The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	放射線被曝後の異常リンパ球の出現及びその意義について
Author(s)	田中, 敬正; 黒田, 康正; 橋本, 隆治
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1967, 27(4), p. 429-436
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19491
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

特別掲載

放射線被曝後の異常リンパ球の出現及びその意義について

天理病院放射線科
田中敬正　黒田康正
京都大学医学部放射線医学教室（主任　福田正教授）
橋本隆治

（昭和42年5月20日受付）

The Occurrence and Significance of an Anomalous Lymphocyte in Peripheral Blood after Radiation Exposures

by

Yoshimasa Tanaka and Yasumasa Kuroda
Department of Radiology, Tenri Hospital
Takaji Hashimoto
Department of Radiology, Faculty of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan
(Director: Prof. M. Fukuda)

Cytoplasmic Inclusions and Binucleate Lymphocytes in peripherial blood of d-d N mice which have received whole body irradiation and patients treated with ^{60}Co were examined.

Experimental results were as follows:

1) Cytoplasmic Inclusions were not found in over 10,000 normal mouse and human lymphocytes examined.

2) After whole body exposure using mice from 50R to 400R, Cytoplasmic Inclusions reached to maximum value 10–14 days after exposure and then decreased to 0 at 50–70 days after irradiation. These Cytoplasmic Inclusions seems to be the changes occurred in the precursors of lymphocytes.

3) In the case of reticulosarcomatosis irradiated both side of neck region and upper mediastinum, Cytoplasmic Inclusions increased with the radiation dose and continued to increase after the end of irradiation about 100 days or more.

4) In several patients with malignant lymphomas, seminoma and lung cancer etc. during or after treatment with ^{60}Co, Cytoplasmic Inclusions were found in the frequencies from 0.58 to 1.96 and had higher incidence approximately as the volume dosis increased.

However, Cytoplasmic Inclusions and Binucleate lymphocytes were not found in the case of post-operative breast cancer.

5) Cytoplasmic Inclusions were Feulgen positive, and it seem to be nuclear fragments.

6) In a daily study of the peripheral blood of X-irradiated mice, Cytoplasmic Granules were found from 4 to 24 hours after irradiation and disappeared soon. It suggests that these Cytoplasmic Granules

seem to be the change occured in the peripheral lymphocyte.

7) The Binucleated Lymphocyte was found in unirradiated d-d mice to the extent of about 1.2% of all lymphocytes and did not increased regularly with the irradiated dose.

8) The fact that Cytoplasmic Inclusions were found in normal human blood and normal mice suggests that their presence may be able to diagnose a prior exposure to ionizing radiations.

1. 緒　言

造血系組織は，非常に放射線感受性が高く末梢血液像，骨髄像は，放射線障害の有効な1つの指標となつている．しかしごく微量放射線を受けた時の造血系の変化を検査することは非常に困難であるが，最大許容線量域の照射をうけた場合に，二核リンパ球 (binucleate Lymphocyte: Lymphocytes with bilobed Nuclei) が出現することが Ingram 等[1)9)10)]により提唱され，放射線障害の一つの指標となるといつている．しかし，之等のものは，マウスでは正常末梢血に見られることが示され[2)3)]，300R全身照射をうけてもその出現率があまり変らないことがいわれている．

一方 R. Rugh[2)] によれば，マウス全身照射又は抗癌剤投与により，末梢リンパ球の細胞質内に封入体が生じ，之を large cytoplasmic inclusions (nuclear satellites or fragments) と呼んだ．そして之等の封入体は正常の脊椎動物には現われず，放射線照射の一つの指標になると考えられる．我々は之等の細胞内封入体，及び2核リンパ球の出現率を d-d 系マウス及び放射線治療患者について調べ，之と照射線量，照射部位，又は出現の時間的関係について検討を加え，放射線障害の1つの指標になり得るや否やについて調べた．又之等の細胞内封入体の出現のメカニズムについても考察を加えた．

