



Title	放射線と各種薬剤との併用についての研究(第6報)腫瘍細胞の界面動電圧についての実験
Author(s)	吉川, 秋雄
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1959, 19(3), p. 538-547
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/14973
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

放射線と各種薬剤との併用についての研究

(第 6 報)

腫瘍細胞の界面動電圧についての実験

北海道大学医学部放射線医学教室 (主任 若林勝教授)

吉 川 秋 雄

(昭和34年2月22日受付)

緒 言

放射線によつて細胞が種々なる形態学的変化を起すことはよく知られた事実であるが、その Mechanism については不明な点が多い。

之等は照射による細胞内機構の変化、細胞外機構の変化の外に細胞膜に於ける変化が夫々独立的に、或は相関連して起ることが考えられる。

細胞膜の変化、特に透過性の変化について、古くより提唱され、之れが放射線の生物作用の第一段階であるとも云われている¹⁾。照射によつて細胞質に可成り早く変化が見られ、又細胞質の流出を思わせる様な変化が見られることから細胞膜透過性の変化が起ることは当然かんがえられる²⁾³⁾。然し乍らこれをもつて照射による細胞の変化の第一階程であるとはただちには云えない。むしろ透過性が変化するまえに細胞膜の電氣的性質の変化があらわれるのではないだろうか。著者はかくかんがえて、細胞膜の電氣的性質の一つである界面動電圧 (elektrokinetisches Potential) が照射によつて如何なる変化を来すかを検討せんとしたのである。

之が本研究の第1の目的である。

さて1コの癌細胞と1コの上皮性細胞は形態学的にも機能的にも区別が付き難いものである。然し E.J. Ambrose, A.M. James, J.H.B. Lowick 等は線維芽細胞と肉腫の個々の細胞は細胞膜の電氣的性質が著しく異ると云う⁴⁾。ハムスターの腎腫瘍細胞と腎細胞の電気泳動速度は2倍も異ると

云う。従つて腫瘍細胞は、その電氣的性質が正常細胞と著しく異つて居ると考えられる。著者の教室では腫瘍に対する放射線の影響を種々なる観点から追究しているものである⁵⁾。そこで著者は腫瘍細胞の電氣的性質の方面から、之を検討せんとしたものである。

これが本研究の第2の目的である。

又 A.M. James u. P.J. Barry⁶⁾ や H.A. Abromson, L.S. Mayer u. H. Goner⁷⁾ はアエロゲネス菌の培養中に proflavine 或は crystal violet を加えることにより電氣的性質の異つたものが発生するという。そこで著者は同一の腫細胞母集団について、放射線の影響と同時に所謂制癌剤と云われる各種の薬剤を投与することによつて電氣的性質が変化するかどうか、又若し変化したとすれば放射線によるものと比較検討することによつて放射線の生物作用の機序に何等かの手懸りが得られるかも知れない。かく考えて本実験を企てたものである。

これが本研究の第3の目である。

著者の教室では放射線生物作用機序を研究しているが、その1つの方向として放射線と種々なる薬剤との併用効果の実験的研究を行っている⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾。そこで著者も腫瘍細胞の電氣的性質について各種薬剤との併用効果を検討し以つて我が教室の研究に貢献せんとしたものである。

