

Title	吉田肉腫腹水細胞の分裂數日週期について
Author(s)	松本, 健二
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1958, 17(11), p. 1281-1292
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/15001
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

吉田肉腫腹水細胞の分裂数日週期について

東北大学医学部放射線医学教室（主任：古賀良彦教授）

松本 健二

（昭和32年8月1日受付）

内 容

- I 緒 言
- II 実験材料及び方法
- III 実験成績
 - A 実測値について
 - B 理論的推計について
 - 1) 吉田肉腫細胞増殖進行模型図
 - 2) 分裂係数の周期性
 - 3) Wright の仮説の不連続性
 - 4) 分裂係数による増殖式
 - 5) 分裂係数の平均値によって、M/T の値を求めめる方法
- IV 総 括
- V 考 按
- VI 結 論
- VII 文 献

I 緒 言

植物及び動物の生理的現象のうちには波状消長を示すものが多く報告されているが、細胞核分裂数に於ても同様に波状消長のあることが報告されている。古くは Jüngling 及び Langendorff¹⁾ (1930) がソラマメ (*Vicia fava equena*) の根端細胞で、又動物では Langendorff²⁾ (1936) がマウスの睾丸で山の現われるのを見ている。併しながら吉田肉腫に於ける核分裂数の變動に就いては賛否兩論に分れている。

現在迄の報告では、川村³⁾ (1952) は1日中の分裂頻度は一定のカーブを描いて変化すると云いこの変化は新陳代謝の變動に起因しているのではないかと推論している。牟田⁴⁾ (1950) 及び草住⁵⁾ (1953) は個々の動物は相當な動揺が見られても平均すると、その變動は有意ではないと云っている。又小野 (1952)⁶⁾ は核分裂数の變動には大

差なく、牟田の云える如く日週期には Langendorff 及び Jüngling¹⁾ の云う山は見られなかつたと云っている。以上諸氏の實驗に於ける經時的觀察時間々隔は最も短かいもので2時間である。所が、吉田肉腫の分裂完了に要する時間は種々の方法で測定された結果50~80分⁷⁾⁹⁾¹⁴⁾¹⁵⁾の間にあると云う報告が割合に多い爲、余は觀察時間々隔を60分で行い細胞分裂時間中に1回は觀察し得る様にした。その結果核分裂数の變動を數量的追時的に觀察し興味ある成績を得た。

研究目標として

- 1) 吉田肉腫には核分裂数日週期があるや否や。
- 2) あるとすれば何如なる理由に基いて核分裂数日週期が起るか。
- 3) 理論的に算出した核分裂数日週期と實測値とが一致するや否や。

以上の3つの疑問を解くべく實驗を行つた。

II 實驗材料及び方法

成熟Rat雄2匹 (No. 185, 186), 雌3匹 (No. 182, 183, 184), 計5匹に對し、移植後5日目の純培養状態の吉田肉腫腹水細胞を1匹當り約800万個の割合で移植し、移植後55時間目より24時間に亘り1時間毎に標本を作り、ギムザ染色にて腫瘍細胞2,000個中の分裂細胞を數えた。又各期分裂細胞の百分率は分裂細胞200個を數えて行つた。尙再建期の娘細胞は2つで1つに數えた。

分裂細胞中の各期の分類基準については次の様に行つた。

前期は静止核の核膜が消失し、染色体を形成し絛毬が出來上る迄とし、中期は染色体が放射狀に赤道面に並ぶ迄とし、後期は染色分体が兩極に移動する迄とし、終期は染色分体が兩極に達し細胞

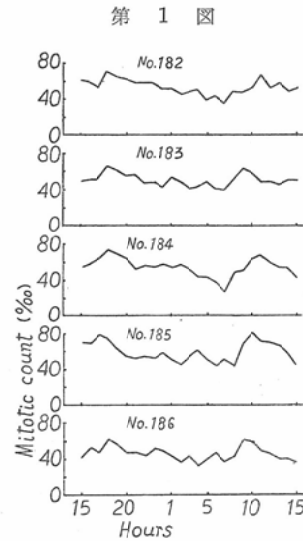
膜に括目が生じ始めてから、2つの娘細胞になる迄で、最後の再建期は2分した娘細胞の染色体が静止核のように染色質の構造が消失する迄とした。

この腹水肉腫の採取に當つては、自製のガラスピペットを用いて1回の採取量を出来るだけ少量に留め極力 Rat の体力消耗を避けるように心掛けた。

III 実験成績

A) 實測値について

實驗成績は第1表並に第1圖に示すように各例共16時間前後の間隔で山が認められた。この山から山までの週期は肉腫細胞の環境、即ち個々の動物の個体差等に依つても變化し得るものであるから、平均値をとることは、余り良い方法ではないが、5例とも山が大体一致しているため5例の分

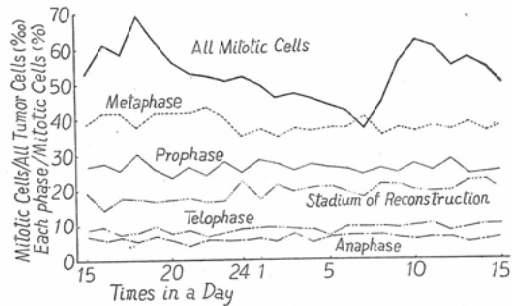


第1圖

第1表 1日中に於ける分裂細胞数の変化
Mitotic Counts (%) of each Times in a Day

Times in a Day	No. 182	No. 183	No. 184	No. 185	No. 186	Average
15	61.0	49.5	54.0	71.0	41.0	55.3
16	59.5	51.0	59.5	70.0	53.0	61.0
17	52.0	51.5	63.5	*79.0	47.0	58.6
18	*71.0	*66.0	*73.0	74.0	*63.0	*69.4
19	65.0	62.0	68.5	62.0	56.0	62.7
20	62.5	55.5	64.5	54.0	46.0	56.5
21	58.0	57.5	52.0	52.0	46.5	53.2
22	59.0	47.5	56.0	54.0	43.5	52.2
23	48.5	48.5	55.0	52.0	51.5	51.1
24	52.0	43.0	57.0	59.0	49.5	52.1
1	52.0	54.0	54.0	50.0	42.0	50.0
2	46.0	48.5	57.0	45.0	36.0	46.5
3	48.0	40.5	52.0	55.0	43.5	47.8
4	50.5	43.5	43.0	61.5	32.0	46.1
5	38.5	49.5	43.0	51.0	40.0	44.3
6	43.0	41.5	37.0	44.0	47.5	42.6
7	35.5	39.5	26.0	50.0	37.0	37.6
8	48.0	51.5	38.5	44.0	43.0	45.0
9	47.0	*63.0	40.0	69.0	*61.5	56.1
10	51.0	59.5	64.0	*80.5	59.0	*62.8
11	*67.0	49.0	*68.0	70.5	48.5	60.0
12	51.5	49.5	59.0	70.0	46.0	55.2
13	57.5	46.0	54.0	67.0	40.0	52.9
14	48.0	50.0	53.5	58.5	40.0	50.0
15	52.0	49.5	43.0	45.0	37.0	45.3

