

Title	X線生体照射により生ずる不飽和脂肪酸分画物質の実験腫瘍に対する親和性について 第1報
Author(s)	塩飽, 健
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1962, 22(8), p. 916-921
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/16668
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

X線生体照射により生ずる不飽和脂肪酸分画物質の 実験腫瘍に対する親和性について (第1報)

岡山大学医学部放射線医学教室 (主任 武田俊光教授)
大学院医学研究生 塩 飽 健

(昭和37年9月15日受付)

Affinity of Experimental Cancer of Unsaturated Fatty Acid Effected
by X-Ray Irradiation on Living Body
Part 1.

By

Takeru Shiaku

Department of Radiation Medicine Okayama University Medical School
(Director: Prof. Toshimitsu Takeda)

As a series of study on the effection of X-ray biology, Yamanoto has made clear that unsaturated fatty acid (OX substance) in fatty constituents extracted from X-ray irradiated rabbit liver has some degree of anticarcinogenic effect in human body and in experimental cancer.

The auther with a view to examine in what degree this material has affinity in cancer tissue cell and in what part it particularly has affinity, has experimented Ehrlich subcutaneous tumor cells transplanted into mouse femur together with Yoshida ascites sarcoma cells by marking " ^{131}I " to this material.

1. as for experiment, about two million Ehrlich ascites sarcoma cells were transplanted into the femoral intramuscle of mice with c.b. strain and bean sized tumor appearing 2 weeks later were used. ^{131}I -OX was added to physiological saline solution to become 2.0% concetration.

Extremely small amount of tween 80 was added and mixed by homogenizer into colloidal soltion. The size of colloid is hardly seen by optical microscope and is as stable as to be left for a long time without fatty granular globule floating. Also ^{131}I -OX was made to be 17.0 mc per 1.0 cc.

0.2 cc ^{131}I -OX colloidal soltion was injection from coccygeal vein and wich the lapse of time were slaughtered. Taking out their organs, their counts per 0.1 gr were measured by scintillation counter while blood was measured per 0.5 cc.

2. Yoshida ascites sarcoma cells were diluted by physiological saline solution to about 2 million cells and then transplanted into the abdominal cavity of hybrid rat. Six days after the transplantation, rats with ascites tumor which could be

objected from the outside were selected. From their coccygial veins injection of 0.5cc ^{131}I -OX was performed. With the lapse of time, they were slaughtered and ascites taken out. Cells were crashed by homogenizer and each fraction of cells was extracted by ultra freezing centrifuge using saccharose solution. The counts of these fractions corresponding 10^8 cells were measured by scintillation counter (W-type) and percentages of the counts were recorded each hour.

1) The ^{131}I -OX substance uptake of subcutaneously transplanted Ehrlich tumor cells sustains a long time compared with other organs.

2) As for Yoshida ascites sarcoma cells, the uptake proportion of the constituents of cell fluid decreases at 3 hours and 12 hours after the injection while with other fractions it increase. The cell itself takes ^{131}I -OX mostly at the 12th hour. Concerning cell fractions, gurund plasma, mitochondria, microsomes and nucleus takes ^{131}I -OX in order.

From the above experiment, the author thinks that OX material has affinity to experimental cancer.

緒言

放射線の有する強力な生物作用特にその生物体に対する障害作用に就いては近年各種の放射線の出現以来世人の注目を益々高め之に関する研究は各国に於て盛んに行われている。1895年X線がRöntgenによつて発見されて数年を経ずしてX線障害が之を診断に取り扱ふ医師達の注意を喚起した。1896年には既に L. Freund¹⁾ により治療に用いられている。邇來X線生物作用はHeinecke²⁾, Back³⁾ u, Perthes⁴⁾ 等多数の研究者により主として形態学的変化が追求されて今日に到つたが近年になり放射線の生物学的作用は如何なる機序によるものか、そのメカニズムの複雑な点に大分の研究の焦点が絞られて来た。然しその決定的解明は今日迄尙明らかでなく僅かに間接的作用の一つである生化学的な面で Lea⁵⁾, Barron⁶⁾ 等によりSH基説が唱えられている。第二次大戦後 H. Silk⁷⁾ が腫瘍にX線を照射した場合腫瘍細胞の周辺の正常細胞が照射され何等かの物質が産出されてこれが腫瘍細胞に作用するものと述べて居る。当大学の山本等は数年前より^{8) 9) 10) 11) 12) 13) 14) 15)} X線障害に関する一連の研究として生体X線照射により数種類の細胞毒を検出し且つそれ等の物質を実験動物に注射し正常組織並びに腫瘍組織に対する影響を観察しそれがX線照射時に於けると類似

