実験的膀胱腫瘍に対する ACNU と高圧酸素の抗腫瘍効果

富山医科薬科大学泌尿器科学教室 秋 谷 徹
(主任: 片山 喬教授)THE EFFECT OF HYPERBARIC OXYGENATION WITH ACNU
ON EXPERIMENTAL BLADDER TUMOR

Tohru Akiya

Department of Urology, Faculty of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University
(Director: Prof. T. Katayama)

The anti-tumor effect of hyperbaric oxygenation (OHP) has been well known entity for the past few decades. In a review of recent literatures, however few reports have appeared in therapeutic application of OHP on bladder tumors and its real efficacy has not yet been established.

In this report, bladder tumors were induced by the administration of 0.05% N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN) at high frequency in male wistar strain rats and therapeutic effects of OHP with or without 1-(4-amino-2-methyl-5-primidiny) methyl-3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea hydrochloride (ACNU) on these neoplasms were investigated. All rats given 0.05% BBN for 18 weeks were randomly divided into three groups and received following treatments: Group I, no treatment; Group II, intraperitoneal injection of 5 mg of ACNU once a week from the 13 th week to the 19 th week; and Group III, the same ACNU medication of Group II rats associated with OHP-treatment from the 11 th week to the 19 th week. All animals fasted overnight were sacrificed on the 20 th week. A bladder tissue removed from each rat was weighed, checked the possible occurrence of tumor development and studied the histopathological findings of this organ. From these recognitions, anti-tumor effect of ACNU or ACNU plus OHP was analyzed.

Results have been presented: 1) that bladder tumors were induced histopathologically 90% of rats in Group I, but only 9.1% in Group II and 0% in Group III ($p < 0.01$; compared to Group I, respectively); 2) that the average weight of Group I rats was not significantly different from that of Group II rats, but this variable of Group III rats was 43% ($p < 0.01$) or 32% ($p < 0.05$) lower than that of Group I or Group II rats; 3) that the regression was histopathologically found in all rats of Group II and III, and the degree of it in Group III rats was not so remarkable as in Group II animals.

Based on these findings, OHP therapy appears to be effective on experimentally induced bladder tumors and might be available for the adjuvant therapy of these neoplasms.

要旨: 高圧酸素の抗腫瘍効果についてはかなり以前より知られているが, 膀胱腫瘍に関しての報告は少なく, 評価も定まっていない。今回, 著者はウイスター系雄性ラットに0.05%N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN)を飲料水として投与して膀胱腫瘍を発生させ, これに対する高圧酸素と1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidiny)methyl-3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea hydrochloride (ACNU)の抗腫瘍効果を検討した。

ラットは, I) 無治療群, II) ACNU 治療群, III) ACNU, 高圧酸素療法 (OHP) 併用療法群の3群にわけた。0.05%BBNを18週間投与し, この間II群ラットには13週より18週までACNU 5mgを毎週1回, 計6回腹腔内に注射した。III群ラットにはさらに11週から19週までOHPを施行した。

20週で屠殺して, 膀胱重量, 内眼的膀胱腫瘍の有無, 病理組織学的検索等によりACNU及びACNUとOHPの抗腫瘍効果を検討して次のような結果を得た。1) I群では90%に病理組織学的に膀胱腫瘍の発生をみたが, II群, III群では各々9.1%, 0% ($p < 0.01$)であった。2) I, II群間に膀胱重量の有意差はなかったが, III群はI群に比し43% ($p < 0.01$), II群に比し32% ($p < 0.05$) 低値であった。3) II群, III群共に全例 regression が認められたが, III群はII群に比しその程度は軽度であった。

以上より OHP の実験膀胱腫瘍に対する抗腫瘍効果が推測され、OHP の adjuvant therapy としての有用性が示唆された。

結 言

高圧酸素療法 (OHP) は、diving medicine の分野で主として行われてきたが、最近より広い治療分野でその有用性が認められつつあり、従来決定的な治療法が見出されなかった腫瘍に対しても有用であるとの報告がなされるようになった¹⁾。

