



Title	二系統の腹水肝癌の放射線感受性及び回復の相違について
Author(s)	益山, 栄良
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1959, 19(9), p. 1873-1881
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/17436">https://hdl.handle.net/11094/17436</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

## 二系統の腹水肝癌の放射線感受性及び回復の 相違について

東京大学医学部放射線医学教室 (主任 宮川正教授)

助手 益山 栄 良

(昭和34年8月24日受付)

### 緒 言

悪性腫瘍に対する放射線治療の配量に関する因子は、空間的線量分布と、放射線生物学に基盤をおく時間的線量分布に大別することができる。前者は近時急激な発症を示し、術者は目的の病巣に適した線質、照射方法を選擇することにより、ほとんど術者の欲する病巣線量を与えうると云つても過言でない。しかるに後者に関しては、いまだ未解の問題が山積している。特に臨床的に現在行つている分割照射の時間的因子についての放射線生物学的根拠は非常に薄弱である。勿論この問題は一朝一夕に解決されるもので決してない。

分割照射の主眼は、悪性腫瘍組織とこれを取りまく正常組織との間の放射線障害度の差をできるだけ引き離すと云う点にある。放射線感受性の異なる二種類の組織に同一線量を照射した場合の各組織の障害の程度とその回復に要する期間との相関はこの時間的配量の基盤となるものである。

かゝる見解のもとに放射線感受性と回復期間との相関を考察してみた。しかし臨床の場合は、悪性腫瘍とそれを取りまく正常組織が問題となるがこの両者の感受性並びに回復を共通した指標で觀察することは全く困難であるので著者は、発生母地を同じくする二系統の腹水肝癌で nitrogen mustard に対する感受性を異にする A H 130系と A H 7974系の結節型について X線照射による腫瘍への放射性磷の摂取の変化を指標として、異つた系統の腫瘍の放射線感受性の差ならびに放射線による障害よりの回復の差を研究し、あわせていわゆる radiomimetica である nitrogen mustard と放射線の作用の相違に有無についても検討を加

えた。

以下に報告する。

### 研究方針

今回は二種の腫瘍の磷代謝の放射線による変化を指標として觀察した。この場合磷代謝の各分層に分けて比較検討すべきであるが、今回の実験の様に多くの腫瘍ごとにその各分層を求めることは非常に困難なことである。そこで放射線の影響を知る指標を簡易化するため磷代謝の各分層の放射線による影響と総磷代謝の変化との相関を求め時間的因子を考慮すれば磷総代謝の変化が可成り各分層の変化と並行性があることを確め得たので総磷代謝を指標として実験を行つた。磷代謝指標としては放射性磷 ( $^{32}\text{P}$ ) を使用した。

### 実験方法

体重 100 g 前後の雑系ラットの背部皮下 4 カ所に腹水肝癌 A H 7974系又は A H 130系の腹水 0.2 cc をそれぞれ移植し、移植後 10~12日目の腫瘍を実験に供した。この時期に皮下腫瘍は平均 5 g 前後となる。A H 7974系皮下腫瘍は比較的發育速度が遅く腫瘍は中心部の壊死が少い。これに反し A H 130系皮下腫瘍では發育速度が早く腫瘍中心部の壊死がしばしばみられる。そこで実験には壊死のない部分をとつた。

照射方法：200KVp, 20mA, フィルター-Cu 1 mm + Al 0.5mm, 距離30cm, 線強度 120r/分により 1000r を全身照射する。照射後 1, 3, 6, 12, 24, 48時間目に動物を屠殺する。屠殺前 1時間前に  $^{32}\text{P}$  60 $\mu\text{c}$  を腹腔内に注射する。

### 磷酸分劃法

i) 総磷：適当量の組織を取り、湿重量測定

後マイクロキエルダール用酸化コルベンに入れ、濃硝酸を加え、加熱灰化し、灰化後適当に稀釈し、適量を試料血にとり、赤外線ランプ下に乾燥し、放射能をGMカウンターにて測定する。

### ii) Schmidt-Thanhauser<sup>2)</sup> 法による磷酸分劃法

組織の一定量を取り、10倍量の氷冷生理的食塩水を加え Potter-Elvehjem ホモジェナイザー<sup>3)</sup>にて処理し、ホモジェネートの一部について総磷及びその放射能を測定、残りに10%氷冷三塩化醋酸を加え遠沈、沈渣を氷冷5%三塩化醋酸にて2度洗滌、以上の洗液を酸溶性磷酸分劃とする。

沈渣をアルコールにて2回洗い、沈渣を3:1アルコール-エーテル混液にて洗滌、洗液を加え磷脂質分劃とする。

磷脂質除去後の沈渣を1N-NaOHにて37°C、24時間水解し、ついで6N塩酸にて中和、5%氷冷三塩化醋酸を加え、遠沈、沈渣を5%氷冷三塩化醋酸にて洗い、洗液を磷蛋白及びRNA分劃とする。

