



Title	吉田肉腫腹水細胞の有絲分裂經過並びにそれに及ぼすX線の影響(位相差顯微鏡による觀察)
Author(s)	小原, 準之輔
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1955, 15(7), p. 624-640
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/20401
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

吉田肉腫腹水細胞の有絲分裂經過 並びにそれに及ぼす X 線の影響 (位相差顯微鏡による觀察)

東北大學醫學部放射線醫學教室(主任 古賀良彦教授)

小原準之輔

(昭和30年6月7日受付)

内 容

I 緒 言

II 實驗材料及び方法

III 實驗成績

(1) 吉田肉腫腹水細胞の正常なる有絲分裂經過に就いて

(2) 分裂期吉田肉腫細胞に對する X 線の作田

IV 考 按

V 總 括

VI 文 獻

VII 附 圖

I 緒 言

一般に細胞は分裂中若くは丁度その前の時期に放射線に最も感じ易いと思われている。

Allberti u Politzer (1924) はレ線放射は有絲分裂を抑制し、線感受性は有絲分裂中が細胞週期の他の各期中よりも大きいことを主張している。即ち Salamander larven でレ線照射による有絲分裂細胞の律動の初期、即ち核分裂の減少の時期を第1効果、核分裂が一旦減少の極又は消失の状態に至つて、未だ恢復の始まらない時期を中間期、この時期を経て核分裂細胞が再出現して來る時を第2効果と稱し、是を以て照射による核分裂の定型的律動とみなした。

Strangeways u Oakley (1923) は in vitro で成長する組織に對する X 線の第1効果の一つは將に有絲分裂に入らんとする細胞の分裂し始めるのを妨げることであることを示した。更に Strangeways u Hoopwood は有絲分裂への X 線の量的

實驗から分裂細胞の数の低下は有絲分裂開始の一時的抑制に由ると結論している。この結論は組織培養で Canti u Donaldson (1926), Canti u Spear (1928), Spear (1930), Juul u Kemp (1931), Kemp (1931), Love (1931), Lasnitzki (1940) 等により確められた。他方 Spear u Glücksmann (1938) は Tadpole を用いて、Mottram, Scott u Russ (1926) は Jensens Ratten Sarkom を用いて、更に Hampearl u Schwarz (1927), Stoel (1928), Gambarrow (1931), Gallavresi (1939), Jüngling u Langendorff (1941) は癌組織で分裂中が放射線に最も感じ易いと云う見解に立つている。

貴家 (1950), 泉 (1954) は移植性液體癌吉田肉腫を用いて、X 線照射 (50r, 100r, 500r) による細胞核分裂に及ぼす影響を逐時的に檢索し、レ線照射後間もなく核分裂細胞數減少すること、次いでそれが最低に達して暫く續くこと、そしてやがて恢復して來ることを見ている。而して分裂各期細胞の減少は前期、中期、後期、末期と夫々分裂の機序の順に進行することをも確め、減少の主因は分裂細胞の生産の抑壓即ち細胞が分裂に入るのを阻止するに基くものであり、レ線により最も影響を受けるものは核分裂能で前期を作る機構であると主張し、レ線の主攻撃點は Praemitose であろうと推論している。併し是等の觀察は何れも固定標本によるものであるため、私は生きた状態の細胞に於いて、細胞分裂に X 線がどう作用するかを探らんと志した。この目的のため私は位相差

顕微鏡を用いて *in vitro* にて吉田肉腫腹水細胞の有絲分裂に要する時間並びに過程を先ず調べ、之を對照として既に核分裂状態にある細胞に對して放射線が如何に影響するかを質的に觀察せんとし一連の實驗を行つた。生長分裂中生きてる細胞で變化をみたのは早く Strangeways (1922) である。彼は鶏胎 *in vitro* 組織培養の直接觀察で、有絲分裂に要する時間は34分であることを觀察した。Love は染色標本の多數の觀察から推論して、鶏胎細胞の分裂過程に費される時間は約40分と推定している。Vollmar (1937) は顯微鏡活動寫眞法を用いて系統的に生きてる細胞への放射線作用を検した。Zollinger (1948) は位相差顯微鏡を用いて、生きてる細胞を *in vitro* にて種々の Chemikalien の状況の下に細胞の死滅の問題を研究している。最近廣野 (1950)、牧野、中原 (1952)、佐藤、熱海、佐藤、中村 (1952) は吉田肉腫細胞の分裂過程を觀察している。

實驗に當つて私の設定した疑問は次の2點である。即ち1) 分裂を開始した腫瘍細胞は分裂活動をX線により障碍されるか否か。

2) 分裂細胞個々が障碍されるとせばどの位の量で始まりいかなる過程で現われるか。

II 實驗材料及び方法

吉田肉腫腹水約0.1cc を移植したラツテの移植後24~48時間間の腫瘍腹水を1滴オベクトグラスにとり、カバーグラスをかぶせてバルサムパラフィンにて氣密に封入した標本作製する。之を直ちに攝氏一定温度の保温箱に入れて位相差顯微鏡にて觀察し、有絲分裂過程を記録する。

移植後24~48時間位の腹水は肉腫細胞粗に散在し、顆粒細胞の遊走をみる。3日目、4日目になると肉腫細胞純培養の状態になり、標本濃厚にして細胞集團形成し細胞上下に重なり合い、且つ標本の變性早く觀察に不便である。作製された標本は早いと1時間半位より静止核細胞原形質周縁に膨出物を出したり、核の變性を思わせる状態を示したりして長生しない様に思われる。又有絲分裂經過も遅延する。1時間前後以内であると腫瘍細胞及び諸種細胞に形態的異常及び特別の變化を認

めない。従つて標本觀察は1時間前後にて終了し、新しい標本を觀察する様にした。

ラツテの體温は5例に就いて肛門温度を測定した所夫々37.1, 36.9, 37.1, 37, 37.1, にて平均37°C位である。そこで保温箱の温度は37~38°Cの間に調節した。

照射方法：X線装置は東芝製體腔管装置TG-100-A1を用い、その放射條件は管電壓90KV, 管電流3mA, 半價層Al. 6.0mm, 管球物體間距離35mmで、その分量は260r である。

觀察は豫備實驗の下、有絲分裂各期の細胞を夫々任意に10個を1群として比較成績を出した。

III 實驗成績

(1) 吉田肉腫腹水細胞の正常なる有絲分裂經過に就いて

有絲分裂過程を前期 (Prophase), 中期 (Metaphase), 後期 (Anaphase), 末期 (Telophase), に別け各期の時間を測定しその過程を觀察した。

この間静止核細胞はまず動かない。時に原形質の屈伸、核内構造の些少の移動變化を示すが著明でなくまず運動しない。その他の細胞として所謂白血球が存する。肥胖細胞は動かない。單球、淋巴球は核の動き著明でなく遊走しない。顆粒白血球は活潑に遊走する。

有絲分裂過程を觀察するに當つては静止核細胞より前期、中期、後期、末期と移行するのを觀察すれば理想的であるが、實際上困難であるから、前期の状態にあるものを見出し、その分裂過程を觀察する。従つて前期の時間測定は困難であるが幸にある腫瘍細胞分裂を觀察中、その隣にあつた静止核細胞が觀察24分位して前期に入り分裂を完了した。この例は前期12~14分、中期20分、後期4分、末期8分の成績を示した。同様の他の1例にて前期10~12分、中期38分、後期8分、末期5分の成績であつた。2例から全部をはかるわけには行かないが、之より推測すると前期の期間は約12分位と推定される。