之れが本研究の第4の目的である。

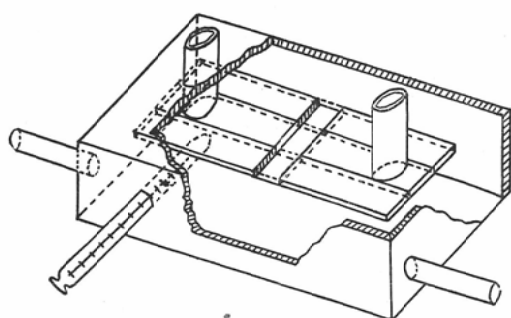
以上の様な研究目的をもつて MTK-Ⅲ 肉腫腹

水細胞を用いて、電気泳動法によつて界面動電圧を測定し腫瘍細胞の電気的性質の変化を検討し、放射線生物学的機序を窺わんとするものである¹⁶⁾。

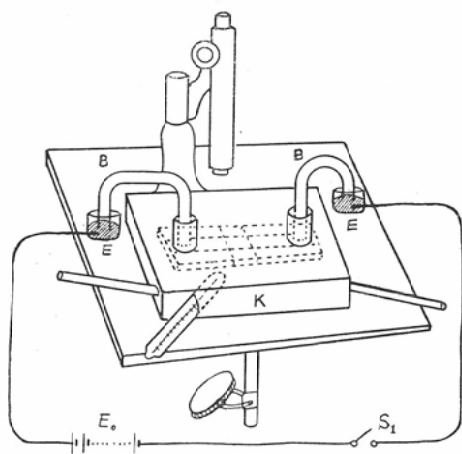
実験方法

実験材料としてウイスター系白鼠(体重80~100gr)にMTK-Ⅲ肉腫細胞を移植し、移植後3~5日の腹水腫瘍細胞を実験に供した。

第1図 電気泳動器

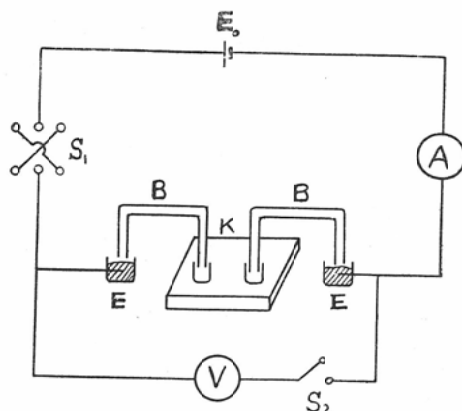


第2図 実験装置配線図A



電気泳動器は「デッキグラス」とオブジェクトグラスを用いて自作した(第1,2,3,図)。大きさは深さ0.08cm巾0.8cm、長さ4.5cmのもので、その両端に小孔を開けて、これに高さ2.5cm位の適当な「ガラス管」を立て、電極と結ぶ寒天橋の尖

第3図 実験装置配線図B



端を挿入する様にした。此の両小孔の中心間の距離は4.5cmである。此の器を更に2×7×10cmの「硬質ビニール箱」に封入し、之に一定温度の水を流し、以つて測定中の温度の動揺を防いだ。

以上の電気泳動装置を対眼レンズ20×、対物レンズ10×の顕微鏡に載せて腫瘍細胞の電気泳動を観察した。

本実験に用いた顕微鏡の拡大では白血球もみられるが、これは腫瘍細胞に比較して数分の一であり、実験に用いた腹水は移植後3~5日の純培養に近いものを使用したので測定に際して細胞の種類を見誤ることは全くない。

電極は甘永「リングル」電極を用いた。これと泳動器とを連絡するには3%の寒天リングル橋を用いた。此の寒天橋は測定前に腫瘍細胞を浮遊せしめる溶液にて充分洗滌した後、用いた。腫瘍細胞浮遊液は等張性葡萄糖液を用い、此の20ccに1ccの磷酸塩緩衝液を加えpH 7.0としこれに腫瘍細胞を含んだ腹水一滴を滴下し、よく混合したる後、泳動器に盛り測定に供した。全装置の配線は第3図に示す如くである。

電源は67.5Vの乾電池2コを直列に結び135Vとした。泳動器を流れる電流は常に0.1~0.2mA程度であつた故に此の装置に於ては特別の抵抗を挿入して電流を加減すると云う事はなかつた。

腫瘍細胞泳動速度を測定するには stopwatch

を以つて ocular micrometer の1~2目盛を移動する時間を求めた。此の際、電流方向転換器に依り交互に其の方向を変え10回測定を行い平均値を求めた。

腫瘍細胞を観察する位置に関しては Smoluc-howski の式¹⁷⁾

$$X = d \left(\frac{1}{2} \pm \frac{1}{\sqrt{12}} \right) \quad d: \text{液層の厚さ}$$

により常に底部より $1/5$ の深さに於て測定した。

この点に於ては観測値が真の泳動速度と一致する。

此の腫瘍細胞移動速度より荷電を求むるには Helmholtz u. Perrin の式¹⁸⁾

$$V = \frac{4\pi\eta\nu}{D.H} \text{より求める}$$

V: 荷電

η : 粘稠度

r: 移動速度

H: 電場の強さ (Volt/cm)

D: 誘電恒数

本実験に於ては常に浮遊液は同一のものをを用い、同一容器で電圧、電流を常に一定にして測定した。即ち $\eta.D.H$ の一定の下に測定されたのであるから荷電量は移動速度に比例する。以下実験の説明では速度で荷電量を示すことにした。即ち単位は cm/sec/volt/cm で表示する。本実験では絶対値を求めるのではなく一定の条件下の対照との比較実験であるから、かくする事は許されるであらう。

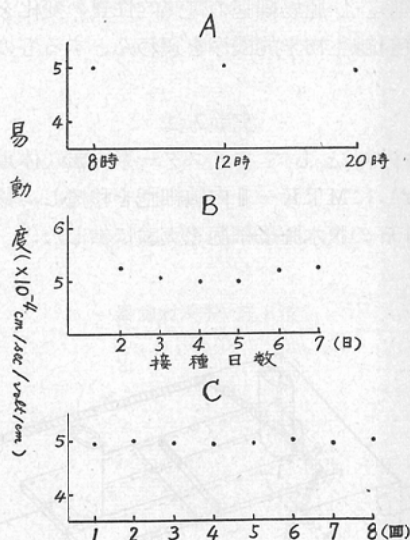
実験成績

実験 I 豫備実験

A 腫瘍細胞の1日中の採取時間による影響

腹水を早朝、晝間、夜間の3回穿刺し、その電気泳動速度を見るに第4図の如くである。即ち早朝8時では $5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 、晝間12時では $5.03 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 、夜間20時では $4.97 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 、で採取時間による影響はみられない。今平均値 $5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ について荷電量を上式に於て $D=81$, $\eta=18 \times 10^{-3} \text{cm}^{-1} \text{g sec}^{-1}$, $H=30 \text{volt/cm}$ として計算すると約13mVとなる。即ちウイスター系に於けるMT

