

ヌードマウス移植人子宮頸癌を用いた放射線増感剤

Misonidazole の研究, 特に核 DNA 動態の

Flow-Microfluorometry による解析

東京慈恵会医科大学産婦人科学教室 (主任: 蜂屋祥一教授)

岸 野 喜 保

Flow-Microfluorometric Studies on the Effect of Misonidazole as a Radiosensitizer for Human Uterine Cervical Carcinoma Transplanted to Nude Mice

Yoshiyasu KISHINO

Department of Obstetrics and Gynecology, The Jikei University School of Medicine, Tokyo

(Director : Prof. Shoichi Hachiya)

概要 Misonidazole は放射線の増感剤として従来効果があるとされているが, 1 回の照射量が少ない場合は効果が乏しいとされている. このことは, 人子宮頸癌の放射線療法は分割照射が普遍的であることより, Misonidazole の併用による増感効果は期待しえないことになる. そこで, これらを知る目的で人子宮頸癌ヌードマウス移植株を用い, 1 回1000rad 照射, 均等分割照射: 1 回250rad 4 回および不均等分割照射: 1 回250rad 4 回に500rad 1 回の線量域における Flow-Microfluorometry による DNA distribution および核面積, 腫瘍増殖曲線の測定を行い, 临床上本剤が使用しうるかどうかの検討を行った.

1000rad 1 回照射で1mg/g.b.w.の Misonidazole 併用群では, 増殖曲線上増殖の抑制は明らかで, DNA distribution の上でも照射による G_2 -M 期細胞の増加の抑制および debris が長時間にわたって認められ, repopulation の遅れが示唆され, 明らかな増感効果を認めたが, 均等分割照射での 1 回0.25mg/g.b.w. (総投与量 1mg/g.b.w.) の Misonidazole 少量分割投与群では, 上記変化は認められなかった. しかも照射による核腫大の抑制は少なかった. しかし, 不均等分割照射での500rad 照射時に 1mg/g.b.w. の Misonidazole を併用した群では, DNA distribution の変化, 核腫大の抑制, 増殖曲線の抑制は著明であり, 本照射法での増感効果は期待しうるものと解釈された.

以上より, 均等分割照射と Misonidazole の併用では, 効果はほとんど認められないが, 不均等分割照射の様に照射法, 投与法を工夫することにより, 临床上 Misonidazole の効果は十分に期待されるものと思われる.

Synopsis It is already known that Misonidazole as a radiosensitizer is not so effective with the small doses of radiation that we generally use to treat human uterine cervical carcinoma by fractionated irradiation.

Using nude mice in which human uterine cervical carcinoma was transplanted, we examined DNA distribution by Flow-Microfluorometry, nuclear area and growth curves with 1,000 rads single dose irradiation, equally fractionated irradiation (250 rads/day for 4 days) and unequally fractionated irradiation (250 rads/day for 4 days, 500 rads for 1 day) after administration of Misonidazole.

It was recognized that repopulation was delayed with 1,000 rads single dose irradiation with Misonidazole 1mg/g.b.w. since a reduction in the rate of increase in G_2 -M cells and an increase in debris lasted a long time in DNA distribution, and the tumor regrowth time was delayed when compared to the only irradiation group. These changes were not observed with equally fractionated irradiation with Misonidazole 0.25mg/g.b.w./day administration, but were significantly observed with unequally fractionated irradiation with Misonidazole 1mg/g.b.w. at 500 rads irradiation where the nuclear area was also reduced.

As mentioned above, it can be considered that the clinical effect of Misonidazole can be expected as in the case of unequally fractionated irradiation.

Key words: Misonidazole • Irradiation • Flow-Microfluorometry • Uterine cervical carcinoma

結 言

腫瘍細胞の中には、酸素分圧の高い細胞と低い細胞があり、特に血管より離れて存在する低酸素癌細胞は放射線感受性が低く、治療の妨げになっている⁶⁾¹²⁾²⁹⁾³⁰⁾。近年この低酸素癌細胞の放射線感受性を増強するために nitroimidazole 化合物である Misonidazole を併用する研究が行われている^{9)~11)17)28)}。

しかし、Misonidazole は 1 回放射線量が少ない場合は、増感効果が認められないとの報告もあり^{9)~11)17)28)}、臨床における子宮頸癌放射線分割照射治療に用いられる 1 回線量域での効果は、未だ明確ではない。

そこで本研究では、人子宮頸癌ヌードマウス移植株を用い、放射線1000rad 1回照射および分割照射における Misonidazole の効果につき、主として Flow-Microfluorometry (F.M.F.) を用いた DNA の面よりの検討を行った。

研究方法

1. 実験動物

用いた材料は、千葉癌センターで確立した人子宮頸部扁平上皮癌のヌードマウス移植株（湯本株¹³⁾）で、これを BALB/C-Nu/Nu の生後 4～5 週のヌードマウス大腿部皮下に 1mm×1mm 大に細切し、移植した。増殖曲線は指数関数的であり、腫瘍径が 7～8mm に達した時点で実験に用いた。実験法に関しては、以下に述べるごとくであ

るが、図 1 はその概略である。

2. 放射線照射法

Lineac 6MeV を用い、照射野 25cm×25cm, TSD 100cm とし、1000rad 1回照射、250rad 4 回の均等分割照射、250rad 4 回および 500rad 1 回の不均等分割照射の 3 つの方法を行った。