沈渣に5%三塩化醋酸を加え、95°C、15分加熱、遠沈、この操作を更に一度繰返し、洗液を加えDNA分劃とする。

各分劃について過クロール酸による灰化後磷酸をAllen法により測定、また放射能を測定する。

### iii) 酸溶性磷の分劃法<sup>5)6)7)</sup>

約3gの腫瘍組織を取り、アセトンドライアイス混液中にて凍結、これを細碎し、2倍量の0.6N過クロール酸を加え処理し、沈渣に2倍量の0.2N過クロール酸を加え洗滌、洗液をあわせこれに氷冷5N苛性カリを加え中和(指示薬 phenol red)、これを予め蟻酸型としたDowex 1カラム上加え、ついでHürlbert, Potter等の蟻酸-蟻酸アンモニウムを溶媒とする gradient-elution chromatography 法によつて4cc宛分劃する。

各分劃について紫外外部吸収および液浸型G.M.カウンターにより<sup>32</sup>Pの放射能を測定する。ついで主分劃について紫外外部吸収度の総和、磷酸定量、放射能の総和を求める。

以上より総磷としての放射能、各磷酸分劃、さ

らに無機磷の放射能を求め計算する。

### 実験結果

#### I) 各磷酸分劃への<sup>32</sup>Pの分布

表1および表2に<sup>32</sup>P 60 $\mu$ c 腹腔内注射後1時間の腫瘍組織の各磷酸分劃への<sup>32</sup>Pの incorporation の割合を示した。表より磷酸含量としてはAH7974系皮下腫瘍もAH130系皮下腫瘍においても酸溶性総磷、磷脂質、RNA+磷蛋白、DNAの4分劃の値はほぼ近似しており、わずかにAH130系において酸溶性総磷量が他の分劃に比して高い。<sup>32</sup>Pの incorporation の割合は、AH7974系及びAH130系の両系の皮下腫瘍共、酸

表1 AH7974系腫瘍組織の磷酸分劃並びに<sup>32</sup>Pの分布

分層	磷含量%	cpm %
酸溶性 総磷	28.1	90.1
磷脂質	23.3	3.2
RNA P.P.	28.8	6.1
DNA	19.8	1.1

表2 AH130系腫瘍組織の磷酸分劃並びに<sup>32</sup>Pの分布

分層	磷含量%	cpm %
酸溶性 総磷	37.4	97.2
磷脂質	19.4	0.5
RNA P.P.	27.3	2.0
DNA	15.9	0.3

溶性総磷が90%以上をしめており、他の分劃へはほとんど<sup>32</sup>Pの incorporation がないと云える。勿論<sup>32</sup>P注射後時間の経過と共に他の分劃へ<sup>32</sup>Pが入っていくことは充分想像される。すなわち<sup>32</sup>Pは始め組織の無機磷プールに入り、いろい

この過程をへて低分子有機磷酸化合物に入り、ついで磷脂質分劃、核酸分劃等へ incorporation されていくのであるが、注射後1時間ではまだ種々のヌクレオチドを主体とする酸溶性磷酸化合物と漸く平衡状態に達するにすぎないと考えられる。つまり注射後1時間の組織のもつ  $^{32}\text{P}$  の放射能は、ほとんどこの酸溶性分劃によるものであると結論できる。

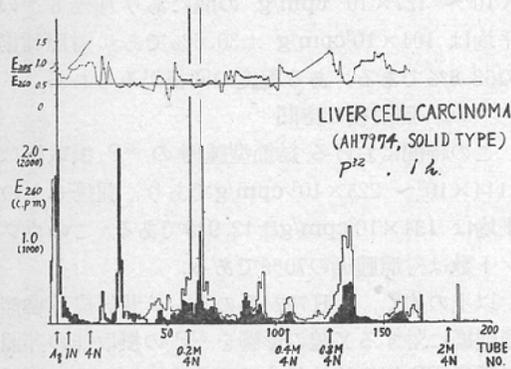
II) 種々の酸溶性磷酸化合物への  $^{32}\text{P}$  の分布

図1に  $^{32}\text{P}$  注射後1時間のAH7974系結節型腫瘍より得た酸溶性磷酸化合物のgradient elutionによるクロマトグラムをしめした。図中黒塗りの部分はヌクレオチドの紫外外部吸収、白塗の部分は  $^{32}\text{P}$  の放射能をカウント数でしめした。このクロ

表3 AH7974系腫瘍組織の酸溶性磷の分劃及び  $\text{P}^{32}$  の分布

		分画	腫瘍組織
E <sub>260</sub> /g	ΣE <sub>260</sub> (総量)		6.495
	DPN		0.172
	湿重量	AMP	1.131
		ADP	0.636
		ATP (+UDP)	0.823
		2.460	
		GTP+UTP	0.208
cpm/g	總酸溶性分画		47.721
	非吸着分画		1.674 (3.5%)
	DPN		90 (0.19%)
	AMP		361 (0.75%)
	湿重量	εP	36.257 (76%)
ADP			
1時間後分析	ATP (+UDP)		1.805 (3.8%)
	GTP+UTP		4.33 (0.9%)