第4図 実験I (予備実験)



K-Ⅱ肉腫細胞の界面動電圧は約13mVである。腫瘍細胞についての界面動電圧は E.J. Ambrose 等はハムスターの腎腫瘍では $1.15 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ であるという。著者の場合は腹水肉腫であるが $5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ で、又之を正常細胞と比較するに若林、石田は家兎赤血球で $3.6 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ であると言う。又ハムスターの赤血球は $1.4 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ であると言う。著者のMTK-Ⅲ肉腫細胞の荷電は以上何れのものより高い値を示した。

B 腫瘍年令による影響

ラッテ腹水を腫瘍細胞接種後2~7日間毎日穿刺し、その泳動速度を見るに第4図の如く2日目では $5.25 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 、3日目では $5.03 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 、4日目では $5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 、5日目では $5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 、6日目では $5.25 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 、7日目では $5.25 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ であつた。即ち移植後3~5日目のものでは腫瘍細胞の泳動速度は略と一定値を示すことを知る。

C 穿刺による刺激のための影響

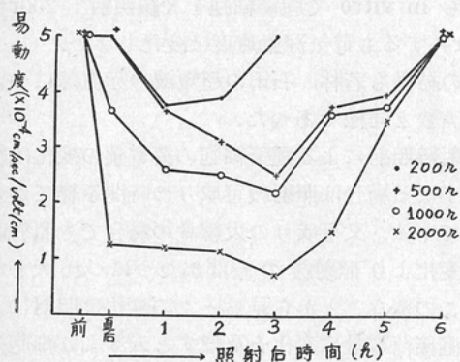
腹水穿刺による刺激で初回穿刺腹水の腫瘍細胞の電気泳動速度に変化ありや否やをしらべた。1

時間おきに8回, 7時間にわたって得た腫瘍細胞の泳動速度は第4図の如く初回穿刺腹水腫瘍細胞の泳動速度は $4.98 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 2回目は $5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$, 3回目は $4.96 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$, 4回目は $4.96 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$, 5回目は $4.96 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$, 6回目は $5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$, 7回目は $4.98 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$, 8回目は $5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ であつた。即ち穿刺による刺激のための変化はみられなかつた。

実験 II in vivo X線照射実験

X線照射条件は 160KVp 5mA, 0.5mm Cu + 10mm Al 濾過板(半價層0.82mm Cu), 動物焦点間距離30cm, 線強度29.7r/min, 線量は 200r 500r 1000r 2000r の各種を用いた。

第5図 実験 II (in vivo X線照射実験)

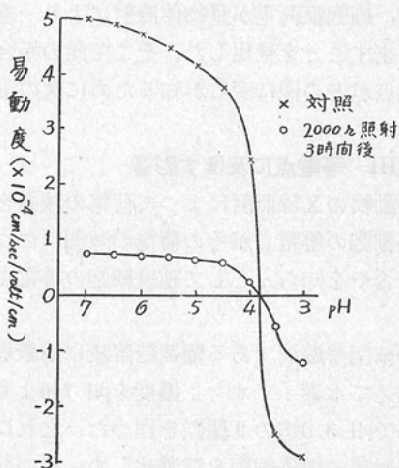


其の結果は第5図に示す如くであつた。

200r照射に於ては照射直後には変化はないが, 1時間後には泳動速度は $3.75 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$, 2時間後にはやや回復して $3.87 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$, 3時間後には完全に回復して $5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ となつてゐる。

500r 照射に於ては照射直後には変化はみられないが1時間後には $3.65 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$, 2時間後には $3.1 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 3時間後には $2.5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$, と泳動速度は減少し, 4時間後にはやや回復して $3.75 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 5時間目には $3.95 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ となり6時間目には完全に回復して $5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ となる。

第6図 実験 III (等電点に及ぼす影響)



cm/sec/volt/cm となつた。

1000r 照射に於ては照射直後から泳動速度は低下し $3.65 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 1時間後には $2.6 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$, 2時間後には $2.5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 3時間後には $2.2 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 4時間後にはやや回復して $3.63 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ となり5時間後には $3.72 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$, 6時間後には完全に回復して $5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ となる。

2000r 照射に於ては照射直後より泳動速度は急激に低下し $1.25 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$, 1時間後には $1.18 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 2時間後には $1.15 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$, 3時間後には $0.72 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ と最も低下し, 4時間後には多少回復して $1.5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ 5時間後には更に急激に回復して $3.5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ となり6時間後には完全に回復して $5 \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ となる。

即ち担腫瘍動物に X線全身一時照射 (200r ~ 2000r) する時, その腹水腫瘍細胞の電気泳動速度は一過性に減少する。然しその減少の度は略々線量に対応する。又回復の時間的關係も同様である。

