



Title	赤血球のin vitroにおける加齢について : 60Coによる照射と脾シンチグラムについて
Author(s)	石川, 大二; 安河内, 浩
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1970, 29(12), p. 1501-1506
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/18970
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

赤血球の *in vitro* における加令について (^{60}Co による照射と脾シンチグラムについて)

東京大学医学部放射線医学教室 (主任: 宮川正教授)

石川大二* 安河内浩**

(昭和44年8月29日受付)

The Effects of *in Vitro* ^{60}Co - γ -irradiation on ^{51}Cr -labeled Red Blood Cells

Daizi Ishikawa, M.D.* and Hiroshi Yasukochi, M.D.**

Department of Radiology, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo, Japan

(Director: Prof. T. Miyakawa)

Recently the clinical evaluations of splenic scintiscanning are increasing to diagnose the masses in the abdomen and the hematological diseases. For these purposes many agents are proposed to have clear scintigrams of the spleen. But these methods have some disadvantages. ^{197}Hg - or ^{203}Hg -labeled MHP method is a simple and superior method in present, but has problems on toxicity for red blood cells and deposit in kidneys of leaked radiomercury. The heat treated ^{51}Cr labeled red blood cell method has less problems on these points but trouble method and sometimes it is difficult to get diagnosable splenic scintigrams because of the aging degree of red blood cells being very labil by incubation temperature and time. Instead of heat treatment of the labeled red blood cells, we discussed about the treatment by ^{60}Co - γ -irradiation. We employed this γ -treated labeled red blood cells to the donner patient for the scanning of the spleen. By this method the reproductivity of the grade of destructing red blood cells is superior than that of heat treating method and better scintigrams are obtained. For this purpose we have investigated the destruction grade of the red blood cells by γ -irradiation. The remarkable destruction of the red blood cells start from about 300,000 R and 25% of the red blood cells are destructed at 400,000 R irradiated.

The best scintigrams are obtained by the red blood cell irradiated by the dose between 300,000 R and 340,000 R. Several comparisons are investigated on this point between the γ -treated and the heat treated red blood cells and shown in the figures.

Lastly the red blood cell aging by the γ -irradiation is suggested from the dialy destruction of the cells stored in freezer after 350,000 R irradiated. The grade of the destruction of the red blood cells are 50% one day after irradiation and 90% after two days. The determination of the cell aging must be examined by cell life determined by the patient *in vivo*, but this *in vivo* decay suggests the applicability to shorten the cell life determination method if the relation between the irradiation dose *in vitro* and cell survivals

* 現 山梨県立中央病院放射線科医長

** 現 東京大学医学部講師, 附属病院分院放射線科

Present address

*Chief, Department of Radiology, Central Hospital of Yamanashi Prefecture.

**Lecturer, Department of Radiology, Branch Hospital, Faculty of Medicine, University of Tokyo.

in vivo is obtained. By this report, the aging of red blood cells by ^{60}Co - γ -irradiations is discussed compared with that of heat treating method and some clinical applicabilities are suggested on the spleen scintigram procedures and red cell life determinations.

緒言及び目的

1960年以来、人の赤血球に ^{51}Cr をラベルして、各種の処理を行い脾臓にて食食されやすく、脾臓に沈着したところでスキヤニングを行い、脾シンチグラムを得る方法が開発され発展して来た。Rh (+) の感作赤血球処理法、NEM薬剤による処理法、熱処理法などが行なわれ、特に熱処理法による脾シンチグラムが広く一般的に利用されて来た。しかし1964年頃から ^{197}Hg または ^{203}Hg で標識した BMHP (bromo-1-mercuri-2-hydroxypropane) および MHP (1-mercuri-2-hydroxypropane) 法が ^{51}Cr 熱処理法等にとつてかわり現今では最も共通に用いられている。Hg*-MHP 法は標識されたMHPが直接化学作用によつて、その赤血球を加令するもので、 ^{51}Cr 熱処理法に比較し特に操作が簡単であるところから ^{51}Cr を完全に一掃した感さえある。しかしこの方法では脾で赤血球が破壊されると Hg* が腎に沈着し、時に脾シンチグラムの読影を困難にすること、特に ^{203}Hg -MHP を使用した場合は腎の被曝量が大きく、また長く沈着しているため他の腹部臓器のシンチグラム検査に支障を来すという欠点も、持っている。さらに1967年には被曝量を問題として $^{99\text{m}}\text{Tc}$ を赤血球にラベルして、脾シンチグラムを得る試みも行われて来ているが、時間的余裕や手技の繁雑さ等より試作の域を出ていない。脾シンチグラムは結局、赤血球を何らかの処理法によつて加令し、より多くの R.I を脾に沈着させ、できれば肝臓、腎臓など隣接臓器への集積を少なくしたいことと手技の簡単なことを主眼としている。手技の簡易さという点においてはMHP法は優れていると言わざるをえない。唯しこれは腎臓への被曝量の問題が大きく、また被曝量を非常に少なくするという利点がある $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 法も半減期の問題症があり ^{51}Cr 法も一概に捨て切れないものがある。 ^{51}Cr の赤血球処理法は、熱処理にしろ、薬物処理にしろ、その手技が繁雑である上

