



Title	放射前剃毛したマウス皮膚におけるγ線多分割照射後の急性皮膚反応と回復
Author(s)	増田, 康治; 松浦, 啓一
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1984, 44(9), p. 1189-1198
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/20137">https://hdl.handle.net/11094/20137</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

## 照射前剃毛したマウス皮膚における $\gamma$ 線 多分割照射後の急性皮膚反応と回復

九州大学医学部附属病院放射線部

増田康治 松浦啓一

(昭和58年12月12日受付)

(昭和59年2月6日最終原稿受付)

### Early Skin Reaction and Recovery Following Multifractionated Gamma Irradiation in the Preliminarily Shaved Mouse Skin

Kouji Masuda and Keiichi Matsuura

Department of Radiology, Faculty of Medicine, Kyushu University, 71

---

Research Code No. : 403.7

---

*Key Words : Early skin reaction, Multifractionated irradiation, Recovery, Repopulation, Single-dose-response curve, Effects of hair shaving.*

---

The dorsal side of mouse hind leg was irradiated with multifractionated gamma rays. The legs were shaved one day before starting the irradiation, and the early skin reaction was studied and compared with the previous paper on the response of the ventral side of preliminarily un-shaved, mouse hind leg. The target cells for early skin reaction of the shaved skin regrew sooner after irradiation and repopulated faster than those of the preliminarily un-shaved skin of ventral side. The following experimental results were observed similar to those seen in the preliminarily un-shaved skin. 1) When the experimental data were plotted on a log-log scale, the exponent of T, treatment period in days (or N, fraction number), did not depend on the N (or T) but rather on the T (or N). 2) The single-dose-response curve for the target cells for early skin reaction seemed to be converse-S shape when plotted on a semi-log scale. The surviving fraction of cells exposed to 2,300 rad was calculated to be  $10^{-5}$ . 3) The iso-effect doses for a stated level of early skin reaction following two-equal fractions increased initially, then decreased and increased again with time interval between doses. This was in good agreement with other published reports, assuming that the peak and trough appear later with an increase in dose per fraction. 4) The repopulation rate of the target cells during multifractionation irradiation was greater from the 6th to the fifteenth days after the initial irradiation than from the fifteenth to the thirtieth days.

#### はじめに

放射線治療での最適線量配分とは、正常組織の障害をより少なくし、そして腫瘍をより効果的に制御する線量配分かといえる。そこで最適線量配分の決定には、腫瘍の反応だけでなく、正常組織の反応、ことに分割照射したときに見られる正常組織の回復および再増殖に関する知見が少なから

#### ず重要である。

前の論文<sup>1)</sup>ではマウスの皮膚を用いて、放射線照射し、分割照射間隔と等効果線量との関係から障害の回復と細胞の再増殖について報告した。

ところで、潜在的に増殖能をもった細胞の数は、皮膚の部位によってちがう<sup>2)</sup>。あらかじめ皮膚を刺激すると、皮膚はより顕著に再増殖し<sup>3)</sup>、その結



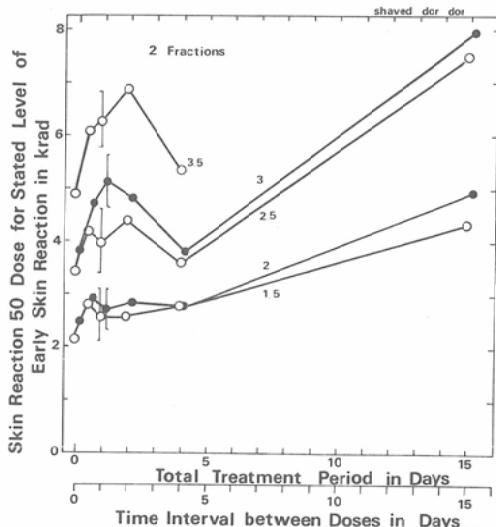


Fig. 1 Isoeffect doses for the stated levels of early skin reaction after two equal fractions were plotted as a function of the overall treatment periods and/or time intervals between doses. The numbers shown in the figure are the levels of early skin reaction used to calculate the isoeffect doses. The vertical bars represent 95% confidence limits around the SRD 50 dose in this and the following figures.

