



Title	放射線と各種薬剤の併用効果に関する実験的研究(第8報)フマル酸, マロン酸に関する実験
Author(s)	木戸, 実
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1959, 19(4), p. 769-778
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/18674
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

放射線と各種薬剤の併用効果に関する実験的研究

(第 8 報)

フマル酸, マロン酸に関する実験

北海道大学医学部放射線医学教室 (主任 若林勝教授)

木 戸 実

(昭和34年4月3日受付)

緒 言

放射線生物作用の機序の究明に当つて放射線の作用を変調させる手段によつてその手掛を得んとする試が Risse¹⁾, Weiss²⁾, 気賀等⁴⁾⁵⁾⁶⁾によつて旺に行われてゐる。著者の教室⁷⁾⁸⁾に於ても数年来この線に沿つた研究が行われてゐる。即ち種々な薬剤と放射線の併用によつて放射線の効果がどの様に影響されるか手広く研究されてゐる。

既にコルヒチン⁹⁾, 一沃度醋酸¹⁰⁾, ザルコマイシン¹¹⁾, ポドフィリン¹²⁾, 8アザグアニン¹³⁾等とX線との併用効果が腹水腫瘍について研究されてゐる。

著者はTCAサイクル¹⁴⁾¹⁵⁾の基質であるフマル酸についてその作用を検討し、次いでX線との併用実験を行つた。更にフマル酸の作用機序を究明する為にコハク酸脱水素酵素の拮抗的阻害剤であるマロン酸¹⁴⁾についても検討した。即ち先づマロン酸の肉腫細胞に対する影響を観察し、次いでマロン酸とX線の併用効果を検索した。更にフマル酸, マロン酸, X線の三者併用についても追究したものである。

TCAサイクルの基質或はその酵素, 助酵素等と放射線の併用に関しては気賀学派⁴⁾⁵⁾⁶⁾¹⁵⁾¹⁶⁾の酵母についての詳細な研究がある。著者は之を酵母より高等な細胞について実験研究し、彼等の主張に検討を加えんとするものである。著者は腹水肉腫についてその有糸核分裂頻度, 分裂各期細胞

の消長並びに核学的変化を尺度として比較検討したものである。

実験方法

ウイスター系白鼠 (体重80~100g) にMTKⅢ肉腫¹⁷⁾を移植し, 移植後4日目のものを実験に供した。

腹水を処置後経時的に採取し, 塗抹法に依つて作つた標本をギムザ氏液で染色したものについて有糸核分裂頻度を観察した。

尚MTKⅢの腹水肉腫の有糸核分裂頻度は30~40%で, 移植後3~4日の所謂純培養の時期では殆んどこの一定値を保つことが知られている¹⁷⁾。著者も亦数回の予備実験でそれを確めている。従つて以下の実験成績を述べるに当つては, 処置前の有糸核分裂頻度 (分裂頻度と略称) を100として処置後の値をすべて比較値で示すことにした。

次に正常分裂細胞100ヶを数え, 之れを前期 (Prophase), 中期 (Metaphase), 後期 (Anaphase), 終期 (Telophase), に分類¹⁸⁾しその頻度を算出した。

更に腫瘍細胞の染色体の観察を行つた。主として分裂中期の細胞について染色体の異常を検出し, 之を種々なる異常型に分類¹⁹⁾, 各処理のものを比較した。

X線照射条件は160kVp, 5mA, 濾過板0.5mmCu + 1.0mmAl, (半価層0.82mmCu), 動物焦点距離30cm, 線強度29.7r/min., 200r全身一

時照射である。

フマル酸は和光純薬製化学用試薬品を用い、生理的食塩水にて飽和溶液 (0.04mg/cc) とし腹腔内に投与した。

マロン酸は同じく和光純薬製化学用試薬を用い 10^{-2} Mol. 溶液とし腹腔内に 1.0cc 注入した。この投与量は急性死の危険がなく、且つ細胞分裂を抑制し得るものである。

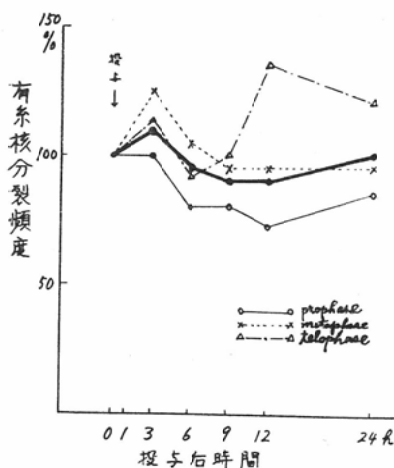
実験は各群とも 5 例平均行つた。

実験成績

実験 I : フマル酸 (F) の影響

フマル酸の MTK III 肉腫に対する作用を先づ実験した。フマル酸飽和溶液 (0.04mg/rat) を腹腔内に注入し、経時的に腹水を採取第 1 図の如き結果を得た。即ちフマル酸注入後 1 時間から 3 時間にかけ軽度に分裂頻度が増加し、6~9 時間目に軽度に減少しているが、24 時間で完全に処置前に復す。その増減率は $\pm 10\%$ を越えていない。要するにフマル酸は肉腫細胞の核分裂には著しい影響を与えるものではない。