第2圖 24時間中に於ける分裂細胞及び分裂各期の変動



裂各期に於ける平均値をとつてみると、第2表並に第2圖に示す如き成績が得られた。

この第2圖に於て細胞分裂折線を詳細に觀察すると、分裂數は山の頂點より漸時減少して約1/2の處で再び山が現れて、この山と山との間隔が大体16時間前後で諸先輩⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾の報告している吉田肉腫の細胞分裂週期に大体一致しているように思われる。之に反して分裂各期細胞の百分率は大体一定して特別の山等は見當らない。

B) 理論的推計について

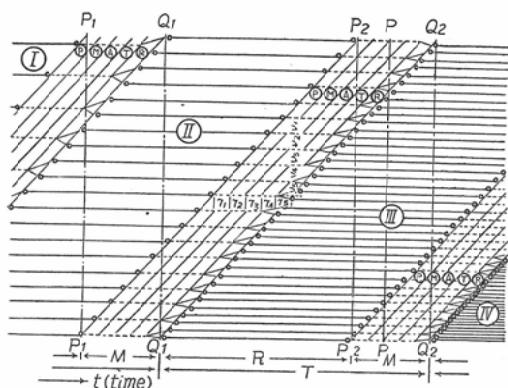
1) 吉田肉腫細胞増殖進行模型圖

移植された肉腫細胞が増殖の途中、或る時刻に於て、一世代間の總ての状態が均等の割合で存在すると假定し、且つ分裂増殖した細胞が死なずに

第2表 24時間中に於ける分裂各期細胞百分率

Times in a day Rat No.	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Pro.	182	26.5	28.5	28.0	36.5	30.0	30.0	35.0	26.0	34.5	27.0	27.0	29.5	26.0	30.0	23.5	27.0	26.0	28.0	22.0	31.0	31.0	29.0	28.5	28.5	28.5
	183	29.0	32.5	23.5	32.0	26.0	19.5	25.0	22.0	30.5	22.5	29.5	23.0	23.0	21.0	27.5	23.5	27.5	25.5	27.5	24.5	28.5	23.5	23.5	21.5	21.5
	184	24.0	25.0	26.5	22.0	27.0	27.5	23.0	23.0	20.0	26.0	26.0	25.0	19.5	24.5	19.0	25.0	25.5	19.5	25.0	26.5	23.5	15.0	22.5	18.5	18.5
	185	25.5	28.5	27.0	27.0	28.5	22.0	27.5	23.0	24.5	23.0	25.5	27.0	27.5	25.5	33.0	22.0	26.5	22.5	26.0	25.0	27.0	28.5	27.0	21.5	51.5
	186	27.5	23.5	24.0	34.5	19.5	29.0	23.5	25.0	29.0	35.0	28.5	29.0	27.5	32.0	29.5	31.5	24.0	28.0	27.5	30.0	26.0	29.5	25.5	28.0	26.5
	Average	26.5	27.6	25.8	30.4	26.2	23.6	26.9	24.6	28.4	25.4	28.8	27.7	25.9	27.9	26.8	26.0	24.5	26.1	24.9	27.1	25.2	28.2	24.4	24.9	26.3
Meta	182	42.0	40.5	36.0	32.5	45.0	42.0	37.5	42.0	39.0	38.0	37.0	38.5	36.0	39.5	42.0	44.5	36.0	41.5	37.0	41.0	37.0	41.0	40.5	41.0	39.0
	183	37.0	46.5	47.5	39.5	40.5	40.5	43.5	41.5	38.5	35.5	34.5	27.0	37.0	40.5	44.0	42.0	44.5	31.0	36.5	35.5	41.5	32.5	41.5	34.5	46.0
	184	42.5	39.0	35.5	36.5	35.0	41.5	38.5	42.0	42.0	35.5	33.5	43.5	35.0	40.0	34.5	39.5	42.0	39.5	39.0	38.0	37.0	35.5	39.0	36.5	38.0
	185	34.0	38.5	45.0	47.0	42.0	44.0	44.5	47.5	38.5	32.5	40.5	33.5	39.0	36.0	32.5	35.0	35.5	38.5	34.0	37.5	39.0	37.0	28.5	33.5	37.0
	186	37.5	45.0	46.0	36.0	47.0	42.0	47.5	46.5	44.5	35.0	43.0	34.5	39.0	33.5	38.0	30.5	37.5	33.0	37.5	36.0	39.0	39.5	46.0	38.5	33.0
	Average	38.6	41.9	42.0	38.3	41.9	42.0	42.3	43.8	41.1	35.5	37.9	35.1	37.7	37.2	33.7	37.8	40.8	35.6	37.7	36.9	38.7	37.1	33.9	36.8	38.6
Ana.	182	7.5	5.5	5.5	7.5	5.0	3.5	5.0	6.0	9.0	6.0	6.0	3.5	4.0	9.0	7.0	6.0	7.0	9.5	6.0	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	7.0
	183	6.0	4.0	7.5	5.0	6.0	4.5	6.5	6.5	5.0	6.5	2.5	7.0	4.5	6.5	7.0	6.0	6.5	7.0	5.5	7.0	5.5	7.0	6.5	6.5	6.0
	184	7.5	7.5	6.5	6.0	8.0	8.5	6.5	7.5	5.5	6.5	4.5	11.5	6.0	6.5	7.0	9.5	4.5	6.5	7.5	4.5	6.0	5.5	6.0	4.5	6.0
	185	8.0	7.0	8.0	4.5	5.5	6.0	5.0	5.0	6.0	6.0	8.0	11.0	8.0	6.5	4.0	8.0	8.0	11.5	5.0	5.5	6.0	7.0	5.5	6.5	6.0
	186	6.0	6.0	6.0	5.0	6.0	8.0	5.0	6.0	6.5	4.5	5.0	5.0	6.5	5.0	8.0	7.0	7.0	6.0	4.5	5.5	9.5	6.5	2.5	5.5	5.0
	Average	7.0	6.0	6.7	5.6	6.7	7.1	4.9	6.0	6.1	6.2	6.4	5.8	7.3	5.2	6.8	7.2	7.3	7.1	6.5	6.0	6.5	6.5	5.1	5.8	6.0
Telo.	182	6.5	9.0	8.0	6.5	8.0	7.5	10.0	9.5	7.0	9.0	8.5	8.5	8.0	7.0	6.0	7.0	8.5	7.0	8.0	9.5	5.0	5.5	8.5	8.5	8.5
	183	8.0	4.5	5.0	6.0	7.5	11.5	8.0	6.0	6.5	11.0	8.0	9.5	10.0	6.0	5.5	5.5	10.0	8.5	11.5	12.5	11.0	8.0	10.5	10.0	9.5
	184	7.5	11.5	8.5	12.5	9.0	12.5	7.0	9.5	8.0	10.0	12.5	10.5	13.5	11.0	7.5	16.0	10.0	9.0	10.0	10.5	11.0	8.5	8.5	11.5	11.0
	185	11.0	14.0	10.0	11.5	8.5	12.0	7.5	9.0	8.5	8.0	10.5	6.5	11.5	8.0	12.0	11.0	14.5	10.5	9.5	11.0	7.5	11.5	11.0	12.5	12.5
	186	8.5	10.0	7.5	4.5	8.0	5.5	7.0	10.0	6.5	5.5	8.5	9.5	8.0	7.5	9.0	8.0	9.0	7.0	6.5	9.0	9.5	12.0	8.0	8.0	9.0
	Average	8.3	9.8	7.8	8.2	8.2	9.8	7.9	8.8	7.3	8.3	9.2	9.7	9.3	8.8	7.4	9.5	9.4	9.5	9.1	9.9	10.4	8.2	8.8	9.8	10.2
Rec.	182	17.5	16.5	22.5	17.0	9.5	15.0	18.0	13.5	10.0	19.0	12.5	21.5	22.5	22.5	18.5	15.0	19.0	21.5	16.0	20.5	26.0	17.5	17.5	16.0	17.0
	183	20.0	12.5	16.5	17.5	19.5	20.0	19.0	24.5	18.0	26.0	21.5	31.5	23.0	16.0	23.0	18.0	16.0	26.5	19.5	19.0	16.0	23.5	18.0	25.0	17.0
	184	18.5	17.0	23.0	23.0	21.0	20.5	20.5	18.0	21.5	28.0	21.5	15.5	23.5	27.0	18.5	13.5	21.5	25.0	19.0	21.0	26.5	32.0	25.0	26.5	26.5
	185	21.5	12.0	10.0	10.0	15.5	16.0	15.5	15.5	22.5	30.5	18.0	19.0	19.5	21.5	22.5	23.0	19.0	13.0	24.5	22.5	17.0	20.0	27.5	27.5	13.0
	186	20.5	15.5	16.5	20.0	19.5	15.5	17.0	12.5	13.5	19.5	15.0	22.0	19.0	22.0	15.5	23.0	22.5	26.0	24.0	19.5	16.0	12.5	18.0	20.0	26.0
	Average	19.6	14.7	17.7	17.5	17.0	17.5	18.0	16.8	17.1	24.6	17.7	21.9	21.3	21.9	19.5	18.0	21.7	21.8	20.2	22.6	22.6	22.6	22.6	22.6	22.6

