observed in cell reproductively surviving the bleomycin treatment, even though the concentrations of bleomycin were sufficient to reduce the survivals to less than 10%. An attempt to determine the conversion factor for evaluating X-ray doses in bleomycin equivalents failed because the order of the radiosensitivity of these cells was different from that of the sensitivity to bleomycin treatment.

### I. はじめに

制癌剤などの薬品と放射線との細胞に対する作用を比較検討することは、次の2つの点から重要である。1つは、放射線の細胞に対する作用機構の解明への糸口が、用いた薬品の細胞に対する作用を通じて、えられるかもしれないことである。

他の1つは、細胞死に関して、より効果的な併用方法を見出し、それによって悪性腫瘍の治療成績が改善される可能性があることである。

Bleomycin (以下 BLM という) は梅沢<sup>1)</sup>によって発見された抗悪性腫瘍薬の1つで、細胞に対する作用に関しては、放射線との併用効果<sup>2)3)4)5)6)</sup>、分裂遅延作用<sup>7)8)9)10)11)</sup>、酸素効果<sup>4)5)12)</sup>などを含めて多くの報告がすでになされている。その化学的作用機序も比較的よく明らかにされてい

\* 九州大学医学部附属病院放射線部

\*\* 国家公務員共済組合連合会浜の町病院

\*\*\* 産業医科大学脳外科

る<sup>13)14)15)</sup>。今日扁平上皮癌<sup>16)17)</sup>やリンパ腫<sup>18)</sup>にことに有効な薬剤として、単独にそして放射線と併用して、臨床に使用されている。

ところが、細胞レベルでの実験結果<sup>9)4)5)</sup>からの期待にもかかわらず、臨床での randomized study では併用によって必ずしも良好な結果はえられなかった。例えば食道癌の治療に BLM と放射線とを併用したが、副作用が増ただけで、自覚症状は必ずしも改善されなかっただけでなく、生存率という点からも併用の効果はみられなかった<sup>19)</sup>。頭頸部の腫瘍に関しても、併用することによって腫瘍治癒率とともに、粘膜に対する副作用も同時に増した<sup>20)</sup>。

そこで併用療法に関連して、X線と BLM との細胞に対する作用に関するこれまでに発表された実験結果をふりかえてみたところ、いくつかの問題点を見いだした。① 実験系では比較的多量の BLM の作用を論じているが、臨床で使用されている BLM の量は比較的少ない。② 細胞の世代時間を BLM は延長させるとされている<sup>9)10)11)</sup>。しかし、抑制された細胞はのちにどうなるのか？ 無限に増殖できるのか、一度抑制された細胞は後に分裂増殖できない、いかえると細胞死への1つの段階として抑制がみられるのか明らかでない。

放射線と BLM との併用療法を再検討するために、in vitro 培養細胞を用いてこれらの点について検討を加えたので報告する。

## II. 実験材料と方法

**細胞** 当研究室で継代培養された細胞と、この実験のために株化された細胞とを用いた。

**L5** : マウス線維芽細胞由来の細胞で、すでに数年にわたり継代培養されていた。実験に用いた時は紡錘形をしていた。

**HeLa S3** : 人の子宮頸部癌由来の細胞で、L5 細胞と同様に研究室で継代培養されていた。実験に供した時は、扁平な上皮性の形態を示していた。

**KNS-42** : 16歳男子の神経膠芽腫からえて株化した。神経膠細胞に特異的な蛋白である glial

fibrillary acidic protein の産生が確認されている。またヌードマウスへ移植したところ、生体中にあった時とほぼ同じ病理学的形態を示した。in vitro では星形の細胞であった。

**KNS-60** ; 人の神経膠芽腫から、同じように株化された細胞で、実験に供した時点では紡錘形に近い形態をしていた。

**MG : C<sub>57</sub>Bl** マウスにメチルコラントレンで誘導された神経膠腫から株化した。マウスにもどし移植したところ、誘導された神経膠腫と同じ組織学的所見を呈した。

1こ1この細胞の増殖曲線を顕微鏡下に別々に求め、これから倍加時間を求めた。倍加時間は、KNS-42, KNS-60, MG, L5 そして HeLa S3 とで、それぞれ42~82, 30~36, 21~36, 24そして24時間であった。

**継代培養** 20%仔牛血清を添加した Eagle MEM を用い、密封した角ビンで37°Cに保ち静置培養した。

**放射線照射および薬剤処理のための培養** 対数増殖期にある細胞を0.1%トリプシンで処理して単離細胞をえた。血球計算盤を用いて細胞濃度を求めたが、あわせて各細胞が単離していることを確かめた。

空気存在下で細胞を処理するためには、細胞浮遊液をシャーレに移植して微炭酸培養器中で4時間静置培養した。これはほとんどすべての細胞がシャーレに着床するのに十分な時間である。これに最終濃度が決められた値になるように BLM を加えて、微炭酸培養器中で37°Cに保ち1時間処理した。処理後できるだけいねいに3度培地交換して BLM をとりのぞいた。

