The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	放射線照射による実験的去勢に関する1考察 第1篇 放射線照射による実験的去勢時における血清脂肪酸の態度に就いて
Author(s)	羽井佐, 芳雄
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1969, 29(6), p. 647-653
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/16902
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

放射線照射による実験的去勢に関する1考察

第1篇　放射線照射による実験的去勢時における血清脂肪酸の態度に就いて

岡山大学医学部放射線医学教室（主任：山本道夫教授）
専攻生　羽　井　佐　芳　雄

（昭和43年12月26日受付）

Experimental Castraction by Irradiation

Yoshio Haisa
Department of Radiation Medicine, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Michio Yamamoto)

Yamamoto and others of our laboratory reported that unsaturated fatty acid extracted from irradiated rabbit liver shows anti-tumor effect, and castrating the testicles, and also the repeated injection of such phospholipid gives changes similar to those observable after irradiation disturbances. From these findings Yamamoto and his coworkers assume that the phospholipids, unsaturated fatty acids, which are the secondary products of irradiation, play an important role in the induction of disturbances. On the other hand, the effects of radiation on the testicles have so far been thoroughly studied from histological aspects. However, there is no established theory about comparative effects of irradiation between the whole body irradiation, the irradiation of testicles only, and the whole body irradiation while covering testicles.

In order to see what effects the whole body irradiation while covering testicles would have on the testicles and also what changes occur in serum fatty acids, as well as to offer some supporting evidence to the facts found by Yamamoto and his coworkers, this study was carried out by irradiating whole body while covering testicles.

Materials and Methods: The animals used were normal male rabbits. Irradiation: 180 kvp, 25 mA, SSD 132 cm, and dose rate 4.7 R/min. Test groups were consisted of group I given the whole body irradiation; group II whole body irradiation while covering testicles; and group III irradiation of the testicles only. To the covering the testicles, lead block (4.4-4.3 cm) was used. For the extraction of lipids Folch's method was used. The gas liquid chromatography was conducted using Shimazu G-CIB apparatus.

Results: Changes in the total fatty acid of rabbits serum

1) *Group given the whole body irradiation:* $C_{16:0}$ palmitic acid increases along with the number of irradiation, and $C_{18:2}$ linoleic acid increases gradually during the irradiation but decreases after the termination of irradiation. $C_{20:4}$ arachidic acid decreases by degree as the number of irradiation and it recovers after the termination of irradiation.

2) *Group given total body irradiation while covering the testicles:* The results tend to be almost the same as in the whole body irradiation.

3) *Irradiation of testicles only:* Each of fatty acids undergoes wavy fluctuations, showing no fixed tendency.

Histological pictures of the testicles

All these pictures were taken from the rabbits were sacrificed by bleeding 10 days after the termination of irradiation.

1) *Group given whole body irradiation:* Spermatogenic cells have completely disappeared, leaving only a few Sertoli's cells.

2) *Group given whole body irradiation with the testicles covered:* No spermatogenic cells can be observed.

3) *Group irradiated testicles only:* There can be observed no spermatogenic cells at all.

The quantitative unbalance of long chain unsaturated fatty acids such as $C_{18:2}$ linoleic acid and $C_{20:4}$ arachidic acid as observable in the group given the whole body irradiation while covering the testicles seems to be one of the effects on the testicles deducing from the experiments of Yamamoto and coworkers.

緒　言

放射線の生物作用は，放射線を生体に照射することにより生ずる電離と励起の基本的考え方に端を発している．作用形式は直接作用と間接作用の二種類があるが，直接作用としては D.E. Lea[1]，L.H. Gray[2]，R.E. Zirkle[3]，E. Pollard[4] 等によつて1940年から現在まで展開されている形式である．Lea は均一のイオン化が作用をおこすと解釈される基本的な直接作用の証拠として線量効果関係がジグモイド型であること等を示している．一方間接作用は1940年代の始めにすでに W.M. Dale[5] によつて注意を喚起され，代表的ＳＨ基説があるが，この存在を示唆するものとして稀釈効果，酸素効果，温度効果，保護効果等がある．現在２つの作用形式が存在することはほぼ確かであるが，この２つの形式が細胞内でどのような割合を示しているかを知ることは，むずかしい．これらの物理化学的変化を生じた後の後影響の問題は正常な生理的機能が乱れたというべき代謝研究の問題で，これらについては多くの研究がなされている．

