



Title	速中性子療法の基礎的研究 1) 速中性子とX線の組合せ実験によるRIB5腫瘍中のAnoxic cellsの変化について
Author(s)	渡辺, 哲敏
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1968, 27(12), p. 1601-1606
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/20678">https://hdl.handle.net/11094/20678</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

## 速中性子療法の基礎的研究

### 1) 速中性子とX線の組合せ実験による RIB<sub>5</sub> 腫瘍中の Anoxic cells の変化について

東京大学医学部放射線医学教室（主任：教授宮川正）

渡辺 哲 敏

(昭和42年7月12日受付)

Pre-therapeutic Experiment with the Fast Neutron Beam from the Medical Research Council

#### 1. Combination Study of X-rays and Fast Neutrons on Tumour Regression

By

Noritoshi Watanabe, M.D.\* and Thomlinson, R.H., M.A., M.B., B. Chir.,  
Medical Research Council, Experimental Radiopathology Research Unit, Hammersmith  
Hospital, Ducane Road, London, W. 12

\*Present Address: Department of Radiology, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo.  
(Director: Prof. Tadashi MIYAKAWA, M.D.)

A proportion of anoxic cells in tumour can be altered by changing the interval time between first dose and second dose, (Thomlinson and Craddock, 1967), by the concentration of oxygen respired during x-irradiation using RIB 5 tumour.

This was done to determine the fast neutron R.B.E. value (Thomlinson, 1963; Field, 1966) and to estimate the optimal time interval considering a proportion of anoxic cells in tumour. All the materials and methods used in this experiment have been described previously (Thomlinson, 1960, Watanabe and Thomlinson, 1967, Thomlinson and Craddock, 1967). The tumours were transplanted to form spherical masses beneath the skin of the middle portion of the abdomen, when and between 8 and 10mm. in diameter, they were irradiated with fast neutrons 700 rads at first and then with 250 kv x-rays, just 24 hours time-interval. In these experiment 64 tumours were used. Second irradiation with x-rays was given when the animals were breathing the gases of air, pure oxygen at 3 atms., and when the tumours had been made anoxic by clamping the circulation.

The results of irradiation have been determined from daily measurement of the diameters in each dimension and from the mean time taken by each group of tumours alike to grow to the arbitrarily chosen diameter of 20 mm.

As the result of this investigation, the R.B.E. of tumour RIB 5 was estimated in the order of 2, and the optimal time-interval between fast neutron and x-ray was more than 24 hours.

#### 緒言

i.e.t. の低い放射線は酸素の欠如では酸素が存在する場合にくらべて効果が少い<sup>1,2)</sup>. その時

の dose modifying factor<sup>3)</sup> は 2.5~3.0 とされている。

この線量比を “Oxygen enhancement ratio”

と呼んでいる。今日直径10mm以上の大部分の腫瘍中には、Anoxicな細胞が含まれており、l.e.t.の低いX線、gamma線はその高いo.e.r.のために不利であることは Hewitt, Wilson, 1959<sup>4)</sup> の data から、Gray (1961<sup>5)</sup>) の仕事からよく理解されている。

例えばX線 3,000rads の照射での生存細胞は  $10^{-10}$  (well-oxygenated),  $10^{-5}$  (1% anoxic cell),  $10^{-8}$  (all anoxic cell) であり、腫瘍中に占める anoxicの細胞は約1%と推定されている (Thomlinson<sup>6)</sup>, 1961; 1955<sup>22)</sup>, (Powers and Tolmach<sup>7)</sup> 1963). 従つて anoxicな細胞つまり radioresistantな細胞が low l.e.t. の放射線照射では生き残る可能性が多く、しばしば腫瘍再発の原因となると考えられている。

そこでこの radioresistantな anoxic clonogenicの細胞に関する問題を克服するために今日迄に、

- 1) High pressure oxygen tanks<sup>8)</sup> の利用
- 2) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の arterial infusion<sup>9)</sup>
- 3) 5% CO<sub>2</sub>+95% O<sub>2</sub> 混合ガスの吸入下照射<sup>10)11)12)</sup>
- 4) Anoxic method<sup>13)14)</sup>