酸素飽和状態あるいは窒素飽和状態でX線照射あるいは BLM 処理するために、単離浮遊細胞液を必要な細胞濃度に稀釈して、浮遊状態で5%の炭酸ガスをふくむ酸素あるいは窒素ガスを通気した。通気速度は約100ml/分であった。1時間通気したのちX線照射あるいは BLM 処理をした。照射あるいは処理中も37°Cに保ち、ガスの通気を続行した。

BLM 処理後、1,000回転/分で室温で遠心分離し、上清を除去した。BLM をふくまない新しい培養液を、除去したと同量だけ加え、再び細胞浮遊液をえた。この操作を3度くりかえして BLM を除去した。トリプシン処理後、BLM 処理やX線照射し、シャーレに移植するまで細胞をより効果的に浮遊状態に保つために、 $Mg^{*}$ 、 $Ca^{*}$  をふくまない基礎培養液<sup>29)</sup>を用いた。

**BLM** 治験用のプレオマイシン (-Cu) CP 3 #F-7 (日本化薬) を Eagle MEM で稀釈し、使用するまで凍結保存した。

**X線** 200kVp X線、半価層0.93mmCu、線量率1.02Gy/分であった。

**生死判定** BLM 処理、あるいはX線照射によって、原則的にはシャーレ当り約100この生存細胞由来コロニーができるように、適当な数の細胞をシャーレに移植した。培養液には20%牛胎児血清を添加した Eagle MEM を使用した。KNS-42 と KNS-60 とでは、この状態では細胞移植率が低いので、 $5 \times 10Gy$  あらかじめ照射されたL5細胞を、シャーレ当り  $3 \times 10^5$  づつ移植して、feeder layer とした。これらのシャーレにはL5細胞由来のコロニーは全く観察されなかった。

微炭酸培養器中で37°Cで静置培養した。培養期間中、培養液の交換はしなかった。

細胞はすべて培養後2週間目に固定染色し、50コ以上の細胞からできているコロニーを1この生存細胞由来のコロニーとして計数し生存率を求めた。但し、KNS-42は倍加時間がながいので、6週間培養してコロニー数を数えた。

X線と BLM との併用の際のX線線量効果関係を求めるにあたり、BLM 処理だけによってすでに生存率が低下する場合は、各 BLM 処理群毎に非被照射群の生存率を1.0に標準化した。

**分裂遅延の判定** BLM 処理された細胞の分裂が遅延するかどうかを観察するために、個々の細胞が分裂増殖する様子を処理後経時的に顕微鏡下に別々に観察し、さらに判定日におけるコロニーの大きさを測った。観察したすべての増殖曲線のうちで、判定日に生存コロニーを形成しえた細胞

の増殖曲線だけを集めて平均し、これを生存細胞の増殖曲線とした。非処理群のコロニーの大きさに対する比を求めて、処理の影響を判断した。

### III. 結果

#### 1. X線と併用した時の BLM の細胞致死作用

##### 1-1. X線—BLM

X線照射された細胞の生存率におよぼす BLM の影響をみるために、浮遊状態で、酸素飽和状態でX線照射し、直ちに細胞を所定の濃度の BLM を含んだ培養液が入っているシャーレに移植した。4時間、微炭酸培養器中で37°Cにして静置培養した。この時間は浮遊状態の細胞がシャーレに付着するのに十分に長い時間である。こののち出来るだけやさしく、3度新しい培養液で洗滌した。ただし、 $7.5 \times 10^{-3} \mu g/ml$  の BLM 処理群では、培養液の交換をせずに、培養期間中 BLM 処理を継続した。作用させる BLM の濃度として、細胞の生存率をあまり低下させない、できるだけ高濃度 (12日間では $7.5 \times 10^{-3} \mu g/ml$ 、4時間処理では $0.12 \mu g/ml$ ) と生存率を十分に低下させる濃度 (12 $\mu g/ml$  で4時間処理、これによって生存率は4.5%) を選んだ。

線量効果関係は片対数グラフ上で、初め肩があるが次第に直線に近づく曲線であった。実験点はすべて直線部分にあると仮定した。各処理条件毎に線量効果関係の係数を求めると、各群間にいく分のちがいが認められたが、その差は小さく有意ではなかった。そこで、すべての実験群をまとめて、1つの線量効果関係をえた。線量効果関係の係数  $D_0$  と  $n$  とはそれぞれ1.3Gy、2.3であった (Fig. 4)。

