



Title	放射線慢性障害発症機序に関する定量的研究-マウス横紋筋組織を用いて-
Author(s)	前原, 康延
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1985, 45(12), p. 1548-1557
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/15066">https://hdl.handle.net/11094/15066</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

## 放射線慢性障害発症機序に関する定量的研究

### —マウス横紋筋組織を用いて—

群馬大学医学部放射線医学教室（主任：永井輝夫教授）

前 原 康 延

（昭和60年7月30日受付特別掲載）

（昭和60年10月28日最終原稿受付）

## A Quantitative Study of Chronic Radiation Injury on Striated Muscle of Mice

Yasunobu Maehara

Department of Radiology, Gunma University School of Medicine, Maebashi, Japan

(Director: Prof. Teruo Nagai)

---

Research Code No. : 404

---

Key Words : *Chronic radiation injury, Vascular volume,  
Vascular permeability, <sup>201</sup>Tl-extraction, Striated  
muscle*

---

Chronic radiation injury on striated muscle of mice was quantitatively studied by radiotracers, <sup>99m</sup>Tc-red blood cell (<sup>99m</sup>Tc-RBC), <sup>99m</sup>Tc-human serum albumin (<sup>99m</sup>Tc-HSA) and <sup>201</sup>Tl-chloride.

Left lower extremity of each mouse was locally irradiated with 3,000 R.

Microscopic examinations revealed histological changes indicating chronic radiation injury on the 112th day after irradiation.

Vascular volume measured by <sup>99m</sup>Tc-RBC was increased even on the 1st day and reached a peak on the 14th day. The mean vascular volume reached a second peak on the 112th day.

Vascular permeability to HSA increased even on the 1st day and showed also a biphasic response to reach the highest second peak on the 112th day.

<sup>201</sup>Tc-extraction ratio was low on the 3rd and 7th days. This result in combination with increased vascular volume may indicate the presence of direct muscular injury on early days after irradiation. <sup>201</sup>Tl-extraction ratio became lower again on the 56th and 112th days accompanying with an increased vascular volume.

Thus, these hemodynamic indicators could be useful means for detection of chronic radiation injury on irradiated muscle.

### I. 緒 言

悪性腫瘍の放射線治療上問題となる<sup>1)</sup>正常組織の放射線障害は、急性障害と慢性障害とに大別される。このうち、慢性障害は、神経細胞や筋細胞などの fixed postmitotic cell<sup>2)</sup>からなる非細胞再生系<sup>3)</sup>を含め全ての正常組織に認められる障害

で、放射線治療終了後数カ月ないし数年経過して臨床的に発症し、多くは不可逆性の障害であるとされている。したがって、正常組織の慢性障害を引き起こす線量すなわち正常組織の耐容線量<sup>4)(5)</sup>は、悪性腫瘍の放射線治療の照射線量を規定する重要な因子のひとつである。

慢性障害の認められる組織では、実質細胞の変性、萎縮、間質の線維化、血管壁の肥厚や血管腔の閉塞などの多彩な変化が認められる。このうち、血管内皮細胞の腫大や増殖、血管壁の肥厚、血管腔の閉塞などの多彩な血管系の変化と間質の線維増生とによって引き起こされる局所微小循環不全が、慢性障害の発症に重要な役割りを果たしていると考えられている<sup>2)3)6)~8)</sup>。

放射線慢性障害発症に至るまでの血管系や実質細胞の変化を経時的、定量的に検討することは、慢性障害軽減の可能性や、放射線と抗癌剤や加温療法との併用効果を検討するために必要である。しかし、実質細胞の放射線感受性が高い組織では、実質細胞と血管系の両者に対する照射の影響が互いに強く影響し合い、両者を区別して検討することは困難である。そこで、実質細胞の放射線感受性の低い<sup>4)5)</sup>マウス横紋筋組織について、ラジオアイソトープを用いて定量的実験的研究を施行した。

## II. 研究方法

### 1. 実験動物

生後8週齢ないし10週齢のdd系雄性マウスを用いた。

### 2. 照射装置ならびに照射方法

マウス体重(g)あたり0.05mgのペントバルビタールを腹腔内投与した後に背臥位で固定し、左下肢以外は3mm厚の鉛板で完全に遮蔽し、左下肢のみに $5.16 \times 10^{-1} \text{C/kg}$ (2,000R、以下2,000Rとする)ないし $7.74 \times 10^{-1} \text{C/kg}$ (3,000R、以下3,000Rとする)の照射を施行した。照射装置は、180kV慣用X線装置(東芝)を用いた。照射条件は180kV、25mA、SSD 40cmで、0.5mmAl+1.0mmCuのフィルターを用いた。半過層は、1.1mmCuであった。線量率は、 $5.074 \times 10^{-4} \text{C/kg} \cdot \text{s}$ (118R/分)であった。

### 3. 横紋筋組織の放射線慢性障害発症の組織学的確認と横紋筋組織含水量の測定

#### (1) 放射線慢性障害の組織学的確認

左下肢に3,000R照射後1, 3, 7, 14, 28, 56, 112日経過したマウスを断頭屠殺し、左右大腿筋組織をホルマリン固定し、HE染色を施して光顕的

に検討した。また、照射後56日、112日のマウスでは、マロリー染色も施して光顕的に放射線慢性障害が認められるか否か検討した。

#### (2) 横紋筋組織含水量の測定

左下肢に3,000R照射後56日および112日経過したマウスを断頭屠殺し、左右大腿筋組織のみを取り出し、ただちに、それぞれの湿重量(g)を測定した。ついで、真空凍結乾燥装置(宮川科学)で $80 \times 10^{-3} \text{Torr}$ の条件で1週間凍結乾燥した後に、乾燥重量(g)を測定した。湿重量と乾燥重量から、筋組織の含水率を次式にしたがって求めた。

$$\text{筋組織の含水率} = \frac{\text{湿重量(g)} - \text{乾燥重量(g)}}{\text{湿重量(g)}}$$

ついで総含水量の変化(total water ratio、以下TWR)を次式にしたがって求め、横紋筋組織の含水量を相対的に測定した。

$$\text{TWR} = \frac{\text{照射側筋組織の含水率}}{\text{非照射側筋組織の含水率}}$$

統計的検討は、two sample rank test(U test)<sup>9)10)</sup>によった。

### 4. ラジオアイソトープを用いた横紋筋組織の照射効果の経時的定量的検討

#### (1) トレーサー

トレーサーとしては、 $^{99m}\text{Tc}$ -赤血球( $^{99m}\text{Tc}$ -red blood cell、以下 $^{99m}\text{Tc}$ -RBC)、 $^{99m}\text{Tc}$ -ヒト血清アルブミン( $^{99m}\text{Tc}$ -human serum albumin、以下 $^{99m}\text{Tc}$ -HSA)、塩化タリウム-Tl201( $^{201}\text{Tl}$ -chloride、以下 $^{201}\text{Tl}$ )を用いた。

