

Title	吉田肉腫に対するエックス線及びナイトロミンの酸性 フォスファターゼに及ぼす影響
Author(s)	長瀬, 勝也; 竹内, 正合
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1961, 20(13), p. 2801- 2808
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/18505
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

吉田肉腫に対するエックス線及びナイトロミンの 酸性フォスファターゼに及ぼす影響

順天堂大学医学部放射線医学教室

長 瀬 勝 也 竹 内 正 合

(昭和36年2月9日受付)

本論文の要旨は第19回放射線医学総会に発表した。

目 次

〔I〕 緒 言

〔II〕 実験方法

〔III〕 実験結果

A) 移植後に於ける核分裂係数と陽性率との関係。

B) エックス線照射による影響

1) 1000r 全身照射に於ける核分裂係数と陽性率との関係。

2) 500r 全身照射に於ける核分裂係数と陽性率との関係。

3) 250r 全身照射に於ける核分裂係数と陽性率との関係。

4) 100r 全身照射に於ける核分裂係数と陽性率との関係。

5) 50r 全身照射に於ける核分裂係数と陽性率との関係。

小 括

C) 腹腔内ナイトロミン注入による酸性フォスファターゼの消長。

1) ナイトロミン 1.0mg 腹腔内注入に於ける核分裂係数と酸性フォスファターゼ陽性率との関係。

2) ナイトロミン 0.5mg 腹腔内注入に於ける核分裂係数と酸性フォスファターゼ陽性率との関係。

3) ナイトロミン 0.25mg 腹腔内注入に於ける核分裂係数と酸性フォスファターゼ陽性率との関係。

4) ナイトロミン 0.1mg 腹腔内注入に於ける核分裂係数と酸性フォスファターゼ陽性率との関係。

小 括

〔IV〕 総括及び考按

〔V〕 結 論

(I) 緒 言

酵素に於ける組織化学的証明方法は近年急速なる進歩を遂げ、種々の実験に応用される様になった。従来行われている組織化学とは一般に細胞又は組織成分の化学的構成の証明とその微細な形態学的関係との判定を掌る所に在ると云われている。

現在証明出来る酵素には種々のものがあるがこの中のフォスファターゼ(以後「フ」と略す)は磷酸エステルの生成分解を触媒する酵素として広く知られている。

Roche によると加水分解される磷酸結合の性質にしたがって phosphomonoesterase, phosphodiesterase, pyrophosphatase, phosphoamidase, phosphoacylase 等に分けられており、又作用基質の種類の違いにより Adenosine triphosphatase, phytase, poly-phosphatase, choline phosphatase, hexosediphosphatase, polynucleotidase, 5-nucleotidase melaphosphatase 等を区別する。

その他にも至適pH等の差違により種々のフォスファターゼに区別出来るが、アルカリ性フォスファターゼはpH 9 前後を至適pHとし種々の磷酸モノエステルの加水分解反応に関与する酵素であつて基質のアルコール分子には特異性は見られず種々の磷酸エステルに作用する。これに対し酸性領域で作用する「フ」が組織に有る事が Gomori 及び高松氏等の研究により明らかになつたが、これらの証明方法はアルカリ性「フ」の証明方法に比

較すると成績が不安定であつた。

此等の不安定の種々の因子が順次 Gomori 氏等により改良が加えられ現今になり比較的安定せる実験が行われる様になつて来た。

従来吾々は腫瘍細胞及び各種臓器の「フ」の証明及びエックス線照射等による酵素の変動について種々研究を行つて来た。この研究に関連して今回は吉田肉腫細胞に酸性「フ」を有することを証明し、次で吉田肉腫にエックス線照射及び化学療法剤を作用し、その障害程度を核分裂係数を目標とし、酸性「フ」の変動をこれと比較検討した。

