The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	放射線照射後のマウス再発乳癌の放射線感受性1
Author(s)	増田, 康治
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1978, 38(6), p. 577-582
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19539
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

放射線照射後のマウス再発乳癌の放射線感受性[1]

テキサス大学 M.D. アンダーソン病院および癌研究所放射線治療部
増　田　康　治[2]

(昭和52年12月19日受付)
(昭和53年1月17日最終原稿受付)

Response of Recurrent Mouse Mammary Carcinoma to Retreatment with a Single or Fractionated Gamma-Irradiation[1]

Kouji Masuda
Section of Experimental Radiotherapy, The University of Texas System Cancer Center
M.D. Anderson Hospital and Tumor Institute

Research Code No.: *400*
Key Words: *Radiotherapy, Radiation biology of recurrent tumor, Recovery from sublethal damage*

Local control of primary and recurrent tumors after irradiation of fourth-generation transplants of mammary carcinoma, MDAH-mCa-4, in C_3H mice was studied using single and 5 fractionated exposures to gamma rays in hypoxic conditions. No significant difference in dose required to produce local control in 50% of each group (TCD 50/120) was observed between the primary tumors and the recurrent tumors. The results indicate that the average dose recovered per fraction interval (when each fraction was about 2,000 rads) was 880 and 840 rads for the primary and for the recurrent tumors, respectively.

1. 緒　言

悪性腫瘍の治療において，局所に再発する例が少なくなく，それが患者の死因の一つとなつている．再発した腫瘍を放射線で治療する可能性についていえば，外科的に剔出した後，化学療法後，あるいは免疫学的療法のあとの再発腫瘍は，放射線で治療することが一般に可能である．しかしながら放射線治療後の局所再発腫瘍を，放射線で再治療することは，ごく限られた条件下で限局した乳癌[1]あるいは子宮頸部癌[2]の症例をのぞいてのぞましくないと次の二つの理由からいわれている．一つは再発腫瘍周辺の正常組織はすでに一度照射されており，かような組織は2回目の照射に対して，比較的強く反応するからである．もう1つは，放射線治療後の再発腫瘍は，放射線による再治療に対して，比較的に抵抗性があるからである．

ところが放射線治療後の再発腫瘍について，放射線生物学的な検討は，まだあまり報告されていない[3]．さらにまた，一度放射線に照射された正常組織の放射線生物学的研究，ことに耐容線量についての研究も，1，2の報告[4)5)]があるのみで皆無に近い．それ故に，再発癌の放射線療法の改善をするために，あるいはまたその可能性をさぐるために再発腫瘍の放射線生物学的性質に関する研究，そしてまた一度照射された正常組織の耐容

1：This investigation was supported in part by NIH Research Grant Number CA-06294 and CA-11138 from The National Cancer Institute
2：現在九州大学医学部附属病院放射線部に所属

放射線線量に関する研究等は，今後すすめなければならない研究課題である．

この論文は，C_3Hf/Bu マウスの自然発生由来で株化された乳癌の放射線感受性，および亜致死的損傷からの回復能について報告する．

2. 材料と方法

腫瘍細胞と動物

この実験に用いた腫瘍細胞は，C_3Hf/Bu マウスに自然発生した乳癌由来，株化細胞 MDAH-mCa-4[6] であつた．継代移植された腫瘍を剔出し，壊死の部分を除去し，腫瘍塊をハサミで小さくしたのち，トリプシン処理して，単離細胞浮遊液をえた．トリパンブルーで細胞の生死を判定し，生細胞10^5～10^6コをマウスの右下肢の皮下ないしは筋肉内に移植した．細胞移植後毎日腫瘤の大きさを，縦，横キャリパーで計測した．細胞移植後2～3週間で，腫瘤の大きさは約8mm に達した．平均直径が8±0.5mm に達した腫瘍を実験に用いた．

