OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	吉田肉腫に対する 198Au の作用 第2編 核分裂指数，核相百分率の変化，異常核分裂細胞の出現頻度，静止核細胞の変化について
Author(s)	三森，武夫
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1963, 22(10), p. 1109-1124
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/18025
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

吉田肉腫に対する ^{198}Au の作用
第 2 編
核分裂指数，核相百分率の変化，異常核分裂細胞の出現頻度，静止核細胞の変化について

東北大学医学部放射線医学教室（主任　古賀良彦教授）
三　森　武　夫
（昭和37年12月4日受付）

Effect of colloidal radioactive gold (^{198}Au)
on Yoshida ascites tumor cells
Part 2
Inhibition of mitosis, changes in the relative proportions of the phases of mitosis, incidence of abnormal mitotic cells, and effects on resting stage of cells after injection.

By
Takeo Mimori
Department of Radiology, Faculty of Medicine Tohoku University
(Director: Professor Yoshihiko Koga)

To study the effect of ^{198}Au on Yoshida ascites tumor cells, ^{198}Au in doses 2.0～0.3 mc were intraperitoneally injected. After injection ascites were withdrawn at certain intervals, smeared, stained with Giemsa-stain. Mitotic cells per 1000 tumor cells (Mitotic index), the relative proportions of the phases of mitosis, abnormal mitosis were counted in each sample. Morphological changes of resting stage of cells were also examined.

The obtained results were as follows:

1) Post-injection mitotic index.

The effect of ^{198}Au on mitotic index were summarized in 4 stages.

a) Rapid decrease of M.I. in the 2nd hour after injection.
b) Gradual recovery of M.I. in the next 24th hour after injection.
c) Fell down of M.I. on the 48th hour after injection.
d) Increase of M.I. since 96～120th hour after injection.

2) During the decreasing stage of M.I, a decrease of early prophase figure and an increase of ana-telophase were recognized.

3) Incidence of mitotic abnormalities such as chromosomal bridge, fragmentation increased in proportion to the injected radioactivities. Sticky bridge in ana-telophase and appearance of cells containing some little daughter nuclei were to be especially noted.

4) Changes seen among resting cells were small vacuolization in cytoplasma, transfiguration of nuclear form into irregular shapes. These changes were recognized since 40 minutes after injection.

5) Minimum effective radioactivities on mitotic inhibition were roughly estimated to be 0.5 mc per rat, when the tumor cell dose were about 60～130 rads during in the first one hour.

6) Inflammatory cell exsudation into ascites such as macrophages, leucocytes, lymphocytes were seen soon after injection, and macrophages containing dot-like ^{198}Au particles were recognized frequently.

論文内容

Ⅰ 緒言
Ⅱ 実験材料及び方法
Ⅲ 実験成績
（A）核分裂指数，核相百分率の変化
1. 対照群
2. 2.0mc 注入群
3. 1.0mc 注入群
4. 0.7mc 注入群
5. 0.5mc 注入群
6. 0.3mc 注入群
7. 小括
（B）異常核分裂細胞の出現頻度について
（C）静止核細胞に於ける変化について
（D）反応性細胞増加について
（E）剖検所見の概要について
（F）生存日数について
Ⅳ 総括並びに考按
Ⅴ 結論
Ⅵ 参考文献

I. 緒　言

悪性腫瘍に対する放射線作用を研究する材料として，腹水型吉田肉腫は，同一動物からの腫瘍細胞の経時的採取に適しているため，好んで種々の実験に供せられ，従つて之を用いた放射線作用の研究は非常に多い．それらについて概観してみると，放射線投与後に起された，腹水中の腫瘍細胞密度の変化，光学顕微鏡下の観察による分裂細胞含有度の消長，分裂細胞並びに静止核細胞にみられる型態学的異常，分裂時間の直接，間接の計測，それに基いた吉田肉腫細胞分裂週期の推定，或いは組織化学的手段，R.I.利用によるD.N.A., R.N.A. 等の核酸代謝の研究，更には電子顕微鏡による細胞内微細構造の変化等についての報告など多種多様に亘つている．又一方，腫瘍細胞が照射を受ける条件，例えば in vivo か in vitro か，温度の影響，照射時の線量率の大小，投与線量の分割形式の差等によつて，照射後に現れる反応にかなりの変化が出くることもわかつている．

こゝでとり上げる ^{198}Au の腹腔内注入時に於ける吉田肉腫細胞の被爆状況について考えてみると，多くの文献にみられる如きX線全量照射の場合と異り，主として組織内飛程の比較的短い β 線による，小線量率，長時間持続照射であると考えられる．この様な条件下において，吉田肉腫細胞の受ける変化をみるために，^{198}Au 腹腔内注入後における分裂細胞含有率，異常核分裂細胞の出現状況等について検索を行つて，二，三の知見を得たので報告する．本実験に際して注目した諸点は次の如くである．

（1） 分裂細胞含有率の変化と注入 ^{198}Au 量との相関

（2） 分裂細胞に於ける各期の相対的割合の変化

（3） 異常核分裂細胞の出現頻度と注入量との相関，及びその特長

（4） 静止核細胞に於ける変化

（5） 腫瘍細胞以外の細胞活動

II. 実験材料及び方法

1. 実験動物及び使用 ^{198}Au コロイド溶液

使用ラッテの系統，重量及び ^{198}Au コロイド

稀釈法．注入法は第1編に於けると同様である．

2. ^{198}Au 注入量の區分

吉田肉腫移植後4日目のラツテに対して，移植陽性と確認されたもの，3～4匹を一群として，5群にわけて各群のラツテ一匹当りそれぞれ 2.0 mc, 1.0mc, 0.7mc, 0.5mc, 0.3mc の注入を行なつた．対照群には20%葡萄糖溶液 0.5 ml を注入した．

3. ^{198}Au 注入後の腹水採取及び標本作製

^{198}Au 注入後経時的に自家製ガラス毛細管にて腹壁を穿刺し，腹水塗沫標本を作り，メタノール固定後 Giemsa 染色を行つた．腹水採取の時間的間隔は注入後60分迄は10分毎に，その後24時間迄は3～5時間毎に，それ以後はラツテ死亡の前日迄毎日1回行つた．

4. 標本観察方法

分裂細胞の算定：顕微鏡の対眼レンズに黒紙を利用して細隙を作り，顕微鏡視野に約 100μ の細隙が出来る様に工夫して，油浸下にその細隙を過ぎる腫瘍細胞2000個を検し，分裂細胞を求め，腫瘍細胞1000個についての分裂細胞数をもつて核分裂指数（以下 M.I.）とした．

核相百分率の決定：各標本毎に分裂細胞 100～200個をかぞえ，その分裂細胞の属する分裂期を決定し，各期の割合を百分率で求め，之を核相百分率（以下 M.H.）とした．吉田肉腫についての分裂各期の區分は，前期，中期，後期，終期，再建期とするのが一般的であるが，放射線の分裂抑制作用は前期を作る機構に対する阻害が最も大であるとの見解が有力であるので，本実験に於ては特に「早い前期」なる一區分を設定して，前期と共にその変動に注目した．この時期であるとの判定基準としては，糸球の形成が始つているが，ごく軽度であり，核膜，核仁がまだ認められる時期とした．その他の各期の區分については諸家の基準と同様である．

異常核分裂細胞の算定：各標本毎に分裂細胞 100～200個を算えてその中にみられた異常核分裂細胞の百分率を求め，同時にそれ等の異常核分裂細胞がどの分裂期に属するかも決定して分類した．分裂異常像としては，前期に於ける染色体散乱，断片化，中期では切断，散乱，粘着，後期終期では染色体移動遅延，染色体間橋形成，多極性分裂，再建期では多核細胞形成等がみられ，之等に注目した．

^{198}Au 注入量が多いと，腹水は稀薄，漿液性となり，腫瘍細胞密度，分裂細胞頻度共に著しく低下する場合があり，同一標本上で分裂細胞 200個の算定が困難となるのでこの様な場合には出来るだけ多数の分裂細胞を数えて，異常核分裂細胞頻度を求めた．従つてすべての算定値が同一の統計誤差を有するものとは云い難い．