(II) 実験方法

動物は雑種ラッテ(体重 100g)を使用した。

吉田肉腫は腹水型を使用し十分に腹水を有する移植動物よりガラス毛细管により腹水を採取し、その一定量を実験動物の腹腔内に移植した。

実験は移植後3日目の動物を使用した。

静止核細胞の分類。

吉田氏によれば吉田肉腫の静止核細胞を下記の如く6段階に分類し、更にこれを3期に大別している。

- 1) 分裂完了直後は細胞は小さく核は細胞の中央にある。
 - 2) 核には数カ所の深いきれ込みがあり、著明な分葉状を呈する。核は中央にあり核小体はまだ明瞭ではない。
 - 3) 核の分葉構造が不明瞭になり、核は楕円形乃至球形に近くなり原形質の一方にかたよる。広い方の形原質庭に向つて陥入があり腎臓形を呈し、陥入部に接した所で原形質の一部が円形に淡染する。
 - 4) 核は漸次球形に近くなり核に比べて原形質が著明に大きい。
 - 5) 明庭内にアズール顆粒が出現する。核は明るく大きな核小体が1箇又は2~3箇鮮明に見られる。
 - 6) 細胞は更に大きくなり顆粒は数を増し、核は色質を失い、核小体のみ鮮明となる。
- 1~3 第Ⅰ期型の細胞(アズール顆粒まだなし)
4~5 第Ⅱ期型の細胞(アズール顆粒期)

6 第Ⅲ期型の細胞(変性期)

酸性「フ」のよく現われを静止核細胞

上記の如くⅠ~Ⅲ期に分類し酸性「フ」の証明出来る細胞を算定するに酸性「フ」は第Ⅱ期細胞によく証明する事が出来る事を知り、第Ⅱ期細胞を目標とし実験を行つた。

核分裂係数算定方法

採取せる腹水をオブジェクトグラスエに塗布し乾燥、アルコール固定、ギームザ染色を行い鏡検した。

核分裂係数は腫瘍細胞1000個中の分裂細胞を前期、中期、後期、末期の4期に分類し、分裂細胞を求め5匹を1群となし、その平均値を求めた。

酸性「フ」陽性細胞数算定方法。

採取せる腹水をオブジェクトグラスエ上に塗布し武内、田上氏法により染色し鏡検した。

陽性細胞数は腫瘍細胞 500個中の酸性「フ」を証明出来る陽性細胞数を算定し、5匹の平均を求めこれを%で示した。

(III) 実験結果

A) 移植後に於ける核分裂係数と陽性率との関係。

移植後3日目より経日的に腹水を採取し核分裂係数と陽性率とを比較した。その結果は第1図第1表に示す如く核分裂係数は移植後3日目を最高とし漸次分裂細胞の数を減少して来る。又陽性率は移植後4日目が92%で最高であり日時の経過と共に陽性率も減少する傾向を有して来る。両者の曲線は殆ど平行しているといつてよいと思われる。

第1表 移植後3日目よりの分裂細胞数と陽性率

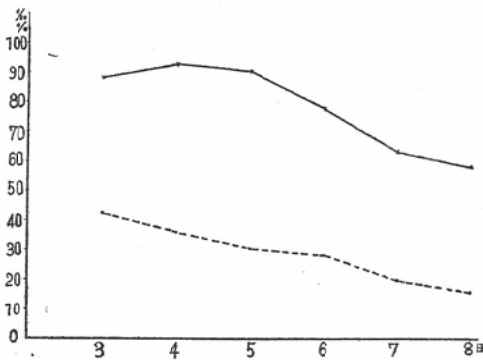
	3日目	4日目	5日目	6日目	7日目	8日目
分裂細胞数	42%	36%	30%	28%	20%	16%
陽性率	88%	92%	90%	78%	64%	58%