著者は N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) を用いてラットに膀胱腫瘍を発生させ、これに OHP とニトロソウレア系の抗腫瘍剤である 1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl-3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea hydrochloride (ACNU) を併用してその抗腫瘍効果を検討し興味ある結果を得たので報告する。

実験対象および方法

実験室の環境に順応した 6 週齢のウイスター系雄性ラット 29 匹を 3 群にわけた。全群に 0.05%BBN を 18 週間飲料水として ad libitum に投与した。第 I 群は無治療群とし、第 II 群は ACNU 腹腔内注射群、第 III 群は ACNU と OHP の併用群とした (図 1)。II 群、III 群には 13 週目より 18 週目まで ACNU 5mg を毎週 1 回、計 6 回を腹腔内に注射した。III 群にはさらに 11 週目から 19 週目まで OHP を施行した。OHP 処置は第 2 種高圧酸素治療装置にて、30~50%の酸素濃度下で絶対圧 2 気圧、1 日 90 分、計 50 回施行した。BBN 18 週間投与後 2 週間は水道水を与えながら観察し、20 週目に全群のラットを屠殺した。

直ちに膀胱を摘除してその重量を測定し、粘膜面の腫瘍の有無を肉眼的に検討した後、病理組織的検索のために 10%ホルマリン液に固定した。なお、一部の新鮮切除標本をホモジェネートし、high performance liquid chromatography 法²⁾ (HPLC) 法にて組織内 ACNU 濃度を測定した。

結 果

実験開始時のラット体重は 138g から 197g で、各群間の平均体重に有意差はなかった。20 週目の屠殺時と同様であるが、各群の体重の推移を図 2 に示した (図 2)。

各群の肉眼的な膀胱腫瘍の有無を表 1 に示したが、I 群は II 群に比し、50.9% ($p < 0.01$)、III 群に比し 47.5% ($p < 0.001$) 多く腫瘍が認められた (表 1)。

ラット膀胱と体重の比 (mg/g) をとってみると病理

図 1 実験方法

図 2 各群ラットの体重推移

表 1 ラットの膀胱腫瘍の肉眼的有無

群	腫 瘍	
	有	無
I 群 (無治療)	6	4
II 群** (ACNU)	1	10
III 群** (ACNU+OHP)	1	7

** : $P < 0.01$ (I 群との比較)

図3 ラットの膀胱重量に与える治療処置の影響

組織学的に腫瘍のないラット20匹の平均は 0.288 ± 0.029 (Mean $\pm$ S.E.), 同様に腫瘍のあるラット9匹の平均は 0.513 ± 0.042 で $p < 0.001$ で有意差があり, 膀胱重量は膀胱腫瘍重量をよく反映していると思われた.

各群の膀胱重量は各々 I 群 228.3 ± 24.4 mg (Mean $\pm$ S.E.), II 群 192.9 ± 19.0 mg (Mean $\pm$ S.E.), III 群 131.1 ± 10.2 mg (Mean $\pm$ S.E.) であった. III 群の平均膀胱重量は I 群, II 群の各々 57.4% ($p < 0.01$), 68.1% ($p < 0.05$) で有意差を認めた (図3). I, II 群間に有意差は認められなかったが, III 群は他の両群に比し明らかに膀胱重量が減少しており, ACNU の実験膀胱腫瘍に対する治療効果を著しく増強させるものとして, OHP 併用療法の有効性が示唆された.

BBN 投与による膀胱腫瘍の組織型を Ito 等は, hyperplasia, papilloma, cancer と分類している³⁾が, 本実験では典型的な hyperplasia や papilloma が認められなかったため, dysplasia, atypical papilloma, CIS or invasive carcinoma に分類した (図4~6).

病理組織学的な治療効果の程度の判定には腫瘍細胞の変性, 剝離が軽度で表層に限られているものを mild regression, 基底膜の脱落まで見られるものを severe regression, その中間を moderate regression として, 3 段階を設けた (表2, 図7~9).

