



Title	骨髓に対する放射線の作用(3H-Thymidine及びRadioautograph併用法に依る) 第三報 骨髓各種細胞の比較 末梢血液並びに関節作用に就いての考察
Author(s)	渡辺, 隆一郎
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1961, 20(11), p. 2470-2485
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/15610
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

骨髓に対する放射線の作用 (^{3}H -Thymidine 及び Radioautograph 併用法に依る)

第三報 骨髓各種細胞の比較 末梢血液並びに 間接作用に就いての考察

横浜市立大学医学部放射線科教室（主任 津屋旭教授）

渡辺 隆一郎

(昭和35年12月8日受付)

序 言

Desoxyribonucleic Acid (以下DNAと略称する) の前躯体である ^{3}H -Thymidine と Autoradiograph 法の併用によつて、始めて細胞のレベルに於ける DNA 合成能を云々することが可能となつたことは、第1報及び第2報に詳述した処であり、Dr. L.S. Kelly¹⁾ の広範な論説の結論に於て将来の一研究方向として指摘された処である。

本論に於ては、骨髓細胞中、赤血球系²⁾³⁾、白血球⁴⁾以外の各種細胞、主として網状細胞、大及び小淋巴球並びに形質細胞に対するエックス線の作用を、主として DNA 合成能を中心として検討すると共に、全骨髓細胞の放射線感受性を比較検討した。著者は更に末梢血液中に出現する DNA 合成能を有する单核細胞⁵⁾に対するエックス線の影響、並びに遮蔽した側の大脳骨骨髓に対する所謂間接作用 (abscopal effect) についても検討した。

研究目的

1. 骨髓各種細胞の放射線感受性を夫等の細胞絶対数の変動から比較検討する。
2. 骨髓各種細胞について、ラベルされた細胞 (DNA合成中の) とラベルされない細胞との感受性の比較。
3. 骨髓各種細胞について、細胞レベルに於ける DNA 合成能に対する放射線の作用並びに感受

性の比較。

4. 骨髓各種細胞の Thymidine 摂取率の比較並びに平均銀粒子数の度数分布について。
5. 末梢血液中の DNA 合成能を有する单核細胞に対する放射線の作用。
6. エックス線間接作用の有無如何を、絶対細胞数の変動及び Thymidine 摂取率により観察する。

研究方法並びに材料

詳細は第1報 (赤血球系²⁾)、第2報³⁾ (白血球系) を参照されたい。

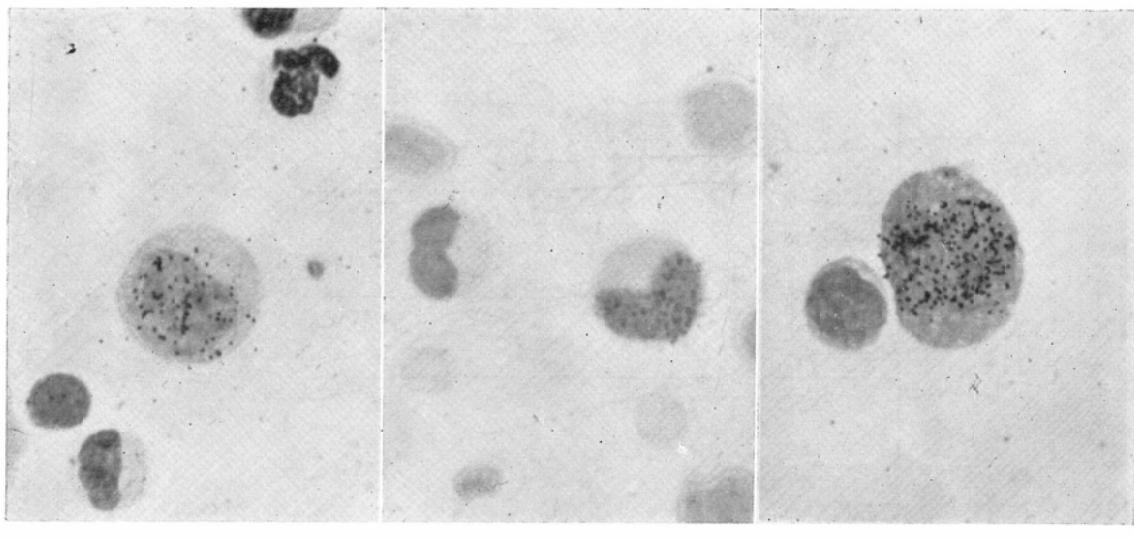
エックス線照射に際しては、 $1/8$ 时厚の鉛板を用い、右側後肢と右骨盤骨の一部を遮蔽し、全身 600r エックス線一時照射を用いた。被覆大腿骨に於ける散乱線量は 25r 弱であつて直接線の約 4% に相当した。

骨髓赤血球系、白血球系細胞其他の各種細胞の鑑別に就いては省略し、末梢血液中の DNA 合成能を有する单核細胞の分類に就いて述べる。V.P. Bond, T.M. Fliedner 等⁵⁾は純粹に形態学見地から次の 5 型に分類したが、三沢⁶⁾は更に之に 1 型を加え 6 型とした。(Fig.1. 参照)。

第1型 大型单核細胞で細胞質は多染性、核は橢円形を呈し偏在性、出現頻度は少く他のものとの鑑別は必ずしも容易でない。

第2型 大型单核細胞で核陥凹を有する、屢々モノチーテンとの鑑別不能、時に伝染性单核球増

Fig. 1 (a)

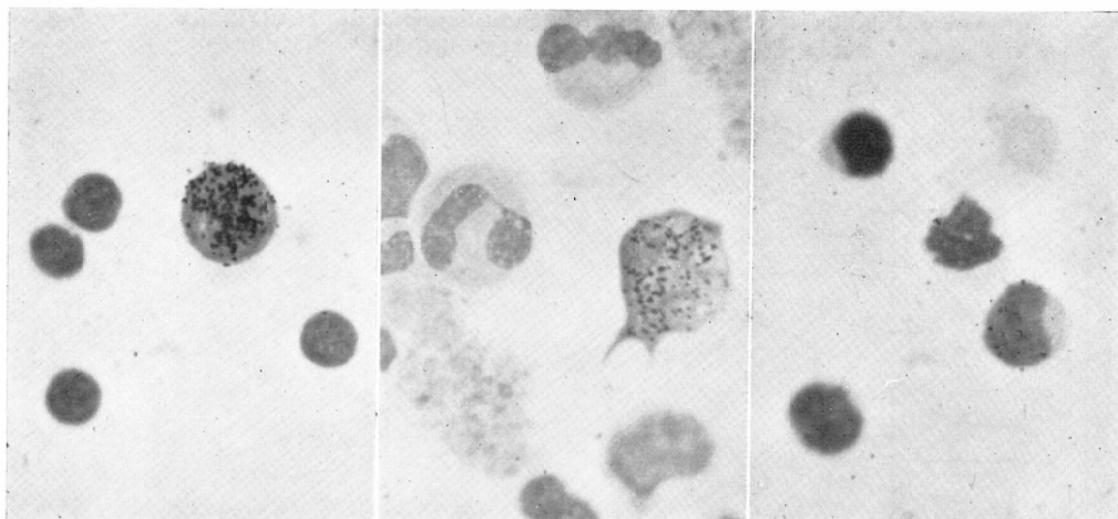


Type 1

Type 2

Type 3

Fig. 1 (b)



