The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	分裂細胞に対する放射線と各種薬剤との併用効果に関する研究（第19報）メチレンブルー及びH202に関する実験
Author(s)	舟山, 秀
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1960, 19(10), p. 2146-2155
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19957
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

分裂細胞に対する各種薬剤と放射線との併用効果に関する実験的研究（第19報）

メチレンブルー及び H_2O_2 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）
舟　山　　秀

（昭和34年10月9日受付）

緒　論

放射線生物作用の機序の解明にあたつて，放射線の作用を変調させる手段によつて，その機序を明かにしようとする試みがなされている[1)2)3)4)]．

著者の教室においてもこゝ数年来この線に沿つてすでに，コルヒチン[5)]，一沃度酢酸[6)]，ザルコマイシン[7)]，8—アザグアニン[8)]等の十数種の薬剤[9)]との併用実験が行われている．

著者は特に細胞質に著明な影響を及ぼすとされるメチレンブルー及 H_2O_2 の両者について吉田肉腫を用いて実験を行つた．メチレンブルー及 H_2O_2 はともに細胞の呼吸酵素系を特異的に阻害することが明かにされており[10)11)]，腫瘍に対しても著明な発育抑制，腫瘍細胞に対しては強い分裂抑制と細胞質破壊を生ずることが，Holman[12)]，Pursell[13)]，吉田[14)] 牧野[15)] 田中[15)] 等によつて報告されている．

著者は先づ腫瘍細胞に対するこれら作用を詳細に検討し，次いでX線との併用実験を行つた．更にメチレンブルーと H_2O_2 両者の併用によつて更に強い作用を現わすかどうかを観察し，次いで両者とX線との三者併用についても追究した．

実験方法

実験に用いた動物は岐阜雑系ラッテ（体重 100g前後）であつて，これに吉田肉腫を移植し，移植後4日目のを実験に供した．

腹水は，処置後経時的に採取し，塗抹ギームザ染色法によつて作つた標本について，有絲核分裂頻度，分裂各期の変動及び腫瘍細胞核の形態的変化，特に中期染色体の形態的異常の3つを指標として観察した．

有絲核分裂頻度は腫瘍細胞2000個に含まれる分裂細胞を数え，処置前の分裂頻度を 100として，処理後の値をその増減率（%）で表示した．

この場合各実験群とも4～5例の実験結果の平均値として示した．

メチレンブルー（以下 Mb と略称）は和光純薬製の試薬を用い，滅菌水溶液とし，0.03g，0.02g，0.01g，0.001g，0.005g及び0.0001gを，H_2O_2 は市販のものを用い，その0.02g及び0.01g溶液を，夫々1ccを担腫瘍動物の腹腔内に投与した．

X線照射条件は，160kVp，35mA，0.5mm Cu＋2.0mmAl 濾過板（半価層，0.8mmCu）焦点動物中心間距離30cm，線強度14r/mm，200r全身一時照射である．

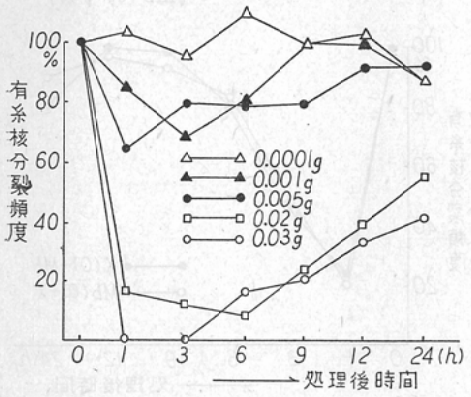
実験成績

実験Ⅰ　X線の影響

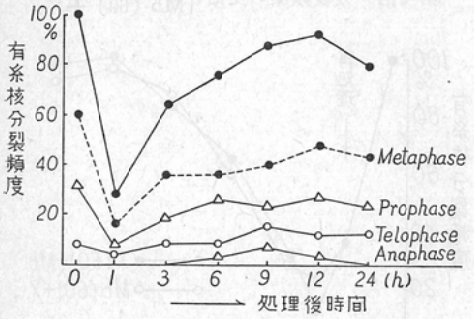
吉田肉腫に対するX線照射によつて起る分裂頻度の変化は，急激な減少を示し，照射1時間後で最低となり，3時間後より増加し始め9時間後には処置前値に復した．

分裂各期についてみると，前中期は照射1時間後に最低となり，24時間後に前値に復した．後，終期は夫々照射1時間後に最低となり，6時間後に前値に復した．次に中期分裂細胞の染色体の形

