



Title	Ehrlich 腹水癌細胞に及ぼす放射線の影響に関する研究 (其の1) 染色体倍数性の相違による放射線感受性について
Author(s)	吉久保, 邦彦
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1968, 28(1), p. 72-88
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/16470">https://hdl.handle.net/11094/16470</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

# Ehrlich 腹水癌細胞に及ぼす放射線の影響に関する研究

(其の1) 染色体倍数性の相違による放射線感受性について

東京慈恵会医科大学放射線医学教室 (主任: 中原一臣教授)

吉久保邦彦

(昭和42年8月23日受付)

The Effect of Radiation on Ehrlich Ascites Tumor Cells  
(Part 1.) Relationship between Chromosome Ploidy and Radiosensitivity  
in Metastasized Tumor Cells

By

Kunihiko Yoshikubo

Department of Radiology, Jikei University School of Medicine, Tokyo, Japan

(Chief: Prof. Kazuomi Nakahara)

The author is to detect the radiosensitivity between hyperdiploid and polyploid cells, because there were differences in appearance of polyploid cells between primary and metastatic tumor cells (hyperdiploid Ehrlich ascites tumor) on my previous study. The results were as follows.

1. On the mitotic rate, observing them timely after irradiation the metastatic tumor cells were more radiosensitive than primary tumor cells.
2. The frequency of chromosome breaks, lagging chromosomes and chromosome bridges per cell was found to be approximately proportional to the chromosome number, while frequency per chromosome was the same.
3. The frequency of cells with micronuclei in metastatic tumor cells was higher than primary tumor cells in number.
4. The frequency of polynuclei was more higher on irradiated tumor cells than immediately before irradiation, however there was no differences between the primary and metastatic tumor cells.
5. The polyploid cells were more sensitive than hyperdiploid cells with X-ray irradiation.

## 目次

第I章 緒言

第II章 癌細胞転移による染色体倍数性の変化に関する実験

第I節 各臓器への癌細胞転移について

第I項 実験材料並びに方法

第II項 実験成績

第II節 肝臓転移癌細胞の染色体倍数性の変化に

ついて

第I項 実験材料並びに方法

第II項 実験成績

第III章 染色体倍数性の相違による放射線感受性に関する実験

第I項 実験材料並びに方法

第II項 実験成績

第IV章 総括

第V章 考 按  
 第IV章 結 論  
 文 献

## 第I章 緒 言

癌細胞の分裂像の異常，ことに polyploid 細胞の存在は Boveri<sup>3)</sup>以来多くの研究者により注目されてきた。1950年代に入つて実験腹水癌による染色体研究が盛んになり，環境によつて癌細胞の染色体倍数性 (chromosome ploidy) が影響を受けるといふ報告が幾つかみられる<sup>9)10)30)40)43)48)50)51)</sup>。これらの報告の中でも Ehrlich 腹水癌を用いた Yoshida, T.H.<sup>50)51)</sup>の実験並びに著者等<sup>48)</sup>の実験では，転移によつて染色体倍数性が大きく変化することが知られており，さらにその転移癌細胞を腹水型として戻しても移植8世代以上にわたつてそのまま維持されることが知られている。

これら染色体倍数性の変化による放射線感受性については，いまだ一定した結論が得られていない。すなわち haploid 細胞の放射線感受性が最も高く倍数性が増すにつれて低くなるとするもの<sup>6)14)16)25)27)29)32)33)34)35)45)</sup>，倍数性が大きいものほど放射線感受性が高いとするもの<sup>2)4)37)</sup>，さらに倍数性と放射線感受性の間には明らかな関係が認められないとするもの<sup>15)20)26)</sup>，等の報告がなされてきた。

著者等の研究室では1960年以来 hyperdiploid の Ehrlich 腹水癌を維持してきており，その中には常に少数の polyploid 細胞が含まれている<sup>48)50)</sup>。

著者は，転移によつて polyploid 細胞の含有率が大きく変化することに注目し，原発癌細胞と転移癌細胞の放射線感受性について染色体学的検索をおこなつた。

## 第II章 癌細胞転移による染色体倍数性の変化に関する実験

### 第I節 各臓器への癌細胞転移について

実験腹水癌を用いた転移に関する実験は数多く報告されているが，主として脈管系に癌細胞を移植し転移を観察した研究が多く，自然転移を組織学的に究明しているものは少ない。

Ehrlich 腹水癌は腹腔内では腹水型として，ま

た皮下においては固型腫瘍として増殖するが，転移に関する実験も幾つかみられる<sup>28)46)</sup>。Nabeshima<sup>28)</sup>は Ehrlich 腹水癌を用いて尾静脈に種々の量の癌細胞を移植し肝臓，肺臓，脾臓等への転移を組織学的に観察している。一方 Yoshida, T.H.<sup>40)</sup>は吉田肉腫を用いて，移植後7日目の肝臓及び肺臓組織片をラット腹腔内へ移植すると組織へ浸潤していた癌細胞が再び free cell の状態で腹水型として増殖することを認め，間接的に転移のあつたことを証明している。

著者は以上の癌細胞転移に関する実験を hyperdiploid Ehrlich 腹水癌について確認するため，組織学的検索をおこなつた。

### 第I項 実験材料並びに方法

実験材料：実験に使用した Ehrlich 腹水癌は国立遺伝学研究所の Yoshida, T.H.<sup>38)44)</sup>が Harvard 大学から持ち帰つた系統で，染色体数46本を mode とする hyperdiploid (以下2nと略す)の腫瘍であり，その中には平均6%の polyploid 細胞が混在している<sup>48)</sup>。Ehrlich 腹水癌には3系統存在し<sup>1)</sup>，本邦において研究されてきたものは主として hypotetraploid の系統であり<sup>32)</sup>，染色体観察のためには2nの系統の方がより有利であるが本邦ではほとんどその研究がなされていない。

実験に使用した動物は生後40日，体重16~18gの雄性の純系 Swiss Albino 系マウスである。

実験方法：各臓器への癌細胞転移を検索するために，14匹のマウスを次のごとく各組に分類して使用した。

#### 移植群：

A組 7日目処置群 5匹

B組 14日目処置群 5匹

#### 対照群：

A組 7日目処置群 2匹

B組 14日目処置群 2匹

移植群に対しては腹水癌 0.2cc，細胞数にして  $2 \times 10^7 \sim 3 \times 10^7$  個をマウス腹腔内に移植した。対照群に対しては生理食塩水 0.2ccをマウス腹腔内に注入して対照とした。移植群A組及び対照群A組は，移植後7日目に断頭処置し肝臓，肺臓及び脾臓を摘出して直ちに10%ホルマリン液にて固

Table 1 Histological examination in relation to metastasis to liver, lung and spleen

Days after	7 th day							14th day						
	1	2	3	4	5	cont. 1	cont. 2	1	2	3	4	5	cont. 1	cont. 2
Liver	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-
Lung	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-
Spleen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

cont.: Control + : metastasis positive - : metastasis negative

定した。移植群B組及び対照群B組は、移植後14日目に同様に処置した。摘出した各臓器はH.E.染色による連続切片組織標本を作成し、癌細胞の転移について検索した。

### 第Ⅱ項 実験成績

移植後7日目に断頭処置し検索した群では、Table 1に示すごとく肝臓においては5匹中2匹は転移陽性3匹は転移陰性、肺臓においては5匹中4匹は転移陽性1匹は転移陰性、脾臓において

は全例転移陰性であった。対照群A組においては異常を認めなかつた。

移植後14日目に断頭処置し検索した群では、Table 1に示すごとく肝臓及び肺臓においては全例転移陽性、脾臓においては全例転移陰性であった。対照群B組においては異常を認めなかつた。

転移癌細胞発育の様相の一部はFig. 1, 2に示すごとくで、肝臓では静脈内での癌細胞栓塞及び組織内での結節状の発育としてみられるが、Fig.