第3図 吉田肉腫細胞増殖進行模型図



全部が増加してゆくものとする、かゝる場合に、一世代の間の古いものから新しいものゝ順に下から上に配列し、時間の方向を横方向にとつて描いたのが第3圖に示す吉田肉腫細胞分裂増殖進行模型圖である。

この圖に於てMは分裂完了に要する時間、

Rは静止期の時間

T = M + Rで細胞の分裂週期に要する時間をあらわす。

今、時刻 Q₁-Q₁ を起點として分裂を開始した1個の細胞はM時間後には2個となり、更にT - M = R時間後には、再び分裂を開始し更にM時間後には4個となる。即ち今IのZoneよりII, III, IV, VのZoneの順に細胞数は倍増することになる。

斯る状態を數式で示せば時刻 Q₁-Q₁ に於ける總細胞數をn₀任意の時刻 t に於ける數をnとせば、

$$n = n_0 2^{\frac{t-t_0}{T}} \dots\dots\dots (1)$$

であらわされる。

2) 分裂係數の週期性

第3圖に於て時間 Q₁-Q₁ と P₂-P₂ 間に於ては、分裂細胞數は一定であつて、静止細胞數のみが増加するが、時間 P₂-P₂ と Q₂-Q₂ の間では反對に静止細胞數には變化なく分裂細胞のみが増加する。以上の關係を數式で示すと次のようになる。

i) 時間 Q₁-Q₁ と P₂-P₂ 間に於ては、今静止細胞數をx、分裂中の細胞數をy とすると、

静止細胞數の増加する速度は、

$$\frac{dx}{dt} = 2ay \dots\dots\dots (2)$$

(2)式の右邊は分裂中の細胞數yが分裂完了すれば2yの静止細胞數となる故、これに比例常數aを乗じたものである。

又同様に於て分裂中の細胞數の増加速度は、

$$\frac{dy}{dt} = 0 \dots\dots\dots (3)$$

となることは第3圖より明らかなことである。

總細胞數をnであらわせば、その増加速度は(2) + (3)より

$$\frac{dn}{dt} = 2ay \dots\dots\dots (4)$$

時刻 P₁-P₁ に於ける分裂中の細胞數を y₀、又總細胞數をn₀とすれば、

(3)式より

$$y = y_0 \dots\dots\dots (5)$$

(4)式より、n = 2ay₀t + n₀ …… (6)

Q₁-Q₁ より Q₂-Q₂ までの分裂週期の時間即ち t = T 經過すれば、總細胞數は丁度2倍になるから n = 2n₀ となり(6)式から、

$$a = \frac{1}{2m_0T}$$

となる。但しm₀を時刻 Q₁-Q₁ に於ける細胞分裂係數で m₀ = $\frac{y_0}{n_0}$ である。

$$\frac{(5)}{(6)} \text{より } \frac{y}{n} = m_{(t)} = \frac{m_0}{\frac{t}{T} + 1} \dots\dots\dots (7)$$

m_(t)は Q₁-Q₁ と P₂-P₂ 間の任意の時刻に於ける細胞分裂係數とする。

ii) 時間 P₂-P₂ と Q₂-Q₂ 間に於ては、分裂中の細胞數の増加速度は、

$$\frac{dy}{dt} = by \dots\dots\dots (8)$$

bは常數にして、この式の右邊 by は第3圖に於て時間 P₂-P₂ と Q₂-Q₂ 區間では、II Zoneの分裂中の細胞は漸時静止細胞になるため減少するので -by で、あらわされるも、III Zoneの細胞は漸時静止細胞より分裂期に入るため 2by となるため -by + 2by = by となるわけである。

(8)式を積分して時刻 Q₁-Q₁ に於ける分裂細

第3表 分裂係数に於ける実測値と計算値との比較
A comparative table of measured and calculated mitosen index.