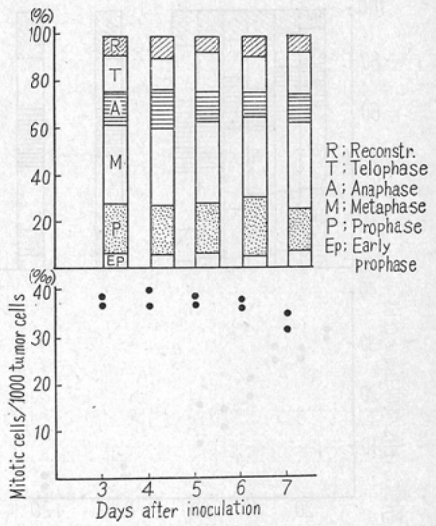
III. 実験成績

（A） 核分裂指数，核相百分率の変化

1. 対照群

吉田肉腫移植後3日目より7日目迄にいたる腹水塗沫標本上より求めた M.I. 及び M.H.の推移はFig. 1に示す如くである．

Fig. 1 Mitotic index and the proportions of the phases of mitosis (non injected)



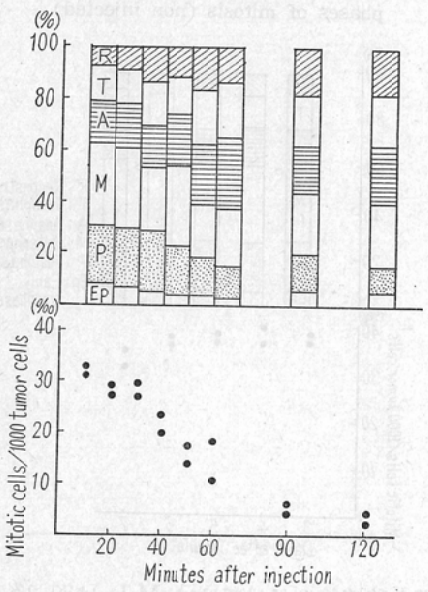
即ち移植後3日目では M.I. は39.2‰, M.H. では「早い前期」 6.8%，前期22.3%，中期32.5%，後期14.0%，終期14.7%，再建期 9.7%である．4日目では M.I. は37.0‰，5日目では37.5‰，7日目には31.5‰とやゝ少ない．M.H. の変化では有意の差がない．塗沫標本上では腫瘍細胞

は小型，充実性で，細胞質の好塩基性は強く，核型は円型又は腎型を示し，核小体も明瞭に認められ，細胞質内に空胞形成を示すものは少く，異常核分裂細胞頻度は2～3%を示し，三極性分裂像，中期の染色体粘着などがみられるが，染色体切断，移動遅延，染色体間橋形成などはみられない．腫瘍細胞以外の細胞成分としては少数のリンパ球，単球などがみられ，ラツテによつては，好中球，偽エオジン好性白血球の遊走の多い場合も認められる．移植6日以後では，腫瘍細胞の一部には大型化して細胞質周辺部に所謂グリコーゲン空胞として，連珠状に配列した空胞をみることがあるが，大部分は変性の少ない典型的な腫瘍細胞である．

2.　2.0mc 注入群

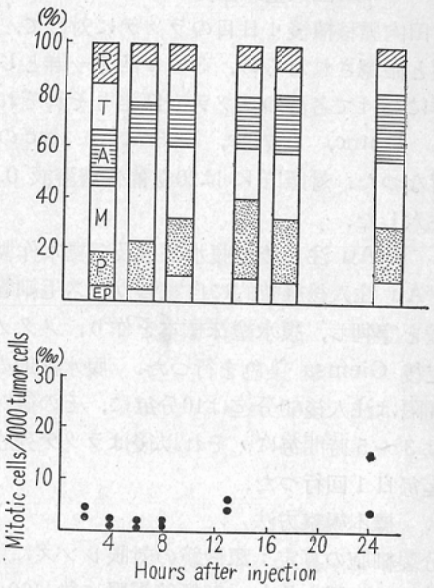
注入後 120分迄に於ける M.I.及び M.H. の変化はFig. 2 に示す如くである．

Fig. 2. Mitotic index and the proportions of the phases of mitosis (2.0 mc injected)



即ち M.I. は注入後よりほゞ直線的に減少を示し，60分では15‰，90分では5‰と著明に減少している．M.H. では「早い前期」，前期の減少と後終期，再建期が増加しており，中期はやゝ減少を示している．60分以後では「早い前期」は恢復

Fig. 3 Mitotic index and the proportions of the phases of mitosis (2.0 mc injected)



の傾向を示している．又後終期，再建期の占める割合には特に変化がみられない．

2時間以後24時間迄の変化はFig. 3 に示す如くである．

即ち2時間以後8時間迄は分裂細胞は著しく減少しており，12時間以後やゝ M.I. の恢復の傾向がみられ始め，24時間では M.I. は平均10‰を示している．M.H. では「早い前期」，前期共に次第に増加を示している．後終期の占める割合はやゝ減少して来ているが8時間以後では殆んど変動を示していない．

24時間以後に於ける変化はFig. 4 に示す如くである．

即ち12時間目より24時間目に亘つてみられた M.I. の徐々なる恢復傾向は2日目には再び低下して殆んど零に近い．腫瘍細胞も著しく減少し，分裂細胞は殆んど目当らないため，M.H.を求めることも困難である．この様な時期が4日目迄続き5日目よりは分裂再開のみられてくるラツテと，分裂再開のみられないまゝ死亡するラツテとが出てくる．5日目以後の M.H.については対照群との間に差異が認められない．

Fig. 4 Mitotic index and the proportions of the phases of mitosis (2.0 mc injected)

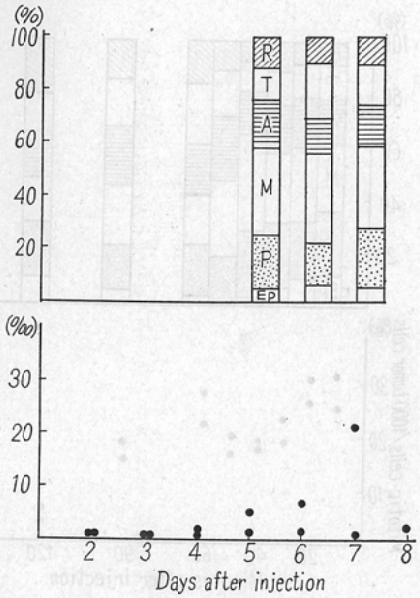
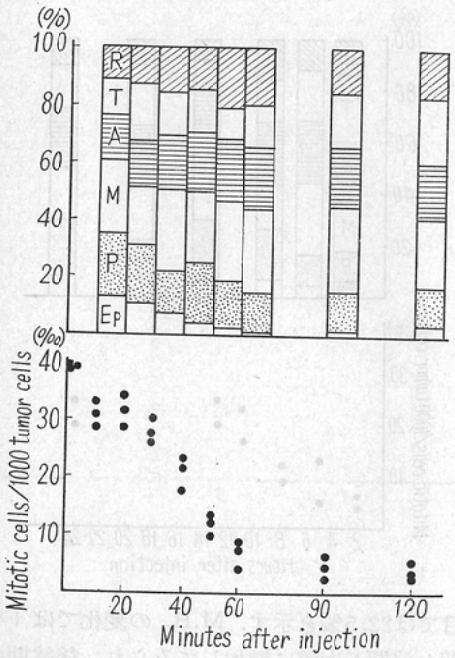


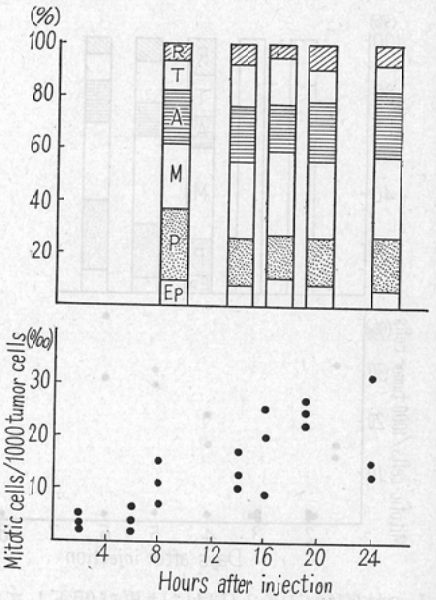
Fig. 5 Mitotic index and the proportions of the phases of mitosis (1.0 mc injected)



3. 1.0mc 注入群

1.0mc注入群に於ける，注入後 120分迄のM.I.