教室の山本[6)~11)]らは照射家兎肝より抽出した不飽和脂肪酸が，抗腫瘍性を有し，かつ連続投与により睾丸が去勢され，また同じくこれら燐脂質の連続投与により放射線障害と類似の変化をみている．このことにより山本らは，照射により生じた二次的産物である燐脂質，不飽和脂肪酸が障害の惹起に大いなる関係を有すると推定している．

一方睾丸に対する放射線の影響についての研究は，組織学的に古くより行なわれ，現在までこの問題は，ほとんど明らかにされたといつても過言でない．所が，全身照射した場合，睾丸のみ照射した場合，睾丸を被覆し全身照射の場合のおのおの睾丸に対する影響については定説がない．[12)~14)]私は，睾丸を被覆し全身照射した場合，睾丸にどの程度影響をあたえ，さらに先にのべた．山本らの実験的事実より，この時，如何なる血清脂肪酸の変動がみられるかを明らかにし，山本らの研究面の一つの裏付けを得る目的で，本実験を行なつた．

実験方法

1） 実験動物

実験には一定期間，同一条件（オリエンタルＲＣ５，固型飼料）で飼育したもので，体重 2.5kg 前後の白色健康雄性家兎を使用した．

2． Ｘ線照射条件

管電圧 180kVp. 管電流25mA, F.H.D 132cm線量率 4.7R/minで，機械の都合上，止むなく線量率依存性の問題となる低線量率を用いた．

3． 実験群の構成

1） 全身照射群．2） 睾丸被覆全身照射群，3） 睾丸のみ照射群の３群に分けた．

4． 照射方法

照射方法は仰臥位で四肢を固定し，睾丸の被覆は睾丸上面に厚さ 4.3cm～ 4.4cm の鉛ブロックを，下面に厚さ３mmの鉛板をおき，睾丸のみ露出した群では，他の部を上面下面に厚さ３mmの鉛板をおき被覆した．

なおフイルムバッヂの測定結果では，睾丸部を被覆した時の睾丸部の被爆線量は，照射線量の2.17%程度で，睾丸のみ照射した群では，他の部

はバックグランド程度であつた.

5. 検査内容

1週間6回の割合で，1日1回 100Rを合計20回照射した. 血清の採取は，照射前，照射10回後，照射終了時，照射終了後10日目に行なつた. 睾丸の組織学的材料は，照射終了後10日目に脱血死したものを用い. ホルマリン固定，ヘマトキシリンエオジン染色を行なつた.

6. 脂肪酸の抽出ならびに測定方法

1群3匹の家兎の血清各4ccを均等にとり，Folch 法で，脂質を抽出，濾過後，0.73%食塩水 0.2容で水洗，40℃窒素流下でクロロホルム層を蒸発後，3%硫酸メタノールでメチルエステル化した後，島津製GC—IB水素炎イオン化検出器付で分析した. 分析条件はカラム4mm× 2,250mm，充填剤は島津製 Diethylene Glycol Succinate を Celite 60～80mesh に15 (v/v) % Coating したものを使用，窒素流量90cc/min. カラム温度 200℃，試量気化室温度 240℃検出器温度 219℃で測定，同定は市販脂肪酸をメチルエステル化し添加同定，脂肪酸比は，半値巾法で行なつた.

実験成績

1. 血清全脂肪酸の変動

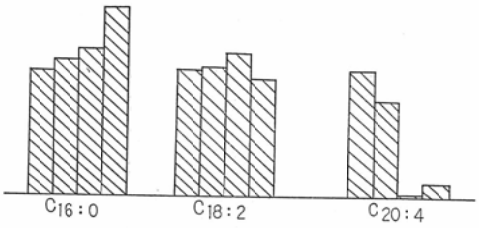
(1) 全身照射群

Tabel 1，Fig. 1は，各脂肪酸の百分化を示したもので，棒線グラフで，代表的脂肪酸の変動を示しておる. 例えば，$C_{16:0}$ パルミチン酸をみると，棒線の向つて左から右へ，照射前，照射10回後，照射終了後，終了後10日目と次第に増加の傾向を示しており，$C_{18:2}$ リノール酸は照射中は漸

Table 1. Whole body irradiation

	pre. irradiat.	10irradiat.	at termi.	at ten post irradiat.
$C_{14:0}$	0.82%	1.78%	1.90%	0.79%
$C_{16:0}$	21.74	23.48	25.53	33.89
$C_{16:1}$	1.83	2.48	1.84	2.05
$C_{18:0}$	12.05	10.53	10.81	11.79
$C_{18:1}$	12.42	14.19	14.03	13.68
$C_{18:2}$	33.79	34.15	38.23	31.57
$C_{18:3}$	7.12	5.80	7.66	5.16
$C_{20:4}$	10.23	7.59	trace	1.05

Fig. 1



次増加し，終了後減少するという傾向を，さらに $C_{20:4}$ アラキドン酸は，照射の回数の増すにつれて減少し，照射終了後，回復して行くことを示している.

