The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	実験腫瘍に対する放射線生物作用の時間因子について 第1篇 間隔因子と延命効果
Author(s)	荻野, 敬一郎
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1965, 24(10), p. 1133-1140
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/20114
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

実験腫瘍に対する放射線生物作用の時間因子について
第1篇　間隔因子と延命効果

岡山大学医学部放射線医学教室（主任　山本道夫教授）
荻　野　敬一郎

（昭和39年11月4日受付）

Influence of Time Factor on Biological Effects of X-irradiation on Mice Bearing Solid Type Ehrlich's Carcinoma
Part I
Effect of Irradiation Intervals on Survival Rate

By

Keichiro Ogino
Department of Radiology, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Michio Yamamoto)

Solid type Ehrlich's carcinomas inoculated into the right legs of Cb mice were treated with x-rays at three different fractionations, as shown schematically in Figure 1, consisted of (1) irradiation at intervals of seventy-two hours (involving 3×500r daily and 7×500r every three days to 5,000r in 24 days), (2) irradiation at intervals of twenty-four hours (involving 10×500r daily to 5,000r in 10 days) and (3) distributed daily irradiation (involvig 3×500r daily and 21×500r/3 every day to 5,000r in 24 days).

In survival rate of animals, irradiation at intervals of seventy-two hours had the best effect and the most unfavorable result was found in distributed daily irradiation (Table V, Figs. 1 & 2). The tumors in size were controled most effectively by irradiation at intervals of twenty-four hours, in which the irradiation was completed early, and irradiation at intervals of seventy-two hours, in comparison with distributed daily irradiation, was more available in suppressing growth of the tumors, while over-all time and total doses were the same (Table VI, Fig. 3). Stroma reaction viz. round-cell infiltration and many multinucleated tumor cells were observed in the histological study of the tumors irradiated at intervals of seventy-two hours (Fig. 4 B). In the twenty-four plan, the tumor cells were degenerated strongly and slightly in the distributed plan. Both of them had no visible stroma reaction (Fig.4 C & D).

It is reasonable to presume that the stroma reaction is as important as destruction of tumor cells for prolonging life span. These results indicate that control of tumor-size is not necessarily proportional to survival.

緒　言

悪性腫瘍の治療に放射線を利用しようとする試みは古く，1903年 Perthes[1]は皮膚癌にレ線を照射して治癒させたと報告している．しかし Seitz u. Wintz[2] の照射法は1坐全量照射であって腫瘍に充分な線量を与えることは出来ず，従って治療成績も見るべきものはなかった．1925年頃よりレ線のラジウム化照射法が叫ばれるようになった．これはレ線で治癒しない腫瘍もラジウムではよく治癒する点が注目されたもので，レ線は短時間に照射を終了するがラジウムは長時間にわたって照射するところに差異があると考えられた．このレ線のラジウム化照射法として生まれた Coutard[3] の遷延分割照射法は喉頭癌，子宮癌等の治療成績を著しく向上させた．

このように放射線治療における時間因子の重要性は早くから注目されていたのであるが，近年治療装置の進歩は目覚ましく，放射線治療の研究もこの方面に集中してしまった憾がある．容易に大線量を照射出来るようになるに従って，線量を増せばそれだけ治療成績を向上出来るとの考えから「焼いてまた焼け」と云う言葉も聞かれた．しかしこうした幾多の努力にも拘らず治療成績はなお満足すべき結果を得ていない．こうして最近再び注目されて来たのが時間因子の問題である．[4)~12)]

放射線の生物作用は総線量に関係すると同時にその与え方によつても非常な差異を生ずる．その作用機序については種々説明されているが，細胞の放射線感受性は分裂前期が特に強く[13)14)]，照射によつて細胞機能は低下し同時に放射線感受性も低下することが知られており，その回復を待って次の照射を行うと，同一線量でより強い作用を生ずるものと思われる[15)]．

