

Title	細胞分裂系図の符号化について
Author(s)	栗冠, 正利
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1974, 34(9), p. 704-708
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/17381
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

細胞分裂系図の符号化について

東北大学医学部放射線基礎医学教室

粟 冠 正 利

(昭和49年4月25日受付)

(昭和49年6月3日最終原稿受付)

On coding of pedigrees of dividing cells

by

M. Sakka

Tohoku University School of Medicine, Sendai 980, Japan

Research Code No.: 400

Key Words: Coding of irradiated pedigrees

Time lapse cinemicrograms of cultured hepatoma cells of the rat (Katsuta and Takaoka) were analysed and pedigrees of dividing cells were constructed. There were two types of pedigrees, full and fragmentary.

Full pedigrees were divided into two classes and coded as in table 5.

Any cell in a pedigree, viable or lethal, is identified by combination of 0 and 1. Lethal pedigrees were coded. Frequency distribution of pedigrees after irradiation (400 to 800 R) was given in table 1.

Viable pedigrees were listed in table 2. The number of generations in which post-irradiation (400-800 R) cell death took place is given in tables 3, 4 and 6. Full paper will appear elsewhere in a near future.

照射後の細胞死には分裂間期死と再生的死 (re-productive death) があるというが両者の頻度を実測するのは難しい。我々は照射後0ないし2回の分裂後におこつた細胞死を早期死と定義した上で早期死を含む系図のパターンを符号化、分類し、系図出現率と線量との関係を求め照射後早期の細胞増殖動態の一部を明らかにしようと試みた。

材料及び方法

勝田と高岡が誘発しただいこくねずみ由来の培養細胞株 Cula TC, Culb TC 及び Cule TC を照射後8000分余にわたつて2分に1コマの割合で顕微鏡映画におさめこれを粟冠が系図化した研究は

既に発表した⁴⁾⁵⁾。本報告ではそれらの系図のパターンを符号化し、任意の1つの細胞を系図上で指定しその細胞が照射後におこした生死の反応を手にとるように示し、1コマの細胞の特性を明確に規定してから集団の統計に及ぶ試みをのべるつもりである。これは集団の統計的性質から1コマの細胞の特性を想像する集団動態論の逆の試みである。

今までに勝田と高岡が制作し粟冠が分析した映画は対照株 Cula TC LB. 31, 同 MB. 1, Culb TC KC. 11, 同 KB. 53, Cule CT LD. 17, 400 R照射株 Cula MC. 1, 500 R照射株 Cule KD. 35, 600 R照射株 Culb KB. 36, 同 OB. 5, 同

OC. 5, 800R照射株 Culb LA. 19, 同 MD. 1, Cule LA. 18であった。KC. 12とOB. 5を除いてすべて8000分(4000コマ)以上の系図ができた。系図には満足なものと断片的なものがあった。満足な系図とは映画第1コマ(Bと略記する。以下同様)から最終コマ(E)まで生存が追跡できたものおよび途中で死亡が確認できたものを言う。死亡とは細胞が培地上で拡がった状態のまま破壊するDSと丸い状態で破壊するDRをさし、それぞれ分裂間期および分裂期に対応する。断片的な系図とは細胞が途中から視野に入ったIN系図、途中で視野から去ったO系図、混雑して判別できなくなつたC系図をいう。ここでは満足な系図を扱う。

成 績

I 系図のパターンの符号化と照射後のパターン変化満足な系図を次のように符号化した。この説明とあわせて表5を見て下されば一目瞭然である。

I-1 生存系図

I-1-1 BからEに至る間に細胞が1回も分裂しないで生存した系図を0(ゼロ)と符号化した。

I-1-2 BからEに至る間に1回だけ分裂して左右(上下でもよい。2本の枝の一方が左なら他は右)に1本づつ枝を出した生存系図を1と符号化した。

I-1-3 BからEに至る間に1回分裂し左右の枝となり左枝が更に1回分裂したためにEでは合計3コマとなつた生存系図。第1回分裂後右枝は0、左枝は1となつたので(0, 1)と符号化した。()は0と1を分裂で結ぶ符号である。左枝と右枝は入れ替つてよい。

I-1-4 Bで1コマでありEで4コマになつた生存系図には2つのパターンがある。

I-1-4-1 第1回の分裂でできた左右の枝が共に第2回分裂するものを(1, 1)と符号化した。

I-1-4-2 第1回の分裂でできた右枝は分裂しない。左枝が第2回分裂して1となりその

一方の枝が更に第3回分裂したもので(0(0, 1)と符号化した。

I-1-5 Bで1コマでありEで5コマにあつた系図は同様に(0(0(0, 1), (0(1, 1), (1(0, 1)と符号化できた。

このようにしてどんな分裂系図でも2分裂をくり返す限り必ず0と1とで分裂のパターンを符号化することができる。

I-2 死亡系図 細胞死が系図上のどの枝におきてもその枝にdをつけて細胞死の位置を指定できる。例えば照射後0世代で死亡した系図は0d, 照射後第1世代で片方の枝にだけ死亡がおこつた系図は1d同様に両方の枝におこれば1ddと符号化した。死亡系図には2通りあつて