なお、腫瘍は全身被爆を避けるため、鉛の遮蔽器を用い、腫瘍のみに行った。その結果、全身被爆線量は 20rad 以下であった。

3. Misonidazole の投与方法

Misonidazole を蒸留水に溶解し、20mg/ml とし、いずれの照射法においても照射 30～40 分前¹⁶⁾に腹腔内に注射した。また投与量に関しては、1000 rad 1 回照射および不均等分割照射 500rad 照射時では 1mg/gram body weight (g.b.w.)¹⁴⁾ を投与し、均等分割照射時では 0.25mg/g.b.w. とし、総投与量を 1mg/g.b.w. とした。

4. 効果判定方法

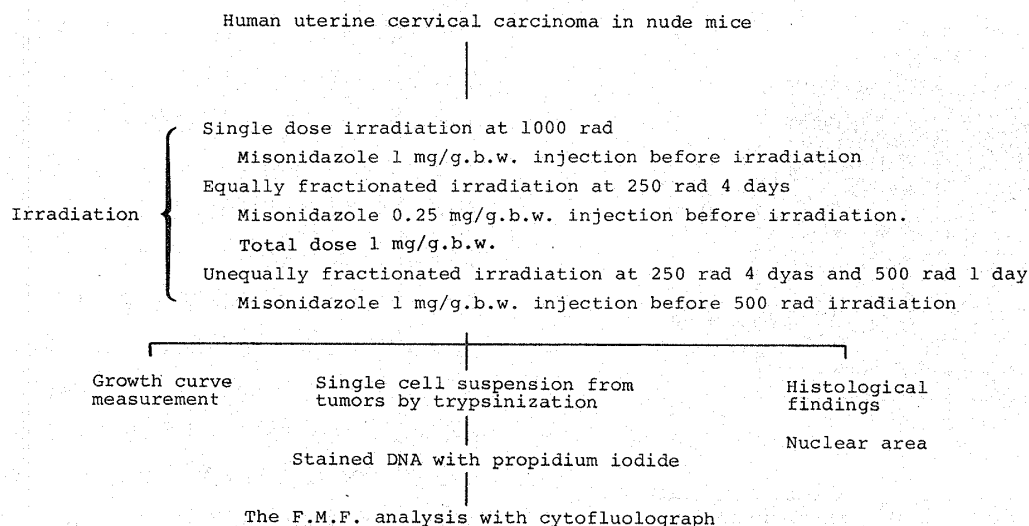
1) 増殖曲線の作成

腫瘍の長径 (a)、短径 (b) を測定し、 $(a \times b)^{3/2}$ で腫瘍容積を求め、照射前の容積を 1 とした relative tumor volume で表わした。これを経時的に指数関数曲線に描いた。

2) F.M.F. による核 DNA 量の分析¹⁾⁸⁾¹⁸⁾

諸線量照射後に腫瘍を剔出し、mincing, trypsinization し、single cell suspension とした。さらに RNase 処理後 propidium iodide により

図 1 Materials and Methods



DNA 染色し、検体を作成した。用いた機種は、BIO/PHISICS 型²⁴⁾で、これは1万～10万個の細胞の核 DNA 量を瞬時に測定しうるもので、つくられる histogram は横軸に DNA content (C)、縦軸に細胞数を表わしている。測定は1000rad 1 回照射では、照射24時間、48時間、96時間、144時間後に、また均等分割照射では、総線量1000rad 照射24時間後に、またさらに不均等分割照射では、総線量 1500rad 照射24時間後に行つた。

なお、検体中にヌードマウスの間質細胞も含まれ、これと腫瘍細胞とを鑑別するため、ヌードマウスのリンパ球を採取し、DNA 染色を行い、F.M.F.で観察した。

3) 組織学的検索—核面積測定

Misonidazole の効果を組織的に観察するため、照射によつて起こる細胞の核腫大現象に注目し、投影描写法²⁴⁾による核面積の測定を行い、その腫大率をもつて検討を行つた。

すなわち、前述の F.M.F.測定時に剔出した各照射時点の腫瘍塊の半分をホルマリン液にて1時間固定後薄切し、H・E 染色並びに Masson 染色を行い、観察した。観察に際しては、Thomlinson による tumor cord 腫瘍最小単位⁶⁾³³⁾の概念を用い、図2のごとく血管に近い oxic な部：近位部と、血管より遠い hypoxic の部：遠位部にわけ、各々の領域内の細胞100個の核面積を測定し、その平均面積値をもつて、照射前の値を1とした各照射時点で

の腫大率を算出し、検討した。

なお、tumor cord 算出に関しては、本研究では血管を観察するのに困難であるため、間質より壊死層までの距離を tumor cord と定義し、照射前の切片において、これらの距離を300ヶ所測定し、その平均値を Tannock の方法³¹⁾により三次元補正し、tumor cord とし、この距離の1/2で間質に近い部を近位部、遠い部を遠位部とした。

研究成績

1. 増殖曲線の変化

1000rad 1 回照射の増殖曲線は、教室の大村が報告しているので詳細は省略するが、照射後の再増殖時間は照射単独群では8～10日で、Misonidazole 併用群では10～12日としており、Misonidazole 併用群に明らかな増殖抑制効果を認めるとしている。しかし、今回行つた250rad 4 回の均等分割照射では、照射による増殖抑制が認められたが、Misonidazole 0.25mg/g.b.w.の併用群と比較すると、図3のごとく併用群では若干の増殖抑制が認められるものの、確かな Misonidazole の効果とはいいい難い。