用いたネズミは，C_3Hf/Bu の雌雄両性で，12～16週齢であつた．すべてのマウスは無菌動物室（specific pathogen free animal room）で得られ，飼育された．

再発癌

再発癌をつくるために，あまり大きい線量で照射すると得られる再発癌の例数は少なくなり，あまり少ない線量では肉眼的に治癒（下肢に腫瘤をふれなくなる）もえられないままに腫瘍は再び大きくなる．そこで初めの線量として，約5％の治癒率が期待される線量を採用した．この腫瘍で5％の治癒率を来たすのに必要な線量は，1回照射で5,800rad である[7]．しかしこの線量で照射すると，周辺の正常組織に大きな損傷が生じ，再び治療量で照射することは出来ない．そこで増感剤を併用して1回目の照射をすることにした．今日までに知られている増感剤のうちで，増感係数の大きいものの1つとして，Nitroimidazole 由来の Misonidazole (Ro-07-0582) がある．この薬剤の増感係数は，MDAH-mCa-4 腫瘍で，ネズミの体重 1g 当り 1mg 投与すると，2.3である[8]．そこで，平均腫瘍直径が8±0.5mm の時に，体重 1g 当り 1mg の Misonidazole を腹腔内投与し，30分後に5％の治癒率期待線量として2,500rad で照射した．この線量での実際の治癒率は3％であつた．腫瘤は，放射線照射後10日目には，ほぼ全症例において肉眼的には治癒したが，再び腫瘤を形成し，照射後30日目にはほぼ全症例で再び直径8±0.5mm になつた．照射後50日目までに，必要な大きさになつた症例のみを実験に供した．実験に供した再発例は全部で360であつた．

照射

^{137}Cs を線源として上下に一対内包する装置を用いて照射した．照射野は直径30mm の円型で，線量率は1051から1020rad/分であつた．線量は下肢の中心で，TLD を用いて測つた．下肢内部の線量分布は，上下対向二門照射であつたので，均一とみなした．線量は治癒率が0％から100％に分布するようにえらんだ．

回復率を求めるための照射方法

固型腫瘍を分割照射すると，照射と照射との間に腫瘍内に生じる色々な現象のために，一定の効果を来たすのに必要な線量は，一回照射した時と，分割照射した時とで異なることが知られている．それらの現象として，亜致死的損傷からの回元，reoxygenation, redistribution そして repopulation がある[9]．これらの因子のうち，分割照射した時の放射線障害からの回復能をみるために，腫瘍を24時間間隔で5分割照射し，その結果を一回照射した時のそれと比較した．分割照射間における reoxygenation の，実験結果におよぼす影響をより少なくするために，放射線照射する際に腫瘍細胞を低酸素圧状態にした．低酸素圧状態は，照射開始2分前から照射の終了するまで，下肢のつけ根を真鍮の板で圧迫して得た．照射中，ネズミは眠らせることなく，一気圧の空気をすわせた．

判定

照射終了後，当初は週に一度，後に2週間に一度の頻度で腫瘍の大きさを計測した．照射終了後120日まで生き残り，かつまた局所に腫瘤をふれ

ない症例を治癒と判定した．120日目での大きさが直径4mm 以下の腫瘍は治癒とみなし，6mm以上のものは再発とした．4mm 以上 6mm 以下のものは組織学的に検索する予定であつたが，かような症例はなかつた．

データ処理

4回の実験を行ない，毎回腫瘍は各照射群に分散させた．すべての実験が終つてから，データを集めて統計処理をなした．各照射群毎に50%の腫瘍治癒率を来たすのに必要な線量（TCD 50）と95%信頼限界とを計算した．

3. 結　果

再発癌ならびに初発腫瘍（primary tumor）の，1回ならびに5回分割照射した時の，線量効果関係を Fig. 1 および2に示した．再発癌のTCD 50線量は，1回照射および分割照射とで，それぞれ6,980(6,470～7,540)，10,500（10,300～10,700）rad であり，初発腫瘍ではそれぞれ7,260（6,920～7,620），10,600（10,100～10,100）rad であつた．（　）内は95%信頼限界である．線量効果関係の傾斜には，統計学的に有意の差はみられなかつた．