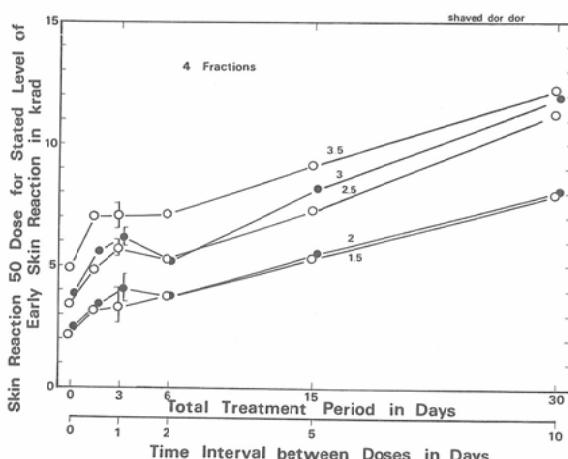


Fig. 2 Isoeffect doses for the stated levels of early skin reaction after four equal fractions vs. the overall treatment period.

長とともに波状に変化した。最初の頂点が照射間隔1日で現われ、谷が2日で現われたが、変化の程度は2等分割照射の時に見られたそれに比して

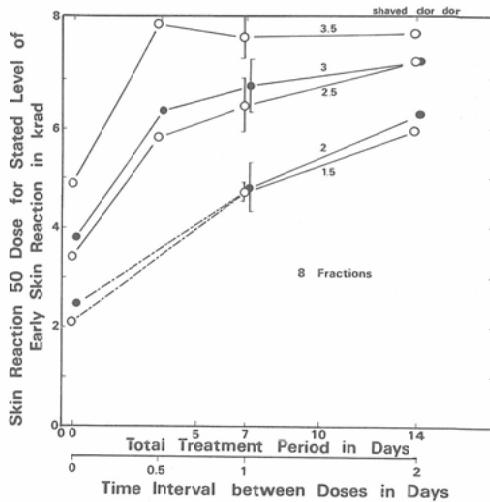


Fig. 3 Isoeffect doses for the stated levels of early skin reaction after eight equal fractions vs. the overall treatment period.

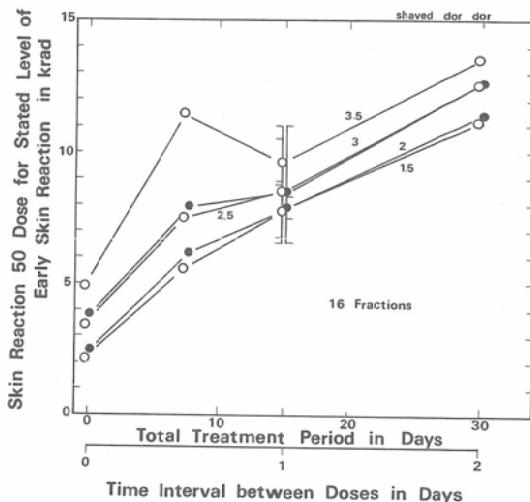


Fig. 4 Isoeffect doses for the stated levels of early skin reaction after sixteen equal fractions vs. the overall treatment period.

少なかった。

8, 16, 32分割照射では、等効果線量は照射間隔の延長とともに大きくなり、8および16分割照射で最高の皮膚反応(3.5)に関する等効果線量を求めた場合を除いて、実験した範囲内では、はっきりとした波は観察されなかった。

2. 分割回数あるいは照射日数と等効果線量との関係

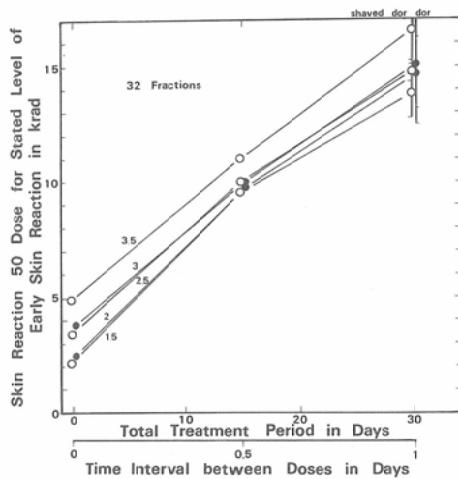


Fig. 5 Isoeffect doses for the stated levels of early skin reaction after thirty-two equal fractions vs. the overall treatment period.

