

Title	放射線による核分裂係数及び染色体異常に対するCysteineの効果
Author(s)	町田, 隆弘
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1959, 19(6), p. 1243-1250
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/20756
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

特別掲載

放射線による核分裂系数及び染色体異常に
対する cysteine の効果

昭和医科大学放射線医学教室（主任 氣賀正己教授）

町 田 隆 弘

（昭和34年 8 月 5 日受付）

（本研究の一部は、文部省科学研究費による）

- I 緒論
- II 目標
- III 第1節 研究目標
研究手法
研究結果
- IV 第2節 研究目標
研究手法
研究結果
- V 結論及び考按
附文献

緒 論

放射線の影響と細胞分裂特に核分裂との密接な関係は、早期より対象となつており、少くとも形態学的変化については、種々の事実が明らかになつている。この方面の生化学的説明は、現在盛んに研究されているが¹⁾²⁾³⁾、これによつて機序を明瞭に説明する事は未だ不可能のようである。細胞の放射線感受性は、分裂の盛んなもの程強い。この所謂 Tribondeau-Bergonié の法則は、例外はあるが多くの場合に当てはまる。この事は、今世紀の初めより知られている。従つて、細胞分裂の際形態的変化の甚しい核乃至は染色体と感受性の強さとを結びつけた研究が、数多くなされている。観察される変化は、核分裂の中期とか後期であるが、これを起す変化は、より以前に起つている事も確かめられている。核に対して

は、所謂 point mutation 及び染色体異常が放射線により引き起されるが核分裂の時期に変化の読みとれるのは後者である。染色体異常を起す放射線の作用機序に関しては、D・E・Lea¹⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾等のすぐれた研究があり、所謂 hit theory で代表される直接作用による核分裂の障害機序が定量的に論ぜられている。例えば染色体を電離電子が横ぎる際、約 700 eV が与えられれば染色体が切れるとされ、 α 線の如き電離密度の大なるもの程同じに吸収されたエネルギーに対し効果的であるとされた。一方では之に矛盾する実験もある。特に酸素が染色体異常に対して共働的に放射線に利き、しかもこの場合、放射線の側では電離密度が小なるものが余計に酸素の影響をあらわす事が分つた。之は、放射線の作用が間接作用であり、之に対する酸素効果としてなら説明が容易である⁹⁾¹⁰⁾。

現在の考えでは、染色体に対しても、直接作用及び間接作用の両者が適当な重みで関係すると考えてよいようである。

目 標

酸素効果の有無は、間接作用を間接に証拠立てる手段として用いられることがある。この酸素効果は、障害を増加する方向に利く訳であるが、逆に cysteine の防護効果も、酸素効果と同等に利

用出来ると考えられる。そこで本実験は、核分裂に間接、直接何れの作用が大きな比重を有するかを *cysteine* を用いて研究した。*cysteine* は、放射線作用が間接作用であるなら、照射により生じた遊離基によつて起る酸化作用に対して、生体の側でこれと反応し易い分子と、拮抗的に作用して生体に対する放射線作用を軽減する事は、種々の事実から確かであり、この意味で放射線防護剤としての起源を有する訳である。しかし、我々の教室の幾つかの研究により、*cysteine* が障害軽減に役立つのは *competition* のみでない¹¹⁾¹²⁾¹³⁾。照射時のみに有効で照射後無効であれば放射線に反応しやすく、しかも細胞内で重要な分子と広い意味の拮抗作用をなす事のみを考えればよく、放射線の作用の中で間接作用がそれに対応する役割をもつわけであるが、*reactivation, restoration* 等があれば、直接作用も除外出来ない。しかし、現在迄の研究では、この場合でも間接作用の方がより比重が重いようである。

放射線による染色体異常に対し、照射中に酸素圧を高めた *Dittrich*¹⁴⁾ の仕事がある。これによると、酸素効果がある。即ち、放射線による染色体異常が、酸素圧が高い場合に増えるが、これが直ちに間接作用を証明しない。何故ならば、一時的破壊が増加するか、破壊の復元が減ずるからである。後者なら直接作用でも起り得るからである。しかし紫露草では照射後の酸素濃度が染色体異常の出現率に対し無関係である実験があり、これは復元が起る時期には酸素の影響がない事を示す。この復元は照射中乃至は直後に起るものと比較的長時間後に起るものとの二つに分ける人があり、2 hit と仮定して同線量なら線強度が大な程、染色体異常が多い筈であり、これを *Wolf*¹⁵⁾ は証明している。この実験事実から切断端が数分以内なら復元可能と考えられる。もし、その時期に酸素圧が影響するならば、間接作用に限らず、直接作用に対しても酸素の効果があつてよいわけであるが、これに対し、酸素効果がないのは切断される事に対してのみ酸素圧が効く事で、間接作用が役割をもつ事を示す。