Fig. 6 Mitotic index and the proportions of the phases of mitosis (1.0 mc injected)



及び M.H. の変化は Fig. 5 に示す如くである．

M.I. は注入後ほゞ直線的に減少し60分にいたり，90分，120分では4～6‰を示している．M.H. の変化では 2.0mc 注入群と同様に「早い前期」，及び前期の減少がみられ，後終期の割合は増加している．中期には著しい変動がみられない．60分以後では「早い前期」はむしろ増加の傾向を示し前期，後終期等の割合には目立つた変動がない．

120分以後24時間迄に於ける変化はFig. 6 に示す如くであるが，

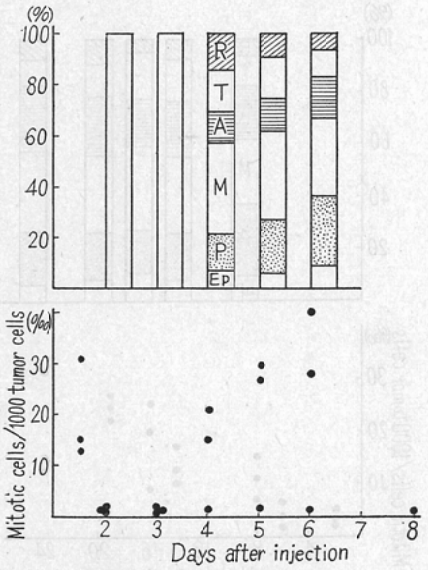
M.I. は6時間以後次第に増加し，24時間目には平均15‰と恢復している．M.H. では「早い前期」の占める割合が注入前の値を上回つて増加しているのが特徴的である．

しかし「早い前期」と前期との和として比較してみると，著しい変化がみられない．中期は殆んど変化せず，後期以後の占める割合はやゝ増加している．特に後期の割合は対照群に比して明らかに増加している．

24時間以後に於ける変化はFig. 7 に示す如くである．

即ち6時間目より24時間目に亘つてみられた

Fig. 7 Mitotic index and the proportions of the phases of mitosis (1.0 mc injected)



M.I.の恢復傾向は2日目には再び低下しており2～3‰を示し，腹水性状は著しく好転している．しかし4日目からは M.I. の急増加がみられるラツテと分裂細胞出現のないラツテとが出てくる．M.H.の変化では4日目以後M.I. の増加のみられる時期では前期の増加と後終期の相対的減少が認められ，中期はやゝ減少を示しているが著しくない．

4. 0.7mc 注入群

0.7mc 注入群に於ける 120分迄の変化は Fig. 8 に示す如くである．

即ち M.I. は注入後徐々に減少し，90分では20‰，120分では6‰を示している．M.H. の変化では，「早い前期」が著明に減少を示しているが前期は軽度に減少を示すにすぎず，後終期は次第に増加して60分にいたつているが，それ以後は変動が著しくない．「早い前期」は60分以後ではむしろ増加の傾向を示している．又再建期だけに注目してみると之は注入後 120分迄は次第にその割合が増加している．

2時間以後24時間迄における変化はFig. 9 に示す如くである．

M.I. は5時間目より次第に恢復を示して 24時

Fig. 8 Mitotic index and the proportions of the phases of mitosis (0.7 mc injected)

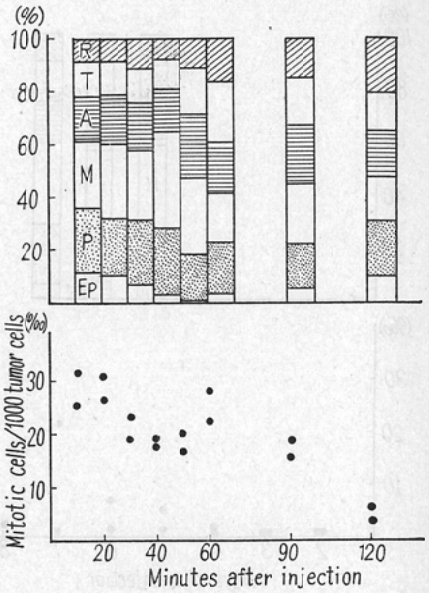
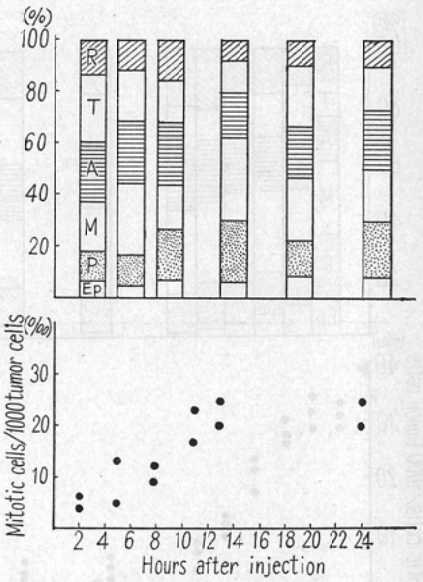
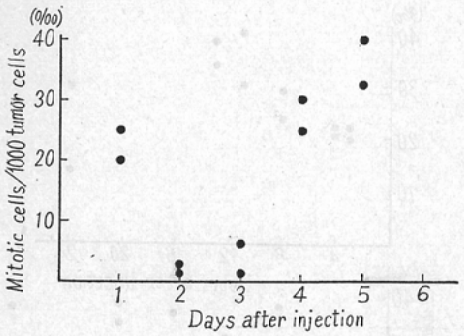


Fig. 9 Mitotic index and the proportions of the phases of mitosis (0.7 mc injected)



間目では22.5‰を示す．M.H. の変化では「早い前期」，前期が次第に増加してみられ，後終期の割合は注入後13時間迄は減少を示し，それ以後は著変がない．24時間目には後期以後の占める割合は

Fig. 10 Mitotic index (Recovery stage) (0.7 mc injeted)



50%を示し，之は対照群の40%に比してまだ多い値である．

24時間目以後の変化はFig.10に示す如くであるが，

2日目に於けるM.I.の低下は 2.0mc，1.0mc 注入群の場合と同様であり約3‰を示している．腹水性状の改善も著しい．3日目でもほゞ同様にM.I.は低下したまゝであるが，4日目にはM.I.は急増して約30‰を示し，5日目では注入前値とほゞ同値を示している．M.H. の変化についても特に 1.0mc 注入群の場合と変つた所はみられない．

5. 0.5mc 注入群

0.5mc 注入群に於ける注入後120分迄の M.I. 及び M.H. の変化は Fig. 11に示す如くである．

即ち M.I. はほゞ直線的に減少を示し，60分18‰，90分13‰，120分10‰を示している．M.H. の変化では「早い前期」の減少が注入後50分迄続き，前期もほゞそれと同じく減少している．之に対応して後終期，再建期の占める割合は40分頃から著明に増加し始めている．60分以後は「早い前期」，前期の占める割合は次第に増加を示し，後終期以後は殆んど変化がみられず，中期はやゝ減少した状態を示している．2時間以後の変化はFig.12に示してあるが，M.I. は3時間目を最低として次第に恢復し，13時間目には平均20‰を示し，それ以後はやゝ減少の傾向がみられ，24時間では平均17.5‰を示す．2日目以後は Fig. 13に示す如くであるが，3日目，4日目，5日目共に2～3‰を示し6日目にいたり M.I. の増加がみられてくる．核相百分率（M.H.）の変化では24時間迄をみても分裂細胞の各期がすべて認められてその割合にも著しい変化が認められないが，「早い前期」の