Type 4

Type 5

Type 6

多症の際にみられる異型淋巴球に類似 (Dowdy の第1型, 淋巴球様モノチーテン, モノチーテン様淋巴球) する。

第3型 大型円型細胞で核は大部分中心に存在する。核は纖細緻密で未熟型の特徴を有し、稀に

核小体を有する。原形質は幅が狭く濃塩基好性である。幼弱淋巴球又は淋巴芽球と考えられている。

第4型 中型又は小型細胞で核は中央に位する。核構造は通常明瞭であるが、細胞質は濃塩基

Fig. 2 ABSOLUTE NUMBER OF VARIOUS TYPE OF BONE MARROW CELLS IN IRRADIATED FEMUR, 600r IRRADIATION, WITH ONE LEG SHIELDED

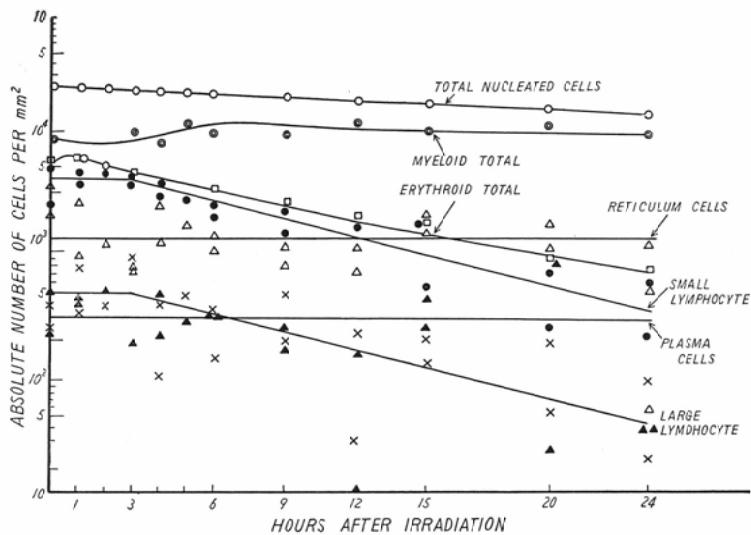
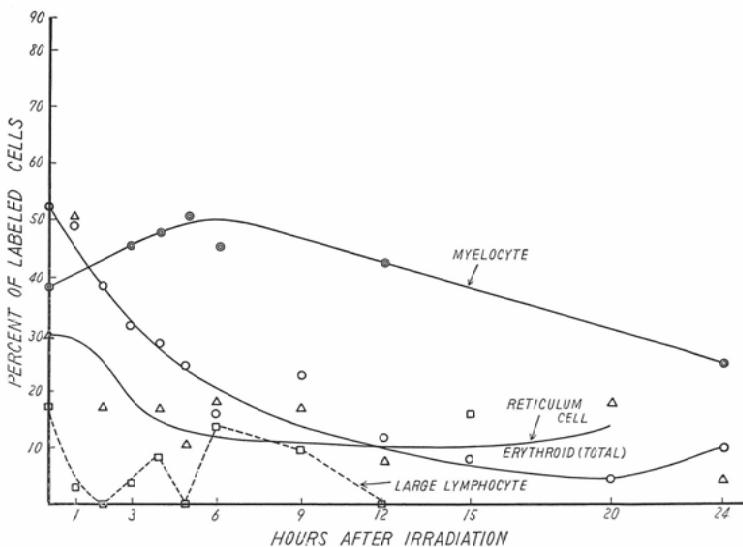


Fig. 3 PERCENT OF LABELED ERYTHROID, RETICULUM, MYELOID CELLS AND LYMPHOCYTE FOLLOWING 600r IRRADIATION, ONE LEG SHIELDED

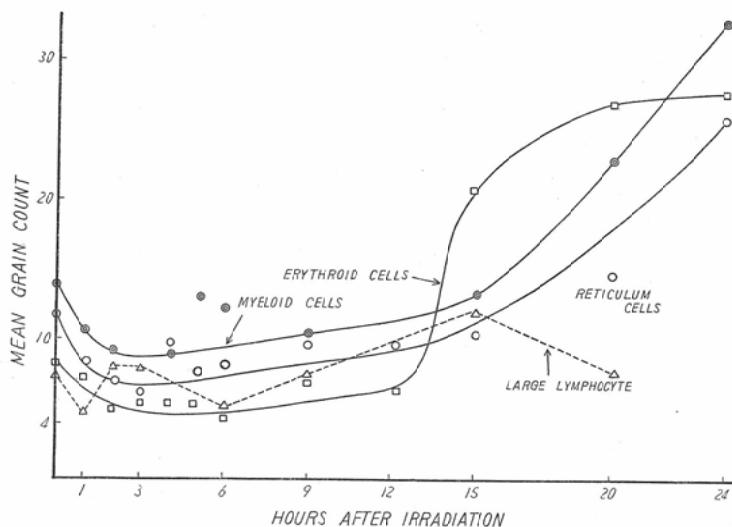


好性で核との境界は不明である。核は時に陥凹を示し、周囲に淡染色帯を有する(第4a型)。

Heilmeyerの“Toxic lymphocyte”, Türk

の“irritation cell”又はDowdyの異型淋巴球第3型と言われるものであり、時にプラスマ細胞に類似する。

Fig. 4. MEAN GRAIN COUNT OVER TOTAL ERYTHROID, MYELOID, RETICULUM CELLS AND LYMPHOCYTE IN IRRADIATED FEMUR, 600r IRRADIATION, WITH ONE LEG SHIELDED



第5型 “Basket”細胞ともいわれるもので鑑別不能。強くラベルされるのが特徴である。

第6型 中型又は小型細胞で陥凹核を有す。細胞質は塩基好性弱く、核との区別が明瞭なるものと言う。（第4型に入れても良いと思われる）。

其他の骨髓細胞の分類は概ね人間の場合に準じたが、Stripping Film のマウンティングは染色技術を著しく困難とし、殊に染色顆粒からの消息は屢々細部の鑑別を不可能とした。かかる場合には屢々盲検 blind test を行い結果に誤りが少なからんことを期した。

実験結果

1. 骨髓各種細胞の放射線感受性の比較

ラットに対し 600r 全身一時照射を行つた後、24時間以内に於ける赤血球系細胞、白血球系細胞の絶対数の変化については第1報、第2報に於て述べられている。ここでは細網細胞系、形質細胞並びに大小淋巴系細胞について、絶対数の変化を検討し、ついで各細胞間に於ける感受性の変化について比較してみた。

a) 細網細胞の変化

Fig. 2 に示される通り照射直後より24時間以内

に於て殆んど増減がみられない。然し12時間附近より変性した細胞が出現し、標本作製中に於て破壊されるものも多く、事実裸核のものや崩壊した核などが多くみられた。細分類は不可能であつたのでここでは全部一括した。

b) 淋巴球の変化

大小2型の淋巴球の絶対数は照射後3時間附近より減少を始め、続く24時間に殆んど直線状に減少したが、其の程度は大淋巴球、小淋巴球共同様であり、感受性が略々同様であることが示された。

c) 形質細胞の変化

形質細胞絶対数は、24時間以内では殆んど変動をみない。

d) 骨髓内に於ける 各種細胞放射線感受性の比較

ここで赤血球系、白血球系、細網細胞、淋巴球、形質細胞の5者を比較対照してみると、全骨髓有核細胞の変化のうち、赤血球系細胞並びに淋巴系細胞の減少が目立ち、又両者の減少の経過及び速度が略々類似しているのが注目される。これら2者によつて照射後24時間以内に於ける、全骨