細胞の界面動電圧が動物に物理的侵襲を加えた場合, 変化することは, 若林, 石田等が家兎に短超波を照射して報告している。放射線を動物に照

射した場合のこの様な実験報告はない様である。とに角、細胞膜荷電が動物体照射により一過性の減少を来すことを見出した。そこで此の場合細胞の等電点がどの様になるか知るために次の実験を行った。

実験III 等電点に及ぼす影響

担癌動物のX線照射によつて荷電の減弱を来せる腫瘍細胞の等電点はその荷電の減弱に伴つて移動する否やを知らんとして腫瘍細胞の等電点を求めた。

腫瘍細胞浮遊液である葡萄糖溶液に磷酸塩緩衝液を加えて水素「イオン」濃度をpH 7.0より 0.5の間隔でpH 3.0迄の9種類を作つた。之れに照射前、照射後の腫瘍細胞を浮遊せしめ、その荷電を測定し、等電点を求め比較した。X線照射は2000rとし照射後3時間目で荷電量の最も減少せる時期の腫瘍細胞を用いた。

その結果は第6図の如くであつた。

非照射の腫瘍細胞ではpH 7.0の溶液中で 5×10^{-4} cm/sec/volt/cm pH 5.5で 4.47×10^{-4} cm/sec/volt/cm pH 4.5で 3.75×10^{-4} cm/sec/volt/cm pH 4.0で 2.44×10^{-4} cm/sec/volt/cm pH 3.5で -2.5×10^{-4} cm/sec/volt/cm, pH 3.0で -2.9×10^{-4} cm/sec/volt/cmである(腫瘍細胞が電極の+から-の方向へ移動する場合を正の方向とする)。又X線照射せる腫瘍細胞ではpH 7.0の溶液中では 0.72×10^{-4} cm/sec/volt/cm, pH 4.5では 0.6×10^{-4} cm/sec/volt/cm, pH 3.5で -0.55×10^{-4} cm/sec/volt/cm pH 3.0では -1.2×10^{-4} cm/sec/volt/cmで第6表の如くである。

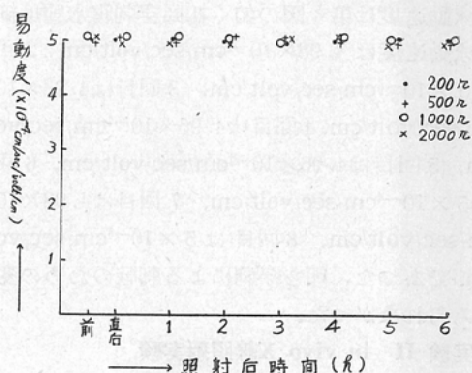
即ち非照射群の腫瘍細胞の等電点も照射群のそれも共にpH 3.8で荷電量の大小にかかわらず等電点は等しい。即ち照射により腫瘍細胞の荷電等は変化しても等電点は変化しない。

若林、石田等の超短波照射の実験に於ても赤血球について同様な結果が報告されている。

実験IV in vitro X線照射実験

X線照射条件は in vivo X線照射実験と同一の条件で行つた。試料はシャーレ(内径 2.0cm深さ 0.5cm)に入れ、37°Cの恒温を保つて照射した。

第7図 実験IV (in vitro X線照射実験)



200r, 500r, 1000r, 2000r, 照射を行い照射後6時間迄観察した所第7図の如く各線量に於ける照射後各時間の電気泳動速度は $4.94 \sim 5.02 \times 10^{-4}$ cm/sec/volt/cmであつた。

即ち in vitro で腫瘍細胞をX線照射(200r~2000r)するも電気泳動速度は変化しない。

この結果も若林、石田の超短波の赤血球についての実験と同様であつた。

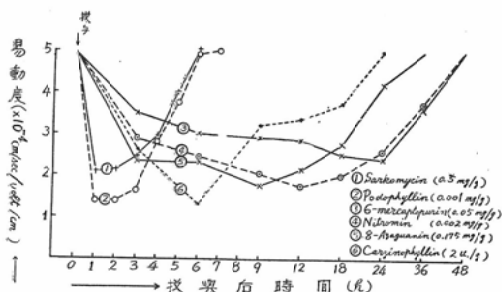
放射線照射による腫瘍細胞の荷電量の変化は線量が小なる場合は照射後可成りの時間を経てから起つてくる。又可成りの大線量の場合でも照射直後の変化より照射後の時間がたつにつれ大となる。この様なことから見るとこの変化は照射によつて直接荷電量に変化を及ぼすと云ふより細胞内或は細胞膜恐らくは medium に何か一次的化学変化が起つて、之れが二次的に膜荷電に影響を及ぼすと考えられる。要するに照射によつて生ずる化学的物質による電気的性質の変化と考えられる。