に処理の限界、すなわち処理条件の有効範囲が非常に狭いのが特に困難である。熱処理の場合 $49.5^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ と狭く完全な恒温槽の設備が必要となり最適温の処理がなされなければ肝臓への集積を増し肝と脾の重なりが読影に困難を来す。そこでわれわれは ^{51}Cr を赤血球にラベルしてから、 ^{60}Co - γ 線にて照射し赤血球を加令しそれによつて脾シンチグラムを得ること、並びに赤血球減弱過程の観察を実験的に行つた。 ^{60}Co 照射の場合における赤血球の加令は熱処理と異り線量の調節に広い有効幅が得られるのではないかとこの想定のもとに行つた。同時に熱処理による方法も併せ行い比較した。

方 法

10ml の患者血液を採血し 6 ml の ACD液に加え ^{51}Cr , 400 μCi を加え室温 (21°C) にて約1時間軽く振盪しつつ標識した。終点においてアスコルビン酸 100mgを加え標識されなかつた Cr を還元し再標識の影響を少なくした。こうして得た標識赤血球を2分し一方を ^{60}Co 照射による、他方を温度による実験に使用した。

(温度による影響)：血液をさらに3分し 40°C , 50°C , 60°C の恒温槽に入れ incubation time をそれぞれ、40分、80分、120分で加令状態の観察を行つた。厳密には加令状態を調べるには in vivo における寿命の測定が必要であるが、ここでは影響の比較という意味で崩壊した赤血球を洗浄により除くことによる崩壊の状態で代表させ比較することにした。方法は血液の R.I をシンチレーションカウンターで測定した後、生理食塩水にて1回洗浄し上清液を除去し残りを同じ幾何学的条件において再び測定し比較値を求めた。なお別に incubation time 30分による崩壊実験を比較の意味において行つた。

(^{60}Co 照射による影響)：血液を 1 ml づつ 8 等分し東海村原子力研究所の ^{60}Co 照射装置により 20万 R より 90万 R まで 10万 R 単位に照射を行

温度の場合と同様生理食塩水にて1回洗浄し生存率を求めた。以上の実験結果より後に述べる如く崩壊の曲線が30万Rより40万Rの間で変化することを知り別に ^{51}Cr をラベルしたACD血液10ml (患者血液5ml, ACD液5ml) を8mlと1mlと1mlに3分し8mlと1mlのACD血液に34万R照射し、8mlをもとの患者に逆輸血し24時間後および48時間後にスキヤニングを行い脾シンチグラムを得た。また1mlは経目的に崩壊を追跡し、他の1mlは ^{60}Co 照射をせずコントロールとして崩壊の追跡を行った。後者の崩壊追跡を使用した1mlの血液2箇所は -2°C の冷蔵庫に保存していた。なおスキヤニングは東芝製2インチφクリスタルのスキナーでコリメーターはテーパ型のもを使用した。

