ヒト唾液腺癌由来ヌードマウス可移植性腫瘍の樹立と その放射線感受性に関する細胞動態学的研究

長 畑 光

Studies on establishment of a transplantable tumor from human salivary carcinoma in nude mice and its response to X-irradiation as revealed by the cell kinetics

Hikaru NAGAHATA

Abstract: The present study was performed for elucidation of the biological properties of the transplantable tumor in nude mice and objective evaluation of X-irradiation effects through its cell kinetics. The experimental results are as follows:

1. An undifferentiated carcinoma arising in the palatal gland of a 69-year-old woman was inoculated into BALB/c-nu/nu nude mice, and the transplantable tumor, TS-1, has been established.

2. The histology of TS-1 tumor was almost identical to that of the original tumor through the serial passages.

3. The following cell kinetic parameters of TS-1 tumor were obtained: doubling time (T_D): 33 days, time of cell cycle (T_C): 52.4 hours, DNA synthetic time (T_S): 12.8 hours, growth fraction (GF): 63.0%, and cell loss factor (CL): 89.4%.

4. The growth rate of TS-1 tumor was approximately the same as that of the metastatic foci of the original tumor in the patient's lung, indicating the maintenance of original properties of the transplantable tumor.

5. The cell death caused by single dose irradiation with 1,000 rad was suggested mainly to be a "reproductive death", whereas the death by single dose irradiation with 3,000, 5,000 rad, and 5 fractionated dose irradiation with 1,000 rad was considered largely to be an "interphase death".

6. The possibility of proliferating tumor cells to reutilize ^3H -TdR liberated from the dead cells after single dose irradiation with 3,000, 5,000 rad and 5 fractionated dose with 1,000 rad was speculated.

7. The GF value of the 3rd day of irradiation became lower in correlation with an increase of the irradiation doses. Single dose irradiation with 1,000 rad prolonged T_S and T_C , while that with 3,000 rad slightly prolonged T_S but shortened T_C . Single dose irradiation with 5,000 rad and 5 fractionated dose irradiation with 1,000 rad apparently shortened both the T_S and T_C values.

8. Comparing the single dose irradiation with 5,000 rad and the 5 fractionated dose irradiation with 1,000 rad, a dominating aspect of the fractionated method was indicated as judged by its increased effective inhibition of tumor proliferation and decreased cutaneous damage.

Key words: Nude mice, radiosensitivity, cell kinetics

広島大学歯学部口腔外科学第2講座
(主任: 下里常弘教授)
Department of Oral & Maxillofacial Surgery II,

Hiroshima University, School of Dentistry (Chief:
Prof. Tsunehiro Shimosato)
受付日: 昭和60年3月25日

緒 言

ヌードマウスに継代移植の可能となったヒト悪性腫瘍は、形態的ならびに機能的に起源腫瘍の性状をよく保持することが知られている¹⁻⁹⁾。したがって、その樹立は、ヒト悪性固型腫瘍に対する各種治療の生物学的効果を客観的に評価するための実験モデルとしてきわめて有用と考えられる。しかしながら、ヒト口腔領域の腫瘍に関しては、可移植性腫瘍の樹立成功例は比較的少ない⁶⁻⁹⁾。

腫瘍細胞の放射線感受性は、放射線治療の効果を左右する重要な因子の1つにあげられる。ヒト腫瘍におけるその評価は、臨床的経験によるほか、実験的に Hela S3 細胞、HMV 細胞、P3HR-1 細胞などヒト腫瘍の株化培養細胞を用いて、照射後に生存した細胞のコロニー形成能より線量と致死効果との関係を定量的に検討することによって行われている¹⁰⁻¹²⁾。しかし、培養細胞による検索結果が生体内での状況を再現しているとはいえず、株化培養細胞の放射線感受性をただちに臨床における放射線治療効果と結びつけることは困難と考えられる。したがって、ヒト悪性腫瘍の実験モデルとしてヌードマウスに移植した腫瘍を用いることは、臨床応用の困難な DNA 合成を指標とした³H-thymidine autoradiography (以下 ³H-TdR ARG と略) 法による細胞動態学的検索を可能ならしめ、また、*in vivo* でのヒト固型腫瘍に対する放射線の照射効果のある程度客観的に評価できる点で重要な意義がある。しかし、可移植性ヒト固型腫瘍を用いて腫瘍細胞の放射線感受性を細胞動態学的に検索した研究は今のところきわめて少ないようである¹³⁾。

そこで、本研究においては、ヒト唾液腺癌より樹立したヌードマウス可移植性腫瘍の生物学的特性を明らかにするとともに、その放射線感受性を客観的に評価する目的で、同腫瘍に対する種々の線量のX線照射効果について、肉眼的、組織学的ならびに細胞動態学的に検索した。また、正常組織を障害することなく放射線治療効果を得る必要性に関連して、ヌードマウスにおける照射野の皮膚反応を観察するとともに、1回照射と分割照射の効果についても比較検討した。

材 料 と 方 法

1. 研究材料

1) 起源腫瘍症例の概略ならびに病理組織学的所見

患者は69歳女性で、6|相当口蓋部の腫瘤形成を主訴として昭和48年10月来院した。腫瘤は比較的境界明瞭な半球状(1.2 cm 径)を呈し、表面は平滑、硬度は弾性硬で、所属リンパ節は触知されなかった。臨床的には多形性腺腫、生検では腺様囊胞癌が疑われ、昭和49年2月全摘出術が施行された。昭和50年1月、昭和51年6月お

写真1 起源腫瘍の肺転移を示す胸部X線写真

写真2 起源腫瘍の初発時の病理組織像(H-E, ×200)

よび9月に局所再発、次いで昭和52年5月には右側肺下葉に結節状の孤立転移巣を認め、以後、転移巣は両肺野に多発増大し(写真1)、昭和53年12月急性気管支肺炎により死亡した。なお、死亡時までの約3年10か月間に、化学療法として、5-FU 6,000 mg, Mitomycin 32 mg, Endoxan 1,600 mg, Tespamin 75 mg, Toyomycin 7.5 mg が投与された。

病理組織学的所見：昭和48年12月に施行された最初の試験切除では、腫瘍組織は、異型性に乏しい均一な小型類円形上皮細胞の充実性胞巣より成り、硝子様物質を含む小囊胞の形成による篩状構造を部分的に伴うところから、腺様囊胞癌が疑われた(写真2)。しかしながら昭和50年1月以降、剖検時に至るまでの再発巣および転移巣にはもはや腺様囊胞癌様の組織所見は認められ

写真 3 起源腫瘍移植時の病理組織像
(H-E, ×200)

写真 4 ³H-TdR 標識細胞 (H-E ×1,000)

ず、以下のような共通した組織構造を呈し、口蓋腺原発の未分化癌とみなされた(写真3)。すなわち、腫瘍組織は、線維性ないし硝子様の狭い間質によって境された索状、梁状あるいは充実性胞巣を形成し、腫瘍細胞は一般に類円形で、種々の程度に大小不同や核分裂像を伴う胞状核と淡明な胞体を有していたが、胞巣辺縁部には時折り核や細胞質の濃染した紡錘形細胞も認められた。これらの胞巣内にはまれに小導管様構造や小囊胞様腔の形成も認めたが、末期の標本では、腺性分化をほとんど喪失し、核・細胞の異型性が強まるとともに、核分裂像を増していた。