第 1 図 有糸核分裂頻度の変化
フマル酸 0.04mg/100g 腹腔内投与



又分裂各期のものについてみるに Prophase の軽度の減少と Metaphase が 3 時間目に一過性に約 30% の増加、Telophase が 12 時間目に 35% 増加しているのが注目される。

染色体については無処置の対照群に比して特別

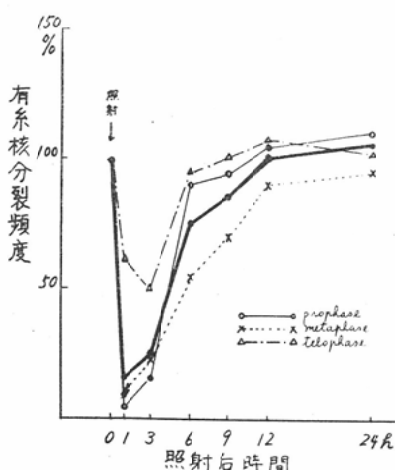
の変化は認められない。

実験 II : X 線 (X) の影響

腹水肉腫に対する X 線の作用についての業績²⁰⁾は既に多数あるが、之を追試し以下の実験の対照とした。

分裂頻度は第 2 図の如くであつた。即ち分裂頻度の時間的消長は照射後減少しはじめ、1 時間後最低となり、3 時間後で増加しはじめ、6 時間後に略照射前値に近くなる。

第 2 図 有糸核分裂頻度の変化 X 線 200r 照射



分裂各期についてみると、前期は照射後直ちに減少しはじめ、1 時間後最低 15% となり、3 時間で増加しはじめ、6 時間後前値に戻つた。中期は 1 時間後最低となり、前期と略と類似の増加を示し、6 時間で略と前値に戻つた。後期の変動は少く、1 時間後最低となるが 3 時間で前値に戻り、終期は 3 時間後に最低値を示し、6 時間後に前値に戻つた。

染色体異常を中期細胞でみるに、粘着、凝集を示すものが照射後 1~3 時間で軽度に増加した。

之等の成績は先人の業績と略と一致した。

実験 III : X 線 (X) とフマル酸 (F) の併用効果

腹水肉腫に対する X 線の効果がフマル酸に依つて影響されるか否かを検討する為にフマル酸を投与後 X 線照射を行つた場合 (F+X), 及びその逆の処置 (X+F) を行つた場合について実験

を行つた。

A. フマル酸投与後X線照射した場合 (F+X)

+X線照射の夫々3時間, 1時間前, 30分前, 直前にフマル酸を腹腔内に注入し, その影響を観察した。

フマル酸投与量は飽和溶液 1.0μ とし, X線照射は 200r 全身一時照射とした。

a) X線照射3時間前フマル酸投与(F(180)+X) (第4図)

照射後の分裂頻度の減少率は, 1時間で40%で, 3時間33%, 6時間60%, 9時間95%であつた。

之を(X)と比較するに照射後1時間値に於ける分裂頻度の減少が軽度であつたに過ぎない。

次に分裂各期についてみると, 前期は1時間で最低値を示したが, 3時間目より急速に増加し, 9時間目で処置前値より15%増加している。之を(X)と比較するに, 中期はむしろ減少し, 終期が増加の傾向を示した。

中期染色体の形態の異常は特に変化していない。

即ち照射3時間前投与ではX線の分裂抑制効果を僅かに防いでいるが, 回復の促進効果は全く示さなかつた。要するにX線の影響を明かに軽減するが如き傾向は全く認められなかつた。

b) X線照射1時間前フマル酸投与(F(60)+X) (第3図)

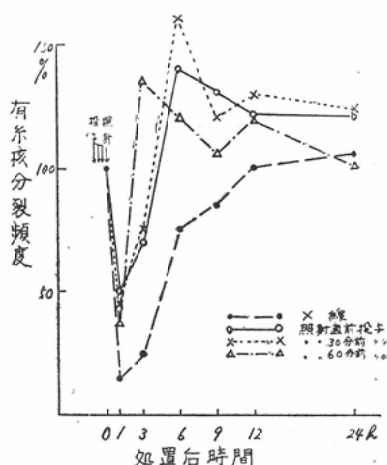
X線照射後分裂頻度の最低値は1時間目45%であり, 3時間後には既に処置前値の35%の増加を示し, 6時間目で20%の増加, 12時間目迄20%の増加値を維持した。