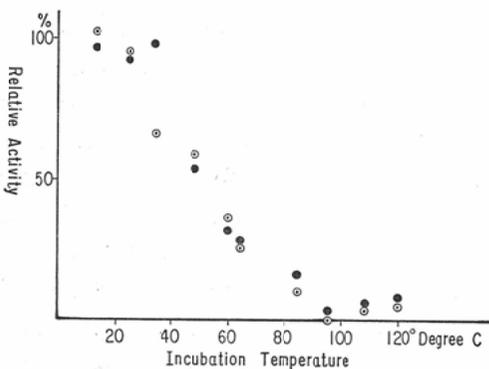
結果

1. 赤血球浮遊液の洗浄回数について。

一般的には血液の洗浄回数は増すほど、正しい数値が得られるように思われるがわれわれは種々の温度で incubate した血液について1回洗浄した場合と2回洗浄した場合を比較し相互に差異が認められないので以後の実験の洗浄回数は全て1回とした(図1参照)。

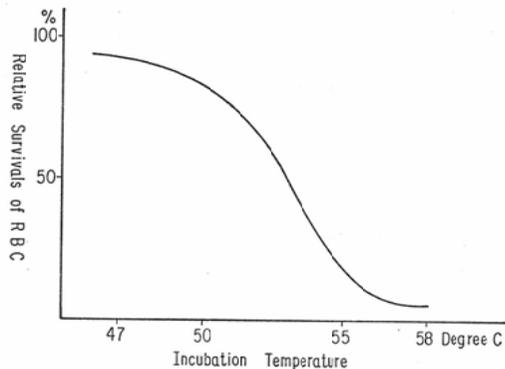
2. Incubation time 30分における各温度処理

Fig. 1 The activity the sample after one-wash and two-washes in variable incubation temperature. No significant differences are noticed between one- and two-washes. Round marks show the red blood cells washed twice and black marks show once. (incubation 60 minutes).



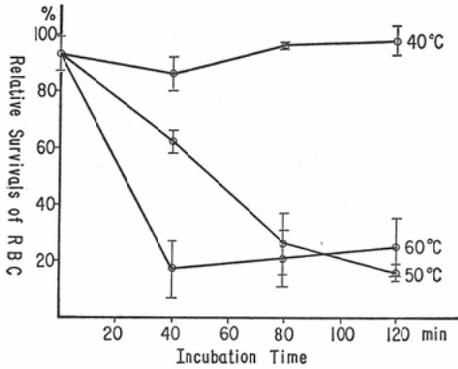
血球の崩壊について。報告によると温度処理は $49.5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 1時間で行っているが²⁾⁶⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾, incubation time を短くすることの可能性を調べるために30分で温度を 46°C より 58°C まで13段階にわけて血球崩壊を追跡したが 50°C で10%, 53°C で50%崩壊する曲線を示した(図2参照)。 50°C , 60分の incubation では曲線の勾配がさらに急になるので(図3参照), 臨界温度が僅かの差でも崩壊に大きな影響を与えることが十分に理解される。30分の incubation で臨界温度の幅を広げうるかと思われたが, 実際には, シンチグラムを得るには至らなかつた。 52°C では脾シンチグラムは得られず, 53°C では肝臓への集積が多くなつてしまつた。したがつて温度による調節は非常にむづかしく, 恒温槽内の温度と血液が同一温度になるまでの時間の差, また, incubation time が30分と60分で完全に差を生じる如く, その間の調節は高度の技術を要する。

Fig. 2 The relative survival rate of red blood cells in various incubation temperature. (incubation time 30 minutes).



3. 温度差3段階の血液と incubation time との関係。血液を 40°C , 50°C , 60°C に設定し, それぞれ40分, 80分, 120分の時間 incubate しその崩壊を観察し図3の如き結果を得た。 40°C にしたものでは120分 incubate しても少しも崩壊しない。 50°C では40分で30%, 80分で65%崩壊する。 60°C では40分で80%崩壊しほぼ溶血状態である。したがつて各実験者の報告どおり, 50°C 以下 incubation time 60分以内に抑えることがよく理解

Fig. 3 The relative survival rate of red blood cells in various incubation time. (incubation temperature are 40°C, 50°C and 60°C). Red blood cells are not destructed even 120 minutes later in 40°C, they are destructed for about 40% at 50°C and about 80% at 60°C, 40 minutes later.