Photo 1は，ガスクロマトグラフイーで上段は照射前，下段は照射終了時のものである.

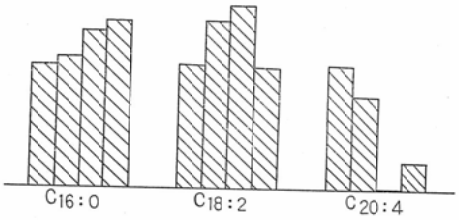
(2) 睾丸被覆全身照射群

Tabel 2，Fig 2，に示すごとく，全身照射群と

Table 2. Total body irradiation while covering the tisticles

	pre. irradiat.	10irradiat.	at termi.	at ten post irradiat.
$C_{14:0}$	0.56%	0.90%	1.94%	0.57%
$C_{16:0}$	20.73	21.62	26.14	27.82
$C_{16:1}$	2.41	2.16	2.61	2.38
$C_{18:0}$	10.73	10.09	12.55	12.81
$C_{18:1}$	15.81	17.66	17.92	17.17
$C_{18:2}$	21.77	29.18	31.96	21.70
$C_{18:3}$	4.11	6.49	6.95	5.25
$C_{20:4}$	15.81	11.80	trace	3.58

Fig. 2



ほゞ同様の傾向を示している. Photo 2の上段は照射前，下段は照射終了時のガスクロマトグラフイーである.

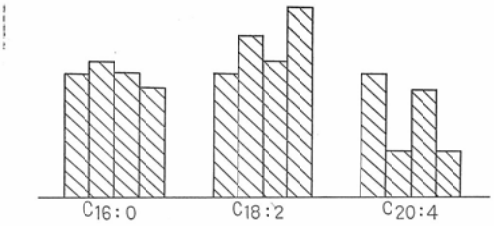
(3) 睾丸のみ照射群

Tabel 3. Fig 3. に示すごとく，$C_{16:0}$ パルミチン酸，$C_{18:2}$ リノール酸，$C_{20:4}$ アラキドン酸，

Table 3. Irradiation of testicles only

	pre. irradiat.	10 irradiat.	at termi.	at ten post irradiat.
$C_{14:0}$	0.76%	0.98%	1.53%	0.95%
$C_{16:0}$	20.23	23.32	20.30	17.83
$C_{16:1}$	2.02	2.51	1.75	0.95
$C_{18:0}$	9.36	11.23	11.39	15.30
$C_{18:1}$	14.66	16.35	15.26	17.43
$C_{18:2}$	22.76	28.72	24.32	34.47
$C_{18:3}$	6.57	7.84	5.91	4.36
$C_{20:4}$	23.04	8.99	19.53	8.71

Fig. 3



何れも波状消長を示し，一定の傾向をつかみ難い．全般的に $C_{18:2}$ リノール酸の増加，$C_{20:4}$ アラキドン酸の減少傾向を示すも，前2群にくらべて著明でない．同じくPhoto 3は，上段に照射前，下段は照射終了時のガスクロマトグラフイーである．

2．組織学的変化

（1）全身照射群

照射終了後10日目に脱血死して採取したもので，Photo 4はその弱拡大，Photo 5は強拡大である．精上皮細胞は全く消失しており，僅かにセルトリー細胞が残つている．間質の ledig な細胞は正常である．