##### 1-2. BLM—X線

BLM で処理された細胞の放射線感受性をみるために、対数増殖期にある細胞を $12 \mu g/ml$  の BLM をふくむ培養液で照射前1時間静置培養した。トリプシン処理したのち酸素飽和状態でX線照射した (Fig. 5)。BLM 処理後、照射開始まで2時間を要した。照射終了後直ちに、必要な数の細胞をシャーレに移植した。BLM 処理によって細胞の生存率は74%に低下した。あらかじめ

BLM で処理すると、非処理群に比較して、照射された細胞の生存率は低下し、BLM とX線との間に相乗効果がみられた。線量効果関係の係数  $D_0$  と  $n$  とは、BLM 処理群と非処理群とでそれぞれ、1.0Gy、1.5と1.15Gy、1.6であった。生存率10%での増感係数は1.2であった。

2. 細胞の世代時間におよぼす **Bleomycin** の作用

Fig. 1 は空気存在下において、HeLa 細胞を、BLM で1時間処理した時の薬物量-効果関係である。曲線は二相性をとり、下に凸であった。線量効果関係をあらわすために、直線部分で生存率を37%に低下させるのに必要な薬物濃度  $D_0$  と外挿した時のY軸との交点  $n$  とを用いた。第一相目の  $D_0$  は4.1 $\mu\text{g/ml}$  であり、第二相目の  $D_0$  と  $n$  とはそれぞれ25 $\mu\text{g/ml}$ 、58%であった。

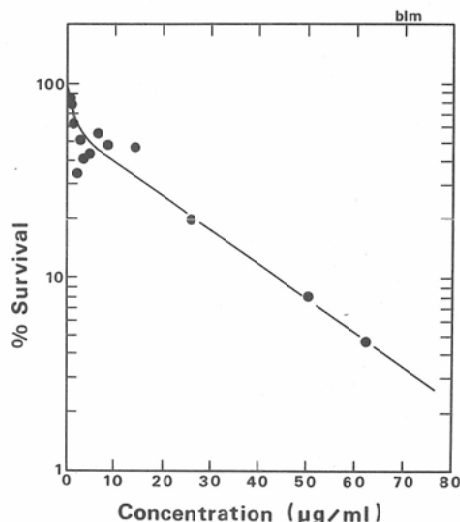


Fig. 1 Survival of HeLa S3 cells treated with bleomycin in a humidified 95% air/5%CO<sub>2</sub> environment. Exposures were for one hour at 37°C.

この条件下で BLM 処理され、生き残った細胞の増殖曲線を、非処理群のそれと比較して1例を Fig. 2 に示した。観察した期間内では、BLM 処理群と非処理群とで細胞の増殖曲線には有意な差はみられなかった。また培養14日目での生存細胞由来コロニーの大きさを比較したが、BLM 処理群と非処理群とでそれぞれ1.47±0.40mmφ と

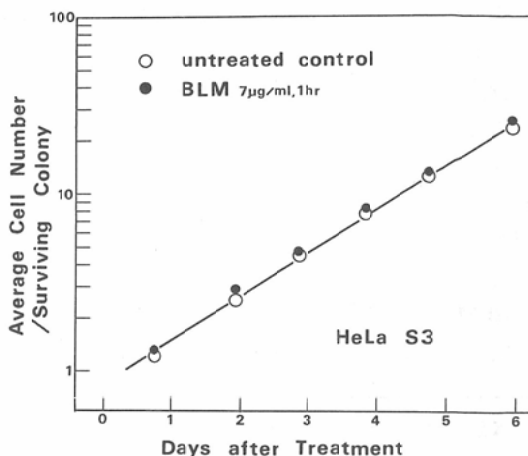


Fig. 2 Growth curves of HeLa S3 cells reproductively surviving bleomycin treatment. Exposures were for one hour at 37°C in a humidified 95% air/5% CO<sub>2</sub> environment. Survival of these treated cells was 57%.

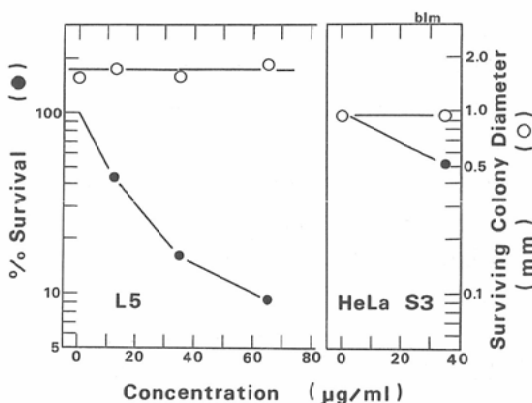


Fig. 3 Survival of L5 and HeLa S3 cells treated with bleomycin under well oxygenated conditions and average colony size of cells reproductively surviving. Exposures were for one hour at 37°C.