2) ヌードマウスへの移植と可移植性腫瘍 TS-1 の成立

昭和53年3月■日、生検に際して患者の顔面皮下より採取した腫瘍塊を、抗生物質(ペニシリンG 100単位/ml)添加の Minimum Essential Medium (MEM) 培養液中で約 3 mm 角に細切し、移植針にて BALB/c-nu/nu の遺伝背景をもつ 5 匹のヌードマウス(日本クレア

社)背部皮下に移植し、3 匹のマウスに生着をみた。以後、TS-1 と命名したこれらの移植癌は、約 7 年 18 世代にわたって継代維持され、ほとんど 100% の生着率を示している。なお、ヌードマウスの飼育は Laminar Flow Iso-Rack 内で行い、滅菌した水と飼料を与えた。

2. 研究方法

1) TS-1 の生物学的特性についての検討

(1) 光顕的ならびに電顕的観察方法

移植腫瘍組織を 10 ホルマリン液により固定、パラフィン切片とし、HE, PAS, およびアルシアンブルー (AB) 染色 (pH 2.5) を施し、光顕にて観察した。電顕用材料は、コジル酸ナトリウム緩衝 2.5% グルタルアルデヒド (pH 7.4) にて 2 時間固定、1 晩同緩衝液に浸漬した後、1% オスミック酸による後固定を経て通法により Epon 812 に包埋した。超薄切片には酢酸ウラニル・クエン酸鉛による二重染色を施し、HITACHI HS-8 型透過電顕 (加速電圧 50 kv) にて観察した。

(2) 発育速度の検討方法

TS-1 の発育速度と比較する目的で、昭和 52 年 5 月より昭和 53 年 9 月までの本患者の胸部正面 X 線写真を用い、5 か所の結節状肺転移巣陰影の大きさの変化より発育速度を推定した。すなわち転移巣を楕円体と仮定し、長径 (a mm)、短径 (b mm) を計測することによって体積 (V mm³) を求め、発育速度 (体積倍加時間 doubling time: T_D) を Collins らの仮定¹⁴⁾に基づく $T_D = \frac{t \log 2}{\log V_{t_2} - \log V_{t_1}}$ の計算式より算出した。また、TS-1 の発育速度の計測には 10 匹のヌードマウスを使用し、移植後 17 週にわたって single blind 法により腫瘍の長径、短径、高さを計測、体積を求めることにより、同様に体積倍加時間 (T_D) を算出した。

(3) ³H-TdR ARG 法による細胞動態の解析

³H-TdR 2 μCi/g を担腫瘍ヌードマウス腹腔内に投与し、2 時間後に腫瘍組織を採取、10% 中性ホルマリンで固定した。通法により 5 μm 厚のパラフィン切片を作製、Sakura NR-M 2 乳剤にて dipping、次いで 4°C 冷暗所にて 1 か月間の露光を行った。コードール X で 20°C 10 分間現像処理の後、切片に HE 染色を施し、オートラジオグラムを作製した。なお、標識指数 (labelling index: LI) の算定に当たっては、銀粒子が 5 個以上観察される細胞を標識細胞とみなし、これらを実作為に 1,500~2,000 個計数した(写真 4)。さらに、6 時間ごと 8 回の頻回標識を行ったオートラジオグラムより算出した LI 値を経時的 (6, 12, 24, 36, 48 時間、各 3 匹) にプロットし、これらを結んだ増殖直線の示す LI 値および時間値より、細胞周期時間 (time of cell cycle: T_c)、DNA 合成時間 (DNA synthetic time: T_s)、増殖細胞比 (growth fraction: GF)、潜在的倍加時間 (potential doubling time: T_p) および細胞喪失比 (cell loss factor: CL) を求めた。

表 1 皮膚反応スコアの判定規準

障害過程

- 0.5; 軽度の紅斑
- 1.0; 著明な紅斑
- 1.5; わずかな範囲の乾性びらん
- 2.0; 広範囲な乾性びらん
- 2.5; わずかな範囲の湿性びらん
- 3.0; 広範囲な湿性びらん
- 3.5; 滲出液を伴った表皮欠損

治癒過程

- 0.5; 光沢ある平滑な皮膚
- 1.0; 大部分に表皮再生
- 1.5; わずかな範囲の表皮再生と痂皮
- 2.0; 広範囲な痂皮形成
- 2.5; わずかな範囲に痂皮を伴う潰瘍
- 3.0; 痂皮も滲出液も伴わない広範囲な潰瘍
- 3.5; 滲出液を伴った潰瘍

写真 5 TS-1 の組織像 (H-E, $\times 200$)

2) TS-1 に対するX線照射効果についての検討

(1) 照射条件ならびに方法

X線発生装置としては島津製X線高圧装置 (SHT 250 M-2) を用い、照射条件は、管電圧 200 KVP, 管電流 20 mA, フィルター 0.5 mmCu+1.0 mmAl 焦点照射物間距離 35 cm, 半価層 1.18 mmCu および線量率 45 R/min とした。なお、線量は Victoreen 社製 Radocon 555 で測定し、吸収線量への換算係数としては 0.95 rad/R を用いた。

照射は、左側大腿部外側皮下に移植した腫瘍が長径約 10 mm に達した時点で行った。ネブタールの腹腔内注射 (0.05 mg/g.b.w.) により麻酔したマウスを 3 mm 厚の鉛容器に固定、左側大腿部に直径 14 mm の開孔部をもつ 3 mm 厚の鉛板によって全身を遮蔽し、照射した。

線量および照射法としては、1,000, 2,000, 3,000, 4,000, 5,000 rad 1回照射と1,000 radを24時間毎5回計5,000 rad の分割照射よりなる6通りの照射を行った。

(2) 肉眼的観察方法

照射効果の判定は、各照射群 5 匹計30匹のヌードマウスについて、週 2 回前述の方法によって求めた腫瘍体積を比較することにより行った。

急性皮膚反応の判定には、Fowler ら¹⁵⁾、相沢¹⁶⁾の判定規準を基礎に新たな規準 (表 1) を設定し、各照射群のスコアを経時的に結んで得た反応曲線を比較した。また、各照射群毎に全観察期間中のスコアの平均値を求め、平均皮膚反応として比較した。

(3) 組織学的観察方法

照射後、1, 3, 7, 14, 21, 28 日目に各照射群 3 匹、

計72匹のヌードマウスより皮膚と皮下腫瘍を一塊として摘出し、10%中性ホルマリンにて固定、5 μ m 厚のパラフィン切片に H-E 染色を行い、光顕的に観察した。照射効果は、大星らの組織学的治療効度¹⁷⁾に基づいて判定した。

(4) 細胞動態の解析

照射後、1, 3, 7, 14, 21, 28日目に、各照射群 3 匹、計 72 匹のヌードマウスに $^3\text{H-TdR}$ 2 $\mu\text{Ci/g}$ を 1 回腹腔内投与し、2 時間後の LI を算定した。X線照射効果は、DNA 合成抑制率 $\left(\frac{\text{非照射群の LI} - \text{照射群の LI}}{\text{非照射群の LI}} \right)$ を求めることにより検討した。また、照射後、3, 14日目に各照射群15匹のヌードマウスに前述の方法で頻回標識を行い、Ts, Tc および GF を算出した。さらに、銀粒子による標識を認めた細胞 200 個を無作為に選び、細胞内の粒子数を計測した。

