

網内系機能と悪性腫瘍並びに放射線との関係に就いて

第 1 編

墨汁填塞に依るラットの血液像，網内系機能並びに吉田肉腫
接種後の腫瘍発育，生存率，転移形成に及ぼす影響に就いて

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 田 邊 正 忠
医学研究生

〔昭和38年10月7日受稿〕

緒 論

網内系の名称で呼ばれる一群の細胞に対する研究は古く，V. Recklinghausen (1863) により Amoeboid cells として記載され，Metchnikoff (1904) により Macrophagen と称せられた血球形成，免疫体産生等に密接なる関係を有する細胞群であり，これに対して網内系として体系を形成したのは，Aschoff, 清野教授であり最近では赤崎教授等の業績があげられる。このようにして網内系の機能その他が明らかとなり，近年に至り腫瘍発育と網内系の関係に就いても種々論ぜられておる。われわれの分野に於いてもこの探究の必要性を認めたので，基礎的実験として網内系填塞によるラットの血液像，網内系機能が腫瘍発育，生存率，転移形成に如何なる影響を与えるか，両者が如何なる関係を有するかに就いて実験を行なつた。

第 1 章 実験材料並びに実験方法

実験動物 雑系成熟ラット体重 150g 前後のものを使用し飼育条件を揃えるために CLEA 製 CE-2 固型飼料にて 1 週間以上当教室にて飼育した。

墨汁填塞方法 青木¹⁾，沢野²⁾，白髪³⁾，等の方法に準じて行なつた。即ち市販不易墨汁（別表 1 参照）を濾紙 2 枚（東洋濾紙 No. 50）で 2 回濾過し生理的食塩水にて 10% に希釈し 73°C 2 時間宛 3 日間滅菌し体重 20g に 0.05cc 並びに 0.1cc の割合で尾側静脈より 1 日 1 回連続 10 日間可及的緩徐に注射した。

網内系機能検査は Halpern⁴⁾ 等の墨汁クリアランス法を用いた。然し私は原法を少し変えて墨汁注射 4 分，30 分後の 2 回採血し各群との比較検討を目的とする為，吸光度の差で現わした。即ち，4 分，30 分後の

別表 1

不易墨汁組成	
水分	80%
Carbon black	6%
Glucose	4%
CaCl ₂	8%
Camphor	0.4%
その他防腐剤活性剤	少量
Carbon black 粒子径	400~800Å
pH	5.0~6.0
比重	1.10

吸光度の差が大となれば機能は亢進しているものであり，差が小となれば機能は低下していると判断した。測定方法は滅菌 10% ペリカン墨汁ゼラチン添加生理食塩水溶液を体重 20g に 0.1cc の割合で尾側静脈より可及的緩徐に注射し，4 分，30 分後の 2 回下肢静脈を穿刺し，血色素用メランジュールにて 0.02cc 採血し直ちに 0.1% Na₂CO₃ で溶血を起させた後ベックマン型島津光電比色計で波長 660mμ の吸光度 E を求めた。

血液検査は各群とも吉田肉腫移植直前に下肢静脈を穿刺採血し検血に供した。

生体染色により異物食喰能を見るため，吉田肉腫移植後 5 日目，6 日目の 2 日間に亘り体重 20g につき 1% トリパン青 0.1cc を尾側静脈より注射し，注射終了後 24 時間目に屠殺し各組織をスーサにて固定した後，パラフィン包埋切片作製後，核赤牢にて染色検鏡し，又一部はヘマトキシリンエオジン染色を施した。

吉田肉腫は実験動物中央研究所より分譲され教室で継代しているものを使用した。移植方法は吉田肉

腫を腹腔内に移植した後5～6日目の純培養の状態に近くなったものを滅菌ツベルクリン用注射器にて採取し生理的食塩水にて稀釈し、腹腔内移植群は細胞数100万ケ、下腿筋肉内移植群は細胞数200万ケを各々移植した。

実験群の構成

①対照、無処置ラッテに吉田肉腫腹腔内及び下腿筋肉内移植。

②体重 20g につき10%不易墨汁 0.05cc 10日間連続尾側静脈注射後翌日吉田肉腫を腹腔内及び下腿筋肉内移植（下腿筋肉内移植群を BⅢ 0.05cc 群と以下略記す）