I-2-1 全部死亡系図 これは分裂系図上で細胞が全部死亡する系図である。例えば0d [死亡率 $\frac{1}{1}$, 但し分子は死亡細胞を, 分母は系図上で判定できる全細胞数を表わす。以下同様], 1dd [$\frac{2}{2}$], (0d, dd) [$\frac{2}{2}$], (1dd, 1dd) ($\frac{1}{4}$)等。

I-2-2 一部死亡系図 これは分裂系図上の細胞の一部にだけ死亡がおこり残部は生存したままEに至る系図を言う。例えば1d [$\frac{1}{2}$], (0d, 1) [$\frac{1}{2}$], (1d, 1) [$\frac{1}{4}$], (0d, 1d) [$\frac{1}{2}$], (0, 1dd) [$\frac{2}{3}$]等。

I-3 系図パターンの出現頻度 死亡系図を符号化し死亡の起こつた位置を系図上で指定してこれらを線量別に分類することができた。観察時間は照射後8000分である。結果は表1に示す通り。表中の出現率は日本規格協会の推計紙を用いて有意差検定し次のような結論に至つた。

(1) 全死亡率(死亡細胞合計を生・死細胞合計で除した値)は線量と共に上昇した。

(2) 全部死亡系図の出現率は照射量500R以上で上昇したが照射量による差は小さかつた。

(3) 細胞癒合を含む死亡系図の出現率は照射量が小さい程、高率であつた。

(4) 0d, 1d, 1ddの出現率は線量ごとに差はあるが規則性はみつからなかつた。

照射後に細胞死がおこるために生存系図パター

表1 死亡系図符号化と線量別出現頻度

符 号	0 R	400 R	500 R	600 R	800 R	
0 d	21	5	4	30	29	
1 dd	8	5	—	18	41	
(0 d, 1 dd)	1	1	—	2	7	
(1 dd, 1 dd)	—	—	—	—	1	
1 Fd*	—	3	—	3	6	
1 d	6	11	1	6	22	
(0 d, 1)	2	—	—	—	2	
(1 d, 1)	—	1	—	1	—	
(0 d, 1 d)	—	1	—	—	1	
(0, 1 dd)	—	—	—	3	2	
他	Fを含む	4	1	—	4	5
	Fを含まぬ	8	—	—	—	—
小 計	50	28	5	67	116	
生死合計	143	75	14	126	202	

* 1 Fd: 1 回分裂後に癒合して 1 コにもどつた細胞が死亡したもの。
1 Fd*から上は全部死亡を示し 1 dから下は一部死亡を表わしてある。

表2 生存系図符号化と線量別出現頻度

符 号	0 R	400 R	500 R	600 R	800 R	
0	47	9	5	35	49	
1	46	30	3	13	22	
(0, 1)	5	1	—	1	—	
(1, 1)	7	1	—	3	—	
1 F	4	4	1	6	12	
其 他	Fを含む	4	2	—	1	3
	Fを含まぬ	10	—	—	—	—
小 計	123	47	9	59	86	
生死合計	173	75	14	126	202	

ンの出現頻度が変わる。8000分までの生存系図を照射量別に分類すると表2のようになった。検定の結果

- (1) 対照(OR)系図には大きいもの[(0,1), (1,1), 其他]が多かつた。
- (2) 照射された系図には大きいものが少なくまた 1 形も少なかつた。
- (3) 細胞癒合の出現率は照射量と関係がなかつた。

II 照射後どの世代で死亡がおこるか 第1 コマ以後追跡できた細胞を次のように符号化した。分裂しない枝を0とする。1回分裂したならば左

表3 線量と照射後の死細胞出現頻度

世代	400 R	600 R	800 R	線量間差	世代間差
0	4/36	31/120	29/164	有	有
1	22/36	59/120	92/164	無	
2	6/36	17/120	32/164	無	

分子は各世代に出現したDSとDRの和を、分母はDSとDRの全世代についての総和を示す。

表4 生存系図中の世代別生存細胞頻度

世代	0 R	400 R	600 R	800 R	線量間差
0	40/477	9/135	33/229	49/320	有
1	118/477	71/135	43/229	69/320	有
2	98/477	10/135	21/229	8/320	有
3	87/477	—	—	—	—