実験V 抗癌剤の界面動電圧に及ぼす影響

腫瘍細胞の細胞膜の電気的性質は種々なる薬剤によつて容易に変化すると考えられる。我々の立場からは抗癌剤による影響が興味ある点である。そこで次の様な種々なる抗癌剤を担癌動物に投与して腫瘍細胞の電気的性質を検討した。

radiomimetic agentとしてNitroimin¹⁹⁾, colchicine-like agentとしてPodophyllin²⁰⁾, antimitabolate agentとして6-Mercaptopurin²¹⁾及び

第8図 実験V (抗癌剤の界面動電圧に及ぼす影響)



8-Azaguanin, antibiotics の制癌剤としては Sarkomycin,²²⁾ Corzinophyllin²³⁾ を用いた。

その結果は第8図の如くであつた。

i) Nitroimin (0.002mg/g) 腹腔内投与では第8図に示す如く処置直後には変化はみられないが3時間後には腫瘍細胞の電気泳動速度は 2.9×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 6時間後には 2.44×10^{-4} cm/sec/volt/cm と次第に減少し12時間後には最もおそく 1.76×10^{-4} cm/sec/volt/cm となり、以後次第に回復して48時間後には処置前の速度となる。

ii) Podophyllin (0.001mg/g) 腹腔内投与では処置後1時間目に電気泳動速度は最も減少し 1.38×10^{-4} cm/sec/volt/cm となり、大体その状態で2時間目迄達し3時間目から回復し初め6~7時間目には完全に処置前の速度に復帰する。

iii) 6-mercaptopurine (0.05mg/g) 腹腔内投与では処置後3時間で 3.5×10^{-4} cm/sec/volt/cm と電気泳動速度は減少しそれから6時間で 2.56×10^{-4} cm/sec/volt/cm と極めて徐々に速度が減少し24時間に最もおそい値即ち 2.4×10^{-4} cm/sec/volt/cm となり、それから急激に回復して48時間後には処置前の速度にもどる。

iv) 8-Szaguanin (0.175mg/g) 腹腔内投与では処置後3時間には 2.63×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 6時間後には 2.37×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 9時間後には最低値の 1.74×10^{-4} cm/sec/volt/cm を示し、その後漸次回復して24時間後には 4.4×10^{-4} cm/sec/volt/cm となり、殆んど復帰し36時間後には完全に回復する。

v) Sarkomycin (0.5mg/g) 腹腔内投与では処置後1時間で最低値の 2.1×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 2時間で 2.13×10^{-4} cm/sec/volt/cm と1~2時間が最も速度の減少がみられ、以後回復に向い6時間目には完全に処置前の速度となる。

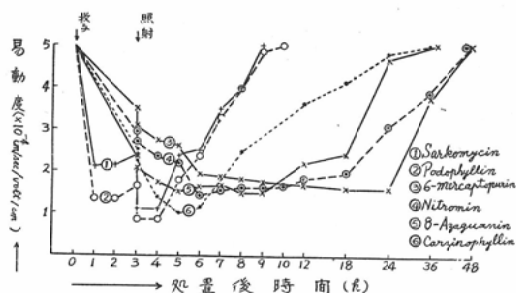
vi) Corzinophyllin (2 μg) 腹腔内投与では処置後急激な速度の減少を見せ、3時間で 2.56×10^{-4} cm/sec/volt/cm 6時間で最も減少し 1.3×10^{-4} cm/sec/volt/cm となり、それから回復し初め9時間では 3.2×10^{-4} cm/sec/volt/cm と急速な回復をみせるが、その後は回復の度合が緩徐となり、12時間で 3.35×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 18時間で 3.75×10^{-4} cm/sec/volt/cm 24時間では処置前の速度に帰る。

即ち此等薬剤投与によつても腫瘍細胞の電気泳動速度は明らかに減少する。Sarkomycin, Podophyllin では処置後6~7時間に完全回復をみ、その他の薬剤では24~48時間後に回復する。

実験 VII 放射線と抗癌剤の併用実験

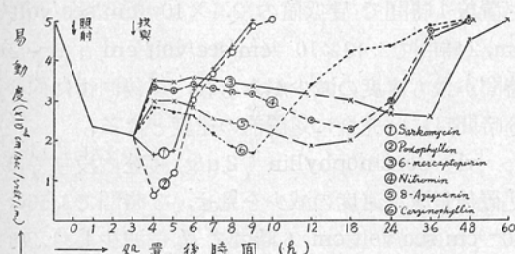
次に種々なる抗癌物質とX線の併用による腫瘍細胞の電気泳動速度の変化をみた。

第9図 実験VI (放射線と抗癌剤の併用実験) A



薬剤は単独処置と同量を用い、X線は1000r 照射した。先ず薬剤を処置し、3時間後即ち薬剤の電気泳動速度に比較的影響を及ぼして居ると思われる時間にX線を照射した実験では第9図に示す如く薬剤処置後3時間にX線を1000r 照射すると Sarkomycin, Podophyllin の処置群では夫々照射直後から 1×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 0.94×10^{-4} cm/sec/volt/cm と速度が減少し9~10時間後に完全に回復する。6-mercaptopurine, Nitro-