③体重 20g につき10%不易墨汁 0.05cc 10日間連続尾側静脈注射後10日目吉田肉腫下腿筋肉内移植（BⅡ 0.05cc 群と以下略記す）

④体重 20g につき10%不易墨汁 0.05cc 10日間連続尾側静脈注射後30日目吉田肉腫下腿筋肉内移植（BⅠ 0.05cc 群と以下略記す）

⑤体重 20g につき10%不易墨汁 0.1cc 10日間連続尾側静脈注射後翌日吉田肉腫下腿筋肉内移植（BⅢ 0.1cc 群と以下略記す）

⑥体重 20g につき10%不易墨汁 0.1cc 10日間連続尾側静脈注射後10日目吉田肉腫下腿筋肉内移植（BⅡ 0.1cc 群と以下略記す）

⑦体重 20g につき10%不易墨汁 0.1cc 10日間連続尾側静脈注射後30日目吉田肉腫下腿筋肉内移植（BⅠ 0.1cc 群と以下略記す）

腹腔内移植群は生存率を見、下腿筋肉内移植群はその腫瘍の縦径横径をノギスにて測定し縦径と横径の積を腫瘍面積と仮称し、同時に生存率、転移形成度を観察した。

第2章 実験結果

第1項 血液検査

1. B 0.05cc 群に於ける結果は表1に示す如く BⅢ 0.05cc 群では対照群に比して血色素量、赤血球数は共に減少し軽度の貧血を来している。白血球数はやや増加傾向を示している。BⅡ 0.05cc BⅠ 0.05cc 群ではやや回復の傾向を示しているが対照群に比べてはなお貧血の傾向を示している。

2. B 0.1cc 群に於ける結果は表2に示す如くで B 0.05cc 群とはほぼ同様の傾向を示し BⅢ 0.1cc 群では血色素量、赤血球数の減少を認め白血球については変化を認めない。BⅡ 0.1cc 群では血色素量、赤血球数は対照に近い値を示すも BⅠ 0.1cc

表 1

	血色素量	赤血球数	白血球数	4分後 -log T	30分後 -log T	差
BⅢ 0.05cc 群	80	520	13,200	0.019	0.012	0.007
	85	595	10,500	0.010	0.010	0.000
	92	850	12,600	0.013	0.011	0.002
	95	725	15,200	0.017	0.012	0.005
	75	685	15,700	0.012	0.011	0.001
(平均)	85.4	675	13,440	0.0142	0.0112	0.003
BⅡ 0.05cc 群	82	633	12,850	0.017	0.007	0.010
	97	720	12,300	0.019	0.007	0.012
	92	767	13,200	0.023	0.0075	0.0155
	90	910	11,300	0.017	0.0065	0.0105
	98	880	10,400	0.013	0.0065	0.0065
(平均)	91.8	782	12,010	0.0178	0.0069	0.0109
BⅠ 0.05cc 群	110	840	12,200	0.017	0.009	0.008
	90	720	12,400	0.019	0.009	0.010
	92	680	11,100	0.021	0.0055	0.0155
	102	720	8,800	0.017	0.007	0.010
	102	955	13,700	0.015	0.0075	0.0075
(平均)	99.2	783	11,840	0.0178	0.0076	0.0102
対 照 群	98	937	12,100	0.023	0.012	0.011
	101	853	11,600	0.025	0.013	0.012
	97	1010	10,500	0.013	0.005	0.008
	95	825	9,500	0.018	0.001	0.017
	94	804	10,100	0.022	0.011	0.011
	98	821	11,100	0.018	0.001	0.017
(平均)	97.2	875	10,817	0.0198	0.0072	0.0126

群では再び対照に比し赤血球数は減少を認めている。一般的傾向として赤血球は減少を来した後漸次回復傾向を示している。墨汁填塞による血液像の変化については後述の如く幾多の研究があるがこれと略々一致している(12)(3)(5)-(13)。

第2項 網内系機能検査

網内系機能検査は表1、2に示す如く両群とも BⅢ群では差の小なる傾向を示し機能的に低下を認める。BⅡ、BⅠ群では共に漸次回復の傾向を示すが然し未だ対照群に比し機能低下は認められる。

