

Title	実験腫瘍の微細血管分布に対する放射線の影響
Author(s)	佐伯, 祐志; 小川, 史顕; 西口, 弘恭 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1975, 35(3), p. 158-167
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/20375
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

実験腫瘍の微細血管分布に対する放射線の影響

京都府立医科大学放射線医学教室

佐伯 祐志 小川 史顕 西口 弘恭

田中 紀元 村上 晃一

京都第一赤十字病院第三内科

松 本 繁 世

放射線医学総合研究所臨床研究部

浦 野 宗 保

(昭和49年9月12日受付)

(昭和49年10月23日最終原稿受付)

The Effect of X-irradiation on the Vascularization of Experimental Animal Tumors

Y. Sacki*, F. Ogawa*, H. Nishiguchi*, N. Tanaka*, K. Murakami*,
S. Matumoto** and M. Urano***

*Department of Radiology, Kyoto Prefectural University of Medicine

**Department of Internal Medicine, Kyoto 1st Red-Cross Hospital

***Division of Clinical Research, National Institute of Radiological Sciences

Research Code No.: 407

Key Words: Revascularization, Reoxygenation, Supervascularization, Mammary carcinoma, Squamous cell carcinoma

The effect of ionizing radiation on the blood vessels in two animal tumor systems was studied together with that on the tumor growth. Experimental animal tumors were third generation isoplants of a mammary and a squamous cell carcinoma which arose spontaneously in a C3H and C3Hf female mouse respectively.

Single cell suspension was prepared and transplanted into mouse flank intracutaneously. Single dose of 2,000 rad irradiation was carried out with 180 kVp X-ray when tumors reached approximately 8 mm in average diameter.

Microangiography was performed at constant pressure and at constant temperature by use of an apparatus especially made for this purpose. Contrast medium containing lead-oxide and gelatin was flushed through the vena cava for 10 minutes at 120 mmHg. Tumor shrinkage was followed by continuous regrowth after an irradiation.

The basic vasculature of the mammary carcinoma was consisted of peripheral vascularization with penetrating vessels. Large blood vessels and fine vessels were abundant and corkscrewed or stretched from periphery into tumor center and made up complex reticular networks.

Characteristic vascular pattern observed at 1 day after 2,000 rad was scattered small avascular area, i.e., so-called "satellite necrosis" which, then, formed a large central necrosis at 3rd post-treatment day. Supervascularization was also observed, indicated that some fractions of hypoxic tumor cells could be reoxygenized. At 5 days after the irradiation, vascularization was very similar to that of non-irradiated tumor.

On the other hand, the vasculature of the squamous cell carcinoma was consisted of peripheral and central vascularizations. There were abundant vascular area and avascular area. Fine vessels were distributed from a thick vessels in the periphery and the tumor center. Extravasation was also seen in the large avascular area.

At 1 and 2 days after irradiation, dilated vessels were seen. At 3 days, peripheral fine vessels were damaged, but the central vasculature was intact. Unlike the mammary carcinoma, the supervascularization was not the typical finding in this tumor. At 5 days, vascularization was also very similar to that of non-irradiated tumor.

緒 言

悪性腫瘍組織内に存在する増殖能を有する細胞には酸素に富んだ、いわゆる aerobic な状態にある細胞と、逆に酸素欠乏状態にある hypoxic な細胞とがあることはよく知られた事実である⁵⁾¹⁵⁾。

とくに後者は前者に比べて、はるかに放射線抵抗性である²⁷⁾ので、悪性腫瘍の放射線治療において 決定的な役割を果たすといわれている。ところが、最近動物腫瘍において放射線照射にひきつづき reoxygenation と呼ばれる現象が知られてきた⁷⁾⁹⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁹⁾²¹⁾²⁵⁾²⁸⁾。すなわち、放射線が腫瘍細胞の一部に致死障害を与えると、これにひきつづいてそれまで hypoxic な状態にあつた細胞が再度 aerobic な状態となる現象である。

われわれは、放射線治療において重要な役割を演ずると考えられる酸素効果²⁸⁾に深い関係を有する腫瘍への酸素の供給がとりもなおさず腫瘍内の血管系にささえられていることに着眼し、放射線が腫瘍内血管に与える影響を知ることが、放射線治療成績改善のために非常に重要であると考へ、それにつき形態学的に検討を加えた。その目的のためにわれわれは microangiography の方法を確立し²⁰⁾²¹⁾²²⁾、これを用いて血管系に対する放射線の影響につき検討し、いくつかの知見を得ることができたのでここに報告する。