第10図 実験Ⅵ(放射線と抗癌剤の併用実験) B



min, 8-Azaguanin, Carzinophyllin ではX線照射直後にやはり夫々 3.1×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 2.7×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 2.1×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 2.28×10^{-4} cm/sec/volt/cm となり最低の速度となるのは夫々18時間, 6時間, 9時間, 6時間後で24~48時間後に完全に回復する。

次にX線1000rを先ず照射し3時間後即ちX線の最も電気泳動速度に影響していると思われる時間に薬剤を処置した実験では第10図の如くであった。即ち Sarkomycin, Podophyllin で処置したものは4時間後に最低値の夫々 1.64×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 0.55×10^{-4} cm/sec/volt/cm となり、それから急激に回復して9~10時間後に完全に回復する。その他の薬剤即ち 6-mercaptopurin, Nitroimin, 8-Azaguanin, Carzinophyllin では夫々4時間目には 3.52×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 3.4×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 3×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 2.8×10^{-4} cm/sec/volt/cm と回復の徴を見せるが5時間目より再び下り最低値は夫々36時間, 18時間, 12時間, 9時間で速度は夫々 2.56×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 2.47×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 1.9×10^{-4} cm/sec/volt/cm, 1.6×10^{-4} cm/sec/volt/cm である。しかし完全回復は48~60時間である。

即ちX線1000rと各種抗癌剤の併用により明らかに腫瘍細胞の電気泳動速度は Sarkomycin, Podophyllin に於ては他の薬剤に比較して多少なりともX線の影響を受ける様である。

一般にX線を薬剤の処置よりあとに照射した方が電気泳動速度の受ける影響は大きい様である。

考 按

腫瘍細胞の界面動物電圧を述べた業績は極めて

少く、上記の Amcrose 等の文献を見るのみである。著者のMTK-Ⅲ肉腫についての実測の結果は 460 例で $(5 \pm 0.07) \times 10^{-4}$ cm/sec/volt/cmの値を得た。界面動物電圧にすれば13mVである。此の腫瘍細胞の界面動物電圧は極めて安定なるもので腫瘍移植後の日数とか、腹水採取の刺激等により殆んど変動を見ないものである(実験Ⅰ)。

然るに担腫瘍動物をX線照射するに腫瘍細胞の易動度は一過性の低下を来し、その度及び低下している時間の長さは線量に対応すると云う事実が見出された(実験Ⅱ)。その際腫瘍細胞の等電点に変化しないのである(実験Ⅲ)。

担腫瘍動物をX線照射するときは腫瘍細胞の界面動物電圧の低下を来す機序については直接的なものと、間接的なものとが考えられる。

直接的なものとしてはX線照射により、細胞膜内外に電離が起り、このイオンによつて腫瘍細胞膜の電位形成イオンが中和され、そのために膜電位の低下を来すと考えられる。物理的にみると此の様な考えが浮んでくる。然しながら、若し此の説明が成り立つなら、試験管内照射の際にも当然易動度に変化をきたす筈である。然るに実験結果は全く変化を見ないのである(実験Ⅳ)。又この様にして膜電位形成イオン中和によつてかかる変化が起るなら、当然、等電点も移動する筈である。然るに実験結果(実験Ⅲ)では等電点には変化を見なかったのである。之等のことから生体照射による腫瘍細胞膜電位の変化は、X線の電離作用という物理的現象によつて説明することは困難である。従つて照射によるこの変化の機序は間接的なものと考えらるべきであろう。

若林、石田、沢田¹⁶⁾等は超短波を動物に照射するときは、その赤血球の界面動物電圧が異常に高くなるがそのとき等電点は変化しない。又赤血球の試験管内での、この照射では易動度に変化を見ないという。この様相と著者の実験とはよく似ている。X線と超短波とは本態は同じ電磁波であるものとは云え、その物理的性質は非常に異なるものである。然るに、この様な物理的侵襲が生体に加えられるとき細胞膜の電氣的性質に著しい影響を及

はすと云うことは甚だ興味深いものである。若林等も、その実験に於て膜電位の変化は超短波の直接細胞膜への影響と云うよりは二次的影響によると解すべきであろう。

他方、放射線の生体照射に際して humoral transportable の物質が生成されることが知られている²⁴⁾²⁵⁾²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾²⁹⁾³⁰⁾。著者の場合にもX線の生体照射によつて腫瘍細胞内外の medium に化学的变化が起り、その生成物が膜電位に影響を与えると考えるのが妥当であろう。又之等を支持する事実は種々なる薬物を生体内に投与することにより腫瘍細胞の膜電位を低下させることが出来る事である(実験V)。又之等が抗癌物質とか抗癌物質であり、しかも適当に投与すれば、一過性の電位の低下を来すことは甚だ興味深いものであつた。薬剤投与は兎に角、著者の実験範囲ではいずれも一過性の膜電位の低下を来す。その最低値を示す時間及び低値の持続時間は夫々薬品によつて異なる。著者の実験に於ては Sarkomycin, Podophyllin はX線1000~2000r 照射のものと同く類似していた。即ちこの両者は投与後1~2時間で最低値を示し投与後6時間では既に回復している。他の薬剤は最低値を示す時間が6時間以後であり、然も完全なる回復は24~28時間であつた。Sarkomycin は抗生物質で腫瘍細胞の核に強く作用する薬剤と云われている³¹⁾。又 Podophyllin は牧野によれば細胞核を強く侵襲すると云う³²⁾。之等とX線とは夫々侵襲点を異にしながらも膜電位に及ぼす影響は殆んど同様な経過をとるのである。