之を(X)に比較するに照射後1時間に於ける分裂頻度の減少は明かに抑制され, 且つ回復が明かに速やかである。

分裂各期についてみると前期は殆んど抑制されず, 中期が1時間後最低値20%を示したが3時間で75%となり, 6時間値は処置前値の20%の増加を示した。

之を(X)に比較するにX線では前期及び中期

第3図 照射前フマル酸投与



の変動が著しいが, フマル酸を照射前に投与したものでは前期の変動が少く, 中期, 後期の変動が著明であつた。

この場合にもX線照射の影響を軽減する傾向が認められる。

染色体異常もX線単独照射のものより明かに軽度であつた。

X線照射の1時間前にフマル酸を投与し照射するに分裂頻度の減少を来すが, X線単独の場合よりは軽度であり, 尚回復が非常に速やかである。又核学的にも之を裏づける如き像をなしていた。

c) X線照射30分前フマル酸投与(F(30)+X), (第3図)

X線照射後分裂頻度の最低値は1時間目で40%であるが, 3時間で75%を示し, 6時間で処置前の60%, 9時間で20%の増加と著しい高値を示した。即ちX線単独の場合より分裂頻度の低下が軽度で且つ回復が速やかである。

分裂各期の変動をみると, 前期及び終期が3及び6時間目に処置前値の100%の増加を示しているが, 中期の変動は1時間目30%, 3時間目50%を示し, 6時間目で処置前値に復した。即ちX線単独の場合より変化の度は軽度であつた。

染色体の形態学的変化は多少は認められたがX線単独の場合より遙かに軽度であつた。

フマル酸を照射前30分に投与したものでは1時間前に投与したものに比し、3時間目の回復は劣つてゐるが、6時間目では60%、後者は20%の増加を示した。

又分裂各期の変動も1時間前投与例で中期と後期の変動が著明であつたが、30分前投与例では前期及び終期の変動が著明であつた。

d) X線照射直前フマル酸投与 (F (0) + X), (第3図)

分裂頻度は1時間後では50%, 3時間で70%まで夫々減少を示したが、6時間目には40%の増加を示した。即ち(X)に比し分裂頻度の減少は軽度で且つ回復が速やかであつた。

分裂各期の変動は、終期の6~9時間目の60%増加が著明で、中期は1時間目に最低値を示した。X線単独の場合に比して前期終期の増加が中期の増加に比し著しく速やかであり又高度であつた。

染色体の異常もX線単独の場合に比し軽度であつた。

以上X線照射前にフマル酸(F+X)を注入した4群の実験を比較するに、先づ分裂頻度については、3時間前にフマル酸を投与した場合(F(180)+X)はX線照射の效果に殆んど明かな影響を与えない様であつた。X線照射後最も速やかに分裂頻度の増加を示したのは照射60分前フマル酸投与例(F(60)+X)で、3時間目に処置前値の35%の増加を示し、30分前(F(30)+X)及び照射直前フマル酸投与例(F(0)+X)では25~30%の減少を示すに過ぎなかつた。即ちこの三者は何れもX線の分裂頻度の抑制を軽減し且つ回復が促進されている。尚分裂頻度の最高値を示したものは、照射30分前フマル酸投与例中、照射後6時間目の処置前値の60%増加であり、照射直前投与例の40%増加が之に次ぎ、照射1時間前フマル酸投与例の20%増加がこの3群中の最低値を示した。

分裂各期の変動については照射3時間前及び1時間前投与例がX線単独照射による分裂細胞各期の変動に類似した。

照射後6時間目に分裂頻度の最高値を示した照射直前及び30分前フマル酸投与例では中期の変動がX線単独照射による中期の変動に類似したが、前期及び終期の変動は照射後1時間、3時間で処置前値に復していないが、6時間目で処置前値の2倍に達すると云う著しい増加を示しているのが注目された。

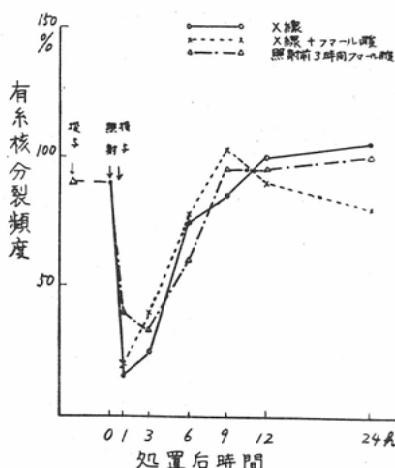
即ちX線照射1時間、30分及び直前のフマル酸投与により照射後3時間から6時間にかけて分裂細胞の著明な増加を認め、その後24時間迄処置前値の20%前後の増加を維持した。