第3項、吉田肉腫移植後の生存率、腫瘍発育について

1. 腹腔内移植の場合、10%墨汁を体重 20g につき 0.05cc の割合で10日間尾側静脈注射処置完了翌日吉田肉腫を腹腔内に移植した場合の生存率をみる

表 2

	血色素量	赤血球数	白血球数	4分後 -log T	30分後 -log T	差
B III 0.1cc 群	72	522	9600	0.016	0.016	0.000
	82	655	11800	0.020	0.015	0.005
	78	502	18100	0.017	0.016	0.001
	90	693	13700	0.012	0.012	0.000
	100	814	11800	0.018	0.017	0.001
(平均)	84.4	637	13000	0.0166	0.0152	0.0014
B II 0.1cc 群	102	810	8800	0.015	0.011	0.004
	100	888	9100	0.022	0.011	0.011
	99	786	11000	0.025	0.009	0.016
	87	732	13400	0.025	0.012	0.013
	103	854	9200	0.015	0.012	0.003
(平均)	98.2	814	10300	0.0204	0.011	0.0094
B I 0.1cc 群	95	746	12200	0.018	0.008	0.010
	90	749	10100	0.015	0.003	0.012
	85	683	12400	0.013	0.003	0.010
	102	837	8600	0.021	0.010	0.011
	110	880	9300	0.016	0.007	0.009
(平均)	96.4	779	10520	0.0166	0.0062	0.0104
対 照 群	98	937	12100	0.023	0.012	0.011
	101	853	11600	0.025	0.013	0.012
	97	1010	10500	0.013	0.005	0.008
	95	825	9500	0.018	0.001	0.017
	94	804	10100	0.022	0.011	0.011
	98	821	11100	0.018	0.001	0.017
(平均)	97.2	875	10817	0.0198	0.0072	0.0126

に移植直前の Halpern の変法による網内系機能検査では機能的に低下を認めているに拘らず図 1 に示す如く第 1 回の実験では逆に対照無処置群に延命が認められ第 2 回の実験では有意差を認めない実験結果を得た。

2. 下腿筋肉内に移植した場合

1) B I 0.05cc B II 0.05cc

B III 0.05cc 群の場合

B III 0.05cc 群と対照群のみで行なつた第 1 回の実験に於いて図 2 に示す如く B III 0.05cc 群にむしろ対照に比して腫瘍発育抑制傾向を示したので、更に第 2 回の実験を行なつた所、図 3 に示す如き結果を得た。第 2 回目の実験では

図 1

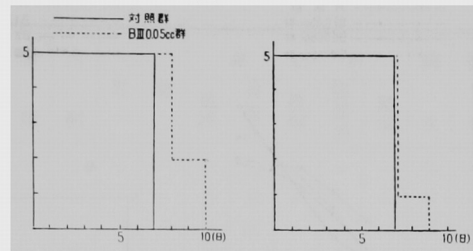
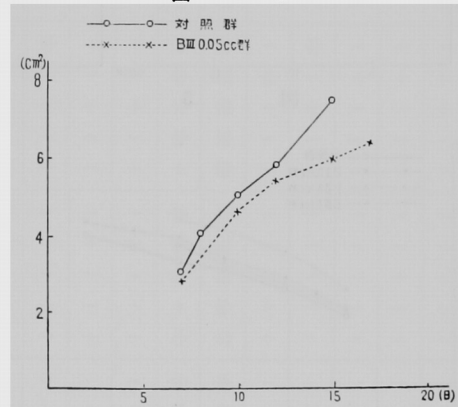
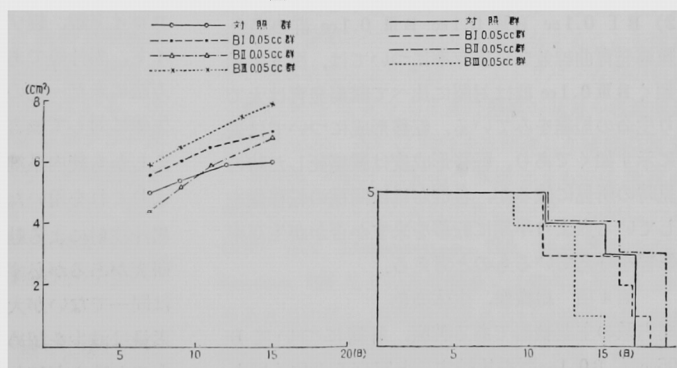


図 2



一応過去の文献にある如き網内系機能低下により対照に比し腫瘍発育は大であり生命の短縮をみている。B II 0.05cc 群, B I 0.05cc 群に於いても腫瘍発育は対照よりやや大となる傾向をみるも生存率に於いては B I 0.05cc 群, B II 0.05cc 群とも有意差を認めない。更に同様の方法で第 3 回目の実験を行なつた所、成績は図 4 に示す如くであり、各群の間に一定の傾向を認めることは出来なかつた。このようなことからラット体重 20g に 0.05cc の割合で 10% 不易墨汁を 10 日間尾側静脈より注射しても腫瘍発育に大した影響を与えないことを知つた。更に墨汁量を変