$^{99m}\text{Tc}$ -RBCは、Pavel<sup>11)</sup>、Hamilton<sup>12)</sup>らのin vivo標識法にしたがって作成した。すなわち、塩化第1スズ・2水塩4mgを含むテクネピロリン酸キット(第1ラジオアイソトープ研究所)を生理食塩水5mlで溶解し、マウスあたり0.2mlを尾静脈から静注した。ついで30分後に、ダイナテック(ダイナボット・ラジオアイソトープ研究所)あるいはウルトラテクネカウ(第1ラジオアイソトープ研究所)から得られた $3.7 \times 10^8 \text{Bq}/\text{ml}$ (10mCi/ml、以下10mCi/mlとする)の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 0.2mlを尾静脈から静注し、in vivoで $^{99m}\text{Tc}$ -RBCを作成した。ついで30分後にマウスを断頭屠殺して採血し、ヘパリン加生理食塩水で希釈し、 $3.7 \times 10^6 \text{Bq}/$

ml (100 $\mu$ Ci/ml, 以下100 $\mu$ Ci/mlとする)の<sup>99m</sup>Tc-RBC注射液を作製し、ただちに実験に用いた。

<sup>99m</sup>Tc-HSAは、テクネアルブミンキット(第1ラジオアイソトープ研究所)に<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>を加えて作成した。ついで生理食塩水で希釈し、100 $\mu$ Ci/mlの<sup>99m</sup>Tc-HSA注射液を作成し、ただちに実験に用いた。

<sup>201</sup>Tlは、塩化タリウム-Tl201注射液(第1ラジオアイソトープ研究所)を生理食塩水で希釈し、100 $\mu$ Ci/mlの<sup>201</sup>Tl注射液を作成し、実験に用いた。

(2) <sup>99m</sup>Tc-RBC, <sup>99m</sup>Tc-HSAの被験マウス体内における安定性の確認

dd系マウス間の血液を混和しても凝集反応が起こらないことを確認した後に、100 $\mu$ Ci/mlの<sup>99m</sup>Tc-RBC注射液0.2mlを、非照射マウス尾静脈から静注した。静注1時間後に断頭屠殺して採血し、ペーパークロマトグラフィーにて血液中の遊離および結合<sup>99m</sup>Tc量を測定した。2×40cmの展開漉紙、85%メタノールの展開溶媒を用いた。静注1時間後の非照射マウス血液中では、93%が<sup>99m</sup>Tc-RBCとして存在していた。同様にして、100 $\mu$ Ci/mlの<sup>99m</sup>Tc-HSA注射液0.2mlを尾静脈から静注し、血液中の安定性をペーパークロマトグラフィーを用いて検討した。静注後30分、2時間では、それぞれ99%, 93%が<sup>99m</sup>Tc-HSAとして存在していた。これらの成績は、従来の報告<sup>11)~13)</sup>とほぼ同様であり、<sup>99m</sup>Tc-RBC, <sup>99m</sup>Tc-HSAは、共にマウス体内で安定して存在していることが確認された。

(3) <sup>99m</sup>Tc-RBCを用いたvascular volume ratio(VVR), <sup>99m</sup>Tc-HSAを用いたHSA-distribution space ratio(HSA-DSR), <sup>201</sup>Tlを用いた<sup>201</sup>Tl-extraction ratio(<sup>201</sup>Tl-ER)の経時的検討

左下肢のみに照射後、1日から112日経過したマウスを3群に分け、それぞれ、各トレーサーを尾静脈から無麻酔下に静注した。静注30分後(<sup>99m</sup>Tc-RBC, <sup>99m</sup>Tc-HSA, <sup>201</sup>Tl静注群)ないし2時間後(<sup>99m</sup>Tc-HSA静注群)にマウスを断頭屠殺し、ただちに左右大腿筋組織のみを取り出し、それぞれの湿重量を測定した。その後ただちに、筋組織の放

射能(cpm)をオートウェルガンマシシステムARC-221(アロカ)を用いて測定した。

ついで、照射による筋組織単位重量あたりの組織内トレーサー量の変化を次式にしたがって求めた。

筋組織単位重量あたりのトレーサー量の変化

$$= \frac{\text{照射側筋組織単位重量あたりの放射能}(cpm/g)}{\text{非照射側筋組織単位重量あたりの放射能}(cpm/g)}$$

照射によるトレーサー量の変化を、(a) <sup>99m</sup>Tc-RBC静注群ではvascular volume ratio(以下VVR), (b) <sup>99m</sup>Tc-HSA静注群ではHSA-distribution space ratio(以下HSA-DSR), (c) <sup>201</sup>Tl静注群では<sup>201</sup>Tl-extraction ratio(以下<sup>201</sup>Tl-ER)とした。

統計学的検討は、two sample rank test(U test)<sup>9)10)</sup>によった。

### III. 結 果

#### 1. 横紋筋組織の放射線慢性障害発症の組織学的確認と横紋筋組織含水量の測定

##### (1) 放射線慢性障害発症の組織学的確認

局所に3,000R照射したマウス下肢では、脱毛や皮膚の萎縮などが認められたが、強度な湿性皮膚炎は認められなかった。照射後112日の筋組織では、間質の線維化、筋線維の軽度の萎縮、静脈の拡張などが、光顯的に明らかに認められた(Fig.