2. 研究方法

使用動物としては雄 d-d 系マウス（生後8週）体重28—35gであつた．照射前及び照射後種々の時間で尾静脈より採血後塗抹標本作製しギムザ複染色を行い観察した．

照射条件としては，200kVp X線，0.5mmCu のフィルターを使用し，20mA，半価層は 0.5mm Cu を用いた．線量率は 40R/min．焦点動物間距離は60cmであつた．

放射線治療患者，例えばホジキン氏病，ゼミノーム，リンパ肉腫症，術後乳癌，肺癌等の患者の場合にも同様に細胞内封入体及び2核リンパ球の出現率を調べた．

細胞内封入体は，Fig. 3, 4.に見る如く，核外の細胞質内にヘマトキシリンに濃染する小さい被片状のものをもつたリンパ球を指す．この場合Fig. 5，6に見る様な数コの小さい顆粒状のものは，Cytoplasmic Granules（細胞内顆粒）と命名して，前者と区別した．即ち算定の際に細胞内封入体の中にはこの Cytoplasmic Granules は含めていない．

2核リンパ球というのは，普通の小リンパ球よりは大きく，2つの核を有していることを除いて成熟リンパ球としての形態上の標準を具えているものである．2つの核は，細いクロマチンで結ばれるか，完全に分離しているもので，核が部分的に割れているもの，太い橋で結ばれ砂時計状をなすものは，之には含まれてない．

3. 実験結果

1) 細胞内封入体 (Cytoplasmic Inclusions, 以後 C.I. と省略)

a) マウスの場合

マウスに 400R全身照射後経時的に C.I. を調べると Fig. 1 の如くなる．照射後4日迄は末梢血液中には殆んど出現しないが (Fig. 2) それ以

Fig. 1 Days after Whole Body Irradiation

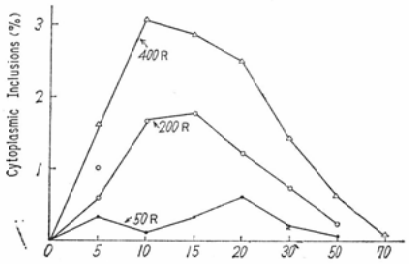


Fig. 2 Times after irradiation (400R)

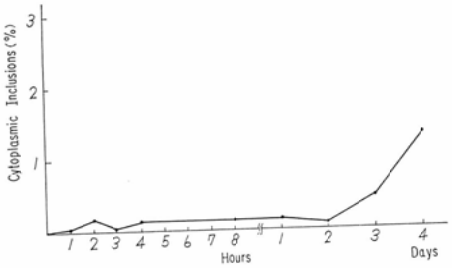


Fig. 3. Cytoplasmic Inclusions in mouse lymphocytes found on 14 days after 400R whole body exposure.

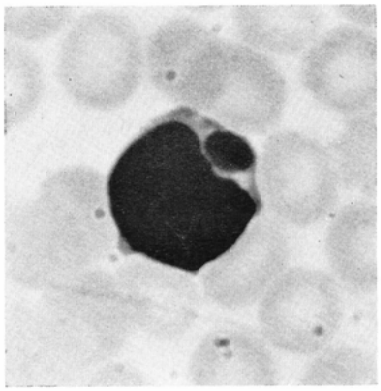
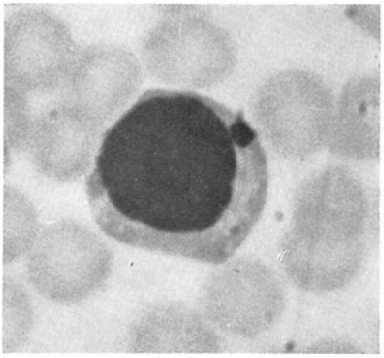


Fig. 4. Cytoplasmic Inclusions in lymphocytes of mice following whole body irradiation to 200R seen 30 days.