結 果

1. TS-1 の生物学的特性

1) 組織学的ならびに細胞学的所見

TS-1 は、移植時の起源腫瘍ときわめて類似した組織構造を保持していた。すなわち、腫瘍実質は細い線維性間質によって境された大小の充実性胞巣よりなり、淡明な胞体と胞状核を有する類円形の小型上皮細胞が大部分を占めていたが、胞巣辺縁部には核や細胞質の濃染した紡錘形細胞も散見された。腫瘍細胞には大小不同など軽度の異型性がみられたが、核分裂像は比較的まれであった。また、胞巣内には小囊胞様腔の形成がわずかに見い出された (写真 5)。PAS 染色では一部の腫瘍細胞の胞体にジアスターゼ消化性の弱陽性所見を、AB 染色では胞巣内の細胞間隙、小囊胞様腔および胞巣周囲の間質に種々の程度の染色性を認めた。

電顕的には、腫瘍細胞はもっぱら卵円形あるいは多角形の上皮細胞よりなっていたが、時に間質に面して紡錘

写真 6 TS-1 の充実性胞巣を構成する未分化上皮細胞 ($\times 2,800$)

写真 8 胞巣辺縁部にみられた筋上皮様細胞
mf: microfilament ($\times 8,600$)

写真 7 胞巣内に見出された小腺管様構造 ($\times 18,500$)

jc: junctional complex, mv: microvilli

写真 9 網工を示す小嚢胞様腔 ($\times 3,300$)

形ないし星状の形状を示す電子密度の高い筋上皮様細胞も識別された。前者は一般に細胞小器官や細胞質フィラメントに乏しく、時にグリコーゲン顆粒を含む少量の細胞質を有し、発達の悪い desmosome で互いに接合されるところから未分化上皮細胞とみなされた。これらの細胞にはまれに導管上皮様分化を示すものもあり、microvilli の突出した腺腔に面して、隣接細胞間に、junctional complex, 細胞質中に発達したゴルジ装置や分泌様空胞の存在を示していた。一方、後者は胞巣最外層のはか胞巣内にまれに見出される小嚢胞様腔に面して観察され、クロマチンに富んだ不規則な外形の核と focal density を伴うマイクロフィラメント束を有していた。これらの細胞の基底面には hemidesmosome や基底板が観察され、時には網目状に吻合した重複基底板が嚢胞様腔を裏装していた (写真 6~9)。

2) 起源腫瘍の肺転移巣ならびに TS-1 の発育速度

患者の胸部 X 線写真における転移巣の観察開始時の平均直径は 6.6 mm, 体積は約 130 mm³, 観察を終了した 390 日後の平均体積は約 7,700 mm³ で、1,590 時間 (66 日) の T_D 値が得られた (図 1)。一方、TS-1 の発育曲線は図 2 のごとくで、移植後約 2 週間は体積が減少したが、以後徐々に増大傾向を示し、平均直径 7.4 mm, 体積約 130 mm³ となった約 6 週よりはほぼ直線的増大を示すいわゆる対数増殖期に移行した。8~9 週頃には、平均直径約 10 mm, 体積約 300 mm³ となり、さらにその後も体積は直線的に増大し、最終観察を行った 17 週には平均 643.1 mm³ にまで増大した (図 2)。なお、起源腫瘍の転移巣が発育初期において体積約 650 mm³ となるには 87 日を要し、その T_D は約 900 時間 (38 日) であったが、さらに 1,050 mm³ にまで増大した 118 日間の推移は、体積 Y を縦軸に、観察日数 X を横軸にとった一次回帰分析によって、 $Y = 73.1X + 114.6$ の式で表すことが

図 1 起源腫瘍肺転移巣の発育曲線

図 2 TS-1 の発育曲線

図 3 TS-1 と起源腫瘍肺転移巣の発育速度の比較

図4 頻回標識法による TS-1 の細胞動態

図5 各照射群における腫瘍体積の変動

できた(図3)。これに対して、TS-1の移植後6週から17週にかけての T_D は789.3時間(33日)であり、その間の腫瘍発育の推移は、一次回帰分析により、 $Y=69.7X+141.3$ の式で表された(図3)。

3) TS-1の細胞動態

$^3\text{H-TdR}$ の頻回投与により得られたLI値は、経時的に直線で結ぶことができた(図4)。LIは経時的に増大し、39.6時間でピークに達することとなり、したがって、その最大値63.0%をもってGF値とした。TsはLIが0%となる時間値12.8時間であり、これにLIが最大値を示す時間値39.6を加えることによって52.4時間の

T_D 値が得られた。すべての細胞が分裂に関係していると考えた場合、すなわち、LI値100%に相当する時間値は71.0となり、したがってこれにTs値12.8を加えることによりTp値は83.8時間、また、CL値は $1 - \frac{T_p}{T_D}$ の計算式¹⁸⁾より89.4%となった。

2. TS-1に対するX線照射効果

1) X線照射による腫瘍体積の変動

1,000 rad 1回照射群は、最初、腫瘍体積の増加を示したが、照射後3～4週で減少を示し、5週以後は平衡状態を保っていた。2,000および3,000 rad 1回照射群でも2週まではわずかな体積増加を認めたが、その後、

図6 各照射群における皮膚反応曲線

減少に転じ、4週以後は照射時の体積を下廻った。4,000 rad 1回照射群は、照射後1週間は照射時とほぼ同じ体積を保ったが、以後、次第に減少傾向を示した。一方、5,000 rad 1回照射群は照射直後より経日的に体積の減少を示し、7週後には照射時の約半分となった。一方、5,000 rad 分割照射群は、照射直後から同1回照射群よりもさらに著明な減少を示し、7週後には照射時の約1/6に体積を減じていた(図5)。

2) X線照射に対する皮膚反応

各照射群の示す皮膚反応曲線を図6に示した。いずれの照射群においても、最も強い皮膚反応は、12~14日目に出現した。1,000および2,000 rad 1回照射群においては、他の4群よりもピークのスコアが低く、乾性びらん程度に留まっていたのに対して、3,000 rad 以上の1回照射群では、ピークのスコアが高く尖鋭化を示すとともに、皮膚に湿性びらんおよび潰瘍形成による実質欠損が観察された。5,000 rad 分割照射群では、同1回照射群に比べて皮膚障害は軽度であり、治癒も速やかであった(図6)。

次に、平均皮膚反応は、2,000 rad 以下の1回照射群と3,000 rad 以上の1回照射群の間で2相性を示した。また、5,000 rad 1回照射群に比べて同分割照射群がより低い平均スコア値を示した(図7)。

3) X線照射に伴う TS-1 の組織学的変化

腫瘍細胞のX線照射による変化としては、核の腫大、濃縮、崩壊ないし融解消失および細胞質の腫大、融解消失等が観察された。各変化の出現時期や程度の経日的変化には照射群ごとに差異があり、特に1,000 rad と3,000 rad 1回照射群間、および5,000 rad 1回照射群と同分割照射群間におけるそれぞれの差異が著明であった。