染色体について見ると、X線単独に比し明かに分裂頻度が増加しているのに異常型の増加は認められず、橋形成等の分裂の遅滞もみられなかつた。又(F+X)の4群の間では明かな差異も認められなかつた。

B. X線照射後フマル酸投与した場合(X+F), (第4図)

前実験と処置順を逆にした場合、即ちX線照射後30分時にフマル酸を投与した場合についてその影響を観察した。

第4図 X線照射3時間前及び照射後フマル酸投与



フマル酸は前回と同濃度、同量投与した。その結果は次の如くであつた。

分裂頻度はX線照射により減少し照射後1時間目

に最低値20%を示した。之はX線単独の場合と略と同値であり、3時間目の40%も同様であつた。

前実験 (F (30) + X) の場合 3時間目で処置前値の20~60%増加を示したのに比べこの場合は分裂頻度に対するX線の効果は影響されていない。即ちX線固有の分裂頻度の減少が現れ、フマル酸の回復促進効果は全くみられなかつた。

分裂各期の変動をみると前期、中期はX線単独に近似しているが終期は6時間で処置前と同値となり9時間目に60%の増加を認めた。之は (F (30) + X) と同様でこの終期の増加のみがフマル酸の影響とみられる。

形態学的には染色体の粘着、凝集等の変化はX線単独の場合と同程度であつた。

気瀧、上篠等²²⁾は照射後にフマル酸を投与しても *restorative* であると酵母細胞の生存率から述べているが、肉腫細胞では照射後フマル酸投与ではX線の効果に影響を示さなかつた。

以上の実験からフマル酸は、それ自身では肉腫細胞分裂に著しい影響を与えるものではないが、之を予め投与して後にX線を照射するときにはX線の効果を軽減する。即ち照射に依る分裂頻度の減少を軽度にし且つその回復を促進する。尚処置の時間的關係はX線照射前1時間時にフマル酸を投与するのが最も有効で、照射後或は照射前3時間では無効である。

実験Ⅳ：フマル酸の有効濃度について

フマル酸は腹水肉腫に対するX線の効果を軽減することが併用実験によつて確められた。その際フマル酸の投与量を一定 (飽和溶液 1.0cc) にして実験を行つた。そこで次に投与量を変化した場合について検討した。

フマル酸は難溶性であるので水溶液の飽和濃度は 0.044% (3.8×10^{-2} Mol.) であり容量を一定 (1.0cc) とすれば0.04mgが注入し得る最大の量である。そこで飽和溶液の2倍、5倍、10倍の稀釈溶液を作成して量的關係を追求した。

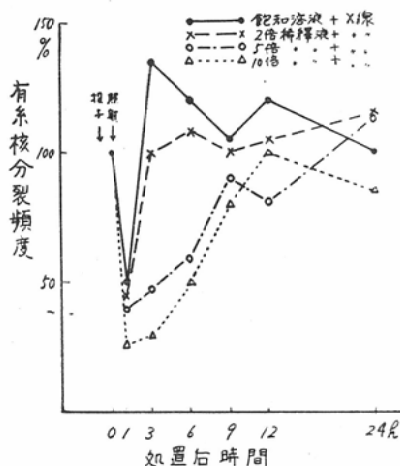
フマル酸の投与時期はX線照射1時間前 (F (60) + X) とし、X線は 200r 全身一時照射とした。尚この場合は分裂頻度のみを尺度とした。

a) 2倍稀釈のものを投与した場合

フマル酸0.02mg/rat を照射前1時間時に投与するとその分裂頻度は第5図の如くである。

分裂頻度は照射後減少し、最低値は照射後1時間目で50%であるが、3時間目で処置前値に回復し、その後も処置前値を越えて維持された。即ちこの濃度ではX線の分裂頻度に対する効果を明かに軽減する。その度は飽和溶液を投与した場合と略と同程度であつた。

第5図 フマル酸の有効濃度について



b) 5倍稀釈のものを投与した場合

フマル酸0.01mg/rat を投与した場合は第5図の如くであつた。

分裂頻度は照射後1時間値は40%で、3時間では20%でその後の回復はX線単独の場合と略一致する。即ちX線による分裂頻度の減少はフマル酸0.01mg投与により軽度に軽減された。

フマル酸飽和溶液を5倍に稀釈して投与した場合にはX線の分裂抑制への防護作用は軽度に残されているが、回復促進効果は明かではなかつた。

c) 10倍稀釈のものを投与した場合

フマル酸 0.004mg/rat 投与した場合には第5図の如くであつた。

X線照射後1時間目に分裂頻度は最低となり処置前の25%であり、X線単独と略同じである。

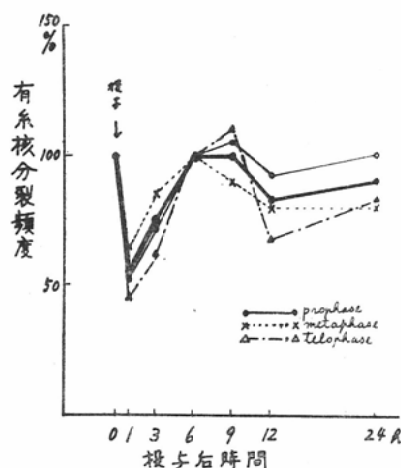
又3時間30%, 6時間50%, 9時間80%であつた。即ちX線単独照射の場合と略々一致した経過を示した。従つてフマル酸のこの程度の量ではX線の効果に影響を与えないと云うことである。