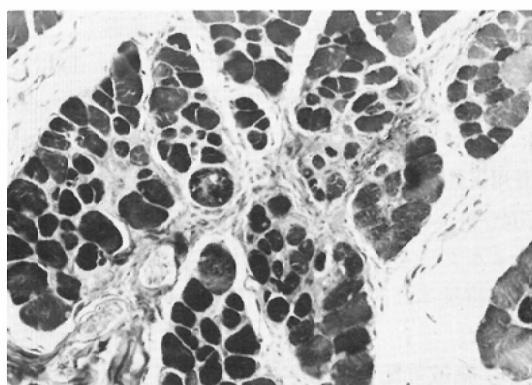


Fig. 1 Mouse striated muscle on the 112th day after irradiation with  $7.74 \times 10^{-1} \text{C/kg}$  (3,000R). Diffuse fibrosis is observed in the interstitial space. Varied myocytes representing atrophy are surrounded by diffuse fibrosis. Mallory's stain.  $\times 200$ .

1).

## (2) 横紋筋組織含水量の測定

3,000R 照射後56日および112日経過したマウス筋組織の total water ratio (TWR) は、それぞれ1.07, 1.11と非照射対照群と比較して高値であった(Table 1)。とくに照射後112日の TWR は有意 ( $p < 0.05$ ) に高値であり、筋組織含水量の増加が認められた。

## 2. 照射による vascular volume ratio (VVR), HSA-distribution space ratio (HSA-DSR) の経時的变化

## 1) VVR の経時的变化

$^{99m}$ Tc-RBC を用いて、3,000R 照射後の VVR の経時的变化について検討した (Table 2, Fig. 2)。

VVR は、照射後112日まで常に、非照射対照群に比較して高値 ( $p < 0.05$ ) であった。照射後1日すでに高値となり、照射後14日には1.68と明らかなピーク ( $p < 0.05$ ) が認められた。また、照射後56日、112日の VVR は、照射後1日のそれに

Table 1 Changes in total water ratio (TWR) in the irradiated muscle with  $7.74 \times 10^{-1} \text{C/kg}$  (3,000 R)

No. of mice	Days after irradiation		
	Control	56 days	112 days
TWR	1.01(0.06)	1.07(0.01)	1.11 <sup>a</sup> (0.006)

Total water (TW) is calculated as following formula:

$$TW = \frac{\text{wet weight(g)} - \text{dry weight(g)}}{\text{wet weight(g)}}$$

Total water ratio(TWR) is calculated as following formula:

$$TWR = \frac{TW \text{ in the irradiated muscle}}{TW \text{ in the non-irradiated contralateral muscle}}$$

TWR is presented as mean(unbiased variance).

Table 2 Changes in vascular volume ratio (VVR) in the irradiated muscle with  $7.74 \times 10^{-1} \text{C/kg}$  (3,000R)

No. of mice	Days after irradiation							
	Control	1	3	7	14	28	56	112
No. of mice	7	7	7	7	7	7	7	5
VVR	1.02 (0.007)	1.14 (0.008)	1.22 (0.034)	1.21 (0.050)	1.68 (0.183)	1.36 (0.094)	1.38 (0.060)	1.60 (0.152)

Vascular volume ratio (VVR) is calculated as following formula:

$$VVR = \frac{\text{Radioactivity of } ^{99m}\text{Tc-RBC in the irradiated muscle(cpm/g)}}{\text{Radioactivity of } ^{99m}\text{Tc-RBC in the non-irradiated contralateral muscle (cpm/g)}}$$

VVR is presented as mean(unbiased variance).

比較して高値 ( $p < 0.05$ ) であり、照射後112日の VVR は1.60と高値であった。すなわち、3,000R の局所照射により、VVR は明らかに高値となり、照射後14日にピークが認められ、さらに照射後56日、112日には再び漸増する傾向が認められた。

## (2) HSA-DSR の経時的变化

$^{99m}$ Tc-HSA を用いて、2,000R ないし3,000R 照射後の HSA-DSA の経時的变化について検討した。アルブミンの血管透過性が亢進すれば、HSA-DSR は、 $^{99m}$ Tc-HSA 静注後の時間の経過とともに、より高値になるものと考えられる。そこで、 $^{99m}$ Tc-HSA 静注後30分の HSA-DSR(30min)と静注後2時間の HSA-DSR(2hrs)について比較検討した。

3,000R 照射群では、HSA-DSR(30min)とHSA-DSR(2hrs)はともに、照射後112日まで常に非照射群と比較して高値 ( $p < 0.05$ ) であった (Table 3, Fig. 2)。また静注2時間後の HSA-DSR(2hrs)は、常に HSA-DSR(30min)よりも高値であった。

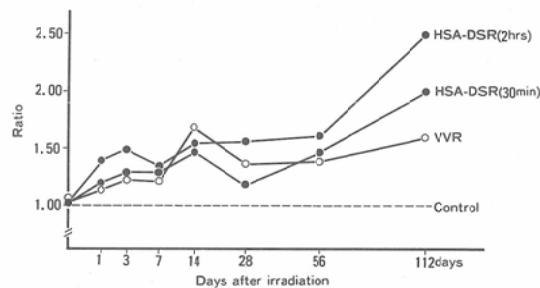


Fig. 2 Changes in VVR and HSA-DSR in the irradiated muscle with  $7.74 \times 10^{-1} \text{C/kg}$  (3,000R)

Table 3 Changes in HSA-distribution space ratio (HSA-DSA) in the irradiated muscle with  $7.74 \times 10^{-1} \text{C/kg}$  (3,000R)

No. of mice	Days after irradiation							
	Control	1	3	7	14	28	56	112
HSA-DSR (30min)	1.01 (0.011)	1.18 (0.009)	1.27 (0.026)	1.28 (0.039)	1.48 (0.034)	1.19 (0.020)	1.45 (0.039)	1.99 (0.432)
HSA-DSR (2hrs)	0.99 (0.003)	1.39 (0.030)	1.48 (0.043)	1.32 (0.059)	1.53 (0.052)	1.55 (0.102)	1.59 (0.041)	2.50 (0.630)

HSA-distribution space ratio(HSA-DSR) is calculated as following formula:

$$\text{HSA-DSR} = \frac{\text{Radioactivity of } ^{99m}\text{Tc-HSA in the irradiated muscle(cpm/g)}}{\text{Radioactivity of } ^{99m}\text{Tc-HSA in the non-irradiated contralateral muscle(cpm/g)}}$$

HSA-DSR is presented as mean(unbiased variance).