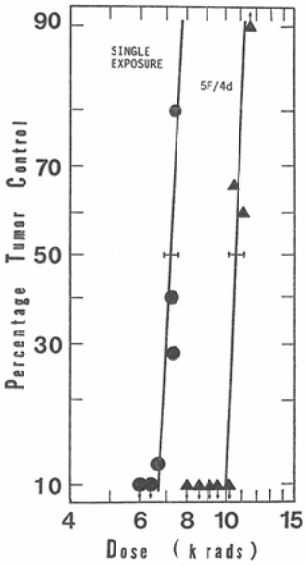

Fig. 1 Tumor control probability (logit transformation) plotted against logarithm of radiation dose for the initial treatment. Lines through the data points were fitted by computer. Error bars on the TCD50 are 95% confidence limits. Symbols with arrows represent groups in which tumor control was less than 10% or greater than 90%.

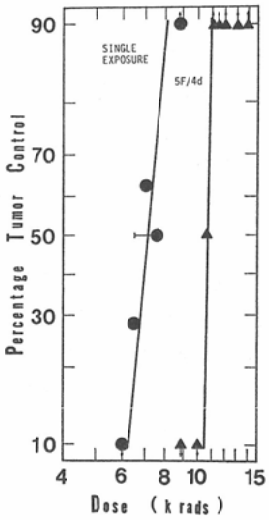

Fig. 2 Tumor control probability (logit transformation) plotted against logarithm of radiation dose for the retreatment. Lines through the data points were fitted by computer. Error bars on the TCD50 are 95% confidence limits. Symbols with arrows represent groups in which tumor control was less than 10% or greater than 90%.

4. 考　察

放射線治療後の再発癌は当初のものより比較的に放射線抵抗性であるとすれば，それには次の2つの理由が考えられる．1つは腫瘍細胞それ自体の放射線感受性が低くなることであり，他の1つは照射によつて腫瘍周辺の線維化がすすみ，あるいはまた血管内膜炎のために血行状態が悪くなり，結果として腫瘍細胞の酸素分圧が低下することである．

臨床でみられる再治療は多くは最初の治療より数ヵ月以上後になされる[2]のに対して，この実験腫瘍では50日以内になされた．この日数は腫瘍細胞の線維化の進行に十分な日数とはいいがたく，この点からはここで用いた実験再発腫瘍は臨床でのそれのよいモデルとはいいがたい．

腫瘍細胞の放射線感受性を再発癌と初発腫瘍とで比較し，さらにまた分割照射する時にみられる

回復能を検討するにあたり，酸素分圧が実験結果におよぼす影響をより少なくするために腫瘍はすべて低酸素状態で照射された．

腫瘍内の酸素分圧を低下させるために，放射線照射2分前から照射中にかけて，下肢のつけ根を圧迫した．この実験においては，腫瘤内の酸素分圧を測定しなかつたが，他の実験結果と比較すると，この処理で腫瘤内の酸素分圧は低下していたと推定される．Howes and Suit[10] は同じ実験系を用いて，同様の処理をした群と，圧迫処理をせずに空気を吸わせた群とでの TCD 50 は，それぞれ7,000rad と 6,550rad とであると報告している．下肢のつけ根を圧迫処理することによつて，TCD 50 は有意に増加し，酸素分圧の低下を示唆している．本研究での初発腫瘍の TCD 50 は1回照射で7,260rad であり，彼らの報告した値によく一致している．

腫瘍細胞の放射線感受性

この実験で用いられた材料と方法とでは，低酸素圧状態で，1回照射された再発癌の TCD 50 と初発腫瘍の TCD 50 との間に有意な差はみられなかつた．これは再発癌の腫瘍細胞の放射線感受性が，初発腫瘍のそれらとほぼ同じであることを示唆している．