（2）睾丸被覆全身照射群

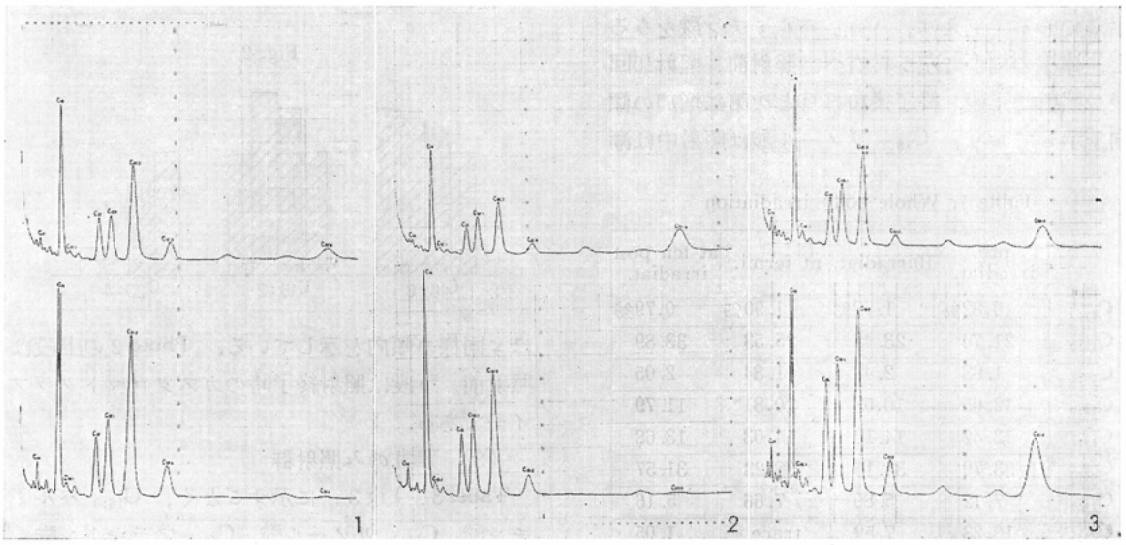
Photo, 6は弱拡大，Photo, 7は強拡大，黒点としてみえるのが，精母細胞で，精祖細胞はみえない．