実験材料および実験方法

(a) 実験動物—腫瘍系：実験に用いた腫瘍はマウス自然発生腫瘍である乳癌と扁平上皮癌の2種類で、前者は C3H/He 雌マウスに発生したもので、その被移植マウスとしては船橋農場より購入した同系マウスの雌雄同数30匹を用いた。また後者は C3Hf/He 雌マウスに自然発生したもので、これには放医研にて自家生産された同系マウスの雌雄を同数30匹使用した。いずれのマウスも生後8～12週令にて用い、これら実験動物は当教室の恒温小動物飼育室でプラスチック製マウスケージに、5～8匹ずつ入れ塩素含有水と市販の固型飼料とを自由に与え飼育した。

またいずれの腫瘍もそれぞれの第3世代を用いた³⁰⁾。すなわち、自然発生した乳癌及び扁平上皮癌と、それらの第1世代とを液体窒素冷蔵庫に貯蔵し、実験の必要に応じ第1世代の癌を同系マウスの側腹部皮下に移植、増殖せしめ(すなわち、第2世代)、これより単細胞浮遊液を作り、移植に供した。

(b) 単細胞浮遊液の作成と移植法²⁹⁾：第2世代の癌を摘出後、クーバーにて細かくミンスし、これを5%仔牛血清を含むハンクス氏液で約4倍量に稀釈後、試験管中に約20分間静置した。その上澄みを取り、これを Swinny filter で濾過したのち、1,600rpm で遠沈し、その沈渣を約倍量のハンクス氏液にて稀釈したものを単細胞浮遊液

とした。これより Trypan-blue 染色法にて生きた細胞数を血球計算盤上にて計数したのち、一定細胞数 1.5×10^5 viable cells/ $5 \mu\text{l}$ をマウス右側腹壁皮内に移植した。この時移植液の漏出を防ぐため、移植針を一度皮下に刺入したのち、皮内移植を行なった。

なお移植後、乱数表を用い乳癌、扁平上皮癌とも非照射群、照射後1日、2日、3日、5日群の合計10群にマウスを6匹ずつ任意に区分した。

(c) X線照射法：X線発生装置には東芝製 KXC-18型の深部治療装置を用い、以下の条件で照射した。すなわち、管電圧 180kVp、管電流 25mA で、2.0mmAl の濾過板を用いた。半価層は 5 mmAl、焦点—腫瘍上部皮膚間距離 20.5cm、照射野 $2.5 \times 3.5\text{cm}$ で、線量率は 5mm深部で 660 rad/min であった。線量測定には Victoreen R-meter (Chamber No. 154) を用い、R値に 0.93 をかけて rad 値とした。腫瘍に対する X線照射は、正常組織には極力障害を与えないためと、腫瘍中の放射線感受性の高い aerobic な細胞と放射線抵抗性の hypoxic な細胞を、できるだけ同一条件におく意味で、hypoxic な状態で行なった。このため金属製締金のある特製の照射装置を考案使用した。この装置を使用し腫瘍が平均 8 mm 直径に増殖した時、マウスをネンビュータル (60 mg/kg) で麻酔し、腫瘍を照射野中央に引きだし、金属製締金にて血流を2分間遮断し、腫瘍全体を hypoxic な条件として照射した。

(d) 腫瘍体積の計測：照射による腫瘍体積の変化を知るために照射後毎日全腫瘍の体積を計測した。すなわち、腫瘍の長径・短径および厚さをノギスにて計測し、楕円体として次の公式によりその体積 (V) を算出した。すなわち、

$$V = \pi/6 \cdot a \cdot b \cdot c$$

で a,b,c は各直径である。

(e) マイクロアンギオグラフィ：生理的な血管構築像を得ると同時に、再現性のあることが重要なため、一定条件下ですべての操作が行なえるように当教室の島崎が考案した装置を用いて

行なった²⁰⁾²¹⁾²²⁾。その方法は次の通りである。

まずマウスをネンビュータル麻酔後開腹し、下大静脈にテフロン針を挿入し、腹部大動脈を切断して冴血しながらヘパリン添加生理食塩水で、マウス全血液を灌流 (約10分間) した。なおこの時、食塩水の注入は 150mmH₂O の一定圧で行なった。その後、上記装置を用いて酸化鉛 300g、ゼラチン 30g、生理食塩水 500ml の組成をもつ造影剤を温度 40°C、圧力 120mmHg で下大静脈に挿入されたテフロン針を通じて10分間注入した。その後冷凍室で造影剤の凝固を待ち、まずマウス全体のレ線像を Softex を用いて撮影し、腫瘍への造影剤の入り方及び比較的大きな血管についての観察を行なったのちマイクロアンギオグラム作成のため腫瘍部位を剔出固定した。固定は 10% 中性ホルマリンで約 5 日間行ない、freezing microtom を用いて腫瘍中心部から厚さ 500 μ の組織切片を作製した。これを Kodak 649-F stenoscopic 1×3 inch glass plate 上に静置し、Softex CSM