従来この方面の研究は培養細胞を用い，分割回数も2，3回のものが大部分である．そしてその結果は種々様々であって実際の治療に応用出来る共通性を見出すことは困難である．この複雑な問題に対する基礎的研究の一端として，実際の治療に模した実験を試み，臨床応用への糸口にしたいと考えた．

実験材料ならびに実験方法

1) 実験動物　テキサス大学 Dr. Arthur Kirschbaum のマウスコロニーより分与された Cb 純系マウスで4～6週令，体重約20gの雄を用いた．飼育には実験動物中央研究所製固型飼料CE2と水道水を用い，室温は四季を通じて20℃±5℃の範囲に保つように努めた．

2) 腫瘍の移植　移植方法は山本等[16)]の報告を参考とし，7日毎に移植を繰り返して継代した Ehrlich 腹水癌細胞を用いた．このようにして継代した腹水は移植後7日目には非血性の純培養状態となる．あらかじめ少量の腹水を取り白血球数測定と同様の方法で細胞数を算定し，腹水 0.1cc を混じて 0.1cc中 30×10^4 個の癌細胞を含む液となる量の滅菌生理的食塩水を用意しておき，新たに採取した腹水 0.1cc を素早く混じて 0.1cc中 30×10^4 個の癌細胞を含む稀釈液を作つた．次にこの液を2ccツベルクリン用注射器に採り 0.1cc宛下腿皮下に移植した．

3) 組分け　実験は照射群3群と担癌非照射の対照群とし，照射はいずれも移植後7日目に開始した．

72時間間隔照射群（72群と略記）　24時間間隔で 500r 宛3回，以後72時間間隔で 500r 宛7回照射し，24日間に総線量 5,000r を照射する．

24時間間隔照射群（24群と略記）500r 宛24時間間隔で10回照射し，10日間で総線量 5,000r を照射する．

分配照射群（分配群と略記）24時間間隔で500r 宛3回，以後は 500r の1/3（約 167r）を毎日照射し，24日間に総線量 5,000r を照射する．

4) 照射方法　照射には東芝KXC18型深部治療装置を使用，管電圧 200kVp，管電流 25mA，濾過板0.5mmCu＋0.5mmAl，距離50cm，半價層 Cu 1.37mm，線量率74.9r/min で行なった．照射時マウスは右脚のみ引出せるよう角に孔をあけた鉛の箱に入れ，足関節にかけた糸にて腫瘤を引き出し固定した．これにより右脚以外は3mmの鉛板によって保護されており，実測の結果 5,000r の局所照射で全身の被曝線量は約60rであつた．

5) 延命効果および腫瘤直径の測定　前記4群に対し各群10匹の実験を4回繰り返して行い，合計 160匹の動物について移植後の生存日数および移植後7，14，21，28日に腫瘤の直径を測定した．腫瘤の直径は脚の長軸に直角な上面の最大径と，それと直角をなす径をノギスで測り両者の平均をもつて表わした．なお左脚の同部位の直径は約4㎜であった．

6) 組織検査　標本の作製には別に用意した各群の動物を移植後32日目に撲殺し，腫瘍部を取りformalin固定，Parafin包埋，hematoxylin-eosin染色を行った．

実験結果

1) 延命効果　個々の動物の移植後生存日数および各群の平均値は実験別に Table I～IV に示した．また4回の実験を綜合した値をTable Vおよび Fig. 2に，生存曲線を Fig. 1に示した．

平均生存日数は対照群の38.3日に対し，72群56.6日，24群48.4日，分配群44.2日となり，対照群よりそれぞれ18.3，10.1，5.9日の延命効果を示した．これを各実験について見ると，実験1～3は全く同様の結果を示して72群が最もよく，24群がこれに次ぎ，分配群が最も劣っている．しかし実験4では24群がわずかながら72群に勝り，分配群は他の実験と同様最も劣っている．これは実験4が他の3回の実験に比べて平均寿命が特に短かった点より考えて，この様な場合早期に照射を完了した24群が有利になったものと思われる．