本実験では先づ核分裂係数の比較から、X線による核分裂係数の減少に対し、*cysteine* の防護効果があるか、ついで、染色体異常の増減、更に比較的簡単に見分けられる染色体異常の種類として、*chromosomal fragment, chromosomal bridge* を取り上げ、両異常に対する *cysteine* の防護効果の有無より間接作用、直接作用の役割を知る手段とした。

Ehrlich とか吉田肉腫細胞とかは、動物に全身照射後分裂異常として *chromosomal bridge* 及び *chromosomal fragment* が認められる。*bridge* は、所謂 *physiological change* に由来するもので、間接作用の方が説明し易い。

電離密度を応用した仕事では密度大なものに酸素効果が異なる¹⁶⁾¹⁷⁾。X線では α 線に比べて *bridge* の出現に対し、酸素効果が大きい。又、X線では *bridge* は酸素効果が約 1.7倍、*fragment* は 1.5倍であるが電離密度が小な *fast electron* を用いた実験では、*bridge* は酸素効果は約 1.7倍でX線と同じであるが、*fragment* では 1.4倍で、X線より酸素効果が少ないが、この程度 α 線の方が酸素効果が少ない事で間接作用を証明出来ない。これらは酸素効果を用いた実験である¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾。そして *bridge* の方が酸素効果を多く受けている。*cysteine* は、丁度酸素効果と逆である事が考えられる。放射線障害に対する *cysteine* 及びそれに関する物質の効果の研究は特に多数あり、枚挙に暇がない^{21)~31)}。しかし *chromosome aberration* の分類に応用したものは見当らない。

第1節

研究目標

X線による細胞核分裂に及ぼす影響と、X線と *cysteine* との併用によつて、*cysteine* の防護効果の有無を研究せんとした。

研究方法

材料は、そらまめ (*vicia faba*) の根端細胞を用いた。20°C恒温槽に約7日間シャーレ内で蒸溜水を用い成長させ、幼根が、約2cm伸びたものを揃え実験材料とした。*cysteine* は $10^{-4}M$ 溶液と

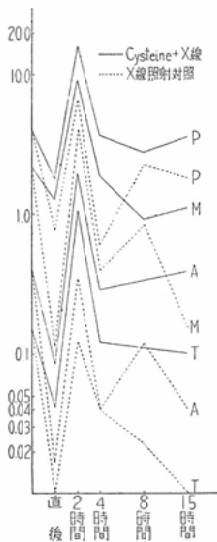
第 1 表

150 r +Cyst.	分裂各期%			
	前期	中期	後期	末期
処理前	4.01	2.2	0.4	0.2
処理後30分	1.81	1.47	0.08	0.04
2時間	16.0	9.1	1.96	1.05
4時間	3.64	1.9	0.79	0.14
8時間	2.8	0.9		
15時間	3.6	1.1	0.4	0.1

第 2 表

150 r	分裂各期%			
	前期	中期	後期	末期
処理前	4.01	2.2	0.4	0.2
処理後30分	0.76	0.11	0.02	0.001
2時間	7.56	4.02	0.34	0.14
4時間	0.6	0.4	0.04	0.04
8時間	2.3	0.8	0.14	0.023
15時間	1.8	0.01	0.03	0.008

図 1



して30分間浸す。この濃度は、核分裂系数に影響のない濃度である。

X線照射方法は、そら豆を10個宛シャーレより取り出して照射を行なった。照射条件は、管電圧150KVp, 管電流3mA 0.5mmCufilter, 焦点距

離14cm, 毎分17rで総線量150r. 照射後30分, 2時間, 4時間, 8時間, 15時間に根端を2cmづつ切断し, 酸化第二クロール溶液中に入れて脱水後パラフィン固定を行い, ミクロトームにて切片標本作成後, マイヤー氏ヘマトキシリン・エオジン染色後ピクリン酸で脱色, 乾燥固定後検鏡した。