細胞の減少が大半が占められていることがわかる。この両者に対して、白血球系、細網細胞、形質細胞の3者は、殆んど数量的変化を示していない。前2者が形態的に12時間以後に於て細胞変性を来しているが、形質細胞の場合は殆んど変化がみられないことは注目したい。事実赤血球系、白血球系両者の各種細胞の相対的比率をみると、赤血球系の場合 $K_2 K_1 K^{1/2} K^{1/4}$ は相対比率が何れも減少しているのに対して、DNA合成能を有していない $K^{1/8}$ の増加が見られ、24時間後には、 $K^{1/8}$ は、全赤血球系の90%を占めている。又白血球系各種細胞間の相対比率の変化をみると、照射後1～6時間附近でDNA合成能を有する骨髓芽球、前骨髓球、骨髓球の3者が減少し、24時間後に至るも増加の傾向はみられない。

之に対して後骨髓球は殆んど変動を示さず、帶型核球、分葉核球の相対比率が3～6時間の所で逆転し相対的増加を示していることは、矢張り白血球系に於ても赤血球系の場合と同様、DNA合成能を有する幼弱な細胞が減少していることを示している。この点では淋巴球系細胞即ち、大型及び小型淋巴球が、DNA合成能の有無とは関係なく、同様に失われているとの著しい対照をなしている。又形質細胞に変化の来ないことも従来の文献と一致する。

2. 各種細胞系のDNA合成細胞に及ぼす放射線の影響

ラッテ骨髓各種細胞の数量的変化には、各細胞種によつて夫々異つた経過がみられる。殊に分裂能を有する幼弱細胞は活潑にDNA合成を行つて居り、これに対する影響について調べる目的で、³H-Thymidineの摂取率及び、その量的変化を細胞核上に見られる感光銀粒子数の平均値を示標として吟味してみた。赤血球、白血球両系について、夫々第1報、第2報に於て報告されているので、ここでは細網系、淋巴系について得られた結果について述べて見よう。

ラベルされた骨髓系各種細胞の感受性の比較をFig. 3に示す。即ちラベルされた赤血球系細胞は照射直後より急激に減少するのに対し、白血球系

細胞では照射後増加を示し、6時間後にピークを示し、以後減少し12時間以後になって始めて対照値より低くなる。細網系細胞では、ラベルされた細胞は照射後減少し、4～5時間後には約半減し、この傾向は15時間以後にも及んでいる。又ラベルされた大淋巴球は、照射後3～5時間以内に著減し、赤血球系 $K_2 K_1$ の如き幼弱細胞と同様減少を示した。其れ以後に於ては、絶対数が少くなるために正確なデータは得られない。因みに小淋巴球及び形質細胞では、ラベルされた細胞が非常に稀であるので、之れ亦研究の対象から除外しここには論じない。次に、DNA合成率に対するエックス線の影響をみるために、各種細胞核の上の感光銀粒子数の平均値を求め、この時間的変動を求め、Fig. 4に示した。この場合前述の³H-Thymidine摂取率の変動と異り、何れの場合も照射後1～3時間で減少し、6時間後附近より増加傾向に転じ、12時間以後に於ては対照値に復し、其後に至るも増加傾向を続け、24時間後には対照値の2～3倍に達した。大淋巴系の場合のみが他の系列と稍々趣きを異にしたが、これは測定した細胞数が少いためと思われ、図上では点線をもつて記載しておいた。

3. 平均粒子数の分布に関して

DNA合成能を有する赤血球系 $K_2, K_1, K^{1/2}, K^{1/4}$ 細胞、骨髓系 B_1, B_2, B_3 細胞、細網細胞及び末梢血液中单核細胞第3型、第4型について、細胞上の感光銀粒子数の頻度ヒストグラムによって表わすとFig. 5の如くである。之によれば各細胞共その変異の幅が相当大きく、末梢血液单核細胞殊に第3型以外は感光銀粒子数が多い。

第3型は幼弱な淋巴球又は淋巴芽球と考えられるもので、之が高度のDNA合成率を示した事は興味深い。赤血球系 $K_2, K_1, K^{1/2}, K^{1/4}$ 及び白血球系 B_1, B_2, B_3 を比較すると、平均銀粒子数が成熟すると共に減少するが如き印象を与えてゐる。核の大きさが成熟と共に減少するための幾何学的条件の変化も論ぜられているが、現在は核の表面積或は細胞核の大きさに比例して³H-Thymidineの取込みが行われると考えられている。従

つて核の大きさが減少すると共に、銀粒子数が減少するとも解釈されるが⁷⁾⁸⁾、更に検討したい。

骨髄各種細胞の Thymidine 摂取率の一覧を Table 1 に示す。之に関しては考案に於て少しく触れることにする。

4. 末梢血液中に於けるDNA合成細胞の変化

正常なラット（人間の場合にも）の末梢血中には、0.5~0.6%のDNA合成中の細胞が見られるることは、Bond⁵⁾ らによつて示され、広義の Primitiv Progenitor Pool of Cells⁷⁾ として注目されている。之が 600r 全身一時照射後の消長を見ると Fig. 6 の如くなる。之で知られる著しい事実は、これらDNA合成中の細胞は非常に放射線感受性が大であると言つてあつて、照射後1時

間後より全く消失し24時間後に至るも現れて来ない。因みに対照実験である Pentothal 麻酔によつても著しく影響されている事が示されている。従つて、当該細胞の急激な減少は Pentothal 麻酔と、600r 照射との併用作用と考えられる。細胞学的な変化として、6時間以後染色度の急速な低下、原形質空胞形成、核構造の粗大化等の退行変化が著明に見られたが、各型別には感受性に著変を認めなかつた。（Table 2, 3）。

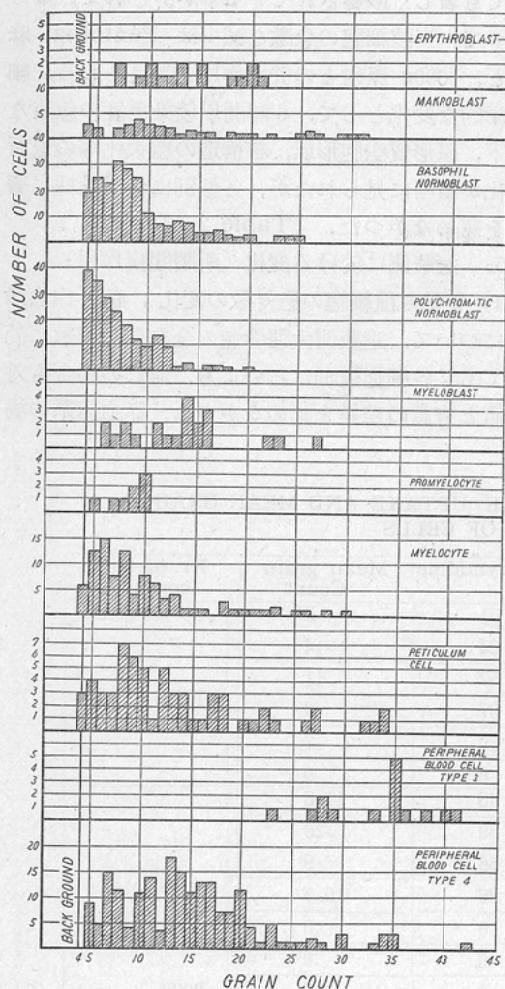
5. 遮蔽側に於ける変化（所謂間接作用）

a) 骨髄各種細胞の絶対数の変化：赤、白血球系について、遮蔽側大腿骨髄の全有核細胞数に於いても又各細胞種別においても、何れの場合も対照値と有意の差異を認めなかつた。赤血球系の場