Fig. 11 Mitotic index and the proportions of the phases of mitosis (0.5 mc injected)

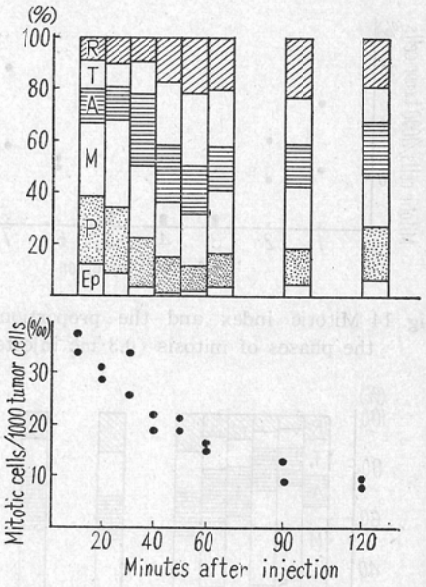


Fig. 12 Mitotic index and the proportions of the phases of mitosis (0.5 mc injected)

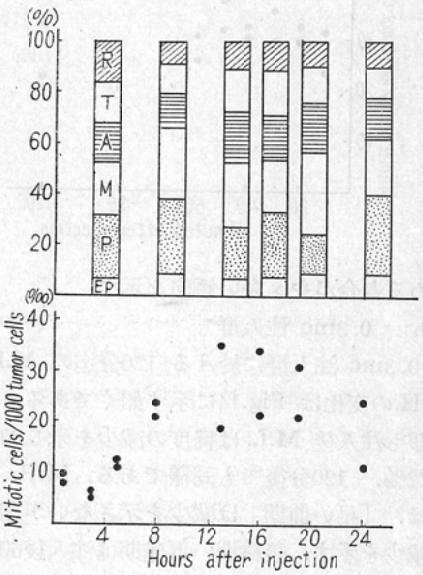


Fig. 13 Mitotic index (Recovery stage) (0.5 mc injected)

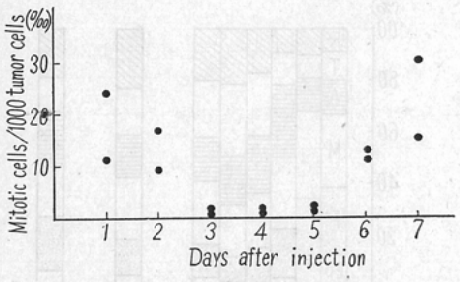
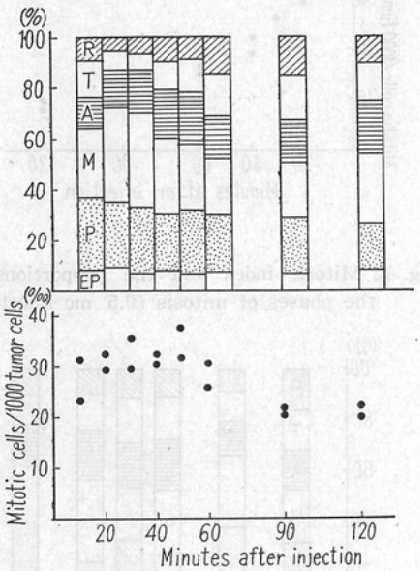


Fig. 14 Mitotic index and the proportions of the phases of mosis (0.3 mc injected)



占める割合がやゝ多い傾向を示す.

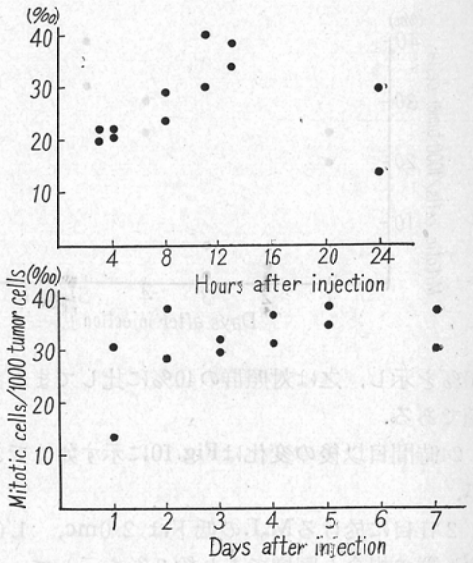
6. 0.3mc 注入群

0.3mc 注入群に於ける 120分迄の M.I. 及び M.H.の変化は Fig.14に示す如くである.

即ち注入後 M.I. は軽度の減少を示し90分では約22‰. 120分後でも同様である. M.H. の変化では,「早い前期」は減少を示さないが前期はやゝ減少を示す. 後終期, 再建期は注入後60分迄はやゝ増加を示すがそれ以後は変動しない. 中期には著しい変化がないがやゝ減少している.

2時間以後の変化は Fig.15 に示してあるが, M.I. は次第に恢復して13時間目には35‰を示し, その後24時間では減少して 20‰を示す, 2日目

Fig. 15 Mitotic index (Recovery stage) (0.3 mc injected)



でも M.I. は低下することなく, その後も M.I. は30～35‰を示してラツテは腫瘍死する. M.H. の変化では各期細胞共に認められて特に変化がない.

7. 小括

以上 ^{198}Au 注入後における核分裂指数及び核相百分率の変化について, 各注入量毎にその結果をのべたが, それらを要約すると, 核分裂指数は各注入群のいづれでも減少し, まず60～ 120分で最低値を示し, その後数時間で恢復し始めて24時間目にいたるが, 2日目には再び減少を示す. この状態が数日続いた後に核分裂指数は再増加してくる. しかし, ラツテによつては2日目に核分裂指数が減少したまゝで分裂再開のみられないまゝ死亡するものもある. 0.5mc 以上の注入例ではほゞ同様な傾向を示しているが, 0.3mc 注入例では核分裂指数の低下はごく軽度あり, 2日目にいたるも核分裂指数の再低下もみられない.

核相百分率の変化では, 0.5mc 以上の注入により, 注入後60分にいたる間で,「早い前期」, 及び前期細胞の割合が減少し, 後期, 終期細胞の割合は増加を示す. 60分以後になると「早い前期」の細胞は恢復を示してくる. 中期細胞はやゝ減少

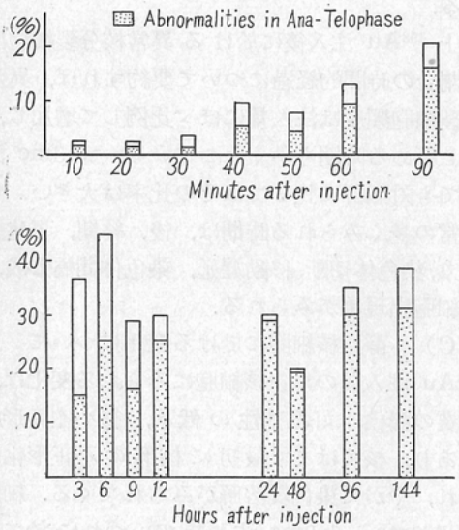
する傾向がみられるが著しい変化を示さない．

核分裂指数の増加の時期では，やはり前期細胞が増加し，後終期細胞は減少して行く，しかしいずれの場合においても分裂細胞の各期が認められ，前期細胞が認められなくなる様な状態は出現しない．一度減少した核分裂指数が再び増加を示す時期は，2.0mc 注入群では13時間後，1.0mc 注入群では8時間後，0.7mc 注入群では4時間後，0.5mc 注入群では3時間後となっている．

（B） 異常核分裂細胞の出現頻度について

^{198}Au 注入後にみられる異常核分裂細胞の出現状況は Fig.16～Fig.20に示す如くである．

Fig. 16 Incidence of abnormalities in mitotic cells (2.0 mc injected)



2.0mc 注入群（Fig.16）では注入後30分頃よりその頻度が増加し始めて，90分後には20.5%を示す．その後も経過時間と共に次第にその頻度をまして6時間目には45%を示す．その後も異常核分裂細胞頻度は増加を示しており30～40%にみられる．異常分裂の認められる分裂期は後終期に多く，染色体移動遅延，染色体間橋形成などが多い．特に24時間以後ではそれらの占める割合が80～90%と大きい．