研究結果

X線照射後, 各時間毎の分裂細胞に対する前期, 中期, 後期, 末期の該相百分率を求めたところ, X線照射群も cysteine 併用群も, 30分後には分裂細胞は非常に減少するが2時間後には, 一時的に増加し, 4時間後には減少し, 以後8時間頃より回復が認められる。

cysteine 併用群では, 照射のみの群に比し, 各時期のものについて mitotic index が多い。又回復も早い。(第1表, 第2表及び第1図参照)

第2節

研究目標

染色体の破壊に対して酸素効果がある事から, 放射線の染色体破壊に対する作用機序は直接作用ではない, という実験が植物でなされている。酸素効果の実験は, 電離放射線が染色体異常を作る基本的メカニズムを理解する上に重要である。酸素効果のある事は, 普通には照射した放射線感受性の強い分子の周囲に free radical が増加する為であると説明されている。もつと間接的な効果を考える説では, 酸素が染色体の放射線感受性を変える可能性を論じている人もあり, この場合 H₂O₂ が効くとする。そしてα線では, X線に比べて酸素効果が少ない事は, イオン乃至遊離基の寿命及び密度との関係から理論的にもうなづける。しかし Barron 等は, 細胞内には酸素が飽和されているから H₂O₂ に帰すべきではないと云っている。染色体異常の中, bridge 及び fragment をX線照射後24時間及び48時間で測定したが, 之等が認められるのは分裂の後期及び末期であり, bridge は切断染色体の再結合の様式により形成せられるものか, 又は分裂時の stickiness に由来するものであり, fragment は acce-

図2 照射後24時間

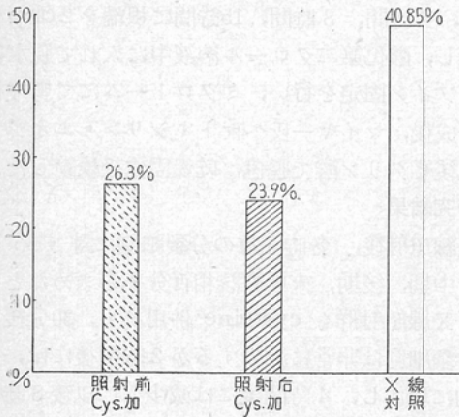


図3 照射後48時間

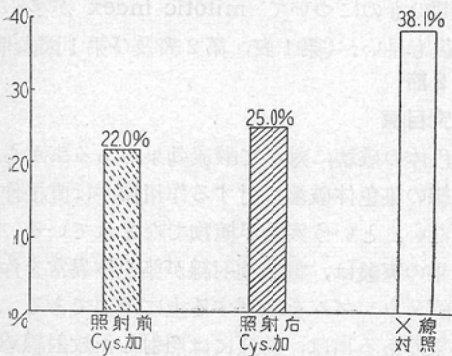


図4 照射後24時間

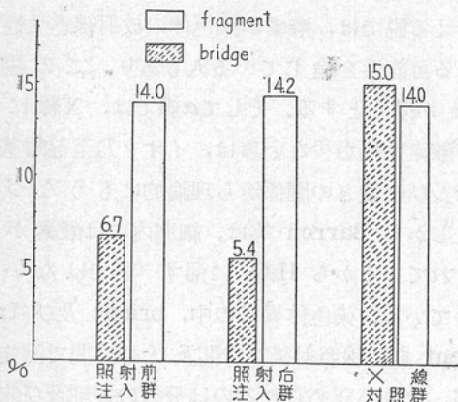


図5 照射後48時間

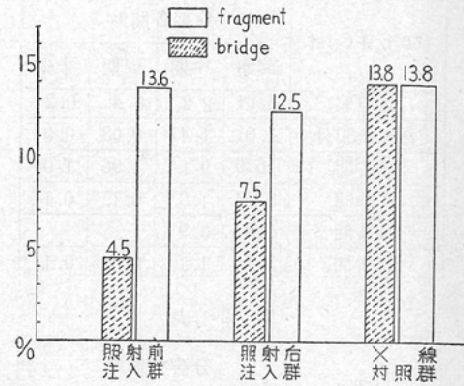
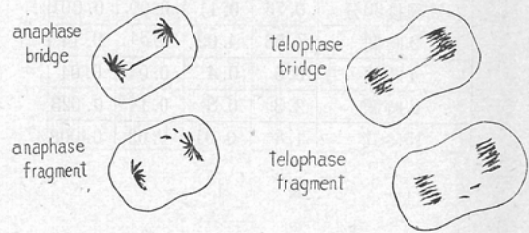