Table 1 PERCENTAGE OF ^3H -THYMIDINE UPTAKE AND MEAN GRAIN COUNT OVER VARIOUS TYPES OF CELLS

	Cell type	% of thymidine uptake	Mean grain Count	Nr. of cells counted
Bone Marrow	Dividing Erythroid cells (total)	51	9	1000
	Erythroblast (K_2)	64	14	
	Makroblast (K_1)	57	11	
	Basophile Normoblast ($\text{K}^{1/2}$)	37	9	
	Polychromatic Normoblast ($\text{K}^{1/4}$)	39	7	
	Orthochromatic Normoblast ($\text{K}^{1/8}$)	0	0	
	Dividing Myeloid Cells (total)	48	11.5	
	Myeloblast (B_1)	69	26	
	Promyelocyte (B_2)	56	9	
	Myelocyte (B_3)	36	10.5	
Peripheral Blood	Metamyelocyte	0	0	2000
	Band Form	0	0	
	Segment Form	0	0	
	Large Lymphocyte	16.7	8.2	
	Small Lymphocyte	0.9	9	
	Reticulum Cell	38	13.8	
	Plasma Cell	0	4	
	Monocyte	?		
	Others	?		
	Mononuclear Cell	0.5~0.6		5000
	Type 1	22	35	
	" 2	24	30	
	" 3	48	27	
	" 4	5	17	
	" 5	6	24	
	" 6	3	4	

Fig. 5 GRAFIC PRESENTATION OF GRAIN COUNTS OF VARIOUS TYPES OF CELLS



合、最も幼弱なもの (K_2 , K_1) 及び白血球系に於ても幼弱な B_1 , B_2 に、照射後3~6時間に一過性の減少傾向が見られたが、計測した細胞数が10~40以下の少數であり有意の変化ではない。

b) 各種細胞のDNA合成に対する影響

赤血球系、細網細胞の、照射側及び遮蔽側の ^{3}H -Thymidineの摂取率を比較したが、赤血球系と同様遮蔽側の細網細胞のDNA合成は正常と殆んど同じに行われているものと解される。

次に照射側及び遮蔽側骨髄の組織像の所見を示

す (Fig. 7). 本標本は何れも骨髄 endostium の部分の変化のみについて追求したものである。因みにその位置により骨髄細胞の種類、Thymidine 摂取率が異なる事は第1報に於て詳細に論ぜられている。染色はFeulgen前染色によつたが、その技術は津屋、早野の文献¹²⁾を参考されたい。

以上間接作用は著者の実験条件では、又24時間以内の短期観察では、無いか又あつても軽度のものであろうと推定された。

結論及び考按

① 細胞絶対数の変動から見た骨髄各種細胞の放射線感受性の比較¹⁰⁾

有核赤血球(全体)、大淋巴球、小淋巴球の感受性は略々同程度で高く、骨髄有核細胞の減少は主として之等の細胞の破壊、消失に因る。何れも2~3時間後から減少が始まっている。大小淋巴球は第1表に見られる如く、前者は分裂能を有し、後者は之を有しないが、その感受性が略々同様なことは興味がある。細網細胞と形質細胞は感受性が低く、前者と著しい対照をなしている。白血球系の感受性は幼弱細胞を除き細網細胞及び形質細胞と同様感受性が低い。

② 各種細胞について、ラベルされた細胞とラベルされない細胞との感受性の比較

ラベルされた細胞の絶対数の減少程度から比較すると、大淋巴球系の感受性は赤血球系の幼弱細胞即ち K_2 , K_1 細胞と同様である。因みにラベルされた大淋巴球がラベルされないものより早期に減少する傾向を示し、赤血球系幼弱細胞と同様な経過を示した事は興味がある。之の作用機序は第1, 2報に論じたのでここでは省略する。

細網細胞系では骨髄白血球と同様ラベルされたものとされないものとの合計が殆んど不変であることが示されている。又ラベルされた細網細胞が照射後数時間に於いて減少していることの原因としては、④DNA合成機序—ここでは ^{3}H -Thymidine のDNA合成活性—そのものに対する抑制作用¹¹⁾のために、DNA合成速度がおくれ单位時間内に合成されるDNA量が減少し、例えDNA合成能はあつても銀粒子数が減少しラベルされ

Table 2 DNA-SYNTHESIZING CELLS IN PERIPHERAL BLOOD.
600r IRRADIATION

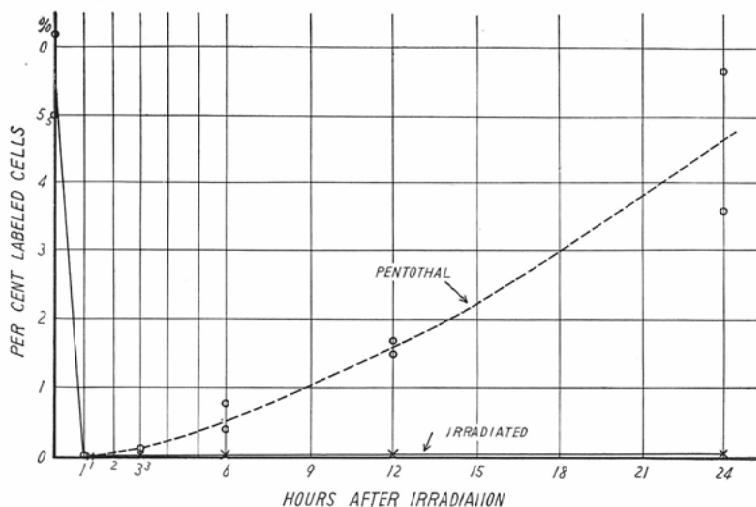
	before		1 hr		2 hr		3 hr		4 hr		5 hr	
Nr.	2919	2922	884	893	862	900	876	869	883	855	850	869
Seg	505	1415	726	1250	213	1007	813	2469	3513	2038	2800	2948
1	4 (1)	32 (7)	5	3		1						
2	16 (14)	141 (24)	53 (1)	149	87	340	34	18	23	13	4	1
3	59 (39)	209 (89)	13	47	113	511	72	173 (1)	213	25	17	60
4	4201 (242)	3083 (127)	4155	3539	4560	3076	4041	2321	1238	2922	2176	1923
4a	203 (16)	120 (3)	32	10	27	64		19	11	2		
5	12 (0)	20 (1)	16	2		1			2		3	68
total	(312)	(251)	5000 (1)	55000	5000	5000	5000 (1)	5000	5000	5000	5000	5000
%	0.062	0.05	0.0002	0	0	0	0.0002	0	0	0	0	0

	6 hr		9 hr		12hr		15hr		20hr		24hr	
Nr.	895	879	888	899	671	892	890	882	668	658	667	563
Seg	3806	4333	4129	1532	4585	1911	4700	1966	4800	1989	4035	1899
1												
2		2									113	3
3	115			1	11			24			170	1
4	1079	665	758	467	400	89	260	34	200	11	471	94
4 a												
5			113		4			11			24	3
total	5000	5000	5000	2000	5000	2000	5000	2000	5000	2000	5000	2000
%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 3 DNA-SYNTHESIZING CELLS IN PERIPHERAL BLOOD.
CONTROL-PENTOTHAL ADMINISTRATION (3mg/100g)
THE FIGURES ABOVE INDICATE THE TOTAL CELL
NUMBER COUNTED AND THAT BELOW INDICATE
THE LABELED CELL NUMBER (IN PARENTHESSES).