前期の初期には核質が核仁及び核膜の方に集まり染色體に變り、次いで核内に均等に分布、微動運動し、それから核膜が消失して原形質内に染色

吉田肉腫分裂時間

Phase Cell No.	Pro-	Meta-	Ana-	Telo-	M+A+T	Total	Animals
A 1	5'+x' ₁	18'	4'	6'	28'	33+x' ₁	1
A 2	14'	20'	4'	8'	32'	46'	1
A 3	11'	34'	4'	6'	44'	55'	2
A 4	5'+x' ₄	20'	5'	9'	34'	39+x' ₄	2
A 5	9'+x' ₅	26'	4'	7'	37'	46+x' ₅	2
A 6	5'+x' ₆	18'	4'	5'	27'	32+x' ₆	2
A 7	7'+x' ₇	22'	5'	7'	34'	41+x' ₇	3
A 8	4'+x' ₈	20'	4'	4'	28'	32+x' ₈	4
A 9	8'+x' ₉	23'	4'	7'	34'	42+x' ₉	5
A 10	3'+x' ₁₀	23'	4'	6'	33'	36+x' ₁₀	5
Average		23'	4'	6.5'	33'		

體が擴まり、それが放射狀若くは並行狀の中期の配列に移行するのが觀察出来る。

中期の放射狀若くは並行狀の染色體群は微動を續け乍ら赤道板に列に配列し次の後期に移行する。中期に要する時間は平均23分の成績である。

後期は染色體群が二つに分離し紡錘を作り互に兩極に向つて移動する。それに従つて原形質は増大し橢圓形となり中央にくびれを生じて末期に移行する。後期は4分位で経過する。

末期の終りは分離兩娘細胞が静止核細胞になつた時即ち兩娘細胞の核膜再形成を完成した時を以て終點とするのが理想的であるが位相差顯微鏡下で核膜再形成を確認出来なかつた。そこで娘細胞の原形質分離完了した時を以て實驗上末期の終として記録した。その時間は6~7分である。この時兩娘細胞の核(若くは染色體塊)は細胞の極に扁在する。之が細胞の中心に戻り静止核細胞の如くみえるには尙5~6分を要する。

従つて實際に各例で測定し得た期間は中期+後

期+末期の時間で平均33分になつている。後章の實驗値の比較にはこの値を用いる。

以上より有絲分裂完成時間を推定すると12分(前期推定)+33分(中期+後期+末期)+6分(原形質分離後扁在する核が中央に位置する時間)、即ち51分と云ふ成績になる。

小 括

細胞分裂時間並びに分裂週期の問題に就いては古く Strangeways (1922) が鶏胎の Chroid cell の *in vitro* 培養で直接觀察して、細胞分裂時間は前期の始から娘核がはつきりみられる迄23~65分、平均34分、その分裂週期11~12時間と報告している。Love (1931) は同じ鶏胎組織培養でX線照射による分裂阻止の量的實驗により分裂時間40分と推定した。Klein u Révész (1953) は Ehrlich 腹水腫瘍の有絲分裂時間34~132分、平均64±7分と報告している。

吉田肉腫を用いて調べたのでは廣野 (1950)、牧野、中原 (1952)、佐藤、熱海等(1952)の *in vitro*

	温 度	前 期	中 期	後 期	末 期	再 建 期	總 時 間
廣 野	37°~38.5°	30'~60'	6'~12'	2'	4.5'~5'	30'~60'	75'~140
牧野・中原	35°	14'	31'	4'	21'		70'
佐藤・熱海 佐藤・中村	37°	8.4+x'	6.5'	3.9'	28.6'		47'+x'
小 原	37°~38°	12'	23'	4'	6'	6'	51'

單位 min

の直接観察があり、更に牟田、岡田の計測推論がある。

今諸家の in vitro 直接観察の比較表を作製してみると表の如くである。

成績幾らかづつ異なるが、特に前期の始、末期の終、核再建期は判定基準のとり方により異なり議論のある所である。従つてそれにより分裂完了時間も色々になる。然しその點を考慮に入れて眺めれば隔絶した差はない様に思われる。佐藤等は細胞増加の數學的計算により有絲分裂完了時間65分、有絲分裂環約16時間と報告している。又牟田、岡田は放射線照射後核分裂像の消失時間から推論して平均分裂時間40~80分、分裂周期16~44時間と云う推定値を出している。之等の推定値と in vitro の観察値比較してみると大體近似している。

Karyokinese の各期に就いて前期、中期、後期、末期に別けたが、各期の限界には判定に困難がある。然しその實驗を通じて同一の位置におかれるならばその限界に決定的な意味はない。

(2) 分裂期吉田肉腫細胞に對するX線の作用
既に核分裂状態に入っている腫瘍細胞即ち分裂期吉田肉腫細胞に種々の量のX線量を放射し分裂過程を検討してみる。

前期及び中期の状態にある分裂細胞に 100r、

300r、500r、1000r、2000r、5000r、10000r のX線量を放射して以後の分裂経過を觀察し分裂細胞自體の受ける變化を記録した。

I) 100r 前期放射群

10例觀察中2例の細胞は末期の状態では原形質分離完了せず、染色體紡錘凝集し萎縮核となり、細胞の變性像を示し分裂を完了しなかつたが、他の8例は分裂を完了した。この8例の各期経過時間を平均してみると中期20分、後期4分、末期6分(M+A+T)28分の成績になり、略く正調の分裂経過と同じ時間経過であり、又その分裂経過にも形態的異常を認めない。又標本中の顆粒細胞の遊走も正調標本と同様であり静止核細胞にも形態的變化認めない。

即ち前期後の腫瘍細胞有絲分裂は 100r 放射ではその分裂過程を正調に完了し形態的異常示さない。

II) 300r 前期放射群

10例中3例有絲分裂完了せず、1例は中期で2例は後期にて染色體群運動停止し萎縮凝集核となり分裂完了していない。他の7例は分裂完了し、7例平均中期21分、後期4分、末期6分(M+A+T)31分と略く正調の各期時間経過で分裂過程進行している。静止核細胞にも變化認められず、顆粒白血球の遊走も對照と變りない。分裂完了し

100r 放射群

Cell No.	Phase		Meta-	Ana-	Telo-	M+A+T	分裂完了	Granulo-cyten 遊走	Animals
	Pro-								
B 1	(2)'+1'		18'	3'	4'	25'	+	+	6
B 2	(2)'+2'		16'	4'	7'	27'	+	+	7
B 3	(2)'+6'		14'	3'	6'	23'	+	+	7
B 4	(2)'+1'		15'	3'	10'	28'	+	+	8
B 5	(2)'+4'		15'	4'	5'	24'	+	+	9
B 6	(2)'+4'		28'	4'	5'	37'	+	+	9
B 7	(2)'+5'		21'	3'	3'	27'	+	+	10
B 8	(2)'+3'		22'	5'	→Pyknose		-	+	10
B 9	(2)'+2'		27'	4'	6'	37'	+	+	11
B 10	(2)'+1'		23'	5'	→Pyknose		-	+	11
Average (3 Cares)			20'	4'	6'	28'			

() 括弧内數字は放射操作時間、以下同様

300r 放射群

Cell No.	Phase		Meta-	Ana-	Telo-	M+A+T	分裂完了	Granulo- cyten 遊走	Animals
	Pro-								
C 1	(3)'+3'		37'	3'	5'	45'	+	+	12
C 2	(4)'+4'		20'	3'	4'	27'	+	+	13
C 3	(3)'+2'		15'	3'	5'	23'	+	-	14
C 4	(4)'+5'		55'	→Pyknore			-	+	14
C 5	(2)'+6'		20'	4'	6'	30'	+	+	14
C 6	(3)'+2'		20'	4'	8'	32'	+	+	14
C 7	(2)'+2'		19'	4'	8'	31'	+	+	9
C 8	(2)'+1'		20'	→Pyknose			-	+	15
C 9	(2)'+3'		30'	→ "			-	+	15
C 10	(2)'+2'		16'	4'	6'	26'	+	+	16
Average (7 Cases)			21'	4'	6'	31'			