図4 無治療群ラットに生じた dysplasia. (H.E. 染色 $\times 40$, 以下同染色, 同倍率)

図5 無治療群ラットに生じた atypical papilloma.

図6 無治療ラットに生じた invasive carcinoma.

表3には, 治療効果を組織型別に判定して百分率で示してある (表3). Normal, dysplasia を no malignancy とし, atypical papilloma, carcinoma を malignancy としてみると, I 群は II 群, III 群に比し有意

表2 ラットの膀胱組織型と治療効果

No	組織型	治療効果
I-1	A-1	O:innocent change or intact mucosa A:dysplasia B:atypical papilloma C:cis or invasive carcinoma R:regression 1:mild 2:moderate 3:severe
2	C	
3	B-1	
4	C	
5	B-1	
6	B-2	
7	B-2	
8	B-2	
9	B-2	
10	B-1	
II-1	A-1	R-2
2	A-1	R-1
3	A-1	R-1
4	A-1	R-2
5	A-1	R-2
6	O	R-1
7	O	R-1
8	A-1	R-3
9	O	R-2
10	B-1	R-3
11	O	R-3
III-1	A-1	R-1
2	A-1	R-1
3	O	R-2
4	A-1	R-1
5	A-1	R-1
6	A-1	R-2
7	A-1	R-1
8	A-1	R-3

図7 ACNU投与群ラット. intact mucosa, regression 1と判定した。

図8 ACNU+OHP 併用群ラット. intact mucosa, regression 2と判定した。

図9 ACNU投与群ラット. regression 3と判定したが、papillomaであったと思われる。

表3 BBN投与ラット膀胱の各群病理組織像

群	組織型	Normal	Dysplasia	Atypical Papilloma	Carcinoma
I 群 (無治療群)		0 (0%)	1 (10%)	7 (70%)	2 (20%)
II 群** (ACNU群)		4 (36%)	6 (55%)	1 (9%)	0 (0%)
III 群** (ACNU+OHP群)		1 (13%)	7 (87%)	0 (0%)	0 (0%)

I 群に対して** P<0.01

($p<0.01$)に malignancyが多かった。II群, III群のすべてのラット膀胱に regression が認められたが、その程度に有意差は認められなかった。

膀胱組織内 ACNU 濃度はすべての群で検出感度以下であった。

考 察

BBN は飲料水として手軽に投与出来、膀胱に選択的に高率に腫瘍を発生させ⁴⁾、かつその腫瘍の発生機序や組織学的特性がヒト膀胱腫瘍に極めて類似しているという、実験上秀れた発癌物質である⁵⁾。

今回、著者はこの BBN を用いてラットに膀胱腫瘍を発生させ、これに対し ACNU と adjuvant therapy としての OHP の抗腫瘍効果の有無を検討した。

ACNU はニトロソウレア系の抗腫瘍剤で DNA の alkylation, 蛋白の carbamylation により DNA と蛋白合成を阻害するとされる薬剤である⁶⁾。臨床的には

脳や肺等の腫瘍に広く用いられているが、泌尿器科領域では荒木等の行った本剤の膀胱内注入療法の7例⁷⁾の他、腎・精巣等に数例の報告が散見されるにすぎない⁸⁾⁹⁾。ヒト膀胱癌由来培養細胞に対しても試みられているが、その効果は他剤より劣るようである¹⁰⁾、Ajuvant therapyとしてのOHPの有用性を検討するには評価の定まっている薬剤よりはむしろ適当と考え、今回敢えてACNUを用いた。

現在OHPの抗腫瘍効果は組織内酸素濃度を上げることと、その際発生する活性酸素の作用によるものと考えられている¹¹⁾。OHPを施行すると腫瘍組織の酸素分圧は正常組織のそれに比し約2倍高くなることが確かめられており¹²⁾。通常低酸素状態に陥っている腫瘍細胞に直接障害を与える¹³⁾とともに、制癌剤、放射線に対する感受性も高めることが期待されている。