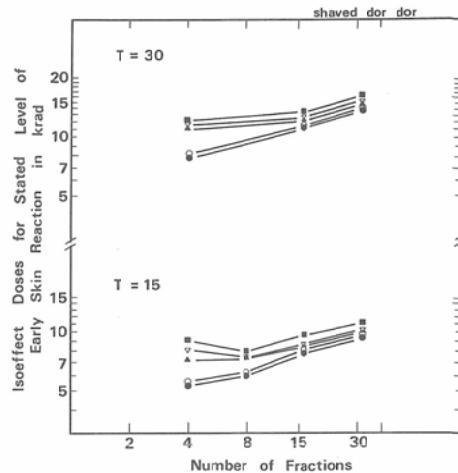


Fig. 6 Isoeffect doses for early skin reactions, 3.5 (■), 3 (▽), 2.5 (▲), 2 (○) and 1.5 (●) following multifractionated irradiation vs. the number of fractions administered in 15 or 30 days (see text).

Fig. 1, 2, 3, 4, および 5 に示された実験結果をもとにして、分割回数と等効果線量あるいは照射日数と等効果線量との関係をえた。

ここで用いた条件下の皮膚に対しても、また Ellis の式<sup>4)</sup>が適合するとすると、分割回数  $N$  の累数は照射日数  $T$  の大小に無関係に一定であるはずである。そこで Ellis の式の検証をするために照射日数  $T$  を一定とした時の分割回数と等効果線量との関係を得た (Fig. 6)。5 日間隔での 4 分割、2 日間隔での 8 分割、1 日間隔での 16 分割、0.5 日間隔での 32 分割では、照射日数は総て同じ 15 日とみなした。10 日間隔での 4 分割、2 日間での 16 分割、1 日間隔での 32 分割では、照射日数はすべて同じ 30 日とみなした。これらの点が両対数グラフ上で直線関係にあると仮定して、最小 2 乗法を用いて傾斜を求めた。

傾斜は用いた皮膚反応の程度によって、(あるいは、用いた線量の大きさによって)異なるが、平均値は  $T=15$  の時 0.19,  $T=30$  の時に 0.18 であった。一見して傾斜は、 $N$  が大きい時と小さい時とで異なると思われたので、 $N$  が 8 以上の時の傾斜を求めるとき、平均値は  $T=15$  の時 0.27,  $T=30$  の時 0.29 であった。

また、Ellis の式が適合するとすると、照射日数の累数は、分割回数  $N$  の大小に無関係に一定であ

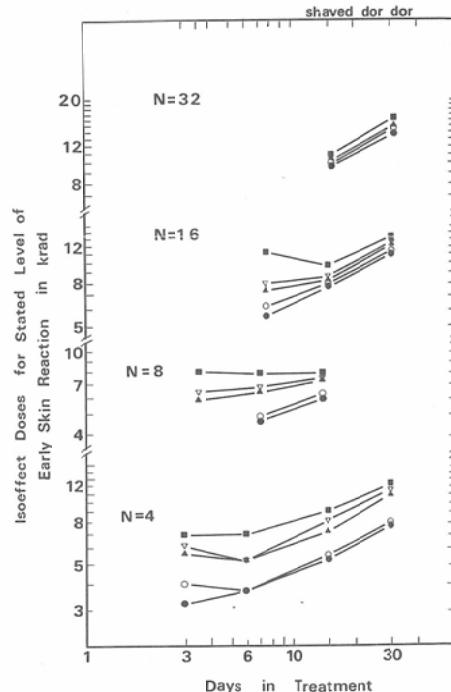


Fig. 7 Isoeffect doses required to produce early skin reactions, 3.5 (■), 3 (▽), 2.5 (▲), 2 (○) and 1.5 (●) vs. total treatment duration in days for 4, 8, 16 and 32 equal fraction exposures.

