

Title	エックス線を累代照射した吉田肉腫の染色体調査
Author(s)	小祝, 聰一郎
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1958, 18(4), p. 476-480
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/14919">https://hdl.handle.net/11094/14919</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

## エックス線を累代照射した吉田肉腫の染色体調査

札幌医科大学放射線医学教室（主任 牟田信義教授）

小 祝 聰 一 郎

（昭和33年2月14日受付）

近年新しい細胞学の立場から Makino及びその共同研究者ならびに Hauschka and Levanによつて、シロネズミ及びハツカネズミにおける各種の腫瘍の染色体が研究され、腫瘍にはその形成と増殖の主体をなす一群の種族細胞(Stemline-cell)が存在することが明らかにされた(Makino 1951 a, 1952a, b, 1956, 1957a, Makino and Kanô 1953, 1955, Hauschka 1953a, Levan 1956, Levan and Hauschka 1952, 1953, Sachs and Gallily 1955, Tauaka and Kanô 1951, Tjio and Levan 1954, 1956, Watanabe and Tonomura 1956, Yosida 1954 etc.)腫瘍の種族細胞はその各自の腫瘍を特徴づける特有な、而も一定の染色体型(数と構成)を有し、正常な分裂によつて増殖し、細胞から細胞へと特有な染色体型を伝え、それによつてその腫瘍の特有な固有性が維持されるのである。これが Makino の腫瘍形成の stem-cell 説である(Makino 1957a)。さらに、種族細胞の染色体の固有性は、異種移植、二重移植、皮下移植、化学薬品処理などの実験に對して極めて高い安定性を有することが、Makino その他による多くの実験により認められた(Makino 1951b, 1956, Makino and Tanaka 1953a, b, Makino and Tonomura 1955, Nakahara 1952, Ohnuki 1956, Sasaki 1956, Tanaka *et al.* 1955, Tonomura 1953)。

著者は吉田肉腫にエックス線を累代照射した腫瘍株と照射を行わない腫瘍株との間において染色体を比較調査し、種族細胞の染色体に變化が起るかどうかを研究し、若干の結果を得たのでここに報告する。

### 材料及び方法

実験に用いた吉田肉腫は北海道大學醫學部第一

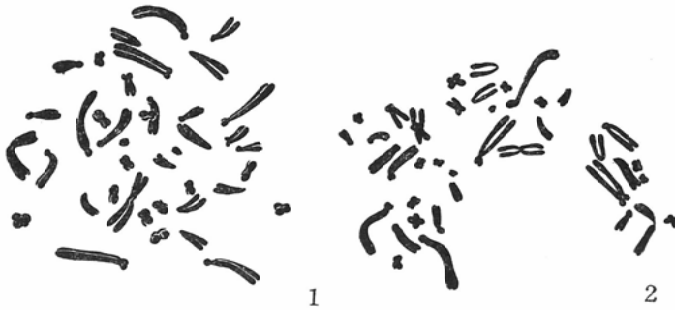
病理學教室において累代移植を續けて来た腫瘍株より分株をうけたものである。移植動物には東京系雑系シロネズミを用いた。吉田肉腫移植後4—5日目のシロネズミにエックス線を全身照射し照射後1時間目にその腹水を採取して他のシロネズミに移植し、これが純培養の状態になるのを待つて再びエックス線を照射し、1時間後にその腹水を次のネズミに移植する。この様な操作をくりかえして、移植51代に亘つてエックス線の累代照射を行つた。移植にはおよそ $5 \times 10^6$ 個の細胞を用いた。照射線量は移植1代から31代までの間は1,000r づつ(185kVp, 6 mA 焦點腹腔中心間距離23cm, 半價層0.94mm Cu) 32代から51代までの間は線量を倍加して2,000r づつの全身一時照射を行つた。なお、腫瘍細胞の増殖状態が悪く純培養にならない時は照射せずに次に移植した。この様にして51代の累代移植の間に照射した総線量は58,150r に達した。累代照射51代目の腹水を採取しアセティック・ダーリヤ(acetic dahlia technique)による水處理押しつぶし法(Makino 1957)によつて標本を作製しその染色体を調査した。なお、對照實驗として全く照射を受けていない吉田肉腫を累代移植し、その35—40代目における染色体を調査した。

