



Title	X-線照射鶏胎への廿日鼠服水腫瘍の移植について
Author(s)	永井, 春三; 三浦, 貴士
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1958, 18(4), p. 490-495
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/16136">https://hdl.handle.net/11094/16136</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

# X-線照射鶏胎への廿日鼠腹水腫瘍の移植について

大阪大学医学部放射線医学教室  
永井春三 三浦貴士

(昭和33年3月9日受付)

(本研究は文部省科学研究費によつて行つた。茲に厚く謝意を表する)  
(本論文の要旨は昭和31年12月第50回日本医学放射線学会関西部会に報告した)

## 緒 言

放射線を照射せる動物に腫瘍を移植するという研究は古くより行われ興味ある知見が報告せられている<sup>1)</sup>。三浦<sup>2)</sup>は Ehrlich 癌を孵化鶏卵の漿尿膜に移植するという実験方法を用い種々の條件の X 線照射が其れに及ぼす影響を観察してきた。その中で孵化鶏卵を豫め X 線照射しておいて腫瘍を移植した場合、漿尿膜に増殖せる腫瘍の DNA 量を定量してみると非照射の場合に比しその含量は著しく少いことを見出した。之は癌細胞数の少いことを表わしており、著者はこの現象は母地組織よりする生物學的間接作用によつて癌の増殖が抑制せられるものと考えた<sup>3)</sup>。一方同じ実験に於て Ehrlich 癌は漿尿膜にて繼代接種は不能であるが移植前にその都度 X 線照射を行つておくと 3 代までは略々繼代することが出来るということがわかつた。之は X 線の前照射によつて移植され易くなつたことを物語つており前者と矛盾する結果となつた。この現象は著者の実験のみならず文献上にも見出されることである<sup>5)6)7)8)</sup>が未だ之が系統的解説はなされてないようである。又著者の前の実験に於ては移植率に關する観察はなされなかつたので之を補足する意味と上述の矛盾に對する何等かの解釋が得られないだろうかといふ見地より本研究を試みた。今回も移植性腫瘍としては Ehrlich 癌と同様の廿日鼠の腹水腫瘍で其れより移植率がやゝ劣り且放射線感受性の高い Sarcoma 180 を用いた。而して移植率並に腫瘍の形態學的變化に對する X 線量の變動或は照射より移植

までの時間的差等の影響について観察したので報告する。

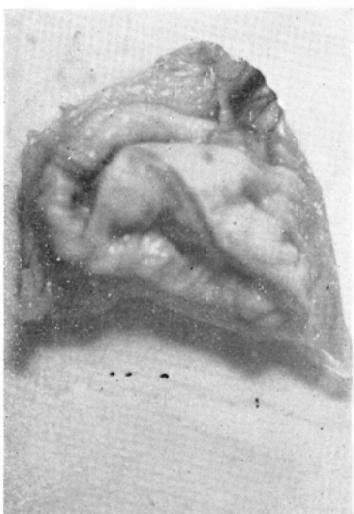
## 實 驗

鶏胎は市販の名古屋コーチン或は白色レグホン種の受精卵を 38°C、相対湿度 45~60% で孵化せしめたものである。移植に用いる腫瘍細胞としては Sarcoma 180 の腹水腫瘍細胞を 18~20 g の廿日鼠の腹腔内へ繼代移植した腹水を用いた。移植には新鮮な腹水に滅菌生理的食鹽水を倍量加えペニシリン並にストレプトマイシンを添加、約 30 分氷室に保存し管底に沈澱した濃厚な細胞層を再び生理的食鹽水にて均等化しその 0.1 ml を 1 個の卵の漿尿膜上に滴下した。

漿尿膜への移植は著者の考案せる Burnet 法の變法によつた。即ち孵化 8~9 日の鶏卵の氣室部の胎兒の附着せる側に於て直徑約 0.5 cm の穴を漿尿膜の邊縁に可及的近接して開ける。而してこの窓を通じて分岐部の殼膜をピンセットにて開き窓側を上にして置くと漿尿膜は殼膜より容易に剝がれ Burnet 法と同様の人工氣室が出来る。窓はセロファン紙とパラフィンにて封じる。この方法によると人工氣室の漿尿膜の中央部に腫瘍細胞を移植し得ると共に漿尿膜の癒着が少く死亡數も少いことが見出された。

X 線照射條件は 160 KV P, 6 mA, 0.5 mm Cu + 0.5 mm Al の濾過板、HVL 0.8 mm Cu、距離 23 cm にて 34 r/min. であつた。約 9 個の鶏卵をボール紙箱に容れ室温にて 1 回照射を行つた。對照群も略々同數を鉛板にて被い同室内に置いた。