	1 hr	3 hr	6 hr		12hr		24hr	
Nr	861	864	874	866	740	734	868	870
Seg	467	1015	675	999	2924	3920	2301	1290
1		3	9		57 (3)	136 (2)	15 (10)	4 (4)
2	22 (2)	15 (1)	21	18 (1)	79 (12)	104 (26)	28 (4)	16 (14)
3	93 (7)	131 (3)	43 (2)	23 (7)	538 (16)	300 (10)	11 (2)	3 (1)
4	3778 (1)	3584 (2)	4212 (18)	3882 (31)	1374 (44)	527 (48)	2622 (163)	3675 (243)
4 a	11	34					19 (5)	12 (1)
5	629	218	49	78	28 (1)	13	5	
total	5000 (10)	5000 (6)	5000 (20)	5000 (39)	5000 (76)	5000 (86)	5000 (182)	5000 (263)
%	0.002	0.0012	0.004	0.0078	0.015	0.017	0.036	0.052

Fig. 6 LABELED CELLS IN PERIPHERAL BLOOD VARIOUS HOURS AFTER 600r IRRADIATION



	照 射 側			遮 蔽 側		
	Feulgen 染 色	ラ ベ ル 状 況	其 他	Feulgen 染 色	ラ ベ ル 状 況	其 他
対 照	#	#	よくラベルされた Feulgen 染色陽性細胞が一部集団状をなす。骨髓巨核球はラベルされていない。	#	#	細胞密度大
3 時間	#	+	細胞密度は対照と略同様 骨髓巨核球はラベルされていない。 細胞変性出現	#	#~++	細胞密度大
6 時間	+	±~-	細胞密度は著しく疎となる。 変性細胞多數。 一部に出血像。	#	#	細胞密度大
24時間	+	(再出現)	細胞密度は著しく疎, 変性細胞多數。	#	#	細胞密度大

Fig. 7 (a) RAT BONE MARROW SECTION
(Stained with Feulgen, mounted with AR 10
stripping film)

a) before irradiation Cellularity (#) Feulgen
Stain (#) Labeling (#) (indicates endostium)

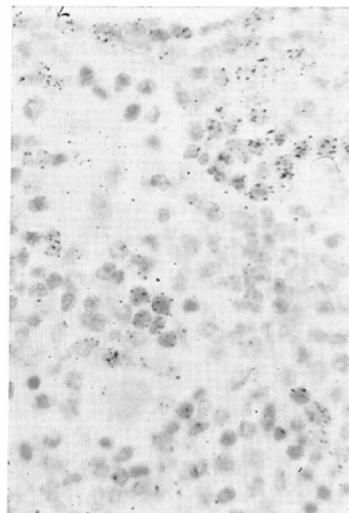


Fig. 7 (b) RAT BONE MARROW SECTION IN IRRADIATED SIDE

b) 3 hours post-irradiation Cell-
ularity (##), Feulgen Stain (++)
Labeling (+)

c) 6 hours post-irradiation Cel-
lularity(+), Feulgen Stain (+),
Labeling ($\pm \sim -$)

d) 24 hours post-irradiation Cell-
ularity (+), Feulgen Stain (+),
Labeling (+)

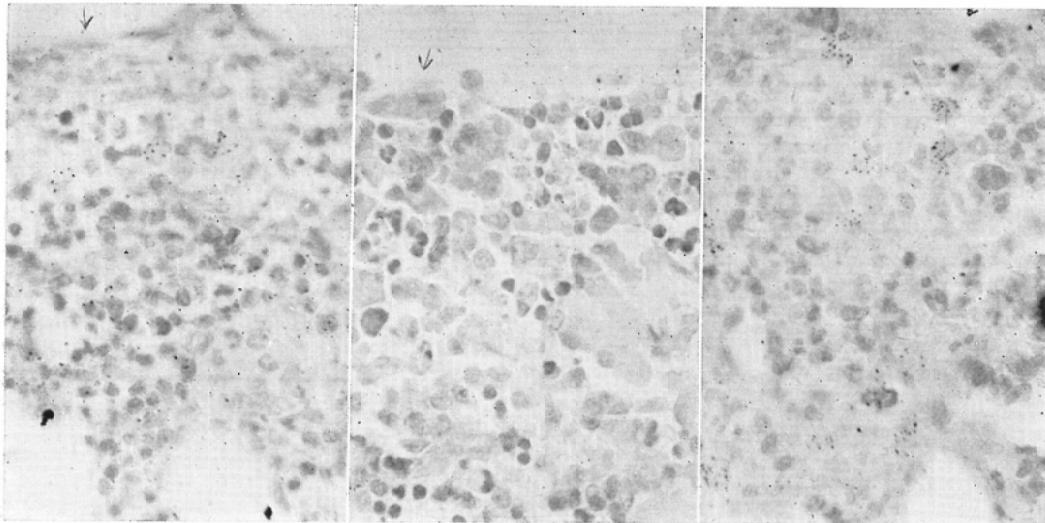
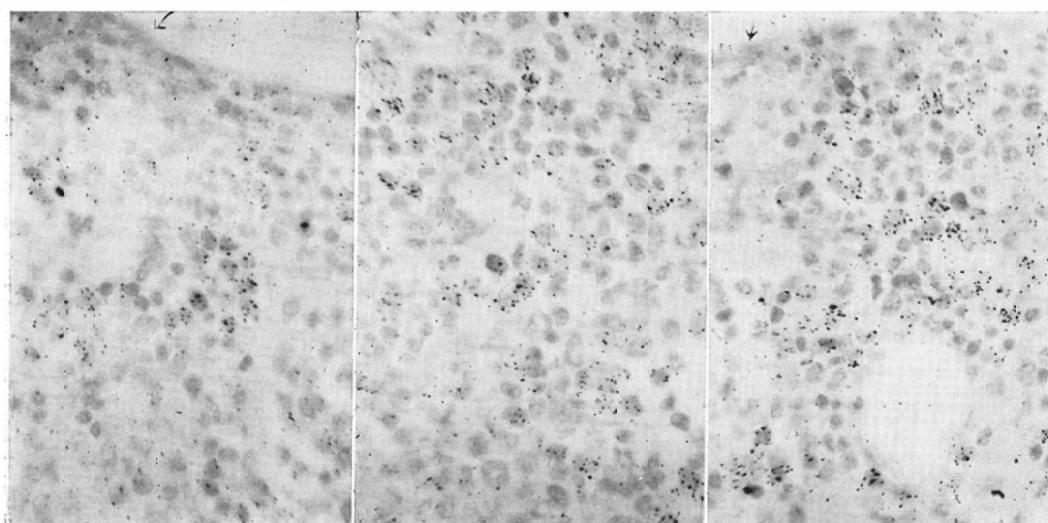


Fig. 7 (c) RAT BONE MARROW SECTION IN SHIELDED SIDE

e) 3 hours post-irradiation Cell-
ularity (##), Feulgen Stain (##),
Labeling (##~##)

f) 6 hours post-irradiation Cell-
ularity (##), Feulgen Stain (##),
Labeling (##)

g) 24 hours post-irradiation Cel-
lularity (##), Feulgen Stain (##),
Labeling (##)



たと判定されなかつた場合（著者は4以上をラベルと判定した¹²⁾。⑥ Lajtha等の所謂 G₁-effect¹³⁾（分裂後休止期 G₁からDNA合成期に入る場合の遅延）が考えられる。

骨髄系各種細胞に於いて、平均銀粒子数変動からDNA合成自身の抑制作用を見ると、何れの場合も1～3時間後に減少、6時間後より増加傾向を示し、12時間後に於いて略々対照に復帰しているが、この経過はラベルされた細網細胞の消長と対応していると思われる。G₁効果は大線量照射の場合に明らかにみられているが、この場合余り考慮しなくてよさそうである。