後急速に増加し，照射後10日から2週間前後で最大となり，以後除々に減少してくる．又出現率は Fig. 1 の如く，50～400Rの範囲では，線量の増加につれて増し照射後70日頃迄出現し0となつた．又非照射のものは現在の所約1万個のリンパ球を観察したが，C.I. は見つかつていない．

Fig. 5

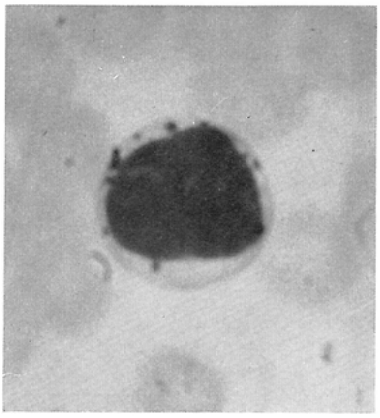


Fig. 6

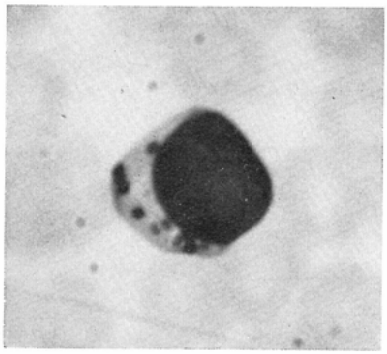


Fig. 5,6. Cytoplasmic Granules found in the cytoplasm of a lymphocyte of mouse peripheral blood 4 hours after 400R whole body exposure.

Fig. 3,4 にマウスに見られた C.I を示す．

照射4日迄には C.I. は殆んど出現しないがこの期間には，Fig. 5,6. の如く細胞質に小さい顆粒を多くもつたものを見る．我々の観察では，かかるリンパ球は，照射後4～24時間に出現のピークがあり，3～4日以後には出現しなくなる．之を我々は，Cytoplasmic Granules といつて，C.I. と区別している．Rugh.によると之はKaryorrexisの早期のあらはれであるとしている．

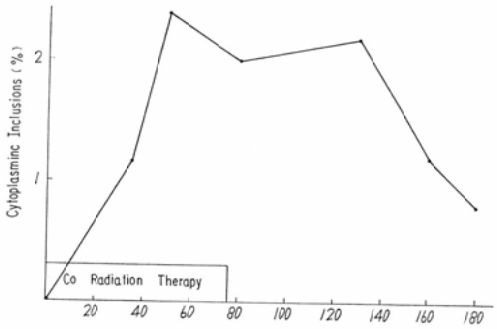
b）放射線治療の患者の場合

次に放射線治療を行つた患者では Table I. の如くなつた．之は各3の場合病巣部に毎日約200R照射を行い全照射線量が表に示す如くなつた時に生じた異常リンパ球の数を%で現わした．表に見る如く術後乳癌の場合には，1,800コのリンパ

Table 1. The percentage of Binucleate L. and Cytoplasmic I. from patients treated with ^{60}Co for malignant disease.

Name	Name of Diseases	Irradiation Dose	Total Lymphocytes	Binuceate L. (%)	Cytoplasmic I. (%)
Y. S.	Reticulosarcoma	Both Neck Region: 4600 R	1,800	0.224	1.12
S. K.	Seminoma	Upper Abdomen: 3350R Lower Abdomen: 810R	2,105	0.87	0.58
N. J.	Reticulosarcoma	Both Neck Axilla: 4500R Upper Breast: 4000R	1,350	0.15	4.16
T. M.	Mediast. Tumor	R. Chest: 616R	1,512	0.15	1.40
A. M.	Reticulosar.	Both Neck Region: 4500R	1,603	0.13	1.96
T. Y.	Breast Cancer	R. Supraclav. & R. Breast: 4000R	1,800	0.00	0.00

Fig. 7. Days after Initiation of Radiation Therapy.