Table I　Days of survival after transplantation　Experiment 1

Group	Days of survival										Mean
72 hours	38	43	48	48	55	58	61	62	62	65	54.0
24 hours	37	39	40	42	43	45	45	53	56	61	46.1
Distributed	36	38	40	40	40	45	45	50	53	54	44.0
Control	30	30	32	34	36	40	40	46	49	51	38.5

Table II　Days of survival after transplantation　Experiment 2

Group	Days of survival										Mean
72 hours	46	48	60	68	69	69	70	70	72	73	64.5
24 hours	39	43	43	45	50	56	59	64	66	68	53.3
Distributed	35	38	38	41	43	48	50	51	54	54	45.2
Control	32	35	35	37	38	41	43	47	51	53	41.2

Table III　Days of survival after Transplantation　Experment 3

Group	Days of survival										Mean
72 hours	41	46	60	63	45	49	69	70	73	74	63.0
24 hours	38	40	43	43	44	45	49	59	63	64	48.8
Distributed	37	38	39	43	44	48	48	52	54	56	45.9
Control	31	31	33	35	36	37	37	41	51	53	38.5

Table IV Days of Survival after transplantation Experiment 4

Group	Days of survival										Mean
72 hours	34	36	38	43	43	46	48	48	53	58	44.7
24 hours	36	37	42	42	45	48	48	49	50	55	45.2
Distributed	35	36	37	37	40	43	45	47	47	50	41.7
Control	30	31	31	32	33	34	36	37	40	44	34.8

Table V Variety of survival in 4 Experiments (day)

Group	Expt. 1	Expt. 2	Expt. 3	Expt. 4	Mean
72 hours	54.0	64.5	63.0	44.8	56.6
24 hours	46.1	53.3	48.8	45.2	48.4
Distributed	44.0	45.2	45.9	41.7	44.2
Control	38.5	41.2	38.5	34.8	38.3

Table VI Mean diameter of tumors and standard deviation on 7, 14, 21 and 28 days after transplantation (mm)

Group	7 days Mean S.D.	14 days Mean S.D.	21 days Mean S.D.	28 days Mean S.D.
72 hours	8.7 (1.1)	11.5 (0.8)	13.0 (1.1)	14.5 (1.2)
24 hours	8.8 (0.8)	10.5 (0.9)	11.3 (1.1)	12.0 (0.9)
Distributed	8.7 (1.0)	11.6 (1.4)	14.3 (2.0)	16.3 (2.0)
Control	8.6 (0.7)	14.4 (0.9)	18.9 (1.2)	22.3 (1.0)

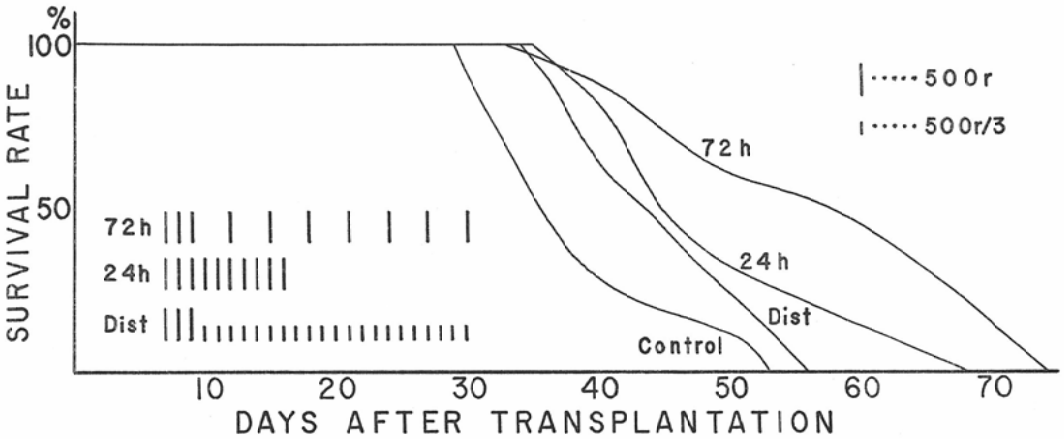

Fig. 1 Survival curves and schematic representation of irradiation plans.