るはずである。そこでこれを検証するために、分割回数  $N$  を一定とした時の照射日数と等効果線

量との関係を得た(Fig. 7)。照射開始から最後の照射までの日数を照射日数とした。

分割回数N=4の時、Tの累数は照射日数3から30日の平均をとると0.31であり、照射日数6から30日までの平均では0.45であった。分割回数N=8の時、Tの累数は照射日数3.5から14までの平均では、0.21であった。分割回数N=16の時は、照射日数7.5日から30日までの平均では、Tの累数は0.35であり、照射日数15日から30日までの平均値をとると、Tの累数は0.54であった。分割回数N=32では、Tの累数は0.57であった。

### 考 察

放射線照射された皮膚の回復と標的細胞の再増殖が、あらかじめ皮膚を刺激することによって、影響されるのかどうかをマウス下肢の皮膚を用いて検討した。

すべての照射実験は数カ月にわたり、また一部の照射は早朝および夕方におこなった。しかし、前の報告<sup>1)</sup>でも述べた如く、実験期間中数回繰り返した一回照射実験、そしてまた早朝と夕方との一回照射実験で線量効果関係に有意差が見られなかったことから、実験期間中の実験材料の放射線感受性は全く同一であったと仮定して実験結果の解析をした。また急性皮膚反応の程度が一定であれば、照射方法の如何にかかわらず、生存標的細胞数は常に一定であると仮定した。

#### 1. 照射間隔と等効果線量

分割照射における照射間隔を変えることによる等効果線量の変動は、観察する反応系に関する標的細胞あるいはその反応に影響する諸組織の放射線障害からの回復、redistribution, repopulation, reoxygenationを反映している<sup>5)</sup>。2等分割照射すると、等効果線量は分割間隔の延長とともに一度大きくなり、次いで小さくなり、さらに分割間隔を延長すると再度等効果線量は大きくなった。山と谷との落差は、計算に用いた効果の程度が高いほど、言いかえると用いた線量範囲が大きいほど大きかった。また、山の現われる時期も遅れ、皮膚反応1.5と3とでは、山の現われる照射間隔は、0.5日と2日であった。この等効果線量の変動は、従来のin vitro培養細胞を用いた実験結果をあて

はめて、一回線量が大きいほど標的細胞の分裂遅延は大きく、再増殖が遅く現われるとするとよく説明される。

分割回数が4, 8, 16と増すと、次第に山と谷とははっきりとはしなくなつた。これは照射日数が増すと照射期間中に早くも再増殖し始める細胞が現われ始めることを示唆している。

同じ動物の下肢の何ら刺激を加えなかつた腹側の皮膚を用いた実験結果<sup>1)</sup>と比較すると、照射間隔と等効果線量との関係の型には、基本的には差は見られなかつた。しかし、詳細に検討するといくつかの差が見られた。

2分割照射実験においても、分割回数を増した実験においても、山と谷の現われる照射間隔には、はっきりとした差は見られなかつたが、谷のあとに等効果線量の分割間隔の延長に伴う増加の程度に違いがあつた。この違いの理由としては、標的細胞の再増殖の程度の違いの他に、再増殖が始まる時期の違いがあげられる。この実験に用いた照射間隔、ことに2日以上の照射間隔に関してそれほど密にとつてないので、そして谷は2日以上の照射間隔で現われているので、実験結果から谷の現われる照射間隔を、正確に決めることは出来なかつた。しかし、放射線照射という刺激の前にすでに刺激されている皮膚では、刺激されてなかつた皮膚に比べて標的細胞の再増殖が早く現われるとすると、両実験結果の違いがよく説明できる。

2等分割照射における山と谷とが現われる時期は、他の報告に比較して著しく遅かった。照射前に毛を剃った背部の皮膚では、山と谷とはそれぞれ照射間隔8~9時間、12~14時間にみられた<sup>6, 7)</sup>。これらは皮膚コロニー法を用いて効果を判定しており、一回線量は千数百ラドで、本実験に用いた線量域に比較して、著しく低い。

またFowlerら<sup>8)</sup>は、下肢の皮膚を用いて、山と谷とがそれぞれ照射間隔10時間前後、20時間前後に現われると報告している。彼らは本実験で用いたと同様に、急性皮膚反応の程度に点数をつけ、照射開始後30日までの平均値をもって、その動物の反応値としている。このように、効果の評価法