1,000および3,000 rad 1回照射群では、核および細

図7 各照射群の平均皮膚反応による照射効果の比較

胞質の変化は照射後1~2週頃より出現し、3~4週になると腫瘍胞巣の崩壊も一部に認められたが、全体として腫瘍細胞の欠落像は明瞭でなかった。これに対して、5,000 rad 1回照射群と同分割照射群では、すでに照射後1日目に核、細胞質の変化を認め、1~2週にはそれらの程度の違いが両群間で著明となった。すなわち、腫瘍胞巣の崩壊は2週目より認め、5,000 rad 1回照射群では4週目においても腫瘍細胞の生存を認めたのに対して、同分割照射群では残存する腫瘍細胞の形態変化が著しく、もはや生存増殖しえないものとみなされた。

間質の変化としては、軽度の線維化を5,000 rad 分割照射群の4週目に、軽度の硝子化を5,000 rad 1回照射群および同分割照射群の3~4週目に認めた。また、いずれの照射群においても照射後約1週より間質にリンパ球浸潤が認められた。さらに5,000 rad 1回照射群および同分割照射群では、3~4週になると、細胞および腫瘍胞巣の崩壊に伴って胞巣内にもリンパ球浸潤が出現

図 8 各照射群における DNA 合成抑制率の経日的変動

写真 10 5,000 rad 1 回照射 4 週後の組織変化 (H-E, $\times 200$)
腫瘍胞巣の一部崩壊と欠落像を認める。

写真 11 5,000 rad 分割照射 4 週後の組織変化 (H-E, $\times 200$)
腫瘍胞巣の崩壊と胞巣内へのリンパ球浸潤を認める。

表 2 TS-1 の各照射群における DNA 標識指数 (LI) の経日的変動

day \ rad	1	3	7	14	21	28
1,000	11.4	8.2	7.3	6.5	4.3	4.0
3,000	4.7	3.4	3.0	2.8	2.0	3.7
5,000	2.6	2.0	1.8	1.7	2.0	0.4
1,000 $\times$ 5	0.7	0.6	0.6	1.1	0.1	0.02

し、特に分割照射群で著明であった。照射後 4 週における以上の組織所見を大星ら¹⁷⁾による組織学的治療効果度分類にあてはめると、1,000 および 3,000 rad 1 回照射群では第 1 度、5,000 rad 1 回照射群では第 2 度 B (写真 10)、同分割照射群では第 3 度 (写真 11) に相当した。

4) X 線照射による皮膚の組織学的変化

1,000 rad 1 回照射群と、3,000 rad 以上の照射群との間には組織学的に明らかな差異を認めた。1,000 rad 1 回照射群では、全経過中表皮は常に 3～4 層の棘細胞よりなり、角化層にも変化はなかったが、照射後 3 日目より基底細胞の膨化、細胞数の減少と配列の乱れおよび毛嚢の萎縮を認めた。これに対して、3,000 rad 以上の照射群では、基底細胞の膨化、減少、配列の不規則化および毛嚢の萎縮消失がすでに照射後 1 あるいは 3 日目に認められた。3～7 日目より表皮は 1～2 層の棘細胞のみよりなるようになり、2 週目には一旦全層の消失をきたしたが、3 週目には周囲より表皮の再生伸展が認められ、4～6 層の棘細胞よりなる表皮を速やかに形成した。再生表皮では、基底細胞は 2～3 層を示し、規則的な配列を示したが、毛嚢の再生は伴っていないかった、なお、

5,000 rad 1 回照射群と同分割照射群の表皮には、著明な組織学的差異を認めなかった。

5) X線照射に伴う TS-1 の細胞動態の変化

(1) LI の変化

一般に、照射後の経過日数ならびに線量増加に伴って LI は減少傾向を示し、5,000 rad 分割照射群の 4 週目では、標識細胞をわずかに認めるのみであった。3,000 rad

1 回照射群の 4 週、5,000 rad 1 回照射群の 3 週、同分割照射群の 2 週におけるそれぞれの LI 値は、その前後の時期におけるよりも高くなっていた(表 2)。DNA 合成抑制率は、1,000 rad 1 回照射群において 1 日目 19.4%，3 日目 43.5%，7 日目 52.6%，14 日目 57.8%と、他群に比して特に軽度であった(図 8)。

一方、3,000 rad 以上の照射群では、線量が増加するほど抑制曲線は急勾配のたちあがりを示し、3 日目には DNA 合成の 7～8 割以上が抑制されていた。特に 5,000 rad 分割照射群では、1 日目 95.5%，3 および 7 日目 96.1%と、3 日目までに増殖に参与するほとんど全細胞の DNA 合成が抑制されていた。

(2) 細胞内銀粒子数の変化

照射後 1 日目の細胞内銀粒子数は、対照群 6～102 個、1,000 rad 1 回照射群 4～87 個、3,000 rad 1 回照射群 1～67 個、5,000 rad 1 回照射群 1～53 個、同分割照射群 1～48 個の分布を示し、線量増加に相応して銀粒子数の多い細胞が減少していた(図 9)。また、各照射群における平均銀粒子数は、対照群 31.5 個、1 回照射群では 1,000 rad 群 25.6 個、3,000 rad 群 20.3 個、5,000 rad 群 15.0 個、5,000 rad 分割照射群では 12.5 個であり、線量増加に相応して減少傾向を示した。

さらに、照射後の経時的変化として、3,000 rad 1 回照射群では、21、28 日目、5,000 rad 1 回照射群では、14、21 日目、同分割照射群では、7、14 日目に、それまで減少していた細胞内銀粒子数の増加が認められた(図 10)。

(3) Ts, Tc および GF 値の変化

図 9 各照射群における 1 日目の細胞内銀粒子数の分布

図 10 各照射群における細胞内銀粒子数分布の経日的変動

図 11 各照射群における3日目の細胞動態

頻回標識法により得られた LI 値の図表計算および一次回帰分析(図11)に基づき、照射後3日目の細胞動態の各指標を求めたところ、1,000 rad 1回照射群では Ts 15.5時間、Tc 54.7時間、GF 34.5%、3,000 rad 1回照射群では Ts 13.1時間、Tc 48.1時間、GF 12.5%、5,000 rad 1回照射群では Ts 7.6時間、Tc 43.6時間、GF 11.2%、同分割照射群では Ts 7.5時間、Tc 43.3時間、GF 2.6%の各値が得られた。

なお、14日目にも頻回標識を行ったが、LI 値のバラツキが大きいため分析できなかった。

考 察

I. 可移植性腫瘍の樹立

1. ヒト悪性腫瘍のヌードマウス移植について

1969年 Rygaard ら¹⁹⁾がヒト悪性腫瘍のヌードマウスへの移植に初めて成功して以来、各種臓器由来のヒト悪性腫瘍の移植が試みられ、継代移植の可能となった腫瘍が起源腫瘍の形態と機能を維持することが明らかとなった。したがって、可移植性腫瘍は、安定した実験材料を必要時に供給できる *in vivo* 実験モデルとして、現在、ヒト悪性腫瘍の増殖・分化など生物学的性状の検索や治療効果の研究に必要な欠くことのできない材料となっている。しかし、その移植成功例は比較的少なく、特にヒト固型腫瘍の初代移植成功率は増殖力の強い悪性腫瘍の場合でも30~40%にすぎず²⁰⁾、さらに継代可能となる例はその70~80%といわれている²⁰⁾。

