

NIRS-M-75

放射線医学総合研究所



890000173

放医研シンポジウムシリーズ No.20

がん治療における放射線生物学

——新しい放射線治療法への展開——

恒 元 博 編
大 原 弘

放射線医学総合研究所

放医研シンポジウムシリーズ No.20

がん治療における放射線生物学
—新しい放射線治療法への展開—

恒 元 博 編
大 原 弘

Radiobiological Scope of Cancer Therapy
—Approach to New Radiation Modalities—

Proceedings of the 20th NIRS Symposium
held at Chiba, December 8-9, 1988

Edited by
HIROSHI TSUNEMOTO
HIROSHI OHARA

November, 1989
National Institute of Radiological Sciences
Chiba, Japan

緒 言

放射線治療は高エネルギーX線, γ 線の利用によって著しい進歩をとげた。しかし、標的容積に照射できる線量は正常組織の耐容線量radiation toleranceによって制約されている事実に大きな変りはない。放射線治療はこれまで標的容積における線量分布を改善する研究に支えられて進歩してきたが、これからも放射線治療に関連する物理工学的研究は治療成績の向上に欠くことができない。

陽子線はBragg peakに象徴される優れた線量分布を有する放射線であり、線量集中と局所治療との関連が陽子線を利用することにより科学的に評価されることになる。

一方、放射線治療成績を評価する場合にも、また放射線治療に関する臨床トライアルを新たに計画する場合においても放射線生物学は重要な役割を果している。速中性子線の医学利用に関する基礎研究は放射線治療にとって大きなインパクトとなり、低酸素細胞をめぐる生物学的研究は高LET放射線治療の評価とともにこれからも討議の対象になろう。その他にも、放射線照射による局所効果を増強する目的で試みられる臨床研究の数も多い。しかし、新しい発想に基づく臨床トライアルであっても放射線損傷を強める結果になっては意味がない。生物学的研究の成果をがん治療に生かす場合においても、線量分布の改善がその基本となる。

第2次世界大戦後間もなく始まった速中性子線治療の評価は最終段階に入っているが、高LET放射線治療の評価は重粒子線を利用する研究の成果に待たねばならない。

重粒子線はBragg peakを有する高LET放射線であり、ヘリウム(^4He)からアルゴン(^{40}Ar)に至る粒子が賦与するエネルギーも多様である。したがって、がんの放射線感受性を早期に予測する生物学研究は、放射線治療を向上させるために欠くことができない。

「がん治療における放射線生物学」は第20回放医研シンポジウムとして昭和63年12月8日、9日の両日放医研の講堂において開催された。このシンポジウムには、梅垣洋一郎氏(特別研究員)、L. Milas氏(M.D. Anderson病院)、A. Wambersie氏(Louvain大学)が招かれ、放射線生物学の現状と将来への展望が詳しく討議された。

シンポジウムに参加された研究者、大会の運営に努力を傾けられた諸氏に感謝の詞を捧げる。

第20回放医研シンポジウム

実行委員長	恒 元 博
実行副委員長	大 原 弘

目 次

緒 言	恒元 博／大原 弘	iii
-----------	-----------	-----

特別講演

1 放射線治療の歴史を振り返る	梅垣洋一郎	3
2 Impact of Radiobiology on Radiotherapy	Luka Milas	10
3 What Can We Expect for Cancer Therapy with Heavy Particles	André Wambersie	23

I 細胞における放射線損傷

1 細胞に対する放射線の作用	坪井 篤	45
2 細胞の形質転換及び突然変異	渡辺 正己／鈴木 啓司	54
3 細胞の傷害修復(潜在的致死損傷)	内海 博司	61

II 正常組織の放射線障害

1 正常組織障害把握の細胞動態論	坪内 進／大原 弘	73
2 胸部照射による肺組織の障害	佐藤 文昭／遠藤 大二	82

III 放射線障害の修飾及び併用効果

1 オージェ効果の細胞障害とヨードデオキシウリジンの増感作用	篠原 邦男	93
2 低酸素増感剤の作用	母里 知之	102
3 化学療法剤と放射線による併用効果と正常組織障害	田辺 政裕／高橋 英世	109

IV 重粒子線治療の基礎

1 重粒子線治療の物理学的基礎	金井 達明	121
2 重粒子線の生物物理作用	松本 信二	131
3 重粒子線の生物効果	大原 弘	143

V 治療効果早期判定への試み

1 治療効果の早期判定法ーポジトロンCTによる治療効果の判定	福田 寛／松澤 大樹	153
---	------------	-----

2	Micronucleus Testによる腫瘍の放射線感受性の推定	小野 公二	164
VI 放射線による実験腫瘍の治療			
1	線量と腫瘍制御率との関係	佐々木武仁	171
2	放射線抵抗性と低酸素細胞	安藤 興一	180
3	放射線とがん転移	鈴木 紀夫	190
VII 重粒子線研究の期待と展望			
1	中性子線治療から重粒子線治療へ	森田新六／恒元 博／佐藤真一郎／熊谷和正	199
2	陽子線治療と重粒子線治療	辻井 博彦	208
3	重粒子線物理学から	川島 勝弘	214
	座長一覧		vii
	執筆者一覧		ix
	第20回放医研シンポジウム「がん治療における放射線生物学」プログラム		225

座長一覧

(担当セッション順)

- 館野 之男 (放射線医学総合研究所)
特別講演：放射線治療の歴史を振り返る
- 田ノ岡 宏 (国立がんセンター)
特別講演：放射線治療における放射線生物学のインパクト
- 柄川 順 (国立がんセンター)
特別講演：重粒子線によるがん治療に期待できるものは何か
- 中村 典 (放射線影響研究所)
I 細胞における放射線損傷
- 大原 弘 (放射線医学総合研究所)
II 正常組織の放射線障害
- 増田 康治 (九州大学医学部)
III 放射線障害の修飾及び併用効果
- 金子 一郎 (理化学研究所)
IV 重粒子線治療の基礎
- 安藤 興一 (放射線医学総合研究所)
V 治療効果早期判定への試み
- 坂本 澄彦 (東北大学医学部)
VI 放射線による実験腫瘍の治療
- 恒元 博 (放射線医学総合研究所)
VII 重粒子線研究の期待と展望

List of chair-persons

(Sessional Order)

Tateno, Yukio (National Institute of Radiological Sciences)

Special Lecture 1

Tanooka, Hiroshi (National Cancer Center Research Institute)

Special Lecture 2

Egawa, Sunao (National Cancer Center Research Institute)

Special Lecture 3

Nakamura, Nori (Radiation Effects Research Foundation)

The 1st session

Ohara, Hiroshi (National Institute of Radiological Sciences)

The 2nd session

Masuda, Kouji (Kyusyu Univ. Medical School)

The 3rd session

Kaneko, Ichiro (Institute of Physical & Chemical Research)

The 4th session

Ando, Koichi (National Institute of Radiological Sciences)

The 5th session

Sakamoto, Kiyohiko (Tohoku Univ. Medical School)

The 6th session

Tsunemoto, Hiroshi (National Institute of Radiological Sciences)

The 7th session

執筆者一覧

(五十音順)

- 安藤 興一 (放射線医学総合研究所)
- 内海 博司 (京都大学放射線生物研究センター)
- 梅垣洋一郎 (放射線医学総合研究所特別研究員)
- 大原 弘 (放射線医学総合研究所)
- 小野 公二 (京都大学医学部)
- 金井 達明 (放射線医学総合研究所)
- 川島 勝弘 (放射線医学総合研究所)
- 佐々木武仁 (東京医科歯科大学歯学部)
- 佐藤 文昭 (北海道大学獣医学部)
- 篠原 邦夫 (東京都臨床医学総合研究所)
- 鈴木 紀夫 (東京大学医学部)
- 田辺 政裕 (千葉大学医学部)
- 辻井 博彦 (筑波大学臨床医学系)
- 坪井 篤 (放射線医学総合研究所)
- 坪内 進 (福井医科大学放射線基礎医学)
- 福田 寛 (放射線医学総合研究所)
- 松本 信二 (放射線医学総合研究所)
- ルカ・ミラス (M. D. アンダーソンがんセンター, ヒューストン, USA)
- 母里 知之 (東海大学医学部)
- 森田 新六 (放射線医学総合研究所)
- 渡辺 正巳 (横浜市立大学医学部)
- アンドレ・ワンバーギー (ルーバンカソリック大学, ブリュッセル, ベルギー)

List of Contributors

(Alphabetical Order)

- Ando, Koichi** (National Institute of Radiological Sciences)
- Fukuda, Hiroshi** (National Institute of Radiological Sciences)
- Kanai, Tatsuaki** (National Institute of Radiological Sciences)
- Kawashima, Katsuhiro** (National Institute of Radiological Sciences)
- Matsumoto, Shinji** (National Institute of Radiological Sciences)
- Milas, Luka** (M. D. Anderson Cancer Center)
- Mori, Tomoyuki** (Dept. of Radiology, Tokai Univ. Medical School)
- Morita, Shinroku** (National Institute of Radiological Sciences)
- Ohara, Hiroshi** (National Institute of Radiological Sciences)
- Ono, Koji** (Dept. of Radiology, Kyoto Univ. Medical School)
- Sasaki, Takehito** (Radiology, School of Dentistry, Tokyo Medical and Dental Univ.)
- Sato, Fumiaki** (Dept. of Radiobiology, Veterinary School, Hokkaido Univ.)
- Shinohara, Kunio** (Dept. of Radiation Research, Tokyo Metropolitan Institute of
Medical Sciences)
- Suzuki, Norio** (Dept. of Radiation Oncology, Faculty Medicine, Univ. of Tokyo)
- Tanabe, Masahiro** (Dept. of Surgery, Chiba Univ. Medical School)
- Tsuboi, Atsushi** (National Institute of Radiological Sciences)
- Tsubouchi, Susumu** (Div. of Experimental Radiology, Fukui Medical School)
- Tsujii, Hirohiko** (Particle of Radiation, Medical Science, Tsukuba Univ. Medical
School)
- Umegaki, Yoichiro** (National Institute of Radiological Sciences)
- Utsumi, Hiroshi** (Radiation Biology Center, Kyoto Univ.)
- Wambersie, André** (Université Catholique de Louvain)
- Watanabe, Masami** (Div. of Radiation Biology, School of Medicine, Yokohama
City Univ.)

特 別 講 演

- 1 放射線治療の歴史を振り返る
梅垣洋一郎
- 2 Impact of Radiobiology on Radio-
therapy
Luka Milas
- 3 Physical Aspects of Heavy Charged
Particle Beams for Radiotherapy
André Wambersie

1 放射線治療の歴史を振り返る

梅垣洋一郎*

Historical Aspects of Particle Radiation Therapy

Yoichiro Umegaki, M.D.

formerly National Institute of Radiological Sciences
9-1, Anagawa 4-chome, Chiba-shi, 260 Japan

Abstract

History is the best referee. There have been numerous number of researches aimed to the progress of radiation therapy, but abandoned. The best dose distribution, supported by precision imaging diagnosis, real time beam handling and reasonable biological basis will survive as an ideal treatment of cancer, after the severe historical screening. That is the NIRS heavy ion radiation therapy project.

要 旨

- 1) 放射線治療の歴史は癌治療の歴史であり、放射線医学の歴史であり、また医用理工学の歴史である。そして積み上げられた成果は又原子力利用の基礎となって文明社会を支えている。
- 2) 歴史は最上の審判者である。歴史の審判に耐える業績が本当の業績である。
- 3) 歴史のとりまとめ方として、イ)学問研究の歴史として、ロ)疾病とその治療の歴史として、ハ)関係した人びとの歴史として、等の見方がある。ここではロ)とハ)に近いまとめ方をしている。

* 元放射線医学総合研究所

1. 放射線治療の歴史年表

表1～3はある機会にまとめた放射線治療の歴史年表を3のランクに分けて再編したものである。歴史として標記すべきことは山のようにあるし、その選択と評価は大変に難しいことである。どうしても著者の価値観が影響することは免れない。選択評価の責任は私にあることをお断りしておく。

表1は独創的な業績であり、現在もおその続きが発展しているものを挙げている。

表2はオリジナルな業績とはいえないまでも、1と同様に発展している重要な業績を挙げている。

表3は既にその役割を果たしたものと未だその評価を下し難いものを挙げている。

2. 歴史の概観

20世紀の自然科学は放射線の発見に続く原子物理学の発展により幕が開けられたといっても過言ではない。そして2度の大戦と原子爆弾を体験し、世紀末の現在では先進諸国は原子力エネルギーに大きく依存している。まさに現世はもとより、天国も地獄も原子力というべき世紀である。

要旨にも述べたが、放射線治療の歴史は放射線の性質を明らかにし、測定法を確立し、その影響を定量的に調べる歴史でもあった。そのことがどのくらい人類の文化と福祉に役立ったかは、はかりしれない。癌治療の成果よりもっと大きいかもしれない。しかしそのかげには、研究のために、また医療のために自分の体を犠牲にした方々も数多かった。あらためてこの方々に感謝の意を表す。

放射線も含めて癌治療の進歩は著しいが、しかし癌がすべて治る時代になったわけではない。治療成績の急成長の時期を過ぎて、停滞期になっているのが現在の状況である。歴史を反省し、この停滞を打破するのが、今回の放医研シンポジウムの目指すところであろう。

表4は筆者がまとめた年代別の癌放射線治療成績である。そのまとめ方はいささか粗雑ではあるが、傾向を知ることはできる。治療の信頼度が高まり、5年生存率という数字で成績が発表されるようになったのは、1930年代に入ってからである。その後は着実に改善されているが、1960年代に飛躍的に成績が向上している。この年代はテレコバルトで代表される高エネルギー放射線治療装置が実用化された時代であり、治療技術の改善による寄与が大きいとは思いますが、実際は戦後の復興が軌道に乗り、癌診療施設が整備されたことがその背景にある。

1970年代に入ると成績向上は停滞している。1980年代は揚げていないが、同様であろう。

年表を概観すると分かるように、治療成績を改善する上で最も貢献したのは、治療機器技術の開発と、その結果としての線量分布の改善であった。なぜ放射線で癌が治るのか、なぜ放射線で治らない癌があるのか、その本質は分からなくても、線量分布を改善すれば、それに見合っ

表1 放射線治療の歴史年表-1

1895	Roentgen	理工学者	X線ヲ発見
1898	Curie	理工学者	ラジウムヲ発見
1899	Stenboeck	医師	皮膚癌ノ治療ニ成功
1902	Holzknicht	医師	線量計ヲ作ッタ
1904	Bergonie	生物学者	ベルゴニエ トリボンドウ ノ 法則
1906	Gray	医師	膀胱癌ノ術中照射ヲ始メタ
1906	Kohl	医師	X線運動照射ヲ始メタ
1907	Dominici	理工学者	ラジウム白金管ヲ作ッタ
1913	Coolidge	産業関係者	熱陰極X線管ヲ發明
1920	Coutard	医師	遷延分割照射法ニヨル好成绩ヲ発表
1920	Regaud	医師	ラジウム白金針ヲ作ッタ
1921	Lysholm	理工学者	ラジウム大量遠隔照射ヲ開始
1922	Failla	理工学者	ラドン金管シードヲ製作
1923	Behnken	理工学者	R単位ヲ提案
1928	Wideroe	理工学者	リニアアクセレータノ發明
1932	Lawrence	理工学者	サイクロトロンヲ發明
1933	Chadwick	理工学者	中性子ヲ発見
1934	Paterson	医師	ラジウム治療マンチェスター方式提唱
1936	中泉 正徳	医師	集光照射法ヲ発表
1936	Heyman	医師	子宮癌治療成績登録ヲ始メタ
1937	Watson	医師	回転横断撮影法ヲ発表
1937	Stone	医師	サイクロトロン速中性子治療ヲ始メタ
1941	Hertz	医師	ヨード131ニヨルバセドウ氏治療
1941	McWhirter	医師	乳癌単純手術ト照射ノ成績ヲ発表
1944	Strandqvist	医師	分割照射ノ効果ヲ解析
1950	高橋 信次	医師	回転横断撮影法ヲ発表
1952	Tobias	理工学者	シンクロサイクロトンによる陽子、アルファ線治療ヲ開始
1953	Henshke	医師	アフターローディング法ヲ発表
1953	Gray	生物学者	酸素効果ノ概念ヲ発表
1955	Tien	理工学者	コンピュータニヨル線量計算
1956	Puck	生物学者	細胞ノコロニー培養法ヲ発表
1957	Thomas	医師	全身照射ト骨髓移植ニヨル白血病治療
1957	梅垣 洋一郎	医師	可変絞り照射法ヲ発表
1959	Proimos	理工学者	立体可変絞り照射法ヲ発表
1960	高橋 信次	医師	原体照射法ヲ発表
1961	Kjellberg	理工学者	ハーバード大学サイクロトロン陽子線治療ヲ開始
1962	Kaplan	医師	増感剤併用治療法
1967	大星 章一	医師	癌放射線治療ノ病理ヲ発表
1968	Ellis	医師	NSDノ概念ヲ提唱
1968	畠中 坦	医師	脳腫瘍ノ熱中性子捕獲療法
1969	Catterall	医師	速中性子線治療デ好成绩ヲ挙ゲタ
1971	Damadian	理工学者	NMRニヨル診断法ヲ開発
1972	Hounsfield	理工学者	X線CTノ發明
1981	河内 清光	理工学者	三次元スポットスキヤニング陽子線治療法ヲ開発
1987	三島 豊	医師	悪性黒色腫ノ熱中性子捕獲療法ヲ開始

表2 年表-2

1896	Voigt	医師	最初ノ癌放射線治療
1897	Freund	医師	母斑ノX線治療
1898	Hahn	医師	慢性湿疹ノX線治療
1901	Danclos	医師	ラジウム治療(表面治療)ヲ開始
1902	Pusey	医師	ホジキン氏病ノX線治療
1903	Cleaves	医師	子宮癌ノラジウム治療ヲ始メタ
1908	Villard	理工学者	電離法ニヨルX線ノ測定法ヲ提唱
1909	Forssell	医師	ラジウム病院ヲ設立
1913	Pohl	医師	振子照射法ヲ考案
1913	Cheron	医師	子宮癌ノラジウム治療デ好成绩ヲ挙ゲタ
1914	Stevenson	医師	ラドンガラスシードヲ作ッタ
1914	Regaud	医師	パリラジウム研究所ヲ開設
1920	Berven	医師	副鼻腔ノラジウム治療法ヲ発表
1921	Meyer	医師	乳癌術後照射ノ有効性ヲ発表
1923	山川 保城	医師	癌研究会X線治療所ヲ開設
1928	Harmer	医師	喉頭癌ノハーマーラジウム治療ヲ発表
1930	Cockroft	理工学者	超高压発生装置ヲ製作
1930	Regaud	医師	子宮癌治療パリ法ヲ発表
1930	Lauritzen	理工学者	超高压用X線管ヲ製作
1931	Van de Graaf	理工学者	静電式高压装置ヲ製作
1932	Berven	医師	舌癌治療ノ好成绩
1934	Curie.J	理工学者	人工放射能ヲ発見
1934	Parker	理工学者	マンチェスター方式線量計算法
1935	Heyman	医師	子宮癌治療ストックホルム法発表
1936	Lawrence	生物学者	人工放射性元素ニヨル白血病治療
1940	Kerst	理工学者	ベータトロンヲ發明
1940	Kruger	その他	熱中性子捕獲法ノ実験ヲ行ッタ
1941	Livingood	理工学者	コバルト60 アイソトープヲ発見
1942	Barringer	医師	膀胱癌ノラドンシード療法
1943	Smithers	医師	超高压X線治療ニヨリ食道癌ヲ治療シ好成绩
1944	Mayneord	理工学者	容積線量ノ概念ヲ発表
1945	Nielsen	医師	X線回転照射ニヨル食道癌治療好成绩
1946	塚本 憲甫	医師	ハーマー塚本変法ニヨル喉頭癌治療
1946	Lamarque	医師	体腔X線管デ直腸癌ヲ治療シ好成绩
1950	Peters	医師	ホジキン病ノ系統照射デ好成绩
1952	Sinclair	医師	タンタラムワイヤーAUグレーンノ治療利用
1955	梅垣 洋一郎	医師	多門透視照射法デ食道癌治療ニ好成绩
1955	Churchill Davidson	医師	高压酸素下照射法ヲ発表
1956	若林 勝	医師	遠隔制御方式ラルストロンヲ製作
1957	中山 恒明	医師	食道癌ノ術前照射療法
1957	梅垣 洋一郎	医師	低体温照射法
1957	Williams	医師	網膜芽細胞腫ノコバルト60板埋没療法ヲ発表
1961	Fowler	生物学者	パイ中間子ニヨル治療ノ可能性ノ提唱
1962	Pierquin	医師	イリジウムワイヤーニヨル治療
1962	Walstam	理工学者	遠隔制御アフターローディング治療装置ヲ製作
1962	Graffman	理工学者	陽子線治療
1962	Henschke	医師	高線量率遠隔制御アフターローディング治療装置ヲ製作
1963	佐藤 靖雄	医師	上顎癌ノ三者併用療法
1964	梅垣 洋一郎	医師	膀胱癌ノ開創照射法
1965	田崎 瑛生	医師	TAO式アフターローディングアプリケーションノ開発

1965	Hensckke	医師	ヨード125シード ノ 開発
1965	阿部 光幸	医師	胃癌ノ術中照射療法
1966	Tobias	理工学者	ネオン イオン ニヨル 治療
1969	稲邑 清也	産業関係者	放射線治療計画システムTHERACヲ製作
1972	Relstad	理工学者	マイクロトロン ヲ 製作
1972	梅垣 洋一郎	医師	Volume factor ノ 概念ヲ発表
1973	Orton	生物学者	TDF ノ 概念ヲ発表
1975	恒元 博	医師	速中性子線治療ヲ開始
1976	Castro	医師	バークレイ デ 重イオン治療ヲ開始
1980	松田 忠義	医師	コンピュータ制御原体照射法ヲ開始
1981	重松 康	医師	胆管癌ノ腔内照射療法
1982	稲田 哲雄	理工学者	筑波大学陽子線治療施設ヲ完成
1983	北川 俊夫	医師	筑波大学デ陽子線治療ヲ開始

表3 年表-3

1904	Perthes	医師	多門照射法ヲ始メタ
1904	Abbe	医師	ラジウムガラス管組織内照射ヲ始メタ
1920	Seitz	医師	子宮癌治療エルランゲン法
1920	Seitz	医師	皮膚紅斑量HEDヲ提唱
1921	島津製作所	産業関係者	X線治療装置ジュピター号ヲ製作
1922	Hofbauer	医師	自立神経疾患ノ間脳照射療法ヲ始メタ
1925	Fahler	医師	飽和照射法ヲ提唱
1929	中島 良貞	医師	肺結核ノ放射線治療
1932	Sloan	理工学者	共振型高圧発生装置ヲ製作
1934	Haring	医師	篩照射法ヲ発表
1934	Brasch	理工学者	電子線治療ノ可能性ヲ発表
1939	Kohler	医師	X線振子照射ニヨリ胃癌治療好成绩
1947	Hahn	医師	金198コロイド ニヨル体腔内治療
1949	Bacless	医師	乳癌ノX線療法好成绩
1950	Freundlich	理工学者	イリジウム198遠隔照射装置ヲ作ッタ
1953	Jolles	医師	篩照射治療ニヨル好成绩ヲ発表
1953	Hultberg	医師	下咽頭癌ノX線治療成績ヲ発表シタ
1955	Bruer	医師	テレセシウム運動照射装置ヲ作ッタ
1963	金田 弘	医師	肺癌ノX線篩照射法
1965	佐野 圭司	医師	脳腫瘍ノBAR療法
1969	Fletcher	医師	カリフォルニウム ニヨル 治療
1970	稲田 哲雄	理工学者	バン デ グラフ ニヨル 速中性子線治療
1973	Kaplan	医師	多チャンネル パイ メソン 治療装置ヲ提唱
1974	Kligerman	医師	ロスアラモス デ パイ中間子治療

よいかについては、時代により見方が変わっている。高エネルギー治療装置のなかった50年代以前ではとにかく身体の深部にまで到達させることが、その目標であった。深部治療という言葉がその悲願を適切に表わしている。1960年代以降はこの願いが実現し、表4に示すように成績は著しく改善された。しかしこのことは、同時にまた治療後の障害の増加という困難をもたらした。表4には5年生存率が示されているけれども、80年代以降は治療後の生存の質が重要視されるようになった。その面の進歩はこの表には出ていないが、見るべきものがある。

中泉により始められ、Wachsmann他の努力により発展した運動照射法は梅垣の可変絞り照

表4 年代別・部位別に見た放射線治療成績(治療後5年生存率)

部位別	1920年代	1930年代	1940年代	1950年代	1960年代	1970年代	国立がんセンター (1962~1968)
舌癌		13%(1)	31%(2)	24%(3)	38%(26)	43%(14)	66%
鼻咽腔癌			25(2)	—	32(7)	29(3)	44
中咽頭癌		30(3)	33(3)	—	33(5)	42(2)	44
喉頭癌		27(1)	27(3)	49(4)	57(2)	77(4)	71
下咽頭癌		11(2)	6(5)	12(3)	13(4)	21(14)	31
副鼻腔癌		36(2)	17(3)	26(3)	30(8)	39(11)	47
食道癌			7(2)	—	10(6)	6(10)	11
肺癌					7(1)	5.5(12)	4
子宮頸癌	21%(1)	23(14)	32(1)	45(2)	45(2)	57(3)	48
膀胱癌		14(2)	24(3)	22(3)	12(2)	61(3)	50
皮膚癌		87(4)	91(1)	92(2)	—	91	
脳腫瘍* (グリオブラストーマ)						12% (全国集計)	
悪性リンパ腫*	10(1)	36(3)		55(2)		42%(3)	
相対加算平均**	0.37	0.40	0.49	0.56	0.9	1.0	1.15

%は平均5年生存率、()内は報告の数

*相対加算平均の試算から除外した

**相対加算平均とは1970年代の平均を1としたときの各年代、各部位の成績の相対値を加算平均したものと

法を経て、高橋・Proimos他により原体照射法として集成された。当初の目的は如何にして深部の病巣に放射線を集中するかであったが、現在では如何にして、周囲の組織の受ける線量を軽減するかに同等以上のウエイトがおかれるようになってきている。その観点から見ると、ガンマ線やX線には限界があり、原体照射法を発展させても、その限界を打破することは不可能であることが明らかになって来た。高エネルギー荷電粒子線による治療が切り札として登場する時代になったということである。

歴史を概観して感じることは、未だに、何故治療によりある癌は治るのに、ある癌は治らないかということである。表1にはGrayによる酸素効果の概念を挙げた。難治の癌には低酸素圧の癌細胞が多数存在し、それが治療に抵抗する原因とする説であり、それを実証するための研究が無数といってもよいほど行われ、現在も続けられている。高LET放射線による治療は難治の癌に有効な筈という思い込みもその延長にある。動物実験はともかく人の癌についての臨床経験では低酸素圧細胞の存在が癌の難治の原因であると立証する結果は一つも得られていない。魅力のある学説よりは、歴史の審判の方が正しいことの見本であろう。

なぜ癌が治らないかを研究することは、なぜ人は年をとるか、なぜ年をとると癌になるかを研究するのと同じことであろう。それが解明されれば治療に結びつくかどうかは分からないが、少なくとも癌の予防には役立つ筈である。そして予防に役立つことは、そのまま治療にも役立つと私は考えている。癌が治るには宿主に抵抗力がなくてはならず、その抵抗力は発癌の防止と共通している。表1に大星の業績を挙げたのはその意味からである。放射線を病巣に集中することも大切だが、その周囲を防御することは更に大切というのもその意味である。そして最近明らかになって来た陽子線治療の優れた成績がそのことを裏書しているように見える。

放医研が難治の癌対策として速中性子線治療に取組み、その効果と限界を明らかにしたことは、国内のみならず世界に対する大きな貢献であった。当時の事情としてはこれはどうしても通り抜けねばならぬトンネルのようなものであった。このトンネルを比較的早く通り抜けることができたのは本当に幸であったと回顧している。トンネルの中でなされ、現在光彩を放っているのが、河内等による三次元スポットスキヤニング陽子線治療技術である。この技術が表1に多く挙げた画像診断技術とドッキングするのがこれからの放射線治療の在り方である。

癌の化学療法の研究が進展する過程で、癌は全身病であるとする考えが強くなり、全身的化学療法が治療の基本とする考え方もある。しかし歴史を概観すると白血病等を除き、大部分の癌にはその考えはあてはまらない。外科手術でも一時は広汎拡大手術の傾向が強くなったが現在は可能な限りは低侵襲の治療がよいとする反省期に入っている。

全身病であるとしても、癌細胞が全身に転移するから全身的な治療が必要と考えるか、あるいは癌に対する抵抗力は全身的なもので、その低下が癌を治らなくすると考えるかで、治療は逆になる。今後の癌治療は低侵襲が基本となり、それに合った放射線治療がより高く評価されることになるだろう。そのためには現在の主力であるリニアック、テレコバルトの治療に執着せず、できるだけ早く陽子線治療に切り替えるべきである。

以上が私が歴史を概観して得た感想である。

3. 日本医学放射線学会の業績

日本の放射線医学は種々の事情からやや遅れて発足し、最近までは外国の業績に追随する傾向が見られた。しかし現在では、情報処理技術の進展を積極的に取り入れて世界をリードする研究が次々と発表されるようになった。もう使命を終えた業績は誰にも顧みられず、埃の中に埋もれている。しかし先輩諸氏の努力があり、業績があつてこそ、今日の発展が達成されたので、いわばその肥料になっている。私は人名と業績のデータベースを作成することで、先人の努力を再評価したいと考え、数年来コツコツと作業をしている。講演のときにはその一部を紹介したが、この紙上にスペースをとるのは必ずしもシンポジウムの趣旨に合うものでもないので省略する。

2 IMPACT OF RADIOBIOLOGY ON RADIOTHERAPY

Luka Milas, M.D., Ph.D.
Department of Experimental Radiotherapy
The University of Texas
M.D. Anderson Cancer Center
1515 Holcombe Boulevard
Houston, Texas 77030

2 放射線治療における放射線生物学のインパクト

ルカ・ミラス*

概 要

放射線に対する線量効果曲線を規定している比例数量的な殺細胞効果とかその他いくつかの生物学的な原理が明らかになって放射線生物学研究は近代的な時代を迎えた。以来、細胞修復、細胞集団、細胞周期内での細胞の位置、細胞の酸素状況等々の放射線生物学的な現象が多数わかってきた。他に多くの条件を加味されることがあるが、これらの現象は腫瘍や正常組織のイオン化放射線に対する反応を決めている。大体において、今まで放射線生物学で新しいことがわかると臨床治療に大きなインパクトをあたえ、新しい治療作戦を導き出す理論的根拠を提供している。放射線生物学による殺細胞効果の原理から見れば、大きい腫瘍を制御するには高い線量が必要と考えられるが、これは又緊急を要しない不顕性転移の処置、照射野を縮小する技術、さらに外科療法、科学療法、免疫療法と放射線の併用療法などに対する基本概念ともなっている。改良された線量を用いた分割照射による臨床トライアルでは細胞の修復や増殖動態が基本に在る。同様に、低酸素細胞増感剤の臨床トライアルは悪性腫瘍内に低酸素

* テキサス大学M.D.アンダーソンがんセンター

細胞が在るという生物学の発見に基づいている。ヒトの腫瘍では同じサイズでしかも同じ組織所見の腫瘍でもその反応は大きく異なる異質性を示すが、これも生物学的条件に起因することが臨床治療医によって一般に認識されてきてから腫瘍の放射線反応を予測する検査法の研究が盛んになってきた。これらの検定法には細胞の放射線感受性評価、腫瘍細胞動態や倍数性の測定および腫瘍内酸素化の測定などがある。この分野の研究では治療医が個々の患者について適用できてしかも理に適った治療が可能になるという情報が望まれている。これからは僅か2-3年の間にイオン化放射線が癌治療法の一つとして導入された過去一世紀にも相当するだろう。過去何10年の間に、腫瘍の制御と正常組織併発症に関する治療経験は蓄積され始めている。既に、1906年にはベルゴニーとトリボンローは増殖能をもった細胞は増殖能が低い細胞や分化した細胞に比べて感受性が高いという原理を確立した。このことは分裂活性の高い正常組織は、未分化で分裂活性の高い腫瘍と同じように比較的放射線感受性の高いものになることを示している。また、臨床的経験から、Strandquistは腫瘍制御と正常組織併発症との関連により照射合計線量と総治療時間によって決まる等効果プロット法を確立している。しかし、治療効果改善のためにはイオン化放射線に対する腫瘍や正常組織のそれぞれの生物学や双方の相互作用に関する生物学をもっと研究する必要がある。放射線生物学研究の始まりは癌患者の治療に放射線を適用し始めた直後から起こっている；しかし、研究分野として放射線生物学が発展したのは1950年代になってからで、以来放射線治療にはかなりのインパクトが与えられている。ここでは、放射線生物学での大きな進歩を幾つか取り上げ、その放射線治療へ与えた影響について概観するが、放射線生物学が治療に与えたインパクトに関する詳細な議論はSuit博士の最近の論文 (*Radiat. Res.*, 94, 10, 1983)も参照されたい。

Acknowledgements-This investigation was supported by NIH Research Grant CA-06294, awarded by the National Cancer Institute. We also wish to thank Patricia D. Norfleet for her assistance in the preparation of this manuscript.

Abstract

Discovery of the proportional cell kill and other biological principles defining radiation-dose response curves has opened a modern era in radiation biology. Since then many radiobiological phenomena have been discovered including cell repair, cell repopulation, position of cells in cell cycle and oxygen status of cells. These with a number of other factors determine response of both tumors and normal tissues to ionizing radiation. In general, discoveries in radiation biology have had a significant impact on clinical radiotherapy principally by providing a rationale for introducing new treatment strategies. The

radiobiological cell-kill principle implies that higher doses of radiation are needed to control large sized tumors, and constitutes a basis for the elective treatment of regional subclinical metastases, shrinking field technique, and combination of radiation with surgery, chemotherapy or immunotherapy. Clinical trials on altered dose fractionation are based on cell repair and cell proliferation kinetics. Likewise, clinical trials on hypoxic-cell radiosensitizing agents are based on radiobiological findings of hypoxic cells in malignant tumors. General acceptance by clinical radiotherapists that a great heterogeneity which exists in radioresponse of human tumors of the same size and the same histology is largely caused by radiobiological factors, has recently stimulated a significant research on assays predicting tumor radioresponse. These assays include assessment of cellular radiosensitivity, measurement of tumor cell kinetics and ploidy state and assessment of tumor oxygenation. Research in this area is anticipated to provide information that would allow therapists to use the most rational treatment on an individual patient basis.

In only a few years from now it will be one century that ionizing radiation was introduced as a therapeutic modality in cancer treatment. As decades passed by, clinical experiences about tumor control and normal tissue complications began to accumulate. Already, in 1906 Bergonie and Tribondeau (1) established that cells with greater reproductive activity are more susceptible to the damaging effects of x-rays than less proliferative and more differentiated cells. This implied that highly proliferative normal tissues as well as poorly differentiated and highly proliferative tumors would be relatively highly radiore sponsive. Clinical experience has led to the establishment of well known Strandqvist isoeffect plot that defines tumor control and normal tissue complication relationships with the total radiation dose delivered and overall treatment time (2). However, it became clear that in order to improve radiotherapeutic efficacy, it is necessary to learn more about biology of both tumors and normal tissues and interaction of these with ionizing radiation. The birth of radiobiology research came relatively soon after introduction of radiotherapy in treatment of cancer patients ; however, radiobiology as a discipline began to expand only in 1950's and since then it has had considerable impact on radiotherapy. This overview will consider some of the major advances in radiobiology and their influence on radiotherapy. A more detailed consideration of the impact of radiobiology on radiotherapy was recently published in a review article by Suit (3).

Cell survival and radiation dose response curves

It is generally considered that modern radiobiology began in the 1950's when Puck and Marcus (4) published the first radiation survival curve for mammalian cells. The survival

curve was defined in terms of D_0 , shoulder region, N (extrapolation number), etc. Compared to already known radiosensitivity of viruses and bacteria, the radiosensitivity of mammalian cells was greater. Numerous reports followed within the next decade providing information on radiation response parameters of *in vitro* cultured cells derived from different normal tissues and a variety of malignant tumors of animal or human origin. Survival curves after low-LET radiations of all mammalian cells regardless of their origin exhibited similar shape when plotted on the log-linear scale: shoulder region at low radiation doses, followed by the exponential region indicating cell kill to be an exponential function of radiation dose. However, the shoulder is reduced or it disappears after high-LET radiations. The range of D_0 values of the low-LET radiation survival curves for a majority of mammalian cells cultured *in vitro* was found to be narrow, falling in the range of 1 to 2 Gy. Until recently, D_0 value was generally considered to be the most pertinent parameter denoting radiosensitivity of cells. Some recent evidence, however, shows that D_0 might not be very meaningful when used to predict tumor radioresponse after clinical fractionation doses (5).

This “early” phase of radiobiology research was also characterized by development of techniques to assess cell survival curves *in vivo*. These include spleen colony assay for assessment of radiosensitivity of bone marrow stem cells, jejunum crypt cell assay, skin colony assay, etc. Also, many assays were developed where radiation damage was quantified by endpoints other than clonogenic cells. They include skin epilation, subcutaneous fibrosis, soft tissue necrosis, lung damage, tumor growth delay, tumor cure, etc. These assays were primarily developed to generate information on the radiation-dose relationships for tumors and individual normal tissues. Complete radiation-dose response curves were obtained for virtually all tissues, and invariably the probability of the damage increased with the increase in radiation dose. The shape of radiation-dose response curves was sigmoid. These assays enabled to relate the response probabilities of critical normal tissues to tumor response probability under different radiation treatment schedules and other experimental settings.

The impact of these discoveries was significant on both further development of radiobiology and clinical radiotherapy. Our understanding of the radiation sensitivity of tumor cells and cells from various normal tissues increased greatly, and we acquired necessary knowledge and techniques for measuring cell response. It was also learned that cells may undergo several divisions before they disintegrate. Realization that cell kill is an exponential function of radiation dose implied that all cells in the tumor can be sterilized by radiation, provided that the dose needed to kill all tumor cells can be given. Prior to this

it was a common belief among radiotherapists that all cells in a given tumor could not be inactivated only by irradiation, but that permanent tumor control required additional contribution by some poorly defined host factors which interacted with radiation. Acceptance of this new information on proportionality of cell kill led to technical improvements in radiation delivery, aimed to accurately deliver radiation dose needed to control tumor of a given size.

Radiobiological evidence that D_0 values for mammalian cells, whether of tumor or normal tissue origins, are within relatively narrow range of radiation doses served as a scientific basis for reexamining the existing dogma that some tumors, such as soft tissue sarcoma and prostatic carcinoma, are “radioresistant tumors” and should not be treated with radiotherapy. Indeed, subsequently performed careful clinical trials proved that these tumors can be treated effectively with radiotherapy, and therefore are no longer considered to be radioresistant. However, as it will be discussed later, the intrinsic cell radioresistance can be a significant factor in determining response of certain tumors, more specifically gliomas and malignant melanomas.

The acceptance of the existence of the radiation dose-tissue damage relationship emphasized importance of assessing in the clinic the efficacy of radiotherapy in terms of frequency of local tumor failures and local normal tissue complications. Prior to that time, the radiotherapy treatment was commonly assessed in terms of patient survival only.

This radiobiology research also established that radiation dose curves for tumor control probability and normal tissue complications are positioned close to each other, (Figure 1) implying that achieving a higher probability of tumor control also brings a higher rate of

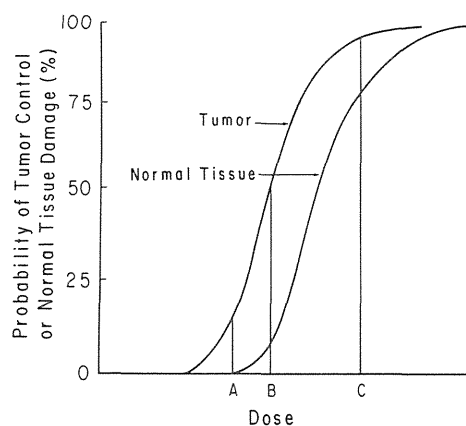


Fig.1 Radiation dose dependency of tumor control probability and normal tissue complications. In this hypothetical clinical practice situation, A, B, and C represent acceptability of normal tissue injury from radiation : (A) Myelitis, (B) Soft tissue necrosis, (C) Localized lung fibrosis. (Adapted from Ref. 6).

radiation-induced complications. Consequently any attempt to improve efficacy of radiotherapy must be aimed at further separating the two curves. Naturally, these observations called for further research aimed to find approaches and methods that will increase therapeutic ratio. The research was initiated in the area of chemical modifiers (radiosensitizers and radioprotectors), altered fractionation schedules, hyperthermia, chemotherapy, biological response modifiers, etc.

Tumor volume

Long before the era of modern radiobiology it was recognized in the clinic that larger tumors are more difficult to control. The importance of tumor size, or the number of clonogenic cells, in tumor control is well illustrated in a number of well defined tumor control probability studies using experimental animal tumors. As the size of tumor enlarges (the number of clonogenic tumor cells increases) the dose of radiation needed to control the tumor increases. Since the cell killing is an exponential function of radiation dose, the dose required to achieve a certain tumor control probability is proportional to the logarithm of the number of clonogenic cells in the tumor.

Clinical implications of this radiobiological principle are enormous and resulted in a number of new radiotherapy concepts including (a) elective treatment of subclinical disease, (b) shrinking field technique, and (c) combination with surgery or other treatment modalities that reduce the number of tumor cells in the tumor to be irradiated. Based on this principle, clinical studies have been undertaken to assess the dose required to control the subclinical (tumor size less than 5mm) disease in regional lymph nodes. Very solid evidence was provided by Fletcher (7) that in the case of head and neck, and breast cancers the elective treatment with 50 Gy total dose given in 25 fractions over 5 week period can sterilize lymph node metastases in more than 90% cases. Doses lower than 50 Gy were less effective. As a consequence, the elective treatment of regional subclinical metastases where the total dose of radiation rarely exceeds 50 Gy has become regular practice in clinical radiotherapy.

During growth malignant tumors frequently invade surrounding tissues or form microscopic metastatic foci around the tumor. Since these tumor extensions contain considerably fewer tumor cells than the original (primary) tumor mass, they also require lower dose of irradiation to be controlled. In order to avoid delivery of large radiation dose to large volume of normal anatomical structures, a shrinking field technique was designed. The large tissue volume containing both palpable tumor mass and subclinical tumor extensions is irradiated with radiation dose sufficient to irradiate subclinical disease, after which

additional radiation dose (“boost”) is given to the area of palpable tumor mass.

The biological principle underlying combination of radiotherapy with surgery is to remove surgically the visible tumor mass, and let irradiation with relatively moderate radiation doses inactivate tumor cells that had extended beyond the confines of the primary tumor mass.

Biology of altered fractionation in radiotherapy

Cellular repair from radiation injury and cell repopulation are basic radiobiology phenomena that have been extensively studied in the span of the last two to three decades. These two parameters dominate the response of normal tissues and tumors to fractionation irradiation, and they form the basis for clinical studies on altered fractionation (hyperfractionation, accelerated fractionation).

With respect to the repair of cellular injury, it has been well documented that late responding tissues (for example, spinal cord) show greater sparing with the reduction of dose per fraction than acutely responding tissues (such as skin and mucosa) (8). Most tumors show response similar to that of acutely responding normal tissues. Therefore, the sparing of late damage can be achieved by lowering the dose per fraction from the currently used conventional dose of 2 Gy, and hyperfractionating the treatment. Hyperfractionation is defined as a radiotherapeutic regimen in which radiation is given in increased number of fractions of lower than the conventional dose but the overall time remains the same as that in conventional radiotherapy. Radiation is delivered in 2-3 fractions per day, allowing the interval between irradiations to be sufficient for completion of repair of sublethal radiation damage. The total dose is slightly increased. Based on radiobiological principles the sparing of late responding tissues should be significant after hyperfractionation, which should significantly increase therapeutic ratio. On the other hand, the therapeutic ratio based on the differential response between acutely responding tissues and tumors remains unchanged.

During fractionated irradiation, tumors as well as acutely-responding normal tissues repopulate after a lag period, the length of which depends on severity of radiation injury, cell proliferation kinetics prior to initiation of radiation, and division cycle delay. An important radiobiological observation is that tumors undergo accelerated regeneration after radiation exposure (9). Also, clinical experience shows that prolongation of overall treatment time has an adverse influence on radiocurability of certain human tumors. On the other hand, little (if any) regeneration occurs in late responding normal tissues over the time of a course of conventional radiotherapy. Therefore, in order to arrest rapidly

proliferating tumors it appears reasonable to accelerate fractionation in which total dose of radiation is given in shorter overall time (accelerated irradiation). However, severe mucosal and other acutely responding normal tissue reactions seriously limit accelerated radiotherapy. In order to avoid exceeding acute reactions, a number of radiotherapy schedules have been devised : (a) giving an intensive short course of radiotherapy in which the overall treatment time is markedly decreased with a corresponding substantial reduction in total dose, (b) a split-course technique in which there is a modest decrease in overall time without reduction in total radiation dose, and (c) concomitant technique in which the overall time is modestly shortened, but there is no reduction in total radiation dose. There are currently many clinical trails testing the therapeutic value of different schemes of hyperfractionation and accelerated fractionation.

Hypoxia

It is a well documented experimental evidence that the vast majority of solid tumors in experimental animals contain hypoxic clonogenic cells which are 2-3 times more resistant to radiation than well oxygenated cells, and are likely dose limiting especially when large incremental doses of radiation are given. The proportion of hypoxic cells varies markedly among different experimental tumors, the range being as wide as 1 to > 60% of total tumor cell population. There exist abundant circumstantial evidence implying that human solid tumors also contain hypoxic cells. An illustrative observation supporting the existence of hypoxic cells in human tumors comes from Bush *et al.*, (10). These authors reported that stages IIB and III cervical carcinoma patients exhibited 50% local tumor failure if their level of hemoglobin was 10-12 gm/%, compared to 16-23% local tumor failure if the level of hemoglobin was 12 gm/% and higher.

Accepting the radiobiological evidence that hypoxia may be a significant contributor in poor tumor response to radiotherapy, clinicians have designed a number of strategies aimed to overcome negative influence of hypoxia in radiotherapy. These include :

- Prolonged fractionation
- Combination with surgery
- Hyperbaric oxygen
- Hypoxic cell radiosensitizers
- Radioprotective agents to increase normal tissue tolerance
- Hyperthermia
- High LET radiation

Dische (11) recently reported that there have been 15 and 45 randomized controlled

clinical trials completed that used hyperbaric oxygen and hypoxic-cell radiosensitizing agents (misonidazole and metronidazole), respectively, in combination with radiotherapy. Definite therapeutic benefit or significantly or marginally improved results have been obtained in 9 of 15 (60%) trials using hyperbaric oxygen and in 10 of 45 (22%) trials using radiosensitizing drugs. These data clearly show that hypoxia is an important factor in radiotherapy and that its negative influence can be overcome. However, a valid question arises here why so many controlled trials showed no benefit of either hyperbaric oxygen or misonidazole. Although many reasons could account for that, the existence of heterogeneity in hypoxic cell content among different tumors is likely to be one of them. The influence of heterogeneity of radiobiological factors on clinical radiotherapy trials will be elaborated in more detail further in the text.

An alternative method to improve the ratio between the normal tissue damage and that of tumor is to use radioprotective agents that reduce normal tissue injury without affecting tumor radioresponse. Such radioprotecting drugs have been explored and most experience has been gained with WR-2721 (12). There is only a limited clinical experience with this type of agents. Although a sound radiobiological rationale for using these agents for the improvement of therapeutic ratio does exist, it is currently clear that more basic radiobiology research with radioprotectors should be performed before they can be beneficially used in clinical practice on a wider scale.

Predictive assays

There is a significant variability in the radiation-dose-tumor response relationship in human tumors of defined anatomical localization and a given tumor size (13). This significant unpredictability in tumor control by radiotherapy exists despite careful considerations during the treatment planning of all factors that have proven predictive value in clinical radiotherapy practice. Obviously, these predictors which include tumor size, histological type, clinical presentation and hemoglobin level, are not specific and are quite imprecise. Based on vast information obtained in radiobiology research, the likely causes for the observed heterogeneity in radiotherapeutic response of human tumors belonging to the same size and histology type include differences among tumors in inherent cellular radiosensitivity, proportion of tumor stem cells, tumor cell kinetics (cell cycle distribution and regenerative potential), and oxygen status. Each of these radiobiological factors is likely to be responsible for radioresistance of only a certain percentage of treated tumors. Consequently, regardless what is a cause for tumor radioresistance in individual cases, a simple fact that a certain cause is only one among many factors its abolition will not

significantly result in therapeutic improvement if the entire heterogeneous population is subjected to the treatment affecting only that particular factor. Thus, the impact of tumor heterogeneity on clinical trials is negative and it usually causes inability to observe clinical benefit for a subset of treated patients. Predictive assays in radiotherapy are therefore aimed to identify patients who would have high probability of failure on conventional radiotherapy, but who would be amenable to cure by investigational radiotherapeutic treatment modalities and strategies. The assays would allow radiotherapists to use the most rational treatment on an individual basis.

Recently a significant effort has been put forward to develop reliable and specific predictive assays. The assays can be roughly categorized in three distinctive groups (TABLE 1).

TABLE 1

Assays with Potential Predictive Value of Radiation Treatment Response

- Group 1 : Intrinsic Cellular Radiosensitivity
- *In vitro* cell survival at 2 Gy
 - Xenograft assays of tumor radioresponse
 - DNA strand breaks/repair
 - Chromosome aberrations (PCC)
 - Micronuclei
 - Suppression of DNA synthesis
- Group 2 : Cell Ploidy and Kinetics
- Cell ploidy (DNA content)
 - Labeling index
 - Proportion of cells in S-phase
 - Potential doubling time
- Group 3 : Tumor Oxygenation and Metabolism
- Hypoxic cell fraction estimations (sensitizer adducts)
 - Intratumoral PO₂
 - Lactate and pyruvate levels
 - Vascularity index
 - Tumor Metabolism (PET)
 - NMR spectroscopy

Our laboratory has been active in the assessment of predictive value of intrinsic cellular radiosensitivity and cell proliferation kinetics (14). Recently, it has been argued that the intrinsic sensitivity of tumor cells in the low dose region (2 Gy) and not D₀ value represents a significant determinant in tumor radiocurability (5). Stimulated by this observation we developed a new *in vitro* technique to permit direct measurements of cellular radiosensitivity from primary human tumor samples (15) (Figure 2). Using this technique, data generated in our laboratory show considerable variability in radioresponse of tumors belonging to each of different tumor type categories shown in Figure 3. For example, Ewing sarcoma cells exhibited the greatest radiosensitivity whereas malignant melanoma

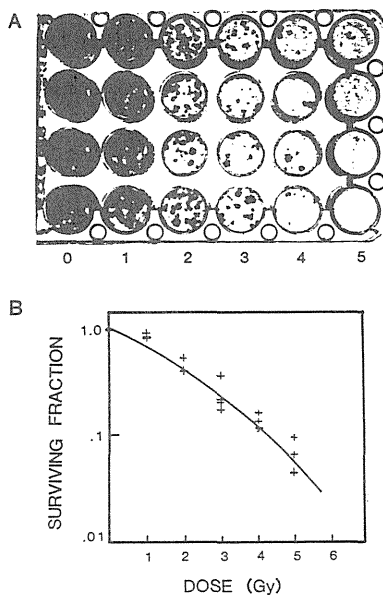


Fig.2 A) Photograph of a 24-well plate in which each well was inoculated with equal number of cells prepared from a human sarcoma. The wells were irradiated with increasing doses of X rays after 24 hr. in culture, returned to the incubator for 13 days, and then stained with 0.1% crystal violet. B) Survival curve obtained from the plate in Figure 2A. The integrated optical density (IOD) of each stained well was determined by digital analysis. Surviving fraction was determined by comparing the IOD of each dose point to the IOD of the controls. The +’s represent the individual wells and the curve was calculated from the data points using the linear-quadratic model. (Adapted from Ref. 14).

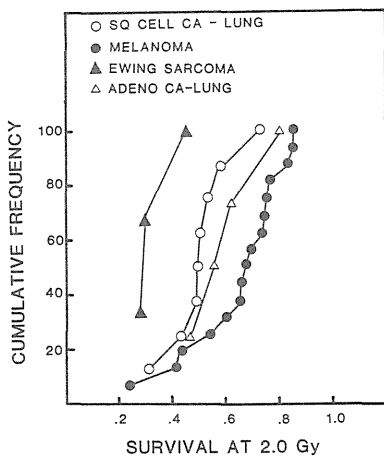


Fig.3 Cumulative frequency histogram of survival at 2.0 Gy of primary human tumor cultures of 5 histologic groups. (Adapted from Ref. 16).

cells appear to be the most resistant. However, there is a significant heterogeneity in cell radiosensitivity among different melanomas. At present, it is not known whether intrinsic cellular radiosensitivity correlates with clinical radioresponse, but recently analyzed preliminary study from our Department with head and neck carcinomas is encouraging in this respect (16). Local tumor control in patients whose tumor cells showed surviving fraction at 2 Gy to be less than 0.3 was much better than in those showing surviving fraction higher than 0.3.

It should be stressed, however, that it is not a realistic expectation to develop a single assay that will be 100% predictive. Rather, it is to expect that several predictive assays will together make a good predictive value. Also this research, although specifically focused, will advance our understanding of tumor biology and radiobiology that will likely open new avenues in tumor radiotherapy.

In conclusion, radiobiology and radiotherapy are virtually nonseparable disciplines. The advances in one impact on the other. Radiobiology has impacted indirectly on clinical radiotherapy by providing scientific rationale for already established clinical concepts or practices in radiotherapy. It has also had a direct impact on clinical radiotherapy by forming the basis for modification of established treatment procedures or for establishment of new treatment strategies.

References

1. Bergonie, J. and Tribondeau, L.: Comptes, Rendus de l'Académie des Sciences, **143** : 983, 1906 (Translation of original article : Interpretation of some results of radiotherapy and an attempt at determining a logical technique of treatment. *Radiat. Res.* **11** : 587-594, 1959).
2. Strandqvist, M. : Studien über die kumulative Wirkung der Röntgenstrahlen by Fraktionierung. *Acta Radiologica*, **55**, (Suppl.), 1-300, 1944.
3. Suit, H.D. : Radiation biology : The conceptual and practical impact on radiation therapy. *Radiat. Res.* **94** : 10-40, 1983.
4. Puck, T.T. and Marcus, P.I. : Action of X-rays on mammalian cells. *J. Exp. Med.* **103** : 653-666, 1956.
5. Deacon, J., Peckham, M.J., and Steel, G.G. : The radioresponsiveness of human tumors and the initial slope of the cell survival curve. *Radioth. Oncol.* **2** : 313-323, 1984.
6. Withers, H.R. and Peters, L.J. : Biologic aspects of radiation therapy. In *Textbook of Radiotherapy*, Ed.3. Fletcher G.H. (ed.) Philadelphia, Lea and Febiger, pp. 103-180, 1980.
7. Fletcher, G.H.: *Textbook of Radiotherapy*, Ed.3, Philadelphia, Lea and Febiger, 1980.
8. Thames, Jr., H.D., Withers, H.R., Peters, L.J. and Fletcher, G.H. : Changes in early and late

- radiation responses with altered dose fractionation. Implications for dose-survival relationships. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **8** : 219-226, 1982.
9. Barendsen, G.W., and Broerse, J.J.: Experimental radiotherapy of a rat rhabdomyosarcoma with 15 MeV neutrons and 300 kV X-rays. II. Effects of fractionated treatments applied five times a week for several weeks. *Europ. J. Cancer* **6** : 89-109, 1970.
 10. Bush, R.S., Jenkins, R., Alt, W., Beale, F., Bean, J., Dembo, A. and Pringle, J. : Definitive evidence for hypoxic cells influencing cure in cancer therapy. *Brit. J. Cancer.* **37** : 302-306, 1978.
 11. Dische, S. : Modifying radiosensitivity to improve clinical radiotherapy. *In Progress in Radio-oncology IV.*, Karcher, K.H., Kogelnik, H.D., Stadler, B. and Szepesi, T., Eds., Internat. Club of Radio-oncology, Vienna, Austria, pp.153-156, 1988.
 12. Milas, L. : Improving radiotherapy by reducing normal tissue damage with radioprotectors. *Cancer Bulletin* **38** : 223-231, 1986.
 13. Peters, L.J. and Fletcher, G.H. : Causes of failure in radiotherapy in head and neck cancer. *Radiother. Oncol.* **1** : 53-63, 1983.
 14. Peters, L.J., Brock, W.A., Johnson, T., Meyn, R.E., Tofilon, P.J. and Milas, L. : Potential methods for predicting tumor radiocurability. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **12** : 459-467, 1986.
 15. Brock, W.A., Baker, F., Spitzer, G., Peters, L.J., Bock, S., and Williams, M. : Radiosensitivity testing of human tumor cells in primary culture. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, In press.
 16. Peters, L.J., Brock, W.A. and Tucker, S.L. : Clinical correlations between *in vitro* radiosensitivity and local regional control of head and neck cancers. *In Progress in Radio-oncology IV*, Karcher, K.H., Kogelnik, H.D., Stadler, B. and Szepesi, T., Eds., Internat. Club of Radio-oncology, Vienna, Austria, pp. 115-119, 1988.

3 WHAT CAN WE EXPECT FOR CANCER THERAPY WITH HEAVY PARTICLES?

André Wambersie
Université Catholique de Louvain
Unité de Radiothérapie, Neutron-et Curiethérapie
Cliniques Universitaires St-Luc
1200, BRUXELLES (Belgium)

3 重粒子線によるがん治療に期待できるものは何か

アンドレ・ワムバージー*

概 要

新しいイオン化放射線が放射線治療へ導入されることになると将来が有望である。陽子線やヘリウム線のような低LET粒子線は放射線の物理的特性を活用して治療の改善を図ることが目的であるが、この二つの放射線は、低LET線であるために放射線生物学的特性から見た利点はない。臨床的には、ぶどう膜黒色腫(UVEAL MELANOMA)、脊索腫(CHORDOMA)、頭蓋骨基底部の軟骨肉腫(CHONDROSARCOMAS)、脊索側腫瘍(PARASPINAL TUMOURS)のような腫瘍型や部位について陽子線やヘリウム線を利用する利点が証明されている。

高LET放射線は、生物効果がX線とは異なるので治療の上で利点があると期待できる。歴史的には、高LET放射線を使う理論的な根拠は(速中性子線では)OERを減らすことであった。しかし、高LET放射線では細胞周期に関連する感受性差、細胞種間の感受性差、さらに修復能を減少させるという証拠がある。このようなことが起ると、細胞集団はどんな状況にあらうとも高LET放射線で照射されると低LET放射線で照

* ルーバン・カソリック大学

射された時に比べてずっと一様な反応をするようになる。こうなると照射対象となる正常組織や腫瘍の性質によっては利益にも不利益にもなる。したがって、結局は適用患者の選択が重要な問題になってくる。臨床データに関しては、速中性子線は唾液腺腫瘍(全体で67% VS 24%)、前立腺の腺癌(局所制御77% VS 31%)、ランドマイズ法)、何種かの肉腫(局所制御全体で53% VS 38%)などの治療ではフォトン治療より優れている。

重イオンの利用は、物理的特性の利点と腫瘍に対する高LET性の利点を組合せることにある。臨床的には、(中性子線治療経験から)高LET放射線が効果的であることが既に知られている腫瘍や技術的に問題があるような場所であろう。中性子線や陽子線での臨床経験は重粒子治療を妥当化するのに役に立っている。しかし、その費用や多種多様な要求に対しては国際的な協力が必要となろう。欧州では米国や日本のプロジェクトと異なり二つの重イオン治療プロジェクトが進行している。すなわち、西独ダルムシュタット市の重イオン研究所(GSI)の計画とユーリマ(EUropean Light Ion Medical Accelerator ; 欧州軽イオン医療加速器)の建設計画である。

Key words : neutrons, high-LET, protons, heavy ions, salivary gland tumours, prostate, sarcomas.

Abstract

Introduction of new types of ionizing radiations is a promising approach in radiation therapy. Particle beams, such as protons or helium ions (low-LET beams), aim at improving the physical selectivity of the irradiation.

On the other hand, no benefit has to be expected as far as radiobiology is concerned, since they stay in the field of low-LET radiations. The clinical benefit of using proton or helium ion beams has been demonstrated for several tumour types or sites such as uveal melanomas, chordomas or chondrosarcomas of the base of the skull, paraspinal tumours.

As far as high-LET radiations are concerned, they produce different biological effects compared to conventional X-rays, from which a potential therapeutic gain could be expected. Historically, the rationale for introducing high-LET radiation (in fact fast neutrons) was a reduction in OER. However with high-LET radiations, there is also evidence for a reduction in the differences in radiosensitivity related to cell cycle phase, to cell line, or a reduced importance of repair phenomena. In these conditions, all cell populations, in all situations, tend to respond in a more similar way when exposed to high-LET, as compared to low-LET radiations. This can bring an advantage—or a disadvantage—depending on the tumour characteristics and of the normal tissues at risk. This in

turn raises the crucial problem of patient selection.

As far as the clinical data are concerned, fast neutrons were found to be superior to photons in the treatment of salivary gland tumours (overall local control rate 67% vs 24%), prostatic adenocarcinomas (local control rate 77% vs 31%, randomized trial), and some types of sarcomas (overall local control rate 53% vs 38%).

Heavy ions combine the advantages of a high physical selectivity (similar to protons) and the potential advantage of high-LET for some types of tumours. The clinical indications for heavy ions would be those tumour types for which high-LET were already shown to be useful (i.e. the previous fast neutron experience) and those sites which raise difficult technical problems. The available clinical experience with fast neutrons and protons justifies the heavy-ion therapy programs. However their cost and complexity require an international collaboration. Besides the US and the Japanese projects, there are 2 heavy-ion therapy projects in Europe : at the GSI-Darmstadt in Germany and the EULIMA (European Light Ion Medical Accelerator) program.

Introduction

Application of new types of ionizing radiations is today one of the most promising approaches for improving the efficiency of radiotherapy. However, there are still controversies concerning the conclusions which can be drawn from the available clinical results with fast neutrons, and thus concerning the future of high-LET radiation in cancer therapy. This in turn raises controversies about the priority level which should be given to rather large and costly investments, such as those implied in heavy-particle therapy programs.

When discussing the place of non-conventional ionizing radiations, one has to distinguish :

- particle beams which only improve the physical selectivity of the irradiation, i.e. the dose distribution (e.g.: proton beams or helium ion beams) ;
- high-LET radiations which produce different types of biological effects, and which aim at improving the differential effect between tumour and normal tissues (e.g. : fast neutrons) ;
- the two approaches can be combined and one could seek after a high physical selectivity with high-LET radiation (e.g. : heavy ions).

A. Improvement of the physical selectivity with proton and helium ion beams

Historically, the major improvement in the efficiency of radiation therapy was the

replacement of conventional X-rays (200 kV X-rays) by high-energy photons or electrons. The clinical benefit was rapidly evident for all, or for the majority of the patients. This illustrates the importance of the physical selectivity in radiation therapy.

We are now close to make a further step : the introduction of proton beams. The characteristics of the proton beams make them superior to high-energy photons from the point of view of the physical selectivity. On the other hand, no advantage has to be expected from the biological point of view : for the high energy required to the protons in external irradiation, we stay in the field of low-LET radiations. For the present discussion, we can assume that helium ion beams are similar to proton beams.

The clinical benefit of proton beams has been demonstrated for several well selected tumour types or sites for which a physical selectivity is essential. The best example is the uveal melanoma, which has been treated since many years by proton beams at the Harvard cyclotron [1]. More than 1000 patients have been treated between 1974 and December 1986 : a local control rate of 96-98% and a survival of 80% were reported (H.D. Suit in [37]). These results compare well with those reported from Berkeley, where the recurrence rate for patients treated with helium ions was 4% (J.R. Castro in [38]).

An active program (OPTIS) is also carried out at the PSI-Villigen in Switzerland, where 462 patients were treated up to October 1988. Survivals at 2 and 4 years of 95% and 88% respectively were reported (L. Zografos in [37]).

In addition, at least 4 proton therapy programs for uveal melanoma are in preparation in Europe : in Uppsala-Sweden, Clatterbridge-United Kingdom, Nice-France, and Louvain-la-Neuve-Belgium. For the three last ones, proton therapy is planned with the cyclotrons currently used for fast neutron therapy [32].

Besides uveal melanoma, there are other localisations where the high physical selectivity of the proton beams can be fully exploited : radioresistant tumours close to critical organs such as chordomas or chondrosarcomas of the base of the skull, and paraspinal tumours. At the Harvard cyclotron with protons, local control rates of 82% and 63% were reported at 5 and 10 years respectively (H.D. Suit in [37]). A local control rate of 70% for chordomas, chondrosarcomas and meningiomas was reported from Berkeley after helium ion treatment (J.R. Castro in [38]).

In addition, there is an increasing number of new projects which aim at treating with protons many other tumour types, and larger proportions of patients. As a matter of fact, since an improved physical selectivity is, in itself, always a benefit, all photon patients could be, in principle, potential candidates for proton treatment.

Prostatic adenocarcinomas, soft tissue sarcomas, some head and neck and rectal

tumours are treated with protons at the Harvard cyclotron [1]. In Japan, 250 MeV protons are used at the University of Tsukuba for different localisations, including deep seated tumours (T. Kitagawa in [38]). The Swedish and Russian proton therapy programs have been described [24]. An ambitious therapy program using 250 MeV protons is in preparation at the PSI in Villigen [7]. In Orsay also, a proton therapy program using a 200 MeV synchrocyclotron is in preparation (J. Dutreix, personal communication).

However, one of the most impressive projects is probably the Loma Linda project at Los Angeles. A variable energy synchrotron (70-250 MeV), and 3 treatment rooms with isocentric rotating gantry, will be the "core" of a large oncology department. An additional horizontal fixed beam will be reserved for eye and brain irradiation. The facility is scheduled for completion by the end of 1989 ; once all treatment rooms will be fully operational, the centre is expected to have a capacity of 1000 new proton beam patients per year [29]. This kind of project really aims at systematically substituting proton to photon beams ; it raises a least 3 types of problems :

- 1) to what extent will the clinical benefit justify the increased cost and efforts involved ;
- 2) such program will imply, in a more or less near future, a redefinition of the radiotherapy network, and a progressive replacement of several small photon therapy units (or departments) by huge proton therapy facilities ;
- 3) finally, the benefit of the high physical selectivity of the proton beams will be fully exploited only to the extent that the accuracy in patient-beam positioning and in dosimetry would reach the same level as with photons. The proton beam generators should also be as reliable as the modern linear accelerators.

It is at present the task (and to some extent the duty) of the teams who have access to high-energy cyclotrons to provide a clear, and quick, response to that problem. It would be indeed a significant improvement to be able to deliver high-doses (60-70 Gy) to bronchus or oesophagus tumours, or to treat a Hodgkin patient, with a (nearly) full sparing of the spinal cord.

B. The differential effect and the potential advantage of fast neutrons and high-LET radiations

1. Radiobiological data

Historically, high-LET radiations (fast neutrons) were introduced in therapy because of the existence of hypoxic cells and the reduction in OER when increasing LET. However, high-LET radiations exhibit other differences in their biological properties, when compared to low-LET radiations :

- a reduction in the differences in radiosensitivity from cell line to cell line (i.e. “intrinsic radiosensitivity”) [2]. On the other hand, Fertil *et al.* [15] comparing the responses of 6 cell lines to X-rays and neutrons, observed a modification in their relative radiosensitivities (i.e. a given cell line more resistant to X-rays could be more sensitive to neutrons another cell line).
- a reduction in the differences in radiosensitivity related to the position of the cell in the mitotic cycle [12].
- less repair phenomena (in general), and as a consequence less difference between the responses of the cell populations to fractionated irradiation.

From the above arguments, it can be concluded that all cell populations, in all conditions, tend to respond in a more similar way when exposed to neutrons compared to photons. From that point of view, a reduction in OER can be considered as a particular aspect of a more general phenomenon, i.e. a reduced difference in radiosensitivity between cell populations [31][34].

A reduction in OER is always an advantage, since the normal tissues are – in general – well oxygenated. However, the benefit is often difficult to quantify and it is also difficult to identify those tumours for which the hypoxic cells constitute a major factor of radioresistance (although some information could be derived from the hyperbaric oxygen trials, and from the studies with specific sensitizers of hypoxic cells). A reduction in the differences of intrinsic radiosensitivity, or a reduction in the differences of radiosensitivity related to cell position in the mitotic cycle, or a general reduction in the repair phenomena could bring an advantage or a disadvantage depending on the characteristics of the tumour cell population and of the normal tissue(s) at risk for a particular patient. This raises the important problem of patient selection [34].