第1図 分裂頻度の変化（Mb 単独投与）



第2図 分裂頻度の変化（Mb 0.01g/100g投与）



態的変化を観察するに，1～6時間にかけて粘着，凝集等の変化を示すものが軽度に増加した．この結果は牟田[16]，金田，櫻井[5]等の報告と略々一致したものである．

実験Ⅱ Mb の影響

1） Mb 0.03g/ 100g投与

第1図に示す如く分裂頻度は投与後直ちに急激なる減少を示し，1～3時間後においては分裂細胞は殆ど観察されなくなつた．その後は徐々に増加が見られ24時間で－60%前後迄に回復した．しかしこの量の投与においては動物は非常に衰弱し，投与後1～2日間にすべて死亡した．

2） Mb 0.02g/ 100g投与

分裂頻度は投与後急激な低下がみられ，1時間後には－84%，6時間後で処置前の－92%と最低を示し，24時間後に－45%までに戻つた．（第1図）この場合も投与した動物は極度に衰弱し投与後1～2日中に全例死亡した．

3） Mb 0.01g/ 100g投与

分裂頻度は第2図の如く，投与後1時間後に急激に減少し処置前値の－69%と最低値となるが，3時間後には増加を示し，9時間後，－10%，12～24時間後には－7%と略々処置前値に復した．分裂各期についてみると前期は投与後1時間で最低となり，6時間で略々処置前値に復した．中期は投与後1時間で最低となり，12時間後に処置前値近くまでに回復した．後終期は1～3時間で最低となり，12時間後で略々処置前値に戻つた．中，後期の染色体について投与後1～3時間にかけて軽度ながら染色体の粘着，凝集，散乱，偏在などの増加が見られた．しかし6時間後からは次第にそれら分裂異常は減少し，12時間では全く処置前に戻つた．Mb の投与による最も着明な細胞学的変化は原形質の破壊であつて，6～12時間にかけて，強度の破壊像が見られ同時に腹水中の腫瘍細胞の減少が見られる．24時間では処置前に復した．

4） Mb 0.005g/ 100g投与

第1図の如く分裂頻度は投与後1時間で処置前値の－35%と最低値を示し，3時間後には再び増加が見られ3～9時間後までに－20%前後の値を持続し，12時間後には，略々処置前値に戻つた．

5） Mb 0.001g/ 100g投与

分裂頻度は投与後3時間処置前値－30%前後で最低値を示し，その後は急激に回復に向い9時間後には処置前値に戻つた（第1図）

6） Mb 0.0001g投与

第1図の如く±10%前後の増減を示すが著明なる影響は認められない．この投与量においては腫瘍細胞に対して明かな変化はない．

以上の如く Mb の吉田肉腫に対する作用は，投与後急激かつ著明な分裂頻度の低下，形態的変化としては細胞質の破壊，核学的変化としては中期の染色体の粘着，凝集，配列異常の増加が認められた．

Mb は腹水肉腫の分裂頻度を，一過性に減少せしめる．細胞学的には細胞質を強く障害するが同時に分裂細胞の核に著しい変化を来す．然して分

裂頻度の減少度及び核学的変化の強度は略々投与量に対応する．種々なる濃度について実験を行つた結果，分裂頻度の消長より見るに0.01 g Mb を投与した場合が，X線 200r 一時照射の場合と等価であつた．

更に Mb の作用とX線 200r 照射の場合を詳細に比較すると次の如くである．

1　有絲核分裂頻度

両者とも処置後1時間で著しい減少を示し9時間で略々処置前値に戻つた．

2　分裂各期の経過

X線では大体前中後期の順に減少する．Mb はほゞ分裂頻度に対応し特にある分裂期が著明な減少を示すことはない．

3.　異常細胞の出現経過

X線では中期において染色体の粘着，凝集，切断，後期において橋の形成，遅滞等が照射1～6時間にかけて増加する．Mb においては投与後1～3時間にかけて染色体の粘着，凝集，散乱が軽度に増加した．Mb における著明の変化は細胞質の破壊で投与後急激に増加し，3～12時間にわたつて認められた．

Mb の投与により作用に現われる時間及びその経過はX線に類似している．しかし細胞の現はす形態的異常はかなり異つたものである．

実験Ⅲ X線と Mb との併用効果

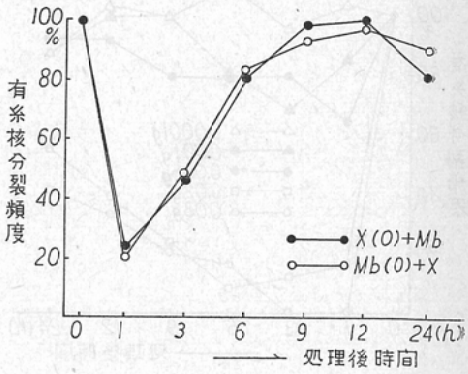
腹水肉腫に対するX線と Mb の併用による効果を次の2つの方向から検討した．即ちX線照射後 Mb を投与した場合（X＋Mb）と，その処置を逆にした場合（Mb＋X）とにつき，夫々の処置時間を種々に変えて実験を行つた．この場合X線照射線量は 200r, Mb の投与量は0.01 g/100 g と一定した．