口腔腫瘍に関する継代移植可能例の報告は、Povlsen ら¹⁾、下里²⁾、安達ら⁷⁾、松田ら⁹⁾の数編を数えるのみで

あり、本邦で維持されている可移植性腫瘍株一覧表²¹⁾にも5例の記載をみるにすぎない。さらに、本腫瘍のような唾液腺癌由来可移植性腫瘍の報告は、著者の渉猟した限りでは見当たらない。

2. TS-1 の形態学的特性について

TS-1 起源腫瘍の組織像は、初発時には腺様囊胞癌を思わせたが、再発時には未分化癌の像を呈していた。このように、唾液腺腫瘍の組織像が経過に伴って変化し、未分化癌に移行しやすいことは、Patey ら²²⁾の指摘するところである。唾液腺の未分化癌を顕微鏡的に観察した Wirman ら²³⁾は、その構成細胞が単一ではなく、導管上皮様ならびに筋上皮様細胞への分化を示す2種の細胞よりなっていたと報告している。TS-1 においても未分化な上皮細胞が腫瘍実質の大部分を占めていたが、一部では導管上皮様の小腺腔を形成する細胞も認められた。また一方、マイクロフィラメントを有し、時に基底板上で裏装された小囊胞様腔を形成する筋上皮様細胞も観察された。これらの所見より、TS-1 はその起源となった唾液腺癌の組織学的特徴を十分維持しているものと考えられた。

3. 起源腫瘍の肺転移巣と TS-1 の体積倍加時間について

ヒト腫瘍の発育速度を定量的に把握する方法の1つに、肺転移巣についての胸部X線所見による解析がある。Collins ら¹⁴⁾は、腫瘍細胞は一定の速度で指数関数的に増殖すると仮定して、X線写真より得た肺転移巣の発育曲線から T_D を算出し、T_D が25日以下の急速発育型、75日以上の緩徐発育型およびその中間型の3型を分類している。また、Charbit ら²⁴⁾は、ヒト腫瘍の発育速

度について統計学的に検索した結果、530腫瘍の平均T_Dが58日であり、組織型によってT_D値が異なると述べている。本研究で得られた肺転移巣のT_Dは66日でCollinsらの中間型に相当し、Charbitらによる転移性扁平上皮癌の平均T_D値58.0日に最も近似していた。

一方、TS-1の対数増殖期におけるT_Dは33日で、肺転移巣のT_Dとは異なっていた。Matternら²⁸⁾も、4例のヒト肺腫瘍とそれらに由来するヌードマウス可移植性腫瘍の発育を比較し、後者のT_D値がより小さかったことを報告している。このような差異について、Ikeuchiら²⁹⁾は、ヒト体内に発見される腫瘍は一般にlatent periodあるいはplateau phaseに達したものであり、これに対して可移植性腫瘍は対数増殖期にあるためであろうと説明している。また、腫瘍の発育に伴ってT_D値の増大する原因として、Tannock²⁷⁾はT_Gの延長を、藤田ら²⁸⁾は細胞喪失の増加を重視している。Tannockは、腹水腫瘍における対数増殖期と定常細胞期ではT_Gに差異のあることを報告しているが、これに対して、松沢²⁰⁾は、ラットの固型腫瘍LY5における生長各期のT_C, T_Sに変化のないことから、固型腫瘍の細胞周期は生長各期を通じて変動しないことを明らかにしている。また、Steel³⁰⁾は、腫瘍移植後の日数とともに細胞喪失の増加することを認めている。さらに、木村³¹⁾は、吉田肉腫Y-S株をラット腹腔内および皮下に移植して解析した結果、細胞喪失の増加が腫瘍の生長と増殖に差異を生じる重要な原因であると結論している。すなわち、腫瘍の増殖に伴ってT_D値が大きくなるのは、環境の悪化によって腫瘍細胞の壊死をきたし細胞が喪失するためとも考えられる。そこで、細胞喪失の影響の少ないTS-1の対数増殖期に相応する体積約130から650mm³までの期間に限定して肺転移巣のT_Dを算出したところ、TS-1のT_Dと近似した38日という値が得られた。同時期の腫瘍発育の一次回帰分析においても、肺転移巣とTS-1はほぼ同じ傾きを示しており、TS-1が起源腫瘍のヒト体内における発育の性状を基本的に維持することが推定された。

4. TS-1の細胞動態について

本研究では、細胞動態の検索に³H-TdRの頻回標識法を用いた。この方法は、対象とする増殖細胞のLIだけでなく非増殖細胞の量も求めうる利点を有している。さらに、LIを指標とすることは、細胞分裂指数の約10倍の値を有する点でも優れている。一方、percent labeled mitosis (PLM) 法をヒト腫瘍細胞動態の検索に用いた場合、T_C値の大きな細胞ではPLM曲線に第2の山が出現しないことがあり、そのためT_Cを決定できないという欠点がある。しかしながら、Ikeuchiら²⁸⁾は、ヌードマウス可移植性ヒト腫瘍についてPLMによる細胞動態解析を行い、第2の山を明確にとらえ、ヒト腫瘍細胞についての実験と差異を生じる理由として、①homoge-

nousな可移植性腫瘍に対して、heterogenous populationを示すヒト腫瘍ではT_Cのばらつきが大きい。②ヒト腫瘍ではprolonged G₁あるいはG₀期の細胞がより多い。③ヌードマウスでは³H-TdRが大量に投与された等の可能性を推論している。

Sasakiら³²⁾は、ヒト固型腫瘍の細胞動態に関する742症例のデータを解析し、T_C 49.9時間、T_S 16.3時間、GF 33.0%、CL 90.4%の平均値を得ている。TS-1についてのT_C 52.4時間、T_S 12.8時間、GF 63.0%、CL 89.4%の値は、GFを除き上記の平均値と近似していた。また、彼らによる扁平上皮癌のGF値27.7~65.3%に比して、TS-1のGF値が特に異常とはいえず、この点からも本可移植性腫瘍はヒト固型腫瘍と基本的に異なる細胞動態を示すものと考えられる。

II. TS-1に対するX線照射効果について

1. X線照射による組織学的変化

放射線による腫瘍細胞の障害過程は、腫瘍により程度や出現時期に相違を認めるが、基本的には同様の細胞の膨大、空胞形成、核の濃縮や膨化等の変化をきたし、最終的には融解する。TS-1においても諸家の報告に一致した障害過程が観察された。線維化、硝子化、リンパ球浸潤等の間質反応が軽度であったことは、ヌードマウス可移植性腫瘍に特徴的な所見と考えられ、乾³³⁾のヌードマウス可移植性amelanotic melanomaでの実験的化学療法に際しても認められている。また、下里ら³⁴⁾は、BALB/c-nu/+マウスに自然発生した腫瘍をnu/nuおよびnu/+ヌードマウスへ移植し放射線照射を行ったところ、nu/nuマウスでは間質の硝子化、nu/+マウスでは線維芽細胞の増生や軽度のリンパ浸潤がみられ、間質反応が異なっていたと述べている。このような間質反応の違いには宿主の免疫能が関連すると考えられる。

ヌードマウスの皮膚も放射線によって上記と同様の障害過程を経たが、3,000rad以上の照射群では2週目から欠損部分への表皮の伸展が始まり、3週目には表皮が再生するなど、腫瘍組織とは基本的に異なる障害過程を示した。また、ヌードマウスの皮膚反応は、放射線による反応の検索にしばしば用いられるC₃H/Heマウスの場合とほぼ同様であることが判明した。