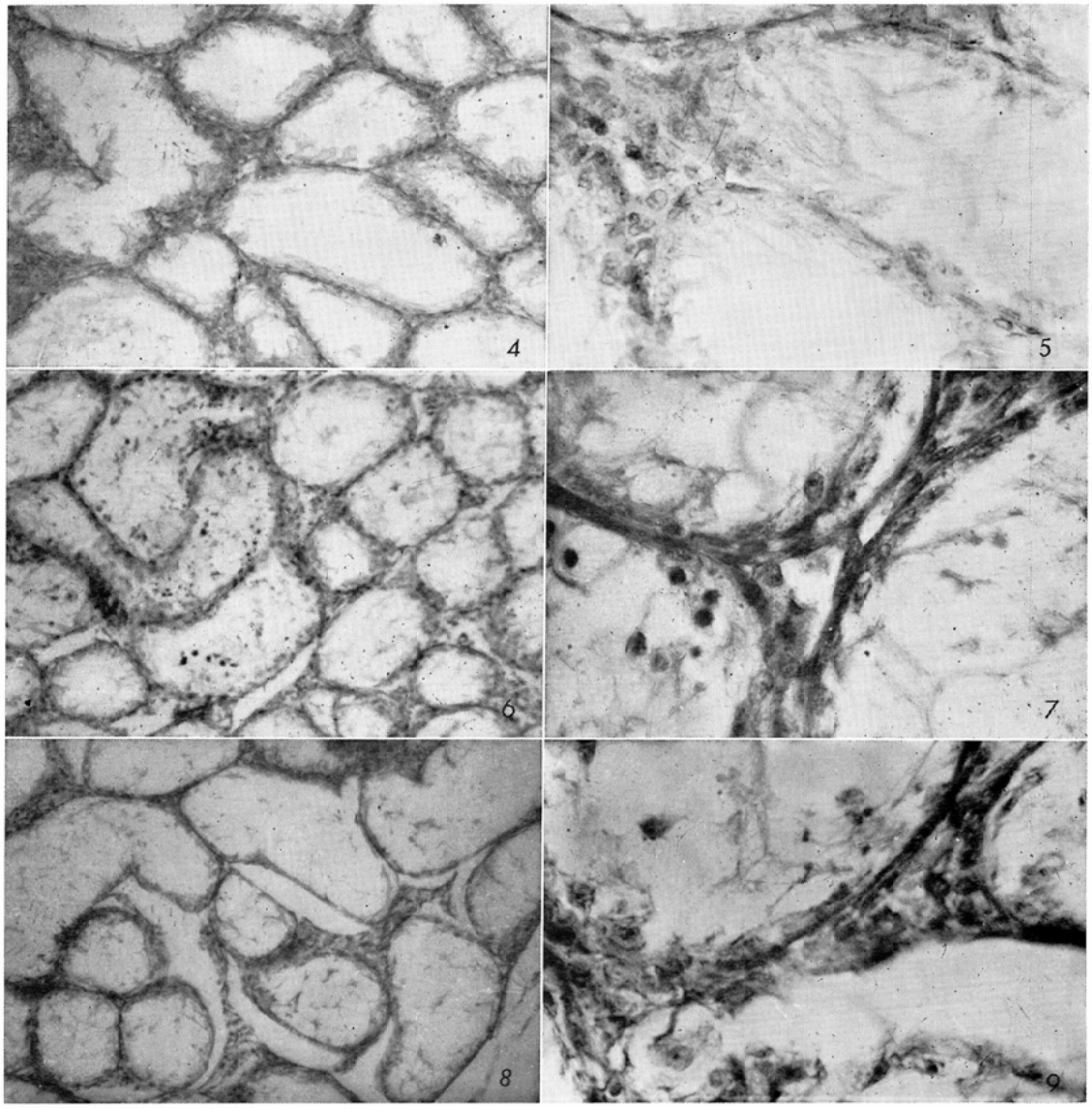
（3）睾丸のみ照射群

Photo 8，Photo 9に示すごとく，全身照射群と同様，精上皮細胞は全く消失し，間質の ledig な細胞がみられる程度である．

考　察

睾丸に対する放射線の影響は，造血臓器と同様感受性が高く，放射線障害の面から重要な臓器である．この組織学的研究は，1903年Albers-Schönberg[15] がモルモット，ウサギの睾丸にX線を照射し，肉眼的に睾丸は縮小し，精上皮細胞の消失することをのべ，1906年には，Bergonie-Triboneau[16]が，ラットの睾丸を用いて，有名な Bergonie-Triboneau の法則を見出している．それ以来，





幾多の報告がなされている．X線作用は，精祖細胞が最も感受性が高く，次いで精母細胞，精娘細胞，精子細胞，精子の順であり，精細管の萎縮は精祖細胞の減亡の結果惹起されるとされている．また興味ある事実は，時間強度関係である．これは1922年 Regaud[17] が，羊の睾丸にラジウムを照射し，強いラジウム短時間照射するよりも，弱いラジウムを長時間照射する方が，作用の強いことを示した．すなわち睾丸に対し与えられた総蓄積量よりも，むしろ照射時間の長さの方が影響することである．私の実験では，一般的生物作用では線量率依存性が問題となる低線量率となつた．また分割照射と一坐全量照射に関しても Schintz u. Slotopolsky[18]，田原[19]は家兎の睾丸を用い，分割照射の方が作用が遙かに強大であると報告している．以上の文献的事実については，異論のない

所[20)21)]であるが，全身，局所と照射野の選択により，睾丸への影響については諸家の一致をみていない[12)~14)]．

Schaver[12)] は，放射線を 500R，全身照射で，著明な組織学的変化を認め，これに反して同じ線量を体部を被覆して睾丸に，また睾丸を被覆して同じ線量を体部に照射した場合には，明らかな組織学的影響をみないとのべ，これに対してKohn[13)]は，60，180，210Rを直接睾丸に照射した場合には，著明な組織学的変化と睾丸重量の減少をみ，そして全身に対して照射したと同じ線量を，体部を被覆して睾丸に照射するよりも，睾丸に対しての損傷の程度は大きくないとのべている．