第 1 図



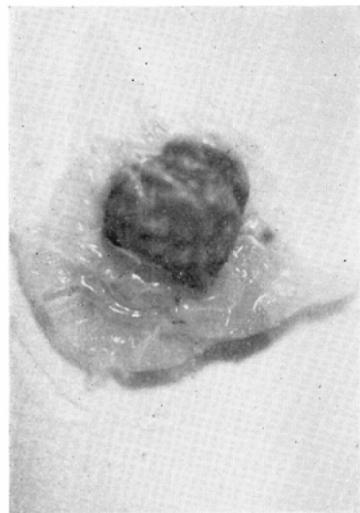
第 2 図



第 3 図



第 4 図



第1図：隆起性多く辺縁不整で典型的腫瘍を形成する、之をⅠ型とする。

第2図：Ⅰ型に属する腫瘍と黒く見える腫瘍とが混在している。之をⅡ型とする。尚黒色の部分は隆起しているのであるが写真の都合で扁平に見えている。

第3図：ポリープ状の隆起を示し全体が壊死になる。之をⅣ型とする。

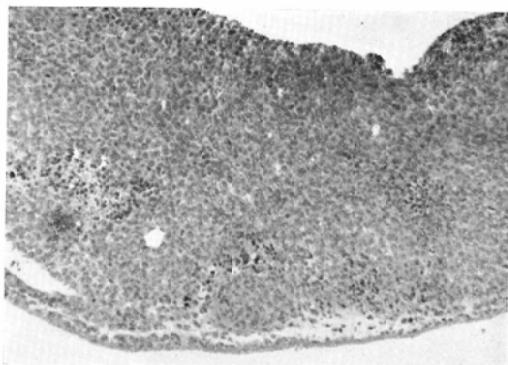
第4図：墳火口状を呈した腫瘍で周縁は隆起し、中心部は平板状となる。

写真はカルノア液にて固定後漿尿膜側より撮影してある。腫瘍の大きさは0.2～2cmである。

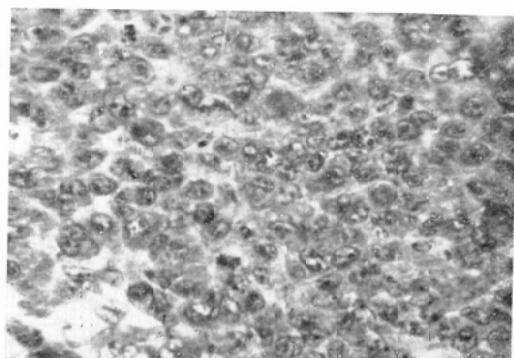
生存率、移植率並に形態學的變化の観察は、移植後4～6日目に行つた。其れには氣室部の漿尿膜を可及的廣く切除し Carnoy's solution にて固定