分子は各世代に出現した生存細胞数、分母は生存細胞の全世代についての総和を表わす。

枝に0を、右枝に1を与える。始めから起算すると左枝は00、右枝は01と符号化できる。左枝がもう1回分裂すると000と001となり右枝がもう1回分裂すると010と011となる。このようにして細胞はすべて系図上に指定席を与えられ、符号の数から1を減じた値はその細胞がそれまでに経験した分裂回数すなわち照射後の世代数を表わしている。この符号化にも0と1とを用いたがこの数字の意味を前節Iの系図パターンの符号化の数字と混同しないように願いたい。細胞系図上の世代の符号化は表6の通りである。細胞死がおこつた世代を分類すると表3の通りで、前と同じ方法で出現率の差を検定すると「照射後8000分に死亡した細胞は分裂回数1を経験した系図に集中している」と結論できた。

照射後に生存した細胞はどんな系図を造つているかをみると表4の通りであつた。この成績から導かれた結論は

- (1) 照射後8000分生存し、2回以上分裂できるような系図は少なかつた。
- (2) 照射後8000分生存しているが分裂回数0

表5 系図のパターンと符号 (満足な系図). Bは始め, Eは終り, Dは死亡の記号

1. 生存系図

系図	符号
	0
	1
	(0, 1)
	(1, 1)
	(0 (0, 1))

etc.

2. 死亡系図

系図	符号	備考
	0 d	全部死亡
	1 dd	
	(0 d, 1 dd)	
	(1 dd, 1 dd)	

	1 d	一部死亡
	(0 d, 1)	
	(0, 1 dd)	

etc.

又は1の系図を造るような細胞の出現頻度は照射量によつてさまざまに規則性がない。

考 察

系図パターンを0と1とで符号化する方法は多極分裂にはあてはまらず、二分分裂後癒合した系図にはあてはめにくい。幸いにおかした分裂系図は少なかったたのでこの符号化でも深刻な困難はなかったが、異常分裂の符号化には別の工夫が必要で

表6 細胞系図上の世代の符号化

系図	符号	世代
	0	0
	0 0	1
	0 1	1
	0 0	1
	0 1 0	2
	0 1 1	2
	0 0 0	2
	0 0 1 0	3
	0 0 1 1	3
	0 1 0	2
	0 1 1	2

etc.

ある。

分裂間期死は小リンパ球や卵巣卵胞細胞におこる特殊なもので一般に分裂細胞は中、低線量照射後数回分裂して再生的に死ぬと言うのが定説になっているが我々がここに報告した細胞は800R以下の小さい照射量で容易に分裂間期死をおこした1~2回の分裂後に死んだ。系図法は照射後の早期死を測定するのに他の方法(コロニー法, 計算板法, コールターカウンター法, 腫瘍体積測定法などを言う)よりすぐれていることを思うと、我々は従来の定説を再吟味する必要があると考えている。「数回分裂して死ぬ」と言う数回が分裂系図の中でおこつた分裂の数なのか又は指数的に増殖している集団の平均世代数なのかも問題であろう。

照射後の細胞死を確率過程論で説明する試みがある²⁾。これは増殖の分枝論¹⁾²⁾からみて必然的な議論であるが照射後の細胞死が早期に集中する実例⁶⁾があるので死亡が確率的におこると言う仮説には一工夫が欲しい。もし確率的な死以外の要因をも重要視するとすれば照射後の無限増殖能損失の一部が小さい系図中におこる全部死亡によるという説明はかなり合理的であろう。照射後数世

代たつて大きな系図を造つてからその系図の中のすべての細胞が死んだために無限増殖能を損失したと言う観察は今までの系図分析では遭遇したことがないしまた理論上も考えにくい。

なお、本論文の詳細は粟冠、勝田、高岡が別に発表する予定である。本研究は文部省科学研究費がん特別研究の支援によることを記して謝意を表す。

文 献

1) Harris, T.E.: The theory of branching process, p 1—34, 93—163, Springer Verlag,

Berlin, 1963.

- 2) 小和田 正：マルコフ連鎖, p 121, 白日社, 1973.
- 3) 望月幸夫：文部省科研費がん特別研究, がん細胞の増殖と阻害動態の実験的および理論的研究 (1971), 105—111, 同 (1972), 92—237.
- 4) 粟 冠, 勝 田, 高 岡：日本医放会誌, 31 (1971), 550—554.
- 5) Sakka, M., Katsuta, H. & Takaoka, T.: Tohoku J. exp. Med. 106 (1972), 275—284.
- 6) Sasaki, S.: Tohoku J. exp. Med. 108 (1972), 225—237.