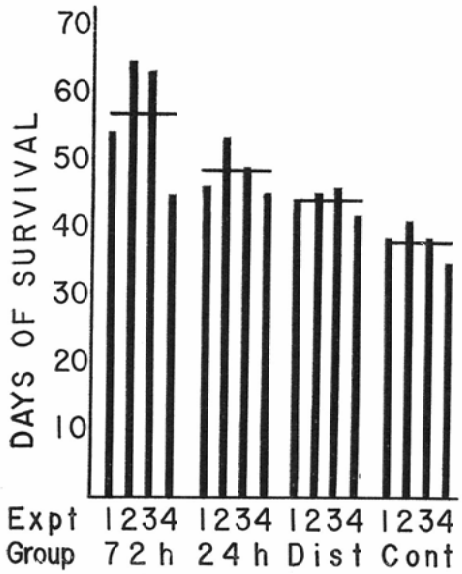

Fig. 2 Variety of survival in four experimints of each group. Horizontal bars indicate the mean survival of four experiments.

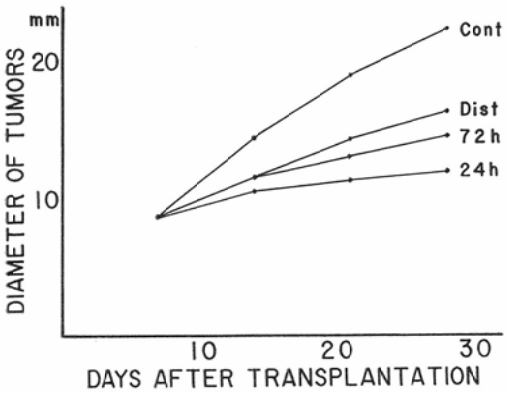

Fig. 3 Growth curves of the tumors in the diameter.

2) 腫瘤直径　4回の実験に用いた各群40匹の平均値は Table VI に示す通りである．早期に照射を完了する24群が最も小さく，同一期間に同一線量を照射した72群と分配群では，72群がやゝ小さかつた．

3) 組織所見　下腿に移植した Ehrlich 癌は円形細胞の集団で，いわゆる充実癌の形をとる．腫瘤の中心部は早期より硝子様変性に陥るが周辺部では著明な腫瘍細胞の増殖が見られる (Fig. 4A)．72群では巨態細胞が多数見られ，その周囲には円形細胞の浸潤を認め，間質の炎症性反応がうかがわれる (Fig. 4B)．24群では大多数の細胞は少さく，核は染色質を失い，強い変性を示す (Fig. 4C)．これに比べて分配群は照射の影響が最も弱く，腫瘍細胞の変性も軽度で，72群に見るような特異な像も認められない (Fig. 4D)．

考　按

悪性腫瘍に対する放射線療法の目指すところは腫瘍を縮少し消滅させるだけでなく，生命を延長し永久治癒に導くことである．従って照射による効果と障害の綜合的表現としての延命効果を示標として照射法を検討するのは有意義なことと考えられる．しかしながら従来この種の実験は皆無に等しく，これは実験材料として必要な種々の条件を具えた実験腫瘍が得難いためではないかと思われる．そこで先ず実験材料について検討した．