等の方法がある。

更に今日研究が進められている方法の1つとして、fast neutronの利用がある。f.n. は anoxicの細胞の損傷を大きくする high l.e.t. で low oxygen enhancement ratioをもつている (Lamertor<sup>15)</sup>, 1963 Barendsen<sup>16)</sup>, 1965). 今正常組織の耐容量を 6,000rads と考えてみると、X線での90% cure chance は、直径 2.5mm径で、f.n. では 2.5cmとなり volume として 1,000倍にもなる。この様な利点をもつ f.n. については既に (1937~1942年)かけて米国において Stone<sup>17)</sup> 等が Berkley の30インチ、60インチの cyclotronを利用して 249人の悪性腫瘍患者を実際に治療している。その仕事は f.n. を人患の治療に最初に利用したという点で歴史的な意義を持つているが、その反面 Stone 等の下した結論より、1) 多くの患者がひどい皮膚の late severe damage に悩んだ、という項が多く人の心に残り、その後全たく f.n. を再び人患の治療に応用しようとする試

みを行う勇気を持たせなかつた。所が 1959年英國の Medical Research Council, Hammersmith Hospital の cyclotron Unit<sup>18)</sup> の連中が M.R.C の45インチ cyclotron を用いて Stone 等の "late skin and cutaneous damage" を理論的に説明し、最近の放射線生物学の知識に基いて解明し、再び放射線治療応用への可能性を探ろうとしている。

まず皮膚の R.B.E. についての仕事を豚の皮膚を用いて実験した結果、照射後30~100日の "average skin erythema reaction" を基準として

1) Single dose のとき	R.B.E. <sup>18)</sup> 2.5±0.3
2) 6分割 (18日間で)	3.3±0.3
3) 9分割	2.7±0.3
15分割	4.1±0.3

即ち、分割の回数をます程、R.B.E. が大きく又、1回宛の線量を減らした時ほど R.B.E. が大きくなることを知つた。

Stone の60インチ (9~18分割/3~9W) での R.B.E. は 3.6で late skin damage に対する R.B.E. は 6以上と考え acute erythemadose のそれの 1.4~1.7倍とした。これは Hammersmith の豚の実験結果とよく似ている。従つて Stone 等の臨床例で見た所の皮膚のひどい傷害は、分割と共に R.B.E. の増加した事を考えるとよく理解出来る。即ち一定量の dose を与えるとき、1回量をへらし、分割回数を増す事は皮膚の障害を大きくする事となる。次いで f.n. の low oxygen enhancement ratio の点の有利をみると (Bewley, Hornsey<sup>19)20)</sup>, 1964) の data によると、M.R.C. の 6 MeV の f.n. での o.e.r. は 1.6~1.8と推定される。又、1963年 Alper の提唱した anoxic gain factor<sup>18)</sup>G は X線と f.n. の o.e.r. の比 G =  $3.1 / 1.7 = 1.8$  で得られる。このことは、8 MeV の X線と 6 MeV の f.n. をくらべると、well-oxygenated cells に両者同一の線量効果を与えるながら、anoxic cells には f.n. の方が 80%の線量増加をみたと同じ結果になる事を示すものである。

次いで問題となるのは、1) 分割方法、2) f.n. 照射後の Recovery の問題である。

今回 M.R.C. の f.n. 照射を行う機会を得たので、この問題につき基礎的実験を行つたので報告

する。

## II 実験方法及び実験材料

(1) 動物: John's strain の Wister 系ラットを使用

(2) 腫瘍: RIB<sub>5</sub> tumour (Thomlinson, 1955) の皮下移植腫瘍を使用、直径 8~10mm で実験開始。

(3) 照射: 1) M.R.C. 6 MeV の f.n. 700 rads 24時間後に 250kVp X-rays での各種条件下の照射。

1) O<sub>2</sub> 3気圧, 2) Air, 3) Anoxia の条件を作り 500, 750, 1,000rads, 1500rads を照射した。