When the cancer cell population is more sensitive to X-rays than the normal cell population at risk, there is no benefit at all for using neutrons. On the contrary, neutrons will reduce the difference in radiosensitivity which selectively protects the normal cell population. In the reverse situation, when the cancer cell population is more resistant to X-rays than the normal cell population, neutrons could bring a benefit by reducing a difference in radiosensitivity which selectively protects the cancer cells (or even by killing more selectively some cancer cell lines).

Two practical consequences can be derived from the above radiobiological considerations :

1. The importance of patient selection. An absence of (or a wrong) selection of the patients could worsen the clinical results and lead to erroneous conclusions about the value of

fast neutrons. This could maybe explain a least some of the reported discrepancies in clinical results.

2. The need for a high physical selectivity with high-LET radiations, which proceeds from the reduced differences in radiosensitivity. When large differences in radiosensitivity are observed between the cancer and normal cell populations, a poor physical selectivity is of limited consequence. In typical cases, such as seminomas or lymphomas, the dose prescribed to the target volume is below the tolerance dose, and irradiation of a few additional cm^3 of normal tissue would be of little clinical importance (in chemotherapy, there is obviously no physical selectivity at all, and the potential therapeutic gain depends only on a biological selectivity). By contrast, when the differences in radiosensitivity are reduced with very high-LET radiation, the therapeutic efficiency mainly rests on a high level of physical selectivity ; sparing a few cm^3 of normal tissues then becomes of real importance.

In addition, with low-LET radiations, where repair phenomena play an important role, differences in repair capacity between the normal and cancer cell populations can be exploited by selecting appropriate fractionation regimen. This possibility is reduced with high-LET radiations since repair phenomena are in general smaller. Consequently, from a radiobiological point of view, high-LET radiations then appear to be a treatment modality with limited possibility of enhancing an eventual differential effect by selecting the optimum fraction sizes.

2. Clinical data

Fast neutrons therapy is applied today routinely in more than 17 centres throughout the world (Table I). Over 10000 patients have been treated so far with neutrons, either as the sole irradiation modality or in combination with other radiotherapy techniques, the longest follow-up exceeding 15 years. The available clinical data now enable us to identify the tumour types and/or sites for which neutrons were shown to bring a benefit, or for which neutrons should not be used, and on the other hand, to discuss other tumour sites for which the available information is incomplete or for which the reported results are conflicting [28][33].

Locally extended salivary gland tumours are the first type of tumours for which the superiority of fast neutrons was recognized. A survey of the results of the non-randomized clinical studies (Table II) as well as the results of the RTOG/MRC prospective randomized trial (Table III) overwhelmingly support the contention that fast neutrons offer a significant advance in the treatment of inoperable and unresectable primary or recurrent

TABLE I

THE NEUTRON THERAPY FACILITIES IN THE WORLD		
Centre	Neutron Producing Reaction	Comments
EUROPE		
MRC-Clatterbridge, U.K.	$p(62) + Be$	rotational gantry variable collimator
Orléans, France	$p(34) + Be$	vertical beam
UCL-Louvain-la-Neuve, Belgium	$p(65) + Be$	vertical beam (multileaf collimator and horizontal beam in preparation)
Hamburg, Fed. Rep. Germany	$(d + T)$	rotational gantry
Heidelberg, " " "	$(d + T)$	"
Munster, " " "	$(d + T)$	"
Essen, " " "	$d(14) + Be$	rotational gantry
UNITED STATES		
M D Anderson-Houston, Texas	$p(42) + Be$	rotational gantry variable collimator
Cleveland, Ohio	$p(43) + Be$	horizontal beam
UCLA-Los Angeles	$p(46) + Be$	rotational gantry variable collimator
Seattle, Washington	$p(50) + Be$	rotational gantry multileaf collimator
Fermilab	$p(66) + Be$	horizontal beam
ASIA		
National Institute of Radiological Sciences (NIRS)-Chiba, Japan	$d(30) + Be$	vertical beam multileaf collimator
Institute for Medical Sciences (IMS)-Tokyo, Japan	$d(14) + Be$	horizontal beam
Korea Cancer Center Hospital (KCCH)-Seoul, Korea	$d(50.5) + Be$	rotational gantry
King Faisal Hospital-Riyadh, Saudi Arabia	$p(26) + Be$	rotational gantry
AFRICA		
National Accelerator Centre (NAC) Faure, Rep. South Africa	$p(66) + Be$	rotational gantry variable collimator

From ICRU [22] and Tsunemoto *et al.* [30]

TABLE II

REVIEW OF THE LOCO-REGIONAL CONTROL RATES FOR MALIGNANT SALIVARY GLAND TUMOURS TREATED DEFINITELY WITH RADIATION THERAPY		
FAST NEUTRONS		
Authors	Number of patients*	Loco-regional control (%)
Saroja <i>et al.</i> , 1987	113	71 (63%)
Catterall and Errington, 1987	65	50 (77%)
Battermann and Mijnheer, 1986	32	21 (66%)
Griffin <i>et al.</i> , 1988	32	26 (81%)
Duncan <i>et al.</i> , 1987	22	12 (55%)
Tsunemoto <i>et al.</i> (in press)	21	13 (62%)
Maor <i>et al.</i> , 1981	9	6
Ornitz <i>et al.</i> , 1979	8	3
Eichhorn, 1981	5	3
Skolyszewski, 1982	3	2
Overall	310	207 (67%)
LOW-LET RADIOTHERAPY PHOTON AND/OR ELECTRON BEAMS, AND/OR RADIOACTIVE IMPLANTS		
Authors	Number of patients*	Loco-regional control (%)
Fitzpatrick and Theriault, 1986	50	6 (12%)
Vikramet <i>et al.</i> , 1984	49	2 (4%)
Borthne <i>et al.</i> , 1986	35	8 (23%)
Rafla, 1977	25	9 (36%)
Fu <i>et al.</i> , 1977	19	6 (32%)
Stewart <i>et al.</i> , 1968	19	9 (47%)
Dobrowsky <i>et al.</i> , 1986	17	7 (41%)
Shidnia <i>et al.</i> , 1980	16	6 (38%)
Elkon <i>et al.</i> , 1978	13	2 (15%)
Rossmann, 1975	11	6 (54%)
Overall	254	61 (24%)

* Patients treated *de novo* and for gross disease after a post-surgical recurrence are included, but not patients who were treated postoperatively for microscopic residual disease.

Updated from B.R.Griffin *et al.* [17], T.W. Griffin *et al.* [20], and Tsunemoto *et al.* [30]

TABLE III

NEUTRON THERAPY OF INOPERABLE SALIVARY GLAND TUMOURS. RESULTS OF A RTOG/MRC PROSPECTIVE RANDOMIZED TRIAL		
	Photons	Neutrons
Number of evaluable patients	12	13
Loco-regional control		
at 1 year	17%±11	67%±14
at 2 year	17%±11	67%±14
Survival		
at 1 year	67%±12	77%±12
at 2 year	25%±14	62%±14

Modified from Griffin *et al.* 1988 [20]

TABLE IV

REVIEW OF THE LOCAL CONTROL RATES FOR SOFT-TISSUE SARCOMAS TREATED DEFINITELY WITH RADIATION THERAPY		
NEUTRONS		
Institutions	Number of patients*	Local control (%)
Essen + Heidelberg, 1983	60	31 (52%)
Hammersmith, 1987	50	26 (52%)
Hamburg, 1987	45	27 (60%)
TAMVEC, 1980	29	18 (62%)
Fermilaboratory, 1984	26	13 (50%)
Seattle, 1986	21	15 (71%)**
Louvain-la-Neuve, 1982	19	4 (21%)
Amsterdam, 1981	13	8 (61%)
NIRS, 1979	12	7 (58%)
Edinburgh, 1986	12	5 (42%)
MANTA, 1980	10	4 (40%)
Overall	297	158 (53%)
PHOTONS/ELECTRONS		
Institutions	Number of patients*	Local control (%)
Tepper & Suit, 1985	51	17 (33%)
Duncan & Dewar, 1985	25	5 (20%)
McNeer <i>et al.</i> , 1968	25	14 (56%)
Windeyer <i>et al.</i> , 1966	22	13 (59%)
Leibel <i>et al.</i> , 1983	5	0 (33%)
Overall	128	49 (38%)

* Patients treated *de novo* or for gross disease after surgery are included but not patients treated postoperatively for microscopic residual disease or for limited macroscopic residual disease.

** Two-year actuarial data.

Modified from Laramore *et al.* [23]

malignant salivary gland tumours [17][20][30].

Remarkably good results have also been reported with neutron therapy for locally extended tumours of the paranasal sinuses. In the series treated at the Hammersmith Hospital, 86% (37/43) of the patients showed complete remission and relief of symptoms was noticed in all cases [14]. The efficiency of fast neutrons, for some tumours in the head and neck area, was also demonstrated by 2 RTOG randomized trials especially for locally advanced tumours and with fixed metastatic lymph nodes [18][19].

As far as soft tissue sarcomas are concerned, a review of the results reported from the different centres (Table IV) indicates an overall local control rate after neutron therapy of 53% for inoperable tumours, which is higher than the 38% control rate currently observed after low-LET radiation for similar patients series. For primary bone tumours (Table V) and differentiated chondrosarcomas (Table VI), better results have also been observed after neutron therapy compared to the current photon therapy results [23].

Prostatic adenocarcinomas, having in general a long doubling time, should be a good

TABLE V

REVIEW OF THE LOCAL CONTROL RATES FOR OSTEOSARCOMAS AFTER NEUTRON-AND PHOTON THERAPY*		
NEUTRONS		
Institutions	Number of patients	Local control (%)
NIRS	41	33 (80%)
Essen	24	12 (50%)
Seattle	13	3 (23%)+
Fermilab	9	2
Edinburgh	5	1 ⁺⁺
Amsterdam	3	0 ⁺⁺
MANTA	1	1
M. D. Anderson Hospital	1	0
Overall	97	52 (54%)
PHOTONS		
Institutions	Number of patients	Local control (%)
De Moor	43	9 (33%)
Beck <i>et al.</i>	21	1 (5%)
Tudway	9	5
Overall	73	15 (21%)

* Patients treated post-operatively for microscopic residual disease or for limited macroscopic residual disease are not included.

+ Two year actuarial data.

++ Persistent mass and calcification treated as failure.

Modified from Laramore *et al.*, [23].

TABLE VI

REVIEW OF THE LOCAL CONTROL RATES FOR CHONDROSARCOMAS AFTER NEUTRON-AND PHOTON THERAPY*		
NEUTRONS		
Institutions	Number of patients	Local control (%)
Fermilab	16	9
MANTA	9	7
Seattle	9	4 ⁺
Amsterdam	6	0 ⁺⁺
Edinburgh	5	0 ⁺⁺
M. D. Anderson Hospital	4	4
NIRS	2	1
Overall	51	25 (49%)
PHOTONS		
Institutions	Number of patients	Local control (%)
Princess Margaret Hospital	20	7 (35%)
M. D. Anderson Hospital	10	3 (30%)
Overall	30	10 (33%)

* Patients treated post-operatively for microscopic residual disease or for limited macroscopic residual disease are not included.

+ Two year actuarial data.

++ Persistent mass and calcification treated as failure.

Modified from Laramore *et al.* [23].

indication for neutron therapy taking into account the available radiobiological data [3]. In fact, the benefit of neutron therapy was rapidly recognized in several centres and initially, in Hamburg, by Franke [16]. Excellent results were also achieved at Louvain-la-Neuve using mixed schedule (3 neutron and 2 photon fractions per week) [26]. At NIRS, in Chiba, for prostatic adenocarcinomas Stage A2, B and C, local controls at 3 years of 3/3, 3/5 and 8/14 respectively were reported [30].

The most convincing data are the result of a randomized trial, initiated by the RTOG, on locally advanced (C, D1) adenocarcinomas of the prostatic gland [27]. The local control rate was 77% for patients treated with mixed schedule (55 patients) and only 31% for patients receiving photons alone (36 patients) ($P < 0.01$). Actuarial survival rates at 8 years ("determinantal" survivals, i.e. adjusted by exclusion of intercurrent deaths) were 82% and 54% respectively ($P = 0.02$).

Of course, one has to take into account the slow natural history of prostatic adenocarcinoma and to be careful before deriving definitive conclusions. However, the clinical data at present available indicate a significant benefit for fast neutrons (used in mixed schedule) compared to the current photon irradiation modalities for locally advanced cases. The

RTOG is now performing another randomized trial comparing neutrons only to conventional photon treatment.

The value of fast neutrons has been assessed in other tumour types or sites : no definitive conclusions can be drawn yet, but some of the results are promising [8][21][28][30][35][36]. In fact, the general conclusion which emerges from the review of the clinical results is in agreement with what could be expected from the radiobiological data : replacement of X-rays by neutrons-or more generally of low-LET by high-LET radiation-brings a benefit for some types of tumours and, on the contrary, a loss for other tumours.

The tumours for which fast neutrons were found to be superior to conventional X-rays are listed in Table VII. They are, in general, slowly growing and well differentiated. The benefit observed for fast neutrons could to some extent be expected from the observations reported by Battermann [3].

TABLE VII

CLINICAL INDICATIONS FOR NEUTRON THERAPY (SUMMARY)
1. SALIVARY GLAND TUMOURS locally extended, well differentiated
2. PARANASAL SINUSES adenocarcinomas, adenoid cystic carcinomas, other histology (?)
3. SOME TUMOURS OF THE HEAD AND NECK AREA locally extended, metastatic adenopathies
4. SOFT TISSUE SARCOMAS, OSTEOSARCOMAS, CHONDROSARCOMAS especially slowly growing/well differentiated
5. PROSTATIC ADENOCARCINOMAS locally extended
6. MELANOMAS inoperable/recurrent.

From Wambersie *et al.* [36]

A second group of tumours, where neutrons should not be used, includes brain tumours for which negative results were reported from most of the centres [28]. These observations are again in agreement with the radiobiological data and especially the high RBE value observed for CNS. However, a possible benefit for neutron boost should be further investigated [9]. In addition, neutrons should not be used for tumours showing an exquisite radiosensitivity to X-rays (e.g. seminomas, lymphomas, or in general poorly differentiated rapidly growing tumours). Neutrons would then reduce a differential effect which selectively protects the normal tissues.

A third group of tumours includes those tumour types for which further studies are

necessary. However, when evaluating the results, at least 2 factors need to be taken into account :

- a) some of the conflicting results which were reported could be related to differences in patient recruitment, and to the fact that in some studies it was not possible to identify the patient “subgroups” for which neutrons could bring a benefit. In that respect, the development of individual predictive tests is essential.
- b) in many centres, and especially in the first patient series, neutron treatments were applied in “sub-optimal” technical conditions (e.g. : beam penetration, skin sparing, fixed beams, etc...). These technical factors could bias the conclusions that one would derive concerning the value of fast neutrons. For example, one cannot derive valid conclusions from bladder tumours irradiated with d(16) + Be beams [13]. Similarly, the difficulty of treating cervix tumours with a fixed horizontal beam was stressed at TAMVEC [25].

As far as the proportion of patients, suitable for neutron therapy is concerned, figures ranging from 10 to 20% have been suggested. They correspond to the percentages of radiotherapy patients for which neutrons were shown to be superior than conventional

TABLE VIII

SUMMARY OF THE CLINICAL RESULTS OBTAINED WITH HELIUM IONS AND NEON IONS AT BERKELEY			
Tumour site	Local control rate with:		
	Helium ions	Neon ions	Conventional Treatment
Salivary gland		80 % (10 patients)	28 % (188 patients) (Literature review)
Nasopharynx	53 %	63 %	21 %
Paranasal sinus	(13 patients)	(21 patients)	(97 patients) (UCSF)
Sarcoma	65 % (17 patients)	45 % (24 patients)	28 % (Literature review)
Prostate		100 % (9 patients)	60-70 % (Literature review)
Lung		39 % (18 patients)	22-40 % (UCSF)
Glioblastoma		Median survival:	Median survival:
Brain		17 months (13 patients)	9-12 months (UCSF, RTOG, NCOG)

Modified from J.R. Castro [10].

X-rays. These percentages are probably at the lower limit since they were often obtained with low energy cyclotrons and poor physical selectivity. It is likely that with high-energy, hospital based modern cyclotrons, neutron therapy will be found to be useful for a larger proportion of patients. In addition, neutrons could extend the field of the indications of radiation therapy by allowing to envisage the treatment of groups of tumours “traditionally” considered to be radioresistant (e.g. adenocarcinomas).

Finally, the results reported from Berkeley should be mentioned (Table VIII) ; some were obtained with neon ion (high-LET) and some with helium ions (low-LET) [10][11]. The comparison could in principle indicate if there was any benefit for high-LET radiations, since the dose distributions were similar for both beams. However, the patient series were too small and in addition not comparable. In particular, the soft tissue sarcomas treated with neon ions were far most advanced, and the clinical impression suggests a greater efficiency of neon ions (which is not reflected in the Table). This again illustrates the difficulty of comparing non randomized groups of patients.

C. The rationale for heavy ion therapy

The heavy-ions combine the advantage of a high physical selectivity with the potential advantage of high-LET radiation for the treatment of some tumour types. As far as the physical selectivity is concerned, heavy ions are similar to protons or helium ions. Heavy ion beams have even a smaller penumbra, but it is questionable whether this could be of clinical relevance. More important is the fact that, with heavy ions, the higher RBE at the level of the spread out Bragg peak further improves the advantage of the dose distribution. As far as the high-LET advantage is concerned, the LET at the level of the spread out Bragg peak depends on the type of particle, and on the width of the spread out Bragg peak. These factors then also influence the RBE, OER, etc...

From the radiotherapy point of view, the use of heavy ion beams is justified by 3 sets of arguments :

- 1) the radiobiological and clinical data indicating that, for the treatment of some tumours types and/or sites, high-LET radiations could be superior to low-LET radiations (see above section B) ;
- 2) the fact that a high physical selectivity is even more important with high- than with low-LET radiations, due to a general reduction in the difference of radiosensitivity between cell populations (see discussion in section B 1) ;
- 3) the encouraging results reported from Berkeley, which are an additional argument, although they were obtained on a limited, selected, group of patients.

The general principles of patient selection for heavy-ion beam therapy are presented on Table IX. Two main groups of indications can be identified depending whether the biological effects of high-LET radiations (A) or the high physical selectivity of the beams (B) is thought to be the most important factor. In addition, more specific indications can be proposed (C).

TABLE IX

GENERAL PRINCIPLES OF PATIENT SELECTION FOR HEAVY-ION BEAM THERAPY	
To take advantage of the biological and physical characteristics of the beams	
A.	- The radiobiological advantage (high-LET) is thought to be the most important factor, followed by the physical selectivity of the beams
a.	Where high-LET radiation already demonstrated to be useful <ul style="list-style-type: none"> - salivary gland tumours - paranasal sinuses - fixed lymph nodes - prostatic adenocarcinomas - sarcomas, etc.
b.	where additional information is needed <ul style="list-style-type: none"> - pelvic tumours : bladder, rectum, cervix, etc. - other tumours : stomach, biliary duct, etc.
B.	- The physical selectivity (dose distribution) of the beams is thought to be the most important factor followed by the radiobiological advantage of high-LET
	Tumours in technically difficult situations, but where high-LET radiation may be better than low-LET radiation (e.g. slowly growing tumours) <ul style="list-style-type: none"> - adjacent to CNS : meningioma, pharyngioma, chordoma, optic nerve, glioma, AVM, paraspinal cord tumour, paraaortic lymph node, etc. - root of neck disease : upper oesophagus, post cricoid carcinoma, etc - thoracic disease : tumour of the lung with mediastinal disease after resection of primary, mesothelioma, etc.
C.	- Additional indications
	<ul style="list-style-type: none"> - Where possible later surgery should not be prejudiced : tongue, avoiding mandible, etc. - tumours in Children - very poor prognosis disease : unresectable hepatoma, pancreas, retroperitoneal sarcoma, recurrent after previous radiotherapy, etc.

Modified from G.R.H. Sealy in [38].

Concerning the first group of indications (for which the high-LET is considered to be most important), it is possible to make a tentative prediction of the clinical benefit which could be expected from the heavy ion beams by considering both the conclusions of the neutrons studies and of the heavy ion results from Berkeley. In fact, the best results from Berkeley correspond to the indications for fast neutrons. Table X summarizes and compares both series of results.

However, two types of comments need to be made. Firstly, the patient series are not fully comparable (they were not randomized) and one should then be careful before deriving definite conclusions from their comparison. Secondly, Table X probably reflects a lower limit of what could be expected with heavy ions, since—as often stressed—neutrons were, in many centres, not applied in optimal technical conditions. A similar remark also applies, but for other reasons, to the neon results for which in addition there was a strong patient selection.

Concerning the second group of indications for heavy ions (for which the physical selectivity is considered to be the most important factor), we can normally expect the same results as with protons, but with the additional advantage of high-LET radiations for slowly growing tumours.

Only a few heavy-ion therapy facilities are planned in the world : the facility at the NIRS in Japan which is under construction, the LIBRA project in the USA, and in Europe the GSI project in Darmstadt-FRG and the EULIMA project. Due to their high cost and complexity, an international cooperation is necessary in order to ensure the appropriate patient recruitment and a rapid exchange of information. Patient recruitment should aim in principle :

- at selecting for heavy ions tumour types or sites for which there is evidence that better results could normally be expected than with conventional treatments (see e.g. Table IX A) ;
- at initiating randomized trials designed to answer specific questions of great relevance in radiobiology and/or therapy.

TABLE X

SUMMARY OF THE CLINICAL RESULTS OBTAINED WITH HIGH-LET RADIATIONS (FAST NEUTRONS AND NEON IONS)		
Tumour site (or type)	Local control rates after:	
	Fast neutrons	Neon ions
- salivary gland tumours	67% (24%)	80% (28%)
- paranasal sinuses	67%	63% (21%)
- fixed lymph nodes	69% (55%)	
- sarcomas	53% (38%)	45% (28%)
- prostatic adenocarcinomas	77% (31%)	100% (60-70%)

() for comparison, the local control rates currently obtained with conventional low-LET radiations (see Table II, IV, VIII)

References

- 1 Austin-Seymour, M., Urie, M., Muzenrider, J., Willett, C., Goitein, M., Verhey, L., Gentry, R., McNulty, P., Koehler, A., and Suit, H.: Considerations in fractionated proton radiation therapy clinical potential and results. *Radiotherapy and Oncology*, 1989 (in press).
- 2 Barendsen, G. W. and Broerse, J.J.: Differences in radiosensitivity of cells from various types of experimental tumors in relation to the RBE of 15 MeV neutrons. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **3**, 211-214, 1977.
- 3 Battermann, J.J.: Clinical application of fast neutrons, the Amsterdam experience. Thesis, University of Amsterdam (The Netherlands), 1981.
- 4 Battermann, J.J.: Results of d + T fast neutron irradiation on advanced tumours of bladder and rectum. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **8**, 2159-2164, 1982.
- 5 Battermann, J.J., Hart, G.A.M., and Breur, K.: Dose-effect relations for tumour control and complication rate after fast neutron therapy for pelvic tumours. *Br. J. Radiol.* **54**, 899-904, 1981.
- 6 Battermann, J.J., and Mijnheer, B.J.: The Amsterdam fast neutron radiotherapy project : a final report. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **12**, 2093-2099, 1986
- 7 Blattmann, H.: A horizontal proton beam line for the development of a scanning technique. *Radiotherapy and Oncology*, 1989 (in press).
- 8 Breit, A., Burger, G., Scherer, E. and Wambersie, A.: Advances in radiation therapy with heavy particles. *Strahlentherapie*, **161** (12), 729-806, 1985.
- 9 Breteau, N., Destembert, B., Favre, A., Phéline, C. and Schlienger, M.: Fast neutron boost for the treatment of grade IV astrocytomas. *Strahlentherapie und Onkologie*, in press.
- 10 Castro, J.R.: Heavy ion radiotherapy. In *Third Workshop on Heavy Charged Particles in Biology and Medicine*, G. Kraft and U. Grundinger (Ed.). GSI-Darmstadt, Report 87-11, ISSN 0171-4546, 1987, KO I-5.
- 11 Castro, J.R., Gademann, G., Collier, J.M., Linstad, D., Pitluck, S., Woodruff, K., Gauger, G., Char, D., Gutin, Ph., Phillips, Th. L., Chu, W. and Henderson, Sh.: Strahlentherapie mit schweren Teilchen am Lawrence Berkeley Laboratory der Universität von Kalifornien. *Strahlentherapie und Onkologie*, **163**, 9-16, 1987.
- 12 Chapman, J.D.: Biophysical models of mammalian cell inactivation by radiation. In *Radiation Biology in Cancer Research*, R.E. Meyn and H.R. Withers (Eds). Raven Press, New-York, 21-32, 1988.
- 13 Duncan, W., Arnott, S.J., Jack, W.J.L., Macdougall, R.H., Quilty, P.M., Rodger, A., Kerr, G.R. and Willimas, J.R.: A Report of a randomised trial of d(15)+Be neutrons compared with megavoltage X-ray therapy of bladder cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **11** : 2043-

- 2049, 1985.
- 14 Errington, R.D.: Advanced carcinoma of the paranasal sinuses treated with 7.5 MeV fast neutrons. *Bull. Cancer* (Paris), **73**, 569-576, 1986.
 - 15 Fertil, B., Deschavanne, P.J., Gueulette, J., Possoz, A., Wambersie, A. and Malaise, E.P.: *In vitro* radiosensitivity of six human cell lines. II. Relation to the RBE of 50-MeV neutrons. *Radiation Research*, **90**, 526-537, 1982.
 - 16 Franke, H.D., Langendorff, G., and Hess, A.: Die Strahlenbehandlung des Prostata-Carcinoms in Stadium C mit schnellen Neutronen. *Verhandlungsbericht der Deutschen Gesellschaft für Urologie*, 32 Tagung 1980, Berlin, Heidelberg, New-York Springer-Verlag, 175-180, 1981.
 - 17 Griffin, B.R., Laramore, G.E., Russell, K.J., Griffin, T.W. and Eenmaa, J.: Fast neutron radiotherapy for advanced malignant salivary gland tumors. *Radiotherapy and Oncology*, **12**, 105-111, 1988.
 - 18 Griffin, T.W. Davis, R., Hendrickson, F.R., Maor, M.H., Laramore, G.E., and Davis, L.: Fast neutron radiationtherapy for unresectable squamous cell carcinomas of the head and neck : the results for a randomized RTOG study. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **10**, 2217-2223, 1984.
 - 19 Griffin, T.W., Davis, R., Laramore, G.E., Hussey, D.H., Hendrickson, F.R. and Rodriguez-Antunez, A.: Fast neutron irradiation of metastatic cervical adenopathy. The results of a randomized RTOG study. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **9**, 1267-1270, 1983.
 - 20 Griffin, T.W., Pajak, T.F., Laramore, G.E., Duncan, W., Richter, M.P. Hendrickson, F.R. and Maor, M.H.: Neutron vs photon irradiation of inoperable salivary gland tumors : results of an RTOG-MRC cooperative randomized study. (in press).
 - 21 Hall, E.J., Graves, R.G., Phillips, T.L. and Suit, H.D.: Proceedings of the CROS/RTOG Part III International Workshop "Particle Accelerators in Radiation Therapy" Houston, February 10 -11, 1982. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **8**, 1982.
 - 22 International Commission on Radiation Units and Measurements (ICRU), Clinical Neutron Dosimetry, Part I, Bethesda, Maryland, 20814, USA (in press).
 - 23 Laramore, G.E., Griffeth, J.T., Boespflug, M., Pelton, J.G., Griffin, T.W., Griffin, B.R., Russell, K.J., and Koh, W.: Fast neutron radiotherapy for sarcomas of soft tissue, bone, and cartilage. (in press).
 - 24 Larsson, B.: Use of medium energy particles in radiobiology and radiotherapy. *J. Européen de Radiothérapie*, **3**, 223-234, 1984.
 - 25 Maor, M.H., Gillespie, B.W., Peters, L.J., Wambersie, A., Griffin, T.W., Thomas F.J., Cohen, L., Conner, N. and Gardner, P.: Neutron therapy in cervical cancer : results of a phase III RTOG study. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **14**, 885-891, 1988.

- 26 Richard, F., Renard, L. and Wambersie, A.: Current results of neutron therapy at the UCL, for soft tissue sarcomas and prostatic adenocarcinomas. *Bull. Cancer* (Paris), **73**, 562-568, 1986.
- 27 Russell, K.J., Laramore G.E., Krall, J.M., Thomas, F.J. Maor, M.H., Hendrickson, F.R., Krieger, J.N., and Griffin, T.W.: Eight years experience with neutron radiotherapy in the treatment of stages C and D prostate cancer : Updated results of the RTOG 7704 randomized clinical trial. *The Prostate* **11**, : 183-193, 1987.
- 28 Schmitt, G. and Wambersie, A.: Review of the clinical results of fast neutron therapy. *Radiotherapy and Oncology* (in press).
- 29 Slater, J.M. and Miller, D.W.: Loma Linda University proton therapy facility. *In Third Workshop on Heavy Charged Particles in Biology and Medicine*, G. Kraft and U. Grundinger (Ed.), GSI-Darmstadt, Report 87-11, ISSN 0171-4546, 1987, KO K-2.
- 30 Tsunemoto, H., Morita, S., Satoh, S., Iino, Y. and Yul Yoo, S.: Present status of fast neutron therapy in Asian countries. *Strahlentherapie und Onkologie*, (in press).
- 31 Tubiana, M., Dutreix, J., and Wambersie, A.: Radiobiologie. Hermann Ed., Paris, 1986.
- 32 Vynckier, S., Meulders, J.P., Robert, P., and Wambersie, A.: The protontherapy program at the cyclotron "Cyclone" of Louvain-la-Neuve (first dosimetric results). *European Journal of Radiation Oncology*, **5**, 245-247, 1984.
- 33 Wambersie, A.: Fast neutron therapy at the end of 1988. A survey of the clinical data. *Strahlentherapie und Onkologie* (in press, 1989).
- 34 Wambersie, A., Barendsen, G.W., and Breteau, N.: Overview and prospects of the application of fast neutrons in cancer therapy. *European Journal of Radiation Oncology*, **5**, 248-264, 1984.
- 35 Wambersie, A. and Battermann, J.J.: Review and evolution of clinical results in the EORTC heavy-particle therapy group. *Strahlentherapie*, **161**, 746-755, 1985.
- 36 Wambersie, A., Bewley, D.K. and Lalanne, C.M.: Prospects for the application of fast neutrons in cancer therapy. Radiobiological bases and survey of the clinical data. *Bull. Cancer* (Paris) **73**, 546-561, 1986.
- 37 Proceedings of the International Workshop on Particle Therapy ; Meeting of the EORTC Heavy Particule Therapy Group, October 28-29, 1988, University of Essen, Fed. Rep. of Germany (in press : *Strahlentherapie und Onkologie*, 1989)
- 38 Proceeding of the EULIMA Workshop on the potential value of light ion beam therapy, November 3-5, 1988, Centre Antoine-Lacassagne (CAL), Nice, France (in press CAL-Nice, 1989).

I 細胞における放射線損傷

- 1 細胞に対する放射線の作用 坪井 篤
- 2 細胞の形質転換及び突然変異 渡辺 正己／鈴木 啓司
- 3 細胞の傷害修復(潜在的致死損傷) 内海 博司

1 細胞に対する放射線の作用

坪井 篤*

Cellular Response to low LET Radiation

Atushi Tsuboi

Division of Radiation Hazards, National Institute of Radiological Sciences
9-1, Anagawa 4-chome, Chiba-shi, 260 Japan

Abstract

Several models for cell killing by radiation had been offered by many authors : target model, linear quadratic model and so on. One of them is a linear quadratic model (LQ model) which may be applicable to radiation therapy, because it has been demonstrated that not only cellular responses but also normal tissue including tumor tissue to radiation can be expressed by the same factor in LQ model (α/β ratio). Moreover, the studies on LQ model in vitro and in vivo can allow to improve the regimens of radiation therapy like hyperfractionation. Also radiation therapy is, in general, carried out according to the regimens of fractionated irradiation of low LET radiation. Therefore, the experimental data for cell killing by fractionated irradiation would provide basic knowledge in the study of cancer radiation therapy. Thus, cellular responses to fractionated irradiation were examined by using 3 cell lines : Hela cells, V79 cells and L cells.

When the cells were exposed to fractionated doses of x-rays with 2 Gy per fraction per day, Hela cells were most radiosensitive and V79 cells were most radioresistant in terms of cell killing. The difference in effect of cell killing was

* 放射線医学総合研究所

enlarged between two cell lines in the fractionated irradiation of 1 Gy per fraction with a daily dose of 2 Gy at 3 hr intervals. The radiosensitivity of L cells was always median among 3 cell lines. In the analysis of flow cytometer, G2 block for V79 cells and G1 accumulation for Hela cells were major in the cell populations after 3 fractions of the irradiation (2 Gy per fraction). However, L cells showed both G1 and G2 block during the same fractionation.

はじめに

ガンの放射線療法に関し、細胞に対する放射線の作用という観点に立つと、ガン細胞の致死作用と正常組織細胞の障害とその回復という問題に集約されるであろう。すなわち、放射線治療は放射線によるガンの致死効果だけを考慮して行われているわけではなく、常に正常組織細胞の保持を配慮しながら行われているのが現状である。そこには長い間に経験的に開発された方法である分割照射法がこれらの問題をカバーする重要な役割を果たしている。しかし、回復の問題は他項に記載されるので、本項では述べない。したがって、本項では、通常ガンの放射線治療に用いられている低LET放射線に対する細胞の致死効果の基本的問題とそれに関連した組織反応について言及するとともに、放射線療法の基本である分割照射に対する細胞の致死効果についての研究成果についても言及したい。

I. 放射線による細胞致死の線量効果と組織反応

放射線によるガン細胞の致死効果を定量的に表わそうという試みは1950年代に進められ、1956年、T.T. Puckが人の子宮ガン由来のHeLa細胞のコロニー形成法を確立し、放射線による細胞の生死の判定の定量化に成功した¹⁾。すなわち、図1に示すような、低線量域で肩を持ち、高線量域で片対数に対し直線性を示す、いわゆる、細胞生存率-線量効果曲線が得られた。この曲線の傾斜から平均致死線量(Do dose)が求められ、また、肩の性質を表わすため、この曲線を外挿したX軸の線量をDq doseとし、それらの値はこの生存率曲線から得られる細胞の放射線感受性のパラメーターとして用いられた。その後、細胞培養技術や他の技法の進展にともない、in vitroに増殖するガン細胞だけでなく、in vivoに増殖する正常細胞やガン細胞の放射線の致死効果のパラメーターが多くの人びとにより求められた^{2,3)}。その主なものは表1に示した。この表からも明らかなように、Do doseは正常組織由来の細胞とガン細胞との間に大きな相違が認められない。また、ここに示した範囲の細胞では、Dq doseも一定の傾向を示さない。したがって、ここに示したパラメーターは放射線治療には有用とはならなかった。

その後、これらの細胞生存率-線量効果関係に対し細胞の放射線死のメカニズムが想定され、幾多のモデルが提唱された³⁾。その中でも、近年ガン治療との関連で盛んに論議されている直線-2次曲線モデル(LQモデル)について簡単に説明する。LQモデルは1972年にKellerer-Rossiによりマイクロシメトリの観点から⁴⁾、また、Leenhurts-ChadwickによりDNAの2重鎖を

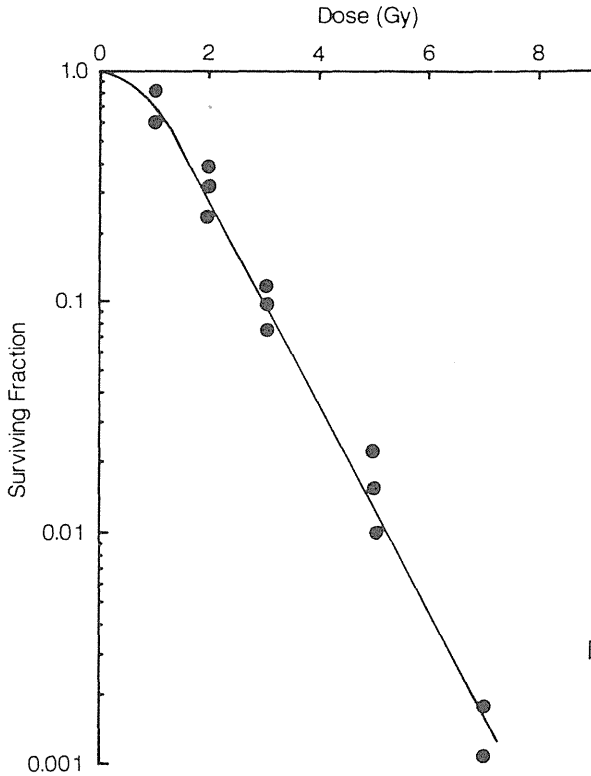


図1 放射線に対する哺乳動物細胞の生存率曲線の例
Typical Survival Response to Radiation for Mammalian Cells

表1 細胞株と組織のDo線量とDq線量

Do Dose and Dq Dose on Various cell lines and Tissues

Cell Lines or Tissue	Origins	Do	Dq
HeLa S ³	Human	1.2 (Gy)	1.2 (Gy)
Skin Fibroblast	Human (3)	1.26	—
L	Mouse	1.4	1.0
Bone Marrow	Mouse	1.1	0.9
AKR	Mouse (2)	1.36	1.75
Ehrlich Acites	Mouse (2)	1.09	2.0
V79	Chinese Hamster	1.8	1.3

切断(oneトラックによる切断とtwoトラックによる切断)を想定して、それぞれ独自に提唱されたものである。この式は $-\log E = (\alpha D + \beta D^2) \dots (1)$ であり E は効果、 D は線量で α と β は恒数である。この式の α 値は低線量域のカーブの性質を示すもので、その値が大きくなれば、初期勾配が小さくなる。一方 β 値は高線量域のカーブの傾斜の性質を表わしている。したがって、 α/β の値はその細胞生存率曲線の特性を示すことになる。

次にこの細胞生存率曲線のLQモデルが実験腫瘍の放射線反応とどのように関連するかを簡単に記述する。1976年、DouglasとFowlerは分割照射によりヒフ反応を調べ、その同一効果を表わす線量の逆数を縦軸にとり、横軸に分割線量をとってプロットすると図2のような直線が

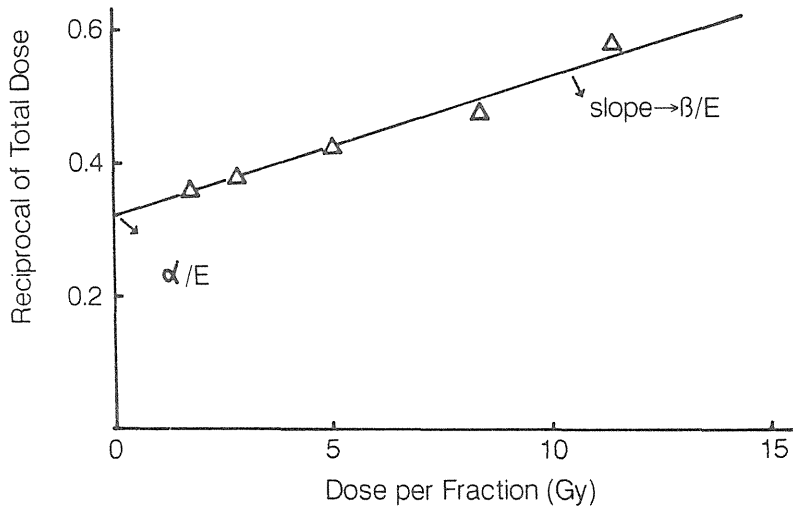


図2 マウス皮膚反応に関する分割線量と全線量の逆数との関係
 Reciprocal Total Dose Against Dose per Fraction for Mouse Skin Reaction

得られると報告した⁵⁾。この直線は $1/nD = (\alpha/E + \beta D/E) \dots (2)$ で表わすことができる。 D が線量、 n が分割数、 E が効果を表わす。この式からわかるように、もし、 $1/D$ が0になるとするならば、このヒフ反応の α/β 値が簡単に求めることができる。いかえれば、図2の直線を外挿して横軸に交わった値が α/β 値となる。このようなことから、1976年以後、多くの実験腫瘍に関する α/β 値、放射線による正常組織の早期反応および晩期反応の α/β 値が多く報告されている^{6,7)}。これらの報告において明らかなことは、腫瘍組織の α/β が正常組織の早期反応の α/β 値に近い値を示すということである。

以上のように、細胞生存率曲線のモデルとして、LQモデルが実験腫瘍の放射線反応を表わすためにも、用いられているが、一方それはLQモデルの式から分割照射に対する効果についてある仮定を置けば腫瘍反応の式 $\dots(2)$ を導き出すこともできる。すなわち、その仮定は①等分割照射したとき、1回の分割照射による障害も、20回目の分割照射による障害も同じである。②照射期間中に細胞の集団の放射線感受性は変化しない。この2つの仮定を置くと、 $-E = n(\alpha D + \beta D^2) \dots (3)$ が成り立つ。 E は効果であり、 n は分割回数。この式を変形すると、 $-E = nD(\alpha + \beta D) \rightarrow -E/nD = \alpha + \beta D \rightarrow 1/nD = (\alpha/E + \beta D/E)$ となり(2)式が得られる。しかし、この仮定がそのまま、腫瘍組織の放射線に対する反応に適用できるかどうかは甚だ疑問である。

以上、放射線による細胞効果と放射線治療の関連について若干ふれたわけである。次に、ガンの放射線治療において、通常最も良く用いられている分割照射に関する細胞学的な研究成果について述べることにする。

II. 分割照射による細胞の致死効果

Ellisの式に代表されるようにガンの放射線治療に用いられる分割照射は正常組織の耐容線

量を指標として組み立てられて来たものであり、放射線細胞生物学の論理を基礎として確立したのではない。強いというならば、定量的に測定された細胞の放射線障害の回復要因がそこに加味されているということである。過去において、分割照射による細胞の致死効果を検索した例は極めて少ない。それは分割の照射間隔に生ずる細胞の反応が複雑となり、その反応の解析が困難になるためであるし、また、1回の分割線量が2 Gy程度であるため、その線量に対する細胞の反応が把えにくい点で、この問題にふみ込めないのであろう。少い報告の中でも、分割照射の細胞学的効果について最初に報告したのはM.M. Elkindである(1960)⁸⁾。本報によれば、放射線による細胞の重致死損傷が24時間の分割間隔において完全に回復したときの理論生存率曲線を求めた。さらに、この理論曲線と実際の実験値から得た細胞生存率の効果曲線と比較したところ、この両者は完全に一致した。ここに用いた分割線量は5 Gyであった。この結果の意味するところは分割照射に対する細胞の致死効果の判定は細胞の重致死損傷の回復を考慮するだけで、急照射による細胞の致死効果から外挿するという点である。しかし、実際のガンの放射線治療に使用している分割線量は2 Gy程度であり、分割照射による腫瘍の反応が細胞の放射線障害からの回復能だけで説明できるものではないことは今や明白である。事実、同じV79細胞を用いて1回2 Gyの分割照射を行ったMcNally等の結果はElkind等の結果とは明らかに異なっていた⁹⁾。近年、培養細胞を用いて本格的に分割照射の研究を行ったのはZeman等である¹⁰⁾。彼らはマウス由来の10-T 1/2細胞を親株とし、それをX線により、トランスホームした細胞を作成し、いろいろの線量による分割照射の実験を行い、この2つの細胞の生存率曲線を比較検討した。そのまとめとして、 10^{-3} の細胞生存率に関して、全線量と分割線量との関係を図3に示した。この図から明らかなように、トランスホームした細胞のカーブはトランスホームしない親株細胞のカーブより、その傾斜がゆるやかである。これらの結果はこれまで調べ

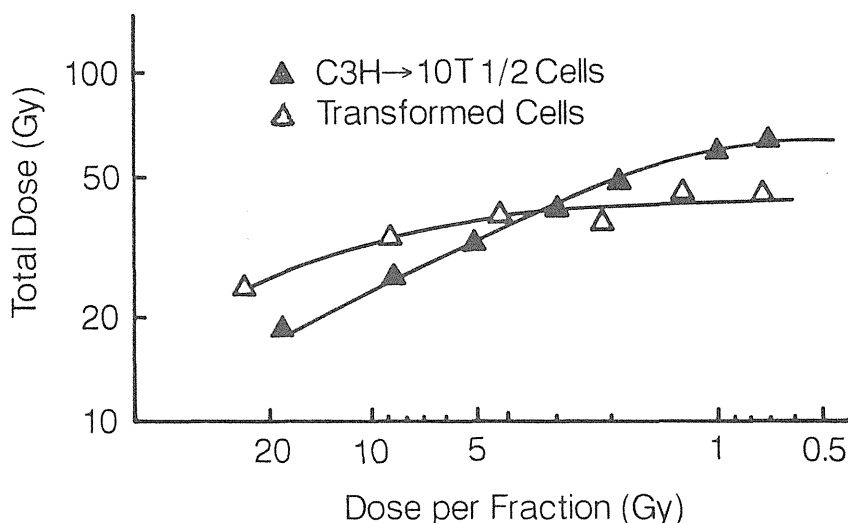


図3 分割線量あたりの10T1/2細胞の同一致死効果(10^{-3} 生存率)
Total Isoeffect Dose (10^{-3}) as a Function of Dose per Fraction for 10T1/2

られてきた、分割照射による正常組織の反応と腫瘍組織の反応との違いと全く同じ傾向を示しており、甚だ興味深い。いいかえれば、放射線腫瘍学の分野でこれまで示されてきた分割照射による正常組織の反応と腫瘍組織の反応の相違が細胞学的にも証明しようということができよう。勿論、この相違点は急照射においては認められない。

ここに示した多分割照射による細胞生存率曲線の相違が正常組織由来の細胞と放射線でガン化した細胞との間において観察されるということは細胞性質または由来の異なった細胞においても、小線量多分割照射にたいし致死反応がそれぞれ異なる可能性を示している。この可能性をテストするために、オリジンの異なる細胞、人間の子宮ガン由来のHeLa細胞、マウス由来のL細胞、チャイニーズハムスター由来のV79細胞を用いて、多分割照射に対するそれぞれの致死効果を比較検討した。用いた分割線量は1日2 Gy 1回または1 Gy 2回の小線量分割方式であり、細胞はいずれも積極的に増殖する対数増殖期のものを用いた。

図4は1日2 Gy 1回または1 Gy 2回の分割照射をした場合のHeLa細胞とV79細胞の生存率曲線である。この図から明らかなように、HeLa細胞とV79細胞の生存率曲線は極端に異なっている。とくに、分割回数の増加つまり、線量の増加とともに、2つの細胞の生存率は20倍以上の差が観察される。L細胞のそれはこれら2つ細胞の中間値を示していた(図に示してない)。次に1日2回の1 Gyの分割照射を3つの細胞に行い、その生存率曲線を比較した。ここではHeLa細胞とV79細胞の生存率の差が更に拡大した(図4点線)。その理由は1日2回1 Gyの3時間間隔におけるスペア効果がHeLa細胞で小さく、V79細胞で大きいためである。これら分割

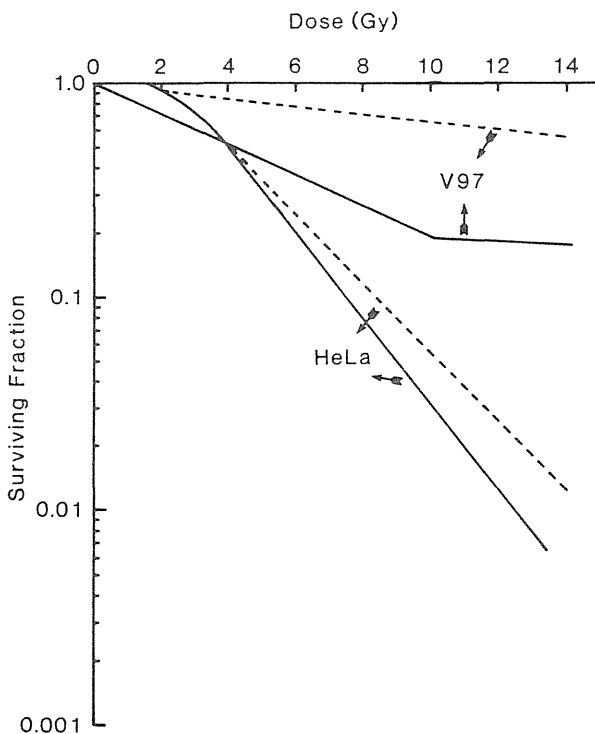


図4 2種類の細胞の分割照射に対する線量効果
Dose Response Curve to Fractionation Dose for 2 Cell Lines
——は2 Gy/day は1 Gy × 2/day

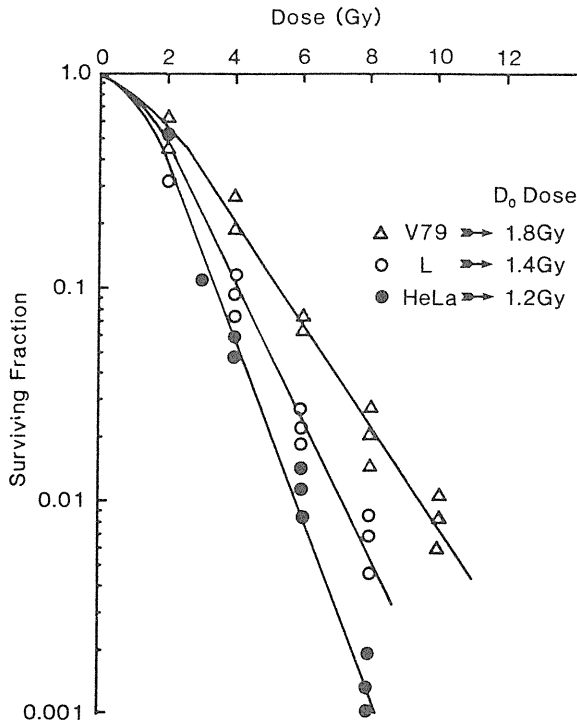


図5 3種の細胞に関する急照射時の線量効果曲線
Dose Response Curves to Acute Dose
for 3 Cell Lines

照射の生存率に比較して、急照射の生存率曲線はそれぞれの細胞間にそれほど大きな差が存在しない(図5)。すでに述べたように、ここで用いた細胞は対数増殖期の細胞であり、1日2 Gyという小線量の分割照射においては当然細胞分裂が起こりうる。したがって、ここに示した分割照射に対する生存率曲線は分裂要因が含まれる。この点についてL細胞を用いて検索した結果、1日1回2 Gyを5回照射した後は殆ど細胞の分裂像が認められなかった¹¹⁾。当然、1日2 Gyのような小線量の分割照射の初期においては、cell cycleのパラメータの変化が生じるであろう。このことに関し、それぞれの細胞に1日2 Gyの分割照射を行い、サイトフローメータにより、そのcell cycleパラメータの動態が解析された。その代表例として、V79細胞に1日1回2 Gyを照射した場合のG₁期およびG₂期の動態を図6に示した。この図から明らかなように、2 Gyを2回照射した時点で、G₁期の集積が完全に認められる。これに対し、G₂期の増加も認められるが、G₁期の増加に比べれば、その増加は極めて少ない。また、HeLa細胞においては分割照射中にG₁期の集積は認められず、G₂期の増加が顕著であった。すなわち、V79細胞とHeLa細胞ではまったく異なった現象が認められた。一方、L細胞は1日1回2 Gyの分割照射において、G₁期およびG₂期の両方に増加が認められ、HeLaとV79の中間型を示した。しかしながら、この分割照射によるHeLa細胞とV79細胞の致死効果の差異をこのcell cycleの動態の相違から説明することは極めて困難である。それはG₁期とG₂期の放射線感受性の差が20倍以上の差を示さないからである。ただ、V79細胞が分割照射の回数の増加に伴い、放射線抵抗性になることの1つの要因は、G₁期の集積であろう。いずれにしろ小線量の分割照射に対する細胞の反応がその種

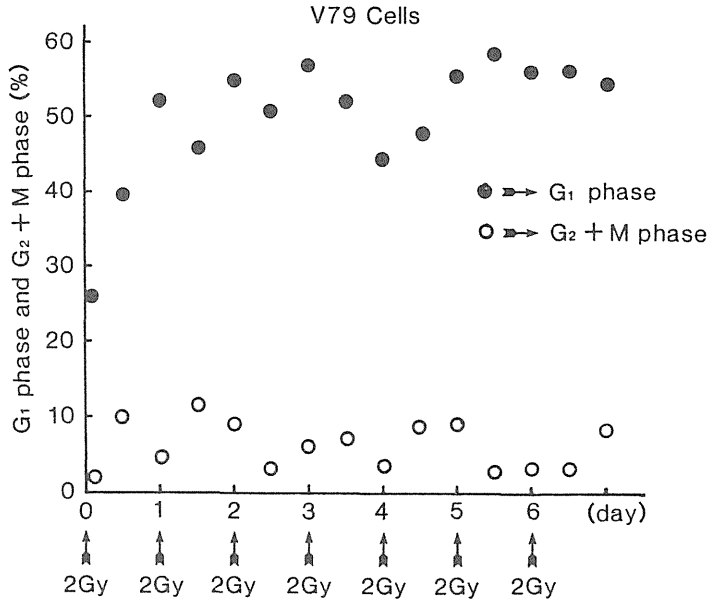


図6 V79細胞の分割照射時のG₁期とG₂期の変動
Changes of G₁ and G₂ Phase during Fractionation for V79 cells

類によって異なるという問題は複雑な要因が絡みあっている可能性があり、さらに追究が必要であろう。

ま と め

これまで、低LET放射線による細胞の致死効果の基礎的な問題とそれに関与する組織反応および分割照射による細胞致死効果の概要を述べてきた。本シンポジウムのテーマである、ガン治療の放射線生物学との関連、特に、ガンの放射線治療と放射線細胞生物学との関連を考察するとき、この両者は殆ど関係がないと思われる。

それはガン治療に用いる線量が1回2Gy程度の小線量、いかえれば、ガン治療は小線量の断続的照射による生物反応を評価するに対し、放射線生物学は2Gy~10Gyの単一照射によって生ずる生物反応を調べることが多く、両者のデータを直接比較してもよいのであろうかという疑いは常に残るし、またLQモデルの適用にあたり、その假定である分割線量に対し常に等しい効果を示す人間の腫瘍がはたして存在するのかどうか、不明である。

しかし、これらの疑問に対し、 α と β という係数で腫瘍の反応と細胞の反応を表わしうることが一つの救いといえいえるだろうし、 α という係数が低線量域の細胞の反応の性質を表わすので、もし、低線量域でのガンのBiologicalな反応が正確に把握されることが可能ならば、それは示唆に富んだ情報が得られかもしれない。

参考文献

- 1) Puck, T.T. & Marcus, P.I., Action of X-ray on Mammalian Cells. *J. Exp. Med.*, **103**, 653, (1956).
- 2) 坂本澄彦, 佐久間真行, 医学のため放射線生物学, 秀潤社(1985)
- 3) Alper, T. Keynote Address : Survival Curve Model, in Radiation Biology in Cancer Research edited by Meyn, R.E. & Withers, M.R., Raven Press, New York (1980).
- 4) Keller, A.M. & Rossi, H.H., The theory of Dual Radiation Action. *Curr. Topics Radiat. Res.*, **8**, 85, (1972).
- 5) Douglas, B.G. & Fowler, J.F., The Effect of Multiple Small Doses of X-rays on Skin Reaction in the Mouse and a Basic Interpretion, *Radiat. Res.* **66**, 401 (1976).
- 6) William, M.V. et al, A Review of α/β ratios for Experimental Tumors : Implications for Clinical Studies of Altered Fractionation, *Inter. J. Radiat. Oncology Biol. Phys.*, **11**, 87, (1985).
- 7) Thames, H.D. et al, Changes in Early and Late Radiation Responses with Altered Dose Fractionation, Implication for Dose-survival Relationships, *Inter. J. Radiat. Oncology Biol. Phys.*, **8**, 219, (1982).
- 8) Elkind, M.M. & Sutton, H., Radiation Response of Mammalian cells Grown in Culture : Repair of X-rays Damage in Surviving Chinese Hamster Cells, *Radiat. Res.*, **13**, 556, (1960).
- 9) McNally, N & Jennifer de Ronde, The Effect of Repeated Small Doses of Radiation on Recovery from Sub-lethal Damage by Chinese Hamster Cell Irradiated in the Plateau Phase of Growth, *Inter. J. Radiat. Biol.*, **29**, 221, (1976).
- 10) Zeman, E.M. & Bedford, J.S., Dose Fractionation Effects in Plateau-Phase Cultures of 10T1/2 Cells and Their Transformed Counterparts, *Radiat. Res.*, **101**, 373 (1985).
- 11) Tsuboi, A., Effect of Hyperthermia on Mouse L Cells Irradiated with Fractionated X-rays., *Inter. J. Hyperthermia*, **4**, 655, (1988).

2 細胞の形質転換及び突然変異

渡辺 正己* / 鈴木啓司*

Expression of Transforming and Mutational Phenotypes in Golden Hamster Embryo Cells after X-irradiation.

Masami Watanabe and Keiji Suzuki

Division of Radiation Biology, School of Medicine, Yokohama City University
3-9 Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama 236, Japan

Abstract

It is well known that the transforming phenotypes gradually express during subculturing after treatment of chemical carcinogens. However we have a few information about radiation-carcinogenesis. In this study, we investigated that the dynamics of expression of transforming phenotypes in X-ray induced transformants of golden hamster embryo (GHE) cells. GHE cells expressed several transforming phenotypes after X-irradiation. Although morphological change was a transit phenotype expressed soon after X-irradiation, the only progeny of them expressed the other transforming phenotypes, such as anchorage-independent growth, immortality and tumorigenicity, during extensive subculturing in GHE cells. No transformants showed activation of any oncogenic genes by DNA transfection assay using NIH 3T3 cells. Numerical chromosome changes, however, may affect neoplastic progression and trisomy of chromosome 3 may play an important role in tumorigenicity. We also compared proteins of normal and transformed GHE cells with SDS-PAGE. Protein band with MW of approximately 240 Kd were absent in transformed GHE cells. Thus, chromosome number and the

* 横浜市立大学医学部

expression of cellular proteins may be altered in radiation induced transformed cells. More detail studies are undergoing.

放射線が現在の診療・医療に欠くことのできない手段となっていることは明らかである。しかし、利用が広範囲にわたっているにもかかわらず放射線の生体作用の本体は依然明らかとは言えない。これまでの研究結果は、他の化学・物理要因に比べ僅かのエネルギー付与により大きな効果を与えることが放射線の生物影響の特徴であることを明確に示し、DNAをはじめとする遺伝物質が直接・間接に攻撃されることも知られるようになった。そのため、医療応用にあたっては、発がん原、変異原としてリスクを正確に把握し、適切な防御法の確立が必須であるとされている。こうした背景のもと、多くの研究者が放射線の遺伝学的影響についての研究に取りくんできたが残念ながら放射線による発がんのメカニズムについては十分な情報が得られているとはいえない。われわれも過去発がんの初期過程を解明すべく研究を続けてきたが、未だにその真髄に迫ることはかなわない。本稿では、われわれの研究結果を中心に放射線によるがん化の機構の持つ問題点を解説してみたい。

細胞がん化の指標は？

細胞がん化の指標として何を使えばいいか？この疑問に答えることは難しい。これまでの多くの研究は、がん細胞と正常細胞の比較からがん細胞の特性を選び細胞がん化の指標を選びだすように計画されてきた。そして、培養されたがん細胞に共通した性質として、1)無限増殖能を持つこと、2)基質非依存性増殖能を持つこと、3)染色体変化を持つこと、あるいは4)統制されない増殖動態などがあげられている。しかし、これらの形質ががん化のどの時期に必要で、それが原因なのか？結果なのか？についてはすでに解決済みと思われるがちであるが、実はほとんど明らかにされていない。

この問題に容易に結論が与えられない理由は、がんは突然変異のようにある固定した状態にとどまっているものではないことにある。生体にできたがん組織でさえ転移能を備えた悪性がんになるまでに刻々とその性質を変化していることはよく知られたことであるが、ましてひとつの細胞ががんへの道をたどりはじめた時期にその細胞の決定的変化を見極めるのは難しい。臨床的にがんが発見されるためには少なくとも直系5mmに達している必要があるといわれるが、そのサイズのがんですら少なく見積って 10^8 個細胞以上からなっており、1個の細胞がそのがんの由来とすればその細胞は少なくとも30回近く分裂を繰り返していることになる。その間に細胞は、まさしく“段階的に”がん化の道をたどっている。がん化の最初の重要なステップを明らかにすることががんの本体を正確に理解し正確な発がんリスクの推定、ひいては制がんへのステップである。

ゴールデンハムスター胎児(GHE)細胞の形態変化細胞は本当にがん化しているのか？

この問題の解決には試験管内細胞がん化実験の展開が必須であった。これまでに、いくつかの実験系が開発されてきたが、現在細胞がん化定量系として一応の評価を受けているのはGHE細胞¹⁻³⁾、C3Hマウス10T1/2細胞⁴⁾、およびBalb/3T3細胞⁵⁾を用いた3つの系に過ぎない。前者は正常細胞、後2者はすでに無限増殖能を獲得した細胞と用いる細胞の性質は大きく異なるがどちらも細胞が接触増殖阻止能を無くすことを指標にしている点は共通している。接触増殖阻止能を無くした細胞はそれぞれ無配列増殖と重層増殖を特徴とするコロニーやフォーカスの出現で定量化されるが、この性質が本当にがんの特徴であり遺伝的に安定したものであるかは大いに疑問とされている。細胞がん化の誘発頻度は通常の変異の誘発頻度に比べ桁違いに大きい。われわれの結果では1 Gyあたりの誘発率で実に500倍の違いがある。そこで、この形態変化コロニーをクローニングしてがん形質をどの程度発現しているかを検討した。22個のタイプBコロニーをクローニングすると実に19個の細胞がヌードマウスに移植可能であった。細胞はコロニー形成に10-12細胞分裂を要し、移植実験を開始するまでにさらに10数分裂をするのでX線照射後25-30細胞分裂が移植性を獲得する前に必要ということになる。この結果は、Barrettら⁶⁾あるいはNewboldら⁷⁾が化学物質で形態変化したコロニーが移植性を獲得するまでに50回以上の分裂を必要とする報告に比べ明らかに期間が短い。放射線が発がんのイニシエーションとプロモーションの両作用を持つためだろうか。彼らは、移植性を獲得する時期にほぼ相前後して基質依存性増殖能を獲得すると報告しているが、われわれの細胞の場合にもすでにその能力を獲得しており、この性質と移植性とはかなり密接に関係する現象であると思われる。しかし、発現されるがん形質のうちで照射線量に依存するものは形態変化のみで、それ以外のがん形質の発現に線量依存性は見られなかった。

この研究を実施している間に、一つ奇妙な現象を見つけた。というのは、照射された細胞をすぐにコロニー形成させた際には、高率に形態変化コロニーが出現するにもかかわらず、集団で培養を続けると形態変化コロニーの出現率が急速に減少し、照射後10回分裂を経ると出現率は未照射群の出現頻度(4×10^{-4} 以下)になってしまうことである。しかし、そのまま継代培養を続けるとその細胞集団は、軟寒天コロニー形成能を発現し、ヌードマウスに移植可能となる。こうした現象は、これまで報告されていないが、形態変化をおこした細胞はその時点では増殖に関して正常細胞より優位にはなくむしろ劣勢にあることを意味している。照射直後に細胞を分散すれば形態変化コロニーは線量に依存して生ずるので、この現象は正常細胞と接触することによって起きており、正常細胞には初期のがん細胞の増殖をコントロールする能力が備わっているのではないかと推察される。

では、形態変化したコロニー由来の細胞は、その形態変化を維持するであろうか？解答は間違いなく“否”である。われわれは、分離した形態変化コロニー由来細胞の一部を継代培養して

いるが、実に60%以上の細胞で重層増殖や無方向性増殖を特徴とする形態をなくしてしまう。おそらくわれわれの研究に使用したGHE細胞が、全胎児由来のヘテロな細胞集団であり、かつ生体から分離して数回しか分裂していない細胞であり、単に線維芽細胞のみが標的細胞となっていないためではないだろうか。GHE細胞を用いたコロニーアッセイ系では、上皮性細胞様形態をもつコロニーの出現頻度は極めて低い(10%以下)ので線維芽様形態を示す細胞のみを対象にしているとされているが、その多くの細胞は実は線維芽細胞ではないのではないだろうか。培養されたヒトがん細胞でもT24細胞などはHeLa細胞やHMV 1細胞とは異なりあたかも正常細胞のように接触増殖阻止がきっちりとしている。

各種放射線による細胞がん化誘発動態

いくらか検討すべき問題は残されているが、GHE細胞のコロニー形態変化が放射線による細胞がん化の定量的指標になることがわかったので、この細胞がん化定量系を用いて各種放射線による細胞致死とがん化頻度を調べてみた(図1と2)。細胞がん化の誘発曲線は放射線の種類によらずいずれも類似していることに気付かれるだろう。細胞がん化は0-1.5Gyの線量域における高効率誘発部位と、それに続く高線量域(1.5Gy以上)における低効率誘発部位からなる2相性曲線を示した(図2)。生存率と細胞がん化率の関係を図3に示したが、生存率で補正してもやはり重イオン粒子線の細胞がん化効果は強く、致死を引き起こす原因と細胞がん化の原因は異なることを示している。37%生存率線量レベルの誘発細胞がん化率を ^{60}Co の γ 線に対する相対的生物効果比(RBE)で比べると、おのおのの放射線の細胞がん化に対するRBE値は細胞致死に対するRBE値とはほぼ一致していた。しかし、同時にHGPRT遺伝子座における突然変異の誘発動態を調べると、誘発曲線は細胞がん化のそれと明らかに異なり、細胞がん化が高効率で誘発される0-1.5Gyの線量域における出現率は極めて低く($10^{-5}/\text{Gy}$ 以下)、1.5Gy以上の線量域になって初めて急激に突然変異体の出現がみられることがわかる。そのため、細胞がん化の単位線量当りの誘発頻度は、0-1.5Gyの線量域では突然変異の500倍近い極めて高い値となる。この一連の結果は、細胞がん化のメカニズムが突然変異のそれとかなり異なることを示唆している。細胞がん化が突然変異で起きるとすればわれわれが今までに経験しない、とてつもなくマルチ制御能を持った遺伝子の変異であるか、細胞がん化の引金になる突然変異がとてつもなく多いことを考えなければならない。もし后者であれば、われわれはもっと多くのがん化形質を細胞がん化の形質として利用できて当然なのだが、これまでにせいぜい3-4種に充たないことからこの可能性はあまり受け入れられない。むしろ、前者の可能性に注目したい。最近、がん研究の主流となった発がんの重要なステップががん遺伝子や増殖制御遺伝子の突然変異によるがん遺伝子の活性化にあるとする考えは魅力的である。放射線が突然変異の引金になるとする仮定は受け入れやすい。しかし、われわれは、イン・ビトロでがん化した細胞におけるがん遺伝子の増量および活性化をそれぞれサザンブロッティング法(N-myc, Ha-rasなど5種について)およびドットブロッティング法(N-myc, Ha-rasなど12種について)で調

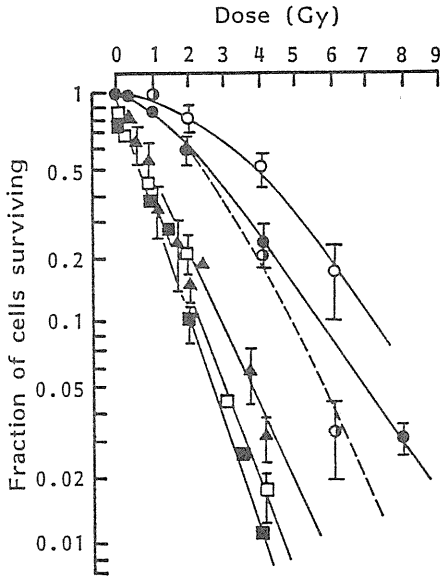


図1 各種放射線による細胞致死効果。
Survival curves of golden hamster embryo cells following irradiation with (●) ^{60}Co γ rays, (▲) ^{14}N -ion beams, (■) ^4He -ion beams, (□) ^4He -ion beams with a 100- μm Al absorber, and (●) 182kVp X rays.

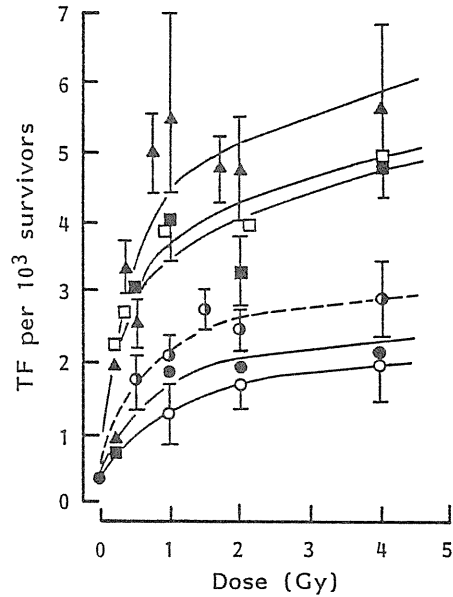


図2 各種放射線による細胞がん化誘発。記号は図1と同じ。

Dose-response curves for neoplastic cell transformation of golden hamster embryo cells by (●) ^{60}Co γ rays, (▲) ^{14}N -ion beams, (■) ^4He -ion beams, (□) ^4He -ion beams with the Al absorber, and (●) 182kVp X rays. Results presented are the mean and standard errors of at least three independent determinations. The curves were fitted by eye.

