OUKA
Osaka University Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | X線生体照射により生ずる不飽和脂肪酸分画物質の実験腫瘍に対する親和性について 第2報 |
| Author(s) | 塩飽, 健 |
| Citation | 日本医学放射線学会雑誌. 1963, 22(10), p. 1086-1092 |
| Version Type | VoR |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/20152 |
| rights | |
| Note | |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

# X線生体照射により生ずる不飽和脂肪酸分画物質の実験腫瘍に対する親和性について（第 2 報）

岡山大学医学部放射線医学教室 主任 武田俊光教授
大学院医学研究生 塩 飽 健

（昭和37年12月3日受付）

## Affinity of Experimental Cancer of Unsaturated Fatty Acid Effected by X-Ray Irradiation on Living Body Part 2.

By

Takeru Shiaku

Department of Radiation Medicin Okayama University Medical School
(Director: Prof. Toshimitus Takeda)

Formerly in the first report the author tried an experiment with the experimental cancers which was labered $^{131}I$ to the OX substance, a sort of unsaturated fatty acid extracted from irradiated rabbit liver by Yamamoto, and recognized that the OX substance had affinity to cancer cells. Now the author labered the same OX as $^{59}Fe$ and experimented the affinity of OX substance toward experimental cancers.

First the H of carboxylic base in OX substance was substituted to Na in alkaline solution. Then $^{59}FeCl_3$ was added and Na was substituted by $^{59}Fe$ to gain $^{59}Fe$-OX. This was brought into suspension by tween 80, of which the concentration was 2.0%. It is very stable and shows little change for long time. Eight-week-old hybrid rats were used as experimental animals. Two million Yoshida sarcoma ascites cells were transplanted into their femoral intra muscles and tumors grown to thumb cap size after five days were used. To these tumors, 0.5 cc of colloidal solution $^{59}Fe$-OX was injected through their coccygeal veins. After slaughtering with the lapse of time, their internal organs were taken out and their counts per 0.5 g were measured by scintillation counter. Moreover each organ was fixed with osmic acid and made to paraffin sections. After they were stained by hematoxylin-eosin, their fat and tumor cells in tissue were studied. The results were as follows;

1) Yoshida sarcoma, transplanted into femoral intra muscle, took $^{59}Fe$-OX specifically when compared with other organs and its up-take rate incressed it three hours and twelve hours.

2) In tissue picture, fat particle stained inblock with osmic acid was seen in the

tumor tissue excluding the first hour. The increase at the part of degeneration necrosis in tumor tissue, karyopyknosis, and chromatolysis were also admitted. Especially the increase of partial necrosis was seen in the tumor tissue at its third hour.

## 緒　言

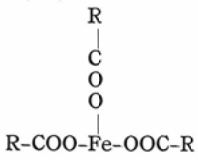
私は先に第1報[1]として当大学の山本がX線照射家兎肝より抽出せる不飽和脂肪酸分画の1種OX物質を $^{131}I$ にて標識し実験腫瘍に対して実験を行いOX物質が腫瘍細胞に親和性を有する事を認めた．前回の実験では $^{131}I$-OX は腫瘍細胞親和性を細胞単位では細かく分析され吉田肉腫腹水系細胞に於いて示した如くその分画の $^{131}I$-OX 物質摂取率を経時的に追求し得るが，Ehrlich 皮下腫瘍組織に於いて実験した場合はその示すカウント数に於いて固有臓器との差が僅少であつた．

諸家の文献を見るに1950年 Davis[2] が色素に $^{131}I$ を標識し神経腫瘍の診断を試み今日では $^{131}I$ の甲状腺に対する親和性を応用し甲状腺機能の検査や甲状腺腫瘍に対しシンチレーションスキヤンナーの応用[3)4)5)]と相まつて広く臨床的にも使用されている．

そこで今回私はOX物質を $^{59}Fe$ を持つて標識しシンチレーションカウンターを以つてOX物質の実験腫瘍えの親和性について実験を試みた．

## 実験方法

1)　OX物質を $^{59}Fe$ で標識する方法は妹尾[6]の方法に従つた．即ち，OX物質のカルボキシル基のHをNa で置換しアルカリ性溶液中にて $FeCl_3$ を carrier として極く微量加え更に $^{59}FeCl_3$ 溶液を加え Na を $^{59}Fe$ で置換した．図示すればOX