Fig. 1 Photomicrographs of liver metastasis 14 days after transplantation ( $\times 100$  and  $\times 400$ )

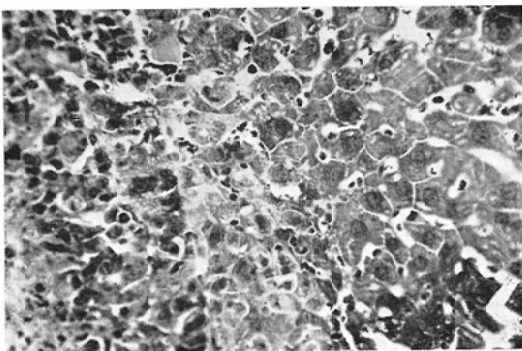
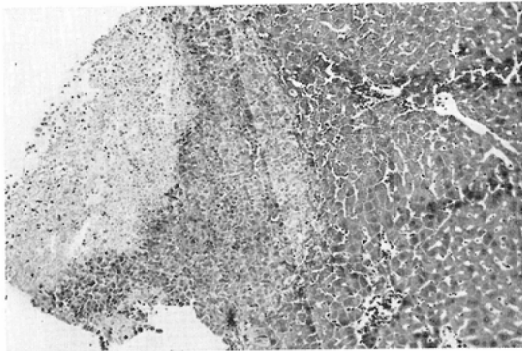
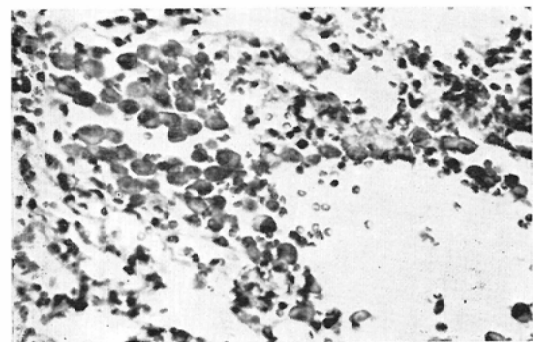
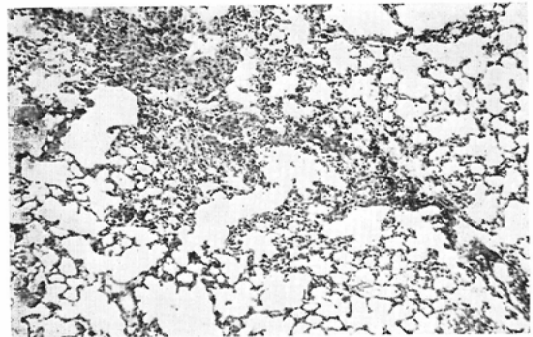


Fig. 2 Photomicrographs of lung metastasis 14 days after transplantation ( $\times 100$  and  $\times 400$ )



1ではその結節状の発育が観察される。肺臓では毛細血管内での癌細胞栓塞及び組織内での結節状の発育としてみられるが、Fig. 2では毛細血管内での癌細胞栓塞が観察される。

**第II節 肝臓転移癌細胞の染色体倍数性の変化について**

癌細胞は一定の環境下においては種族細胞 (stemline cells) が他の変異細胞より盛んな増殖能を示しており、それが異つた環境下に置かれたために倍数性に大きな変化をきたすという報告は幾つかみられる。ことに Yoshida, T.H.<sup>50)51)</sup>は 2n Ehrlich 腹水癌が肺臓に転移すると, polyploid 細胞が著明に増加することを認めており、さらに 2n Ehrlich 腹水癌と hypotetraploid Ehrlich 腹水癌を等量混合して移植し継代移植による両系細胞の消長を観察して、10世代にわたる移植の後に hypotetraploid の細胞は 7%に減少したことを報告している。

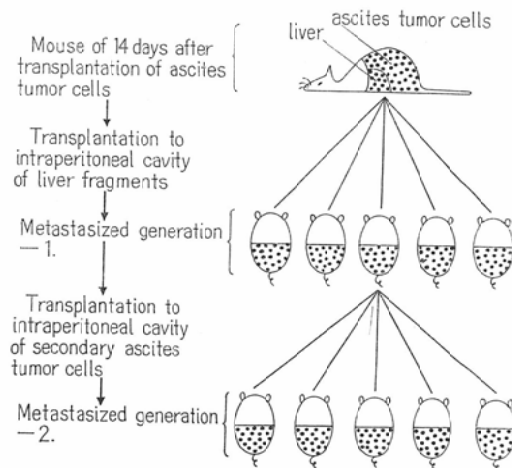
著者は前実験で知られたごとく、組織学的にも確実に転移の認められる移植後14日目の肝臓組織片を他のマウス腹腔内に移植し、新しく得られた腹水癌の 2n 細胞及び polyploid 細胞の割合と、各世代における両系細胞の消長について検索した。

**第I項 実験材料並びに方法**

実験材料：実験腫瘍は 2n Ehrlich 腹水癌、実験動物は生後40日、体重 16~18g の雄性の純系 Swiss Albino 系マウスである。

実験方法：腹水癌 0.2cc をマウス腹腔内に移植し、14日目に断頭処置して肝臓を無菌的に摘出し、その組織を生理食塩水にて洗浄し、37°C の生理食塩水 10cc を満したシャーレ中で可及的細片に

Fig. 3 Scheme of transplanted generations after liver metastasis



した。そして細片液の 0.5cc をマウス腹腔内に移植し Fig. 3 に示すごとく転移 1 代目とした。

転移 1 代目の癌細胞が増殖後、その 0.2cc を次の世代のマウス腹腔内に移植し転移 2 代目とした。それ以後は 7 日目ごとに同様に移植した。このように腹水型に戻して増殖した細胞集団は、肝臓組織内へ浸潤した癌細胞の拡大であると考えられる<sup>50)</sup>。

観察は各世代において、中期分裂細胞 100 個中に含まれる 2n 細胞と polyploid 細胞の割合をしらべた。対照群に対しても同様の検索をおこなった。細胞及び染色体観察方法は、癌細胞を低稠処理後並びに無処置のまま Acetic Dahlia 染色をおこない押しつぶし法<sup>47)</sup>によって標本を作成し観察した。

**第II項 実験成績**

転移 1 代目では移植後18日目に適当量の腹水癌細胞が得られ、Table 2 及び Fig. 4 に示すごとく

Table 2 Percentage of 2n and polyploid cells in liver metastasis

Generation	Control			Metastasis											
	1	2	3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2n cell	93%	94	95	70	70	68	69	71	70	73	74	80	91	94	93
Polyploid cell	7	6	5	30	30	32	31	29	30	27	26	20	9	6	7

All samples comprise 100 metaphasic cells

Fig. 4 Percentage of 2n and polyploid cells in liver metastasis

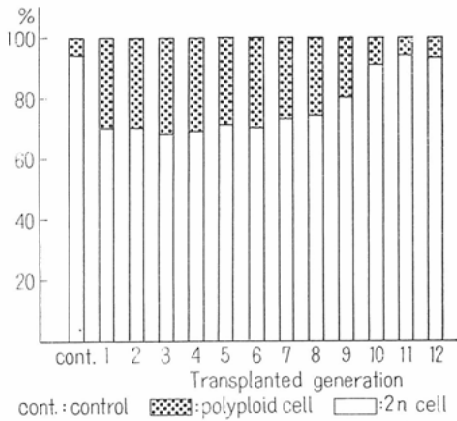
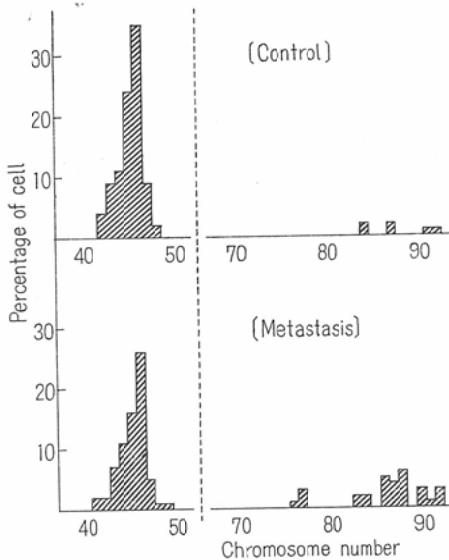


Fig. 5 Distribution of chromosome number in primary and metastatic tumor cells



polyploid 細胞が30%に増加し対照癌に比して倍数性に大きな変化をきたした。

以後継代移植で転移8代目までは polyploid 細

胞は26~32%にあるが、転移9代目では20%、転移10代目では9%と急減し転移11代目では6%と対照癌と同じ染色体数に戻った。対照癌3世代の平均値は2n 細胞94%、polyploid 細胞6%であった。

対照及び転移癌の染色体数分布は Table 3 及び Fig. 5 に示すごとくである。対照癌では染色体数46本に mode を有し全体の35%を占めており、2n 細胞部分は染色体数42本から48本に分布し、polyploid 細胞部分は染色体数84本から92本に分布している。転移癌では染色体数46本に mode を有し全体の26%を占めており、2n 細胞部分は染色体数41本から49本に分布し、polyploid 細胞部分は染色体数76本から92本に分布している。