M. Freud[14)] は，モルモットを用い実験群を，1）非照射群，2）全身照射群 300R，3）頭部と体部を被覆して睾丸 300R，4）睾丸を被覆して頭部と体部に 300R，5）体部と睾丸を被覆して頭部に 300R，6）睾丸と頭部を被覆して体部に 300Rに分け，2)3)4)群は，射精精子の数は著明に減少，5)群は精子産生は抑制されているけれども，頭部を加えたことにより生ずる他群との差異はないとのべ，これらのことより，1）精子形成に対して必要なある種の物質の減少または停止（たとえば性刺激ホルモンのごときもの),2）体部のある組織において照射の結果として，精子形成を抑制するある種の物質の産生，3）他の臓器の機能低下に伴い，睾丸機能も低下する．4）特殊な臓器の機能低下を反映して，睾丸機能の低下，等が考えられるとしている．若林[22)]は家兎睾丸の一側を照射した場合，他側睾丸にも同様な組織学的変化が発生した点から間接的影響の存在することを指摘し，小坂[23)]は家兎に，X線照射した赤血球，あるいは白血球を投与した場合，または耳翼をX線照射した場合には，精祖細胞の核分裂像上の変化はみられないが，しかしX線照射睾丸エキス投与家兎にあつては，非照射睾丸エキス投与の場合と異なり，精祖細胞の分裂抑制があると述べている．その他間接的影響の存在を示唆する論文[24)52)]は数多い．私の実験では，全身照射，局所照射ともに，組織学的に強い変化を認め，両群の間に差異を認めない．睾丸を被覆した群では，前2群に比べて，その変化は弱いが，散乱線による睾丸に対する影響と考えるには，その変化は強く，やはり間接的影響の存在を示唆しているものと思われる．たゞこの間接的影響をもたらすものが，M. Freud らが指摘したごときものにその可能性があるが，山本らは，照射家兎より抽出した高級不飽和脂肪酸を，連続静注し去勢されることより，私は間接的影響をもたらすものは，生体内に産生されたある種の不飽和脂肪酸が，血流を介して睾丸に影響をもたらすのではないかと考えている．

ガスクロトグラフイーによる正常家兎血清の構成脂肪比は，今井[22)]らは，C_{16} パルミチン酸38.0%，$C_{16:1}$ パルミトオレイン酸 2.6%，$C_{18:0}$ ステアリン酸 5.6%，$C_{18:1}$オレイン酸，23.4%，$C_{18:2}$ リノール酸25.2%，$C_{20:4}$アラキドン酸 0.5%，久万田[23)]らは，$C_{14:0}$ミリスチン酸1.27%，$C_{16:0}$ パルミチン酸 23.47%，$C_{16:1}$パルミトオイレン酸1.79%，$C_{18:0}$ ステアリン酸 10.73%，$C_{18:1}$ オレイン酸 13.79% $C_{18:2}$ リノール酸 25.71%，$C_{18:3}$ リノレイン酸5.37%，$C_{20:4}$ アラキドン酸 17.88%で，私の実験では $C_{14:0}$ ミリスチン酸0.56%～0.82%$C_{16:0}$ パルミチン酸 20.23～ 21.74%，$C_{16:1}$ パルミトオレイン酸酸 1.83～2.41%，$C_{18:0}$ ステアリン酸9.36～ 12.05% $C_{18:1}$ オレイン酸 12.42～15.81%，$C_{18:2}$ リノール酸 21.77～ 33.79%，$C_{18:3}$リノレイン酸4.11～7.12%，$C_{20:4}$アラキドン酸 10.23～ 23.04%である．構成脂肪酸比は季節，年令，食餌等により大きく変動するし[22)]，また脂肪酸のメチルエステル化の方法に，かなり問題が存在するようである[28)]．私は Peter[29)] らの硫酸メタノール法を用いた．久万田[27)]は家兎に一坐全量 1,000Rを照射し，経時的に血清脂肪酸の変動をみているが，$C_{20:4}$ アラキドン酸 $C_{18:3}$ リノレイン酸，$C_{18:1}$ オレイン酸の減少，C_{16} パルミチン酸，$C_{18:2}$リノール酸の増加をみている．私の実験でも，久万田と同様，全身照射群では照射終了時には$C_{20:4}$アラキドン酸は痕跡程度となり，$C_{18:2}$リノール酸は増加を示している．睾丸被覆全身照射群でも同様の傾向を示している．睾丸照射群では $C_{16:0}$ パルミチン酸 $C_{18:2}$ リノール酸，$C_{20:4}$ アラ

キドン酸，何れも波状消長を示し，一定の傾向をつかみ難い．

$C_{18:2}$ リノール酸，$C_{18:3}$ リノレイン酸，$C_{20:4}$ アラキドン酸はビタミンFと呼ばれるごとく，生体内で合成されることのない必須脂肪酸である．Nugtren[30], Stoffel[31]によれば，ミクロゾームで，マロニル CoA が関与して，リノール酸→γリノレイン酸→ホモγリノレイン酸→アラキドン酸，またはリノール酸→$C_{20:2}$→ホモγリノレイン酸→アラキドン酸に移行すると考えている．全身照射群，睾丸被覆全身照射群にみられる $C_{18:2}$ リノール酸の比較的増加，$C_{20:4}$ アラキドン酸の著明な減少の一部は，この経路に照射により，何んらかの障害がおこつたのではないかと思われる．これにさらに照射に伴う lipid peroxide の関与も考えられる[32]．この $C_{18:2}$ リノール酸の比較的増加，$C_{20:4}$ アラキドン酸の減少が，睾丸被覆全身照射群にみられる睾丸の変化に，何んらかの役割をはたしているのではないかと推定する．