Rat	No. 182		No. 183		No. 184		No. 185		No. 186	
(T) hour	17		15		17		17		15	
(M) min.	77.4		66.2		77.9		84.3		60.2	
time in a day	m.m.	c.m.	m.m.	c.m.	m.m.	c.m.	m.m.	c.m.	m.m.	c.m.
17	79.0	79.0
18	71.0	71.0	66.0	66.0	73.0	73.0	74.0	74.7	63.0	63.0
19	5.0	67.2	62.0	61.8	68.5	69.1	62.0	70.7	56.0	60.0
20	62.5	63.7	55.5	58.2	64.5	65.3	54.0	67.1	46.0	56.4
21	58.0	60.4	57.5	55.0	52.0	62.1	52.0	64.0	46.5	52.5
22	59.0	57.5	47.5	52.1	56.0	59.0	54.6	61.1	43.5	49.7
23	48.5	54.9	48.5	49.5	55.0	56.4	52.0	58.4	51.5	47.2
24	52.0	52.5	43.0	47.2	57.0	53.8	59.0	55.9	49.5	45.0
1	52.0	50.2	54.0	45.1	54.0	51.6	50.0	53.7	42.0	42.9
2	46.0	48.3	48.5	43.0	57.0	49.6	45.0	51.6	36.0	41.1
3	48.0	46.6	40.5	41.2	52.0	47.7	55.0	49.8	43.5	39.4
4	50.5	44.7	43.5	39.6	43.0	46.0	61.5	48.0	32.0	37.8
5	38.5	43.2	49.5	38.1	43.0	44.3	51.0	46.3	40.0	36.3
6	43.0	41.6	41.5	36.7	37.0	42.7	44.0	44.7	47.5	35.0
7	35.5	40.2	39.5	35.4	26.0	41.3	50.0	43.3	37.0	33.7
8	48.0	39.2	51.5	42.4	38.5	40.0	44.0	41.9	43.3	32.7
9	47.0	37.7	63.0	66.0	40.0	38.8	69.0	52.4	61.5	63.0
10	51.1	45.7	64.0	46.4	80.5	79.0
11	67.0	71.0	68.0	73.0
T-M	36.9	34.2	37.9	41.2	32.7

m.m.: measured mitosen index (6%)

c. m.: calculated mitosen index (%)

胞数を y_0 とすれば、これよりR時間後の時刻 P_2 - P_2 に於けるそれも y_0 であるから、

$$y = by_0t + y_0 \dots\dots\dots (9)$$

$t = M$ 時間後の Q_2 - Q_2 では $y = 2y_0$ となる

から $b = \frac{1}{M}$ となる。

又總細胞数 n は時刻 P_2 - P_2 を起點とすれば(6)式に於て t を $T-M+t$ と書きなおせば良いから、

$$n = 2ay_0(T-M+t) + n_0 \dots\dots\dots (10)$$

となる。

時刻 P_2 - P_2 と Q_2 - Q_2 間に於ける分裂係数を

とし(9)を行ひ、 a, b を代入すれば、

$$\frac{y}{n} = m_{(2)} = \frac{\left(\frac{t}{M} + 1\right)m_0}{\frac{1}{T}(T-M+t) + 1} \dots\dots\dots (11)$$

以上分裂係数 $m_{(1)}$ 、 $m_{(2)}$ を數式であらわした

が $m_{(1)}$ の(7)式は明かに双曲線の一部をあらわし $m_{(1)}$ は時間 t の函數で、時間 t が零より無限大まで増すに従つて $m_{(1)}$ は m_0 より單調に減少しながら漸近的に零に近づいて行くが、 $t = T$ のとき

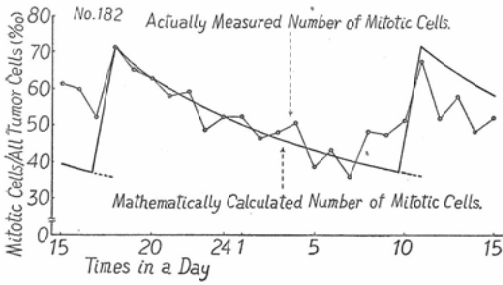
$$m_{(1)} = \frac{m_0}{2}$$

のときの半分となるも、實際には時刻 $t = T-M$ なる Q_2 - Q_2 より(11)式に従つて直線的に上昇し始めて、 M 時間経過すると分裂細胞数は最低値の約2倍、即ち時刻 Q_1 - Q_1 より、分裂週期 T 時間後には元の値に復する。以上を要約すると、細胞分裂係数 m は週期 T をもつて、鋸刀狀の波形で m_0 から約 $\frac{m_0}{2}$ 迄の間を上下する。