1　X線照射後 Mb 投与（X＋Mb）

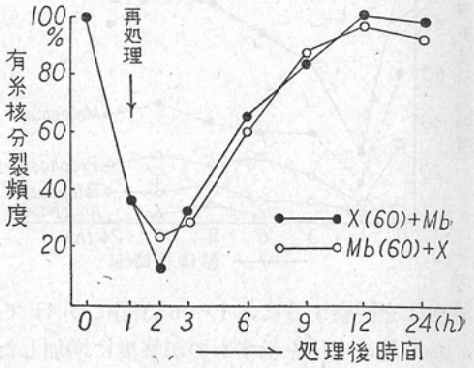
a）照射直後 Mb 投与（X(0)＋Mb）

分裂頻度は第3図の如く処置後1時間で－77%と最低値を示したが，3時間後より回復に向い6時間後で－20%，9時間後には略々処置前値に戻つた．分裂各期についてみると略ゝ分裂頻度に対応したが前期が最も減少が著明である．形態的変化もX線，Mb 夫々に類似した経過をとつた．即ちこの場合は全体として，X線單独，Mb 單独の変化に類似したものであつた．併用によつて特に

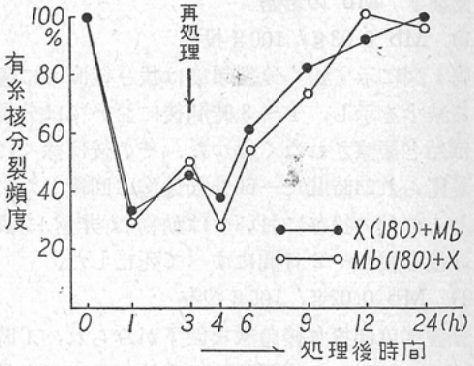
第3図　分裂頻度の変化 {×(0)＋Mb / Mb(0)＋×}



第4図　分裂頻度の変化 {×(60)＋Mb / Mb(60)＋×}



第5図　分裂頻度の変化 {×(180)＋Mb / Mb(180)＋×}



強い分裂抑制が認められる事はなかつた．即ち恰もX線前処置は，Mb の効果を無効にするが如きであつた．

b）照射1時間後 Mb 投与（X(60)+Mb）

分裂頻度は照射後1時間で処置前値の−63%と急激な減少を示した．こゝで投与を行うと軽度ではあるが更に減少を示して最低値の−88%となり，その後は徐々に回復して12時間後で処置前値に戻つた（第4図）分裂各期は分裂頻度に対応した変化を示した．

以上の結果はX線と Mb の作用が現はれ両者が連続した変化として示されている．

c）照射3時間後 Mb 投与（X(180)+Mb）

この場合第5図の如く照射後1時間で−70%前後まで減少し3時間後−55%前後までに回復する，こゝで投与を行うと1時間後(照射4時間後)では再び−60%まで減少し，その後は Mb 單独と同様な経過で24時間で処置前値に戻つた．

X線照射後3時間は分裂頻度が多少回復に向う時期である．こゝに Mb を投与すると，その後1時間時に Mb による分裂頻度の減少が見られる事，及びその後の回復の消長は，Mb 單独の場合と全く同一である．従つてこの場合はX線 Mb の夫々の作用が全く独立して現われていると考えられる．

d）照射6時間後 Mb 投与（X(360)+Mb）

分裂頻度は第6図に示す如く照射6時間後迄X線單独の経過をとり，6時間後で−17%までに回復する．こゝで投与を行うと急激に減少して投与1時間後（照射7時間後）で−64%となり，24時間後（投与18時間後）で処置前値に復した．

分裂各期及び腫瘍細胞の形態的異常は6時間後までX線に，6時間後は Mb に類似した経過をとつた．

この場合にも Mb 投与による変化の消長は，Mb 單独の場合と全く同様である．従つてX線，Mb 夫々の作用が独立に現われていると考えられる．

以上の如くX+Mb においては両者の作用が独立に現われ，X線と Mb の併用によつて特に分裂抑制の効果が増強したり，軽減したりする事はなかつた．

2 Mb 投与後X線照射（Mb+X）

処置順を前実験の場合と逆に Mb 投与後X線照射を行つた．

a）Mb 投与後X線照射（Mb(0)+X）

第3図の如く分裂頻度は処置後急激に減少し処置前値の−80%最低値をとりその後は回復に向い9時間後には，ほゞ処置前値に戻つた．この結果は恰も Mb 前処置がX線の作用を無効にしたかの如く見られ，前実験（X(0)+Mb）と全く同一であつた．X線と Mb の処置を連続的に行う時は，何れを前処置しても後処置の効果を無効にするものゝ様であつた．

b）Mb 投与1時間後X線照射(Mb(60)+X)