B) エックス線照射による影響。

1) 1000r 全身照射に於ける核分裂係数と陽性率との関係。

肉腫移植後3日目のラッテに全身照射を行い経

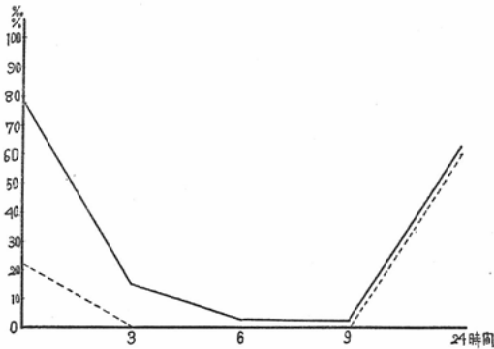
第 1 図



第 2 表 1000r 照射に於ける核分裂係数と陽性率との関係

	照射前	3 時間後	6 時間後	9 時間後	24 時間後
分裂細胞数	22%	0	0	0	60%
陽性率	77%	15%	3%	3%	62%

第 2 図



時的 (3 時間, 6 時間, 9 時間, 24 時間) に腹水を採取し, 核分裂係数と酸性「フ」陽性率とを比較した。照射条件は等電圧 180 kVp 管電流 4 mA 濾過板 0.5mm Cu + 1.0mm Al 焦点表面間距離 30cm である。照射後に於ける核分裂係数及び陽性率の変化は分裂細胞数は照射前 22% であつたものが 3 時間より 9 時間迄は分裂細胞を認めず 24 時間で 60% となる。一方陽性率は照射前 77% であつたのが照射後 3 時間で 15%, 6 時間後 3%, 9 時間後同様 3%, 24 時間で回復し 62% となるが照射前よりは未だ低い値を示している。

2) 500r 全身照射に於ける核分裂係数と酸性

「フ」陽性率との関係。

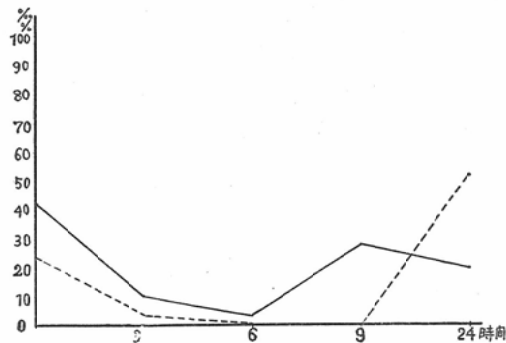
分裂細胞は照射前 24% であつたが照射後 3 時間で 4% に減少し, 6 時間後, 9 時間後では分裂細胞を認めない。24 時間後に 52% と増加している。

陽性率は照射前 42%, 照射後 3 時間で 10% に減少し更に 6 時間後で 3% となる。9 時間後より増加の傾向となり 28%, 24 時間で 20% となる。

第 3 表 500r 照射に於ける核分裂係数と陽性率との関係

	照射前	3 時間後	6 時間後	9 時間後	24 時間後
分裂細胞数	24%	4%	0	0	52%
陽性率	42%	10%	3%	28%	20%

第 3 図



3) 250r 全身照射に於ける核分裂係数と酸性「フ」陽性率との関係。

分裂細胞は照射前 25%, 照射後 3 時間 12% と減少する。6 時間後には更に減少の傾向を示し 2% となる。9 時間後には 14% に増加し 24 時間では 64% となる。

陽性率は照射前 63%, 照射後 3 時間で 29% に減少。6 時間後には 18%, 9 時間後最低となり 16%, 漸次増加し 24 時間で 92% を示す。

4) 100r 全身照射に於ける核分裂係数と酸性「フ」陽性率との関係。

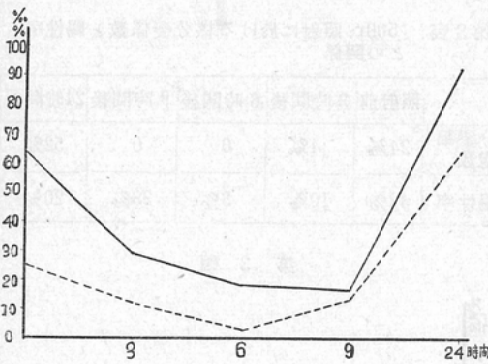
照射前に於ける分裂細胞数は 42% で 3 時間後 30%, 6 時間後 10% に減少している。9 時間後より回復に向い 26%, 24 時間後 70% に増加する。