### 觀察結果

1) 染色体数の變異：正常累代移植並びにエックス線累代照射の兩腫瘍株は共に二倍性の腫瘍であり、大部分の細胞は $2n$ (42)前後の染色体数を有して居た。Makino に従いそれらが種族細胞であることは疑いない。そこで $2n$ 前後の染色体数を有する細胞についてその染色体数をくわしくしらべた。即ち、對照及び實驗群の各々について

Table 1. Chromosome number distribution around the  $2n$  mode in the Yoshida sarcoma

	Transplant generation	Chromosome number							Total
		37	38	39	40	41	42	43	
Control	35-40	1 (5%)	2 (10%)	5 (25%)	7 (35%)	4 (20%)	1 (5%)	0 —	20
Exp.	51	1 (5%)	1 (5%)	5 (25%)	6 (30%)	5 (25%)	1 (5%)	1 (5%)	20



Figs. 1-2. Chromosomes of the Yoshida ascites tumor cells. Camera lucida drawings, ca.  $\times 1500$ . Fig. 1; non-treated. Fig. 2; repeated irradiations with X-rays.

正確に染色体数を数えることの出来る核板20個づつを選びアツペの描畫装置によりスケッチしてその染色体数を数えた。第1表に示す如く、正常累代移植のものではその染色体数は37~42の變異を示し、そのうち染色体数40を有する細胞が最高の出現率を示し、39, 41のものがこれに次いで多く觀察された。エックス線累代照射51代目のものでは染色体数は37~43の變異を示し40のものが最高、次いで39, 41であり、兩者の間に染色体數變異について有意の差は認められなかつた。

2) **染色体構成**：正常累代移植の腫瘍株における種族細胞の染色体は大小の棒狀染色体と、大小のJ-又はV-型染色体とよりなり、その中シロネズミの正常体細胞にはみられない様な特に顯著な大型のV-型染色体を2個含んでいて、この腫瘍の種族細胞の核型を特徴づけている。第3~7圖は染色体數40を有する核板5個のスケッチよりその染色体を長さの順に配列したものである。大型のV-型染色体は特に最右端に置いた。エックス線累代照射51代目における種族細胞の染色体構成もやはり大小のJ-, V-型及び棒狀の染色体よりなり

その中には特に大型のV-型染色体が2個含まれており(第8~12圖)、正常累代移植株の染色体構成(第3~7圖)との間に少くとも形態的に明瞭に區別出来る様な差違は認められなかつた。

以上の觀察結果より、エックス線累代照射を行った後においても腫瘍増殖の主体をなす種族細胞の染色体數並びに染色体構成には變化が起つていないものと結論される。

考 察

以上の實驗結果から、吉田肉腫にエックス線を累代照射した腫瘍株の種族細胞は染色体數の上からも、染色体構成の上からも、正常累代移植のものとの間に差異がないことがわかつた。即ち、吉田肉腫の染色体の固有性は極めて安定していて、上述の様なエックス線照射によつては容易に變化しないもののように考えられる。牧野及びその協同研究者は吉田肉腫その他のシロネズミの腹水腫瘍において廣範な實驗を行い、各腫瘍に特有な種族細胞の染色体の固有性は化學藥品處理、異種移植、皮下移植、二重移植などの實驗に對して高い安定性を有することを確かめた(Makino 1951b,