物質の不飽和脂肪酸3分子を Fe 1分子で結合し脂肪酸鉄を作つたことになる．これを分液ロート中にてエーテル層に溶媒[7]を加えて移行させ次にエーテル層だけを取り出し数回水洗を行いその後無水硫酸ソーダにて脱水減圧蒸溜を行つて油状の脂肪酸鉄を得た．

前記の如く標識したOX物質は元のOX物質と外観は変らない．これを 2.0%になる様に滅菌蒸溜水を加え tween 80 を極く微量滴下しホモゲナイザーにて攪拌しコロイド溶液を作つた．第1例で用いた生理的食塩水では Fe が Cl イオンによる脂肪酸から遊離しOX物質は Na と結合する恐れがある為今回は滅菌蒸溜水を使用した．この

Table 1　Counts of $^{59}Fe$-OX in Yoshida sarcoma transplanted into intramuscle. natural background1071/cpm.

| | 1 | 3 | 6 | 9 | 12 | 24 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Blut | 38297 | 1731 | 1617 | 1295 | 1733 | 1695 |
| Lunge | 1754 | 1464 | 1593 | 1277 | 1313 | 1358 |
| Leber | 1944 | 1934 | 1562 | 1301 | 1704 | 1741 |
| Milz | 1651 | 2357 | 1713 | 1290 | 1913 | 1491 |
| Niere | 1420 | 1436 | 1305 | 1274 | 1413 | 1300 |
| Tumor | 1511 | 2387 | 1331 | 1247 | 3180 | 1344 |

様にして出来た溶液は乳濁色で安定したものでコロイドの大きさはOX原油を tween 80で乳濁液にしたものと変りなく光学顕微鏡ではほとんど見えない位の大きさで長期間放置しても何んらの変化を生じない．

2)　実験動物は雑系 Ratte の生後約8週後のものより体重及び大きさの均一なものを選び出し2週間1定の固型飼料及び水で飼育し環境も一定させて使用した．これに吉田肉腫腹水系細胞を純系 Ratte に接種し3日間純培養になつたものから腹水を取り出し生理的食塩水にて1回洗滌し約200万個を大腿皮下筋肉内に移植し5日目に拇指頭大に腫瘤が発育せるものを選び出して使用した．

前記担癌 Ratte の尾静脈より前記コロイド溶液を 0.5cc注射し経時的に屠殺して各臓器を取り出し 0.5gr 当りのカウント数をシンチレーションカウンター（ウエル型）で測定した．