X線照射条件及びフマル酸の投与時間を前回と同じく一定とし、フマル酸の濃度を変えた実験の成績から、フマル酸の有効量は0.04~0.01 mg/rat 間であることが確められた。

実験V: マロン酸の影響(M) (第6図)

マロン酸はコハク酸脱水素酵素の拮抗的阻害剤である。これによつて TCA cycle 代謝系中コハク酸よりフマル酸への代謝進行を阻害することが出来る。

第6図 マロン酸 10^{-2} Mol. 1 C. 腹腔内投与



そこで肉腫細胞分裂に対してマロン酸が如何なる影響を与えるかを検討した。

MTKⅢ肉腫動物腹腔内にマロン酸 1.0 Mol; 1.0 μ 注入すると数時間後に死亡する。又 10^{-2} Mol. 1.0cc投与例では生存するものと数時間後に死亡するものとが混在する。 10^{-2} Mol. 1.0cc投与例では之によつて死亡するものがなかつたのでこの濃度で実験した。この量を投与後経時的に腹水を採り検査するに第6図の如き結果を得た。

分裂頻度はマロン酸腹腔内注入後30分で処置前の65%となり、1時間後には55%と最低値を示し、その後徐々に増加し、6時間後に処置前値に

復する。

分裂各期の変動をみると前期、終期の変動が著明にみられ、注入後急速に減少したが、中期の変動はそれに比べてやや軽度であつた。

染色体の変化としては球状化が注入後1~3時間に著明に増加し、又細胞質の変化に於てもその崩壊が著しかつた。

即ちマロン酸によりMTKⅢ肉腫の細胞分裂は一過性に抑制されるが、6時間後には分裂頻度は処置前値に復することが確められた。この分裂頻度の時間的消長はX線照射の場合によく類似していた。

又分裂各期の消長では前期の変動が両者が類似したが、中期、終期の変動に共通点はなかつた。

染色体の異常ではX線照射に比べて球状化が著明であつた。

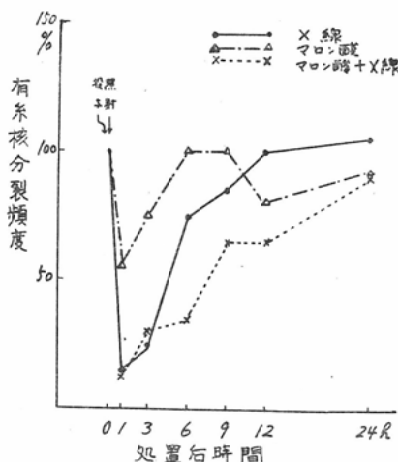
そこで次に之をX線と併用した場合について観察した。

実験VI: X線とマロン酸との併用効果(X+M)

マロン酸 10^{-2} Mol. 1.0 μ 腹腔内に注入して直後にX線 200r全身一時照射を行つた。

其の結果は第7図の如くであつた。

第7図 マロン酸投与後X線照射



分裂頻度は照射後30分で処置前値の38%, 1時間目で14%と最低値, 3時間30%で, 6時間目で35%, 9時間目で70%, 12時間70%で24時間でも完全な回復は見られなかつた。即ち分裂頻度の上

から見る時はX線単独照射の場合より減少の度は稍々つよく、且つ減少している時間が長く続き回復が遅延する。

分裂各期についてみると各期共に分裂頻度は減少するが殊に前期、中期細胞の減少が明かであつた。

染色体の異常は球状化の増加がX線単独の場合より顕著であつた。

即ちX線とマロン酸の併用により細胞分裂は一過性に抑制されそれ等々単独処置の場合より遙かに高度である。即ち併用効果が明かに認められた。

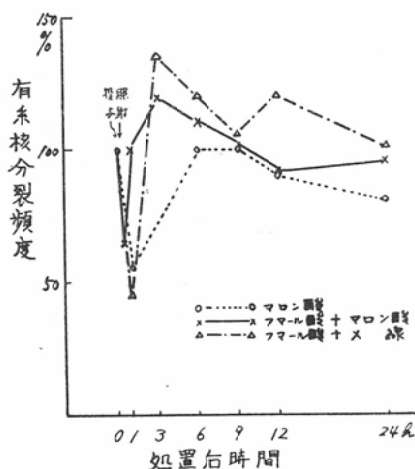
気賀、上篠等²²⁾は、マロン酸は照射前投与では protective であると酵母細胞生存率についての実験から述べているが、肉腫細胞では、マロン酸の照射前投与では protective ではなく、むしろ Combined effect が認められた。

