

瀧澤系マウス皮膚癌に及ぼす「レ」線照射の 影響について

岡山大学医学部病理学教室（指導浜崎教授）

助手 佐々木俊夫

〔昭和27年6月10日受稿〕

緒言

腫瘍の治療にとってレ線の価値は大なるものがあるが、その作用については従来明瞭な知見が無く専らクロマチン染色法による細胞核の組織学的変化が目標とされて来た。而して細胞の核酸代謝の変化を見る事はレ線の生物学的作用を知る上に興味があり、佐藤¹⁾²⁾³⁾はレ線を照射せられた正常マウス組織について系統的にデオキシリボ核酸(DNA)とケトエノール顆粒(KEG)の消長を報告し、永野⁴⁾は同じくリボ核酸(RNA)の消長を報告して興味深い知見を得た。私は腫瘍細胞にレ線が如何なる影響を与えるかに就て核酸の組織化学的証明法を用いて検索を行つた。

実験材料並に実験方法

瀧澤系マウス皮膚癌を細挫して生理的食塩水を加えて10倍乳剤となし、マウス一匹当り腫瘍組織約0.2grを皮下に移植し、移植後10日目で腫瘍が拇指頭大に達した頃レ線を照射した。以後3, 12, 24時間, 2, 3, 4, 5, 6, 7日後と逐時に屠殺して腫瘍組織をCr・合剤, 汞・合剤, 無水硫酸銅加純アルコールで固定した後、夫々Karbhol-Fuchsin-Jod法(KFJ法), Feulgen反応, Thionin染色法を用いてKEG, DNA, RNAの消長を追求した。レ線の条件は160K. VP, Filter Cu 0.5+Al 0.3 mm, 表面量200r, 距離23cm, 全身照射である。

実験成績

(I) Feulgen 反応

対照 (+)

核膜は一般に明瞭であるが、一部に於て淡染し核小体は染らない。クロマチンは彌漫性に微細顆粒状を呈し、一部顆粒が融合して大なる核網結節を成し、類円形、楕円形、星状或ひは索状に現れている。又核の中心部にはクロマチンが甚だ少く空虚状に見えるものがある。

照射後2時間 (+)

彌漫性微細顆粒状或ひは結節状のクロマチンは対照に較べてやゝ呈色性を減じ、又核の中心部は全く空虚に見えるものがある。核膜は一般に連続性に染つているが一部が淡染又は消失しているものが対照に較べて増加している。核は多少類円形に腫大する傾向が見える。

照射後12時間 (+)

核の呈色性は更に減少し、腫大化の傾向を増す。クロマチンは微細顆粒状に淡く染るがその境界は多少不明瞭で液状化している様に見える。併し結節状を呈して淡染し核膜内壁に接して存在するクロマチンも認められる。濃縮核の呈色性も減少している。

照射後24時間 (+)

核の呈色性は更に減少し、依然腫大の傾向が認められる。核膜も一層不明瞭となり、微細顆粒状の淡染する核網が核周辺部に偏在する事によつて核の形態を維持している様に見える。核網結節は縮小してその呈色性を減じ、核膜周辺に残留して核の中心部は全く空虚なものが多い。核の腫大の起る一方核濃縮が増加して濃染している。分裂核は可成減少している。核膜の崩壊消失により、原形質内には

微細顆粒状のものから粗大滴状、塊状の Feulgen 反応陽性物質が遊離して認められる。

照射後2日 (十)

核の呈色性は依然減少して居り、微細顆粒状のクロマチン結節は殆んど消失に近いが、核網結節は却つてやゝ増加して境界鋭利に濃染している。核の腫大は24時間後と同様に著明で、核膜は淡染し一部或ひは全部が呈色性を失っている。分裂核は既に多少増加の傾向を示し始めている。核濃縮に陥つた濃染核が相当数に認められ、この部には原形質内に不規則散在性に大小不同の Feulgen 反応陽性顆粒が出現する。

照射後3日 (十)

核膜の呈色が回復するよりも早く核網結節の呈色が回復し、粗大顆粒状或ひは結節状に核内に出現するのが認められる。この様に核は回復に向ふ一方、核の変性が更に進み核膜の消失により原形質内に大小の Feulgen 反応陽性顆粒が多数出現している。一般にクロマチンの呈色性は対照より却つて著明の様である。

照射後4日 (十)