第4図の如く分裂頻度は投与後1時間で−55%と減少する．こゝで照射を行うと照射1時間（投与2時間）で最低値の−77%となり，その後急激に回復して12時間後には処置前値に戻つた．即ち Mb の作用とX線の作用が連続して現われるものと考えられる．この消長は前実験（X(60)+Mb）と全く同一であつた．各分裂期の消長は分裂頻度に対応し，腫瘍細胞の形態的異常も特に増強されることはなかつた．

c）Mb 投与3時間後X線照射（Mb(180)+X）

第5図の如く分裂頻度は投与3時間で−50%に回復したが，ここで照射を行うと再び減少し処置前値の−73%と最低値をとり，その後は回復に向い，12時間後には処置前値に戻つた．

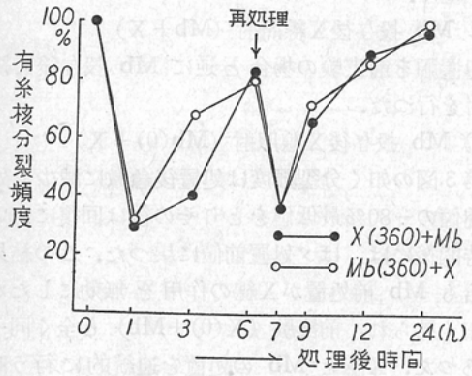
分裂各期の変動及び中期細胞及び静止期細胞の形態的変化についてもその出現の経過は夫々の單独に類似した変化を示した．

この場合は，Mb，X線の夫々の作用が独立に現われている．又分裂頻度の時間的消長は前実験（X(180)+Mb）と全く同一であつた．

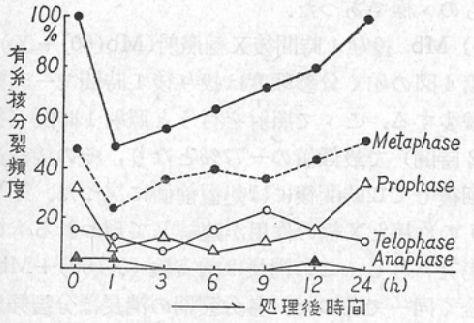
d）Mb 投与6時間後X線照射（Mb(360)+X）

第6図の如く投与後6時間までの経過は，Mb 單独と同様で6時間後で−20%まで回復した．こゝでX線を照射するに，再び減少を示し，投与後7時間（照射1時間）で−64%と減少して，その

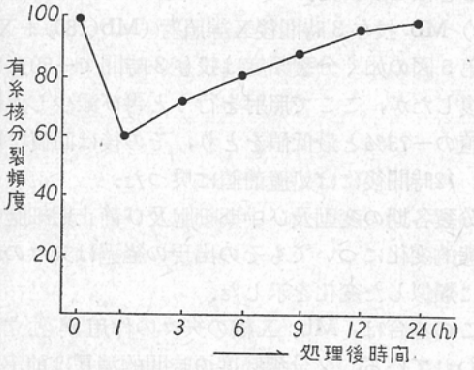
第6図　分裂頻度の変化 {×(360)+Mb / Mb(360)+×}



第7図　分裂頻度の変化（H_2O_2 0.02g/100g投与）



第8図　分裂頻度の変化（H_2O_2 ·001g/100g投与）

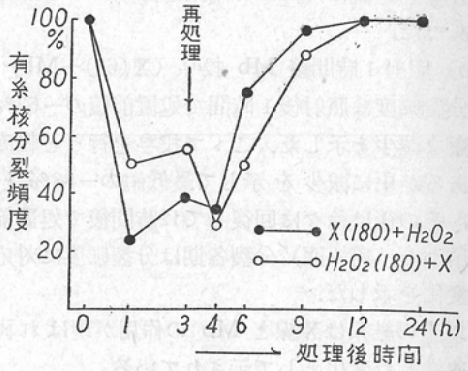


後は回復して24時間後に処置前値に戻つた．

この場合の変化は，X(360)+Mb と非常に似た経過を示した．即ち両者夫々の変化が独立に現われている．

以上の如くX+Mb の場合においても，Mb+Xの場合と同様に併用によつて夫々の分裂抑制効

第9図　分裂頻度の変化 {×(180)+H_2O_2 / H_2O_2(180)+×}



果が，強度になつたり，軽減されたりする事なく夫々の効果が独立的に現われている．

実験Ⅳ H_2O_2 の影響

Mb と H_2O_2 の両者ともに細胞質に著しい作用を及ぼし極めて類似した作用効果を示す事が明かにされている[12]．他方，放射線の生物作用は照射によつて発生する遊離基から生ずる H_2O_2 が主役をなすと唱へる者もある[17)18)19)]．この意味で著者は H_2O_2 の肉腫細胞に及ぼす影響を検討し，これと Mb の作用を比較検討をし，併せてX線との併用に対する変化について実験した．