1.51±0.36mmφ とであり、増殖曲線で観察されたと同様に、処理群と非処理群とで有意差はみられなかった。

同様のことを、処理条件や細胞の種類を変えて観察したが、類似の結果がえられた。

酸素飽和状態で35 $\mu\text{g/ml}$ の BLM で HeLa 細胞を1時間処理し、培養14日目のコロニーの大きさを比較して Fig. 3 に示した。この処理によって生存率は53%になったが、生存細胞由来コロ

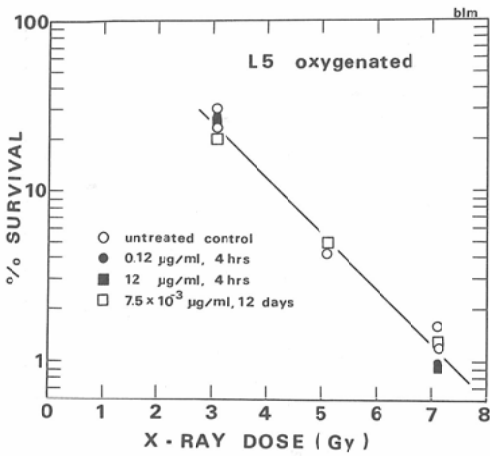


Fig. 4 Effects of bleomycin on the reproductive capacity of L5 cell exposed to X-rays. Cell killing effect of bleomycin was negligible except for treatment with 12µg/ml bleomycin for four hours (survival was 4.5%).

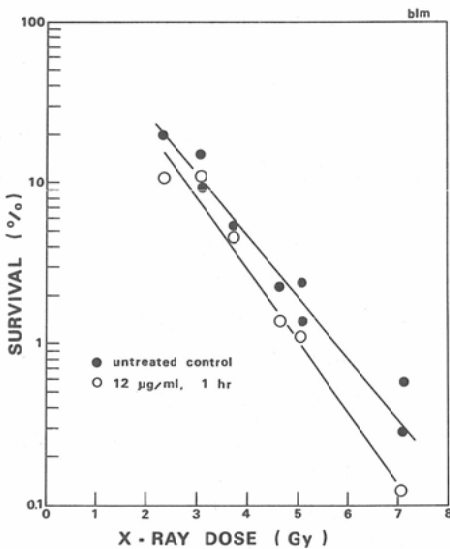


Fig. 5 X-ray dose response curves of preliminary bleomycin-treated L5 cells under well oxygenated conditions. Cells were preliminarily treated with 12µg/ml bleomycin for one hour at the exponential growth phase.

ニーの大きさを BLM 処理群と非処理群とで比較すると、それぞれ  $0.953 \pm 0.680 \text{mm}\phi$ ,  $0.946 \pm 0.700 \text{mm}\phi$  で両者には有意差はみられなかった。

L5細胞では、酸素飽和状態で12µg/mlの

BLM で1時間処理することによって、生存率は45%になった。しかし生存細胞由来のコロニー大きさは、培養12日目、BLM 処理群と非処理群とでそれぞれ  $1.71 \pm 1.28 \text{mm}\phi$ ,  $1.55 \pm 1.10 \text{mm}\phi$  であり、両者の間に有意差はみられなかった。さらに BLM の濃度を増したところ、それにつれて生存率は低下したが、生存細胞由来のコロニーの大きさは小さくならなかった。

### 3. 種々の細胞のX線に対する感受性と BLM に対する感受性

X線と BLM との細胞致死作用において相乗効果がみられようと相加効果であろうと併用して用いた場合の効果を評価するためにX線量と BLM 量とを互いに換算する係数が必要である。そこで複数の細胞を用いてX線の線量効果関係と BLM に対する薬物量生存率関係とを比較検討した。

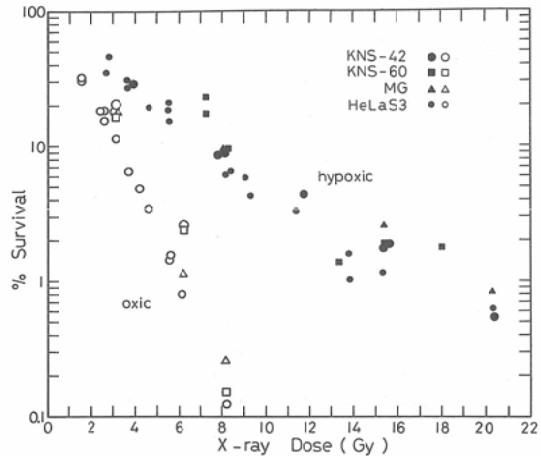


Fig. 6 Dose response curves for cultured brain tumor cells (KNS-42, KNS-60, MG) and established cell lines, L5 and HeLa S3 exposed to X-rays under well oxygenated and hypoxic conditions.