した。これによつて腫瘍部分が肉眼的に觀察され易くなる。固定後常法の如く切片を作製し Hematoxylin-Eosin 染色し顯微鏡下にて観察する。移

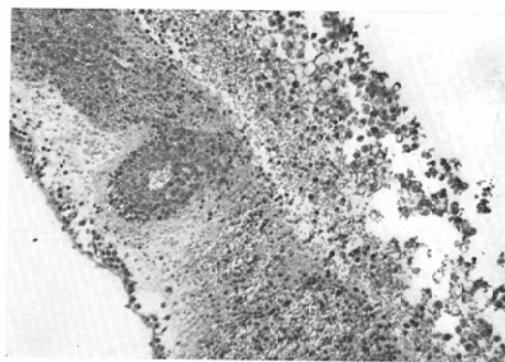
第 5 図



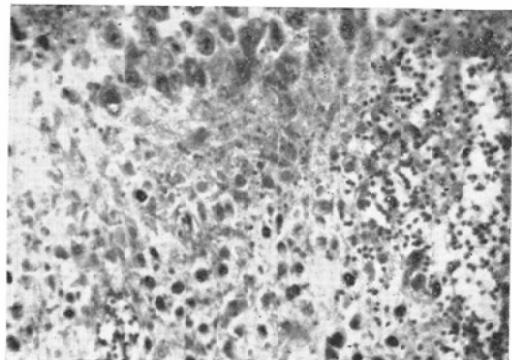
第 6 図



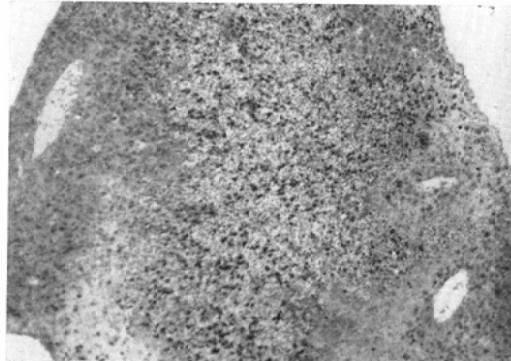
第 7 図



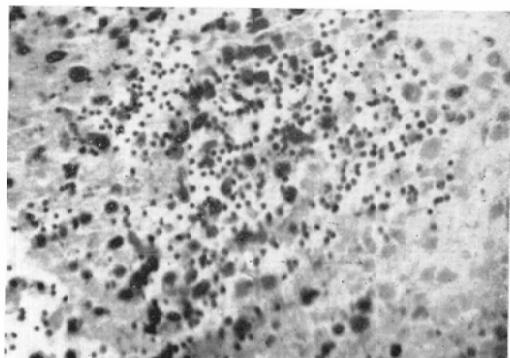
第 8 図



第 9 図



第 10 図



第5, 6図：正常の像、第6図は強拡大、多數の分裂細胞あり、細胞の核膜、核小体は明瞭で旺盛な増殖を示していることが知られる。

第7, 8, 9, 10図：X線 500照射し2～3時間後に移植、5日目の腫瘍組織；第8, 10図は強拡大、典型的壞死像を示している。細胞の核濃縮、崩壊、融解が見られ細胞の消失を来たした部分もあり、又血球の浸潤が著明に起つている。血管周囲の細胞は残存し環状に配列している。Ⅲ型に多く見られる。第9, 10図は中心部の細胞融解を起した部分に血液細胞の著明な浸潤がある。周辺部には健常細胞が見られる。Ⅳ型に多く見られる像である。

第1表 鶏胎の生存率並にその漿尿膜への廿日鼠腹水腫瘍の移植率とX線照射との関係について

	X線量 (r)	生存率* (%) 並に生存数 (括弧内)		移植率** (%) 並にその 数(括弧内)	
		対照群	照射群	対照群	照射群
A	100	79 (15)	80 (16)	66 (10)	75 (12)
	300	90 (18)	84 (21)	66 (12)	86 (18)
	500	85 (23)	90 (27)	61 (14)	88 (24)
	700	83 (15)	60 (15)	60 (9)	80 (12)
B	100	87 (14)	85 (12)	57 (8)	67 (8)
	300	78 (14)	93 (14)	64 (9)	93 (13)
	500	85 (17)	88 (15)	65 (11)	94 (14)

鶏胎は移植後4~6日目に観察した。

A群はX線照射後2~3時間に移植したもの  
B群はX線照射後24時間に移植したもの

\* 移植用に用いられた卵数に対する生存卵数の比

\*\* 生存卵数に対する腫瘍増殖が認められた卵数の比

第2表 鶏胎の漿尿膜に増殖せる腫瘍の肉眼的観察による分類とそのX線照射との関係について

X線量 (r)	対照群				照射群			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
A	100	80	20	—	—	75	25	—
	300	83	17	—	—	56	11	22
	500	71	29	—	—	42	20	20
	700	67	33	—	—	50	—	50
B	100	62	38	—	—	75	25	—
	300	56	44	—	—	31	31	23
	500	91	9	—	—	43	14	29

値は(%)にて表わしてある。

I型は第1図、II型は第2図、III型は第3図、IV型は第4図に示してある。

植の判定は肉眼的並に顕微鏡的所見をもととして行つた。

## 結果

### 1. 鶏胎の生存率並にその漿尿膜への廿日鼠腹水腫瘍の移植率とX線照射との関係:

成績は第1表に示してある。生存率は移植操作による機械的傷害或は細菌感染等により左右されるが略一定している。700r照射群のみが60%の値を示し照射による影響がみられる。移植率は対照群では57~66%であるに對し照射した場合、A群は300r以上になると80~86%となり明らかな上昇がある。100rは有意な差はないようである。B群は300rと500rにて夫々93%, 94%と著明な上昇があり之はA群より更に高率で照射直後よりも24時間に移植した方がより移植し易いことが理解される。X線量との相関性は認められない。