HSA-DSR(30min) indicates HSA-DSR at 30 minutes after intravenous  $^{99m}$ Tc-HSA administration and HSA-DSR(2hrs) indicates one at 2hours after administration.

とくに照射後1日、3日、112日では両者に有意差( $p<0.05$ )が認められた。また照射後56日、112日のHSA-DSR(2hrs)は、照射後1日のそれと比較して明らかに高値( $p<0.05$ )であった。とくに照射後112日のHSA-DSR(2hrs)は、最も高値( $p<0.05$ )であった。

$^{99m}$ Tc-RBCを用いたVVRを比較すると、照射後1日、3日、112日のHSA-DSR(2hrs)は明らかにVVRよりも高値( $p<0.05$ )であった。しかしVVRがピークを示した照射後14日のHSA-

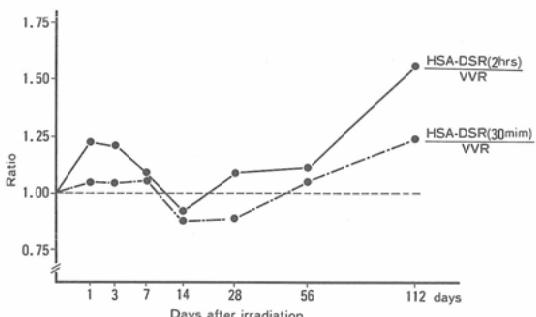


Fig. 3 Comparison between HSA-DSR and VVR in the irradiated muscle with  $7.74 \times 10^{-1}C/kg$  (3,000R)

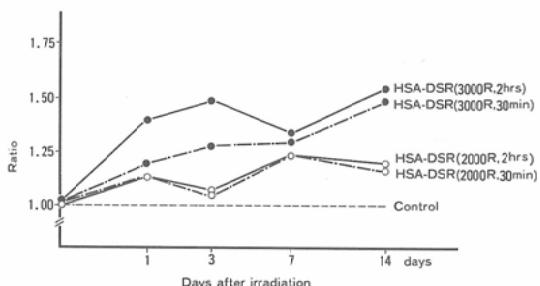


Fig. 4 Comparison between HSA-DSR (3,000R) and HSA-DSR (2,000R)

Table 4 Changes in HSA-distribution space ratio (HSA-DSR) in the irradiated muscle with  $5.16 \times 10^{-1}C/kg$  (2,000R)

	Control	1	3	7	14
No. of mice	7	11	5	7	5
HSA-DSR (30min)	1.01 (0.011)	1.13 (0.014)	1.05 (0.005)	1.23 (0.033)	1.17 (0.055)
No. of mice	7	7	5	7	5
HSA-DSR (2 hrs)	0.99 (0.003)	1.13 (0.013)	1.06 (0.003)	1.23 (0.020)	1.18 (0.023)

HSA-DSR is presented as mean (unbiased variance).

DSRは、統計学的差異は認められなかったものの、VVRよりも低値であった(Fig. 3)。

一方、2,000R照射群でも、HSA-DSRはともに、非照射群と比較して高値( $p<0.05$ )であった(Table 4, Fig. 4)。しかし、観察期間が14日間と短期間ではあったが、HSA-DSR(30min)とHSA-DSR(2hrs)の間には全く差異は認められなかった。

### 3. 照射による $^{201}\text{Ti}$ -extraction ratio ( $^{201}\text{Ti}$ -ER)の経時的变化

$^{201}\text{Ti}$ を用いて、3,000R照射後の $^{201}\text{Ti}$ -ERの経時的变化について検討した(Table 5, Fig. 5)。

照射後1日の $^{201}\text{Ti}$ -ERは、1.16を高値( $p<0.05$ )であったが、照射後3日には、0.83と非照射対照群に比較して明らかに低値( $p<0.05$ )となった。照射後14日には、1.06と、非照射対照群とほぼ同じ値となつたが、その後は漸減し、照射後56日、112日には、それぞれ0.84、0.86と明らかに低値( $p<0.05$ )となった。照射後3日以降の $^{201}\text{Ti}$ -ERは、VVRやHSA-DSRと比較して明ら

Table 5 Changes in  $^{201}\text{Ti}$ -extraction ratio ( $^{201}\text{Ti}$ -ER) in the irradiated muscle with  $7.74 \times 10^{-1}C/kg$  (3,000R)

$^{201}\text{Ti}$ -ER	Days after irradiation							
	Control	1	3	7	14	28	56	112
No. of mice	7	7	7	7	7	7	7	7
$^{201}\text{Ti}$ -ER	0.97 (0.008)	1.16 (0.019)	0.83 (0.021)	0.70 (0.009)	1.06 (0.024)	0.97 (0.039)	0.84 (0.021)	0.86 (0.084)

$^{201}\text{Ti}$ -ER is calculated as following formula:

$$\begin{aligned} ^{201}\text{Ti}-\text{ER} = & \frac{\text{Radioactivity of } ^{201}\text{Ti} \text{ in the irradiated muscle (cpm/g)}}{\text{Radioactivity of } ^{201}\text{Ti} \text{ in the non-irradiated contralateral muscle (cpm/g)}} \end{aligned}$$

$^{201}\text{Ti}$ -ER is presented as mean (unbiased variance).