球には異常リンパ球は見られなかつたが，ゼミノーム，細網肉腫症，縦隔洞腫瘍には0.58～4.16%の C.I. の出現を見た．

之等の間には，照射容積線量がませば大体に於て C.I. の増加が見られたが，リンパ組織の多い部に照射した時には多く出現する様に思はれる．

放射線治療中及び治療後の C.I. の推移を細網

Fig. 8

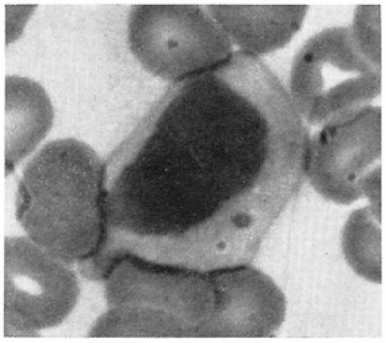


Fig. 9

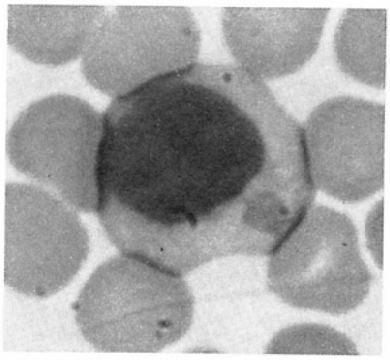


Fig. 10

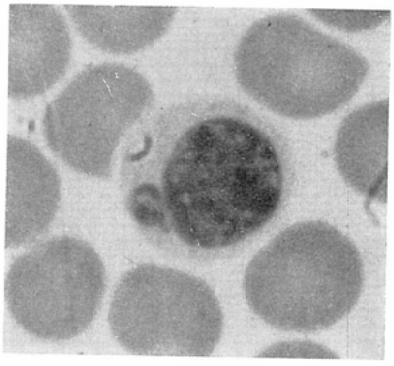


Fig. 8,9 and 10. Lymphocytes from patient with Reticulosarcomatosis showing Cytoplasmic Inclusions.

Fig. 8: total dose 3200R.
Fig. 9: total dose 1000 R.
Fig. 10: total dose 2500R.

Fig. 11 Patient with seminoma and no previous radiation therapy following 1000R ^{60}Co irradiation showing lymphocytes with Cytoplasmic Inclusions.

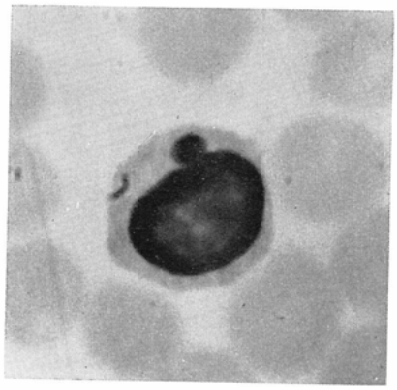


Fig. 12. Lymphocytes from patient with mediastinal tumor given a total dose of 2000R to mid-thorax showing formation Cytoplasmic Inclusions.

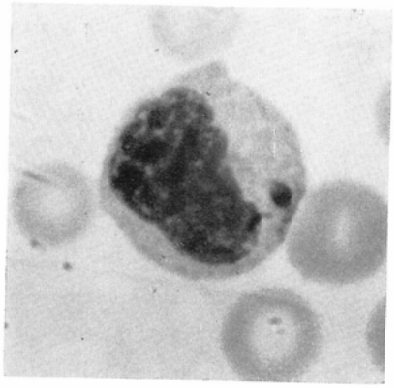


Fig. 13. Lymphocyte wit Cytoplasmic Inclussons stained with Feulgen Reaetion.

Fig. 14. Days after Whole Body Irradiation

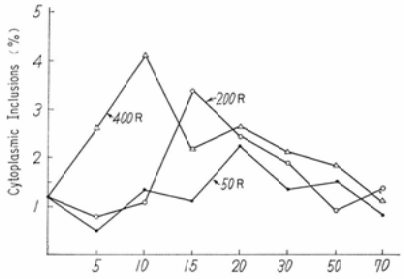


Fig. 15. Lymphocytes with Binucleate Lymphocyte within the cytoplasm in the mouse 10 days after 400R whole body exposure.