図 1



マトグラムにおける各 peak に相当するヌクレオチド、その他の磷酸化合物の同定は Potter らの原著<sup>5)</sup> 以来各方面の研究によつてその大略は検討済みである<sup>6,7,8</sup>。たとえば腹水肝癌結節型の場合、クロマトグラムの左より 4N 蟻酸で溶出された第1の peak が DPN (助酵素 I)、ついで AMP (アデノシン-5-一磷酸)、4N 蟻酸-0.2M 蟻酸アンモンで溶出される放射能の山が無機磷、ついで紫外外部吸収をもつ ADP (アデノシン二磷酸)、4N 蟻酸-0.8M 蟻酸アンモンで溶出される紫外外部吸収と放射能をもつ ATP (アデノシン三磷酸) の山等が主な分劃である。

いま上述の主な peak について紫外外部吸収および放射能の総和をもとめ、これを酸溶性化合物全体に対する百分率でしめしたものが第3表であ

る。この表から明らかなように酸溶性総磷の放射能の約80%が無機磷の放射能でしめられている。酸溶性磷の分劃には図1にしめした様に数多くの磷酸化合物があり、 $^{32}\text{P}$  注射後1時間という比較的早期にこれらの化合物が  $^{32}\text{P}$  を摂取しているのであるが、それらがしめる放射能は無機磷のしめる放射能に比すれば非常に少いといえる。

以上第1及び第2の実験から  $^{32}\text{P}$  を腹腔内に注射後1時間の腫瘍組織のもつ放射能の大部分、約70%前後は無機磷の放射能によつてしめられると云つてよい(さらに時間の経過と共にこの放射能の分布が変化していることは勿論である)。そこでいま  $^{32}\text{P}$  注射後1時間の腫瘍組織単位重量あたりの放射能を指標としてX線照射の影響をみることは意味深い。腫瘍組織の総磷の放射能を測定することは操作が簡単であり、上述の磷酸分劃法やクロマトグラフィの様な複雑な手段によらなくとも、 $^{32}\text{P}$  注射後の時間を選ぶことによつて酸溶性磷なかならず無機磷の動態をほぼ知りうるからである。さらに又何等かの方法によつて腫瘍外の組織よりの放射能を非常に少くすれば腫瘍を切除しなくとも、いわゆる外部測定によつて腫瘍組織のもつ放射能を測定可能である。しかもその放射能が組織の無機磷によると想定できる。これらの事実は悪性腫瘍が正常組織に比して可成り高い無機磷の放射能活性をもつこと、無機磷の放射能活性

がX線照射によって大きな変化をうけるという実験<sup>9)</sup>(松平, 益山, 堀江)の結果, 及び放射性腫瘍の摂取率の高低の外部測定が悪性腫瘍の診断に用いられている事実等と考えあわせるとき, 単に放射線生物学的な意味でのみならず悪性腫瘍の放射線治療の効果判定という臨床的応用の可能性も充分あるといつてよい。

以下第3の実験ではA H7974系皮下腫瘍及びA H 130系皮下腫瘍の実験腫瘍を用い, X線照射後種々の時間における組織の<sup>32</sup>P 摂取能を測定し, 系統の異なる腫瘍の放射線感受性及び回復の差を検討した。

Ⅲ) 総磷の放射能を指標とした悪性腫瘍の放射線感受性並びに回復の差

皮下移植した腫瘍に全身照射で1000rを照射し, 照射後1, 3, 6, 12, 24, 48時間の各時間に予め1時間前<sup>32</sup>P 60 $\mu$ cを腹腔内注射後, 動物を殺し, 硝酸灰化法によつてえられた試料について放射能を測定する操作は実験方法のところすでに述べた。

1) A H7974系腫瘍の感受性と回復

i) 対照腫瘍の<sup>32</sup>P 摂取能: 腹水肝癌結節型腫瘍の<sup>32</sup>P 摂取能は $114 \times 10^3 \sim 191 \times 10^3$ カウント/分/g (cpm/gと略記する)の間であり腫瘍8ケの平均は $163 \times 10^3$  cpm/g $\pm 14.6\%$ である。次式に示す如く対照腫瘍のこの値を100%とした場合の被照射腫瘍の<sup>32</sup>P 摂取百分率を求めた。

$$\text{摂取百分率(\%)} = \frac{\text{被照射(各時間) 腫瘍の平均 cpm/g}}{\text{非照射(対照) 腫瘍の平均 cpm/g}} \times 100\%$$

以下各系, 各時間とも上記の式に従つた。

ii) 照射後1時間(照射直後<sup>32</sup>P腹腔内注射)