再発癌は，腫瘍細胞それ自体の放射線感受性が低下し，そのため初発腫瘍に比べて放射線感受性が抵抗性になる可能性はある．放射線感受性の点で様々な細胞の集団を，そして腫瘍は一般にそうであろうと推定されるが，放射線照射すると比較的に放射線に抵抗性の細胞株が生き残り，その結果としてそれらの再増殖によつて出来た細胞集団は，当初の細胞集団より全体として放射線感受性が低下すると予想される．in vitro[3)12)] そして in vivo 実験系を用いた結果[11] はこの可能性を示唆している．

ネズミの乳癌を用いたこの実験では，しかしながら，放射線照射後の再発癌に放射線感受性の低下はみられなかつた．その原因として，元来腫瘍内に放射線抵抗性株が全く存在しなかつたか，あるいは存在してもその割合が非常に小さく，かつ照射線量が比較的に少なかつたため，十分な選択がなされなかつたかが考えられる．もし仮に，腫瘍内に放射線低抗性株と感受性の高い株とがあるとすると，感受性の高い株の割合が比較的に少ない時は，比較的少線量の放射線照射によって残された腫瘍細胞は，容易に放射線抵抗性の細胞集団になるはずである．高感受性の細胞の割合が高まるほど（放射線抵抗性株の割合が少なくなるほど），残つた細胞集団の放射線感受性を有意に低下させるのに，比較的大線量を要するようになる．この実験で再発癌をつくるために用いられた線量は，直径 8mm の腫瘍の治癒率を3％にする線量であつた．この実験で用いたと同じ系の細胞を用いて実験した Stone[13] らの仮説が正しいとすると，この実験での線量は細胞の生存率を 3×10^{-8} にしているはずである．それ故に抵抗性株の割合が腫瘤内で 3×10^{-8} 以下の場合は，この線量は再発癌の放射線感受性を低下させるのに不十分だつたといえる．

この実験結果からただちに，臨床でみられる再発癌の放射線感受性は，当初の腫瘍のそれと同じであると一般化することは危険であろう．当初の腫瘤の大きさは，この実験では直径 8mm であつたのに対して，臨床で遭遇する腫瘍は一般にこれより大きい．用いた線量は，この実験では3％の治癒率をきたす線量であり，臨床ではさらに大きい線量が用いられている．これらのことは，臨床でみられる再発癌は，この実験でえられた再発癌よりも大きな選択の結果生じたものであり，放射線抵抗性株の腫瘤内での割合が，仮に 3×10^{-8} 以下であつても，出てくる再発癌が有意に抵抗性を示す可能性があることを意味している．

しかしながら，ここでえられた実験結果から，少なくとも比較的小さい腫瘤の，放射線治療後の再発癌は，放射線感受性が必ずしも低くないといえるだろう．

亜致死障害からの回復

ここで得られた実験結果はまた，再発癌には放射線障害からの回復能があり，その能力には再発癌と初発腫瘍との間で有意がないことを示唆して

いる．

1回照射よりも分割照射することによつてえられる TCD 50 の増加は，照射された腫瘍細胞の recovery, repopulation, reoxygenation, そして redistribution によつて説明される．これらの因子については，Withers によつてすでに詳細にのべられている[9]．これらの因子のうち reoxgenation は，この実験では腫瘍細胞の酸素分圧は，すべて低酸素圧に保たれたので，考慮しなくてもよいであろう．redistribution が分割照射においてもつ役割については，二分割照射した時は重要であるのが，多分割照射した時にどの程度重要であるのか，現在正確に評価することは出来ない．repopulation は分割照射間隔が大きくなつた時に重要になることを考えると，この実験で24時間間隔で，5均等分割照射することによつてえられた TCD 50 の増加は，たぶん主として sublethal damage からの回復によるのであろう．このTCD 50の増加をすべて sublethal damage からの回復であると仮定すると，再発癌の分割照射間隔での平均的回復は，10,500−6,980/4=880radである．この値は初発腫瘍のそれ，10,600−7,260/4=840 rad とよく一致するのみでなく，照射時に酸素分圧を低下させたことを考慮すると，正常組織や，他の実験腫瘍を用いてえられた結果[14]とも，あまり矛盾しない値である．

