



Title	放射線貧血に関する実験的考察
Author(s)	羽田, 良洋
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1967, 27(9), p. 1217-1229
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/20456
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

放射線貧血に関する実験的考察

岡山大学医学部放射線医学教室（指導 山本道夫教授）

大学院学生 羽 田 良 洋

（昭和42年3月20日受付）

A Study on Anemia Induced by X-Ray Radiation

By

Yoshihiro Hada

Department of Radiation Medicine Okayama University Medical School

Okayama, Japan (Director: Prof. Michio Yamamoto)

Male rabbits weighing about 2.5 kg were exposed to whole-body X-ray irradiation of 1000R in order to study the post-irradiation anemia. For this purpose the experiments were carried out at varying intervals after irradiation in the order as follows.

- (1) Take red blood cell counts (RBC), white blood cell counts (WBC), reticulocyte counts, hematocrit and hemoglobin (sahli) fluctuations;
- (2) Determine the erythrocyte resistance to the hypoosmotic saline;
- (3) See the erythrocyte survival rate by the method of ^{51}Cr (Cooper);
- (4) Study the serum iron concentration and erythropoiesis by the method of ^{59}Fe (Huff); and
- (5) Carry out serum lecithin estimation.

As the result it was found that the post-irradiation fluctuations of RBC, WBC counts, reticulocyte counts in these animals seemed to be nearly the same as those previously reported by other investigators (Fig. 1).

As for the erythrocyte resistance to hypoosmotic saline there could be observed only an initial decrease in the osmotic fragility after 6 hours and recovery after 24 hours. The erythrocyte survivals as measured by the ^{51}Cr method revealed that the red blood cells in an irradiated host had no shortening of survival time in comparison with that of control group when transfused into non-irradiated rabbits, but red blood cells irradiated in vitro showed a marked shortening of the survival time when transfused into nonirradiated one. On the other hand, red blood cells from both irradiated and non-irradiated rabbits showed a moderate prolongation of survival time when injected into previously irradiated animals.

Therefore, it is reasonable to assume that the ionizing radiation effect on erythrocytes may not be direct but indirect one, perhaps through the variation in serum properties.

The serum iron measurement revealed a rapid decrease within the first 6 hours accompanied by a subsequent increment to 1.5 times of preirradiation level for 24—48 hours. Relative to the ^{59}Fe injected in the form of ^{59}Fe -globulinate, the plasma iron disappearance (PIDT 1/2) was considerably prolonged in rabbits immediately after the irradiation and the plasma iron turnover rate or the red cell utilization was also markedly disturbed by X-ray radiation.

There could be recognized little changes in the serum lecithin level but a slight decrease (correspond-

ing to about 10% of preirradiation level) within the first 1—12 hours, which showed an increment (corresponding to 20% of preirradiation level) by the tenth postirradiation day, and thereafter a decrease occurred again, which seemed to coincide with the onset of the decrease in the number of erythrocytes.

These results seem to indicate that the formation of lysolecithin, which has tremendously strong hemolytic activity was elicited by catalysis of phospholipase A. However, it is premature to conclude definitively the lysolecithin formation on the basis of these observations only.

緒 言

放射線治療に於て直面する最大の難関は、放射線障害にある。特に悪性腫瘍ではそれ自体のもたらす悪液質と相俟つて障害のみが却つて顕著となる場合が多い。ところで細胞分子のレベルで放射線照射を考察すると結果として現われる治療効果と障害は本質的には同一のものであると思われる。従つて放射線障害の探索は同時に治療効果の一端を覗い知ることでもあると考える。血液学的な放射線障害の一つに放射線貧血を挙げることが出来る。これらは照射の生体に及ぼす造血機能障害、血球破壊の亢進、出血等の不均衡による結果であるが近時、検査方法の発達によりこれらの全貌が漸次解明されつつある。血液変化を数的、形態的にいわゆる静的に捉える方向は既に過去のものとなり動的、機能的な把握が要求されてきている。Huff¹⁾、Polycove²⁾、等により開拓され応用された放射性アイソトープの利用は臨床的にもこれら血液疾患の病態観察に極めて有効な方法であると云える。

古く Heineke の報告³⁾以来、流血中の赤血球自体は放射線に抵抗性が強いとされ放射線照射による赤血球破壊は、放射線の赤血球に対する直接作用ではなく赤血球以外の間接作用による溶血によるものと云われている^{4)~7)}。山本⁸⁾、大原⁹⁾は既にこれらの間接的に溶血を起す物質に着目し照射家兎及び非照射家兎より同一操作により抽出した磷脂質の中に溶血性物質の存在を指摘し、これらの物質はリゾレシチンであろうとの想定を行つてゐる。リゾレシチンはレシチンを母体として酵素作用により生ずるが、この度我々はレシチンの定量を行いこれの消長によりリゾレシチンの変動を探索し、あわせて赤血球抵抗の変化を測定した。更に、⁶¹Cr 法による赤血球寿命測定及び⁵⁹Fe 法

による生体の鉄代謝より造血機能を検索する目的にて、次に述べる実験を行つたので報告し諸氏の御批判を載きたいと考える。

実験材料ならびに照射条件

1) 実験動物 体重約 2.5kg の白色雄性家兎を用いた。飼育は実験動物中央研究所製の固型飼料と水道水で行い動物小屋の室温は 20°C 前後に保つよう努めた。実験は秋より春にかけて行い厳寒、酷暑の時期はさけた。

2) 照射条件及び照射方法、東芝 KXC 18 型深部治療装置を用い管電圧 200KVp、管電流 25mA、濾過板 0.5mmCu + 0.5mmAl、距離 50cm、半価層 1.36mmCu、線量率 72R/min で照射し、照射方法は一座全量 1,000R (空中線量) 全身照射とした。

実験方法とその結果

I) 一般検血としての赤血球数、白血球数及びその分類、血色素量、網状赤血球数、ヘマトクリットの経時的変動

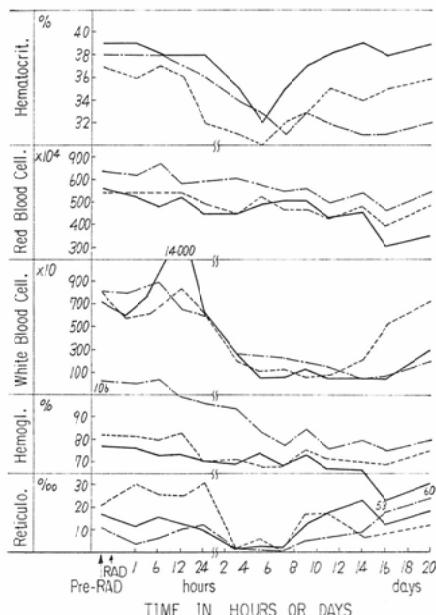
1) 実験方法 実験動物数は 3 匹とし、検血は全て臨床的に用いられるものを利用した。検血は照射前、照射後 1, 6, 12, 24 時間その後は約 2 日ごとに行い 20 日間の経過変動を観察した。ヘマトクリットはマイクロ・ヘマトクリット法を、網状赤血球数はプリラント・クレシール青塗抹標本によつた。