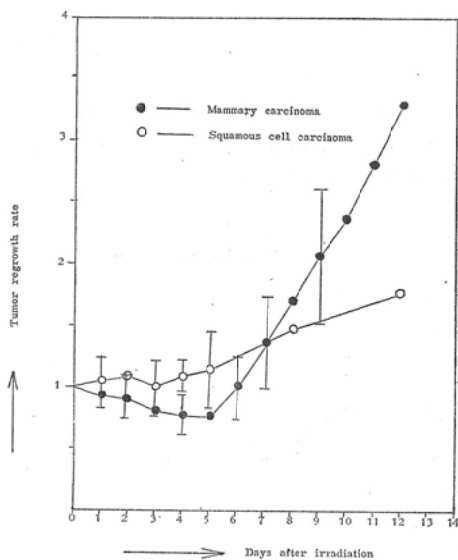


Figure 1 Regrowth curves of a C3H mouse mammary carcinoma and of a C3Hf mouse squamous cell carcinoma after a single dose irradiation of 2,000 rad. Solid and open circles indicate mammary carcinoma and squamous cell carcinoma respectively. Standard deviation were shown by vertical bars.

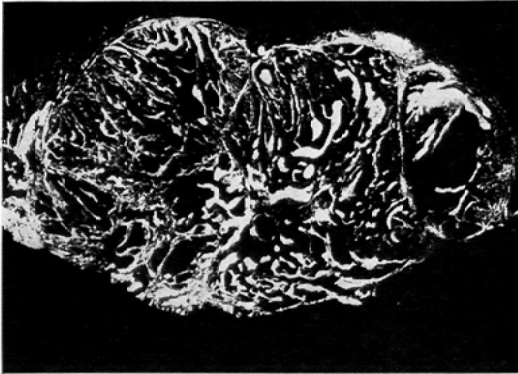


Figure 2 (A)

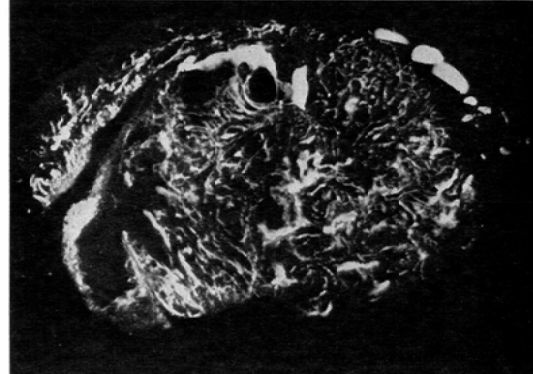


Figure 2 (B)

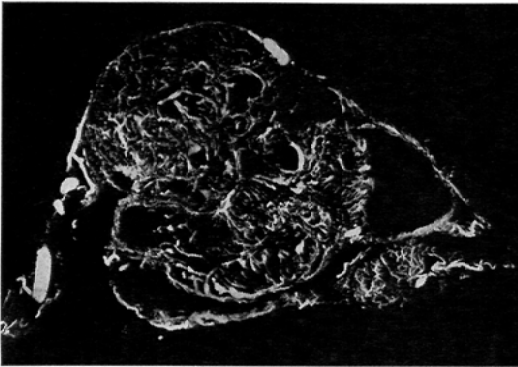


Figure 2 (C)

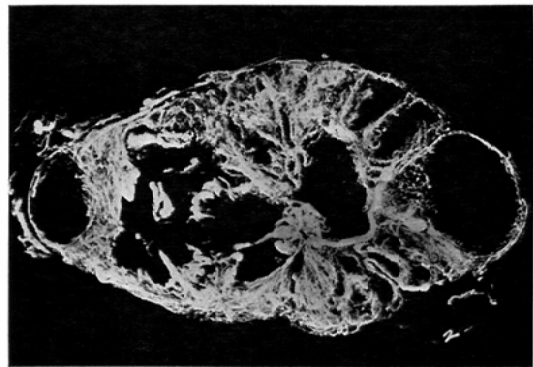


Figure 2 (D)



Figure 2 (E)

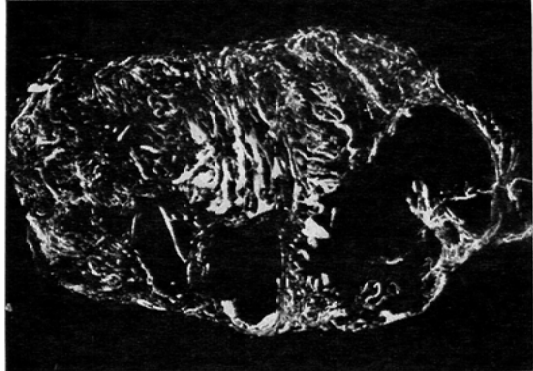


Figure 2 (F)

Figure 2: Microangiograms of C3H/He mouse mammary carcinoma. A and B demonstrate vascularization of non-irradiated tumors. Abundant fine vessels which corkscrewed or stretched into the tumor center from the periphery, sinusoidal lakes and extravasation were observed. (A: 470mm³, B: 400mm³)

C, D, E and F showed vascularization of tumors after a radiation dose of 2,000 rad. Typical findings were as follows.