照射1時間後の<sup>32</sup>P摂取能は $61 \times 10^3 \sim 173 \times 10^3$  cpm/gの間にあり腫瘍8ケの平均は $125 \times 10^3$  cpm/g $\pm 30.2\%$ となり対照腫瘍の77%である。

iii) 照射後3時間

照射後2時間目に<sup>32</sup>Pを腹腔内に注射しその後1時間目に屠殺し剔出した腫瘍組織の<sup>32</sup>P 摂取能は $97 \times 10^3 \sim 141 \times 10^3$  cpm/gであり腫瘍8ケの平均 $112 \times 10^3$  cpm/g $\pm 12.4\%$ となり, 対照腫瘍の61%である。

iv) 照射後6時間

この時間における結節型腫瘍組織の<sup>32</sup>P 摂取能は $85 \times 10^3 \sim 127 \times 10^3$  cpm/gであり平均 $110 \times 10^3$  cpm/g $\pm 18.5\%$ となり対照腫瘍の67%である。この値は前記の3時間値より約6%増加しているがこれは実験誤差範囲と考えられ3時間値とほとんど同じ値ではないかと思考する。

v) 照射後12時間

この時間における結節型腫瘍組織の<sup>32</sup>P 摂取能は $10 \times 10^3 \sim 30 \times 10^3$  cpm/gの間にあり, 腫瘍8ケの平均は $19 \times 10^3$  cpm/g $\pm 3.3\%$ である。対照腫瘍の11.5%でありA H7974系腫瘍においてはこの12時間値が最低である。

vi) 照射後24時間

この時間における結節型腫瘍の<sup>32</sup>P 摂取能は $54 \times 10^3 \sim 127 \times 10^3$  cpm/gの間にあり腫瘍8ケの平均は $104 \times 10^3$  cpm/g $\pm 30.6\%$ であり対照腫瘍の63.8%である。ある程度の回復がみられる。

vii) 照射後48時間

この時間における結節型腫瘍の<sup>32</sup>P 摂取能は $114 \times 10^3 \sim 225 \times 10^3$  cpm/gであり, 腫瘍8ケの平均は $134 \times 10^3$  cpm/g $\pm 12.9\%$ である。このカウント数は対照腫瘍の70%である。

以上の如く, A H7974系のラッテ背部皮下結節型腫瘍に対するX線の影響を<sup>32</sup>Pの摂取能の非照射腫瘍<sup>32</sup>P 摂取能に対する百分率でしめたがそれを表示すると第5表の如くなり, その平均cpm/gを表示すると第4表の如く, 平均cpm/gを時間的に図示すると第2図の如くとなる。すなわち

表4 A H7974系腫瘍の各経過時間における<sup>32</sup>P 摂取平均 cpm/g

時間	K	1	3	6	12	24	48
腫瘍8ケ平均	$163 \times 10^3$ cpm/g $\pm 14.6\%$	$125 \times 10^3$ cpm/g $\pm 30.1\%$	$112 \times 10^3$ cpm/g $\pm 12.4\%$	$110 \times 10^3$ cpm/g $\pm 18.5\%$	$19 \times 10^3$ cpm/g $\pm 3.3\%$	$104 \times 10^3$ cpm/g $\pm 30.6\%$	$134 \times 10^3$ cpm/g $\pm 12.9\%$

表5 X線照射後の各経過時間におけるA H79系腫瘍の総<sup>32</sup>P 摂取比

時間	1	3	6	12	24	48
摂取比	77.0 %	68.7 %	67.5 %	17.5 %	63.8 %	82.3 %

AH7974系腫瘍は、照射後1, 3時間と徐々に減少し12時間で最低に達し後上昇する。つまり時間の経過と共に障害の程度が徐々に大となり12時間にてその障害が最大に達し、24, 48時間ではすでに回復期に入っているものと考えられる。この系統の腹水肝癌は nitrogen mustard 系化学療法剤に対して強い抵抗性を有することは、吉田、井坂等の研究によりすでに判明している事実であるが今回の実験により放射線(X線)に対しても相当強い抵抗性を有することが思考された。

2) AH 130系腫瘍の感受性と回復

実験方法はAH7974系腫瘍の場合と同様である。

i) 対照腫瘍の  $^{32}\text{P}$  摂取能

AH 130系腫瘍の非照射の場合の  $^{32}\text{P}$  摂取能は  $55 \times 10^3 \sim 89 \times 10^3$  cpm/g であり、腫瘍8ケの平均は  $64 \times 10^3$  cpm/g  $\pm 12.4\%$  である。この値はAH7974系腫瘍の皮下腫瘍と比較するに約40%と云う低い値であるが之はAH 130系腫瘍はAH7974系腫瘍に比し腫瘍中心部に壊死が多少あり細胞成分がすくないため cpm/g の減少として見られるのかも知れない(表6, 表7)。