陽性率は照射前 96%, 3 時間後 89%, 6 時間後に最低値を示し 19%, 9 時間後より回復に向い 42%

第4表 250r 照射に於ける核分裂係数と陽性率との関係

	照射前	3時間後	6時間後	9時間後	24時間後
分裂細胞数	25%	12%	2%	14%	64%
陽性率	63%	29%	18%	16%	92%

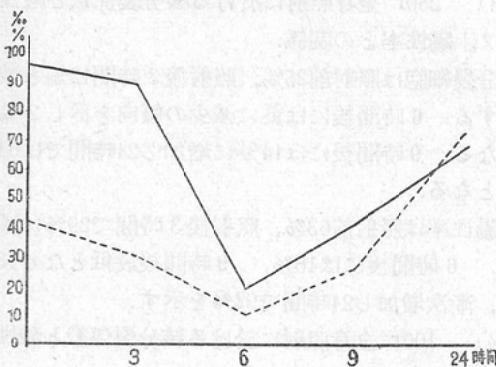
第4図



第5表 100r 照射に於ける核分裂係数と陽性率との関係

	照射前	3時間後	6時間後	9時間後	24時間後
分裂細胞数	42%	30%	10%	26%	72%
陽性率	96%	89%	19%	42%	68%

第5図



%, 24時間後68%となる。

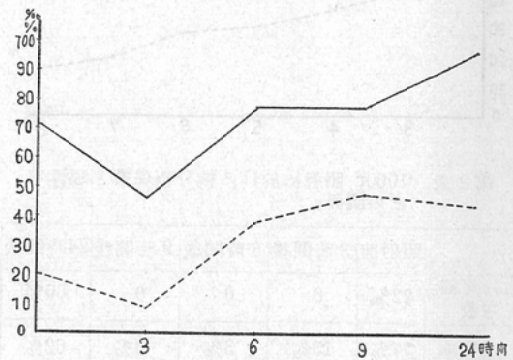
5) 50r 全身照射に於ける核分裂係数と酸性「フ」陽性率との関係。

照射前に於ける分裂細胞数は20%, 照射3時間後8%に減少する。6時間後では38%に増加を示

第6表 50r 照射に於ける核分裂係数と陽性率との関係

	照射前	3時間後	6時間後	9時間後	24時間後
分裂細胞数	20%	8%	38%	48%	44%
陽性率	71%	46%	78%	78%	97%

第6図



し、9時間、24時間で更に増加する。陽性率は照射前71%、照射3時間後46%に減少。6時間で照射前の陽性率と殆ど同じになり24時間で増加する。

小括

吉田肉腫の静止核細胞に於ける酸性「フ」がエックス線照射により如何なる時期に陽性率を変動するかを核分裂係数を目標として実験を行った。核分裂係数がエックス線照射により小なる値になる事は以前より良く知られている所である。

核分裂係数と静止核細胞の陽性率を比較すると全体的傾向としてエックス線照射により核分裂係数も酸性「フ」の陽性率共に減少するが、陽性率より早く分裂細胞数の減少を来し、又回復も分裂細胞数が陽性率より高値を示す事を知った。即ち酸性「フ」の陽性率はエックス線照射を受ける事により核分裂係数よりも遅く最低値を示し、その回復は核分裂係数が照射前の値迄増加しても陽性率は照射前にまで回復していない。

C) 腹腔内ナイトロミン注入による酸性「フ」の消長。

吉田肉腫移植後3日目のラッテにナイトロミン 1.0mg, 0.5mg, 0.25mg, 0.1mg の4段階に分け

腹腔内に注入した。ナイトロミン注入総量は 0.5ccになる様に希釈し使用した。

腹水採取方法及び算定方法は前回と同じである。

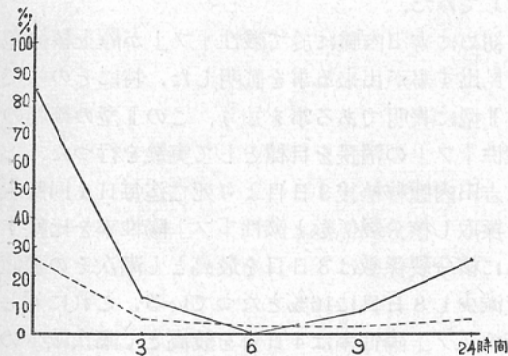
1) ナイトロミン 1.0mg腹腔内注入に於ける核分裂係数と酸性「フ」陽性率との関係。