C: At 1 day after irradiation, scattered small necroses, i.e., so-called "satellite necroses" were clearly demonstrated. (390mm³)

D: At 2 days, "satellite necroses" gathered together and supervascularization was also observed. (300mm³)

E: At 3 days, a central necrosis was formed. (250mm³)

F: At 5 days after irradiation, revascularization stretched into central necrosis area from the periphery. (220mm³)

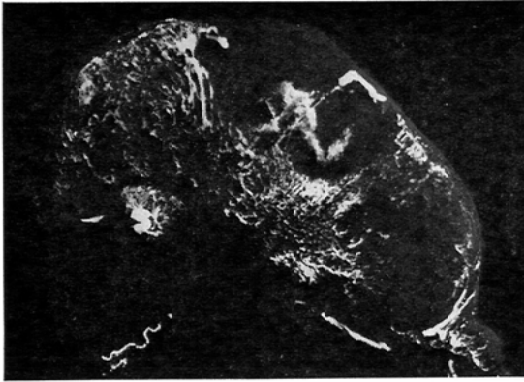


Figure 3 (A)

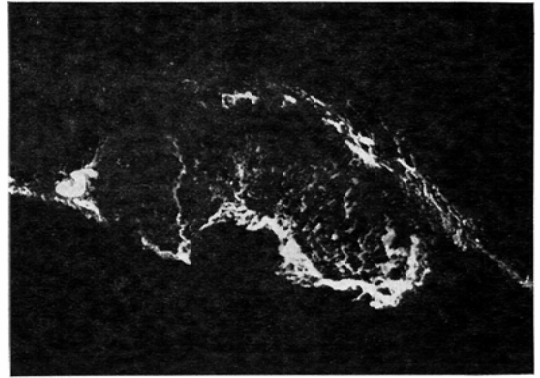


Figure 3 (B)

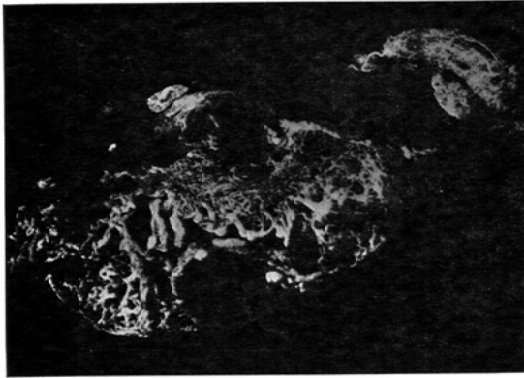


Figure 3 (C)

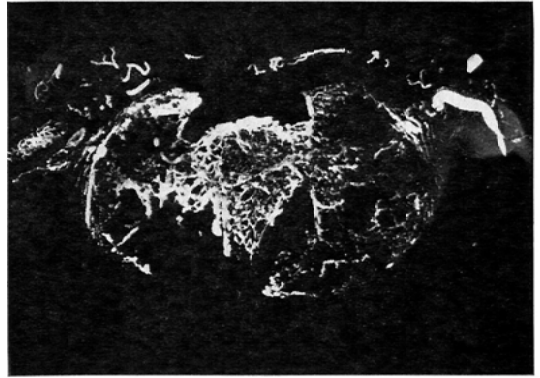


Figure 3 (D)

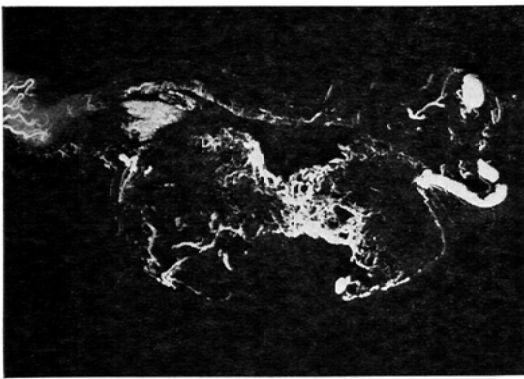


Figure 3 (E)

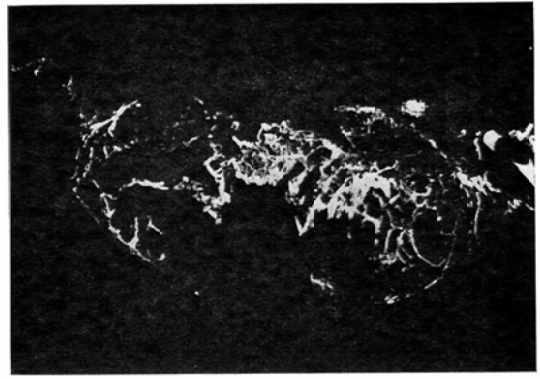


Figure 3 (F)

Figure 3: Microangiograms of C3Hf/He squamous cell carcinoma. A and B demonstrate vascularization of non-irradiated tumors. Abundant vascular area and avascular area were observed. The former was formed from fine vessels which were distributed from thick vessels in the periphery and partially from those in the tumor center. Extravasation was seen in the large avascular area. (A: 400mm³, B: 210 mm³)

C, D, E and F showed vascularization of tumors after a radiation dose of 2,000 rad.