表6 AH 130系腫瘍の各経過時間における  $^{32}\text{P}$  摂取平均 cpm/g

時間	K	1	3	6	12	24	48
腫瘍8ヶ	$64 \times 10^3$	$36 \times 10^3$	$8 \times 10^3$	$26 \times 10^3$	$206 \times 10^3$	$136 \times 10^3$	$46 \times 10^3$
平均	$\pm 12.4\%$	$\pm 10.5\%$	$\pm 2.0\%$	$\pm 10.1\%$	$\pm 71.9\%$	$\pm 73.9\%$	$\pm 7.2\%$

表7 X線照射後の各経過時間におけるAH 130系腫瘍の総  $^{32}\text{P}$  摂取

時間	1	3	6	12	24	48
摂取率	56.3	12.5	53.1	320	210	83.6
比	%	%	%	%	%	%

ii) 照射後1時間(照射直後 $^{32}\text{P}$ 腹腔内注射)

照射後1時間後の $^{32}\text{P}$ 摂取能は  $26 \times 10^3 \sim 50 \times 10^3$  cpm/g であり腫瘍8ケの平均は、  $36 \times 10^3$  cpm/g  $\pm 10.5\%$  である。その値は対照値の56.3%である。この値はAH7974系腫瘍と比較するにやや低い値をとる。

iii) 照射後3時間

この時間における  $^{32}\text{P}$  の摂取能は  $6 \times 10^3 \sim 12 \times 10^3$  cpm/g であり、腫瘍8ケの平均は  $8 \times 10^3$  cpm/g  $\pm 2.0\%$  となり非常に低い値をとる。この値は対照値の12.5%であり、非常に急激に減少することがわかった。

iv) 照射後6時間

この時間における  $^{32}\text{P}$  摂取能は  $12 \times 10^3 \sim 37 \times 10^3$  cpm/g であり、腫瘍8ケの平均は  $26 \times 10^3$  cpm/g  $\pm 10.1\%$  である。この値は対照値の53.1%である。照射後3時間値と比較するに約40%増加し、すでに回復期に移行しているものと思われる。

v) 照射後12時間

この時間における  $^{32}\text{P}$  摂取能は  $164 \times 10^3 \sim 242 \times 10^3$  cpm/g であり、腫瘍8ケの平均は  $206 \times 10^3$  cpm/g  $\pm 28.9\%$ 、その値は対照腫瘍の3.2倍も多く摂取し、6時間値と比較するに約8倍の増加となり、回復は急激に上昇することがわかった。このことについては後に小括の所で検討する。

vi) 照射後24時間

この時間における  $^{32}\text{P}$  摂取能は  $112 \times 10^3 \sim 188 \times 10^3$  cpm/g であり、腫瘍8ケの平均は  $136 \times 10^3$  cpm/g  $\pm 23.8\%$  となる。この値は対照腫瘍の  $^{32}\text{P}$  摂取能に対し210%であり増加、照射後12時間値と比較するにその値の65%であり12時間値より減少している。

vii) 照射後48時間

この時間における  $^{32}\text{P}$  摂取能は  $42 \times 10^3 \sim 63 \times 10^3$  cpm/g であり、腫瘍8ケの平均は  $46 \times 10^3$  cpm/g  $\pm 7.2\%$  である。この値は対照値の83.6%であり、大体対照値に復していると思われる。

小括; AH7974系及びAH 130系の両系腫瘍の  $^{32}\text{P}$  摂取能を比較対照するに次の点に於て差異を認める。尚AH7974系及びAH 130系腫瘍の時間的経過を作図しそれぞれを第2図及び第3図として掲げ、それぞれの障害及び回復曲線とした。

i) 回復曲線の相違

AH7974系皮下結節腫瘍の摂取最底値を示す時間は照射後12時間であり、一方AH 130系皮下結節腫瘍では3時間である。両系の回復曲線を比較するに、AH 130系では急激に低下し3時間で最

図2 A H7974系腫瘍の障害及び回復曲線

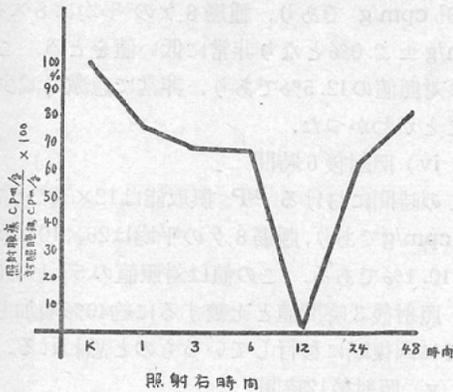
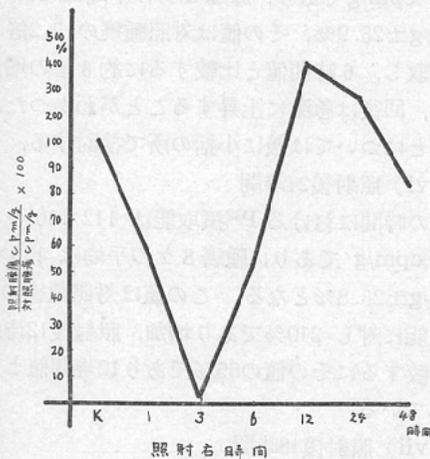