図6 Yoshida Ascite Tumour cell



れば、酸素効果は **fragment** ではなく、**bridge** の **stickiness** に由来するものにあられるわけである。この場合、酸素が再融合を多くする可能性があるが、役割は少ないようである。以上の事から **bridge** と **fragment** の出現の機序は同じでないとの考えから、そら豆の実験で **bridge** と **fragment** の出現を詳細に吟味したが、この目的には、非常に数が少なかったので、塗抹標本により容易に多数の分裂異常像を読み得るという考えから、吉田腹水癌細胞を用いて、後期と末期の **bridge** と **fragment** の出現率を見んとした。

研究方法

材料は吉田腹水癌細胞を用いた。Wistar 系白鼠の体重 230g 前後のものに、吉田肉腫腹水を 0.1cc 宛腹腔内に移植し 7 日目のものを実験に供した。

X線照射方法は、白鼠を予め作成した木箱の中に入れて腹部にX線照射を行つた。照射条件は、

entric fragment の切断した染色体の再融合の不足で形成せられるものである。従つて切断が直接作用であり、stickiness が間接作用であるとす

第 3 表

	X線照射対照群					
	A	T	AB	AF	TB	TF
No. 1	18	20	5	4	3	4
No. 2	9	8	3	3	3	2
No. 3	7	9	0	0	1	1
計	34	37	8	7	7	7

第 4 表

	照射前cys注入群					
	A	T	AB	AF	TB	TF
No. 1	24	23	3	5	1	2
No. 2	24	12	2	5	1	3
No. 3	20	15	3	4	0	2
計	68	50	8	14	2	7

第 5 表

	照射後 cys注入群					
	A	T	AB	AF	TB	TF
No. 1	20	12	1	4	0	1
No. 2	22	14	4	4	0	3
No. 3	15	9	1	3	0	1
計	55	35	6	11	0	5

第 6 表

	X線照射対照群					
	A	T	AB	AF	TB	TF
No. 1	8	19	4	3	2	2
No. 2	6	18	2	2	1	4
No. 3	10	23	2	3	5	2
計	24	60	8	8	8	8

焦点距離20cm, 150KVp, 3 MA 0.5mmCufilter
 毎分17r 総線量 500r.

X線単独照射群と cysteine 10⁻³M 0.1ccを腹腔内に、それぞれ照射前30分と照射後に注入した

第 7 表

	照射前 cys注入群					
	A	T	AB	AF	TB	TF
No. 1	5	8	1	1	0	1
No. 2	6	9	1	2	0	1
No. 3	3	5	0	1	0	0
計	14	22	2	4	0	2

第 8 表

	照射前 cys注入群					
	A	T	AB	AF	TB	TF
No. 1	5	16	1	2	0	2
No. 2	5	23	3	2	1	3
No. 3	2	13	1	0	0	1
計	12	52	5	4	1	6

第 9 表

$\frac{AF}{A} \cdot A + \frac{TF}{T} \cdot T$	X線対照群	0.19
	照射前 cys注入群	0.18
$\frac{AB}{A} \cdot A + \frac{TB}{T} \cdot T$	照射後 cys注入群	0.18
	X線対照群	0.21
$\frac{AF}{A} \cdot A + \frac{TF}{T} \cdot T$	照射前 cys注入群	0.08
	照射後 cys注入群	0.07

第 10 表

$\frac{AF}{A} \cdot A + \frac{TF}{T} \cdot T$	X線対照群	0.19
	照射前 cys注入群	0.166
$\frac{AB}{A} \cdot A + \frac{TB}{T} \cdot T$	照射後 cys注入群	0.11
	X線対照群	0.19
$\frac{AF}{A} \cdot A + \frac{TF}{T} \cdot T$	照射前 cys注入群	0.055
	照射後 cys注入群	0.18

二群に分けて、いずれも照射後24時間、48時間目に腹水穿刺を行ない、塗抹標本を作成し、メイ・ギムザー染色を行ない検鏡した。

研究結果

腫瘍細胞を各々約10,000個宛数えて、後期及び末期の各相を読みとり、更にその bridge と fragment を数えた。

1) 後期及び末期の総数に対する染色体異常の出現率を見ると、X線照射群に比し cysteine 併用群では出現率は減じ、明らかに障害が減じている。図2及び図3の如くである。これは勿論有意の差がある。

2) 後期及び末期の総数に対し bridge と fragment を分け、夫々の比を見た処、照射後24時間では cysteine を作用させた群では bridge は減少し、fragment はX線照射対照群と差がない。48時間でも fragment は対照群と差はないが bridge は照射前に cysteine を作用させた群では明かに減少し有意の差が認められる。(図4及び図5参照)