a) H_2O_2 0.01g/100g投与

分裂頻度は第8図の如く投与後1時間にて処置前値の−40%と最低値を示し，その後は徐々に回復して12時間後に処置前値に戻つた．

分裂各期についてみると，前期は1時間後に最低となり，その後は徐々に回復し，12時間にて処置前値に復した．中期は1〜3時間で最低となり，6時間で回復した．後終期もほゞ分裂頻度に対応した変化を示した．

b) H_2O_2 0.02g/100g投与

第7図の如く，分裂頻度は投与後1時間で処置前値の−50%と最低値を示し，その後は徐々に回復し，24時間後に処置前値に復した．

分裂各期の変動は，前者と同様な経過を示した．

染色体の形態的異常及び静止細胞に対する影響は Mb に似た経過をとつた．即ち中期染色体の

粘着，凝集，散乱等が増加した．また細胞質に破壊が6～12時間にかけて強度にみとめられ，腫瘍細胞の減少が投与後6～12時間において現われた．

以上の如く Mb と H_2O_2 の肉腫細胞に対する影響は分裂抑制，腫瘍細胞に対する形態的変化についても非常によく類似したものであつた．

実験 V H_2O_2 とX線との併用効果

H_2O_2 0.02 g/ 100 g 投与3時間後X線照射を行つた場合及びその逆の場合について実験を行つた．X線照射は Mb 併用の場合と同様に 200r 全身一時照射である．

a) H_2O_2 投与3時間後X線照線 (H_2O_2(180)＋X)

第9図の如く分裂頻度は投与後1時間で－50%と減少し，3時間後には－45%と稍，増加に向う．こゝで照射を行うと再び減少し投与後4時間（照射1時間）で処置前値の－67%と最低値を示し，12時間後には処置前値に戻つた．

分裂各期の変動は，ほゞ分裂頻度に対応し，腫瘍細胞の形態的変化についても H_2O_2 單独に類似し特に変化が増強したりする事はない．

この場合も夫々の作用が独立に現われている．

b) X線照射3時間後 H_2O_2 投与 (X(180)＋H_2O_2)

この場合は照射後1時間で－75%前後まで減少し，3時間後－60%までに回復する．こゝで投与を行うと投与後1時間（照射後4時間）で－65%まで再び減少し，その後は回復に向い，9時間後で処置前値に戻つた．

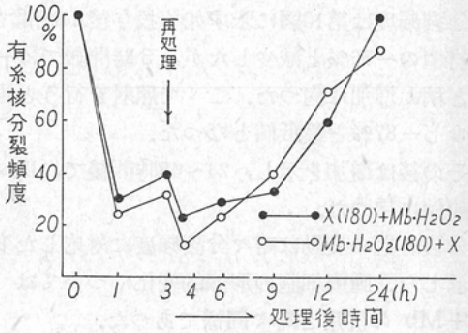
分裂各期の変動は，ほゞ分裂頻度に対応した．

以上の如く H_2O_2＋X及び X＋H_2O_2 の併用においても Mb 併用の場合と同様に，夫々の効果が独立に現われ，分裂抑制が強度になつたり，軽減されることはなかつた．

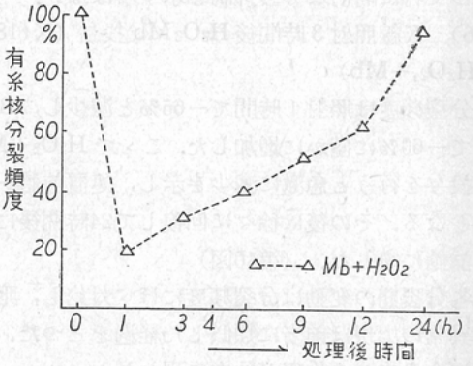
実験Ⅵ Mb と H_2O_2 の併用効果 (Mb＋H_2O_2)

Mb と H_2O_2 は非常に類似した変化を示したが，これらを併用した場合に如何なる効果を示すか興味ある問題である．そこで Mb 0.01 g/ 100 g 及び H_2O_2 0.02 g/ 100 g を同時に投与した場合の検討をした．

第10図 分裂頻度の変化 ×(180)＋Mb・H_2O_2 Mb・H_2O_2(180)＋×



第11図 分裂頻度の変化 (Mb0.01 g/ 100 g＋H_2O_2 0.02 g/ 100 g 投与)



分裂頻度は第11図の如く投与後1時間で処置前値の－80%をとり，その後は徐々に回復し12時間後には－37%，24時間後で処置前値に戻つた．この分裂頻度は0.02 g Mb 投与の場合（第1図）に近い消長を示した．