図 3



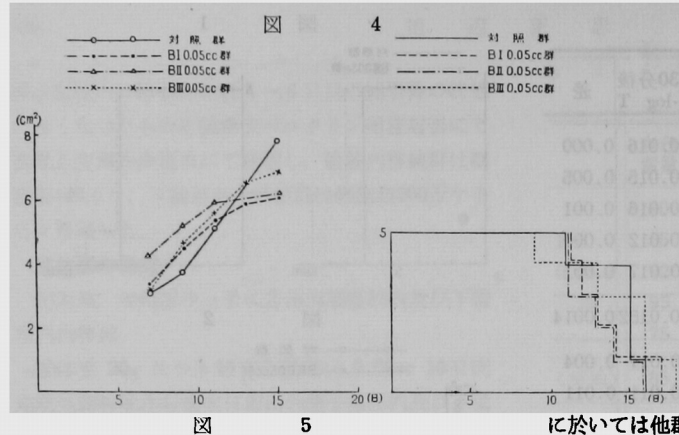
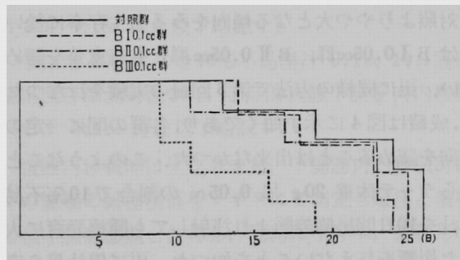
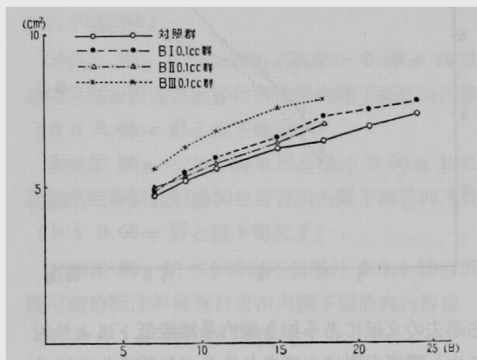


図 5



えて以下の実験を行なった。

2) B I 0.1cc B II 0.1cc B III 0.1cc 群の場合
腫瘍発育曲線並びに生存率については、図 5 に示す如く B III 0.1cc 群は対照に比べて腫瘍発育は大であり生命の短縮をみている。転移形成については表 3 に示す如くであり、転移形成度は腫瘍死した時の剖見時の所見に依るが、各群がほぼ同様の転移像を来している点より早期に転移を来すか否かが生存率に影響を与えているものと考え。

第 4 項 組織像, 生体染色

網内系の主要臓器である脾臓, 肝臓について B 0.05cc 群, B 0.1cc 群を比較すると写真 I の如くであ

り墨汁注射量の変動のために来ると考えられる食喰度にも差が見られた。組織学的所見に経時的変化例えば細胞の代償性肥大, 回復, 増生等の徴候を認めることが出来なかつた。吉田肉腫移植後 7 日目のものについてトリパン青を注射して各群の腫瘍組織部に於ける網内系細胞のトリパン青食喰出現度は写真 II 6AB, 5AB, III 4AB に示す如く, B III 0.1cc B II 0.1cc 群

に於いては他群に比し少なく且つ間質反応の弱いことが認められるが, B III 0.1cc 群が最も弱いことを示している。従つて腫瘍局所の網内系細胞のトリパン青食喰出現度と全身的網内系機能は相關関係を有し腫瘍発育, 転移形成, 予後と大いに関係を有することが推定される。

考 察

私の実験で行なつた血液像に就いて文献的にこれを見ると井上¹⁴⁾ はラットの赤血球の平均は 826 万といい, 山口¹⁵⁾ は 821 万 ± 78, 安東¹⁶⁾ は ♂ 927 万 ♀ 924 万平均 935 万と可成り報告者により数値の差がみられるので, 私は実験開始時に 875 万という数値を得たのでこれを標準として実験を行なつた。白血球数に就いてもまちまちで, 坂田¹⁷⁾ は ♂ 8900 ♀ 8800, 吉川¹⁸⁾ は ♀ 17000, 川地¹⁹⁾ は ♀ 11700, 有馬²⁰⁾ は 10877, 山本²¹⁾ は 16400, 山口¹⁵⁾ は 10900 というのも私の実験開始時には 10817 (平均値) を示し大体有馬, 山口の報告に近い値を得たのでこれを標準とした。