表3表はX線照射対照群で照射後24時間採取腹水腫瘍細胞中の mitosis であり、第4表は、照射前に cysteine を腹腔内に注入した群であり、第5表は、照射後に cysteine を腹腔内に注入した群である。第6表は、照射後48時間採取のX線照射対照群で、第7表は、48時間後の照射前 cysteine 注入群、第8表は、48時間後の照射後 cysteine 注入群である。

以上の結果から、照射後24時間及び48時間に採取した腹水腫瘍細胞について検討する。

第9及び第10表のA及びTは、異常も含めてそれぞれ後期及び末期の数、AF、TFはそれぞれ後期及び末期にみられる fragment、AB、TBは、それぞれ後期及び末期にみられる bridge である。

以上により、24時間に採取した群では対照群に比し fragment は変化なく、bridge の減少を見た。この実験成績は χ^2 test による。48時間のものは対照群に比し fragment は変化なく、bridge の減少を見たが照射前に cysteine 投与した群では有意の差が認められたが、照射後に cysteine を加えた群では有意の差は出なかつた。

結論及び考按

1) そらまめの根端細胞の核分裂系数に対し

cysteine 併用群は、X線照射対照群に比して分裂の各期とも減少の仕方が少なく、又、回復も早い。

2) 吉田腹水腫瘍細胞で行なつた実験では、cysteine を照射前又は照射後に与えても、染色体異常を減少する。第2及び第3図で24時間で採取した群より48時間で採取した群の方がX線照射対照群の異常細胞が一見減少している如くであり、これは、染色体に一定の放射線障害をうけた細胞は分裂出来ず減じて行く事と一致する如くであるが、本実験で異常細胞の減少は、推計学的には有意でない。cysteine を照射前投与した群でも、第2及び第3図で異常細胞が減少している様であるが、やはり有意でない。

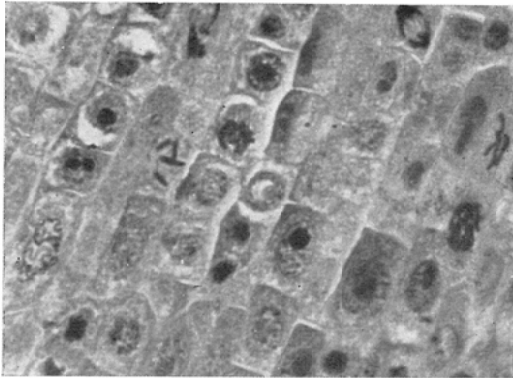
3) bridge は、cysteine による照射前及び後投与ともに減少する。ただし、48時間後の数は照射後投与のものだけは、対照群と有意の差がない。

4) fragment は cysteine による影響が見られない。

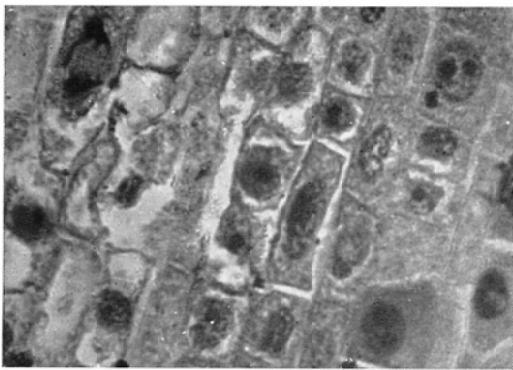
以上の如く cysteine は放射線の核分裂抑制に対しても防護的であり、染色体異常の出現に対しても防護作用がある。この防護作用の機序は、cysteine が照射中にのみ有効であれば、遊離基に対して反応しやすい分子との拮抗が主であると云えるが、照射後も有効である事は-SH基による再賦活等種々の可能性がある。本実験では、むしろ拮抗作用のみである考えを否定する結果である。放射線の側では、照射中だけ cysteine が利けば間接作用を支持しやすいが、照射後有効である事は、直接作用で第一次的の変化を与えても回復等に cysteine が有効の可能性がある事を考えると、本実験で直接作用、間接作用と明瞭に分けられない。

次に染色体異常の種類を分析した結果から、fragment は照射前及び後投与とも cysteine は影響がなく、bridge は、前及び後投与ともに減少させている事から、fragment は直接作用であつて、勿論拮抗作用として cysteine が効かず、更に回復にも効かないという可能性を暗示する。

Root tip cell (*Vicia faba*)
2 hours after irradiation (150r)
x-ray



Cysteine treated 30 min. before irradiation.