1.0mc 注入群（Fig. 17）では，2.0mc 注入群とほゞ同様に，注入後20分ですでに頻度が増加し始めて40分では13%を示す．その後も次第に増加して24時間後には42.0%，96時間後には42.5%を示しているがその後は次第に減少を示す．異常のみられる分裂期は後終期に多いことは 2.0mc

Fig. 17 Incidence of abnormalities in mitotic cells (1.0 mc injected)

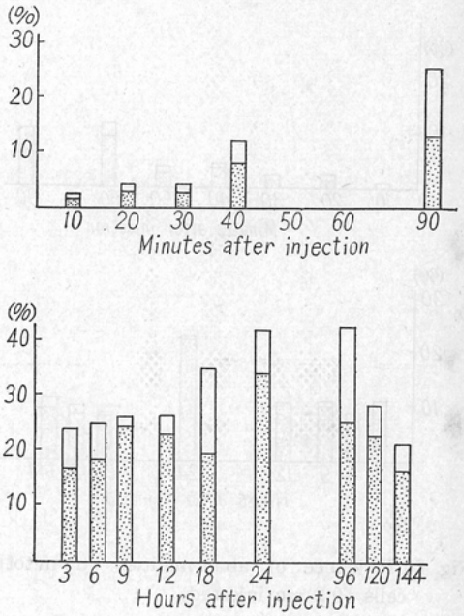


Fig. 18 Incidence of abnormalities in mitotic cells (0.7 mc injected)

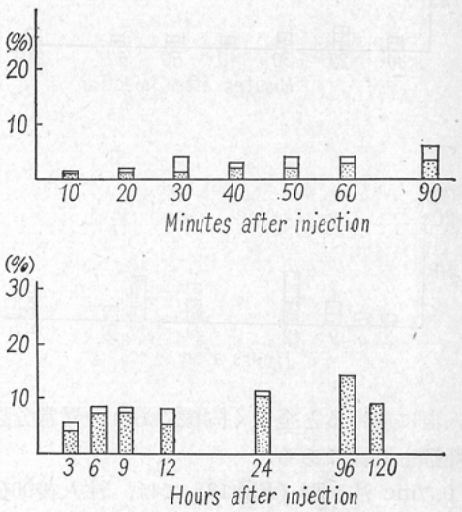


Fig. 19 Incidence of abnormalities in mitotic cells (0.5 mc injected)

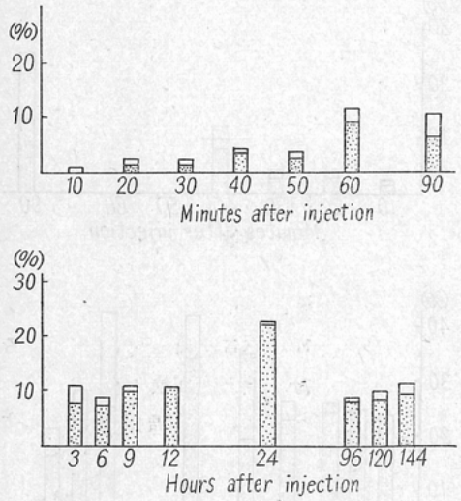
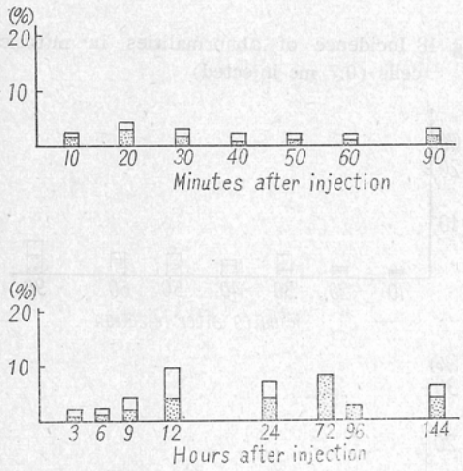


Fig. 20 Incidence of abnormalities in mitotic cells (0.3 mc injected)



注入群に於けると全たく同様であり，異常分裂像の種類も同様である．

0.7mc 注入群 (Fig.18) では，注入後90分より頻度の増加が認められ，その後も経過時間と共に増加してみられ，8～14%を示し，2.0mc, 1.0mc 注入群に比してその頻度は少なく，96時間目が最高の頻度を示している．異常のみられる分裂期については後，終期，再建期にみられるものが大部分を占めておる．

0.5mc 注入群 (Fig.19) では注入後60分より，頻度の増加がみられ始め，90分で10.5%，9時間で9%，120時間10%，144時間で11.5%を示している．分裂異常のみられる時期も後終期に多いことは 2.0mc～0.7mc 注入群の場合と同様である．

0.3mc 注入群 (Fig.20) では注入後9時間で始めて異常核分裂細胞の頻度が増加を示してくるが，2.0mc, 1.0mc 注入の場合に比してずつとその頻度は少なく，12時間後が最高の 9.5%を示し，それ以後は，24時間で 7.5%，72時間で 8.0%，144時間で6%を示している．

分裂異常の認められる時期については，注入後間もなく中期に於ける染色体散乱などもみられるが，時間経過と共に後期，終期の異常が多くなつてくる．

以上 ^{198}Au 注入後に於ける異常核分裂細胞出現の割合の時間的経過について要約すれば，異常核分裂細胞頻度は注入量にほゞ比例して増加し，出現し始める時期も早くなつている．0.3mc 注入群でも対照群に比してはその比率は大きい．分裂異常の多くみられる時期は，後，終期，再建期であり，染色体切断，移動遅延，染色体間橋形成，多核細胞出現等がみられる．

(C) 静止核細胞に於ける変化について

^{198}Au 注入後の静止核細胞にみられる変化は，細胞質の膨化，好塩基性の低下，微小空胞形成等であり，核ではまず最初に核形の不正形化がみられ，やがて染色質溶解がみられてくる．細胞質は 2.0mc, 1.0mc 注入群のいづれに於ても注入後90分頃より好塩基性低下の結果，Giemsa 染色で淡染の傾向を示すと同時に，細胞質全体に微小空胞が多数みられて，細胞質が網状構造を示す如き所見を呈する．核形の不正形化は注入後40分頃より始まり，円型，腎型のものが，表面が凹凸不正となり，あたかも単球の核を思わせる様相を呈する．10時間以後では，静止核細胞はその容積の増大が著しくなる．24時間，48時間ではその傾向は更に強くなる．又分裂異常の結果と考えられる小核を多数含んだ腫瘍細胞が各所にみられる