第III章 染色体倍数性の相違による放射線感受性に関する実験

著者は前実験で知られたごとく、肝臓転移によって同一マウス腹腔内に2n細胞70%、polyploid細胞30%の腹水癌を得たので、これら最も近親な細胞間の放射線感受性について染色体学的検索をおこなった。

検査項目は次のごとくである。

- (1) 分裂頻度について
- (2) 染色体切断及び再結合について
- (3) 遅滞染色体及び染色体橋について
- (4) 小核形成及び多核細胞について
- (5) 2n 細胞及び polyploid 細胞のX線照射後の変動について

第I項 実験材料並びに方法

実験材料：実験腫瘍は2n Ehrlich 腹水癌、実験動物は生後40日、体重16~18gの雄性の純系 Swiss Albino 系マウスである。

実験方法：実験マウスは原発癌を移植した対照

Table 3 Distribution of chromosome number in primary and metastatic tumor cells

Chromosome number	41	42	43	44	45	46	47	48	49	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	Total
Primary tumor cell		4	9	11	24	35	9	2											2		2				1	1	100
Metastatic tumor cell	2	2	7	11	15	26	5	1	1	1	3								2	2	5	4	6	3	1	3	100

群と、肝臓に転移した癌細胞を移植した転移群に分類した。移植は対照群では腹水癌0.2cc, 細胞数にして  $2 \times 10^7 \sim 3 \times 10^7$  個を移植して7日目に実験に供した。転移群では前実験において得た転移2代目の移植後7日目の腫瘍を実験に供した。

X線照射にさいしてはポリエステルで作製した縦10cm, 横8cm, 高さ3cmで縦に2個に区分した固定器を使用し, 対照群及び転移群に対して全身1回250R及び500R照射をおこなった。照射条件は電圧180kVp, 電流15mA, 焦点動物間距離40cm, 濾過板0.7mmCu + 0.5mmAl, 線量率55.9R/minであり, 線量測定にはRadocon (Pr. ov. No. 607) を用いて照射と同時に測定した。

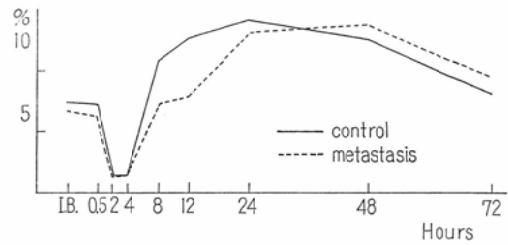
細胞及び染色体観察方法は, 癌細胞を低稠処理後並びに無処置のまま Acetic Dahlia 染色をおこない押しつぶし法によつて標本を作成し観察した。

第Ⅱ項 実験成績

(1) 分裂頻度について

対照及び転移癌について照射直前, 照射後30分, 2時間, 4時間, 8時間, 12時間, 24時間,

Fig. 6 Percentage of mitotic cells after X-Ray irradiation(250R) I.B.: Immediately Before



48時間及び72時間の分裂頻度を観察した。観察は細胞2,000個中に含まれる分裂細胞を分裂各期に分けて算定した。

その結果はTable 4~7及びFig. 6~9に示すごとくである。

250R照射対照癌では照射直前5.9%であるが照射後2時間及び4時間で1.1%と減少し, 8時間で8.6%と再び増加後48時間まで高値を示し, 72時間で元値に復する。

250R照射転移癌では照射直前5.3%であるが照射後2時間で1.0%, 4時間で1.2%と減少し, 以後24時間まで対照癌より低値を示すが, 48

Table 4 Percentage of mitotic cells in control after X-Ray irradiation (250R)

Hours \ Phase	Immed. before	0.5	2	4	8	12	24	48	72
P. P.	2.1%	1.5	0.2	0.3	1.8	2.0	2.8	1.9	1.1
M. P.	1.1	1.1	0.1	0.1	3.4	3.7	3.5	3.0	2.2
A. P.	0.7	0.9	0	0	2.0	1.7	1.6	2.0	1.0
T. P.	1.9	2.3	0.8	0.7	1.4	2.7	3.4	3.1	2.2
Total	5.9	5.8	1.1	1.1	8.6	10.1	11.3	10.0	6.5

All sample comprise 2000 cells

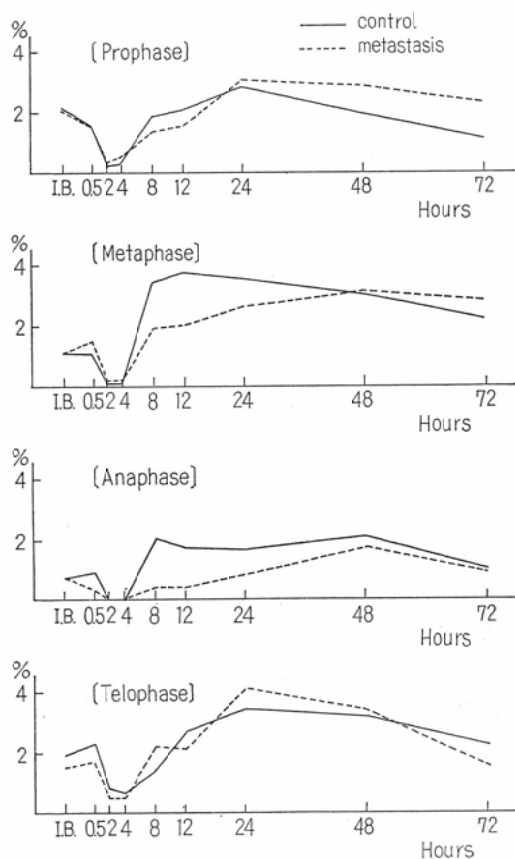
P.P.: Prophase M.P.: Metaphse A.P.: Anaphase T.P.: Telophase

Table 5 Percentage of mitotic cells in liver metastasis after X-Ray irradiation (250R)

Hours \ Phase	Immed. before	0.5	2	4	8	12	24	48	72
P. P.	2.0%	1.5	0.3	0.5	1.3	1.5	3.0	2.8	2.3
M. P.	1.1	1.5	0.2	0.2	1.9	2.0	2.6	3.1	2.8
A. P.	0.7	0.3	0	0	0.4	0.4	0.8	1.7	0.9
T. P.	1.5	1.7	0.5	0.5	2.2	2.1	4.1	3.4	1.6
Total	5.3	5.0	1.0	1.2	5.8	6.0	10.5	11.0	7.6

All samples comprise 2000 cells

Fig. 7 Percentage of mitotic cells in each phase after X-Ray irradiation (250R)



時間で 1.1%, 72時間で 7.6%と対照癌より高値を示す。

250R照射対照及び転移癌を分裂各期についてみると Fig. 7 に示すごとくである。

すなわち前期 (prophase) では両者とも同様の推移を示し、照射後 2 時間で最低値を示し、以後

徐々に増加して 24 時間で最高値を示すが 72 時間では対照癌 1.1%, 転移癌 2.3% で差を認める。

中期 (metaphase) では両者とも照射後 2 時間及び 4 時間で低値を示し、以後対照癌では 8 時間及び 12 時間で高値を示すが、転移癌では 48 時間及び 72 時間で高値を示す。

後期 (anaphase) では両者とも照射後 2 時間及び 4 時間で低値を示し、以後対照癌では 8 時間から 48 時間まで高値を示すが、転移癌では徐々に増加して 48 時間で最高値を示す。

終期 (telophase) では両者とも同様の推移を示し、照射後 24 時間で最高値を示し 72 時間で元値に復する。

500R 照射対照癌では照射後 2 時間から 8 時間まで低値を示し、以後増加して 24 時間で 12.2% と最高値を示し 72 時間では 7.5% を示す。

500R 照射転移癌では照射後 2 時間から 8 時間まで低値を示し、以後増加して 48 時間で 12.0% と最高値を示し 72 時間では 8.5% を示す。

500R 照射及び転移癌を分裂各期についてみると Fig. 9 に示すごとくである。

すなわち前期では両者とも照射後 2 時間から 8 時間まで低値を示し、以後増加して 48 時間で最高値を示すが対照癌 2.6%, 転移癌 3.7% で差を認め、72 時間でも対照癌 1.7%, 転移癌 2.6% で差を認める。

中期では両者とも照射後 2 時間から 8 時間まで低値を示し、24 時間で最高値を示すが対照癌 3.5%, 転移癌 2.3% で差を認める。

後期では両者とも照射後 2 時間から 8 時間まで低値を示し、24 時間で最高値を示すが対照癌 2.2

Table 6 Percentage of mitotic cells in control after X-Ray irradiation (500R)