3)　各臓器の一部をオスミウム酸にて固定しパラフィン切片としこれにヘマトキシリン—エオジ

Fig. 1

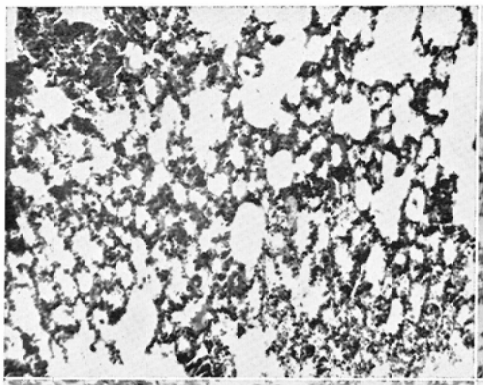


Fig. 4

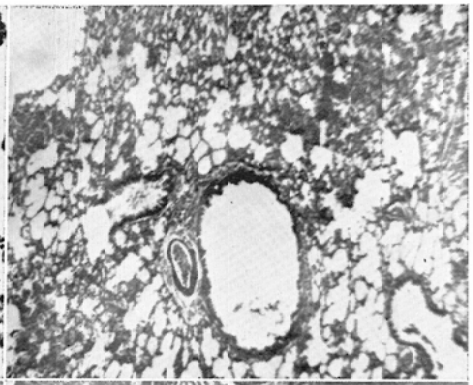


Fig. 2

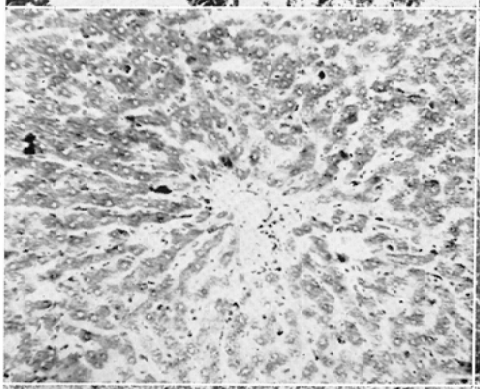


Fig. 5

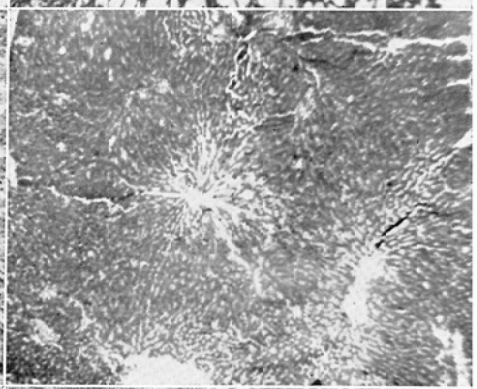


Fig. 3

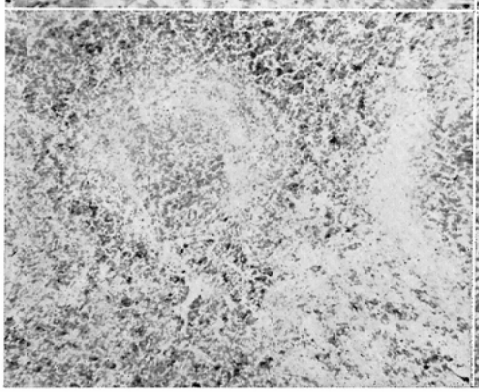
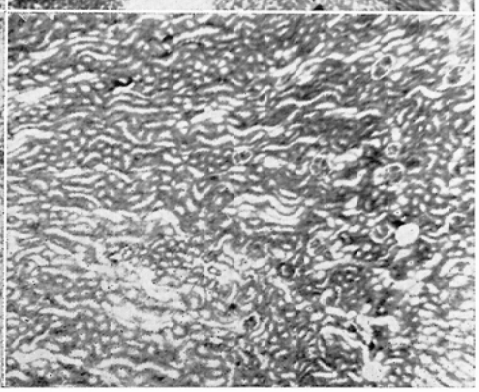


Fig. 6



The histological findings of internal organs

Fig. 1 Lung. 3 hours after injection 10 × 10
Fig. 2 Liver. 3 hours after injection 10 × 10
Fig. 3 Spleen. 3 hours after injection 10 × 10
Fig. 4 Lung. 12 hours after injection 10 × 10
Fig. 5 Liver. 12 hours after injection 10 × 10
Fig. 6 Kidney. 12 hours after injection 10 × 10