③ 細胞レベルに於けるDNA合成能に対する放射線の作用並びに感受性の比較

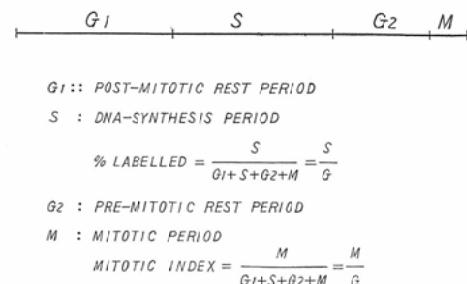
平均銀粒子数の変化からみると、各種細胞毎に程度の差はあるが、何れも前述した様に照射後急激にDNA合成の抑制が始まり、6時間後に最低となり、12時間後旧値に復帰していることは興味がある。又各種骨髄細胞について幼弱細胞或はDNA合成能の高い細胞に於いて著しい抑制がみられることは特に興味がある。12時間以後に見られる著しい銀粒子数の増加が恐らく“Poliploid”的の出現と関係ある事は第1報に於いて津屋によつて考察されたが、之れと同様な試みがL.S.Kelly¹⁴⁾¹⁵⁾によつて、エールリッヒ腹水細胞(L₂Lymphoma)を用いFeulgen染色性によつて個々の細胞毎に測定された。之によれば中等線量(600r)の照射では細胞の選択的破壊消失が見られ、又この消失が全く偶然に行われたことが(random sampling)確められない以上結論し得ないと述べている。又小線量の場合には細胞の破壊消失が見られない代りに、充分なDNA量の増加も見られていない。比較的放射線感受性の低い細胞—例えば骨髄球、細網細胞—についての研究、又はD.Painter¹⁶⁾の実験がこの間の事情を明らかにしてくれるであろう。

4. 骨髄各種細胞のThymidine摂取率とDNA合成能

Thymidineの代謝交替が新しいDNA合成能引いてはその細胞分裂能を意味する事は言う迄も

ない。Thymidine摂取能を有する細胞(ラベルされる細胞)の百分率、即ち Thymidine摂取率ILは特定の細胞系列に就いて、 $IL = \frac{\text{ラベルされた細胞}}{\text{全細胞数}}$ にて示され、之は又Fig.8に示す様に $IL = \frac{t_{DNA}}{t_G}$ で示される⁷⁾¹⁷⁾。従つて摂取率の増加はDNA合成時間の延長、又は Generation time の短縮、又は両者の組合せに因る。一般に Thymidine摂取率は特定の細胞系列の増殖能の如何又は核分裂係数に比例すると考えられるので、この摂取率を以て増殖能の程度如何を判定する事が出来る¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾。

Fig. 8 GENERATION TIME (G)



第1表に示された様に赤血球系、白血球系分裂細胞が最も増殖能が高く、細網細胞、大淋巴球が之に次いでいる。小淋巴球、形質細胞は殆んど分裂をしないか、しても極めて稀である事が知られた。又赤血球系にて $1/8$ 細胞、白血球系にて後骨髓球以下には全く摂取が見られず分裂能を有しないことが知られた。幼弱細胞が成熟細胞より高いThymidine摂取率を示すことは、小型細胞に於て低い銀粒子数を示す傾向のあること、又任意の銀粒子数4以上をラベルされたものと判定したことにも関係があるが、そのヒストグラムを見ると之では説明出来ない。即幼弱型がtgに対し比較的長いtdNAを有するとしてのみ説明が可能である。Moloneyのラットに於ける結果によると、骨髓芽球、前骨髓球の如き未分化のものはGeneration timeが9時間であり、骨髓球では16～18時間である。