分裂各期は略々分裂頻度に対応した変化を示した．腫瘍細胞の形態的異常については H_2O_2 及 Mb 夫々單独より強い変化が認められた．

この場合，両者の併用によつて，夫々の單独の効果よりも強い分裂抑制が認められた．即ち明かに併用効果があつた．両者の化学的性質及細胞学的作用から考えて当然期待出来るところである．

実験Ⅶ H_2O_2, Mb とX線との併用効果

H_2O_2 と Mb の併用によつて，強い分裂抑制が認められたので，これをX線と併用した場合に如何なる変化を示すかを検討した．

a) H_2O_2, Mb 投与3時間後X線照射 (H_2O_2+Mb(180)+X)

分裂頻度は第10図に示す如く投与後1時間で処置前値の−76%と減少したが，3時間後では−68%と稍ゝ増加に向つた．こゝで照射を行うと再び減少し−87%と最低値となつた．

その後は増加を示し，24〜48時間後で，ほゞ処置前値に戻つた．

分裂各期の変動は略々分裂頻度に対応した変化を示した．腫瘍細胞の形態的変化については H_2O_2+Mb の併用と略々同様であつた．

即ちこの場合においても，X線と H_2O_2+Mb の効果が夫々独立に現われて居り，三者の併用によつて特に著明な分裂抑制を示す事はない．

6) X線照射3時間後 H_2O_2Mb 投与 (X(180)+H_2O_2,+Mb)

分裂頻度は照射1時間で−65%と減少し，3時間で−60%に僅かに増加した．こゝで H_2O_2+Mb の投与を行うと急激に減少を示し，処置前値−77%となる．その後は徐々に回復して24時間後に処置前値に復した．(第10図)

各分裂期の変動は分裂頻度にほゞ対応し，形態的異常の出現は前者に類似した経過をとつた．この場合も夫々の作用が独立に現われた．

以上の如く H_2O_2+Mb とX線の併用において．夫々独立に効果が現われ，併用によつて，分裂抑制が特に増強されたり，軽減されたりする事はなかつた．

総括及び考按

Mb を吉田肉腫担腫瘍動物の腹腔内に投与するに，腫瘍細胞に対して顕著な影響を及ぼし，分裂抑制と細胞質破壊並に核学的異常が認められる．

Mb とX線とを併用するに Mb+X，X+Mb の両者ともにX線及び Mb の夫々の効果が独立に現われ抑制効果が増強したり，軽減したりする事はない．

次に Mb の作用に類似するといわれる H_2O_2 の腫瘍細胞に対する作用は，分裂の抑制と強い細胞質破壊が見られた．その経過は Mb と極めて類似したものである．

H_2O_2 とX線との併用においては H_2O_2+X，X+H_2O_2 ともに夫々の作用が独立に現われ，抑制が強度になつたり，軽度になつたりすることはない．Mb の場合と同様である．

Mb と H_2O_2 の併用を行うと分裂抑制，細胞質破壊は夫々単独投与に比して著しく増強される．

更に Mb, H_2O_2 及びX線を併用すると，この場合も (Mb,+H_2O_2) +X，X+ (Mb+H_2O_2)，ともに両者の作用が夫々独立に現われ，併用効果は見られない．

以上は著者が肉腫細胞に対して行つた Mb, H_2O_2 とX線との併用についての実験結果の総括である．

Mb の腫瘍に対する影響については Pursell[12] が犬の悪性腫瘍において2% Mb 2〜10ccを静脈内に繰返し注射し，Primary sarcomatous growth 及び early secondary growth に対して著しい障碍を与えると云う．この腫瘍細胞の抑制に対する作用機構について，Holman の H_2O_2 の腫瘍に対する作用機構の見解をかりて，次の如く解釈している．即ち Mb は水素の受容体であるが故，これによつて catalase hydrogen peroxide system の阻害が起る．悪性腫瘍は正常細胞よりもこの種の代謝阻害により敏感であり，その為に細胞の増殖抑制を生ずるものであろうと述べている．H_2O_2 については，吉田[14]，Makino & Tanaka[15] が吉田肉腫に対して腹腔内注射を行い，著しい破壊を認め，その効果は極めて急激であつたと報告した．吉田[14]は腫瘍細胞には Catalase が乏しいのが通性であるので，H_2O_2 で存外もろく壊われるという中原の着想によつて実験を行つたとのべている．また，Holman は，Walker 256 Adenocarcinoma を移植したラットの飲料水を0.45%の H_2O_2 に変えたところ15〜60日目で腫瘍の完全な消失が見られ，平均50〜60%の治癒率をえたと報告した．彼はこの作用機点について，Catalase に欠陥を有し，Overoxidation に敏感になつているような悪性腫瘍を破壊するのに H_2O_2 のような強い酸化剤が効果的であると考えている．Mb 及び H_2O_2