た個々の細胞に就いてみるも特に経過の遅延するものなく異常形態もみられない。分裂完了しない3例については、対照観察でも分裂途中染色體群凝集萎縮の像を呈して分裂完了しない分裂細胞に遭遇することあるから、標本の偶然性も考えられ意義づけ困難で、X線の影響無視は出来ないが他の大半の経過像に鑑み、又概略の傾向を追求する立場から、この場合實驗誤差範囲内と想定した。

即ち 300r を前期の時期の吉田肉腫細胞に放射しても、その有糸分裂過程は大部分正調に経過して分裂時間の延長や形態的異常は認められない。

Ⅲ) 500r 前期放射群

10例中有糸分裂完了せるもの2例のみにして他の8例は分裂完了していない。分裂完了した2例

に就いてみると分裂各期の時間の延長が軽度のみられ、且つ形態的に後期に染色體群分離後染色體群凝集状を呈したり、點狀に無規律に散在したりして正調の構造即ち紡錘形成を示さず極移動の障碍を示し、細胞が障碍を受けた分裂であることが感ぜられる。分裂完了しない8例の経過をみると放射得前期の形の染色體群はまもなく中期の形に變り動いているのがみえるが、あるものは10分位からあるものは30分~40分~50分で染色體群動かなくなり凝集して變性核状になり、或は後期の始まりの如く染色體群對に分離し、それが紡錘を形成して極移動すべきものが、丁度火花状に周圍に點狀に散開してそのまま融合凝集して塊状變性核になつたりし、種々の形にて核の凝集した變性細

500r 放射群

Cell No.	Phase		Meta-	Ana-	Telo-	M+A+T	分裂完了	Granulo- cyten 遊走	Animals
	Pro-								
D 1	(3)'+6'		30'	→Pyknose			-	+	17
D 2	(4)'+1'		51'	→ "			-	+	7
D 3	(4)'		20'	→ "			-	+	8
D 4	(4)'		40'	3'	6'	49'	+	+	8
D 5	(4)'		30'	→Pyknose			-	+	8
D 6	(4)'+6'		20'	→ "			-	+	8
D 7	(3)'+5'		30'	4'	10'	44'	+	+	18
D 8	(5)'+4'		28'	→Pyknose			-	+	18
D 9	(4)'+4'		20'	→ "			-	+	19
D 10	(3)'+3'		20'	→ "			-	+	19

中期 500r 放射群

Phase Cell No.	Meta-	Ana-	Telo-	A+T	分裂完了	Granulo- cyten 遊走	Animals No.
E 1	(4)'+8'	3'	6'	9'	+	+	8
E 2	(4)'+6'	3'	5'	8'	+	+	8
E 3	(3)'+27'	3'	8'	11'	+	+	8
E 4	(3)'+5'	3'	5'	8'	+	+	16
E 5	(3)'+12'	3'	5'	8'	+	+	16
E 6	(3)'+15'	3'	4'	7'	+	+	16
E 7	(3)'+11'	4'	10'	14'	+	+	20
E 8	(3)'+12'	5'	6'	11'	+	+	20
E 9	(3)'+14'	7'→p			-	+	20
E 10	(3)'+10'	3'	5'	8'	+	+	20
Average (9 Cases)		3'	6'	9'			

胞になっている。この場合静止核細胞には形態的著變認められない。顆粒白血球の遊走するものやはりみられる。

500r 放射によつて吉田肉腫前期分裂細胞はその分裂過程に障害を受け、大部分中期、後期にて變性細胞となり分裂完了する場合にも時間的遅延、形態的異常を示す。

IV) 500r 中期放射群

中期の時期の分裂細胞に 100r, 300r の X線量放射してみると分裂は異常認めることなく完了する(各 5 例成績)。今前期の腫瘍分裂細胞に變化認めためたので中期の腫瘍分裂細胞に 500r 放射してその分裂経過を検討してみる。

10例中 1 例後期になつてからそのまゝ變性し末

期に移行しなかつたが、他の 9 例は分裂を完了した。その中 1 例は不平等分離の像を示し、核原形質とも一方極めて小さかつた。分裂完了した 9 例の後期平均 3 分、末期平均 6 分で正調であり、大部分形態的異常認められない。即ち前期の時期の分裂細胞が 500r によつて障害されたのに對し、中期の時期の分裂細胞は 500r 放射で分裂過程を完了し障害像を示さない。

V) 1000r 前期放射群

10例中 9 例中期の染色體配列にて染色體動かなくなり濃縮核状となつて細胞變性して行く。1 例の分裂完了したのもでも中期時間的に延長し、又後期後の染色體群の極移動障害され、定型的紡錘作らず分離染色體群塊状をなし索状に結合され、

1000r 放射群

Phase Cell No.	Pro-	Meta-	Ana-	Telo-	M+A+T	分裂完了	Granulo- cyten 遊走	Animals No
F 1	(5)'+2'	30'→p				-	+	22
F 2	(5)'	37'	4'	10'	51'	+	+	22
F 3	(5)'	28'	~~~~~	45'	原形質分離(+)核分裂(-)	-	+	23
F 4	(5)'	45'→p				-	+	24
F 5	(5)'	20'→p				-	+	24
F 6	(5)'	45'→p				-	+	24
F 7	(5)'	25'→p				-	+	25
F 8	(5)'	10'→p				-	+	25
F 9	(5)'+2'	20'→p				-	-	25
F 10	(5)'	19'→p				-	-	25

原形質分離の進行に伴い核部分が分離される如き外観を呈する。F 3例に於ては放射後28分後期の如く染色體群分離するも、極移動行わず再び融合し始め、その間原形質にはくびれを生じ段々分離進行するも染色體の融合塊は兩原形質内に分離せず一方の原形質内に存在し、45分位にて核を含まない比較的小さい原形質部分を遊離する像を示した。静止核細胞には形態的に變化を指摘出来なかつた。顆粒白血球はやはり遊走するもの認められることが多い。

即ち1000r 放射では分裂細胞の障碍著明に現わ

れ前期に放射された細胞は分裂を阻止される。

VI) 1000r 中期放射群

10例中5例中期若くは後期の状態で染色體群塊状となり、濃縮核、細胞變性の像示し分裂完了しなかつた。分裂完了した5例でも後期の時間的延長を認めたり、又染色體群分離定型的でなく兩染色體群索状に結合された塊なし、原形質の分離に伴いそれにひつばられて分離する如き像を示すこと多く、明らかに形態的異常を示す。

即ち1000r 放射では中期の分裂細胞に對しても著明に障碍作用を示す。

中期 1000r 放射群

Phase Cell No.	Meta-	Ana-	Telo-	A+T	分裂完了	Granulo- cyten 遊走	Animals No.
G 1	(5)'+1'	3'	6'	9'	+	+	20
G 2	(5)'+19'	3'	5'	8'	+	+	20
G 3	(5)'+7'	3'	9'	12'	+	+	22
G 4	(5)'+4'	16'→p			-	-	23
G 5	(5)'+40'	→p			-	+	24
G 6	(5)'+26'	4'→p			-	+	24
G 7	(5)'+10'	5'	6'	11'	+	+	25
G 8	(5)'+16'	9'	10'	19'	+	+	25
G 9	(5)'+15'	→p			-	+	25
G 10	(5)'+20'	→p			-	-	25