図3 130系腫瘍の障害及び回復曲線



低値に達し、後急激に上昇して回復期に移行する。これに対してAH7974系では1, 3, 6時間と徐々に低下を示し12時間で最低になり、次いで徐々に上昇し対照値に接近している。

### ii) <sup>32</sup>P摂取能亢進の出現について

第3図に示す如くAH130系においては12時間値は対照値に比して約3.2倍も多く摂取し異常の高い山として見られる。放射線の照射により正常肝の<sup>32</sup>P摂取能が亢進することは1952年 A. Forsberg と G. Hevesy<sup>10)</sup> によりすでにマウスにより実験されており、その平均増加率は39.5%とされた。本実験によるとAH130系に於て12時間値、24時間値に3.2倍、2.1倍と非常に高い値を示している。これは正状肝における現象と同様に

考えられるが、代謝機構のさかんなAH130系に於てその現象が拡大されているものと思われる。一方AH7974系では照射後48時間以内では第2図の如く亢進の傾向は認められず、大体障害から回復へと平凡な曲線として示される。

### iii) 回復に要する時間

図2, 図3をみて一見してわかるごとくAH7974系とAH130系は照射後の経過が時間的に可成り異なる。AH130系は急激に減少を示すが比較的早く回復過程に入るに対しAH7974系では徐々に減少し、徐々に回復している傾向がみれる。即ち感受性が大と思われるAH130系ではAH7974系に比し早く障害されるが回復も早いと云える。

### 総括及び考按

生体組織の放射線感受性に関しては Bergonie 及び Tribondeau<sup>11)</sup> の古典的業績以来多くの研究がある。Hevesy<sup>12)</sup> は組織の放射線感受性をそのDNAの代謝回転率と平行させた。それによればリンパ球を除けば一般に組織の放射線感受性と、DNAの代謝速度とはよく平行している。DNAの合成が細胞の行う種々の代謝過程のなかでも一ばん放射線の影響を受けやすいことは、Hevesy<sup>13)14)15)</sup> 以来の研究でも明らかである。Ord & Stocken<sup>15)</sup> によれば、脾臓及び胸腺等では25rと云う小線量でもDNAの合成が阻害される。Kelly<sup>16)</sup> 等はDNA合成阻害を指標として、種々の組織の放射線感受性及び組織の回復過程を追求した。たとえばマウスの乳癌とリンパ肉腫では、前者では500~800rの照射でもそのDNAへの<sup>32</sup>Pの摂取は抑制が少いのに対し、後者の場合照射後48時間はほとんどDNAの合成は完全に抑制されている。乳癌の場合回復の時期がこの実験方法では判然としないが、リンパ肉腫では照射後3日目頃からつよいDNAへの<sup>32</sup>Pの摂取がみられ、以後、照射前よりも高い値をしめしている。

DNAの代謝を組織の放射線感受性の指標とすることは、現在迄の種々の実験成績から考えて最も妥当であると思われる。ただ実験方法が複雑であること、すでに多くの人により検討つくされた感のあること等より著者はより簡単な指標を求

めてみた。筆者等<sup>9)</sup>は実験腫瘍の磷代謝に及ぼす放射線の作用を検討した。それによれば、1000rの局所照射後、腫瘍組織の無機磷への<sup>32</sup>Pの摂取が、照射後早期より抑制される。従つて放射線による腫瘍組織の磷代謝の変化を腫瘍組織の放射線感受性の指標とすることが可能である。磷代謝の指標としては最も簡単な組織の<sup>32</sup>Pの総摂取量を用いた。その理由は1)<sup>32</sup>P注射後測定の間を選ぶことによつて組織の放射能の大部分が無機磷であることが、2、3の予備実験から明らかになつたこと、2)照射による組織の<sup>32</sup>P摂取抑制がこの実験条件下では組織無機磷への<sup>32</sup>Pのincorporationの阻害によるものと考えられ、阻害機構が或る程度明らかであること、3)実験条件が簡単であること及び短時間後に結果を知り得、4)放射能の外部測定が可能であり<sup>20)</sup>、5)臨床的に照射により腫瘍の大いさの変化が表われる以前に、その放射線の効果を知り得る可能性のあること等である。

この実験に用いた肝癌AH 130及びAH7974は1956年吉田、井坂<sup>1)</sup>等によつて発表された実験腫瘍で、P-dimethyl-amino-azo-benzene(DAB)の長期投与によつてえられたもので生物学的性状は吉田等により詳細に研究されている。たとえば移植方法、移植率、腫瘍の発育速度、動物の生存期間、腫瘍細胞の染色数等では両系は割合近似しているにもかかわらずnitrogen mustardに対する感受性ではこの両者間に大きな差のあることが吉田等<sup>1)</sup>の研究によつて明らかになつてゐる。すなわちAH 130はnitrogen mustardに非常によく反応するに反し、AH7974はほとんどその影響をうけない。発生母組織を同じくし、しかもradiomimetic substanceであるnitrogen mustardに対する感受性の異なる2つの腫瘍の放射線感受性を検討することは、腫瘍の系統差による放射線感受性の差を研究するという意味のみでなく放射線と化学物質との作用を比較する点でも興味あることである。生組織に対するnitrogen mustardの作用が種々の点で放射線の作用と類似していることは周知の事実である。細胞の分裂を阻止し、細胞核の異常、とくに染色体の異常を