Phase \ Hours	Immed. before	0.5	2	4	8	12	24	48	72
P. P.	2.1%	1.2	0	0.4	0.3	1.3	2.6	2.6	1.7
M. P.	1.1	1.1	0.2	0.1	0.2	2.4	3.5	2.0	2.3
A. P.	0.7	0.5	0	0	0	0.9	2.2	0.9	0.8
T. P.	1.9	1.7	1.0	0.4	0.8	2.3	3.9	3.3	2.7
Total	5.9	4.5	1.2	0.9	1.3	6.9	12.2	8.8	7.5

All samples comprise 2000 cells

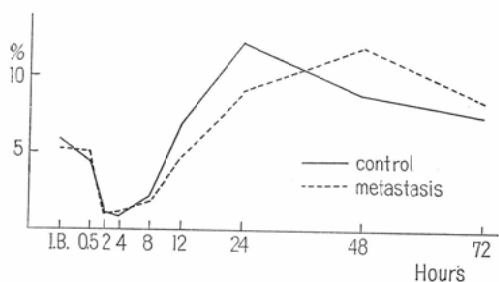


Table 7 Percentage of mitotic cells in liver metastasis after X-Ray irradiation ( 500R )

Phase \ Hours	Immed. before	0.5	2	4	8	12	24	48	72
P. P.	2.0%	1.6	0	0.4	0.3	1.0	2.5	3.7	2.6
M. P.	1.1	1.6	0.2	0.3	0.3	1.1	2.3	1.9	1.6
A. P.	0.7	0.4	0	0	0.1	0.7	1.2	0.9	1.0
T. P.	1.5	1.5	0.8	0.4	1.1	2.0	3.1	5.5	3.3
Total	5.3	5.1	1.0	1.1	1.8	4.8	9.1	12.0	8.5

All samples comdrise 2000 cells

Fig. 8 Percentage of mitotic cells after X-Ray irradiation ( 500R )



%, 転移癌 1.2%で差を認める.

終期では両者とも照射後2時間から8時間まで低値を示し, 対照癌では24時間で3.9%, 転移癌では48時間で5.5%と最高値を示す.

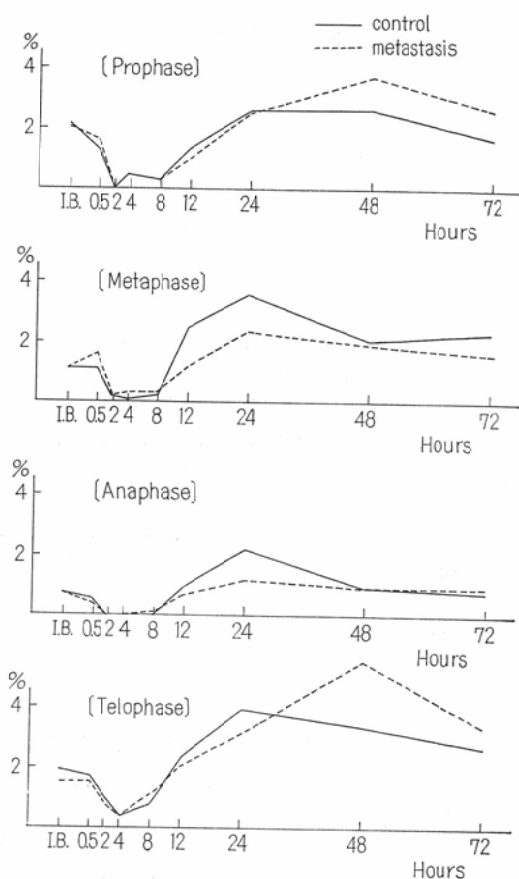
(2) 染色体切断及び再結合について

対照及び転移癌について照射直前, 照射後30分, 8時間, 12時間, 24時間, 48時間及び72時間の染色体切断及び再結合を観察した.

染色体切断の中には2本の娘染色体 (chromatid) の相同部分が切れる染色体切断 (chromosome break) と, 娘染色体の染色分体のみが切れる染色分体切断 (chromatid break) とが含まれている<sup>17)49)</sup>. 切断を起した染色体の過程の1つとして再結合 (reunion) があり, この再結合は二動原体染色体 (dicentric chromosome), 三動原体染色体 (tricentric chromosome) 及び環状染色体 (ring chromosome) 等を形成するが, 顕微鏡下で確実に再結合として認め得るもののみを算定した. 観察は中期分裂細胞20個中に含まれる染色体切断及び再結合の数を算定した.

その結果は Table 8 ~15及び Fig.10, 11に示す

Fig. 9 Percentage of mitotic cells in each phase after X-Ray irradiation ( 500R )



ごとくである.

250R照射対照癌では, 染色体切断は照射後30分で1.2%, 8時間で5.7%と最高値を示し, 以後減少して72時間で1.2%を示す. 染色分体切断は照射後30分で1.5%, 8時間で5.9%と最高値

Table 8 Frequency chromosome breaks and reunion in control after X-Ray irradiation (250R)

Hours	Immed. before	0.5	8	12	24	48	72
Total number of chromosome	1002	929	924	949	956	957	981
Chromosome break	3	11	52	35	36	26	12
Chromatid break	0	14	55	24	17	7	0
Reunion	0	0	11	5	2	0	0

All samples comprise 20 metaphasic cells

Table 9 Percentage of chromosome breaks and reunion in control after X-Ray irradiation (250R)

Hours	Immed. before	0.5	8	12	24	48	72
Chromosome break	0.3%	1.2	5.7	3.7	3.8	2.7	1.2
Chromatid break	0	1.5	5.9	2.5	1.8	0.7	0
Reunion	0	0	1.1	0.5	0.2	0	0

Table 10 Frequency of chromosome breaks and reunion in liver metastasis after X-Ray irradiation (250R)

Hours	Immed. before	0.5	8	12	24	48	72
Total number of chromosome	1191	1162	1053	963	986	1040	1007
Chromosome break	9	18	29	47	35	34	12
Chromatid break	0	39	70	32	30	14	6
Reunion	0	0	35	6	2	0	0

All samples comprise 20 metastatic cells

Table 11 Percentage of chromosome breaks and reunion in liver metastasis after X-Ray irradiation (250R)

Hours	Immed. before	0.5	8	12	24	48	72
Chromosome break	0.8%	1.6	2.8	4.9	3.6	3.3	1.2
Chromatid break	0	3.3	6.7	3.3	3.1	1.3	0.6
Reunion	0	0	3.8	0.6	0.2	0	0

を示し、以後減少して48時間で0.7%を示す。再結合は照射後8時間で1.1%、12時間で0.5%、24時間で0.2%を示す。

Table 12 Frequency of chromosome breaks and reunion in control after X-Ray irradiation (500R)

Hours	Immed. before	0.5	8	12	24	48	72
Total number of chromosome	1002	958	950	903	977	1010	979
Chromosome break	3	20	103	87	55	52	14
Chromatid break	0	25	134	102	47	37	9
Reunion	0	0	35	30	14	12	3

All samples comprise 20 metaphasic cells

Table 13 Percentage of chromosome breaks and reunion in control after X-Ray irradiation (500R)

Hours	Immed. before	0.5	8	12	24	48	72
Chromosome break	0.3%	2.1	10.9	9.7	5.6	5.2	1.4
Chromatid break	0	2.6	14.1	11.3	4.8	3.7	0.9
Reunion	0	0	3.7	3.3	1.4	1.7	0.3

Table 14 Frequency of chromosome breaks and reunion in liver metastasis after X-Ray irradiation (500R)

Hours	Immed. before	0.5	8	12	24	48	72
Total number of chromosome	1191	1144	996	988	1083	1005	960
Chromosome break	9	31	106	123	86	84	15
Chromatid break	0	20	129	112	97	49	12
Reunion	0	0	30	23	21	4	3

All samples comprise 20 metaphasic cells

Table 15 Percentage of chromosome breaks and reunion in liver metastasis after X-Ray irradiation (500R)

Hours	Immed. before	0.5	8	12	24	48	72
Chromosome break	0.8%	2.7	10.6	12.5	8.0	8.4	1.6
Chromatid break	0	1.8	12.9	11.3	9.0	4.9	1.2
Reunion	0	0	3.0	2.3	1.9	0.4	0.3