均一な動物を多数必要とし，局所照射を行なうには動物の固定と照射野の設定に非常な手数を要するので，取扱いの容易なマウスは最適である．又 Ehrlich 癌は移植率がよく，腹水を50倍前後に稀釈した液0.1cc (腫瘍細胞30×10^4個) を注入して 100%の移植率が得られ，自然治癒するものは1例もなかった．局所照射に際し，腫瘍の存在する部位は重要である．躯幹部の腫瘍は小動物の場合，重要臓器を避けて照射することは困難であり，尾部に移植された腫瘍もマウスではこの部が重要な造血臓器である点問題がある．しかし下腿に限局した腫瘍は理想的な局所照射が可能であった．局所照射による延命効果を見る場合遠隔転移があってはならないが，移植細胞数を 30×10^4 個とかなり少ない数に限定することにより極く稀れに鼠径部リンパ節に転移を起したが他の部には全く転移巣は見られなかった．またこの種の実験では担癌動物が適当な期間生存することが必要である．自然発生癌は発癌時期および発生部位に問題があり，移植腫瘍は一般に寿命が短い．下腿に移植した結節型吉田肉腫は2週間前後で死亡し，島 (1955) の報告によると尾部に移植した場合も大体同じようである．今回用いた Ehrlich癌はこれ