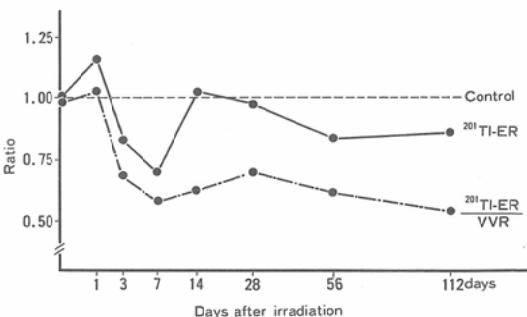


Fig. 5 Changes in  $^{201}\text{Ti}$ -ER in the irradiated muscle with  $7.74 \times 10^{-1}C/kg$  (3,000R)

かに低値 ( $p < 0.05$ ) であった。 $^{201}\text{Tl}$ -ER と VVR の比 $^{201}\text{Tl}$ -ER/VVR は、照射後 3 日以降は常に 0.75 以下であった。とくに照射後 112 日の $^{201}\text{Tl}$ -ER/VVR は 0.54 と最も低値であった。

#### IV. 考 察

悪性腫瘍の放射線治療上問題となる<sup>1)</sup>正常組織の慢性障害の発症に、血管系の照射による障害が重要な役割りを果たしていると考えられている<sup>2)3)6)~8)</sup>。組織学的検討<sup>2)6)7)14)15)</sup>によれば、照射後数時間から数日の間にすでに、血管内皮細胞の肥厚、毛細血管の閉塞、血管周囲・間質の浮腫、細動脈とともに細静脈の拡張などの変化が認められるとされている。さらに、間質結合繊の線維化が進行するとともに、血管内皮細胞の不規則な増殖、毛細血管の不均等分布、細動脈の血管壁肥厚や細静脈の拡張などによる局所微小循環不全状態が認められるようになるとされている。

血管内皮細胞自体の turn over の速度は極めて遅く<sup>16)17)</sup>、その放射線感受性も皮膚や腸管上皮細胞とはほぼ同程度<sup>18)19)</sup>かそれ以下<sup>17)</sup>であるとされている。また、血管平滑筋細胞の細胞交替の turn over も極めて遅く<sup>17)</sup>、in vitro における放射線感受性は、皮膚や腸管上皮細胞とはほぼ同程度である<sup>20)</sup>とされている。

今回実験に用いたマウス横紋筋組織は、fixed postmitotic cell である横紋筋細胞<sup>2)</sup>からなる、in vivo 正常組織中で最も放射線感受性の低い組織のひとつ<sup>4)5)</sup>である。横紋筋細胞の細胞交替の turn over も極めて遅い<sup>17)</sup>とされている。また、筋組織内の血管内皮細胞は一般的な無窓内皮細胞で<sup>21)</sup>、内皮細胞間には incomplete tight junction が存在する<sup>22)</sup>とされている。

局所に 3,000R 照射した後の筋組織の変化を光頭的に検討してみると、照射後 112 日には、間質の線維増生、筋線維の軽度萎縮、静脈の拡張などが明らかに認められた。これらの所見は、筋組織の放射線慢性障害の組織学的所見としてすでに報告されている<sup>2)6)7)15)</sup>所見であった。したがって、本実験においては、3,000R 照射後 112 日には明らかな放射線慢性障害が発症していることが、組織学的に確認された。また、照射後 112 日には、筋組織含

水量の明らかな増加も認められた。これは、何らかの循環系の障害が存在する可能性が考えられた。そこで、観察期間を照射後 112 日までとして、ラジオアイソトープを用いて定量的実験的研究を施行した。

放射線慢性障害発症に至るまでの血管容積の経時的变化を検討するため、in vivo で標識した<sup>99m</sup>Tc-RBC を用いて vascular volume ratio (VVR) の変化について検討した。照射後の個々の血管の変化について photomicrography を用いて直接的組織学的に検討した Dimitreich<sup>23)</sup>らの報告によれば、照射直後から毛細血管の閉塞と細動脈の拡張が認められ、さらに 20Gy 照射後 5 日には血管容積の減少が認められるとしている。しかし、血管ごとに毛細血管の閉塞が起こると、正常な状態では閉塞していた周辺の毛細血管が代償的に機能を持つようになる<sup>24)</sup>とされている。したがって、組織内の血管系全体の変化（機能している血管全体の容積変化）について慢性障害の発症するまでの長期間にわたって、直接的に定量的に検討することは極めて困難である。<sup>99m</sup>Tc-RBC を用いた本実験の VVR は、血管個々の形態学的変化とは必ずしも一致しない<sup>23)</sup>かもしれないが、逆に筋組織内の血管系全体の容積変化は良く反映していると考えられる。筋線維の萎縮による既存の血管の密度の増加や血流速度の局所的低下によるヘマトクリットの局所的上昇により、VVR 値は影響されると考えられるが、これらを定量的に評価することは困難であった。しかし、少なくとも光頭的所見からは、これらの影響は大きくはないと考えられた。非照射側の血管容積は照射により影響されないと仮定した。

本実験の結果、3,000R 照射後 1 日から 112 日まで常に VVR は高値を示していた。また、照射後 14 日の VVR は 1.68 とピークを示していた。さらに光頭的に明らかに慢性障害の認められた照射後 112 日には、VVR は 1.60 と再び増加する傾向が認められた。

<sup>32</sup>P<sup>25)</sup>や<sup>51</sup>Cr<sup>24)26)</sup>で標識した赤血球を用い、ラットの耳<sup>25)</sup>や横紋筋組織内<sup>24)26)</sup>の血管容積の変化について検討した報告によれば、照射によって血管

容積は増加するとされている。Song ら<sup>24)</sup>は、20Gy 照射した皮膚や筋組織において、照射直後から照射後40日までの観察期間の間、血管容積の増加が認められたとしている。色素をトレーサーとして用いた Takahashi<sup>27)</sup>らの報告によれば、マウス皮下組織では、40Gy 照射後14日から84日まで血管容積の増加が認められ、照射後28日にピークが認められるとしている。これらの報告<sup>24)~27)</sup>の結果は、本実験の照射後56日までの VVR の変化と概ね一致している。

本実験の結果からは、マウス横紋筋組織では、3,000R 照射後 1 日から単位重量あたりの血管容積は増加し、一度ピークを示し、さらに光顯的に慢性障害が明らかになる時期に再び漸増するものと考えられる。

放射線慢性障害発症に至るまでの血管機能の経時的变化のひとつの指標として、アルブミンの血管透過性の変化について検討した。血中のアルブミンは絶えず血管外へ滲出し、いわゆる動的平衡状態を保っている<sup>28)~30)</sup>とされている。照射によって血管系が障害されれば、アルブミンの血管透過性も亢進することが十分予想される。観察期間がやや短いが、<sup>125</sup>I-HSA を用いたアルブミンの血管透過性についての報告<sup>25)26)31)</sup>も認められる。Law<sup>25)</sup>らは、20Gy 照射群では照射後21日から35日の間に透過性亢進が認められ、照射後84日には、透過性亢進が認められなくなるとしている。また40Gy 照射群では、照射直後から照射後14日までの観察期間中、アルブミンの血管透過性の亢進が認められるとしている。