2000r 放射群

Phase Cell No.	Pro-	Meta-	Ana-	Telo-	分裂完了	Granulo- cyten 遊走	Animals No.
H 1	(9)'+1'	22'	4'	→p	-	+	26
H 2	(9)'	21'→p			-	-	27
H 3	(9)'	9'→p			-	+	27
H 4	(9)'	→p			-	-	28
H 5	(9)'	→p			-	-	28
H 6	(9)'	→p			-	+	29
H 7	(9)'	→p			-	+	29
H 8	(9)'	20'→p			-	+	30
H 9	(9)'	20'→p			-	+	30
H 10	(9)'	20'→p			-	+	31

VII) 2000r 前期放射群

2000r 放射の場合放射操作に9分要するので前期の分裂細胞に放射行い、観察を始めた時は中期の像を示しているものが大部分である。放射直後に前期の像を示しているもの10例中4例ありこの

中2例は普通に中期に移行し、他の2例は放射直後から濃縮凝集の状態を示し始め、前期、中期の別劃然とせずにそのまゝ變性細胞になつて行つた。放射直後中期の像示すものも中期の状態から染色體群濃縮凝集に移行するのをみる。總體的に

みて2000r 放射により分裂細胞の活動能は障碍され染色体群の濃縮凝集が段々はつきりして行く経過像を示す。放射直後の分裂細胞の染色体群は能動的に動いているのかどうかはつきりしない場合もあるが、少しずつ動き形態的に形が變つて行きそのまゝ10~20分位で染色体群凝集核の様相を示し細胞變性著明となつて行く。即ち2000r のX線量は前期分裂細胞の分裂能を完全に阻止することが出来る。顆粒白血球の遊走しているものはこの場合でも大半認められた。静止核細胞は形態的に判然とした變化認められず特別の所見に遭遇しなかつた。

VIII) 2000r 中期放射群

中期の分裂細胞に2000r 放射した場合にも、同様に核部分の染色体群は漸次濃縮凝集の像を示し細胞變性になつて行く。中期分裂細胞の場合、後期の始まりに染色体群分離し點狀の散開集團をなし極移動行わず、そのまゝ凝集核になつて變性細胞になつて行くのを認めることが多い。10例中1例2娘細胞に分離したが、染色体群の分離後凝集核状になり原形質のくびれによりひつばられて分離する如き外觀を示し著しい障碍像を示していた。即ち2000r のX線量は中期の分裂細胞の分裂

中期 2000r 放射群

Phase Cell No.	Meta-	Ana-	Telo-	分裂完了	Granulo- cyten 遊走	Animals No.
I 1	(9') → p			-	+	28
I 2	(10') + 5'	→ p		-	+	28
I 3	(9') → p			-	-	28
I 4	(9') → p			-	-	28
I 5	(9') → p			-	+	29
I 6	(9') → p			-	+	29
I 7	(9') + 15'	6' → p		-	+	30
I 8	(9') + 20'	5' → p		-	-	31
I 9	(9') + 16'	5' → p		-	+	31
I 10	(9') + 3'	ca 9'...	歪分裂	+	+	32

5000r 放射群

Phase Cell No.	Pro-	Meta-	Ana-	Telo-	染色糸 の動き	Granulo- cyten 遊走	Animals No.
J 1	(20')	↓ p			-	+	33
J 2	(20')	↓ p			-	+	33
J 3	(20')	↓ p			-	+	26
J 4	(20')	→ p			±	+	33
J 5	(20')	↓ p			-	-	34
J 6	(20')	↓ p			-	-	34
J 7	(20')	↓ p			-	+	34
J 8	(20')	↓ p			-	+	35
J 9	(20')	↓ p			-	+	35
J 10	(20')	↓ p			-	+	35

能も破壊する。

K) 5000r 前期及び中期放射群

放射操作に長時間要するので観察制限されるが、放射直後の観察では前期の分裂細胞も中期の分裂細胞も染色体群中期の配列にて濃縮凝集の像

を示して居り、染色体群の運動能はみられない。

即ちこの量のX線量を受けた分裂期腫瘍細胞は直接障碍を受け、そのまゝ分裂能、生活力を失い變性細胞になる。静止核細胞は歪んだ如き鮮明な核影像みたり、原形質邊緣に凹凸みたり、膨出物

出したりしているのを見ることあるも、個々の細胞で特記すべき變化を掴めなかつた。即ち生活能力を保持しているかどうかを判定出来ない。顆粒

白血球は大多數の標本にて遊走するのを認めている。顆粒白血球は生活能力を保持していると推定される。

中期 5000r 放射群

Cell No.	Phase	Meta-	Ana-	Telo-	染色絲の動き	Granulo-cyten 遊走	Animals No.
M 1	(20') ↓ p				—	+	41
M 2	(20') ↓ p				—	—	41
M 3	(20') ↓ p				—	+	41
M 4	(20') ↓ p				—	+	41
M 5	(20') ↓ p				—	—	42
M 6	(20') ↓ p				—	—	42
M 7	(20') ↓ p				—	+	42
M 8	(20') ↓ p				—	+	42
M 9	(20') ↓ p				—	+	43
M 10	(20') ↓ p				—	+	43

10000r 放射群

Cell No.	Phase	Por-	Meta-	Ana-	Telo-	染色絲の動き	Granulo-cyten 遊走	Animals No.
K 1	(40') ↓ p					—	—	36
K 2	(40') ↓ p					—	—	36
K 3	(40') ↓ p					—	+	37
K 4	(40') ↓ p					—	+	37
K 5	(40') ↓ p					—	+	37
K 6	(40') ↓ p					—	+	38
K 7	(40') ↓ p					—	—	38
K 8	(40') ↓ p					—	+	39
K 9	(40') ↓ p					—	+	40
K 10	(40') ↓ p					—	+	40

中期 10000r 放射群

Cell No.	Phase	Meta-	Ana-	Telo-	染色絲の動き	Granulo-cyten 遊走	Animals No.
N 1	(40') ↓ p				—	+	43
N 2	(40') ↓ p				—	+	43
N 3	(40') ↓ p				—	—	44
N 4	(40') ↓ p				—	—	44
N 5	(40') ↓ p				—	+	44
N 6	(40') ↓ p				—	+	45
N 7	(40') ↓ p				—	—	45
N 8	(40') ↓ p				—	+	45
N 9	(40') ↓ p				—	+	46
N 10	(40') ↓ p				—	—	46

X) 10000r 前期及び中期放射群

更にごく大量の 10000r 放射を行つて變化を検討してみた。分裂細胞は前期のもの中期のもの共に變性核、變性細胞になり、5000r 放射群と同様の所見で新しい變化證明されない。静止核細胞も 5000r 放射と略と同様の所見で生活能力の障害を思わせる所見に遭遇しなかつた。大部分の標本にて顆粒白血球の遊走しているのを認めることが出来る。そしてその形態並びに遊走方法に著明な障害像を認めない。

顆粒白血球の遊走能を確認する爲ラツテの血液封入標本を作製し、同條件にて放射を行い検討してみた。

血中顆粒細胞 10000r 放射

Cell No.	形態異常	遊走能
L 1	—	+
L 2	—	+
L 3	—	+
L 4	—	+
L 5	—	+

5例の検索にて 10000r 放射するも形態異常認めず、遊走のしかたにも普通の場合と著差を認めない。

小 括

分裂期吉田肉腫細胞に階段的に大量の X 線量を放射し、その間の染色体群の變遷過程即ち運動能、形態的變化、時間的経過等を判定基準として lethal dose を求め、分裂細胞が障害を受ける概略の傾向を検討した。

前期分裂細胞に就いてみると、100r, 300r, 放射の場合少数の分裂杜絶をみる他分裂細胞の有絲分裂経過は分裂の機序通り対照と變りなく進行し、而も形態的異常を示さず、この量の X 線では分裂経過には影響しないことが分る。然るに 500r 放射の場合分裂細胞は大部分障害を受け、分裂過程が阻止せられる。即ち中期後期にて染色体群の正調の活動能が失われ、濃縮、凝集等を起し變性の徴候を示す。この傾向は更に 1000r, 2000r と増量するに従い強くなり、染色体群の活動時間が短縮され、2000r で略と完全に分裂活動は阻止さ