実験Ⅶ：フマル酸投与後マロン酸投与 (F+M)

MTKⅢ肉腫の細胞分裂はマロン酸により一過性に抑制されるが、TCA cycle の基質であるフマル酸をマロン酸投与前に腹腔内に注入しておく時細胞分裂に如何なる影響を与えるかを知らんとした。

フマル酸0.02mg腹腔内注入後1時間目にマロ

第8図 フマル酸投与後
(マロン酸投与X線照射)



ン酸 10^{-2} Mol. 0.5cc同様に投与した。

分裂頻度の消長は第8図の如くマロン酸注入後30分に分裂頻度は最低値65%をとり、1時間後に既に処置前値に回復し、3時間目にはかえつて20%の増加、6時間目には10%の増加を示した。即ちフマル酸で前処置をしておくとマロン酸による分裂頻度の減少はごく短時間しかみられず且つ回復の促進が著しかつた。

その際終期の増加が前期、中期の増加に比べて著明であつた。

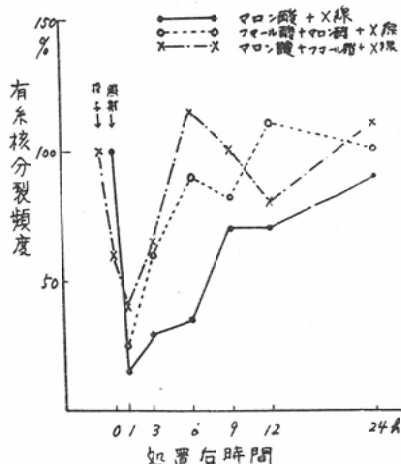
染色体の変化はマロン酸単独の場合より特に増加していなかつた。

実験Ⅶ：三者併用効果

A. フマル酸前処置後マロン酸X線併用 (F+M+X), (第9図)

フマル酸を前処置として投与して1時間後にマロン酸 (10^{-2} Mol. 1.0cc) とX線照射 (200 r) とを加えた。

第9図 三者併用 (マロン酸, フマル酸, X線)



分裂頻度の減少はX線照射後1時間目に最低値25%を示す。之は(X), (M+X)より僅か高い値である。3時間値は60%で(X), (M+X)の場合より約30%の増加であつて、6時間値90%は同じく15~50%の増加を示した。即ちフマル酸の前処置を促進させる。

再言すればフマル酸の前処置後(M+X)を併用する時は分裂頻度の減少は抑制し得ないが3

時間以後の回復は明かに促進される。即ちフマル酸の前処置効果が認められる。

之等の実験からフマル酸の効果はマロン酸に対して最も著明で、次いでX線に対してであり、マロン酸・X線併用に対しては前の二者に劣る。しかし(M+X)の併用のみでフマル酸の前処置のないものに比べれば、明かに分裂回復の促進効果が認められた。

B. マロン酸投与後 フマル酸・X線併用 (M+F+X)

マロン酸 10^{-2} Mol. 0.5cc投与後1時間目にフマル酸0.02mg投与直ちにX線 200r 全身一時照射を加えた。その際の成績は第9図の如くであった。

分裂頻度の最低値は照射後1時間目の40%で、之は(X)及び(M+X)に比べれば明かに高い値で分裂頻度減少を僅かながら抑制している。又此の値は(F+X)と略々同値である。照射後3時間値は処置前の65%でX線単独及び(M+X)より30~35%の増加であり、6時間目には処置前値に復し、前二者より35~70%の増加を示し、回復の促進が認められた。

即ちマロン酸の分裂抑制作用の有効時間内にフマル酸を投与し、その後直ちにX線照射を行つた場合には回復の促進効果は(F+X)よりは劣るが(X)。(M+X)に比べれば明かに著明である。

分裂各期の変動をみると前期の減少はX線の場合に類似するが、中期はフマル酸投与をX線照射に近く与えた方が、マロン酸投与前に与える場合より減少の程度が遙かに少い。

染色体の異常は球状化が増加しているが、(M+X)に比べれば軽度である。

総括考按

TCAサイクルの基質であるフマル酸をMTKⅢ担癌動物の腹腔中に投与するに、その腫瘍細胞の分裂に対しては顕著な影響を及ぼさない。(実験：I)

然るに之をX線照射と併用するときには、多少のX線効果の防護(protection)と回復(resto-

ration)がみられる。但しフマル酸は照射前1時間以内に投与したる場合にかゝる作用が認められるが、照射3時間前又は照射後投与では無効である。(実験：Ⅲ)