C and D: At 1 day and 2 days after irradiation, dilated vessels were observed (C: 250mm³, D: 260mm³)

E: At 3 days, peripheral fine vessels were damaged, but central vessels were intact. (260mm³)

F: At 5 days, peripheral fine vessels were similar to those of control tumors. (300mm³)

型にて撮影した。撮影条件は管電圧35kVp, 管電流3mA, 距離20cmで、曝射時間は3分間である。現像液にはD-19 Kodak developer を定着にはKodak acid fixative を用いた。

実験結果

(a) 腫瘍体積について：C3H/Heマウス30匹, C3Hf/He マウス30匹, 合計60匹のマウスに腫瘍を移植後、経時的に腫瘍体積を測定し、腫瘍が直径8mmすなわち約250mm³に達した時、X線2,000rad照射した。照射後の腫瘍体積変化は図1の通りである。乳癌は照射翌日より体積減少があり、5日目まで減少を続けるが、6日目以降は明瞭な再増殖を認める。扁平上皮癌では、照射後2日目まで増殖が続き、3日目で僅かに体積減少を起こすことを平均値で示しているが、4日目以降は再度増殖を続ける。

(b) マイクロアンギオグラフィーについて：乳癌の非照射腫瘍血管構築は図2(A), (B)に示す通り、腫瘍全体にほぼ均一に網目状に、太い血管と細い血管が不規則に入り混じり、部分的には粗密の差をもっている。血管構築はいわゆるperipheral vascularization with penetrating vesselsの像を示し、腫瘍周辺部に延びた大血管から腫瘍中心部に向つて入り込んでいるようである。血管の蛇行も著しく、いわゆるlakeもみられ、また部分的に小さなavascular regionも見られ、壊死巣の存在を思わせ、悪性腫瘍の特徴をよくあらわしている。

2,000rad照射後のこの腫瘍血管の経時的变化を図2(C)～(F)に示す。ここに見られる主要な変化は次の2つである。すなわち、avascular regionの出現→融合→拡大と、多数の微細血管像の出現とである。図2(C)は照射24時間後のマイクロアンギオグラフィーで、小さなavascular regionが腫瘍全域にわたり認められ(これをわれわれはsatellite necrosesと呼んでいる)、同時に微細血管像が腫瘍周辺部のみでなく、腫瘍全域に豊富に認められた。これが照射後2日目になると図2(D)に見るようにavascular regionが増大し、satellite necrosisの融合拡大を思わせ

る。また微細血管像は血管分布の見られる全域に認められる他、怒張した血管がavascular region周辺にみられ、これがvascularized areaとの境界を形成している。照射後3日目になると、satellite necrosesと呼ぶよりはcentral necrosisを思わせる大きなavascular regionの出現を認め(図2(E))また2日目までに認められた豊富な微細血管像が減少し、vascular areaの血管像は非照射腫瘍のそれ(図2(A), (B))に類似してくる。図2(F)に照射後5日目の血管像を示すが、ここでは大きなavascular regionが認められる以外は不規則な血管分布、微細血管や拡張した血管の存在など、非照射腫瘍の血管像とほとんど同一であるが、非照射腫瘍に比べ、微細血管の存在がやや豊富であるように思われる。

一方扁平上皮癌の非照射腫瘍の血管構築像は乳癌とかなり異なつた分布を示している(図3(A), (B))。すなわち血管構築はperipheral and central vascularizationというべきで、比較的太い血管が周辺部に分布し、これらから非常に微細な血管が周辺部から中心部へ伸びるほか、一部中心部にも太い血管が存在し、これより周辺部へと微細血管の伸展がみられる。粗密の差がはげしく、大きなavascular areaの中に溢血の存在が認められ、すなわちnecrosisを思わせる部位が早くから存在していることを示している。この腫瘍に2,000rad照射した後の血管像の変化は、怒張した血管が出現する点では乳癌と類似するが、微細血管の消長は著しく異なつている。すなわち、照射1～2日後では微細血管に対する影響はほとんど出現していないが、怒張した血管が非照射腫瘍に比してやや多くなつたと思われる。supervascularizationはほとんど認められない(図3(C), (D))。しかし照射後3日目(図3(E))では、中心部に変化はないが、周辺部の微細血管のかなりの消失が認められる。ところが5日後(図3(F))の像では、周辺部に再び微細血管網が張りめぐらされてきて、次第に非照射腫瘍の血管分布に近づいている。