2. X線照射による腫瘍細胞の致死効果

X線照射による細胞死は、細胞分裂を介して起こるreproductive death (mitotic death) と、細胞分裂を介さないinterphase deathに大別される³⁵⁾。さらに、Tolmachら³⁶⁾は、これらに加えて、一部の培養実験にみられるような、照射後分裂不能となった細胞が巨大化して死に至るmetabolic deathの考えを提唱している。

Watanabeら³⁷⁾は、数百ないし2,000rad程度のX線を照射された培養細胞では、何回かの細胞分裂を経て細胞死に至るのに対して、それ以上の線量ではただちに死に至ることを指摘している。また、Thomlinsonら³⁸⁾は、

固型腫瘍においても 1,000 rad 以下の照射では腫瘍体積が増し、一定期間後に mitotic death によって縮小し始めることを報告している。したがって、本研究における DNA 合成抑制率が 1,000 rad 1 回照射群では 1 日目から 14 日目に至るまで経日的に徐々に上昇したこと、肉眼的にも、照射後約 2 週間は腫瘍体積を増し、その後 2 週間の平衡状態を経て体積の減少をきたしたことなどから、1,000 rad の X 線照射に reproductive death による致死効果のあることが推論される。一方、3,000 rad 以上の照射群、特に 5,000 rad 分割照射群では、1 目で DNA 合成の大部分が抑制されており、本腫瘍の Tc が 52.4 時間であるにもかかわらず、3、7 日目の DNA 合成抑制率が変化しなかったことから、照射後は腫瘍細胞の分裂増殖がほとんどなかったものと解釈される。また、次項で考察するごとく、GF すなわち増殖に関与する細胞の割合も 2.6~12.5% であったことから、3,000 rad 以上の高線量群における致死効果は、主として inter-phase death によるものであったと考えられる。

3. ^3H -TdR の再利用について

本研究において、 ^3H -TdR の再利用現象を示唆する所見を観察できた。この現象については、木村³¹⁾、Bryant³⁹⁾、Baserga ら⁴⁰⁾、Steel⁴¹⁾ も報告しており、例えば木村は、腹水腫瘍に ^3H -TdR を 1 回投与後 LI と銀粒子の細胞分布を経日的に調べた結果、標識細胞の崩壊時に遊離される ^3H -TdR を S 期を迎えた増殖細胞が取り込む可能性を指摘している。本研究において、3,000 rad 1 回照射群の 4 週、5,000 rad 1 回照射群の 3 週、同分割照射群の 2 週で LI の上昇を認め、これら各群の 3~4 週、2~3 週、1~2 週においてそれぞれ細胞内銀粒子数の増加を認めた事実より、これらの時期に ^3H -TdR の再利用、すなわち多量の細胞死のあったことが推測される。

4. X 線照射の細胞動態学的指標に及ぼす影響

頻回標識法より得られた照射後 3 日目の GF 値は、1,000 rad 1 回照射群で 34.5%、3,000 rad 1 回照射群で 12.5%、5,000 rad 1 回照射群で 11.2%、同分割照射群で 2.6% であり、非照射群では 63.0% であったことより、各照射群における GF 減少率すなわち細胞分裂を行う細胞比の減少率は、それぞれ 45.2、80.1、82.2、96.5% となる。これらの値は、単回標識法による照射後 3 日目の各照射群における DNA 合成抑制率ときわめて近似しており、X 線照射効果としての DNA 合成抑制率と GF 減少率との間に密接な関係のあることが示唆された。

臨床的にも、Td や LI の値と放射線治療効果や予後との間には強い相関関係のあることが認められている^{42~45)}。また、組織型の異なる腫瘍間では細胞動態に差異があり、それらの LI と GF の値に有意な相関関係の認められることから、佐々木⁴⁶⁾は、放射線照射効果と GF との関係を放射線生物学的に明らかにする必要があると

述べている。この点からも、本研究においてヒト唾液腺癌由来可移植性腫瘍の GF 値を示し、同細胞に対する X 線照射の生物学的効果を形態的ならびに細胞動態学的に明らかにしたことには重要な意義であろう。

次に、X 線照射による Tc、Ts 値の変化に関して、Hela 細胞を同調培養した Terasima ら⁴⁷⁾は、細胞周期の各時期に 300 rad の X 線を照射したところ、いずれの時期でも Ts がわずかに延長し、また、Tc も延長することを観察している。本研究に用いた固型腫瘍の場合にも、reproductive death を示す低線量群すなわち 1,000 rad 1 回照射群に Ts および Tc の延長が認められ、同様の結果が示された。

一方、3,000 rad 以上の高線量群における GF 値は極めて低く、前述したように大部分の腫瘍細胞は inter-phase death により増殖能力を失っていると考えられるが、3,000 rad 1 回照射群の約 13% の細胞は細胞周期上にあると推定され、本群における Ts は非照射群に比して軽度延長、Tc は短縮していた。また、5,000 rad 1 回照射群および同分割照射群でも約 3~11% の細胞が細胞周期上にあると考えられたが、これらの細胞の Ts と Tc はいずれも短縮していた。

5. 1 回照射と分割照射による X 線照射効果の比較

一般に、正常ならびに腫瘍細胞に対する放射線障害は、致死の損傷 (lethal damage)、亜致死の損傷 (sub-lethal damage)、潜在致死の損傷 (potentially lethal damage) に分けることができる。分割照射では亜致死のなしい潜在致死の損傷に対して修復が起こるため、腫瘍細胞への照射は非効果的であるが^{48~52)}、正常組織への障害が少ないことから日常臨床では主として分割照射が選択されてきた。

本研究において、5,000 rad 1 回照射と同分割照射を比較した結果、分割照射におけるヌードマウス皮膚障害は 1 回照射より軽度で回復も早いことが平均皮膚反応および照射効果曲線により示された。しかも腫瘍細胞に対する障害すなわち腫瘍縮小効果は、肉眼的、組織学的、細胞動態学的、いずれの面からも分割照射による効果がより大きかった。分割照射が同量の 1 回照射よりも有効であったという本研究結果は前述の概念と相反するが、この点は、本研究では 52.4 時間の細胞周期をもつ腫瘍に対して 24 時間ごとの分割照射がなされたことより説明が可能と考えられる。すなわち、腫瘍組織内に細胞周期の各期にある細胞が混在しており、各期ごとに細胞の放射線感受性が異なることから、1 周期の間に頻回照射された方が障害の大きいことが予測される。また、1 回の線量の大きい分割照射では亜致死の損傷が蓄積されて致死の損傷へと進むと考えられていることから⁵³⁾、1 回量が 1,000 rad というかなり高い線量であったことに起因して大きな効果をもたらした可能性もあろう。また、分割照射による損傷の大きかったことは、re-oxygenation の

現象からも支持できると考えられる。悪性腫瘍内には、酸素に富む細胞と乏しい細胞が存在し^{64,65)}、照射後には放射線感受性の強い酸素に富む細胞が減少するとともに、低酸素細胞が酸素に富んでくる現象、すなわち再酸素化 reoxygenation の起こることが知られている⁶⁶⁻⁶⁹⁾。本現象は、照射後 24 時間以内から 96 時間にかけて起こり⁶¹⁻⁶³⁾、1,000 rad 以上の照射時にはほとんど常に生じるといわれている⁶⁴⁾。本研究における分割照射に際しても腫瘍細胞に reoxygenation をきたし、放射線感受性を高めた可能性は十分に考えられる。