Fig. 1

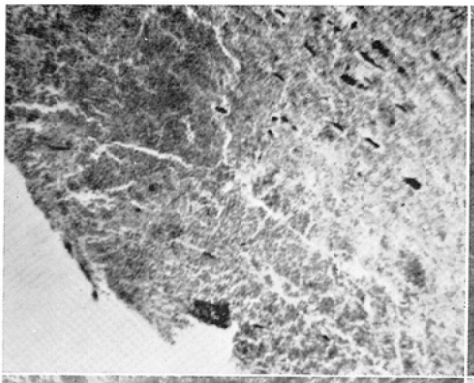


Fig. 5

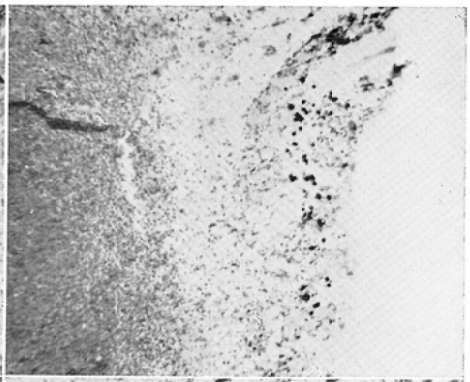


Fig. 2

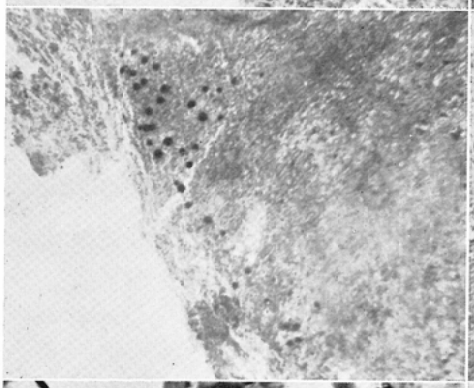


Fig. 6

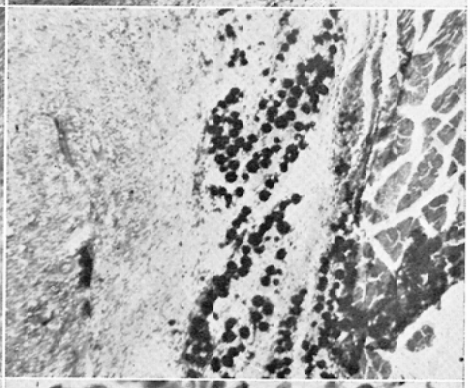


Fig. 3

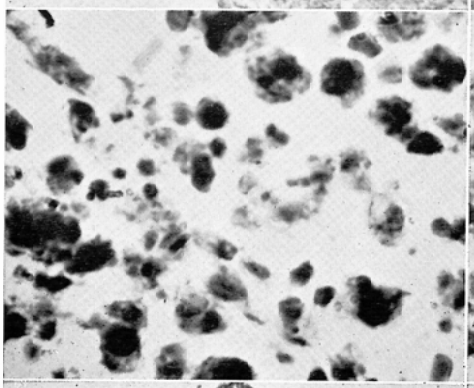


Fig. 7

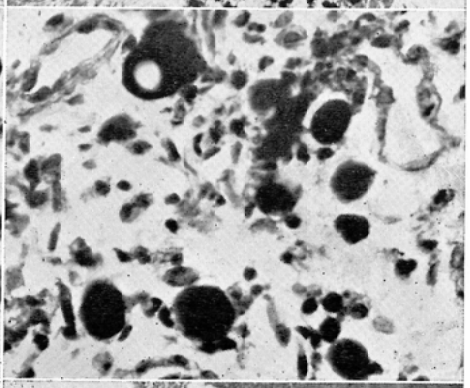


Fig. 4

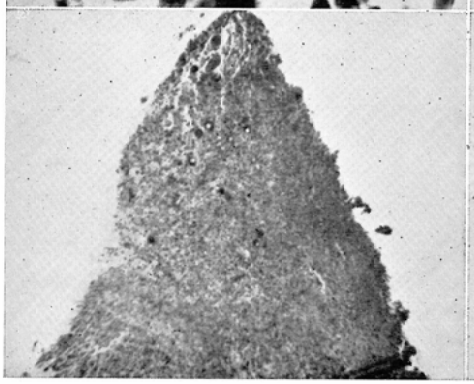
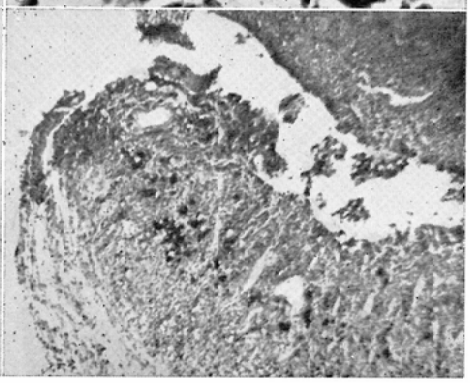