2) 実験結果 実験結果は Tab1. 及び Fig. 1 に示す如くである。血色素量 (ザーリー) については照射後 3, 4 日頃より減少傾向がみられ、これらの消長は赤血球数のそれとかなり平行的に変動するが、ヘマトクリット及び網状赤血球については減少傾向は赤血球のそれよりやや早期に起るようと思われる。特に、網状赤血球は照射後 2 日頃より減少し、4 ~ 7 日頃で最低値を示すが、

Tab. 1 Fluctuations of the erythrocyte counts, leukocyte counts, hemoglobin and reticulocyte counts at varying time after irradiation

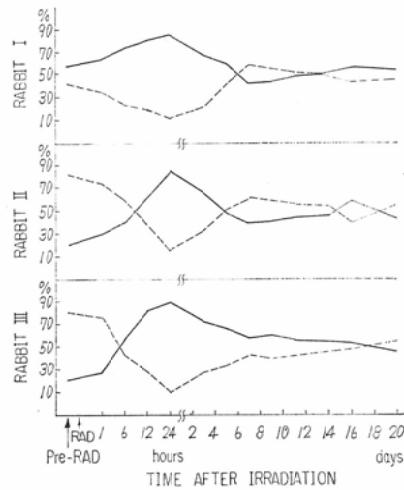
		pre-Rad level	after irradiation											
			1	6	12	24 hr	3	5	7	9	11	14	16	20day.
Rabbit I	Hemogl.	77	76	73	73	70	69	74	67	73	64	65	53	60
	R.B.C	558	521	478	520	449	445	490	506	512	433	459	306	360
	Reticul.	17	12	16	13	10	1	3	2	12	18	23	12	18
	W.B.C	7250	6050	7750	14620	6400	2500	700	500	1250	750	600	350	3000
Rabbit II	Hemogl.	82	81	80	83	70	70	68	68	75	72	70	69	75
	R.B.C	549	543	550	544	491	461	527	485	485	432	487	407	490
	Reticul.	21	30	26	25	31	1	6	1	17	17	7	8	12
	W.B.C	8100	5850	6275	8400	6300	2200	900	1125	525	750	2200	5250	7400
Rabbit III	Hemogl.	106	105	107	99	96	94	84	78	85	76	80	75	80
	R.B.C	633	624	673	588	597	608	583	554	564	508	548	483	550
	Reticul.	11	4	6	10	12	2	1	0.5	5	7	14	28	34
	W.B.C	8100	7925	8950	5620	5000	2700	2450	2250	1400	1550	750	800	2000

Fig. 1 Figure of the Table 1
 ——— Rabbit 1
 Rabbit 2
 -·--- Rabbit 3



赤血球の著明な低下は照射後一週間頃より始まり15日前後で頂点に達しその後回復を見せた。全白血球数は照射後12時間で一過性增多を示し、これより以後急激に減少し照射後15日前後までこの傾向は続いた。Fig. 2に見られる如く分類においては全白血球の増減に一致して経過するのは主に、

Fig. 2 The effect of X-irradiation on the number of lymphocyte and polynuclear leukocyte (Pseudoeosinophilic leukocyte)
 ——— Polynuclear (Pseudoeosinophilic) leukocyte
 lymphocyte



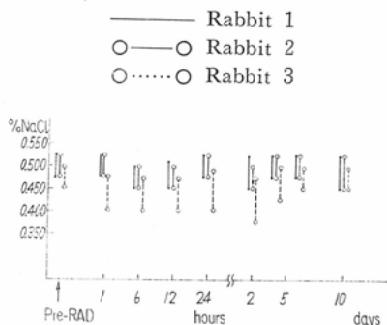
偽好酸球であり、リンパ球はこれと比較的、正反対の経過を辿った。

II) 赤血球抵抗に就いて

照射後(*in vivo*)末梢赤血球抵抗にいかなる変動が見られるかを経時的に観察した。実験動物は前項Iに使用したもの用いた。

1) 実験方法、臨床的に応用されている低張食塩水に対する赤血球抵抗を測定した。0.60~0.30

Fig. 3 Changes in the erythrocyte resistance to the hypoosmotic saline at varying time after whole-body irradiation



%の食塩水を 0.025% の差で系列的に作りこれの 5 cc に家兎耳静脈穿刺により流出する血液を 2 滴づつ加えて 12 時間室温 (15°C) に放置、溶血開始及び、溶血終了の食塩水濃度を肉眼的に求めた。

2) 実験結果、室温 12 時間放置後の溶血開始(最小抵抗値)は Fig. 3 にみる如く照射後 6 時間より 12 時間頃まで抵抗値の増大があり 24 時間で照射前の値に復する。最大低抵抗値も同様の変化を示したが両者とも 2 日以後はほぼ照射前の値と一致して経過した。即ち、赤血球抵抗値は照射後約 24 時間に増大を見せた。

Ⅲ) ^{51}Cr 標識赤血球交換輸血法による赤血球寿命の測定

放射線貧血の原因の一つは溶血が占める、との想定のもとにこの実験を行つた。特に、溶血が放射線の赤血球に対する直接作用によるものか、或は赤血球以外の変性による間接作用によるものかを検索するために交換輸血法を利用した。

1) 実験方法 実験動物の組合せは次の通りである。

i) 非照射家兎より採血、 ^{51}Cr 標識後非照射家兎に注射したもので対照群である。

非照射→非照射 (A群) と略す

ii) 照射家兎より採血し ^{51}Cr 標識後非照射家兎に注射したもの。照射 (in vivo) → 非照射 (B群) と略す。

iii) 非照射家兎より採血し in vitro で照射後 ^{51}Cr 標識を行い非照射家兎に注射したもの。照

射 (in vitro) → 非照射 (C群) と略す。

iv) 照射家兎より採血し ^{51}Cr 標識後照射家兎へ注射されたもの。照射→照射 (D群) と略す。

v) 非照射家兎より採血し ^{51}Cr 標識後照射家兎へ注射したもの。非照射→照射 (E群) と略す。

実験群は 3 匹を 1 群とし、照射は前記に示した通りである。donor 及び recipient はあらかじめ交叉試験にて凝集のないことを確認し併せてヘマトクリット、赤血球数、血色素量に異常のないものを用いた。血液は全血液を使用し採血は心臓穿刺によつた。 ^{51}Cr 標識は Cooper¹⁰ の方法に準じた。即ち $1/5$ 量の ACD 液に全血を混じ、これに $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ を加え 37°C に 1 時間放置、アスコルビン酸にて非標識 ^{51}Cr を除きこれらを 5 cc づつ各家兎に可及的緩慢に注射した。この結果、一家兎につき約 $15\mu\text{c}$ の ^{51}Cr が注射される様にした。これ以後は注射反対側の耳静脈より 3.8% クエン酸ソーダ 0.3cc を入れた注射筒にて 1.0cc 採血し、注射後 24 時間の放射活性 (c.p.m.) を同時に測定したヘマトクリットで除したものを 100% として経時的に放射活性を測定した。これらの値が 50% となる日数をみせかけの半寿命 (apparent half survival time) とし赤血球寿命の指標とした。測定は well type scintillation counter を用い全採血標本は同時に測定した。