肉腫移植後3日目のラッテに純培養なる事を確かめ、ナイトロミン 1.0mgを全量を 0.5ccにし、腹腔内に注入した。注入後3時間、6時間、9時間、24時間の4回腹水を採取し、核分裂係数と酸性「フ」陽性率とを比較した。

第7表 ナイトロミン 1.0mg腹腔内注入に於ける核数分裂係と陽性率との関係

	注射前	3時間後	6時間後	9時間後	24時間後
分裂細胞数	26%	4%	2%	2%	4%
陽率性	83%	12%	0%	8%	26%

第 7 図



その結果は注入前26%次第にその数を減少し6時間、9時間で最低値を示めし24時間で回復に向っている。

一方陽性率は注入前83%、注入後3時間で12%、6時間後で最低値となり、9時間で8%となり24時間で26%に回復する。

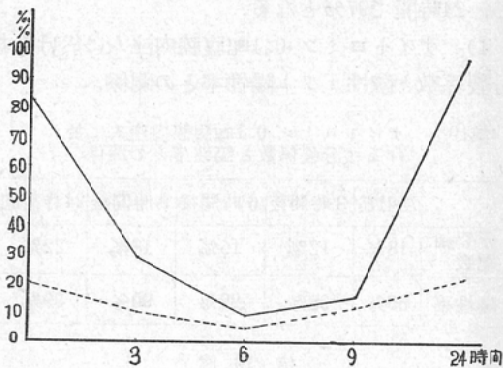
2) ナイトロミン 0.5mg腹腔内注入に於ける核分裂係数と酸性「フ」陽性率との関係。

核分裂係数は注入前20%、注入後3時間で10%に減少し、6時間で最低値4%となる。これより漸次回復に向い9時間で12%、24時間で22%となり注入前の値にもどる。

第8表 ナイトロミン 0.5mg腹腔内注入に於ける核分裂係数と陽性率との関係

	注射前	3時間後	6時間後	9時間後	24時間後
分裂細胞数	20%	10%	4%	12%	22%
陽性率	82%	29%	9%	16%	98%

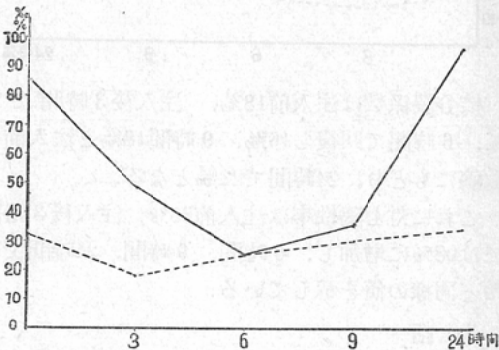
第 8 図



第9表 ナイトロミン0.25mg腹腔内注入に於ける核分裂係数と陽性率との関係

	注射前	3時間後	6時間後	9時間後	24時間後
分裂細胞数	32%	18%	24%	28%	34%
陽性率	86%	49%	24%	36%	97%

第 9 図



これに対し陽性率は注入前 82%、3時間後 29%、6時間後では核分裂係数と同様に最低値 9%となる。これより次第に回復し、12時間後16%、24時間で98%に回復する。

3) ナイトロミン 0.25mg腹腔内注入に於ける核

分裂係数と酸性「フ」陽性率との関係。

核分裂係数は注入前32%, 注入後3時間18%に減少し, 6時間が幾分回復の傾向を見せ9時間, 24時間で元へもどる。

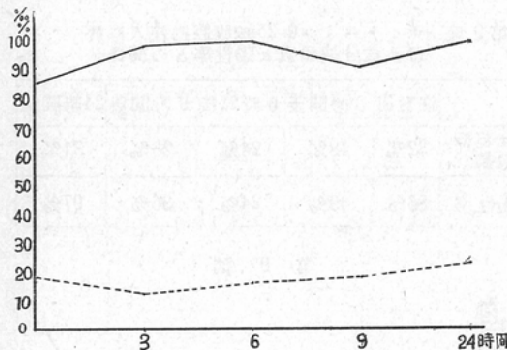
陽性率は注入前86%, 注入後3時間で49%, 6時間で最低値24%を示す。即ち核分裂係数より最低になる時間が遅れている。9時間で36%に回復し, 24時間で97%となる。