れる。

中期分裂細胞に就いてみると 100r, 300r は勿論 500r 放射でもその分裂活動は完了し變化を認めない。1000r 放射により半数は分裂過程が途中で頓座して、染色体群の變性を示し、他の分裂の完了したものでもその過程に障害所見を認める。更に 2000r 放射では略と完全に中期分裂細胞も分裂能が破壊される。

5000r 以上放射では前期分裂細胞でも中期分裂細胞でも放射直後から染色体群の動きが認められず變性に移行し完全障害を明示する。

こゝで注目されるのは前期分裂細胞と中期分裂細胞の障害量にずれの生じた成績である。即ち前期分裂細胞は 500r により障害像が現われ始め、中期分裂細胞では 1000r から障害像を示し始める。共に 2000r では完全に破壊される。之は觀察上變化の發現する迄の時間が一方は充分であり他方は短きに過ぎたが爲であるとも考えられるが、形態的の比較からは分裂細胞の中期の段階は前期の段階より X 線に對し抵抗性が強い、換言すれば前期の状態の方が中期の状態より X 線感受性が大であると考へた方が説明し易い。

分裂細胞の活動は略と 2000r で阻止されるので、量を更に増して静止核細胞の變化を求めてみたが、個々の静止核細胞の状態から判定基準とり難く、X 線の影響認める成績を得られなかつた。

尙顆粒白血球は各放射群で遊走しているのを認めた。即ち 100r から 10000r 迄の X 線量では顆粒白血球の遊走能は破壊されない。

IV 考 按

(1) 實驗方法に就いて

位相差顯微鏡による in vitro の生きている細胞の觀察は in vivre にてその通りであるとは云われぬが、細胞活動の過程を経時的に追跡觀察出來、細胞に對する作用の傾向を直接的に推論出來る。但し生きている細胞の觀察は量的でなく質的に行つた場合、その對象は限られた細胞であり、細胞變化の偶然性を無視出來ない。従つて個々の變化はそれを特徴的に論及することは避くべきであらうと考へる。

分裂細胞に就いて lethal effect の判定基準として染色體の運動の停止、及びその配列異常や集塊化等の形態的變化に據つたが、この變化が即その細胞の死滅であるか、遅延死滅であるか、或は又病的に生きて細胞遺傳學的障礙を示すかは、觀察短時間であり且つ in vitro の標本で行われている以上明示するわけに行かない。何れもあり得ると考えられる。

この致死効果の判定の困難は静止核細胞に就いて觀察する時端的に現われる。Zollinger の云う brilliant type, hazy type 等の概念若くは何等かの不可逆性を證する實驗法を得て今後追求されるべきものであろう。本實驗に於ては静止核細胞に關連する所見を得なかつた。

静止核細胞のX線障礙に就いては Gärtner (1953) は有絲分裂細胞出現頻度と破壊細胞出現頻度を比較して4000r により静止核細胞も壊死性細胞變化を起すと云つてゐる。

(2) 分裂細胞に對するX線の影響

前期分裂細胞に就いてみた成績 100r, 300r 放射では分裂過程は略々正調に経過し、500r 放射により分裂過程障礙され始め、1000r, 2000r と増量するに従いこの傾向強くなり、分裂活動阻止されると云う成績に就いて、之に關連する諸家の見解と合せ検討してみる。

100r, 300r 放射の場合分裂は完了している。從來知られている如く、又貴家、泉、幸田等が吉田肉腫細胞に就いて行つた實驗成績から、X線は核分裂能に對して影響を與え少量のX線により既に機能の中絶、即ち有絲分裂細胞數の低下、そして暫く減少の状態續き再び恢復して來る現象を示す。Crowther (1938) は少量放射により生ずる効果として、有絲分裂の阻止、Mutation の產生、時に細胞の死滅の三つをあげている。この 100r, 300r 位の少量による核活動の一時的中止と云う生理學的效果は一時的で、核分裂能には影響與えるが致死効果は示さないと考えられる。即ちこのX線の生理學的效果は個々の細胞の分裂能障礙や死滅を起すには、餘り重要でなく見える。分裂細胞の致死効果を示す量はより大量であらう。500r

以上放射の場合、染色體の變化が認められた。染色體の配列異常、集塊化等の分裂細胞の異常所見に就いては早く Alberti u Politzer が Total Pyknose として、又 Chromatinbrücken, Pseudoamitose の名で記載し、Strangeways u Hoo-wood は Granular Change の名で注目している。更に Juul u Kemp (1931), Riley (1936), Luther (1940), Sax (1942), 貴家、泉、等により確認されている。Gärtner (1953) は核障礙自身は染色體變化としてはつきりし、染色體個々の表面の肥厚目立ち、Karyokinese の経過中隣りの染色體との粘着もたらす。例えば後期では所謂 Brückenbildung が現われ、強障礙では肥厚が塊状となり形態的にはもはや分化した染色體群を作らなくなると述べ、更に一定時間後に始まる細胞變性の出現は Primäreffekt の致死的に障礙された有絲分裂細胞に歸している。

大量照射により生ずる染色體の變化はX線によるものであり致死効果を示す。致死効果は Chromosomal Aberration と lethal Mutation に歸せられる。X線による細胞障礙量に關して Vollmar u Rajewsky は鼠癌の腫瘍細胞を in vitro で觀察し 480r, 960r で細胞障礙が放射中始まり、障礙は回復しないばかりか種々の障礙期を経て細胞死に至り、1920r, 3880r で細胞死増すのを觀察した。又 Reid u Gifford (1952) は Strain L-mouse fibroblast を用いて遷延死觀察を行い、250r, 500r では回復起り 1000r, 2000r は lethal dose で、750r は一部 lethal dose であると報告している。大量放射により分裂時間の遅延は、私の實驗からは特徴的に表現する成績は得られなかつたが、充分考えられる事項である。之は既に Strangeways u Oakley により言及され貴家、泉、Gärtner は核分裂各期の出現頻度移動の成績から分裂時間の遅延を推論している。

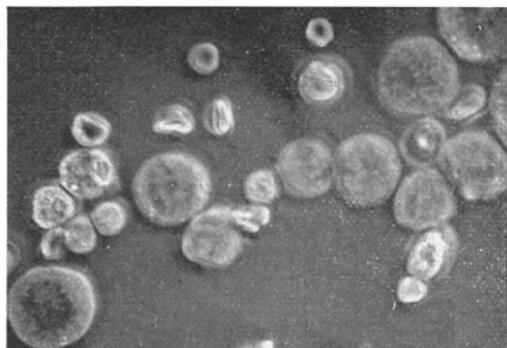
(3) X線感受性の問題に就いて

X線感受性に就いて疑問を持たばまず静止期と分裂期の線感受性差に興味向けられる。

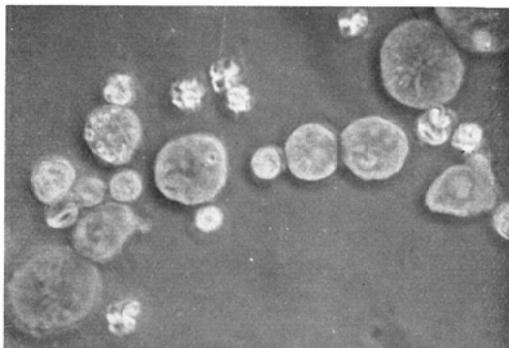
線感受性律動の問題に就いては mitosen index を基準としたX線の核分裂能への律動から種々論