細網細胞が比較的高い摂取率を示し、又高い平均感光銀粒子数を示す事は、之がE.Cronkite,

Fig. 9 (a) CONTROL

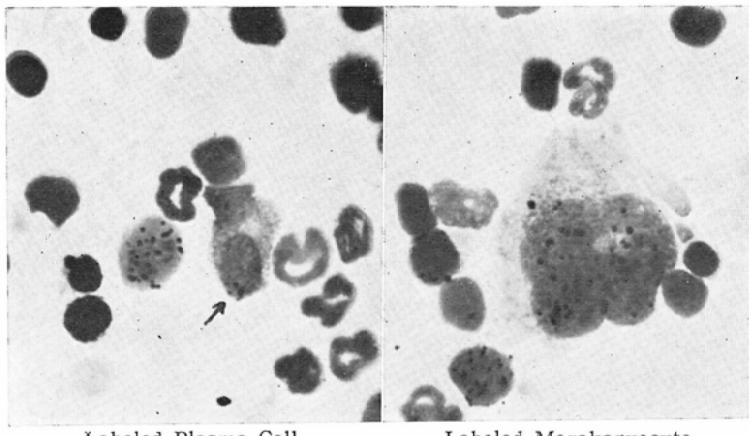


Fig. 9 (b) CONTROL

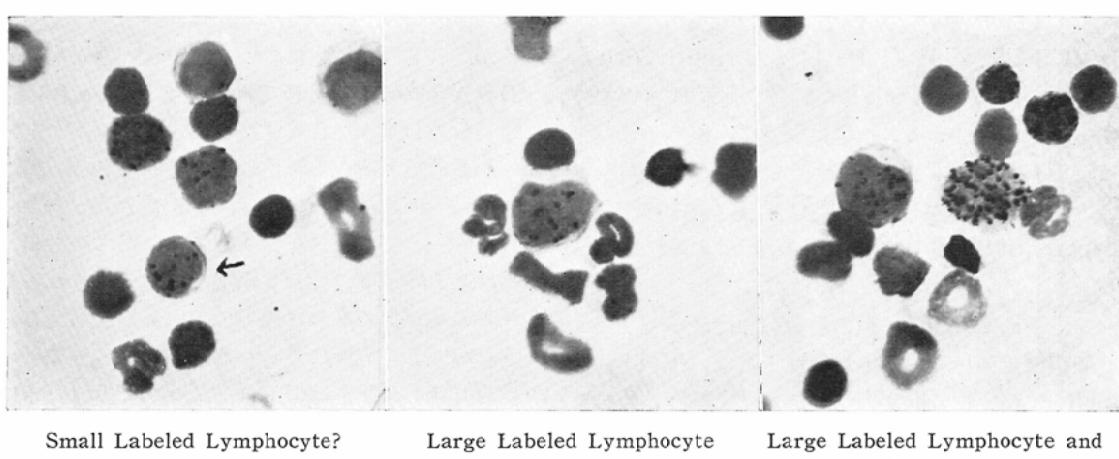


Fig. 10 (a) 20 HOURS AFTER 600r TOTAL-BODY IRRADIATION

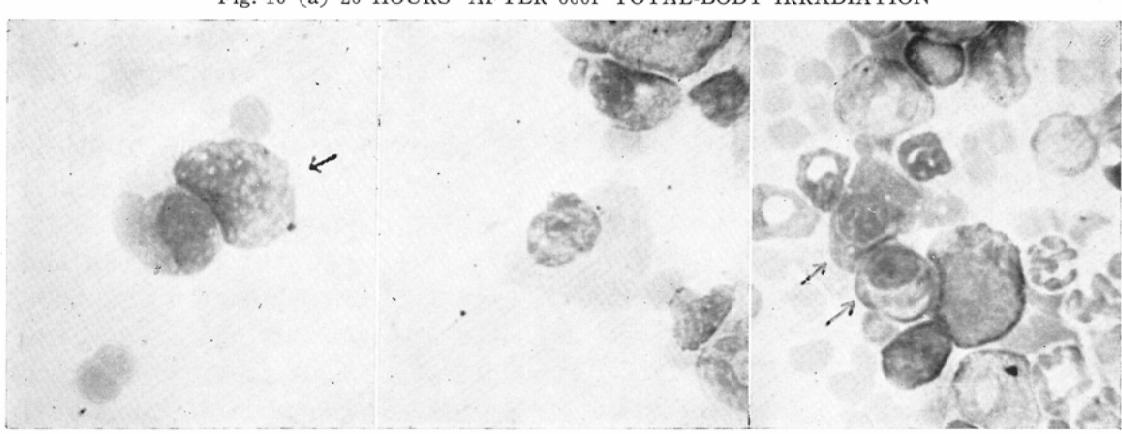
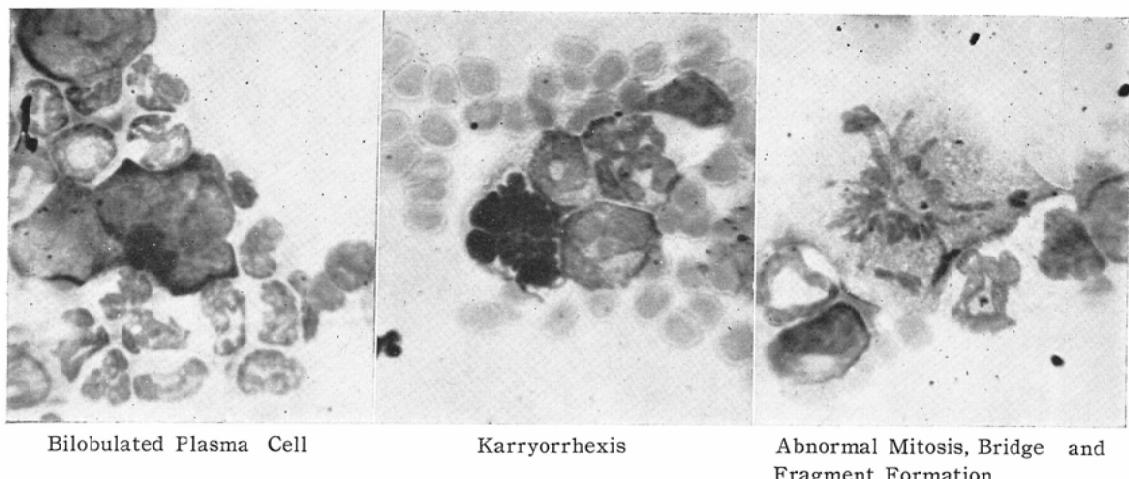


Fig. 10 (b) 20 HOURS AFTER 600r TOTAL-BODY IRRADIATION



D. Bond⁷⁾ 等の所謂 P P P 細胞 (Primitiv Progenitor Pool of Cells) の範疇に属するものである事を想像させる。彼等によれば、かかる細胞は造血組織のみならず淋巴腺、脾臓、腸管の結締織内にも広く存在し、非常時に動員されその Pluripotential 性を發揮するものと考えられている。

⑤ 平均感光銀粒子数の度数分布に就いて
細胞核上に見られる感光銀粒子数は、³H-Thymidine の利用時間が同一であれば、細胞核の中への ³H-Thymidine の合成量を示す事となる。之は勿論細胞分裂の介在しない条件下であつて、細胞分裂毎に銀粒子数が半減する事は言ふ迄もない。銀粒子の絶対数は、³H-Thymidine の使用量、フィルム曝射時間、又フィルムと標本間の幾何学的条件（核の大きさ如何、細胞とフィルム間距離等）によって相違するが、ここに述べる様な塗抹標本の場合は幾何学的条件が一定と見做されるので（但しその能率如何は不明ではあるが）、同一種の細胞についての DNA 合成能の比較が可能となる⁷⁾。幾何学的条件による誤差は厚い組織切片を取扱う場合には大となるが、薄い塗抹標本では少いものと考えられる。かかる意味に於いて、各種細胞の銀粒子数のヒストグラムをとり参考に供した。銀粒子数は細胞中の放射能の量に比例す

るが、若し同種細胞に於いて、DNA 合成率が全 DNA 合成時間を通じて同一であるとすれば、同一量の DNA が合成されるべきである。一定量の ³H の放射能から単位時間に放射される β 線の数銀粒子の数は Poisson の分布に従うと考えられる⁷⁾²⁸⁾。然し DNA 合成期に入りたてのもの、或は之を終了しつつある細胞では、合成される DNA の量が他のものに比して少いものと考えられる。かくして実際にみられる各細胞上の銀粒子の数のヒストグラムは相当歪んだ Poisson 分布になる事が理解される。又銀粒子数が多くなれば漸次左右対称のヒストグラムを作ることになるであろう。本例では計測した細胞数が少いが一部に明らかにこの関係がうかがわれる。

⑥ 末梢血液中の DNA 合成中の細胞に対する放射線の作用

この細胞の一部は D. Cronkite, D. Bond 等により所謂 P P P の一部として屢々論ぜられたもので、詳細は他の論文にゆずりここには省略するが、三沢⁶⁾²¹⁾²²⁾ が乳幼児に成人の約 20 倍の出現率を示す事、又放射線障害時の態度、各種疾患時の出現状況等を詳細に観察したことを追記したい。大淋巴球状及び小淋巴球が形態学的のみならず DNA 合成能の有無如何により明らかに区別し得られること、又これにも拘らず放射線感受性に著差

を示さなかつたことは、今後の研究対象として興味がある。

Otteson²³⁾ 及び Hamilton²⁴⁾ は、寿命の長短によって淋巴球を2型に区別し、又 Cronkite²⁵⁾ 等はDNA合成能の有無により大一中型淋巴球(单核細胞を含む)、及び小淋巴球を区別し、又 Trowell²⁶⁾ は小淋巴球は分裂能を有しない放射線感受性の高い細胞であると述べている。更に著者の観察に於いてDNA合成能を有する大型細胞中、第3型が他の型に比して著しく高いDNA合成能を示したことは興味がある。

(7) エックス線間接作用の観察

ここでは所謂間接作用(abscopal effect)を絶対細胞数の変動及びDNA合成能に対する影響から観察した¹⁴⁾。DNA合成能を目標とする間接作用の研究はその報告が極めて少く、僅かに Ahlstrom¹⁴⁾ 等が或種のラッテの腫瘍で2000r照射後、遮蔽された腫瘍の³²PのDNA合成が抑えられることを見、Smellie²⁴⁾ 等が家兎の部分的照射後遮蔽された胸腺のDNA合成が1~2日後抑制されたのを報告した程度である。所謂間接作用はtraumaticな影響(著者の実験ではPentothal前麻酔の影響も)及び散乱線の効果も有意な変動を来し得る事が考えられ、充分な対照実験を行わねば簡単に結論し得ない。第1報にも既に述べられた如く、著者の24時間以内の観察方法では、間接作用²⁷⁾は例え存在しても極めて軽度のものであると考案したい。

最後にFig. 9, 10にラベルされた各種骨髄細胞(赤血球系、白血球系を除く)、及びその変性細胞を供覧し、参考の資とする。

結論

ラッテにエックス線全身600r一時照射を行い、骨髄系細胞中、細網細胞、大及び小淋巴球形質細胞等について絶対細胞数形態学的变化を観察すると共に、³H-ThymidineとRadioautograph併用法により、DNA合成能に対するエックス線の影響を24時間に亘り検討した。