討 論

C3H/He および C3H₁/He 系マウスに夫々自然発生した乳癌と扁平上皮癌とのX線照射による血管系の変化をマイクロアンギオグラフィーによって追求した。その血管構築を非照射腫瘍についてみると、両腫瘍ともその組織型が異なるにもかかわらず、正常組織と明らかに異なり、共通して悪性腫瘍特有の多くの所見を呈した。すなわち多数の微細血管と共に、拡張・怒張した血管が腫瘍中心部のみならず、周辺部にも存在し、よどみない血流の存在する部分もあるが、そのウツ滞・静止を思わせる像を示している。またその走行は微細血管をも含め全く不規則である。更に血管に富んだ部分と全く粗な部分とが混在する他、avascular area も散在し、小壊死巣の存在を示している。

一方、血管分布の型は両腫瘍では異なっており、乳癌では腫瘍周辺部より中心部に向つて不規則に入り込む型を示し、これに対し扁平上皮癌では周辺部から中心部に向う血管と、太い大きな血管が中心部に入り込み、そこから周辺部に向つて伸展している像がみられる。これらどちらからも血管分布をうけない部分もあり、この部分はおそらく大きな壊死巣であると考えられる。Rubin and Casaret¹⁸⁾ は腫瘍内血管分布の形態を

a) peripheral vascularization with penetrating vessels

b) peripheral vascularization without penetrating vessels

c) central vascularization

の3つに分類しているが、われわれの用いた乳癌はその(a)の型に属し、扁平上皮癌は(b)と(c)の合併したPeripheral and central vascularization とでもいうべきであろう。

さて照射による腫瘍血管系の変化で、もつとも興味あることは reoxygenation との関係である。この reoxygenation 発生の原因としては、いくつかの可能性が指摘されている。第1は照射により血管周辺の酸素に富んだ腫瘍細胞が致死しないしは致死下障害を受け、細胞活性が低下し、酸素の消費量が減少し、このため酸素の毛細管からの浸透距離が長くなり、hypoxic であつた細胞が aerobic

となるという考えである⁴⁾。第2は照射により致死障害を受けて死亡した細胞がすみやかに吸収され、hypoxic な細胞がそれだけ血管壁に近ずき aerobic となるという可能性である。第3の考えとしては、腫瘍細胞の増殖に伴つて、腫瘍内血管の血流が停止又は減少していたのが照射により死亡した腫瘍細胞が吸収されることにより、再び血流量が増大するというものである¹⁰⁾²⁸⁾。

われわれの用いたC3Hマウス乳癌では速かに supervascularization が認められる。C3Hマウス乳癌に関して Howes⁷⁾ は hypoxic の状態で1回照射を行なつた後の TCD₅₀ の経時的变化より、腫瘍細胞中の hypoxic な cell の割合が照射直後から急速に減少することを認めており、これとわれわれの実験結果とを併せ考えると、supervascularization も、reoxygenation も共に照射後速かに起つており、両者の間には密接な関係があると推定される。すなわち、照射により致死障害を受けた腫瘍細胞がおそらく intermitotic death の形をとるために、その変性について吸収が比較的すみやかに行なわれ、腫瘍増殖のため一時的にその機能を失つていた血管が、空間的に腫瘍細胞による圧迫から解放され、その本来の機能を回復してきたものと考えられる。このような機転で起こつた supervascularization がとりもなおさず、われわれの用いたC3Hマウス乳癌で Howes⁷⁾ が認めている照射直後より速やかに起こる reoxygenation の原因と思われる。ただ reoxygenation の起こり方には種々のものがあり、Thomlinson²⁸⁾ がまとめたところによると、組織内酸素分圧の変化を経時的にみると、これが二相性の変化を示す腫瘍も知られている。したがつて全ての腫瘍での reoxygenation の原因を supervascularization のみによつて一原論的には解釈することはできないのは勿論のことである。

一方扁平上皮癌では乳癌のように典型的な supervascularization は認められず、murine epithelioma では reoxygenation をみないという Hewitt and Sakamoto⁶⁾ の結果と一致する所見であるとされる。この扁平上皮癌の特徴は照射後腫

瘍の一時的な増大が認められることで、この点で rat の rhabdomyosarcoma¹³⁾ と類似する。このような腫瘍に認められる reoxygenation は C3H マウス乳癌の場合のような腫瘍細胞の速かな死滅に基づく hypervascularization に帰することはできず、前述第1の原因、すなわち細胞活性の低下のため、毛細血管からの酸素の浸透距離が延長することも原因と考えられる。そして腫瘍が縮小しはじめて後に認められる reoxygenation の原因には C3H マウス乳癌と同様のものも加わっていると考えられる。