次に Succinic dehydrogenase の阻害剤であるマロン酸の肉腫分裂細胞に対する作用はX線の夫と極めて類似している。(実験：V)又之とX線とを併用するときには、両者は協力的に作用し所謂 Combined effect が明かに認められる。(実験：VI)

更にフマル酸とマロン酸とX線の三者併用に於てはフマル酸の前処置に於てその後のマロン酸・X線の作用の軽減が認められた。(実験：VII)

然るにマロン酸の前処置では、その後のフマル酸とX線の併用効果に対しては著しい影響を与えない様である。(実験：VIII)

以上は著者が肉腫細胞の有糸核分裂頻度、分裂各期の消長及び核学的変化を示標として行つた実験結果を総括したものである。

さてフマル酸とX線の併用についてみるに、フマル酸の前処置はX線の作用を防禦する。気賀学派⁴⁾⁵⁾⁶⁾¹⁵⁾は防禦を防護(protection)と回復(restoration)に分けて考えている。彼等の分類⁷⁾¹⁵⁾によれば、この場合の防護は放射線障害を受け易い反応系の基質を与えることにより、又回復は放射線障害を受けた酵素系の基質を補給することに依つて解決される。この場合 protection に於ける放射線障害を受け易い反応系とはコハク酸よりフマル酸への反応系が考えられ、restoration についてはフマル酸が基質であることによつて当然である。(Bacq²³⁾, 小池⁶⁾)

次にマロン酸の作用をみると、分裂頻度の変化や分裂各期細胞の消長や核学的変化から見て定性的にはX線の作用に極めて類似している。マロン酸は Succinic dehydrogenase を障害する物質として知られたものである。従つてX線も亦この酵素に障害を与えることによりかゝる変化を来すと云える。然し乍らX線の肉腫細胞に及ぼす作用のすべてがこの酵素の障害によつて惹起されるとは考えられない。何故ならばX線の作用とマロン

酸の作用とは定性的には類似しているとは云え両者の作用を詳細に検討するときは全く一致しているとは云えない。例えば分裂各期細胞の消長に於てX線では中期の細胞の著しい減少があるがマロン酸では左程減少を示さない。又細胞核の異常型に於てマロン酸では球状が顕著なるにX線では左程ではない。又細胞質の変化に於てもマロン酸はその崩壊が著しいに反しX線では左程ではない。又マロン酸は致死量に近い大量 (10^{-2} Mol. 1.0 μ) を与えた時にやつと分裂頻度の減少を来すに過ぎず且つその度はX線 200r 全身照射の場合の夫よりも軽度であり、回復もX線照射の場合より遙かに速やかである。

之等のことからみてもX線は Succinic dehydrogenase を阻害するが、それはマロン酸の如く特異的なものでなく矢張り一般的酵素阻害剤としてこの酵素にも働いたものと考えてのが妥当であろう。Succinic dehydrogenase はSH酵素の一つである。然してSH酵素が放射線により鋭敏に障害される事及び特にこの酵素が他のSH酵素より著しく障害されることもよく知られている²⁴⁾²⁵⁾。之等を合せ考えれば放射線がTCAサイクルに於けるコハク酸よりフマル酸への進行を阻害することは特異的でないにしろ可成り顕著なものであると云える。

三者併用の実験に於てフマル酸の前処置後マロン酸とX線を照射した場合 protection は不十分であるが restoration は促進されるこのことはマロン酸やX線の効果は処置後可成り速かに起るに反し、フマル酸の効果は軽減されて現れることから見れば理解出来る。又マロン酸で前処置をした場合フマル酸とX線では protection も restoration の促進も明かでない。このことはマロン酸が残っているところへフマル酸を与え更にX線を照射するのであるから時間的にみてフマル酸の効果が出現し難いことによると考えられる。

以上は気賀学派⁴⁾⁵⁾⁶⁾¹⁵⁾¹⁶⁾の酵母細胞についての実験からの学説によつて肉腫細胞についての実験結果を解明した。酵母の如き簡単な細胞について

の考察が之等より遙かに高等な細胞について主として形態学的変化を示標とした実験結果をよく説明出来たと云うことはこの学説が生物学上普遍的なものであることを立証したものと考える。