250R照射転移癌では、染色体切断は照射後30分で1.6%、12時間で4.9%と最高値を示し、以後減少して72時間で1.2%を示す。染色分体切断

Fig. 10 Percentage of chromosome breaks and reunion after X-Ray irradiation (250R)

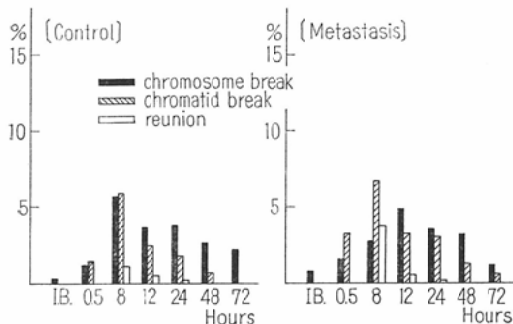
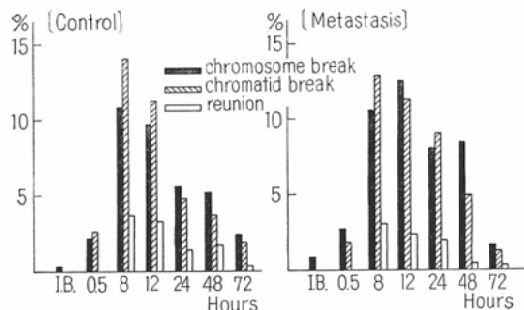


Fig. 11 Percentage of chromosome breaks and reunion after X-Ray irradiation (500R)



は照射後30分で3.3%、8時間で6.7%と最高値を示し、以後減少して72時間で0.6%を示す。再結合は照射後8時間で3.8%、12時間で0.6%、24時間で0.2%を示す。

500R照射対照癌では、染色体切断は照射後30分で2.1%、8時間で10.9%と最高値を示し、以後減少して72時間で0.9%を示す。再結合は照射後8時間で3.7%、以後減少して72時間で0.3%を示す。

500R照射転移癌では、染色体切断は照射後30分で2.7%、12時間で12.5%と最高値を示し、以後減少して72時間で1.6%を示す。染色分体切断は照射後30分で1.8%、8時間で12.9%と最高値を示し、以後減少して72時間で1.2%を示す。再結合は照射後8時間で3.0%を示し、以後減少して72時間で0.3%を示す。

(3) 遅滞染色体及び染色体橋について

対照及び転移癌について照射直前、照射後30

分、8時間、12時間、24時間、48時間及び72時間の遅滞染色体及び染色体橋を観察した。遅滞染色

Table 16 Frequency of lagging chromosomes and chromosome bridges in control after X-Ray irradiation (250R)

Hours	Immed. before	0.5	8	12	24	48	72
Damaged cell	2	29	72	77	74	66	43
Lagging chromosome	1	26	183	155	115	88	40
Chromosome bridge	2	25	64	115	73	36	21

All samples comprise 100 anaphasic cells

Table 17 Frequency of lagging chromosomes and chromosome bridges in liver metastasis after X-Ray irradiation (250R)

Hours	Immed. before	0.5	8	12	24	48	72
Damaged cell	3	35	78	78	71	59	51
Lagging chromosome	3	37	224	215	197	75	90
Chromosome bridge	0	30	93	97	132	49	46

All samples comprise 100 anaphasic cells

Table 18 Frequency of lagging chromosomes and chromosome bridges in control after X-Ray irradiation (500R)

Hours	Immed. before	0.5	8	12	24	48	72
Damaged cell	2	42	85	93	89	85	60
Lagging chromosome	1	57	267	324	311	143	126
Chromosome bridge	2	39	105	160	152	80	65

All samples comprise 100 anaphasic cells

Table 19 Frequency of lagging chromosomes and chromosome bridges in liver metastasis after X-Ray irradiation (500R)

Hours	Immed. before	0.5	8	12	24	48	72
Damaged cell	3	48	89	92	90	85	73
Lagging chromosome	3	52	292	371	367	291	142
Chromosome bridge	0	43	142	180	215	127	80

All samples comprise 100 anaphasic cells

Fig. 12 Frequency of lagging chromosomes after X-Ray irradiation (250R)

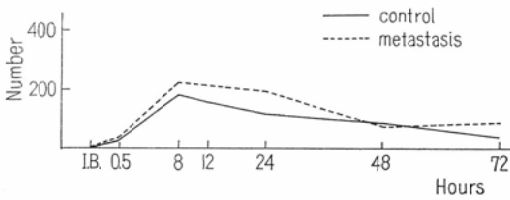


Fig. 13 Frequency of chromosome bridges after X-Ray irradiation (250R)

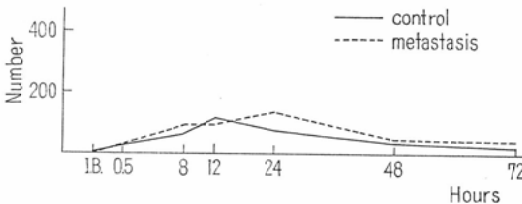


Fig. 14 Frequency of lagging chromosomes after X-Ray irradiation (500R)

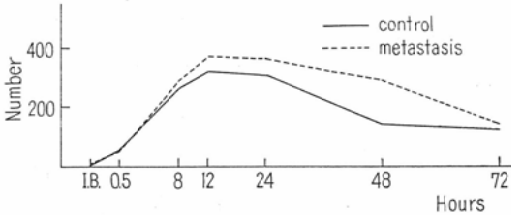
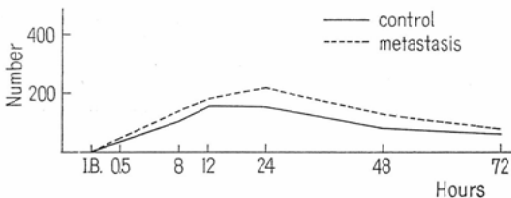


Fig. 15 Frequency of chromosome bridges after X-Ray irradiation (500R)



体 (lagging chromosome) の中には、染色体または、染色体の切断による染色体断片 (fragment) と機能的障害を受けて正常に行動のできない染色体とが含まれている。

染色体橋 (chromosome bridge) は、動原体 (centromere) を持つ娘染色体が切断部位で融合して後期に両極へ移動するさい形成される<sup>17)49)</sup>。観察は後期分裂細胞 100個中に含まれる遅滞染色体及

び染色体橋の数を算定し、同時にそれらを含有する細胞を障害細胞として算定した。

その結果は Table 16~19 及び Fig. 12~15 に示すごとくである。

250R 照射対照癌では、遅滞染色体は照射後 30 分で 26 個、8 時間で 183 個と最高値を示し、以後減少して 72 時間で 40 個認める。染色体橋は照射後 30 分で 25 個、12 時間で 115 個と最高値を示し、以後減少して 72 時間で 21 個認める。

250R 照射転移癌では、遅滞染色体は照射後 30 分で 37 個、8 時間から 24 時間まで高値を示し、以後減少して 72 時間で 90 個認める。染色体橋は照射後 30 分で 30 個、24 時間で 132 個と最高値を示し、以後減少して 72 時間で 46 個認める。

500R 照射対照癌では、遅滞染色体は照射後 30 分で 57 個、8 時間から 24 時間まで高値を示し、以後減少して 72 時間で 126 個認める。

500R 照射転移癌では、遅滞染色体は照射後 30 分で 52 個、8 時間から 48 時間まで高値を示し 72 時間で 142 個認める。染色体橋は照射後 30 分で 43 個、8 時間から 24 時間まで高値を示し、以後減少して 72 時間で 80 個認める。

#### (4) 小核形成及び多核細胞について

対照及び転移癌について照射直前、照射後 30 分、2 時間、4 時間、8 時間、12 時間、24 時間、48 時間及び 72 時間の小核形成及び多核細胞を観察した。小核 (micronucleus) は、染色体切断が起き動原体のない染色体断片が生ずると細胞質中に残されて形成されると思われる。一方多核細胞 (polynucleus) は、染色体の極分離がおこなわれるが、隔膜が何らかの障害により形成されない場合に生ずると考えられる<sup>17)49)</sup>。観察は細胞 2,000 個中に含まれる小核及び多核細胞の数を算定した。

その結果は Table 20~23 及び Fig. 16, 17 に示すごとくである。

250R 照射対照癌では、小核は照射後増加の傾向がみられ 48 時間で 4.5% と最高値を示す。多核細胞は照射直前 0.4% のものが照射後の最高値 1.5%、最低値 0.4% で増加の傾向がみられるが、経時的観察では一定の傾向は認めない。