Fig. 21

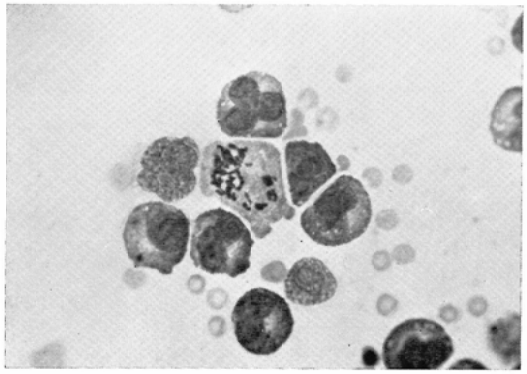


Fig. 22

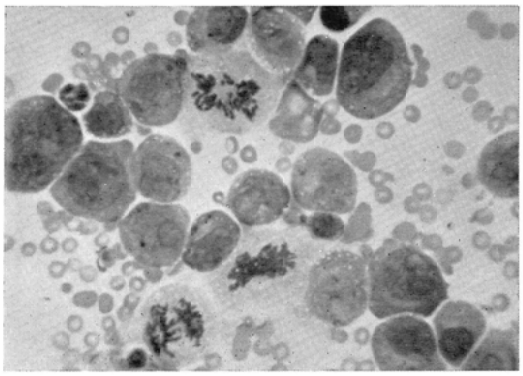


Fig. 23

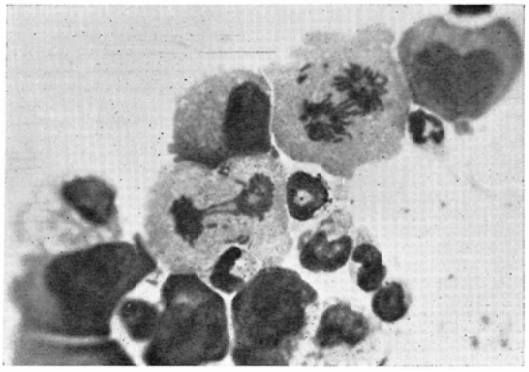


Fig. 24

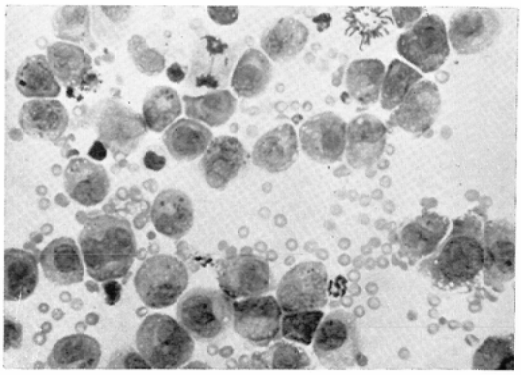


Fig. 25

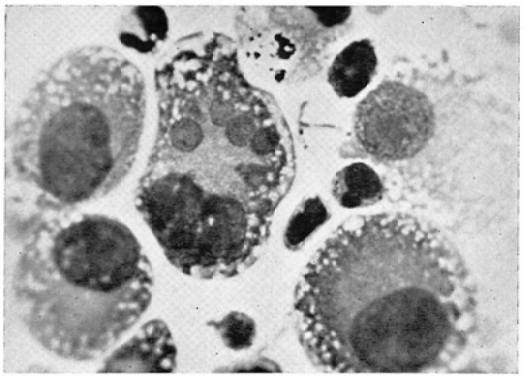


Fig. 26

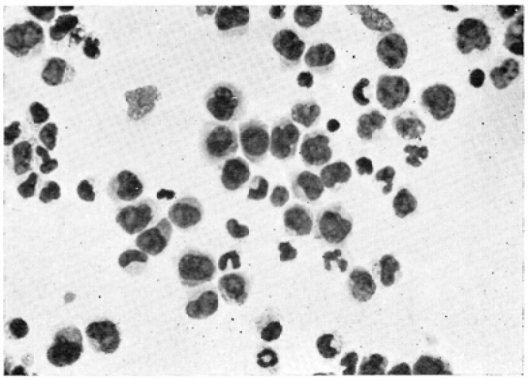


Fig. 27

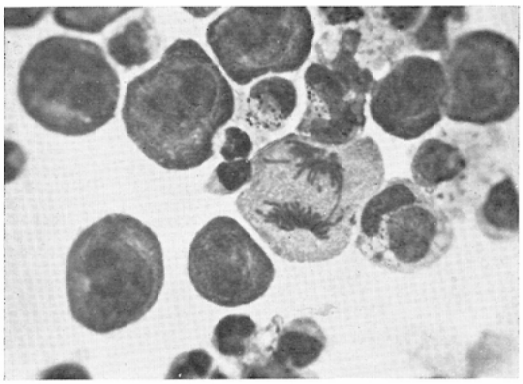


Fig. 29

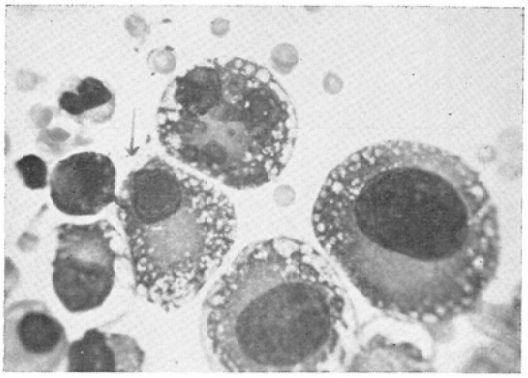


Fig. 28

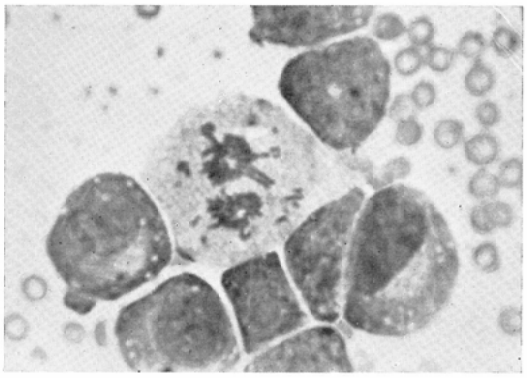


Fig. 30

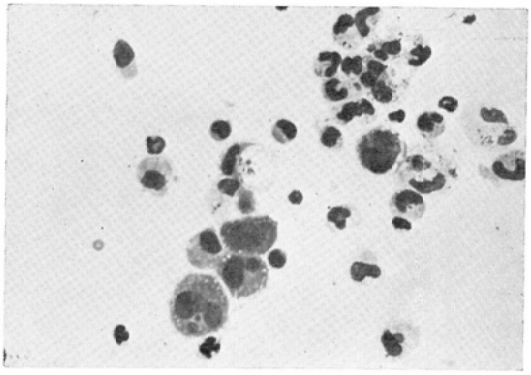


Illustration of micrograph of ascites smear. All smears stained with Giemsa-stain

Fig. 21. 90 minutes after injection (2.0 mc of ^{198}Au)
Chromosome dispersion in prophase and transfiguration of nuclear form.

Fig. 22. 13 hours after injection (2.0 mc of ^{198}Au)
Tumor cells are poorly stained, stickness of chromosome in metaphase and sticky bridge in anaphase are seen.

Fig. 23. 19 hours after injection (2.0 mc of ^{198}Au)
Typical sticky bridge, fragment of chromosome in anaphase and macrophages about the tumor cells are seen.

Fig. 24. 24 hours after injection (2.0 mc of ^{198}Au)
Minute vacuolization in cytoplasma, leucocytes, erythrocytes macrophages containing ^{198}Au particles are seen.

Fig. 25. 24 hours after injection (2.0 mc of ^{198}Au)
Swelling of cells, vacuolization in cytoplasma, large tumor cell containing some daughter nuclei are seen.

Fig. 26. 90 minutes after injection (1.0 mc of ^{198}Au)
The cytoplasma is poorly stained, transfiguration of nuclear form, leucocytes, macrophages about the tumor cells

Fig. 27. 24 hours after injection (1.0 mc of ^{198}Au)
Sticky bridge and chromosomal fragments in anaphase, macrophages about the tumor cells are seen.

Fig. 28. 24 hours after injection (1.0 mc of ^{198}Au)

Chromosomal fragments in anaphase.
Fig. 29. Vacuolization in cytoplasma.
Amitosis-like nuclear division (arrow) and polynuclear tumor cell.
Fig. 30. 48 hours after injection (1.0 mc of ^{198}Au)
Tumor cells are almost faded out. On the contray, numerous leucocytes and macrophages are seen.