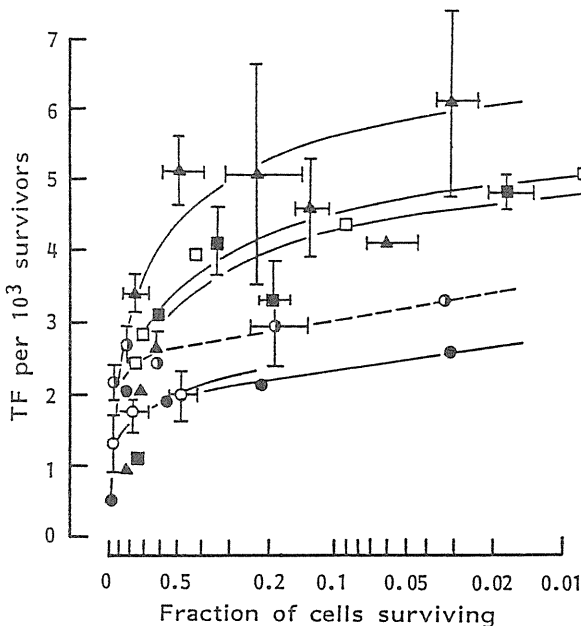


図3 細胞致死と細胞がん化頻度の関係。記号は図1と同じ。

The transformation frequency as a function of surviving fraction. Data are taken from Fig.1 and Fig.2. (●) ^{60}Co γ rays, (▲) ^{14}N -ion beams, (■) ^4He -ion beams, (□) ^4He -ion beams with the Al absorber, (●) 182kVp X rays. The curves were fitted by eye.

べたが、現在までこれらのことが起きているとする証拠は得られていない。また、がん化細胞から抽出したDNAの移入によってもNIH3T3細胞を形質転換させることはできなかった。

細胞がん化と染色体異常頻度とは密接な関係がある

では、なにが細胞がん化の主因であろうか？ われわれは、染色体レベルにおける遺伝情報発現変化が細胞がん化の主因ではないかと推測している。しかし、その推測には現在かなりの落度がありすべてが明快になっていわけではない。しかし、いくつかの点はあきらかになった。

たとえば、X線で誘発した形態変化コロニーを分離してその染色体解析をすると、解析した9種類のすべてに11番染色体のトリソミーが、8種類に3番染色体のトリソミーがそれぞれの細胞集団の80%以上の細胞に観察された。そのほか、19番および21番のトリソミーがいくつかの細胞にみられたが、それ以外の染色体の変化はほとんどみられない。これらの細胞を 2×10^6 細胞づつヌードマウスに移植すると、3番トリソミーを8%程度しかもたないMT22細胞以外は、移植後20日から60日で直径1cmに増殖することができたが、3番トリソミーを8%程度しかもたないMT22細胞は、220日を経てもがんを造らない。しかし、 10^7 細胞を移植するとおよそ60日で直径1cmまで増殖することができた。生じたがん組織から細胞を回収して染色体構成を調べると、すべての細胞で3番のトリソミーがみられ、さらにヌードマウスで増殖の早い細胞では、19番、21番のトリソミーおよび15番のモノソミーがみられた。しかし、多くの細胞では、移植前にトリソミーであった11番染色体の1本を失ってダイソミーにもどっていた⁸⁾。

一方、軟寒天コロニーを最初の選択手段として用いると、7番染色体のトリソミーが得られ、その細胞の移植によって生じたがん組織由来の細胞では9番染色体の付加がみられるようになった⁹⁾。単に、最初の選択手段を変えるだけで染色体の数的異常の組み合わせが極端に変わるだけで、染色体の数の変化はがん化の原因ではなく付随的現象である可能性も高い。しかし、われわれは数の異常に加え染色体相互のバランスが細胞における発がん形質の発現に重要であると考えたい。こうした仮定は、遠くはLeo Sachsら¹⁰⁾、近くは押村ら¹¹⁾のバランス説に類似するものである。最初は放射線によってランダムな染色体数異常が起きるが、おそらく細胞の不死化に関する異常が残った細胞のみでがん形質の発現に関する特定染色体の数的異常が起きることを意味している。染色体の数の異常は遺伝情報の増減をひきおこし、遺伝情報の発現異常の原因になるという考えは極めてありそうな仮定である。細胞がん化の最も重要なステップは、染色体の安定性を支配する因子に起きる何かではないだろうか？ ヒト細胞はイン・ビトロで発がんすることは極めて難しいといわれる。同時に、ヒト細胞の染色体の数的変化はほとんど起らない。これらのことは、がん研究の一つの方向を暗示しているのではないだろうか。

参考文献

- 1) Watanabe, M., Horikawa, M., and Nikaido, O. : Induction of oncogenic transformation by low doses of X-rays and dose-rate effect. *Radiat. Res.*, **98**, 274-283, 1984.

- 2) Watanabe, M., Suzuki, N., Sawada, S., and Nikaido O. : Repair of lethal, mutagenic and transforming damage induced by X-rays in golden hamster embryo cells. *Carcinogenesis*, **5**, 1293-1299, 1984.
- 3) Borek, C., and Hall E.J. : Transformation of mammalian cells in vitro by low doses of X-rays. *Nature*, **243**, 450-453, 1973.
- 4) Mondal ,S., Brankow ,D.W., and Heidelberger, C. : Two stage chemical oncogenesis in cultures of C3H10T 1/2 cells. *Cancer Res.*, **36**, 2254-2260, 1976.
- 5) Kakunaga, T.: A quantitative system for assay of malignant transformation by chemical carcinogens using a clone derived from Balb/3T3, *Int. J. Cancer*, **12**, 463-473, 1973.
- 6) Barrett, C., and Ts'o,P.O.P. : Evidence for the progressive nature of neoplastic transformation in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **75**, 3761-3765, 1978.
- 7) Newbold, R.F., Overell, R. W., and Connell, J. R.: Induction of immortality is an early event in malignant transformation of mammalian cells by Carcinogens. *Nature*, **299**, 633-635, 1982.
- 8) Watanabe, M., Suzuki, K., and Kodama, S.: Karyotypic Changes with Neoplastic Conversion in Morphologically Transformed Golden hamster Embryo Cells Induced by X-rays. *Cancer Res.*, in press, 1989.
- 9) Suzuki, K., Suzuki F., Watanabe, M., and Nikaido, O. : Multistep nature of X-ray induced neoplastic transformation in golden hamster embryo cells : Expression of transformed phenotypes and stepwise changes in karyotypes. *Cancer Res.*, **49**, 2134-2140, 1989.
- 10) Bloch-Shtacher, N., and Sachs, L. : Chromosome balance and the control of malignancy. *J. Cell. Physiol.*, **87**, 89-100, 1975.
- 11) Oshimura, M. Hesterberg, T.W., and Barrett, C. : An early, nonrandom karyotypic change in immortal Syrian hamster cell lines transformed by asbestos : trisomy of chromosome 11. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 225-237, 1986.

3 細胞の傷害修復(潜在的致死損傷)

内 海 博 司*

Potentially Lethal Damage and its Repair

Hiroshi Utsumi

Radiation Biology Center, Kyoto University.
Yoshida Konoecho, Sakyo-ku, Kyoto 606 Japan

Abstract

Two forms termed fast-and slow-potentially lethal damage (PLD) are introduced and discussed.

The effect on the survival of x-irradiated Chinese hamster cells (V79) of two different post-treatments is examined in plateau—and in log—phases of growth. The postirradiation treatments used : a) incubation in hypertonic solution, and b) incubation in conditioned medium obtained from plateau-phase. Similar reduction in survival was caused by postirradiation treatment with hypertonic phosphate buffered saline, and similar increased in survival was effected by treatment in conditioned medium in plateau—and in log—phases cells. However, repair of PLD sensitive to hypertonic treatment was faster (half time, 5-10 min)(f-PLD repair) and independent from the repair of PLD (half time, 1-2 hour)(s-PLD repair) observed in conditioned medium. The results indicate the induction of two forms of PLD by radiation. Induction of both PLD was found to decrease with increasing LET of the radiation used.

Identification of the molecular processes underlying repair and fixation of PLD

* 京都大学放射線生物研究センター

is a task of particular interest, since it may allow replacement of a phenomenological definition with a molecular definition. Evidence is reviewed indicating the DNA double strand breaks (directly or indirectly induced) may be the DNA lesions underlying PLD.

はじめに

実体も修復機構もブラックボックスにしてX線や γ 線などの電離放射線ばかりでなく種々の抗癌剤に対しても、亜致死損傷(SLD: sublethal damage)の修復, 潜在的致死損傷(PLD: potentially lethal damage)の修復という概念が使われている。とくにSLD修復の知識は腫瘍の治療に取り入れられ、治癒効果を上げてきた。一方、PLD修復も放射線治療にとって重要な因子と考えられてはいるが^{1,2)}、未だ十分に利用されるには至っていない。

PLDとは、本来的には死にいたる損傷であるが照射された細胞をとりまく物理的、化学的環境の変化によって、修飾されるような損傷を指す。そして、生存率が上昇すればPLDが回復* (recover)あるいは修復(repair)された、下降すればPLDが発現(express)されたと解釈され、同じPLDの2つの側面だと考えられてきた。これに対して、SLDは細胞は損傷を受けてはいるが死にいたらず、一般には数時間の内に修復されるような損傷であるが、その前に2度目の照射を受けると新たにできたSLDと相互作用して致死となるような損傷(LD: lethal damage)と考えられている³⁾。このPLD修復とSLD修復とが異なるものかどうか、発見当初から議論が絶えない。最近の筆者らの研究は、このSLD修復とは異なる2種類のPLD修復が存在することを明らかにした。紙面の都合上、十分な議論ができないので、既にいくつかの総説⁴⁻⁶⁾が出ているので参照していただければ幸いである。

1. 遅いPLD修復

増殖期の細胞を照射後直ちに、緩衝塩溶液や、“条件づけた培養液”(CM: conditioned medium)に、数時間曝すと生存率が上昇する。しかし、これはかなり徹底した処置であって生体内の生理的な状態に似たものではない。また、細胞が密集しそのため増殖が抑制され定常状態となった(plateau phase)培養条件は、*in vivo*の腫瘍に対する*in vitro*の良いモデルと考えられ研究されてきた¹⁾。定常期にある細胞を照射して数時間後に細胞を分散播種(delayed plating)する方が、照射直後に細胞を分散播種するより生存率が高くなる。これらのPLD修復現象は、腹水型か固形型であるかを問わず*in vivo*の実験腫瘍でも起こり(図1参照)、PLDが放射線治療に大に関係深いものであることが示された⁷⁾。

* 放射線傷害が軽減される現象を細胞レベルで測定したものを回復と呼び、分子レベルで起きている修復と区別して用いられているが、細胞傷害の回復も分子レベルの修復を反映したものと、ここでは修復とした。

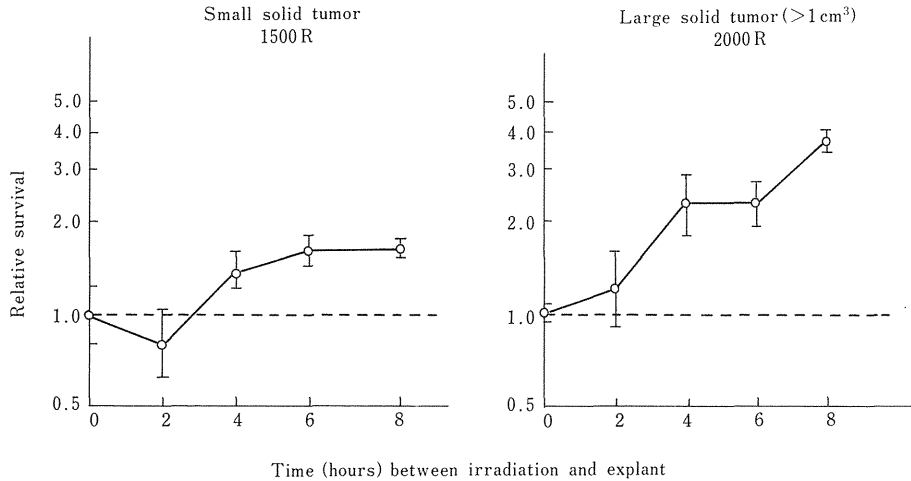


図1 マウス繊維肉腫における潜在的致死障害(PLD)の修復¹⁾。

Repair of potentially lethal damage (PLD) in mouse fibrosarcomas.

腫瘍を生体内で照射し、経時的に摘出、単細胞浮遊液をつくり、それを培養皿に植えて、コロニー形成能により生存率を調べた。照射後の生存率は腫瘍を照射後時間をおいて摘出した時、その間にPLD修復がみられるために増加している。

どちらの場合も、照射後一時的に細胞のDNA合成をゆっくりさせるか止めるような条件に曝したことになる。このPLDの修復は、ゆっくりとしているので($t_{1/2}$ = 1 ~ 2時間で5 ~ 24時間で完了する)、遅いPLD(slow PLD:ここではs-PLDと呼ぶ)修復と名づけることにする(図2のX+CM, t の曲線を参照)。興味深いことには、*in vivo*の培養細胞あるいは*in vitro*の腫瘍細胞を用いた実験においても、高LET放射線照射後にはこのs-PLD修復は本質的に認められない⁸⁾。しかし、必ずしもneutronsに関してこの見解が一致していないのは、neutronsのエネルギーによって異なるのかもしれない⁹⁾。

従来から、照射された細胞の中では、PLDをLDに固定する過程と修復する過程とが競合しており、固定する過程がゆっくりとなるとそれだけ多く修復できるため、生存率が上昇すると考えられている。さて、固定する過程とは?、LDとは、何であろうか。

2. s-PLDの実体とその固定過程

このs-PLD修復は、DNAポリメラーゼ α , β の阻害剤である β -araAで阻害されることや、s-PLDを阻害する3ABA(3-aminobenzamide)がDNA ligaseを阻害することから、s-PLD修復はDNA鎖の再結合と関係があると思われる。最近、照射した定常期のヒト初代培養細胞とM期のHeLa細胞とを細胞融合させて、PCC (premature chromosome condensation)をつくり、このPCCの切断数とその再結合をs-PLD修復との関係で比較検討したConforthら¹⁰⁾は、この修復の時間経過とPCCの時間経過とが良く相関することを明らかにした。この結果は、s-PLDの実体がDNAの2重鎖切断と関連した染色体レベルの切断であるとすれば、そのs-PLD修復とは染色

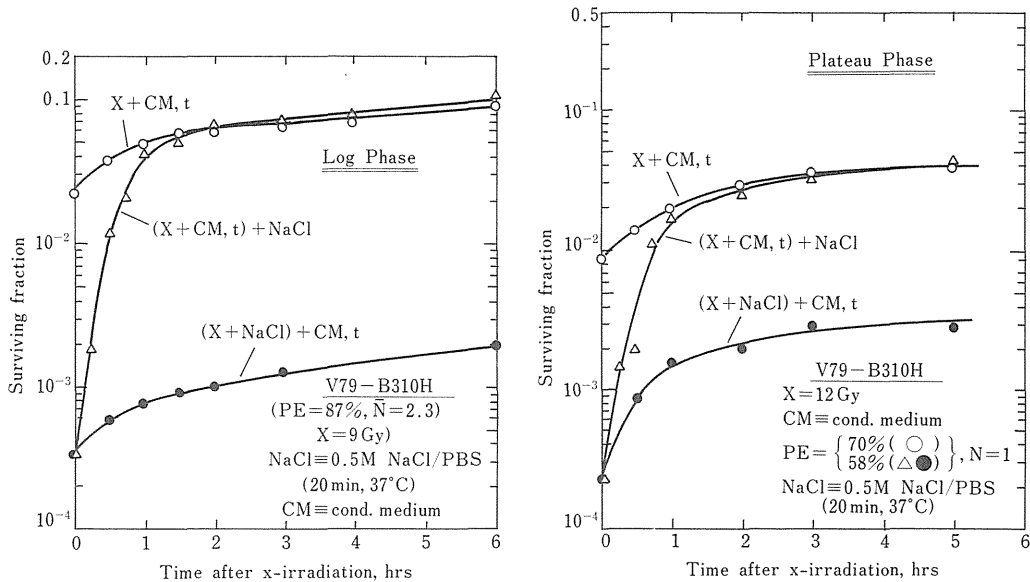


図2 CM感受性のs-PLD修復と高張塩溶液感受性のf-PLD修復の加算性¹⁵⁾。

Additivity of CM sensitive s-PLD repair and hypertonicity sensitive f-PLD repair.

増殖期の細胞(左図)は9 GyのX線を、定常期の細胞(右図)は12 GyのX線を照射した後、CM処理(○)、高張塩溶液処理(0.5 M NaCl/PBS, 37°C, 20分間)後CM処理(●)、あるいはCM処理後高張塩溶液処理(△)をした。増殖期の細胞は、時間がくれば溶液を交換するだけだが、定常期の細胞は各時間に細胞を分散播種した。f-PLDを高張塩溶液処理で固定しても、s-PLD修復によって修復されるPLDがそっくり残っている。また高張塩溶液感受性のf-PLD修復((X+CM, t)+NaCl)は、1時間以内に終わるが、CM感受性のs-PLD修復(X+CM, t)は、数時間以上かかっている。

単細胞浮遊液としたチャイニーズハムスター細胞(Chinese hamster V79 cells)を、X線照射1日前に培養皿に植えて、翌朝X線を照射した。この方法では照射時にすべての細胞は対数増殖状態になっているが、植え込み時に単細胞であった個々の細胞は、既に2~4個の小細胞集団になっているので、その小細胞集団当りの細胞数の平均値を \bar{N} として表わしている。また、P.E.とはPlating Efficiencyの略で、非照射細胞のコロニー形成率である。コロニー形成期間中(7~10日間)、培養液(10%FCSを含む α -MEM)の交換はない。

体レベルの再結合修復であることを示唆している。

さらに、その固定過程とはDNAやRNA合成過程そのものというより、その過程に伴うDNAや染色糸や染色体自体のconformational changeそのものではないだろうか。最近、染色体凝集機構が温度感受性に変異した細胞(tsBN2)を用いたSasakiら¹¹⁾の報告は、この考えを支持している。X線照射後直ちにこの細胞を非許容温度(40°C)に曝すと細胞死が増感されるが、この非許容温度で非照射細胞は殺さない。この非許容温度によって引き起こされる染色体凝集がs-PLDを固定する、つまり2重鎖切断を修復不可能にすると考えられる。

3. 早いPLD修復

筆者ら¹²⁾は、増殖期の細胞をX線照射後ただちに不等張塩溶液に曝すと著しい増感(細胞死の

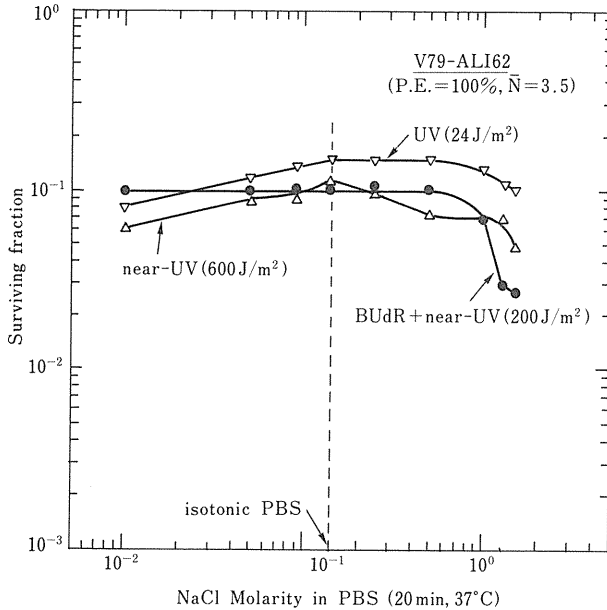


図3 紫外線、近紫外線あるいはBUdR+近紫外線照射したチャイニーズハムスター細胞の生存率に及ぼす不等張塩溶液の効果¹³⁾。

The dependence of NaCl concentration of single-dose survival of Chinese hamster cells after a single exposure to far-uv, near-uv, or to near-uv following the incorporation of BUdR.

紫外線はGeneral Electric germicidal lampsを、近紫外線はWesting-house sun lampsを用いた。紫外線照射後直ちに、各種の不等張塩溶液で20分間処理された。これらの塩溶液処理だけでは細胞毒性はなかった。各々の紫外線線量は、正常PBS溶液処理の生存率が等しくなるような線量を選んでいる。

増加)を起すことを示した。しかし、この不等張塩溶液処理(0.5M NaCl/PBS, 37°C, 20分間)がX線照射後少しでも遅れると増感の程度は少なくなり、1時間後にはもはや増感しなくなった(図2の(X+CM, t)+NaClの曲線を参照)。この現象は温度に高感受性であり、照射後低温に保っておくと数時間後でも増感した。この不等張塩溶液処理はSLD修復には影響を与えなかった。高LET放射線である中性子線にはこの不等張塩溶液感受性のPLD修復は小さいながらも存在したが、紫外線や近紫外線及びBUdR+Near UVの損傷(図3参照)には存在しなかった¹³⁾。特にこのBUdR+Near UVは、特異的にDNA単鎖切断、2重鎖切断を作ることが知られているにも関わらず、この不等張塩溶液感受性のPLDが見られなかったのは特筆に値する。また、低張溶液でも高張溶液でも、NaClでもKClでも、Sucroseでも増感することや、D₂Oでも同様な増感現象がみられたことから、このPLDは単なるDNA損傷ではなく、核膜のような3次元的な構造物の損傷を含んでいると考えられる。この修復は非常に早いところから、遅い修復に対して早いPLD (fast PLD : f-PLD)修復($t_{1/2}$ =10~15分で1時間以内に完了)と呼ぶことにする。

f-PLD修復を一部欠損するがs-PLD修復は正常な放射線感受性変異細胞を分離したこと。さらにs-PLD修復を欠損するヒト遺伝病の毛細血管拡張性運動失調症(AT: Ataxia Telangiectasia)の患者の細胞が、f-PLD修復能も欠損していたこと¹⁴⁾から、(図4参照)、これら2つのPLD修復をそれぞれ支配する遺伝子が存在することが示唆された。また、これら両PLD修復が細胞周期によらず働いていることを証明したこと。X線照射後不等張塩溶液でどれだけPLDを固定しても、s-PLD修復によって修復されるPLDが必ず残っていたこと等(図2参照)から、不等張塩溶液感受性のPLDを修復するf-PLD修復と、不感受性のPLDを修復するs-PLD修復が存在することが明らかになった¹⁵⁾。

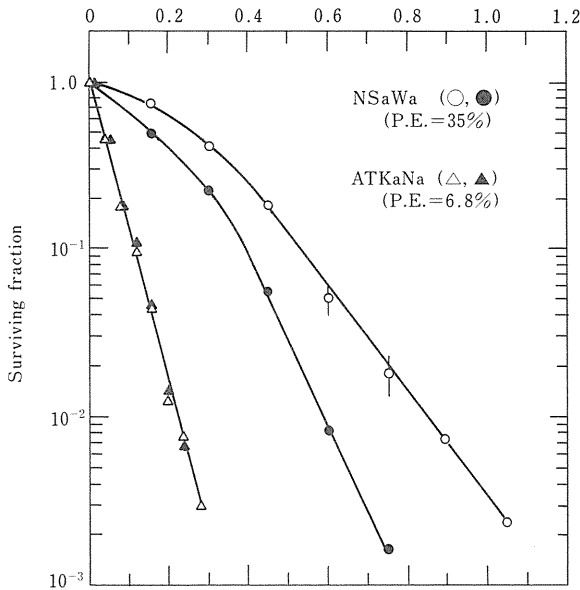


図4 正常ヒト及び毛細血管拡張性運動失調症(A-T)患者の皮膚繊維芽細胞のX線感受性に及ぼす高張塩溶液処理の効果¹⁴⁾。

Effects of hypertonic PBS treatment on the survival curves of normal human and A-T skin fibroblasts.

X線照射後直ちに、0.5MNaCl/PBSで20分間処理された。この高張塩溶液処理だけでは細胞毒性はなかった。

これらのPLD修復を特異的に阻害する薬剤は、新しい概念の増感剤として腫瘍治療に役立てることができるのではないだろうか。

4. f-PLDの実体

f-PLD修復は核膜周辺の損傷の修復と推定されるが³⁾、この核膜周辺部は、陽子線や α 粒子を用いた研究から古くから放射線感受性の標的と考えられてきた。最近Crampら¹⁶⁾は、放射線感受性の異なる種々の培養哺乳類細胞をパルスラベルして、作られたばかりの一重鎖のDNAは、放射線感受性が高いほど親DNAとの結合度が弱いことを見つけ、核膜上のDNAの付着点の当たりの3次元構造に放射線感受性を決める因子が存在すると結論している。特筆すべきことは、不等張塩溶液処理によって2重鎖切断数は増加しないことである(未発表データ)。f-PLDとは、まさにCrampらの考えているようなDNA-核膜部位の損傷と考えられる。

f-PLDの実体を明らかにするため、放射線類似物質に相当する種々の抗癌剤が作る損傷の中にf-PLDが存在するかどうかを検討しているが³⁾、X線損傷に似ていると言われているbleomycinにX線の場合と同様にs-PLDもf-PLDも存在することが明らかになった¹⁷⁾。今後この方向からの研究に新しい展開が期待される。

5. 致死損傷

電離放射線の致死損傷は、既に述べたように2重鎖のDNA切断と考えられるが最近この考えを支持するいくつかの新しいデータが報告された。ニュートラル・エルーション法を用いて種々の条件下でX線の生存率と照射直後の2重鎖切断数を測定したRadfordは生存曲線と線量に応じた2重鎖切断数が非常に相関することを示した。つまり、生存曲線に肩があると2重鎖切断

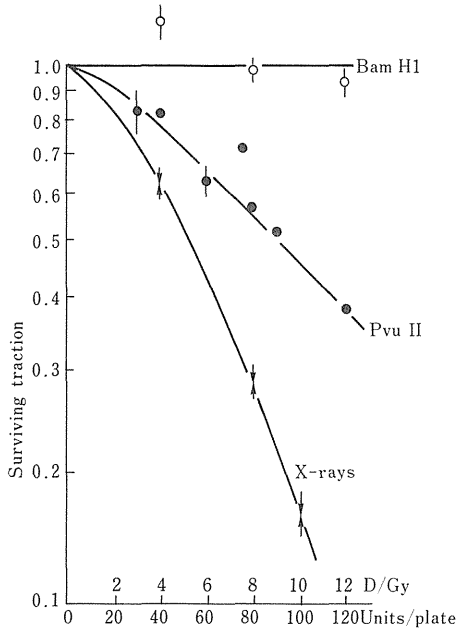


図5 制限酵素のPvu IIまたはBam HIで処理したチャイニーズハムスターV79細胞とX線照射された細胞の生存率曲線¹⁸⁾。

Survival of asynchronous Chinese hamster V79 cells treated with the restriction endonucleases Pvu II, Bam HI or X-rays.

チャイニーズハムスターV79細胞はPvu II (●)またはBam HI(○)とセンダイウイルスとで処理(0°C, 15分と37°C, 30分)された。

の曲線にも肩があった。2重鎖切断を起こす制限酵素をセンダイウイルスを用いて、V79細胞に注入したBryant¹⁸⁾は、cohesive端をつくるBam HIでは細胞死を起こさないが、blunt端を作るPvu IIでは細胞死を起こすことを示した(図5参照)。つまり、2重鎖切断のうちでも再結合しにくいblunt端2重鎖切断が致死障害になることを示している。また、チャイニーズハムスターCHO細胞からG1期だけ放射線感受性を示す変異細胞を分離したStamatoら¹⁹⁾は、この変異細胞はG1期に2重鎖切断を修復できないことを明らかにした。しかし単鎖DNA切断は細胞周期によらず正常に修復していた。これらは、DNAの2重鎖切断が致死損傷であることを示したばかりでなく、2重鎖切断の修復がG1期とS期とで異なった遺伝的支配を受けていることを示した貴重なデータでもある。

最近、放射線高感受性の酵母(rad 6)が³, ubiquitinをヒストンH2Bに付ける遺伝子をコードしていることが報告され²⁰⁾, DNA修復と染色体の構造変化との絡みで注目を浴びている。今後の研究の進展によっては、PLD修復に対する分子レベルの研究の突破口が開かれることが期待される。

参考文献

- 1) Little, J.B.: Repair of sub-lethal and potentially lethal radiation damage in plateau phase cultures of human cells, *Nature* (London), **224**, 804-806, 1969
- 2) Nakatugawa, S. and Dewey, W.C.: The role in cancer therapy of inhibiting recovery from PLD induced by radiation or bleomycin. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **10**, 1425-1430, 1984.
- 3) Hall, E.J.: In *Radiobiology for the Radiologist*, p.131, Harper and Row Publishers, New York,

1988.

- 4) Hahn, G. and Little, J.B. : Plateau-phase cultures of mammalian cells : an *in-vitro* model of human cancer. *Curr. Topics Radiat. Res.*, **8**, 39-83, 1972.
- 5) 内海博司 : 亜致死傷害と潜在致死障害。代謝 **21**, 1179-1191, 1984.
- 6) Iliakis, G. : Radiation-induced potentially lethal damage : DNA lesions susceptible to fixation. *Int. J. Radiat. Biol.* **53**, 541-584, 1988.
- 7) Little, J.B., Hahn, G.M., Frindel, E., and Tubiana, M. : Repair of potentially lethal radiation damage *in vitro* and *in vivo*. *Radiology*, **106**, 689-694, 1973.
- 8) Shipley, W.V., Stanley, J.A., Courtenay, V.D. and Field, S.B. : Repair of radiation damage in Lewis lung carcinoma cells following *in situ* treatment with fast neutrons and gamma-rays. *Cancer Res.*, **35**, 932-938, 1975.
- 9) Rasey, J.S., Nelson, N.J. and Carpenter, R.E. : Recovery from PLD following irradiation with x-rays or cyclotron neutrons : 1. Response of EMT-6 cells *in vitro*. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phy.*, **4**, 1023-1027, 1978.
- 10) Cornforth, M.N. and Bedford, J.S. : X-ray induced breakage and rejoining to human interphase chromosomes. *Science*, **222**, 1141-1143, 1983.
- 11) Sasaki, H. and Nishimoto, T. : Chromosome condensation may enhance x-ray-related cell lethality in a temperature-sensitive mutant (ts BN2) of baby hamster kidney cells (BHK21). *Radiat. Res.*, **109**, 407-418, 1987.
- 12) Utsumi, H and Elkind, M.M. : Potentially lethal damage versus sublethal damage : Independent repair processes in actively growing Chinese hamster cells. *Radiat. Res.* **77**, 346-360, 1979.
- 13) Utsumi, H and Elkind, M.M. : Potentially lethal damage : Qualitative differences between ionizing and non-ionizing radiation and implications for 'single-hit' killing, *Int. J. Radiat. Biol.*, **35**, 373-380, 1979.
- 14) Utsumi, H and Sasaki, M.S. : Deficient repair of potentially lethal damage in actively growing ataxia telangiectasia cells. *Radiat. Res.*, **97**, 407-413, 1984.
- 15) Utsumi, H and Elkind, M.M. : Two forms of potentially lethal damage have similar repair kinetics in plateau—and in log—phase cells. *Int. J. Radiat. Biol.* **45**, 569-580, 1985.
- 16) Cramp, W.A. Edwards, J.C., George, A.M. and Sabovljevic, S.A. : Subcellular lesions : The current position. *Brit. J. Cancer*, **49** (Suppl. VI), 7-10. 1984.
- 17) Utsumi, H and Elkind, M.M. : Bleomycin-induced potentially Lethal damage and its repair. *Radiat. Res.* **119**, 534-541, 1989.
- 18) Bryant, P.E. : Enzymatic restriction of mammalian cell DNA : Evidence for double-strand breaks as potentially lethal lesions. *Int. J. Radiat. Biol.*, **48**, 55-60, 1985.

- 19) Giaccia, A., Weinstein, R., Hu, J., and Stamatou, T.D. : Cell cycle-dependent repair of double-strand DNA breaks in a γ -ray-sensitive Chinese hamster cell. *Somat. Cell Mol. Genet.*, **11**, 485-491, 1985.
- 20) Jentsch, S., McGrath, J.P. and Varshavsky, A. : The yeast DNA repair gene RAD6 encodes a ubiquitin-conjugating enzyme. *Nature*, **329**, 131-134, 1987.

II 正常組織の放射線障害

1 正常組織障害把握の細胞動態論

坪内 進／大原 弘

2 胸部照射による肺組織の障害

佐藤文昭／遠藤大二

1 正常組織障害把握の細胞動態論

—感受性把握の問題点, 特にLQモデルとの関連で

坪内 進* / 大原 弘**

Cell Kinetical Aspect of Normal Tissue Damages in Relation to Radiosensitivity
of Cells, Especially from the Points of LQ Model

Susumu Tsubouchi

Fukui Medical School, Matsuoka, Fukui 910-11, Japan

Hiroshi Oohara

National Institute of Radiological Science, Anagawa, Chiba 260, Japan

Abstract

Several points on the early and late radiation induced-normal tissue damages in terms of LQ model in multifractionation experiments of isoeffect were discussed from two factors, (1) dose-responses of cell survivals or of tissue damages and (2) principles of the model. Application of the model to the both early and late tissue damages was fairly difficult in several tissues and several experimental conditions. In early damages, cell survival curve of single irradiation did not always fit to LQ model and further more incomplete repair as well as repopulation in multifractionation experiment contradicted the model especially in low dose fractionation.

In late damages, the damages themselves did not express directly cell survival but probably indicate the degree of functional cell damage at the level of 10^{-1} . As most isoeffects in early damages were taken at the level of 10^{-3} , the comparison of two results from early and late tissue damages indicated the lack of coordinations both conceptionally and experimentally.

* 福井医科大学

** 放射線医学総合研究所

はじめに

正常組織の障害の評価は癌組織の感受性把握と共にかん放射線治療において重要であることはいうまでもない。正常組織においては癌組織周辺の臓器が一つのみならず複数存在することが多く、その上、一つの臓器は複数の組織より構成され、と同時にその各々は複数の細胞種より構成されている。従って一口に正常組織障害といってもこれらの細胞種ごとの障害、さらにはそれらの中での相互作用がある。またこれらの細胞が各々の機能をもつとともに増殖度の点ではあるものは腸上皮のように典型的な細胞再生系に属するものから、神経細胞のように非細胞再生系に属するものまでを含み、障害の把握をどの細胞群に置き、また検出時期を含めてどのようなクライテリヤで見るのかが重要となる。従ってこうした事情を考えれば正常組織の障害把握の普遍化は本来的に困難であるといわざるを得ない。このような問題点にもかかわらず、正常組織障害の把握が伝統的には皮膚障害、また、ここ約20年は主として早期の障害としてクロノゲネシチーによる細胞の生残率と晩期障害として機能障害を指標にして分割照射に応用して検討されてきた。とりわけこの数年はこうした組織障害の結果が近年マイクロドジメトリーの考えから出てきた放射線効果の関係式である直線二次のモデルに適用して組織障害を考察することが広く行われるにいたった(Thames et al 1982, Barendsen 1982, Fowler 1984)。ここではこうした適用性の問題点について障害評価の方法論を含めてふれてみたい。

障害評価方法の問題点

I. 障害の定量化及び考察の基盤となるモデル

1950年代コロニー法による *in vitro* での展開からスタートして1960年代の *in vivo*, *in situ* でのコロニー法の爆発的な展開となり組織の障害が細胞一つ一つの生残確率から考察できる糸口が見出されるにいたった。それまでは組織の障害はエンドポイントとして皮膚の紅斑、潰瘍、各種粘膜の潰瘍等、その他の組織では萎縮、硬化、壊死等、腫瘍組織では致死(増殖抑制)でとらえられた。とりわけ放射線治療においては正常及び腫瘍組織ともにこれらの反応から組織全体としてその障害をとらえ、こうした種々の障害を生み出すに必要な総線量(組織の耐容線量)の考え方、これを異なった治療期間で同じ障害を起こさせる Strandquist の等効果曲線へと定式化され、これはさらにその後分割回数的重要因素を追加して、名目標準線量(nominal standard dose)の概念が導入された Ellis の式にと発展した。しかしこうした従来の治療経験から生み出された障害の定量化及び普遍化についての考えには組織としての考えはあっても細胞単位の考えが欠落していた。従って先に述べた *in vivo*, *in situ* でのコロニー法の展開は組織、個体レベルでの放射線障害とその感受性について大きなインパクトをもたらした。細胞動態的には細胞周期、再生、分化、ターンオーバー、傷害論的には(Ⅲ)致死傷害、回復能等、の考えを加味して細胞単位で放射線感受性が論じられ、その上に立って組織の障害を細胞生物学的に考察する努力がなされるようになった。

細胞単位の放射線感受性についてはコロニー法による細胞の線量生残率曲線から主として1。単一ヒット多標的モデル($S=1-(1-e^{-D/D_0})^n$)²。直線二次(LQ)モデル($S=e^{-(\alpha D+\beta D^2)}$)の二つに当てはめて考察されている。両者共に一長一短あって優劣はつけがたい。後者では無効線量域がないため分割照射を考えるとときに数式的に単純で取り扱いやすいこと、加えて、この分割照射においてある同じ生残率をもたらすための分割線量、照射回数ファクターを容易に定式化できる。この同じ生残率が普遍化され概念が拡張されて分割照射における組織の反応にも等効果(iso effect)として使用されることになり、LQモデルは広く皮膚反応やコロニー法での早期反応にもまた機能障害による晩期反応にも普遍的に適用されるようになったことに特徴がある(Douglas & Fowler 1976)。こうしたことからLQモデルは放射線治療での組織障害を包括的に考察する武器として利用されるようになった。これらの結果に基づき回復効果の少ない α/β 値の高い早期反応の組織と回復効果の大きな α/β 値の低い晩期反応の組織に大別されるようになり、腫瘍組織とのかねあいからhyperfractionation, accelerated hyperfractionation, hypofractionation等、新たな照射様式が提起されている。以下にこのような考え方、及び問題点について障害把握の方法を含めて取り上げてみたい。

II. 障害把握の方法と問題点

A. 早期反応

細胞死、クロノゲネシチー、組織反応、及びそれらに基づく個体死等がある。この内、定量化の点から多くの組織でのクロノゲネシチーが取り上げられる一方、伝統的には古くから皮膚反応からの障害が検討がされてきた。クロノゲネシチーによる把握は定量化、実用性、組織普遍性の点で極めて秀でた方法であるため多くの組織で検討されてきた。しかし、ここで検討されている線量域がたとえば腸上皮の場合、幹細胞の生残率にしてマイクロコロニーでは 10^{-3} レベル(12Gy)、マクロコロニーでは 10^{-6} (20Gy)レベル(Withers and Elkind 1970)であり、一般の放射線治療で用いられる1回分割線量は2Gy程度であることから、同じ土台で論じるには問題が残る。また一般にこの方法は細胞再生力の旺盛な細胞群にのみ適用できるため分割照射効果の検討には再増殖が起きない間に照射を完了せねばならぬため現実の分割照射による治療とはかけ離れた実験条件の設定になる。さらにまたこの方法は、組織学的には多くの細胞より構成されるにもかかわらず、僅か一つの細胞種にのみ限局して障害を論じざるをえない宿命がある。

皮膚反応は極めて有用であり、往時は組織障害評価のスタンダードとして有用であったが高エネルギー放射線治療の普及により皮膚障害の軽減が計られたため組織障害把握は臓器別に必要とされる時代となりその重要性は低下した。

細胞死による検討は定量化、組織普遍性の点で難点があり、実用化が困難である。

個体死による方法はクロノゲネシチーの方法と同じく高い線量域で検討されることと全身の他の要因が多く絡むために組織全体の障害をみる利点があるにもかかわらず実用性に乏しい。

B. 晩期反応

晩期障害としては照射後数ヵ月以降の皮膚を始めとする各組織の硬化、萎縮、等による麻痺や呼吸数等を指標にした機能障害により定量化されている。ここでの標的細胞群は細胞再生率が低い場合組織障害は一般に標的細胞の消失、または変性を意味すると考えられ、クロノゲネシチーを見ているのではない。またその消失もしくは変性度は 10^0-10^{-1} までと推定され、クロノゲネシチーでの 10^{-3} 以下のオーダーとは際だった違いがある。この障害の定量化は障害が個体または組織臓器単位として表現されるため実験的には50%の動物に出現する線量を求めることになる。この方法はクロノゲネシチーに見られるように細胞単位ではないため多くの動物を必要とする。また、ここでの線量効果の結果は当然ながら細胞の感受性を直接的に表わすものではなく正確には組織の放射線に対する耐容度を表わすことになる。また組織の感受性といえ一般には発現頻度の線量効果での傾斜度を指すためこの50%の線量(組織の耐容線量)を実用的には組織の感受性としてもさしつかえない。しかしこれでもって細胞の感受性と関連させて組織障害論を論理的に云々するには数々の問題がある。このような理由から今までに晩発性の組織障害を等効果を指標にして直線二次のモデルに適用されてきたのは大きな問題点を含んでいることになる。このLQモデルはあくまでDNA分子、染色体や細胞単位の感受性についてのモデルであり、早期反応によるクロノゲネシチーの細胞単位の生残率の適用と同じ基盤で晩期反応を論じるわけにはいかないはずである。従ってこれまでLQモデルでの早期、晩発障害の比較論議は、組織が異なりかつ次元の異った反応がインターフェースなしで同一レベルで論じられていたことになり整合性に欠く。

以上LQモデル適用での主として概念上の問題点について述べた。次ぎにクロノゲネシチーによる早期反応から組織細胞を多標的モデル、LQモデルの両者に適用する上での現実的な問題点について筆者のデータも交えて言及してみたい。

III 多標的モデル、LQモデル適用上の細胞側からの問題点

一般に図1に示すごとく細胞単位での単一ヒット多標的モデルでの放射線効果はクロノゲネシチーで見れば培養細胞においては酸素分圧は D_0 の変化、線質(LET)の違いは D_0 と回復能(m)の変化として表われ、分割照射ではその回数が増加するにつれて D_0 が大きくなるものと定式化されている。そしてここに D_0 の値が大きく、また回復能も大きい抵抗性な癌細胞に対して高LETの放射線や高圧酸素または酸素類似物質(低酸素性増感剤)の利用や更にはhypofractionationによる照射が、一方正常組織防護の視点から癌細胞に比べて分割効果の大きな正常組織ではhyperfractionationやaccelerated hyperfractionationが考え出される根拠がある。

しかし翻ってこうした定式化された考えが現実の個体レベルでの正常および腫瘍の両組織でそのまま適用できるかどうかかならずしも十分に検討されているとも思えない。図2にWithersら(1974)による腸上皮のクロノゲネシチーによる線質(LET)効果、及び分割照射効果を示す。高LETの線質の中性子でも γ 線とくらべて D_0 は同じであり、更に γ 線においてはまた分割回数(N)を増やしても D_0 の増加にはつながらない。すなわち1回ごとの照射による回復能は後

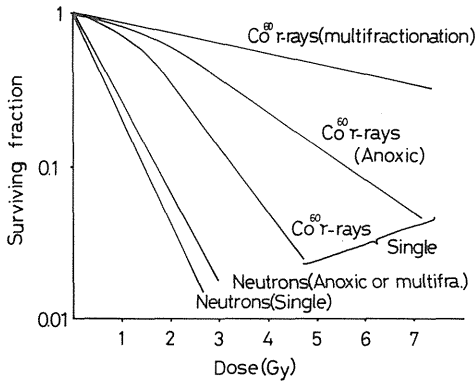


図1 哺乳動物細胞一般の酸素下または無酸素下での中性子及びガンマ線による線量生残率曲線
General single and multifraction dose-survival response curve for mammalian cells with or without oxygen to neutrons or to γ -rays

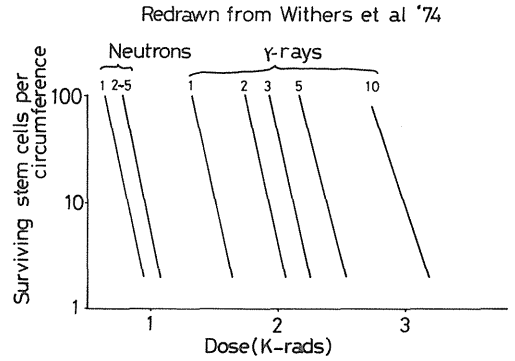


図2 1回、及び多分割照射によるマウス空腸腺窩幹細胞の中性子及びガンマ線による線量生残率曲線(Withers et al 1974)
Single and multifraction dose-survival curve for crypt stem cells of mouse jejunum exposed to fast neutrons or to γ -rays

の照射ほど少なくなることになり、 $S_N = \{1 - (1 - e^{-D/D_0})^n\}^N$ 又は $S_N = e^{-N(ad+BD^2)}$ のいずれの仮定も成り立たず分割照射への両モデルの適用はできないことを示す。図3にわれわれの腸上皮における酸素効果を示す。in vitroの細胞や実験腫瘍のようにanoxic(無酸素)が実際には不可能であるが生存ぎりぎりでの5%酸素吸入下では D_0 は変化せず、ただ回復能のみの変化となった。同様に100%酸素吸入下、更には5%酸素下での低酸素性増感剤misonidasolの使用は何れも D_0 は変化せず回復能のみ変化した(ただしBudRは D_0 の変化となる)。これは図4に示すごとく肋骨骨髓においても同様であり酸素や線質の違いでは D_0 は変わらずむしろ回復能が変化した。

一方精上皮(De Ruiter-Bootsma et al 1976, Suzuki et al 1977)や成長期軟骨(Kember 1967), 腫瘍(Ando et al 1984)においては酸素や線質の違いがデータは示さないが図1のように従来の考え方どおり D_0 の変化となって表われる。こうして見ると正常組織には酸素や線質によりその線量生残率曲線において腸上皮や骨髓のように D_0 が変化せず回復能が変わるものと精上皮や軟骨のように D_0 の変わるものの少なくとも二つに類型化できるのではなかろうか。腫瘍においても一般には D_0 の変化が主であるが詳しく調べるならば増殖度の高いリンパ腫などには同様に D_0 の変化しないものが見つかるかもしれない。

すなわち両モデル適用以前の問題点として以上のように組織細胞の反応の多様性があり組織によりさまざまであり統一的な基準で論じることの難しさを示している。従って多分割照射で等効果を指標にしてLQモデルへ適用したデータから組織細胞の感受性を論じることには問題があるといわざるをえない。さらにはこのようにして出てきたデータと細胞と直接的には関係

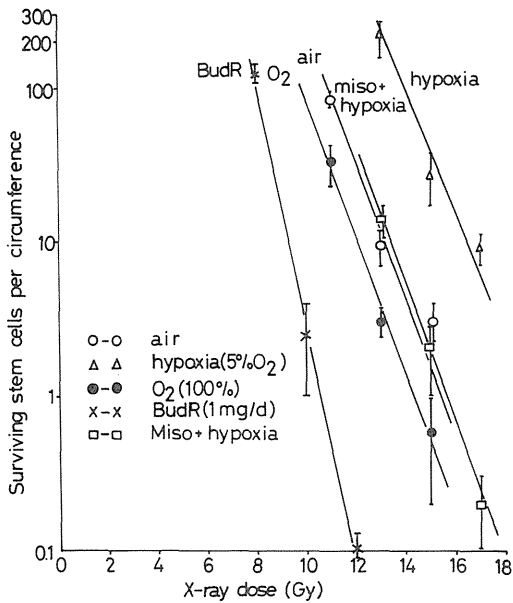


図3 種々の条件下でのX線照射によるマウス回腸幹細胞の線量生残率曲線
Dose-survival curve for crypt stem cells of mouse ileum to x-rays with several conditions

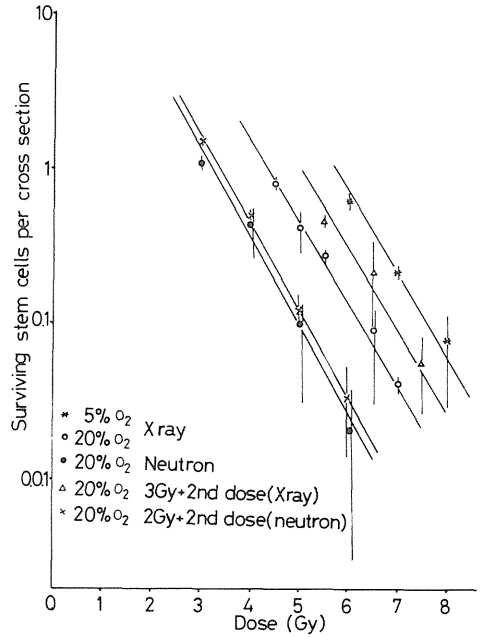


図4 1回、及び2分割照射によるマウス肋骨骨髓幹細胞の異なる酸素分圧下での線量生残率曲線
Single and split dose-survival curve for bone marrow stem cells of mouse lib to neutrons or to x-rays with different pO₂

のない晩期反応のLQモデル適用のデータを同一レベルで比較することの善し悪しは論を待たない。仮に腸上皮に適用した結果をみると、LQモデルからは α/β 値が6-11と高く低線量でも障害を受けやすいことを示唆する。しかし一ヒット多標的モデルでは腸上皮は約4 Gyまでは無効線量域であり(Withers and Elkind 1969) 矛盾した結果になる。この場合後者の方が現実と合う。こうしたことは筆者が指摘するまでもなく少なくともLQモデルの適用性については脊髄や肺の晩期障害において低線量分割照射の結果がLQモデル適用できないことが言われており(Ang et al 1985, Vegesna et al 1985), また腸上皮のクロノゲネシチーでみた早期反応でも同様なことが指摘されている(Thames et al, 1984)。Masudaら(1980)のデータに示されるように晩期障害としての皮膚の収縮においても完全な回復には一日近くが必要であり、一般にこうした適用不能な生物学的な要因は不完全な回復と、低線量での再増殖であると解釈できる。いずれにせよこうした問題点が指摘されていたにもかかわらずあまりこの点が振り向かれずに適用可能が前提としての議論が盛んなようだ。

ともあれこうしたことから数理的にも生物学的にもこうしたモデルへの適用には無理が生ずることは明らかである。改めて治療的な視点で見れば各組織の耐容線量についてのEllisの全治

療日数と分割回数との関係式からなんの進歩はしていないのではないかという思いにとらわれるのは思い過ごしであろうか。翻って組織の障害についてその標的細胞、またその感受性、回復能、細胞動態(細胞周期、再増殖、ターンオーバーなど)等についてわれわれはあまりにもその実態を僅かしかとらえていないことに気が付く。モデル化するのは知識、経験の集約化、理論化に大いに役立ち、次の進歩の原動力になる面はあるが、そのもとになる情報が包括的にまた理論的にこなれて集約されていないかぎり思わぬ落とし穴があることも一方の側面であろう。一口に感受性と言ってもさまざまな指標があり単純ではないことはいうまでもない。必ずしもクロノゲネシチーの検討できる細胞が標的細胞でないことがあり、もっと多面的に障害をとらえる時期に来ているのではなからうか。

この拙稿を書いたところでDurand(1988)の培養細胞を使つての多分割照射のLQモデル適用の問題点についての論文がでた。1回毎の照射の効果は後になるほど増加しLQモデルが成立しないこと。しかし敢えてLQモデルに適用してもデータをどのレベルの生残率から取るかによって α 、 β のいずれも変化し、さらに α/β 比も生残率の低い所で取れば高く、生残率の高い所では低い値をとることを示し、分割照射での等効果での α 、 β を論じることの無意味さを明解に指摘している。返すペンで当然ながら、バイオプシによる1回照射での生残率曲線からいわゆる predictive assayについて意味なしと喝破している。

またEwen and Hendry(1988)は晩期障害としてみれば α/β 値が低い腎細尿管上皮も増殖を促進させてクロノゲネシチーでみれば早期反応のタイプの高い α/β 値(12.5)を示すことを報告している。すなわち晩期反応タイプの組織も機能ではなく増殖性でみればやはり早期反応タイプになるわけで、いままでの早期、晩期反応での振り分けそのものに疑問を投げかけている。最近、肝細胞で晩期早期反応を同じクロノゲネシチーでみた報告があり、この場合早期、晩期ともに低い α/β (早期1.6または0.99, 晩期は1.90または2.13)を取ると同時に晩期では値が高くなっており、今までの早期は高く晩期は低いといったことは言えず一筋縄にはいかない(Fisher and Hendry 1988)。しかしこの場合方法論的に種々の問題があると同時に、実際の組織障害と対応するかの問題もあり、拙速な判定はできない。

いずれにせよ最後に述べた肝細胞を除き、今までの結果をみれば生物側として多くの組織において細胞レベルとつながった組織障害について普遍的な評価方法を持ち合わせていないのが実状である。すなわち急性障害では1回照射の細胞レベルの生残率から成立しない理論で多分割照射のモデルを組み立て、一方晩発障害では細胞レベルとのはっきりした関与の根拠なしで、同様に急性障害での細胞レベルから由来する、成立しえない多分割モデルを適用し、おのおのを比較していたことになる。換言すればdimensionの異なるものを同じ土台で論じていることになる。翻ってかくも細胞レベルから組織レベルへの道は依然として遙かなるかと思わざるえない。しかしながら今まで述べた方法論的、概念的の問題点はともかくとして、このLQモデルは分割照射において簡単に扱いが容易なため多くの組織に適用され、早期晩期の組織障害の定量的仕事が華々しく展開される原動力の一端を担ったことは間違いない。と同時にこの組織

障害の定量的把握の過程を通じて今後ますます多面的な現象把握と細胞種別の細胞動態的把握が必要であることを示唆している。

参考文献

- 1) Thames Jr., H.D., Withers, H.R., Peters, L.J., and Fletcher, G.H. : Changes in early and late radiation responses with altered dose fractionation : Implications for dose-survival relationships. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **8**, 219-226, 1982.
- 2) Barendsen, G.W. : Dose fractionation, dose rate and iso-effect relationships for normal tissue responses. *Int. J. Radiat. Biol. Phys.* **8**, 1981-1997, 1982.
- 3) Fowler, J.F. : Review : total doses in fractionated radiotherapy-implications of new radiobiological data. *Int. J. Radiat. Biol.* **46**, 103-120, 1984.
- 4) Douglas, B.G., and Fowler, J.F. : The effect of multiple small doses of x rays on skin reactions in the mouse and a basic interpretation. *Radiat. Res.* **66** : 401-426, 1976.
- 5) Withers, H.R., and Elkind, M.M. : Microcolony survival assay for cells of mouse intestinal mucosa exposed to radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **17** : 261-267, 1970.
- 6) Withers, H.R., Chu, A.M., Masson, K.A., Reid, B.O., Barkley, H.T., Jr. and Smathers, J.B. : Response of jejunal mucosa to fractionated doses of neutrons or x-rays. *Europ. J. Cancer* **10** : 249-252, 1974.
- 7) De Ruiter-Bootsma, Anke L., Kramer, M.F., De Rooij, D.G., and Davids, J.A.G. : Response of stem cells in the mouse testis to fission neutrons of 1 MeV mean energy and 300 kV x rays. Methodology, dose-response studies, relative biological effectiveness. *Radiat. Res.* **67** : 56-68, 1976.
- 8) Suzuki, N., Withers, H.R., and Hunter, N. : Radiosensitization of mouse spermatogenic stem cells by Ro-07-0582. *Radiat. Res.* **69** : 598-601, 1977.
- 9) Kember, N.F. : Cell survival and radiation damage in growth cartilage. *Br. J. Radiol.* **40** : 496-505, 1967.
- 10) Ando, K., Koike, S., Fukuda, N., and Kanehira, C. : Independent effect of a mixed-beam regimen of fast neutrons and gamma rays on a murine fibrosarcoma. *Radiat. Res.* **98** : 96-106, 1984.
- 11) Withers, H.R., and Elkind, M.M. : Radiosensitivity and fractionation response of crypt cells of mouse jejunum. *Radiat. Res.* **38** : 598-613, 1969.
- 12) Ang, K., Van Der Kogel, A.J., and Van Der Schueren, E. : Lack of evidence for increased tolerance of rat spinal cord with decreasing fraction doses below 2 Gy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **11** : 105-110, 1985.
- 13) Vegesna, V., Withers, H.R., Thames, H.D. Jr., and Mason, K. : Multifraction radiation response

- of mouse lung. *Int. J. Radiat. Biol.* **47**, 413-422, 1985.
- 14) Thames, H.D. Jr., Withers, H.R., and Peters, L.J. : Tissue repair capacity and repair kinetics deduced from multifractionated or continuous irradiation regimens with incomplete repair. *Br. J. Cancer* **49**, Suppl. VI, 263-269, 1984.
 - 15) Masuda, K., Hunter, N., Withers, H. : Late effect in mouse skin following single and multifractionated irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **6** : 1539-1544, 1980.
 - 16) Durand, R.E. : Repair and proliferation : Major determinants of the multifraction radiation response. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **17**, 1147-1152, 1988.
 - 17) Ewen, C., and Hendry, J.H. : Precipitation of radiation injury in kidney epithelium reveals a low fractionation sensitivity ($\alpha/\beta=12.5$ Gy). *Br. J. Radiol.* **62**, 283-285, 1989.
 - 18) Fisher, D.R., and Hendry, J.H. : Dose fractionation and hepatocyte clonogens : $\alpha/\beta-1 \approx 2$ Gy, and β decreases with increasing delay before assay. *Radiat. Res.* **113**, 51-57, 1988.

2 胸部照射による肺組織の障害

佐藤 文昭* / 遠藤 大二*

Lung Damages in Mice and Rats with Thoracic Irradiation

Fumiaki Sato and Daiji Endoh

Faculty of Veterinary Medicine, Hokkaido University,
Sapporo 060, Japan

Abstract

Irradiation of the lung can produce serious tissue disruption and result in significant, potentially fatal pulmonary dysfunction. The sterilization of tumours in the lung is often limited by the clinical tolerance of the normal lung tissues. Many experiments have been carried out so far in order to elucidate the lung damages with thoracic irradiation.

Earlier lung damages are an increase of alveolar surfactant, an induced proliferation of type II pneumocytes and dysfunctions in capillary endothelial cells. The increased amounts of alveolar surfactant were measurable by 24 hours beyond 10 Gy. Labelling indices of type II pneumocytes with tritiated thymidine have a peak at about 4 weeks after irradiation. Pulmonary angiotensin converting enzyme activity, plasminogen activator activity, and prostacyclin and thromboxane production served as indices of lung endothelial function. There were dose-dependent decrease in angiotensin converting enzyme and plasminogen activator activity and increases in prostacyclin and thromboxane production at two months after irradiation.

* 北海道大学獣医学部

Radiation pneumonitis as a late effect appears at approximately 20 weeks after irradiation. An increase of breathing rates was observed at the time of pneumonitis. Animals which survived pneumonitis may suffer from lung fibrosis beyond one year after irradiation. RBEs of fast neutrons and negative pions were reported to be between 1 and 6 depending upon indices of effects and upon exposure patterns.

1. はじめに

胸部悪性腫瘍の放射線治療の際には、肺の機能障害、放射線肺炎や肺線維症が問題となる。この問題の解決のための基礎研究として、マウスやラットを用いた実験が数多く実施されている。肺組織の細胞動力学、呼吸数の変化、肺血管内皮の機能障害、肺炎による死亡等に関する実験データを以下に紹介する。

2. 肺組織の細胞動力学

放射線照射後の肺組織の細胞動力学は ^3H チミジンを用いたマイクロオートラジオグラフィにより、標識指数を調べる方法で研究が行われている。現在のところin vivoで肺を構成する細胞の放射線致死を直接に調べる方法がない。そこで細胞死の後に生ずる代償性の細胞増殖の誘導を ^3H チミジンのとりこみで調べようとするものである。

図1にマウスの胸部にX線を1回照射した場合のCoggle¹⁾の実験データを示した。これはII型肺胞上皮細胞のフラッシュラベルによる標識指数の経時変化を示している。10または12Gyを

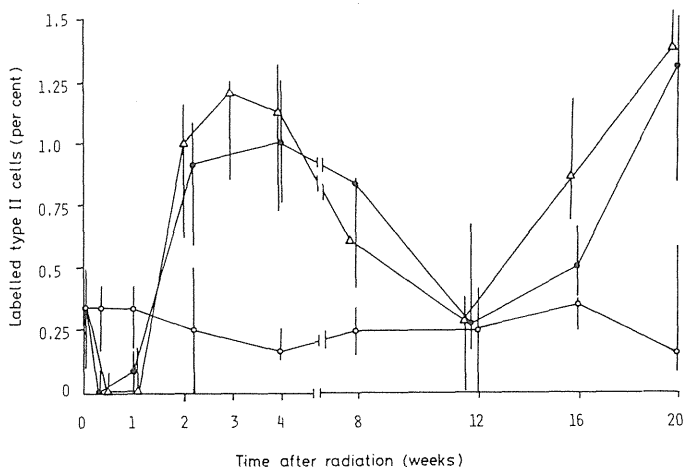


図1 II型肺胞上皮細胞のDNA標識指数

●10Gy, △12Gy, ○対照群。

DNA labelling index of type II pneumocytes in mice after 10Gy (●) and 12Gy (△) thoracic irradiation compared with control mice (○).

照射すると、1週後までは標識指数は対照群より小さいが、2～4週には対照群を越えるピークがある。その後12週では対照群のレベルまで下がり、16～20週にかけて再び標識指数の上昇が認められる。最初の上昇はII型肺胞上皮細胞からのサーファクタントの分泌の増加の時期に対応しており、第2の上昇は肺炎の現われる時期に対応している。線量を2 Gyまたは5 Gyに下げると、照射後1週にわずかの減少が認められるのみで、大きな変化はない。Coultas²⁾も10Gy照射後約5ヵ月にII型肺胞上皮細胞の増殖を報告している。

³Hチミジンの連続ラベルにより、II型肺胞上皮細胞の増殖を調べる実験も行われている³⁾。マウス胸部にX線10Gyを照射した後に、1日から5週の種々の時期に8時間間隔で5回の³Hチミジンの投与を行った。その結果II型肺胞上皮細胞の標識指数は、最初の1週間は対照群以下であり、その後すぐ対照群のレベルに回復した。この回復後は5週目まで標識指数は増加し続けた。他の肺胞細胞(I型肺胞上皮細胞、毛細血管内皮細胞とその他の間質の細胞)についても、標識指数を調べてみると、II型肺胞上皮細胞に認められた直後の減少は観察されなかったが、その他は類似の変化を示した。

II型肺胞上皮細胞の増殖を誘導するものは、放射線だけではない。オゾン、二酸化窒素、塩化カドミウム、トリプシン、bleomycine, butylated hydroxytolueneなどが、この細胞の増殖を誘導する。こうした化学物質への反応は早期に生じて、投与後7～10日に終わるとされている。こうした影響の経時変化が放射線に似ているものにウレタンがある⁴⁾。マウスにウレタンを投与すると、肺胞領域の標識指数は10日目まで上昇し続ける。ウレタン投与24時間後に880radのX線全身照射を行うと、ウレタンによる増殖誘導が抑制される。

こうした放射線や化学物質による、II型肺胞上皮細胞の増殖誘導は、これらの因子によるI型肺胞上皮細胞の消失を代償するために生ずると考えられている。こうした考えの根拠の1つに、I型肺胞上皮細胞がII型肺胞上皮細胞から分化することを示唆するデータがある。

3. 呼吸数の変化

マウスを特殊な容器に入れて、呼吸による気圧の変化を電気的信号として外部にとり出し、毎分呼吸数と呼吸の深さを測定する方法が開発されており、プレシスモグラフィと呼ばれている。マウスの胸部に種々の線量のX線を照射した後の毎分呼吸数の経時変化を図2に示した⁵⁾。

斜線の部分は非照射対照群で、年齢と共にわずかに減少している。14Gy照射群については、実線と破線の2つが示されているが、破線は照射後36週以上生存したマウスのみデータである。実線と破線の比較から死亡群も生存群も殆ど同じ傾向を示していることが知られる。すなわち14Gyの群では毎分呼吸数の回復がみられている。毎分呼吸数の増加に対する閾値は12Gyであった。同時に行った組織学的検索の結果によると、14～26週の毎分呼吸数の増加は放射線肺炎と関係していた。36週以後で対照群より高い群では線維症が認められた。肺炎の認められる時期と線維症が認められる時期は分離していることが示唆された。呼吸の深さは、毎分呼吸数が増加している状況で浅くなっているのが観察されている。

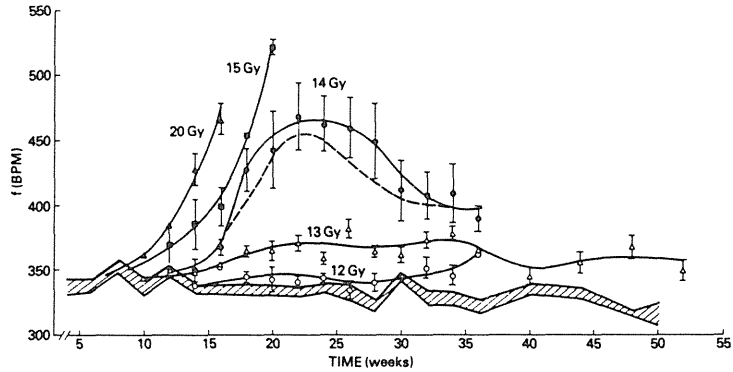


図2 肺に対するX線1回照射後の毎分呼吸数の変化。

誤差は ± 1 SEである。斜線の部分はシャム照射群である。破線は14Gyの照射後、36週以上生存した4匹のマウスのみの数値である。

Breathing frequency (in breaths per minute) plotted as a function of time after a range of single doses of X rays to both lungs. Error bars represent ± 1 SEM. The shaded area represents ± 1 SEM values for sham-irradiated mice. The dotted line is the f value for only the four mice given 14Gy which survived for 36 weeks.