1群 6匹とする。

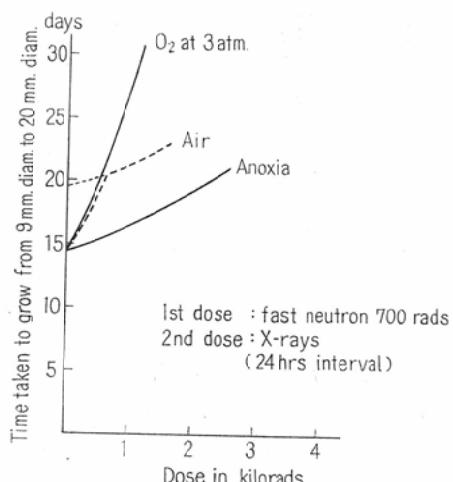
(4) 結果の判定: RIB<sub>5</sub> tumour の 3 方向を毎日計測する。

腫瘍の移植方法、各種条件下の照射方法は既に報告した (R.H. Thomlinson<sup>21)</sup> and Miss E.A. Craddock, 1960, 1967) (Watanabe<sup>12)</sup> and Thomlinson, 1967).

## III 実験結果

第1図は今回の 1st dose: : 700rads (f.n.) 2nd dose X-rays 24hrs interval の air, anoxia, O<sub>2</sub>

Fig. 1 Tumour RIB<sub>5</sub>



3 Atms. の実験結果を表示したもので、縦軸は前報通り照射開始時の tumour 9 mm が 20 mm 直径に至る迄に要した日数で示してある。Fig. 2 は前報<sup>12)</sup>

Fig. 2 Tumour RIB<sub>5</sub>

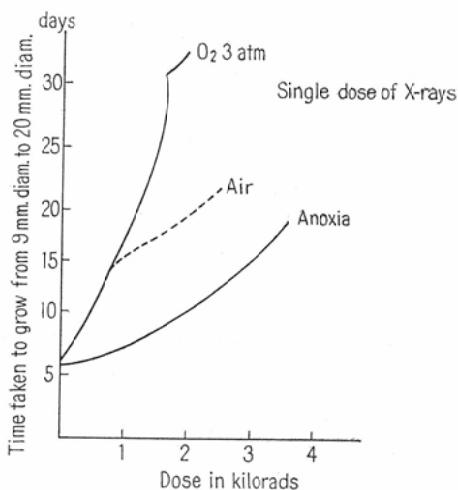
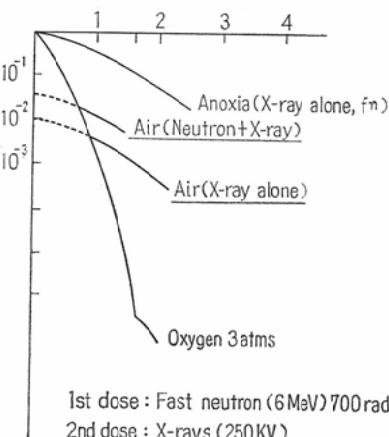


Fig. 3 Dose in Kilorads



の結果を示すもの (X-rays, single exposure) である。Fig. 1 より f.n. の照射時の腫瘍が 9 mm 直径より 20 mm 直径に至る日数は 14.3 日であり、これに対応する X 線空中照射の場合は 1,400 rads である。従つて f.n. の照射 700 rads より f.n. の RIB<sub>5</sub> 腫瘍についての R.B.E. は  $1,400 / 700 = 2.0$  となる。Fig. 3 は Fig. 1, 2 を合成したものである。RIB<sub>5</sub> tumour の (所謂 mixed population として) の中で占める anoxic の細胞は約 1% (Thomlinson<sup>22)</sup> and Gray, 1955) とされており、Fig. 2 は約 1% の anoxic 細胞のレベルを示すものであるが、Fig. 1 の f.n. 700 rads + X-rays 24 hr interval のものの mixed population