様になる．尙之とは別に^{198}Auと考えられる微小なる粒子を有する静止核細胞もみられる．又細胞質，核共に融解を示した所謂，核影として認められる破壊細胞も増加してくる．注入量が少ないと上述の変化は軽度であるが，認められる変化に本質的な差はない．

（D） 反応性細胞増加について

吉田肉腫移植後4日目の塗沫標本上では，腫瘍細胞以外の細胞成分としては，単球，リンパ球，好中球等がみられるがごく少く，稀に好中球の多数みられる例もあるが，^{198}Au注入後10分ですでに好中球，単球の増加，偽エオジン好性白血球，大喰細胞等が出現してくる．之は^{198}Auが生体に対して異物として刺戟的に作用する結果之に対する反応に依るものと解釈されるが，それ等細胞増加はかなり後迄持続しており，腫瘍細胞の減少した時期では，塗沫標本上にみられる細胞の殆んどが好中球，単球，大喰細胞で占められるようになる．殊に注入された^{198}Au粒子を摂取した大喰細胞が各所に認められる．しかし好中球，リンパ球，単球では明らかに^{198}Au粒子を摂取したと考えられる所見を示すものはなく，わずかに表面附着かと想像されるものに遭遇するのみである．又腫瘍細胞の型態学的変化の高度であるにもかゝわらず，これ等の細胞成分ではみるべき変化がなく，一部の大喰細胞が印環細胞の形をとり，時に細胞質融解を示す像がみられるのみである．即ち之等細胞は吉田肉腫細胞に比しかなり高い放射線抵抗性を有するものと考えられることは特記さるべき所見であろう．

（E） 剖検所見の概要について

実験に使用したラツテは全例剖検したが，いづれの例においても，大網，腸間膜に広範囲の腫瘍浸潤が認められ，特に肝門部，腎周囲組織，骨盤内にも浸潤がみられ，腸管，腹水等が黄疸色を呈することもしばしばである．胸水を認める例もあり，縦隔洞や頸部リンパ節腫脹の著しい例もみられた．

（F） 生存日数について

^{198}Au注入により生存日数は軽度に延長する．特に1.0mc～0.7mc注入例が最も有効の如くである．それらの間では時には3週以上も延命するものがある．しかし注入量が少なくてもかなり延命するものも出て，注入量と延命効果とは必ずしも規則的な相関を示すものではない．又腹水性状の改善が著しいからとて特に延命効果が大きいとも思われなかつた．

IV. 総括並びに考按

1. 総括

吉田肉腫に対する^{198}Auコロイドの作用をみる目的で，ラツテを用いて^{198}Auを2.0mcより0.3mc迄段階的に腹腔内注入を行つて，経時的に腹水を採取して塗沫標本を作り，注入後の核分裂頻度，分裂細胞各期の割合の変動，異常核分裂細胞の出現状況，静止核細胞における変化，反応性細胞の増加現象等について検索を行なつたが，その成績を総括してみると次の如くである．

（1） ^{198}Au注入後，核分裂細胞含有率は，減少――恢復――減少――恢復と二相性の変化を示す．即ち核分裂細胞頻度は注入後減少を示し，1～2時間でほゞ最低値を示し，4～12時間後より恢復し始めて24時間後にいたるが，48時間では再び減少し，その後4～5日で再び増加を示してくる．^{198}Au注入量が多いと，核分裂細胞含有率の減少も著しく，恢復も遅れる．

（2） 分裂細胞各期の相対的割合は，まず「早い前期」，前期細胞の占める割合が減少し，後期，及び終期細胞の割合が増加する．中期細胞には著

しい変動がない．注入後60分以後には「早い前期」の細胞が恢復を示してくる．核分裂細胞含有率が恢復し始める時期では，前期細胞の増加が先づ目立ち，後期，終期細胞の割合が減少していく．

（3） 異常核分裂細胞としては染色体の散乱，切断，粘着及び染色体間橋形成等を示すものがみられ，注入後その頻度が急速に増加して，最高45％の異常を示した．この分裂異常は ^{198}Au 注入後間もなくみられ始め，実験末期迄存続した．

（4） 静止核細胞にみられる変化としては，細胞質の微小空胞形成，好塩基性の低下及び細胞質融解等であり，核では最初に核形の不正形化，多形化，最後には染色質融解を示すものが現われた．

（5） 実験全例において，好中球，単球，大喰細胞，偽エオジン好性白血球等の遊出が起るが是等は反応性のものと見られ，注入後間もなく始まり末期迄持続する．大喰細胞では ^{198}Au 粒子を摂取した状態がしばしばみられた．

2. 考按

研究方法について：^{198}Au 注入後に於ける経時的腹水塗沫標本作製の結果，腹水中の ^{198}Au の一部が失われる結果となるが，第1編に述べた如く，腹水中には注入量の約10％が含まれているにすぎず，一枚の塗沫標本作製のために必要な腹水はごく少量で充分であり，かなり頻回の採取によつても実験結果に大きな誤差を来たすことはなかろうと考えられる．

分裂細胞含有率の算定法においては，^{198}Au の照射効果が出て，腫瘍細胞密度，分裂細胞含有率共に低下した時期では一枚の標本上で規定の細胞数を算定することが困難となることがあるが，同一動物よりの腹水についての経時的観察が主目的であつたゝめに，腫瘍細胞を多数算定する手段として，腹水を多量採取して遠心沈澱を行うなのど操作を行わなかつたので，実験値の統計誤差はすべて等しいものとは云いがたいが，一般的傾向は把握出来たものと考えている．

核分裂指数の変化について：放射線によつて分裂細胞が先ず減少し，やがて恢復する事実は Alberti-Politzer[3)5)] Strangeways[4)] 等によつて古くから認められており，分裂抑制の経過を第一効果の時期，中間期，第二効果の時期に分けて説明を行つた Alberti-Politzer の論文は有名である．吉田肉腫についても牟田[6)] 長瀬[7)] 野手[8)] 貴家[9)] 等が同様の成績を得ている．貴家[2)] は分裂抑制状況を照射線量を変えてみて，分裂細胞の各期の変動に注目した結果，少線量照射では主として終末期細胞の早期減少，中等線量以上では前期細胞の減少，即ち分裂細胞の生産抑制が分裂細胞減少にあづかつていることをみている．

^{198}Au 注入の場合でも貴家[9)]の云う様な分裂抑制（第一効果），次いで分裂の抑制された時期（中間期）が続いて，やがて4～12時間後よりその恢復がみられる（第二効果）．しかし2日目には再び核分裂頻度の減少がみられ，第三効果とも云うべき状態が出現している．この点は貴家[9)] のX線全量照射を以てした実験結果といさゝか異る所見である．第二効果の持続時間は 2.0mc 注入時では13時間，1.0mc 注入時では8時間，0.7mc 注入時では4時間となつている．

2日目にみられた核分裂の再低下の原因に就いては幾つかの因子が考えられるが，この様な核分裂細胞含有率の二相性の変化はTansley, Spear, Glücksmann[12)] 等によつてネズミの眼の組織においてみられている．

この実験では照射線量を36～ 540r を用いているのであるが，36～ 180r と云ふ比較的少線量照射の場合に二相性の変化が認められており，余の吉田肉腫細胞についての実験でもそれらに於けると同様の変化が起されたと考えられる．其後数日して見られる腫瘍細胞増加と核分裂再開は，照射を受けながらも生存し続けた腫瘍細胞の再増殖によると考えるよりも，^{198}Au による照射効果の及ばなかつた腫瘍細胞からの再増殖によるものであろう．

核相百分率の変化について： 0.5mc 注入以上の各群に共通してみられる変化は注入後にみられる「早い前期」，前期の減少と，後終期の割合の増加であり，之は注入後1～2時間にわたつて見られるのであるが，「早い前期」の細胞は注入後60

分以後には恢復を示している．これら核相百分率の変化では核分裂の極度に抑制された時期でも分裂期の各相が認められることはやはり少数は分裂活動に入り，それらは染色体異常を起しながらも殆んど正常の分裂経過をたどるためでないかと考えられる．Carlson[13]はGlasshopper Neuroblastを用いて核分裂経過を観察した際にMitochondriaのBrown運動を指標として分裂細胞の各期を細かくわけており，前期をvery early prophase, early prophase, midprophase, late prophaseとしておるが，吉田肉腫については「早い前期」迄の區別は可能であるがそれ以上の細區分は困難であつた．最も放射線感受性の高い分裂期については，「早い前期」，「遅い中間期」或いは，「中期の初め」などとされているが，^{198}Au注入時における核相百分率の変化からは吉田肉腫に就いてはいづれの時期が最も高い感受性を示すかは決定することが出来なかつた．