の反応現象を見ている。当教室の小島^{16) 17)}等は山本¹⁸⁾の行つた大量照射せる家兎肝より抽出せる脂質成分中の或種の不飽和脂肪酸分画物質(以下略してOX物質と云う)を家兎に静注し血液像の変化及び睪丸組織に何れもX線照射の場合と全く同様の変化をみている。即ち不飽和脂肪酸を主成分とするOXはX線生物作用と同様特に幼若細胞に毒性を有する一種の細胞毒で放射線障害の発現はレ線照射により生体内で産出された磷脂質並びに脂肪酸分画物質がその本体ではあるまいかと結んでいる。又谷本^{19) 20)}はレ線大量照射を受けた家兎肝で大量に産出された抽出物質は吉田肉腫細胞及びBrown-Pearce 腫瘍に如何なる影響を与えるかを追求し吉田肉腫細胞に対しては著明な分裂抑制効果、Brown-Pearce 腫瘍に対しては延命効果、転移抑制作用を認め又腫瘍の組織像では治癒的機転が明らかに見られると発表している。

そこで私は抗腫瘍能力を有すると考えられる本物質(OX物質)が腫瘍組織細胞にどの程度親和性を有し又腫瘍組織細胞中のどこの部分に特に親和性を有しているかを追求する目的で ^{131}I を以つて本物質を標識してこれをMausの大腿筋肉に移植せるEhrlich 腫瘍組織並びに吉田肉腫腹水系細胞について実験を試みた。

実験方法

I. 実験動物はc.b.系 Mausの生後約6週を経たもので体重及び大きさの稍と一定したものを選び使用した。Mausの腹腔内に Ehrlich腹水細胞を約200万個移植し1週間後に純培養となつた頃腹水細胞を取り出し生理的食塩水にて一回洗滌し更に生理的食塩水に浮遊せしめたものを使用した。これをMausの大腿筋肉内に Ehrlich 腹水細胞が約200万個になる様に移植し、2週間後に大至大の腫瘍を形成せしめたものを選び出して使用した。

図1 method of Yoshida ascites sarcoma cells fraction.

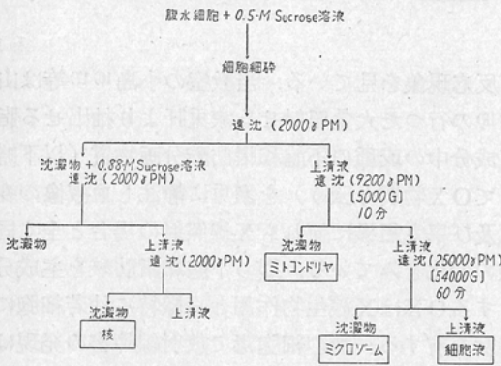


図2 counts of ¹³¹I-OX in Ehrlich subcutaneous tumor cells, natural background 103/cpm.

	1	3	6	9	12	24
Tumor	4230	2030	2370	1450	691	229
Leber	6120	3030	1610	1090	730	188
Lunge	5120	1630	1880	1330	843	264
Milz	3470	1020	2040	678	127	101
Niere	7430	3110	1880	1880	728	211
Blut	4420	1600	993	992	116	112

OX物質の¹³¹I標識の方法は Stanley, et al²¹⁾方法に従つた。Na¹³¹I 10mcを濃硝酸及び濃硫酸の等量混合液10ccで酸化し¹³¹Iを遊離せしめこれをクロロホルムにて抽出し、これに塩素ガスを通じて還元し更にこれにOX原油を2.0cc加えて24時間放置し炭酸ナトリウムで遊離度を除去しこれを無水硫酸ナトリウムで脱水しクロロホルムを

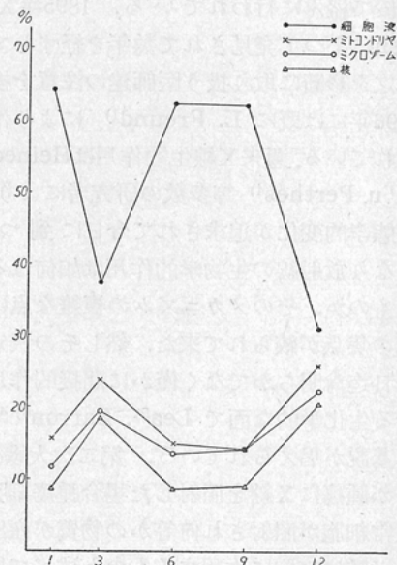
図3 percentages of the counts of ¹³¹I-OX in Ehrlich subcutaneous tumor cells.