著者の使用した薬剤は何れも何等かの形で細胞核に作用するものである。之等のことは核学的研究によつて明らかにされた。然しその際、細胞質も何等かの变化(化学的变化)をきたすことは形態学的にはとらへられないにしろ考えられることである。即ち腫瘍細胞核に働くとは云われる之等の薬剤は同時に細胞質とも化学的变化を起し、これによつて膜電位の平衡に変化を来すと考えられる。薬剤それ自身が細胞膜内外に存在して膜電位に直接影響するとは考えられない。何故ならばラッテ腹水中に投与された薬剤は速に吸収される。

例えば石館によれば Nitromin 投与後10数分~数10分で有効残留はなくなる。田尻によれば8-Azaguanin は腹腔内投与後1時間以内に70%以上が消失すると云う。

一般に薬剤投与による形態学的変化は極めて速に起ることが多い。即ち薬剤は細胞膜を通過して核質に作用することが速いである。之等のことより投与した薬剤が直接膜電位に影響を及ぼすとは考えられない従つて薬剤による膜電位の低下は細胞膜内外に於ける物質と薬剤との間に化学的变化が起り之による二次的な現象と解せよう。

X線照射による膜電位の低下も前述の如く細胞膜内外に於ける化学的生成物による二次的現象と解せられる。

さて之等の薬剤は何れも一過性に膜電位を低下させること。又 Sarkomycin, Podophyllin の如くX線照射の場合と極めて類似の様相を呈している。そこで之等をX線と併用するに、薬剤を投与後X線照射するときは程度の差こそあれ照射による膜電位の低下と云う現象が必ず見られた。その後の時間的経過は夫々の薬品に固有のものであつた。然るに処置を逆にすれば即ちX線照射後薬剤を投与する場合には Sarkomycin, Podophyllin は夫々固有の変化を示すが、その他の薬剤はむしろX線照射の影響からの回復を軽度抑制する様であるが、その後の時間経過は夫々の薬剤に固有のものであつた(実験VI)。

以上のことより各処置によつて膜電位の低下が夫々の処理によつて生ずる化学的物質によると考えれば、その各処置によつて生ずる物質は夫々異り且夫々獨立的に働くものと考えられる。

変化の回復が早いもの、即ちX線照射とか Sarkomycin, Podophyllin 等は生じた物質が膜電位変化に関与している時間が比較的短時間であるによる。又6-Mercaptopurin, Nitromin, 8-Azaguanin, Carzinophyllin 等は作用物質の生成は遅いが長時間作用しているによると考えられる。

以上要するに生体照射によつて起る腫瘍細胞膜の界面動電圧の一過性の低下はX線の直接的作用ではなく、照射によつて膜内外に生ずるであろう

生成物による二次的観察であると解せらる。又著者の使用した6種の薬剤による膜電位の低下も夫等薬剤の直接作用ではなく、細胞質と此等薬剤の化学変化によつて生成した物質による影響と考えられる。然してX線照射によつて生ずる生成物と之等薬剤によつて生ずる生成物とは一般に異り且獨立的に働くと考えられる。

結 論

MTK-Ⅲ肉腫細胞の界面動電圧について実験を行い、次の結果を得た。

1) MTK-Ⅲ肉腫細胞の易動度は460例について $(5 \pm 0.07) \times 10^{-4} \text{cm/sec/volt/cm}$ の値を得た。

2) この易動度は肉腫移植後の日数、腹水反覆採取等のことにより殆んど変化しない。

3) 担腫瘍動物を照射するに易動度は一過性の低下を来す。その低下の度と、低下している時間の長さは線量(200~2000r)に対応する。

4) この際、腫瘍細胞の等電点(pH 3.8)は照射によつて影響されない。

5) *in vitro* で腫瘍細胞を照射しても易動度には変化を来さない。

6) 各種薬剤(Sarkomycin, Podophyllin, 6-mercaptopurin, 8-Azaguanin, Carzinophyllin, Nitromin)等を投与するときは易動度は一過性の低下を来す。但しその最低値を示す時間及びその持続時間は夫々薬剤によつて異なる。特にSarkomycinとPodophyllinはX線の作用と類似した。

7) X線と各種薬剤を併用するときはX線の作用と薬剤の作用がと夫々獨立的に現われる。

8) X線照射による易動度の低下の機序は放射線の間接的な作用によると主張する。

拙筆するに当り、種々御懇篤なる御教示を頂きました北大医学部第一生理学教室伊藤教授、札幌医大放射線医学教室、牟田教授、徳島大学医学部放射線医学教室、河村教並びに当教室員各位に感謝致します。