2) 実験結果

i) 非照射→非照射 (対照群) [A群] のみせかけの半寿命 ($T^{1/2}$) は各々 12, 13, 13 日であった。

ii) 照射 (in vivo) → 非照射 [B群] の $T^{1/2}$ は各々 12, 12.5, 12 日であり対照群 [A群] との間に差は見られなかつた。

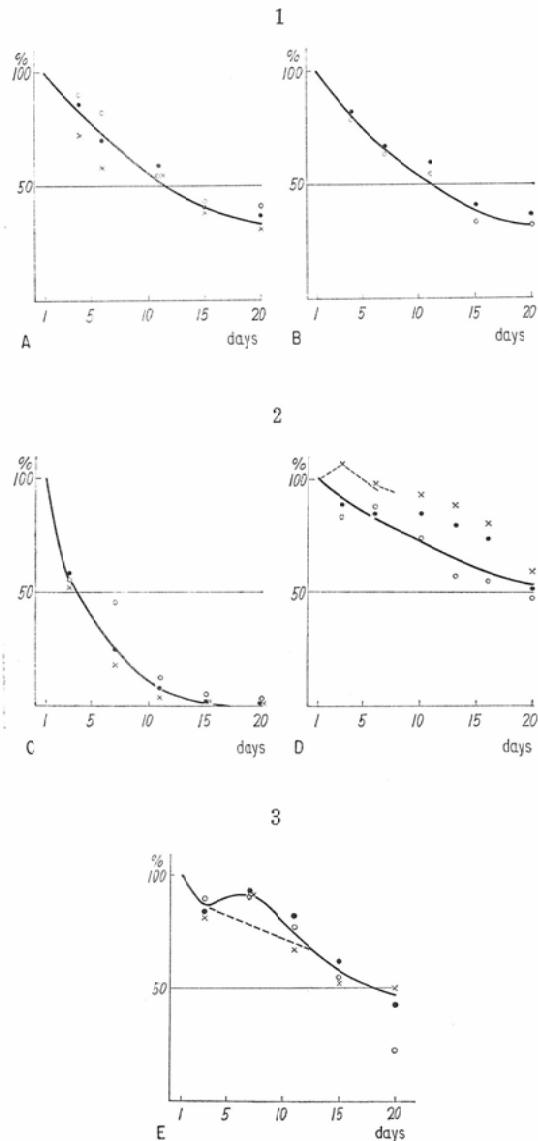
iii) 照射 (in vitro) → 非照射 [C群] の $T^{1/2}$ は各々 4, 5, 4 日であり前記 2 群に較べて著明な短縮がみられた。

iv) 照射→照射 [D群] の $T^{1/2}$ は 23, 21, 17 日で対照群 (A群) より延長していた。

v) 非照射→照射 [E群] の $T^{1/2}$ は 20, 17, 19 日と対照群 [A群] より延長していた。これらの結果を総括すると Fig. 4 の如くである。

Fig. 4 The survival rates of ^{51}Cr -labeled erythrocytes in various recipients

- The survivals of erythrocytes from non-irradiated donor transfused into non-irradiated recipient
- From irradiated donor into non-irradiated recipient
- Erythrocytes irradiated *in vitro* transfused into non-irradiated recipient
- Erythrocytes from irradiated donor into irradiated recipient
- From non-irradiated donor into irradiated recipient



IV] ^{59}Fe 法による造血機能の検索及び血清鉄の変動に関する実験的考察

照射による造血機能抑制を鉄代謝の面より考察するため ^{59}Fe 法及び血清鉄定量を行つた。特に大量放射線照射後、比較的早期に生ずる障害を検索する事と、もし照射により溶血亢進が起るとすれば血清鉄に変動がおよびはしないかとの想定のもとに本実験は進められた。

1) 実験方法

i) 血清鉄の定量 G. Barkan, 松原氏変法¹¹⁾を用いた。血漿2.0ccに1N塩酸1.0ccを加え80~95°Cで25分間加熱、これに20g/dlトリクロ酢酸1.0ccを加え遠沈し上清2.0ccを取り0.5g/dlアスコルビン酸10倍稀釀液及び30mg/dlフェナントロリン、30g/dl酢酸ナトリウム溶液を加え室温5分間放置後、島津製作所製 Beckman 光電比色計にて吸光度を求めた。定量は別に作製した標準曲線より γ/dL 単位で測定した。器具は全て脱鉄処理を施したもの用い水はイオン交換樹脂にて得た純水を使用した。採血は照射前、照射後1, 6, 12, 24時間及び以後2~3回/週の割に行い照射前を100%として経時的変動を観察した。尚、採血の影響を考慮し同一個体は可能な限り週1回以上の採血を行わないように努めた。

ii) ^{59}Fe 法による鉄代謝の検索 実験動物は非照射対照群と1000R全身照射後1時間のものの2群とした。方法は臨床的に拡く応用されている Huff¹²⁾ の方法に準じたが、これは血中に注射された ^{59}Fe の消失速度(PID)及び末梢血液中に現われてくる ^{59}Fe の放射活性より造血機能を推察するものである。 ^{51}Cr の場合と同様前以つて交叉試験により凝集反応の起らない家兎血漿約30ccに $^{59}\text{FeCl}_3$ を約60 μc 加え37°Cに30分間放置、これを正確に5ccづつ分注した。この結果一匹当たりの放射能は約10 μc となつた。その後約4時間に数回の採血を行い血漿鉄消失速度を求め、以後は15日間、2日間隔に採血し末梢血液中の放射活性を測定した。採血は注射反対側の耳静脈より0.5ccづつ行い同時にヘマトクリットを測定した。