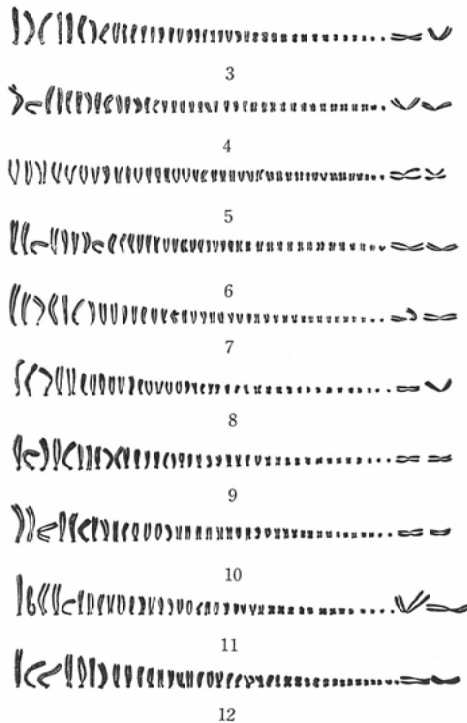


Fig. 3—12. Serial alignments of chromosomes of the Yoshida sarcoma cells. Figs. 3—7; non-treated. Figs. 8—12; repeated irradiations with X-rays.

1956, 1957 a, Makino and Tanaka 1953a, b, Makino and Tonomura 1955, Nakahara 1952, Ohnuki 1956, Sasaki 1956, Tanaka *et al.* 1955, Tonomura 1953). 本実験におけるエックス線照射の場合も同様な結果に到達し、腫瘍における種族細胞の存在を裏書きするものである。エックス線照射によつて大部分の細胞は障害を受けるが、障害を免れた少数の種族細胞が再び増殖源となつて原腫瘍に特有の一定した染色体型を有する腫瘍細胞の集団が形成され、それによつて原腫瘍と全く同じ型の腫瘍が発育するのである。

しかしながら、種族細胞の染色体の固有性は必ずしも絶対不變ではなく何等かの原因で変化することが報告されている。吉田肉腫には現在いくつかの亜系が存在し、亜系と原系の染色体型は多少異なることが知られている(Makino 1957b, Makino and Sasaki 1957)。同様なことはM T K肉腫やハツカネズミの腹水腫瘍においても知られている(Makino 1957a, b, Tonomura and Sasaki 1957,

Levan 1956, Hauschka 1953 a, b, Kaziwara 1954)。この様な染色体の變化は同時に又腫瘍の性状の變化を伴うことがある。この結果は種族細胞の遺傳子型の變化によつて腫瘍の表現型の變化が生じたことを示すものである。一方、エールリツヒ腹水癌においてエックス線の累代照射を行い腫瘍細胞のエックス線に対する感受性が低下するという事実が知られて居り、いわゆるエックス線耐性株が作られている(Schubert 1954, Dittrich *et al.* 1955)。しかしながらエックス線耐性株の染色体型に關して調査した報告はない。本実験に用いたエックス線累代照射株においては金田(1956, 1957)の調査によるとエックス線感受性の低下は認められない。累代照射実験は現在も繼續中であるが、他の実験尺度でエックス線感受性、又はその他の癌の性状に變化が起つた場合に再び染色体の調査を試み、腫瘍の表現型の變化と遺傳子型(染色体型)の變化との關係を更に追求してみたと思う。

#### 要 約

吉田肉腫の移植51代に亘りエックス線を累代照射した腫瘍株の染色体を、エックス線照射を行わない腫瘍株のそれと比較調査した。兩腫瘍株における種族細胞の染色体基本数は40であり、その染色体構成は大小の棒状、J-型又はV-型染色体とよりなり、その中特に顯著な大形のV-型染色体を2個含んで居て、兩者の間に染色体数の上からも核型の上からも差異が認められなかつた。この結果から種族細胞の固有性はエックス線處理に對して極めて高い安定性を有することが結論される。

終に臨み終始御懇篤なる御指導を賜つた北大理学部動物学教室牧野佐二郎教授、実験に際し懇切なる御助言と御便宜を戴いた同教室田中達也講師、佐々木本道氏大貫泰氏、殊に貴重なエックス線累代照射吉田肉腫を研究に使わせて下さつた当教室金田助教授に厚く感謝する。