本研究は文部省科学研究費に依つた。附記して感謝の

意を表する。

本論文要旨は日本医学放射線学会第16回総会(新潟)昭和32年5月、並びに第17回総会(福岡)昭和33年4月に於て発表した。

文 献

- 1) 足立: 放射線医学(臨床篇)第5版, 110, 金原出版KK(東京)(1956). —2) 金田, 染色体, 15, 547, (1953). —3) 桜井: 日医放誌, 16, 49, (1956). —4) E.J. Ambrose, A.M. James & J.H.B. Lowick, 177, 571, (1956). —5) 北大医学部放射線医学教室業績目録(1958). —6) A. M. James & P. J. Barry: Bio chim. Biophys. Acta, 15, 186, (1954). —7) H. A. Abramson, L. S. Mayer, & H. Goner: "The Electrophoresis of proteins" 44 Reinhold Pub. Co. (1942). —8) 金田等: 日医放誌, 16, 400, (1956). —9) 入谷: 日医放誌, 17, 1009, (1957). —10) 田尻, 日医放誌, 17, 1266, (1957). —11) 池田: 第17回日医放学会東北北海道新潟地方会(昭和33年10月於札幌). —12) 田原: 第17回日医放会総会(昭和33年4月於福岡). —13) 本永: 第17回日医放会総会(昭和33年4月於福岡). —14) 舟山: 第17回日医放会総会(昭和33年4月於福岡). —15) 福永: 第16回日医放会東北北海道新潟地方会(於仙台, 昭和33年7月). —16) 若林等: 北海道医学雑誌, 18, 1, (1940). —17) Svedber und Anderson: Kolloid zeitschr. 24, 156, (1919). —18) Rudolf: Hölber Physikalische Chemie d. Zelle u. Gewebe 6, 137, (1926). —Wilchelm: Engelmann Leipzig —19) S. Makino: J. nat. Cancer Inst. 13, 1185, (1953). —20) L.W. Law et al.: New york Cancer Society 60, 244, (1954). —21) Kidder et al.: J. Bio chem. 178, 181, (1949). —22) H. Umezawa: J. Antibiotics A. 6, 45, (1953). —23) T. Hata et al.: J. Antibiotics A. 7, (1954). —24) B. Tenckhoff: D. med. W. 32, 1309, (1925). —25) Sizilians et al.: Arch. Radiol. 6, 1108, (1930). —26) Sipowsky: Vestn. Röntgenol., 16, 373, (1936). —27) A. Gregori: Strahlen Ther. 65, 163, (1939). —28) 足立, 飯塚: 日医放誌, 9, 39, (1949). —29) W. A. Barns et al.: Amer. J. Roentgenol., 48, 651, (1942). —30) 小坂: 北海道医学雑誌, 27. —31) M. Sasaki: J. Fac. Sci. Hokkaido unir. Ser. VI, 433, (1956). —32) 牧野, 第10回, 日本医師会設立記念医学大会講演(1957). —33) 中泉: 臨床放射線学, 第5版, 金原出版KK, (東京)(1956). —34) 石館等: Garr 46, 469, (1955). —35) E. Robert et al.: Cancer Research 16, 960, (1956).

Studies on the Effect of Radiation on the Electrokinetic Potential of Sarcoma cell
Effect of Combined Use of X-ray and Several Anticancerous Agents

By

Akio Yoshikawa

Department of Radiology, School of Medicine, Hokkaido University

(Director: M. Wakabayashi)

This paper deals with the effects of combined use of x-ray and several anticancerous agents, such as Sarkomycin, Podophyllin, 6-mercaptopurin, 8-azaguanin, Carzinophyllin and Nitromin, on electrokinetic potential of sarcoma cell surface as learned by the use of microelectrophoresis.

Using the MTK-III sarcoma of rat, the writer made x-irradiations with 60kVp., 20 mA, no filter, 600r/min; the doses ranged from 200 to 2000r; the agents were injected intraperitoneally.

The results obtained were as follows;

1) The electrophoretic mobility of untreated sarcoma cells showed $(5 \pm 0.007) \times 10^{-4}$ cm/sec/volt/cm in 460 cases. This value was not dependent upon the days after implantation of the sarcoma or frequency of puncture for sampling the ascites.

2) Irradiation in vivo made the electrophoretic mobility of the sarcoma cells decline temporarily; the degree of decrease and its duration corresponded to the doses irradiated.

3) The isoelectric point of the cells was unchanged by x-irradiation, injection of the agents or combined use of them.

4) X-irradiation in vitro showed few effects on the electrophoretic mobility of the sarcoma cells.

5) All agents used caused the mobility of the cells to decrease but the duration and the time when that decrease showed the maximum value differed according to the drug used. Sarkomycin and Podophyllin, however, showed effects similar to those of x-irradiation.

6) Combined use of x-ray and the agents noted above showed the cumulative effects of each treatment.