250R 照射転移癌では、小核は照射後 48 時間で 7.1%、72 時間で 4.7% と対照癌より高値を示

Table 20 Percentage of cells with micronuclei in control after X-Ray irradiation

Hours	Dose	250R	500R
Immed. before		0.3%	0.3
0.5		0.2	0.4
2		0.3	0.6
4		0.5	0.5
8		0.5	0.6
12		1.5	1.7
24		1.7	3.1
48		4.5	9.0
72		4.0	8.6

All samples comprise 2000 cells

Table 21 Percentage of cells with micronuclei in liver metastasis after X-Ray irradiation

Hours	Dose	250R	500R
Immed. before		0.4%	0.4
0.5		0.6	0.5
2		0.9	0.9
4		0.6	0.7
8		0.4	0.6
12		1.7	1.9
24		2.1	5.6
48		7.1	11.3
72		4.7	9.5

All samples comprise 2000 cells

Table 22 Percentage of polynuclei in control after X-Ray irradiation

Hours	Dose	250R	500R
Immed. before		0.4%	0.4
0.5		0.4	0.8
2		0.7	1.1
4		1.2	1.5
8		0.6	2.2
12		0.8	1.5
24		1.2	1.0
48		1.3	1.2
72		1.5	2.5

All samples comprise 2000 cells

す。多核細胞は照射直前 0.7%のものが照射後の最高値 2.3%、最低値 1.2%で増加の傾向がみられるが、経時的観察では一定の傾向は認めない。

Table 23 Percentage of polynuclei in liver-metastasis after X-Ray irradiation

Hours	Dose	250R	500R
Immed. before		0.7%	0.7
0.5		1.9	1.6
2		1.6	1.2
4		1.3	1.7
8		1.5	2.1
12		1.4	1.4
24		1.2	0.5
48		2.3	1.8
72		2.1	0.8

All samples comprise 2000 cells

Fig. 16 Percentage of cells with micronuclei after X-Ray irradiation ( 250R )

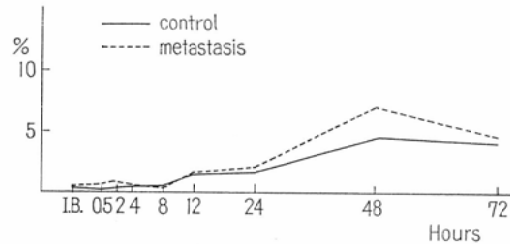
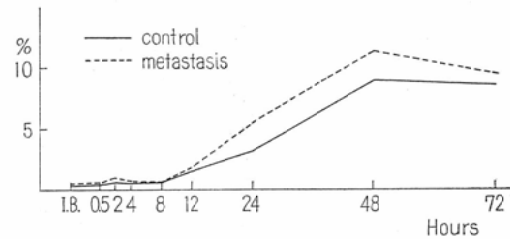


Fig. 17 Percentage of cells with micronuclei after X-Ray irradiation ( 500R )



500R 照射対照癌では、小核は照射後増加の傾向がみられ48時間で 9.0%、72時間で 8.6%と高値を示す。多核細胞は照射後の最高値 2.5%、最低値 0.8%で増加の傾向がみられるが、経時的観察では一定の傾向は認めない。

500R 照射転移癌では、小核は照射後48時間で 11.3%、72時間で 9.5%と対照癌より高値を示す、多核細胞は照射後の最高値 2.1%、最低値 0.5%で増加の傾向がみられるが、経時的観察では一定の傾向は認めない。

(5) 2n 細胞及び polyploid 細胞の X線照射

後の変動について

対照及び転移癌について照射後30分, 8時間, 12時間, 24時間, 48時間及び72時間の2n細胞とpolyplod細胞を観察した. 観察は中期分裂細胞100個中に含まれる2n細胞とpolyplod細胞の割合をしらべた.

その結果は Table 24~27及び Fig. 18, 19に示

Table 24 Percentage of 2n and polyplod cells in control after X-Ray irradiation (250R)

Hours	2n cell	Polyplod cell
Immed. before	94%	6
0.5	94	6
8	96	4
12	98	2
24	95	5
48	88	12
72	95	5

All samples comprise 100 metaphasic cells

Table 25 Percentage of 2n and polyplod cells in liver metastasis after X-Ray irradiation (3250R)

Hours	2n cell	Polyplod cell
Immed. before	70%	30
0.5	71	29
8	78	22
12	88	12
24	93	7
48	86	14
72	92	8

All samples comprise 100 metaphasic cells

Table 26 Percentage of 2n and polyplod cells in control after X-Ray irradiation (500R)

Hours	2n cell	Polyplod cell
Immed. before	94%	6
0.5	96	4
8	97	3
12	99	1
28	93	7
48	86	14
72	90	10

All samples comprise 100 metaphasic cells

Table 27 Percentage of 2n and polyplod cells in liver metastasis after X-Ray irradiation (500R)

Hours	2n cell	Polyplod cell
Immed. before	70%	30
0.5	74	26
8	88	12
12	94	6
24	87	13
48	85	15
72	91	9

All samples comprise 100 metaphasic cells

Fig. 18 Percentage of 2n and polyplod cells after X-Ray irradiation (250R)

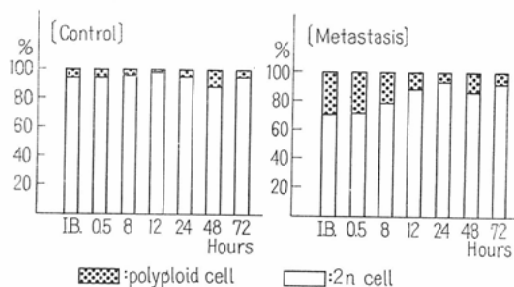
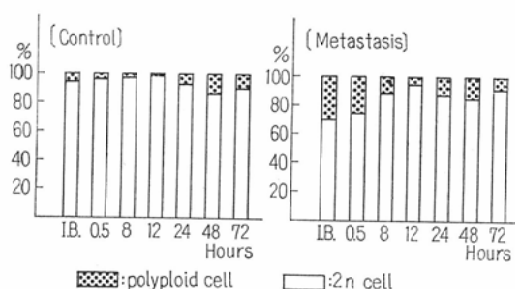


Fig. 19 Percentage of 2n and polyplod cells after X-Ray irradiation (500R)



すごとくである.

250R照射対照癌では照射後8時間でpolyplod細胞4%, 12時間で2%と減少し, 48時間で12%と増加するが72時間で5%を示す.

250R照射転移癌では照射後8時間でpolyplod細胞22%, 12時間で12%, 24時間で7%と減少し, 48時間で14%と増加するが72時間で8%を示す.

500R照射対照癌では照射後8時間でpolypl-

oid 細胞 3%, 12時間で1%と減少し, 48時間で14%と増加するが72時間で10%を示す。

500R照射転移癌では照射後8時間で polyploid 細胞12%, 12時間間で6%と減少し, 48時間で15%と増加するが72時間で9%を示す。

#### 第IV章 総括

癌細胞が肝臓へ転移したために, 原発癌と倍数性において著明な差異の認められる二次腹水癌を得た。これら倍数性の異なる腹水癌の放射線感受性を知る目的で分裂頻度, 染色体切断及び再結合, 遅滞染色体及び染色体橋, 小核形成及び多核細胞, 2n細胞及び polyploid 細胞のX線照射後の変動に関して検討した, その結果を総括すると次のごとくである。

第II章第I節では, マウス腹腔内に移植した癌細胞が, 肝臓及び肺臓において組織学的に転移の認められることを知った。すなわち移植後7日目では肝臓で40%, 肺臓で80%の転移陽性を認め, 移植後14日目では肝臓及び肺臓とも全例転移陽性であった。ただし脾臓では, 移植後7日目及び14日目とも全例転移陰性であった。

第II章第II節では, 移植後14日目の肝臓組織片を次の世代のマウス腹腔に戻して倍数性の変化をしらべ, polyploid 細胞が6%から30%に増加することを知った。そしてその二次腹水癌を7日目ごとに継代移植していくと, 転移8代目までは polyploid 細胞は26~32%にあり, 転移11代目で6%となり対照と同じ染色体構成に戻った。

第III章の各検査項目のうち分裂頻度に関しては, 転移癌は対照癌に比して照射後の回復が遅れる傾向にあった。

染色体切断に関しては照射線量に比例して高い値を示し, 染色体数に対する割合は両者とも同じであるが, 転移癌の方が染色体数が多く, したがって切断個数も多い。再結合は照射後8時間から認められ, 時間の経過とともに減少の傾向を示した。