實測値と理論値との比較

細胞分裂係数の實測値と、(7)、(11)式よりの計算値とを比較すると、第3表に示す通りで、Rat 番號 182を例にとつて圖示したのが、第4圖

第 4 図



である。この兩者の成績を比較して見ると大体一致しているようである。但し第3表中に記載してある分裂完了に要する時間Mは後述する方法で求めたものである。

3) Wright⁽³⁾⁽²⁴⁾ の假説の不連続性

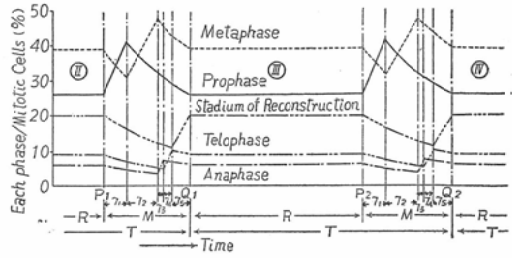
Wright (1925) は分裂細胞中の各期細胞数の百分率は分裂完了に要する各期の時間に正比例すると云う假説を提唱したが、理論的には、山の上昇部に於ては不連続性となる。第3圖に於て時刻 Q_1-Q_1 から P_2-P_2 の間では、Wright の假説は成立する。今分裂過程にある細胞S個について、分裂の各期、即ち(P)前期、(M)中期、(A)後期、(T)終期及び (R) 再建期に屬する細胞数を各々 $\nu_1, \nu_2, \nu_3, \nu_4$, 及び ν_5 とせば明かに分裂各期の時間 $\tau_1, \tau_2, \tau_3, \tau_4$ 及び τ_5 では、

$$\tau_1 : \tau_2 : \tau_3 : \tau_4 : \tau_5 = \frac{\nu_1}{s} : \frac{\nu_2}{s} : \frac{\nu_3}{s} : \frac{\nu_4}{s} : \frac{\nu_5}{s}$$

.....(12)

である。併し今時刻 P_2-P_2 と Q_2-Q_2 の間に於ては例えば時刻P-Pについてみると、このWright の假説は成立しない。何故なら前期及び

第5図 Wright の假説の不連続性の理論的推定図



中期に於ける細胞密度は後期、終期及び再建期に於ける細胞密度の2倍になっている故に分裂各期

に於ける百分率は、 $\frac{2\nu_1}{s} : \frac{2\nu_2}{s} : \frac{\nu_3}{s} : \frac{\nu_4}{s}$

: $\frac{\nu_5}{s}$ となり、 $\tau_1 : \tau_2 : \tau_3 : \tau_4 : \tau_5$ とはならない。即ち時刻 P_2-P_2 と Q_2-Q_2 の間に於ては不連続となる。これは週期TをもつてMなる巾を以つて現われ第5圖の如き推移をとる。即ち分裂各期の百分率は時刻 P_1-P_1 より分裂細胞の前期の増加が始まるため、他の各期細胞は核分裂週期の減少曲線と同様に双曲線に沿つて相対的に減少するも時間 τ_1 が経過すると前期の増加は停止し、中期が増加し始めるため他の各期は前と同様に相対的減少を行う。このようにして後期、終期及び再建期の増加が次々と進行して時刻 Q_1-Q_1 に於いては時刻 P_1-P_1 の分裂各期の百分率に復し、時刻 Q_1-Q_1 から P_2-P_2 の間では再びWright の假説が適用される。

尚この圖は5例の細胞分裂各期の平均値よりの理論的計算によつて圖示したもののだが、この實驗については困難にして實證し得なかつた。この

第4表 分裂各期に要する時間
Required times for each mitotic phase (minute)

Rat	Pro.	Meta.	Ana.	Telo.	Rec.	Mitotic times (M)
No. 182	22.6	30.7	4.9	6.2	13.0	77.4
No. 183	16.5	26.0	4.1	5.4	14.2	66.2
No. 184	18.1	30.0	5.3	8.1	16.4	77.9
No. 185	21.4	34.1	5.6	8.0	15.2	84.3
No. 186	17.3	23.5	3.6	4.7	11.1	60.2
Average	19.18	28.86	4.70	6.48	13.18	73.2

第 5 表

t	n	m
0	n_0	$m_0 = \frac{S}{n_0}$
M	$n_M = n_0 + S = n_0 \left(1 + \frac{S}{n_0}\right) = n_0(1 + m_0)$	$m_M = \frac{S}{n_0 + S}$
2 M	$n_{2M} = n_0 + 2S = n_M \left(1 + \frac{S}{n_0 + S}\right) = n_M(1 + m_M)$	$m_{2M} = \frac{S}{n_0 + 2S}$
T-M	$n_{T-M} = n_0 + (T-M)S = n_{T-2M}(1 + m_{T-2M})$	$m_{T-M} = \frac{S}{n_0 + (T-M)S}$
T	$n_T = n_0 + TS = n_{T-M}(1 + m_{T-M}) = 2 n_0$	$m_T = \frac{2S}{2n_0} = m_0$
T+M	$n_{T+M} = 2(n_0 + S) = 2n_0(1 + m_0)$	$m_{T+M} = \frac{2S}{2n_0 + 2S} = m_M$
T+2M	$n_{T+2M} = 2(n_0 + 2S) = n_{T+M}(1 + m_1)$	$m_{T+2M} = \frac{2S}{2n_0 + 4S} = m_{2M}$
2 T-M	$n_{2T-M} = 2 \{n_0 + 2(T-M)S\} = n_{2T-2M}(1 + m_{2T-2M})$	$m_{2T-M} = m_{T-M}$
2 T	$n_{2T} = 2(n_0 + TS) = n_{2T-M}(1 + m_{2T-M}) = 4 n_0$	$m_{2T} = m_0$

Wright の假説に従つて實測値より計算した分裂各期に要する時間は第4表の通りで、時間の長い phase から列記すると、中期、前期、再建期、終期及び末期の順で、これに要する時間は大体 29, 19, 14, 6 及び 5 分である。

4) 分裂係数による増殖式

第3圖に於て、時刻 0 (Q_1-Q_1) を起點として時刻 M, 2 M, 3 M …… T-M (P_2-P_2), T (Q_2-Q_2) 更に T+M, T+2 M …… 2 T の各時刻に於ける分裂過程の細胞數 S と n との比 m, 即ち分裂係数を求めると第5表の如くなる。

第5表より

一世代内に於ては、

$$n = n_0(1+m_0)(1+m_M) \frac{1}{M} (t-t_0-rM) \dots (13)$$

$$(1+m_{2M}) \dots (1+m_{r-1})$$

但し $rM < t-t_0 < (r+1)M$
且つ $t-t_0 < T$

二世代内に於ては、

$$n = 2 n_0(1+m_0)(1+m_M)(1+m_{2M}) \frac{1}{M} (t-t_0-T-rM) \dots (14)$$

$$\dots (1+m_{r-1})(1+m_r) \dots$$

但し $T < t-t_0 < 2T$

三世代にわたる場合も同様にして求めうる。

(13) 式の兩邊について對數をとれば、

$$\log n = \log n_0 + \log(1+m_0) + \log(1+m_M) + \log(1+m_{2M}) + \dots + \log(1+m_{r-1}) + \frac{1}{M} (t-t_0-rM) \log(1+m_r)$$