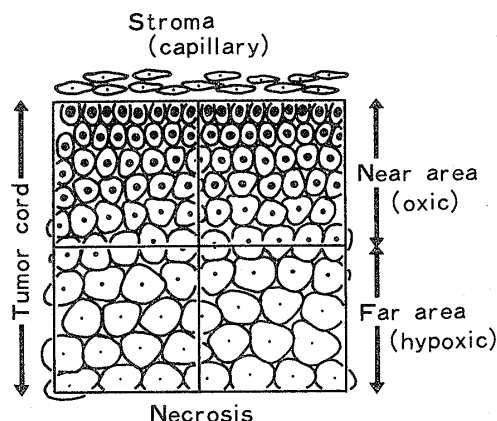
一方、不均等分割照射では図3に示すごとく Misonidazole 1mg/g.b.w.の併用群では、照射単独群に比し増殖抑制が著明で、しかも再増殖の開始は照射単独群では4日目であるのに反し、併用群では6日目であり、また再増殖開始後の増殖速度は照射単独群に比し、著しい延長が認められた。

2. F.M.F.による核 DNA 量よりみた細胞動態の解析

まず湯本株の F.M.F.による DNA histogram であるが、図4の実線に示すごとくで、これら詳細に関しては、教室の佐々木ら⁸⁾がすでに報告しているので省略するが、一番左側に出現する小さな peak は点線で示したヌードマウスのリンパ球の peak に一致する。したがつて、このことはヌードマウス由来の細胞を測定していることになり、このことを十分考慮しておく必要がある。

そこでまず、1000rad 1 回照射における DNA histogram の経時的变化をみてみると、図5のごとくで、湯本株の DNA パターンは照射単独群、併用群とも照射48時間までは4C peak の増加が認

図2 Tumor cord



$$\text{Tumor cord} = \sqrt{0.75 \times (\text{Mean distance})^2}$$

図3 Changes of growth curves in relative tumor volume following equally fractionated irradiation and unequally fractionated irradiation (R: irradiation)

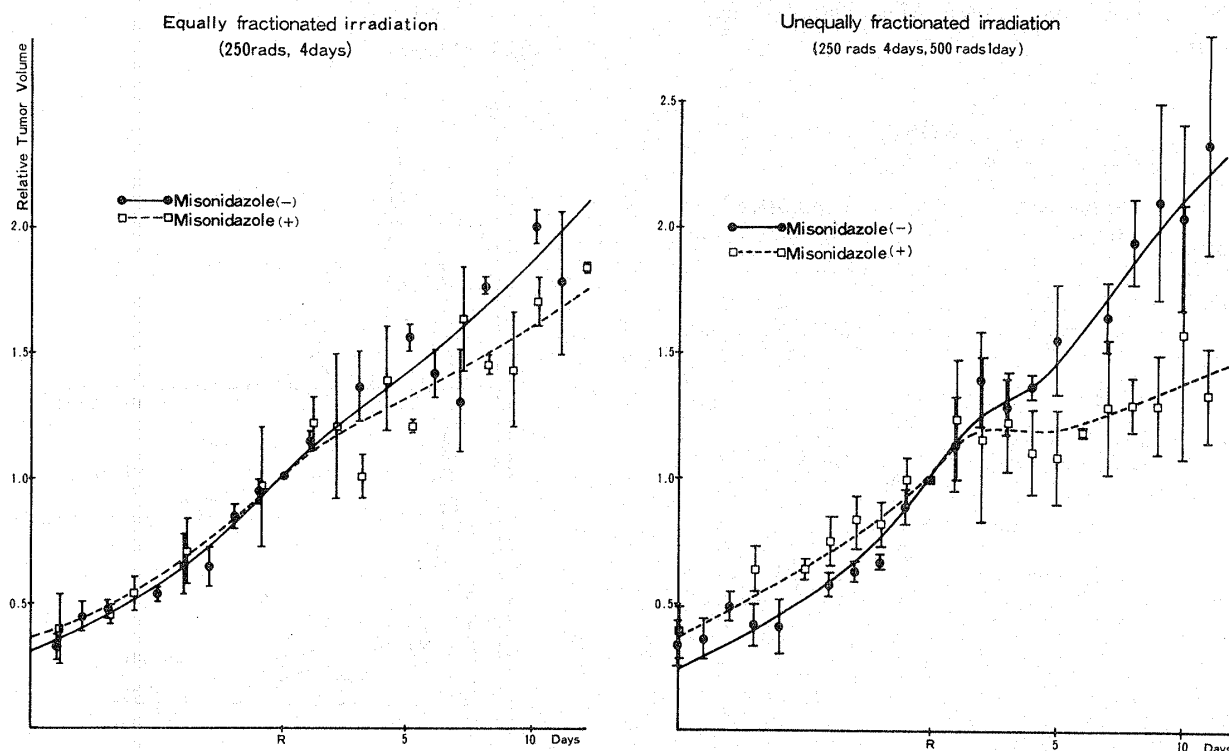
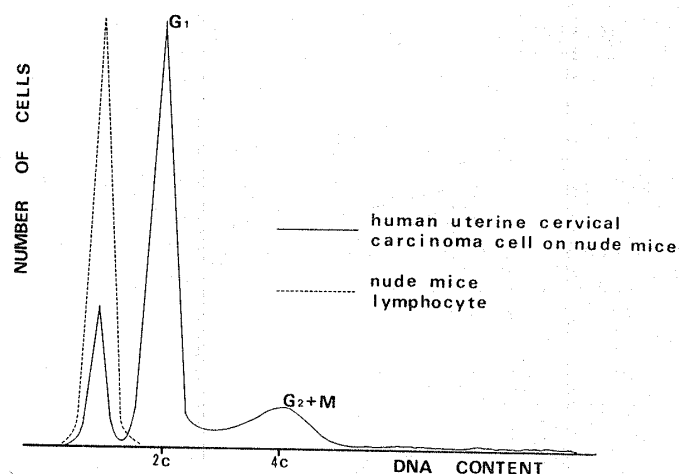


図4 DNA content (C) distributions of human uterine cervical carcinoma on nude mice and nude mice lymphocyte by Flow-Microfluorometry (F.M.F.)