遅滞染色体及び染色体橋に関しては照射線量に比例して高い値を示し, また各時点において転移癌の方が高い値を示した。

小核形成に関しては各時点において転移癌の方

が高い値を示し, 両者とも時間の経過とともに増加し照射後48時間で最高値を示した。多核細胞は各時点において照射直前より高い値を示したが, 対照癌と転移癌の間に, また250R照射と500R照射の間に有意の差は認められず, 経時的観察でも一定の傾向は認めなかつた。

2n細胞及び polyploid 細胞のX線照射後の変動に関しては, 両者とも polyploid 細胞の減少が著明であり, 転移癌は照射後72時間で対照癌と同じ染色体構成になることが知られた。

#### 第V章 考 按

現在まで, 実験腹水癌の転移に関する報告は多く Dunham 等<sup>3)</sup> によると243種の可移植性腫瘍のうちで約40%に転移が認められるが, 内皮系腫瘍を除くとそれほど高率なものではない。その後 Stewart<sup>36)</sup>が, 50種の実験腫瘍のうち高頻度に転移が認められるもの9種, まれに転移が認められるもの24種を報告している。これまで転移の実験に使用されてきたマウスの腫瘍は Ehrlich 癌, Krebs 2, Crocker tumor 180, Sarcoma 37等があるが<sup>18)</sup>, C<sub>3</sub>H系マウスにみられる自然発生乳癌の転移を調査した Sato<sup>21)</sup>は, 転移の部位は肺臓及びリンパ節のみで肉眼的には19.5%, 組織学的には39.5%に転移が認められたと報告している。Ehrlich 腹水癌を用いた実験では, 鎌田<sup>49)</sup>がマウスの尾部皮下に移植して所属リンパ節への転移を観察し, 転移が極めて少ないことを報告している。さらに Nabeshima<sup>28)</sup>は, 尾静脈から種々の量の腫瘍細胞を移植し各臓器を組織学的に検索し, 肝臓及び肺臓では転移を認めたが, 脾臓ではほとんど認められなかつたという。著者の実験において移植後14日目の肝臓及び肺臓では, 組織学的に全例転移を認め, 脾臓では全く認められなかつたことは Nabeshima<sup>28)</sup>の報告と一致し, さらに転移癌細胞の腹水化については Yoshida, T.H.<sup>40)50)</sup>の実験と一致した。

1950年代に入つて実験腹水癌による染色体研究が盛んになり, 種族細胞説 (stemline cells 説) の概念が Makino<sup>21)22)23)24)</sup>により提唱され Hauschka<sup>7)8)</sup>, Levan<sup>19)</sup>, Yoshida, T.H.<sup>39)41)42)</sup>, Sachs<sup>30)</sup>, Hsu<sup>10)</sup>等によつて追試されたが, Hsu<sup>10)</sup>は種族細

胞はある環境において最も適合した genotype を持つているのであつて、環境が変れば他の population が支配的になるということを描している。すなわち Kaziwara<sup>12)</sup>は低温保存、少数細胞移植等によつて、主として hyperdiploid の population であつたものが hypertetraploid の population に変つたことを認め、Ising<sup>11)</sup>は Ehrlich 腹水癌がハムスターの体内で染色体数86から76に変わり、その新しい染色体数はマウスに戻しても維持されることを認めた。さらに Levan<sup>18)</sup>は Ehrlich 腹水癌及び Krebs 2 腹水癌の 200 世代にわたる継代移植で染色体数の変化を観察しており、その他にも異つた環境に置かれたために倍数性に变化をきたしたという報告はみられる<sup>9)10)30)40)43)50)51)</sup>。著者の実験において転移癌細胞は倍数性に大きな変化をきたしており、同一腹腔内に 2n 細胞70%、polyploid 細胞30%の割合で含まれていることが知られた。この事実は倍数性の相違と放射線感受性の関係をしらべるさいに、互いの細胞の由来が同一系統であること、さらにもとの環境に戻しても移植 8 世代以上にわたつてその割合が維持されることは、本実験に適合していると考えられる。

また現在まで倍数性と放射線感受性については種々な検査対象で論じられてきたが、細胞の増殖能という観点からは一般に haploid の細胞の放射線感受性が最も高く、倍数性が増すにつれて低くなるという報告が多く<sup>6)14)16)25)27)29)32)33)34)35)45)</sup>、逆に倍数性が増すにつれて放射線感受性が高くなるという報告は少ない<sup>2)4)37)</sup>。しかし倍数性と放射線感受性の間に、明らかな関係が認められなかつたという報告もある<sup>15)20)26)</sup>。

分裂頻度からみた研究では Marshak 等<sup>25)</sup>が、倍数性の大きい細胞ほど X 線照射後の抑制は軽度であつたと報告している。染色体切断からみた研究では染色体数に対する切断の割合は同じであるという報告が幾つかみられ<sup>2)4)37)</sup>、したがつて polyploid 細胞の方が切断個数が多く放射線感受性が高いという結果を示している。しかし Sax 等<sup>32)</sup>は、haploid 細胞より polyploid 細胞の方が染色体切断の割合が少なかつたと報告している。

著者の実験から分裂頻度では、照射後の分裂抑制後対照癌は24時間で、転移癌は48時間でその頻度が高くなるが、それは障害を受けた細胞が回復に伴ないシンクロナイズされて分裂に入るためと考えられる。そして転移癌の方が照射後の分裂抑制からの回復が遅れるのは、対照癌に比して障害が大きいためと考えられる。さらに染色体切断、遅滞染色体及び染色体橋の出現頻度は polyploid 細胞の多い転移癌の方が高く、この結果は Bishop<sup>2)</sup>、Conger 等<sup>4)</sup>、Swaminathan 等<sup>37)</sup>の実験と一致している。X線照射後の 2n 細胞と polyploid 細胞の割合は、polyploid 細胞の減少が著明で障害が大きいが、これは細胞分裂の停止または死滅の割合が大きいためと考えられる。また照射後48時間で両者とも一時的に polyploid 細胞が増加するが、endomitosis による polyploid 細胞の増加があるためと考えられる。

小核は染色体切断が起き動原体のない染色体断片が生ずると細胞質中に残されて形成されると考えられるが<sup>17)49)</sup>、本実験では転移癌の方がその出現頻度が高く、遅滞染色体の出現頻度も平行関係にある。しかし小核形成の割合は遅滞染色体に比して非常に少なく<sup>38)44)</sup>、遅滞染色体の多くは小核を形成することなく退化吸収されるか、またはこのような細胞は死滅してしまふためと考えられる。

## 第VI章 結 論

2n Ehrlich 腹水癌細胞の各臓器への転移を組織学的に検索し、肝臓へ転移した癌細胞は polyploid 細胞が30%に増加することを知つた。そして対照癌細胞と転移癌細胞の放射線感受性について検索し、次の結果を得た。

1. 分裂頻度では、転移癌は X 線照射後の回復が遅れ対照癌に比して放射線感受性が高い。
2. 染色体切断、遅滞染色体及び染色体橋では、染色体数に対する割合は同じであるが細胞に対する割合は転移癌の方が大きい。
3. 小核形成では、転移癌の方がその出現頻度は高い。
4. 多核細胞では、X線照射後増加の傾向は認めるが両者の間に差は認めない。



5. 2n細胞及び polyploid 細胞のX線照射後の変動では, polyploid 細胞の減少が著明であり 2n細胞に比して放射線感受性が高い。

以上の結果より 2n Ehrlich 腹水癌では, 転移細胞群は染色体倍数性が変化し原発細胞群に比して放射線感受性の高いことが知られた。

(本論文の要旨は, 昭和40年11月第 173回日本医学放射線学会関東部会及び昭和41年4月昭第25回日本医学放射線学会総会に於て発表した。)