図2の14Gy照射群では35週以後の測定点が1つしかないが、50週位まで測定し続けた別の実験では、ほぼ2峯性のデータが得られている。最初のピークは肺炎の発症に対応し、20週前後に現われる。34週に最小値があり、その後50週位まで増加し続けており、これは線維症の発症に関係している。これに対して、9.5Gyずつ2回照射を1週間隔で行った場合や、4週間隔で行った場合には、最初のピークの減少が著しい。しかし第2のピークは分割しても影響がないか、またはわずかではあるが増悪の傾向を示している。放射線治療のモデル実験として、X線を用いて1日の照射回数が1回、2回、または3回とし、照射日数を1日から13日まで変えた実験も行われた⁶⁾。毎分呼吸数のほかに死亡率を指標として、ある数学的モデルに従って肺障害の回復半減期を求めたところ、0.3~1.2時間が得られた。そこで95%の回復(回復半減期の4~5倍)を得るには6~8時間が必要とされ、6時間間隔(1日3回照射)より短い間隔の照射には問題があることが示唆された。

4. 肺血管内皮の機能障害

肺はガス交換を行うのみならず、種々の血管作動性物質の代謝と産生を行っており、代謝器官であると共に内分泌機能をも有していると考えられている⁷⁾。ラットの右胸部に⁶⁰Coの γ 線を照射し、2ヵ月後に殺してangiotensin converting enzyme (ACE)の活性、plasminogen activator (PLA)の活性、prostacyclin (PGI₂)の産生およびthromboxane (TXA₂)の産生を調べた報告がある⁸⁾。これらは肺血管内皮の機能を表わす指標と考えられている。ACEとPLAは線量と共に減少し、PGI₂とTXA₂は線量と共に減少することが知られた。24時間間隔の分割照射では、放射線影響が軽減されるので回復があることも知られた。

5. 化学物質による修飾

放射線による肺障害は種々の薬剤で修飾されることが知られている。比較的に最近の報告を表1に示した。

表1 肺障害の化学物質による修飾
Modification of lung injury with chemicals

化学物質	影 響	文 献
Adriamycin	Slow repairの阻害	Redpath et al. ⁹⁾
D-penicillamine	LD ₅₀ (181-360)の増大	Ward et al. ¹⁰⁾
ACNU	死亡率の減少	Shimizu et al. ¹¹⁾
Captopril	機能障害の低減	Ward et al. ¹²⁾
WR-2721	コラーゲンの減少	Miller et al. ¹³⁾
Corticosteroid	³ Hチミジンのとりこみの増加	Gross et al. ¹⁴⁾

adriamycin, bleomycine や cyclophosphamid はヒトや動物の放射線肺炎を増悪する。表1の adriamycine のデータ⁹⁾はマウスのLD₅₀(40-80)の値からslow repairを阻害すると結論されている。D-penicillamineはcollagenのantagonistでcollagenの沈着を軽減することが知られた。Wardら¹⁰⁾はD-penicillamineを飼料に加えたマウスと非添加飼料のマウスのLD₅₀(60-180)とLD₅₀(181-360)を求めた。その結果この薬剤添加はLD₅₀(60-180)には影響を与えなかったが、LD₅₀(181-360)を増加した。すなわち肺炎による死亡を防護することはできなかったが、肺線維症を防護した。ACNU (nismustine hydrochloride)はalkylating anticancer agentとして、放射線との併用で治療効果をあげている。マウスにX線を照射する直前にACNUを静注すると急性放射線肺炎を軽減し、死亡率を減少させる¹¹⁾。Captoprilはangiotensin converting enzymeの阻害剤であるが、放射線の照射によるラットのangiotensin converting enzyme, plasminogen activator, prostacyclinやthromboxaneの変動を軽減する¹²⁾。放射線防護剤WR-2721はX線照射の30分前にラットの腹腔に投与すると、コラーゲンの沈着を減少させる¹³⁾。マウスにガンマ線を照射してから、週3回のcorticosteroid (methylprednisolone)の腹腔投与を行った実験がある¹⁴⁾。それによると照射後18-22週のII型肺胞上皮細胞の³Hチミジンによる標識指数が増加しており、corticosteroidは防護的に作用していると考えられている。

6. 肺障害の指標

肺障害の指標として、II型肺胞上皮細胞が分泌するサーファクタント量や血清中の銅の含有量が提案されている。II型肺胞上皮細胞は層板小体を有しており、この顆粒からサーファクタントが分泌されている。この分泌の減少はコンプライアンス(伸張率)を減少させ、肺胞内の液体の蓄積に至る。コンプライアンスの減少は、肺が硬くなって弾力を失っていることを示す。ヒトではこのサーファクタントに含まれる蛋白をコードしている遺伝子についても研究が行われている¹⁵⁾。

マウスの胸部に ^{137}Cs の γ 線19.2Gyを照射し、その後経時的に殺して、サーファクタントの分泌を調べた報告¹⁶⁾がある。それによると、照射1日後にはすでに分泌の増加が認められて、28日まで増加し続ける。照射後のサーファクタントの分泌は電顕写真によっても確認されている。照射後28日のサーファクタントの分泌量の線量効果関係が、照射後200日までの死亡率の線量効果関係に類似していることが知られた。このことは3種の系統のマウスとウサギで確認された。この事実に基づき、Rubinらは晩発障害としての肺炎は早期のサーファクタントの分泌量を指標として予想できると主張している。しかしこうした考えには批判がないわけではない¹⁷⁾。サーファクタント以外には、血清中の銅の含有量が肺障害の指標として提案されている¹⁸⁾。ラットの右胸部に ^{60}Co の γ 線を照射した後2ヵ月に右肺のhydroxyproline(コラーゲンに含まれるアミノ酸)量と血清中の銅の含有量を測定した。このアミノ酸量は線量と共に増加し、その変化は血清中の銅の含有量と正の相関を示した。

7. 高LET放射線の影響

新しい放射線治療として腫瘍内の低酸素細胞を殺すための中性子線治療や線量分布のよさから π -中間子を用いた治療が行われている。それと関連して、こうした高LET放射線による肺障害を調べる実験がすでに行われている。表2はマウス胸部に速中性子線を照射して得られたRBEを示した。表2の中のBHT (butylated hydroxytoluene)は抗酸化剤として用いられている物質で、II型肺胞上皮細胞の増殖を誘導する。BHTを用いて得られたRBEの変動は、放射線の照射後のどの時期にRBEを調べたかによる。表2の中で死亡率とあるのは、肺炎による死亡率を指標とした実験で、RBEの変動は分割照射等の照射方法の違いを反映している。 π -中間子についてはRBEは LD_{50} (180)を指標として1.4と報告されている²⁵⁾。

表2 速中性子による肺障害のRBE
RBE on lung injury with fast neutrons

RBE	指 標	文 献
~ 1	Surfactantの分泌	Ahier et al. ¹⁹⁾
1.7~6.0	BHTによる増殖誘導	Meyer et al. ²⁰⁾
2	同上	Meyer et al. ²¹⁾
1.6	死亡率	Geraci et al. ²²⁾
1.5~3.7	同上	Hornsey et al. ²³⁾
2.2	同上	Phillips et al. ²⁴⁾

8. おわりに

上記の実験結果から、早期の肺組織の変化としてはサーファクタントの分泌の増加、II型肺胞上皮細胞の増殖誘導や血管内皮の機能障害が認められている。その後晩発障害としての肺炎が、照射後20週付近で現われ、毎分呼吸数の増加を伴っている。肺炎で死亡しなかったマウスは、照射後1年付近で肺線維症となるが、この時期には最早や肺炎の所見は認められない。こ

うした肺障害を軽減する薬剤の報告もあるが、抗がん剤は一般に肺障害を増悪する。中性子や π -中間子のRBEとしては1～6程度の値が報告されている。

晩発障害としての肺炎、肺線維症の発生機構については、今なお不明な点が多い。こうした障害に至る標的細胞はII型肺胞上皮細胞か、または血管内皮細胞かという問題が残されている。また線維症にとって肺炎が不可欠な先行病変かどうかという点も、必ずしも明らかではない。

参考文献

- 1) Coggle, J.E.: Proliferation of type II pneumonocytes after X-irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, **51**, 393-399, 1987.
- 2) Coultas, P.G.: Type II cell turnover after lung irradiation. *Brit. J. Radiol.*, **57**, 440 (abstract), 1984.
- 3) Coultas, P.G., Ahier, R.G. and Frield, S.B.: Effects of neutron and X irradiation on cell proliferation in mouse lung. *Radiat. Res.* **85**, 516-528, 1981.
- 4) Foley, W.A., Cole, L.G., Ingram, B.J. and Crocker, T.T.: X-ray inhibition of urethan-stimulated proliferation of lung cells of the mouse as estimated by incorporation of tritiated thymidine. *Nature* **199**, 1267-1268, 1963.
- 5) Travis, E.L., Down, J.D., Holmes, S.J. and Hobson, B.: Radiation pneumonitis and fibrosis in mouse lung assayed by respiratory frequency and histology. *Radiat. Res.* **84**, 133-143, 1980.
- 6) Parkins, C.S., Whitsed, C.A. and Fowler, J.F.: Repair kinetics in mouse lung after multiple X-ray fractionations per day. *Int. J. Radiat. Biol.* **54**, 429-443, 1988.
- 7) 北村論: 肺の内分泌・代謝機能, 生体の科学, **39**, 231-234, 1988.
- 8) Ward, W.F., Hinz, J.M., Molteni, A. and Ts'ao, C.: Split-dose sparing of γ -ray-induced pulmonary endothelial dysfunction in rats. *Radiat. Res.* **114**, 627-633, 1988.
- 9) Redpath, J.L., Zabilansky, E. and Colman, M.: The effect of adriamycin on repair of sublethal damage and slow repair in irradiated mouse lung. *Int. J. Radiat. Biol.* **39**, 157-161, 1981.
- 10) Ward, W.F., Shih-Hoellwarth, A., Pearlman, H. and Kepka, A.G.: Whole-thorax radiation lethality in penicillamine-treated mice. *Radiat. Res.* **90**, 321-329, 1982.
- 11) Shimizu, F., Okawa, T., Inomata, T. and Mizuno, H.: Protective effect of nismustine hydrochloride against radiation-induced pulmonary injury in mice, *Jpn. J. Cancer Res.* **78**, 1420-1425, 1987.
- 12) Ward, W.F., Kim, Y.T., Molteni, A. and Solliday, N.H.: Radiation-induced pulmonary endothelial dysfunction in rats: modification by an inhibitor of angiotensin converting enzyme. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **15**, 135-140, 1988.
- 13) Miller, G.G., Dawson, D.T. and Battista, J.J.: Computed tomographic assesment of radiation induced damage in the lung of normal and WR 2721 protected LAF₁ mice. *Int. J. Radiat. Oncol.*

- Biol. Phys.* **12**, 1971-1975, 1986.
- 14) Gross, N.J. and Narine, K.R. : Experimental radiation pneumonitis. Corticosteroids increase the replicative activity of alveolar type 2 cells. *Radiat. Res.* **115**, 543-549, 1988.
 - 15) Glasser, S.W., Korfhagen, T.R., Perme, C.M., Pilot-Matias, T.J., Kister, S.E. and Whitsett, J. A. : Two sp-c genes encoding human pulmonary surfactant proteolipid. *J. Biol. Chem.* **263**, 10326-10331 1988.
 - 16) Rubin, P., Finkelstein, J.N., Siemann, D.W., Shapiro, D.L., Van Houtte, P. and Penney, D. : Predictive biochemical assays for late radiation effects. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **12**, 469-476, 1986.
 - 17) Down, J.D. and Coultas, P.G. : Is surfactant release a reliable predictor of radiation pneumonitis? *Int. J. Radiat. Oncol. Phys.* **14**, 211-212, 1988.
 - 18) Ward, W.F., Molteni, A., Fitzsimons, E.J. and Hinz, J. : Serum copper concentration as an index of lung injury in rats exposed to hemithorax irradiation. *Radiat. Res.* **114**, 613-620, 1988.
 - 19) Ahier, R.G., Anderson, R.L. and Coultas, P.G. : Responses of mouse lung to irradiation. 1. Alterations in alveolar surfactant after neutrons and X-rays. *Radiotherapy and Oncology* **3**, 61-68, 1985.
 - 20) Meyer, K.R. and Ullrich, R.L. : Effects of X rays and fission neutrons on an induced proliferative response in lung type 2 epithelial cells. *Radiat. Res.* **85**, 380-389, 1981.
 - 21) Meyer, K.R., Witschi, H. and Ullrich, R.L. : Proliferative response of type 2 lung epithelial cells after X rays and fission neutrons. *Radiat. Res.* **82**, 559-569, 1980.
 - 22) Geraci, J.P., Jackson, K.L., Christensen, G.M., Parker, R.G., Thrower, P.D. and Fox, M. : Single dose fast neutron RBE for pulmonary and esophageal damage in mice. *Radiology* **120**, 701-703, 1976.
 - 23) Hornsey, S., Kutsutani, Y. and Field, S.B. : Damage to mouse lung with fractionated neutrons and X rays. *Radiology* **116**, 171-174, 1975.
 - 24) Phillips, T.L., Barschall, H.H., Goldberg, E., Fu, K. and Rowe, J. : Comparison of RBE values of 15 Mev neutrons of damage to an experimental tumour and some normal tissues. *Europ. J. Cancer* **10**, 287-292, 1974.
 - 25) Van der Kogel, A.J., Martin, J.C., Smith, A.R. and Raju, M.R. : Late effects of fractionated pi-mesons compared to X rays on mouse lung. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **14**, 1175-1184, 1988.

III 放射線障害の修飾及び併用効果

- 1 オージェ効果の細胞障害とヨード
デオキシウリジンの増感作用

篠原 邦夫

- 2 低酸素増感剤の作用

母里 知之

- 3 化学療法剤と放射線による併用効果と正常組織障害

田辺政裕／高橋英世

1 オージェ効果の細胞障害とヨード デオキシウリジンの増感作用

篠原 邦夫*

Cytotoxicity of Auger Effect and Radiosensitization of Iododeoxyuridine

Kunio Shinohara

Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science
3-18-22 Honkomagome, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan.

Abstract

The cytotoxicity of Auger effect will have advantages for cancer treatment over x-rays in many points such as ; (1) higher killing efficiency, (2) lower oxygen enhancement ratio, (3) no difference in the lethality under the temperature between +4°C and -196°C, (4) highly localized effect (mainly within 1.5-2.0 nm), and (5) less difference in the sensitivities of the cells in different stages of cell cycle. These advantages are those of high LET radiations. The use of Auger effect in cancer treatment has been studied in two ways : the use of radioisotopes of Auger emitters and the induction of Auger effect following to the photoelectric effect by external x-rays of proper energy. The latter method is called photon activation therapy by Fairchild et al. The experimental evidences for the induction of Auger effect were obtained with the use of radioprotectors in HeLa cells labeled with iododeoxyuridine irradiated with low energy x-rays. The cytotoxicity of Auger effect was characterized as that it is more difficult to be protected by cysteamine or DMSO and is protectable by DMSO but not protectable in part by cysteamine. The experimental data in HeLa cells labeled with iododeoxyuridine

* 東京都臨床医学総合研究所

irradiated with synchrotron radiation were not in accord with the quantitative estimate by Fairchild et al. We corrected their equation and found that the contribution of Auger effect was small in the sensitization effect of iododeoxyuridine. It is concluded that the induction of Auger effect by the irradiation with monochromatic x-rays (via photoelectric effect) is not an effective method for cancer therapy. Rather the use of conventional sensitization effect of iododeoxyuridine is worth to be considered again in combination with other methods such as brachytherapy with a small source or hyperthermia. It should be noted that the new mode for the use of Auger effect in cancer therapy has been proposed recently.

がん治療の目標は、がん細胞にだけ高い細胞毒性を与えるような方法の開発であろう。オージェ効果の細胞致死作用は、その局在性が高く、また細胞毒性が大きいので、その候補の一つと考えてよい。一方、ヨードデオキシウリジン(IUdR)の増感作用もまだまだ価値の高い方法として検討の余地が残されている。本稿では、オージェ効果の細胞致死作用およびその性質を治療に利用する試みについて紹介したい。また、その研究の過程で出てきたIUdRの増感作用の治療への利用の再検討についても論及したい。

1. オージェ効果の細胞致死作用

元素の内殻軌道に電子の空位が生ずるとその空位は外殻軌道の電子によって埋められるが、このとき、この軌道間のエネルギーは、蛍光X線あるいは別の外殻電子の放出に使われる。この外殻電子の放出現象をオージェ効果と言う。オージェ効果の場合には、新たに生じた空位が2つとなり、さらにその外殻の軌道電子の放出を誘発し、空位は累積的に増加する。すなわち1つの内殻軌道の空位があると、連鎖反応的にオージェ効果が起これ多数の電子(オージェ電子)が放出されることになる。オージェ電子は、いずれもエネルギーが小さいため飛程が短く、結果として多数の電子による集中的な傷害が局所(オージェ電子放出元素の近傍)に生ずることになる。従って、この性質を上手く利用すれば、腫瘍細胞を選択的に攻撃することができるだろう。

(i) オージェ効果の細胞致死作用の特徴

オージェ効果の細胞致死作用の特徴は主に ^{125}I 標識化合物 [^{125}I -ヨードデオキシウリジン(IUdR)など]の細胞致死作用で検討された。 ^{125}I は、軌道電子捕獲(100%)により $^{125\text{m}}\text{Te}$ になり、 $^{125\text{m}}\text{Te}$ はさらに γ 線(7%)または内部転換電子(93%)としてエネルギーを放出し基底状態の ^{125}Te になる。すなわち ^{125}I は、崩壊して ^{125}Te になる際に、軌道電子捕獲および内部転換の両過程で軌道に空位が生じ、1崩壊当たり平均して21.2個の電子が放出される¹⁾。このオージェ効果

の細胞致死作用の特徴を整理すると以下のようになる。

- (1)細胞致死作用が大きい^{2,3)}。
- (2)酸素効果が小さい(1.4以下)⁴⁾。
- (3)+4°Cと-196°Cで致死作用に差がない⁴⁾。
- (4)傷害の局在性が高い(主に1.5-2 nm以内)^{3,5)}。
- (5)細胞致死作用の細胞周期依存性が低い⁶⁾。

また、局所的なエネルギー付与の大きさは5 MeVの α 粒子(LET=100keV/ μ m)以上と計算されており⁷⁾、いずれも高LET線の特徴を示している。

(ii) RI標識化合物を用いたオージェ効果の治療への応用

オージェ効果の治療への応用としては、¹²⁵IUdRを用いて実験的に試みられた例がある。すなわち、腹腔内に腫瘍細胞を移植したマウスの腹腔に、¹²⁵IUdRを投与すると、マウスの生存期間の延長がみられた⁸⁾。(この効果は同様に投与した¹³¹IUdRまたはNa¹²⁵IやNa¹³¹Iの場合には検出されなかったので、オージェ効果によるものと考えてよい。)しかし¹²⁵IUdRの場合には、骨髄細胞や腸上皮細胞のような細胞再生系への¹²⁵Iの取り込みによる正常組織への毒性が問題となる。そこで腫瘍選択性の高いRI標識化合物として¹²⁵Iで標識した各種モノクローナル抗体⁹⁻¹¹⁾やエストロジェンの受容体に結合するタモキシフェン¹²⁾あるいは^{80m}Brで標識したエストロジェン¹³⁾といった化合物が提案されている。ただ、RI標識化合物を用いる場合にそのオージェ効果を利用するには、化合物の細胞内における存在位置が重要である。既に示したようにオージェ効果の生物作用の局在性が非常に高いので、その毒性が発揮されるためにはRI標識化合物が細胞核内へ集積されなければならない¹⁴⁾。いかえると、細胞膜に抗原があるモノクローナル抗体や細胞膜を透過しない化合物の場合にはRIの崩壊によるX線等を利用していただけでオージェ効果を利用している可能性は低い。そのような場合には、オージェ効果よりも影響範囲の広い α 線の利用の方が適当と考えられるが、 α 崩壊の核種として²¹¹Atが提案されている^{15,16)}。

2. ヨードデオキシウリジンの増感作用

オージェ効果の治療への応用として提案された方法の1つに光子活性化療法(Photon activation therapy)がある¹⁷⁻²⁰⁾。文献的には、Photon capture therapyという言葉はFeinendegenが用いた例²¹⁾がみられるが、内容はまったく同じと考えてよい。本法の特徴は、オージェ効果の誘発に、低エネルギーX線による元素の内殻電離を利用する点にある。Fairchildらは、IUdRとIのK吸収端よりやや大きいエネルギーのX線の組み合わせがその目的に適していると提案し、がん治療における利得を計算によって推論した^{17,18)}。以下に示すようにわれわれは、その実験的検証を行い、低エネルギーX線によるオージェ効果の誘発による細胞致死増感は確かに検出できること、しかしその量的利得はFairchildらが推論したほど大きくはないことを明らかにした。またこの検討結果からIUdRの放射線増感作用のがん治療への応用について再検討の価値があ

ることを明らかにした。

(i) 低エネルギーX線照射によるオージェ効果の誘発

低エネルギーX線照射がオージェ効果を誘発し細胞致死増感作用を示すことは臭素(Br)と14.4keVのX線の組み合わせにより、乾燥細菌で明らかにされた²²⁾のが最初である。治療を念頭におくとき、水溶液中の哺乳動物細胞でこの効果を検出する必要がある。われわれは、筑波にある高エネルギー物理学研究所放射光実験施設のシンクロトン放射光を用いて、非放射性的のブロモデオキシウリジン(BUdR)を取り込ませたHeLa細胞にオージェ効果の誘発による致死増感がみられることを明らかにした(図1)²³⁾。臭素のK吸収端は0.092nm(13.47keV)なので、図中オージェ効果の影響は、BUdRを取り込んだHeLa細胞における2つの波長(0.1nmと0.09nm)での感受性の差として検出されているが、その大きさは、いわゆるハロゲンの増感作用に比べて大きなものではなかった。Fairchildらはこの点を詳細に理論的に検討し¹⁷⁾、より大きなオージェ増感を得るには、IUdRとそのK吸収端0.0374nm(33.17keV)よりやや大きなエネルギーのX線を用いる方がよいと結論した。(またこの結論をもとにその利得を推論しているが、後述のようにその推論には修正が必要である。)

図1は、少なくとも定性的にはオージェ効果の誘発による致死増感があることを示しているといえるだろうが、ここで1つ問題となるのは、オージェ効果の誘発による致死増感の特徴である。いわゆるハロゲンによる致死増感と異なる性質を持っているかどうかは重要である。オージェ効果を誘発するためには、着目している元素(例えばI)の内殻軌道の電子とX線との間の直接作用(光電効果)が必要である。そこでわれわれは、IUdRと実験室のX線(実効エネルギー48keV)の組み合わせに放射線防護剤を併用して、オージェ効果による細胞致死作用を分離することを試みた。また比較のために、X線のかわりに⁶⁰Coの γ 線を用いて同様の検討を行な

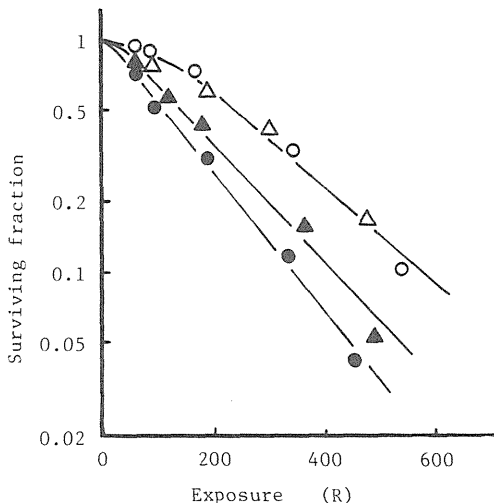


図1 BUdR標識HeLa細胞における0.09nm放射光の細胞致死増感作用
BUdR標識HeLa細胞(●, ▲)および非標識細胞(○, △)に対する0.1nm(▲, △)あるいは0.09nm(●, ○)シンクロトン放射光の細胞致死作用を示す。BUdR標識細胞の生存率の2つの波長の差(●と▲の差)は0.09nm放射光で誘発されたオージェ効果による。Enhanced killing of 0.09nm synchrotron radiation on HeLa cells labeled with BUdR.

った^{24,25)}。なお結果の解析のために防護剤の防護率を求める次式を考案した。

$$\text{防護率(\%)} = \{(\ln SF_0 - \ln SF_x) / \ln SF_0\} \times 100 \dots (1)$$

ここで、 SF_0 、 SF_x はそれぞれ防護剤が0またはx mMのときの細胞生存率である。また防護剤としては、システアミンおよびDMSOを用いた。この検討の結果、システアミンの場合には、X線とIUdRの組み合わせ(Iからのオージェ効果を誘発できる条件下)でのみ防護できない傷害の増加が11.2%検出され、また防護しにくい傷害となっていること²⁴⁾、またDMSOの場合には、防護できない傷害の増加はなく、ただ傷害が防護しにくくなっているにすぎないこと²⁵⁾が明らかとなった。なおこのDMSOの結果は、Neビームの場合のChapmanらの実験結果²⁶⁾をわれわれの方法で解析した場合にも定性的によく一致していた。

以上のように、IUdRと低エネルギーX線の組み合わせによりオージェ効果の誘発による細胞致死増感がみられることおよびこの致死作用は高LET線の特徴を示すことが明らかとなったが、がん治療に利用するためにはその増感率が問題となる。すなわちFairchildらの推論の実験的検証をする必要がある。図2は、前述の高エネルギー物理学研究所放射光実験施設のシンクロトロン放射光(0.037nmおよび0.038nm)とIUdRの組み合わせによる結果である²⁷⁾。期待に反して、IのK吸収に引き続いておこるオージェ効果の致死増感作用はあまり大きくなく、Fairchildらの推論を再検討する必要があるが生じた。再検討の結果、彼らの計算式の第二項すなわちオージェ効果誘発に関与する項がX線とIとの直接作用のみによると考えるべきであることがわかった²⁸⁾。この修正を行って計算して D_E/D を求めると、図2よりの実験結果が2.05、Fairchildらの計算式の結果が4.14、われわれの修正式の結果が2.44、となり理論値と実験値との間にほぼ一致をみる事ができた。しかしながら、小さくなったとはいえ D_E/D はまだ2以上である。そ

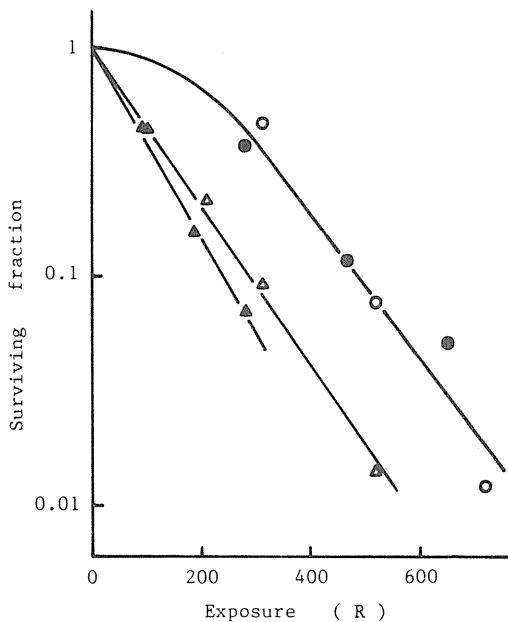


図2 IUdR標識HeLa細胞における0.037 nm放射光の細胞致死増感作用
IUdR標識HeLa細胞(▲, △)および非標識細胞(●, ○)に対する0.038nm (△, ○)あるいは0.037nm(▲, ●)シンクロトロン放射光の細胞致死作用を示す。
Enhanced killing of 0.037nm synchrotron radiation on HeLa cells labeled with IUdR.

の中味を調べると大部分がいわゆるハロゲンの増感作用で、オージェ効果の寄与はIUdR置換率(DNA中のチミンがヨードウラシルに置き替わっている割合)が5%のときにわずか10%程度であることが明らかとなった。この結果は立場を変えてみると、ハロゲンの増感作用をがん治療に利用することをもう一度検討する価値があることを示唆しているものといえよう。

(ii) ヨードデオキシウリジンの増感作用の治療への応用

IUdRの増感作用をがん治療に利用する考え方は、1960年代の後半に一度試みられたが、動脈内注入の難しさもあってあまり深く検討されなかった。ところが、最近になって、静脈内注入でもIUdRの投与が可能とわかってから、NIHのKinsellaのグループでまた精力的な検討が始まった。現在はまだPhase I studyの段階だが明らかになったことは、プロモデオキシウリジンよりもヨードデオキシウリジンの方が副作用が少ないこと²⁹⁾及び静脈内連続注入で患者の顆粒球に7-17%の置換率を得たこと³⁰⁾だろう。今後更に検討が進むことを期待したい。

このIUdRを放射線増感剤として治療に利用する場合に気を付けなければいけないことは、IUdRが増殖している細胞にのみ取り込まれる(このことが腫瘍との選択性を与えているのだが)点である。従ってより有効ながん治療を行うためには、IUdRを取り込まない低酸素性細胞群を殺すために有効な他の方法を併用すべきであろう。併用には重粒子線はもとより低酸素増感剤、小線源治療の応用、ハイパーサーミア等が考えられる。なかでもハイパーサーミアとの併用は興味深い。ハイパーサーミアにおいて、細胞の熱感受性を調べると、グルコースの供給が無くしかも低酸素状態になっている細胞は熱感受性が極度に高くなっている³¹⁾。この点においてハイパーサーミアにおける細胞致死作用は放射線の細胞致死作用と相補的になっている³²⁾。この性質の利用は今後検討すべき課題であろう。

3. まとめ

オージェ効果の細胞致死作用における特徴は捨て難いものがある。この特徴を十分に利用する治療法は未だ確立していないが今後も検討を続ける価値があるだろう。確かにX線の光電吸収を利用する方法は魅力的であったが、どうやら期待できそうにはない。それに替わる新しい方法として、メスバウアー効果を利用してオージェ効果を誘発するものが提案されている³³⁾。またRIを用いる方法もこれからの課題である。今後の発展に期待したい。一方IUdRの増感作用と小線源治療あるいはハイパーサーミアとの併用といった方法も今後更に検討すべき興味深い問題であろう。

参考文献

- 1) Charlton, D. E. : A Monte Carlo treatment of the decay of ¹²⁵I. *Radiat. Res.*, **87**, 10-23. 1981.
- 2) Hofer, K. G., and Hughes, W. L. : Radiotoxicity of intranuclear tritium, ¹²⁵Iodine and ¹³¹Iodine. *Radiat. Res.*, **47**, 94-109, 1971.

- 3) Warters, R. L., Hofer, K. G., and Harris, C. R. : Radionuclide toxicity in cultured mammalian cells : elucidation of the primary site of radiation damage. *Curr. Topics Radiat. Res. Q.*, **12**, 389-407, 1977.
- 4) Koch, C. J., and Burki, H. J. : The oxygen-enhancement ratio for reproductive death induced by ^3H or ^{125}I damage in mammalian cells. *Int. J. Radiat. Biol.*, **28**, 417-425, 1975.
- 5) Martin, R. F., and Haseltine, W. A. : Range of radiochemical damage to DNA with decay of Iodine-125. *Science*, **213**, 896-898, 1981.
- 6) Miyazaki, N., Koeda, N., and Shinohara, K. : Cell cycle dependence of the cytotoxic effects of Auger electrons. (abstract) *J. Radiat. Res.*, **28**, 38, 1987.
- 7) Hofer, K. G., and Keough, G. : Biological toxicity of Auger emitters : molecular fragmentation versus electron irradiation. *Curr. Topics Radiat. Res. Q.*, **12**, 335-354, 1977.
- 8) Bloomer, W. D., and Adelstein, S. J. : Antineoplastic effect of iodine-125-labelled iododeoxyuridine. *Int. J. Radiat. Biol.*, **27**, 509-511, 1975.
- 9) Lindmo, T., Boven, E., Mitchell, J. B., Morstyn, G., and Bunn, P. A., Jr. : Specific killing of human melanoma cells by ^{125}I -labeled 9.2.27 monoclonal antibody. *Cancer Res.*, **45**, 5080-5087, 1985.
- 10) Boven, E., Lindmo, T., Mitchell, J. B., and Bunn, P. A., Jr. : Selective cytotoxicity of ^{125}I -labeled monoclonal antibody T101 in human malignant T cell lines. *Blood*, **67**, 429-435, 1986.
- 11) Sugiyama, Y., Chen, F.-A., Takita, H., and Bankert, R. B. : Selective growth inhibition of human lung cancer cell lines bearing a surface glycoprotein gp160 by ^{125}I -labeled anti-gp160 monoclonal antibody. *Cancer Res.*, **48**, 2768-2773, 1988.
- 12) Bloomer, W. D., McLaughlin, W. H., Weichselbaum, R. R., Tonnesen, G. L., Hellman, S., Seitz, D. E., Hanson, R. N., Adelstein, S. J., Rosner, A. L., Burstein, N. A., Nove, J. J., and Little, J. B. : Iodine-125-labelled tamoxifen is differentially cytotoxic to cells containing oestrogen receptors. *Int. J. Radiat. Biol.*, **38**, 197-202, 1980.
- 13) DeSombre, E. R., Mease, R. C., Hughes, A., Harper, P. V., DeJesus, O. T., and Friedman, A. J. : Bromine-80m-labeled estrogens : Auger electron-emitting, estrogen receptor-directed ligands with potential for therapy of estrogen receptor-positive cancers. *Cancer Res.*, **48**, 899-906, 1988.
- 14) Bloomer, W. D., McLaughlin, W. H., and Adelstein, S. J. : Therapeutic implications of iodine-125 cytotoxicity. *Int. J. Radiat. Oncology Biol. Phys.*, **8**, 1903-1908, 1982.
- 15) Bloomer, W. D., McLaughlin, W. H., Adelstein, S. J., and Wolf, A. P. : Therapeutic applications of Auger and alpha emitting radionuclides, *Strahlentherapie*, **160**, 755-757, 1984.
- 16) Kassis, A. I., Harris, C. R., and Adelstein, S. J. : The in vitro radiobiology of astatine-211 decay. *Radiat. Res.*, **105**, 27-36, 1986.

- 17) Fairchild, R. G., Brill, A. B., and Ettinger, K. V. : Radiation enhancement with iodinated deoxyuridine. *Invest. Radiol.*, **17**, 407-416, 1982.
- 18) Fairchild, R. G., and Bond, V. P. : Photon activation therapy. *Strahlentherapie*, **160**, 758-763, 1984.
- 19) 篠原邦夫 : 光子活性化療法。医学のあゆみ, **129**, 822-823, 1984.
- 20) Halpern, A. : Damage to biomolecules and cells by low-energy x-rays and vacuum ultraviolet light. In "Uses of Synchrotron Radiation in Biology" (Ed. by Stuhmann H. B.), Academic Press, London, pp.255-283, 1982.
- 21) Tisljar-Lentulis, G., and Feinendegen, L. E. : The bromine enhancement ratio in mammalian cells in vitro and experimental mouse tumours. *Curr. Topics Radiat. Res. Q.*, **12**, 526-536, 1977.
- 22) Halpern, A., and Mütze, B. : Irradiation of micro-organisms with mono-energetic x-rays : biological consequences of the Auger effect. *Int. J. Radiat. Biol.*, **34**, 67-72, 1978.
- 23) Shinohara, K., Ohara, H., Kobayashi, K., Maezawa, H., Hieda, K., Okada, S., and Ito, T. : Enhanced killing of HeLa cells pre-labeled with 5-bromodeoxyuridine by monochromatic synchrotron radiation at 0.9 Å. : An evidence for Auger enhancement in mammalian cells. *J. Radiat. Res.*, **26**, 334-338, 1985.
- 24) Nakano, H., Shinohara, K., and Ohara, H. : Possible involvement of Auger enhancement in HeLa cells labeled with 5-iododeoxyuridine and exposed to low energy x-rays. (abstract) *J. Radiat. Res.*, **29**, 47, 1988.
- 25) Nakano, H., Shinohara, K., and Ohara, H. : Effects of radioprotectors on Auger enhancement in HeLa cells labeled with 5-iododeoxyuridine. (abstract) *J. Radiat. Res.*, **30**, 58, 1989.
- 26) Chapman, J. D., Doern, S. D., Reuvers, A. P., Gillespie C. J., Chatterjee A., Blakely, E. A., Smith, K. C., and Tobias, C. A. : Radioprotection by DMSO of mammalian cells exposed to x-rays and to heavy charged-particle beams. *Radiat. and Environm. Biophys.*, **16**, 29-41, 1979.
- 27) Shinohara, K., Ohara, H., Hiraoka, T., Nakano, H., and Ando, M. : Irradiation of cultured mammalian cells labeled with iododeoxyuridine by monochromatic synchrotron radiation at 0.370 and 0.380 Å. Photon Factory Activity Report 1984/85, National Laboratory for High Energy Physics, p.225, 1986.
- 28) Shinohara, K., Nakano, H., Hiraoka, T., and Ohara, H. : Re-evaluation of the theoretical study of photon activation therapy. Photon Factory Activity Report 1986, National Laboratory for High Energy Physics, p.278. 1987.
- 29) Kinsella, T. J., Russo, A., Mitchell, J. B., Collins, J. M., Rowland, J., Wright, D., and Glatstein, E. : A phase I study of intravenous iododeoxyuridine as a clinical radiosensitizer. *Int. J. Radiat. Oncology Biol. Phys.*, **11**, 1941-1946, 1985.

- 30) Belanger, K., Klecker, R. W., Jr., Rowland, J., Kinsella, T. J., and Collins, J. M. : Incorporation of iododeoxyuridine into DNA of granulocytes in patients. *Cancer Res.*, **46**, 6509-6512, 1986.
- 31) Kim, J. H., Kim, S. H., and Hahn, E. W. : Killing of glucose-deprived hypoxic cells with moderate hyperthermia. *Radiat. Res.*, **75**, 448-451, 1978.
- 32) Kim, S. H., Kim, J. H., Hahn, E. W., and Ensign, N. A. : Selective killing of glucose and oxygen-deprived HeLa cells by hyperthermia. *Cancer Res.*, **40**, 3459-3462, 1980.
- 33) Mills, R. L., Walter, C. W., Venkataraman, L., Pang, K., and Farrell, J. J. : A novel cancer therapy using a Mössbauer-isotope compound. *Nature*, **336**, 787-789, 1988.

2 低酸素増感剤の作用

母 里 知 之*

Hypoxic Cell Radiosensitizer

Tomoyuki Mori M.D. PhD.

Boheidai Isehara Kanagawa, 259-11, Japan

Abstract

Since an unsuccessful clinical trial of Misonidazole, many investigations were carried out to find out the useful hypoxic cell radio-sensitizers all over the world. In the USA., Dr. M. Brown synthesized and tested SR-2508 and this drug is now on the phase II-III clinical trials. In the U.K., Dr. J. Adams proposed Ro-08-8799. In Japan, partly supported by the Ministry of Education, Science and Culture, a research group was formed and got an agreement to use the same screening system to evaluate newly synthesized drugs. Through this screening system, thousands of drugs were tested. Among these drugs, KU-2285, RK-28, RP-170 and KIH-801(2) showed remarkable sensitizing effects or minor toxicity. Right now, these drugs are on either phase I clinical trial or pre-clinical evaluations.

約10数年前に、低酸素圧細胞放射線増感剤(Hypoxic cell radiosensitizer以下HCRS)である Misonidazole (MISO)臨床第3相試験が全世界的規模で行われ、有用性なしと判定された。図1は、日本で行われた頭頸部悪性腫瘍に関する2重盲験試験の結果であり放射線治療60Gy迄とMISOの併用の有無で、腫瘍の縮小効果に差の無かったことを示すものである。このことは、

* 東海大学医学部

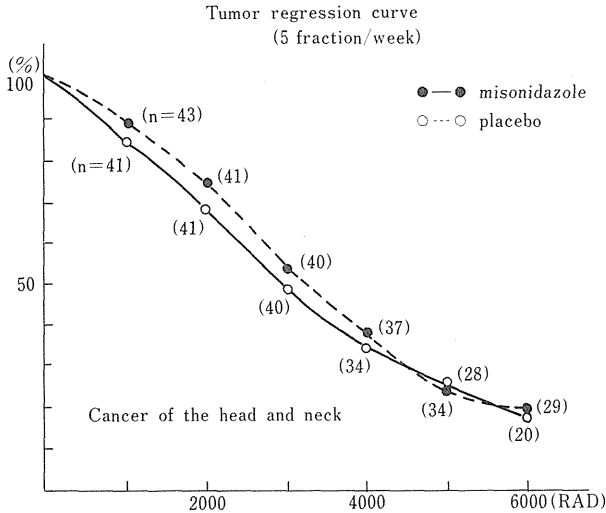


図1 頭頸部悪性腫瘍に対する放射線とMisonidazole併用の有無による縮少率。
Tumor regression curves of the Head & Neck tumors combined radiation therapy with and without Misonidazole.

MISOの有効性を否定するものではなかったのであるが、HCRSの開発研究に大きなdamageを与えた。MISOと言う薬剤には非常に興味のある多くの性質があった。例えば、低酸素圧細胞(HC)に特異的に取り込まれるとか、他の薬剤特に抗癌剤の効果を增強するとか、細胞内のグルタチオンの濃度を低下させるとか、いわゆるHCRSの基礎的な研究の出発点とも思われる事実である。ところが臨床第3相試験の結果がnegativeであったことが、MISOの有効性そのものを否定するかのように間違って理解され少なくとも日本ではHCRSの研究が下火になってしまった。しかし、アメリカ、イギリスではHCRSの開発研究はどんどん進められアメリカ、スタンフォード大学のブラウン等によるSR-2508(Ethanidazole)、イギリス、アダムス等によるRo-03-8799(Pimonidazole)が開発され現在臨床第2～3相試験が行われている。一方日本でも米英に遅れをとったものの文部省がん特別研究「小野山班」、それに引き続いた「母里班」を中心として細々ではあるが、開発研究が行われてきた。特に先行するSR-2508を目標として、それ以上有用なHCRSを開発するべく努力をしてきた。この間の研究でまず日本で明らかになったことは、HCRSの効果の検定系の統一の必要性であった。従来個々の研究者が、各々独自で検定系を開発しており、それによりdataを出してきていたために相互の比較、検討がまったく行えなかった。そこでまず検定系の統一が計られた。in vitroでもそれまでHeLaS3, V79, FM3A, EMT6, Ehrlich細胞といった多くの細胞系が使用されていたものを、in vitroとin vivoの中間に属するSpheroid系による検定が可能なこと、Spheroidの大きさあるいは腫瘍の大きさによりHCの存在する割合が大体いつも一定であり、かつ国際的にも通用することからEMT6細胞(腫瘍)に統一した。一方in vivoの担癌動物系では、免疫原性が少なく、これもHC分画の判っているSCCVII腫瘍系を統一して使用することとした。一方検定方法もSingle cell→Spheroid→in vivo—in vitro assay→in vivo TRT or TGT法→in vivo TCD50法というように段階的に研究して行くことにした。この統一された検定系に沿って多くの薬剤が検定されたが、その研究目

表1 研究項目
Research Items

More Effective :
a) DNA intercalation
b) Increase electron affinity
c) Ability to hydroxylation of thymine
d) Halogenated side-chain ; Fluorinated nitroazole Less Toxic :
a) Avoid nitro group
b) Modified side chain of Misonidazole

標として、上の表のようないくつかの項目をおいた。(表1)

まず増感効果(Sensitizer Enhancement ratio, SER)を高める目的で次の4つの項目を選択した。

1) **DNA intercalation** 今のところ細胞内に置ける放射線の標的はDNAとされている。そこでDNAにintercalateする物質にSERを高めるのに必要な電子親和性の源であるニトロ基を導入した。実際にはポリアミンの一種であるスベルミン、スベルミジンにニトロベンゼンを結合させた。検定の結果は、この種の薬剤はin vitro特にSingle cellの系では効果がでるものの、in vivoとなると効果がでず、in vivoではその分子量が大きいためか、分解されてしまうのではないかと推定された。

2) **電子親和性の増強** 一般にSERは薬剤分子の電子親和性に比例するとも言われている。そこでニトロイミダゾールの電子親和性を増強させる目的で2つのニトロ基を分子内に導入させ電子親和性の増強をし、ひいてはSERの増強を計るために2-4-ジニトロイミダゾール誘導体を合成し検定をした。その結果in vitroでは予想どおり高いSERを示したが残念なことにin vivoではその効果は現れず毒性が強調される結果となった。

3) **チミンのヒドロキシ化能力による検定** いろいろな薬剤の電子親和性を計ることは簡単なことではないし、一方SERが電子親和性と相関があることから電子親和性を直接測定できなくてもそれに代わる方法と、SERが相関すればそれによって生物系を使用せずに、高いSERを持つ薬剤を見いだせるはずである。そこで考え出されたのが窒素下(無酸素下)でのチミンのヒドロキシレーションを誘導する能力の大小を測定する方法である。この方法によって多くの薬剤を測定した。そしてこのヒドロキシレーション能力の高い例えばニトロフラン類などのSERをin vitro系で検定したがSERの高いものが多かった。しかしこの系統の薬剤はin vivo系に移すと、その大多数が毒性が強く、動物実験が不可能であり、このヒドロキシレーションの能力を指標とすることが適当でないことが判った。

4) **薬剤の細胞および組織親和性の増強** 理由ははっきりとしないが、一般に薬剤分子内にハロゲン特にフッ素が入っていると、細胞または組織親和性が増強するといわれている。そこで、たくさんのニトロアゾールにフッ素が入った多くの化合物が合成、検定された。その結果、丁度SR-2508の側鎖にフッ素が導入された形のKU-2285が、in vitroおよびin vivoの検定で有効

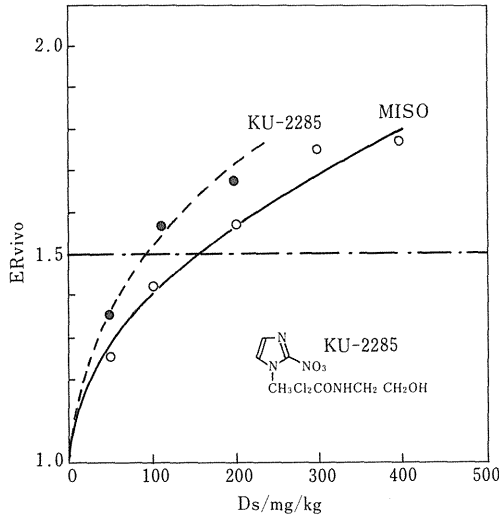


図2 KU-2285とMisonidazoleのSERの比較。

Relation of Enhancement ratio and drug concentration. Comparison of KU-2285 with Misonidazole.

であることが判った。図2はこのKU-2285のin vivo-in vitro assayの結果をMISOと比較したものである。体重kgあたり200mgの投与でMISOがSER 1.55であるのに対しKU-2285で1.65と高いSERを示す上にLD_{50/7}もMISOが1.7g/kgであるのに対しKU-2285は2.3g/kgとより高い値をとっている。つまりSERが高くLD50が低いという効果、毒性の両方の面で良い点があり今後の前臨床試験さらに臨床試験へと進む可能性があり期待されている。

次に考えられたのがMISOの低毒化で次の方法が考えられた。

1) ニトロ基の排除

MISOの臨床試験などからその蓄積毒性が問題となったが、それが神経毒性であったところから薬剤分子内からその原因の1つと考えられるニトロ基を排除し、かつ電子親和性は同程度に保つために、チオール、スルフィド、スルフィニル、あるいはスルフォールといった硫黄を含んだ化合物が多数合成され、検定された。その結果は電子親和性の高いものや、低いものもすべてin vivoでは効果を表わさず、最初の目的とは逆にSERを出すためには分子内にニトロ基が存在することが必要であることが改めて確認される結果となった。

2) 脂溶性の低減化

脂溶性、水溶性の指標のひとつとして、水-オクタノールの分配係数(P値)がよく用いられる。MISOのP値は0.35であり脂肪に比較的よく溶ける。人体で脂肪の含量の多い組織といえば神経組織が挙げられ、MISOが神経毒性から有用性なしとされたところから脂溶性の少ない薬剤が求められた。その結果として合成されたのがブラウン等によるSR-2508でそのP値は0.021であり、期待に反せずそのLD50も、4.9g/kgと極めて高い値を取っており、有望なHCRCとして現在アメリカ、イギリスで臨床第2-3相試験が行われており、その結果が待たれている。(表2)

表2 新しい増感剤の電子親和性, P値, SER及びLD₅₀
Comparative table of various new hepoxic cell sensitizer

Compound	R	E _{1/2} (V)	P	ER		LD ₅₀ (g/kg)
				in vitro (1 mM)	in vivo (200mg/kg)	
MISO	CH ₂ CH(OH)CH ₂ OCH ₃	-1.04	0.35	1.55	1.55	1.7
SR-2508	CH ₂ CONHCH ₂ CH ₂ OH	-1.05	0.021	1.55	1.55	4.9
KU-2285	CH ₂ CF ₂ CONHCH ₂ CH ₂ OH	-0.96	0.3	1.6	1.65	2.3
RK-28	COCH ₂ CHCH ₂ CH ₂ OH	-0.97	0.5	1.90	1.45	0.83
RP-170	COCH(CH ₂ OH) ₂	-1.01	0.07	1.67	1.51	4.3
KIH-801(2)	CH ₂ CONHOH	-1.02	0.05	1.68	1.97	1.65

(330mg/kg)

3) MISOの側鎖の修飾

神経毒性を減少させる方法として、脂溶性の低減化の他に、脳血管関門を利用する方法がある。一般に核酸は脳血管関門を通過できないとされている。そこでニトロイミダゾールを核酸塩基と考えこれに糖鎖を付けた多くのスクレオシド系薬剤を合成し、検定した。その内でもまず検定結果で有望であったのはRK-28である。この薬剤は2-ニトロイミダゾールに開環した糖のついた形をしている。この薬剤はMISOと比較してP値, LD₅₀値などではあまり差はなく、かつSERもin vitro, in vivoでほとんど同じであるが、MISOにくらべて非常に排泄が早く、MISOの神経毒性が急性毒性ではなく蓄積毒性であった点を考えると有用性がでてくる可能性があり、現在臨床第一相試験が進行中である。このPK-28よりさらに有望なのがRP-170である。この薬剤は2-ニトロイミダゾールにグリセリンがついた形をしている。この薬剤はP値が0.07とSR-2508ほどではないが、MISOよりはるかに低く、LD₅₀は4.3g/kgとSR-2508とほぼ同じである。脂溶性が低く、かつ脳血管関門を通過しない可能性があるところから神経毒性、蓄積毒性も低いことが予想される。またSR-2508が投与経路として経静脈であるのに対し、RP-170は経静脈はもちろんであるが、経口投与が可能である。実際の臨床応用のことを考えるとその価値は多い。実際の臨床では少なくとも放射線との併用であれば、10数回から数10回の投与が考えられるので、薬剤が静脈注射か経口投与可能であるのかの差はきわめて大きいと言える。図3に動物における体内動態を示す。EMT-6/KU腫瘍が移植されたBalb/cマウスにRP-170を200mg/kg経口投与した後の血中、腫瘍中、肝、脳の薬剤濃度をみたものである。期待どおり脳内濃度は極めて低く、肝の濃度も低いが腫瘍内濃度が高く、その時間も投与後約30分であり実際の臨床で使用し易いようである。もちろん、実験動物と人間ではいろいろな点で異なるのでこの結果をそのまま臨床にもっていくことはできないが、少なくとも臨床応用に有利な点であることは間違いはない。RP-170に関しても現在前臨床試験が行われている。

もう一つの期待を集めている薬剤はKIH-801(2)と呼ばれている。これは2-ニトロイミダゾールにヒドロキサム酸が結合した構造を持っている。ニトロイミダゾール、ヒドロキサム酸共に電子を吸引する力があり、いわゆるbifunctionalな薬剤といえる。この薬剤の、P値はMISO

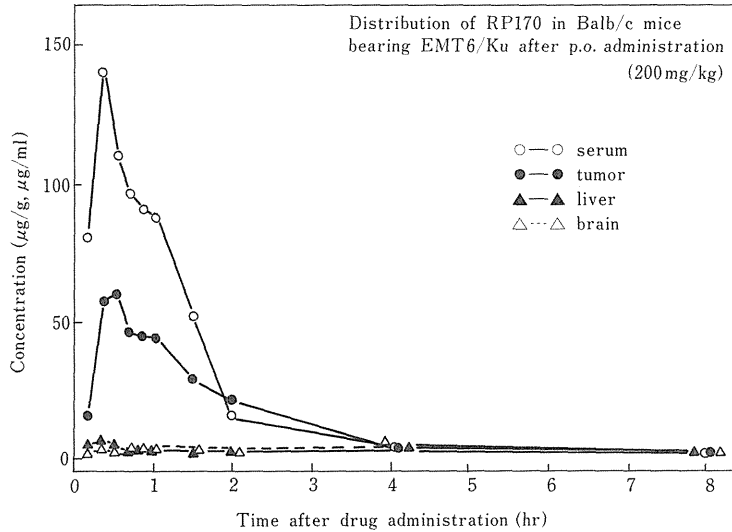


図3 Balb/cマウスを用いてのRP-170の体内分布と動態。
Distribution of RP170 in Balb/c mice bearing EMT6/Ku
after p.o. administration. (200mg/kg)

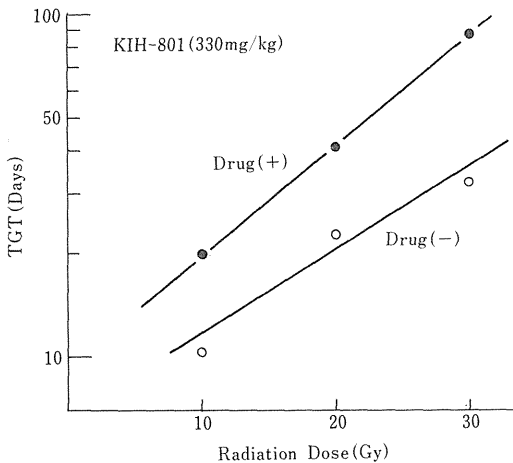


図4 SCCVII腫瘍のTGT。
Tumor growth time of SCCVII
tumor with and without of KIH-
801 (2) by various dose of radiation.

の約 1/10で脂溶性が低く、中枢神経毒性が低いことが予測され、さらにbifunctionalな薬剤であるために増感効果が高いことも期待された。われわれの検定系ではLD₅₀値は残念ながらMISOとほとんど同じ1.65g/kgであったが、図4に示したTGT法の結果、LD₅₀値の1/5量の330mg/kgを使用し放射線を10, 20, 30Gy照射した場合KIH801(2)の存在下で、明らかに成長の遅延が生じてくる。この図より計算するとTGT_{50/3}つまり50%の腫瘍が3倍になるまでの時間の比から計算をするとSERは1.97ときわめて大きな値となる。われわれの検定法、とくにin vivo法でSERが2近くなる薬剤はこれまでに得られていず、この薬剤のbifunctionalな点が効果を出している可能性があり、今後の研究の発展が望まれている薬剤である。

まとめ

この10数年の日本におけるHCRSの研究の主なものをまとめてみたが、ここに挙げた以外にも数多くの薬剤が合成検定されている。その内には、in vivoでもKU-2285やKIH-801(2)よりも高いSERを示すものもでてきている。そこでもう一度SERの基礎的なことに立ち返ってSERの原因、HCに対する薬剤取り込みの原因などを考えてみる必要があるであろう。さらにまた、これまでの研究で見いだされてきたKU-2285, PR-170, KIH-801(2)などがいわゆる前臨床試験を終了した段階で、どうやって臨床第1相試験から第3相試験を行い現実に臨床に役立つ薬剤として巣立って行くかの具体的な方法を考える時期が来ているように思う。

参考文献

- 1) Mori, T. et al. : Clinical evaluation of misonidazole in head and neck tumors—A randomized double blind trial in Japan—Radiosensitization Newsletter, 2(3) 1, 1983.
- 2) Shibamoto, V., Nishimoto, S., Mi, F., Sasai, K., Kagiya, T. and Abe, M. : Evaluation of various types of new hypoxic cell sensitizers using the EMT6 single cell—spheroid—solid tumour system. *Int. J. Radiat. Biol.*, **52**(3) 347-357, 1987.
- 3) Murayama, C., Nagao, Y., Fujita, E., Asao, T., Yasumoto, M., and Mori, T. : Radiosensitization of hypoxic HeLa S3 cells in vitro by a new type of radiosensitizer : spermine and spermidine amides with nitro groups. *Int. J. Radiat. Biol.*, **44**(5) 497-503, 1983.
- 4) Shibata, C., Hori, H., Inayama S. and Mori, T. : Radiosensitizing effect of 2,4-dinitroimidazole-1-ethanol and its cytotoxicity in HeLa S3 cells. *Strahlentherapie und Onkologie*, **157**(7) 481-485, 1981.
- 5) 西本清一, 鍵谷 勤 : Hypoxic Cell Sensitizerの作用機序と分子設計。癌の臨床, **34**(13) 1853-1858, 1988.
- 6) Inayama, S., Hori, H., Ohsaka, T., Mori T., and Shibata, C. : An Approach to the design and synthesis of mercaptoimidazole derivatives containing oxidized sulfur based on electron affinity sensitization. *Gann*, **72**(2) 156-159, 1981.
- 7) Murayama, C., Tanaka, N., Miyamoto, Y., Sakaguchi M. and Mori, T. : In vitro and in vivo radiosensitizing effects of 2-nitroimidazole derivatives with sugar component. *Strahlentherapie und Onkologie*. **163**(6) 385-390, 1987.
- 8) 母里知之, 村山千恵子 : Hypoxic cell sensitizerの現状と将来。癌の臨床, **34**(13), 1863-1874, 1988.
- 9) 母里知之, 小野山靖人, 他 : 放射線の制がん効果を増強する薬剤の開発とスクリーニングシステムの確立に関する研究。昭和62年度文部省科学研究費補助金による「がん」特別研究研究報告収録, 420-423, 1988.

3 化学療法剤と放射線による併用効果と 正常組織障害

田辺 政裕* / 高橋 英世*

Effects of Irradiation Combined with Cytotoxic Chemotherapy on Tumors and
Normal Tissues of the C3H Mouse

Masahiro Tanabe and Hideyo Takahashi

Department of Pediatric Surgery, Chiba University School of Medicine,
1-8-1 Inohana, Chiba-shi 280, Japan

Abstract

This is a review of the studies about irradiation effects combined with cytotoxic chemotherapy on mouse tumors and normal tissues mainly done in Stanford University.

Chemoresponsiveness and radiation-drug interactions in the EMT6, KHT and RIF-1 tumors were investigated using *in vivo* growth delay. It is shown that BCNU, cyclophosphamide(CPM) and cis-diamminedichloroplatinum(c-DDP) were effective in these tumors. BCNU was particularly effective in KHT tumor with administration at 2 hours before irradiation. In RIF-1 tumor, there was a high effect of CPM at 3 hours after irradiation. C-DDP showed significant response enhancement in KHT tumor when administered at 24 hours before irradiation.

The interaction of c-DDP and a course of 5 daily doses of irradiation was investigated in the SCCVII/St tumor and normal tissues (duodenal crypt cells and lung) of the C3H mouse. Two schedules with daily doses of c-DDP given immediately before X ray on 5 consecutive days and a single dose of c-DDP followed 24 hours later by 5 daily doses of irradiation produced the significant supra-

* 千葉大学小児外科

additive effects on the SCCVII tumor. These schedules also produced high enhancement ratios for duodenal crypt cells and lung. However, the enhancement ratio for the SCCVII tumor are greater than normal tissues, and this resulted in high therapeutic gain factors. Comparing the effects on tumor with those on normal tissues, it may be seen that there is clinical usefulness in simultaneous combination treatments.

近年、種々の化学療法剤と放射線との併用が悪性腫瘍の治療に試みられ、小児の悪性固形腫瘍などで治療成績の著明な改善が認められている^{1,2,3)}。しかし、それに伴う放射線障害の顕在化⁴⁾、併用療法にても治療成績の向上を認めない多くの腫瘍の存在など、未解決な問題が数多く残されている。これらの解決には、最少の正常組織障害で、最大の抗腫瘍効果をもたらす併用法の開発が必要であり、それを目的とした合理的な実験的研究が企画されなければならない。この研究の第一段階は、多くの腫瘍において共通に高い抗腫瘍効果を示す薬剤の同定である。こうして選択された薬剤と放射線をどのような間隔で併用すれば高い併用効果が得られるのか、さらに増感された放射線効果が正常組織に対してどのような障害作用を及ぼすのかといった研究が必要となる。

1. 高い抗腫瘍効果を得るための併用薬剤の選択

3種類の組織型の異なるマウス腫瘍(EMT6/St, RIF-1, KHT)に対する6種類の化学療法剤(ActinomycinD, Adriamycin, BCNU, Bleomycin, c-DDP, Cyclophosphamide)の抗腫瘍効果を、growth delay assayにより求めた結果では、BCNU, c-DDP, Cyclophosphamide(CPM)の3剤が薬剤単独で高い抗腫瘍効果をもっていることがわかった^{5,6,7,8,9,10)}。そこでこれらの薬剤と放射線との併用効果を同様のマウス腫瘍を用いて検討した。照射12Gyと表1に示す濃度の各

表1 マウス腫瘍に対して最も高い併用効果の得られる薬剤と放射線の併用間隔*
Time of drug administration relative to radiotherapy for maximum tumor response in selected mouse tumor using effective drugs

腫瘍	Act-D (0.2)**	Adria (6)	BCNU (15)	Bleo (20)	CPM (120)	c-DDP (7)
EMT6/St	-6h ++***	0h ±	+3h +	+6h +	+24h -	+3h -
KHT	0h +	+24h +	-2h ++	-24h +	+24h -	-24h ++
RIF-1	+3h +	+6h -	-6h -	-6h -	+3h +	0h +

* Lelieveld 1979, Twentyman 1979a, 1979b, 1979c, 1979d, 1979e

** 薬剤投与量(mg/kg), maximum tolerated dose

*** GD (Xray)+GD(drug)がGD(Xray+Drug)±2 standards limits 以下(++), 以内(+), 以上(-).

薬剤を併用し、異なる併用間隔による抗腫瘍効果の変化を見た。併用効果を3段階に分類し(++, +, -), 各腫瘍に対する最も高い併用効果と併用間隔を求めた(表1)。3腫瘍に対して高い抗腫瘍効果の得られる、共通の併用間隔は認められなかった。ActinomycinDとBleomycinはEMT 6に対して6時間の前及び後投与で、BCNUとc-DDPはそれぞれKHTに対して2時間と24時間の前投与で、CPMはRIF-1に対して3時間の後投与で併用効果を認めた。

2. 分割照射との併用法

これらの薬剤と放射線との併用を臨床応用するために、分割照射との併用法をRIF-1を用いて検討した。方法は、図1に示すとき治療スケジュールで薬剤の単独投与と分割投与を5日間20Gyの分割照射と併用した。各併用法の効果を比較するため、併用した際にもたらされる効

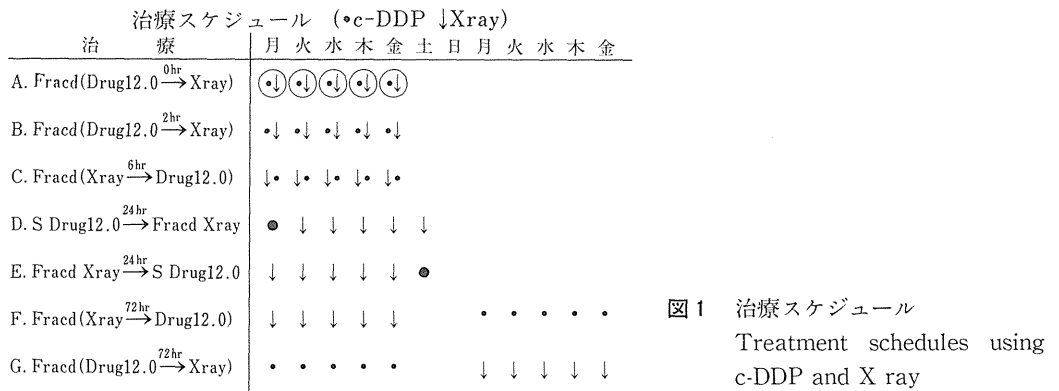


表2 RIF-1腫瘍に対する薬剤の放射線増感効果*
Enhancement effect for the RIF-1 tumor after treatment with radiation and drugs in the different schedules tested

治療スケジュール,	Act-D	Adria	BCNU	Bleo	CPM	c-DDP
A. Fracd (Drug→Xray) ^{0h}	0.87**	1.14	0.82	1.21	1.09	1.83
B. Fracd (Drug→Xray) ^{2h}	0.74	1.05	0.87	1.18	1.44	1.57
C. Fracd (Xray→Drug) ^{6h}	0.80	1.16	0.79	1.01	0.86	1.56
D. S Drug→Fracd Xray ^{24h}	0.91	0.95	0.98	0.66	1.48	1.61
E. Fracd Xray→S Drug ^{24h}	0.81	1.04	0.77	0.66	0.86	1.29
F. Fracd Xray→Fracd Drug ^{72h}	0.69	0.99	0.87	0.79	1.28	0.91
G. Fracd Drug→Fracd Xray ^{72h}	0.59	0.74	0.57	0.61	1.03	1.16

* Lelieveld 1985

** DEF=RDE for the effect of radiation + drug/actual radiation dose delivered

果(Growth Delay)を放射線単独で得るために必要な線量(Radiation Dose Equivalent, RDE)として換算し, それと実際の併用線量との比率(Dose Effect Factor, DEF)を計算した^{11,12)}。高い併用効果はc-DDPとCPMとによりもたらされたが³⁾, このうちで最も高い併用効果はc-DDPとの同時併用によるDEF=1.83であり, CPMでは24時間前の1回投与で1.48がえられた(表2)。併用効果を検討した6薬剤でc-DDPが最も高い放射線の増感効果を有していることがわかった。この効果が, 組織型の異なる腫瘍においてもみられるか否かを検索するため, マウス腸管由来の扁平上皮癌であるSCCVII腫瘍を用いて同様の実験を行なった¹²⁾。Steel and Peckhamの方法¹³⁾に準じてSupra-additivity ratio(SRI, SRII)を設定し, この効果がSupra-additiveか否かを検索した(表3)。検索したすべての併用法で1.50以上のDEFが得られたが³⁾, SRIIが明らかに1以上でSupra-additiveと考えられた併用法は24時間前の1回投与と同時分割投与のみであった。

表3 c-DDPと放射線の併用によるSCC VII/St腫瘍のGrowth Delayと放射線増感効果*
Growth delays and derived statistics for the SCCVII/St tumor after treatment with c-DDP and Xray in different schedules

治療スケジュール**	GD (days)	RDE (Gy)	DEF	SR I	SR II
A.	33.21±2.37	36.5 ±0.74	1.82±0.04	1.63±0.11	1.15±0.10
B.	22.19±1.87	32.36±0.82	1.62±0.04	1.26±0.08	0.61±0.09
C.	25.51±3.17	33.16±1.38	1.66±0.07	1.27±0.14	0.77±0.14
D.	29.70±3.89	35.03±1.39	1.75±0.07	1.47±0.12	1.27±0.18
E.	24.48±3.81	32.97±1.55	1.65±0.08	1.24±0.17	1.05±0.17
F.	19.07±1.21	30.76±0.68	1.54±0.03	0.87±0.05	0.45±0.05
G.	21.39±1.72	31.98±0.77	1.59±0.04	1.24±0.08	0.61±0.07

* Tanabe 1987

** A~Gは表1の治療スケジュールに準ずる。

RIF-1に対しても同時分割投与により最も高いDEFが得られていることより¹⁴⁾, この併用法がc-DDPと放射線の併用法としては最も高い抗腫瘍効果を生み出すことがわかった。他の併用法では, Additive或いはSubadditiveな効果しか得られず, 高いDEFはc-DDPの増感効果よりもc-DDP自体の高い抗腫瘍効果に由来していることがわかる。Supra-additiveな効果が得られた2併用法において, 増感効果のc-DDPに対する濃度依存性を検索するため, 異なる濃度のc-DDPによるSRIの変化を見た(図2)。SRIは濃度依存性に増加し, c-DDPの放射線増感効果は濃度依存性に増加することがわかった。放射線に対する線量依存性の検索では, 併用により線量依存性にGrowth Delayは増加するが, 放射線単独のDose Response Curveとの比較から, 低線量域での増感率が高線量域においてよりも高いことがわかる¹⁵⁾(図3)。

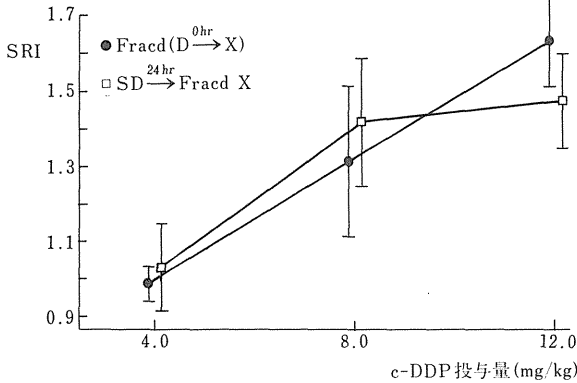


図2 SRIのc-DDP濃度依存性
Dose dependency of c-DDP for SR I
in two effective treatment schedules

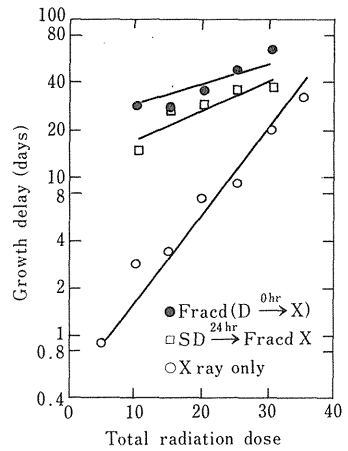


図3 c-DDPと放射線の併用によるSCC VII/
St腫瘍のGrowth Delay¹⁵⁾
Growth delay of the SCC VII/St
tumor as a function of total X ray
dose in effective treatment schedules

3. 化学療法剤との併用による正常組織障害の増感

併用法による2種類の作用(抗腫瘍効果, 正常組織障害)の比較からその併用法の有用性を判定するため, 抗腫瘍効果のDEFに対する正常組織障害のDEFの比率であるTherapeutic Gain Factor(TGF)を求めた。

$$TGF = \frac{DEF \text{ tumor}}{DEF \text{ normal tissues}}$$

正常組織障害の検索には, これまでの研究において最も高い抗腫瘍効果の得られたc-DDPを同様の併用法で用いた。正常組織としては, マウスの腸管上皮と肺を用いた。腸管上皮がrapid cell renewal systemであるのに対して, 肺はslow cell renewal systemであり両者の放射線感受性は, 併用間隔, 薬剤濃度によりことなることが予想された。障害の測定はcrypt survival assayとbreathing rate assay(BRA)により行った。薬剤による正常組織に対する放射線障害の増感(DEF)は, 前述のごとくdose-effect relationshipをもとにRDEを算定することにより求めた。腸管上皮にたいする障害のDEFは, 抗腫瘍効果の高い24時間前と同時併用法で高かったが, 腫瘍に対してよりも低く, 結果的に高いTGF(1.56, 1.52)がえられた(表4)。肺に対する障害は, 照射後5ヵ月と10ヵ月で計測した。Travisら¹⁶⁾の研究からこの時期がradiation pneumonitisとradiation fibrosisの起こる時期と一致しており, それぞれの時期での肺障害をBRAにより定量的に検索することができた。その結果最も強い障害は, 両時期ともc-DDP投与後72時間で照射を開始する併用法で認められた(表5 a, 5 b)。24時間前と同時併用法による肺障害は軽度で,

表4 c-DDPと放射線の併用による放射線腸管上皮障害の増感と治療効果比*

Number of surviving crypts and derived statistics for therapeutic ratios after treatment with c-DDP and X ray in different schedules

治療スケジュール**	No. of surviving crypts	RDE (Gy)	DEF	TGF
A.	59±4	24.08±0.29	1.20±0.03	1.52±0.04
B.	77±3	22.86±0.14	1.14±0.02	1.42±0.03
C.	72±3	23.17±0.20	1.16±0.03	1.43±0.06
D.	88±3	22.33±0.14	1.12±0.02	1.56±0.05
E.	26±2	27.50±0.34	1.38±0.03	1.20±0.04
F.	100±2	21.79±0.07	1.09±0.02	1.41±0.03
G.	108±3	21.46±0.10	1.07±0.03	1.49±0.04

* Tanabe 1987

** A~Gは表1の治療スケジュールに準ずる。

表5 a c-DDPと放射線の併用による早期放射線肺障害(radiation pneumonitis)の増感と治療効果比*

BPM and derived statistics of therapeutic ratios at 5 months after treatment with c-DDP and X ray in different schedules

治療スケジュール**	BPM	RDE (Gy)	DEF	TGF
A.	282±3	20.36±0.91	1.02±0.05	1.78±0.09
B.	289±5	22.42±1.71	1.12±0.09	1.45±0.12
C.	299±7	25.47±2.14	1.27±0.11	1.31±0.12
D.	277±6	18.73±1.79	0.94±0.09	1.86±0.18
E.	280±4	19.67±1.20	0.98±0.06	1.68±0.11
F.	297±4	25.05±1.34	1.25±0.07	1.23±0.07
G.	299±5	25.47±1.58	1.28±0.08	1.24±0.08

* Tanabe 1987

** A~Gは表1の治療スケジュールに準ずる。

表5 b c-DDPと放射線の併用による晩期放射線肺障害(radiation fibrosis)の増感と治療効果比*

BPM and derived statistics of therapeutic ratios at 10 months after treatment with c-DDP and X ray in different schedules

治療スケジュール**	BPM	RDE (Gy)	DEF	TGF
A.	271±3	21.41±0.73	1.07±0.04	1.70±0.07
B.	285±6	24.51±1.21	1.23±0.06	1.32±0.07
C.	291±7	25.88±1.58	1.30±0.08	1.28±0.09
D.	267±3	20.65±0.66	1.03±0.03	1.70±0.07
E.	277±7	22.85±1.43	1.14±0.07	1.45±0.10
F.	285±5	24.51±1.05	1.23±0.05	1.25±0.06
G.	292±5	26.11±1.00	1.31±0.05	1.21±0.05

* Tanabe 1987

** A~Gは表1の治療スケジュールに準ずる。

肺に対してもこの併用法が高いTGF(5ヵ月;1.86, 1.78 10ヵ月;1.70, 1.70)をもたらした。

同時併用法において腫瘍や腸管上皮でみられたc-DDPによる濃度依存性の増感は肺ではみられなかった(図4)。併用間隔の比較では、腫瘍と腸管上皮は同時併用により最も高い増感を示し、併用間隔が延長するに従い増感は減少した。それに対して、肺では同時併用では増感は低く、腫瘍とは逆に併用間隔の延長により増加した(図5)。併用による正常組織の放射線障害の増感は組織を構成する細胞成分の増殖動態により異なることが薬剤濃度、併用間隔の比較からわかった。rapid cell renewal systemである腸管上皮の放射線増感は腫瘍のそれとよく類似していた。

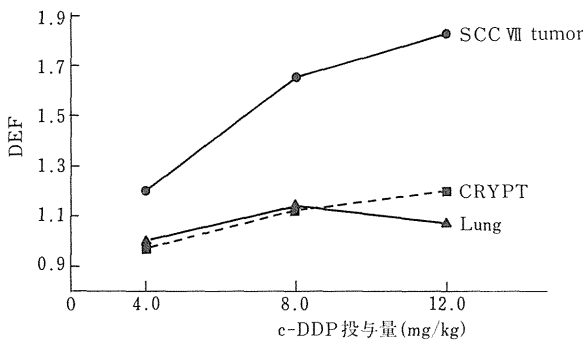


図4 DEFのc-DDP濃度依存性
Dose dependency of c-DDP for DEF for SCCVII/St tumor and normal tissues (intestinal crypts and lung) as a function of the scheduling of 5 daily c-DDP doses relative to daily irradiation.