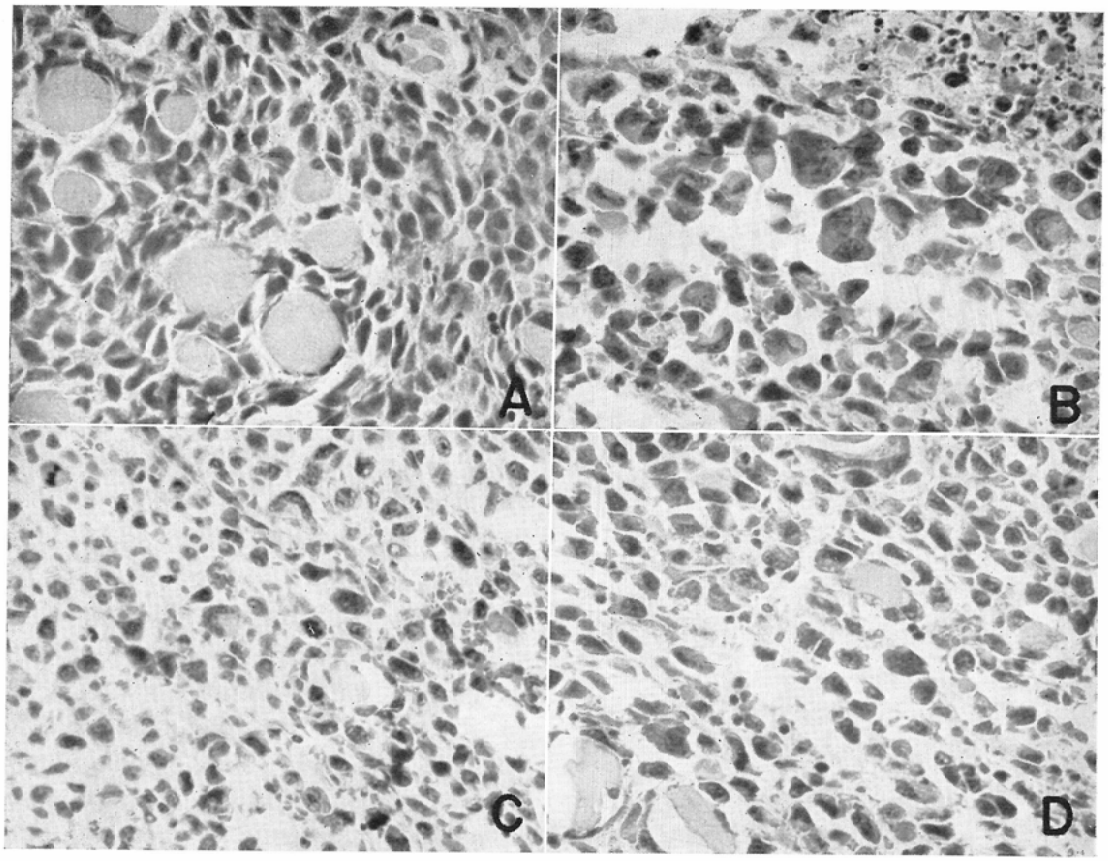

Fig. 4 Photomicrographs of the tumors, thirty-one days after transplantation. (Stained with H & E; ×400.) (A) Infiltration of tumor cells into the muscle from a control animal. (B) Round-cell infiltration and many multinucleated tumor cells after completion of irradiation at intervals of seventy-two hours. (C) Marked degeneration of tumor cells irradiated at intervals of twenty-four hours. (D) Moderate degeneration of tumor cells in distributed daily treatment.

らの2倍以上の期間生存し，一応目的を達したが実験4のように平均寿命の特に短い場合は，なお充分とはいえなかった．

今日までに分割照射における照射間隔を検討した基礎的研究は多数報告されている．Spear & Glücksmann[17] (1941) はおたまじゃくしの眼に536 r の等量2分割照射を行なう場合10日間の間隔で照射したものが最も有効であつたと述べ，Paterson & Thompson[18] (1948) は培養した雛の繊維芽細胞に10,000～12,000 r の連続照射と2時間および43～53時間間隔の2分割照射とを比較して，細胞の生存率はそれぞれ73%，72%，46%となり，43～53時間間隔で照射したものが最も有効であつたと述べている．Koller[19] (1947) は上皮性腫瘍に 200 r 照射すると分裂細胞は数時間の間減少し， 500 r では分裂の抑制は数日間に及ぶと述べている．Lasnitzki[20] (1948) は 100～1,000r の間では細胞分裂の抑制される期間は線量に比例することを明らかにし，Tansley等[21] (1937), Koller & Smithers[22] (1946) も同様の結果を得ている．そしてGoldfeder[23] (1951) は dbr B および C_3H マウスを用いて実験し，速く発育する dbr B 乳腺腫がゆっくり大きくなる C_3H 乳腺腫より照射後の回復が早く，はっきりした形で現われることを指摘している．このように最適照射間隔は線量および被照射細胞の種類によって異

ることがわかるが，その間の量的関係を明らかにする法則を見出すことは困難である．

一方臨床治療に準じた形の実験は非常に少く，わずかに数篇の報告を見るにすぎない．Du Saut, Eyler & Burns[24]（1958）は C_3H マウスの自然発生乳腺癌を用いて同一期間に同一線量を照射する場合週5回照射するよりも週3回照射する方が腫瘍の発育を強く抑制すると述べ，Du Saut[25]（1962）は同じ材料で，週5，3，2回の各照射について線量と腫瘍の発育抑制効果の関係を求め，総線量5,000 r 前後を境として小線量では週3回，大線量では週2回照射したものがより効果的であることを示している．そして同じDu Saut[26]（1964）は4日以上の照射間隔は治療上有害であり，初期に長い照射間隔をおくことは特に害が大きいと述べている．又 Barth, Böhmer & Wachsman[27]（1959）はマウスの尾部に移植した Ehrlich 癌に12，24，48，72，120時間間隔で同一皮膚反応を起すように計算された総線量3,600～2,200 r を照射し，48時間間隔で照射したものが腫瘍の発育抑制および生存率の点で最も勝っていたと報告している．

これらの成績は腫瘍の種類および発生部位等条件は異っているが著者の実験と大体同様の結果を示している．Barth 等の実験は総線量3,000 r 前後で，Du Saut の小線量の場合に相当し，5,000r 以上を照射するならば，最適照射間隔は当然48時間より長くなるものと考えられる．

Coller[19]（1947）は照射された組織は炎症性反応を示し，結合組織中にリンパ球の浸潤，プラズマ細胞の分化等が見られることを明らかにしており，山田[28]（1951）は吉田肉腫に対してレ線照射の有効な時には腫瘍細胞の障害像は比較的軽度であってもリンパ球等の滲出が高度で，このような炎症性反応が悪性腫瘍の治療上特に重要であると述べている．今回の実験においても，72群は多数の巨態細胞の出現等腫瘍細胞の特異な変化と共に円形細胞の浸潤が認められた．