Fig. 8



The histological findings of Yoshida sarcoma transplanted intramuscle

| | | |
|---|---|---|
| Fig. 1 | 1 hours after injection | 10 × 10 |
| Fig. 2 | 3 hours after injection | 10 × 10 |
| Fig. 3 | 3 hours after injection | 10 × 40 |
| Fig. 4 | 6 hours after injection | 10 × 10 |
| Fig. 5 | 9 hours after injection | 10 × 10 |
| Fig. 6 | 12 hours after injection | 10 × 10 |
| Fig. 7 | 12 hours after injection | 10 × 40 |
| Fig. 8 | 24 hours after injection | 10 × 10 |

ンで重染色し組織中の脂肪及び腫瘍細胞を観察した．

## 実験結果

1．吉田肉腫大腿筋肉腫瘍の $^{59}$Fe-OX の摂取量は図Ⅰに示す如く腫瘍組織は3時間と12時間に於いて多量の $^{59}$Fe-OX を摂取している．これは第1報に於ける $^{131}$I-OX の吉田肉腫腹水系細胞の摂取の仕方と一致して居る．又他の臓器は各時間共その検出されるカウント数が低く自然計数に近い．つまり $^{59}$Fe-OX の摂取率があまり大きくない．腫瘍組織も3時間と12時間を除いては他の固有臓器とその摂取率が変らない．1時間目の血液のカウント数が桁違いの値を示すのは静注により血中の $^{59}$Fe-OX の濃度が上昇し時間が経つてない為である，又腎臓の $^{59}$Fe-OX のカウント数は各時間共低い価を示している．

Ⅱ．オスミウム酸にて染色せる組織像を見ると腫瘍組織は1時間目のものをのけてオスミウム酸に濃染せる脂肪球が細胞間隙に多数認められた，腫瘍組織自体を更にくわしく観察すれば3時間目のものはすでに部分的な壊死に陥いつている所が各所に発見せられた．1時間目のものを除きあとの各時間の腫瘍細胞は核の染色性の低下，核の濃縮，異型分裂，細胞変性が認められた，更に24時間目の腫瘍組織は組織全体に変性壊死が認められた，又3時間目の腫瘍組織に於て分裂期の細胞を発見するのに困難を感じた．あとの固有臓器に於いて1時間目の肺臓に脂肪球を認めたがそれ以外のものは各時間共脂肪球を認める事が出来ず又ヘマトキシリン—エオジンの染色で対照の Ratte の臓器との差がなかつた．

## 考　察

近年細胞化学の発達と共に放射線生物作用中の間接作用が人々の注目をひき，特に第2次大戦以後各種の放射性同位元素の出現とあいまつて益々この方面の研究が深められている．放射線生物学的作用の発生機転に関しては諸説[8) 9) 10) 11)]があるがその中でX線照射による脂質代謝との関係を見るに1945年Ellinger[12)] は放射線照射により肝臓の脂肪が増加することに注目し，更にこの現象がデソキシコルチコステロンによつて抑制される為副腎の機能不全によるものと考えた，又Leblond, u. Segal[13)] によるとコーチゾンが過剰に存在すると肝臓のグリコーゲン及び脂肪が増加するし又副腎を除去しても肝臓の脂肪は増加せず放射線照射による脂肪浸潤が抑制されることから之は脳下垂体副腎系の機能亢進の結果であるとしている．この様な変化は肝臓が直接やられた為の結果発生するものかそれとも副腎皮質亢進による2次的な変化かは説明して居ない．当大学の山本[14)]は放射線障害の発生機転を酵素学的に探求し放射線照射により組織の有するLecithase の作用により燐脂質並びに不飽和脂肪酸が産出される事を明らかにした．前者は教室の赤木[15) 16)]が実験せる如くX線照射により発生すると同様な溶血作用を示し，後者は教室の諸氏が実験せる如く[17) 18) 19) 20) 21) 22) 23) 24) 25) 26) 27)]抗腫瘍作用並びに生殖器を障害する作用を有する．山本[14)]は3000r 全身照射せる家兎を24時間目に出血死せしめその肝臓より不飽和脂肪酸分画を抽出しその或分画に対してOX物質と名付け