Tab. 2 Changes in the serum iron concentration after irradiation r/dl

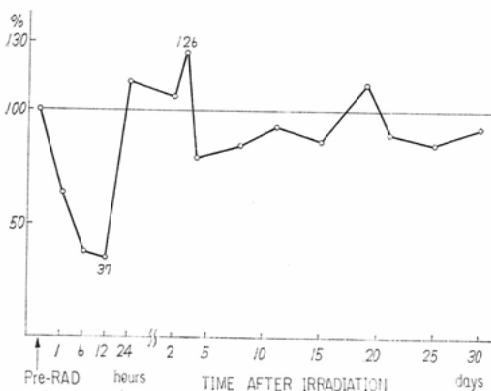
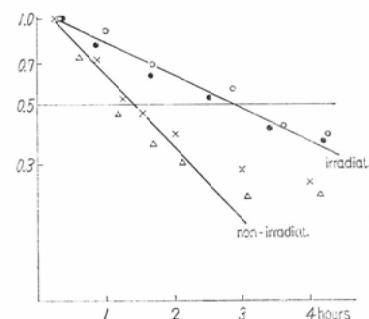
Pre-Rad level		after irradiation.														
		1	6	12	24hr	2	3	4	8	11	15	19	21	25	30 days.	
Rabbits	1	215	140				240			202	201	266	258	198	200	202
	2	175		32				198		160	165	172	165	171	162	140
	3	245			100				199	192	197	185	258	170	148	220
	4	200	120				200			152						
	5	180		100				248		122						
	6	145				200			80							
	7	205			50											
	8	225				198										
	9	142				165										
	10	204				220										

2) 実験結果

i) 血清鉄の定量 Fig. 5 に示す如く照射後の血清鉄量は 1 時間後頃より漸減しこれは 6~12 時間に最低となる。その後反跳的に増加傾向をみせ 2~3 日後に最高に達するが、最高増加率は最高減少率よりも少なかつた。これ以後は、軽度の増減を繰り返す波状消長を示しながら経過した。照射前の血清鉄量は、140~225 γ/dl にあり、正常値の範囲内と考える。(Tab 2)

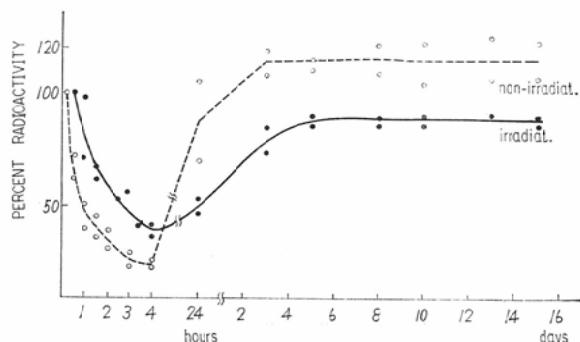
ii) ^{59}Fe による鉄代謝の検索 血漿鉄消失速度及び赤血球利用率は Fig. 6, Fig. 7 に示した。血漿鉄消失速度 (PIDT $^{1/2}$) は対照群の平均約 80~90 分に対し、照射群は平均約 170~180 分と著明に延長していた。又赤血球への鉄利用も前者のブ

Fig. 5 The change of the serum iron concentration after irradiation

Fig. 6 Plasma iron disappearance time (PIDT $^{1/2}$) in irradiated or non-irradiated rabbit

ラートの高さが平均 110~120% であるのに対し、後者は平均 80~90% であり プラトーへの立ち上りの時期も非照射群の 2~3 日に対し、照射群は 3~5 日と遅延していた。

Fig. 7 Percentage of radio iron activities in blood at varying intervals after irradiation



V) 血清レンチン量の測定

照射による貧血には溶血が関与し更に溶血は照射の間接作用によるものであるとの推察のもとに照射により生ずる溶血性物質はリゾレシチンであろうと想定した^{8,9)}。リゾレシチンはレシチンを母体として生ずるから、レシチンの定量より間接的にリゾレシチンの消長を知る目的にて以下の実験を行つた。

1) 実験方法 レシチンの定量法には、弱アルカリにて加水分解を行うものもあるが¹²⁾この場合、加水分解程度に差があるため著者はフォスリバーゼDを使つた Hans¹³⁾ の方法に従つた。フォスフォリバーゼDはレシチン分子よりコリンを分離する。この酵素反応は、カルシウム・イオンとエーテルにより活性化される。レシチンとフォスファチジン酸はエーテルに可溶であるが、コリンは不溶である性質を利用して酵素反応終了後エーテルで両者を分離しコリンはライネツケアンモニウム塩と作用させ結晶化しこれをアセトンに溶かし光電比色計にて吸光度を測定する。塩化コリンの種々の濃度溶液より標準曲線を描きこれより標本のコリン量を求めレシチン量とする方法である。血清より脂質の抽出は Falch の方法に準じた。実験動物は5匹とし照射前、照射後1, 6, 12, 24時間その後は週1回の割合に採血し、照射前のコリン量を100%として経時的変動を観察した。フォスフォリバーゼDはドイツ・シグマ社製のものを入手した。

2) 実験結果 血清レシチンの経時的変動に関しては Fig. 8 に示した如くである。照射後1時間頃よりレシチン量はやや減少しその後2~8日間

Fig. 8 Time curve of serum lecithin after irradiation

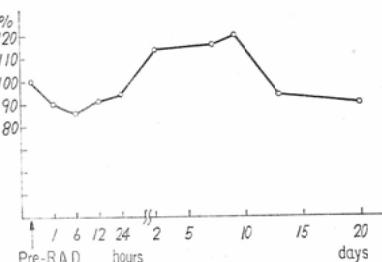
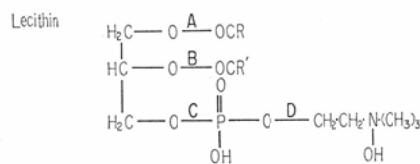


Fig. 9 Diagram of lecithin and the bonds which phospholipase catalyses



- 1) Phospholipase A: Lecithin → Lysolecithin + Fatty acid
- 2) " " B: Lecithin or Lysolecithin → Glycerophosphorylcholine + Fatty acid
- 3) " " C: Lecithin → Phosphorylcholine + Glyceride
- 4) " " D: Lecithin → Phosphatidic acid + Choline