これに対し bridge に対しては、間接作用が少なくとも一部は役割を演じているようである。そして、この一部分というのは、bridge の stickiness に由来するものである事が暗示される。

擧げするに際し、終始御懇切なる御指導を賜りました恩師氣賀正己教授に深甚なる感謝を捧げますと共に、多大の御援助を戴きました小池講師及び教職員各位に深謝致します。

本研究の要旨は第 17 回及第 18 回日本医学放射線学会総会に於て報告した。

文 献

1) L.H. Gray: Brit. J. Radiol. 1953, 26, 609.
 —2) D.E. Lea, D.G. Catchside: J. Genetics 44, p. 216, 1942. —3) D.E. Lea: Actions of Ionizing radiations on living cells, Cambridge 1946. —4) Marshak A.: Proc. Nat. Acad. Sci. Wash. 23, 362, 1937. —5) Marquardt, H.: Roentgen-pathology of mitosis, Z. Bot. 32, 401, 1938. —6) K. Sax: X-ray-induced chromosomal aberrations in Tradescantia. Genetics 25, p. 41, 1940. —7) K. Sax: Behavior of X-ray-induced chromosomal aberrations in onion root-tips Genetics 26, p. 418, 1941. —8) D.E. Lea, D.G. Catchside: J. Genetics 44, 216, 1942. —9) C.P. Swanson: Radiobiol. Symposium p. 254, 1954. —10) H.P. Riley, N.H. Gilles & A.V. Beatty: Amer. J. Bot. 39, 592, 1952. —11) 佐藤: 日放誌, 第 17 卷第 9 号, p. 1063. —12) 村山: 日放誌第 17 卷第 4 号 p. 326. —13) 上条: 日放誌第 19 卷第 3 号, 548. —14) W. Dittrich: Srither 35, 177, 1955. —15) S. Wollf: Genetics 39, 356, 1954. —16) J. M. Thoday, & M. J. Read, Nature 160, 608, 1947, and Nature 163, 133, 1949. —17) P. Bonet-maury, & M. Le Fort: Compt. rend. 220, 1363, 1948. Nature 160, 981, 1950. —18) W. Dittrich, Srither 35, 177, 1955. —19) W. Dittrich, and H. Heinrich: Z. Krebsforsch., 61, 38, 1956. —20) W. Dittrich: Advances in Radiobiol. Oliver and Boyd p. 86, 1956. —21) Bacq Z.M.: Symp. on R.B. (Hovary Forsberg p. 160, 1957. —22) D.G. Doherty et al.: Rad & Res. 7, p. 113, 1957. —23) R. Shapiro et al.: Rad & Res. 7, p. 22, 1957. —24) C.W. Wilson: Brit. J. Radiation 31, 1958. —25) H.M. Patt, E.B. Tyree, R. L. Stranb, and D.E. Smith: Science 110, 213, 1949. —26) 氣賀: 作用機序から見た放射線防護, 労働と結核, 55, 18, 1957. —27) P. Alexander, Z. M. Bacq et al.: Rad. res. 2, 392, 1955. —28) Z. M. Bacq: Acta Radiol. 14, 47, 1954. —29) A. Catch, R. Koch, and H. Langendorff: Fortscher. Geb. Rontgen 84, 462, 1956. —30) A. Catch, H. Langendorff: Naturwiss 43, p. 281, 1956. —31) B. Shapiro, and L. Eldjarn: Radi. res. 3, p. 255, 393, 1955.

Effects of Cysteine upon the Radiation Induced Caryokinetic
Decrease and Chromosomal Aberration.

By

Takahiro Machida

Department of Radiology, Showa Medical College.

(Director: Prof. Masami Kiga)

Some experiments were carried out on the protective action of cysteine to radiation injuries. One of the purpose of this experiment was to get some suggestions on the action modes of biological action of ionizing radiation to the living matter, ie, direct or indirect.

- 1). Cysteine reduced the radiation induced caryokinetic decrease in root tip cells of the bean.
 - 2). Chromosomal aberration caused by radiation was protected by cysteine in Yoshida ascites tumour.
 - 3). Chromosomal bridge was reduced in number by cysteine given before or immediately after irradiation.
 - 4). Chromosomal fragment was not influenced by cysteine treatment not only after but also before irradiation.
 - 5). In these difference between chromosomal bridge and fragment, probable action modes of radiation were suggested; bridge to be indirect at least in part and fragment to be direct.
-