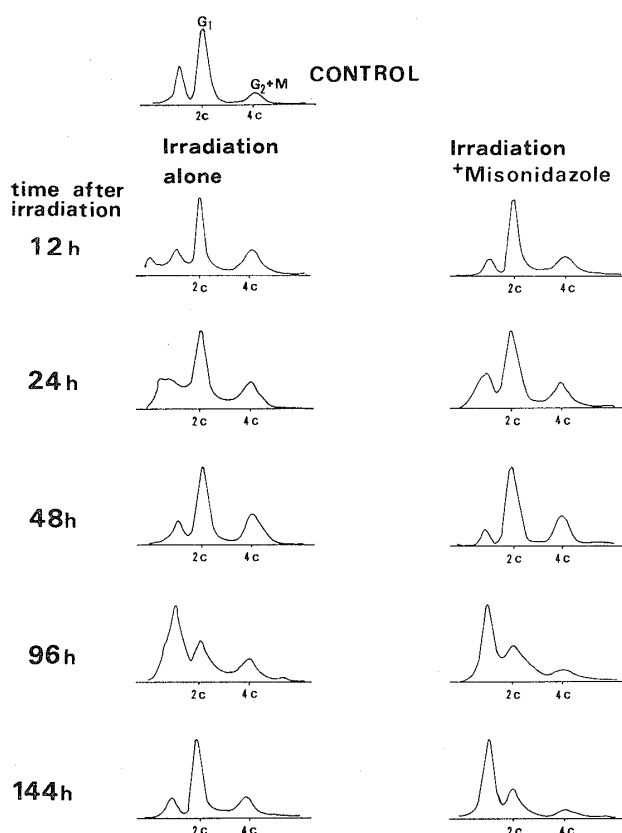
められ、両者の間に差は認められないが、96時間後では照射単独群で 4C peak の増加を認め、高倍体領域に polyploid cell peak が出現するのに反し、併用群では 4C peak がかえって減少し、しかも polyploid cell peak の出現を認めない。図6はこれらの変化を明らかにするため、拡大し図説し

たものである。またさらに、144時間目で照射単独群では、照射前の histogram に近似してくるが、Misonidazole 併用群では96時間目の histogram とほとんど同様のパターンを示した。そこで、4C peak の変化に注目し、4C peak/2C peak の比を算出し、検討してみると図7のごとくである。すなわち、Misonidazole 併用群、照射単独群とも照射後 4C peak/2C peak は同じ比率で漸次増加の傾向を示すが、24時間目をすぎ48時間以後になると、照射単独群ではその比がさらに増加するのに反し、併用群では増加率の低下が認められ、96時間目では逆に減少の傾向を示している。

次に、均等および不均等分割照射による DNA histogram の変化をみてみると、図8に示すごとくである。そこでまず、総線量照射終了後24時間目の 4C peak の変化に注目し、検討を行った。

均等、不均等分割照射とも照射単独群では、前述の1回1000rad照射と同様 4C peak の増加を認めるが、この現象は不均等分割照射で著明であった。しかし、Misonidazole を併用すると分割照射でも 4C peak の低下を認め、また polyploid

図5 DNA distributions by Flow-Microfluorometry (F.M.F.) after irradiation at 1000rad with and without Misonidazole treatments



cell peak の検討では、すでに述べた1000rad 1回照射と同様の傾向を示しており、低下の程度は均等分割照射より不均等分割照射の方が著明であった。

3. 核面積測定による分析

tumor cord の間質より壊死層までの距離は、Tannock の計算式により求めたところ $160 \pm 17 \mu$ であった。したがって、これの1/2の値である 80μ で血管に近い部分、遠い部分にわけ、近位部、遠位部 $80 \mu \times 80 \mu$ 内に存在する細胞の核面積を測定した。まず未照射の場合の $160 \mu \times 160 \mu$ 内に存在する細胞の平均核面積は $28 \pm 9 \mu^2$ であり、また近位部、遠位部 $80 \mu \times 80 \mu$ 内に存在する細胞の平均核面積は図9に示すごとくで、近位部で $30 \pm 13 \mu^2$ 、遠位部で $27 \pm 6 \mu^2$ と算出された。次に均等、不均等分割照射の変化をみると、照射単独群では近位部、遠位部とも平均核面積は増加するが、Misonidazoleを併用することにより平均核面積

図6 The DNA distribution by F.M.F. at 96h after 1000rad irradiation with and without Misonidazole treatments

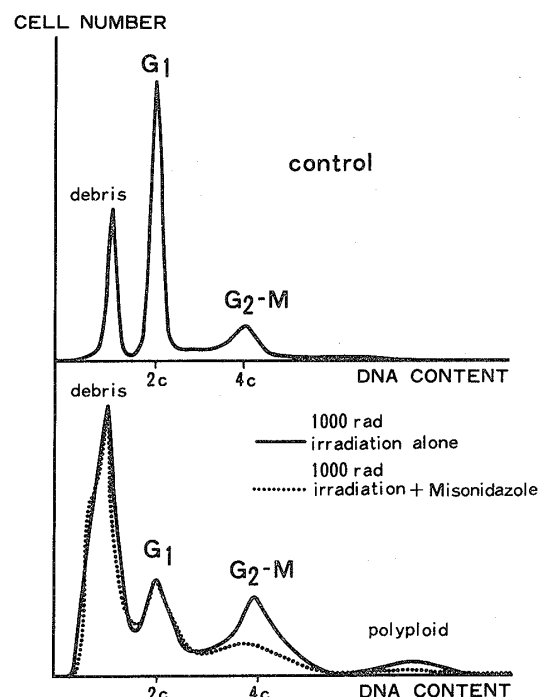


図7 Changes in 4c peaks per 2c peak with and without Misonidazole treatments after 1000rad irradiation