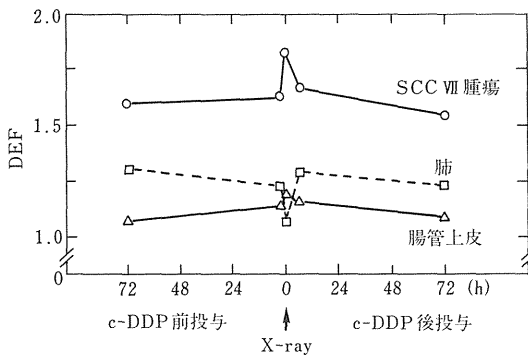


図5 DEFの併用間隔依存性¹²⁾
Time dependency of DEF for SCC VII/St tumor and normal tissues (intestinal crypts and lung) as a function of the scheduling of 5 daily 2.4 mg/kg c-DDP doses relative to daily irradiation.

以上の結果よりc-DDPは、放射線との併用により腫瘍に対し高い増感効果をもたらす薬剤であり、その効果は24時間前と同時併用により最も高く、正常組織(腸管上皮, 肺)障害の増感は少ないことから、臨床的に治療効果の期待し得る併用薬剤である。

参考文献

- 1) D'Angio, G. J., Evans, A., Breslow, N., et al : The treatment of Wilms' tumor : Results of the Second National Wilms' Tumor Study. *Cancer* 47 : 2302-2311, 1981.
- 2) Johnson, R. E. and Pomeroy, T. C. : Evaluation of therapeutic results in Ewing's sarcoma. *Am.*

J. Roentgenol, **123** : 583-587, 1975.

- 3) Bizer, L. S. : Rhabdomyosarcoma. *Am. J. Surg.*, **140** : 687-691, 1980.
- 4) Perez, C. A. and Thomas, R. M. : Radiation therapy : Basic concepts and clinical implications : Clinical Pediatric Oncology. pp167-204, The C. V. Mosby Company, St. Louis, 1984.
- 5) Twentyman, P. R., Kallman, R. F. and Brown, J. M. : The effect of time between X-irradiation and chemotherapy on the growth of three solid mouse tumors I. Adriamycin, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **5** : 1255-1260, 1979a.
- 6) Twentyman, P. R., Kallman, R. F. and Brown, J. M. : The effect of time between X-irradiation and chemotherapy on the growth of three solid mouse tumors-II Cyclophosphamide. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **5** : 1425-1427, 1979b.
- 7) Twentyman, P. R., Kallman, R. F. and Brown, J. M. : The effect of time between X-irradiation and chemotherapy on the growth of three solid mouse tumors-III cis-Diamminedichloroplatinum *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **5** : 1365-1367, 1979c.
- 8) Twentyman, P. R., Kallman, R. F. and Brown, J. M. : The effect of time between X-irradiation and chemotherapy on the growth of three solid mouse tumors-IV Actinomycin-D *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **5** : 1601-1603, 1979d.
- 9) Twentyman P. R., Kallman R. F. and Brown J. M. : The effect of time between X-irradiation and chemotherapy on the growth of three solid mouse tumors-V Bleomycin *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **5** : 1499-1501, 1979e.
- 10) Lelieveld, P., Twentyman, P. R., Kallman, R. F. et al : The effect of time between X-irradiation and chemotherapy on the growth of three solid mouse tumor s-VI BCNU, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **5** : 1499-1501, 1979.
- 11) Lelieveld, P., Scoles, M. A., Brown, J. M. et. al : The effect of treatment in fractionated schedules with the combination of X-irradiated and six cytotoxic drugs on the RIF-1 tumor and normal mouse skin. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **11** : 111-121, 1985.
- 12) Tanabe, M., Godat, D. and Kallman, R. F. : Effects of fractionated schedules of irradiation combined with cis-Diamminedichloroplatinum II on the SCCVII/st tumor and normal tissues of the C3H/KM mouse. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **13** : 1523-1532, 1987.
- 13) Steel, G. G. and Peckham, M. J. : Exploitable mechanisms in combined radiotherapy chemotherapy : The concept of additivity. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **5** : 85-91, 1979.
- 14) Bertelink, H., Kallman, R. F., Rapachietta, D. et al : Therapeutic enhancement in mice by clinically relevant dose and fractionation schedules of cis-Diamminedichloroplatinum (II) and irradiation. *Radiother. Oncol.*, **6** : 61-74, 1986.
- 15) Kanazawa, H., Rapacchietta, D., Kallman, R. F. : Schedule-dependent therapeutic gain from the combination of fractionated irradiation and cis-diamminedichloroplatinumII in C3H/Km

mouse model system. *Cancer Res.* **48** : 3158-3164, 1988.

- 16) Travis, E. L., Down, J. D., Holmes, S. J. et al : Radiation pneumonitis and fibrosis in mouse lung assayed by respiratory frequency and histology. *Radiat. Res.* **84** : 133-143, 1980.

IV 重粒子線研究の期待と展望

1 重粒子線治療の物理学的基礎

金井 達明

2 重粒子線の生物物理作用

松本 信二

3 重粒子線の生物効果

大原 弘

1 重粒子線治療の物理学的基礎

金井 達 明*

Physical Basis of Heavy Ion Radiation Therapy

Tatsuaki Kanai

National Institute of Radiological Sciences
9-1, Anagawa 4-chome, Chiba-shi, 260 Japan

Abstract

Physical foundation of a heavy ion radio-therapy was discussed, especially on a designing a spread Bragg peak with a ridge filter.

A large radiobiological effectiveness will be positively utilized in the heavy ion radio-therapy. The biological effectiveness will be different depending on the depth in human body. This fact gives us difficult problems when we aim to kill uniformly the target cells in human body. As a first step to solve these problems, biological effectiveness of a mixed beam using monoenergetic low and high LET beams was examined and try to understand the results by the amorphous image of the track structure of the heavy ions. A research on a microscopic pattern of energy deposition will be important to solve biophysical problem in heavy ion radio-therapy.

1. 序 論

放医研において、高エネルギー重粒子線を使った癌治療装置の建設が進められ、重粒子線の本格的な臨床応用が4年後には確実に始められる。放射線治療として重粒子線の利用が大いに

* 放射線医学総合研究所

期待される大きな理由は、1)陽子線の場合と同様に、患部に線量を集中し、正常組織には比較的低い線量しか与えないように照射を制御することが可能であること、2)生物学的効果が高く、放射線抵抗性腫瘍に対しても、治療成績の向上が期待できること、等と言われている。これらのことは、重粒子線が示す物質中での線量分布(ブラッグピーク)と、大きな阻止能をもっていることから一般的に言える事柄である。

しかし、実際に重粒子線を臨床に応用していく場合には、従来の大きな成功を納めている γ 線等による放射線治療の大部分を重粒子線治療の場合も継承・成立させた上で、重粒子線の物理・生物学的特徴を生かさねばならない。このような意味では、現実の問題として、数多くの困難が臨床応用に待ち受けている。重粒子線治療の経験は、米国バークレー研究所のみであり¹⁾、重粒子線での利用核種、エネルギーのバラエティから考えると、重粒子線治療経験・データは極端に不足している。従って重粒子線を使った放射線治療の遂行には、重粒子線の物理的・生物学的な基礎研究が必要不可欠である。

従来のX、 γ 線による治療では、回復などの影響も含めて、標的部位の中の細胞をまんべんなく死なせる線量を標的領域に与え、その時正常組織へのダメージを最小にするように線量分布を実現することを最大の目標にしている。重粒子線治療でもこの方針は全く同じである。ただし、重粒子線の場合は、標的部位の中の細胞をまんべんなく死なせることは、線量だけを考慮に入れることでは実現できず、深さによる線質の違いも考慮に入れなければならない。

複雑な重粒子線治療の臨床応用を実行するまでのわれわれが理解しなければならない物理・生物研究の課題を簡単に追うと、

1. ある重粒子線について、体内組織あるいは散乱体、エネルギー吸収体等の照射装置を通過する際に核反応を起こし、入射重イオンの他に多数の核破砕片を生じる。この核反応の断面積を知り、どのような粒子が何個体内を通過しているのかをまず知らねばならない。
2. ある重粒子線について、体内組織を通過する際の線量分布・LET分布あるいは直接に生物の生死に関連する物理量(もしあれば)を明らかにする。
3. 単一のエネルギーの重粒子線が細胞を通過する時の生物効果(生残率曲線、OER、回復能など)を実験的及び理論的に明らかにする。
4. 重粒子の種類・エネルギーを混合させたビームに対する生物効果を明らかにする。
5. 以上の生物・物理学的基礎知識を基に、治療に適したビームの形成法を確立する。
6. 作られた治療重粒子線に対する組織レベルでの生物効果実験を通し、さまざまな治療状況での効果を解析する。
7. さまざまな重粒子線に対し1～6の研究を行い、治療状況に応じた最適なイオン種を選定する。
8. 核破砕片の大小は、重粒子線が通過する物質の原子組織に依存する。従って骨を通過する場合と軟組織を通過する場合とでは核破砕片の種類及びその数が異なり、生物効果の評価も異なるであろう。最終的には、体内の原子組織の分布を知り、それに従って最適な生

物効果分布のわかる治療計画システムの開発が必要になる。

以上の研究課題がすべて解決できるとは考えられないが到達度の程度差はあるにしても一応の答えはすべて提出しなければ臨床応用には進めない。

以下には、リッジ・フィルターの製作の実際等を通して重粒子線治療への理解を深めて行きたい。

2. リッジ・フィルター

単一のエネルギーをもつ重粒子線の水中での深部線量分布は、飛程の終端で鋭いピークをも

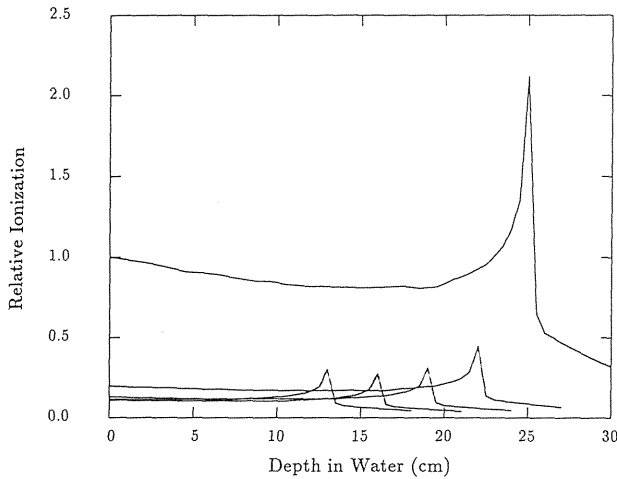


図1 Ne 670MeV/nの水中での深部線量分布
Depth dose distribution for Ne 670MeV/n beam in water.

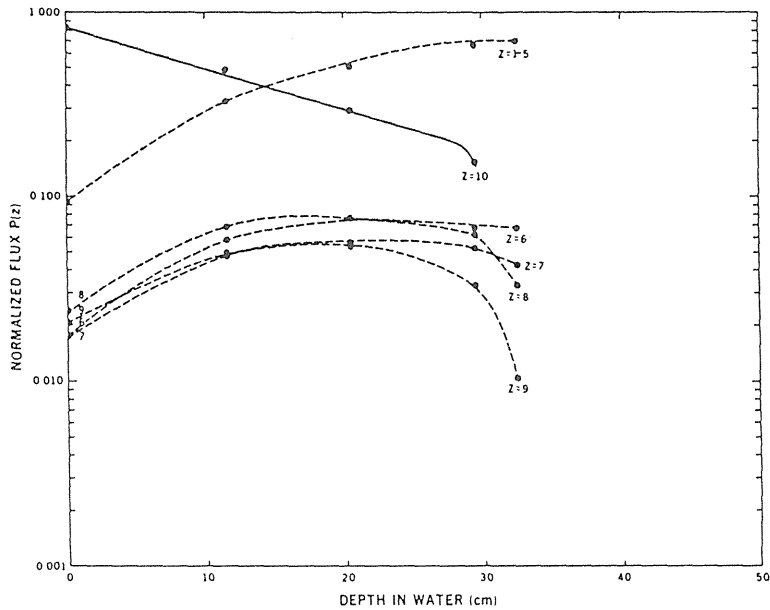


図2 Ne 670MeV/nの水中での核破碎片の数
Particle flux in water phantom for Ne 670MeV/n beam.

つ「ブラッグ曲線」を示す。図1に、LBL(カリフォルニア大学ローレンス・バークレイ研究所)で測定したNe 670MeV/nのビームが水中に入射したときの深部線量分布を示す。この線量分布は、Neがまわりに線量を与えながら水中を走るに従って、阻止能が急速に大きくなることと、水の原子核との衝突によって深くなるほどNeの数が少なくなること、及び核反応によって生じる2次荷電粒子によって線量が水に与えられることなどの結果実現している。図2に、Ne 670MeV/nが水に入射したときのNeの粒子数及び核反応によって生じた2次粒子数を示した。Ne粒子は、水の深さとともに指数的に減少し、2次粒子が増加していることがわかる。線量としてピークになるブラッグピークの深さでは、10数%程度のNe粒子しか生残っていない。治療時には、この「ブラッグピーク」を患部である標的領域全体に拡大しなければならない。単一エネルギーの重粒子線のビーム・コースの中にある厚さのエネルギー減速材を挿入すると、その厚さの分だけ人体での深部線量分布は浅い方に移動する。従ってさまざまな厚さの減速材をビーム・コース中に挿入して、計算された割合で重ね合わせることで、拡大したブラッグピークを作ることができる(図3)。拡大ブラッグピークの中では序論でも述べたように、まんべんなく細胞を死なせるようにすることが基本である。そうすることが、正常組織へのダメージを最も少なくすることにつながる。670MeV/nのNeが水中に入射したときの各水深でのLET

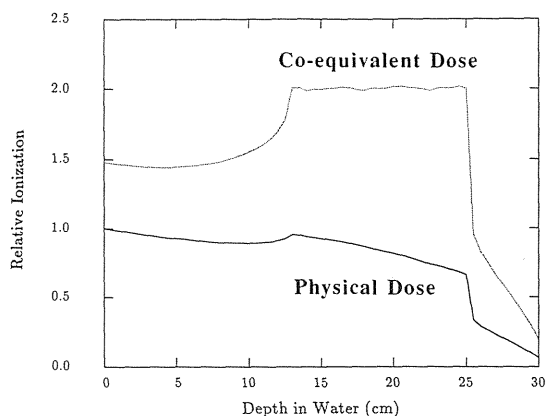


図3 Ne 670MeV/nの拡大ブラッグピークの線量分布
Depth dose distribution of spread Bragg peak for Ne 670MeV/n beam.

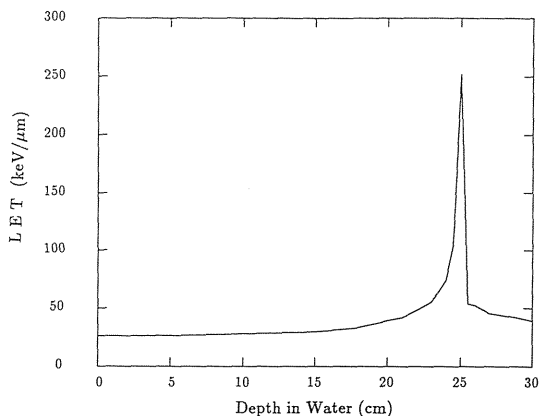


図4 Ne 670MeV/nの水中での線量平均LET
Dose average LET in water phantom for Ne 670MeV/n beam.

を図4に示す。LETは約20keV/μmからブラッグピーク付近では250keV/μm程度まで変化している。この領域はRBEの最も変化する所である。重粒子線の拡大ブラッグピークでは、人体中での深さ、ブラッグピークの重ね合わせ方によって線質は全く異なり、従って生物効果も異なる。それゆえ、重粒子線治療の場合に、標的領域内の細胞を一様に死なせるようにリッジ・フィルターを設計するためには、重粒子線の線量分布の他に各深さでの生物学的効果の大きさも考慮に入れなければならない。図5に、LBLで採用されているリッジ・フィルターの設計法のダイアグラムを示す²⁾。まず生残率曲線は、Linear-Quadraticな線量依存性を示し、その一次及び二次の係数 α 、 β は重粒子線場における線量平均のLETの関数であると仮定する。次に単一エネルギーの重粒子線の線量分布、線量平均LET分布を実験で求める。そして、エネルギー吸収体によってシフトした線量分布を重ね合わせるときの比率を仮定する。その比率で重ね合わ

Survival Fraction is assumed to be
 $S/S_0 = \exp(-\alpha D - \beta D^2)$

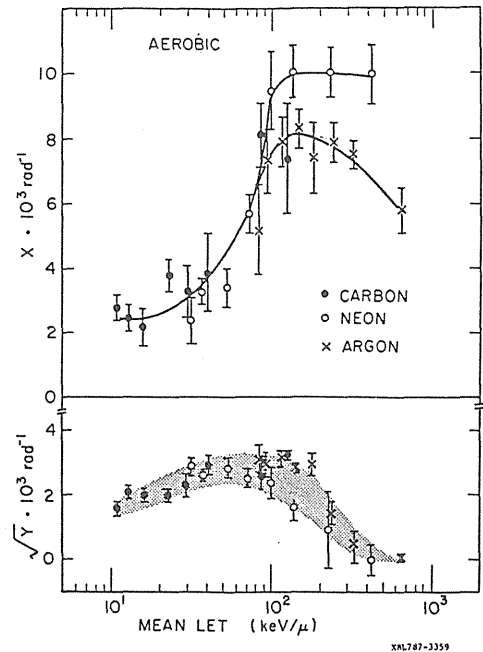
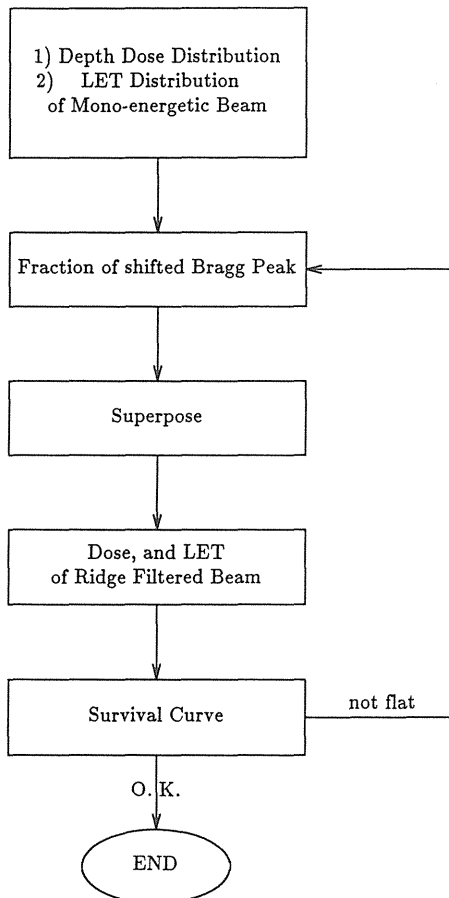


図5 リッジ・フィルターの設計方法(LBLの場合)
 Ridge filter design algorithm (LBL method)

せた結果の拡大ブラッグピークについて、線量分布及び線量平均LET分布を求める。拡大ブラッグピークの中の深さにおける生残率は、最初に仮定した生残率曲線の係数 α , β の値をその深さでのLETから求め、 $S/S_0 = \exp(-\alpha D - \beta D^2)$ の式に代入して求められる。次に仮定した線量レベルで、拡大ブラッグピーク中の任意の点で生残率が同じになるように、シフトしたブラッグピークの重ね合わせの比率を調節する。実際には計算機でIterationを行って最適な重ね合わせ比率を求める。このような方法で実際のNe 670MeV/nのデータを使って求めた拡大ブラッグピークの線量分布、LET分布が図3、図6である。図3でCo-equivalent doseと書いた曲線

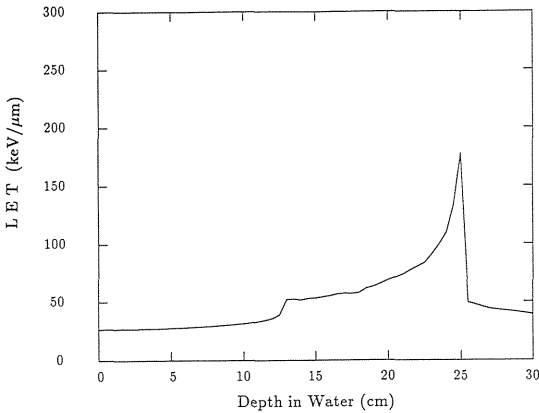


図6 Ne 670MeV/nの拡大ブラッグピークの線量平均LET
Dose average LET of spread Bragg peak for Ne 670MeV/n beam.

が生物効果を考慮に入れた生物学的線量である。これらのLBL方式の問題点は、以下のとおりである。

- 1) 最初の仮定、係数 α , β が重粒子線場の線量平均LETの関係で表わせるかどうか。すなわち、線量平均LETさえ同じならば、どのようなLET分布をしていても、生残率曲線は同じような線量-効果曲線を示すか疑問である。これは実験的には確かめなければならない。
- 2) 生残率を拡大ブラッグピーク中で一様にするためにどの線量レベルをとるか。
- 3) 実際の治療では、一般に分割照射が行われている。このような場合LETの大小により当然回復能が異なる。この影響をどのようなリッジ・フィルターのデザインに考慮していくかが抜けている。
- 4) 細胞の種類により、放射線感受性が異なるので、一つのリッジ・フィルターによってすべての部位に有効なものになるか。

LBLでの拡大ブラッグピーク中での生物実験の効果をみると、満足するような致死効果の一様性は得られていないように思える。

3. 重イオン線の生物効果の物理的考察

リッジ・フィルターにまつわるすべての問題を解決することは非常に困難と思えるが、まずわれわれはその第一歩として、第1の問題点から実験的な検証を始めた。すなわち問題を単純化して、2つの単一エネルギーの重粒子線をいろいろな役割で混合し、いろいろな線量平均

LETを実現し、生物効果の大きさを検証することである。結果は大原氏の講演で詳しく示されるが、70keV/ μm までの比較的低いLETをもつ重粒子線では、混合照射の場合も単一エネルギーの照射でも、線量平均LETが同じならば両者とも生残率曲線はほとんど同じであるという結論が得られた。しかし、20keV/ μm 程度の低いLETの粒子と、200keV/ μm 以上の高いLETの粒子の混合照射実験では、線量平均LETはよい指標とはならず、線量平均LETが同じでも異なる生残率曲線が得られている。これらの事実は生残率曲線が単にLETという指標だけでは現象論的にもうまくいかないことを示している。

そこで重粒子線で照射されている様子をもう少し視覚的にとらえて、生残率曲線の線質に対する依存性を考える糸口をみつけてみたい。

治療に使用される重粒子線は、患部まで到達する飛程(20~30cm)をもつ必要がある。図6からわかるように、重粒子線としてNeを使用した場合、単一エネルギーのNe線の水中での線量平均LETは、20keV/ μm から250keV/ μm までの範囲に広がっている。この範囲のLETの重粒子線に対する細胞生残率曲線の特徴は、

- 1) 20keV/ μm の粒子に対しては、 γ 線の場合と同様に $\log(S/S_0)$ と線量 D のグラフで曲線になっている。また、RBEは小さく、種々の回復能が大きく、OERも大きい。
- 2) 250keV/ μm の粒子に対しては、 $\log(S/S_0)$ 対 D の関係は直線的であり、RBEが大きく、回復能は小さく、OERは小さい。

対応して、物理的な特徴的差異はLETの違いからFluxの違いがまず挙げられる。細胞核の大きさを $10\mu\text{m} \times 10\mu\text{m}$ 程度だと仮定すると、たとえば1Gy照射するのに必要な粒子数は、20keV/ μm の粒子で31.25個、200keV/ μm の粒子ではその1/10の3.125個である。

次に細胞核の大きさに視野を拡大してみると、重粒子線は、線状にまわりの物質にエネルギーを付与するのではなく、ある範囲を分布をもってエネルギー付与を行っているのが見えてくる。これは実験的に観測可能である³⁾。円筒形の電離箱の中心軸に重粒子線を走らせ、円筒電離箱内だけで電離したイオンを集める。電離箱のガス圧を変えることによって密度1の物質中の数10nmの半径の円筒内で電離量をシミュレートできる。図7に18.3MeV/nの⁴Heが通過した時の半径方向の線量分布を示す。(LETは14.5keV/ μm)重粒子が通過した中心部の重粒子がまわりの物質を直接電離・励起する部分(コア)とその近傍は実験的に確かめることができないが、比較的中心から遠い部分は $1/r^2$ の依存性で最大半径 r_p (penumbra半径)まで減衰する線量分布を示している。図8に図7の線量分布を半径 r (横軸)まで積分した円筒形の内て吸収される線量を ∞ まで積分した値(LET)に対する比(distance limited LET)を示す(破線はChatterjeeらの計算値)。図7と図8とでわかるように、重粒子線のトラックのまわりの線量分布は、

- 1) $1/r^2$ の振舞いを示し、最大半径 r_p で与えられる。
- 2) 線量分布の絶対値はLETに比例する。
- 3) 相対的な分布は、重粒子線の速度のみに依存する。

等がわかる。

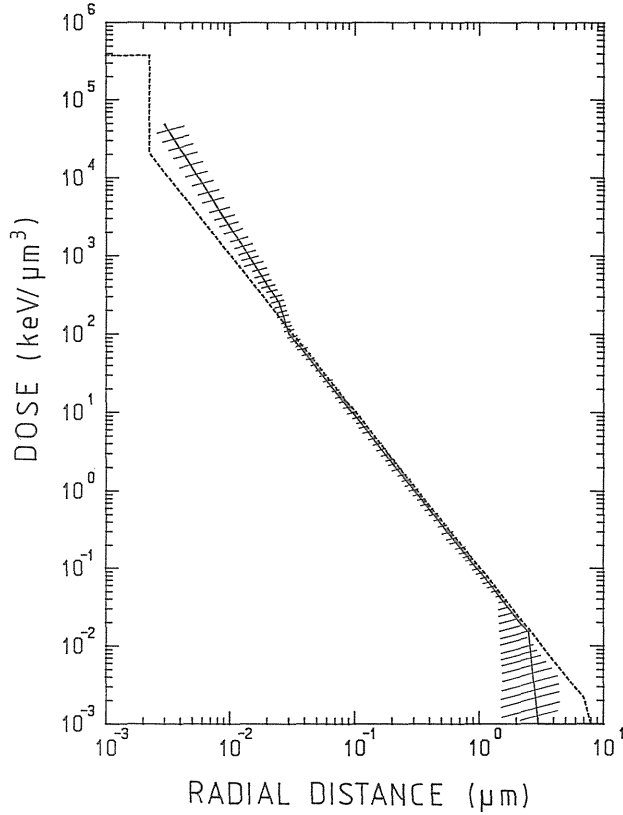


図7 ${}^4\text{He}$ 18.3MeV/nの動径方向線量分布
Radial dose distribution of ${}^4\text{He}$ 18.3MeV/n beam.

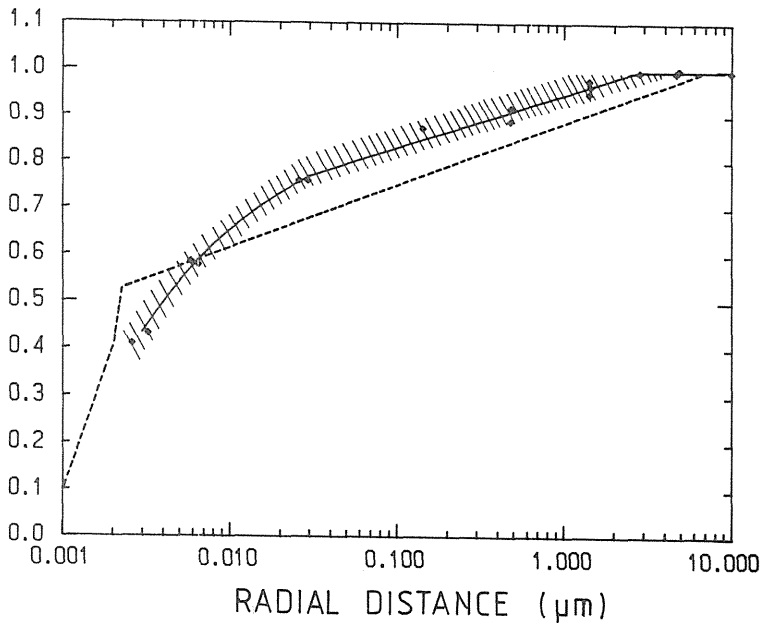


図8 ${}^4\text{He}$ 18.3MeV/nの距離制限 LET
Restricted LET of ${}^4\text{He}$ 18.3 MeV/n beam.

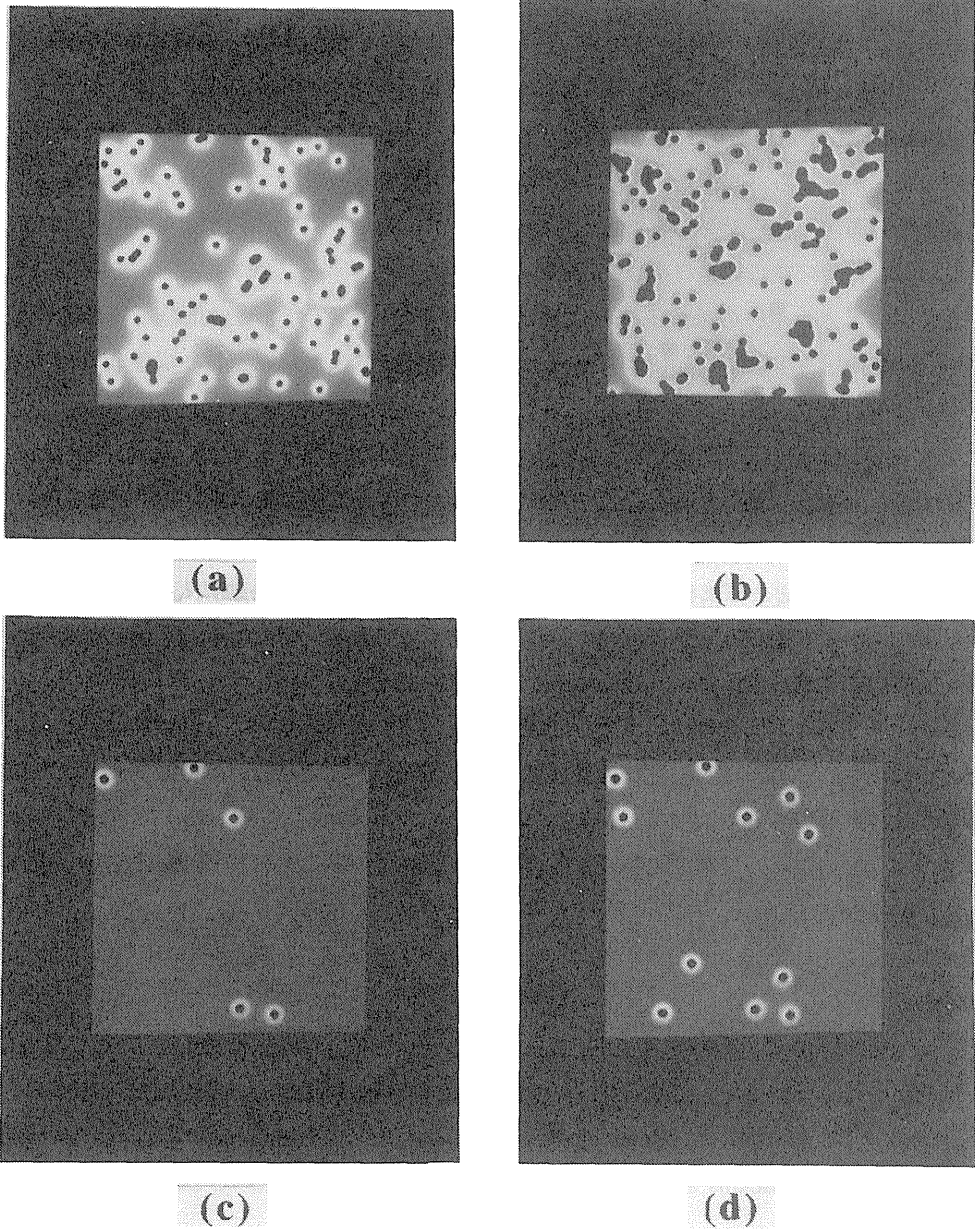


図 9 $10\mu\text{m}\times 10\mu\text{m}$ の視野での線量分布(シミュレーション)
 (a) ${}^4\text{He}$ ($14.5\text{keV}/\mu\text{m}$) 2 Gy照射時, (b) ${}^4\text{He}$ ($14.5\text{keV}/\mu\text{m}$) 4 Gy照射時, (c) C
 ($225\text{keV}/\mu\text{m}$) 2 Gy照射時, (d) C($225\text{keV}/\mu\text{m}$) 4 Gy照射時
 Dose distribution in size of $10\mu\text{m}\times 10\mu\text{m}$ by simulation.
 (a) ${}^4\text{He}$ beam, LET is $14.5\text{keV}/\mu\text{m}$ and dose is 2 Gray., (b) ${}^4\text{He}$ beam, LET is
 $14.5\text{keV}/\mu\text{m}$ and dose is 4 Gray., (c)C beam, LET is $225\text{keV}/\mu\text{m}$ and dose is
 2 Gray., (d)C beam, LET is $225\text{keV}/\mu\text{m}$ and dose is 4 Gray.

以上のトラックまわりの線量分布のイメージから、14.5keV/ μm の ^4He ビーム 2 Gy及び 4 Gy照射時と、225keV/ μm の ^{12}C ビーム 2 Gy及び 4 Gy照射時の10 μm ×10 μm の範囲の線量分布を作ってみた(図9)。これらの写真からHeの低LET放射線の場合、比較的低い線量でトラック同志のpenumbraの部分が重なり合い始める。しかし、Cの高LET放射線の場合は、重なりは非常に少ないことがわかる。つまり、He照射の場合、細胞核全体におおう雲の上に小山が数多く存在する線量分布のイメージを作ることができる。また、Cのような高LET放射線の場合は、何も当たっていない快晴の空に非常に高い高山が少数個存在するイメージを作ることができる。このことから単一エネルギーの重粒子線の場合と、低LET及び高LETの2つの重粒子線の混合場では、同じ線量平均LETをもつとしても10 μm ×10 μm の視野ではかなり異なり線量分布のイメージを得ることになる。

すなわち、線量分布LETが同じでも、LET分布が異なれば当然異なる生物効果が得られることには納得できる。しかし、量的な説明を行うには、もっと詳細な研究を必要とする。

以上の物理的なイメージは、動径方向の線量分布に基づいて築いてきた。しかし、この動径方向線量分布は、たとえば実測するには、 1×10^6 個の重粒子線を中心軸に入射して行う。すなわち、1個1個で実現される動径方向の線量分布の平均である。そして1個1個の線量吸収事象は、統計的に非常に変動する。図9で示した平均的な線量分布のイメージでは生物効果を説明することはできなく、その統計変動を考慮に入れなければならないという直接的な証拠はまだないように思われる。しかし、現実の世界は、その統計変動を受けているので変動を含んだ理論構成でなければならない。

以上のようないろいろな層での物理的イメージから直接生物効果に結びつける理論は現在の所、未だ暗中模索といったところになっている。

参考文献

- 1) Pirruccello, M.C. and Tobias, C.A. Editors ; 'Biological and Medical Research with Accelerated Heavy Ions at the Bevalac, 1977-1980' Univ. of California report, LBL-1120, 1980
- 2) Lyman, J.T., Howard, J., Kanstein, L. and Alonso, J.R. ; 'Radiological Physics of Heavy Charged-Particle Beams Used for Therapy' Univ. of California report, LBL-11220, 319-324, 1980
- 3) Kanai, T. and Kawachi, K. ; 'Radial dose distribution for 18.3MeV/n α Beams in Tissue-Equivalent Gas. 'Radiat. Res. 112, 426-435 (1987)

2 重粒子線の生物物理作用

松 本 信 二*

Biophysical Aspects of Heavy Ion Beam

Shinji Matsumoto

National Institute of Radiological Sciences
9-1, Anagawa-4-chome, Chiba-shi 260, Japan

Abstract

Recent various data of radiation inactivation of cell indicated that the repair rates of radiation damages are efficiently high and even for chromosomal damages high recovery rates have been reported. It is necessary to clarify the type of the damages remaining in DNA in irradiated cell, which are not easily repaired and linked to the final cell inactivation. In order to estimate the production rates of local multiple damages, we described here the basic mechanism of production of secondary electrons by charged particle passage through biological materials and the following energy loss of the secondary electrons. In addition, we summarized the data of energy distribution of the secondary electron, the stopping power of liquid water for low-energy electrons and the range of electrons in various materials. Based on these data, we estimated the 1st and the 2nd terms of linear and quadratic model of the cell survival. For the alpha-term, we calculated the probability of occurrence of the local multiple damages due to the single passage of secondary electrons and two passages of the secondary electrons successively produced by charged particles, both of which leaving an energy

* 放射線医学総合研究所

amount sufficient to cause multiple damages within a region of 200 angstrom cubic target containing two pairing chromosomes. For the beta-term, we calculated the probability due to the additive effect of two passages of the secondary electrons randomly produced, which resulted in the production of similar multiple damages in the target described as above.

1 はじめに

放射線生物学の知識を基に治療の計画が作られるのは当然であるが、特に重粒子ビームの場合には更に厳密に基礎的知見に沿って行われるべきである。条件設定が良ければ最大の効果が引出せる反面悪くすると害悪になりかねない。最適の条件設定を行うためには個々の粒子が線量といった平均概念でなく、その飛跡に沿ってどのような2次電子を作り、それがどのような生物効果をもたらすかについて追跡する必要がある。

ビームの条件としては、例えば、表面からある深さの場所で $20\mu\text{m}^2$ の大きさのターゲットを過不足なく重粒子が1個通り抜けるようにするといったことがある。このためには①ビーム電流値のコントロール、②一様な粒子数のビーム断面、が必要であり、欲を言えば③ビームエネルギーの可変性、が効果的である。

粒子と物質との相互作用では①振動子強度の知識、②低速電子の挙動、③核反応の断面積のデータが必要となる。

生物効果を推定する上で、細胞集団がどのように細胞周期の各時期に分布しているかは重要なパラメータである。感受性、回復効果、細胞分裂遅延(G_2 ブロック)等は周期依存性が強いので、周期の各段階に分類した細胞群に対し種々の生物効果を演算子として取り入れた整理が必要となろう。とくに分割照射、温熱・薬剤等の併用効果を推定するのにこれらの取扱いは有利である。

2 細胞失活の要因

放射線による細胞失活の主因としてDNAターゲットを仮定し、DNA損傷の修復と回復効率を結びつけた研究が広く行われてきた。微生物細胞を中心に、修復に関与する多くの遺伝子が確認され、その道筋もかなり明らかになって来た。真核細胞として扱い易い酵母細胞の放射線感受性株¹⁾を用いた解析において、通常の野性株(放射線抵抗性)を1倍体から2倍体にすることにより非常に抵抗性が高まるがX線感受性株¹⁾ではこの増加がほとんど認められなかった。対になっている染色体の双方の同じ部分に損傷が生じない限り、ほとんどの損傷は修復されるのであろう。染色体レベルで切断が回復されるのをCornforthら²⁾が確認している。この際、切断数の減少速度が照射線量つまり最初の切断数に依存しないとの報告を行っている。修復能力が十分ないため高い線量で細胞失活がより多く見られるという見解を否定する結果になっている。

1 Gyの照射量で動物培養細胞の場合、発生する2次電子のエネルギーが全て60eVであると

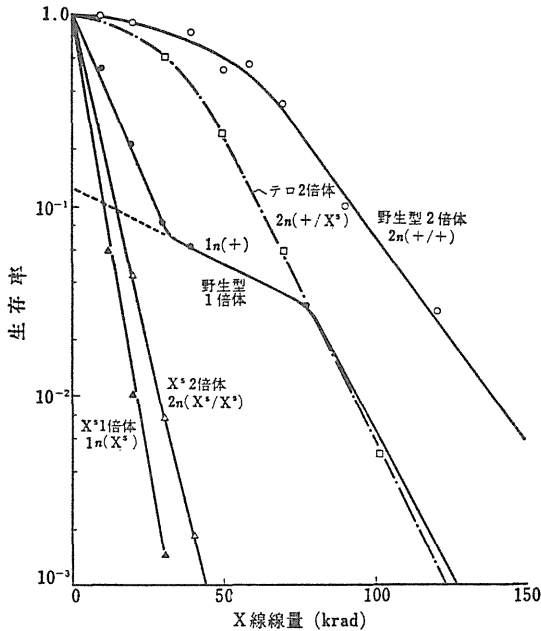


図1 酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)の野性株とX線感受性株のX線照射による失活率¹⁾
Survival Curves of Wild and Mutant of Haploid and Duploid Yeast Cells Irradiated with X-rays

野性株では1倍体から2倍体になると回復能力が高くなる。出芽期の1倍体(10%位存在し、この部分を点線で表示)も回復率が大きい。これに反しX線感受性株の回復効率は殆ど変化しない。

仮定すると細胞当たり 10^6 個の損傷部位があることになる。DNAの1本鎖切断数は 10^3 、2本鎖切断数は40カ所と推定³⁾されており、最終的な致死率は約1である。従って、この間に多くの損傷部位の修復が行われていることになる。致死に結びつく原因として、染色体上に放射線損傷に弱い構造があるとする報告⁴⁾もあるが、重粒子線を用いた致死率のLET依存性を説明できない。修復が簡単でないような損傷が細胞失活と密接に関連しているであろうとの立場から重粒子線により作られる損傷を整理してみたい。基本的素過程は電離放射線においてはすべて2次電子による電離、励起作用であるが空間分布の違いにより複雑な損傷部分が作られる。

3. 放射線と生体物質との相互作用

放射線と生体物質との相互作用の結果、多数の2次電子が作られ、これらが更に3次、4次、5次と電子を作ってゆく過程での損傷の生成が細胞への影響を左右している。ガンマ線による光核反応、粒子線による原子核反応も高いエネルギーで入射する場合はLETの深さ方向の分布には影響があるが⁵⁾、基本的生物作用は上記の電子によるものに最終的にはなる。

1) 光子のエネルギー損失

可視光線、紫外線、軟X線、X線更にガンマ線と分類されるが⁶⁾、基本的過程は光子として一貫している。詳しくは最近刊行された書物⁶⁾を参照されたい。重粒子線との関連では紫外から軟X線にかけての光吸収のデータが重要である。光、電子、荷電粒子線を問わず、対象物質中の電子群を励起ないし電離の各状態へ転移させる確率を振動子強度という。この強度分布は光子との相互作用のデータから求められるので、軌道放射光を活用したデータは極めて有益である。

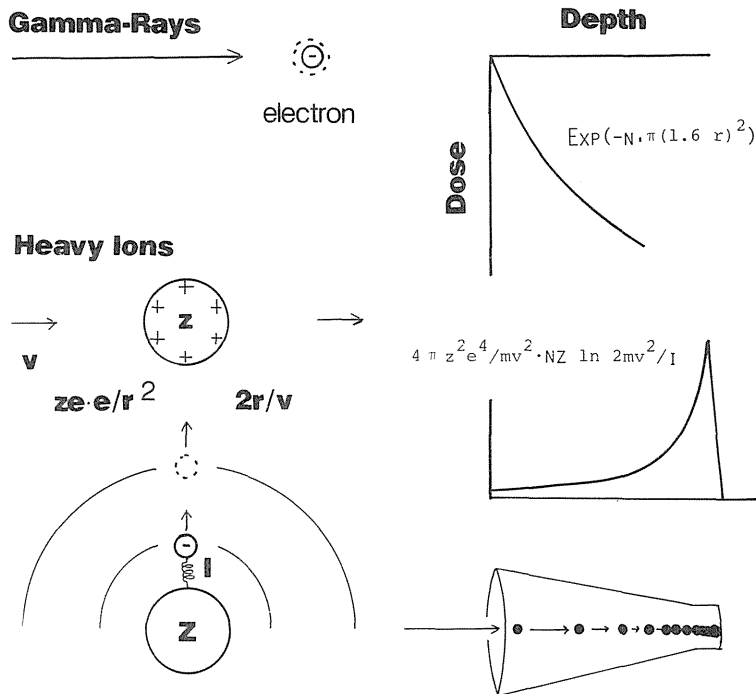


図2 ガンマ線と重粒子線のエネルギー損失の違い
 Energy Losses of Gamma-Rays and Heavy Ions along their Passages.
 記号は本文参照

よく利用されている0.1～2 MeVのX線、ガンマ線では主に電子との散乱によりエネルギーを失うとして扱える。この断面積は電子の大きさの程度($8/3\pi r_e^2$, r_e : 古典電子半径)であり、この値と単位質量当りの電子数の積が質量吸収係数となる。重い物質は多数の電子を、軽い物質は少ない電子を含み、単位質量当りの電子数は物質によらずほぼ一定である。従って質量吸収係数は類似の値となる。光子数は質量単位で深さ方向の距離を定義すると類似の指数関数で減少し、表面におけるエネルギー損失量が最も大きい。

2) 荷電粒子線のエネルギー損失

物質中を荷電粒子が通過する際、失うエネルギーはBetheにより量子力学的計算がなされ、これにBlochにより補正項が加えられた。今日、多く利用されている形のBethe-Blochの公式⁶⁾を記す。パラメータの測定および解釈については塩見と石割⁶⁾の精力的研究がある。

$$-\frac{dE}{dX} = \frac{4 \pi e^4 z^2}{m v^2} Z N \left\{ \ln \frac{2 m v^2}{I} + \ln \frac{1}{1 - \beta^2} - \beta^2 - \frac{C}{Z} + \Phi + z L_1 \right\} \dots\dots\dots(1)$$

eは電気素量, mは電子質量, zおよびvは入射粒子の原子番号および速さ, ZおよびNは阻止物質の原子番号および1 cm³中の原子数を表わす。Iは阻止物質の平均励起ポテンシャル, β は v/c (cは光速), C/Zは内殻補正項, Φ はBlochの補正項(Z^4 に比例), L_1 は Z^3 の補正係数である。

第2項以下を無視すると

$$-\frac{dE}{dX} = \frac{4\pi e^4 z^2}{mv^2} ZN \ln \frac{2mv^2}{I} \dots\dots\dots(2)$$

粒子がエネルギーを失うということはそれに対応して生体物質に損傷ができるということなので、上記の式の意味するところを理解するのは生物作用を解明するのに必須であろう。

3) 振動子強度

プラスの電荷を持った粒子が物質中を通過する際、物質の構成電子を引き寄せるように働く。古典的には距離 r にある電子に対しては、クーロン力($F = \frac{ze \cdot e}{r^2}$)が $t (\cong \frac{2r}{v})$ 時間、作用すると考えられる。電子の得るエネルギー E は

$$E = \frac{(\text{質量}) \cdot (\text{力} \times \text{時間})^2}{2 \cdot \text{質量}} = \frac{m}{2} \left(\frac{ze^2 \times \frac{2r}{v}}{r^2} \right)^2 = \frac{2z^2 e^4}{mr^2 v^2} \dots\dots\dots(3)$$

このエネルギーを近接した電子(衝突エネルギー(E))が $\frac{m}{2} (2v)^2$ から最も遠くで影響を受ける電子(電離エネルギー(I))が平均で約 $10ZeV$ 迄積分するとエネルギー損失量が求められる。 Z 個の電子を持つ原子が単位体積当り N 個存在すれば、

$$-\frac{dE}{dX} = \int_{r_{min}}^{r_{max}} E(ZN 2\pi r dr) = \frac{4\pi z^2 e^4}{mv^2} ZN \ln \frac{2mv^2}{I} \dots\dots\dots(4)$$

となり、(2)式に等しくなる。

量子力学的に見れば基底状態の波動関数(ψ_0)に対し、荷電粒子による電場の作用すなわち電気双極子能率(er)を作用させて、各離散励起状態から連続励起および電離状態のそれぞれの波動関数(ψ_n)との積から転移確率を求めることになる。この転移確率に相当する概念として振動子強度があり、励起状態の関数としての強度分布は放射線の初期過程を扱う上で最も重要なパラメータである。振動子強度は次式となる。

$$f(E) = \frac{E}{E_R} \cdot \frac{1}{3} \left| \frac{M}{e a_B} \right|^2, \quad |M|^2 = |\langle \psi_n | er | \psi_0 \rangle|^2 \dots\dots\dots(5)$$

ここに E は入射エネルギー、 E_R はリドベルグ・エネルギーで $13.59eV$ 、 a_B はボーア半径で 0.53 \AA である。

非弾性散乱において、軌道電子が運動エネルギー ϵ を得て、励起エネルギーが E_n の状態へ移る確率を $|F_n(\epsilon)|^2$ とすると、一般化された振動子強度 $f_n(\epsilon)$ は次式となる。

$$f_n(\epsilon) = \frac{E_n}{\epsilon} |F_n(\epsilon)|^2 \dots\dots\dots(6)$$

運動エネルギーが 0 に近づくと式(6)は(5)で近似できる(光学近似)。

重心系において、ある速度(v)で入射する電荷 ze の粒子により散乱されて、電子がエネルギー ϵ を得る断面積はラザフォードの公式として有名である。

$$d\sigma = (2\pi z^2 e^4) / (mv^2) \cdot d\epsilon / \epsilon^2 \dots\dots\dots(7)$$

この式に $|F_n(\epsilon)|^2$ を乗ずると、励起を伴う一般的な断面積が得られる。

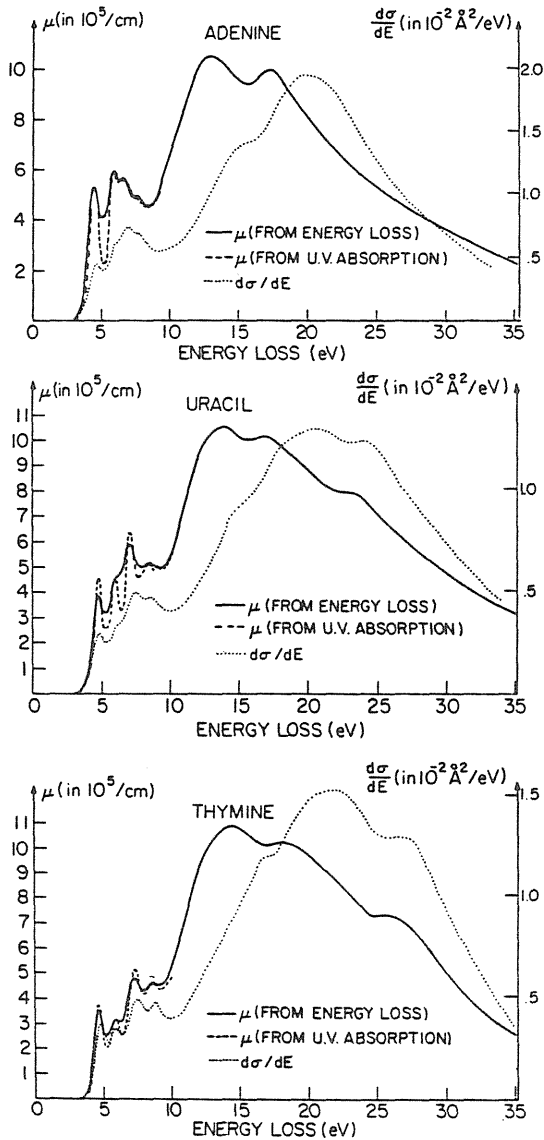


図3 アデニン、ウラシルおよびチミンについての微分非弾性散乱断面積の測定値と光吸収係数(μ)^{7,8)} Calculated Optical Absorption Coefficient, μ , and Differential Inelastic Electron Scattering Cross Section per Unit Energy, $d\sigma/dE$.

$$d\sigma = \left\{ 4 \pi z^2 a_B^2 E_R^2 / \frac{mv^2}{2} \cdot E_n \right\} f_n(\epsilon) \cdot d\epsilon / \epsilon \dots\dots\dots(8)$$

入射粒子のエネルギー損失量の分布の測定から、この式(8)により対象分子の $f_n(\epsilon)$ が求められる。図3に核酸塩基の光子吸収係数と電子線照射によるエネルギー損失量分布が類似の傾向となることを示した^{7,8)}。

式(8)を $d\epsilon$ について積分することにより、式(2)が得られる。ただし

$$\ln I = \sum f_n \ln E_n \dots\dots\dots(9)$$

4) 2次電子発生の空間分布

電荷粒子線のエネルギー損失が振動子強度の分布を介して求められることを述べた。このエ

エネルギー損失に相応するエネルギーを得る電子の粒子線飛跡に対する空間分布を、古典力学で考えると式(3)より

$$(E/mc^2) = z^2(Mc^2/T)(r_0/r)^2 \dots\dots\dots(10)$$

ここに $r_0 = e^2/mc^2 = 2.818 \times 10^{-13} \text{cm}$, $mc^2 = 0.511 \text{MeV}$, $Mc^2 = 938.256 \text{MeV}$ である。100MeV(T)の $^{20}\text{Ne}^{10+}$ が1eVのエネルギーを与える場合の飛跡からの距離は

$$r = z r_0 (mc^2/E)^{1/2} (MC^2/T)^{1/2} = 10 \times 2.8 \times 10^{-13} (5.1 \times 10^5/1)^{1/2} (938/100)^{1/2} = 6.1 \times 10^{-9} \text{cm} \dots\dots(11)$$

であり、原子のサイズに匹敵する。

ChatterjeeとSchaefer⁹⁾によれば、飛跡に沿って次式の距離を半径とする円内の電子が作用を受けることになる。

$$r_{\text{core}} = 11.6(v/c) \times 10^{-9} \text{m} \dots\dots\dots(12)$$

粒子の飛程末端では5nmという値¹⁰⁾が使用されている。

5) 2次電子のエネルギー損失

このようにして生成された電子は飛跡を中心とした同心円状の線量分布を与える。影響の及ぶ最外円を「penumbra」といい、半径に沿った線量分布が計算されている。線量という平均化した概念より、2次電子のエネルギー損失の不均一性による損傷の局在化の方が重要であろうとの観点から、エネルギー損失量および飛程の電子エネルギー依存性について述べる。

図4に電子の水中におけるエネルギー損失¹¹⁾を示す。

電子エネルギーが100から200eVにピークを持つ曲線で、高いエネルギーの2次電子の損傷密

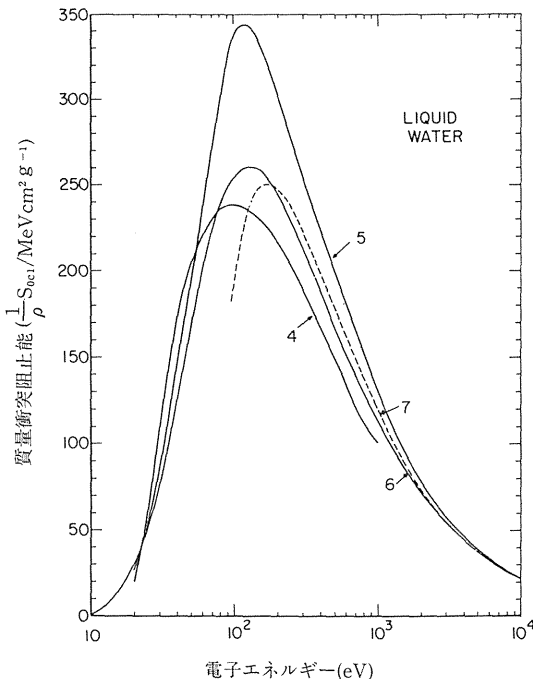


図4 水の電子に対する質量衝突阻止能の計算値¹¹⁾。
Calculated Electron Mass Collision Stopping Powers below 10 keV in Water.
各番号に対する計算条件は文献¹¹⁾を参照。

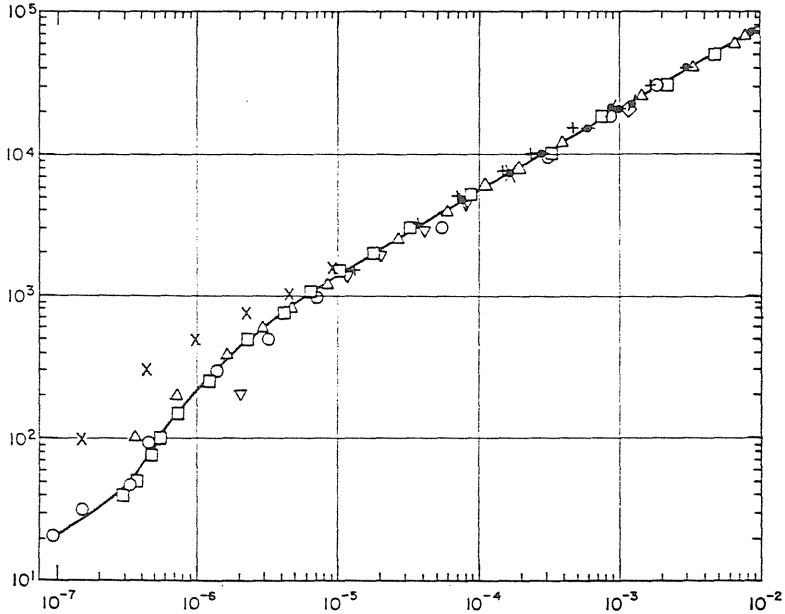


図5 低エネルギー電子の飛程¹²⁾

Energy versus Range for Low-Energy Electrons

詳細は文献¹²⁾を参照。コロジオン(+), 蛋白質不活性化(x), 空気(▽, ○, ●), 水(△), アルゴン(◇), 酸素(●), 水素(●)

度は小さいことを示す。これらのエネルギー損失に対応して、飛程¹²⁾が定義できるがその一例を図5に示す。電子線の飛程は一種の目安であり、揺動幅はかなり大きいので生物効果の議論で利用する時はかなり注意が必要である。

4 原子核反応

高いエネルギーの重粒子線における原子核反応の影響はエネルギー損失曲線を作る際無視できないものがある。発生する2次の粒子は軽いいため平均飛程よりかなり遠くまで到達し、ブラッグピーク¹³⁾をなだらかにする。また照射対象を放射化する場合もある。

電磁力と違って核力は近接距離でしか働かない。従って反応の断面積は入射粒子(質量数 A_1)の原子核の直径と標的粒子(A_2)のそれを加えた程度の半径の円の大きさとなる¹⁴⁾。

$$\sigma = \pi (1.45 \times 10^{-3} \times l)^2, \quad l = A_1^{1/3} + A_2^{1/3} - 1.7 \dots \dots \dots (13)$$

アルゴン粒子が水中の酸素原子核と核反応を起こす断面積を上式で求めると、 σ は約1.2バーンとなり、500MeV/amuの飛程が³12cm位であるが、この間に1回近くの核反応が起こることになる。核反応が起こるとブラッグピークが鋭くならず線量を集中させるためには不利である。

照射量のモニターとして、核反応の生成物測定¹⁵⁾は利用できる可能性がある。別の利点として、安定同位体トレーサーで予め照射対象中の分子を標識しておくことにより取込み量等を推定できる。筆者らは¹²Cビームを用いて重水素標識蛋白質の検出¹⁶⁾を行っている(図6)。

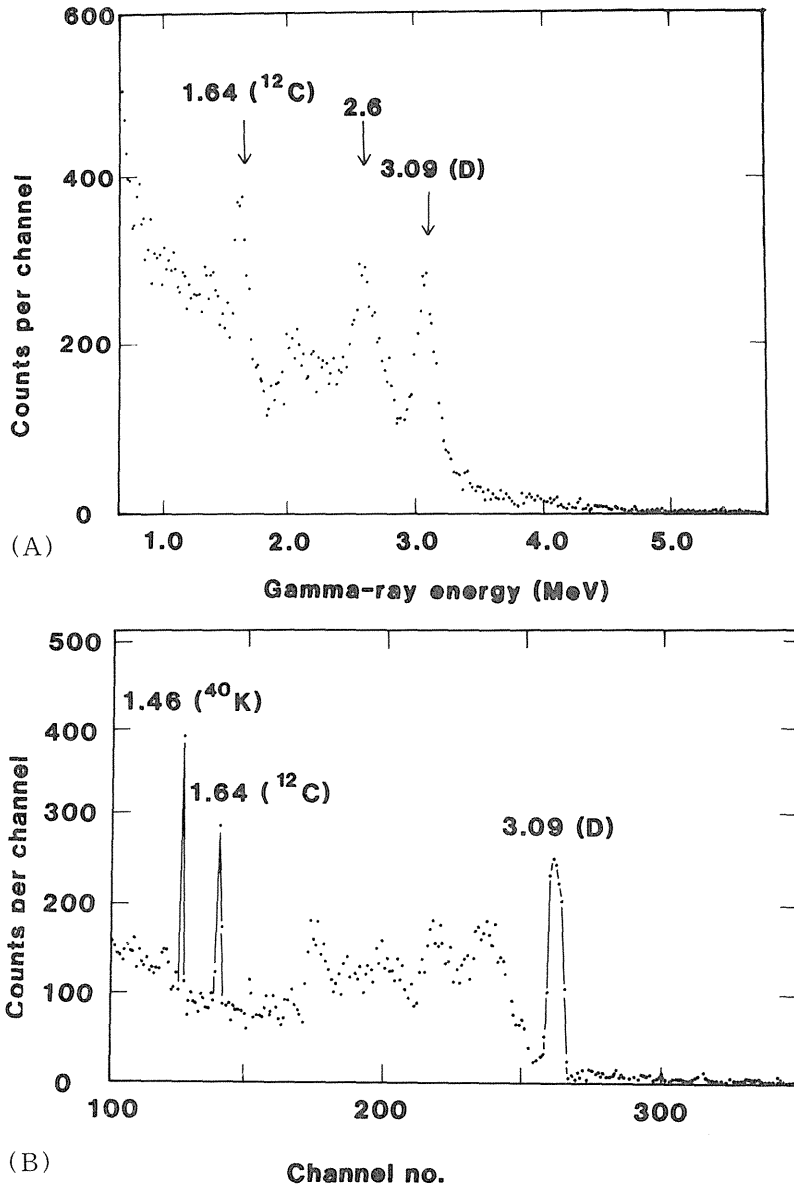


図6 (A) ^{12}C ビームによる重水素からの γ 線のスペクトル¹⁶⁾。
 Typical Spectrum of Gamma-Rays Produced by a Specimen Containing Glycine Enriched to 98% in Deuterium.
 グリシン(98%重水素)を1/10に希釈したフィザルム細胞の破碎液に250ng/ μl の濃度にけん濁した。照射は $^{12}\text{C}^{3+}$ ビームを10MeVで、 $10\mu\text{C}$ (3.3-粒子 μC , 5.5分)行った。 γ 線はNaIカウンター(3インチ直径 \times 3インチ長)で測定した(A)。
 同様の測定のGe-カウンターによるスペクトル例(B)

5. 細胞失活率の評価

細胞失活の原因は未だ明らかになったとは言い難いが、多くの報告は細胞の持つ修復能力が非常に高いことを示している。従って本節では、最も修復が困難と予想される対になっている双方の染色分体に跨がる損傷の局所的多重発生の頻度を推定する。そのような大きな損傷ができる可能性として、①1個の2次電子がたまたま作る、②2個の2次電子による損傷の重なり、③重粒子線で顕著である、飛跡に沿った連続的2次電子損傷の重なり、の3種類が考えられる。いわゆる細胞失活の α 、 β モデルで①および③は α 項に、②は β 項に相当する。Dをグレイ単位で、

$$S = e^{-\alpha D - \beta D^2} \dots\dots\dots (14)$$

(14)式の α 、 β をチャイニーズハムスターV79細胞について試算する。DNAの長さは全長で140cm、染色体の間隔を200Å¹⁷⁾と仮定する。これによりDNAの軸方向へも200Åづつのユニットを考える。つまり総計 1.75×10^7 のユニットを立方体として積み上げたものをターゲットとすることになる。

このユニットの中で240eV以上のエネルギーを失い、かつ2本の染色体を橋渡しする形で2次電子が発生する確率から、 $\alpha = 0.15$ となる。Goodheadら¹⁸⁾の炭素の特性X線(278eV)を用いた実験で、飛程を7nm以下としてこの染色体橋渡しがないと解釈したのは正しくない(図5参照)。

2次の項として、 dE/dx が最も大きくなる120eV位(90~150eV)の電子の発生確率を求める。このような電子が2度、同じユニットで生成されることにより失活が起るとすると $\beta = 2.1 \times 10^{-2}$ となる。

これらに加うるに荷電粒子線では飛跡に沿って2次電子の2回の損傷の集積が考えられる。LET=20KeV/ μ で、 $\alpha = 0.23$ 、200KeV/ μ で $\alpha = 0.77$ との試算結果となった。

上記の推定は失活率の次節の大原等のLET依存性を極めてよく説明するものである。LETが500KeV/ μ 以上の領域では断面積が逆に小さくなることがある。これは電離が非常に密に起ったため、電子と空孔の再結合確率¹⁹⁾が高くなったことによると解釈されている。この過程の影響は半導体検出器²⁰⁾において、パルス波高の欠損²¹⁾の割合から推定できる。

参考文献

- 1) Nakai, S. and Matsumoto, S. : Two type of radiation sensitive mutant in yeast. *Mut. Res.*, 4, 129-136, 1967.
- 2) Cornforth, M. N. and Bedford, J. S. : A quantitative comparison of potentially lethal damage repair and the rejoining of interphase chromosome breaks in low passage normal human fibroblasts. *Radiat. Res.*, 111, 385-405, 1987.
- 3) Ward, J. F. : Radiation chemical mechanisms of cell death. In "Proc. 8th Int. Cong. Rad. Res.",

- Taylor & Francis, London, pp.162-168, 1987.
- 4) Radford, I. R., Hodgson, G. S. and Matthews, J. P. : Critical DNA target size model of ionizing radiation-induced mammalian cell death. *Int. J. Radiat. Biol.*, **54**, 63-79, 1988.
 - 5) 松本 信二 : 光子吸収の基礎データと関連事項。フォトバイオロジー, 学会出版センター, 東京, pp.217-226, 1989.
 - 6) 石割 隆太郎 : 陽子および α 粒子に対する物質の阻止能。応用物理, **51**, 286-292, 1982.
 - 7) Isaacson, M. : Interaction of 25 keV electrons with the nucleic acid bases, adenine, thymine, and uracil. I. Outer shell excitation. *J. Chem. Phys.*, 1803-1812, 1972.
 - 8) Isaacson, M. : Interaction of 25 keV electrons with the nucleic acid bases, adenine, thymine, and uracil. II. Inner shell excitation and inelastic scattering cross sections. *J. Chem. Phys.*, 1813-1818, 1972.
 - 9) Chatterjee, A. and Schaefer, H. J. : Microdosimetric structure of heavy ion tracks in tissue. *Rad. and Environ. Biophys.*, **13**, 215-227, 1976.
 - 10) Mozumder. A. and LaVerne, J. A. : Theoretical aspects of heavy-ion tracks in radiation chemistry. In "Proc. 8th Int. Cong. Rad. Res.", Taylor & Francis, London, pp.11-16, 1987.
 - 11) ICRU Report 37 : Stopping powers for electrons and positrons. International Commission on Radiation Units and Measurements, Bethesda, 1984.
 - 12) ICRU Report 16 : Linear Energy Transfer. International Commission on Radiation Units and Measurements, Bethesda, 1970.
 - 13) Raju, M. R. : Heavy ions. In "Heavy Particle Radiotherapy", Acad. Press, New York, pp.285-355, 1980.
 - 14) Tobias, C. A. Chatterjee, A. and Smith, A. R. : Radioactive fragmentation of N^{7+} ion beam observed in a beryllium target. *Phys. Lett.*, **37A**, 119-120, 1971.
 - 15) Matsumoto, S., Hashimoto, Y., Yamashita, H. and Yamane, I. : Analysis for ^{15}N by proton scattering. *Nature*, **279**, 310-311. 1979.
 - 16) Matsumoto, S., Yamane, I., Yamashita, H. and Hashimoto, Y. : A new method of of quantitative analysis for deuterium tracer. *Naturwissen.*, **70**, 198-199, 1983.
 - 17) Dewey, W. C., Noel, J. S. and Dettor, C. M. : Changes in radiosensitivity and dispersion of chromatin during the cell cycle of synchronous chinese hamster cells. *Radiat. Res.* **52**, 373-394, 1972.
 - 18) Goodhead, D. T., Thaker, J. and Cox, R. : Effectiveness of 0.3 keV carbon ultrasoft X-rays for the inactivation and mutation of cultured mammalian cells. *Int. J. Radiat. Biol.*, **36**, 101-114, 1979.
 - 19) Kraft, G. and Kraft-Weyrather, W. : Biophysical aspects of track structure. In "Proc. 8th Int. Cong. Rad. Res.", Taylor & Francis, London, pp.29-34, 1987.