4) ナイトロミン 0.1mg腹腔内注入に於ける核分裂係数と酸性「フ」陽性率との関係。

第10表 ナイトロミン 0.1mg腹腔内注入に於ける核分裂係数と陽性率との関係

	注射前	3時間後	6時間後	9時間後	24時間後
分裂細胞数	18%	12%	16%	18%	22%
陽性率	85%	98%	99%	90%	99%

第 10 図



核分裂係数は注入前18%, 注入後3時間で12%, 6時間で回復し16%, 9時間18%と注入前の数値にもどり, 24時間で22%となる。

これに対し陽性率は注入前85%, 注入後3時間では98%に増加し, 6時間, 9時間, 24時間では殆ど同様の値を示している。

小 括

前回は吉田肉腫に対するエックス線照射後の核分裂係数と酸性「フ」陽性率とを比較したがエックス線照射にかえナイトロミンを使用したナイトロミン 1.0mg, 0.5mg使用例では核分裂係数と陽性率とは平行して減少している。しかし0.25mg使用群ではエックス線照射の時と同様に最低値が核

分裂係数よりも陽性率が遅くなり6時間後に最低値となり次第に回復する。又 0.1mg使用群では3時間で核分裂係数が減少を示すにもかかわらず陽性率は3時間後より増加を認め, 6時間, 9時間, 24時間でも殆ど同様の値を示したことは興味ある事と考える。

(IV) 総括並びに考按

従来より移植腫瘍の核分裂係数を求める事は簡単であり数値的に示す事が出来るので薬物等の効果を見る上によく使用されている。

これに比し静止核細胞の変化を追求せる実験はあまり多くを見ない。しかし静止核細胞もエックス線照射や化学療法剤等により何等かの変化を受ける事は間違いない所であるがこの変化を形態学的に又他の方法より種々研究されているが, 組織化学的に酵素を追求せる実験は未だ見ない。この様な見介より吉田肉腫の酸性「フ」に対するエックス線及びナイトロミン作用時に於ける変化を追求してみた。

初めに吉田肉腫に於て酸性「フ」が静止核細胞に見出す事が出来る事を証明した。特にその中でもⅡ型に著明である事を知り, このⅡ型の細胞の酸性「フ」の消長を目標として実験を行った。

吉田肉腫移植後3日目より死亡迄毎日1回腹水を採取し核分裂係数と酸性「フ」陽性率を比較するに核分裂係数は3日目を最高とし漸次その数値を減少し8日目に16%となつている。これに対し酸性「フ」陽性率は4日目を最高とし漸次減少の傾向を取つている。これより酸性「フ」の陽性率は核分裂係数より幾分遅く最高値を示し, 以後は核分裂係数の減少と共に陽性率も減少した。

次でエックス線を作用せしめ, 核分裂係数と酸性「フ」陽性率を比較すると, エックス線照射により照射後核分裂係数は減少の傾向を示しある一定期間後漸次回復し, 再び元の数値又は更に増加せる数値を示めす様になる。これに対し酸性「フ」は同様にエックス線照射により陽性率は低下するが, 幾分減少の傾向が核分裂係数より遅れて最低値を示す。同様に回復も核分裂係数の回復に遅れて回復の傾向を示す。

又ナイトロミンを作用せしめたものでもエックス線照射と同様に核分裂係数より遅く陽性率は最低値を示し、回復も又核分裂係数より遅く回復する事を認めた。

以上の結果より腫瘍細胞の内外代謝に重要な役割を果しているものと見なければならぬ「フ」がエックス線及びナイトロミン投与により静止核細胞に於て変動する事は此等物質によりその代謝に多少とも変動を与えられたであろう事が推察される。