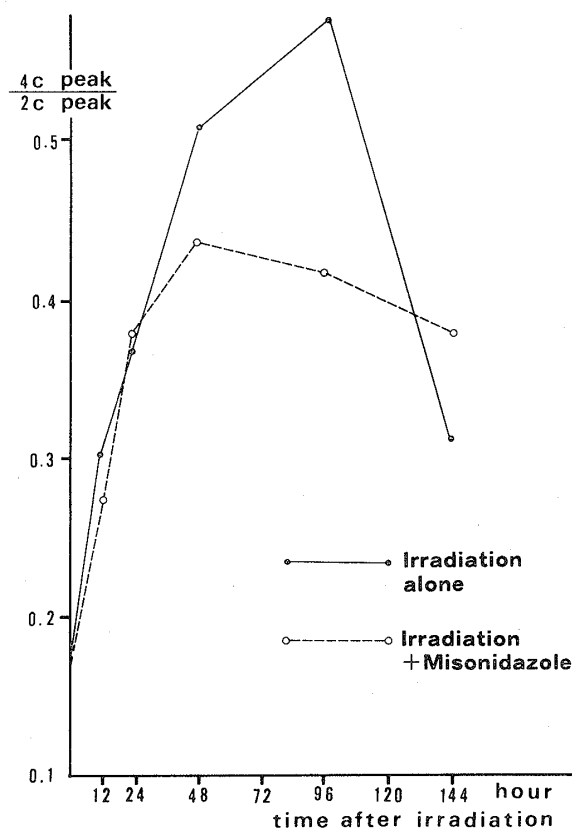


図8 DNA distributions by F.M.F. at 24h after equally and unequally fractionated irradiation with and without Misonidazole treatments

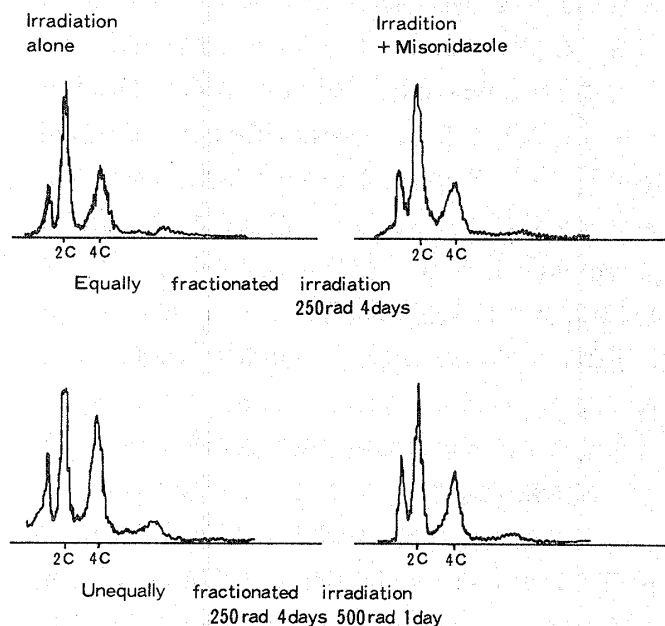
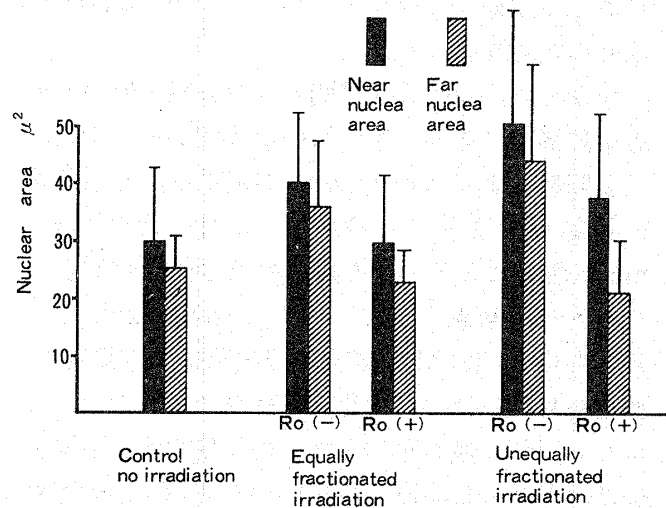


図9 Nuclear area of control and after equally and unequally fractionated irradiation (Ro: Misonidazole)



の増加は抑制された。そこで未照射時の平均核面積の値を1として、その腫大率でみると、均等分割照射で照射単独群の場合1.4倍に腫大するのに対して、Misonidazole 併用群では0.9倍であり、また不均等分割照射で照射単独群の場合1.7倍に腫大するのに対し、Misonidazole 併用群では1.0倍であつた。これは図9に示すごとく不均等分割照射の遠位部で著明であつた。