本実験では、<sup>99m</sup>Tc-HSA を用いて HSA-distribution space ratio (HSA-DSR) の経時的变化について検討した。HSA-DSR は、筋組織単位重量あたりの血管内および血管外<sup>99m</sup>Tc-HSA 量の左右比を示している。したがってアルブミンの血管透過性が亢進し、リンパ管経由の clearance を上回ると血管外に<sup>99m</sup>Tc-HSA が蓄積し、HSA-DSR (30min) よりも HSA-DSR (2hrs) が高値を示すと考えられる。

2,000R 照射群の観察期間は14日と短かかったが、HSA-DSR (30min) と HSA-DSR (2hrs) の

間に全く差は認められなかった。Law<sup>25)</sup> らの報告では、ラットの耳においては照射後21日から透過性亢進が認められるとされており、観察期間が短かかったために HSA-DSR (30min) と HSA-DSR (2hrs) に差が認められなかつたのかかもしれない。

3,000R 照射群では、照射後 1 日から112日まで常に、HSA-DSR (2hrs) は HSA-DSR (30min) よりも高値であった。3,000R 程度の照射線量では、リンパ管自体の障害による clearance の低下は起こらない<sup>32)~34)</sup>とされているが、組織内に線維化が認められる場合には、線維化のためにリンパ管経由の clearance が低下<sup>34)</sup>している可能性はある。しかし、光顯的に線維化の明らかであった照射後112日の HSA-DSR (2hrs) は2.50と極めて高値であり、HSA-DSR (30min) と比較しても1.26倍と高値であった。これは、リンパ管の機能低下によるものとは考えられず、アルブミンの血管透過性が亢進しているためと考えられた。

本実験の結果からは、マウス横紋筋組織では、3,000R 照射後 1 日からアルブミンの血管透過性の亢進が認められ、照射後112日まで認められた。さらに、光顯的に慢性障害が明らかになる照射後112日のアルブミンの血管透過性は、観察期間中で最も亢進していると考えられた。

放射線慢性障害発症に至るまでのどの時期から、横紋筋細胞の障害が認められるかを検討するため、<sup>201</sup>Tl を用いて<sup>201</sup>Tl-extraction ratio (<sup>201</sup>Tl-ER) の経時的变化について検討した。<sup>201</sup>Tl は、K 類似の動態を示し<sup>35)</sup>、心筋組織への集積は局所血流量を反映しているとされ<sup>36)</sup>、心筋シンチグラフィーに広く利用されている。その血中半減期は極めて短かく<sup>35)37)</sup>、<sup>201</sup>Tl 静注後30分の心筋と血漿の比、横紋筋と血漿の比はそれぞれ約40, 10<sup>35)38)</sup>であるとされている。<sup>201</sup>Tl の集積については、局所の血流状態<sup>36)</sup>とともに、ATP・ATPase を介する active transport の関与<sup>35)</sup>が考えられてきたが、最近の Carlin ら<sup>39)</sup>の報告によれば、本質的には ATP・ATPase を介する active trasport によるとされている。Carlin らは、ATPase 阻害剤の投与による著明な心筋集積の低下を報告している。

したがって放射線照射によって、横紋筋組織の局所血流量が低下したり、筋細胞自体の代謝障害<sup>40)</sup>とくにエネルギー代謝の障害が起これば、<sup>201</sup>Tl-ER が低下することが予想される。

本実験では、3,000R 照射後3日、7日の<sup>201</sup>Tl-ER は明らかに低値であった。また、照射後14日にはほぼ正常値であった<sup>201</sup>Tl-ER は、その後再び低下し、照射後56日、112日には0.84、0.86と明らかに低値となった。

少なくとも照射後1カ月以内には、電顕的に筋細胞の変化は認められない<sup>41)</sup>とされている。本実験も含め、標識赤血球を用いた検討<sup>24)~26)</sup>では、血管容積の増加が認められている。また、<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>を用い clearance 法により局所血流量の変化を検討した報告<sup>8)42)~44)</sup>でも、少なくとも照射後数週間以内では、局所血流量は増加しているとされている。一方、脳をはじめとする正常組織<sup>45)46)</sup>や Ehrlich 腫瘍<sup>47)</sup>では、20Gy の照射による ATP 濃度の低下、ATP 産生の低下<sup>47)</sup>が認められるとしている。したがって、本実験で認められた照射後早期の<sup>201</sup>Tl-ER の低下は、従来の組織学的検討から考えられてきた以上に早期から、横紋筋細胞自体が障害されていることを示していると考えられる。

VVR が1.68とピークを示した照射後14日の<sup>201</sup>Tl-ER は、ほぼ正常値であった。これは、筋細胞自体の障害からの回復によるものか、局所血流量の増加によるものかは明らかではなかった。

照射後56日、112日の<sup>201</sup>Tl-ER は明らかに低値であった。この時期の VVR は高値を示しており、単位重量あたりの血管容積は増加していると考えられる。一方、<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>を用い clearance 法により慢性障害の認められる時期の局所血流量を検討した報告<sup>8)42)~44)</sup>によれば、ラットの皮膚では血流量の低下が認められ<sup>42)</sup>、豚の皮膚では、皮膚の萎縮が進行するにつれて、低下した血流量の回復傾向が認められる<sup>8)43)44)</sup>とされている。clearance 法には、皮下結合織から血管への<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>の移行速度にも影響される欠点があるが、標識赤血球を用いて測定した血管容積よりも実際の局所血流量は低下している可能性は否定できない。しかし照射後56日、112日の VVR は1.38、1.60と高値であり、

照射側の単位重量あたりの血流量が、非照射側に比較して低下しているとは考えられない。したがって照射後56日、112日の<sup>201</sup>Tl-ER の低下は、横紋筋細胞自体の障害（代謝障害あるいは萎縮）を示していると考えられる。