起させる点<sup>18)</sup>、さらに細胞のDNAの合成を抑制し、RNA及び蛋白の代謝にはあまり著明な変化を与えず、酸化的磷酸化を抑制すること等<sup>19)</sup>はnitrogen mustardの作用が放射線のそれと共通することを示す事実である。著者の実験でもnitrogen mustardに対する感受性のたかいAH 130系が同様放射線に対する感受性もたかいことが明らかになつた。この結果は動物に対する移植率を指標として両系統の腫瘍の放射線感受性を検討した五十子氏の成績と同一である<sup>17)</sup>。すなわち別個の動物から生じた腫瘍系統AH 130とAH7974は生物学的性状を同じくするにも拘らず、化学物質及び放射線に対する態度を異にする事實は腫瘍の個性をしめすもので興味ある事実である。

以上筆者はnitrogen mustardに対する感受性を異にするシロネズミの肝癌AH130及びAH7974を用い、<sup>32</sup>P注射後1時間の腫瘍の放射能の大部分が無機磷によるものであり、放射線照射により腫瘍の無機磷への<sup>32</sup>Pの摂取が著明に抑制されると云う事実にもとづいて、腫瘍の<sup>32</sup>P摂取能を指標として二つの腫瘍の放射線感受性及び回復速度を検討しこの二つの腫瘍には、はつきりとした放射線感受性の差があり、しかもnitrogen mustardに対する感受性と平行することを明らかにした。この事實は腫瘍の<sup>32</sup>P摂取能を指標としてその放射線感受性ならびに化学療法剤に対する感受性を、放射能の外部測定によつて知ることができ的可能性があり、放射線生物学的のみならず、臨床応用の面でも興味ある事実と考える。

#### 分割照射への検討

今回の実験結果では分割照射の配量を指示することはできないが、少なくとも感受性の異なるものは回復に要する時間が短かいと云える。このことは若し1回の分割照射線量が一定レベル以下である場合長期に亘る分割照射を行う場合は、感受性の異なる悪性腫瘍と感受性の比較的小なる正常組織との障害の差を「小とする」結果ともなりかねない。特に感受性の差が余り大でない悪性腫瘍組織と正常組織が共存する場合は1回線量と分割間

隔を慎重に検討する必要があることであり、又今後従来の臨床的経験から考えると放射線による障害の度と回復期間とは単純な相関でないことを考慮する必要がある。

### 結 論

1) 腹水肝癌 A H 7974 及び A H 130 の両系の皮下結節腫瘍を作り、それに  $^{32}\text{P}60\mu\text{c}$  を注射、注射後 1 時間にて屠殺、腫瘍を剔出、Schmidt-Tha-nhauser 法により磷酸分割を行い  $^{32}\text{P}$  の分布をしらべた。その結果は  $^{32}\text{P}$  投与後 1 時間において酸溶性総磷に総カウントの約 90% 以上が入っていることが判明した。

2) 次に酸溶性磷酸化合物への  $^{32}\text{P}$  の分布を Hurlbert, Potter 等による gradient-elution chromatography 法により分析した。その結果は  $^{32}\text{P}$  投与後 1 時間において酸溶性総磷の放射能の約 80% は無機磷による放射能であることが判明した。

3) 以上の事実から上記条件下における腫瘍組織への  $^{32}\text{P}$  の摂取は無機磷による放射能であることを知った。そこで著者は組織への  $^{32}\text{P}$  の incorporation への放射能の影響を指標として A H 7974 系 A H 130 系の皮下結節腫瘍の放射線感受性をしらべ、両系間に明らかな差異のあることを認め、又両腫瘍の放射線感受性の差と放射線の影響の回復期間との間に相関があることをしつた。即ち感受性の大きい A H 130 系は A H 7974 系より回復に要する時間が短かいと云える。

4) この現象は臨床的分割照射法の配量上今後重要なテーマであることを述べた。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を忝じけのうした恩師宮川教授、田坂助教授、土屋講師、並びに生化学教室島園教授に心から感謝致します。研究に際し御助力をたまわつた松平博士及び生化学教室堀江博士、並びに教室員各位に心から感謝致します。