中には anoxic の細胞は反つて増加し、約 3~4 %の anoxic な細胞がある事を示唆している。

### Discussion

Fig-5 は RIB<sub>5</sub> 腫瘍の X 線 f.n. 照射の各種条件下での実験結果を示すものである (Thomlinson<sup>18</sup> 1963). この場合照射後10日目の腫瘍の大きさをもつて判定した R.B.E.(air) = 1,800 / 1,100 = 1.7 (25mm 直径) である。本実験での R.B.E. は 2.0 (20mm 直径になる)。いずれの実験においても RIB<sub>5</sub> 腫瘍は 1 群 6 匹と小数であり、又、その判定基準が 25mm, 20mm 直径と異なるが Dr. S. Field<sup>23</sup> らの RIB<sub>5</sub> 腫瘍 (♂) の 25mm 直径になる日数よりの判定では R.B.E. は約 2.0 とされている。Skin の 30 ~ 100 日の reaction よりみた cyclotron group の R.B.E. は、Single exposure では R.B.E.<sup>18</sup>; 2.5 ± 0.3 とされている。いずれにしても腫瘍についての R.B.E. は更に例数を増やし、single fractionation の両面からもつと詳細な実験を行う必要があると考えられる。

Fig. 4 R.H. Thomlinson (1966)

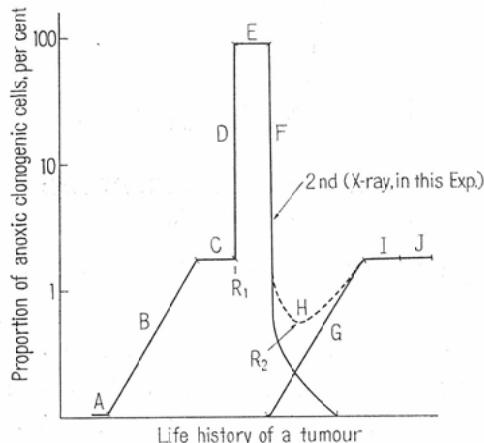


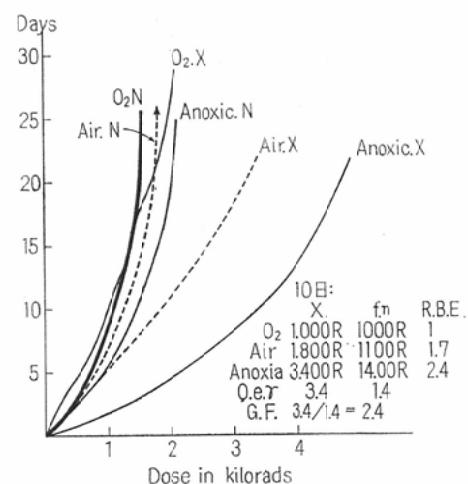
Fig. 4<sup>21</sup> は anoxic cells の推移を図式化したものである。腫瘍が非常に小さい (A) ときは当然 anoxic の割合は少ないが、次第に腫瘍が大きくなるにつれて、anoxic の配分が増加して—B—して来て、RIB<sub>5</sub> 腫瘍の場合約 1% の anoxic な細胞を含む (C) ことになる。今、R<sub>1</sub> で第1回の照射を行えば、腫瘍中の well-oxygenated の細

胞はよく照射に反応して死亡し、腫瘍の中では radioresistant な anoxic な細胞が占める割合が増加し—D—、或る期間 (E) をおいて、再び生き残った細胞が次第に分裂、増殖して来れば、再び腫瘍中で占める anoxic な細胞の % は減少を示し (F) してくる。勿論これは cell-cycle time, numbs of injured cells に関するものである。

(G) → 生き残った細胞の re-growing でこれは照射後の environment 中の cell-cycle time と関係がある。H → は 2nd irradiation の optimal なときである。ついで I になるが、これはその腫瘍の性格によつてほぼ一定していよう。

従つて本実験でまず f.n. を 700 rads 照射して 24 時間おいて X 線を照射した場合、その中の anoxic な細胞の割合が約 4% という推定は 2nd exposure が Fig-4 の経過中にあり、(C) の level より上の、Fig. 4 から考えた所の R<sub>2</sub> (H) の optimal な 2nd irradiation がやられるにはこの本実