この式で $M \ll T$ の場合即ち 1 に對し m が非常に小さい時は、

$$\log n \doteq \log n_0 + \frac{t-t_0}{M} \log(1+m_m)$$

$\frac{t-t_0}{M}$ は時間 $t-t_0$ の間に分裂完了に要する時間 M が幾つあるか、即ち $\log(1+m_0)$,

$\log(1+m_M), \log(1+m_{2M}) \dots$ の數を示すものである。

前式を書き改めると、

$$n \doteq n_0(1+m_m) \frac{t-t_0}{M} \dots (15)$$

であらわしうる。

この際 m_m は1週期間の m_0, m_M, m_{2M}
 m_r の算術平均値であるが、理論的には (7), (11)
 式より次のように求められる。

$$m_m = \frac{\int_0^{T-M} \frac{m_0}{\frac{t}{T} + 1} dt + \int_0^M \frac{(\frac{t}{M} + 1)^{m_0}}{\frac{1}{T}(T-M+t) + 1} dt}{T}$$

(注：分子第2項の \int_0^M は \int_{T-M}^T と時間的に等しい)。

(15) 式を用いた場合の理論的誤差Eは
 (13) - (15) より

$$E = m_0 m_M + m_0 m_{2M} + m_0 m_{3M} + \dots + m_0 m_{T-M} \\
 + m_M m_{2M} + m_M m_{3M} + \dots + m_M m_{T-M} \\
 + m_{2M} m_{3M} + \dots + m_{2M} m_{T-M} \\
 \dots \\
 m_{T-3M} m_{T-2M} + m_{T-3M} m_{T-M} \\
 + m_{T-2M} m_{T-3M} + \dots \\
 - p C_2 m_m^2 \dots \dots \dots (17)$$

であらわされる。
 佐藤, 熱見⁷⁾ 氏等の式

$$Q = P \left(1 + \frac{A+B}{2} \right) \frac{24}{M} \dots \dots \dots (18)$$

(18) 式でP, Q及びA, Bは各々24時間前後
 の総細胞数及び分裂係数を示す。

尙 (18) 式は (15) 式に相当する式であつて、
 $\frac{A+B}{2}$ なる実測値が理論的 m_m にどれだけ近く
 測定されるかに依つて左右されることになる。

又第3表の Rat No. 182のT=17時間, M=77
 .4分と云う値を正しいとして (17) 式より誤差E
 が、大体どの程度になるか数値計算してみた結果
 略々 10^{-3} の order になる。故に理論的には(15)
 式を用いてよいことがわかる。又実測値が相当細
 かくとつてあれば、佐藤, 熱見氏等の (18) 式を
 用いても差支えないことになる。

5) 分裂係数の平均値によつて、 $\frac{M}{T}$ の値を
 求める方法

$$n = n_0 2^{\frac{t-t_0}{T}} \dots \dots \dots (1)$$

$$n = n_0 (1 + m_m)^{\frac{t-t_0}{M}} \dots \dots \dots (15)$$

(1)=(15) として log をとると
 $\frac{M}{T} = \frac{\log(1 + m_m)}{\log 2} \dots \dots \dots (19)$

$m_m \ll 1$ なる故

$$\frac{M}{T} \doteq \frac{m_m}{\log 2} \dots \dots \dots (20)$$

従つて若し前述の方法で、Tが測定されるなら
 ば、(20) 式よりMも求まる。或は他の方法でM
 が実測されれば、Tが求まる。牟田, 岡田⁹⁾ (1954)
 は Widner¹⁰⁾¹¹⁾ と同様にX線照射により分裂細
 胞数の減少消滅する時間からMを求め、しかる後
 に (19) 式と同一の式を導いている。或は分裂係
 数 m の測定と共に総細胞数 n を数えれば佐藤, 熱
 見の式 (18) よりMが求まる。従つて (20) 式よ
 りTが求める。此等の方法によりT及びMを検討
 することが出来る。

この (20) 式を用いて、前に測定したT及び m_m
 より分裂完了に要する時間を計算すると、第6表
 に示す通りで5例の平均値は73.2分である。尙こ
 の表の m_m は各々 m_0 の極大値より T-M時まで
 の算術平均値である。

第 6 表
 分裂週期 (T), 分裂係数 (m_m) より
 求めた分裂完了に要する時間
 Mathematically Estimated Time of Mitosis.

	Mitotic Cycle(T) (hour)	m_m (%)	Mitotic Time(M) (minute)
No. 182	17	52.36	77.4
No. 183	15	50.72	66.2
No. 184	17	52.64	77.9
No. 185	17	57.00	84.3
No. 186	15	46.16	60.2
Average	16.2	51.78	73.2

IV. 総 括

本実験に於てはRat 5 匹に、吉田肉腫腹水細胞
 約 800万個を、移植後55時間目より、1時間毎に
 24時間に互り標本を採取し、ギームザ染色にて細
 胞 2,000 個中の分裂細胞数を数え、又分裂細胞
 200個から分裂各期細胞の百分率を算出した。吉
 田肉腫細胞増殖進行模型圖を基礎とした理論的計
 算値と、比較検討した結果、次の如き成績を得
 た。

1) 核分裂数は波状消長を示し、16時間前後の間隔で山が認められた。これは諸先輩の核分裂完了に要する時間及び一定時間前後の細胞数等より算出した。細胞分裂週期時間と略々一致する。

2) 理論的に算出した波状消長の形状即ち核分裂係数の増減は、双曲線に沿つて m_0 より約 $\frac{m_0}{2}$

迄の間を周期 T を以つて上下する。實測値も略々一致した成績が得られた。

3) 細胞分裂の各期の分裂に要する總ての時間の部分は、總ての Phase に於いて見られる細胞数に対する。その Phase の発見される細胞の数の割合に等しいと云う。Wright の假説は、細胞分裂週期の上昇部では理論的に不連続となる。

4) 實測された5例の平均では、核分裂周期 $T=16.2$ 時間、その間に於ける分裂係数の算術平均値 $m_m=51.78\%$ でこれより求めた細胞分裂完了に要する時間は $M=73.2$ 分であつた。