両者ともこのように呼吸酵素系における酵素作用の障碍によつて呼吸代謝に障害を及ぼし，ひいては細胞の破壊を生ずるものであつて両者は共通した特性を示すものと考えられる．

著者の実験においても Mb と H_2O_2 ともに腫瘍細胞に対して投与後急激な分裂抑制を示すこと細胞質の破壊が著明であること，Mb と H_2O_2 の同時投与は Mb 乃至 H_2O_2 の投与量を増加した場合の変化に似ていること，X線との併用に対する反応態度が類似することなどの点から極めて類似した作用効果を持つたものと考えられる．

一方放射線の細胞に対する作用はその際，生ずる H_2O_2 によるというとの考えが明らかにされている[17)18)19)]．この事は無酸素の状態の照射においては作用効果が極めて少いとする，いわゆる酸素効果が見られること，放射線照射による染色体異常出現度は H_2O_2 の生産と顕著な平行関係を示している事実などがこの主張を裏付けている[20)]．放射線の作用と投与した H_2O_2 の作用とを比較してみると，H_2O_2 そのものは直接に染色体切断等を起す眞の突然変異物質ではない．

多くの実験があるにもかゝわらず H_2O_2 によつて突然変異の生じた例は未だ認められていない．Dickey et al[21)] によると他の Organic peroxide においては Neurospora において著明な突然変異効果を示しているが，H_2O_2 はそれらの中間物であつて直接に H_2O_2 そのものは作用効果をもたないものであろうと考えている．しかし Dustin et al[22)] はマウスの腸細胞において，ある程度 H_2O_2 は radiomimetic effect を示すことを明かにしている．

また Forssberg[23)] は放射線照射によつて Catalase の破壊が起されることを認めて居り，H_2O_2 投与による変化も放射線の作用と多少の類似点を持つものと考えている．

次に併用の結果について検討するに Mb とX線との併用において両者の効果が独立的に現われている．その結果は照射前，照射後のどちらの投与においても同様であつた．更に H_2O_2 とX線の併用においても Mb の結果とほゞ類似し，両者の併用に対する反応態度は大きい相違はない．

Mottrani はソラマメを用いた実験において，シアンによつて Cytochrom 酵素系を阻害せしめた後，X線照射を行つた場合，成長の抑制を尺度として明かな放射線感受性の増加を来したと報告した．しかし酸素効果の立場からすると，シアンが Cytochrom 酵素系の阻害を起し細胞内の呼吸酵素系がブロックされる．こゝで放射線照射を加えると Mottrani の結果とは逆に作用の低下が現われるはずである．事実 Bacq et al[25)]．はマウスのX線致死過程に対してシアンの投与は保護効果があつたと報告した．しかし Dowdy et al[26)]．は同様の実験においても Bacq et al. の認めたような保護効果はえられなかつた．

著者の実験においても呼吸酵素系の阻害が放射線感性を低めるとすると，Mb も H_2O_2 においても同様な保護作用が認められるはずであり，投与が照射前か，後かで効果は異ることも考えられる．しかしこの場合は照射前後いずれも両者の夫々の作用が独立的にあらわれて，Bacq et al. のいう保護効果も Mottrani et al の報告した放射線感受性の増加も認められなかつた．

更に Mb と H_2O_2 同時に投与するに前述の如く強い抑制がみられるが，これにX線との併用を行うと Mb と H_2O_2 によつて起る強い分裂抑制とX線との効果が夫々独立に現われ，併用による作用の増強はない．

以上の如く Mb 及び H_2O_2 も併用によつて作用の増強を来したり，軽減を示したりすることはなく独立にその作用を現わすことは間違いない事実と思われる．

Mb とX線，或は H_2O_2 とX線の併用に於て夫々独立に作用が出現する機構について考えん．Mb にしろ，H_2O_2 にしろ分裂頻度を減少せしめる事，核学的変化を来する事に於てはX線と同様なる作用即ち radiomimetic であると云へよう．

然しその際の細胞学的変化を詳細に検討するときは，Mb 或は H_2O_2 とX線の核を侵す mode は夫々異るとは云はなければならない．X線は，むしろ，核を早期に，且つ強く侵すが，Mb 或は

H_2O_2 は先づ細胞質を侵しその二次的影響として核が侵されるのである．かく考えればX線が分裂頻度を減少せしめるものは核に障害しそれによつて分裂頻度の低下を来す．従つて両者を併用する時，核が障害されるための影響と，細胞質障碍による分裂頻度の低下が夫々独立的に現われる事を理解出来る．以上は細胞学変化の観点から解釈したものである．生化学的には別の解釈も生ずるかも知れないが，著者は本実験を根拠にして一応の解釈を与えたものである．