た．これの抗腫瘍性について教室の諸氏の研究を見るに谷本は Brown-Pearce 腫瘍移植家兎[20]に対し連日これを耳静脈より静注し睾丸内腫瘍の発育抑制並びに腫瘍組織と転移巣の壊死を認めている，又吉田肉腫に対し[19] in vitro にて核分裂と細胞の崩壊を見ている．伊丹[30]は Ehrlich 腹水癌について in vitro で細胞の崩壊，mitotic apparatus の活性阻害，ＤＮＡ合成の阻害，異型細胞分裂の誘起をおこす事を明らかにした．井口[31]は白鼠大腿部筋肉内移植吉田肉腫細胞のコハク酸脱水素活性に与えるＯＸ物質の影響について担癌 Ratte の尾静脈より注射し腫瘍組織の本酵素活性が一次的に増大されその増大した部分がやがて壊死に変化して行く傾向にあることを見ている，又井口[32]は皮下移殖吉田肉腫細胞のＤＮＡ量及び mitotic phase に対するＯＸ物質の影響について注射後６～12時間にかけて比較的旺盛な活動をしている癌巣部の分裂細胞の減少及びＤＮＡ合成を抑制された細胞の増加を見ている．

吉田肉腫腹水系細胞分裂に対するＸ線照射の影響についての牟田[33][34]の実験によれば核分裂は１時間余りで急激に低下し照射後１～３時間で最低値をとり６～９時間で照射直前の値に回復することを見ている，更に Gordon[35] も吉田肉腫腹水系細胞に対するＸ線の効果について研究しているが，吉田肉腫移植後３日目の Ratte を 425r で照射し照射８分後から７日迄観察し分裂像が50～60分位にほとんど 0近くに低下するのを認め各分裂期像の相互関係を見ている，それによるとまず前期の数が減少し照射後20～30分に中期像が後期に進むに従つて消え始める為１時間後には可視の分裂像は 0に近くなると云つている．岡田及び牟田[36]は吉田肉腫腹水系細胞にＸ線を 200rと1000rを照射して核分裂時間と分裂週期について実験し分裂時間は40～80分で又１週期に要する時間を16～44時間と云う値を出している．

今回私の実験について見れば $^{59}$Fe-OX を吉田肉腫皮下筋肉内腫瘍に静注した場合３時間と12時間に於て特異的にその摂取率が高まり他の臓器は各時間共その示すカウント数が自然計数に近く摂取率が低いし，又腫瘍細胞のみについてその摂取率を見れば先に私が第１報に於て $^{131}$I-OX の摂取率を吉田肉腫腹水系細胞分画にて実験した結果と一致する．ＯＸ物質がＸ線照射と類似の反応を呈するものならば私の実験に於て前回と今回とも標識されたＯＸ物質の摂取量増加の山が３時間及び12時間目に見られた事実は前記の牟田の実験せる結果即ち３時間目に核分裂が最低になるとゆう事と大体一致して居り12時間値に又摂取率が高まるという事も牟田の結果より推定すれば６～９時間で核分裂が照射前の値に回復しそして３時間後の12時間目に核分裂が再びＯＸ物質の作用により低下するのではなかろうかと推定されここに時間的因子が関係しているものと思う．又井口の実験より推定すればＯＸ物質が一次的に呼吸酵素系の活性を高め次でその呼吸酵素系の増大した部分が細胞変性を起し壊死に陥いる事が考えられる．

組織標本に於てオスミウム酸に黒染せる脂肪球が腫瘍組織の細胞間隙に多く集つている事は $^{59}$Fe-OX が腫瘍細胞に多量の摂取された事を示すものである．又３時間目の標本に於て腫瘍組織の部分的壊死を認め時間の経過と共に腫瘍組織全体に壊死部の増大，更に腫瘍細胞全体の変性，核の濃縮，並びに染色性の低下等が観察されＯＸ物質が腫瘍細胞に対し抗腫瘍作用を示していることが判明する．オスミウム酸染色による腫瘍組織標本ではシンチレーションカウンター測定の如き明確な経時的変化は認められなかつた．之は組織標本作製上の技術的欠点によるものと考える．既に第１報の吉田肉腫腹水系細胞分画実験で述べた如く組織内の脂肪球量の経時的変化は染色標本では判然と差異を証明し得ないのは当然のことである．しかし他の臓器の組織標本に於て殆んど脂肪球が発見されないという事実はＯＸ物質に対し腫瘍細胞が特に親和性を有する事を証明し得たのではなかろうか．

## 結　論

Ｘ線生体照射により生ずるＯＸ物質を $^{59}$Fe にて標識し実験腫瘍への親和性を吉田肉腫大腿筋肉内移植腫瘍について実験した結果次の如き結果を

得た.