#### 文 献

- 1) Bayreuther, K.: Der Chromosomenbestand des Ehrlich-Ascites-Tumor der Maus. Z. Naturforschung, 7b, 554—557, 1952.
- 2) Bishop, C.: The influence of polyploidy on the X-ray sensitivity of cells. Canad. J. Botany 30, 139—146, 1952.
- 3) Boveri, T.: Über die Abhängigkeit der Kerngröße und Zellenzahl der Ausgangszellen. Jena, 1905.
- 4) Conger, A.D. & Johnston, A.H.: Polyploidy and radiosensitivity. Nature 178, 271, 1956.
- 5) Dunhum, L.J. & Stewart, H.L.: A survey of transplantable and transmissible animal tumors. J. Nat. Cancer Inst. 13, 1299, 1953.
- 6) Fröier, K., Gustafsson, G. & Tedin, O.: The relation of mitotic disturbances to X-ray dosage and polyploidy. Hereditas 28, 165—170, 1942.
- 7) Hauschka, T.S.: Cell population studies on mouse ascites tumors. Trans. N.Y. Acad. Sci. 16, 64—7473, 1953.
- 8) Hauschka, T.S. & Levan, A.: Inverse relationship between chromosome ploidy and host-specificity of sixteen transplantable tumors. Experiment. Cell Res. 4, 457—467, 1953.
- 9) Hauschka, T.S., Kvedar, B.J., Grinnell, S.T. & Amos, D.B.: Immunoselection of polyploids from predominantly diploid cell populations. Ann. New York Acad. Sci. 63, 633—705, 1956.
- 10) Hsu, T.C.: Numerical variation of chromosomes in higher animals. Developmental Cytology, Ronald Press Co., 1959.
- 11) Ising, U.: Chromosome studies in Ehrlich mouse ascites cancer after heterologous transplantation through hamsters. British J. Cancer 9, 592—599, 1959.
- 12) Kaziwara, K.: Derivation of stable polyploid sublines from a hyperdiploid Ehrlich ascites carcinoma. Cancer Research 14, 795—801, 1954.
- 13) Ketcham, A., Kinsey, D., Waxler, H. & Mantel, N.: The development of spontaneous metastasis after the removal of a primary tumor. Cancer 4, 875, 1961.
- 14) Konzak, C. F. & Sinsleton, W. R.: The relationship of polyploidy to the effects of thermal neutron exposure on plants. Genetics 37, 596—597, 1952.
- 15) Lamy, R. & Muller, M.J.: Evidence of the non-genetic nature of the lethal effect of radiation on Drosophila embryos. Proc. 7th Internat. Congress on Genetics, 180—181, 1939.
- 16) Latarjet, R. & Ephrussi, B.: Courbes de survie de levures haploïdes et diploïdes soumis aux rayons X. Compt. rend. Acad. sc. 229, 306—308, 1949.
- 17) Lea, D.E.: Actions of radiations on living cells. 2nd edition, Cambridge University Press, England, 1954.
- 18) Levan, A.: Chromosome studies on some human tumors and tissues of normal origin, grown in vitro at the Solan-Kettering Institute. Cancer 9, 648—663, 1956.
- 19) Levan, A. & Hauschka, T.S.: Endomitotic reduplication mechanism in ascites tumors of the mouse. J. National Cancer Inst. 14, 1—143, 1953.
- 20) Lucke, W.H. & Sarachek, A.: X-ray inactivation of polyploid Saccharomyces. Nature 171, 1014—1015, 1953.
- 21) Makino, S.: Cytological studies on cancer. III. The characteristic and individuality of chromosomes in tumor cells of the Yoshida sarcoma which contribute to the growth of the tumor. Gann 43, 17—34, 1952.
- 22) Makino, S.: The chromosome cytology of the ascites tumors of rats, with special reference to the concept of the stemline cell. International Review of Cytology 6, 26—84, 1957.
- 23) Makino, S. & Kano, K.: II. Daily observations on the mitotic frequency and the variation of the chromosome number in tumor cells of the Yoshida sarcoma through a transpant generation. J. Faculty Sci., Hokkaido Uni. Series VI. 10, 22529—243, 1951.
- 24) Makino, S. & Kano, K.: IX. Characteristic chromosome individuality in tumor stem cells of three kinds of ascites tumors of rats. J. Nat. Cancer Inst. 13, 1213—1235, 1953.

- 25) Marshak, & Bradley, M.: X-ray inhibition of mitosis in relation to chromosome number. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 30, 231—237, 1944.
- 26) Mortimer, R.K.: Radiobiological and genetic studies on a polyploid series (haploid to hexaploid) of *Saccharomyces cerevisiae*. *Radiation Res.* 9, 312—326, 1958.
- 27) Müntzing, A.: Differential response X-ray treatment of diploid and tetraploid barley. *Kungl. Fysiogr. Sällskapets Handl.* 11, 63—11, 1941.
- 28) Nabeshima, T.: Transplantability and metastasis of Ehrlich ascites carcinoma in mice. *Gann* 44, 326—328, 1953.
- 29) Révész, L. & Norman, U.: Relationship between chromosome ploidy and radiosensitivity in selected tumor sublines of common origin. *J. Nat. Cancer Inst.* 25, 1041—1060, 1960.
- 30) Sachs, L. & Gallily, R.: The chromosomes and transplantability of tumors. *J. Nat. Cancer Inst.* 15, 1265—1290, 1955.
- 31) Sato, H.: Characteristics of an inbred sub-strain (C3H/HeNSa) of C3H mouse, with reference to the mammary cancer incidence and metastasis. *Gann* 56, 605—608, 1965.
- 32) Sax, K. & Swanson, C.P.: Differential sensitivity of cells to X-rays. *Amer. J. Bot.* 28, 52—59, 1941.
- 33) Smith, L.: A comparison of the effects of heat and X-rays on dormant seeds of cereals, with special reference to polyploidy. *J. Agric. Res.* 73, 137—158, 1964.
- 34) Sparrow, A. H. & Schairer, L. A.: Some factors influencing radioresistance and tumor induction in plants. *Progress in Nuclear Energy, Series VI. Biol. Sciences* 2, 351—358, 1959.
- 35) Stadler, L. J.: Chromosome number and the mutation rate in *Avena* and *Triticum*. *Proc. Nat. Acad. Sc.* 15, 876—881, 1929.
- 36) Stewart, H.L.: Transplantable and transmissible tumors of animals. *Atlas of Tumor Pathology, Section XII-Fascicle 40, AFIP (Washington D.C.)*, 1959.
- 37) Swaminathan, M. S. & Natarajan, A. T.: Polyploidy and radiosensitivity. *Nature* 179, 479—480, 1957.
- 38) Takahashi, T., Nakahara, K. & Yoshida, T.H.: Effects of X-ray on cell nuclei of ascites tumors. *Jikeikai Medical Journal* 9, 175—186, 1962.
- 39) Yoshida, T.H.: Change of chromosome condition in the stemline of the Yoshida sarcoma. *Annual Report of the National Inst. of Genetics (Japan)* 7, 16—18, 1957.
- 40) Yoshida, T. H.: Chromosomal alteration and development of tumors. II. Chromosome conditions and invasiveness of the Yoshida sarcoma cells. *Gann* 50, 233—238, 1959.
- 41) Yoshida, T.H.: Karyological study of the Takizawa quinone-carcinoma and the Ehrlich ascites carcinoma in mice. *Cytologia* 19, 225—238, 1954.
- 42) Yoshida, T.H.: Origin of V-shaped chromosome occurring in tumor cells of some ascites sarcomas in the rat. *Proc. Japan Acad.* 31, 237—242, 1955.
- 43) Yoshida, T.H. & Tsuji, S.: VI. Difference in invasiveness of the diplo- and tetraploid cells of the Yoshida sarcoma. *Jap. J. Genet.* 35, 377, 1960.
- 44) Yoshida, T.H., Tabata, T., Takahashi, T. & Hirumi, H.: Effects of X-rays on cell nuclei of ascites tumors, with special emphasis on the chromosome breaks and reunion. *Symposia Cell. Chem.* 10, 203—220, 1960.
- 45) Zirkle, R.E. & Tobias, C.A.: Effects of ploidy and linear energy transfer on radiobiological survival curves. *Arch. Biochem.* 47, 282—306, 1953.
- 46) 鎌田忠夫：術前照射の実験的研究。癌の臨床 6, 496—497, 1960.
- 47) 佐々木本道：染色体研究の新しい方法。日本臨床 19, 2233—2242, 1961.
- 48) 高橋貞一郎, 吉久保邦彦：Hyperdiploid Ehrlich腹水癌の基礎的研究。東京慈恵会医科大学雑誌投稿中。
- 49) 森脇大五郎, 玉木英彦, 村地孝一：放射線生物学。第2版, 裳華房, 東京, 1962.
- 50) 吉田俊秀：癌の発生, 増殖と染色体, 日本臨床 19, 2273—2284, 1961.
- 51) 吉田俊秀：国立遺伝学研究所年報(昭和34年度), 84—86, 1960.
- 52) 吉田俊秀：四倍性細胞の核学的研究。Gann 44, 142—144, 1953.