Fig. 6は種々の培養細胞の低酸素状態、あるいは酸素飽和状態での放射線線量効果関係である。線量効果関係の係数はTable 1に示す。脳腫瘍由来細胞はHeLa細胞よりも同一線量に対して生存率が高い傾向にあったが、 $D_0$ 値でみると差は少なかった。

同じ細胞を用いて、酸素飽和状態における

Table 1 The parameters  $D_0$  and  $n$  of X-ray dose-response curves for brain tumor cells and established cell lines, HeLa S3 and L 5

Cell line	$D_0$ (n)	
	under oxygenated conditions	under hypoxic conditions
KNS-42	1.25 Gy (2.1)	3.75 Gy (1.0)
KNS-60	1.20 (3.1)	3.45 (1.0)
MG	1.20 (2.0)	4.10 (1.0)
L 5	1.40 (5.0)	4.00 (1.0)
HeLa S3	1.10 (1.8)	4.10 (1.0)

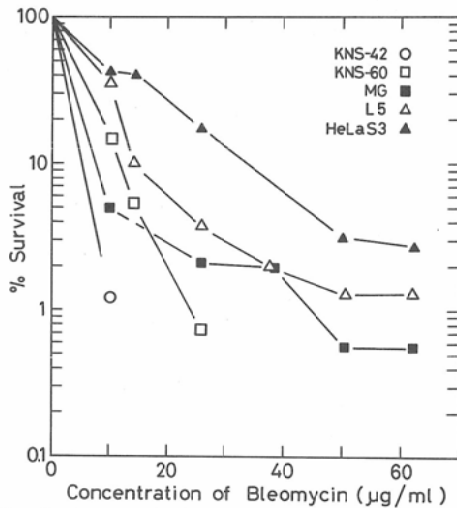


Fig. 7 Bleomycin-dose response curves for cultured mammalian cells. Exposures were for one hour at 37°C under well oxygenated conditions.

BLM に対する感受性をしらべて Fig. 7, 8 に示した. 実験に用いた範囲内では, HeLa 細胞の生存率は比較的高く, 脳腫瘍由来細胞の生存率は低かった. その差をみると同一処理条件のもとでは, 細胞の種類によっていく分ちがいがあるとはいえ, 生存率で10倍前後の差があった.

IV. 考 察

X線と BLM との併用療法について, 基礎的な再検討を加えた.

1. X線と BLM との併用による細胞の反応

X線と BLM とで, 細胞致死作用に関して相乗

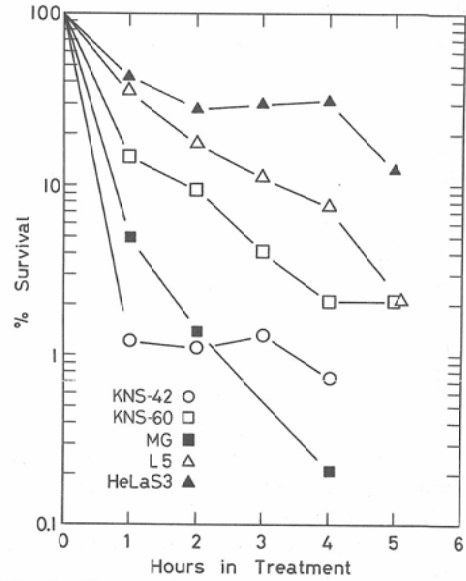


Fig. 8 Time-survival curves for bleomycin-treated cells. Cells were exposed to 12µg/ml bleomycin for varying periods at 37°C under oxygenated conditions.

作用があるのか相乗作用であるのかは, 臨床的にも放射線生物学の立場からも重要であるが, 結論は必ずしも一致していない.

これまで培養細胞や生体内の細胞を用いて, 相乗効果をもとめた報告<sup>3) 4) 5) 6) 21) 22)</sup>とみられなかったという報告<sup>2)</sup>とがなされている.

ところで相乗作用の有無, 程度は, X線, BUdR と methotrexate との併用において観察された<sup>23)</sup>と同じように, X線と BLM との場合もまた使用する BLM の濃度<sup>3) 6) 24)</sup>と時期<sup>4) 5) 6) 22)</sup>とに依存する. また細胞の種類にも依存する<sup>3)</sup>. そこで一つの濃度あるいはまた BLM 処理と X線照射との時間間隔を1つだけとりあげて, 相乗効果がないと直ちに論ずるのは危険であろう.