### 文 献

- 1) 吉田, 井坂外: 日本病理学会誌, 44. (3), 407, 31. — 2) Schmidt, Tbaunbauser: J. Biol. Chem. 161: 83, 1945. — 3) Potter, V.R., Elvehjem, C.A.; J. Biol. Chem, 114: 495, 1936. — 4) Allen, R.J.L. Biochem. J., 34, 858, 1940. — 5) Hurlbert, R.B., Schmidt., H., Brumm, A.F., and Potter, V.R.: J. Biol. chem., 209: 23, 1954. — 6) 高木康敬: 磷酸代謝シンポジウム, 昭 22. — 7) 堀江滋夫: 日本生化学総会, 昭33. — 8) Schmitz, H., Hurlbert, R.B., and Potter, V.R.: J. Biol. chem. 209: 41, 1954. — 9) 松平, 益山. 堀江: Gann, 49: suppl., 88, 1958. — 10) Forssberg, A., and Hevesy, G.: Arkiv. För, Kemi, 5: 11, 93. — 11) Bergonie, J., and TrilcondEAU, L.: Archelectric. méd., 14: 779, 874 and 911, 1906. — 12) Hevesy, G.C.: Brit. J. Rad. 29: 465, 1956. — 13) Hevesy, G.C.: Radioactive Indicators, New York and London, Interscience Publishers. 14) Howard, A.: in Cila Foundation Symposium on Ionizing Radiation and Cell Metabolism 1956. — 15) Ord, M.G., and Stockend L.A. (1956a) Biochem. J. 63. 3. — 16) Kelly, Lola, S., Hirob, J.D., Beach, G., and Payne, A.H.: Rad Res., ii, 490, 1955. — 17) 五十子彌太, 日癌学会総会, S. 33. — 18) Read, J.: Brit. J. Radiol. 31: 60, 1958. — 19) 三浦義彰: 日本医学総会, S. 34. — 20) 津布久誠: 日医誌, 19巻, 4号, 昭34.

## Differences in Radiosensitivity and Recovery From the Effects of Irradiation Between Two Types of Ascites Hepatoma of the Rat

By

Shigeyoshi Masuyama

Department of Radiology, The Faculty of Medicine,

The University of Tokyo, Tokyo, Japan.

(Director: Professor T. Miyakawa, M.D.)

Studies were carried out on the differences in radiosensitivity and recovery from the effects of irradiation between the two types of ascites hepatoma derived from the original one which was discovered by Sasaki and Yoshida in the rat and transplanted

successively throughout numbers of generations.

Two hepatomas used in this experiment were AH 7974 and AH 130 strains. The former is characterized by high resistancy against nitrogen mustard compounds, while the latter is very sensitive to these chemical agents. These tumors were maintained as ascites form and inoculated subcutaneously on the back of the animals 8 to 10 days before the experiments.  $^{32}\text{P}$  ( $60 \mu\text{c}$  per animal) was administered intraperitoneally 1 hour before the sacrifice of the rats which have been divided into several experimental groups.

Preliminary experiments revealed a pronounced depression of the uptake of radioactive phosphorus by X irradiation. This effect of irradiation was studied in some detail and used as indicator to differentiate the responses of the two hepatomas to X irradiation.

Analysis of the distribution of the radioactivity into the various phosphate fractions of tumors tissues (acid-soluble, lipid, nucleic acids and phosphoprotein phosphorus) one hour after intraperitoneal injection of  $^{32}\text{P}$  showed almost exclusive incorporation of  $^{32}\text{P}$  into the acid-soluble fraction.

Detailed analysis of the acid-soluble fraction by ion exchange column chromatography according to Hurlbert et al. demonstrated that about 80 per cent of radioactivity was present in the inorganic phosphate and 20 per cent was distributed into other phosphorylated compounds: adenosine triphosphate, adenosine diphosphate and adenosine monophosphate etc... Upon X-irradiation the radioactivity in the inorganic phosphate was decreased.

Then it can be concluded that one hour after intraperitoneal administration of  $^{32}\text{P}$  almost all the radioactivity is present as inorganic phosphate and the depression of  $^{32}\text{P}$  uptake of whole tumor tissue by irradiation is chiefly due to depression of incorporation of  $^{32}\text{P}$  into the inorganic phosphate.

The radioactivity of the whole tumor tissue one hour after the intraperitoneal injection of  $60 \mu\text{c}$  of  $^{32}\text{P}$  was measured at different intervals following the whole body irradiation of 1000 r of the tumor bearing animals. Comparison of the time course of inhibition and subsequent recovery was made on the two strains of the hepatoma.

There were definite differences in the responses of two hepatomas to irradiation. In the AH 130 hepatoma X-irradiation causes a pronounced inhibition of  $^{32}\text{P}$  uptake but, a rapid recovery proceeded by an increase of  $^{32}\text{P}$  uptake around 12 hours after irradiation was observed. On the other hand in the AH 7974, inhibition of  $^{32}\text{P}$  uptake was rather small as compared to AH 130 and the slow recovery from the initial inhibition was noticed.

These results were discussed in relation to the fractionation of the dose in the radiotherapy of malignant tumors.