さらにOHPの抗腫瘍効果の最たるものは活性酸素によるものである。この活性酸素はSH-基をもつ酵素を非活性化したり¹⁴⁾、DNAのようなpolymerを変性させることにより¹⁵⁾、その殺細胞効果を発揮する。また、細胞膜の脂質と反応し、過酸化脂質を形成することによりこれを破壊するという¹⁾。

このように活性酸素が細胞毒であるにもかかわらず、生体に直接害を及ぼさないのは、生体内にsuper oxide dismutase (SOD)が存在するためである。癌細胞ではSODが低下しており¹⁶⁾、正常細胞ではOHPを施行するとかえってSODの活性が高まるという結果が出ている¹⁷⁾。この活性酸素に対する感受性の差を癌の治療に応用しようとするものである。

実験的、臨床的にOHP単独の抗腫瘍効果が種々試みられているが、有効とするもの^{18)~24)}、無効とするもの^{13)25)~27)}、がある。さらに癌細胞の種類によって効果のあるものとなないものがあるという報告²⁸⁾や、かえって腫瘍を増大させたり²⁹⁾、転移を促進させたというもの²⁸⁾まで、その評価はさまざまである。

今回、ここには触れなかったが、著者はOHP単独でも実験的膀胱腫瘍に対し腫瘍縮小効果を認めている³⁰⁾。

OHPが放射線感受性を高めることと、それより発生する活性酸素の働きとの相乗効果をねらった放射線照射との併用はかなり以前より試みられている。実験的なものから臨床的なものまで報告があるが、これも有効^{32)~34)}、無効^{35)~38)}相半ばするようである。

また、抗生剤系の抗癌剤を中心として、これらとOHPの併用効果の検討も進められてきた。Nathan-

sonら²⁵⁾は各種の癌細胞に対してCyclophosphamide, Nitrogen Mustard, Cytosan, Actinomycin D, Methotrexate, 6-Mercaptopurine, Mitomycin CとOHPを併用した成績を報告しているが、ある種の細胞に対し、ある種の抗癌剤とOHPの併用療法が施行方法次第で有効であったと述べている。

注目すべきはOHP単独では無効¹³⁾²⁶⁾もしくは有害としている者²⁹⁾も、有効としている者²¹⁾²⁴⁾も、抗癌剤と併用してその抗腫瘍効果を増加させたと報告していることである。

以上より、OHPと併用して効果が増強されたと報告されている抗腫瘍剤はcyclophosphamide¹³⁾²⁵⁾、Mitomycin C²⁴⁾²⁶⁾、Bleomycin²¹⁾²⁹⁾、Nitrogen Mustard³⁹⁾等である。著者もOHPとAdriamycinをBBNによる実験的膀胱腫瘍に併用して、両者の単独使用よりも強い抗腫瘍効果を観察している³⁰⁾。

先に詳述したように、OHPの腫瘍の低酸素状態を改善し、血流を増加させるという環境的な因子と活性酸素の種々の直接的な抗腫瘍性とは、ある種の抗癌剤との間に相加・相乗効果をもつことは確かなことと思われる。

このような効果は加圧よりも酸素自体のものとする意見²⁹⁾もあるが、酸素濃度を変えなくても絶対圧を増加させることによりOHP療法が有効であることも報告されており³¹⁾、著者はやはり加圧された酸素が有効なのであろうと考えている。

OHPと抗癌剤と放射線の三者を併用したらどうかということも当然考えられようが、Bleomycinを用いた例ではやはり有効とするもの²⁷⁾と無効とするもの⁴⁰⁾とがある。