5. 要　約

1．C_3Hf/Bu マウスの乳癌由来細胞 MDAH-mCa-4 を，マウスの下肢に移植し，平均直径が 8mm の時に，体重1g 当り 1mg の Misonidazole を投与し，30分後に 2,500rad の ^{137}Cs からのγ線で照射した．照射後120日目での治癒率は3％であつた．

2．再発した腫瘍を，平均直径が 8mm の時に，低酸素圧状態にして，1回照射および1日間隔で5分割照射し，50％の腫瘍治癒率がえられるのに必要な線量（TCD 50)を，初発腫瘍(primary tumor）の，同じ条件下でのそれと比較した．

3．再発癌と初発腫瘍との間で，いずれの照射法の場合も，TCD 50 に有意な差はみられなかつた．

4．分割照射による平均的回復率は，この条件下では再発癌と初発腫瘍とでそれぞれ，840と880rad であつた．

文　献

1) Tapley, N.duV., Montague, E.D. and Brown, G.R.: Management of localized breast cancer. (In) Fletcher, G.H., ed: Textbook of Radiotherapy. Second Edition pp. 490—491, 1973, Lea & Febiger, Philadelphia
2) Murphy, W.T. and Schmitz, A.: The results of re-irradiation in cancer of the cervix. Radiology, 67: 378—385, 1956
3) 牟田信義：放射線耐性の研究．日本医放会誌．24： 545—563, 1964
4) Denekamp, J.: Residual radiation damage in mouse skin 5 to 8 months after irradiation. Radiology, 115: 191—195, 1975
5) Brown, J.M. and Probert, J.C.: Early and late radiation changes following a second course of irradiation. Radiology, 115: 711—716, 1975
6) Silobrcic, V. and Suit, H.D.: Tumor-specific antigen(s) in a spontaneous mammary carcinoma of C_3H mice. I. Quantitative cell transplants into mammary-tumor-agent- positive and—free mice. J. Nat. Cancer Inst., 39: 1113—1119, 1967
7) Stone, H.B.: Metronidazole and fractionated radiotherapy of a murine tumor. Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., 1: 1133—1137, 1976
8) Stone, H.B. and Withers, H.R.: Enhancement of the radioresponse of a murine tumour by a nitroimidazole. Brit. J. Radiol., 48: 411—412, 1975
9) Withers, H.R.: The four R's of radiotherapy. (In) Lett, J.T., Adler, H. ed: Advances in radiation biology. Vol. 5 pp. 241—271, 1975 Academic Press, New York, San Francisco, London
10) Howes, A.E. and Suit, H.D.: The effect of time between fractions on the response of tumors to irradiation. Radiat. Res., 57: 342—348, 1974
11) Snellman, B.: Attempt to develop reduced radio-sensitivity in Jensen rat sarcoma by means of roentgen irradiation. Acta Radiol., 16: 545—556, 1935
12) Berry, R.J.: Quantitative studies of relationships between tumor cell ploidy and dose

response to ionizing radiation in vivo. Modification of radiation response in a previously irradiated tumor. Radiat. Res., 18: 236—245, 1963

13) Stone, H.B. and Withers, H.R.: Metronidazole: Effect on radiosensitivity of tumor and normal tissues in mice. J. Natl. Cancer Inst., 55: 1189—1194, 1975

14) Withers, H.R.: Capacity for repair in cells of normal and malignant tissues. Conference on time and dose relationships in radiation biology as applied to radiotherapy. Carmel, California. pub. Brookhaven National Laboratory, BNL50203 (C-57), 54—65, 1970