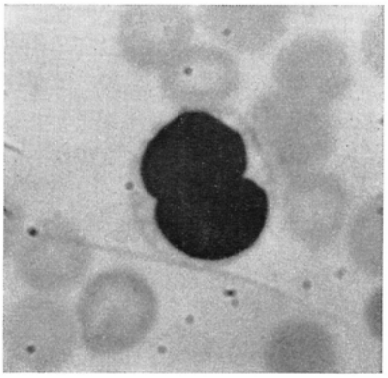
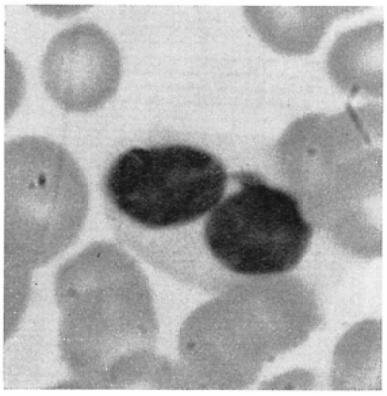


Fig. 16. Lymphocytes from patient with ^{60}Co for mediastinal tumor. This sample was taken after exposure to accumulated 1200R in 15 days.



肉腫症について調べたのが Fig. 7 である．図に見る如く，C.I. は照射期間中除々に増加し照射40～50日後に最大に達し，照射終了後にも減少せず，照射終了後60日位より除々に減少し初め，照射終了後 100日を経てもなお 0.5%以上存在することがわかつた．

細網肉腫症に見られた C.I. を Fig. 8,9,10に，セミノームは Fig.11に，縦隔洞腫瘍は，Fig.12に示す．

かかる核封入体はフォイルゲン反応陽性であり，nuclear Fragments であると思われる．(Fig. 13)

2）2核リンパ球 (Binucleate Lymphocyte; 以下 B.L. に略)

d-d 系マウスを用いた場合，照射後 B.L. の時間的推移は Fig.14の如くなる．即ち非照射の場合にも 1.3%の B.L. を得た．50，200，400R 照射後1～2週間で増加し，後減少していくが増減の傾向は，C.I. の方がより規則正しく，はつきりしていることがわかる．

B.L. の像を Fig.15（マウス）Fig.16（縦隔洞腫瘍の患者）に示す．

3. 考　察

末梢リンパ球は，生殖細胞等と共に最も放射線感受性の高いものであり，全身照射線量に比例してリンパ球減少が起る[14)15)16)17)18)]．

全身照射25Rでも著明な減少を来し，減少の割合及び回復の程度は，照射線量に比例し，照射後24時間位で一般に最小となる[12)]．

末梢血のリンパ球は6～24時間生存するといわれているが[19)]，リンパ球の急激に減少するのは次の2つの原因があると考えられる．即ち (1) リンパ球の Precursor の減少である．この場合細胞は数回の分裂の後に死ぬか (Mitotic death 又は Delayed death) 或いは直ちに死ぬ (Interphase death) 場合の2つがあり，後者では骨髄やリンパ節で見られる様に Pyknosis, Karyolysis, intranuclear a, cytoplasmic Vascularization, Lobulation, Fragmentation 等を起し直ちに死んだあと非常に急速に除去され照射後1日以上もとどまるということは少い．

しかし前者の Mitotic Death の場合は，T.M. Fliedner もいつている如く，Interphase Deathに比べ比較的永らくとどまる．

2）末梢リンパ球の減少する第2の場合としては，末梢リンパ球自身の直接の破壊によるものと考えられる．我々の場合，照射後4～24時間で出現し，その後速かに消失する Cytoplasmic Granules (Fig. 5,6)は末梢リンパ球におこつたもので Karyorrexis の早期のあらはれであると思われる．

C.I. は我々の実験から見ると Fig. 1,2. に見る如く照射直後2，3日迄は殆んど出現せず，10～14日位で最大の出現を見ている．Rugh[2)3)] も全身照射後約2週でかかる異常リンパ球が最も多く出現したといつている．C.I.は Cytoplasmic Granules とは異り，リンパ球の Precursors. 即ちPro-lymphocyte 或いは Lymphoblast stage，或いは之等の分化しつつある時，核におこつたもので，染色体における変化，切断がそのまま死滅せずに末梢血に出現したものと考えられ，之に10～14日間を要するものと想像される．上述した2つの死の様式の如く強度の変化を起したものでなくて核内に染色体の遊離した debris として残り分裂に際して死なず残つたものと思はれる．Fliedner 等[13)]は全身照射後の人体の骨髄の細胞の中に分裂に関連した異常(Mitotically connected abnormalities)を示すものとして，染色体橋，internuclear bridge 等と共に incomplete nuclear Division を述べているが，之は C.I. と関連があるものと考えられる．