は反跳的に増量した。その後再び減少したがこの時期は赤血球の減少期とほぼ一致する様である。即ち血清レシチンは照射後1~6時間頃に減少傾向を示した。

考 按

放射線照射による血液学的変動のうち、血色素量、ヘマトクリットに関しては特に規則性を見出すことは困難であるが、血色素量の変動は赤血球の変動とほぼ一致する様である。白血球数の変化で特徴的なことは、照射後12時間後に見られる一過性の白血球增多である。この白血球增多は血球造成の亢進によるものではなく放射線照射の刺激による血管壁の反応性增多によるものであると云われている¹⁴⁾。これに続く白血球減少は白血球寿命が3~5日であることより、造血機能障害によるものと理解出来る。多核白血球と单核白血球及びリンパ球の分類による変動を見ると、全白血球数の変動と一致するのは主として前者であり、後者はこれらと反対の傾向を辿つたがこれらは白血球とリンパ球の放射線感受性の相違による結果と考える。赤血球数の減少は、網状赤血球の減少よりは可成り遅れ網状赤血球に増加の傾向が見られる頃より始まる。この傾向は照射後14時間まで続き漸次回復し20日前後で照射前の値に戻る。Win-trobe¹⁵⁾によると流血中の赤血球がその寿命を終えて破壊される量は人及び犬に於て全赤血球の0.83%/dayであるとしているが、放射線照射が造血機能を全廃したと仮定した際の赤血球寿命より算出される減少率を越えて赤血球減少が起ること

及び網状赤血球に増加のみられる頃より貧血傾向の現われる事実より, Furth⁶⁾等は放射性貧血には溶血が関与していると報告している。又, Ross¹⁶⁾によると放射線照射後にはリンパ管への赤血球遊出が著明となり, この遊出赤血球の寿命は正常に較べて著しく短縮している事より貧血の原因は血管壁の脆弱性にあるとしている。しかし Goldschmidt et al¹⁷⁾は血管壁の脆弱性は認めながらもこれは24時間後には回復するため真の原因ではないと報告している。古く, Parsons et al¹⁸⁾は白血病患者の脾のみに治療のために照射を行い骨髄に変性の生ずることをみているし, Sheets et al¹⁹⁾は同じく子宮癌患者の治療中に赤血球の random break down をみているが, それらは照射による組織の変性により骨髄及び赤血球に有害な物質の生じた事を示唆しているとも云える。放射線照射により低張食塩水に対する赤血球抵抗は6時間後にやや上昇するがこれは, 照射時に抵抗力の弱い赤血球に破壊が生じたためであろうと考えられる。赤血球自体は致死量以上の大量放射線によるものでなければ影響を受けないと云われているが, Bresiani et al²⁰⁾, Cividelli et al²¹⁾によれば赤血球活性を Na^+ up take 及び K^+ loss より考察して少なくとも放射線の影響の一部は赤血球の膜構成の変性によるものであるとしている。又, Myers et al²²⁾は in vitro で赤血球に50K Rad の照射を行い赤血球の K^+ レベルの変動より照射による溶血は赤血球外液よりの free radical によるものであると報告している。彼は又, in vitro で照射後4°Cに20時間放置した赤血球に脆弱性が亢進し, 37°Cに放置するとこの様な現象は見られないと云つているが, これらは全て in vitro であり更に赤血球浮遊液として行つた結果であるため我々の赤血球抵抗値の測定とはやや異つた趣があると思われる。又照射後の溶血は赤血球膜のイオン透過性の亢進による赤血球膨化のためであるとする報告^{23)~25)}もあるがいずれにしろ 1,000 R 全身照射では流血赤血球自体に影響があつたとは考え難く, 照射時に正常でも溶血の危険に曝されていた赤血球が血漿中に生じた溶血性物質により作用されたために抵抗値が上昇したものと考え

る。放射性貧血には, このような観点から考察すると溶血の占める位置が問題となつてくる。臨床的に溶血性血液疾患は内因性溶血性貧血(intrinsic hemolytic anemia)と外因性溶血性貧血(extrinsic hemolytic anemia)に大別される。前者は赤血球自体の欠陥による溶血亢進であり, 後者は血漿中のなんらかの因子, 或は網内系機能亢進等の赤血球以外の欠陥により溶血が亢進している状態である。これら二つの型の病態検索のために臨床的には ^{51}Cr 標識赤血球の交換輸血(exchange transfusion)による赤血球寿命測定法が拡く応用されている²⁶⁾²⁷⁾。 ^{51}Cr 法で算出された赤血球寿命はみせかけの寿命(apparent half survival time)であり更にこの方法にて赤血球寿命を測定するためには被検体内での造血機能が恒常状態にあることが前提となつていて。例えば, 測定期間に平均赤血球容積の増大しつつある場合, 或は赤血球数に増加傾向がある場合にはみせかけの寿命は短縮し, この逆の場合には, 赤血球のみせかけの寿命は延長して測定される。更に出血, 溶血等のために赤血球数に減少のみられる場合にも赤血球寿命は誤つて測定される。放射線照射の血液に及ぼす影響は實に複雑, 多岐に亘るものであり, その点から云えど上述の均衡状態は極めて不安定なものである。従つてこの状態で絶対的な赤血球の寿命測定は不可能であるが donor 及び recipient を各々異つた血液状態に置きこれら相互に交換輸血を行い赤血球寿命の相対的な建長, 短縮をみるとより上記二型の病態を観察することは可能であると考える。対照群(非照射→非照射)のみせかけの半寿命は平均13日であるが, これは高橋²⁸⁾, Waggener⁷⁾等の13~15日とほぼ同等の結果と思われる。又照射(in vivo)→非照射のそれに短縮のみられないことも Waggener 等の成績と一致する。これら二つの群に殆ど差異の見られないこと, 及び照射(in vitro)→非照射群に著明な短縮のみられることは照射の影響が赤血球自体よりも血漿成分の変化により大きいことを意味する。何故なら照射が赤血球自体に直接作用すると仮定すれば, 照射(in vivo)→非照射の赤血球寿命も照射(in vitro)→非照射と程度は異つても