この実験では, あらかじめ BLM で処理すると細胞は X線に対して感受性が高くなった. X線線量効果関係の傾斜  $D_0$  値がわずかに小さくなったが, 外挿数  $n$  には大きな差異はみられなかった. この時の BLM の濃度および処理時間からして, Roizin-Towle<sup>4)</sup> らの報告とはよく一致するが,

Shrieve<sup>9)</sup>らの報告とは一致していない。

順序が逆に、あらかじめX線照射された細胞に対するBLMの作用については、pulse状にBLMで処理して、照射後の時間の経過とともに相乗作用がみられるようになるとする報告<sup>4) 6) 22)</sup>と、みられなくなるとする報告<sup>3)</sup>とがあり一致していない。この実験では照射後4時間あるいはそれ以上の処理によっても、また生存率を10%以下にする程度のBLMの量であったにもかかわらず、相乗作用はみられなかった。これまでにみられた実験結果の不一致の原因を説明する十分な資料を欠いているが、細胞の種類によって2分されるのかもしれない。

臨床では通常1回15mg前後のBLMが用いられている。これは体液で希釈され生体内では1 $\mu$ g/ml程度になり、しかも血中濃度は1時間以内に低下する<sup>25)</sup>。このことは、この実験でえられた結果とあわせ考えると、照射後にBLMを投与しても相乗効果が期待できないかもしれないことを意味している。

## 2. 最適併用時間間隔に影響する因子

これに関する因子の1つに、部分同調された細胞の分裂遅延がある。BLM<sup>24) 26) 27)</sup>の細胞致死作用には細胞周期依存性があるので、BLMを分割して用いたり、X線をふくむ他の細胞致死作用のある方法と併用する際の、最適分割間隔を決めるために、BLMに細胞分裂遅延作用があるかどうか明らかにしておく必要がある。

この研究によるとL5細胞を用いても、HeLa細胞を用いても、あるいはまた空気存在下で処理しようと酸素飽和状態で処理しようとも、BLMには細胞分裂遅延作用はみられなかった。

BLMの細胞世代時間におよぼす効果については、これまで哺乳類動物細胞や細菌を用いて報告されている。それらによると、BLM処理された細胞群と非被処理群との増殖曲線やmitotic indexの比較から、BLMはG<sub>2</sub>からM期への移行を抑制するとされている<sup>7) 8) 9) 10) 11) 28)</sup>。ところでBLMで処理された細胞の分裂が、いつ、どの程度遅延するのかは、もしその細胞が分裂遅延の結

果死滅するならば、臨床上あまり重要ではない。このことが臨床上重要になるのは、細胞の分裂が処理によって遅れても、それが一時的であってその後再度分裂増殖する時である。だから分裂遅延を評価する時は、遅延した細胞がそのまま死滅するのか、再度分裂増殖するのか明らかにしておく必要がある。しかしこれまでの報告では、観察された細胞の増殖曲線は、BLM処理されたすべての細胞のそれであり、BLM処理によって生き残った細胞と死滅した、あるいは死滅する運命にある細胞との区別がなされていない。これまでの研究に用いられたBLMの量(100 $\mu$ g/ml)は、間期死<sup>29) 30)</sup>をもたらすのに十分な濃度である。だからこれまでに観察され、報告されたmitotic indexの低下は、分裂遅延を反映しているかもしれないが、BLM処理されたasynchronous populationのうち、比較的高感受性期であるMあるいはG<sub>2</sub>期の細胞が間期死をおこした結果である可能性もある。

BLMで処理されたすべての細胞の増殖曲線のうち、コロニーを形成しえた細胞(生存細胞)のそれだけを取り出して、非処理群のそれと比較した。そして、両者の間に有意な差は見出しえなかった。実験した範囲内では、HeLa細胞でもL5細胞においても、使用したBLMの濃度のいかにかわからず、増殖曲線の抑制はみとめられなかった。

この実験ではBLM処理に対して生き残った細胞にみられる分裂遅延の有無を判断するために何らかの処理をされた細胞の増殖曲線は、分裂遅延、世代時間の延長、あるいは観察期間中の細胞死などを反映している。だから増殖曲線から倍加時間の延長が観察されても、それから直ちにその原因を論ずることは容易ではない。しかし他方、ある処理によって倍加時間の延長が観察されない場合は、その処理によって分裂遅延や世代時間の延長もおこらなければ、あるいは観察期間中の細胞死の頻度にも変化が生じなかったと判断できるだろう。

ここでみられた実験結果はBLMの細胞増殖



能におよぼす影響は、細胞死か生かのいずれかであり、分裂遅延あるいは分裂時間の延長は細胞死にいたる1つの過程としてみられることはあっても、少なくとも生き残った細胞には分裂遅延、分裂時間の延長などは全くないか、あってもごくわずかであることを示唆している。この点はX線の細胞に対する作用<sup>21)</sup>とちがう点である。

Töllner and Hageman<sup>22)</sup> はすべての細胞の形成するコロニーの大きさの分布を求めて、BLM とX線とを併用しても相乗作用が観察されないと報告しているが、これはわれわれの実験結果と矛盾しない。