- 20) 松本 信二, 山下 博, 釜江 常好: 半導体検出器の放射線損傷。原子核研究, **8**, 794-800, 1963.
- 21) Matsumoto, S. : Effects of proton irradiation damage in Si semiconductor detector. In " Ion Beam Interactions with Solids", Ministry of Education, Science and Culture of Japan, pp.351-353, 1988.

3 重粒子線の生物効果

大 原 弘*

Biological Effects of Heavy Particles : Cell Inactivation and LET as a Basis of Therapy

Hiroshi Ohara*, Tatsuaki Kanai**, Hiromi Itsukaichi*, and Kumiko Fukutsu*

*Division of Radiation Hazard, and **Division of Accelerator Research, National Institute of
Radiological Sciences
9-1, Anagawa 4-chome, Chiba-shi 260, Japan

Abstract

A 18.5 MeV/amu helium-4 and 12 MeV/amu carbon and helium-3 ion beams produced by NIRS cyclotron were degraded by using a various thickness of alminum absorbers to obtain different quantities with LET (Linear Energy Transfer). The dose average LET was varied from 14.5 to 75 keV/ μ m with helium-4 and helium-3 beams and from 220 to 430 keV/ μ m with carbon beams. Then, Chinese hamster V79 cells attached to dishes were exposed without overlaying medium to single and mixed irradiations of these monoenergetic beams for a comparison with dose response survivals of cells for a given value of LET. Investigation was aimed to study a correlation between cell killing effect and dose average LET as well as a difference between single and mixed irradiations. These results might be useful for designing ridge filters and degraders to be used for heavy ion therapy.

1 序

放射線の線質による生物効果の違いについて最も関係が深いと思われる物理量は放射線の

* 放射線医学総合研究所

LETであろう。従来、 α 線あるいは現在軽イオンと呼ばれているHe, C, O, Nなどを利用して得られた研究からは、LETがある範囲の領域で、放射線の細胞致死効果を始めとして生物効果が高まることが知られており¹⁻²⁾、この領域(100-200keV/ μ m)では細胞は障害回復能力を失うため、与えられる線量に対して指数関数的に失活する。従ってそれに伴って起こる組織や生体の障害は線量当りにみても増大する。しかし、この生物効果はこのLET領域で極大値を示すだけで以後のLETの増加に対しては逆に生物効果の減少を示す^{2,3)}。このLETの増加と生物効果の減少については、古典的な説明としてオーバーキル(overkill)という概念が持たれてきた。最近、LETが102-104keV/ μ mの領域に達する重粒子線(例、U線)の物理及び生物学研究が可能になった現在⁴⁾では、生物効果-LETの関係に対する考え方を新たにする必要がある。重粒子線はその物理的特性として、単一エネルギー性、安定したビームのトラック構造、飛程末端でのエネルギー放出、高LET性などを有しているが、この他にビームサイズの変異性、ビーム飛程の調節など工学的な技術の応用性も高いなどの特性もあるため、照射標的の容積に応じて集中的な線量配分を可能にする有用な放射線となる⁵⁾。しかも、これらのビーム特性はイオンにより特異的であるから特性の異なるイオンビームの併用も可能であろう。このように重粒子線はがん治療に有利な特性を持っているが、一方で重粒子線のトラック構造、飛程差およびブラッグピークの重ね合わせに関する線質の不均一性は明らかに標的組織内で不均一な効果を生む可能性を有し、少なくともその不均一性は重粒子線が与えるLET分布の標的内外および飛程に沿って生じる不均一性に関連すると考えることができる。最近、Kraft⁴⁾は、高LET領域で生じる生物学的効果の減少は、細胞に生じる障害が少ないためであると解釈しているが、この解釈も重粒子線の標的内での障害分布の不均一性に起因すると考えられる。

これらの知見を基にして、重粒子線の治療応用のための基礎的生物研究の目標を考えると、それはやはり重粒子線の物理学特性が生物に与える特徴的な効果であるが、更には重粒子線のトラック構造によって細胞組織に与えられる障害の予測を可能にすることも重要な仕事になる。ここではその第一歩として線量平均LET (Dose Average LET)と細胞致死効果の関係を取り上げることとしたが、基準化された両者の関係の有用性をテストする意味でLETに関する混合放射線の効果も併せて考慮することにした。ただしここで報告できる内容は現在までに放医研サイクロトロンを用いて得られた実験を基に議論を進めたものである。将来は更に広範囲のLET領域に実験を進め、重粒子線治療用ビームの設計に資するものとしてほしい。

2 材料及び方法

2.1 細胞及び培養

実験にはチャイニーズハムスター培養細胞V-79株を用いた。この細胞はMGH病院(ボストン、ハーヴァード大学放射線医学研究部)より分与された株で、当研究でF-10培地に15%牛胎児血清を添加した培地で維持している。世代時間は約12時間であった。照射実験には35mm内径のプラスチック皿(ファルコン3001)の中心、ほぼ1 cm径の円内領域に 10^6 細胞/mlの濃度の細胞を

約0.5~1.0ml移植し、一晚37°Cにて炭酸ガス培養を行い細胞を充分付着させる。これらの培養細胞は、照射約5分前に培養液を取り除いて、水平方向のビームに対して直角に位置するよう培養皿を設置、細胞付着面をビームに向けて照射する。照射時間は通常、5枚組の変動線量(0.5~10Gy)を与える実験で20分以内であり、この時間内で細胞は表面の乾燥により失活を起こさないことは確かめられている。照射後の処理として、細胞付着面を培養液で2度洗浄することが大切である。これは、照射皿を直立位置に保つため下部に残存する液に混入する分裂期細胞が非照射細胞(生残細胞)として照射終了後、皿に戻る危険があるためにそれを避けるため行う操作である。

2.2 照射ビーム

生物用実験に用いられた粒子線ビームは、15~65MeV/nの ^4He による α 線および12MeV/nの ^3He の α 線と ^{12}C イオン線で、いずれも放医研サイクロトロン¹⁾の運転により得られたビームである。照射は照射用装置とビーム制御装置により行われ、ブラッグピークの形成と線量及びLET測定は実験毎に行い、混合照射は同じエネルギーレベル(12MeV)で行った(詳細はIV-1(金井)を参照)。図1は、 ^4He ビーム(α 線)の経路にアルミニウム箔の吸収体を置き、通過する

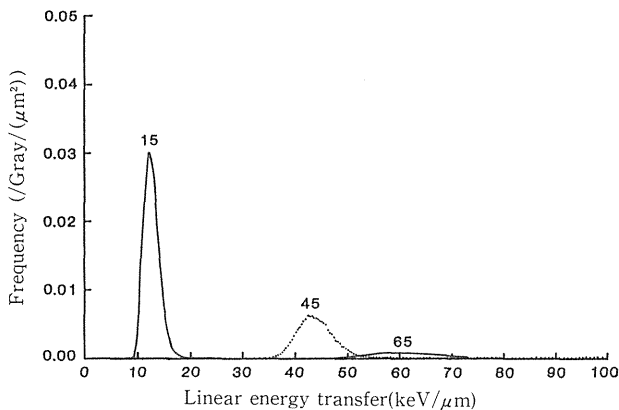


図1 ^4He による α 線のエネルギースペクトル
Energy Spectrum of ^4He Beams

α 線のLET値を変化させた結果を示すものであり、15keV/ μm をピークとするビームと65keV/ μm をピークとする二つのビームのLET分布を示す。今この二つのビームをKellerer & Rossi⁶⁾の仮説に従って図のような頻度(Frequency)で混合照射すると、45keV/ μm をピークとするLET分布をもつ放射線と同じLETを与えたことになる。単一LETビームと混合LETビームの照射はいずれも各組5点の照射実験とし、通常20分以内で終了する。異なるLETはいずれもアルミニウム箔の厚さを変動させて得られるもので、実験毎に測定を行うものとした。

3 実験結果及び討議

図2は ^4He 線を異なる厚さのアルミ箔を通過して得られた線量平均LETと細胞致死効果曲線(生残率曲線)を示す。この範囲のLETでは、細胞致死効果はLETの増加とともに高まり、その

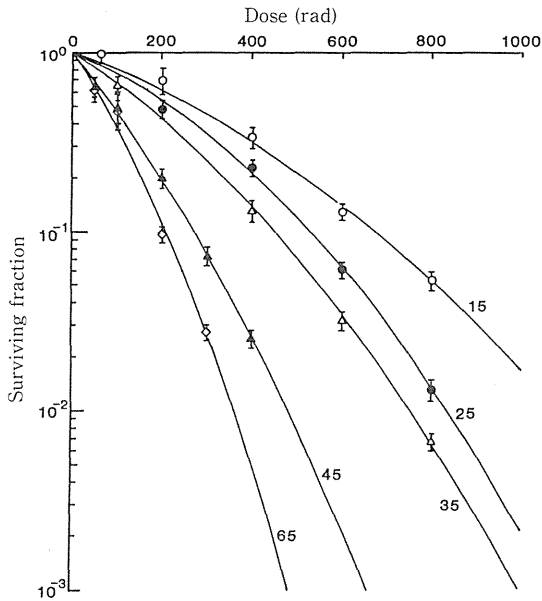


図2 生残曲線の α 線(^4He)によるLET依存性
Survival Dependence with α Beams
in LET

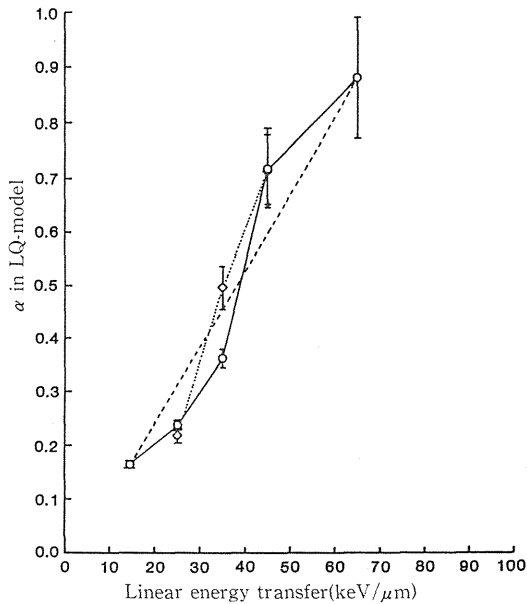


図3 生残曲線の初期勾配(LQ-モデルの α 値)のLETに対する変化
Change in Survival Parameter (α in
LQ Model) as a Function of LET

曲線は緩やかな初期勾配と広い肩幅をもつ低LET域の反応から、急峻な勾配と狭い肩幅をもつ指数関数的直線に近づいてくる。この変化は一般に低LET放射線に対する細胞の失活曲線がLETの増加に従って変化する様式と何等変化はなく、同種のイオンビームでも異なる種のイオンビームでも共通な変化として認められている^{3,4)}。図3はこれらの単一ビームが示すLETと生残曲線のパラメータ [Kellerer & Rossi⁹⁾の式における一次項(初期勾配) α] との相関性を示す。また、同理論に基づいた混合放射線照射による生残率曲線の初期勾配(α)との相関(\diamond)も示

す。この結果は、実験したLET領域ではLETの増加に対する生物効果の変化は今までの知見^{2,4)}と同質の結果を示す。すなわち、15~80keV/ μ mの範囲では一般に生物効果の増加はLETの増加と比例関係にあるが^{2,3)}、線量平均LETの増加に対して単独照射の場合でも混合照射の場合でもこの実験では生物効果は直線的比例関係にあるといえる。

図4は⁴Heによる α 線の単一エネルギービーム照射と2種のエネルギービームを用いた照射、すなわち1種のアルミ箔吸収体を通したビームの照射効果と2種のアルミ箔ビームを通したビームの混合照射の結果を比較したものである。この場合、細胞が受ける線量平均LETは計算によって等しくなるように線量配分を行っているが³⁾、実験結果の比較は両者の効果が³⁾ほぼ等しいことを示している。この結果は混合照射の場合、生物効果の予測が2種の放射線が与える線量平均LETの単純な比例関係によって可能となることを意味している。

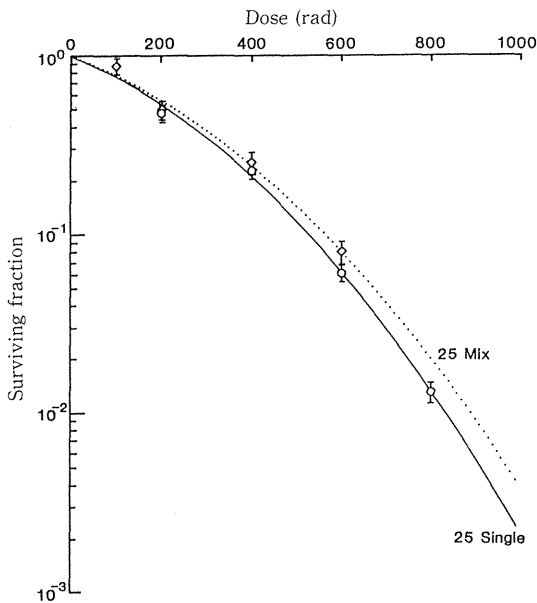


図4 ⁴Heによる α 線の同一LET値に対する単一エネルギー照射および混合エネルギー照射の効果比較
A Comparison of Biological Effects between Single and Mix Irradiation for the Same LET

次に、12MeV/nに加速された¹²C線と同じ加速エネルギーで得られる³He線の単一及び混合放射線の効果に関する実験を行った。¹²C線は、⁴He線の場合と同様、アルミ箔の吸収体の厚さを変えて2種のLET (225keV/ μ mと375keV/ μ m)を与えるビームを作り、その細胞に対する線量致死効果を調べた。⁴He線に比べてその最高値(65keV/ μ m)の4~6倍の線量平均LETを与える結果となった。図5の結果に示す通り、まず¹²C線の細胞致死効果は典型的な高LET放射線反応型であった。すなわち、曲線は指数関数型の直線に近いものとなり、低線量域における細胞の抵抗性つまり細胞の放射線障害修復能を示す緩い初期勾配部は失われてしまう。しかし、³He線に対する細胞の失活曲線(³He, 19MeV単一ビーム照射)と最終勾配は同じくらいであり、しかも、2種のLETが与える効果は、⁴Heの場合と異なりほとんど差がないように思われる。ここで低LET放射線の代表として³He線の効果を示してあるが、この α 線の利用は2つの意味があ

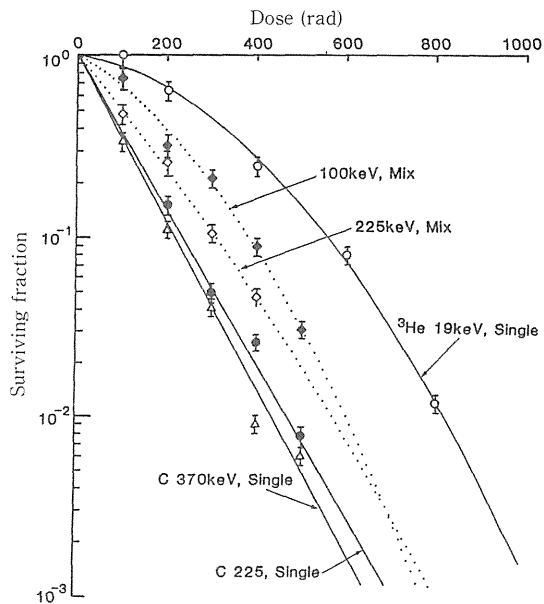


図5 ^3He による α 線および ^{12}C 線の単一エネルギー照射効果と混合エネルギー照射効果
Survival Curves Obtained by Single and Mix Irradiations with α (^3He) and ^{12}C Particle Beams

る。その第1は低LET線として高LET効果の対照として利用が可能であること、また第2は混合放射線の構成要素として実験上の利点を提供することである。この実験の場合のように2種の異なるイオンを加速することによって異なるLETと異なるイオン照射の複合効果を調べる場合、加速エネルギーをほぼ同じ状態にしておいてビームの切り替えを行う方が実験上操作が楽な上に切り替え時間の最短期間を求めることができる。この実験では細胞が実際に培養液に浸されていないためこの切り替え操作に必要な時間は実験過程の中で重要でもあり、放射線細胞生物学上では照射間隔に誘導される可能性のある回復現象を最小にするという利点もある。図5では混合照射の実験に、225keV/ μm と100keV/ μm のLETを与える2種の組合せを用いた。その結果はそれぞれMixと表示されている。この実験においても、線量平均LETは ^4He 線の場合と同じように、Kellerer & Rossi⁶⁾の理論(LQモデル)に従って計算を行い、生物効果も同理論に従い曲線の適用化をはかった。しかし、線量平均LETが225keV/ μm の実験結果では明らかに単一ビーム照射と混合照射の間に大きな差を生じている。図6は図5に示した実験で得られた生物効果、すなわち生残曲線のLQモデル適用における初期勾配の変化を線量平均LETの変化に対応させた結果である。混合放射線の実験点は19keV/ μm の始点から375keV/ μm の終点を結ぶ直線上にあるが、単一照射における実験点(225keV/ μm)は混合照射の場合とは明らかに離れている。

従来、LETと生物効果(RBE)の関係は混合照射という実験では示されていない。多くの場合、LETの変化は単一種の放射線で与えられており、異なる線質の放射線による混合照射の効果を同じLETのスケールで考えたものはない。その意味でHeの α 線と炭素線の混合照射の効果は新しい知見となる。また、この混合照射の効果が線量平均LETの概念で規定できないとすれば、

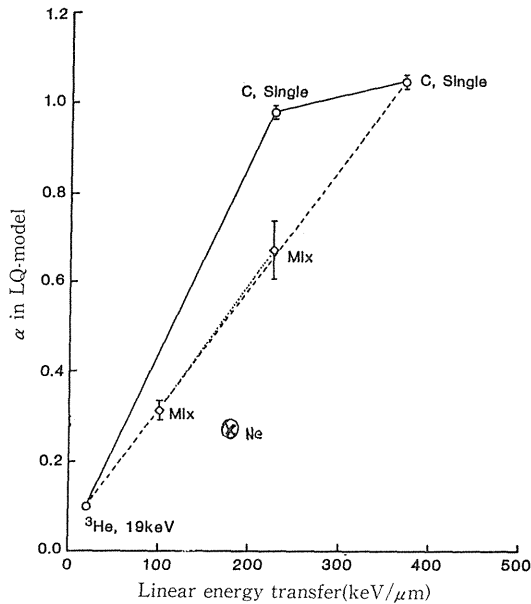


図6 生残曲線のパラメータ(α)のLET変化に対する変動
LET Dependence of Parameter (α) in LQ Model

LET以外の要素がこの照射効果に介在することを示唆する。低LETの γ 線と中性子線の混合照射実験の例⁷⁾ではこのような問題はないと思われる。したがって、この混合照射の結果は重粒子線の特徴が関連していると考えられる。

4 結 論

Heの α 線(15-65keV/n)およびCイオン線(12keV/n)を用いて、各粒子線単独照射の効果と2種の混合照射による細胞致死-線量効果関係を培養細胞でもとめた。ついで、Kellerer & Rossi⁶⁾の式を利用して生残曲線のパラメータ(α)の変化を線量LETの概念で規定することを試みた。線量平均LETと α は75keV/ μ m以下の範囲では直線的な相関が得られるが、LETが200-300 keV/ μ mの範囲では単独イオン照射には直接関係は認められない。また、2種の粒子線の混合照射は同じ線量平均LETを与える単一イオン照射と生物効果を異にする。この結果は、2種のイオン線が独立して作用している可能性を示唆していると同時に、LET以外の要素が照射効果に関与している可能性がある。

参考文献

- 1) Blakely, E.A., Tobias, C.A., Yang, T.C.H., Smith, K.C., and Lyman, J.T. : Inactivation of human kidney cells by high energy monoenergetic heavy-ion beams. *Radiat. Res.* **80**, 122-160, 1970.
- 2) Barendsen, G.W., Walter, H.M.D., Fowler, J.P., and Bewley, D.D. : Effects of different ionizing radiations on human cells in tissue culture. III. Experiments with cyclotron accelerated alpha particles and deuterons. *Radiat. Res.* **18**, 106-199, 1963.

- 3) Blakely, E.A., Ngo, F.Q.H., Curtis, S.B. and Tobias, C.A. : Heavy-ion radiobiology : Cellular studies. *In Adv. in Radiat. Biol.*, New York, vol. 11, 295-389, 1983.
- 4) Kraft, G.: Radiobiological effects of very heavy ions : Inactivation, induction of chromosome aberrations and strand breaks. *Nuclear Sci. Appl.* 3, 1-28, 1987.
- 5) Lyman, J.T., Howard, J., Kansten, L., and Alonso, J.R.: Radiological physics of heavy charged-particle beams used for therapy. Biological and Medical Research with Accelerated Heavy Ion at the Bevalac, 1979-1980, LBL-11220, 319-324, 1980.
- 6) Kellerer, A.M. and Rossi, H.H.: The theory of radiation action. *Curr. Top. Radiat. Res. Q.*, 8, 85-98, 1972.
- 7) Bird, R.P., Zaider, M.,and Rossi, H.H.: The sequential irradiation of mammalian cells with X-rays and charged particles of high LET. *Radiat. Res.* 93, 444-452, 1983.

V 治療効果早期判定への試み

1 治療効果の早期判定法 ポジトロンCTによる治療効果の 判定

福田寛/松澤大樹

2 Micronucleus Testによる腫瘍の放 射線感受性の推定

小野 公二

1 治療効果の早期判定法—ポジトロン CTによる治療効果の判定

福田 寛* / 松澤大樹**

Evaluation of Therapeutic Effectiveness using PET

Hiroshi Fukuda* / Daiju Matsuzawa**

*National Institute of Radiological Sciences
9-1, Anagawa 4-chome, Chiba-shi, 260 Japan

**Tohoku University
4-1, Seiryō-Cho Aoba-Ku, Sendai-shi, 980 Japan

Abstract

Positron emission tomography (PET) is a very useful technique for not only brain research but cancer diagnosis because it provides us quantitative image of cancer metabolism in living humans. The potentials of PET in cancer diagnosis are (1) detection of tumor, (2) grading of malignancy, (3) biological characterization of tumors and (4) evaluation of therapeutic effectiveness. From these view points, previous PET studies have been introduced. Concerning the first three points, visualization of intrahepatic tumors with ^{18}F -fluorodeoxyglucose (^{18}F FDG), grading of glioma with ^{18}F FDG and characterization of hepatoma using ^{18}F -fluorodeoxygalactose as an indicator of galactose metabolism in the liver were introduced.

Then, a potential of PET for the evaluation of therapeutic effectiveness, which is a main subject of this symposium, was focused on. Mouse tumor were irradiated a few days after transplantation. Tumor size increased until one day after irradiation and then started to decrease. Whereas ^{18}F FDG uptake in the tumor per gram

* 放射線医学総合研究所

** 東北大学抗酸菌病研究所

of tissue decreased just after irradiation and the decrease of ^{18}F FDG uptake 5 days after irradiation was much greater than that of tumor size. Another experiments (Kubota et al.) showed that ^{11}C -L-methionine uptake after irradiation responded earlier than that of ^{18}F FDG. These data indicated that PET method could detect the tumor response earlier than volume-metry and was more sensitive than morphological method. PET method is most promising for the evaluation of therapeutic effectiveness, because it reflects the tumor metabolism and therefore correspond the behavior of only viable cells. However, further experimental and clinical studies combined with radiobiology should be necessary. Furthermore the limitations of PET method, such as low spatial resolution and hard availability, should be also considered for the establishment of this diagnostic method.

1. はじめに

癌は一般に正常組織に比べて代謝が亢進していることが知られている。癌の糖代謝については、Warburg¹⁾以来、半世紀以上に及ぶ研究の歴史がある。そのなかで明らかにされたことは、癌に特異的な代謝は存在しないが正常組織にくらべて代謝が亢進しているということであった。しかも代謝の亢進の程度は、癌の悪性度(増殖速度)と比例することがラットの移植肝癌で明ら

表1 癌診断用ポジトロン標識化合物
Positron-labeled Radiopharmaceuticals for
Cancer Study

[1]	糖代謝
	^{18}F -フルオロデオキシグルコース (^{18}F FDG)
	^{18}F -フルオロデオキシガラクトース (^{18}F FDGal)
	^{11}C -グルコース
	^{11}C -ピルビン酸
[2]	アミノ酸代謝
	^{11}C -メチオニン
	^{11}C -トリプトファン
	^{11}C -ACPC
	^{13}N -グルタミン酸
[3]	核酸代謝(ピリミジン)
	^{18}F -フルオロデオキシウリジン (^{18}F dUtr)
	^{11}C -チミジン
[4]	血流
	H_2^{15}O , C^{15}O_2
	$^{13}\text{NH}_3$
	^{11}C -ブタノール
[5]	ポリアミン
	^{11}C -メチルプロレッシン
	^{11}C -メチルスベルミン
	^{11}C -メチルスベルミジン

かにされた^{2,3)}。したがって、糖やアミノ酸などの代謝基質をポジトロン核種で標識すれば癌の検出のみならず癌の代謝量(悪性度)を指標とする質的な診断が可能である。

表1は癌診断に用いられるポジトロン標識化合物を示したものである。糖代謝のトレーサとしては¹⁸F-デオキシフルオログルコース(¹⁸FDG)が汎用される。アミノ酸では¹¹C-L-メチオニンをはじめ各種の標識アミノ酸が用いられている。また核酸代謝の指標としては¹¹C-チミジン、¹⁸F-デオキシフルオロウリジンが用いられる。さらに表1に示すように血流⁹⁾やポリアミン代謝¹⁰⁾を指標とする癌診断も行われた。

本シンポジウムにおいては、まずこれらのトレーサを用いたPETによる癌診断法のポテンシャルについて述べる。次いで本シンポジウムの主題である「癌の治療効果の早期判定」におけるPETの有用性について述べることにする。

2. PETによる癌診断のポテンシャル

表2はPETによる癌診断のポテンシャルを示したものである。第1は癌の検出である。癌の代謝は周囲正常臓器に比べて増加しているため、腫瘍部位はいわゆるRIの陽性集積画像となる。しかしPETの空間分解能の限界は3-5mmであり、X線CT・MRIと比べると約一桁悪い値である。したがって癌の存在診断の点ではこれらの手段よりも劣っているといわざるを得ない。

表2 PETによる癌診断のポテンシャル
Potentials of Cancer Diagnosis using PET

- | |
|---|
| (1) 腫瘍の検出(Detection of tumors) |
| (2) 悪性度の判定(Grading of malignancy) |
| (3) 生物学的性格付け(Characterization of biological activity) |
| (4) 治療効果の判定(Evaluation of therapeutic effectiveness) |

第2は癌の悪性度の判定である。一般に癌の悪性度(増殖速度)と代謝の程度は比例すると考えられるので、ポジトロン標識化合物のとりこみの程度により癌の悪性度を判定できる。

第3は癌の特異的形質の判定(characterization)である。第2にあげた悪性度の判定は、糖代謝を中心とした非特異的な代謝を指標としたが³⁾、この場合は癌の種類に応じた特異的な代謝を指標とする。したがって癌の種類に応じた適当な標識化合物を選択する必要がある。具体的には¹⁸F-フルオロデオキシガラクトース(¹⁸FDGal)による肝細胞癌の診断について後述する。

第4は癌の治療効果の判定である。従来、癌の治療効果は腫瘍容積などの形態学的指標に基づくのが一般的であった。しかし、この方法では残存した腫瘍と治癒による瘢痕・線維化の区別はしばしば困難である。また患者の自覚症状、他覚症状などの臨床的所見を指標とする場合は、重要ではあるが判定が主観的になるおそれがある。一方、PET法では生きている癌細胞だけに化合物が集積するので容積測定法に比べて感度が高いと考えられる。また数量的な扱いが

できるのでより客観的である。

以上のうちいくつかについて具体的なデータを示しながら解説することにする。

3. 癌の検出

^{18}F -標識糖による肝癌の診断

^{18}F FDGはグルコースの炭素2のOHが ^{18}F で置換された類似化合物である。 ^{18}F FDGはグルコースと同様に膜の輸送および解糖系の最初のステップであるヘキソキナーゼによるリン酸化を受けるが、それ以上の代謝は進行せずに組織に蓄積される。

^{18}F FDGが優れた癌診断薬であることを示したのは、Somら⁴⁾である。彼らは腫瘍への ^{18}F FDG集積が極めて高く、しかも高い腫瘍-正常臓器比が短時間で得られることを示した。一方、筆者ら⁵⁾は、 ^{18}F FDGの正常肝臓へのとりこみが極めて少ないために、肝内の癌を陽性像として描出できることを示した。このことをオートラジオグラムで証明したのが図1である。肝内に直接移植したAH109A肝癌への集積が高く、周囲の正常肝から明瞭に区別されていることがわかる。



図1 担癌ラットの ^{18}F FDGによるオートラジオグラム
An autoradiogram with ^{18}F FDG of a tumor bearing rat.
肝内に移植した癌(AH109A)に ^{18}F FDGの高い集積があり(矢印)、正常肝から明瞭に区別される。

^{18}F FDGによる肝癌の陽性描出を臨床的に初めて示したのは、米倉ら⁶⁾である。また筆者ら⁷⁾も転移性肝癌および原発性肝癌で肝内腫瘍の陽性描出ができることを示した。図2は原発性肝癌の症例を示したものである。5 mCiの ^{18}F FDGを静注後、PETによる5分毎の連続スキャンを行った。静注直後から時間とともに右葉前部の腫瘍に ^{18}F FDGの集積が増加していることがわかる。X線CT(b)でX線低吸収域が見られるにもかかわらず、右葉前部だけ集積が高いのは、腫瘍内のviability(生きの良さ)の分布を示していると考えられる。このようにPETを用いれば、腫瘍の拡がりのみならず腫瘍内部のviabilityの不均一性に関する情報を得ることができる。これらはX線CTや生検による組織検査でも得られない大きな特徴である。

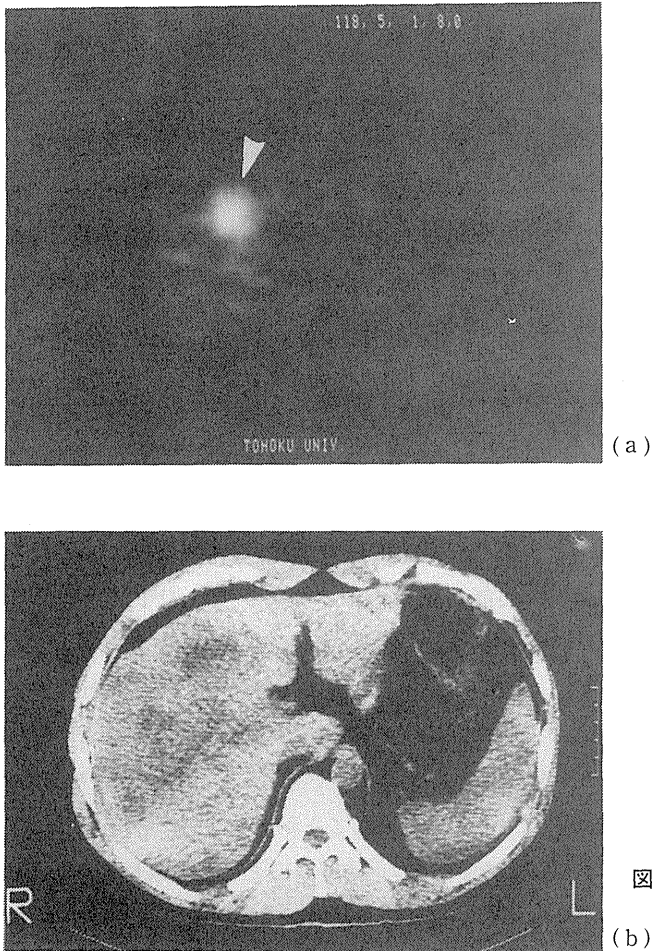


図2 ^{18}F FDGによる原発性肝癌のPET像
 (a) ^{18}F FDG静注50分後のPET像。
 (b) 同部のX線CT像

4. 腫瘍の悪性度の判定および予後との相関

1) 悪性度の判定

脳腫瘍のグルコース消費量と悪性度の相関については、Di Chiroら^{8,9)}が多数の症例のPET検査の結果を報告している。 ^{18}F FDGで測定したグルコース消費量は、グリオーマの悪性度と比例しており、悪性度の低いgrade I, IIでは $3.5 \pm 0.5\text{mg}/100\text{g}$ 脳/分、grade IIIでは 4.5 ± 1.0 、最も悪性のgrade IVでは 6.5 ± 1.2 であった。また、しばしば、組織像による判定よりもPETによる判定のほうが臨床経過から判定した悪性度と一致したと報告している。しかし、それぞれの群の値は互いにオーバーラップしており、PET診断だけで最終診断を下すのは困難である。

また藤原ら¹⁰⁾は肺癌の組織型と ^{11}C -L-メチオニンの取り込みとの間に相関があることを見いだした。大細胞癌が最も取り込みが高く、扁平上皮癌、小細胞癌がこれにつき、腺癌は最も低い値を示した。この場合、組織型の違いは必ずしも臨床的な悪性度の違いを表わすわけではないが、腫瘍の増殖速度の順とほぼ一致しており興味深い結果である。

2) 予後の予測

前項で述べたPETによる悪性度の判定は、最終的に患者の予後と良く相関しなければ優れたものとは言えない。Pantronasら¹¹⁾は¹⁸F-FDG-PET検査で測定したグリオーマのグルコース消費量と患者の予後がきわめてよく相関すること、しかも、組織学的悪性度よりもPETで測定したグルコース消費量の多少のほうが、生存率とよく相関することを示した。またDi Chiro, 畑沢ら¹²⁾は治療前にグルコース消費量の値が高い髄膜腫は外科手術などの治療後に再発するものが多く、低いものは再発しないことを示した。この結果もPET検査の方が予後とよく相関することを支持するデータである。

5. 癌の特異的代謝形質を利用する癌診断

1) ¹⁸F-フルオロデオキシガラクトースによる肝癌の診断

ある種の癌はその発生源に由来する特異的分化形質を持つことが知られている。悪性黒色腫のメラニン蛋白合成能、甲状腺癌のヨード摂取能などが代表的な例である。これらの形質を利用すれば、癌の種類に応じた特異的な診断が可能である。2-デオキシ-2- [¹⁸F] フルオロ-D-ガラクトース (¹⁸FDGal)は、筆者ら¹³⁻¹⁵⁾によって開発されたポジトロン標識化合物である。¹⁸FDGalはガラクトースと競合して肝にとりこまれ、ガラクトース代謝酵素で代謝されるが、UDP-¹⁸FDGalの段階で代謝が停止することが明らかとなった¹⁶⁾。ガラクトース代謝酵素は肝に特異的に多量に存在するので、肝のマーカー酵素と考えることができる。したがって、¹⁸FDGalは肝局所のガラクトース代謝能の特異的マーカーとして用いることができる。

表3は¹⁸FDGalの各種腫瘍への集積を示したものである。正常肝へのとりこみは最も高く、C3Hマウス、ドンリュウラットでそれぞれ8.0および11.0である。腫瘍のなかで最もとりこみの多いのは、C3Hに自然発生した肝癌であった。その値は、正常肝の約80%に達している。一方、未分化型の肝癌である、AH109A, AH272(ドンリュウラット)及び、肝癌以外のFM3A乳ガ

表3 2-デオキシ-2- [¹⁸F] フルオロ-D-ガラクトースの各種腫瘍へのとりこみ

Tumor accumulation of 2-deoxy-2- [¹⁸F] fluoro-D-galactose.

Tumor		Uptake at 60min (DAR) ^a
AH109A	(hepatoma)	1.75±0.12
AH272	(hepatoma)	1.86±0.21
FM3A	(mammary ca)	1.40±0.09
B-16	(melanoma)	1.20±0.15
HCC	(hepatoma)	6.86±1.18
Liver	(Donryu)	11.4 ±2.0
Liver	(C3H)	7.79±1.47

a: $DAR = \frac{\text{Tissue activity } (\mu\text{Ci/g tissue})}{\text{Injected dose } (\mu\text{Ci}) / \text{Body weight (g)}}$

b: Spontaneous hepatoma of C3H mice

ン、B-16メラノーマのとりこみは低値を示した。C3Hの自然発生肝癌は、組織学的には、高分化型である。またHPLCによる代謝分析実験により、この肝癌の代謝パターンは極めて正常肝のそれに近いこと、一方、未分化肝癌のAH109Aの代謝パターンは、正常肝に比べて代謝の進行がはるかに遅いことが明らかとなった。以上より、 ^{18}F FDGalのとりこみは肝癌がどれだけ正常肝細胞の形質(=ガラクトース代謝能)を残しているか、すなわち分化度の指標となり得ると考えられる。また臨床的にも原発性肝癌(HCC)では、腫瘍に ^{18}F FDGalの著しい高集積が見られるが、転移性肝癌では集積が極めて少ないことがわかった¹⁶⁾。これらの結果は、肝細胞由来のHCCは高いガラクトース代謝能を保持していること、肝細胞以外の発生源地を持つ転移性肝癌ではガラクトース代謝能が低いことを示しており、先に示した作業仮説の妥当性を臨床的に示していると考えられる。しかし、このことを証明するためには、今後、PET検査とともに腫瘍の病理組織像及び酵素活性を測定する必要がある。

6. PETによる癌の治療効果判定

一般に癌の治療の判定は、体積測定法あるいは自覚症状、他覚症状に基づく臨床的判定法などで行われることが多い。しかし、前者の場合は、部位によっては必ずしも腫瘍体積が測定できないこと、生きている癌細胞と線維化した組織・壊死組織と区別が困難である。また後者は、判定が客観的でないという欠点がある。一方、PETでは標識化合物の集積は、癌の代謝、すなわち癌の生きの良さ(viability)を反映するので、生きている癌細胞だけにとりこまれ、線維化および壊死部分にはとりこまれないと考えられる。したがって、腫瘍体積法などの形態学方法に比べて感度が高いはずである。また定量的な測定法であることから、臨床的な判定法に比べて客観的であると考えられる。PETによる腫瘍の放射線治療効果の判定に関する基礎的研究は、阿部¹⁸⁾らが行っている。図3は、皮下に移植したAH109A肝癌に放射線を照射したときの腫瘍体積と ^{18}F FDGとりこみの経時的变化を示したものである。10, 20, 40Gyの1回照射後、腫瘍体積はいずれの群においても1日後までは増加しているが、その後減少している。一方、腫瘍の単位体積当りの ^{18}F FDGのとりこみは照射1日後すでに減少を示しており、時間的に早く検出できることを示している。また照射5日後で比較すると腫瘍体積はコントロールの約50%であるが、単位体積当りのとりこみは、約30%なので、腫瘍全体としては、コントロールの15%に減少していることになる。すなわち腫瘍体積測定法よりも感度が高いことになる。

また窪田¹⁹⁾らは ^{11}C -L-メチオニン(アミノ酸)を指標として、放射線の治療効果判定に関する同様の基礎実験を行った。この場合も、 ^{11}C -L-メチオニンの取り込みは放射後6-12時間で明らかな低下が見られることがわかった。しかしこのことがアミノ酸代謝が糖代謝に先行して低下することを意味しているかどうかはデータが不足しており不明である。

阿部²⁰⁾らのオートラジオグラムによる検討では血管が豊富で増殖能の高い腫瘍辺縁部も壊死部に近い増殖能の低い部分でも ^{18}F FDGのとりこみは比較的一定であった。すなわち糖代謝の程度はDNA合成をしているかどうか(=増殖能)よりも「生きているかどうか=viability」を反映し

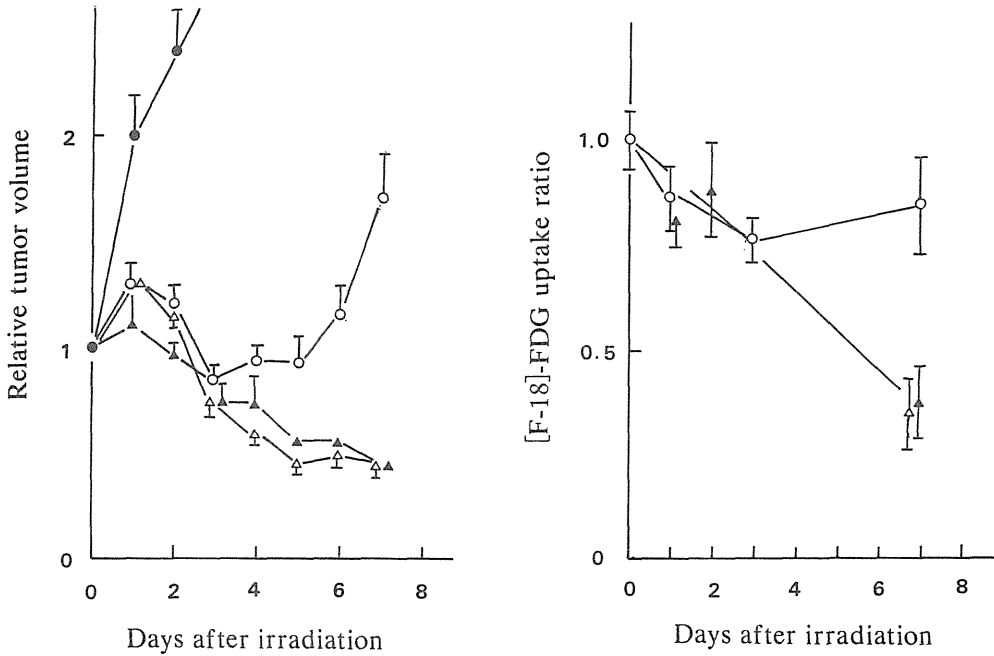


図3 X線照射後の腫瘍の ^{18}F FDGとりこみの変化
 Changes of ^{18}F FDG uptake in the tumor after X-irradiation
 (a) 腫瘍体積の変化
 (b) ^{18}F FDGのとりこみの変化, コントロール(●—●), 10Gy(○—○), 20Gy(△—△), 40Gy(▲—▲) (阿部ら¹⁸⁾による)

ている。このことは治療効果判定の上では有利であるが、再増殖能(clonogenicity)を持つかどうかは判定できないことになる。 ^{11}C -チミジンによるDNA合成の挙動についても同時にチェックする必要がある。一方、腫瘍のオートラジオグラム上 ^{14}C -L-メチオニンのとりこみは腫瘍周辺部で高く、中心壊死部に向かって減少しており、その分布はほぼ血流分布と等しかった。

図4は、放射線感受性の異なる二つの腫瘍の放射線照射後の ^{18}F FDGのとりこみを示したものである。C3Hマウス由来のFM3A乳癌はMM48乳癌に比べて放射線抵抗性で、20Gyの照射後も体積の増加がみられ、 ^{18}F FDGのとりこみもほとんど低下していない。一方、MM48では、照射後に ^{18}F FDGとりこみが、急速に減少しており、1日後で明らかな差がみられる。すなわち、放射線感受性の差を少なくとも照射1日後で判定できたことになる。一方、腫瘍体積を指標とした場合には、両者の差が明らかになるのは、照射2日後である。

臨床的研究は現状では数少ない。高橋ら²¹⁾は肝癌、胃癌などの消化器癌の化学療法の前後における ^{18}F FDGのとりこみの変化を測定することにより治療効果の判定を行った。その結果、臨床的效果判定基準を用いた判定とPETによる判定は極めてよく一致していた。 ^{18}F FDGは肝癌をはじめとする腹部領域の癌の陽性描画に優れており、治療効果判定の有力な手段になり得ると考えられる。またOgawaら²²⁾はグリオーマの放射線・化学療法後の血流動態および糖代謝の変化、

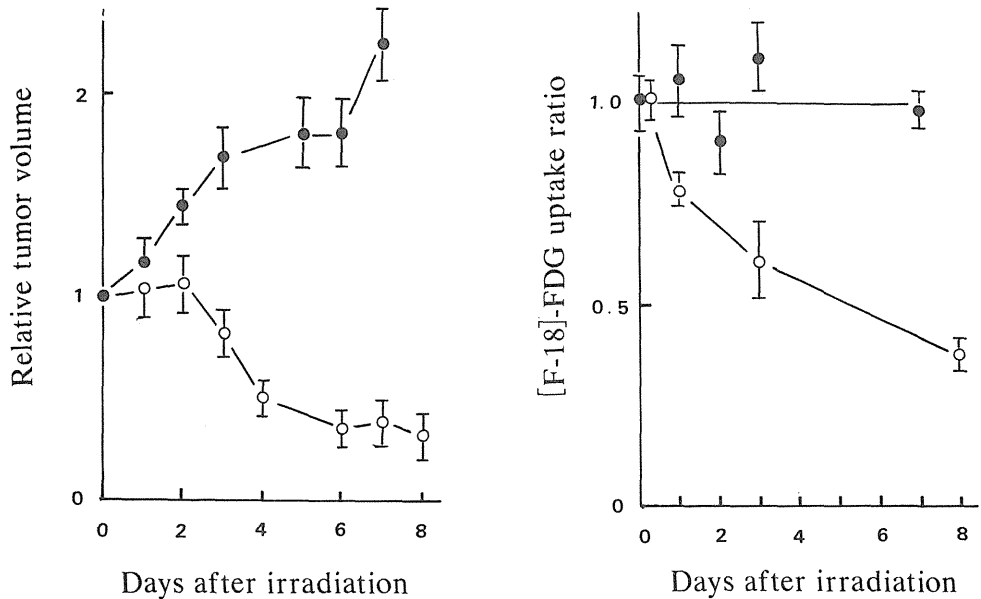


図4 放射線感受性の異なった二つの腫瘍のX線照射後の ^{18}F FDGとりこみ
 ^{18}F FDG uptake after X-irradiation in two tumor lines of different radiosensitivity.
 (a) 腫瘍体積の変化
 (b) ^{18}F FDGのとりこみの変化, FM3A(○—○), MM48(●—●)(阿部ら¹⁸⁾による)

阿部らは肺癌の放射線治療前後の ^{18}F FDGのとりこみの変化について報告を行っている。

5. ま と め

PETは、先に示したように腫瘍の代謝を指標としているので、viabilityの判定ができること、早期に治療効果及び腫瘍の感受性が判定できること、部位による反応の違いを検出できること、定量的であることなどの利点がある。一方、空間分解能が低いために腫瘍の完全治癒・再発初期の判定は困難であろう。また、この検査法は特殊な設備・装置・人員を必要とするので、一般的な検査法になりにくいという欠点もある。これらを十分に認識したうえで臨床的研究を行う必要がある。また、PETによる癌診断法は、潜在的な能力としては大きなものを持ちながら、基礎的にも臨床的にも研究成果が十分に蓄積していないのが現状である。放射線治療の効果判定を行うにはPETによる「human radiation biology」を確立することが将来の目標と考えられる。そのためには、放射線照射後のDNA合成の動態(^{14}C -チミジン)を土台として、これに糖代謝(^{18}F FDG)、蛋白合成(^{14}C -L-メチオニン)、血流、および腫瘍体積の変化など、放射線生物学的、細胞動態論的な基礎研究を蓄積する必要がある。さもないとポジトロンCTによる治療効果判定は、腫瘍のトレーサとりこみのみかけの変化だけを観察する底の浅いものとなる。

参考文献

- 1) Warburg, O. : On the origin of cancer cells. *Science*, **123** : 309-314, 1956.
- 2) Burk, D., Wood M., Hunter, J. : On the significance of glycolysis for cancer growth with special reference to Morris rat hepatomas. *J. Natl. Cancer Inst.*, **38** : 839-863, 1967.
- 3) Weber, G. : The molecular correlation concept : Studies on the metabolic pattern of hepatoma. *Gann Monogr on Cancer Res*, **1** : 151-178, 1966.
- 4) Som, P., Atkins, H. L., Bandyopadhyay, D., et al. : A fluorinated glucose analog, 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose(F-18) : Non toxic tracer for rapid tumor detection. *J. Nucl. Med.*, **21** : 670-675, 1980.
- 5) Fukuda, H., Matsuzawa, T., Abe, Y., et al. : Experimental study for cancer diagnosis with positron-labeled fluorinated glucose analog : [^{18}F] -2-fluoro-2-deoxy-D-mannose : A new tracer for cancer detection. *Eur. J. Nucl. Med.*, **7** : 294-297, 1982.
- 6) Yonekura, Y., Benau, R. S., Brill, A. B., et al. : Increased accumulation of 2-deoxy-2- [^{18}F] fluoro-D-glucose in liver metastasis from colon carcinoma. *J. Nucl. Med.*, **23** : 1133-1137, 1982.
- 7) Fukuda, H., Matsuzawa, T., Ido, T., et al. : Experimental and clinical study of cancer diagnosis with (F-18) FDG using positron emission tomography. *J. Nucl. Med.*, **25** : P50(abstr.), 1984.
- 8) Di Chiro, G., DeLaPaz, R. L., Brooks, R. A., et al : Glucose utilization of cerebral gliomas measured by [^{18}F] fluorodeoxyglucose and positron emission tomography. *Neurology(Ny)*, **32** : 1323-1329, 1982.
- 9) Di Chiro, G., Oldfield, E., Bairamian, D., et al. : In vivo glucose utilization of tumors of the brainstem and spinal cord. Greitz, T. and Ingvar, D. H. (ed), *The metabolism of the human brain studied with positron emission tomography*, 351-361, Raven Press, 1985.
- 10) Fujiwara, T., Matsuzawa, T., Kubota, K., et al. : Relationship between histologic type of primary lung cancer and carbon-11-L-methionine uptake with positron emission tomography. *J. Nucl. Med.*, **30** : 33-37, 1989.
- 11) Pataronas, N. J., Di Chiro, G., Kufta, C., et al. : Prediction of survival in glioma patients by means of positron emission tomography. *J. Neurosurg*, **62** : 816-822, 1985.
- 12) Di Chiro, G., Hatazawa, J., Katz, D. A. et al : Glucose utilization of intracranial meningiomas as an index of tumor aggressivity and probability of recurrence : A PET study. *Radiology*, **14** : 521-526, 1987.
- 13) Tada, M., Matsuzawa, T., Yamaguchi, K., et al. : Synthesis of ^{18}F -labelled 2-deoxy-2-fluoro-D-galactose using acetylhypofuorite procedure. *Carbohydr. Res*, **161** : 314-317, 1987.
- 14) Fukuda, H., Matsuzawa, T., Tada, M. et al : 2-deoxy-2- [^{18}F] fluoro-D-galactose : A new tracer for the measurement of galactose metabolism in the liver by positron emission tomography. *Eur. J. Nucl. Med.*, **11** : 444-448, 1986.

- 15) 福田 寛, 山口慶一郎, 松澤大樹, 他: 新しいポジトロン標識肝診断薬剤-2-デオキシ-2-[¹⁸F]フルオロ-D-ガラクトース-第2報: 正常肝のポジトロンイメージング。核医学, **24**: 871-874, 1987.
- 16) Ishiwata, K., Ido, T., Imahori, Y., et al.: Accumulation of 2-deoxy-2- [¹⁸F] fluoro-D-galactose in the liver by phosphate and uridylate trapping. *Nucl. Med. Biol.*, **15**: 271-276, 1988.
- 17) Fukuda, H., Yamaguchi, K., Matsuzawa, T., et al.: Imaging of hepatoma with ¹⁸F-deoxyfluorogalactose using PET. *Tumor Diagnostik & Therapie*, **9**: 171, 1988.
- 18) Abe, Y., Matsuzawa, T., Fujiwara, T., et al.: Assessment of radiotherapeutic effect on experimental tumors using ¹⁸F-2-fluoro-2-deoxy-D-glucose. *Eur. J. Nucl. Med.*, **12**: 325-328, 1986.
- 19) Kubota, K., Matsuzawa, T., Fujiwara, T., et al.: Radiotherapeutic effects on the tumor uptake of ¹¹C-L-methionine. *CYRIC Annual Report, Tohoku University*, 1987: 237-240, 1988.
- 20) Abe, Y., Matsuzawa, T., Itoh, M., et al.: Regional coupling of blood flow and methionine uptake in an experimental tumor assessed with autoradiography. *Eur. J. Nucl. Med.*, **14**: 388-392, 1988.
- 21) Takahashi, H., Yamaguchi, K., Wakui, A., et al.: New approach to clinical evaluation of cancer chemotherapy using positron emission tomography with ¹⁸FDG(2-deoxy-2 [¹⁸F] fluoro-D-glucose). *Sci. Rep. Res. Inst. Tohoku Univ.-C*, **33**(1-4): 38-43, 1986.
- 22) Ogawa, T., Uemura, K., Shishido, F., et al.: Changes of cerebral blood flow, and oxygen and glucose metabolism following radiochemotherapy of gliomas: A PET study. *J. Comput. Assist. Tomogr.*, **12**: 290-297, 1988.

2 Micronucleus Testによる腫瘍の 放射線感受性の推定

小野 公二*

An Estimation of Radiosensitivities of Tumors by Micronucleus Test

Koji Ono

Kyoto University

Shogoin Kawaramachi, Sakyo-ku, Kyoto-shi, 606 Japan

Abstract

The correlation between cell survival curve and dose response curve of MN frequency following irradiations was studied using cytokinesis-block method. Both dose response curves were analyzed by linear quadratic model, i.e. $SF = \exp(-\alpha D - \beta D^2)$ and $MN \text{ frequency} = aD + bD^2 + C$. A good correlation between α/β and a/b ratios was observed in repeated paired experiments ($r=0.97$). When the cells were treated with BUdR, α -type radiosensitizer, a value in dose response curve of MN frequency increased but b value did not. These data present that MN frequency assay using cytokinesis-block method is available as a tool of rapid assay of radiosensitivity of cells.

はじめに

癌の放射線治療成績の向上には症例に応じた治療の個別化が必要である。現在、治療方針の個別化はTNM分類や、病理組織型を中心に考えられている。しかしこれらには放射線の抗腫瘍効果に大きく影響する諸因子、すなわち腫瘍細胞の内因性放射線感受性、増殖速度、低酸素細胞の割合などが含まれていないため不十分と考えられる。事前に個々の腫瘍の生物学的特徴を

* 京都大学医学部

推定できれば、それに基づいてより適切な1回線量，総線量，線質を決定できるはずである。

われわれは細胞の増殖死と密接に関係しているMicronucleus(MN)形成を利用して，照射線量とMN形成率の関係から放射線感受性を推定する試みを行ったので報告する。

方 法

実験には12.5%胎児牛血清を含むMinimum Essential Medium(MEM)中で指数増殖しているSCCVII腫瘍細胞を用いた。照射は50KVpのX線にて行った。線量率は1.6Gy/minである。照射した細胞を2分し，一部を使ってコロニー形成を行い細胞生存率を求めた。一方，残りの細胞をMN Testに供した。

MN Testの検討では照射後任意の時間(24~96時間)培養した後，0.05%Trypsin液にて処理し単離細胞を得た。これを70%エタノール，カルノア氏液で固定した。適切な濃度の細胞浮遊液30 μ lをマイクログラス上に滴下し，細胞を展開した。次にこの標本をRNaseで処理した後，Ethidium Bromideで染色し蛍光顕微鏡下にMicronucleusを観察した。

次に，MN Testに際してデータの乱れの原因となるMitotic Delayを補正する方法としてCytochalasin B(CB)を用いて細胞質分裂を阻害させ，2核細胞のみに出現したMNを計数する方法の有効性を検討した。この方法で得られたMN形成率曲線の形と生存率曲線のそれとを比較検討した。

結 果

さまざまな条件下，さまざまな線量で照射した細胞におけるMN形成率の時間経過を見ると，形成率は照射後すぐに上昇し，70時間前後で最高値に達した後，すぐに減少した(図1)。次にCBで細胞質の分裂を阻害したとき，2核細胞に出現するMNの率を求めるため，CBの最適濃度を検討すると1.0 μ g/mlで完全に細胞質の分裂を阻害した。そこで細胞の放射線照射直後に

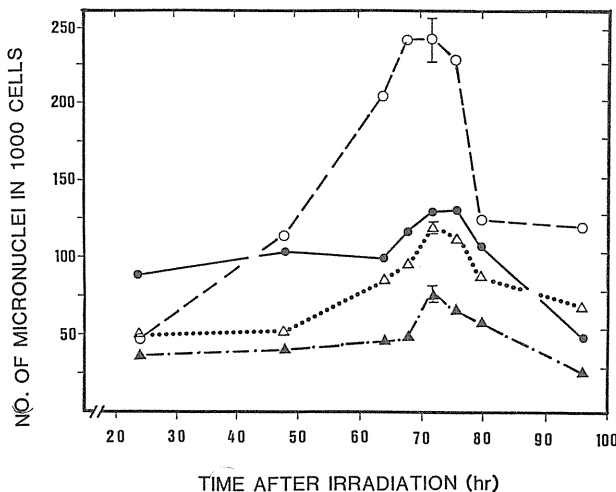


図1 放射線照射後の微小核出現頻度の時間経過
2.26Gy(△)酸素下 (▲)低酸素下，
6.65Gy(○)酸素下 (●)低酸素下
縦線は72時間後のデータの範囲を示す
The frequency of micronuclei at different time intervals after irradiation with 2.26 Gy under oxic(△) or hypoxic(▲) conditions, or with 6.65 Gy under oxic(○) or hypoxic(●) conditions in vitro. Vertical bars indicate the rang of the data points at 72 h after irradiation.

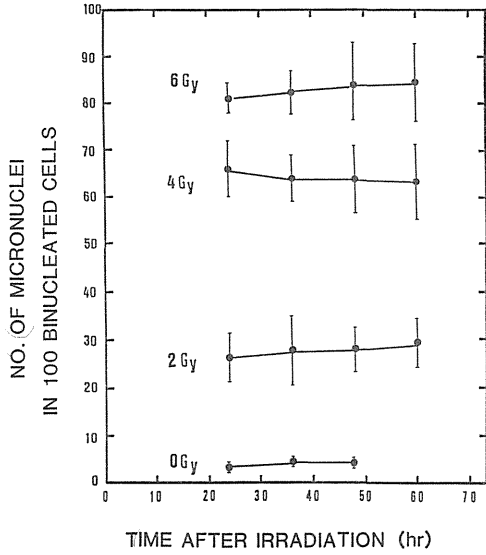


図2 様々な線量を照射した後の微小核出現頻度の時間経過。1.0 μ g/mlのCBを放射線照射直後に加えた。
Frequency of micronuclei after graded doses of X-rays as a function of time. 1.0 μ g CB/ml culture medium was added immediately after irradiation.

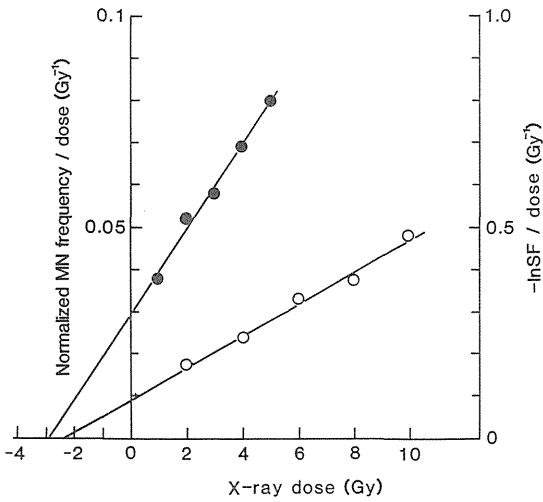


図3 細胞生存率曲線と微小核形成率曲線のLQモデルによる解析
(○)細胞生存率, (●)微小核形成率
Cell survival curve and dose response curve of MN frequency were analyzed according to linear quadratic model. Open circles represent cell surviving fraction in each radiation doses. Closed circles represent MN frequency.

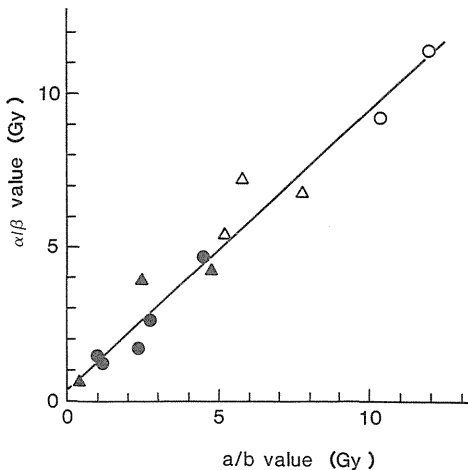


図4 細胞生存率曲線の α/β 値と微小核形成率曲線の a/b 値の相関
(○, ●)sccVII腫瘍細胞, (Δ , \blacktriangle)EMT6腫瘍細胞, (○, Δ)腫瘍細胞をBUdRで前処理
The correlation between α/β ratio of cell survival curve and a/b ratio of dose response curve of MN frequency. Circles and triangles represent the data obtained in SCC VII and EMT6/KU tumor cells, respectively. Open symbols represent the cell pretreated with BUdR.

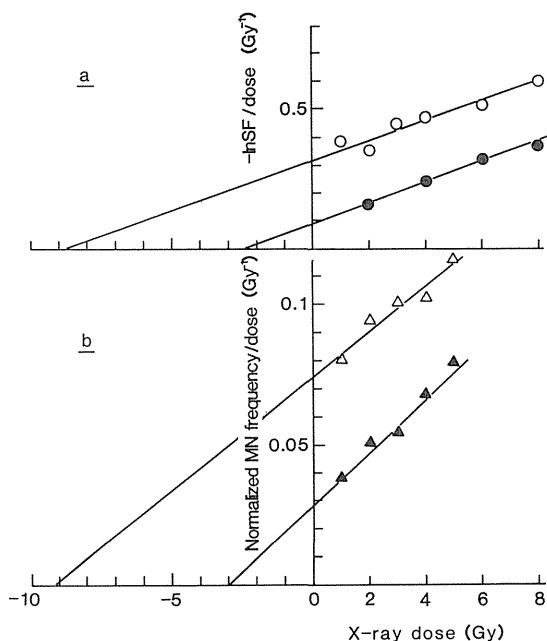


図5 細胞生存率曲線(a)と微小核形成率曲線(b)のLQモデルによる解析。
(○, △)腫瘍細胞をBUdRで前処理
The analysis of cell survival curves (a) and dose response curves of MN frequency (b) according to linear quadratic model. Open symbols represent the cells pretreated with BUdR.

CB(1.0 μ g/ml)を加えて細胞を培養し、さまざまな時間にMN形成率を求めると、24時間から60時間までの間、照射線量に応じた一定値を示した(図2)。

CB法により求めたMN形成率曲線と生存率曲線を各々 $MN/cell = aD + bD^2 + C$, $\ln SF = -\alpha D - \beta D^2$ のLQ Modelで解析し、これらの式に最も適合するような、 a , b , α , β 値を求め、 a/b , α/β を比較検討した。図3, 4に示すごとく大変良い一致が得られた。

さらに、照射前に細胞を放射線増感剤BUdRで処理し、生存率曲線の α , β 値とMN形成率曲線の a , b 値の変化を検討すると、生存率曲線では α 値が³, MN形成率曲線ではこれに対応するように a 値が選択的に増加した(図5)。

考 察

腫瘍細胞の放射線感受性を個々の症例の腫瘍について求め、これを放射線治療の実際に応用することは一般には行われていない。この理由は腫瘍の放射線感受性のばらつきが抗癌剤に対する腫瘍の反応性のばらつきと比較して小さく、慣用分割照射や低LET放射線の照射でもかなり良い治療成績をおさめることができたためである。しかし、従来の放射線治療成績をさらに向上させるためには個々の症例の腫瘍についてその生物学的、放射線生物学的特徴を把握し、より適切な線量分割、空間的線量配分、放射線線質を選択しなければならない。

通常の放射線治療では4.0Gy以下の1回線量で治療されることが多いので腫瘍の反応性は細胞生存率曲線の肩部分の形に大きく依存している。肩部分の形によって多分割照射が理想的であったり、慣用分割照射で充分であったりする。また、放射線抵抗性が大きいときにはRBEの大きい放射線を用いなければならない。従って症例毎の腫瘍細胞の放射線感受性を事前に知る

ことができれば治療成績の向上に貢献すると考えられる。

この目的で人癌細胞の初代培養を用いてコロニー形成を行い細胞生存率曲線を求めたり、増殖した細胞の密度を測定する方法で細胞生存率を求める試みが行われている。しかし、これらの方法はいずれも人癌細胞の増殖速度がゆるやかであるため結果を得るのに長時間を要し実用上問題がある。この点MNは放射線照射を受けた細胞が一度、核分裂を行えば出現するため短時間(数日)で結果を得ることができ、かつ簡便である。ここに報告したCB法では核分裂をした細胞を2核細胞として容易、正確に同定し得るので任意の時間に求めたMN形成率が一定値を示し、1回の測定で正確な線量効果曲線が得られる。さらに、コロニー法で求めた細胞生存率曲線の α/β 値はMN形成率曲線の a/b 値(線量の1次項と2次項の係数の比)とよく一致する。このことはCB法によるMN Testで細胞の放射線感受性をよく推定できることを示すものである。従って、本法を人癌細胞の初代培養に応用して癌細胞の放射線感受性を推定したり、患者のリンパ球を培養してその放射線感受性を調べることにより正常組織の放射線感受性の個体差を知ることが可能と考えられる。

参考文献

- 1) Baker, F. L., Spitzer, G., Ajani, J. A., Brock, W. A., Lukeman, J., Pathak, S., Tomasovic, B., Thielvoldt, D., Williams, M., Vines, C., Tofilon, P. : Drug and radiation sensitivity measurements of successful primary monolayer culturing of human tumor cells using cell-adhesive matrix and supplemented medium. *Cancer Res.*, **46**, 1263-1274, 1986.
- 2) Carter, S. B. : The cytochalasins as research tools in cytology. *Endeavour*, **31**, 77-82, 1972.
- 3) Fertil, B., Malaise, E-P. : Inherent cellular radiosensitivity as a basic concept for human tumor radiotherapy. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, **7**, 621-629, 1981.
- 4) Midander, J., Revesz, L. : The frequency of micronuclei as a measure of cell survival in irradiated cell populations. *Int. J. Radiat. Biol.*, **38**, 237-242, 1980.
- 5) Streffer, C., van Beuningen, D., Gross, E., Schabronath, J., Eigler, F-W., Rebmann, W. : Predictive assays for the therapy of rectum carcinoma. *Radioth. and Oncol.*, **5**, 303-310, 1986.