照射による腫瘍内血流状態の変化は、多くの研究者により検討されているが¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾²³⁾²⁴⁾²⁶⁾³¹⁾、必ずしも一致した結果は得られていない。その原因としては使用した研究方法のちがいが影響すると考えられるが、放射線に対する反応が腫瘍によつて異なることも大きな因子であると考えられる。たとえば C3H マウスに自然発生した KHT sarcoma を用いた Kallman の実験結果¹⁰⁾は、照射後速かに anoxic cell の割合が減少し、更に12~24時間ですでに照射前の状態にもどるといふ極めて速かな反応を示している。これに対して Wong et. al.³¹⁾ は rat の sarcoma で照射後 vascular volume が減少するという一見相反する結果を得ている。このことは腫瘍による違いか、あるいは vascular volume が血流量を直接示すものとは言えぬことを示すのか明確でないが、ともあれ、reoxygenation に関しては、更に多くの腫瘍でその機序についての、より詳細な研究が今後の課題であろう。そしてこのことが腫瘍治療を最も効果的に行なうための分割照射間隔の選定に極めて重要であるといえよう。

結 語

C3H および C3Hf 雌マウスに自然発生した乳癌および扁平上皮癌の第3世代を用い、その腫瘍内血管分布とそれに及ぼす放射線の影響をマイクロアンギオグラフィーによつて検討した。

非照射 C3H マウス乳癌の血管分布は悪性腫瘍特有の不規則さを示し、分布の型はいわゆる peripheral vascularization with penetrating vessels

の型である。これに X線 2,000rad 1回照射をすると、腫瘍体積は一時的に縮小するが6日目には再増殖し、血管分布は照射後1~2日目には、いわゆる supervascularization と呼ばれる現象が認められ、顕著な reoxygenation の可能性を示したが、照射5日後では腫瘍細胞の再増殖のために非照射腫瘍の血管分布と同様に復することが認められた。

一方扁平上皮癌の血管分布も乳癌同様悪性腫瘍特有のものだが、その型は peripheral and central vascularization というべき型で、場所によつてはどちらからも血管分布のない avascular area がみられる。この腫瘍に2,000rad 照射すると、腫瘍体積は照射後もゆるやかな増大を続け、3日目に一時的に減少を示すがそれ以後、再増殖を続けた。この血管構築の変化は照射後1~2日目まで主として怒張した血管の増加と、3日目に周辺部の微細血管の一時的消失を認めるが、残存する中心部の微細血管は、ほとんど非照射腫瘍のそれと変わらず、乳癌の如き典型的な supervascularization を認めない。そして5日目では非照射腫瘍と全く変らない像を示した。このことは腫瘍の照射後再増殖が扁平上皮癌では乳癌に比し、速やかに起こるということと対応する所見と考えられ興味深い。

以上の結果より照射後の血管分布の変化は、その腫瘍の種類により異なる起こり方をすることが判明し、これが従来報告されている照射後の腫瘍内酸素分圧の変化で、速やかに reoxygenation が起こるものと、照射直後に reoxygenation がみられないものがあるという事実の一つの原因であると考えられる。

本論文の要旨は第33回日本癌学会総会および第153回日本医学放射線学会関西地方会において発表した。

文 献

- 1) Barendsen, G.W., and Broerse, J.J.: Experimental radiotherapy of a rat rhabdomyosarcoma with 15 MeV neutrons and 300 kV X-rays. I. Effects of single exposures. *Europ. J. Cancer*, 5 (1969), 373—391.
- 2) Churchill-Davidson, I., Sanger, C., and Thomlinson, R.H.: Oxygenation in radio-