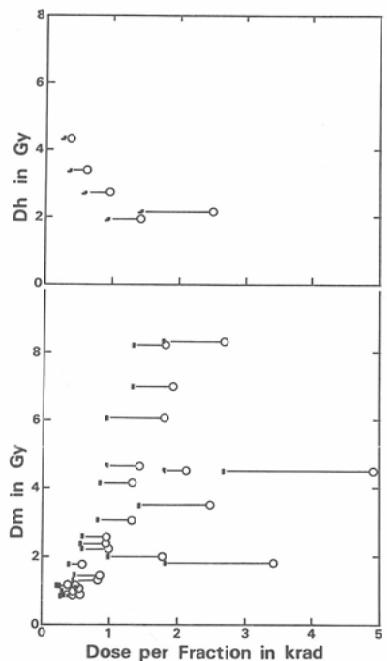


Fig. 8 Dm and Dh values for the reconstructed single-dose-response curve for target cells in early skin reactions were calculated from data obtained from multifractionated exposures and are plotted as a function of dose range (marks ■, □, ○ correspond to the smaller and larger of each pair of dose-per-fraction used to calculate Dm and Dh). Dh values were calculated for isoeffect doses for early skin reaction 1.5, (see text).

であるとして0.5日間隔32分割照射での等効果線量からさし引いた。

線量域が大きくなるにつれてDm値は次第に大きくなり、Dh値は逆に小さくなつた。さらに線量域が大きくなるにつれて、Dm値は小さくなり、Dh値はデータは示されてはいないが大きくなる傾向にあった。これは1,500rad前後までは線量効果関係は次第に曲がり、上に凸であること、2,000rad前後をこえると傾斜はゆるやかになり、下に凸になることを示唆している。

いろいろな分割回数での等効果線量に、Fowlerの提案する方法<sup>12)</sup>を適用させると、反応を定量化出来にくい生体内の細胞の線量効果関係をも求めることが出来る。しかし、こうして得られる線量効果関係の縦軸は、相対的な値であり生存率その

ものではない。とはいへ、何らかの方法で、ある限られた線量範囲でも線量効果関係の傾斜が与えられれば、縦軸を相対的な効果から生存率に変換できる。

皮膚の幹細胞の線量効果関係の傾斜に関する、得られる数少ない資料によると、1,400~2,500radの範囲について検討されており、この範囲でDo(38%線量)は150radである<sup>13)</sup>、ここでは線量効果関係が2,000rad前後をこえると傾斜がゆるやかになることが示唆されたが、計算の都合上ここでも同範囲での線量効果関係は直線であり、傾斜は150radであると仮定した。任意に急性皮膚反応2.0を選び、Dm, Dhの算定に用いた多分割照射時における等効果線量を用いて、線量効果関係を求めた(Fig. 9)。同様の計算を、急性皮膚反応1.5, 2.5および3をきたすのに必要な等効果線量を用いておこない、線量効果関係をえ、同一グラフ上にあらわした。

生存率 $10^{-2}$ 及び $10^{-5}$ の時の線量は、それぞれ1,300, 2,300radと読みとれた。これらの値は、計

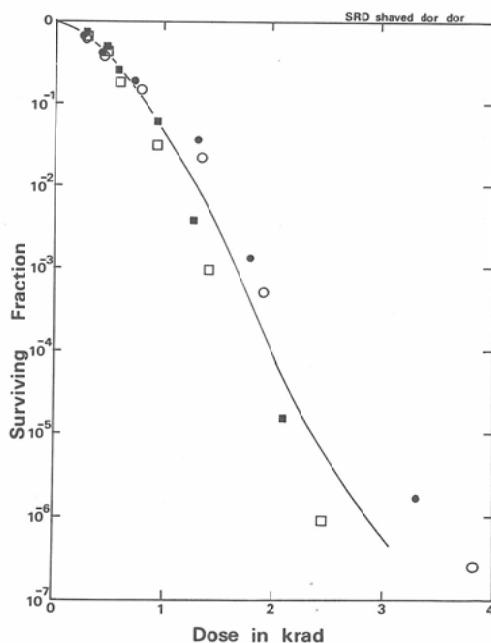


Fig. 9 A single-dose-response curve for the target cells in early skin reaction of mice. This curve was reconstructed using data of early skin reaction, 3.0 (○), 2.5 (●), 2.0 (□) and 1.5 (■).