いずれにしてもOHPと放射線との併用は評価が定まっていない感があるものの、抗癌剤との併用は今後ますます研究されるべきものと思われる。

実際にヒト膀胱腫瘍の治療にOHPを取入れたのは、1968年Van den Brenk⁴¹⁾によってであり、放射線照射と併用してやや効果を認めたようである。その後Plenk⁴²⁾によってOHPと放射線照射の併用療法が2年生存率を有意に高めたことが報告されたが、McEvan⁴³⁾、Dische⁴⁴⁾、Cadeら⁴⁵⁾によって本併用療法は無効と判定され、1979年ヒト膀胱癌に対しては無効であると総括されるに至ったのである⁴⁶⁾。

すでに述べたように他科領域では臨床的にOHPと抗癌剤の併用療法がなされているが、ヒト膀胱腫瘍に対する報告はいまだなく、今回の著者の実験結果から

みて試みられるべきものと思われる。

最後に OHP+ACNU 療法が腫瘍の発生を抑制したのか、発生した腫瘍の増殖を抑制したのかという点について考察したい。平松ら⁴⁷⁾は BBN を 8 週間ラットに投与し、その 12 週後には乳頭腫が 100%、癌腫が 20% 発生すると述べている。同じく柳下⁴⁸⁾は、0.05%BBN 投与開始後 15 週で全例に上皮性腫瘍を認めている。今回著者は、0.05%BBN を total で 18 週投与しているが、OHP は 11 週目より、ACNU 腹腔内注射は 13 週目より行なっていることから、腫瘍の発生を抑制したのか、抗腫瘍効果があったのかの判断は容易にはできない。0.05%BBN を 8 週間投与後、各種の抗癌剤をラットの腹腔内に注射して、その効果を先の平松ら⁴⁷⁾が詳細に報告しているが、それと比較してみても ACNU および ACNU+OHP 療法では、malignancy の出現率が極めて低かった。さらに膀胱重量の有意差からも ACNU+OHP 併用療法が ACNU 単独療法より秀れた効果をもつことが示された。少なくとも初期の腫瘍には極めて有効であると考えられる。

OHP と抗癌剤の併用療法をヒト膀胱腫瘍に応用するためには OHP と抗癌剤の有効な組合せや、OHP 自体の最適条件等の検討が必要と思われるが、adjuvant therapy としての OHP の有用性が今回示唆されたものと考えられる。

結 語

ウィスター系雄性ラットに BBN を投与して発生する膀胱腫瘍に対する ACNU 投与、OHP+ACNU 投与の効果を検討し、次の結果を得た。

1) 無治療群 (対照群) では、1 例を除いてすべてに腫瘍の発生を見た。

2) ACNU は膀胱重量を有意には減少させなかったが、36.4%に intact mucosa が認められ、腫瘍発生頻度を 9.1% ($p < 0.01$) に減じた。

3) ACNU+OHP 併用群の膀胱重量は対照群に比し 43% ($p < 0.01$)、ACNU 群に比し 32% ($p < 0.05$) 低値であった。病理組織学的に 12.5%に intact mucosa が認められ、腫瘍の発生は見られなかった。

4) ACNU 群、ACNU+OHP 併用群共に全例に regression が認められるものの、併用群は単独群に比しその程度は軽度であった。

5) ACNU 投与群と ACNU+OHP 併用群の ACNU の腫瘍組織内濃度を HPLC 法で測定したが検出感度以下であった。

6) 以上より ACNU 及び ACNU+OHP 併用療法

の実験膀胱腫瘍に対する抗腫瘍効果が推測され、OHP の adjuvant therapy としての有用性が示唆された。

本稿を終るにあたり、終始御指導をいただいた片山喬教授、中田英浩助教授ならびに本学第 1 病理学教室北川正信教授、OHP を施行するにあたって多大な御援助を賜った斉藤芳災病院院長太田幸吉博士に深謝致します。なお、本論文の要旨は第 21 回日本癌治療学会総会で発表した。