- therapy. II. Clinical application. *Brit. J. Radiol.* 30 (1957), 406—422.
- 3) Curtis, S.B., Barendsen, G.W., and Hermens, A.F.: Cell kinetic model of tumour growth and regression for a rhabdomyosarcoma in the rat. Undisturbed growth and radiation response to large single doses. *Europ. J. Cancer*, 9 (1973), 81—87.
 - 4) Durand, R.E., and Sutherland, R.M.: Dependence of the radiation response of an in vitro tumor model on cell cycle effects. *Cancer Res.* 33 (1973), 213—219.
 - 5) Hewitt, H.B., and Wilson, C.W.: A survival curve for mammalian leukaemia cells irradiated in vivo (implications for the treatment of mouse leukaemia by whole-body irradiation). *Brit. J. Cancer*, 13 (1959), 69—75.
 - 6) Hewitt, H.B., and Sakamoto, K.: The comparative survival of clonogenic cells of a murine epithelioma after irradiation in mice breathing air, oxygen and carbon dioxide, or hyperbaric oxygen. *Brit. J. Radiol.* 44 (1971), 457—463.
 - 7) Howes, A.E.: An estimation of changes in the proportion and absolute numbers of hypoxic cells after irradiation of transplanted C3H mouse mammary tumours. *Brit. J. Radiol.* 42 (1969), 441—447.
 - 8) Johnson, R.J.R., Wiseman, N., and Lauchlan, S.C.: The effect of hyperbaric oxygen on tumour metastases in mice. *Clin. Radiol.* 22 (1971), 538—540.
 - 9) Kallman, R.F., Jardine, L.J., and Johnson, C.W.: Effects of different schedules of dose fractionation on the oxygenation status of a transplantable mouse sarcoma. *J. Nat. Cancer Inst.* 44 (1970), 369—377.
 - 10) Kallman, R.F., Denardo, G.L., and Stasch, M.J.: Blood flow in irradiated mouse sarcoma as determined by the clearance of xenon-133. *Cancer Res.* 32 (1972), 483—490.
 - 11) Keyeux, A., Dunjic, A., Royer, E., Jovanovic, D., and Van De Merckt, J.: Late functional and circulatory changes in rats after local irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 20 (1971), 7—25.
 - 12) Lagergren, C., Lindbom, A., and Soderberg, G.: Vascularization of fibromatous and fibrosarcomatous tumors. *Acta Radiol.* 53 (1960), 1—16.
 - 13) Margulis, A.R., Carlsson, E., and McAlister, W.H.: Angiography of malignant tumors in mice. *Acta Radiol.* 56 (1961), 179—192.
 - 14) McAlister, W.H., and Margulis, A.R.: Angiography of malignant tumors in mice following irradiation. *Radiology*, 81 (1963), 664—675.
 - 15) Powers, W.E. and Tolmach, L.J.: Demonstration of an anoxic component in a mouse tumor-cell population by in vivo assay of survival following irradiation. *Radiology*, 83 (1964), 328—335.
 - 16) Reinhold, H.S.: The response of tumor blood supply to fractionated irradiation. Conference on time and dose relationships in radiation biology as applied to radiotherapy, held at Carmel, Calif., Sept. 15—18, 1969. Springfield, Va., NBS, U.S. Dept. Commerce, (1970), 210—214.
 - 17) Reinhold, H.S.: Improved microcirculation in irradiated tumours. *Europ. J. Cancer*, 7 (1971), 273—280.
 - 18) Rubin, P., and Casarett, G.: Microcirculation of tumors. Part I: Anatomy, function, and necrosis. *Clin. Radiol.* 17 (1966), 220—229.
 - 19) Rubin, P., and Casarett, G.: Microcirculation of tumors. Part II: The supervascularized state of irradiated regressing tumors. *Clin. Radiol.* 17 (1966), 346—355.
 - 20) Saeki, Y., Shimazaki, S., and Urano, M.: Radiation effect on the vascularization of a C3H mouse mammary carcinoma. Microangiographic studies of the tumor in pre-irradiated tissue and of the recurrent tumor. *Radiology*, 101 (1971), 175—180.
 - 21) 佐伯祐志: 腫瘍血管に対する放射線の影響に関する研究, 京府医大誌, 83 (1974), 423—433.
 - 22) 島崎省三: 腫瘍の微細血管に及ぼす放射線の影響, 京府医大誌, 78 (1969), 746—760.
 - 23) Song, C.W., and Levitt, S.H.: Effect of x-irradiation on vascularity of normal tissues and experimental tumor. *Radiology*, 94 (1970), 445—447.
 - 24) Song, C.W., Payne, J.T., and Levitt, S.H.: Vascularity and blood flow in x-irradiated Walker carcinoma 256 of rats. *Radiology*, 104 (1972), 693—697.
 - 25) Suit, H.D., and Maeda, M.: Hyperbaric oxygen and radiobiology of a C3H mouse mammary carcinoma. *J. Nat. Cancer Inst.* 39 (1967), 639—652.
 - 26) 田中敬正: 局所腫瘍血流状態と放射線感受性, 日医放会誌, 32 (1972), 425—435.
 - 27) 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.
- 28) Thomlinson, R.H.: Reoxygenation as a function of tumor size and histopathological type. Conference on time and dose relationships in radiation biology as applied to radiotherapy, held at Carmel, Calif., Sept. 15—18, 1969. Springfield, Va., NBS, U.S. Dept. Commerce, (1970), 242—247.
- 29) Urano, M., Fukuda, N., and Koike, S.: The effect of bleomycin on survival and tumor growth in a C3H mouse mammary carcinoma. *Cancer Res.* 33 (1973), 2849—2855.
- 30) Urano, M., Tanaka, N., and Hayashi, S.: Sensitizing ability and toxicity of iodoacetamide in radiotherapy of a C3H mouse mammary carcinoma. *Brit. J. Cancer*, 28 (1973), 190—193.
- 31) Wong, H.H., Song, C.W., and Levitt, S.H.: Early changes in the functional vasculature of Walker carcinoma 256 following irradiation. *Radiology*, 108 (1973), 429—434.
-