考 案

腫瘍内には10~20%の低酸素細胞が含まれており、この細胞の放射線感受性は、高酸素細胞に比べ1/2~1/3と低く、臨床上癌の放射線治療の効果が上がらない一つの因子と考えられている。したがって、この低酸素細胞の対策は極めて重要で、もしこの低酸素細胞の放射線感受性を増加できれば、癌の放射線低抗因子の一つを解消したことになり、頸癌の放射線治療効果をさらに向上しうるものと思われる。この目的のため開発されたnitroimidazole系誘導体であるMisonidazoleは、電子親和性低酸素細胞増感剤であり、その効果は大線量単回照射との併用では極めて効果が高いが^{9)~11)(15)(24)}、実際の臨床で行われている均等分割照射との併用では効果が少なく enhancement ratio は1.1~1.2と報告されている^{9)~11)}。このことは本研究の増殖曲線の分析からも明らかで、分割照射におけるMisonidazoleの増感効果は少なく、増殖の抑制はMisonidazole 併用群では、放射線単独群に比し、ごくわずかであるとの成績を得た。したがって、Misonidazoleの増感効果は認められるものの、照射法の違いによりその効果を異にすると考えられ、特に臨床において最も普遍的に施行されている均等分割照射では、効果が認められないことになる。

そこで、この様な成因为線量によるものか、あるいはMisonidazoleの投与量に依存するかの検討は別として、本薬剤のphase 1 study¹⁴⁾の成績より、ヌードマウスに対する総投与量を1mg/g.b.w.とし、主としてcell distributionおよびThomlinsonのtumor cord⁶⁾⁽³³⁾の概念を用いた組織細胞学的な面よりの解析を行つた。すなわち、照射にMisonidazoleを併用した場合のDNAの面よりみた細胞動態の変化をとらえ、もし分割照射において効果を期待しえないならば、1000rad 1回照射に匹敵する臨床上実験に施行しうる照射法はいかなるものであるかの解析を行つた。

そこでまず、人子宮頸癌の放射線治療上、治癒率を左右する因子ということであるが、これには種々考えられ、しかもこれらの因子が複雑に交錯しており、決して単純ではない。たとえば、放射

線細胞生物学の領域では, redistribution, reoxygenation, recruitment といわれる因子が重視されている。また組織学的な観察では, 腺癌は扁平上皮癌に比し, 放射線感受性が低く, 生存率が低いとされている。さらに腺癌を除く扁平上皮癌例の教室の岩田³⁾⁴⁾の成績では, 放射線照射によりひきおこされた核腫大が照射前に比し, その腫大率が大きいほど照射効果が良いとしており, さらに教室の佐々木⁷⁾の成績では, この核腫大現象は細胞の G_2 -M 期部分同調化¹⁵⁾²¹⁾²³⁾²⁶⁾に基づくもので, 放射線によりひきおこされた癌細胞の cell distribution の変化と生存率との間に相関が認められることを報告している。この様なことより, 本研究においては, Misonidazole 併用による照射効果を cell distribution の変化と, 核腫大現象より解析する必要があると思われる。

まずヌードマウスに移植された湯本株の F.M. F. による細胞動態の解析であるが, これに関してはすでに述べたごとく, 教室の佐々木⁸⁾が詳細に分析し報告しているので省略するが, 腫瘍細胞の DNA histogram をみると 3 つの peak にわかれ, 検体中にはヌードマウス由来の間質細胞, リンパ球, 遊走細胞の混入したものが測定された結果で, それが図 4 に示す一番左の第 1 の peak であり, この peak はヌードマウスのリンパ球の peak と一致している。

したがって, 本実験ではヌードマウス由来の細胞を測定していることが十分理解される。また第 2, 第 3 の peak は頸癌細胞の 2C の細胞群および 4C の細胞群で, 細胞周期からすると, おおよそ G_0 - G_1 期, G_2 -M 期を示しているものと思われる。

そこで, 1000rad 1 回照射のみの histogram をみると, 図 5 のごとく照射後 96 時間目には G_1 期 peak 以下の低倍体領域, すなわちヌードマウス由来細胞の peak 附近に細胞の集積が認められ, これはおそらく破壊された細胞の増加を意味するものと思われる。このことは, 照射により G_2 -M 期細胞の集積に基づく G_2 -M 期部分同調化が生じ, これらの細胞が死に至る cell loss の結果であることが推察される。

しかし, 144 時間目では DNA histogram は照射

前に近似してきており, 腫瘍の repopulation を示唆するものと思われ, このことは, 増殖曲線でも 10 日目より再増殖が認められ, 細胞レベルではこの所見がすでに先行しているものと解釈される。

次に Misonidazole を併用した場合の DNA パターンをみてみると, 照射後 48 時間目までは放射線単独群と大差を認めないが, 96 時間目をすぎると照射単独群に比し, G_2 -M 期細胞の増加並びに polyploid cell peak の出現が認められず, さらに 144 時間後では照射単独群は control のパターンに近似してくるのに反し, 併用群では依然として 96 時間目のパターンを示している。またさらに, この時点では低倍体領域の細胞も増加の傾向を示し, 細胞死が継続していることが示唆される。

以上の様に放射線 1 回照射と Misonidazole の併用により, cell distribution は G_2 -M 期への細胞の蓄積は起こらず, かえつて 4C peak の減少が認められ, このことは図 7 に示す 4C peak/2C peak の比をとつてみても明らかである。

そこで, 上述の現象をもとに, さらに分割照射における効果および作用について, cell distribution の検討を行った。

すなわち, 250rad 4 日間の均等分割照射の放射線単独群ではその DNA histogram からすると, 分割照射により recruitment が起こり, 非増殖系の細胞が増殖系へと移行し, これと同時に G_2 -block 現象による G_2 -M 期への部分同調化が起こつたものと解釈される。一方 Misonidazole を併用した場合, G_2 -M 期細胞は軽度減少する程度で, 照射単独群に比し, 大きな差は認められない。しかし, 同時に検討を加えた不均等分割照射の場合には, Misonidazole の併用に伴う G_2 -M 期細胞の減少は 1000rad 1 回照射の場合と同様に著明で, しかも増殖曲線の抑制も認められていることより増感効果があつたとしてよいであろう。したがって, この様なことから Misonidazole による cell distribution の変化と腫瘍の増殖抑制との間には相関があることが十分に考えられる。