文 献

- 1) 杉本弘行：高圧酸素療法と癌治療。癌治療の時前線下巻、第 1 版、211 頁、ベクトルコア社、東京、1985。
- 2) Nakamura, K., Asami, M., Kawada, K. and Sesahara, K.: Quantitative determination of ACNU(3-[84-Amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl]-1-(2-chlorethyl)-1-nitrosourea Hydrochloride), a new water soluble anti-tumor nitrosourea, in biological fluids and tissues of patients by high-performance liquid chromatography. I. Analytical method and pharmacokinetics. Ann. Rep. Sankyo Res. Lab., 29, 66—74, 1977.
- 3) Ito, N., Hisaa, Y., Tamia, A., Okada, E. and Kitamura, H.: Histogenesis of urinary bladder tumors induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine in rats. GANN, 60, 401—410, 1969.
- 4) 石川昌義、岡島英五郎、井本 卓、平松 侃、伊東信行、小西陽一、日浅義雄：膀胱腫瘍に対する実験的研究。第 1 報 N-Butyl-N-Butanol(4)-Nitrosamine 投与によるダイコクネズミの膀胱腫瘍発生について。日泌尿会誌、60, 99—108, 1969.
- 5) 伊東信行、岡島英五郎：膀胱がん。日本臨床、30, 450—453, 1972.
- 6) 中村 徹、笹田昌孝、田島政郎、山本孝吉、内田三千彦、沢田博義、内野治人：白血球細胞における 1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl-3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea (ACNU) の作用機序。癌と化学療法、5, 991—1000, 1978.
- 7) 荒木博孝、三品輝男、都田慶一、藤原文文、小林徳朗、渡辺 決：ACNU 膀胱注入療法。泌尿器誌、25, 37—41, 1979.
- 8) 斉藤達雄、横山正和、檜森 巽、氏家重紀、草原伸夫、杉山善助、北田浩一：Nitrosourea 系新抗癌剤 ACNU1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl-1-(2-chlorethyl)-3-nitrosourea hydrochloride の phase I および phase II study。癌と化学療法、4, 991—1003, 1977.
- 9) 木村郁郎、原田英雄、大槌泰亮、占都康雄、藤井昌央、町田健一、村上直樹：ACNU：1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl-3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea hydrochloride の臨床試験。癌と化