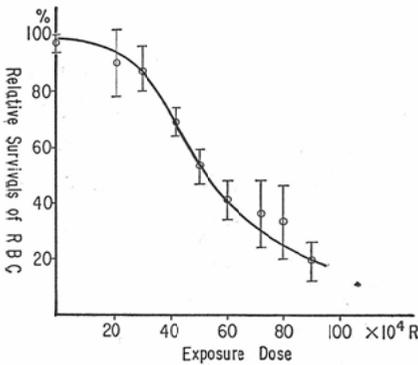


される。2の実験と併せ熱処理による赤血球の問題が非常にむずかしいことが理解される。

4. ⁶⁰Co-γ線照射による赤血球崩壊の実験。

照射線量による赤血球の崩壊の状態を見ると図4に示す如く20~30万Rでは、わずかに崩壊するのみで40万Rになると急に25%崩壊する。したがって赤血球崩壊の限界線量は30万Rから34万Rの間にあるとみてよい。これによると約5万Rの幅で赤血球を処理すればよいわけで、操作に関して多少の融通性があり、失敗の少ない利点がある。われわれは34万R照射でシンチグラムを得るのに成

Fig. 4 Destructions of red blood cells by ⁶⁰Co-γ-ray in vitro irradiation. The rapid increase of destruction starts between 30 10⁴ and 35 10⁴R.

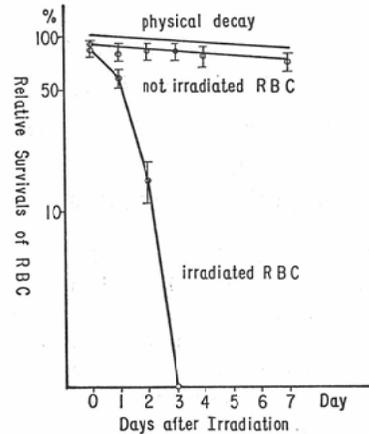


功した(図6参照)。熱処理における49.5°Cを過ぎると急激に崩壊するのと異なり⁶⁰Co[照射では30万Rを過ぎると比較的なだらかな下降を示す理想的な曲線を得ることができた。

5. ⁶⁰Co γ線照射による赤血球の経時的变化。

⁶⁰Co γ線照射による赤血球の加齢状態を見る一つの試みとして照射後冷蔵庫内に保存した赤血球の崩壊の様子を調べた。⁶⁰Coを34万R照射した赤血球の崩壊状態は直後では約10%であり、非照射時の場合とほとんど差がないが、これを経時的に観察すると24時間で50%、48時間で90%、72時間で完全に全例崩壊溶血した(図5参照)。なお同図上に⁵¹Crをラベルしただけで照射せずと同じ

Fig. 5 The destruction of irradiated red blood cells stored in freezer. Upper curve means physical decay of ⁵¹Cr, next curve shows control which is not irradiated. The lowest curve shows the decay of red blood cells with ⁶⁰Co-γ-ray 34 10⁴R irradiated.

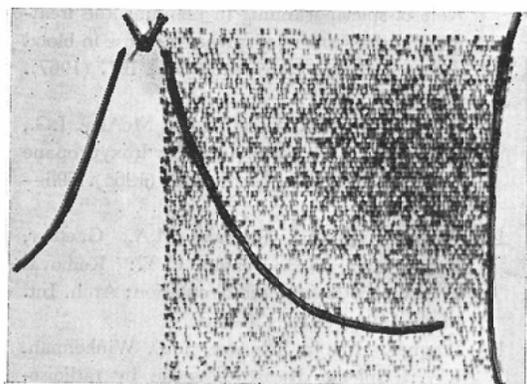


条件の冷蔵庫に保存した血液を7日間追跡したが物理的崩壊とほぼ一致した直線的減弱を示し、⁶⁰Coの赤血球に対する放射線の影響を示している。⁵¹Cr標識赤血球法による赤血球寿命の測定は結果の判明までに時間がかかるという欠点をもっている。もしγ線照射による加齢が再現性の高いものであれば⁶⁰Co γ線照射は⁵¹Cr標識赤血球により検査日数を短縮できる可能性をもっている点で興味深いものと言えよう。勿論そのためには照射赤血球を母体にかえしその半減期を種々