ほぼ同様の傾向を示すものと思われるからである。この場合、照射は同線量であつても *in vivo* 照射と *in vitro* 照射では血液単位体積の照射線量には著しい差がある。しかし 1,000R 照射では、Myers et al³² 等の成績より赤血球自体には影響が少ないと推察され血漿成分への照射の影響が大きいと思われるからである。一般に、放射線照射は初期に造血抑制²⁹⁾³⁰⁾³¹⁾をきたしある期間を経て回復に向う。従つて、照射生物を recipient とした際には前述の平衡状態に不均衡がみられる訳で、我々の実験に於ても照射→照射群、及び非照射→照射群のみせせかけの半寿命に延長がみられた。これらは recipient の造血抑制と照射後の貧血傾向がその主たる原因であろうと考えられる。又この実験群の半数に照射後 4~5 日に放射活性が 100% を越えるものがみられたが、これは照射による血漿成分の血管外滲出、及び動物自体の水分摂取不足³²⁾によるものと推察している。ところで、放射性貧血では末梢血液に及ぼす影響より、重大なのは造血障害である。この探索には最近 ⁵⁹Fe が盛んに利用されているが鉄代謝より造血機能を知るために、生体内での鉄回転を熟知する必要がある。血中にとり込まれた鉄は血漿蛋白中の β_1 -グロブリン中にあるトランスフェリンと結合して血漿鉄として運ばれる。Jandle et al³³ によれば網状赤血球は膜に鉄受容体 (iron receptor)をもち、これが血中の鉄を受け入れることが出来、この通り込みはトランスフェリンとの間で競争的に行われると云つている。又 Walsch et al³⁴ も同様の通り込みを *in vitro* の網状赤血球に観察しているが、我々の実験群に於ては、いずれも網状赤血球は正常域にあり従つて問題はないものと思われる。体内にとり込まれた鉄は殆ど排泄されることなしに殆ど閉鎖された系内に於て廻転する。血漿鉄レベルよりこれを観ると血漿より流出するのは造血のためのプールに入るものの、貯蔵されるもの、細胞外液へ漏出するものであり血漿中に導入されるものとしては赤血球破壊によるもの、貯蔵鉄からのものなどが挙げられる。造血のためにプールされた鉄は骨髄の造血系細胞にてヘムに合成されると再び血漿中にかえることが

できない不可逆性鉄となるが、これと血漿鉄との間には自由に交換可能な可逆性鉄 (labile erythrocytic iron) がありこの鉄はフェリチン、ヘモヂデリン等の貯蔵鉄とは比較にならない程多量の鉄交換を血漿鉄との間に行うという³⁵⁾³⁶⁾。又、刈米³⁷⁾によると貯蔵鉄と血漿鉄の間にも比較的速やかな鉄交換が網内系を中心に営まれており、この交替速度は各所の細胞で異ると報告している。又、彼によると放射線照射後の家兔では脾、骨髄でのヘモヂデリン交替速度は正常より遅延すると云つている。更に、貯蔵鉄が放射線照射後に増加する³⁸⁾³⁹⁾という報告もあるが、これらは照射後 7~10 日に著明となるものであり我々の実験に照射後 6~12 時間にみられた一時的血漿鉄値の低下⁴⁰⁾は貯蔵鉄の増加だけでは説明ができない。しかし、貯蔵鉄及び骨髄造血鉄と血漿鉄との間にある不安定鉄がこれらの解明に重要な関係をもつと考えている。Sharney et al⁴¹⁾⁴²⁾が云う如く生体内の鉄プールは血漿だけでなく他に多くのプールがあり、それらはお互に流通し、移行しあうとすればこの一時的血漿鉄低下は簡単には説明し得ないかも知れないが、次に続く血漿鉄増加⁴³⁾⁴⁴⁾は造血機能抑制とヘモグロビン合成への鉄利用のためであろうと考えられる。しかし溶血などの赤血球破壊による血漿鉄増加も考慮されるべきである。血漿鉄消失速度 (plasma iron disappearance) PID T^{1/2} は Fig. 6 に示す如く照射家兔では 170~180 分と著明に延長している。血中に注射された ⁵⁹Fe-グロブリネットは先に述べた如く labile pool へ行くもの、直接網状赤血球に捕捉されるものなどがあるが、これは殆んど無視出来るとして³⁶⁾、大部分は造血のためのプールに入りそのうち骨髄で赤血球産生にとり込まれたものは再び feed back することはないから PID T^{1/2} は造血状態の示標になり得るはずであり、正常家兔の PID T^{1/2} の約 80~90 分と比較すると造血抑制が非常に高度であることが首肯できる。又プラトーの高さ及びそれに至る“立ち上り”の遅いことより赤血球への鉄利用も障害を受けることが理解できる。骨髄で鉄は赤芽球に入りヘモグロビンに合成され⁴⁵⁾末梢血液に現われるが放射線照射では、早期に赤芽球

の消失が著明であること^{29)~31)}より末梢赤血球への鉄利用の低下を生じたものと推察している。この様に鉄代謝の面から造血機能を推察したのであるが、これの障害より推定される減少度を越えて赤血球減少の起ること及び造血機能に回復のみられる頃より貧血傾向が著しくなつてくることなどから、照射の末梢血液に及ぼす影響が注目された⁶⁾¹⁶⁾。前述の如く、既に山本⁸⁾、大原⁹⁾は放射線照射により生じる溶血性物質はリゾレシチンであると報告している。一般に放射線照射によつて血中の脂肪酸及び磷脂質は増加すると云われている⁴⁶⁾⁴⁷⁾⁴⁸⁾。しかし、磷脂質のレシチンに限るならば我々の実験に於ては、照射後数時間以内に極めて軽度ながら減少傾向をみせた。レシチンはFig. 9に現わす如く2コの脂肪酸、1コの磷酸、1コのコリンを有する磷脂質でこれの分解には、フォスフォリバーゼ群⁴⁹⁾が関与する。リゾレシチンはこれらのうちフォスフォリバーゼAの作用を受けて生ずるのであるが、このリゾレシチンに強い溶血作用がある。Klibansky⁵⁰⁾によるとフォスフォリバーゼAを血液に作用させると赤血球の球形化を生じ、或るものは赤血球寿命に短縮をきたすと報告している。更に彼によるとリゾレシチンを含む血漿に赤血球を浮遊させるとリゾレシチンは赤血球膜に附着しそのため球形化を生ずるが溶血は少量であり、かかる現象はアルブミンの投与により正常に復すとも述べている。この際、赤血球に附着していたリゾレシチンはアルブミンに移行する。レシチン等の磷脂質は血中では血漿蛋白と結合し、リポプロテインの形で存在する。リポプロテインは分類の方法により種々の名称がつけられているがいろいろの密度の均一溶媒による超遠心法⁵¹⁾によるとレシチンはd>1.21の分画にあり、又、リゾレシチンはd<1.21の分画にあるといふ⁵²⁾。リポプロテインの脂質部分と蛋白部分は他のリポプロテインのそれらと相互に或は一方的に交換を行い得るが、リゾレシチンは特にアルブミンと結合しやすい⁵⁰⁾。このリボ蛋白の半減期は約5日でありα-リボ蛋白、アルブミン、γ-グロブリン等と類似した動態を示すという報告⁵³⁾⁵⁴⁾もあり、更に放射線照射は血漿アルブミンの減少を