結　論

吉田腹水肉腫について有絲核分裂頻度，分裂各期細胞の消長及び腫瘍細胞の形態的異常を指標として，X線と Mb 及 H_2O_2 の併用実験を行い次の如き結果を得た．

1) Mb 及 H_2O_2 はともに腫瘍細胞に対して急激な分裂抑制と，細胞質破壊並びに核学的変化を惹起するもので両者は極めて類似した作用を示した．

2) Mb とX線を併用する場合，照射前及照射後の Mb 投与何れも夫々の効果が独立的に現われ，併用によつて作用効果が増強したり，軽減したりすることはなかつた．

3) H_2O_2 とX線との併用は，Mb の併用と同様に夫々の効果が独立に現われ，相乗作用はみとめられなかつた．

4) Mb と H_2O_2 を併用する場合，分裂抑制と細胞破壊は強度になり，明らかな併用による変化の増強がみられた．しかしこの変化は夫々の投与量を増加した場合に相当する．

5) Mb と H_2O_2 を同時に投与し，それにX線を併用するに，Mb と H_2O_2 併用の効果とX線との効果が夫々独立に現われ併用による効果の増強は全く認められなかつた．

擱筆するに当り，多大の御助力を戴いた当教室石原氏，並びに教室の皆様，並びに種々御教示と御校閲を賜つた札幌医大牟田教授に深甚の謝意を表します．

本論文旨は1959年第18回日本医学放射線総会（東京に於て発表した．

本研究の一部は文部省科学研究費によつたことを附記して御礼申上げます．

文　献

1) O. Risse: Str. ther. 34, 581 (1929). —2) J, Weiss: Nature 153, 748 (1944). —3) M. Kiga et al.: Science 122, 331 (1955). —4) 若林：日本医事新報，1579 (1954). —5) 金田，桜井：日本医放誌，16 (4), 406 (1956). —6) 桜井：日本医放誌，16 (4), 407 (1956). —7) 入谷：日本医放誌，17 (9), 1006 (1957). —8) 田尻：日本医放会誌，17 (11), 1266 (1957). —9) 若林他：第18回日本医学放射線学会総会（東京）発表. —10) 赤松：生化学，共立出版，(1953). —11) Baldwin: Dynamic Aspects of biochemistry. Cambridage Univ. Prcrs (1949). —12) R.T. Pursell: Nature 180, 1300 (1957). —13) R. A. Holmun: Nature 179, 1033(1957). —14) 吉田：吉田肉腫，寧楽書房 (1952). —15) S. Maklno Z Janaka: Gann 44, 539 (1953). —16) 牟田：日医放誌，10 (1), 30 (1950). —17) P, Bonet-Movy et al.: Nature 162, 381 (1948). —18) N.H. Giles et al.: Proc. Natl. Acadi, Sci 35, 640 (1949). —19) J. M. Tkoday, et al.: Nature 163, 133 (1949). —20) N.H. Giles: Symposium of Radiobiology, 267, Natl Res. Coune, Natl, Acad. Sci (1950). —21) F.H. Didkey et al.: Proc. Natl Acad Sci 35, 581 (1949). —22) Jr. Dustin et al.: Cormpct, Rend Soc Biol 143, 874 (1949). —23) A. Forssberg: Nature 159, 308 (1947). —24) J.C. Mottrani: Brit, J, Radiol 8, 643 (1938). —25) Z.M. Bacg: Science 111, 356 (1950). —26) A. H. Dowdy et al.: Atomic Energy Comn, Document UCLA-55 (unclassified) (1950).

Studies on the Combined Effects of Radiation and Various Chemicals on the Mitotic Cells (19th Report)
Effects of Combined Use of Methylene blue and H_2O_2 with X-rays

By

Hide Funayama

Department of Radiology, School of Medicine, Hokkaido University

(Directo: Prof. M. Wakabayashi)

The present paper deals with the effects on sarcoma cells of methylene blue and H_2O_2 alone, their combined use with or without X-rays, and also their use separately in combination with X-rays.

The material for the study was the Yoshida sarcoma III of rat, 3-4 days fater transplantation.

The effects were estimated by observation of three features: the frequency of mitosis, the difference of each mitotic phase in number, and the frequency of abnormality of chromosomes in metaphase.

The following summarize the results of the observations.

1) Methylene blue and H_2O_2 both showed similar effect causing rapid decrease of mitosis, destruction of cytoplasm and change in chromosomes.

2) In the combined use of methylene blue with X-rays, each showed its own effect independently in case of either injection before irradiation or after irradiation.

3) The combined use of H_2O_2 with X-rays also resulted in independent effects as was true in the case of methylene blue.

4) The combined use of methylene blue with H_2O_2 showed almost double the effect of either the drug.

5) X-irradiation did not strengthen the effects of combined use of methylene blue and H_2O_2.