の照射線量で求めて照射線量と体内の標識赤血球の半減期の間の関係を綿密に調べる必要があるがこの保存実験はその可能性を示していると思われる。

6. ^{60}Co 処理 ^{51}Cr 標識赤血球による脾シンチグラム。4例の患者より採血し ^{51}Cr を $200\ \mu\text{Ci}$ ラベルし、 ^{60}Co γ 線34万R照射し、直ちにもち帰り患者におのおの逆輸血した。次いで24時間後、および48時間後それぞれ脾スキヤニングを行い脾シンチグラムの描出に成功した(図6参照)。機械は東芝製2インチ ϕ クリスタルのスキヤナーでスキヤンスピードは60cm/min, コリメーターは中に鉛で十字形の隔壁を置いたテーパ型を用いた。シンチグラムは24時間後のものでも48時間後のものでも差は認められない。脾シンチグラムとして、やや鮮明さを欠くが、これは装置によるものでいずれの場合にも温度で処理した赤血球による同一患者のシンチグラムよりも鮮明であつた。

Fig. 6 Spleen scintigram by the irradiated ^{51}Cr labeled cells.



考 察

脾臓シンチグラムの必要性は左上腹部腫瘍がいづれの臓器に原因しているかの適確な診断をつけるためおよび多くの血液疾患の診断等に有用な検査法である。そこで1960年 Winkelman 等は ^{51}Cr を赤血球にラベルして $49.5^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ という厳密な範囲の熱処理法により赤血球を弱め脾臓において破壊し脾シンチグラムを得る実験的報告を行つている¹³⁾。同時に Johnson 等は ^{51}Cr を感作赤血

球にラベルして同じく脾シンチグラムを得るのに成功した⁶⁾⁷⁾⁸⁾。しかしこの方法は Rh (-) の人で血液型の異なる人には使い難い点があり広く一般には普及しなかつた。次で1962年 Jacob 等は血液障害因子の研究を行い, in vitro および in vivo で N-EM. (N-ethylmaleimide) を用いて血球を障害し脾への集積増加に成功した⁴⁾⁵⁾。Wagner 等はこの ^{51}Cr を用い血中の障害血球の排泄, 脾, 肝への摂取率, さらに脾へ撰択的に多くとりこまれる状況を実験し脾臓スキヤニングに成功した¹¹⁾。しかし人体に安全に使用でき, 多少操作は繁雑であつてもある程度確実に脾シンチグラムを得る方法としては ^{51}Cr を赤血球にラベルして熱処理により行う方法が優れているという意見も多い。Winkelman 以来しばらくこの方法の血液の研究や, 脾シンチグラムは各種の施設において広く行われて来た。特に Wagner や Sharma 等は多くの例について Winkelman の原法に従い脾シンチグラムとしての診断の確立に多大の貢献をしている⁹⁾¹²⁾。しかし1964年以來新しい核種として ^{203}Hg , ^{197}Hg 標識化合物が脾シンチグラムに用いられて来た。

Wagner は 1-Mercuri-2-Hydroxypropan (MHP) を用いて ^{203}Hg をラベルし incubation も2分間と短く, 肝への集積を無視し得る非常に簡単で早い方法を報告している¹⁰⁾。同時に Croll は B M H P を新しい標識化合物として述べている。わが国では立野等が血中のクリアランス, 被曝, シンチグラムについて, くわしい報告をしており¹⁴⁾。現今最も優れた脾シンチグラム法として広く用いられている。わが国では半減期が短いためか, またはエネルギーが低いためかあまり用いられていないが ^{197}Hg をラベルした M H P も米国では使用され Critical Organ としての腎の被曝を非常に少なくする優れた方法であると言われて³⁾。さらに1967年には $^{99\text{m}}\text{Tc}$ を赤血球にラベルして被曝量の軽減を期し, シンチグラムとしても優れた像を得ているものもある²⁾。しかし半減期の問題が操作に時間を要することにより一般化には至っていない。勿論今後はシンチカメラなどの装置の発達とともにこのような短半減期核種