#### 2. 形態學的所見:

a) 肉眼的観察では略4型に分類し得ることがわかつた。寫眞の第1圖、第2圖、第3圖、第4圖が夫々I型、II型、III型、IV型に相當している。

その発生率の分布は第2表に示してある。

対照群は全てI型或はII型に屬し就中I型の發生が高率である。所が照射群をみるとIII型、IV型に屬するものが發生している。100rはA群、B群共にないが300r以上に認められる。このIII型、IV型の發生はX線照射による結果と見做される。この分布とX線量との關聯性には一定の傾向は認められない。

b) 組織學的所見は寫眞の第5圖~第10圖に示してある。X線照射による影響は廣範且深刻な壞死細胞の出現である。この壞死像は300r以上より認められ500rでは全てに於て観察される。又B群に於ても500r照射にて認められた。尚對照の腫瘍組織の中心部にも軽度の壞死並に血球の浸潤が認められ而も腫瘍の大きい程範囲も廣いが照射群の其れに比すれば一見して區別し得る程異つている。

c) 肉眼的所見と顯微鏡的所見との關聯についてはI型II型に屬するものでも500r以上の照射では全てに著明な壞死細胞の發現がある。

II型の肉眼的に壞死組織と見られた部分は、第9, 10圖の像を呈している。III型も又全てかゝる細胞にて充満している。IV型のものは第7, 8圖の像

を示し細胞の核濃縮、崩壊、融解が見られX線を直接照射した時と同様の変化を惹起する型である。

### 考 按

Murphy<sup>1)</sup>は廿日鼠の移植性腫瘍をX線照射せる大黒鼠の皮下に移植し異種動物内にも拘らず腫瘍細胞の旺盛な増殖を示すを見出した。之は抗体産生に關聯を有する淋巴臓器を特に強くX線が障害するために異種の腫瘍に對する抗体産生能力が低下或は消失を來す爲に起る現象であると説明している。移植性腫瘍細胞が異種動物に繼代し得ないのは異種組織に對する免疫が發生するによることは廣範な研究によつて知られている。最近種々の人癌を實驗動物へ繼代移植し化學療法の研究に資せんとする試みがなされているが放射線にて豫め動物を處置しておくと移植が容易であることが知られている<sup>10)11)12)13)</sup>。要之放射線は免疫性の發生を障害し異種動物内での癌細胞の増殖を容易ならしめると考えられている<sup>14)15)</sup>。鶏胎はかかる異種細胞に對する抗体産生がない爲にウイルス、リケツチア其他組織細胞の培養に用いられていること衆知の通りであり Murphy<sup>16)17)</sup>は鶏胎には免疫學的防禦力は免除しているが成熟と共に發現してくると述べている。本研究では非照射の場合は約60%の移植率があるに對し照射によつて80%以上の上昇が見られた。廿日鼠の腹水腫瘍に對する免疫が鶏胎にも存在し得ない理由はない。以上のことより著者等は鶏胎にも或程度の免疫學的防禦力が存在するものと考える。

DNAを指標としての増殖細胞が前照射によつて減少するというさきの實驗成績と今回の結果は一見矛盾する如く思われるがこの關聯について考えてみる。移植せられた腫瘍細胞は前照射によつて壞死を起しやすいことが本實驗で示された。之はさきの實驗でも指摘しておいたが核酸定量では健常細胞しか把握出来ない。たとえ腫瘍は大きくとも壞死細胞が多ければ核酸量は少くなる。著者等<sup>2)18)19)20)21)22)23)</sup>は組織細胞核酸量に對するX線の影響に對する一連の成績によつて放射線による組織内のDNA量の減少はその際の細胞の破壊

によつて惹起されるものでありDNA量の減少率をもつて放射線による障害度の指標となしうることを指摘してきた。従つてさきに観察したDNA量の減少は腫瘍の増殖の抑制によるよりも多數の壞死細胞が發現すると考えるのが妥當である。

この壞死は何故に惹起せられるか。生物學的間接作用のみに由来すると余りにも破壊現象が強すぎるように思われる。上述の如く防禦力の障害せられた個体では腫瘍細胞の増殖は容易になつてゐるが、ある期間経ると防禦力の回復或は發現が起つてくる。而して容易に増殖し得た細胞はこの防禦力に抗し得ず破壊されやすい状態になる。之は肉眼的観察のⅢ型を考えるに適切である。一方非照射の場合は初めより防禦力に抗しつゝ増殖するために移植は劣るが抵抗性のある細胞として増殖しているので壞死に陥り難いとする考え方もある。

然しこの壞死の發生を組織學的所見よりして防禦力との關聯のみで解決し難い點がある。其れは第7圖第8圖の照射群に於て示された像である。特にⅣ型に屬するものの所見は明かに生物學的間接作用によつたと思われるものである。之が漿尿膜の障害を前提として起つたものか或は毒性のある二次產物によつたかは推量することは出来ないが之等の變化は防禦力の機構のみでは理解し難い所見である。