異常核分裂細胞の出現について：^{198}Au注入によつてもAlberti-Politzer[3)5)]によつて詳細に報告された種々の異常分裂像が見られるが，この放射線による染色体異常については一般に生理学的変化と構造変化[14]とに區別されており，前者には染色体表面の粘性変化による粘着，その結果としての染色体橋形成，動原体異常による異常分離，紡錘体異常等があり，後者には染色体の局所的損傷即ち染色体切断，断片化，及びそれらの断端結合様式の異常等がみられるが，吉田肉腫細胞に於ける分裂異常についてはその両者を區別することは困難であつた．しかし，注入後間もなく認められる後期，終期に於ける分裂異常と24～48時間，或いはそれ以後に認められる後期，終期の異常ではその発現機序が異り，後者では構造変化によるものがかなりの割合を占めるのではないかと考えられる．何故ならば，後者では染色体間橋形成と共にしばしば染色体断片が認められるためである．核分裂異常の出現してくる時間的関係は注入後数10分で認められ始めて，かなり末期迄持続する様子は，X線全量照射の実験[9)15)16)]と少々異つており，^{198}Auによる持続的照射の結果ではないかと考えられる．

静止核細胞にみられる変化：　細胞質では注入後間もなく微小空胞形成，好塩基性の低下がみられ，その後に細胞腫大，細胞質融解を示してくるが，この事実は細胞質もかなり高い放射線感受性を有するのではないかと考えさせる．又好塩基性の低下は，電子顕微鏡所見で認められたX線照射後のリボ核蛋白体の減少，消失[29]と対応するものであろう．泉[16]は吉田肉腫に対してX線照射を行つて，静止核細胞に於ける異常の発現状況をみているが，原形質異常が照射後3～4時間で極値を示していることゝ比較してみると，^{198}Au注入の場合ではその極値を示す時期がやゝ後にづれている．核の変化として最初に認められるものは，核形の不正形化で，之も少線量で核の機能異常が起された結果であろう．

^{198}Au注入時の線強度について：

生物学的効果の線強度依存性については意見の多い所であるがムラサキツユクサの花粉粒に200r照射を行つて分裂抑制をみた実験[17]では線強度が0.25r/分，0.1r/分では抑制がみられないと云ふ．又Canti, Spear[18]は培養基中の鶏組織に対する照射で同程度の有糸分裂抑制を起すためには線強度が弱いと強い時の数倍の線量が必要であることをみておる．又脾臓の組織学的変化を指標とした佐野[19]，持田[20]伊東[21]等の実験では障害のされ方は1000r/分，1r/分，10r/分，5r/分，0.2r/分，0.1r/分の順であるとしている．吉田肉腫を用いた実験[7)8)9)22)23)24)25)26)]に於ける線量率をみてみると260r/分より6.8r/分とかなりの差がみられる．長瀬[7]は6.8r/分より67.6r/分迄線量率を変えて実験を行つて，線量率の大きい方が分裂抑制作用が大であるとしている．^{198}Au注入の場合の推定線量率を求めてみると，1.0mc注入時で最初の一時間で120～240radの被爆をうけるので一分間平均では約2～4radと云ふことになり線強度はかなり少ないことになるが，持続的に照射されて一日間には1550～3000rad受けることになるのでかなり濃厚照射であるとも云える．又核分裂抑制作用の初期の様子を他のX線に

よる実験と比較してみても著しい差があるとは考えられない．次に同程度の分裂抑制効果のみられるX線量と，^{198}Au 注入量との比較を行つてみると，吉田肉腫に対するX線の最少有効抑制線量として貴家[9]松川[25]は50r，平川[22]は80r，野手[8]は184r，一方井[26]は腹水量の測定結果より50r，小原[24]は in vitro で 300r としているが，こゝでは50r をとつてみて，^{198}Au 0.5mc 注入時と比較してみると，最初の一時間で60～120rad となりかなり近い値が得られ，分裂抑制の状態よりみて，著者の求めた推定被爆線量にも大きな誤差がないのではないかと考えられる．最後に腹腔内腫瘍細胞に対するβ線の作用機転について Goldie[27] は Sarkoma 37 を用いて ^{131}I の注入を行なつて注入後の細胞変化をみて，^{131}I は注入後24～48時間で腹水中から失われるが，細胞変化はそれ以後迄続いておる所からβ線の第一次的効果は“hit and run blow”などと形容している．又 Stembridge 等[28]は漿膜腔に於ける ^{198}Au の治療効果の機転はよく説明出来ないと述べておるが，いづれにしてもβ線特有の作用はないと考えるのが妥当であろう．

V 結 論

吉田肉腫に対して ^{198}Au colloid を 2.0mc より 0.3mc 迄段階的に注入し，腹水塗沫標本の経時的観察を行つて，核分裂頻度，核相百分率の変化，異常核分裂細胞，静止核細胞の変化等を検索し次の結果を得た．

(1) 核分裂指数は 0.5mc 以上の注入により減少ー増加ー減少ー増加と二相性の変化を示す．

(2) 核相百分率の変化は 0.5mc 以上の注入により，最初「早い前期」，前期の減少を来たし後終期の割合は増加する．核分裂恢復の時期ではその関係が逆になる．核分裂細胞含有率の極度に減少した時期でも分裂細胞の各期共に認められてその百分率には著しい変化がみられない．

(3) 異常核分裂細胞はすべての注入群でその頻度が増加するが，ほゞ注入量に比例しており，24～96時間で極期を示す．異常分裂像としては特に後期，終期に於ける染色体切断，染色体間橋形成がみられ，多数の小核を有する細胞の出現が著明である．

(4) 静止核細胞の変化は細胞質の小空胞形成，好塩基性低下，細胞質腫大であり，核では核形の不正形化，染色質融解等であり，かなり早期より認められる．

(5) 反応性細胞は ^{198}Au 注入後間もなく出現し，単球，リンパ球，多核白血球，偽エオジン好性白血球，大喰細胞等がみられ，大喰細胞では ^{198}Au粒子を摂取した状態がしばしば認められる．之等細胞では型態変化を示すものは少い．

本実験の遂行にあたり，鏡検所見について有益な示唆を与えられた抗酸菌研究所佐藤教授に心から謝意を表します．なお本論文の一部は第2回日本アイソトープ会議及び第17回北日本部会で発表してある．

文 献

1) Sato H. et al.: Gann 43, 303, 1952. — 2) 松本：日医放線会誌，17，1281，昭33. — 3) Alberti-Politzer Arch. mikroskop Anat 100, 83, 1923. — 4) Strangeways: Proc. Roy Soc. London 96, 291, 1924. — 5) Alberti-Politzer: Strahlentherap. 21, 535, 1926. — 6) 牟田：日医放線会誌，10，30，1950. — 7) 長瀬：日医放線会誌，18，225，昭33. — 8) 野手：日医放線会誌，12，65. 1952. — 9) 貴家：日医放線会誌，12，8，昭27. — 10) 岡田他：日医放線会誌，14，79，1954. — 11) Carlson J.G.: 放射線生物々理学（D.E. Lea 著）237より引用. — 12) Tansley K et al.: Brit. J. Ophthal. 21, 273, 1937. — 13) Carlson J.G.: Biol. Bull. 90, 109, 1946. — 14) 森脇，玉木，村地：放射線生物学，裳華房，昭34. — 15) 町田：日医放線会誌，19，1243，昭34. — 16) 泉：日医放線会誌，15，1145，1956. — 17) Koller P.C.: Heredity 6 Suppl Symp. on Chromosome Breakage 5—22. — 18) Canti R.G. Spear F.G.: Proc. Roy Soc. B 102, 92, 1927. — 19) 佐野：日レ会誌，12，240，1934. — 20) 持田他：日レ会誌，15，103，1937. — 21) 伊東：日医放線会誌，15，879，1951. — 22) 平川：日医放線会誌，19，1050，昭34. — 23) 武内：日医放線会誌，17，128，1958. — 24) 小原：日医放線会誌，15，624，昭30. — 25) 松川：日医放線会誌，17，907，昭32. — 26) 一方井：日医放線会誌，17，6，昭32. — 27) Goldie. H.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 74, 634, 1950. — 28) Stembridge V.A. et al.: J. Lab. Cli. Med 41, 760, 1953. — 29) 加藤：日医放線会誌，22，209，昭37.