算の過程で多くの仮定をふくむにもかかわらず、皮膚短縮<sup>14)</sup>や急性皮膚反応<sup>12)15)</sup>を指標として得られた他の線量効果関係での値とよく一致した。

### 3. 再増殖率

前述の如く、この実験結果からは、標的細胞が増殖し始める時期を正確に求めることはできない。しかし、2等分割照射の場合は照射間隔4日以上、4等分割照射の場合は照射間隔2日以上のときは、照射による亜致死的障害からの回復は完了し、照射間隔の延長に伴なう等効果線量の増加は、主として標的細胞の増加を反映しているとすれば、分割照射実験から標的細胞の増殖を算定できる(Table 3)。

2等分割照射した時の等効果線量の単位時間当たりの増加は、算定に用いた反応の強さ、換言すれば、用いた線量が大きくなるにつれて大きくなつた。4等分割照射においても同様の傾向であった。しかし、これは必ずしも用いた線量が大きくなるにつれて細胞の増殖率が大きくなることを意味するものではない。先にも述べた如く、用いた線量範囲によっては、線量効果関係は逆S字型を呈し、線量効果関係の傾斜は線量と共に変化すると考えられる。そこで、必ずしも再増殖した細胞数が多くならなくても、多分割照射において等効果をきたすのに必要な線量は、一回線量の大きさが大きくなるにつれて大きくなりうるからである。

4等分割照射の場合は、一度に用いた線量範囲は、1,000~3,000radであるが、一日当りの等効果線量の増加は、170~330radで、一回線量の大きさが大きくなるに従って、大きくなつた。この線量範囲では、線量効果関係は片対数グラフ上ほぼ直線であると推定される(Fig. 9)ので、この一回線

量の増加に伴う等効果線量の増加は、再増殖する標的細胞数が多くなることを意味している。

一回線量の大きさと一日当りの等効果線量の増加との関係をみると(Table 3, Fig. 10), 照射開始後6~15日間での増加の方が15~30日での増加よりも大きく、細胞の再増殖率は6~15日よりも15~30日の方が低下することを示唆している。

この傾向は、皮膚短縮を指標とした時の実験結

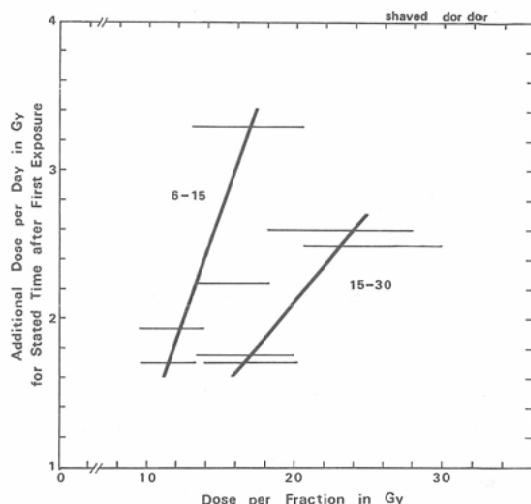


Fig. 10 Relationship between the size of dose per fraction and average repopulation rate per day for time period between 6 to 15 days and between 15 and 30 days after the first exposure. The repopulation rate is shown in terms of the additional dose required to produce an isoeffect of early skin reaction. This calculation was performed using data from four fraction with 2-, 5- and 10-day fractionation intervals (see text). Horizontal lines represent range of the size of dose per fraction to give Early Skin Reaction 1.5, 2.0, 2.5 and 3.0

Table 3 Additional radiation doses to produce a stated level of early skin reaction

Number of fraction	Period	Additional dose per day required for stated level of skin reaction (rad)				
		1.5	2.0	2.5	3.0	3.5
2	days 4~15	144	202	355	375	no data available
4	6~15	171	194	224	331	no data available
	15~30	176	171	263	249	no data available
8	7~14	176	213	127	71	10
16	15~30	227	235	272	279	259