Fig. 5 Tumour RIB<sub>5</sub>



験の 24hr はまだ短かすぎる (早く 2nd Exposure) がやられたと解釈する可きであろう。1966 年<sup>22</sup> の Thomlinson の RIB<sub>5</sub> 腫瘍についての 1st-X-rays, 2nd X-rays 24hr interval で anoxic な細胞は非常に減少 (1% 以下) している事を報告しているが、この実験と比らべる事によつて、f.n. 照射後の (Recovery) が X-rays の場合よりもおくれる

事は推定される所である。Neutron 照射後の Recovery は勿論X線の場合のそれもいまだ十分に解明されていないが、最近の Fowler (1966) らの data より見ると Hammersmith の豚の実験でX線の分割法とくらべて、f.n. ( $D_n - D_1$ )/ $n_{-1}$  が  $\frac{1}{2} \sim \frac{2}{3}$  であつたと報告されている。Dn (n 分割で Single Dose  $D_1$  と同様の生物学的効果を生ずる量)。

$$\left\{ \begin{array}{l} D_n - D_1 \text{ (additional dose required due to} \\ \text{recovly or repair processes)} \\ \left. \begin{array}{l} (D_n - D_1)/n_{-1} : \text{The additional dose per} \\ \text{fraction} \end{array} \right\} \end{array} \right.$$

即ち f.n. の方が recovery 又は repair processes でX線よりおそかつたと報告されている。

又、Hornsey, Silini<sup>19)</sup> (1965) は、ascites tumou.-cells の Sublethal injury からの recovery は f.n. も X 線も同じ速度であるとし、又、照射 5 日後の intestinal death より判定した mouse の実験で X 線の  $D_2 - D_1 = 400$  rads, f.n. は 50 rads と報告している。この事から recovery はその実験対象の組織の性質によつて違う事も考えられているので、f.n. の応用に際しては、いろんな組織についてしらべつくす事が必要となつてくる。

### 結 果

1st dose:f.n. 700 rads, 2nd dose X-rays で 500, 750, 1,000, 1,500 rads を腫瘍を air anoxia, O<sub>2</sub> 3 atm の実験条件下で、RIB<sub>5</sub> tumour を使用して実験を行つた。

- 1) RIB<sub>5</sub> tumour の R.B.E は 2.0 であつた。
- 2) 本実験での 24 hr interval は反つて tumour 中の anoxic cells の割合が 1% より増加の時機にあると考えられる。

従つて第 2 回目の照射は 24 時間以上の間隔をおいて照射すべきだと考える。

(謝意)

M.R.C. Cyclotron 使用の機会を与へられた Miss. T. Alper, Prof. Fowler (Royal postgraduate Medical school, London), Cyclotron group Dr. S. Field, Dr. Parnell, Mr. T. Johnes. に感謝すると共に、腫瘍移植の技術的援助を下さつた Miss. E.A. Craddock, Miss Stagg Lesley に感謝いたします。