結 論

69 歳女性の口蓋に発生した未分化癌をヌードマウス (BALB/c-nu/nu) に移植継代することによって、可移植性腫瘍 TS-1 の樹立に成功し、その生物学的特性を検討した結果、以下の知見を得た。

1) 本腫瘍は、約 7 年、18 世代にわたって継代維持され、ほぼ 100% の生着率を示している。

2) 本腫瘍は、口蓋腺由来の未分化癌と診断された起源腫瘍ときわめて類似した形態学的特性を保持している。

3) 本腫瘍は、細胞動態学的に、体積倍加時間 (Td): 33 日、細胞周期時間 (Tc): 52.4 時間、DNA 合成時間 (Ts): 12.8 時間、増殖細胞比 (GF): 63.0%、細胞喪失比 (CL): 89.4% の各指標値を示した。

4) 起源腫瘍の肺転移巣における Td は 66 日であったが、TS-1 の対数増殖期に相当する時期の Td は 38 日であった。しかし、同時期の腫瘍発育の一次回帰分析が両腫瘍ともほぼ同じ傾きを示したことから、TS-1 が起源腫瘍の発育速度を基本的に維持することが示唆された。

次に、TS-1 の放射線感受性を検討した結果、以下の知見を得た。

1) 本腫瘍細胞に対する X 線照射による致死効果は、体積の変動および DNA 合成抑制率を調べた結果、1,000 rad 1 回照射群では主に reproductive death、3,000 および 5,000 rad 1 回照射群と 5,000 rad 分割照射群では interphase death によるものと考えられた。

2) 3,000 および 5,000 rad 1 回照射群、5,000 rad 分割照射群に標識指数 (LI) の一過性の上昇と細胞内銀粒子数の増加を認めたことから、大量の細胞死に伴う ³H-TdR の再利用現象の存在が示唆された。

3) 頻回標識法による検索では、線量の増加とともに照射後 3 日目の GF 値に低下がみられた。また、非照射群に比して、1,000 rad 1 回照射群では Ts、Tc の延長、3,000 rad 1 回照射群では Ts の軽度延長と Tc の短縮、5,000 rad 1 回および同分割照射群では Ts、Tc の短縮が認められた。

4) 本腫瘍に対する 5,000 rad 1 回照射と同分割照射

による効果を比較検討したところ、分割照射群における腫瘍の増殖抑制効果がより大きく、皮膚障害も軽度で回復も速かったことから、分割照射の優位性の一面をうかがうことができた。

稿を終えるに臨み、ご指導とご校閲を賜りました下里常弘教授、ならびにご教示およびご校閲を賜った本学口腔病理学講座二階宏昌教授、歯科放射線学講座和田卓郎教授、原爆放射能医学研究所障害基礎研究部門澤田昭三教授に感謝いたします。また、ご援助いただいた口腔外科学第 2 講座石川武憲助教授、奥井寛講師、教室員各位ならびに原爆放射能医学研究所障害基礎研究部門の教室員各位に感謝いたします。

本論文の要旨は、昭和 59 年第 38 回日本口腔科学会総会、昭和 59 年第 29 回日本口腔外科学会総会において発表された。

本研究の一部は、昭和 59 年度文部省科学研究費補助金 (課題番号 59480391) によった。

引 用 文 献

- 1) Povlsen, C.O., Fialkow, P.J., et al.: Growth and antigenic properties of a biopsy-derived Burkitt's lymphoma in thymus-less (nude) mice. *Int J Cancer* 30: 30-39 1973.
- 2) Kuga, N., Yoshida, K., et al.: Heterotransplantation of cultured human cancer cells and cancer tissues into nude mice. *Gann* 66: 547-560 1975.
- 3) Shimamoto, Y., Kameya, T., et al.: Transplantation of human tumors in nude mice. *J Natl Cancer Inst* 56: 1251-1260 1976.
- 4) Kameya, T., Shimamoto, Y., et al.: Human gastric choriocarcinoma serially transplanted in nude mice. *J Natl Cancer Inst* 56: 325-332 1976.
- 5) 下里幸雄: ヌードマウス、その癌研究への応用。蛋白質、核酸、酵素 23: 719-732 1978.
- 6) Povlsen, C.O. and Rygaard, J.: Heterotransplantation of human epidermoid carcinomas to the mouse mutant nude. *Acta Path Microbiol Scand* 80: 713-717 1972.
- 7) 安達 泉、田中義弘、他: ヒト口腔腫瘍のヌードマウスへの移植。歯科学 42: 508-516 1979.
- 8) Sato, N., Asano, S., et al.: Granulocytosis and colony-stimulating activity (CSA) produced by a human squamous cell carcinoma. *Cancer* 43: 605-610 1979.
- 9) 松田 明、吉岡 修、他: 人癌移植ヌードマウスを用いる化学療法の研究。癌と化学療法 6 (Supple. 1): 77-86 1979.
- 10) 春日 孟、大沼直躬、他: 人癌培養細胞の放射線治療への応用。黒色細胞 (HMF) と Hela