ここでみられた実験結果は、X線とBLMとを併用して臨床で用いる際に、両者での処理の時間間隔を決めるために、BLMで部分的に同調された細胞集団の分裂遅延を考慮する必要がないことを意味している。

### 3. BLM-X 線線量換算係数

臨床で用いられているBLMの濃度では、細胞致死作用に関してX線との間に相乗作用が期待出来ないとしても、BLMがリンパ腫や扁平上皮癌に有効な抗悪性腫瘍剤であることにはちがいない<sup>16)17)18)</sup>併用することによって治療効果比が大きくなることは期待出来る。ところで放射線を併用した時の治療成績を他の方法でのそれと比較検討したり、正常組織が耐えうる作用量(X線量+BLM量)を決めるために、BLMの量とX線線量とを互いに換算する係数が必要である。

ところでBLMと放射線との相乗作用の有無が、実験条件に依存している。またこの実験で示したように、細胞のBLMに対する感受性の順序が、細胞のX線に対するそれとちがっている。これらのことは、等効果のBLMとX線量との換算係数は個々の細胞でちがうことを意味している。将来は組織(細胞)毎に換算係数を求めていく必要があるだろう。

## V. まとめ

1. 人由来腫瘍細胞をふくむ、*in vitro* 培養哺乳類動物細胞を用いて、X線とBleomycinとの併用療法における基礎的諸問題について検討し

た。

2. Bleomycin であらかじめ処理すると、X線とBleomycinとで相乗効果が観察されたが、Bleomycinをあとに用いると、Bleomycinの濃度を細胞の生存率を4.5%にする濃度にまであげても、相乗効果はみられなかった。

3. Bleomycinで処理され生き残った細胞には分裂遅延は観察されなかったので、放射線とBleomycinとの併用療法において、両者を使用するために最適間隔を決めるにあたり、少なくともBleomycinによる細胞の分裂遅延を考慮する必要はない。

4. 用いた細胞では、X線線量効果関係に大きな差がみられないのに、Bleomycinに対する感受性に大きな差がみられた。つまり仮に換算係数が与えられるとしても細胞の種類によって異なり、Bleomycinと等効果のX線線量を算出するための一般的換算係数はえられなかった。

## 文 献

- 1) Umezawa, H., Maeda, K., Takeuchi, T. and Okami, Y.: New antibiotics, bleomycin A and B. J. Antibiotics, Ser. A, 19: 200—209, 1966
- 2) Bienkowska, Z.M., Dawson, K.B. and Peacock, J.H.: Action of actinomycin D, bleomycin and Xrays on HeLa cells. Brit. J. Radiol., 46: 619—622, 1973
- 3) Bono, V.H. Jr., Byfield, J.E., Hagemann, R.F., Leshner, S.H., Valeriote, F.A. and Vietti, T.: Cell survival systems for the evaluation of irradiation and drug combinations. Cancer Chemotherapy Reports II 5(1): 205—213, 1975
- 4) Roizin-Towle, L. and Hall, E.J.: The effect of bleomycin on aerated and hypoxic cells *in vitro*, in combination with irradiation. Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., 5(9): 1491—1494, 1979, Sept.
- 5) Shrieve, D.C. and Harris, J.W.: Effects of bleomycin and irradiation on euoxic and hypoxic cells. Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., 5(9): 1495—1498, 1979, Sept.
- 6) Terasima, T., Takabe, Y. and Yasukawa, M.: Combined effect of X-ray and bleomycin on cultured mammalian cells. Gann, 66: 701—703, 1975
- 7) Twentyman, P.R., Kallman, R.F. and Brown, J.M.: The effect of time between X irradiation