次いで網内系填塞に使用される物質としては従来よりトリパン青, リチオカルミン等の生体染色色素, コロイド銀, 銀ゾル, 銅エレクトロイド等の金属コロイド, 墨汁等であるが使用する物質, 使用量, 使用方法に未だ一定の方式がない。文献的にみて墨汁は生体に対して無害であり大量注射にも実験動物は耐えしかも網内系細胞に沈着して容易に排泄しない点よりこれを用いた実験が多くなされている^{12) 23) 26) - 13)}。墨汁注射による動物血液像の変化については多くの研究があるが必ずしも使用量, 濃度, 回数に於いては同一でないが大体の傾向として赤血球数及び血色素量は減少を認め白血球数はやや軽度の増加をみたものと殆んど認むべき変化なしとするものとあり,

表 3

	生存期間	腫瘍の大きさ	心	肺	肝	腎	脾腫	大網	胃	腸	淋 巴 腺					胸水	腹水
											鼠蹊	後腹膜	縦隔	腸間膜	腋窩		
対 照 群	24	3.5×2.5	—	+	—	—	+	—	—	—	+	卅	卅	—	—	卅	—
	19	3.2×1.9	—	+	—	—	+	—	—	—	卅	卅	+	—	—	+	—
	13	3.3×2.1	—	卅	—	—	—	—	—	—	卅	卅	—	—	—	—	—
	26	3.3×1.8	—	—	—	—	±	卅	—	—	卅	卅	—	卅	—	—	+
	26	3.0×1.7	—	—	—	—	+	—	—	—	卅	卅	—	—	—	—	—
B III 0.1cc 群	9	2.8×1.9	—	—	—	—	+	卅	—	+	卅	卅	—	卅	—	—	—
	9	3.3×2.2	—	卅	—	—	+	—	—	—	卅	卅	卅	—	—	+	—
	11	3.1×2.0	—	—	卅	—	+	+	+	+	卅	卅	—	+	—	—	+
	16	3.5×2.4	—	卅	—	—	+	—	—	—	卅	卅	—	—	—	—	—
	19	3.5×2.4	—	—	—	—	+	—	—	—	+	卅	—	—	—	—	—
B II 0.1cc 群	23	3.3×2.2	—	卅	—	—	+	—	—	—	卅	卅	—	—	—	—	—
	17	3.0×2.0	—	—	—	—	+	—	—	—	卅	卅	—	—	—	—	—
	11	3.2×2.2	—	—	—	—	—	—	—	—	卅	卅	—	—	—	—	+
	23	3.0×2.1	—	+	—	—	+	—	—	—	+	卅	+	—	—	—	—
	24	3.5×2.0	—	卅	—	—	+	—	—	—	卅	卅	+	—	—	—	—
B I 0.1cc 群	14	3.2×2.1	+	卅	—	—	+	—	—	—	卅	卅	—	—	—	—	—
	23	3.3×2.2	—	—	—	—	+	+	+	+	卅	卅	—	+	—	—	+
	18	3.3×2.2	—	—	—	—	+	—	—	—	卅	卅	—	—	—	+	—
	25	3.6×2.5	—	—	—	—	+	+	—	—	卅	卅	—	+	—	—	—
	25	3.4×2.2	—	卅	—	—	+	—	—	—	卅	卅	+	—	—	+	—

又小宮⁹⁾は使用した墨汁の種類、量により血液像の変化に差異があると述べている。私の実験に於いては B 0.1cc 群、B 0.05cc 群ともほぼ同様の傾向をもつて変化しており、B III 0.1cc 群、B III 0.05cc 群は対照に比して赤血球数、血色素量は減少し B II、B I 群と経時的に漸時回復傾向を見ている。白血球数は多少増多傾向を認める群も存し一定傾向を認め難い。このような現象に対し小宮は墨汁による貧血の主因は網内系機能不全であるといい、又妹尾教授²²⁾らは網内系を墨汁で填塞すると鉄の食喰能は何ら障害されないが食喰後の鉄の処理機転が障害され長期間鉄が細胞内に残存するのを認めている。中山²³⁾は各種貧血に於ける網内系機能をコンゴ赤により調べ何れの場合にも低下傾向を認め貧血度と網内系機能は平行関係を有すると述べており、私の場合も Halpern の変法を用いた網内系機能検査に於いても貧血の回復と共に網内系機能は回復傾向を示し概ね平行関係を認めている。