- S3-1 細胞の比較検討. 医学のあゆみ 90: 326-335 1974.
- 11) 稲田哲雄, 春日 孟, 他: サイトロトン中性子線による各種人癌培養細胞の不活性化効果. 日本医放会誌 37: 979-982 1977.
- 12) Inada, T., Kasuga, T., et al.: Comparative study on radiosensitivities of cultured cell lines derived from several human tumors under hypoxic condition. GANN 68: 357-362 1977.
- 13) Spang-Thomsen, M., Vindeløv, L.L., et al.: Effect of x-irradiation on a heterotransplanted human colonic carcinoma before and after a change in the cellular DNA content. Radiat. Res 93: 299-311 1983.
- 14) Collins, V.P., Loeffler, R.K., et al.: Observations on growth rates of human tumors. Am J Roent 76: 988-1000 1956.
- 15) Fowler, J.F., Kragt, K., et al.: The effects of divided doses of 15 MeV electrons on the skin response of mice. Int J Biol 9: 241-252 1965.
- 16) 相沢 恒: C_3H/He マウスの皮膚に及ぼす速中性子線およびX線の1回照射, 2分割照射の影響. 日医放会誌 33: 602-616 1973.
- 17) 大星章一, 下里幸雄, 他: 癌放射線療法の病理. 医学のあゆみ 61: 618-625 1967.
- 18) Steel, G.G.: Cell loss as a factor in the growth rate of human tumors. Europ J Cancer 3: 381-387 1967.
- 19) Rygaard, J. and Povlsen, C.O.: Heterotransplantation of a human malignant tumor to "nude" mice. Acta Path Microbiol Scand 77: 758-760 1969.
- 20) 玉置憲一: ヌードマウスによる生体内培養. 細胞 11: 462-471 1979.
- 21) 佐藤 博: 日本で維持されている「可移植性腫瘍株」一覧表. 癌と化学療法 11: 1-80 1984.
- 22) Patey, D.H., Thackray, A.C., et al.: Malignant disease of the parotid. Brit J Cancer 19: 712-737 1965.
- 23) Wirman, J.A. and Battifora, H.A.: Small cell undifferentiated carcinoma of salivary gland origin. An ultrastructural study. Cancer 37: 1840-1848 1976.
- 24) Charbit, A., Malaise, E.P., et al.: Relation between the pathological nature and the growth rate of human tumors. Europ J Cancer 7: 307-315 1971.
- 25) Mattern, J., Wayss, K., et al.: Different growth rate of lung tumours in man and their xenografts in nude mice. Europ J Cancer 16: 289-291 1980.
- 26) Ikeuchi, S., Shimamoto, Y., et al.: Cell kinetic study of human cancers transplanted to nude mice. Expl Cell Biol 48: 218-228 1980.
- 27) Tannock, I.F.: A comparison of cell proliferation parameters in solid and ascites Ehrlich tumors. Cancer Res 29: 1527-1534 1969.
- 28) 藤田哲也, 芦原 司: 生長と増殖. 腫瘍病理学 (菅野晴夫, 小林 博, 編). 朝倉書店, 東京, 1970, 39-60頁.
- 29) 松沢大樹: 発生・加齢とがんの細胞動態. 細胞周期 (日本動物学会編). 学会出版センター, 東京, 1976, 191-215頁.
- 30) Steel, G.G.: Cell loss from experimental tumours. Cell Tissue Kinet 1: 193-207 1968.
- 31) 木村英之: 吉田肉腫細胞の生長と増殖の比較的分析. 京府医大誌 81: 663-684 1972.
- 32) Sasaki, T., Sato, Y., et al.: Cell population kinetics of human solid tumors: A statistical analysis in various histological types. Gann 71: 520-529 1980.
- 33) 乾 直登可: ヌードマウス可移植性 amelanotic melanoma での実験的化学療法. 日口外誌 30: 24-43 1984.
- 34) 下里幸雄, 永井完治, 他: 腫瘍免疫と放射線治療. 癌の臨床. 別冊: 21-26 1978.
- 35) 菅原 努, 山田正篤, 他編: 放射線細胞生物学. 朝倉書店, 東京, 1968, 274-284頁.
- 36) Tolmach, K.J. and Marcus, P.I.: Development of X-ray induced giant Hela cells. Exp Cell Res. 20: 350-360 1960.
- 37) Watanabe, I. and Okada, S.: Study of mechanisms of radiation-induced reproductive death of mammalian cells in culture: Estimation of stage at cell death and biological description of processes leading to cell death. Radiat Res 27: 290-306 1966.
- 38) Thomlinson, R.H. and Craddock, E.A.: The gross response of an experimental tumour to single doses of X-rays. Brit J Cancer 21: 108-123 1967.
- 39) Bryant, B.J.: Reutilization of leukocyte DNA by cells of regenerating liver. Exp Cell Res 27: 70-79 1962.
- 40) Baserga, R., Henegar, G.C., et al.: Uptake of tritiated thymidine by human tumors *in vivo*. Lab Invest 11: 360-364 1962.
- 41) Steel, G.G.: Delayed uptake by tumours of tritium from thymidine. Nature 210: 806-808 1966.
- 42) Malaise, E.P., Chavaudra, N., et al.: Relationship between the growth rate of human metastases, survival and pathological type. Europ J Cancer 10: 451-459 1974.
- 43) Tubiana, M., Richard, J.M., et al.: Kinetics of tumor growth and of cell proliferation in U.R.D.T. cancers: Therapeutic implications. Laryngoscope 85: 1033-1052 1975.
- 44) Malaise, E.P., Chavaudra, N., et al.: The influence of tumor growth kinetics of the re-

- sponse to radiation therapy and drug therapy in man. *Antibiotics Chemother* 23: 181-190 1978.
- 45) Mattson, K. and Holsti, L.R.: Prognostic value of doubling time in lung cancer. *Strahlentherapie* 156: 632-636 1980.
- 46) 佐々木武仁: 放射線治療における癌細胞動態の意義. 癌の臨床 27: 1507-1515 1981.
- 47) Terasima, T. and Tolmach, L.J.: Variations in several responses of Hela cells to x-irradiation during the division cycle. *Biophys J* 3: 11-33 1963.
- 48) Elkind, M.M. and Sutton, H.: Radiation response of mammalian cells grown in culture. I. Repair of X-ray damage in surviving Chinese hamster cells. *Radiat Res* 13: 556-593 1960.
- 49) Phillips, R.A. and Tolmach, L.J.: Repair of potentially lethal damage in x-irradiated Hela cells. *Radiat Res* 29: 413-432 1966.
- 50) Little, J.B., Hahn, G.M., et al.: Repair of potentially lethal radiation damage *in vitro* and *in vivo*. *Radiology* 106: 689-694 1973.
- 51) Urano, M., Nesumi, N., et al.: Repair of potentially lethal radiation damage in acute and chronically hypoxic tumor cells *in vivo*. *Radiology* 118: 447-451 1976.
- 52) 大沼直躬: 腫瘍細胞および正常組織細胞における放射線照射後の回復 (repair of potentially lethal damage) の研究. 日医会誌 37: 1168-1175 1977.
- 53) Hall, E.J.: *Radiobiology For The Radiologist*. 2nd Ed, Harper & Row, publishers, Maryland, 1978, p 129-169.
- 54) Hewitt, H.B. and Wilson, C.W.: A survival curve for mammalian leukaemia cells irradiated *in vivo* (implications for the treatment of mouse leukaemia by whole-body irradiation). *Brit J Cancer* 13: 69-75 1959.
- 55) Powers, W.E. and Tolmach, L.J.: Demonstration of an anoxic component in a mouse tumor-cell population by *in vivo* assay of survival following irradiation. *Radiology* 83: 328-336 1964.
- 56) Du Sault, L.A.: Reoxygenation of tumors during fractionated radiotherapy. *Radiology* 92: 626-628 1969.
- 57) Gillette, E.L., Suit, H.D., et al.: Redistribution and reoxygenation in a C₃H mouse mammary carcinoma. *Radiat Res* 50: 574-582 1972.
- 58) Howes, A.E.: An estimation of changes in the proportions and absolute numbers of hypoxic cells after irradiation of transplanted C₃H mouse mammary tumours. *Brit J Radiol* 42: 441-447 1969.
- 59) Urano, M., Fukuda, N., et al.: Analysis of regrowth pattern of irradiated murine tumors. *Nippon Acta Radiol* 33: 697-701 1973.
- 60) Reinhold, H.S.: Improved microcirculation in irradiated tumors. *Europ J Cancer* 7: 273-280 1971.
- 61) Tannock, I.F.: The relation between cell proliferation and the vascular system in transplanted mouse mammary tumor. *Brit J Cancer* 22: 258-273 1968.
- 62) Tannock, I.F.: Population kinetics of carcinoma cells, capillary endothelial cells, and fibroblasts in a transplanted mouse mammary tumor. *Cancer Res* 30: 2470-2476 1970.
- 63) Kallman, R.F., Jardine, L.J., et al.: Effect of different schedules of dose fractionation on the oxygenation status of a transplantable mouse sarcoma. *J Natl Cancer Inst* 44: 369-377 1970.
- 64) 田邊親男: 移植腫瘍の放射線照射後の動態——Reoxygenationの関与について—— 京府医大誌 88: 343-356 1979.