	1	3	6	9	12	24
Tumor	13.8	16.3	22.0	19.7	21.4	20.7
Leber	19.9	24.4	15.0	14.7	22.5	17.0
Lunge	16.6	13.1	17.4	17.9	26.0	24.1
Milz	11.3	8.2	18.9	9.2	3.9	9.1
Niere	24.1	25.1	17.4	25.3	22.5	19.0
Blut	14.3	12.9	9.3	13.3	3.6	10.1

図4 counts of ¹³¹I-OX in Yoshida ascites sarcoma cells fraction, natural background 940/cpm.

	核	ミトコンドリア	ミクロゾーム	細胞液
1	847	1489	1122	6126
3	1567	1988	1597	3099
6	838	1410	1284	5847
9	952	1502	1511	6533
12	3523	4320	3727	5182
24	自然計数	"	"	"

図5 percentages of the counts of ¹³¹I-OX in Yoshida ascites sarcoma cells fraction.



溜去せしめて¹³¹I-OXを得た。この¹³¹I-OXを生理的食塩水に2.0%になる様に加え更にtween 80を極微量滴下しホモゲナイザーにて攪拌し乳白色のコロイド溶液にした。コロイドの大きさは光学顕微鏡ではほとんど見えない位の大きさで長

期間放置しても脂肪滴を生じない程安定したものである。又この $^{131}\text{I-OX}$ コロイド溶液はOX原油を tween 80にて同じ様なコロイド溶液としたものと殆んどコロイドの大きさ、その安定性、色、調、臭気等は変わらない。 $^{131}\text{I-OX}$ コロイド溶液は 0.1cc当り17mc となる様に調製した。

この $^{131}\text{I-OX}$ コロイド溶液 0.2ccを NaI にて甲状腺を block²²⁾²³⁾ した前記担癌動物の尾静脈より注入し経時的に屠殺し各臓器を取り出しその各臓器の 0.1gr当りのカウントをシンチレーションカウンターで測定し各臓器の分布を百分率で求めた。血液は 0.5ccの測定値である。

II. 吉田肉腫の実験に於ては雑系 Ratteの生後約8週のもの体重均一なものを選び出し当教室にて二週間一定の水及び固型飼料にて飼育せるものを使用した又環境も一定にした。吉田肉腫腹水系細胞は純系 Ratteの腹腔内に吉田肉腫腹水系細胞を約 200万個移植し移植後一週間目に純培養になつたものを取り出し生理的食塩水にて一回洗滌しこれを生理的食塩水にて浮遊せしめ前記動物の腹腔内に約 200万個の腫瘍細胞を移植し移植後6日目に腹水の貯溜が外部より判明する位のものを選び出して使用した。

これを前記の担癌動物の尾静脈より $^{131}\text{I-OX}$ 2.0%溶液 0.5ccを注入し経時的に屠殺して腹水を取り出し、まず腹水 1.0cc当りのカウントをシンチレーションカウンター(ウエル型)で求めた。次にこの腹水細胞を生理的食塩水にて洗滌除血球し 0.5Mの Saccharose 溶液²⁴⁾を使用してホモゲナイザーにて細胞を細碎し図1の如く超高速冷凍遠沈装置にて各細胞分画を分けた。各細胞分画の測定は細碎された細胞片をシンチレーションカウンター(ウエル型)で測定し約 108ヶ当りの細胞数のカウントに換算して各細胞分画のカウントを求め百分率を以て図示した。

実験結果

1) Ehrlich 大腿筋肉腫瘍組織の尾静脈より $^{131}\text{I-OX}$ を注射した場合の $^{131}\text{I-OX}$ 摂取量を経時的に観察すれば図 2.3の如くである。即ち図2は 0.1gr カウントの図であり、図3は各臓器の百分

率を示している。1時間値では腫瘍組織は他の臓器に比べ $^{131}\text{I-OX}$ の摂取量は少いが時間の経過と共に他の臓器に較べ長時間に渉り比較的安定して $^{131}\text{I-OX}$ を摂取している。各臓器とも9時間迄あたりに比較的多量の $^{131}\text{I-OX}$ を摂取しているが12時間、24時間目になると急激に $^{131}\text{I-OX}$ の摂取量が減少する。血液は6時間目より減少し始め12時間、24時間目になるとカウント数が自然計数に近くなり $^{131}\text{I-OX}$ を摂取しない様に見える。又各臓器で $^{131}\text{I-OX}$ 摂取率が一番少いのは milz であつた。