又C.I. はフオイルゲン反応陽性であることからも，nuclear Fragment であることがわかる．之等の異常リンパ球は，いわば死にかかつた細胞であつて，培養することは出来ないと Rugh[2)] もいつている．

細網肉腫症の場合にも，放射線治療終了後 100日以上もC.I. が末梢血中に出現することからも，Precursors に起つた変化であることを暗示している．

Lockport の原子炉事故の時には[4)]人体に 300R

全身照射(頭や肩には1500R)をうけ，C.I.は 0.4%の出現を見ている．その他放射線事故で人体の末梢血にC.I.が現われたという報告がある[5)6)7)8)].

Fig. 1で見る如く照射線量の増加につれて増加するが，C.I.が全身照射によつて出現する最小の線量としては約10R位ではないかと思われる．

C.I. をおこす原因としては，放射線の外に radiomimetic な物質でも起ると考えねばならない．我々の症例ではすべて抗癌剤を使用してないが，Rugh によると Nitrogen mustard 等によりやはり C.I. を来すといつている．もし放射線と radiomimetic substance の作用機序が異り作用する Precursors が違えば末梢に生ずる C.I. の出現する模様も違つてくる筈で，今後かかる面での追求が興味深いと思われる．

物理的なストレス例えば3カ月間低体温で（10℃）飼育する等では，マウスのリンパ球にC.I.を生じなかつたといつている[2)].

種々の疾患について放射線治療を行つた際に，C.I., B.L. を見たのが Table 1．である．大体に於て容積線量が多い程増加する傾向にある．しかし術後乳癌の場合には C.I, B.L. 共に 0 であつた．之より B.L. C.I の出現にはリンパ組織の照射が，容積線量のみでなく之等の出現に大きな関係があると考えられる．

2核リンパ球は Ingram 等[1)9)10)]により，ごく微量の放射線（5R以下）でも2核リンパ球の増加を来すことを述べている．しかし，d-d 系マウスの場合，2核リンパ球は非照射の場合でも約 1.2%前後出現し，Fig. 14で見る如く50，200，400R照射により，照射後5，～30日位で対照値よりも増加を見るが，C.I. で見る如く増加の程度が量的に判然としない．之等のことより少くとも，d-d 系マウスで2核リンパ球が，放射線障害の1つの指標になるかどうかは疑わしいと考えられる．それにひきかへ，C.I.は，正常動物，人体に見られず，照射線量に比例して出現することから，C.I. が見られた場合，以前に照射をうけたという有力な診断になると思われる．

4. 結　語

d-d 系マウスに全身照射を行い，又放射線治療患者の末梢血をギムザ複染色により，リンパ球の中で細胞内封入体(Cytoplasmic Inclusions: C.I.)及び2核リンパ球（Binucleate Lymphocytes: B.L.）の出現率を調べて次の如き結果を得た．

1) C.I.は非照射マウス，及び非照射患者共に見られなかつた．

2) マウス全身一時照射50，200，400Rを行つた場合，照射後10～14日で最高に達し，その後除々に減少し，50～70日後0になる．C.I.はリンパ球の Precursors におこつた変化と考えられる．

3) 悪性リンパ腫，ゼミノーム等では照射中又は照射終了時に約 0.5～4%の C.I.，を見たが大体に於て容積線量が多い程増加する傾向がある．しかし術後乳癌の場合には C.I., B.L. 共に 0 であつた．