VI 放射線による実験腫瘍の治療

1 線量と腫瘍制御率との関係

佐々木武仁

2 放射線抵抗性と低酸素細胞

安藤 興一

3 放射線とがん転移

鈴木 紀夫

1 線量と腫瘍制御率との関係

佐々木 武 仁*

The Relationship between Dose and Tumor Control Probability

Takehito Sasaki

Dept. of Radiology and Radiation Research, Faculty of Dentistry,
Tokyo Medical and Dental University.
1-5-45, Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 Japan

Abstract

The dose response curve (DRC) for tumor control probability was analyzed for multicellular spheroids in vitro and was found identical for small spheroids to that predicted theoretically from dose-cell survival curve and number of cells per spheroid. Analysis of the DRC for large spheroids indicated that a more radioresistant cell subpopulation was responsible for regrowth of the spheroids which was not detected in the cell survival curve, since D_0 estimated from the DRC was apparently larger than that measured from cell survival and spheroid population used was considered homogenous from the DRC. Various factors influencing the steepness of DRC were discussed for clinical data and basic research for understanding the heterogeneity in intra- and inter- tumor cellular radiosensitivity was considered important for further progress.

1. はじめに

放射線治療では重要な正常組織の耐容を超えない範囲で、しかも治療期間を変えずに腫瘍線量を増やせば、腫瘍の局所制限率は改善すると考えられる。しかし、それによって治療可能比

* 東京医科歯科大学

が向上するか、またどの程度腫瘍制御率が向上するかは、線量と腫瘍制御率との関係(腫瘍制御率曲線)に大きく依存している。曲線の勾配が急な場合には少しの線量増加でも大きな腫瘍制御率の改善が見込まれるのに対し、ゆるやかな場合には治療上の利益は殆ど得られず、むしろ重篤な正常組織障害が増えることが予想されるからである。本稿では腫瘍制御率曲線を理論的に考察し、さらにモデル実験系や臨床データから放射線治療におけるこの曲線の意義を考察した。

2. 腫瘍制御率曲線の理論的考察

腫瘍が放射線感受性の均一な細胞集団から構成されて、その線量・細胞生存率曲線が図1の(1)で表わされるとき、この細胞集団が化学療法などによる何らかの増感効果を受けた場合には、曲線(2)のように肩が小さくなる場合と、(3)のように D_0 が小さくなる場合、(4)のように肩も D_0 も小さくなる場合の3通りが考えられる¹⁾。このような場合、1回照射による腫瘍制御率曲線がどのように変わるかを図2に示す。ここでは総細胞数を 10^7 個とし、各線量に対する平均生存腫瘍細胞数は図1の細胞生存率から与えられ、実際に生存する細胞数はポアソン確率分布に従うとした。曲線の番号は図1の番号と対応する。いずれも勾配の急な曲線を示し、10%と90%制御率を与える線量の差は D_0 の3倍で、その線量比は約1.2である。増感比(DMF)は曲線(4)で最も大きく、1.6となる。

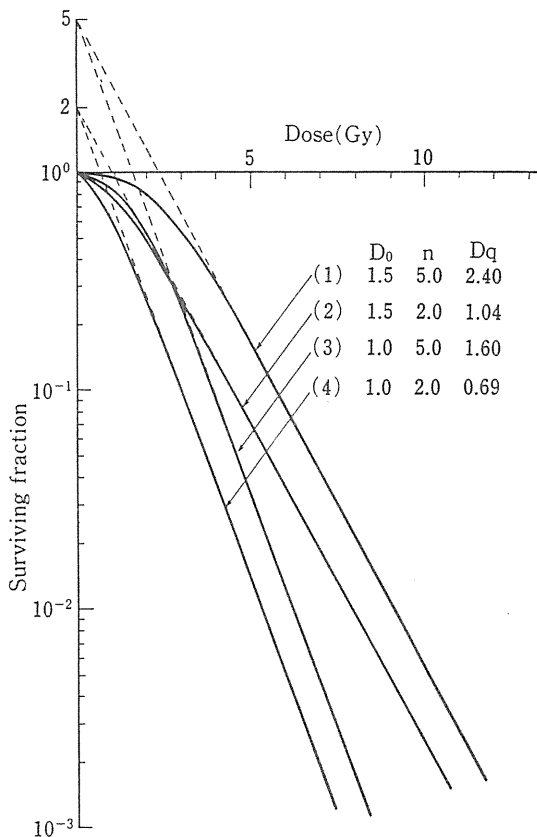


図1 細胞生存率曲線
Dose-cell survival curves.
(Sasaki, T. 1983)¹⁾

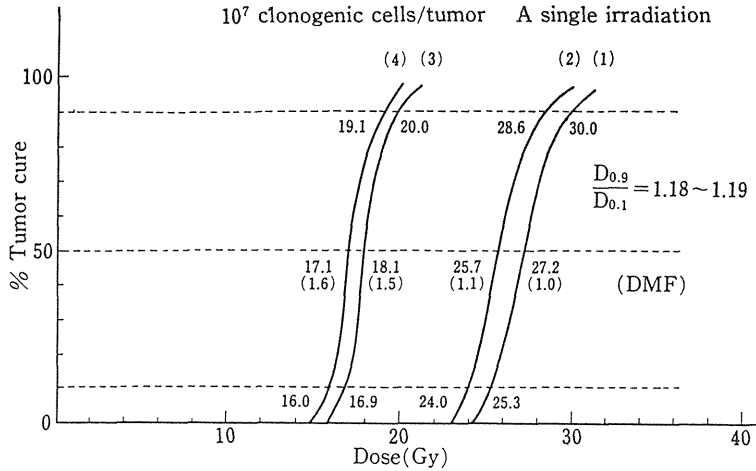


図2 線量-腫瘍制御率曲線

Dose-tumor control probability curve.

A single dose (D_1) to give a probability of tumor control of P_1 :

$$D_1 = D_0 \{ \ln N + \ln n - \ln(-\ln P_1) \}$$

N : number of tumor stem cells

D_0 : reciprocal of the slope in the survival curve

n : extrapolation number

(Sasaki, T. 1983)¹⁾

2 Gyづつの分割照射(照射毎にElkind回復が完了し、照射期間中に再増殖が起らない場合)についても同様に推定すると、10%と90%制御率を与える線量比は1.2で、その線量差は分割照射時の実効 D_0 、 $D_0(\text{eff})$ 、の3倍である。局所制御率 P_1 を与える合計線量は $D_0(\text{eff})$ 、これはfraction sizeによって変る、と細胞数によって決まることが理論的に導かれるが²⁾、2つの制御率を与える線量比は $D_0(\text{eff})$ の値には影響されず、細胞数のみによって決まることになる(表1)。この関係は $L \cdot Q(\alpha, \beta)$ モデルにおいても同様である。1回照射の場合には外挿値(n)の値によって影響を受けるが³⁾、細胞数 N に比べて著しく小さいので、実際には殆ど無視できる。分割照射の場合の腫瘍制御率を40%から60%にするのに必要な線量増加分を腫瘍細胞数から計算すると、細胞

表1 分割照射における総線量と腫瘍制御率との関係

Dose-tumor control probability relationship in fractionated radiotherapy.

Total dose (D_1) to give a probability of tumor control of P_1

$$D_1 = D_0(\text{eff}) \{ \ln N - \ln(-\ln P_1) \}$$

or

$$D_1 = \frac{1}{\alpha + \beta d} \{ \ln N - \ln(-\ln P_1) \}$$

N : number of tumor stem cells

$D_0(\text{eff})$: effective D_0 for fractionated irradiation

α, β : survival parameters in $L \cdot Q$ model

d : fraction size

数 10^7 以上の大きな腫瘍では約3%, 細胞数 10^4 以下の著しく小さい腫瘍でも約6%の線量増加にしかすぎない。

3. 腫瘍制御率曲線の実測例

固型腫瘍の培養下モデルであるスフェロイドは有用な実験系として知られている²⁾。このスフェロイドを腫瘍と見なし、照射後5週間の培養によってプラスチック壁面に付着して増殖する細胞がある場合には再発と判断し、そうでないものを腫瘍制御と見なすと、腫瘍制御率曲線が得られる³⁾。この様子を模式的に図3に示す。また図4はHeLaS3細胞とヒト2倍体線維芽細胞との混合培養系⁴⁾で得られたスフェロイド(直径約 $500\mu\text{m}$)をX線照射後3日間培養した例の顕微鏡写真で、Aは非照射、Bは30Gy照射例である。中心壊死部(黒い部分, n), スフェロイド表層部(vr), 及び壁に付着し外方へ広がっている部分(og)の三層がそれぞれ識別できる。Bの照射例では5週後にはすべて崩壊し、増殖する細胞は1個も残存しない。このような方法でヒトのグリオブラストーマ細胞(GBA-7)の直径約 $200\mu\text{m}$ の小スフェロイドと直径約 $500\mu\text{m}$ の大スフェロイドの制御率曲線を図5に示す^{5,6)}。横軸は線量を対数目盛で、縦軸は制御率をプロビット目盛でプロットしてある。小スフェロイドでは細胞生存曲線で潜在致死損傷(PLD)からの回復が見られるが⁷⁾, PLD回復後の細胞生存率とスフェロイド当りの細胞数から計算した制御率曲線と実測値は良い一致を示した。一方大スフェロイドではPLD回復後の細胞生存曲線から推定した制御率曲線より、実測した曲線はかなり大線量側へ移行していた。図から40%から60%へ制御率を増加させるのに必要な線量増加分は小スフェロイドで約5%, 大スフェロイドではそれよりわずかにゆるやかな勾配を示すが⁸⁾, 誤差を考えると両者はほぼ平行と見なせ、理論的予測値と一致する。このことはスフェロイド間の不均一性はないことを意味すると考えられる。また大スフェロイドの制御率曲線から推定した D_0 は、細胞生存率曲線の D_0 の実測値より大きい。以上のことから大スフェロイドでの制御率曲線の計算値と実測値の相違は細胞生存率曲線では検出されなかった少数個の放射線抵抗性細胞が大スフェロイドに存在し、それらが再発の原因であるためと解釈される。マウス乳癌^{7,8)}及びラット横紋筋肉腫⁹⁾の分割照射例では、40%から60%への腫瘍制御率増加に必要な線量増加分は5~7%とほぼ理論的予測値に匹敵する値を示す反面、よりゆるやかな勾配を示すデータも多い。

一方臨床データでは腫瘍の放射線感受性が、その部位、病理組織型、大きさなどの因子で異なるため、これらの因子をそろえて腫瘍制御率と線量との関係が解析されている。T₂₋₃の声門上部癌に関するShukouskyの報告¹⁰⁾では40%から60%へ制御率を上げるのに必要な線量増加分は3%であるのに対し、T₁₋₂でも20~30%もの線量増加が必要とする報告もある。表2にWilliamsら⁸⁾がまとめた頭頸部癌のデータを示す。口咽頭癌でも5%という値を示すものから、25%以上とするもの、なかには線量が増加すると制御率が低下する(表2の一印)という、統計学的偏りのあると思われるデータもある。以上のように臨床データから、ある特定の癌が他の癌より腫瘍制御率曲線の勾配がゆるやかかどうかを結論することは、現段階では無理がある。

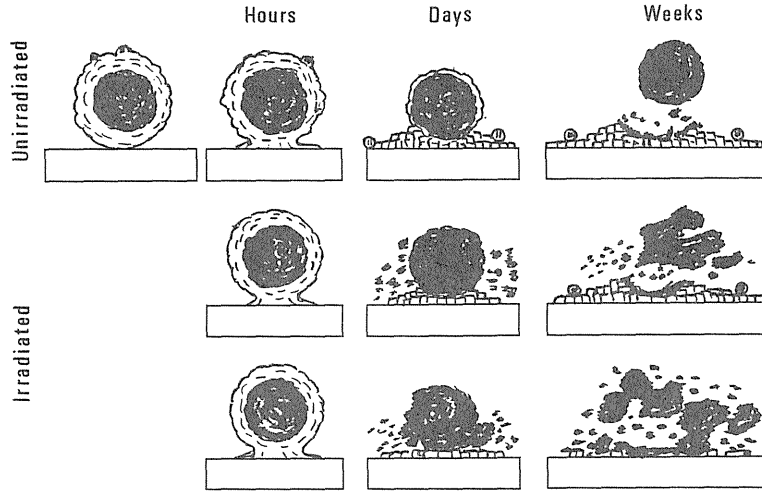


図3 スフェロイド制御率の測定法
Assay for radiocurability of spheroids.

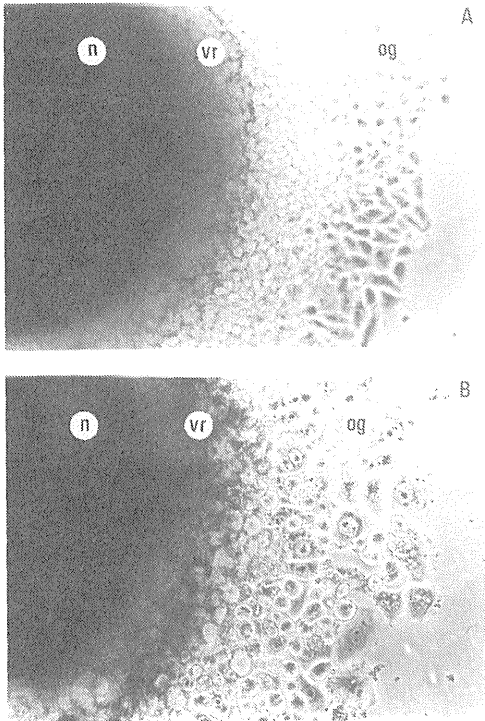


図4 A; 非照射 B; 30Gy n; necrosis vr; viable rim og: out-growth

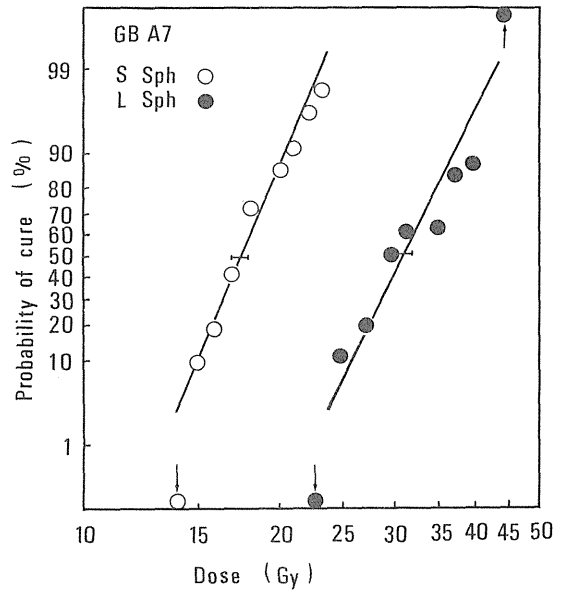


図5 スフェロイドの線量・制御率関係
(プロビット解析)
Probit analysis of spheroid cure.
(Mashiyama, S. et al 1988)^{5,6)}

表2 ヒト腫瘍の局所制御率曲線の勾配
Steepness of Dose Response Curves for Local Control of Human Tumors

Site	Stage	N	ΔD (0.4-0.6)	Authors
Larynx	T3	67	5	Stewart et al
Glottis	T3	112	5	Harwood et al
Supraglottis	T2,3	52	3	Shukovsky
	T2,3	124	3	Thames et al
	T1,2	81	8	Ghossein et al
	T3,4	127	28	"
	T1,2	90	32	Niederer et al
	T3,4	73	35	"
	T4	94	6	Harwood et al
	T3,4	94	19	Van den Bogaert et al
Pyramidal sinus	T1,2	62	11	Bataini et al
	T3	228	-	"
Tonsil	T3,4	38	6	Thames et al
	T3,4	61	11	Perez et al
	T3	206	-	Bataini et al
	T4	182	>25	"
Base of tongue	T3,4	69	9	Thames et al
Pharynx	T3,4	98	5	"
Nasopharynx	T1	57	16	Moench et al

(Williams et al, 1984)⁸⁾

ΔD : % of dose increment required to give a tumor control probability from 0.4 to 0.6.

4. 腫瘍制御率曲線の勾配の変動要因

腫瘍制御率曲線の勾配は大きく分けて3つの因子によって左右されることが考えられる。すなわち、腫瘍間の生物学的相違、照射技術等の外的要因、さらに統計学的誤差に基づくものである(表3)。腫瘍間の相違は概念的に量的と質的な相違にさらに分けることができる。腫瘍間の量

表3 腫瘍制御率曲線の勾配に影響を及ぼす因子
Factors influencing steepness of tumor control curves.

1. 腫瘍間の生物学的相違
量的相違
1) 腫瘍幹細胞数
2) 低酸素性細胞分画の大きさ
3) 再酸素化の程度
4) 再増殖速度
質的相違
1) 腫瘍幹細胞の内因性放射線感受性
2) 腫瘍-宿主関係
腫瘍床効果
腫瘍細胞の抗原性
宿主の抗腫瘍免疫能
2. 照射技術等の外的要因
3. 統計学的誤差

的な相違としては、腫瘍幹細胞数、低酸素性細胞分画の大きさ、分割照射では再酸素化の程度や再増殖速度などである。例えば腫瘍直径が10%異なると、容積では33%、局所制御線量では29%の相違となることが推定される。実験腫瘍でも、例えば、直径6～8 mmの腫瘍は、直径で20%、腫瘍制御線量で55%の開きに相当する。口咽頭癌のT₂に限定しても、直径は2～4 cmの相違があり、局所制御線量でも倍の相違になると予測される。これらすべての相違は結果的に腫瘍制御率曲線の勾配をゆるやかにする方向に作用する⁹⁾。腫瘍間の質的相違としては腫瘍幹細胞の内因性放射線感受性がまず考えられる。臨床症例から得られた初代培養細胞の内因性放射線感受性を調べたRofstadらの報告では、2 Gy照射による細胞生存率は、同じ子宮頸部癌でも約0.15～0.5、メラノーマでは約0.15～0.7にまで症例によって開きがあることを明らかにしている¹¹⁾。この差は直径2 cm程度の腫瘍でも、30回の2 Gy照射により完全な腫瘍制御が得られるものから、殆ど制御不可能なものまでの相違になると考えられる¹²⁾。このような腫瘍間の細胞の放射線感受性の相違は、腫瘍内の細胞クローン間の放射線感受性の不均一性と関連すると考えられ、細胞間不均一性の原因などの研究が期待される。第2の質的相違として、腫瘍・宿主関係があげられる。これには腫瘍床効果、腫瘍細胞の抗原性、宿主の抗腫瘍免疫能などが含まれる。マウス癌腫におけるマクロファージ数の全細胞数に対する割合を調べたMilasらの報告では、この値が腫瘍によって9～83%と分布し、腫瘍の放射線感受性と相関するという¹³⁾。この機構はまだ説明できないにしても、実際にこのような因子が腫瘍の放射線感受性を左右することを示唆したのは意義あることと思われる。照射技術などの外的要因による線量分布の腫瘍間の相違も、臨床的に大きな要因と考えられ、これについてGoitenら¹⁴⁾は詳細な考察を行っている。統計学的誤差については、線量1点当りの腫瘍数と線量の点の数が問題である。Wheldonら¹⁵⁾は腫瘍制御率曲線の勾配から計算される細胞の放射線感受性のD₀値が、真の3.5Gyのときに、モンテカルロシミュレーションによって線量1点当りの腫瘍数が変わると、どのような値をとるかを推定した。線量の点の数は2 Gy間隔で9点とすると、腫瘍数が1点当り30個以下のときにはD₀値が真の値より過大に、またそのようなD₀値をもつ細胞数も真の値より著しく過小に推定されることを明らかにした。先のスフェロイドの実験では1点当り60～100個用いているので信頼度は高いが、動物腫瘍でこのような数を用いる実験はかなり大変である。臨床データは、このような注意深い多数の症例の解析でも、本来の腫瘍間不均一性は避けられない。最近Dutreixら¹⁶⁾は乳癌の3年制御率を解析し、直径4 cm以下の腫瘍集団は50%制御線量が異なる4つの集団から成ると考えた場合に腫瘍制御率曲線は良く適合することを報告した。さらに、これら腫瘍が直径4～6 cmの場合には直径4 cm以下の腫瘍の曲線が細胞数だけ10～100倍多くなったとした曲線と良く一致するが、直径8 cmの腫瘍では、もはや細胞数の増加だけでは説明できないことを示した。このようなデータは腫瘍の進展に伴い、腫瘍間不均一性がさらに増大することを示唆している。

5. まとめ

腫瘍制御率曲線は本来、腫瘍幹細胞の数とその放射線感受性から推定可能であることは、スフェロイドを用いた実験やその理論的裏付けから明らかと思われる。しかし、逆に腫瘍制御率曲線から再発に関与する細胞の放射線感受性やその数を推定するには、大規模の注意深い研究が必要である。臨床データから推定された腫瘍制御率曲線は統計学的誤差などにより、見かけ上ゆるい勾配を示すものがあるが、なかには理論的予測値と同じ急勾配を示すデータもある。特に注目すべきは、腫瘍制御率曲線における腫瘍間不均一性が、腫瘍進展に伴い、さらに増大することを示唆する臨床データである。このような腫瘍間不均一性の生物学的原因に関する基礎研究が今後共重要と思われる。

参考文献

- 1) 佐々木武仁：放射線と化学療法の併用における Therapeutic Ratio。放射線生物学的考察。癌の臨床, **29**, 1584-1593, 1983.
- 2) 佐々木武仁：培養固型腫瘍モデル(スフェロイド)の腫瘍生物学的研究における利用。放射線生物研究, **19**, 195-208, 1984.
- 3) Carlsson, J. and Nederman, T. : A method to measure the radio and chemosensitivity of human spheroids. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **159**, 399-417, 1983.
- 4) Sasaki, T., Yamamoto, M., Yamaguchi, T. and Sugiyama, S. : Development of multicellular spheroids of HeLa cells cocultured with fibroblasts and their response to X-irradiation. *Cancer Res.*, **44**, 345-351, 1984.
- 5) Mashiyama, S., Sugiyama, S., Kuwahara, K., Kitahara, M., Takahashi, K. and Sasaki, T. : Combined effect of radiation, ACNU and 5-FU on gliomas : An experimental combination therapy. J. Suzuki ed., "Treatment of Glioma", Springer-Verlag, Tokyo, 1988, pp.37-108.
- 6) 増山祥二, 片倉隆一, 高橋康, 北原正和, 鈴木二郎, 佐々木武仁：グリオブラストーマ細胞のスフェロイドにおける放射線による細胞生存曲線とスフェロイド治癒率曲線の解析(論文投稿中)。
- 7) Fowler, S. F., Denekamp, J., Sheldon, P. W., Smith, A. M., Begg, A. C., Harris, S. R. and Page, A. L. : Optimum fractionation in the X-ray treatment of C3H mouse mammary tumours. *Br. J. Radiol.*, **47**, 781-789, 1974.
- 8) Williams, M. V., Denekamp, J. and Fowler, J. F. : Dose-response relationships for human tumors : Implications for clinical trials of dose-modifying agents. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **10**, 1703-1707, 1984.
- 9) Fischer, J. J. and Moulder, J. F. : The steepness of the dose-response curve in radiation therapy. *Radiology*, **117**, 179-194, 1975.
- 10) Shukovsky, L. J. : Dose, time, volume relationships in squamous cell carcinoma of the suprag-

- lottic larynx. *Am. J. Roentgen.*, **108**, 27-29, 1970.
- 11) Rofstad, E. K., Wahl, A. and Brustad, T. : Radiation sensitivity in vitro of cells isolated from human tumor surgical specimens. *Cancer Res.*, **47**, 106-110, 1987.
 - 12) 佐々木武仁 : 腫瘍進展及び幹細胞不均一性の腫瘍放射線抵抗性への関与。癌の臨床, **33**, 1560-1569, 1987.
 - 13) Milas, L., Wike, J., Hunter, N., Volpe, J. and Basic, I. : Macrophage content of murine sarcomas and carcinomas : Association with tumor growth parameters and tumor radiocurability. *Cancer Res.*, **47**, 1069-1075, 1987.
 - 14) Goiten, M. and Busse, J. : Immobilization error : Some theoretical considerations. *Radiology*, **117**, 407-412, 1975.
 - 15) Wheldon, T. E. : Can dose-survival parameters be deduced from in situ assays? *Br. J. Cancer*, **41**(Suppl. IV), 79-87, 1980.
 - 16) Dutreix, J., Tubiana, M. and Dutreix, A. : An approach to the interpretation of clinical data on the tumour control probability-dose relationship. *Radiother. Oncol.*, **11**, 239-248, 1988.

2 放射線抵抗性と低酸素細胞

安 藤 興 一*

Radioresistance and Hypoxic Cells

Koichi Ando

Div. Clinical Research, National Institute of Radiological Sciences
9-1, Anagawa 4 chome, Chiba-shi, 260 Japan

Abstract

Current progress to explore further understanding of tumor hypoxia was reviewed. At subcellular level, hypoxia induces specific proteins, inhibits DNA synthesis as well as initiation of DNA replication. Radioresistant characteristics of hypoxic cells is questioned in condition where irradiated cells were kept hypoxia during colony formation. Chronically hypoxic cells recovered from the inner layer of V79 multicellular spheroids are more sensitive to radiation than those from the oxic, outer layer. A novel sandwich culture method, which enables to reoxygenate chronic hypoxia, implies that chronically hypoxic cells are less sensitive to radiation after reoxygenation than oxic cells. For in vivo tumor, two types of tumor hypoxia are reported : diffusion-limited, chronic hypoxia and perfusion-limited, acute hypoxia. Evidence supporting the existence of perfusion-limited hypoxia is provided by an elegant method using vital staining and cell sorter. Data of our own laboratory also implies 2 types of tumor hypoxia ; fractional hypoxia and incomplete hypoxia. Fractional hypoxia corresponds to a radioresistant tail on a biphasic tumor cell survival curves while tumors with incomplete hypoxia demonstrate only single component with radioresistant characteristics, instead.

* 放射線医学総合研究所

はじめに

腫瘍の放射線感受性を決定する要因には種々のものがある。分裂・無限増殖能をもつクロノジェニック細胞の絶対数、クロノジェニック細胞の放射線感受性および放射線損傷の修復能、照射された腫瘍細胞に対する生体側からの除去反応などが第一主義的に重要な要因であるが、更に腫瘍組織という構造を有するために出現する低酸素細胞も腫瘍の感受性における重要な要因として知られている。低酸素状態にある細胞が放射線低感受性になる理由は、放射線照射により生じた遊離基と細胞内DNAと反応が酸素分子により修飾を受けるためと考えられている^{1,2)}。

1. DNA・蛋白質合成と酸素

細胞を低酸素状態にした場合に細胞内巨大分子が如何なる変化を示すのか、という問題について最近幾つかの知見が発表されている(表1)。SutherlandらはCHO細胞の単層培養を12時間

表1 酸素供給状態による細胞内分子状態の変化

- | |
|---|
| 1. 低酸素状態による特異的な蛋白質合成 |
| 2. 低酸素状態によるDNA合成の抑制
再酸素化によるS期での遺伝子増幅 |
| 3. 低酸素状態によるDNA repliconの抑制
再酸素化によるrepliconの過形成 |

低酸素状態(100ppm以下の酸素)にしておくと、低酸素細胞に特異的な蛋白質が合成される、と報告している³⁾。DNA合成は低酸素状態では抑制されるが再酸素化するとS期においてdihydrofolate reductase遺伝子の増幅が起ることが報告されている⁴⁾。そして低酸素状態はDNA鎖のelongationには影響せず、repliconのinitiationのみに影響することが判明してきている⁵⁾。

2. 低酸素培養細胞の放射線感受性

培養細胞実験系は従来行われてきた単層培養の方法に加えて、より腫瘍に近づいたモデルが得られるようになってきた。その結果、新しい知見が得られてきている(表2)。低酸素状態の細胞の放射線感受性は低くなることは知られている。しかし、この場合照射時には低酸素状態であるが、その後のコロニー形成は常酸素状態で行っている。すなわち、再酸素化しているわ

表2 低酸素細胞は放射線高感受性か?

- | |
|--|
| 1. 照射後0.1%O ₂ 下で培養を続けるとDoは小さくなる。 |
| 2. 多細胞スフェロイドの内側(低酸素)細胞は外側(常酸素)細胞より放射線高感受性である。 |
| 3. サンドウィッチ培養法。酸素供給状態を同一にしても外側(旧常酸素)細胞の方が内側(旧低酸素)細胞よりも放射線高感受性である。 |

けである。もし再酸素化せず、そのまま低酸素状態を続けるとどうなるのか？Guptaらはエールリヒ腹水癌やP388リンパ腫細胞を低酸素状態(0.1%O₂)で照射し、低酸素状態でコロニー形成させたところ、常酸素状態(5%O₂)で照射した場合と類似の生存率曲線が得られ、酸素効果比(OER)は僅か1.2であったと報告している(図1)⁶⁾。このとき、低酸素状態で照射した後、常酸素

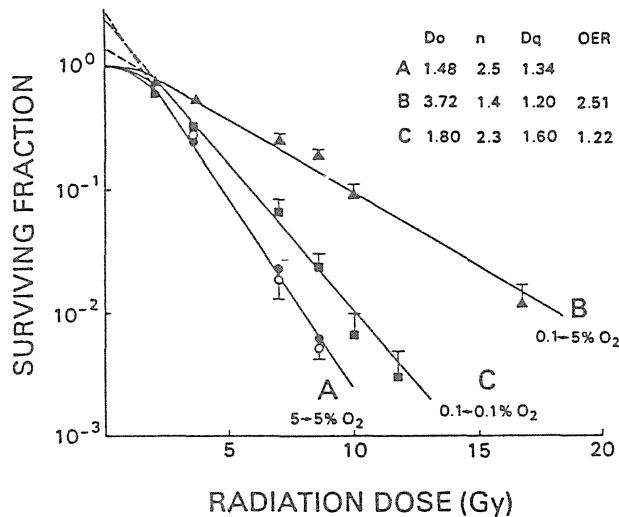


図1 低酸素下でコロニー形成させた場合の放射線感受性
 Radiosensitivity of Ehrlich ascite cells cultured under hypoxic condition.
 培養エールリヒ腹水腫瘍細胞を0.1%酸素下で照射して、0.1%酸素下でコロニー形成させる(C)と、5%酸素下でコロニー形成させた場合(B)よりも放射線高感受性になる(V. Gupta et. al. 1986より引用)。

状態でコロニー形成させるという通常の方法ではOERが2.9であった。この報告をin vivoに外挿しても考えてみると、腫瘍中に低酸素細胞が含まれていても、再酸素化しない限り放射線抵抗性要因にならないことになるが、今後の検討が期待される。

多細胞スフェロイドは外層から内層に向かって酸素分圧が低下している。生体染色剤Hoechst 33342とFacs cell sorterを用いると、スフェロイド(~700μm)の外層と内層の細胞を分離収集できる。DurandはV79スフェロイドを放射線照射した後、Cell sortingし、コロニー形成による細胞生存率を調べているが、その結果は予想に反して、酸素分圧の高い外層細胞の方が内層細胞よりも放射線低感受性であるという(図2)⁷⁾。酸素効果比は内層も外層も略々2.8と同じであるが、SH基は外層の方が多い。細胞分裂は外層が盛んであり、内層では殆どG1期のみのresting stageになっている。内層細胞は長時間低酸素状態、すなわちchronic hypoxiaになっている。V79細胞の単層培養では、急性のhypoxiaでは放射線抵抗性になることから考えて、chronic hypoxiaとacute hypoxiaでは放射線感受性が全く異なっていると考えられる。

最近サンドウィッチ培養法が開発された。2枚のスライドガラスを平行に置き、その間に細胞を培養すると、培養液に近い外層と中心部内層との間に酸素分圧や栄養物質の不均質勾配が生じる。Hlatlyらはラットグリオーマ9L細胞をサンドイッチ培養し、1枚のスライドガラスを

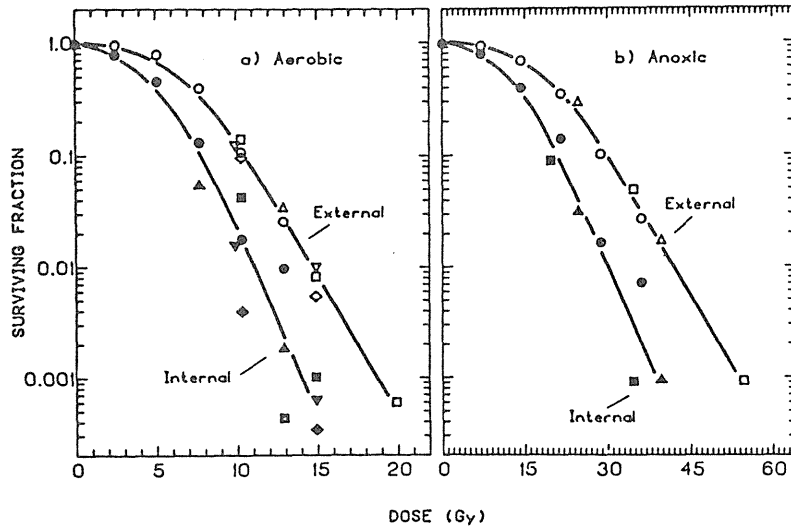


図2 多細胞スフェロイドの内側および外側細胞の放射線感受性
 Radiosensitivities of inner and outer-layer cells in V79 spheroids.
 チャイニーズハムスターV79細胞をスフェロイド状に培養し、酸性下(a)或いは無酸素下($O_2 > 30\text{ppm}$)(b)で照射した。Hoechst 33342で生体染色した後、トリプシン処理して一定の蛍光量を発する細胞の放射線感受性を調べた。蛍光量の少ないスフェロイド内側の細胞の方が蛍光量の多いスフェロイド外側の細胞よりも放射線高感受性である。(R. E. Durand 1983 より引用)。

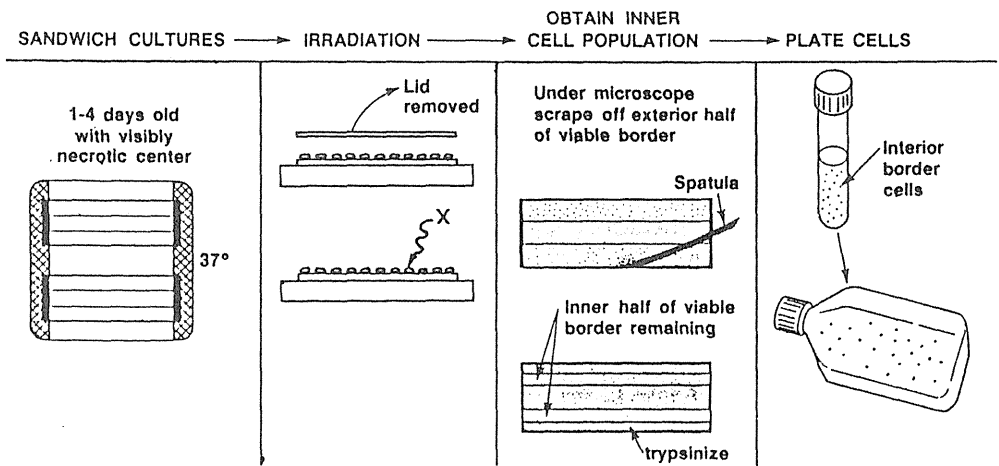


図3 サンドウィッチ培養法
 Sandwich culture method.
 ラット 9 L 神経膠芽細胞腫をガラス板とカバーガラスとの間にできた $150\mu\text{m}$ 深さの空隙中で培養すると、数日中に中央に壊死部をもった平板状の細胞集団になる(図左)。照射直前にカバーガラスをはずすことにより、この細胞集団の酸素分圧は均一にできる(図中央左)。照射後外側或いは内側の細胞を別々に集め(図中央右)、コロニー形成法により放射線感受性を求めることができる(図右)。(L. Hlatky et. al. 1986より引用)。

外して全細胞をoxicな状態にしてすぐに照射した(図3)。すなわち、照射時点では全細胞が常酸素状態になっているわけである。照射後に外層と内層を機械的に分離して生存率を調べたところ、内層の細胞の方が放射線低感受性であったという⁸⁾。9L細胞の単層培養では、confluent状態の方が対数増殖期よりも放射線低感受性であることから、サンドウィッチ培養の内層細胞で得られた放射線低感受性はCell cycleによるものと考えられるが、今後の検討が必要であろう。

スフェロイドの系ではchronically hypoxic cellsを照射しているが、サンドウィッチ法ではchronically hypoxic cellsをrexygeneteしてから照射している点が異なるので、両系の間に認められた相違、すなわち、内層のchronically hypoxic cellは放射線高感受性か低感受性か、という問題は今後検討されるべき問題として残されている(表2)。

3. in vivo腫瘍中の低酸素細胞を分離する方法

腫瘍が低酸素状態になる理由は、以下のように説明されてきている。すなわち、赤血球から放出された酸素が組織中へ拡散することにより組織内酸素分圧が保たれている。拡散には限度があり、血管から100~150 μ m以上離れたところでは酸素分圧が低下して、低酸素状態になり、腫瘍低酸素細胞が出現する。以上の説明は、組織内の酸素分子の拡散に限界があるために、慢性的な低酸素状態(chronic hypoxia)になる。すなわち、diffusion-limited hypoxiaという考えである。これに対して、腫瘍血管は常時血流を一定に保っているのではなく、一時的に閉じたり、開いたりして、動的に変化する、という考えがBrownにより提唱された⁹⁾。一時的に閉じた血管周囲の腫瘍細胞は急性低酸素状態(acute hypoxia)になるわけであり、時間が経過すれば血管の開通とともにrexygenateされるわけである。この低酸素状態は、血流遮断により引き起こされるのでperfusion-limited hypoxiaと呼ばれる(表3)。perfusion-limited hypoxiaの存在

表3 腫瘍細胞への酸素供給と低酸素細胞

Diffusion Limited hypoxia (chronic hypoxia)と Perfusion Limited hypoxia (acute hypoxia)の 両者が低酸素細胞をもたらす。
--

を間接的に証明したデータが最近報告されている¹⁰⁾。Chaplinは生体染色剤Hoechst 33342を担癌マウスに静脈内投与し、腫瘍血管に近い細胞は遠い細胞より多量の蛍光色素を取り込むことを利用して、cell sorterで細胞分離を行った。in vivoで放射線照射した後、sortingし、in vitroでコロニー形成させ、生存率を調べたところ350mg以下の腫瘍では蛍光量の多い細胞、すなわち血管に近い細胞の方が蛍光量の少ない細胞より放射線高感受性になっていた、という(図4a)。腫瘍の大きさが600mg以上になると、蛍光量と放射線感受性の相関はなかった、としてperfusion-limited hypoxiaの存在を示唆している。一方、同じ600mg以上の腫瘍でも、Hoechst

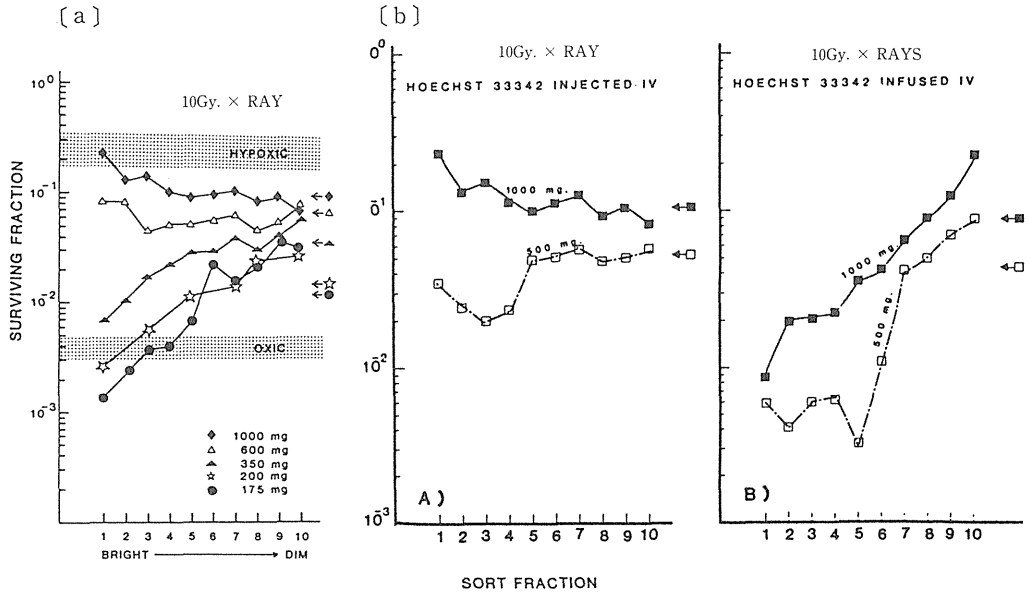


図4 腫瘍血管からの距離と細胞の放射線感受性

Dependence of radiosensitivity on cell position relative to blood vessels.

担癌(SCCV11扁平上皮癌)マウスにHoechst 33342を静注し、20分後に腫瘍を摘出し、トリプシン処理により単一細胞とする。血管からの距離に応じて細胞内の蛍光色素量が異なり、血管に近い細胞程蛍光量は多い。蛍光量の違いに応じてセルソーターで分画し、コロニー法で細胞生存率を調べた。(a)Hoechst 33342の瞬間投与。小さな腫瘍(●, ☆)では蛍光量の多い程放射線高感受性であるが、腫瘍が大きくなる(△, ◆)と蛍光量と放射線感受性の間に相関はない。(b)Hoechst 33342の持続投与。照射時間中に蛍光色素を持続的に投与した場合、図中(B)のように大きな腫瘍でも蛍光量に応じた放射線感受性の違いが認められた(D. J. Chaplin et. al. 1986より引用)。

33342を照射中持続投与しておくとも蛍光量と放射線感受性の間に正の相関が認められ、照射中に腫瘍血管の開閉が起こったことを示唆する(図4b)。Chaplinの開発した方法により、in vivoの腫瘍から低酸素細胞を分離することが可能となったわけだが、今後この方法の妥当性について検討する価値は充分にあると考える。

4. fractional hypoxiaとincomplete hypoxia

低酸素細胞に関する私達の研究は、低酸素細胞の出現機構が2種類あることを示している。以下では、その内容について述べることにする。C3Hマウス由来の線維肉腫NFSaおよびR1137を用いた¹¹⁾。NFSa腫瘍は10%の低酸素細胞分画(hypoxic fraction)を含有しており¹²⁾、misonidazole投与によりこのhypoxic fractionは完全に消失する(図5)。腫瘍が大きくなり直径15乃至20mmになった場合にはhypoxic fractionが更に増大している。一方、R1137腫瘍は特殊な性質を具えており、NFSa腫瘍について調べたと同一条件で実験してみても、低酸素細胞分画が全く認められない(図6)。またmisonidazoleを投与してもまったく増感効果が得られない。すなわち、hypoxic fractionは検出限界内では認められない。腫瘍径が増大してくると放射線感受性

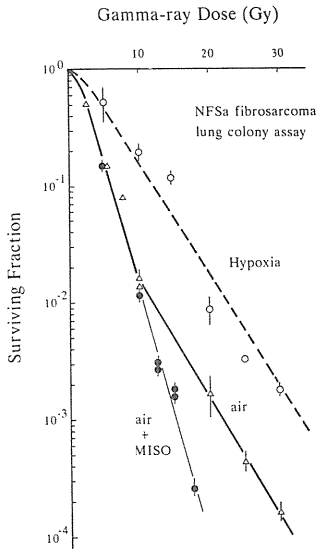


図5 マウスNFSa線維肉腫中の低酸素細胞
 Hypoxic fraction in the NFSa fibrosarcoma.
 担癌マウスの腫瘍(7~8mm径)を照射した後摘出して、新しいマウスに一定数の細胞を静注し、肺でのコロニー形成能を調べた(肺コロニー法)。マウスが空気呼吸下で照射されたとき、腫瘍中には約10%の放射線抵抗性分画があり、照射前にMisonidazoleを投与しておくで増感されることから、この分画は低酸素細胞であると考えられる。(安藤ら未発表データ)

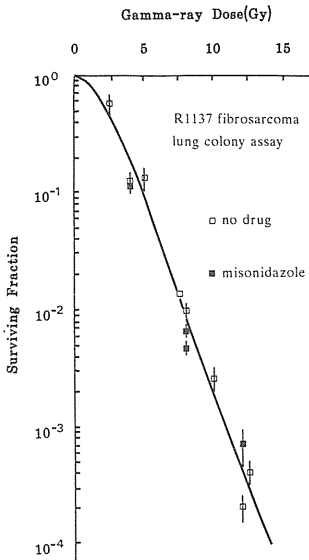


図6 マウスR1137線維肉腫の細胞生存率曲線
 Cell survivals of the R1137 fibrosarcoma.
 図5と同様な方法でR1137腫瘍の放射線感受性を調べたが、Misonidazoleで増感される低酸素細胞分画は認められない。(安藤ら未発表データ)

は低下しはじめるが、NFSa腫瘍で認められたようなhypoxic fraction, すなわち放射線抵抗性の分画は、R1137腫瘍では検出されない。しかし、直径が15乃至20mmとなったR1137腫瘍担癌マウスにmisonidazoleを投与すると、細胞生存率曲線の傾きは急峻となり、misonidazoleによる増感作用は明白に認められた(図7)。すなわち、R1137腫瘍は放射線抵抗性の低酸素細胞を含むが、細胞生存率では分画(hypoxic fraction)を形成しない。私達の考えでは低酸素細胞の出現機構に2種類あり、一つは放射線抵抗性分画を形成させ、他方は、腫瘍全体を不完全・部分的に低酸素状態にさせる。勿論、この二つの機構が同一腫瘍中で作用している場合もあるだろう。NFSa腫瘍のようにhypoxic fractionを形成する低酸素細胞をfractional hypoxia, R1137腫瘍のように不完全・部分的な低酸素状態にある細胞をincomplete hypoxiaと呼ぶことを提唱する

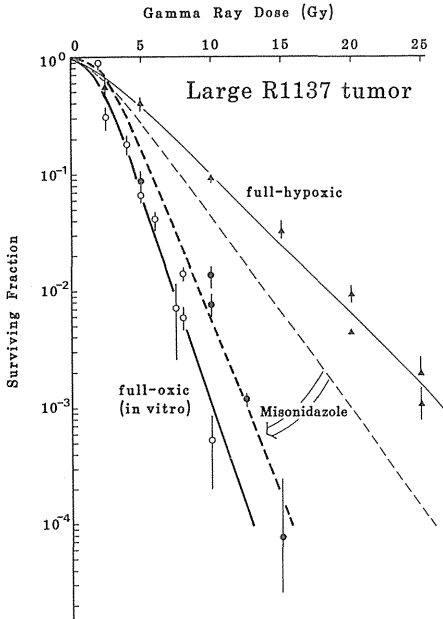


図 7

大きなR1137腫瘍の放射線感受性
 Radiosensitivity of the large R1137 fibrosarcoma.
 15ないし20mm径に達したR1137腫瘍を照射すると、腫瘍細胞の D_0 値が大きくなっていく(図中細い破線)が、低酸素細胞分画は認められない。Misonidazoleを投与しておくとも D_0 値は小さくなるので、大きなR1137腫瘍中には分画を形成しない低酸素細胞が含まれていることが示唆される。▲；担癌動物を照射前屠殺して十分に低酸素状態になっている腫瘍，○；in vitroで充分Oxicにされた腫瘍細胞。(安藤ら未発表データ)

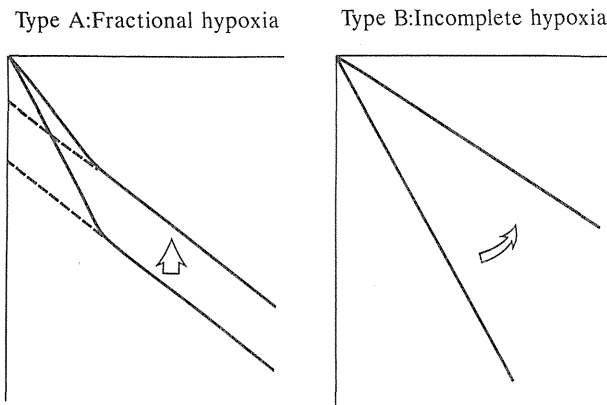


図 8 腫瘍低酸素細胞の出現機構に関する作業仮説

Two types of tumor hypoxia : Working hypothesis.
 腫瘍低酸素細胞は、生存率曲線上で放射線抵抗性分画を形成して生存率曲線を二相性(Oxicとhypoxic fractions)として表現する場合(A)と生存率曲線上に分画を形成せず、感受性の平均値 D_0 を増大させる場合(B)とがある。私達は前者をfractional hypoxia、後者をincomplete hypoxiaと呼んでいる。

(以前にはこれをtotal hypoxiaと呼んだが、これだと完全にhypoxia—すなわちanoxiaと誤解されるので、このようにした)(図 8)。fractional hypoxiaとincomplete hypoxiaが前述のperfusion—limited hypoxiaとdiffusion—limited hypoxiaにそれぞれ相当するのではないかとと思われるが、これについては現在検討中である。perfusionは腫瘍内血流状態により限定される。私達は前述のNFSa腫瘍とR1137腫瘍の血流状態についてガドリニウム—DTPAを造影剤として用いてMRI(核磁気共鳴画像)法により検討した¹³⁾。その結果、NFSa腫瘍はR1137腫瘍より血流量が少ないことが明らかとなってきている(図 9)。

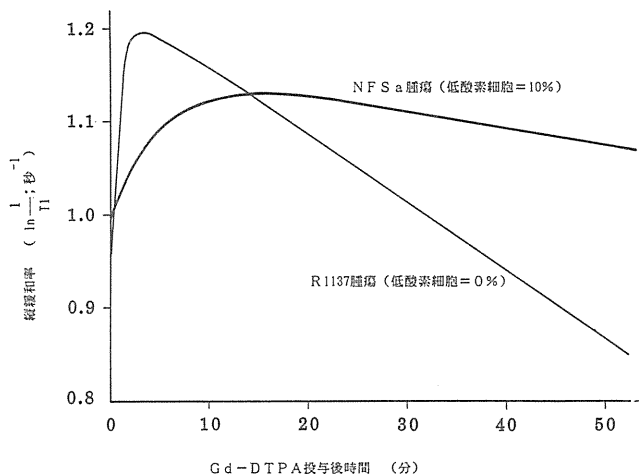


図9 NMRによる腫瘍血流動態の解析

Tumor blood flow measured by NMR.

ガドリニウムキレート化合物のGd-DTPAを担癌マウスに静注し、経時的に腫瘍中の水素原子の縦緩和時間($1/T_1$)を測定した。低酸素細胞を含む腫瘍ではGd-DTPAの腫瘍内流入・腫瘍外流出が遅く、血流が少ないことが示唆される。(H. Ikehira et. al. 1988より引用)

参考文献

- 1) 近藤宗平：分子放射線生物学，東京大学出版会，1972
- 2) Sonntag, C. Von, : The Chemical basis of Radiation Biology. Taylor & Francis, 1987
- 3) Sutherland, R., Freyer, J., Mueller-Klieser W., et al : Cellular growth and metabolic adaptations to nutrient stress environments in tumor microregions. *Int. J. Radiation Oncol. Biol. Phys.* **12**, 611-615, 1986
- 4) Rice, G.C., Hoy, C. and Schimke, R.T. : Transient hypoxia enhances the frequency of dihydrofolate reductase gene amplification in chinese hamster ovary cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **83**, 5978-5982, 1986
- 5) Probst, H., Schiffer, H., Gekeler V. et al : Oxygen dependent regulation of DNA synthesis and growth of Ehrlich ascites tumor cells in vitro and in vivo. *Cancer Res.* **48**, 2053-2060, 1988
- 6) Gupta, V., Rangala, N.S. and Belli, J.A. : Enhancement of radiation sensitivity by post radiation hypoxia. *Radiat. Res.* **106**, 132-136, 1986
- 7) Durand, R. : Oxygen enhancement ratio in V79 spheroids. *Radiat. Res.* **96**, 322-334, 1983
- 8) Hlatky, L., Alpen, E.L. and Yel, M.K. : Differences in X-ray sensitivity of cells in different regions of the sandwich, a diffusion-limited system for cell growth. *Radiat. Res.* **108**, 62-73, 1986
- 9) Brown, J.M. : Evidence for acutely hypoxic cells in mouse tumours, and a possible mechanism of reoxygenation. *Br. J. Radiol.* **52**, 650-656. 1979
- 10) Chaplin, D. J., Durand, R. E., and Olive, P. L.: Acute hypoxia in tumors: Implications for modifiers of radiation effects. *Int. J. Radiation Oncol. Biol. Phys.* **12**, 1279-1282, 1986.
- 11) Ando, K., Koike, S., Shikita, M., Hayata, I., Ohtsu, H. and Satoh, S. : Radiosensitivity of late recurrences following radiotherapy of murine fibrosarcomas. *Radiat. Res.* **113**, 334-345,

1988

- 12) Ando, K., Koike, S., Fukuda N., and Kanehira, C. : Independent effect of a mixed-beam regimen of fast neutrons and gamma rays on a murine fibrosarcoma. *Radiat. Res.* **98**, 96-106, 1984
- 13) Ikehira, H., Yamane, T., Fukuda, N., Ando, K., Aoki, Y., Koike, S., Endo, M., Matsumoto, T., Iinuma, T., Fukuda H., and Tatenno, T. : Fundamental tumor perfusion analysis with nuclear magnetic resonance imaging using gadolinium diethylene triamine pentaacetic acid. *Am. J. Physiol. imaging* **3**, 7-9, 1988

3 放射線とがん転移

鈴木 紀 夫*

Radiation Effect on Cancer Metastasis

Norio Suzuki

Faculty of Medicine, University of Tokyo
7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 Japan

Abstract

Various problems and pitfalls in studying metastatic processes and in clarifying important factors involved are discussed with brief overview on historical and current experimental studies. The main subjects included are artificial lung metastasis through i.v. injection VS spontaneous lung metastasis, blood borne tumor cells, clonogenic tumor cell release assay, effect of irradiation of tumors and lung tissues on metastasis, and what is elucidated from these works for clinical use.

要旨：がん転移の生物過程とそれに重要な因子の解明，さらにはがん治療に有用な情報をうるための研究，例えば放射線や薬剤の転移への影響の解析に際し，問題となる点について考察した。人工的肺コロニー形成能定量，自然肺転移能定量，血中腫瘍細胞，コロニー形成能のある腫瘍細胞の血中への遊出率定量などに関し，最近の結果と過去のいくつかの研究の簡単な総括を含めて論じた。

* 東京大学医学部

1. はじめに

がん治療における放射線治療の占める割合は過去30年間にその重要性が大きく増大し、欧米においては、がん患者の半分以上はどこかで放射線治療のやっかいになるようになった。日本では新しい放射線医療機器・線源の導入は盛んであったけれども放射線治療を支える体制(研究, 治療医, パラメディカルの養成)の整備が遅れている。体制整備の面では残念ながら米国の1960年代末期に近く、これから一層発展させるべき分野の一つと思われる(以上、筆者がたまたま10年余の滞米から数年前帰国して受けた印象)。日本の放射線生物研究体制をみても Man Powerと資金の不足をはじめこれから発展させるべきところが多い。特に人口の老齢化によりがん患者の発生数が現在の2倍近くになることが予想されることを考えると体制の整備は重要である。

がん死亡をおしなべてみるとその2/3は転移を制御できないことが主として原因となっている。このような重要性にもかかわらず、問題のむずかしさから転移の研究は不十分で散発的な研究が多かった。昔から放射線や薬剤または外科手術によりかえって転移が促進されるのではないかという危惧をいだいた研究者もあり、それを裏付けるかのような臨床のCase Reportや動物実験研究もある。もちろんそれを否定する研究報告もある。いずれも情報が十分でないため結果の解釈もむずかしく実際に役立つ原理原則を導き出すところまで至っていない。転移のそれぞれの過程について転移の予防・治療のための基礎研究が重要である。転移巣の治療では広範囲の正常組織が含まれると、必要十分な放射線または薬剤の投与ができないことが多い。従って転移の予防またはできるだけ早期の治療が望ましい。筆者が滞米中より継続発展させている転移に関する研究は、腫瘍細胞の原発腫瘍巣から循環系への遊出、二次巣での着床・増殖の各過程の定量法の開発やこれらの方法を使って転移過程の定量的解析および、これらの過程を抑制または促進する因子の解明、これらの過程の放射線や薬剤に対する感受性の決定などを目的としてきた。この小文では複雑な転移の過程の生物学の背景について放射線治療の基礎という視点から問題点を含め紹介する。

2. 転移過程の生物学・放射線影響

通常、がん転移の過程をlocalのtumorの増殖と周囲への侵潤により脈管内へ入るステップ、循環系にのって転送するステップ、二次巣となる器官の毛細血管に定着成長するステップに分けて考察する。転移の過程に関与する因子に関し多くの研究がなされてきたが、腫瘍細胞自身の因子、Hemostasisや免疫といったHost側の因子、薬剤、放射線、診断や外科治療といったTherapeutic因子の3グループに大別される。

放射線治療が転移を誘発するか抑制するかは放射線治療が始まった初期からがん治療医の心のどこかにいつも問題としてあった¹⁾。原発腫瘍部を照射することにより誘発する可能性、血流中のリンパ球他を減少させる等による影響、治療中に照射野に入った組織(たとえば乳がん治療

の際の皮膚、肺、原発巣周囲のリンパ節など)に転移を誘発する可能性などが考慮され、多くの実験的、臨床的研究が散発的ではあるが報告されてきた¹⁻²⁾。実験的研究では、尾静脈に腫瘍細胞を注入して肺結節の形成過程を観察するという方法(人工的方法)によると、肺や全身の前照射により肺結節形成が増加するという報告が主として1970年代の前半に多く出された³⁻⁵⁾。しかし、その後、下肢に移植された腫瘍から肺に転移するという自然により近い方法(自然的方法)で比べると全く違った結果と結論がでる場合があることが分かって来ており、混乱を起こす原因ともなってきた。両方法による比較で一つの腫瘍系からえられたサブクローンの転移能がまったく逆の結果になる場合も分かってきた⁶⁾。主病巣の腫瘍の増殖による宿主の変化や腫瘍が血中に入るプロセス無しに突然健康なマウスに腫瘍細胞を静注する人工的静注法が違った結果を呈するのは当然かもしれない⁷⁾。静注法に依存したために二次巣での転移性のVariant細胞の選択⁸⁾という側面が過度に強調されたきらいがある^{7,9-12)}。静注法で選択された臓器依存性腫瘍細胞を動脈から注入するとまったく違った臓器分布をすることも報告されている。どんな実験でも必ず実験条件とそれに由来する制約があるが、結論とその解釈が1人歩きして不注意に拡大解釈がされることがある。いくつかの腫瘍系のうち免疫原性のある系(特に化学発がん剤やUV照射により誘発された腫瘍由来の系など)では肺や全身の前照射により静注法(人工的方法)による肺結節形成はあきらかに上昇することが多い。しかし、自然的方法で調べると肺転移は上昇しないことも多い。一方、免疫原性のほとんどみられない自然発生由来の腫瘍系では免疫原性のある腫瘍系でみられた肺や全身の前照射による静注法肺結節数の増加に相当する効果がいずれの方法でもみられないことも多い。

血中に存在する腫瘍細胞に関する研究もいくつかある。1960年前後、あしかけ20年に及び、がん患者の血中に存在する腫瘍細胞を顕微鏡で同定し、患者の予後・転移の発生との関係を調べる研究が多く行われたが¹³⁾、当時の方法では患者の予後との関係づけは証明されなかった。転移に有利なVariant細胞が選択されるので単なる血中腫瘍細胞の存在は意味がないのだと考える研究者もいたが、一方、患者の少量の抹消血に頼らざるをえず、腫瘍細胞の生き死にも分からず同定も不確かで、定量性も欠如していたなど方法上の問題点に原因があったとも考えられた。これらの問題を解明するため二つの方法が開発された。一つは、遠心分流法による生きている血中腫瘍細胞の精製と定量的測定¹³⁾であり、もう一つは血中への生きている腫瘍細胞の遊出率の定量法(Clonogenic Tumor Cell Release Assay : CTCR assay)¹⁵⁾である。遠心分流法は血中にたまたま存在する腫瘍細胞数を定量し解析できるのに対し、CTCR assayは生きている腫瘍細胞が血中へ入る率(単位時間当たりの数)を測定できる。

ここではCTCR assayについて簡単に説明する(図1)¹⁶⁾。マウスの足に移植された腫瘍がある程度増殖したところで、胸部を高線量(例えば100-150Gy)のX線照射し、すでに肺に転移増殖しているかもしれない腫瘍細胞を殺す。20時間後(その間に新たに血中へ遊出した腫瘍細胞が肺にトラップされる)に肺を取り出し、こまかくし、酵素処理をして細胞組織浮遊液をつくる。これをディシュカフラスコに入れ、37°C CO₂ Incubator中で培養する。肺にトラップされた腫瘍

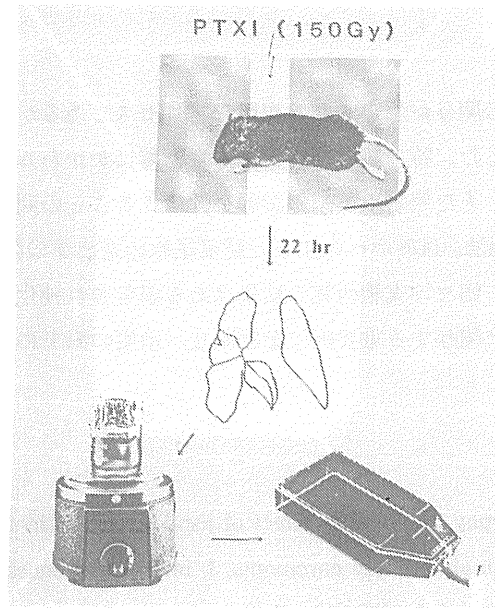


図1 Lung mediated CTCR assay

細胞がColonyをつくる(肺の正常細胞は大線量で照射されておりColonyをつくらない)。この方法により、ある因子が腫瘍細胞遊出を促進するか抑制するか定量できるようになった。まずいくつかの腫瘍系でCTCR率が高いほど転移の頻度も高いことがわかった。ただし、免疫原性のある腫瘍系では一旦遊出した腫瘍細胞の多くが殺され、最終的な転移頻度は非常に少なくなることも分かった^{15,16)}。

主病巣での腫瘍の照射が血中への腫瘍細胞の侵入を誘発するかどうかであるが、われわれのCTCR assayのデータ¹⁷⁾を含め、放射線照射は抑制的に働くと考えてよい。ただ免疫原性のある腫瘍系についてはデータが不十分である。リンパ系への腫瘍細胞の侵潤に関しても限られた数の報告で一般化できる十分な情報はない。線質の違い、照射法の違い(種々の分割照射など)、薬剤併用、温熱などが及ぼす転移への影響についても、不十分なデータしかないのが現状である。

照射の影響のまとめとして、現在分かっているデータを総合すると十中八、九以上は照射により転移は抑制されると考えてよいと思われ、診断が確定すれば治療の選択または待機中になるべく早期に転移予防的なLocal照射を始める方向の研究をすべきと考えられる。この照射がどの程度であるべきか、また数パーセントかもしれない悪影響の可能性のあるCaseがあるとしたらそれをどのようにして見分けるか研究されるべき問題である。なお、Micrometastasesまたは二次巣の予防的照射も実験研究が不足している分野である。

3. おわりに

この小論では、多因子の関与が想定される複雑なプロセスであるがん転移について、生物学的な背景と問題点を考察した。特に部分的な実験から転移にかかわる重要な因子を解析したり、転移全体を総合すること、また照射や薬剤の影響を評価することの問題点について人工的肺コロニー法、自然肺転移計測法、血液中への生きた腫瘍細胞の遊出率の測定法(CTCR assay)などの研究例をあげて論じた。個々の実験研究の結果はある限定され純化された条件下での結果であり、生体で起こる転移に関与する重要因子を解明し、治療の向上に有用な情報を得ることは容易でない。

参考文献

- 1) Kaplan, H. S. and Murphy, E. D. : The effect of local Roentgen irradiation on the biological behavior of a transplantable mouse carcinoma. I. increased frequency of pulmonary metastasis. *J. Natl. Cancer Inst.*, **9**, 407-413, 1949.
- 2) Dao, T. L. and Yogo, H. : Enhancement of pulmonary metastases by X-Irradiation in rats bearing mammary cancer. *Cancer.*, **20**, 2020-2024, 1967.
- 3) Peters, L. J., Mason, K. A. and Withers, H. R. : Effect of lung irradiation on metastases : radiobiological studies and clinical correlations. In : R. E. Meyn and H. R. Withers(eds). *Radiation Biology in Cancer Research.*, 515-529, 1980.
- 4) Brown, J. M. : The effect of lung irradiation on the incidence of pulmonary metastases in mice. *Br. J. Radiol.*, **46**, 613-618, 1973.
- 5) Withers, H. R. and Milas, L. : Influence of preirradiation of lung on development of artificial metastases of fibrosarcoma in mice. *Cancer Res.*, **33**, 1931-1936, 1973.
- 6) Suzuki, N., Williams, M. and Hunter, N. M. et al. : Malignant properties and DNA content of daughter clones from a mouse fibrosarcoma : differentiation between malignant properties. *Br. J. Cancer*, **42**, 765-771, 1980.
- 7) Suzuki, N. : Variant selection and blood-borne "clonogenic" tumour cells in metastasis of FSA cell clones. *Br. J. Cancer*, **48**, 827-833, 1983.
- 8) Fidler, I. J. : Selection of successive tumour lines for metastasis. *Nature* [New Biol.] **242**, 148-149, 1973.
- 9) Giavazzi, B., Alessandres, G. and Spreafico, E. et al. : Metastasizing capacity of tumor cells from spontaneous metastases of transplanted murine tumours. *Br. J. Cancer*, **42**, 462-472, 1980.
- 10) Mantovani, A., Giavazzi, R. and Alessandre, G. et al. : Characterization of tumor lines derived from spontaneous metastases of transplanted murine sarcoma. *Eur. J. Cancer*, **17**, 71-76,

- 1981.
- 11) Stackpole, C. W. : Distinct lung-colonizing and lung-metastasizing cell populations in B16 mouse melanoma. *Nature*, **289**, 798-800, 1981.
 - 12) Sweeney, F. L., Pot-Deprun, J. and Poupon, M. D. et al. : Heterogeneity of the growth and metastatic behavior of cloned cell lines derived from a primary rhabdomyosarcoma. *Cancer Res.*, **42**, 3776-3782, 1982.
 - 13) Goldblatt, S. A., and Nadel, E. M. : Cancer cells in the circulating blood, a critical review II. *Acta Cytol.*, **9**, 6-20, 1965.
 - 14) Suzuki, N. : Centrifugal elutriation and characterization of tumor cells from venous blood of tumor-bearing mice : Possible relevance to metastasis. *Cancer Res.*, **44**, 3505-3511, 1984.
 - 15) Suzuki, N. : New method to quantitate clonogenic tumor cells in the blood circulation of mice. *Cancer Res.*, **43**, 5451-5455, 1983.
 - 16) Suzuki, N. : "Treatment of metastasis : problems and prospects" (Hellmann, K. and Eccles, S. A. Eds.) Taylor & Francis, London, p.287-290 (1985). "Clonogenic" tumor cell release assay (CTCR assay) : Possible relevance to metastasis and its treatment.
 - 17) Suzuki, N. : Radiation response of "Clonogenic" tumor cell release from NFSA2ALM1 tumors. *Radiat. Res.*, **98**, 649-655, 1984.

VII 重粒子線研究の期待と展望

1 中性子線治療から重粒子線治療へ

森田新六／恒元 博／佐藤真一郎／熊谷和正

2 陽子線治療と重粒子線治療

辻井 博彦

3 重粒子線物理学から

川島 勝弘

1 中性子線治療から重粒子線治療へ

森田新六*/恒元 博*/佐藤真一郎*/熊谷和正*

Particle Radiotherapy, Neutrons for Heavy Ions.