一般に核の呈色性は正常で対照に似るが、尙核の腫大が認められる。クロマチン結節が正常像に回復しているのに較べて核膜の再生は未だ不十分で明瞭に見えないものが可成多い。他方依然崩壊機転が進み、核網結節のみ淡染するもの、クロマチンが核膜周辺部に顆粒状に並んでいるものや原形質内に顆粒が散逸しているものが少くない。分裂核は対照同様に多数認められる。

照射後5日 (十)

核の呈色性は未だ僅かに弱く核の腫大があり、核網結節は対照のそれに近いが核内が空虚なものがある。核膜は一般に呈色性が回復して明瞭なものが多いが尙不十分なものもある。分裂核は多数に存在する。

照射後6日 (十)

殆んど全く正常に帰つて核の腫大は既に見られず、核膜も回復して明瞭に現れ、核網結

節も対照と同様である。破壊された核、分裂核共に多数に認められる。

照射後7日 (十)

照射後6日目と同様所見で核は全く正常復帰を示し、対照と比較して却つて核は著明に顆粒状に濃染してその境界が不明瞭化している。

(I) ケトエノール顆粒 (KEG)

対照 KEG (十) KEL (十)

KEG は一般に腫瘍組織の周辺部に見られ、 $0.5\sim 2\mu$ 大の類円形、稜角形、星形、Myelin 型顆粒が多く核膜に外接し或ひは核膜と関係なく原形質内に1~3ヶ或ひは5~6ヶ認められる。Baryt 水分別により一部の顆粒は呈色性を増加して他は総て消失する。

照射後3時間 KEG (十) KEL (十)

一般に KEG は少く類円形、稜角形の 0.5μ 大以下の微細粉末状の小顆粒が原形質内に散在する。顆粒は一般に小さいが中に小塊状 1μ 大のものがある。Baryt 水分別を行ふと $0.5\sim 1\mu$ 大の顆粒が原形質内に残存するが、その他はすべて消失する。

照射後12時間 KEG (十) KEL (十)

一般に KEG は照射後3時間に較べて減少し主にコマ状、桿状形、他に類円形、稜角形の $0.5\sim 1\mu$ 大の顆粒が概ね核膜に外接して1~2ヶ存し、 1μ 大以上の大きい顆粒は殆んど認める事が出来ない。

又原形質内に微細粉末状に数ヶ散在性に認められる。腫瘍中心部の腫大した核をもつ細胞には KEG はないか或ひは少く、表層部の楕円形の小核を持つ細胞に多く認められる。概して KEG は対照に較べて密度が粗である。Baryt 水分別により殆んどすべて消失する。

照射後24時間 KEG (十) KEL (十)

腫瘍組織の表層部では殆んど KEG の消失を来し、存在しても 0.5μ 大以下の微細なものが1~2ヶあるに過ぎず、その呈色性も弱い。腫瘍組織の基底部には $0.5\sim 2\mu$ 大の呈色性の良い稜角形、類円形の顆粒が原形質内に散在するが Baryt 水分別により之等顆粒は呈色性を増加して残尚し、中に中空の明るく

輝いた顆粒も認められる。

照射後2日 KEG (+) KEL (-)

KEG は腫瘍組織周辺部に認められ、類円形、コマ状、稜角形で原形質内に数ヶ散在性に存在し、中に核膜に外接するものが認められる。その大きさは一般に小さくて $0.3\sim 0.5\mu$ 大の微細なものが多く、中に 1μ 大、時に小塊状 $2\sim 4\mu$ 大の大顆粒が認められる、核の中にも $1\sim 2$ ヶ上記顆粒の認められるものがある。Baryt 水分別により上記顆粒は消失する。

照射後3日 KEG (++) KEL (-)

KEG は類円形、稜角形を呈して $0.5\sim 1\mu$ 大で、呈色性も増加して原形質内に $2\sim 3$ ヶ存在する。之等は Baryt 水分別により消失する。

照射後4日 KEG (≡) KEL (+)

表層部では KEG は最も多く $0.3\sim 1.5\mu$ 大の顆粒が散在する。深部の方では一般に KEG は類円形、稜角形を呈してその呈色性も比較的強く核膜に外接して認められる。又原形質内に呈色性の弱い微細粉末状顆粒の存在する部分が認められる。処々核内に $0.5\sim 1\mu$ 大の KEG が核内に或ひは核膜に内接して $1\sim 2$ ヶ存在する事がある。Baryt 水分別を行ふと塊状或ひは $1\sim 2\mu$ 大の類円形顆粒が極く少数呈色性を昂進して残存する以外は総て消失する。