による検査は進むと思うが現在は脾シンチグラムは ^{51}Cr および ^{203}Hg で赤血球をラベルして血球を何等かの方法で障害し弱め脾臓へ特異的に沈着させようとするのが主題である。その弱め方が脾シンチグラムおよび血球の研究においては大切なわけである。そこでわれわれは弱め方として実験的に ^{60}Co を照射し血球崩壊の臨界点にある幅を持たせ、温度のように狭い範囲ではなく、広い範囲の処理方法を考えたわけである。但しこの方法は ^{51}Cr を多少多く使用しないと弱められた血球と抵抗を示す血球が混在するため良く利用できない場合もある。また現在の日本においてはどこでもできるというわけにはいかず利用範囲はせばまると思われるが実験的な試みとしてはシンチグラムの他に赤血球寿命測定法の改良など他の面に種々応用され得るのではないかと思われ報告する。

結 論

1. 赤血球の処理後の洗浄は実験上1回の洗浄で充分であった。

2. 温度処理による赤血球の変化はIncubation time 30分で温度は $\pm 1.5^\circ\text{C}$ の巾をもたせられるが低い方では、しばしば血球に影響をおよぼさない。

3. 赤血球の熱処理は 50°C を越すとIncubation timeに関係なく急激に崩壊する。

4. 赤血球は ^{60}Co - γ 線のin vitroの照射では30万Rを越すと崩壊をはじめが35万R位の間に脾シンチグラムを得る最適条件がある。したがって処理範囲が広いと操作しやすい。

5. ^{60}Co - γ 線照射処理赤血球による脾シンチグラムは温度処理の場合よりも再現性よく描記できた。

6. ^{60}Co - γ 線による赤血球への影響を利用して赤血球寿命測定法の簡易化について示教した。

(本論文の要旨は1966年第6回日本核医学会総会に於て発表した。最後に種々御教示下さった宮川正教授に感謝します)。

文 献

- 1) Croll, M.N., Brady, L.W., Brodsky, I., Stanton, L.: A new agent for splenic scanning-BMHP: Radiology, 84. (1965). 492—495.
- 2) Fischer, J., Wolf, R., Leon, A.: Technetium-99 m as a label for erythrocytes: J. Nucl. Med., 8. (1967). 229—232.
- 3) Hermann, G., Custer, R.D.: Splenic scintiscans with merisoprol Hg-197: J.A.M.A., 195. (1966). 1015—1019.
- 4) Jacob, H.S., Jandl, J.H.: Effects of sulfhydryl inhibition on red blood cells. 1-Mechanism of hemolysis: J. Clin. Invest., 41. (1962). 779—792.
- 5) Jacob, H.S., Jandl, J.H.: Effects of sulfhydryl inhibition on red blood cells. 11-studies in vivo: J. Clin. Invest., 41. (1962).
- 6) Johnson, P.M., Wood, E.H., Mooring, S.L.: Splenic scintillation scanning: Amer. J. Roentogenol., 86. (1961). 757—767.
- 7) Johnson, P.M., Herion, J.C., Mooring, S.L.: Scintillation scanning of the normal human spleen utilizing sensitized radioactive erythrocytes; Radiology, 74. (1960). 99—101.
- 8) Johnson, P.M., Herion, J.C.: Technical considerations in scintillation scanning of the human spleen: Radiology, 76. (1961). 438—443.
- 9) Sharma, S.M., Ramanathan, P., Ganatra, R.D.: Role of spleen scanning in planning the treatment and assesment of splenic response in blood dyscrasis: Amer. J. Roentogenol., 101. (1967). 656—661.
- 10) Wagner, H.N.Jr., Weiner, I.M., McAfee, J.G., Martinez, J.: 1-Mercuri-2-Hydroxypropane (MHP): Arch. Int. Med., 113. (1964). 696—701.
- 11) Wagner, H.N.Jr., Razzak, M.A., Gaetner, R.A., Caine, W.P., Feagin, O.T.: Removal of erythrocytes from the circulation; Arch. Int. Med., 110. (1962). 128—135.
- 12) Wagner, H.N.Jr., McAfee, J.G., Winkelman, J.W.: Splenic disease diagnosis by radioisotope scanning: Arch. Int. Med., 109. (1962). 673—684.
- 13) Winkelman, J.M., Wagner, H.N.Jr., McAfee, J.G., Mozley, J.M.: Visualization of the spleen in man by radioisotope scanning: Radiology, 75. (1960). 465—466.
- 14) 立野育郎, 加藤外栄: 標識MHPによるスキャンニングに関する諸問題: 核医学, 4 (1967), 159—166.