5) Wright の假説より算出した。分裂各期に要する時間は5例の平均値で、大体前期19、中期29、後期5、終期6及び再建期14分であつた。

V 考 按

1) 實驗方法について

核分裂數日週期の研究に於て報告されている。標本採取時間間隔は短かい方で3時間及び2時間である。吉田肉腫の有絲分裂完了に要する時間は、諸先輩の報告に依ると50~140分程度の中を持つてはいるが、70分前後と云う報告が割合に多いため、余は標本採取の時間的間隔は、1回の分裂経過中に1回は採取出来る様に60分と云う時間を書いた故、割合に誤差の少ない成績が得られたものと思う。

2) 分裂係数の週期性について

核分裂細胞の波状消長の原因については、先づ第1にその生活環境の影響による新陳代謝の變化が考えられる。植物の様に晝と夜との環境の下では著しく變化するもので、已に述べた Jüngling 及び Langendorff¹⁾ のソラマメの實驗の如く、

當然波状消長があるものと考えられる。これに反し動物、就中哺乳動物では、その生理環境は植物に比較するならば、温度は略々一定にして、又栄養も著變なきものと思われる。その上、吉田腹水肉腫は、その哺乳動物の寄生細胞である故、なお一層安定状態にあるものと思われる。その細胞が増殖潜伏期²⁵⁾²⁶⁾を除いた初期の状態では、細菌等の増殖と同様に指數函数的¹⁸⁾¹⁹⁾に増加する故晝間と夜間の増殖率が異ると云うことは考えられない。斯様な點から考察した場合、移植された細胞数が指數函数的に順調に増殖しているとき、その数が數千万個ある場合には、一世代間の總ての状態が均等な割合で分布していると假定しても無理ではないであらう。かゝる理由に立脚して作製したのが吉田肉腫細胞増殖進行模型圖で、この圖を基本とした理論的計算値と實測値が略々一致する結果を得たことは、吉田肉腫に於いても波状消長を有することを、證據づけたものであると共に、これが波状消長を起す1つの原因と考えられる。

然しながら、吉田肉腫細胞1個を移植した、佐藤¹²⁾の實驗に於て、同一環境條件で同一速度で分裂増殖するならば、個々の細胞の各期は同一 phase に揃つていなければならないことになるが、斯様な事實は報告されていないことになるが、斯様な事實は報告されていない。尙おその上に面白いことには、細胞の染色体が同一數でなければならないが、そうではなく42個を最大頻度として29個より102個まで廣範囲に分布しておつて、その中の82%は36個より50個(±19%以内)の中にあつた。かゝる事實を考え合せると、細胞分裂週期も染色体數と同様に成る程度の中を以つて世代を繰返すならば各期細胞は一樣に分布し、なおその上少くとも80%の細胞數は±20%の範圍内で、分裂増殖すると推定されるから、前述の實測成績は次のようになる。吉田腹水肉腫移植後5日目の腫瘍細胞約800万個を移植した場合55時間目の成績で、分裂完了に要する時間は58.6~87.8分、細胞分裂週期は13.0~19.4時間の範圍内にあると推定される。

3) 分裂完了に要する時間と細胞分裂週期について

分裂時間の測定については、数多くの報告がある。その測定方法を大別してみると、次のように分類される。

i) 直接観察する方法としては多くは *in vitro* で、位相差顕微鏡⁷⁾¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾ 等で観察している。

ii) 適度のレ線照射¹⁰⁾¹¹⁾⁹⁾⁶⁾ により、核分裂像の消失する迄の時間から算出する方法。

iii) レ線照射の變りにナイトロジェンマスタード¹¹⁾等の細胞毒薬物¹⁷⁾を用いて、ii)と同様にして求むる方法。

iv) 一定時間の前後に於ける細胞數⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾及び体積²⁰⁾²¹⁾²²⁾²³⁾²⁴⁾の増加と分裂係數とより求める方法。

v) 余の行った細胞分裂週期と分裂係數とより求める方法。

以上述べた種々の方法で測定されているが、吉田肉腫での分裂完了に要する時間は廣野¹³⁾ (1950), 牧野, 中原¹⁴⁾ (1952), 佐藤, 熱海⁷⁾ (1952), 小原¹⁵⁾ (1955) の *in vitro* の直接観察では50~140分の範囲にある。又佐藤, 熱海⁷⁾ は一定時間前後の細胞増加と分裂係數とより、分裂完了に要する時間を65分、分裂週期を16時間と報告し、牟田, 岡田⁹⁾ は、レ線照射に依る方法で、分裂時間40~80分、分裂週期を16~44時間と推定している。余の測定せる移植後55時間目の成績では、前述の如く分裂時間及び分裂周期は各々73.2分及び16.2時間で諸先輩⁷⁾¹³⁾¹⁹⁾ の成績と大体一致している。

分裂時間及び分裂週期はお互に獨立的なものではなく、密接に關連性をもつものであつて、移植後の細胞増殖潜伏期を経過後は最も細胞増殖旺盛にして、分裂時間及び分裂週期は共に短かく、その後は漸時長くなつて來ると云うことは Klein 及び Revesy¹⁹⁾ の指摘するところで、Ehrlich の腹水肉腫を用いての實驗で、腫瘍細胞 17.5×10^6 個移植後13時間では、分裂完了に要する時間は34.2分、分裂週期は12.6時間であるが、140時間後に

は41.7分及び92時間と時間がのびている。それ故に吉田肉腫でも、その測定値は、腫瘍細胞何個移植して、何時間目の成績でと云う實驗條件を記載する必要がある。

VI) 結 論

現在尙おいろいろと異見のある吉田肉腫の核分裂數日週期について實驗を行い、その實驗成績を吉田肉腫細胞増殖進行模型図を基礎とした理論的計算値とを比較検討した結果、吉田肉腫にも核分裂數日週期のあることを認め、この理論的な考え方が核分裂日週期の起る1つの原因と考えられる。更にその日週期より分裂完了に要する時間並に分裂各期に要する時間を算出し、諸先輩の成績と略々一致する成績を得た。以上を要約すると次の如くである。

i) 吉田肉腫の核分裂數は双曲線に沿うて m_0 から約 $\frac{m_0}{2}$ 迄の間を細胞分裂週期 T をもつて上下する。

ii) その細胞分裂週期 T は腫瘍細胞 800万個移植後55時間の實驗では16時間前後であつた。又分裂完了に要する時間は70分前後であつて且つ分裂各期に要する時間は大体、前期19分、中期29分、後期5分、終期6分及び再建期14分であつた。