来すこと⁵⁵⁾⁵⁶⁾⁵⁷⁾などより著者は照射により生じたリゾレシチンはアルブミンを受容体として無害化されこれの減少につれて除々に遊離され溶血を起すと推量している。しかし磷脂質と血漿蛋白の動態は極めて複雑であり、レシチン自体はフォスフォリバーゼにより多様に分解されるためにレシチンの減少のみから直ちにリゾレシチンの分離を決定することは勿論不可能である。又、今回の結果も動物数が少ないと、更に変化も少いこと、実験過程の不安定さによる誤差も考慮されねばならない。故に結論とはなし得ないがオリーブ油を腹腔内に注入された動物の照射後生存率が高いという報告、及び脂肪代謝に於て重要な割合を占める肝臓のミトコンドリアに照射後レシチンの減少がみられる⁵⁹⁾こと等より、放射線照射の脂肪代謝に及ぼす影響は非常に大きいと推察される。これらと考え併せるときに、放射線障害の一因はこれらの周辺にあるのではないかということを強く示唆されるものである。

結 語

放射線貧血の病態を観察する目的で以下に述べる実験を行い考察した。実験動物は白色家兎を用い照射は一座全量全身照射 1,000R（空中線量）で行つた。

1. 一般検査としての赤血球数、白血球数、網状赤血球、血色素量、ヘマトクリットの経時的変動。照射後約7日頃より貧血傾向が現われたが、この時期では、網状赤血球には回復の徵がみられた。白血球数では、照射後6~12時間頃に一過性增多がありその後急激に減少した。この傾向は照射後15日頃まで続いた。ヘマトクリット及び血色素量には、特に法則性はみあたらなかつたが、漸減傾向が照射後15日頃までみられた。

2. 赤血球抵抗の変動。低張食塩水に対する赤血球抵抗値は照射後約1~6時間に増大した。この傾向は24時間後には正常値に戻つた。

3. ⁵¹Cr 標識赤血球交換輸血による赤血球寿命測定では、照射家兎より採血された赤血球の非照射家兎体内での寿命は対照群との間に差がなく、in vitro で照射された赤血球の非照射家兎体内での寿命には非常な短縮がみられた。又、照射

及び非照射家兎より採血された赤血球の照射家兎体内での寿命は延長していた。これらの結果は放射線の影響は赤血球自体に対するよりも、赤血球以外の血漿成分に大きいことを推察させた。

4. 血清鉄量は照射後1~6時間に著減した。この後2日頃にかけて反跳的に増量し、その後は軽度の増減を繰り返す波状消長を示した。血漿鉄消失速度は照射群に於て延長していた。同様に赤血球への鉄利用度及び回転速度も照射群で障害されていた。これらのことより照射は造血機能に大きな障害を及ぼすことが示された。

5. 血清レシチン量には著しい変動がみられなかつたが照射後1~24時間に軽度の減少がみられた。この後2~8日間は増量を示し再び漸減したが、この時期は赤血球の減少期にほぼ一致しレシチソーアレシチンと放射線貧血との間に何等かの相関関係のあることが示唆された。

稿を終るにあたり終始御指導、御校閲を賜つた恩師山本道夫教授に深甚の謝意を表し、併せてアイソトープ使用に際し御指導、御援助を戴いた教室の田辺正忠講師に心からの謝意を表する。

尚、本研究の主旨は鹿児島市に於て開催された第25回日本医学放射線学会総会に於て発表した。

文 献

- 1) Huff, R.L., Hennesy, T.G., Austin, R.E., Garcia, J.F., Roberts, B.M. & Lawrence, J.H.: Plasma and red cell iron turnover in normal subjects and in patient having various hematopoietic disorders. *J. Clin. Invest.* 29, 1041, 1950.
- 2) Pollicove, M., P.J. Elmlinger, Z.A. Sarkeis, L. Apt & T.F. Ross: Radioiron determination of human erythrocyte life-span distribution. *Clin. Res. Proc.* 4, 79, 1956.
- 3) Heinake, H.: *Münch. med. Wochr.* 50, 2093, 1903.
- 4) Cronkite, E.P. & Brecher, G.: Radioactivity: Effect of whole-body irradiation. *Ann. Rev. Med.* 3, 193, 1952.
- 5) F. Stohlman, G. Brecher, M. Schneiderman & E.P. Crokite: The hemolytic effect of ionizing radiation and its relationship to hemorrhagic phase of radiation injury. *Blood.* 12, 1061, 1957.
- 6) J.B. Kahn & J. Furth: The pathogenesis of postirradiation anemia. *Blood.* 7, 404, 1952.
- 7) R.E. Waggener & H.B. Hunt: Erythrocyte survival in rabbits after sublethal total-body irradiation. *J. Amer. Roent.* 79, 1050, 1958.
- 8) M. Yamamoto: Toxic substance found after X-ray irradiation, *Symposia. Cell. Chem.* 9, 140, 1959.
- 9) S. Ohara: Studies on the compound lipids from X-Ray irradiated animal. I. Characteristics of compound lipids from the organs of X-ray irradiated rabbits. *Acta. Med. Okayama.* 16, 333, 1962. II. Biological and biochemical properties of the compound lipids in the X-ray irradiated rabbits organs. *Acta. Med. Okayama.* 17, 63, 1963.
- 10) Cooper, M. & Owen, C.H.A.: Labeling human erythrocytes with radiochromium. *J. Lab & Clin. Med.* 47, 65, 1956.
- 11) 吉川春寿: 臨床医化学 1, 協同医学出版社 317, 1959.
- 12) M.H. Hack: Estimation of the phospholipides in human blood. *J. Biol. Chemistry.* 169, 137, 1948.
- 13) Methode of enzymatic analysis. edited by Hans-Ulrich Bergmayer. pp. 415, 1963.
- 14) Bloom, W. & Jacobson, L.O.: Some hematologic effect of irradiation. *Blood.* 3, 586, 1948.
- 15) Wintrob, M.: Clinical hematology. Philadelphia. 1956.
- 16) M.H. Ross, D.J. Furth, R.R. Bigelow: Changes in cellular composition of the lymph caused by ionizing radiations. *Blood.* 7, 417, 1952.
- 17) Goldschmidt, L., Rosenthal, R.L., Bond, V.P. & Fishler, M.C.: Alteration in thermal fragility of rat erythrocytes following total body irradiation. *Amer. J. Physiol.* 164, 202, 1951.
- 18) Parsons, W.P., Watkins, C.H., Pease, G.L. & Childs, D.S.: Changes in sternal marrow following Roentgen-Ray therapy to the spleen in chronic granulocytic leukemia. *Cancer.* 7, 179, 1954.
- 19) Sheets, R.F., Hamilton, H.E., De gowin, E.L. & Janny, C.D.: Studies with inaggultinable erythrocyte counts. V. Spontaneous and X-ray induced hemolysis in malignancy. *J. Clin. Invest.* 33, 179, 1954.
- 20) F. Bresiani, F. Auricchio & C. Fiore: Effect of X-rays on movements of sodium in human erythrocytes. *Radiat. Res.* 21, 394, 1964.
- 21) G. Cividalli: Effect of gamma irradiation on glucose utilization, glutathione and electrolyte content of the human erythrocytes.