- 学療法, 5, 767—772, 1978.
- 10) 久住治男, 中島和喜, 黒田恭一: ACNU のヒト膀胱癌由来培養細胞 KK-47, KW-103, RT₄ に対する in vitro の殺細胞効果. 西日泌尿, 43, 873—876, 1981.
 - 11) Gerschman, R., Gilbert, D.L., Ney, S.W., Dwyer, P. and Fenn, W.O.: Oxygen poisoning and X-irradiation: A mechanism in common. Science, 119, 623—626, 1954.
 - 12) Jamieson, D. and Van den Brenk, H.A.S.: Oxygen tension in human malignant disease under hyperbaric conditions. Brit. J. Cancer, 19, 139—150, 1965.
 - 13) 渡部達夫, 影山 浩, 高橋 清, 高杉健太, 吉田清, 木村郁郎: 割癌剤と高圧酸素併用療法に関する実験的研究. 癌と化学療法, 4, 157—161, 1977.
 - 14) Haugaard, N.: Poisoning of cellular reactions by oxygen. Ann. N.Y. Academy of Sci., 117, 736—744, 1965.
 - 15) Gilbert, D.L., Gerschman, K., Ruhm, B. and Price, E.W.: The production of hydrogen peroxide by high oxygen pressures. J. Gen. Physiol., 41, 989—1003, 1958.
 - 16) Yamanaka, N. and Deamer, D.: Superoxide dismutase activity in WI-38 cell cultures. Effects of age, trypsinization and SV-40 transformation. Phys., 6, 95—106, 1974.
 - 17) Klimball, R.E., Redday, K., Peirce, T.H., Schwartz, L.W., Mustafa, M.G. and Cross, C.E.: Oxygen toxicity: Augmentation of antioxidant defence mechanisms in rat lung. Amer. J. Physiol., 23, 1425—1431, 1976.
 - 18) Suit, H.D., Marchall, N. and Woerner, D.: Oxygen, oxygen plus carbon dioxide, and radiation therapy of a mouse mammary carcinoma. Cancer, 30, 1154—1158, 1972.
 - 19) Balin, A.K., Goodwau, D.B.P., Rasmussen, H. and Crestofalo, V.J.: The effect of oxygen tension on the growth and metabolism of WI-38 cells. J. Cell Physiol., 89, 235—250, 1976.
 - 20) Weeler, R.H., Dirks, J.W., Lunardi, I. and Nemiroff, M.J.: Effect of hyperbaric oxygen on the cytotoxicity of adriamycin and nitrogen mustard in cultured Burkitt's lymphoma cells. Cancer Research, 39, 370—375, 1979.
 - 21) 永山 孝: プレオマイシンと高圧酸素併用療法に関する基礎的臨床的研究. 医学のあゆみ, 52, 233—242, 1982.
 - 22) Bornide, G.H. and Trocey, J.M.: Partial reversal by sodium scorbate of hyperoxia-induced damage of HEp-2 cell cultures. In Vitro, 19, 355—360, 1983.
 - 23) Gendimenico, G.J., Schlesinger, H.R., Ritter, M. A. and Haugaard, N.: Inhibition of growth and decreased survival of B104 rat neuroblastoma cells after exposure to hyperbaric oxygen. In Vitro, 20, 385—390, 1984.
 - 24) 杉山弘行, 池田彰宏, 久保俊朗, 西川 亮, 滝沢潤, 川田彰得, 神山喜一: 高圧酸素と制癌作用. 日高圧医誌, 19, 141—143, 1984.
 - 25) Nathanson, L., Brown, B., Maddock, C. and Hall, T.C.: Effects of antitumor agents and hyperbaric oxygen in normal and tumorbearing rodents. Cancer, 19, 1019—1025, 1966.
 - 26) 貝原信明, 池田俊彦, 服部孝雄, 八木博司: 高圧酸素と制癌剤の併用効果について. 癌の臨床, 15, 695—698, 1969.
 - 27) 谷口善郎, 小島筋子, 吉松信彦, 高井 淳, 田久保海蒼, 吉安正行, 笹島耕二, 徳永 昭, 田中宣威, 森山雄吉, 山下積彦, 恩田昌彦, 大川共一, 代田明郎, 浅野伍朗: ラット実験食道癌に対する高圧酸素療法について. 一第2報—. 日高圧医誌, 18, 70, 1983.
 - 28) Shewell, J. and Thompson, S.C.: The effect of hyperbaric oxygen treatment on pulmonary metastasis in the C3H mouse. Europ. J. Cancer, 16, 253—259, 1980.
 - 29) Takenaka, S., Arimura, T., Higashi, M. and Nagayama, T. and Ito, E.: Experimental study of bleomycin therapy in combination with hyperbaric oxygenation. J. Jap. Soc. Cancer Ther., 13, 864—875, 1980.
 - 30) 秋谷 徹, 中田英浩, 嘉川宇秀, 梅田慶一, 風間泰蔵, 笹川五十次, 片山 喬, 北川正信, 斉藤春雄, 太田幸吉, 千見青勝, 松下徳良: 実験膀胱腫瘍に対する化学療法と高圧酸素の治療効果. 日高圧医誌, 20, 245—250, 1985.
 - 31) Nakada, T., Momose, G., Saito, H., Ota, K. and Saegusa, T.: On release from steroid dependency by hyperbaric oxygenation. Chiba Med. J., 50, 363—371, 1973.
 - 32) Cater, O.B., Scheoniger, E.L. and Watkinson, D. A.: Effect on oxygen tension of tumors of breathing oxygen at high pressures. Lancet, 381—383, 1962. (August 25).
 - 33) Watson, E.R., Halan, K.E., Dische, S., Saunderson, M.I., Cade, I.S., McEvan, J.B., Wiernik, G., Perrins, D.J.D. and Sutherland, I.: Hyperbaric oxygen and radiotherapy: A medical research council trial in carcinoma of the cervix. Brit. J. Radiol., 57, 879—887, 1978.
 - 34) Mueller-Klieser, W. and Vaupel, P.: Tumor oxygenation under normobaric and hyperbaric conditions. Brit. J. Radiol., 56, 559—564, 1983.