今回の実験では各照射群共最初の3回は同様に連日照射したが，これは分裂時期の異る腫瘍細胞を一様に障害し，Coller[19]（1947）も指摘しているように，以降細胞分裂がある程度同期的に行なわれることを期待したものである．そして同一期間に同一線量を照射した72群と分配群で延命効果に差を生ずることが明らかになった．これは局所照射によって，全身の浴びる単位容積当りの線量は局所に比べて非常に少ないので，照射による細胞の放射線感受性の低下はほとんど起らないか，起っても短い時間で回復するが，大線量を照射された局所では感受性の回復にかなりの時間を要する．従ってその回復を待って次の照射が行なわれるならば全身の受ける障害は一定であっても，局所にはより強い作用をもたらすことになるためではないかと考えられる．

従来放射線治療の効果判定に腫瘍の増大縮小等その大きさを示標とすることが多い．今回の実験においても，同一期間に同一線量を照射した72群と分配群では，腫瘤の発育抑制と延命効果は平行したが，早期に照射を完了した24群は腫瘍が最も小さかったにもかかわらず，延命効果では72群に劣っている．従って照射期間の異る場合，腫瘍の大きさのみをもって効果を比較することは適当でないことがわかる．

結　語

Cb 系マウスの下腿皮下に移殖した結節型 Ehrlich 癌に時間間隔を異にした総線量5,000r のレ線局所照射を行い，照射3群と担癌非照射の対照群について延命効果，腫瘤直径および組織像を観察し次の結果を得た．

1. 延命効果は72時間間隔照射群が最もよく，小線量を連日照射した分配群が最も劣っており，早期に照射を完了する24時間間隔照射群が中間の成績を示した．

2. 腫瘤の大きさは24時間間隔照射群が最も小さく，72時間間隔照射群がこれに次ぎ，分配照射群は腫瘍の発育抑制が最も弱かった．

3. 組織学的に72時間間隔照射群は巨態細胞の出現と共に特異な間質反応が認められるのに対し，24時間間隔照射は腫瘍細胞の障害像は最も強く，分配照射群はこれが軽度であったがいずれも間質の反応は認められず，生命の延長には腫瘍細胞の障害と共に間質反応が重要な意味を持つことが示された．

4. 同一期間に同一線量を照射した場合，腫瘍の発育抑制と延命効果は平行したが，同一線量を照射しても照射する期間が異る場合両者は必ずしも平行せず，腫瘍の縮小率のみをもって治療効果を判定することには問題があることが示された．

稿を終わるに臨み御指導御校閲を賜わった恩師山本道夫教授に深甚の謝意を表すと共に，組織学的検索に多大の御教示を戴いた本学病理学教室妹尾左知丸教授に心から感謝致します．