#### 文 献

- 本文中に引用して、ここにあげない文献についてはMakino 1957a 参照。—1) Dittrich, W., G. Höhne and G. Schubert 1955. Development of a radioresistant strain of Ehrlich carcinoma in mice. *Progress in Radiobio.* 381-385. —2) 金田

浩一:1956. エックス線耐性の研究, (第1報). 第13回日本医学放射線学会東北北海道地方会, (口演) — 3) 金田浩一, 小祝聰一郎:1957. エックス線耐性の研究, (第2報), 第16回日本医学放射線学会総会, (口演). — 4) Levan, A. and T.S. Hauschka 1952. Chromosome number of three mouse ascites tumours. *Hereditas* 38: 251—255. — 5) Levan, A. and T.S. Hauschka 1953. Endomitotic reduplication mechanisms in ascites tumor of the mouse. *J. Nat. Cancer Inst.* 14: 1—43. — 6) Makino, S. 1951 a. Some observations on the chromosomes in the Yoshida sarcoma cells based on the homoplastic and heteroplastic transplantation. *Gann* 42: 87—90. — 7) Makino, S. 1956. Further evidence favoring the concept of the stem cell in ascites tumors of rats. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 63: 818—830. — 8) Makino, S. 1957 a. The chromosome cytology of the ascites tumors of rats, with special reference to the concept of the stemline cell. *Intern. Rev. Cytol.* 6: 26—84. — 9) Makino, S. 1957 b. Cytological studies of

tumors, XX. A chromosome analysis in the MTK-IV tumor, a hypotriploid rat ascites tumor. *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. 6, Zool. Uchida Jubl.* — 10) Makino, S. and M. Sasaki 1957. Cytological studies of tumors, XXI. A comparative ideogram study of the Yoshida sarcoma and its subline derivatives. *J. Nat. Cancer Inst.* (In press). — 11) Sachs, L. and R. Gallily 1955. The chromosomes and transplantability of tumors. I. Fundamental chromosome numbers and strain specificity in ascites tumors. *J. Nat. Cancer Inst.* 15: 1267—1289. — 12) Schubert, G. 1954. Die Strahlenresistenz in Biologie und Medizin. *Z. Krebsforsch.* 60: 216—233. — 13) Tjio, J.H. and A. Levan 1954. Chromosome analysis of three hyperdiploid ascites tumors of the mouse. *K. Fysiogr. Sällsk. Handl., N.F.* 65: 1—39. — 14) Yosida, T.H. 1954. Tetraploid chromosome constitution characteristic of the tumor cells of the Takeda sarcoma. *Gann* 45: 9—15.

## On the Chromosomes of the Yoshida Ascites Sarcoma Following Repeated X-ray Irradiations

By

Sōichirō Koiwai

Department of Radiology, Sapporo Medical College

(Director: Professor Nobuyoshi Muta)

In order to learn whether the chromosome pattern of tumor stem-cells remains unaltered or undergoes a change following the repeated exposure to X-rays, a comparative chromosome analysis of the Yoshida ascites tumor was undertaken between the irradiated material and non-irradiated one used as control.

The Yoshida ascites tumor at the 4th to 5th day after transfer were irradiated, for tumor rats at the 1st to 31st generations with 1000 r, and for those at the 32nd to 51st generations with 2000 r (185 kVp, 6 mA, focus-centre of peritoneal cavity distance 23 cm, HVL 0.94 mm Cu). In every case the tumors were transferred after 1 hour following irradiation. Irradiations have been repeated as above for 51 generations with a total dose at 58,150 r.

The chromosome analysis was made in 20 adequate equatorial plates both in the control and in the treated material. It has been shown that the most frequent chromosome number in stem-cells of both the treated and non-treated tumors lies at 40 (Table 1), and that the karyotype characteristic of the Yoshida tumor has remained unchanged in the X-rayed

tumors for 51 generations (Figs. 3-7 and Figs. 8-12).

The evidence presented seems to indicate that repeated X-ray irradiations have failed to induce any changes of chromosome individuality of the stem-cells which function as the principal progenitors of the neoplastic population.