従つて著者等のさきの實驗の結果は之等の作用の混合したものゝ結果であるように考える。

### 総 括

X線照射鶏胎の漿尿膜に廿日鼠の移植性腹水腫瘍細胞(Sarcoma 180)を移植し主としてその移植率並に増殖せる腫瘍の形態學的變化について研究した。その結果は次の如くである。

- 1) 鶏胎の生存率は700r照射群に於て低いがそれ以下のものでは著差はない。
- 2) 移植率は300r以上の照射にて明かな上昇が見られた。又照射直後に移植するよりも24時間後の方がより高率である。X線量との關聯はみられない。
- 3) 形態學的観察は肉眼的に300r以上の照射

によつて對照群にはみられない形態をした腫瘍が發生した。

顯微鏡的には 300r 以上の照射にて著明な壞死細胞の出現を示した。

本研究に際して 大阪大学微生物病研究並に同附属病院より御便宜を戴いたことを感謝する。

#### 参考文献

- 1) Murphy, J.B.: J.A.M.A. 62 : 1459, 1914.
- 2) Miura, T.: Med. J. Osaka Univ. 6 : 505—513, 1955.
- 3) Nagai, S. and T. Miura: Med. J. Osaka Univ. 7 : 281—285, 1956.
- 4) Miura, T.: 未発表.
- 5) 中塚春夫: 日医放誌, 第8巻1号: 30, 1948.
- 6) Stenstrom, K.W., H. Vermund, D.G. Mosser and J.F. Marvin: Radiation Res. 2 : 180—191, 1955.
- 7) Vermund, H., K.W. Stenstrom, D.G. Mosser and E.A. Johnson: Radiation Res. 5 : 354—364, 1956.
- 8) Russ, S. and G.M. Scott: Brit. J. Radiol. 13: 267—272, 1940.
- 9) Beveridge, W.I.B. and F.M. Burnet: The cultivation of viruses and rickettsiae in the chick embryo. London, 1946.
- 10) Toolan, H.W.: Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 77 : 572—578, 1951.
- 11) Toolan, H.W.: Rroc. Soc. Biol. and Med. 78 : 540—543, 1951.
- 12) Sommers, S.C., B.A. Sullivan and S. Warren: Cancer Res. 12 : 915—917, 1952.
- 13) Bollag, W. and C. Meyer: Experimentia 10: 215—216, 1954.
- 14) Lorenz, W.: Strahlentherapie 100 : 104—112, 1956.
- 15) Boone, I.U.: Radiation Res. 5 : 450—458, 1956.
- 16) Murphy, J.B.: J.A.M.A. 59 : 874—875, 1912.
- 17) Murphy, J.B.: J.A.M.A. 62 : 199, 1914.
- 18) 川本溢雄: 日医放誌, 第16巻7号, 1956.
- 19) Sugiyama, T.: Med. J. Osaka Univ. 7 : 391, 1956.
- 20) Miura, T., S. Mori, I. Kawamoto and S. Nagai: Gann 48 : 1—7, 1957.
- 21) 永井春三, 三浦貴士, 杉山直, 岡本溢雄: 大阪医誌, 第9巻, 8号, 1957.
- 22) Miura, T. and S. Nagai: Med. J. Osaka Univ. 8 : 55, 1957.
- 23) 永井春三, 三浦貴士, 杉山直, 川本溢雄: 日医放誌, 第17巻, 10号: 1119, 1958.

#### Transplantation of the Mouse Ascites Tumor in the X-Irradiated Chick Embryo.

By

Shunso Nagai and Takashi Miura

From the Department of Radiology, Osaka University Medical School.

The mouse ascites tumor (Sarcoma 180) was transplanted by means of the modification of the Burnet's method into the chorioallantoic membrane of the x-irradiated chick embryo. Transplantability and the morphological change of the tumor were observed.

The results were as follows:

- 1) Survival rate of the chick embryo decreased by a exposure of 700r and no recognizable changes were induced by the other lower doses of X-rays.
- 2) Transplantability increased in irradiated cases of more than 300r and their rate were higher in groups being transplanted at 24 hours than in those at 2—6 hours after x-irradiation. The relationship of transplantability with X-ray doses was not obtained.
- 3) Morphologically the abnormal findings were seen with the naked eye in irradiated groups of more than 300r. In the microscopical observation the intensive and extensive necrosis of the tumor cells were produced by a exposure of more than 500r.