附圖 I 吉田肉腫腹水細胞正調分裂 B.M.×630

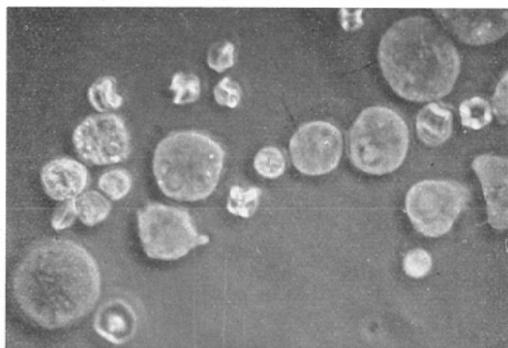
(1) 左下A細胞, 右上B細胞の2個の
前期分裂細胞認める



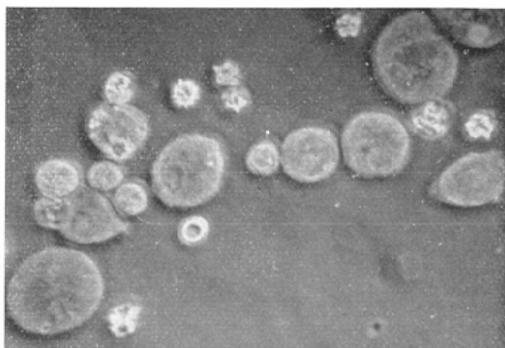
(5) 16分後



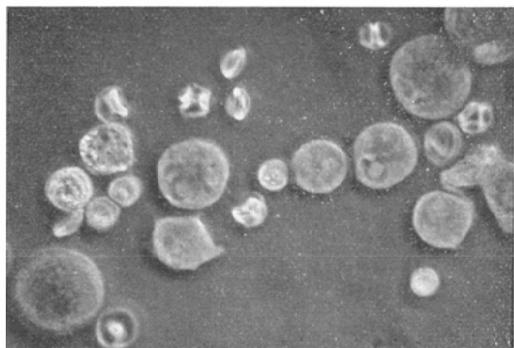
(2) 4分後, B細胞中期に移行



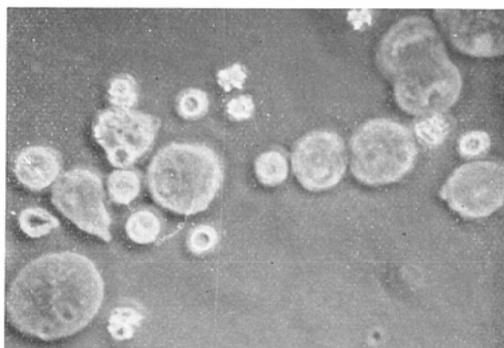
(6) 20分後, B細胞後期



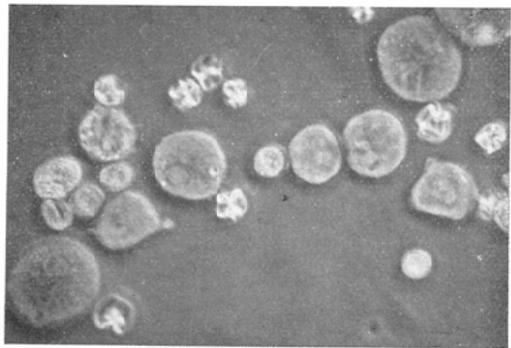
(3) 8分後, A細胞も中期に移行



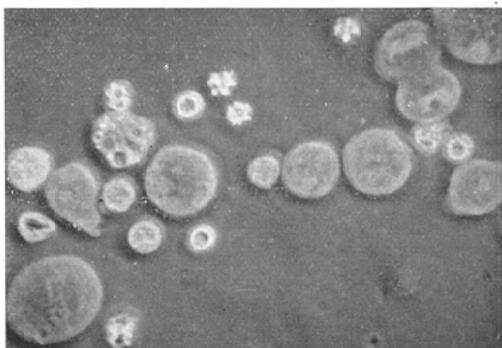
(7) 24分後, B細胞末期移行



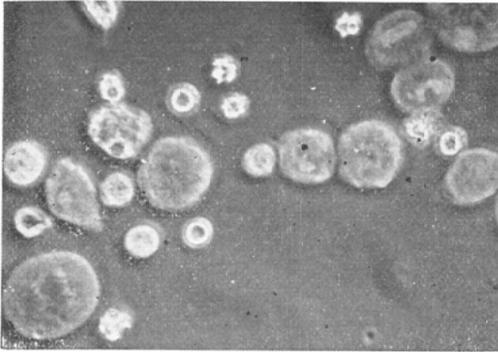
(4) 12分後



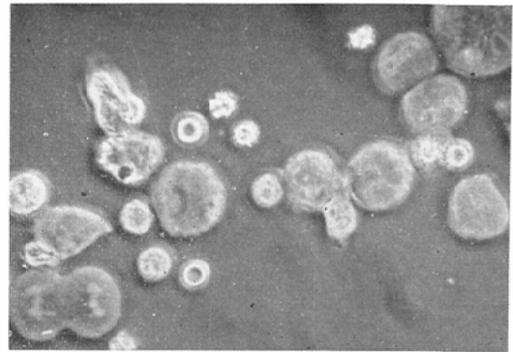
(8) 26分後, A細胞後期移行



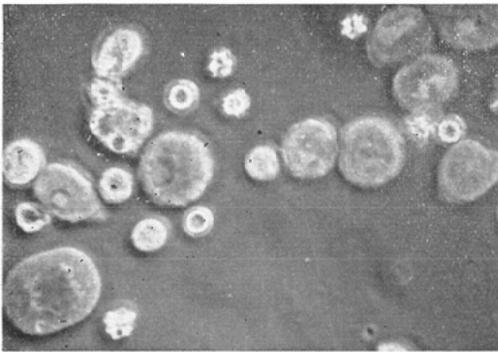
(9) 28分後, A細胞後期



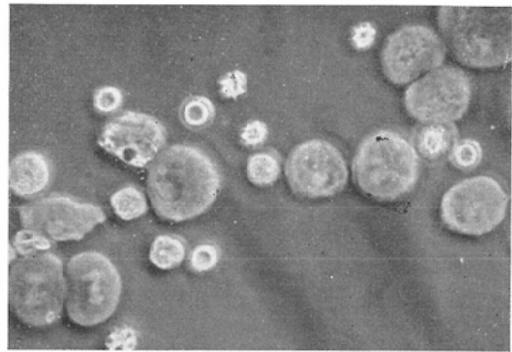
(11) 34分後, A細胞末期移行



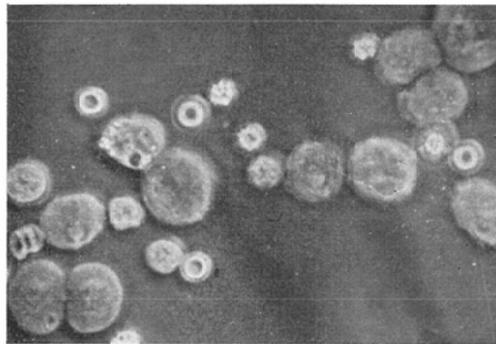
(10) 30分後



(12) 38分後

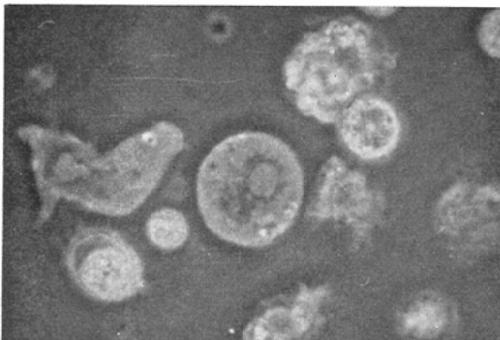


(13) 42分後

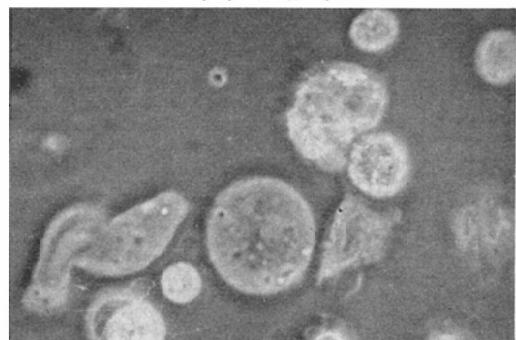


II 500r 放射例 B.M.×630

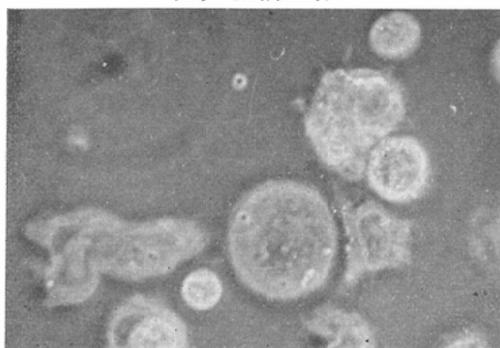
(1) 放射前



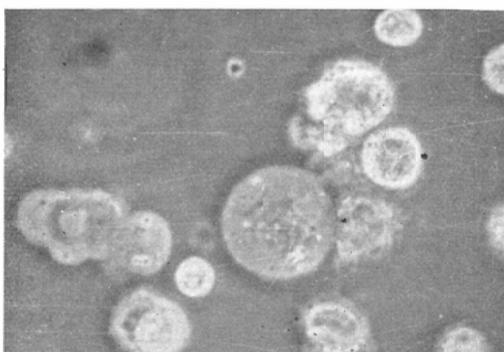
(2) 放射直後



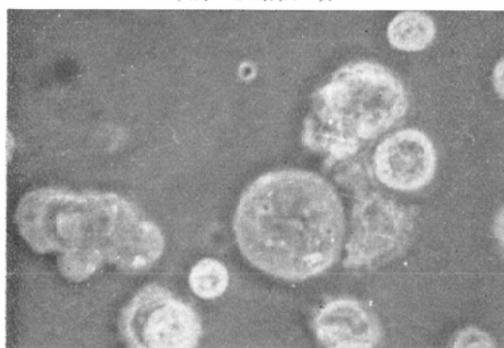
(3) 放射後5分



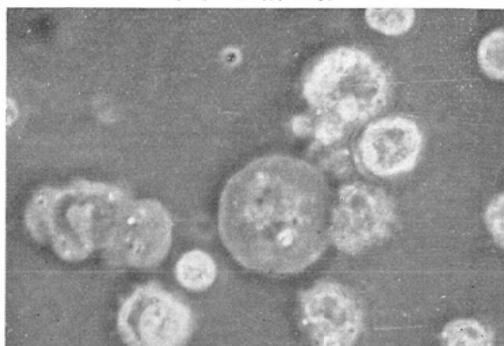
(5) 放射後20分



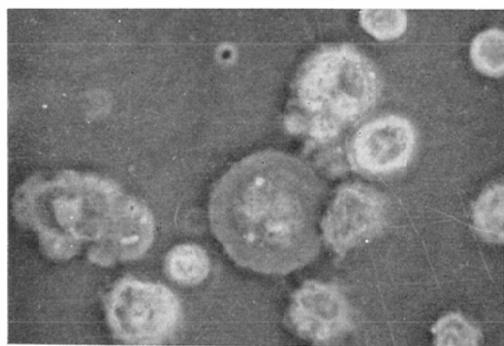
(4) 放射後10分



(6) 放射後30分

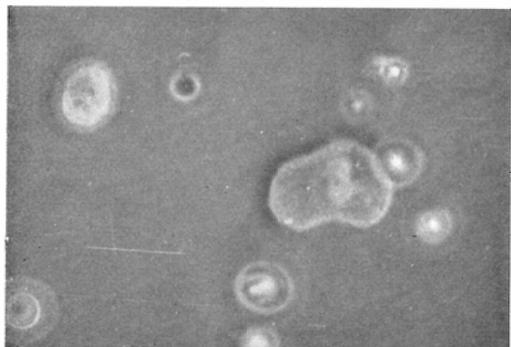


(7) 放射後40分

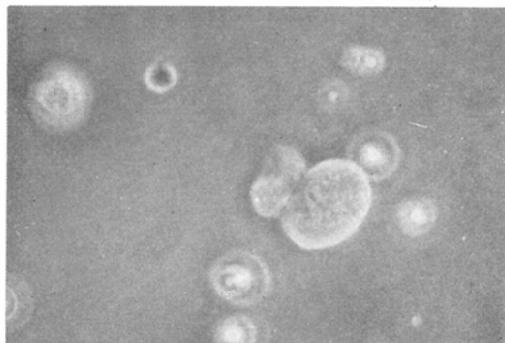