(本文の要旨は第 188 日回日本医学放射線学会関係東部会において発表した)。

### 文 献

- 1) Mottram, J.C.: On the Alteration in the Sensitivity of Cells Towards Radiation Produced by Cold and Anaerobiosis. Br. J. Radiol., 8, 32. On the Apacing of Radiation According to Variation in Radiosensitivity. Br. J. Radiol., 9, 824. (1953)
- 2) Read, J.: Effect of Ionizing Radiation on the Broad Beam Root. X. Dependence of X-ray Sensitivity on Dissolved Oxygen. Br. J. Radiol., 25, 154. (1952)
- 3) Gray, L.H., Conger, A.D., Ebert, M., Hornsey, Shirley and Scott, O.C.A.: The Concentration of Oxygen Dissolved in Tissues at the Time of Irradiation as a Factor in Radiotherapy. Br. J. Radiol., 26, 638. (1953).
- 4) Hewitt, H.B. and Wilson, C.W.: A Survival Curve for Mammalian Leukemia Cells Irradiated in vivo. Br. J. Cancer, 13, 69, (1959).
- 5) Gray, L.H.: Radiobiological Basis of Oxygen as a Modifying Factor in Radiation Therapy. Am. J. Roentgenol., 85, 803. (1961).
- 6) Thomlinson, R.H.: The Oxygen Effect in Mammals. In Brookhaven Symposium in Biology, No. 14, 204. (1961).
- 7) Powers, W.E. and Tolmach, L.J.: A Multi-component X-ray Survival Curve for Mouse Lymphosarcoma Cells Irradiated in vivo. Nature, London., 197, 1710. (1963).
- 8) Churchill-Davidson, I., Sanger, C. and Thomlinson, R.H.: Oxygen in Raditherapy. Br. J. Radiol., 30, 406. (1957).
- 9) Mallams, J.T.: Trans. Am. Acad. Ophth. Otol., 546. (1963).
- 10) du Sault, L.A.: The Effect of Oxygen on the Response of Spontaneous Tumours in Mice to Radiotherapy. Br. J. Radiol., 36, 749. (1963).
- 11) W.R. Inch, J.A. McCredie and J. Krunv: Effect of Breathing 5% Carbon Dioxide and 95% Oxygen at Atmospheric Pressure on Tumour Radiocurability. Acta. Radiol., 1, 17. (1966).
- 12) Watanabe, N. and Thomlinson, R.H.: Effect of Breathing 5% Carbon Dioxide and 95% Oxygen at Atmospheric Pressure on Tumour R.I.B. 5 Regression. Br. J. Cancer. in press. (1967).
- 13) Lindop, P.J.: Induction and Measurement

- of Hypoxia. Br. J. Radiol., 35, 505. (1962).
- 14) Nunn, J.F.: Induction of Hypoxia in Dog and Man : The Anaesthesia Approach. Br. J. Radiol., 35, 506. (1962).
- 15) Lamerton, L.F.: Radiation Effects in Physics, Chemistry and Biology. Proceedings of the Second International Congress for Radiation Research, Harrogate, Amsterdam, North-Holland. (1963).
- 16) Barendsen, G.W.: Int. J. Radiat. Biol., 8, 453. (1965).
- 17) Stone, R.S.: Am. J. Roentgenol., 59, 771. (1948). and Larkin, J.C. Radiology, 39, 608. (1942). Lawrence, J.H. and Aebersold, P.C. Radiology, 35, 322. (1940).
- 18) Fowler, J.F., Wood, C.A.P.: Pre-therapeutic experiments with the fast neutron beam from the Medical Research Council. Br. J. Radiol., 36, (1963).
1. 77.
  2. Bewley, D.K. 81.
  3. Thomlinson, R.H. 89.
  4. Hornsey, S. and Silini, G., 92.
  5. Alper, T., 97.
  6. Turner, A. and Fowler, J.F., 101.
  7. Bewley, D.K., Fowler, J.F., Morgan,
- R.L., Silvester, J.A. and Turner, B.A. 107.
8. Fowler, J.F. and Morgan, R.R.L., 115.
- 19) Hornsey, Shirley and Bewley, D.K.: In Biological Effects of Neutron and Proton Irradiations, Vol. 11, P. 173: Vienna, I.A.E.A. (1964).
- 20) Berry, R.J., Bewley, D.K. and Parnell, C.J.: Reproductive Capacity of Mammalian Tumour Cells Irradiated in vivo with Fast Neutron. Br. J. Radiol., 38, 613. (1965).
- 21) Thomlinson, R.H. and Craddock, E.A.: The Effect of Oxygen on the Response of Intact Tumours to Single Doses of Irradiation. Br. J. Cancer, in press. (1966).
- 22) Thomlinson, R.H. and Gray, L.H.: The Histological Structure of Some Human Lung Cancers and the Possible Implications for Radiotherapy. Br. J. Cancer, 9, 539. (1955).
- 23) Field, S.: Personal communication. (1966).
- 24) Fowler, J.F.: In Current Topics in Radiation Research, Ed. by A. Howard and M. Ebert. Amsterdam ; North-Holland. (1966).
- 25) Hornsey, S., Vatistas, S., Bewley, D.K. and Parnell, C.J. Br. J. Radiol., 38, 878. (1965).