果<sup>16)</sup>によく一致している。一回線量の大きさ当たりの等効果線量の増加は、急性皮膚反応を指標としたときの方が、皮膚短縮を指標にした実験結果での値よりも大きくみえるが、はっきりとした結論は出せない。あらかじめ何らの刺激を加えなかつた下肢の腹側の皮膚で観察される一日当たりの等効果線量の増加率<sup>17)</sup>に比較すると、著しく大きく、再増殖する標的細胞数が多いことを示唆している。

#### 4. 時間一線量関係

等効果線量は、分割回数や総治療日数の関数であるので、その関係式を明らかにすることは、異なる治療方法での治療成績の比較検討などにおいて非常に重要な問題となる。これに関して現在までに提案されている式には、Ellis の式<sup>4)</sup>と Moulder<sup>17)</sup>の式とがある。

Ellis の式は、臨床の資料に基づいて提案された式であり、動物実験の結果を適用させることは困難であるといわれている。しかし式そのものの整合性の検討には、動物実験の結果も適用できるとの前提で、ここで得られたマウス皮膚に関する実験結果を適用した。

分割回数 N の累数は、N が 4 から 32 の範囲で、照射日数 T=15 日と T=30 日とで、それぞれ 0.19, 0.18 とほぼ同じであった (Fig. 6)。N=4 の点を除外すると、T=15 日、T=30 日とでそれぞれ 0.27, 0.29 とほぼ同じであった。そこで実験した範囲内では、N の累数は T から独立した定数であると言える。N=4 の点を入れた時に比べて入れない時の累数は著しく大きくなり、N=4 を入れない時に得られた累数を用いると、分割回数を少なくした時、等効果線量を少なく評価する可能性がある。

照射日数と等効果線量との関係を、分割回数毎に両対数グラフ上に表わすと、下に凸の曲線になる傾向にあった。このことは他の報告<sup>17)</sup>とよく一致している。照射日数を 15 日以上にとると、4, 16, 32 分割での T の累数はそれぞれ 0.45, 0.54, 0.57 である。16 と 32 分割での累数はよく一致している。これらのこととは、N が大きい時は、T の累数が N からは独立した定数であるが T の関数であることを示している。これらの累数の値は下肢

の腹側の皮膚を用いた時の傾斜よりも、いずれの分割回数でみても著しく大きかった。

ここで得られた T の累数と N との関係あるいは N の累数と T との関係は、照射後 8 カ月目に観察した皮膚の短縮を指標とした時の実験結果<sup>18)</sup>とは一致しなかつたが、下肢の腹側の皮膚を用いた前回の報告<sup>11)</sup>によく一致している。

等効果線量と照射日数との関係を普通目盛にあらわすと、反応の程度に応じてほぼ平行移動するので、Moulder の式はここでえられた実験結果によく適合するといえる。彼の式は分割照射間隔を一定にした時の等効果線量と照射日数との関係をあらわす式であり、照射間隔が不特定の様々な多分割照射した時の反応を比較するための式としては不十分である。しかしこれは、Ellis の式とちがって、反応の程度のいかんにかかわらず、常に一つの式で等効果線量と照射日数との関係をあらわすことが出来る。照射日数、分割回数と等効果線量とを関係づける式として Moulder の式の利点と Ellis の式の利点とを加味した、新しい式の確立が待ちのぞまれる。

#### 5. 多分割照射における皮膚刺激の意義

分割回数が少ない時は、あらかじめ皮膚刺激をすると、反応がより早くかつ強く現われる。しかし、32 分割一日間隔では、あらかじめ刺激をしておく方が反応が早く現われ始めるが、障害の程度は低い<sup>3)</sup>。ここで得られた実験結果は、その理由の一つとして、標的細胞の再増殖が早く始まり、かつ再増殖率が大きいことを示唆している。照射にあたり正常組織を刺激すると、障害の程度が強くなるので、刺激をするのは避けるべきだと言われている。しかし、前回の報告<sup>3)</sup>とともにここで得られた実験結果は、従来言られてきた定説に再検討を加える必要性のあることを示唆している。

#### まとめ

あらかじめ剃毛されたマウス下肢を用い、多分割照射に対する急性皮膚反応を、剃毛されていない皮膚での反応と比較検討した。あらかじめ剃毛すると剃毛していない皮膚に比較して照射後再増殖が早く始まり、再増殖率も大きいことが示唆された。しかし以下の項目については本質的には差