正常組織中で最も放射線感受性の低い組織のひとつである横紋筋組織<sup>45)</sup>で、3,000R 照射後早期から血管系の変化(VVR の増加、HSA-DSR の増加)とともに横紋筋細胞自体の障害（<sup>201</sup>Tl-ER の低下）も認められたことは、放射線慢性障害の発症に、血管系の障害<sup>23)6)~8)</sup>のみならず、横紋筋細胞の直接の障害も関与している可能性<sup>48)49)</sup>があり興味深い。しかしこの点については、さらに検討する必要があると考えられる。

## V. 結論

放射性慢性障害発症に至るまでの血管系の変化と実質細胞である横紋筋細胞の変化を定量的に検討するため、<sup>99m</sup>Tc-RBC、<sup>99m</sup>Tc-HSA、<sup>201</sup>Tl-chloride を用いて動物実験を施行した。

3,000R 照射後1日から、マウス横紋筋組織内の血管容積の増加とアルブミンの血管透過性亢進が認められた。照射後14日に血管容積増加のピークが認められた。組織学的に明らかな慢性障害の認められた照射後112日には、血管容積の増加は漸増した。またアルブミンの血管透過性は最も亢進していた。

3,000R 照射後3日には、横筋筋細胞の障害によると考えられる<sup>201</sup>Tl-ER の低下が認められた。また、放射性慢性障害の認められる時期にも<sup>201</sup>Tl-ER の低下が認められた。

放射性慢性障害の発症に、血管系の障害はもちろんのこと、実質細胞である横筋筋細胞の直接の障害も関与している可能性も考えられた。

本法は、正常組織に対する放射線照射の影響についての定量的検討に有用な方法であると考えられる。

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜った群馬大学医学部放射線医学教室 永井輝夫教授、直接御指導を賜った群馬大学医学部放射線医学教室 新部英男助教授に深く感謝いたします。また御助言と御協力を賜った群馬大学医学部放射線医学教室 鮎目一郎講師をはじめ教室員各位に

深く感謝いたします。

### 文 献

- 1) Patterson, R.: General principles-(II) radiation factors. (In) Patterson R ed : The treatment of malignant disease by radiotherapy. 2nd ed. 14-15, 1963, Edward Arnold, London
- 2) Rubin, P. and Casarret, G.W.: Radiation histopathology. (In) Clinical radiation pathology. vol 1. 38-61, 1968, Saunders, Philadelphia
- 3) 新部英男: 放射線病理学。永井輝夫編, 臨床腫瘍学 放射線病理学的立場から。2-4, 1981, 講談社, 東京
- 4) Rubin, P. and Casarret, G.W.: A direction for clinical radiation pathology: The tolerance dose. (In) Vaeth LM ed : Fornet. Radiation Ther. Onc. vol 6. 1-16, 1972, Kager, Basel and University Park Press, Baltimore
- 5) Gabriel-Jurgens, P., Gremmel, H. and Wendenhausen, H.: Die Entwicklung und Anwendung der Nominal Standard Dose für die Toleranzdosis des gesunden Gewebes in der Strahlentherapie. Strahlentherapie, 151: 99-112, 1976
- 6) Fajardo, L.F. and Stewart, L.R.: Pathogenesis of radiation-induced myocardial fibrosis. Lab. Invest., 29: 244-257, 1973
- 7) White, D.C.: The histopathologic basis for functional decrements in late radiation injury in diverse organs. Cancer, 37: 1127-1143, 1976
- 8) Hopewell, J.W.: The importance of vascular damage in the development of late radiation effect in normal tissues. (In) Meyn RE and Withers HR ed : Radiation biology in cancer research. 449-459, 1980, Raven Press, New York
- 9) Goldstein, A.: Biostatistics: The two sample rank test: A simple alternative to the t-test. (In) Goldstein ed: Biostatistics. 55-59, 1964, Macmillan Company, New York
- 10) 辻 達彦: 分布型によらない検定. 統計方法入門. 第2版, 金原出版, 東京, 170-172, 1981
- 11) Pavel, D.G., Zimmer, A.M. and Patterson VN: In vivo labeling of red blood cells with <sup>99m</sup>Tc: A new approach to blood pool visualization. J. Nucl. Med., 18: 305-308, 1977
- 12) Hamilton, R.G. and Anderson, P.O.: A comparative evaluation of techniques for rapid and efficient in vivo labeling of red cells with [<sup>99m</sup>Tc] pertechnetate. J. Nucl. Med., 18: 1008-1011, 1977
- 13) 仙田宏平, 今枝孟義: 新しい標識法による<sup>99m</sup>Tc-HSAについて. 臨放, 21: 481-485, 1976
- 14) 金子稟威雄, 松島英乃, 山田輝代, 松谷 寛, 恒元 博: X線の毛細血管に及ぼす影響. 癌の臨床, 21: 480-485, 1975
- 15) Dimitrievich, G.S., Hauslauden, S.L., Kuchnir, F.T. and Grien, M.L.: Radiation damage and subendothelial repair to rabbit ear charnber microvasculaure: An in vivo and histologic study. Radiation Research 69: 276-292, 1977
- 16) Tannock, I.F. and Hayashi, S.: The proliferation of capillary endothelial cells. Cancer Research, 32: 77-82, 1972
- 17) Hirst, D.G., Denekamp, J. and Hobson, B.: Proliferation studies of the endothelial and smooth muscle cells of the mouse mesentery after irradiation. Cell Tissue Kinet., 13: 91-104, 1980
- 18) Reinhold, H.S. and Buisman, G.H.: Radiosensitivity of capillary endothelium. Brit. J. Radiol., 46: 54-57, 1973
- 19) Fike, J.R. and Gillette, E.L.: <sup>60</sup>Co gamma and negative pi meson irradiation on microvasculature. J. Radiation Oncology Biol. Phys., 4: 825-828, 1978
- 20) Rosen, E.M., Goldberg, I.D., Myrick, K.V. and Levenson, S.: Radiation survival properties of clustered vascular smooth muscle cells. Radiation Research, 100: 182-191, 1984
- 21) Bennet, H.S., Luft, J.H. and Hampton, J.C.: Morphological classifications of vertebrate blood capillaries. Am. J. Physiol., 196: 381-390, 1959
- 22) Huttner, I., Boutet, M. and More, R.H.: Studies on protein passage through arterial endothelium: I. Structural correlates of permeability in rat arterial endothelium. Lab. Invest., 28: 672-677, 1973
- 23) Dimitrievich, G.B., Fischer-Dzoga, K. and Grien, M.L.: Radiosensitivity of vascular tissue: I. Differential radiosensitivity of capillaries: A quantitative in vivo study. Radiation Research, 99: 511-535, 1984
- 24) Song, G.W., Kim, J.H., Rhee, J.G. and Levitt, S. H.: Effect of irradiation and hyperthermia on vascular function in skin and muscle. Radiation Research 94: 404-415, 1983
- 25) Law, M.P. and Thomlison, R.H.: Vascular permeability in the ears of rats after X-irradiation. Brit. J. Radiol., 51: 895-904, 1978
- 26) Song, C.W. and Levitt, S.H.: Effect of irradiation on vascularity of normal tissues and experimental tumor. Radiology, 94: 445-447, 1970