網内系と腫瘍の関係に就いては、種々実験が行なわれており Stern の説²⁴⁾の如く生体に於ける腫瘍の

發育の局所的並びに全身的網内系の変調という考えで腫瘍発生は網内系の脆弱化ないし腫瘍に対する抵抗性の減弱、或いは腫瘍發育促進物質の過剰増加に伴う網内系の乱調等の諸因子の協同に依るとする考え、山形²⁵⁾等の研究の如く胃癌患者の Congo-red 指数値は低下しており根治手術不能例では網内系機能の低下は症状の悪化と共に進行するが、癌腫の剔出による病勢の停止或いは一般状態の輕快する場合に網内系機能は亢進している場合が多いとし、大いに網内系と腫瘍の間には相互関係を有することを推定せしめる研究成果を報告し、又トリパン青等の色素で網内系を填塞すると悪性腫瘍の發育や移植率が増大するか、或いは網内系を刺激した状態の家兎に Brown-Pearce 家兎癌を移植せるものは發育の抑制がみられるとの報告がある²⁶⁾⁻²⁸⁾。しかし一方 Old³⁰⁾らは Adenocarcinoma 755, Ehrlich 腹水癌, Sarcoma 180 などの移植腫瘍では網内系機能亢進のみられるに反し、自然発生癌あるいは癌原物質、誘発癌の場合には網内系機能の変動はわずかであり移植腫瘍での機能亢進は腫瘍そのものの影響より異種

性よるののではないかと述べているし、彼等は網内系刺激によつて移植腫瘍の場合には死亡率の低下、生存日数の延長を認めるが自然発生癌の同系移植の場合にはその影響はほとんど認められないことから網内系の腫瘍そのものに対する抵抗性には疑問を抱いている。

私の場合は B 0.1cc 群, B 0.05cc 群とも Halpern の変法による網内系機能検査では対照に比し機能低下を認めるに拘わらず B 0.05cc 群に於いては腫瘍発育は対照と差のない例, 又対照群より延命を認める例等種々で一定の傾向を見出し難い。このことは網内系機能という複雑多岐のものを一元的に異物貪喰能によつて表現しようとする所に時としてみられるものであり, 各種機能は必ずしも平行して変化しているものではないことを推定せしめる。河北³¹⁾等は網内系填塞法に関する重要な注意として網内系は全力を有しつつ活動するため填塞は刺激となつて全力を動員し, 又填塞された細胞は再生増殖するため却つて促進的效果をもたらすことがあると述べている。墨汁量を B 0.05cc 群の 2 倍にした B 0.1cc 群に於いては文献的記載とほぼ同一傾向を示し B III 0.1cc 群に於いては対照に比して腫瘍発育は大であり生命の短縮をみている。B II 0.1cc 群 B I 0.1cc 群に於いては網内系機能は漸次回復すると共に対照

群に漸次近い傾向を示している。更に B III 0.1cc 群の如く生染所見では網内系機能低下により早期に腫瘍死した例では腫瘍に対する局所の反応は弱く, このことが予後を悪くする一因とも考えられる。

結 語

1) 或る墨汁量に於いては網内系墨汁填塞は先賢の報告の如く貧血を来すも一過性のもので漸次回復し網内系機能と概ね平行関係を認める。

2) 墨汁量が少なければ網内系機能(貪喰能)は低下しているに拘わらず腫瘍発育に大なる影響を与えない。腫瘍に対する影響をみるための網内系填塞を目的とする場合, 墨汁量, 回数, 濃度には充分検討の余地がある。ラッテに就いては至適量, 濃度は 10% 不易墨汁体重 20g 当り 0.1cc 10 日間連続注射である。

3) 至適網内系墨汁填塞は腫瘍発育に或る程度関係を有し腫瘍発育の促進を来す像を呈し腫瘍周辺の間質反応は弱いことを示した。

4) 網内系墨汁填塞により腫瘍組織内のトリパン青貪喰細胞の出現は対照に比して少ないことを知つた。

以上が網内系に関する基礎的実験として得た結果であり茲に報告する。

写真, 参考文献, 英文抄録は巻末に一括して記す。