更に吾々はエックス線照射及びナイトロミン投与後48時間に於ける腫瘍細胞が24時間値より酸性「フ」の陽性率が高値を示す事がある事も実験により認めており、何か細胞の活性と並行するものであらうと思われる。

従来より酸性「フ」が磷酸エステルの生成分解を触媒する酵素である事は衆知であるが産生場所や構造等に就て正確な知識を得られていない現在では、この本実験のみで完全なる意味づけける事は獨断に陥る危険性もあるが吉田肉腫移植後の経日的変化の追求に際しては核分裂係数より幾分遅れ陽性率が最高値を示し、漸次数値を減少する傾向となり、又エックス線照射及びナイトロミン投与によつても核分裂係数の最低値を示す時間よりも遅れて陽性率が最低値を示し、回復も同様に遅れる事をあわせ考えれば何か細胞の核酸代謝が盛んになると酸性「フ」が強くと現われる様に考えられる。故にエックス線照射やナイトロミン投与により形態学的にはそれ程変化を現わさない静止核細胞も核分裂係数の減少と共にその代謝に可成りの

変動を生じ腫瘍細胞の発育に障害を及ぼすものと推察される。

(V) 結 論

吉田肉腫(腹水型)を使用し、エックス線及びナイトロミンによる核分裂係数の変動と静止核細胞Ⅱ型の酸性「フ」の消長との相互関係をみた。

その結果核分裂係数の減少と共に酸性「フ」の陽性率も減少する事を見出した。

あまり著明な変化を示めさないといわれる静止核細胞も酸性「フ」の陽性率の減少を示し、内外代謝に変動を生ずる事を見出した。

文 献

- 1) Bodansky, A.: J. Biol. Chem. 104: 473, 1934. —2) Watson, E.M.: Endocrinology 27: 521, 1940. —3) Weil, L. and M.A. Rusell: J. Biol. Chem. 136: 9, 1940. —4) Binkley, F., R.E. Shank and C.L. Hoagland: J. Biol. Chem. 156: 253, 1944. —5) Gomori, G.: Am. J. Clin. Path. 16: 347, 1946. —6) Brecher, G. Endicott, K.M. Gump, H. and Brawner, H.P.: Blood. 3: 1259, 1948. —7) Doyle, W.L.: Am. J. Anat. 87: 79, 1950. —8) Gjessing, E.C. and A. Chanutin: Arch. Biochem. 27: 191, 1950. —9) Lentz, E.A. Word, B.H. Fewell, J.W.: Am. J. Physiol. 163, 1950. —10) Novikoff, A.B.: Science 113: 320, 1951. —11) Ashwell, G. and Hickman, J.: Proc. Soc. Expl. Biol & Med. 80: 407, 1952. —12) Barrow, J. and Tullis, J.L.: Arch. Path. 53: 391, 1952. —13) Ackerman, G.A., Bellios, N.C., Knouff, R.A., Frajola, W.J.: Blood. 9, 795, 1954. —14) 高松, 東京医事新誌, 3161, 8, 昭14. —15) 武内, 前田, 大野, 田上, 小野, 横田, 東京医事新誌, 68, 11, 昭26. —16) 岡本, 上田, 前田: 顕微鏡的組織化学医学書院昭33.

Influence by X-irradiation and nitromin on Acidphosphatase
with the use of Yoshida Ascites Sarcoma.

By

Katsuya Nagase, and Masao Takeuchi

Department of Radiology, Juntendo University, School of Medicine

(Director: Prof. Y. Tsuchiya)

It was studied how mutually the influence by X-irradiation and nitromin with the use of Yoshida Ascites Sarcoma, relatid to mitotic index and the rise and fall of Acid-phosphatase of resting cells (II from).

Consequently found was that positive rate of Acid-phosphatase decreased keeping pace with the diminution of mitoticindex in general. So that, from the aboved-mentioned facts it was drawn inferences that resting cells, which was called not to show a notable changs, would also come to lessen positive rate of Acid-phosphatase and would have influence over the internal and external regenerations.