- 27) Takahashi, M. and Kallman, R.F.: Quantitative estimation of histological changes in subcutaneous vasculature of the mouse after irradiation. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 2: 61-68, 1977
- 28) Youlten, L.J.F.: The permeability to human serum albumin (HSA) and polyvinylpyrrolidon (PVP) of skeletal muscle (rat cremaster) blood vessel walls. *J. Physiol.*, 204: 112-113, 1969
- 29) Renkin, E.M.: Transport pathways through capillary endothelium. *Microvascular Research*, 15: 123-135, 1978
- 30) Firrel, J.C., Lewis, G.P. and Youlten, L.J.F.: Vascular permeability to macromolecules in rabbit paw and skeletal muscle: A lymphatic study with a mathematical interpretation of transport processes. *Microvascular Research*, 23: 294-310, 1982
- 31) Mount, D. and Bruce, W.R.: Local plasma volume and vascular permeability of rabbit skin after irradiation. *Radiation Research*, 23: 430-445, 1964
- 32) Van den Brenk, H.A.S.: The effect of ionizing radiations on the regeneration and behavior of mammalian lymphatics. *Am. J. R. Rad. Therapy & Nuclear Med.*, 78: 837-849, 1957
- 33) Ariel, I.M., Resnik, M.I. and Oropesa, R.: The effect of irradiation (external and internal) on lymphatic dynamics. *A.J.R.*, 99: 404-414, 1967
- 34) Dettman, P.M., Demis, A.J. and Straasli, J.P.: The radiation tolerance of lymphoid tissue. (In) Vaeth JM ed : *Front. Radiation Ther. Onc.* vol. 6. 428-444, 1972, Kager, Basel and University Park Press, Baltimore
- 35) Gehling, P.J. and Hammond, P.B.: The interrelationship between thallium and potassium in animals. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 155: 187-201, 1967
- 36) Strauss, H.W., Harrison, K., Langan, J.K., Lebowitz, E. and Pitt, B.: Thallium-201 for myocardial imaging: Relation of thallium-201 to regional myocardial perfusion. *Circulation*, 51: 641-645, 1975
- 37) Bradley-Moore, P.R., Lebowitz, E., Green, M.W., Atkins, H.L. and Ansari, A.N.: Thallium-201 for medical use: Biologic behavior. *J. Nucl. Med.*, 16: 156-160, 1975
- 38) Llaurado, J.G., Madden, J.A., Meade, R.C. and Smith, G.A.: Distribution of thallium-201 injected into rats following stress: Imaging, organ to plasma uptake ratios, and myocardial kinetics. *J. Nucl. Med.*, 19: 172-177, 1978
- 39) Carlin, P.D. and Jan, K.: Mechanism of the thallium extraction in pump perfused canine hearts. *J. Nucl. Med.*, 26: 165-169, 1985
- 40) 鳥居幸雄, 足立晴彦, 木津 明, 中川雅夫, 伊地知浜夫: ラット肥大心におけるタリウム201の摂取動態の検討. *核医学*, 22: 439-447, 1985
- 41) Phillips, T.L., Benak, S. and Ross, G.: Ultrastructural and cellular effects of ionizing radiation. (In) Vaeth JM ed : *Front. Radiation Ther. Onc.* vol 16. 21-43, 1972, Kager, Basel and University Park Press, Baltimore
- 42) Keyex, A., Dunjic, A., Royer, E., Jovanovic, D. and Van de Merckt, J.: Late functional and circulatory changes in rats after local irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 20: 7-25, 1971
- 43) Hopwell, J.W., Foster, J.L., Gunn, Y., Moustafa, H.F., Paterson, T.J.S., Wiernik, G. and Young, C.M.A.: Role of vascular damage in the development of late radiation effects in the skin. (In) *Late biological effects of ionizing radiation*, I: 483-492, 1978, IAFA, Vienna
- 44) Moustafa, H.F., Phil, D. and Hopwell, J.W.: Blood flow clearance changes in pig skin after single dose of X rays. *Brit. J. Radiol.*, 52: 138-144, 1979
- 45) Păușescu, C., Paun, C., Chirvasie, R. and Teodosiu, T.: Effects of total exposure to cobalt-60 gamma-radiation on cerebral energy producing and transferring systems. *Strahlentherapie*, 144: 370-376, 1972
- 46) Chapman, I.V. and Sturrock, M.G.: Radiation-induced decrease in influx rates of potassium ions into thymocytes in vitro in relation to decreased intracellular adenosine triphosphate concentrations. *Int. J. Radiat. Biol.*, 28: 155-163, 1975
- 47) Skog, S., Tribukait, B. and Sundius, G.: Energy metabolism and ATP turnover time during the cell cycle in roentgen irradiated Ehrlich ascites tumor cells. *Acta Radiologica Oncology*, 22: 369-379, 1983
- 48) Withers, H.R., Peters, L.J. and Kogelnik, H.D.: The pathobiology of late effects of irradiation. (In) Raymond E and Withers HR ed : *Radiation biology in cancer research*. 439-448, 1980. Raven Press, New York
- 49) Withers, H.R., Thames, H.D. Jr. and Peters, L.J.: Difference in the fraction response of acutely and late-responding tissues. (In) Kärcher KH ed : *Progress in radio-oncology II*. 287-296, 1982, Raven Press, New York