大及び小淋巴球は赤血球系幼弱細胞(K₂及びK₁)と同様放射線感受性が著しく高いが、細網細胞及び形質細胞は極めて抵抗性が大であつた。銀粒子数に見られるエックス線のDNA合成抑制は、各種骨髄細胞に於て同様に認められ、6時間後最低となり、12時間後復旧した。又その程度はDNA合成能の高いものの程著明に見られた。ラベルされた細胞と然らざるものとの感受性の比較を行い、之に関する考察を行つた。大及び小淋巴球は前者はDNA合成能を有し、後者は之を欠くが、両者共同程度の高い感受性を示した事は興味がある。更に骨髄各種細胞及び末梢血液中のDNA合成能を有する骨髄各型細胞について、Thymidine摂取率、平均銀粒子数を表示すると共に、又銀粒子数の分布を調査し、その結果について考察を加えた。

又最後にエックス線の間接作用についても若干言及した。

擲筆にあたり御指導、御校閲をいただいた放射線科教室津屋教授に感謝すると共に、研究に協力下された同教室員早野育男及岡野滋樹博士に厚く感謝の意を表す。

文 献

- 1) Lola S Kelly: Effect of Radiation on DNA Synthesis in Mammalian Cells. *Prog. in Biophysics*, 8, 144-163, 1957.
- 2) 津屋旭: 骨髄に対する放射線の作用第1報、赤血球系、日医放誌、20巻、9号、86-94、1960。
- 3) A. Tsuya, V. P. Bond, T. M. Fliedner, L. E. Feinendegen: Cellularity and DNA Synthesis in Bone Marrow Following Total and Partial Body Irradiation. *Rad. Research*(in press)
- 4) 早野育男: 骨髄に対する放射線の作用、第2報、白血球系、日医放誌、20巻、9号、223-239、1960。
- 5) V. P. Bond, E.P. Cronkite, T. M. Fliedner, P. K. Schork: DNA synthesizing Cells in Peripheral Blood of Normal Human Beings. *Science*, 128, 202-203, 1958.
- 6) K. Misawa: DNA Synthesizing Blood Cell Studies by in Vitro Uptake of ³H-Thymidine. *Yokohama Medical Bulletin*, 11, 5, 1960. (in press)
- 7) E.P. Cronkite, T.M. Fliedner, V.P. Bond, J.R. Rubini, G. Brecher, H. Quastler: Dynamics of Hemopoietic Proliferation in Man and Mice Studied by ³H-Thymidine Incorporation into DNA.

Progress in Nuclear Energy Series 4, Vol. 2 Biological Sciences, 92—105, 1959. —8) T. M. Fliedner, E. P. Cronkite, J. R. Rubini, G. Brecher, H. Quastler: Proliferative Potentials of Bone Marrow and Blood Cells Studied by in Vitro Uptake of ³H-Thymidine. Acta Hematologica 21, 1—15, 1959. —9) J. G. Graca, E.L. Garst: Early Blood Changes in Dogs Following Intravenous Pentobarbital Anesthesia. Anesthesiol. 18, 3, 461—465, 1957. —10) E.P. Cronkite: The Hematology of Ionizing Radiation, In C. F. Behrens "Atomic Medicine" Williams & Wilkins Co. Baltimore, 1953. —11) R.B. Painter, J.R. Robertson: Effect of Irradiation and Theory of Role of Mitotic Delay on the Time Course of Labeling of Hela S, Cells With Tritiated Thymidine. Rad. Research. 11, 206—217, 1959. —12) 津屋旭, 早野育男: Tritium の Radioautograph 最新医学。15巻, 4第, 22—32, 1960. —13) L.G. Lajtha, R. Oliver, T. Kumatori, F. Ellis: On the Mechanismus of Radiation Effect on DNA Synthesis. Rad. Research. 8, 1—16, 1958. —14) L. S. Kelly, J. D. Hirsch, G. Beach, W. Palmer: Cancer Research, 2, 490, 1957. —15) E. Shelter: J. Nat. Cancer Inst. 15, 49, 1954. —16) R.B. Painter: to be published —17) E.P. Cronkite, T.M. Fliedner, V.P. Bond, J.S. Robertson: Anatomic and Physiologic Facts and Hypothesis about Hemopoietic Proliferating Systems. The Kinetics of Cellular Proliferation, 1—14, 1959. Grune & Startton Inc. New York —18) V.P. Bond T.M. Fliedner, E. P. Cronkite J.S.

Rubini, J.S. Robertson: Cell Turnover in Blood and Blood-forming Tissues Studied with Tritiated Thymidine. Kinetics of Cellular Proliferation. 188—200, 1959. —19) M. Atlas, V.P. Bond, E.P. Cronkite: Desoxyribonucleic Acid Synthesis in the Developing Mouse Embryo Studied with Tritiated Thymidine. Jour. of Histochem. and Cytohem. 8, 3, 171—181, 1960. —20) H. A. Johnson, W. E. Haymaker, J.R. Rubini, T. M. Fliedner, V. P. Bond, E.P. Cronkite, W.L. Hughes: A Radiographic Study of a Human Brain and Glioblastoma Multiforme after the in Vitro Uptake of Tritiated Thymidine: Cancer, 13, 3, 636—642, 1960. —21) K. Misawa: To be published on Yokohama Medical Bulletin —22) J. Ottesen: On the Age of Human White Cells in Peripheral Blood: Acta Physiologica Scand. 32, 75—93, 1954. —24) L.D. Hamilton: Control of Lymphocyte Production: Brookhaven National Laboratory, Symposium, 10, Biology, 10, Upton, N.Y. 1957. —25) O.A. Trowell: The Sensitivity of Lymphocytes to Ionizing Radiation. J. Path. & Bact. 44, 687—701, 1952. —26) R.M.S. Smellie, G.F. Humphery, E. S. M. Kay, J.N. Davidson: Bioch. J. 60, 177, 1955. —27) 足立忠他: 造血臓器(骨髄)に対する放射線の作用(間接作用について) 日医放誌, 9, 39, 1949. —28) H. Levi and A. Nelson: Quantitative Evaluation of Autoradiograms on the Basis of Track or Grain Counting. Laboratory Investigation, Vol. 8, No. 1, 82—93, 1959.

The Effect of X-ray Irradiation on Rat Bone Marrow by Autoradiographic Studies using Tritium Labeled Thymidine

3 Report. Comparison of Various Kinds of Bone Marrow Cells and Peripheral Blood Cells. Some Considerations on Abscopal Effect of X-Irradiation

By

Ryuichiro Watanabe

from

The Department of Radiology, Yokohama University Hospital, Yokohama, Japan

Summary

Rats were exposed to 600 r total-body irradiation and the absolute cellularity, cytology and ability to synthesize DNA, using tritiated thymidine and autoradiography

were studied in reticulum cells, large and small lymphocytes, plasma cells of bone marrow and peripheral blood cells over the first 24 hours following exposure.

It was found that the large and small lymphocytes are equally very radiosensitive same to K-1 and K-2 cells of the erythropoietic series.

The reticulum and plasma cells were radioresistant.

The maximum inhibitory effect on DNA-synthesizing ability, indicated by reduced grain counts, was observed at 6 hours after irradiation, followed by gradual recovery to normal after 12 hours on all kinds of bone marrow cells. The grade of inhibition was greater in cells with greater DNA-synthesizing ability.

The radiosensitivity between labeled and unlabeled cells was compared and discussed. It was noted the large and small lymphocytes are equally radiosensitive, irrespective of their DNA-synthesizing ability.

The percent of tritiated thymidine uptake, distribution of grain counts over cells and their mean grain counts were tabulated, regarding all kinds of bone marrow cells and peripheral DNA-synthesizing blood cells. No or minimum DNA-synthesizing ability was found in small lymphocytes and plasma cells.

The abscopal effect of X-irradiation in the shielded side was found minimum under the experimental conditions studied.