iii) Wright の假説は核分裂週期の上昇部に於ては不連続になるものと推察される。

VII) 文 献

- 1) Jüngling, O. und Langendorff, H.: Über die Wirkung verschieden hoher Röntgendosen auf den Kernteilungsablauf bei *vicia faba equina*. Strahlentherapie 1930, 38, 1~10. — 2) Langendorff, H.: Über die Wirkung einzeitig verabreichter Röntgen dosen auf den rhythmischen verlauf der Spermatogonienteilungen im Mäuscheden. Strahlen therapie 1936, 55, 58~76. — 3) 川村徳彌: 吉田肉腫々瘍細胞の1日中における分裂頻度の調査, 科学, 1952, 22, 217~218. — 4) 牟田信義: 吉田肉腫に対する放射線の作用 (第1報), 日医放誌, 1950, 10, 30~55. — 5) 草住隆治郎: 吉田肉腫の累代移植に及ぼすX線の影響 (第1報), 日医放誌, 1953, 13, 574. — 6) 小野武敏: 吉田肉腫による放射線生物学的間接作用の研究(I) 日医放誌, 1952, 12-5, 6~10. — 7) Sato, H., Atsumi, A and Hamamura, K.: Time

necessary for the completion of a mitosis in the Yoshida sarcoma cell (mathematically estimated uolue and actually measured volue). Gann 1952, 43, 303~306. — 8) Wright, G.P.: The relative duration of the various phases of mitosis in chick fibroblasts cultivated in Vitro. J. roy. micro. soc. 1925, 45, 414~417. — 9) 岡田重文: 牟田信義: 吉田肉腫の核分裂時間並びに分裂週期の推定. 日医放誌, 1954, 14, 79. — 88) Knowlton, N.P. and Widner, W.R.: The use of x-ray to determine the mitotic and intermitotic of various mause tissues. Cancer Res. 1950, 10, 59~63. — 11) Widner, W.R. Storer, J.B. and Lushbough, C.C.: The use of x-ray and nitrogen mustard to determine the mitotic and intermitotic times in normal and malignant rat tissues. Cancer Res. 1951, 11, 877~884. — 12) Sato, H.: On the chromosomes of Yoshida sarcoma studies with tumor cells proliferated in the peritoneal cavity of the rat. transplanted with a single cell Gann 1952, 43, 1~16. — 13) 広野巖: 吉田肉腫細胞の分裂知見増補, 癌, 1950, 41, 201~203. — 14) 牧野佐二郎, 中原晴, ラッテ腹水肉腫における腫瘍細胞の分裂に関する生体観察, 癌, 1952, 43, 302. — 15) 小原準之輔: 吉田肉腫腹水細胞の有糸分裂経過並びにそれに及ぼすX線の影響(位相差顕微鏡による観察), 日医放誌. 1955, 15, 624~660. — 16) Lasnitzki, I.: A quantitative analysis of the effect of gamma radiation on malignant cells in vitro and in vivo Brit. J. Radiol. 1945, 18, 214~220. — 17) 白崎敬志; 吉田肉腫に及ぼす諸種薬物の影響について, 医学と生物学, 1951, 21, 230. — 18) Patt, H.M and Blackford, M.E.: Quantitative studies of the growth response of

the krebs ascitis tumor. Camer Res. 1954, 14 391~361. — 19) Klein, G and Révész L.: Quantitative studies on the multiplication of neoplastic cells in vivo, I growth curve of the Ehrlich and MCIM ascites tumors. J. Nat. Cancer. inst. 1953, 14, 229~272. — 20) Lucké, B and Berwick, M.: Quantitative relation between growth of Ehrlich ascitis tumor and reduction of liver catalase activity. J. Nat. Cancer. inst. 1954, 15, 99~112. — 21) Mayneord, W.V.: On a low of growth of Jensen's rat sarcoma. Am. J. Cancer 1932, 16, 841~846. — 22) Sehrek, R.: Quantitative study of the growth of the Walker rat tumor and the Flexner-Jobling rat carcinoma. Am. J. concer. 1935, 24, 807~822. — 23) Schrek, R.: The effect of the size of inoculun on the growth of transplantable rat tumors. Am, J. Cancer 19 36, 28, 364~371. — 24) Hoffman, J. G.: Wright's hypothesis: Its relation to volume growth of tissue cells and mitotic indcx. Scie nce 1947, 106, 343~344. — 25) Reinhard M.C., Goltz, H.L and Warner, S.G.: Further studies on the quantitative detamination of the growth of a transplantable Mouse adenocarcinoma, Cancer Res. 1945, 5, 102~160. — 26) Chensey, A.M.: The letant period in the growth of bacteria. J. Experi. Med. 1916, 24, 387~418. — 27) Emerson, S.: The growth phose. in Neurospora corresponding to the logarethmic phase in unicellular argonismus. J. Bact. 1950, 60, 221~223. — 28) Winslow, C.E.A and Walker, H.H.: The earlier Phases of the bacterial culture Cycle. Bact. Rev. 1939, 3, 147~186.

本論の要旨は第14回日本医学放射線学会総会(昭和30年4月)に於て発表した。

On the length of the mitotic cycle of YOSHIDA'S sarcoma.

By

Kenji Matsumoto

From the Department of Radiology, Faculty of
Medicine Tohoku University, Sendai.

(Director Prof. Y. Koga)

Upon experimenting on the length of the mitotic cycle of YOSHIDA'S sarcoma on which opinions are as yet divided and studying in comparison the results of the experiment and the theoretic values calculated on the basis of the schema of progress of cellular proliferation of the sarcoma, a diurnal cycle was found to exist in the number of nuclear mitosis of the sarcoma cells. From such a theoretic reasoning, one of the causes of such

a periodicity in the mitosis seems to be deduceable. Further, upon computing the length of time required for completing a round of mitosis and of the different stages of the mitosis, we obtained results in approximate agreement with past reports. The results were in summary as follows:

1. The number of mitosis going on in a YOSHIDA'S sarcoma rises and falls describing hyperbolae between the levels m_0 and ca. $\frac{1}{2} m_0$ following the mitotic cycle T.
 2. In an experiment made 55 hours after transplantation of about 800 millions of sarcoma cells, the mitotic cycle was found to last around 16 hours. The time required for a mitosis to complete was about 70 min., broken down into 19 min. of prophase, 29 min. of metaphase, 5 min. of anaphase, 6 min. of telophase and 14 min. of rebuilding phase.
 3. The WRIGHT's hypothesis seems to involve a break in the rising phase of the mitotic cycle.
-