次に組織学的変化, すなわち核腫大現象についてみると, 1 回照射, 分割照射とも照射単独群では周知のごとく核腫大現象が認められる

が²⁾⁻⁴⁾⁷⁾, Misonidazole を併用した場合, 均等分割照射, 不均等分割照射とも核腫大現象は抑制され, 縮小の傾向を示し, 特に不均等分割照射の場合の低酸素領域でこの傾向が著明であつた。

以上のことを要約すると, 照射単独群と Misonidazole 併用群との違いは, 照射単独では cell distribution の変化は G_2 -M 期細胞の集積に伴う 4C peak の増加であり, 組織学的には核の腫大として捉えられるのに反し, Misonidazole の併用では逆に 4C peak は減少し, しかも核は縮小するということが特徴であるといえる。

このことは, 照射によつて起こる細胞死の過程を考えてみると, 細胞が照射されると細胞の分裂遅延が起り, G_2 -M 期に細胞が集積し, 核腫大が起こる。この細胞は異常核分裂を生じたり, あるいはそのままの状態を維持し, 巨細胞形成を起こしたりして, 死に至るものと解釈されている。しかし, 照射に Misonidazole を併用すると, この様な過程は認められず, しかも逆の現象がおこり, 細胞が死に至るものと思われる。

そこで, この様な現象が何故起こるのかを知るために, Misonidazole の細胞に対する作用について考察を行つてみたところ, 本剤は放射線増感作用として, 低酸素細胞に対して間期死を生じさせることが考えられるが, 他に癌細胞に対する薬物自体の作用があることが報告されている¹⁹⁾²⁰⁾²²⁾²⁵⁾³²⁾。すなわち, 細胞に対する毒性と cell cycle progression を抑制することが *in vitro* の実験で明らかにされている。したがつて, この様なことから考えると, この現象は cell cycle progression の抑制により, G_1 期細胞は G_2 期へと移行せず, これが 4C peak の減少として捉えられ, またこのことと Misonidazole そのものの毒性が相まつて, 核の萎縮が生ずるという解釈も成り立つことになる。

さて, 次に何故均等分割照射では効果が認められないかということであるが, このことは, 大量投与で, 高線量照射の場合の 1000rad 1 回照射と不均等分割照射では, 照射単独群に比し, 腫瘍の増殖抑制が明らかなのに反し, 少量投与の 1 回 250 rad の分割照射では, その効果に大差を認めない

ことより, Misonidazole の投与量と線量が関連することが十分に考えられる。したがつて, 大量投与, 高線量照射を行えば効果が期待されるが, 副作用を考慮すると行うことは困難で, 特に投与量は総投与量に制限があるので, 実際の臨床には均等分割照射に Misonidazole を併用することは不向きであるといわざるをえない。

そこで考えられるのが不均等分割照射法²⁷⁾であり, これに Misonidazole を併用することにより, すでに述べたごとく cell distribution の変化並びに核にも変化が認められ, さらに増殖曲線の上でもその効果が認められたことより, 本研究における不均等分割照射では, 増感効果があつたといつてよいと思われる。

以上のことより, 本剤を実際の臨床に使用する場合, 照射法と投与法を工夫することにより, その効果は十分に期待しうるものと思われる。

稿を終えるにあたり, 御指導, 御校閲を賜つた恩師蜂屋祥一教授, 終始御助言, 御協力を賜つた岩田正晴助教授に深謝し, 御協力を頂いた産婦人科教室諸兄に謝意を表します。

なお, 本研究は第17回日本癌治療学会総会, 第32回日本産婦人科学会学術講演会において発表した。

文 献

1. 赤木 清, 中沢 緑, 村田貴史, 日石友邦, 播磨敬三, 沢田 敏, 長谷川武夫, 田中敬三: F.M.F. による腫瘍細胞動態に対する放射線効果の解析。癌の臨床, 27(12): 1523, 1976.
2. 伊村公男: 放射線による子宮頸部扁平上皮癌の早期変化, 特に細胞核径の計測を中心として。日産婦誌, 27(7): 539, 1975.
3. 岩田正晴: 放射線による子宮頸癌の治癒過程に関する基礎的研究。日産婦誌, 28(9): 892, 1976.
4. 岩田正晴, 石井博基, 金子貴子, 横山哲也, 西浦天宣, 大村峯夫, 神谷直樹, 恩田威一, 佐々木寛, 遠武孝育: 子宮頸部扁平上皮癌の線量と組織変化。癌の臨床, 22(9): 688, 1976.
5. 母里知之, 芝田千恵子, 大泉幸雄, 前澤 博, 宇城信吾, 堀 均, 稲山誠一: Hypoxic Cell Sensitizer, *in vitro*. 癌の臨床, 27(12): 1447, 1981.
6. 坂本澄彦: 放射線療法における酸素効果の生物学的意義とその限界。癌の臨床, 20(1): 56, 1974.
7. 佐々木寛: 放射線照射による子宮頸癌細胞の G_2 -M 期同調化現象の研究, 特に核 DNA 量の解析とその臨床的意義について。日癌治, 16(7): 1456, 1981.
8. 佐々木寛, 北村 隆, 岩田正晴: 固型腫瘍に対する Flow-Microfluorometry を用いた DNA his-