著者は放射線の肉腫細胞への障害作用の一つはTCAサイクルに於けるコハク酸よりフマル酸への移行を阻止することにあると主張する。

結 語

MTKⅢ腹水肉腫について有糸核分裂頻度、分裂各期細胞の消長及び核学的変化を示標としてX線とフマル酸及びマロン酸の併用実験を行い次の如き結果を得た。

1. フマル酸は核分裂頻度及び形態学的に著明な変化を示さない。
2. フマル酸とX線を併用する場合、フマル酸を照射前3時間以内に投与する場合にのみ有効である。即ちX線の分裂抑制効果を防護し且つ著しく回復を促進する。
3. フマル酸投与量は0.02~0.04mg/rat が至適である。
4. マロン酸は細胞分裂を一過性に抑制しX線と類似の作用を示す。この効果はフマル酸に依り拮抗される。
5. マロン酸とX線を併用すると所謂 Combined effect が現れるが、フマル酸により僅かに拮抗される。
6. これら併用実験からX線の肉腫細胞に及ぼす作用の一つはTCAサイクルに於てコハク酸脱水素酵素を阻害しコハク酸よりフマル酸への移行を阻止することにあることを主張し気賀学説の生物学的普遍性を確めた。

擧筆するに当り種々御教示を頂いた 徳島大学河村教授並びに御討論頂いた札幌医大牟田教授に深く感謝を捧げると共に、種々御助力いただいた教室員各位に深謝します。特に本研究に終始御教示、御援助を頂いた教室の石原隆昭氏に厚く感謝します。

本論文の要旨は一部は昭和32年5月第16回日本医学放射線学会総会（新潟）及び昭和33年7月日本医学放射線学会第16回東北北海道新潟地方会（仙台）に於て発表し、昭和34年第18回日本医学放射線学会（東京）に於て発表の予定。本研究の一部は文部省科学研究費によ

る。附記して感謝の意を表します。

文 献

- 1) Risse, O.: *Str. ther.*, 34, 581 (1929). — 2) Weiss, J.: *Nature*, 153, 748 (1944). — 3) 安藤: 日本医放会誌, 15, (8), 737 (1955). — 4) M. Kiga et al.: *Science*, 122, 331 (1955). — 5) 気賀: 昭和28年日本医学放射線学会発表. — 6) 安藤: 昭和医学会雑誌, 15, (3) (1955). — 7) 若林: 日本医事新報, 1579 (1954). — 8) No. M. Wakabayashi, and F. Kawamura: *Monogr. Res. Inst. Elect.*, 5, — 9) 金田, 桜井: 日本医放会誌, 16, (4), 400 (1956). — 10) 桜井: 日本医放会誌, 16, (4), 407 (1956). — 11) 田尻: 昭和30年東北北海道

- 方医師会学術大会発表 (仙台). — 12) 入谷: 日本医放会誌, 17, (9), 1006 (1957). — 13) 田尻: 日本医放会誌, 17, (11), 1266 (1958). — 14) Baldwin: *Dynamic Aspect of Biochemistry* (1957). — 15) 安藤: 昭和医学会雑誌, 15(3) (1955). — 16) 小池: 日本医放会誌, 15, (2) (1955). — 17) 梅谷: 動物学雑誌, 62, (12), 416 (1953). — 18) 吉田: 吉田肉腫, 寧楽書房, (1949). — 19) 幸田: 日本医放会誌, 10, (1), 30 (1950). — 20) 幸田: 日本医放会誌, 10, (1), 30 (1950). — 21) 小野: 日本医放会誌, 12, (6), 6 (1952). — 22) 気賀, 上条: 文部省総合研究報告集, 癌編 (1958). — 23) Bacq, Z.M.: *Str. ther.*, 95, (2), 215 (1954). — 24) 平出: *S H の進歩* (1954). — 25) Barron, E. S.G.: *J. Gen. Physiol.* 33, 229 (1950)

Studies on the Combined Effects of Radiation and Various Chemicals (7th Report) Effect of Combined Use of X-ray with Fumaric and Malonic acid on the MTK-III sarcoma

By

Minoru Kido

Department of Radiology, School of Medicine, Hokkaido University

(Director: Prof. M. Wakabayashi)

The present paper deals with the combined effect of x-ray and two agents, fumaric acid and malonic acid; the former is known as a member of the TCA-cycle and the latter as a competitive inhibitor of the cycle.

MTK-III sarcoma of rat, 3-6 days after transplantation, was used. X-irradiations were made with 140 kVp, 3 mA, filter; 0.3 mmCu and 0.5 mmAl and HVL: 0.5 mmCu, on the sarcoma in vivo. Aqueous solutions of the agents were injected intraperitoneally.

The results obtained may be summarized as follows:

1) Fumaric acid made the mitotic index and the percentage of metaphase increase slightly for 3 hours after injection but had no effect on the form of chromosomes. Injection of fumaric acid before the X-irradiation resulted in marked decrease of X-ray effects, that is, the covering effect was recognized.

2) Malonic acid showed effects similar to those of X-ray so far as observed, but in the experiment of combined use with X-ray the effects were stronger than those resulting from the use of each one separately.

3) In the experiment of combined use of the two acids and X-ray, the pretreatment with fumaric acid decreased the effects of malonic acid and X-ray while the pretreatment with malonic acid inhibited the effects of fumaric acid.