2) 担癌 Ratte の尾静脈より $^{131}\text{I-OX}$ を注射せる吉田肉腫腹水系細胞の各細胞分画の $^{131}\text{I-OX}$ 摂取量について見るに図4の如くで図5は各細胞分画の $^{131}\text{I-OX}$ 摂取量の百分率である。経時的に各細胞分画の $^{131}\text{I-OX}$ の摂取量を見ると注射後3時間値と12時間値とに於てグラフの変動が認められる。図5に示す如く細胞液成分は3時間値と12時間値とに於てその摂取量が減少し他の分画は逆にこれ等の時間に於て摂取量が増加している。各細胞分画の摂取量の順は大体各時間とも細胞液、ミトロンドリア、ミクロゾーム、核の順であり細胞液は細胞全体の $^{131}\text{I-OX}$ 量の約 $\frac{2}{3}$ を占めている。図4に示す如く核は3時間値と12時間値以外ではほとんど自然計数に近く $^{131}\text{I-OX}$ の摂取が認められない様であつた。又24時間値は各分画ともほとんど自然計数に近かつた。

考 察

放射線障害の研究より端を発したX線生体照射家兎肝より抽出せられたOX物質(不飽和脂肪酸分画)の実験腫瘍への親和性について見るに教室の谷本は不飽和脂肪酸分画を Brown-Pearce 腫瘍を辜丸に移植せる家兎に連日耳側静脈より注射し全例に生存日数70日以上延命を認め他の臓器には著変を認めず辜丸内腫瘍の発育に対しては小豆大より小指頭大迄しか増大を認めず抑制を認めて居り転移巣に対しては壊死を認めて居る。更に組織像に於て中心部は壊死に陥に入り全体として Fibroblasten の増殖を著明に認め周辺部では極めて厚い結合織の被膜形式を呈し治癒機転を認

めX線照射と同様の变化を見ている。又吉田肉腫腹水系細胞の核分裂並び腫瘍細胞数に及ぼす影響についての谷本の報告によると核分裂数は注入後直ちに減少し1時間後最低となり以後増加するがX線 300r 照射に比べ恢復は非常に緩慢であり又一時的増加の山も認められず明らかに核分裂停止作用を見ている。又腫瘍細胞数に於ても注入後1時間に於て急激な減少を示し以後24時間迄恢復の傾向を認めて居ない。私の Ehrlich 皮下腫瘍に対する ^{131}I -OX の親和性についての実験で摂取率が Lunge, Leber に多いのは松原²⁹の文献によればコロイド溶液の爲とも考えられ又 Niere に多いのは排泄される為かと考える。

腫瘍組織細胞が長時間に渉り比較的安定して ^{131}I -OX を摂取している事は之を制癌剤として使用する際に注目すべき事でOX物質そのものが腫瘍細胞に親和性を有し且つ長時間に渉り腫瘍細胞の核分裂、DNA合成等を抑制するのではないかと考えられる。

次に吉田肉腫腹水系細胞に於ける細胞の各分面の ^{131}I -OX の摂取率を見るに3時間値と12時間値に於て変動を見るがこれは核、ミトコンドリア、ミクロゾーム等細胞内構造物質が ^{131}I -OX を多量に摂取する場合は細胞液の ^{131}I -OX の摂取量が減少し、この時間には細胞全体の摂取量が増大している事実はこれ等二つの時間に於て腫瘍細胞自体の内部に於て何等かの変化が起つたものと解される。即ちこの時間に於て腫瘍細胞の代謝が急激に高まった為ではないか、これについて教室の伊丹²⁶の Ehrlich 腹水系腫瘍の OX物質に於ける腹腔内投与の実験で腹水中の Ehrlich 腹水腫瘍細胞数の減少率及び分裂期細胞数の変動並びに腫瘍細胞のDNAの測定によれば Metaphase, Anaphase, Telophase が12時間目に於て急激に増加している、伊丹の解釈によると之は細胞が破壊される程細胞数は減少するがこの際破壊を免れた細胞が時間の経過と共に一時回復した現象と考えている、然し結局は細胞の崩壊、Mitotic apparatus の活性阻害、DNA合成の阻害、異型細胞分裂の誘起等が認められる。又教室の井口²⁷

²⁸の実験によると Ratte の大腿筋肉内に移植せる吉田肉腫細胞のOX物質投与に於けるコハク酸脱水素酵素活性並びDNA量の変動は明らかにコハク酸脱水素酵素活性の低下を認め更にDNA量の比較的旺盛な増加を示す部分は注射後6時間目より12時間目にかけてその量を減少せる細胞の増加が見られる。更に教室の信木²⁹の吉田肉腫腹水系細胞の腹腔内投与の場合腫瘍細胞の減少は1時間目より急激に減少を示し24時間目に到るもその数は旧の状態に回復していない、これ等諸先輩の実験結果は今回私の実験の裏付けをなして居り結局OX物質の実験腫瘍に対する親和性を証明し得たものである。