- Radiat. Res. 20, 564, 1963.
- 22) D.K. Myers & R.W. Bide: Biochemical effects of X-irradiation on erythrocytes. Radiat. Res. 27, 250, 1966.
- 23) T.P. Ting & R. Zirkle: The kinetics of the diffusion of salts into and out of X-irradiated erythrocytes. J. Cellular. Physiol. 16, 197, 1940.
- 24) A. Liechti & W. Wilbrandt: Untersuchungen über die strahlenhemolyse. Strahlentherapie. 34, 691, 1951.
- 25) J.S. Cook: The quantitative interrelationships between ion fluxes, cell swelling, and radiation dose in ultraviolet hemolysis. J. Gen. Physiol. 48, 719, 1965.
- 26) 中尾喜久: 内科, 16, 7, 1251, 1965.
- 27) 中尾喜久: 最新医学, 15, 5, 53, 1960.
- 28) 高橋宏, 中西純男, 大北威: X線照射後の赤血球寿命についての実験的考察, 広島大学, 原放医研年報, 74, 6, 1965.
- 29) Bloom, W. & M.A. Bloom: Histological changes after irradiation. Radiat. Biol. 1, 1091. McGraw-Hill Co. N.Y. 1954.
- 30) 花岡, 市川, 富士: 中性子(γ線を含む)強度照射マウス造血臓器の病理組織学的研究, 日血会誌, 21, 1, 1958.
- 31) T.M. Fliedner, V.P. Bond & E.P. Cronkite: Structural, cytologic and autoradiographic (H-Thymidin) changes in the bone marrow following total-body irradiation. Amer. J. Path. 38, 599, 1961.
- 32) McDonald, R.E., Jensen, R.E., Urry, H.C.: A study of the irradiation syndrom. I. Water, electrolytes and nitrogen balances. Amer. J. Roentgenol. 74, 701, 1955.
- 33) Jandle, J.H., Inman, J.K., R.L. Simmond & D.W. Allen: Transfer of iron from serum protein-building protein to human subjects. J. Clin. Invest. 38, 161, 1959.
- 34) Walsh et al.: Iron metabolism: Heme synthesis in vitro by immature erythrocytes. Science. 110, 396, 1949.
- 35) Pollicove, M. & Mortimer, R.: The quantitative determination of individual iron kinetics and hemoglobin formation in human subjects. Clin. Res Proc. 4, 51, 1956.
- 36) M. Pollicove & R. Mortimer: The quantitative determination of iron kinetics and hemoglobin synthesis in human subjects. J. Clin. Invest. 40, 753, 1961.
- 37) 刈米重夫: 鉄の廻転, 最新医学, 21 (7), 1639, 1966.
- 38) A. Chanutin, S. Ludewig & E. Lentz: Effect of thermal injury and X-irradiation on serum iron concentration and iron contents of liver, spleen, and kidney of rats. Amer. J. Physiol. 169, 203, 1953.
- 39) S. Ludewig & A. Chanutin: Effect of whole-body X-irradiation on the storage of iron in liver, Spleen and kidney of rats. Amer. J. Physiol. 166, 384, 1951.
- 40) 宮田: X線照射の鉄代謝に及ぼす影響について, 日本医放会誌, 19, 10, 2126, 1960.
- 41) Sharney, L., Schwert, L., Wasserman, L.R., Port, S. & Leavitt, D.: Pool system in iron metabolism: with special reference to polycythemia vera. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 87, 489, 1954.
- 42) Sharney, L., Wasserman, L.R., Schwert, L. & Tendler, D.: Multiple pool analysis as applied to erythro-kinetics. Ann. N.Y. Acad. Sci. 108, 230, 1963.
- 43) A. Chanutin & S. Ludewig: Effect of whole-body X-irradiation on serum iron concentration of rats. Amer. J. Physiol. 166, 380, 1951.
- 44) 中尾他: 赤血球産生に及ぼす放射線の影響, 日血会誌, 26, 442, 1963, 8.
- 45) Bessis, M.C. & Breton-Gorius: Iron particles in normal erythroblasts and normal and pathological erythrocytes. J. Biophys. Biochem. Cytol. 3, 503, 1957.
- 46) Elko, E.E. & Luzio, N.R.: Effect of X-irradiation on plasma, liver, and bone marrow lipids of the rabbit. Radiat. Res. 11, 1, 1959.
- 47) Elko, E.E. & Luzio, N.R.: Lipid metabolism in X-irradiated rabbits. Radiat. Res. 14, 760, 1961.
- 48) Di Luzio, N.R. & Simon, V.A.: The effect of X-irradiation on the plasma lipid fractions of the rabbit. Radiat. Res. 7, 79, 1957.
- 49) 赤堀四郎: 酵素研究法, 朝倉書店, 2, pp 30. 1965.
- 50) C. Klibansky & A. DeVries: Quantitative study of erythrocyte-Lysocithin interaction. Biochim. Biophys. Acta. 70, 176, 1963.
- 51) 日血全書, 2, 化学・生理, pp 308, 1963.
- 52) 脂質の生化学: 今井, 坂上, 朝倉書店, pp 151, 1966.
- 53) J. Avigan, H.A. Eder & D. Steinberg: Metabolism of the protein moiety of rabbit serum lipoproteins. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 95, 429, 1957.
- 54) D. Gitlin, D.G. Cornwell, D. Nakasato, J.L. Oncley, W.L. Hughes & C.A. Janeway: Studies on the metabolism of plasma proteins in the nephrotic syndrome. II. The lipoproteins. J. Clin. Invest. 37, 172, 1958.

- 55) Leone, C.A., Hartnett, A.R., Crist, R. & Mcbeth, C.: Paper electrophoretic analysis of Sera from irradiated phens Monkeys. Radiat. Res. 10, 357, 1959.
- 56) Ditzel, J.: The effect of total-body X-irradiation on serum protein in the Hamster. Radiat. Res. 5, 694, 1962.
- 57) 西下創一：放射線照射の血清蛋白に及ぼす影響について、未発表、私信による。
-
- 58) M. Maqspood & J. K. Ashikawa : Post-irradiation protection and recovery. I. Effect of lipids on hematopoietic organs of X-irradiated male mice. Int. J. Rad. Biol. 4, 521, 1961.
- 59) H.P. Schwarz, L. Dreisbach & E. Polis : Effect of whole-body X-ray irradiation on phospholipids of rat liver particulate fractions. Arch. Biochem. Biophys. 111, 422, 1965.