- 35) Johnson, R.J.R.: Gyencological cancer treated with cobalt under hyperbaric cinditions. *Front. Radiation Ther. Onc.*, 1, 149—155, 1968.
- 36) Brady, L.W., Plenk, H.P., Hanley, J.A., Glassburn, J.R., Kramer, S. and Parker, R.G.: Hyperbaric oxygen therapy for carcinoma of the cervix-stage IIB, IIIA, IIIB and IVA: Results of a randomized study by the radiation therapy oncology group. *J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 7, 991—998, 1981.
- 37) Sause, W.T., Sweeney, R.A., Plenk, H.P. and Thomson, J.W.: Radiotherapy of bronchogenic carcinoma.—Analysis of a treatment schedule designed for use with hyperbaric oxygen. *Radiology*, 140, 209—212, 1981.
- 38) Kapp, J.P., Routh, A. and Cotton, D.: Hyperbaric oxygen as a radiation sensitizer in the treatment of brain tumors. *Surgical Neurology*, 17, 233—235, 1982.
- 39) Kremenzen, E.T. and Knudson, L.: The effect of increased oxygen tension on the tumoricidal effect of nitrogen mustard. *Surgery*, 50, 266—273, 1961.
- 40) Schanta, S., Krishnamurthi, S. and Scharma, M.: Irradiation, bleomycin and hyperbaric oxygen in the treatment of oral carcinoma. *Acta Radiologica Oncology*, 22, 13—16, 1983.
- 41) Van den Brenk, H.A.S.: Hyperbaric oxygen in radiation therapy. An investigation of dose-effect relationships in tumor response and tissue damage. *Amer.J. Roent.*, 102, 8—26, 1968.
- 42) Plenk, H.P.: Hyperbaric radiation therapy. Preliminary results of a randomized study of cancer of the “oxygen experience”. *Amer. J. Roent.*, 114, 152—157, 1972.
- 43) McEvan, J.: Hyperbaric oxygen as an adjuvant to megavoltage radiotherapy. *Brit. J. Radiol.*, 45, 395, 1972.
- 44) Dische, S.: The hyperbaric oxygen chamber in the radiotherapy of carcinoma of the bladder. *Brit. J. Radiol.*, 46, 13—17, 1973.
- 45) Cade, I.S., Mcevan, J.B., Dische, S., Saunders, M.I., Watson, E.R., Halnan, K.E., Wiernik, G., Perrins, D.J.D. and Sauterland, I.: Hyperbaric oxygen and radiotherapy: A medical research council trial in carcinoma of the bladder. *Brit. J. Radiol.*, 51, 876—878, 1978.
- 46) Dische, S.: Hyperbaric oxygen: Medical research councils and their clinical significance. *Brit. J. Radiol.*, 51, 888—897, 1979.
- 47) 平松 侃, 伊集院真澄, 平尾佳彦, 小原壮一, 塩見努, 馬場谷勝嶋, 脇岡 隆, 青山秀雄, 大園誠一郎, 田中正己, 橋本雅善, 丸山良夫, 渡辺秀次, 窪田一男, 駒田佐多男, 佐々木憲二, 二馬省二, 末盛 毅, 吉田克法, 岡村 清, 岡島英五郎: 膀胱癌に関する実験的並びに臨床的研究. *泌尿紀要*, 28, 1553—1569, 1982.
- 48) 柳下次雄: N-buthyl-butanol(4)Nitrosamine によるラット膀胱発癌過程の糖代謝に関する研究. *日泌尿会誌*, 75, 893—902, 1984.

(1986年7月18日受付)