- togram の computer 解析. 日癌治, 17(7): 1873, 1982.
9. 田中紀元, 西口弘恭, 田辺親男, 伊藤秀源, 山本昭朗, 依田純三, 松本邦彦, 村上晃一, 浦野宗保: 腫瘍細胞に対する放射線感受性の修飾について, 移植腫瘍に対する Electron affinic sensitizer の放射線増感効果. 癌の臨床, 24(11): 927, 1978.
 10. 田中紀元, 坂崎富夫, 長谷川隆, 岡部春海, 山下正人, 村上晃一, 竹内 博: 実験動物腫瘍に対する放射線と Misonidazole の併用効果. 癌の臨床, 27(12): 1453, 1981.
 11. 陶山純夫, 西台武弘, 藪本栄三, 高橋正治, 阿部光幸: Ro-07-0582 の放射線増感効果. 癌の臨床, 24(11): 923, 1978.
 12. Adams, G.E. and Cookes, M.S.: Electron-affinic sensitization. I. A structural basis for chemical radiosensitization in bacteria. Int. J. Radiat. Biol., 15: 457, 1969.
 13. Arai, T., Okamoto, K., Terao, K., Tokita, H., Sekimoto, K., Fukushima, T. and Tanaka, N.: Effectiveness of anti tumor agents against human tumor in nude mice. Proceeding of the Second International Workshop on Nude Mice. University of Tokyo Press, p. 461, 1977.
 14. Banzinger, R. and Hane, D.: Acute Toxicity and Dog Tolerance Testing of Ro 7-0582. Internal Report, No. 18731.
 15. Bootsma, D.: Mitotic delay of human cells in tissue culture irradiated at different phase of the generation cycle. Progr. Radiol., 2: 1404, 1967.
 16. Brown, J.M.: Selective radiosensitization of the hypoxic cells of mouse tumor with the nitroimidazoles metronidazole and Ro 7-0582. Radiat. Res., 64: 633, 1975.
 17. Denekamp, J. and Harris, S.R.: The response of a transplantable tumor to fractionated irradiation. 1. X-rays and the hypoxic cell radiosensitizer Ro-07-0582. Radiat. Res., 66: 66, 1976.
 18. Fried, J.: Method for the quantitative evaluation of data from flow microfluorometry. Comput. Biomed. Res., 9: 263, 1976.
 19. Geard, C.R., Povlas, S.F., Astor, M.B. and Hall, E.J.: Cytological effects of 1-(2-nitro-1-1-imidazolyl)-3-methoxy-2-propanol (Misonidazole) on hypoxic mammalian cells *in vitro*. Cancer Res., 38: 644, 1978.
 20. Hall, E.J. and Rozin-Towle, L.: Hypoxic sensitizers: Radiobiological studies at the cellular level. Radiology, 117: 453, 1975.
 21. Kallman, R.F., Silini, G. and Taylor, H.M. III: Recuperation from lethal injury by whole body irradiation. II. Kinetic aspects in radiosensitive BALB/C mice, and cyclic fine structure during the four days after conditioning irradiation. Radiat. Res., 29: 362, 1966.
 22. Lindmo, T., Pettersen, E.O. and Wibe, E.: Cell cycle inhibition by misonidazole of human cells cultivated *in vitro* under aerobic conditions. Brit. J. Cancer, 40: 755, 1979.
 23. Linden, W.A., Prévôt, H. Jr., Schneider, C., Berg, H. and Lügger, A.: Synchronisation des Teilungszyklus von Säugetierzellen *in vitro* durch fraktionierte Röntgenbestrahlung. Strahlentherapie, 140: 706, 1970.
 24. Melamed, M.R., Mullaney, P.F. and Mendelsohn, M.L.: Flow cytometry and sorting. John Wiley and Sons. N.Y., 1979.
 25. Miller, R.C. and Hall, E.J.: Oncogenic transformation *in vitro* by the hypoxic cell sensitizer misonidazole. Brit. J. Cancer, 38: 411, 1978.
 26. Raju, M.R., Trujillo, T.T., Mullaney, P.F., Romero, A., Steinkamp, J.A. and Walters, R. A.: The distribution in the cell cycle of normal cells and of irradiated tumor cells in mice. Brit. J. Radiol., 47: 405, 1974.
 27. Révész, L.: 放射線治療の生物学的側面. 臨床放射線, 18: 743, 1971.
 28. Sheldon, P.W., Foster, J.L. and Fowler, J.F.: Radiosensitization of C3H mouse mammary tumors using fractionated dose of X-rays with drug Ro-07-0582. Brit. J. Radiol., 49: 76, 1976.
 29. Tanaka, N., Tanabe, C., Okamura, Y. and Murakami, K.: Post-irradiation kinetics of the C3H/He mouse mammary carcinoma as regards tumor volume regrowth time and cell loss. Strahlentherapie, 155: 58, 1979.
 30. Tannock, I.F.: Oxygen diffuse and the distribution of cellular radiosensitive in tumors. Brit. J. Radiol., 45: 512, 1972.
 31. Tannock, I.F. and Steel, G.G.: Quantitative techniques for study of the anatomy and function of small blood vessels in tumors. J. Nat. Cancer Inst., 42: 771, 1969.
 32. Taylor, Y.C. and Rauth, A.M.: Differences in the toxicity and metabolism of the 2-nitroimidazole misonidazole (Ro-07-0582) in hela and chinese hamster ovary cells. Cancer Res., 38: 2745, 1978.
 33. Thomlinson, R.H. and Gray, L.H.: The histological structure of some human lung cancers and the possible implications for radiotherapy. Brit. J. Cancer, 9: 539, 1955.

(特別掲載 No. 5384 昭58・9・19受付)