- tion and chemotherapy on the growth of three solid mouse tumors. V. bleomycin. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 5(9): 1499—1501, 1979, Sept.
- 8) Begg, A.C., Kane, L.J., Fu, K.K. and Phillips, T.L.: The effects of combined bleomycin and irradiation on a solid murine tumor. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 5(9): 1503—1507, 1979, Sept.
  - 9) Kimler, B.F.: The effect of bleomycin and irradiation on G<sub>2</sub> progression. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 5(9): 1523—1526, 1979, Sept.
  - 10) Hittelman, W.N. and Pao, P.N.: Bleomycin-induced damage in prematurely condensed chromosomes and its relationship to cell cycle progression in CHO cells. *Cancer Res.*, 34: 3433—3439, 1974, Dec.
  - 11) Barranco, S.C. and Humphrey, R.M.: The effects of bleomycin on survival and cell progression in chinese hamster cells in vitro. *Cancer Res.*, 31: 1218—1223, 1971, Sept.
  - 12) 増田康治, 脇坂信一郎: プレオマイシンの細胞致死作用とそれにおよぼす酸素の影響. 癌と化学療法, 8 (6): 905—910, 1981
  - 13) Onishi, T., Iwata, H. and Takagi, Y.: Effects of reducing and oxidizing agents on the action of bleomycin. *J. Biochem.*, 77(4): 745—752, 1975
  - 14) Watkins, D.K.: A differential effect of ionizing radiation on the synthesis of deoxyribonucleic acid in ascites cells in stationary and multiplying phases. *Radiat. Res.*, 51: 615—630, 1972
  - 15) Suzuki, H., Nagai, K., Yamaki, H., Tanaka, N. and Umezawa, H.: On the mechanism of action of bleomycin: Scission of DNA strands in vitro and in vivo. *J. Antibiotics*, 22(9): 446—449, 1969
  - 16) Ichikawa, T. and Hirokawa, I.: Bleomycin treatment of the tumors of penis and scrotum. *J. Urology*, 102: 699—707, 1969
  - 17) Wada, T., Matsumoto, Y. and Amano, T.: Chemotherapy of esophageal cancer with bleomycin. *Proc. 6th Int. Congr. Chemotherapy*, Umezawa, H., Tokyo, 1969, pp. 41—46
  - 18) Haas, C.D., Coltman, C.A. Jr., Gottlieb, J.A., Haut, A., Luce J.K. Talley R.W, Samal B. Wilson H.E. and Hoogstraten B.: Phase II evaluation of bleomycin. A southwest oncology group study. *Cancer* 38: 8—12, 1976
  - 19) Earle J.D. Gelber, R.D., Moertel, C.G. and Hahn, R.G.: A controlled evaluation of combined radiation and bleomycin therapy for squamous cell carcinoma of the esophagus. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 6(7): 821—826, 1980
  - 20) Seagren, S.L., Byfield, J.E., Nahum, A.M. and Bone, R.C.: Treatment of locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck with concurrent bleomycin and external beam radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 5(9): 1531—1535, 1979
  - 21) Phillips, T.L., Ross, G.Y., Goldstein, L.S. and Begg, A.C.: The interaction of radiation and bleomycin in intestinal crypt cells. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 5(9): 1509—1512, 1979, Sept.
  - 22) Takabe, Y., Miyamoto, T., Watanabe, M. and Terasima, T.: Synergism of X-rays and bleomycin on ehrlich ascites tumour cells. *Br. J. Cancer*, 36: 391—395, 1977
  - 23) Wakisaka, S. and Masuda, K.: Experimental study on BAR therapy: Enhancement of radiosensitizing effect of BUdR by methotrexate in relation to concentration of drugs. *J. UOEH*, 2(2): 253—261, 1980
  - 24) Ray, G.R., Hahn, G.M., Bagshaw, M.A. and Kurkjian, S.: Cell survival and repair of plateau-phase cultures after chemotherapy—relevance to tumor therapy and to the in vitro screening of new agents. *Cancer Chemotherapy Reports I*, 57(4): 473—475, 1973
  - 25) Ishizuka, M. et al.: Activity and toxicity of bleomycin. *J. Antibiotics, Ser. A.*, 20(1): 15—24, 1967
  - 26) Mauro, F., Falpo, B., Briganti, G., Elli, R. and Zupi, G.: Effects of antineoplastic drugs on plateau-phase cultures of mammalian cells. II. Bleomycin and hydroxyurea. *J. National Cancer Institute*, 52(3): 715—722, 1974
  - 27) Twentyman, P.R.: Comparative chemosensitivity of exponential-versus plateau-phase cells in both in vitro and in vivo model systems. *Cancer Treatment Reports* 60(12): 1719—1722, 1976
  - 28) Watanabe, M., Takabe, Y., Katsumata, T. and Terasima, T.: Effects of Bleomycin on progression through the cell cycle of mouse L-cells. *Cancer Research*, 34: 878—881, 1974
  - 29) Sakka, M., Katsuta, H. and Takaoka, T.: Kinetics of microcolonies of cultured mammalian cells after bleomycin treatment. *Tohoku J. Exp. Med.*, 120(3): 201—207, 1976

- 30) Katsumata, T., Watanabe, M., Takabe, Y., Terasima, T. and Umezawa, H.: Cinemicrographic analysis of death in synchronously growing mouse L cells after exposure to bleomycin. *Gann*, 64: 71—77, 1973
- 31) 増田康治: X線照射された HeLa S3 細胞のコロニーの解析. *日本医放会誌*, 28: 1396—1403, 1969
- 32) Töllner, D. und Hagemann, G.: Die Wirkung von Bleomycin, ICRF 159 und simultaner Röntgenbestrahlung auf CMO-Fibroblasten. *Z. Krebsforsch.*, 88: 303—310, 1977
-