4) 細網肉腫症で両頸部及び上胸部に放射線治療を行つた場合，C.I.は照射開始と共に増加し照射終了後も約 100日間の出現を見ている．

5) C.I.はフオイルゲン陽性である．

6) Cytoplasmic Granules は照射後早く出現し（4～24時間）後急速に消失する．末梢リンパ球におこつた変化と考えられる．

7) B.L. は非照射マウスには約 1.2%位見られた．そして線量増加につれての増加傾向はあまり著明でなかつた．

8) 以上により，C.I.は放射線障害の一つの有力な指標になると考えられる．

文　献

1) Ingram, M.: The occurrence and significance of binucleate lymphocytes in peripheral blood after small radiation exposures: Immediate and Low Level Effects of Ionizing Radiation. Edited by A.A. Buzzeti-Traverso. Taylor & Francis, London, 1960, 233—245.

2) Rugh, R.: An anomalous lymphocytes: Possibly diagnostic for exposure to ionizing radiations or radiomimetic agents. Am. J. Roent. 91 (1964), 192—201.

3) Rugh, R., and Pardo, G.: Age and hematological racovery from whole body X-irradiation. Rad. Res. 1963.

4) Ingram, M., and Howland, J.W.: Some mor-

phorogical peculiarities of blood cells in man following accidental X-irradiation. Rad. Res. 16 (1962), 585.

5) Hempelmann, L.H., Lisco, H., and Hoffman, J.G.: Acute radiotion syndrome: Study of nine cases and review of problem. Ann. Int. Med. 36 (1952), 279—510.

6) Rossi, E.C., Thorngate, A.A., and Larson, F.C.: Acute radiation syndrome caused by accidental exposure to ^{60}Co. J. Lab. & Clin. Med. 59 (1962), 655—666.

7) Shiels, D.O.: Some effects of radiation on lymphoid cells. M.J. Australia. 2 (1954), 583—586.

8) Shiels, D.O.: Certain structural aspects of lymphocytes and monocytes in relation to clinical condition of persons exposed to ionizing radiations. Brit. J. Radiol. 32 (1959), 306—314.

9) Dobson, R.L., and Chupp, M.M.: Effect of small measured doses of radiation on lymphocyte morphology in man. Pro.Soc.Exper. Biol. & Med. 95 (1957), 360—361.

10) Dobson, R.L.: Binucleated lymphocytes and low level effects of ionizing radions : Edited by A.A. Buzzeti-Traverso. Taylor & Francis, London : (1960), 247—251.

11) Ingram, M., and Barnes, S.W.: Observations on blood of cyclotron workes. Phys. Rev. 75 (1949), 1765. ; Science. 113 (1951), 32.

12) Suter, G.M.: Response of hematopoietic system to X-rays. USAEC. Document-MDDC-824, 1947.

13) Fliedner, T.M., Andrews, G., Cronkit, E.P., and Bond, V.P.: Early and late cytological effects of whole body irradiation on human marrow. Blood. 23 (1964), 471—487.

14) Cronkite, E.P., and Bond, V.P.: Radiation injury in man: Its chemical and biological basis, pathogenesis and therapy. Charles C Thomas, Publisher, Springfield 111. 1960.

15) Gerstner, H.B.: Acute clinical effects of penetrating nuclear radiation. J.A.M.A. 168 (1958), 381—388.

16) Goodman, J.W., Smith, L.H: Erythrocyte life span in normal mice and in radiation bone marrow cimeras. Am. J. Physiol. 200 (1961), 764—770.

17) Hulse, E.V.: Lymphocyte depletion of blood and bone marrow of irradiated rat: quantitative study. Brit. J. Haemat. 5 (1959), 278—283.

18) Hulse, E.V.: Depletion of myelopoietic cells of irradiated rat. Brit. J. Haemat. 5 (1959), 369—378.

19) Dienstbier, Z., Pospisil, J., and Arient, M.: Post-irradation lymphocyte reaction. Int. J. Radiat. Biol. 4 (1962), 333—342.

20) Fliedner, T.M., Bond, V.P. and Cronkite, E.P.: Structural Cytological and radiographic(^{3}H-thymidine) changes in the bone marrow following total body irradiation. Am. J. Pathol. 38 (1961), 599—623.