X線照射家兎肝より山本、妹尾の方法で抽出せるOX物質に沃度を附加する場合OX物質そのものが数種の不飽和脂肪酸混合物である為後藤³⁰の文献より推定すればOX物質と不飽和二重結合部分に一部沃度を結合したOX物質が生じているものと考えられる³¹。次にこの ^{131}I にて標識せるOX物質をコロイドとして投与せる場合生体に於て脂肪酸の不飽和部分に結合せる ^{131}I が遊離し再び個体の既存の不飽和脂肪酸と結合するのではないかという推察は後藤によれば極微量で無視し得るものとしている。又 ^{131}I そのものの腫瘍に対する影響は安全追跡子濃度³²以下のものを使用せる為 ^{131}I そのものの影響は無視し得るものとする。

結 論

X線生体照射により生ずるOX物質の ^{131}I 標識物質の実験腫瘍への親和性について Ehrlich 皮下腫瘍並び吉田肉腫腹水系細胞の各分面について観察した結果次の如き結果を得た。

- 1) Ehrlich皮下腫瘍組織の ^{131}I -OX 物質摂取は他の臓器に比し長時間に渉り維持されている。
 - 2) 吉田肉腫腹水系細胞については注射後3時間と12時間に於て細胞液成分は摂取率が減少するが他の細胞分面では逆に増加している、又12時間目に細胞自体は最も多く ^{131}I -OX を摂取する。各細胞分面については細胞液、ミトコンドリア、ミクロゾーム、核の順に摂取率を増加して居る。
- 以上の実験よりして私はOX物質は実験腫瘍に親和性を有して居るものとする。

稿を終るに臨み御指導御校閲下さった 恩師武田俊光教授、癌源山本道夫教授に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) Freund, L.: Handbuch d. Röntgen u. Radiumther., B. 1., (J. Wetterer). —2) Heinecke, H.: Mitt. grenz. Med. Chir., 14, 21, 1905. —3) Beck: 中島医学 レントゲン 講義 3 巻より引用。 —4) Perthes: Lehrbuch d. Strahlen ther., (Hans Meyer). —5) Lea, D.E.: Campridge. Unive. Pness., 1949. —6) Barron, E.S.G.: Advances Enzymology., 11, 261, 1951. —7) Silk, M.H.: Cancer. Res., 18, 1257, 1958. —8) 赤木: 岡山医学会雑誌, 72, 1261, 1960. —9) 赤木: 岡山医学会雑誌, 72, 1561, 1960. —10) 山本他: 岡山医学会雑誌, 71, 2393, 1959. —11) 山本他: 岡山医学会雑誌, 71, 3194, 1959. —12) 山本, 妹尾他: 岡山医学会雑誌, 72, 1307, 1960. —13) 山本, 妹尾他: 岡山医学会雑誌, 72, 1198, 1960, —14) 山本, 妹尾他: 岡山医学会雑誌, 72, 1783, 1960. —15) 西下: 日医放誌, 18, Vol 8. —16) 小島: 日医放誌, 19, 2331, 1960. —17) 小島: 日医放誌, 20, 28, 1960. —18) 山本: Symposia Cell Chem., 9, 141, 1959. —19) 谷本: 日医放誌, 19, 1628, 1959. —20) 谷本: 日医放誌, 20, 33, 1960. —21) Stanley, et al, and Thannhauser: J. Lab. and Clin. Med., 34, 1634, 1949. —22) 小野村他: 内科宝函, 7, 414, 1960. —23) 幸島: 日大医学雑誌, 19, 1248, 1960. —24) Hogeboom, G.H. (Colowick, S.P. Kaplan, N.O. eds) Methods in Engymolog, 16, Vol 1, 1955. —25) 松原: 日新医学, 45, 305, 1958. —26) 伊丹: 岡山医学会雑誌, 72, 951, 1960. —27) 井口: 岡山医学会雑誌, 72, 1269, 1960. —28) 井口: 岡山医学会雑誌, 72, 1555, 1960, —29) 信木: 未発表. —30) 後藤: 産婦人科の進歩, 12, 363, 1960. —31) 石井: 脂質化学 (共立出版), 1: 5, 1958. —32) アイソトープ実験技術第1集 (化学の領域), 152.