III 1993r 放射例

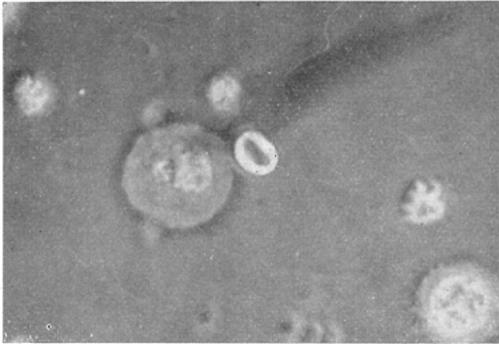
(1) 放射後38分. (後期: 染色體群凝集, 原形質部分分離し始める)



(2) 放射後48分 (無核の原形質部分のみの分裂に進行)



IV 1000r 放射例
放射後の細胞變性像



げられている。古く Mottram(1913), Holthusen (1921), は中期が最も線感受性であると述べ、Regaud (1925) は前期及び後期, Vintemberger (1928) は末期, 齋藤 (1935) は前期及び末期が線感受性大であるとした。

Strangeways u Hoopwood (1926), Langendorff (1931), 山下等 (1939) は前期の初期が最も線感受性大であると述べ Love (1931) は核分裂の始まる前3時間の間が線感受性が大であるとした。Juul u Kemp, 貴家, 泉は Praemitose 即ち前期を作る機構が最も感受性高いと推断している。前期分裂細胞に階段的に大量のX線を與え検した成績から 100r, 300r 等の量で注目を惹くX線の核分裂への作用は、照射中現存する分裂細胞はそのまゝ機能を営むものであり、比較的少量の放射線投與で起る Mitosen index 低下の所謂第1効果は、新しく細胞が分裂に入るのが阻止されるに由るのであると解される。X線量が 500r 以上の大量になるに従い分裂細胞そのものの異常、即ち障碍死滅が加わつて来る。従つてX線感受性の最も強い時期は前期を作る機構 Praemitose であるとする Juul u Kemp, 貴家, 泉等の意見と見解を同じくする。

更に分裂期各期の感受性律動に就いては前期、中期、後期、末期を全部選擇的に比較出来なかつたが、比較時間的に可能であつた前期並びに中期の分裂細胞の放射実験から考えてみる。

500r 群, 1000r 群にみる前期分裂細胞と中期

分裂細胞の障碍のずれより見ると、前期分裂細胞が中期分裂細胞より線感受性が高くみえる。然しX線作用過程が作用効果として表示される間にはある潜伏期が経過すると云ふことにより一は障碍が現われ、他は現前しなかつたと云ふ事情は考えられることである。こう考えると前期と中期との間に感受性の差を強調するのは無理かも知れない。まあ中期分裂細胞は前期分裂細胞より線感受性高くはないと位は言えそうである。それにしても貴家, 泉等が述べる如く、各期細胞の減少が時間的に遅延し、分裂の機序の如く減少すると云ふ所見よりすれば、やはり分裂各期細胞は特別の感受性律動を持たず、その線感受性は等價に近く評價されるべきものかも知れない。