異は見られなかった。① 実験結果を Ellis の式にあてはめると、T (あるいは N) の累数は N (あるいは T) の大きさから独立していたが、T (あるいは N) の大きさに依存した。② 線量効果関係は片対数グラフ上逆 S 字型である。2,300rad での生存率は  $10^{-5}$  である。③ 2 等分割照射の照射間隔と等効果線量との関係は、照射間隔の延長とともに山と谷があらわれ次いで等効果線量は再度大きくなつたが、線量が大きくなるにつれて次第に山と谷とが遅れてあらわれるべるとすると、これまでの他の報告ともよく一致した。④ 多分割照射中の細胞の再増殖率は、照射開始後 6～15 日の方が 15～30 日での値よりも大きかった。

## 文 献

- 1) 増田康治：分割照射されたマウス皮膚の回復と再増殖。日本医放会誌, 43 : 511-517, 1983
- 2) 増田康治： $\gamma$  線照射されたマウスの急性皮膚反応。2. 照射部位および照射中の体位の影響。日本医放会誌, 39 : 884-889, 1979
- 3) 増田康治： $\gamma$  線照射されたマウスの急性皮膚反応。1. 脚毛の影響。日本医放会誌, 39 : 878-883, 1979
- 4) Ellis, F.: Dose, time and fractionation: A clinical hypothesis. Clin. Radiol., 20 : 1-7, 1969
- 5) 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
- 6) Withers,H.R.: Recovery and repopulation in vivo by mouse skin epithelial cells during fractionated irradiation. Radiat. Res., 32 : 227-239, 1967
- 7) Emery, E.W., Denekamp, J. and Ball, M.M.: Survival of mouse skin epithelial cells following single and divided doses of X-rays. Radiat. Res., 41 : 450-466, 1970
- 8) Fowler,J.F., Kragt, K., Ellis, R.E., Lindop, P.J. and Berry, R.J.: The effect of divided doses of 15 MeV electrons on the skin response of mice. Int. J. Radiat. Biol., 9 : 241-252, 1965
- 9) Denekamp, J., Ball, M.M. and Fowler, J.F.: Recovery and repopulation in mouse skin as a function of time after X-irradiation. Radiat. Res., 37 : 361-370, 1969
- 10) Masuda, K. and Withers,H.R.: Method of constructing a dose-response curve for normal cells in situ. Brit. J. Radiol., 49 : 351-356, 1976
- 11) Potten, C.S.: The cellular and tissue response of skin to single doses of ionizing radiation. (In) Ebert, M., Howard, A. ed.: Current topics in radiation research. vol. 13, pp. 1-59, 1978, North-Holland Publishing Company, Amsterdam
- 12) Fowler, J.F., Denekamp, J., Delapeyre, C., Harris, S.R. and Sheldon, P.W.: Skin reactions in mice after multifraction X-irradiation. Int. J. Radiat. Biol., 25 : 213-223, 1974
- 13) Withers, H.R.: The dose-survival relationship for irradiation of epithelial cells of mouse skin. Brit. J. Radiol., 40 : 187-194, 1967
- 14) Masuda,K., Hunter, N. and Withers,H.R.: Early skin shrinkage in mice after single and multifractionated gamma-ray exposures. J. Radiat. Res., 23 : 313-327, 1982
- 15) Douglas, B.G. and Fowler, J.F.: The effect of multiple small doses of X-rays on skin reactions in mouse and a basic interpretation. Radiat. Res., 66 : 401-426, 1976
- 16) Masuda, K., Hunter, N. and Withers,H.R.: Repair and repopulation in mouse skin during multifractionated irradiation. J. Radiat. Res., 23 : 328-339, 1982
- 17) Moulder, J.E., Fischer, J.J. and Casey, A.: Dose-time relationships for skin reactions and structural damage in rat feet exposed to 250kVp X-rays. Radiol., 115 : 465-470, 1975
- 18) Masuda, K., Hunter, N. and Withers, H.R.: Late effect in mouse skin following single and multifractionated irradiation. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 6 : 1539-1544, 1980