本研究の要旨は第22回日本医学放射線学会総会において発表した．

文献

1) Perthes, G.: Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf epitheliale Gewebe, insbesondere auf das Carcinom. Arch. f. klin. Chir., 121, 955—1000, 1903.
2) Seitz, L. & Wintz, H.: Die Röntgenbestrahlung bösartiger Neubildungen. Verhandl. d. Deutsch. Gesellsch. f. Gynäk., 16, 172—223, 1920.
3) Coutard, H.: Zusammenfassung der Grundlagen der röntgentherapeutischen Technik der Tiefgelegen den Krebse. Strahlentherapie, 37, 50—58, 1930.
4) Ellis, F.: The dose-time relationship in radiotherapy. Brit. J. Radiol., 36, 153—162, 1963.
5) Fowler, J.F. & Stern, B.E.: Dose-time relationships in radiotherapy and the validity of cell survival curve models. Brit. J. Radiol., 36, 163—173, 1963.
6) Sambrook, D.K.: Clinical aspects of fractionation and dose-time relationships. Brit. J. Radiol., 36, 174—177, 1963.
7) Oliver, R.: Theoretical implications of cell survival data in relation to fractionated radiotherapy treatments. Brit. J. Radiol., 36, 178—182, 1963.
8) Nias, A.J.W.: Some comparisons of fractionation effects by erythema measurements on human skin. Brit. J. Radiol., 36, 183—187, 1963.
9) Baclesse, F.: Hyperfractionation. Am. J. Roentgenol., Rad. Therapy & Nuclear Med., 91, 32—36, 1964.
10) Sambrook, D.K. Split-course radiation therapy in malignant tumors. Am. J. Roentgenol., Rad. Therapy & Nuclear Med., 91, 37—45, 1964.
11) Bostein, C.: Reduced fractionation in radiation therapy. Am. J. Roentgenol., Rad. Therapy & Nuclear Med., 91, 46—49, 1964.
12) Atkins, H.L.: Massive single dose, weekly fractionation technique in treatment of head and neck cancer. Am. J. Roentgenol., Rad. Therapy & Nuclear Med., 91, 50—60, 1964.
13) 貴家貞而：細胞分裂に及ぼすレ線の影響，日医放会誌，12, 8—20, 1952.
14) 小原準之輔，吉田肉腫腹水細胞の有糸分裂経過並びにそれに及ぼすX線の影響，日医放会誌，15, 624—639, 1955.
15) Scanson, P.W.: The effect of mitotic suppression and recovery after irradiation on time-dose relationships and the application of this effect to clinical radiation therapy. Am. J. Roentgenol., Rad. Therapy & Nuclear Med., 81, 433—455, 1959.
16) 山本正他：エールリッヒ腹水癌実験法の再検討，実験動物彙報，50—55, 1956.
17) Spear, F.G. & Glücksmann, A.: Effect of gamma radiation on cells in vivo. Part III. Spaced radiation. Brit. J. Radiol., 14, 65—76, 1941.
18) Paterson, E. & Thompson, M.V.: Time-intensity factors in x-irradiation. Brit. J. Radiol., 21, 414—419, 1948.
19) Koller, P.C.: Effect of radiation on normal and malignant cell in man. Brit. J. Radiol. Suppl. I, 84—98, 1947.
20) Lasnitzki, I.: The effect of x rays on cells cultivated in vitro. Part II. Recovery factor. Brit. J. Radiol., 16, 61—67, 1943.
21) Tansley, K., Spear, F.G. & Glücksmann, A.: Effect of gamma rays on cell division in developing rat retina. Brit. J. Ophth., 21, 273—298, 1937.
22) Koller, P.C. & Smithers, D.W.: Cytological analysis of response of malignant tumours to irradiation as approuch to biological basis for dosage in radiotherapy. Brit. J. Radiol., 19, 89—100, 1946.
23) Goldfeder, A.: Further studies on radiosensitivity of somatic cells. Brit. J. Radiol., 27 660—669, 1954.
24) Du Saut, L.A., Eyler, W.R. & Burns, W.M.: Studies of time-dose relationships: The effect of fractionation. Radiology, 71, 709—715, 1958.
25) Du Saut, L.A. The influence of the time factor on the dose-response curve. Am. J. Roentgenol., Rad. Therapy & Nuclear Med., 87, 567—573, 1962.
26) Du Saut, L.A.: The influence of time-spacing of fractionations on response to radiation. Am. J. Roentgenol., Rad. Therapy & Nuclear Med., 91, 90—94, 1964.
27) Barth, G., Böhmer, D. & Wachsman, F.: Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Pausendauer bei Strahlentherapie bösartiger Tumoren. Strahlentherapie, 109, 599 599—608, 1959,
28) 山田松男：レ線の吉田肉腫に及ぼす影響，和歌山医学，2, 5—24, 1951.