V 總括

吉田肉腫分裂細胞を *in vitro* にて位相差顯微鏡を用いて観察し、それに階段的に大量のX線量を放射し、分裂細胞の障碍傾向を検討し次の成績を得た。

1. 吉田肉腫細胞の有絲分裂過程は一定度以上のX線照射により障碍を受け、それは線量が増すに従つて著しくなる。
2. 100r, 300r 放射の場合は分裂細胞の有絲分裂経過は機序通り進行し障碍像を示さず完了する。
3. 前期分裂細胞は 500r 放射により分裂進行の障碍を示し始め、1000r, 2000r と増量するに従い障碍は強くなる。
4. 中期分裂細胞は 500r 放射の場合は末期迄の觀察では障碍を示さないが、1000r 放射で障碍像を示して来る。
5. 前期分裂細胞も中期分裂細胞も 2000r 放射で分裂活動破壊される。
6. 中期の段階は前期の段階より線感受性鈍いか同等に近いのである。
7. 5000r 以上放射すると放射直後から染色体群の活動認められない。
8. 分裂細胞の障碍と静止核細胞の障碍との関連は將來検討すべき問題である。
9. 吉田肉腫分裂細胞の有絲分裂完了時間は平

均51分の成績を示した。

10. 顆粒白血球は 10000r 迄の X線量では遊走能を保持する。

文 獻

- 1) 牟田: 日醫放誌, 10, 1, 30, 1950. —2) 貴家: 日醫放誌, 12, 8, 8, 1952. —3) 泉: 日醫放誌掲載予定. —4) 岡田, 牟田: 日醫放誌, 14, 1, 79, 1954. —5) 三輪, 山下, 森: Gann, 33, 1, 1939. —6) 廣野: Gann, 41, 201, 1950. —7) 廣野: Gann, 42, 225, 1951. —8) 牧野, 中原: Gann, 43, 302, 1952. —9) 佐藤, 熱海, 佐藤, 中村: Gann, 43, 303, 1952. —10) Grasnick: Arch. Mikro. Anat. 90, 1, 1917. —11) Alberti u Politzer: Arch. Mikro. Anat. 100, 83, 1924. —12) Alberti u Politzer: Fortschr. Geb. Röntgenstr. 32, 56, 1924. —13) Spear: Arch. exper. Zellforsch, B. 11, 119, 1931. —14) B. Cox: Arch. exper. Zellforsch B. 11, 121, 1931. —15) Kemp: Arch. exper. Zellforsch B. 11, 435, 1931. —16) Love: Arch. exper. zellforsch B. 11, 224, 1931. —17) Vollmar: Arch. exper. Zellforsch B. 22, 407, 1938. —18) Zollinger: Am. J. Path. 24, 545, 1948. —19) Zollinger: Am. J. Path. 24, 1039, 1948. —20) Zollinger: Am. J. Path. 24, 569, 1948. —21) Zollinger: Am. J. Path. 24, 797, 1948. —22) Reid u Gifford: J. Nat. Cancer Inst. 13, 2, 1952. —23) Crowther: Brit. J. Radiol. 11, 132, 1938. —24) Spear u Glücksmann: Brit. J. Radiol. 11, 128, 533, 1938. —25) Lasnitzki: Brit. J. Radiol. 13, 152, 279, 1940. —26) Glücksmann:

- Brit. J. Radiol. 14, 187, 1941. —27) Riley: Cytologia. 7, 131, 1936. —28) Sax: J. Gen. Phys. 25, 533, 1942. —29) Marshak: Radiology. 39, 621, 1942. —30) Stoel: Zeitschr. Krebsforsch. 26, 386, 1928. —31) Saito: Jap. J. Obstet. Gynecolog. 13, 237, 1935. —32) Strangeways: Proc. Roy. Soc. B, 94, 137, 1923. —33) Strangeways u Oakley: Proc. Roy. Soc. B. 95, 373, 1924. —34) Canti u Donaldson: Proc. Roy. Soc. B. 100, 413, 1926. —35) Mottram, Scott u Russ: Proc. Roy. Soc. B. 100, 326, 1926. —36) Strangeways u Hoopwood: Proc. Roy. Soc. B. 100, 283, 1926. —37) Canti u Spear: Proc. Roy. Soc. B. 102, 92, 1928. —38) Canti u Spear: Proc. Roy. Soc. B. 105, 93, 1930. —39) Hampearl u Schwarz: Str. ther. 24, 607, 1927. —40) Seulberger, Schmidu Kröning: Str. ther. 31, 467, 1929. —41) Langendorff: Str. ther. 40, 97, 1931. —42) Gambarow: Str. ther. 41, 531, 1931. —43) Langendorff: Str. ther. 42, 793, 1931. —44) Jüngling u Langendorff: Str. ther. 44, 771, 1932. —45) Junl u Kemp: Str. ther. 48, 457, 1933. —46) Gregori: Str. ther. 65, 163, 1939. —47) Vollmar u Rajewsky: Str. ther. 60, 524, 1937. —48) Luther: Str. ther. 66, 40, 1939. —49) Gallavresi: Str. ther. 66, 241, 1939. —50) Luther: Str. ther. 68, 185, 1940. —51) Jüngling u Langendorff: Str. ther. 69, 181, 1941. —52) Gärtner: Str. ther. 89, 26, 1953. —53) Klein u Révész: J. Nat. Cancer, Inst. 14, 2, 1953.

The Influence of X-ray Irradiation on the Process of Mitosis of the Yoshida Sarcoma Cell

By

Junnosuke Obara

From the Department of Radiology, Faculty of Medicine, Tohoku
University, Sendai. Director: Prof. Y. Koga

A number of works have been represented on the influence of x-ray upon the Yoshida ascites sarcoma and it is known that Yoshida sarcoma cells show many kinds of morphological changes by irradiation. The functional changes, however, are still insufficiently known and the studies are in a sense just started by the use of the phase microscope. Now, I took up the following questions:

1. Are the tumor cells in the beginning of mitosis damaged in its mitotic actions by x-ray irradiation?

2. How much x-ray dosis is enough to damage and what kind of processes are seen if the mitotic cells are damaged by x-ray irradiation?

In this experiment the Yoshida sarcoma cells were irradiated and the influences of x-ray on the mitotic function of the cells were studied by using the phase-microscope and vital microscopic pictures. The results were:

1. The x-ray irradiation damaged the mitotic actions of the Yoshida sarcoma cells and the more irradiation dosis was given, the more damages were seen.

2. In case of within 300 r of the irradiation dosis, the processes of the mitosis were normal and ended without any damage.

3. In case of over 500 r of the irradiation dosis, some damages of the mitosis were seen. The cells in prophase showed damages during the period of observation by over 1,000 r. In case of 2,000 r all phases of the mitosis were seen to be damaged.

4. The damages of the mitosis were seen especially in the chromosomes functions, consisting of interruption of the action and of separation or conglomeration of the chromosomes. These changes of the chromosomes were seen just after the irradiation in case of over 5,000 r but when the irradiation dosis were less the changes appeared after some latent time.

5. The mitotic actions of the Yoshida sarcoma cells were observed to keep normal about one hour and a half after replacing them into the observation chamber from the ascites.

The normal duration of a single mitosis of the Yoshida sarcoma cells was 51 minutes in the average.

6. On the other and, the locomotive function of the granulocytic leucocytes in the ascites were observed even in case of 10,000 r.