結語：睾丸に対する放射線の去勢の問題を明らかにする目的で，全身照射群，睾丸被覆全身照射群，睾丸照射群に分け，血清脂肪酸の消長を，組織学的変化を指標として追及した．

1) 全身照射群，睾丸照射群に強い組織学的変化をみる．睾丸被覆全身照射群では，フイルムバッヂの測定結果では，照射線量の2.17%程度であるにかかわらず，前二者より，やや弱いが，明らかな組織学的変化を認めた．

2) 全身照射群，睾丸被覆全身照射群では，$C_{16:0}$ パルミチン酸は増加傾向を，$C_{18:2}$ リノール酸は照射中増加し，照射終了後，減少．$C_{20:4}$ アラキドン酸は照射中減少，痕跡程度となり，のち回復する傾向を示している．

特に，睾丸被覆全身照射群にみられる，$C_{18:2}$ リノール酸の比較的増加，$C_{20:4}$ アラキドン酸の比較的減少が，山本らの実験結果より類推して，睾丸変化に，何んらかの役割をはたしているのではないかと推定する．

睾丸のみ照射群では，一定の傾向はつかみ難い．

参考文献

1) Lea, D.E.: Brit. J. Radiol. Suppl. 1 : 59. 1947.
2) Gray, L.H.: Red. Res. 1 : 189, 1954.
3) Zirkle, R.E. et al.: Arch. of Biochem. & Biophys. 47 : 282, 1953.
4) Pollard, E.: Adv.in Biol. u. Medical Physics Ⅲ 153.
5) Dale, W.M.: Radiation Coemistry 293, 1952.
6) 山本道夫：細胞化学シンポジウム，9, 1959.
7) 山本道夫：日本医学放射線学会誌，23 : 313, 1963.
8) 大原幸子：Acta Med. Okayama 16 :333, 1962.
9) 〃 : Acta Med. Okayama 17 : 63, 1963.
10) 小島澄一：日本医学放射線学会誌, 18 : 1753, 昭和34年.
11) 赤木瑩子： 〃 20 : 2320, 昭和35年.
12) Shaver, S.L.: Am. J. Anat. 92 : 391, 1953.
13) Kohn, H.I.: Red. Res. 153, 1953.
14) Freund, M. et al.: Red. Res. 24 : 67, 1965.
15) Albers Schonberg: 日本医学放射線学会雑誌. 19/2, 1856より引用.
16) Bergonie Tribondeau: 放射線生物学, 北畠隆著，昭和39年より引用.
17) Regaud: レントゲン治療学，武田俊光著より引用.
18) Schintz u. Slotopolsky: 福岡医学雑誌, 48下 : 1257より引用.
19) 田原昭市：福岡医学雑誌, 48下:1257, 昭和32年.
20) 朝山弘雄：日本医学放射線学会誌，12/6 : 1, 昭和27.
21) 高橋信次： 〃 76 : 847, 昭和15年.
22) 若林 勝： 〃 117 : 53, 昭和27年.
23) 小阪 享： 〃 109 : 67, 昭和25年.
24) 戸部竜夫： 〃 117 : 54, 昭和27年.
25) 寛 弘毅： 〃 117 : 55, 昭和27年.
26) 今井正ら：脂質生化学，朝倉書店，東京，昭和41年.
27) 久万田泰昌：第27回日本医学放射線学会総会京都，1968.
28) 核酸，蛋白，酵素別冊，生物化学実験法, p.30. 共立出版，1967.
29) Perter, W. et al.: J of Clinical Invest.42/8: 1248, 1963.
30) Nutgren, D.H.: biochem Biophy. Acta60 : 656, 1962.
31) Stoffel, W.: Lipoide ed by E. Schutte p.64 : 1966.
32) Albert, A.B.: Rad. Res. 10 : 167, 1959.