1) 吉田肉腫大腿肉内移植腫瘍は他の臓器に比べ $^{59}$Fe-OX を特異的に摂取し3時間と12時間に於て摂取率の増加を示した. これは第1報に於ける $^{131}$I-OX の吉田肉腫腹水系細胞の摂取率と全く一致している.

2) 組織像に於て1時間目を除くあとの腫瘍組織は細胞間隙にオスミウム酸に黒染せる脂肪球を多量に認め腫瘍組織の変性壊死部の増大, 核の濃縮, 並びに染色性の低下を認め特に3時間目の腫瘍組織では部分的壊死の増加が見られた.

以上の結果よりOX物質は実験腫瘍に対し親和性を有し抗腫瘍作用を示すものと考える.

稿を終るに臨み御校閲並び実験を御指導下さつた恩師武田俊光教授及び癌源研究所山本道夫教授に深甚の謝意を表します.

## 文 献

1) 塩飽：日医放誌, 22, Vol. 8, 1962. — 2) Davis et al.: J.A.M.A., 114, 1424, 1950. — 3) Fitzgerald, R.J.: Brookhaven Symposia in boloigy. (The thyrowid), 220, 1954. — 4) Hertz, S. et al.: J.Clin. Invest., 21, 25, 1942. — 5) Hamilton, J.G. et al.: J. Clin. Invest., 21, 624, 1942. — 6) 妹尾：未発表. — 7) 山本, 姉尾：未発表. — 8) Lea, D.E.: Campribge unive. Pness., 1949. — 9) Barron, E.S.G.: Advances Enzymology, 11, 261, 1951. — 10) Silk, M.H.: Cancer Res., 18, 1257, 1958. — 11) Dale, W.M.: Radiation Biology, Mc Graw-Hill Book Company, inc., lpart, 1, 255. — 14) 山本：Symposia Cell. Chem., 9, 141, 1959. — 15) 赤木：岡山医学会雑誌, 72, 1261, 1960. — 16) 赤木：岡山医学会雑誌, 72, 1561, 1960. — 17) 小島：日医放誌, 19, 2331, 1960. — 18) 小島：日医放誌, 20, 28, 1960. — 19) 信木：日医放誌, 22, Vol. 8, 1962. — 20) 信木：未発表. — 21) 山本他：岡山医学会雑誌, 71, 2393, 1959. — 22) 山本他：岡山医学会雑誌, 71, 3194, 1959. — 23) 妹尾, 山本他：岡山医学会雑誌, 72, 1307, 1960. — 24) 妹尾, 山本他：岡山医学会雑誌, 72, 1198, 1960. — 25) 妹尾, 山本他：岡山医学会雑誌, 72, 1783, 1960. — 26) 塩飽：岡山医学会雑誌, 72, 1203, 1960. — 27) 塩飽：岡山医学会雑誌, 72, 1439, 1960. — 28) 谷本：日医放誌, 20, 33, 1960. — 29) 谷本：日医放誌, 19, 1628, 1960. — 30) 伊丹：岡山医学会雑誌, 72, 951, 1960. — 31) 井口：岡山医学会雑誌, 72, 1555, 1960. — 32) 井口：岡山医学会雑誌, 72, 1269, 1960 —33) 牟田：日医放誌, 10, 30, 1950. — 34) 牟田：日医放誌, 11, 35, 1951. — 35) Gordon, F.J.: Cancer Res., 16, 930, 1956. — 36) 岡田, 牟田：日医放誌, 14, 79, 1954.