Shinroku Morita, Hiroshi Tsunemoto, Shinichiro Sato and Kazumasa Kumagai.

Division of Hospital, National Institute of Radiological Sciences.

9-1, Anagawa 4-chome, Chiba-shi, 260 Japan

Abstract

Clinical results of fast neutron therapy were evaluated to study about the indication of heavy ion radiotherapy by HIMAC at 1993. A total 1686 patients suffered from advanced and/or radioresistant malignancies in various sites were treated by 30 MeV d-Be neutrons during the past 13 years.

Fast neutron is characterized as high LET radiation, such as oxygen effect in biological advantages, but there is no advantages in dose distribution which is characterized in proton radiotherapy. Such clinical results as follows were obtained : 1) neutrons were effective for advanced parotid tumor, Pancoast type lung cancer, radioresistant osteosarcoma, softtissue sarcoma or malignant melanoma. 2) Neutrons should be effective for these cancers, head and neck, uterine cervix, esophagus, lung or prostate, if the dose distribution is more improved than now. The diseases indicated for heavy ions radiotherapy must be decided in reference with the results of neutrons trial and also protons therapy, because heavy ions radiotherapy has the both biological and dose distribution characteristics. In addition to above mentioned diseases, such as follows are also

* 放射線医学総合研究所

indicated for heavy ions radiotherapy ; ocular malignancies, tumors close to the spinal cord or base of the skull, hypophysen tumor etc.

はじめに

放医研医用サイクロトロンを用いた速中性子線による癌の治療は昭和50年より開始され、すでに13年間の治療実績ができた。これを5年後に開始されるHIMAC重粒子線治療にどのように結びつけていかねばならないか、重粒子線治療は現行の放射線治療に比べると、治療計画、照射技術、臨床経過観察のどれをとっても、はるかにむずかしいものであろう。しかも世界中の注目の的であるだけに、十分な準備で対処する責任と義務を痛感している。

癌の治療は理論より実践という臨床医の観点から、速中性子線の生物効果が臨床の治療成績にどれほど寄与したか、線量分布の影響はどれほどか、などの問題を臨床データより解明したいと考えた。

1 速中性子線の生物学的、物理学的特徴

サイクロトロンで電荷をもつ重陽子を30MeVのエネルギーで加速し、ベリリウムターゲットに衝突させ、速中性子線を得る。この平均エネルギーは13MeVであり、高LET(Linear Energy Transfer)放射線としての生物学的特徴をもつ。すなわち(1)酸素効果：低OER(Oxygen Enhancement Ratio)は低酸素圧細胞に対して効果的、(2)放射線損傷の回復抑制：高RBE(Relative Biological Effectiveness)は細胞の亜致死障害からの回復を抑える力の大きいことを示す。

一方線量分布に関する特徴は少ない。深部等線量曲線はCo-60ガンマ線と比べてほとんど変わりなく、最大ビルド・アップは5mm下、10cm深さでの透過率は55%である。側方散乱も同様に多い。しかも治療装置としては、コリメーターが固定一門の垂直ビームで、現在の他の照射機器と比べてとき、斜方向、回転照射などが容易でない不便がある。主として患者を仰臥位、腹臥位にしての対向2門照射と直交2門照射が行われるが、多葉コリメーターやタングステン・ブロックでの照射野の整形は可能である。出来るだけ小さな照射野の使用を心がけている。治療計画通りの照射ができているかどうかの確認はシュミレーターX線と中性子線の重複爆射法によるニュートロン・グラフィーで行っている。

2 速中性子線照射スケジュール

治療のマシントイムは週3回の半日で、他の時間帯はRI生産、物理・生物実験が行われている。

(1)中性子線単独照射の基本線量配分は1回90cGy、週3回、合計1620cGy、18回、6週間である。TDF(Time Dose Fraction)は100で、X線の6000cGyに相当し、正常皮膚の耐容線量にほぼ等しい量である。線量は照射野の大小によって増減され、小(5×5cm²程)ではTDF 120前後、

大(15×15cm²程)ではTDF 80前後が³目安となる。

(2)X線と混ぜて照射する方法にはMixed beam法とboost法があるが、前者は比較的照射野が大きく、中性子線の障害の軽減をはかる必要のある場合と週5回照射を行う場合に、後者は通常X線照射による腫瘍縮小の程度を見ながら、あるいは他施設との共同治療で最初から計画的に、比較的小さな照射野で照射する場合。(3)手術との併用の場合は術後照射でTDF 80、術前照射でTDF 60が³目安となる(表1)。

表1 治療スケジュール
Treatment schedule

Fast neutron alone :	1620 cGy/18f/6w (TDF 100)
Mixed schedule : FN	2 times a week
X	3 times a week
FN boost : X	30-40 Gy+FN
TDF (Time Dose and Fractionation)	
Radical irradiation	TDF
small field (5× 5 cm)	120
medium (10×10 cm)	100
large (15×15 cm)	80
Post ope	80
Pre ope	60

3 症 例

昭和50年11月より63年8月迄に1686例の患者が治療された。放射線抵抗性癌と難治性進行期癌が対象となった。患者は他院であらかじめ診断または治療された後、中性子線治療の適応として紹介されてくる。治療は入院、または外来患者として行われ、終了後は経時的に経過観察される。治療経過は病歴登録用紙に記載され、コンピュータに登録される。昭和63年10月末現在でコンピュータ解析を行えた症例は1256例であった。表2に登録された症例の部位別頻度一覧を示した。頭頸部腫瘍の20.1%と女性生殖器腫瘍の19.8%が多い。骨肉腫や軟部組織肉腫、悪性黒色腫などの放射線抵抗性癌が比較的多いのは中性子線の生物効果の寄与を目的としたものである。

4 治療成績

(1)頭頸部腫瘍：局所制御率でX線治療例との比較をした。上咽頭癌の進行期(T4)症例と、中咽頭癌、声門上部より発生した喉頭癌に中性子線治療の利点が認められている(表3)。下咽頭癌では利点が少なかった¹⁾。

(2)耳下腺癌：中性子線は腫瘍細胞の倍增時間が100日以上におよぶ、非常にゆっくりと増殖す

表2 放医研コンピュータシステムに登録された患者数
Number of patients registered in NIRS computer system
(October, 1988 NIRS)

Sites	No.	(M/F)	%
Head & Neck	253	(182/ 71)	20.1
Female genitalorgans	249	(0/249)	19.8
Lung	119	(91/ 28)	9.5
Esophagus	115	(93/ 22)	9.2
Urinary organ	99	(90/ 9)	7.9
Bone	87	(43/ 44)	6.9
Soft tissue	72	(36/ 36)	5.7
Brain	51	(26/ 25)	4.1
Skin (malig.melanoma)	42	(30/ 12)	3.3
Salivary	39	(20/ 19)	3.1
Pancreas	33	(21/ 12)	2.6
Rectum	22	(13/ 9)	1.8
...			
Total	1256	(686/570)	100.0

表3 頭頸部腫瘍——局所制御と放射線障害
Head & Neck Cancer——Local control and Radiation complication
(1988, NIRS)

Sites	Local control		Complication	
	Neutrons	Photons	Neutrons	Photons
Epipharynx	7/9 (78%)	12/15 (80%)	1/9	2/15
T4	4/6 (67%)	1/3 (33%)		
Mesopharynx	6/7 (86%)	3/6 (50%)	3/7	1/6
Larynx				
Supraglottic	11/13(85%)	25/100(25%)		
Glottic	8/16(50%)	59/104(57%)		
Subglottic	1/2	0/10		

る腫瘍に対して大きなRBEを示すことが判っている²⁾。耳下腺癌はその種の腫瘍であり、中性子線が非常に効果的である。われわれの成績では、全体で77%(27/35)の局所制御率であり、特に手術適応のない進行期例の5例中3例が局所制御され、さらに残る2例中の1例は手術可能となり、切除された組織中に残存腫瘍は認められなかった。ミクロの残存腫瘍が多くみられる術後照射例は14例で、全例、局所再発がない。再発例では63%(10/16)の局所制御が可能であった。

(3)肺癌：早期の1期癌(すべて腺癌)と、3期、4期のパンコスト型肺癌に良好な成績を認めた。共にTDF117の線量(全症例の平均はTDF112)で、1期腺癌は66%の、パンコスト肺癌は42%の局所制御を得た。線量が多ければ、放射線障害が問題になってくるが、1期癌は肺野型で、

しかも、照射野が小さくてすむため、パンコスト型は肺尖部で、照射野が広目でもあまり障害を気にしなくても済むため、あまり重篤な障害は生じていない。いかに中性子線の生物効果が優れているとはいえ、もともと難治癌なので、線量分布が悪くて十分線量の照射が不可能だと、局所治癒は難しい。特に肺門部癌などでは線量分布の重要性が強調されるわけである(表4)。

表4 肺癌——局所制御と放射線障害
Lung cancer——Local control and Radiation complication(1988, NIRS)

Stage	TDF	CR	Complication	
			moderate	severe
I (Adeno ca)	117	6/9 (66%)	7/9 (78%)	0/9
III & IV (Pancoast)	117	11/26 (42%)	9/26 (34%)	15/26 (58%)
Total (I-IV)	112	41/79 (52%)	14/79 (18%)	

(4)子宮頸癌：放医研病院単独でランドマイズ・クリニカルトライアルを行い得た唯一の疾患である。3期扁平上皮癌をMixed beam法の外照射にラルス腔内照射を加えて治療した。局所制御率を腫瘍の大小別で比較すると、速中性子線群とX線群の対比で、大の群(150g)では64%(14/22)と67%(18/27)、中の群(100g)では83%(19/23)と65%(17/26)であった。統計学上の有意差はないが、中の群で多少中性子線の効果を認めている。このことは局所制御に及ぼす中性子線の生物効果の影響がそれほどきわだったものではなく、それよりも腔内照射などの線量分布の影響が強く出ている結果ではないかと考えている。累積生存曲線は中性子線群、X線群まったく差がなく、5年生存率は共に49%であった³⁾。

(5)前立腺癌：この癌は比較的ゆっくりと大きくなるので、中性子線が効果的な疾患の一つである。女性ホルモンが効果的でもあるので治療成績の評価がむずかしいが、累積5年生存率はstage Cで70%(n=18)であった。対向2門照射による線量分布を検討すると、中性子線が脂肪組織によく吸収されるという特徴が効いて、放射線障害としての照射野内皮下脂肪の硬結がきびしかったのは、線量分布の改善に問題を残した。

(6)骨肉腫：放射線抵抗性癌の一つの骨肉腫は速中性子線照射、手術、系統的化学療法という集学的治療で著しく治療成績が向上した。術前照射としての速中性子線の骨肉腫細胞での強力な作用(RBE=5.0)⁴⁾が患肢温存手術と強力な化学療法とで、5年生存率85%(n=20)を可能にした。

一般に放射線抵抗性の骨肉腫、軟部組織肉腫、悪性黒色腫などでは、放射線障害と局所制御の兼ね合いで、速中性子線の効力が今一步及ばず、どうしても最後には手術的切除が必要になる。しかしこの場合の手術範囲は著しく狭められて局所的切除で済み、患肢切断を行わないで良いという利点がある。

5 速中性子線と重粒子線の線量分布の比較

今回の速中性子線の治療成績の検討から、局所制御に影響する因子としては、生物効果よりはむしろ線量分布の重要性が注目された。この点で、生物効果は持たないが線量分布の優れている陽子線治療の臨床結果の検討が待たれるところである。

肺門部に原発巣を有し、縦隔にリンパ節転移を有する症例を例にとって、重粒子線照射における線量分布上の利点を検討した。現行のX線あるいは速中性子線では、対向2門照射で、リンパ節領域を含めた広目の照射野で照射を開始し、最終的には原発巣に絞った状態で治療を終了するという方法を採用している。線量的には縦隔・脊椎にはTDF75前後(この部位の耐容線量の上限)、原発巣にはTDF100前後が照射される(図1)。

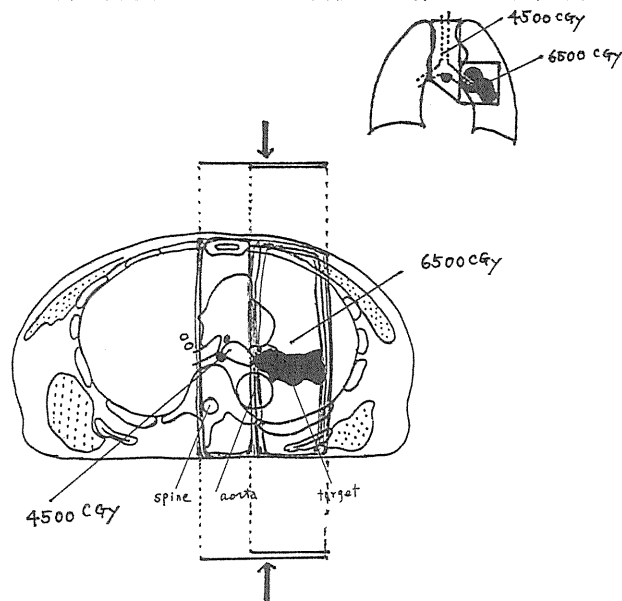


図1 X線照射の線量分布
対向2門照射漸減法
X-ray two opposed portals
shrinking field technique
equally weighted

従って癌制御の観点からは縦隔リンパ節転移や原発巣の癌がこの線量で治癒してくれることが条件で、障害の観点からは、癌の存在しない縦隔や、脊索、肺野への照射は全く不必要であり、この線量でこれらの部位の縦隔炎、脊髄炎、肺炎、線維症が生じないこと、生じても軽症で済むことを願うだけである。

できるだけ照射容積を小さくするために、真横からの照射、斜よりの照射、あるいは運動照射などが試みられるが、透過性の強いX線や中性子線を用いるかぎりでは、限界があると考えられる。

重粒子線(炭素イオン)を用いた場合、垂直ビームと水平ビームでの線量分布を図2に示す。X線CT画像から腫瘍の形状を診断し、これに合わせたポータスを用いることで、線量分布を腫瘍の形状に合わせて作ることができる。これにより原発巣癌には大線量を均等に照射でき、しかし周辺の正常組織の被ばく線量は著しく減少させることが可能になる。

現在建設計画中の重粒子線治療装置では垂直ビームと水平ビームの照射を同一体位で、同一

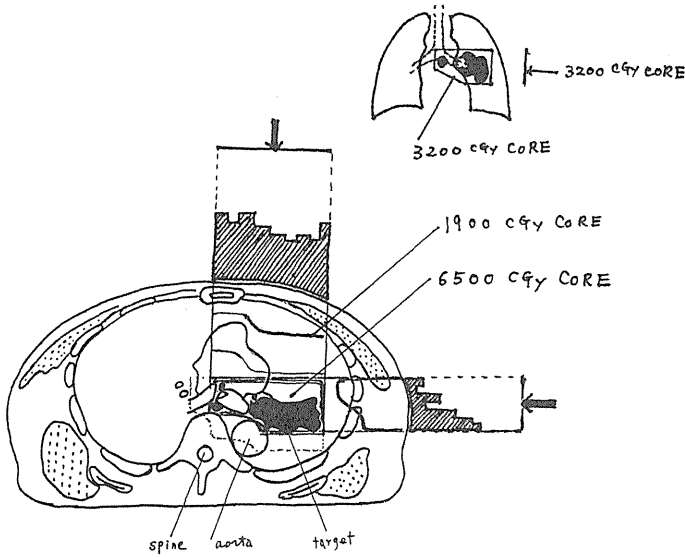


図2 重粒子線照射の線量分布
炭素イオン, 2門照射, 固定楔状フィルター
Carbon ion, two field, fixed ridge filters

焦点で行うことができるので、体位と臓器の位置関係は治療計画通り、正確に再現される。従って精密な照射で、照射線量を著しく増加できれば、障害発生を低く抑えたままで、局所制御率を上昇させることができる。

6 速中性子線照射後に陽子線の追加照射を行った症例の検討

今回の速中性子線治療症例群から重粒子線治療の条件に近い症例を選べば、中性子線の照射後に陽子線のブースト照射を行った症例ということになる。放医研の陽子線のエネルギーは70 MeVと低いので、対象疾患は表在性腫瘍にかぎられるが、これらの症例を検討すると、照射線量が多くなったにもかかわらず、皮膚反応がそれほどひどくはない点が注目される。放射線抵抗性癌の耳下腺癌や悪性黒色腫は局所制御のため手術的切除が行われたが、大きなリンパ節転移例をTDF160で消失させ、しかも皮膚反応が軽度であった事実がある(表5)。

表5 速中性子線照射後に陽子線ブースト照射を行った症例の検討
Analysis of the patients, treated with fast neutrons and proton boost.(1988, NIRS)

Sites	No.	TDF	CR	Salvage ope.	Skin reaction		
					mild	moderate	severe
Parotid	3	113.3	1	2	0	1	2
Malignant melanoma	5	140.2	1	4	0	0	5
Big lymphnode metastasis	3	149.3	3	0	2	1	0
MFH	1	130.0	1	0	1	0	0
Total	12	123.5	6	6	3	2	7

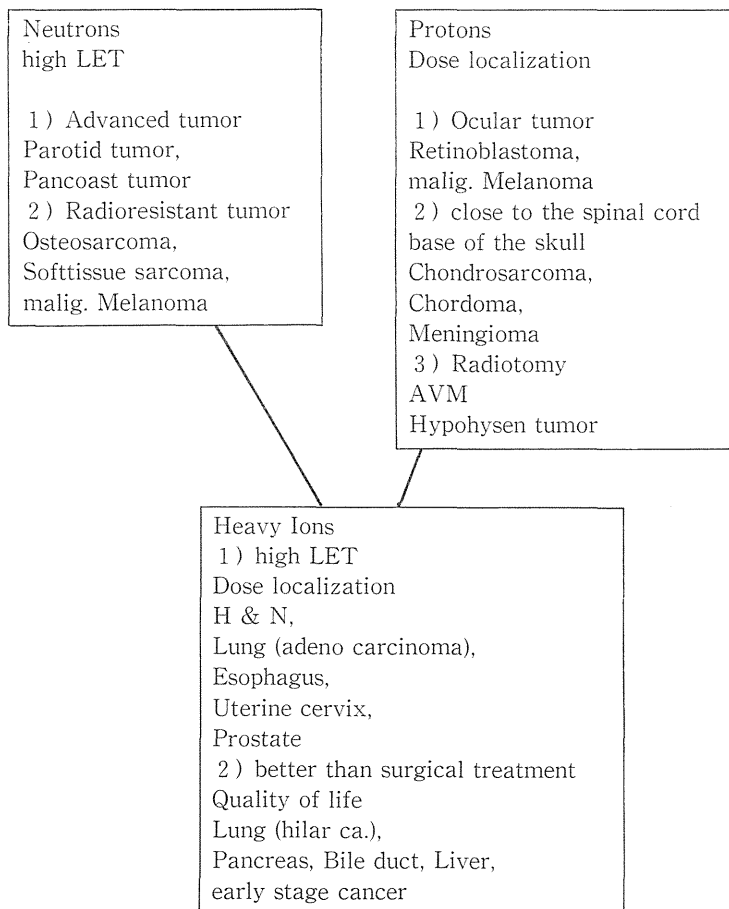
考 察

現在の世界の速中性子線治療の評価を文献的に考察した発表がある⁵⁾。これによれば、(1)速中性子線の効果を認めた臓器癌は、耳下腺癌、前立腺癌、骨肉腫、軟部組織肉腫である。(2) X線の効果と同等と考えられたのが、頭頸部扁平上皮癌、肺癌、膀胱癌、子宮頸部癌であり、(3) 効果なしと判断されたのが、脳腫瘍と食道癌である。今回の成績では頭頸部癌の一部(耳下腺癌など表在性で、十分線量を照射し得た例)、肺癌の一部(パノコスト型、障害をあまり考えずに照射できた例)などで良好な傾向を認めているが、子宮頸癌のランドマイゼーションでは差がなかった。これは深在性の腫瘍では、生物効果の利点を線量分布の欠点で相殺してしまったためである。

速中性子線の生物効果を生かすための上手な照射方法が、症例毎の個別化の治療として成り立つであろう。

結 論(重粒子線治療の適応症例、表6)

表6 重粒子線治療の適応症例



重粒子線治療トライアルの適応症例を決めるには現在の速中性子線治療結果に、陽子線の治療結果を加味しなければならない。アメリカ・ローレンスバークレイ研究所の治療結果も発表されているが、まだ評価するには早すぎる。現在の陽子線適応疾患は、眼球腫瘍(メラノーマと網膜芽細胞腫)、頭蓋底や脊椎に隣接している脊索腫、軟骨肉腫、あるいは下垂体腫瘍、AVM(intracranial arterio venous malformation, 頭蓋内動静脈奇型)などである。速中性子線の高LET放射線としての特徴、陽子線の線量分布の特徴を合せもつ重粒子線照射は治療計画、照射技術で格段の正確さ、慎重さを必要とする。しかしそれだけに局所治癒率の著しい向上が期待できる。したがって適応症例も(i)生物効果と線量分布の改善で、頭頸部腫瘍の全部、肺腺癌、食道癌、子宮頸癌、前立腺癌などが、(ii)手術療法との対比の上で、患者のより良い社会復帰を考えれば、肺門部扁平上皮癌、肝、膵、胆道癌、あるいは更に考えを飛躍させれば、あらゆる早期癌が、対象になると考えられる。これが単なる期待に終ることなく、実現できる能力と実行力を持つことが、放射線治療の発展に大きく貢献することになると確信する。

参考文献

- 1) 鎌田信悦：頭頸部癌に対する速中性子線ブースト治療クリニカルトライアルの問題点、粒子加速器の医学利用、第16回放医研シンポジウム報文集、NIRS-M-56：104-113, 1985.
- 2) Battermann, J.J., et al : Observations on pulmonary metastasis in patients after single doses and multiple fractions of fast neutrons and cobalt-60 gamma rays. *Europ. J. Cancer*, **17** : 539-548, 1981.
- 3) Morita, S., et al : Clinical experience of fast neutron therapy for carcinoma of the uterine cervix. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phy.*, **11** : 1439-1445, 1985.
- 4) 高田典彦, 他 : 骨・軟部組織肉腫に対する速中性子線照射の役割とその治療成績, 粒子加速器の医学利用, 第16回放医研シンポジウム報文集, NIRS-M-56 : 122-129, 1985.
- 5) Griffin, T.W., et al : High LET : Heavy particle trials. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phy.*, **14** : S83-S92, 1988.
- 6) Castro, J.R. : An update of results of radiotherapy with heavy ions. Progress in Radio-Oncology III (Ed. Kärcher), proceedings of the Third Meeting on progress in Radio-Oncology, Vienna, 148-154, 1985.

2 陽子線治療と重粒子線治療

辻 井 博 彦*

Proton and Heavy Charged Particle Radiotherapy

Hirohiko Tsujii

Particle Radiation Medical Science Center,
The University of Tsukuba, Tsukuba-shi, Tennoudai, Ibaraki

Abstract

In order to improve local control of resistant tumors, a number of potentially useful modalities are under study. Among them the use of radiotherapy with charged particles have several advantageous characteristics in delivery of cancericidal dose to deep-seated tumors. Proton and helium ions, which have favorable dose distribution compared to those achieved with conventional supervoltage techniques, have established their role in the usefulness of treatment of uveal melanoma, skull base tumor, arterio-venous malformations and pituitary-related conditions. Stimulated by favorable results obtained at institutions in USA, USSR and Japan, a number of facilities are planning to build a dedicated proton therapy machine. Negative pions have been used for treatment of deep-seated tumors at LAMPF, TRIUMF and SIN (SI). Among various sites treated, favorable results have been obtained in tumors of head and neck, prostate, uterine cervix, and soft tissue sarcomas. The use of high LEF charged particle has been limited to the Lawrence Berkeley Laboratory. It has proven of value in treatment of various localized tumors adjacent to critical structures.

* 筑波大学粒子線医科学センター

1. はじめに

癌の放射線治療において、重粒子線が初めて利用されるようになったのは1938年のことであり、それから既に50年が経過した。現在、この粒子線治療はどのような評価を受けているのであろうか。

以下、陽子線と重イオンに焦点を当て、重粒子線治療の現状について述べる。

2. 粒子線治療の歴史

高エネルギー粒子線の中で初めて人間の癌治療に用いられたのは速中性子で、1938年米国のBerkeleyで臨床応用が開始された¹⁾。1954年には、同施設で陽子線が下垂体照射に用いられるようになり、その翌年にはヘリウムイオンが、さらに1970年代になるともっと重いネオンやシリコン、アルゴンなどの重イオンの医学利用も始められた²⁾。また1974年には、日本人に初のノーベル賞をもたらしたパイ中間子がやはり米国で世界に先駆けて臨床応用されるようになった³⁾。

このように、高エネルギー粒子線治療は、いずれの粒子線についても米国がパイオニア的役割を果たしてきたが、今では世界各国でこの治療が行われている。日本で高エネルギー粒子線治療を行っている施設は3カ所であり、速中性子と陽子線の臨床応用が進められている。

3. 臨床成果

1) 陽子線

高エネルギー粒子線のなかで最も古くから利用されてきた放射線は速中性子線であるが、これは当時の乏しい生物学的知識のもとで行われたため、重篤な障害が出現し一時中断された。従って、本格的な臨床応用という点で見ると陽子線治療が最も長い実績を有していることになる。

陽子線治療は、これまで世界の9カ所の施設で行われ、現在7カ所が稼働中である(表1)。

表1 世界の陽子線治療施設(1988.12)

治療施設	国	加速器	MeV	患者数(集計期間)
LBL	米国	Synchrocyclo	340	30(1954-57*)
GWI	スウェーデン	Cyclo	85	73(1957-76*)
MGH+HCL	米国	Synchrocyclo	160	4300(1963-87.6)
ITEP	ソ連	Synchro	200	1359(1965-87.10)
JINR	ソ連	Synchrocyclo	200	85(1967-80)
LNPI	ソ連	Synchrocyclo	1GeV	457(1973-87.10)
SIN	スイス	Cyclo	72	429(1984-88.5)
NIRS	日本	Cyclo	70	54(1979-88)
PARMS	日本	Synchro	250	133(1983-88)
				合計=6920

* 治療中止

治療対象は、頭蓋内腫瘍、脳動静脈奇形、脊索腫、眼メラノーマ、骨盤内腫瘍、およびその他の深部腫瘍などが網羅され、これまでに7000人以上が治療されている。種々の疾患のなかでも特に、眼メラノーマにたいする治療成績は、同じような生物物理学的性質を有するヘリウムイオンとともに素晴らしい結果である(表2)^{4,5)}。ちなみに、スイスのSIN(最近PSIに改名された)

表2 proton, Heの眼球メラノーマ治療成績

施設	粒子線	線量	患者数 (期間)	局所 制御	遠隔 転移	5年 生存率	有効 視力
LBL (California)	He	50-80 Gy* /5F/7-10D	208 (1978-85)	96%	13%	78%	88%
MGH+HLC (Boston)	P	46-90 G* /5F/7-10D	128 1006 (1973-86)	98%		80% Small 96% Inter 86% Large 50%	69%

* 70 Cobalt-Gy Equivalent/5 fractions/7-10 Days

表3 陽子線、重イオン治療を計画中の施設(1988.12現在)

施設名	国	粒子線(MeV)	計画案
Univ. Capetown	南ア	P (65-200)	近く臨床トライアル開始予定
Gustaf-Werner Ins.	スウェーデン	P (200)	近く臨床トライアル開始予定
Loma Linda	アメリカ	P (70-250)	加速器建設中
放医研*	日本	Ions	加速器建設中
SIN*	スイス	P	高エネルギーにグレードアップ計画中
IHEP	ソ連	P	ビームテスト中
		Ions	加速器建設計画中
TRIUMF*	カナダ	P (200)	ビームテスト中
EULIMA	スイス	Ions (500)	加速器建設計画中
		P	加速器建設計画中
LBL*	アメリカ	Ions	BEVELACのグレードアップ実施中
		Ions (500)	LIBRA病院専用装置計画中
筑波大学*	日本	P (200)	病院専用装置建設計画中
Univ. Ulm	西独	Ions	粒子線治療を考慮中過

* 現在粒子線治療実施中の施設

での陽子線治療は、国内の眼科医が陽子線を眼メラノーマの治療に利用したいと強く要望したため開始されたのである。ソ連では、いろいろな粒子線のなかでも陽子線治療のみが3施設で行われ、良い成績が報告されている。

以上述べたような成果に刺激されて、世界では新たに10施設近くが陽子線治療を開始しようとしている(表3)。これまでは物理研究用加速器を癌の治療にも併用するのが普通だったが、今後はそこから脱却して、陽子線治療専用の加速器をつくろうとする施設が現われた。その代表は、米国のLoma Linda大学で、Fermi Laboratoryと協力して陽子線加速器を建設中である⁶⁾。日本でも、筑波大学がやはり陽子線治療専用器の建設を計画中で、そのための予算獲得を急いでいる。

日本での陽子線治療は、放射線医学総合研究所と筑波大学粒子線医科学センターの2カ所で行われている。このうち筑波大学では、陽子線エネルギーが250MeVと高いので、深在性腫瘍の治療が可能である。表4に示すごとく、これまで種々の疾患が治療され、浅在性癌はもちろんのこと、食道癌、肺癌、肝癌、子宮癌、前立腺癌などで良い成績が得られている。(表5)

表4 陽子線治療症例数

筑波大学粒子線医科学センター(1983. 4-1988.10)

部位	Phase II		Phase I	合計
	根治目的	姑息的		
皮膚	5	1	5	11
頭けい部	7	2	3	12
脳	14	5	0	19
肺、縦隔	13	3	0	16
食道	14	3	0	17
胃、腸、肝	11	4	0	15
婦人性器	19	2	0	21
泌尿器	17	2	0	19
小児腫瘍	0	3	0	3
合計	100	25	8	133

表5 深部臓器癌の陽子線治療結果
(PARMS 88/11)

部位	No	局所制御	障害	死因		
				原発	遠隔	他因
肺	12	10	0	1	0	3
食道	9	8	2	1	0	4
胃	2	2	0	0	0	0
肝	6	6	0	0	0	2
直腸	1	1	1	0	0	0
子宮	14	13	3	0	1	1
膣	2	2	0	0	1	0
前立腺	5	4	1	0	1	0
膀胱	6	3	2	0	2	0
腎臓	3	1	0	0	0	1
後腹膜	1	1	0	0	0	0
脳	13	5	5	8	0	2
合計	74	56 76%	14 19%	11	5	13

2) パイ中間子

現在、パイ中間子治療を行っているのは、スイスのPSIと、カナダのTRIUMFの2カ所である。これ以外に、米国のLAMPFが世界で最も早く1974年からパイ中間子治療を行っていたが、1981年に臨床研究を中止した。パイ中間子は、日本にゆかりの深い素粒子ということもあって、上記3施設には多くの日本人研究者が滞在し、貢献している。

これまでに約700人近くの患者が治療されているが、その成績はどんなものであろうか。表6はLAMPFの成績であるが、今考えても難治中の難治癌である膵臓癌や脳のGlioblastoma Multiformeを対象疾患に入れていたこともあって、全体としての成績はそれ程よいとはいえない^{3,7)}。しかしながら、それ以外の疾患では、進行癌が多いことを考えると、決して悪い成績とは言えないのも事実である。LAMPFでは、主任研究者が何人か替わったため、継続して一貫した方針をとれなかったのは不幸であった。一方、PSIではPiotronと呼ばれるユニークな加速器を用いて、1982年から本格的な第2相試験が進められた。1987年12月までに331人が治療されたが、いろいろな疾患のうち膀胱癌や軟部組織肉腫で良好な成績が得られている⁸⁾。TRIUMFでは、もっぱら脳腫瘍と骨盤内腫瘍の治療が中心であるが、至適線量分割法の研究が行われ、またこれからrandomized trialを行うことも計画されている⁹⁾。

表 6 LAMPF：パイ中間子単独治療成績^{3,7)}

部 位	No.	局所制御		障 害
		失 敗	成 功	
頭頸部	31	23	7(30%)	1
肺	6	5	1(17%)	
脾	17	17		
大腸	12	9		3
子宮	4	3	1(25%)	
膀胱	4	2	1(25%)	
前立腺	21	3	12(57%)	6
グリオーマ(GRIII)	15	12	2(13%)	1
グリオーマ(GRIV)	14	14		
その他	5	5		
合計	129	93(72%)	24(19%)	12(9%)

3) 重イオン

現在、重イオン治療が可能なのは、米国のLBLだけである。1957年にまずヘリウム(He)が用いられ、ついで1975年からはカーボン(C)やネオン(Ne)も用いられるようになった^{2,5)}。

LBLの重イオン治療成績のなかで特に優れていると思われるのは、眼メラノーマにたいするヘリウム治療であり、これは、陽子線同様良好な成績が得られている。また最近、ネオンイオンを用いて、深部臓器癌の治療も盛んである。今後、①HeとNeの比較、②眼メラノーマについて、HeとI-125との比較、③線量分割法の研究、などが検討されている⁵⁾。日本では、放射線医学総合研究所で世界で2番目の医学利用専用の重粒子線加速器建設案が具体化し、1988年度の着工にこぎつけている¹⁰⁾。

4. まとめ

1) いくつもの高エネルギー粒子線のなかで、陽子線の実用化が最も早いと思われる。事実、一部の疾患では(眼メラノーマ、下垂体腫瘍、頭蓋低腫瘍、脳動静脈奇形など)、完全に実用段階に入ったといえる。これからは、一般の病院でも設置可能な陽子線治療専用器の開発が盛んになると思われる。

2) パイ中間子は、低LETのプラトーと高LETのピークを有しているので、理論的には、最も優れた効果が期待できるとされる。問題は、ピーク内に中性子の混じりが多いことと、線量分布が他の荷重粒子より若干劣っていることである。他の粒子線と比較して未だ歴史が浅いこともあって、その臨床的有意性を見るまで、今暫く時間がかかりそうである。

3) 重イオンの魅力は、優れた線量分布と、生物効果の高さにある。これまでその有用性の評価は、唯一LBLのデータを信ずる以外になかったが、近い将来日本でも重イオンの臨床トライアルがスタートすることになっているので、そのときこそ真価を問うことができるとされる。

参考文献

- 1) Brennan, J.T. : History of the use of neutrons in radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **3** : 143-148. 1977.
- 2) Castro, JR. : Heavy ion radiotherapy. In : Third workshop on heavy charged particles in biology and medicine. ed. by Darmstadt, GSI. pp13-15, 1987.
- 3) 辻井博彦 : 負パイ中間子線治療 In : 癌治療学(上). 日本臨床増刊号 pp130-135, 1988.
- 4) Munzenrider, JE. et. al : Clinical results of proton beam radiotherapy in Boston. Proc. of 8th ICRR.(Ed. by Fielden, EM. et. al.) pp916-921. Taylor & Francis. London. 1987.
- 5) Castro, JR, et. al. : Clinical results of charged particle radiotherapy. Proc. of 8th ICRR.(Ed. by Fielden, EM. et. al.) pp910-915. Taylor & Francis. London. 1987.
- 6) Slater, JM. et. al. : Development of a hospital-based proton beam treatment center. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **14** : 761-776, 1988.
- 7) von Essen, CF. et. al. : Long-term results of pion therapy at Los Alamos. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **13** : 1389-1398, 1987.
- 8) Medical project reports : Six years pion treatment. SIN Medical Newsletter No 9 : 7-11, 1987.
- 9) Goodman, GB. et. al. : Clinical evaluation of pimeson radiotherapy at TRIUMF. Proc. of 8th ICRR.(Ed. by Fielden, EM. et. al.) pp928-933. Taylor & Francis. London. 1987.
- 10) 恒元博 : 重粒子線治療 In : 癌治療学(上). 日本臨床増刊号 pp124-129. 1988.

3 重粒子線物理学から

川 島 勝 弘*

Physical Aspects of Heavy Charged Particle Beams for Radiotherapy

Katsuhiro Kawashima

National Institute of Radiological Sciences
9-1, Anagawa 4-chome, Chiba-shi, 260 Japan

Abstract

Physical properties of heavy ion beams are discussed to improve the physical dose distributions in view of radiotherapy. Current conventional radiotherapy utilizes high energy photons and electrons. Preservation of the structural and functional integrity of adjacent normal tissue is required to achieve great probability of tumor control. This will be accomplished with the reduction of irradiated volume of normal tissues and with greater RBE on tumor cells than that on surrounding normal cells. This also suggests the use of heavy ion beams as new source of radiation that increases the therapeutic ratio. The basis of the improvement in the physical dose distribution by use of heavy charged particles is due to the finite range of the beams and to the less multiple coulomb scattering of the particles having a heavier atomic mass than proton. The depth dose distributions and dose profiles of heavy particle beams are discussed in this article. The lateral sharpness of heavy charged particles is comparable to the penumbra of high energy photon and electron beams and is not of clinical concern due to less coulomb scattering of heavy ions to lateral direction in traversing a medium. The dose

* 放射線医学総合研究所.

gradient at the end of range of primary beam is dependent upon the energy spread and range straggling of the particles. The magnitude of range straggling is nearly proportional to the range and inversely proportional to the inverse square root of the particle mass.

Heavy ion beams also undergo nuclear interactions, in which the primary beam may produce lower atomic number particles. Therefore, the dose beyond the Bragg peak is due to those fragments. Fragmentation increases as a function of the atomic mass to the $2/3$ power and with the energy of the particles. Thus, the production of fragments diminishes the depth dose advantages of heavy ions. The choice of ion for radiotherapy may depend on evaluation of important parameter for tumor control, such as dose localization or enhanced biological effect through high LET.

はじめに

現在行われている放射線治療のなかで、外部照射用としては、 ^{60}Co 線、高エネルギーX線や電子線が主に用いられている。その他の放射線として、速中性子線、 π -中間子線、陽子線、重イオン線が臨床トリアルに用いられている。が、それらは、極く限られた施設で利用されているだけである。放医研でも、重粒子線がん治療装置の設置が決定し、平成6年3月の重粒子線による癌の放射線治療の臨床トリアルを目指して、現在、土地の整地が行われており、医用重粒子線研究部を核に装置ならびに建屋の設計が着々と進められている。

通常の放射線治療の特徴は、身体の中の特定の部位に、必要にして十分な量の放射線を集中照射しうることにある。もちろん、重粒子線治療を語る時、その生物学的特色を抜きには述べることはできないが、ここでは、そのことにはふれずに、放射線の物理学的線量の集中照射を中心にその概要について述べる。

現在の照射技術

放射線の線量分布を考えると、次の2つの点がまず問題となる。1つは、ビーム中心軸に沿った深さ方向の線量分布(深部線量分布)で、深部量百分率(PDD)、組織空中線量比(TAR)、組織ピーク線量比(TPR)などの情報である。他の1つは、ビーム軸に直角方向の線量分布であり、線量プロフィールとか半影などの情報である。

^{60}Co 線遠隔照射装置が登場し、深部線量分布の著しい改善と、スキンスペアリング効果により、深在性腫瘍にも治療に必要な十分な線量を照射することができるようになり、治療成績が著しく向上した。さらに、ベータトロン、ライナックの登場により、高エネルギーX線の医学利用が可能となり、深部線量分布、半影ともに改善された。しかし、密封小線源による腔内照射あるいは刺入照射のような、線量分布の局在化、集中化には及ばない。そこで考えられた照射

技術が、対向2門照射から多門照射、ウェッジつきの多門照射、振り、回転などの運動照射である。さらに、周囲の正常組織の損傷を少しでも減少させるために、原体照射法あるいは打抜き照射法が考案されてきた。しかしX線のような間接電離放射線(中性子線もこのカテゴリに入る)を使用する限り、ビーム軸上入射面から射出面までかなりの線量を被ばくすることになる。

また、複雑な照射技術や、複雑な照射野を用いると、往々にして、線量分布の均等性が失われ易いという欠点もある。図1は、鼻腔の治療として、前方と左右からの3門照射の例である¹⁾。その線量分布図をみると、図2に示したように、左側の中心面の線量分布では100%ラインが主要部分を覆っているが、右側の上側照射野周辺に近い面(図1の点線参照)では、100%ラインの縮小がみられる¹⁾。

ところで、ビーム軸上どの部位も、多少の差はあれ正常組織まで照射してしまうというX線の欠点を補うビームとして、電子線もかなり利用されている。数%の阻止X線による線量はやむを

図1 鼻腔の放射線治療例, 前方および左右の3門照射(Bukovitz 1978)

Combination of regular and irregular fields for possible treatment of nasal cavity. The dotted lines represent the planes in which the isodose distributions were computed. The inferior dotted line represents the central plane for two lateral fields. (Bukovitz 1978)

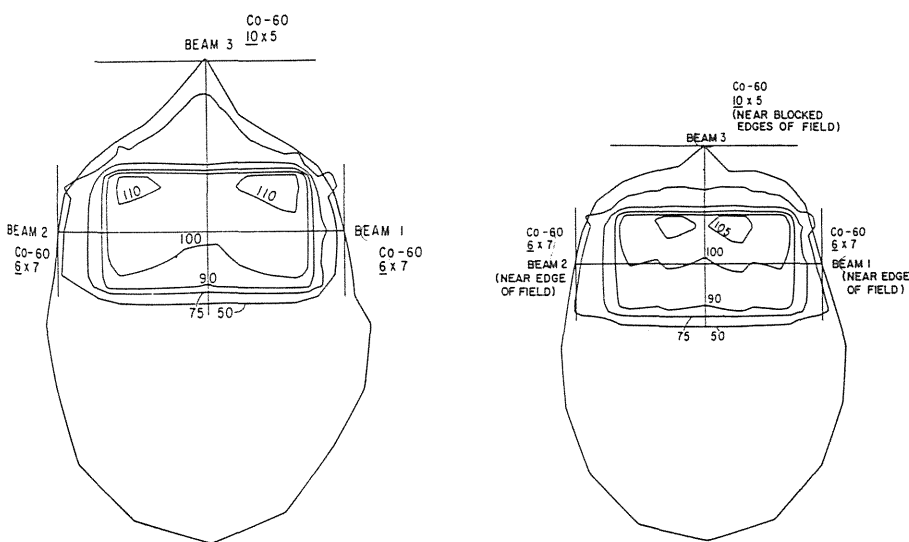
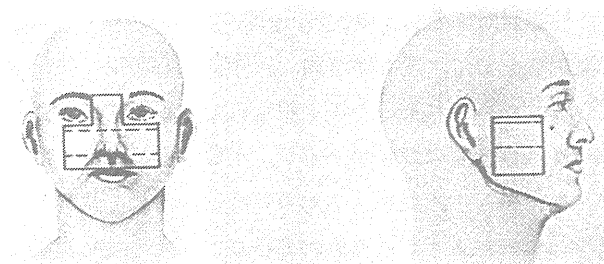


図2 図1の⁶⁰Co 3門照射時の線量分布(Bukovitz 1978)
The left is the distribution for the lower plane and the right is the upper plane next to the blocked region of the anterior field in Fig.1.(Bukovitz 1978)

えないとして、ある深さ(飛程)より奥には電子線は到達しないので、標的容積の背後の正常組織を保護することが可能である。しかし、残念ながら電子は、原子に比べて軽いため、簡単に散乱してしまい、半影が大きくなることと、深部の腫瘍を治療するために電子線のエネルギーを高くする(飛程を大にする)と、飛程近傍での深部線量分布の急峻な減少が鈍くなり、深さ方向の切れ味が悪くなるという欠点をもっている。

陽子線の登場

X線にはない電子線の利点を生かしたような新しいビームを求めていくと、少なくとも陽子

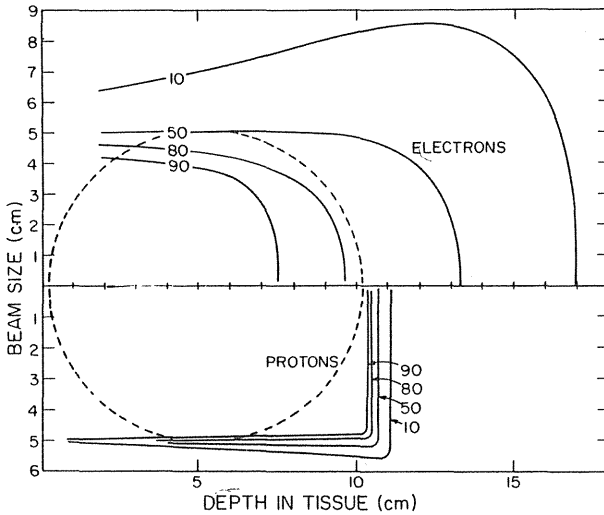


図3 電子線と陽子線の線量分布の比較
(Koehler 1972を, Raju 1980が改図)
Comparison of isodose contours in the central plane for 35 MeV electrons and protons.(Redrawn by Raju 1980 from Koehler 1972)

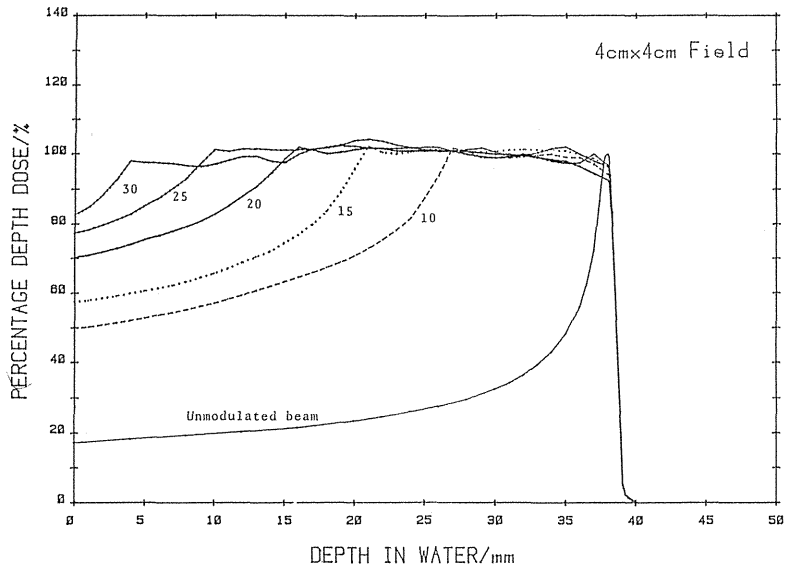


図4 70MeV陽子線の深部量百分率(平岡 1986)
Depth dose ionization curves of unmodulated and modulated 70 MeV proton beams.(Hiraoka 1986)

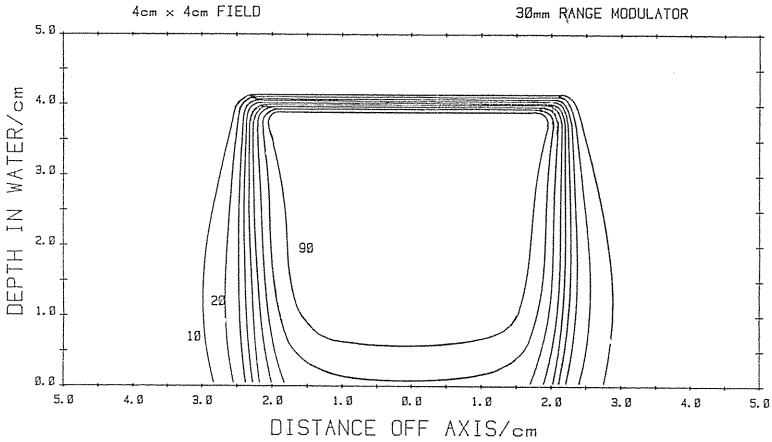


図5 70MeV陽子線の等線量分布(平岡 1986)
Isodose distributions for 70 MeV proton beam with a range modulator for 30mm spread-out width.(Hiraoka 1986)

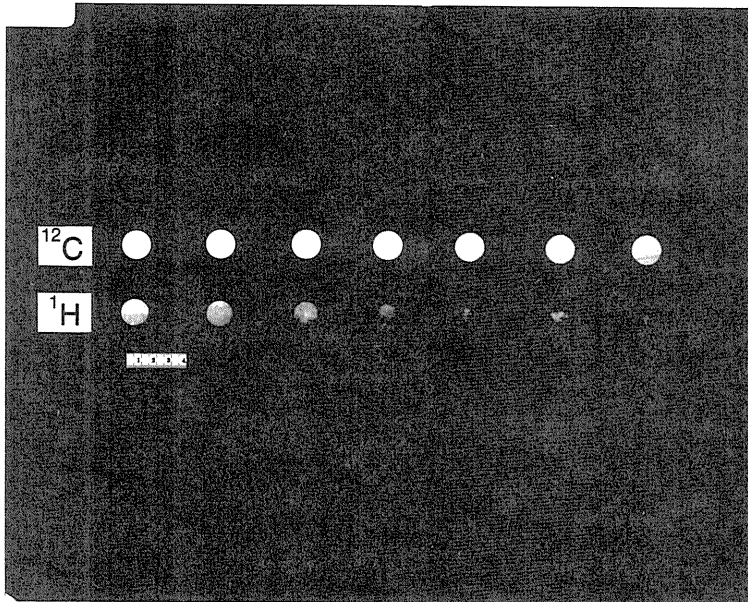


図6 カーボンイオン線と陽子線の水中通過時のビームプロフィールの変化(Tobias 1986)
Polaroid beam spots from a 20-cGy(plateau dose)carbon 308 MeV/amu exposure and an 8-cGy(plateau dose)proton 155 MeV/amu exposure in water.(Tobias 1986)

線がぼくなる(図3参照)²⁾。半影、飛程近傍(ディスタル側)の線量分布の鋭さは、電子線を数段上まわるものがある(図4, 5参照)³⁾。とくに、X線や電子線では難しい小照射野での陽子線の線量分布の利点をいかした対象症例として、幼児の網膜芽細胞腫や成人の視神経乳頭部腫瘍などの眼球腫瘍が挙げられる。腫瘍の局所制御率は高く、眼球の機能保存にも優れている⁴⁾。ま

た、放射線感受性の高い正常組織に近接した腫瘍、例えば頸髄に近接して発生した背索腫や軟骨肉腫も、神経損傷の発生を低くおさえて局所制御することも可能と思われる。

しかし、陽子線は、残念ながら、炭素とか酸素といった人体組織構成原子に比べると軽いいため、これらの原子と衝突したとき散乱されやすい。そのため、治療部位が深くなるにつれ散乱の影響が出て半影も大きくなり、ビームの切れ味が悪くなってくる(図3, 図5参照)。図6は、プロトンとカーボンビームを水に照射し、1 cmおきにポラロイドフィルムを並べてビームスポットを撮ったものである⁵⁾。カーボンビームに比べて、プロトンビームが散乱のため薄れて周辺がぼけていく様子が一目瞭然である。

重粒子線は理想的ビームとなりうるか

深部の比較的大きな腫瘍に対しては、現在のところでは、高度な照射技術を駆使した高エネルギーX線治療と陽子線治療とでは、治療成績に大きな差はない。しかし、図7に前立腺癌の10 MV X線と陽子線による治療計画例を示したが²⁾、少なくとも、直腸障害(背側直腸壁)の軽減が認められ、陽子線ブースト治療では、制限因子となる正常組織として、もはや直腸を考える必要はないことになる。結果として、深部になっても、陽子線よりも線量分布の鋭さが保たれるようなビームがあれば、要注意臓器に隣接する深在性腫瘍の治療が可能となり、線量の集中照射が容易に出来ることになる。そのためには、プロトンよりもより重いイオンが要求される。LBLでは、重粒子線による治療を進めるにあたり、その対象として、前立腺の進行癌その他を臨床トライアルの一環にとりあげているが、それは、中性子線や陽子線治療の示唆する好結果に基づいている⁶⁾。

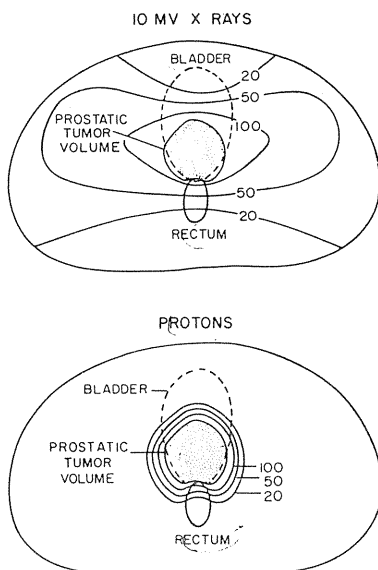


図7 前立腺癌に対する10MVX線と陽子線の線量分布の比較(Shipley 1979をRaju 1980が改図) Treatment plans of prostatic carcinoma of the proton beam compared to 10 MV X-rays.(Redrawn by Raju 1980 from Shipley 1979)

重粒子線の線量分布

まず、ビームプロフィールすなわち横方向のシャープさ(半影)について考えてみる。これは、物理現象としては荷電粒子が媒質中を通過するときに受けるクーロン場による多重散乱の度合いによる。多重散乱は粒子の質量の約0.6乗に逆比例する。その様子を図8に示したが⁷⁾、およその感じとして、Heイオンではプロトンの約半分、CやNeイオンでは、さらにその半分の振れの程度となる。したがって、図6にCイオンの例を示したように、臨床的には、均質媒質内では横方向への散乱による線量分布への影響はあまり問題とする必要はない。ただし、不均質、特にそのエッジ部分の分布の乱れに関しては多少の考慮が必要となる⁸⁾。

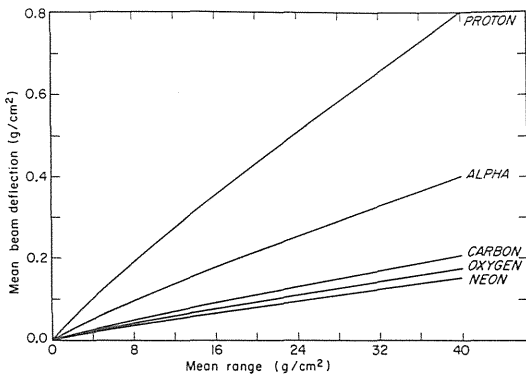


図8 イオンビームの平均飛程と横方向へのずれとの関係(Chen 1981)
Lateral sharpness for heavy charged particles as a function of range penetration in water.(Chen 1981)

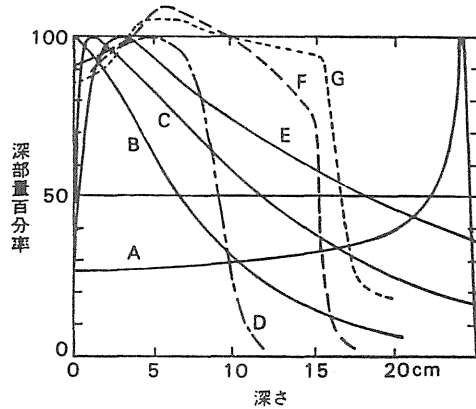


図9 各種放射線の深部量百分率の比較
Comparison of depth dose distributions for various radiation beams.

A : 200 MeV 陽子線 B : 200 kV X線
C : d (30) Be 中性子線 D : 22 MeV 電子線
E : 10 MV X線 F : 910 MeV α 線 (リッジフィルターで Bragg ピークを拡張)
G : 85 MeV π^- 線 (ダイナミックレンジシフトで Bragg ピークを拡張)
(Raju より改図)

次に、深部線量分布について、まず各種放射線の深部量百分率の概要を図9に示した。重粒子線に特徴的なブラッグピーク部分の幅であるが、図10に示すように⁷⁾、飛程のゆらぎは、粒子の質量のほぼ平方根に逆比例する。したがって、分布の偏差 σ は、Heイオンではプロトンの約半分、Oイオンではさらにその半分となる。もちろんエネルギーの低い(飛程の短い)ビームの方が σ が小さいので、ブラッグピークはシャープなものとなる。その様子をCイオンについて図11に示した⁷⁾。また、ピークとプラトー部との線量比もエネルギーが高く(飛程が大き)くなるにつれ小さくなる。放射線治療のためには、デグレーダやリッジフィルターを用いて、ブラッグピークを拡張し、標的容積全体をカバーするようにして用いるので(図12参照)、線量の集中化の観点だけからいえば、イオンビームの線種を選択として、ほどほどの妥協点がでてくる。それが

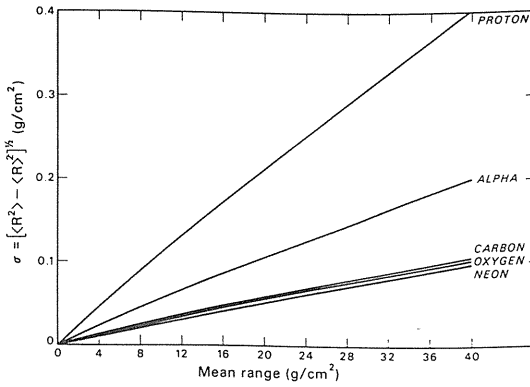


図10 イオンビームの平均飛程とブラックピーク幅との関係(Chen 1981)
Range straggling for heavy charged particles as a function of range penetration in water.(Chen 1981)

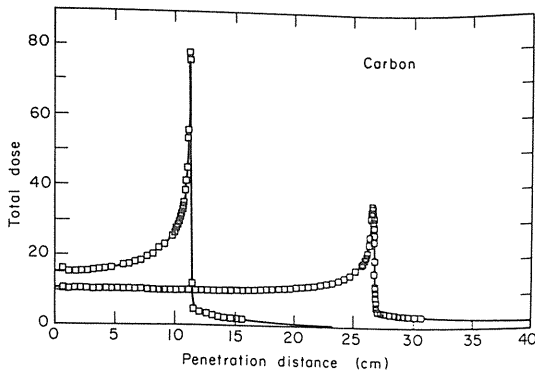


図11 カーボンイオン線の飛程によるプラトーとブラッグピークとの変化(Chen 1981)
Bragg peak ionization curves for carbon beams of 250 and 400 MeV/amu.(Chen 1981)

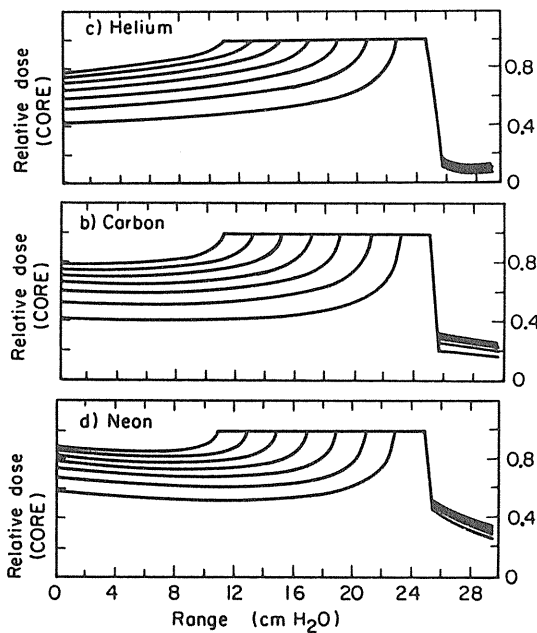


図12 ブラッグピーク拡張によるブラッグテール部の線量分布の変化(Chen 1981)
Calculated isoeffect distributions for helium, carbon and neon beams. Doses at Bragg tail increase with an increase of a spread-out Bragg peak width.(Chen 1981)

Cイオンあたりのピークとなる。Cイオンよりも重いイオンを用いて、物理学的線量分布の劣化よりも、生物学的利点としてのRBEを重視した治療を優先させるかどうかは、臨床的判断により決められることになる。

もう一度ブラッグピークのシャープさに話をもどすと、ビームの切れ味の点からは、ピーク以降のデイスタル側の勾配が問題となる。因みに、Heイオンでは、線量が90%から10%に落ちる幅は6mm以下であるが、それがCイオンでは3mm以下のシャープさになる。しかし、図11や図12に見られるごとく、飛程以降にも、線量分布は尾をひいている。したがって、次の課題は、この尾の部分にある正常組織に対する扱いをどうするかになる。

この尾の部分の線量は、一次入射イオンと媒質との核反応により生じたより軽い粒子による。表1に、1例として、Neビームが水に入射したときに生ずるイオンの種類と、それによって与えられる尾の部分の線量寄与の割合を示した⁹⁾。尾の部分は、電子線のときの阻止X線に対応す

表1 ネオン670MeV/核子により発生した軽イオンのブラッグテール部
(水中33.01cm)における線量への寄与(Wong 1986)
Contribution to a total dose at Bragg tail in water from each fragment of light elements by neon 670 MeV/amu.(Wong 1986)

Element	Z	Dose (Gy/incident ion)	% of total dose at tail	% of peak dose
F	9	$(1.55 \pm 0.30) \times 10^{-10}$	21.6 \pm 4.3%	~6.3%
O	8	$(2.10 \pm 0.21) \times 10^{-10}$	29.3 \pm 2.9	8.5
N	7	$(1.29 \pm 0.13) \times 10^{-10}$	18.0 \pm 1.8	5.2
C	6	$(1.07 \pm 0.11) \times 10^{-10}$	14.9 \pm 1.5	4.3
B	5	$(0.43 \pm 0.09) \times 10^{-10}$	6.1 \pm 1.2	1.8
Be	4	$(0.20 \pm 0.04) \times 10^{-10}$	2.8 \pm 0.6	0.8
Li	3	$(0.10 \pm 0.02) \times 10^{-10}$	1.4 \pm 0.3	0.4
He	2			1.7
H	1		6.0(assumed)	
				~29.0%

るもので、イオンが重いほど、エネルギーが高いほど、またブラッグピークの拡張幅が広がるほど線量が増大する(図11, 12参照)。これは、深部線量分布の観点からは、極めてマイナスな問題である。したがって、ビームエネルギーの選択にあたっては、できるだけレンジシフトを用いずに、必要最小限の飛程となるようにし、ピークの拡張幅も標的容積からみて必要最小限の幅となるようにとる必要がある。図13に線量分布の比較例として、膵臓癌治療の際の、X線、Heイオン、Cイオンの例を示した²⁾。

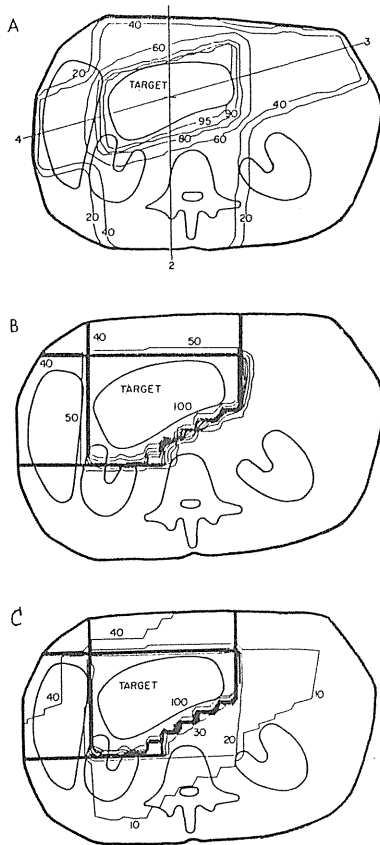


図13 各種放射線による膵臓癌治療のための線量分布の比較

A: X線 B: ヘリウムイオン C: カーボンイオン
(Raju 1980より改図, 原図はChen 1979)

Comparison of isodose curves in treatment plans in treating carcinoma of the pancreas. A: X-rays, B: Helium ion, C: Carbon ion.

(Redrawn from Raju 1980; original from Chen 1979)

おわりに

ここでは、重粒子線のもつ生物学的利点と、不均質層の補正の問題点についてはふれなかった。しかし、単純に物理学的線量分布の観点だけからみても、従来のX線、電子線のような治療用放射線の線種に比べると、数段秀れたさまざまな特色をもっており、重粒子線治療には明るい未来が期待できる。

参考文献

- 1) Bukovitz, A.G.; Three-Dimensional Dose Distributions for External Beam Radiotherapy, *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, **4**, 493-498, 1978.
- 2) Raju, M.R.; Heavy Particle Radiotherapy, Academic press, 1980.
- 3) 平岡 武;私信
- 4) 森田新六;私信
- 5) Tobias, C.A. et al; Carbon Proton Beam Comparisons, LBL Biol. Med. Div. Annual Report 1985, 89~91, 1986.
- 6) Castro, J.R. et al; Heavy Charged Particle Radiotherapy Trial, LBL Biol. Med. Div. Annual

Report 1985, 138~140, 1986.

- 7) Chen, G.T.Y. et al ; Heavy Charged Particle Radiotherapy, *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, **10**, 499~529, 1981.
- 8) Goitein, M. ; Measurements and calculations of the influence of thin inhomogeneities on charged particle beams, *Med. Phys.*, **5**, 265~273, 1978.
- 9) Wong, M. et al ; Measurement of particle Distributions in the Fragmentation Tail of a 670 A MeV Neon Beam Stopping in Water, LBL Biol. Med. Div. Annual Report 1985, 81~83, 1986.

第20回放医研シンポジウム

「がん治療における放射線生物学 —新しい放射線治療法への展開—

プログラム

・主 催：放射線医学総合研究所 ・開 催 日：昭和63年12月8日(木)・9日(金)

・開催場所：放射線医学総合研究所 講堂

時 間	セッション・講演タイトル	座 長	演 者
第1日目			
9:35～9:40	開会の辞		松平寛通(放医研所長)
9:40～11:00	I 細胞における放射線損傷 1. 細胞に対する放射線の作用 2. 細胞の形質転換及び突然変異 3. 細胞の障害修復(PLDR)	中村 典(放影研)	坪井 篤(放医研) 渡辺正己(横浜市大) 内海博司(京大放生研)
11:00～12:00	II 正常組織の放射線障害 1. 正常組織障害把握の細胞動態論 2. 胸部照射による肺組織の障害	大原 弘(放医研)	坪内 進(福井医大) 佐藤文昭(北大)
12:00～13:00	昼 食		
13:00～14:30	III 放射線障害の修飾及び併用効果 1. オージェ効果の細胞障害とヨードデオキシウリジンの増感作用 2. 低酸素増感剤の作用 3. 化学療法剤と放射線による併用効果と正常組織障害	増田康治(九大)	篠原邦夫(臨床研) 母里知之(東海大) 田辺政裕(千葉大)
14:30～15:30	IV 重粒子線治療の基礎 1. 重粒子線治療の物理学的基礎 2. 重粒子線の生物物理作用 3. 重粒子線の生物効果	金子一郎(理研)	金井達明(放医研) 松本信二(放医研) 大原 弘(放医研)
15:30～15:45	休 憩		
15:45～16:45	特別講演 「放射線治療における放射線生物学のインパクト」	田ノ岡宏(国立がんセ)	L.Milas(M.D.アンダーソンがんセンター・米国)
17:00～18:30	懇親会		
第2日目			
9:30～10:30	V 治療効果早期判定への試み 1. 治療効果の早期判定法——ポジトロンCTによる治療効果の判定 2. Micronucleus Testによる腫瘍の放射線感受性の推定	安藤興一(放医研)	福田 寛(放医研) 小野公二(京大)
10:30～12:00	VI 放射線による実験腫瘍の治療 1. 線量と腫瘍制御率との関係 2. 放射線抵抗性と低酸素細胞 3. 放射線とがん転移	坂本澄彦(東北大)	佐々木武仁(東医歯大) 安藤興一(放医研) 鈴木紀夫(東大)
12:00～13:00	昼 食		
13:00～14:00	特別講演 「放射線治療の歴史を振り返る」	館野之男(放医研)	梅垣洋一郎(放医研)
14:00～15:00	特別講演 「重粒子線によるがん治療に期待出来るものは何か」	柄川 順(国立がんセ)	A. Wambersie (ルーバン大・ベルギー)
15:00～15:15	休 憩		
15:15～16:30	VII 重粒子線研究の期待と展望 1. 中性子線治療から重粒子線治療へ 2. 陽子線治療と重粒子線治療 3. 重粒子線物理学から 4. 総合討論	恒元 博(放医研)	森田新六(放医研) 辻井博彦(筑波大) 川島勝弘(放医研)
16:30～16:35	閉会の辞		松岡 理 (放医研科学研究所)

第20回放医研シンポジウム実行委員会

委 員 長	恒元 博	(病院部長)
副 委 員 長	大原 弘	(障害基礎研究部障害基礎第3研究室長)
委 員	川島 勝弘	(物理研究部長)
	松本 信二	(薬理化学研究部主任研究官)
	上野 昭子	(生物研究部生物第2研究室長)
	堀 雅明	(遺伝研究部遺伝第2研究室長)
	大津 裕司	(生理病理研究部生理病理第2研究室長)
	坪井 篤	(障害基礎研究部障害基礎第1研究室長)
	安藤 興一	(臨床研究部臨床第4研究室長)
	金井 達明	(医用重粒子線研究部主任研究官)
	森田 新六	(病院部医務課長)
	宮本 忠昭	(病院部医務課医長)

放医研シンポジウムシリーズ No.20

がん治療における放射線生物学
——新しい放射線治療法への展開——

1989年11月20日発行

編 集 恒元 博・大原 弘

編集協力 石澤 義久／米倉 友昭

放射線医学総合研究所

〒260 千葉市穴川4-9-1

電話 0472-51-2111