照射後5日 KEG (++) KEL (++)

KEG は核膜に外接して $0.5\sim 1\mu$ 大のものが $1\sim 2$ ヶ、稜角形、類円形、半月形を呈して現れ、中に核を取巻く様に $5\sim 6$ ヶ冠状に配列するものがある。一般に核膜に外接するよりも原形質内に遊離して存在するものが多い。又呈色性の弱い 0.3μ 大の微細な KEG の散在している部分も認められる。Baryt 水分別を行ふと $0.5\sim 2\mu$ 大の類円形顆粒が呈色性を昂進して点々と残存し又腫瘍組織周辺部及び出血竈の塊状顆粒が呈色性を増して残存するが、他は総て消失する。

照射後6日 KEG (≡) KEL (+)

核の腫大せるものは認められず紡錘形を呈

している。類円形の KEG が可成多く認められ $0.5\sim 3\mu$ 大、大小不同で散在性に存し、著明な処では細胞全体を蔽ふ様に多数に認められる。Baryt 水分別を行ふと周辺部に呈色性を昂進する $1\sim 3\mu$ 大の類円形顆粒が残存し、他の顆粒は全く消失する。

照射後7日 KEG (≡) KEL (++)

KEG は腫瘍組織の中央或ひは周辺部の区別なく可成多数に認められる。核膜に外接して類円形、稜角形、中空状の顆粒で $0.3\sim 1\mu$ 大のものが $2\sim 3$ ヶあり、其他の原形質内には同様なものが多数充満して居り、中に $2\sim 3\mu$ 大塊状顆粒が可成多数認められる部があり一般に对照に較べて KEG は多量である。Baryt 水分別を行ふと上記顆粒中類円形、塊状顆粒は多く残存してその呈色性を昂進する。

(■) リボ核酸

对照 (+)

核は大小不同で核膜は不明瞭なものが多い。核仁は大體明瞭でクロマチンは小顆粒状から塊状を呈し中に核内容の空虚のものもある。原形質内には淡青紫色の 0.5μ 大のチオニン好性顆粒が充満し、処々比較的濃染する顆粒もある。一般にその境界は不鮮明で多数の空泡状顆粒を認める。Baryt 水分別によりかゝる顆粒は全く消失する。

照射後3時間 (++)

核仁は大體明瞭で对照に較べて大きくなり濃染している。原形質はやゝ萎縮性になつてゐるか、原形質内のチオニン好性顆粒は境界が明瞭化し $0.5\sim 1\mu$ 大で濃紫色を呈し对照よりやゝ濃染する。 $0.5\sim 2\mu$ 大の空泡状顆粒を見るが对照よりは少い様である。核の崩壊に陥つたものではかゝる顆粒は明瞭でない。Baryt 水分別で総て顆粒は消失する。

照射後12時間 (++)

核並に核仁は腫大して濃紫青色を呈する。クロマチンは微細顆粒状に現れるが核内容は一様に淡明化している。核膜が明瞭でなくて核から原形質にかけて一様に顆粒状に見える部がある。原形質内には $0.5\sim 1\mu$ 大のチオニン好性顆粒が見られ照射後3時間よりやゝ

不鮮明だが、対照に較べると鮮明で粗大なものを認める。Baryt 水分別により全く消失する。

照射後24時間 (十)

核は腫大し原形質内には $0.5\sim 2\mu$ 大の比較的明瞭な境界を持ちチオンに濃染する顆粒が充満する。又瀰漫性に淡染して顆粒構造の不明瞭なものもあるが一般に粗大で3時間後よりははつきりした顆粒形態を示している。 $0.5\sim 2\mu$ 大の空泡状顆粒を処々に認める。核の破壊したものにはチオン好性顆粒は不明瞭で、又分裂核や腫大した核を持つ細胞の顆粒は淡染している。Baryt 水分別を行ふと之等顆粒は総て消失する。

照射後2日 (十)

核は腫大して破壊された核が多く、核膜の消失、核の萎縮、クロマチンの流失等が多く認められる。原形質内には微細な淡青紫色のチオン好性顆粒が充満しているが、中には境界も不鮮明で対照とほぼ同様の像を示す処がある。即ちチオン好性顆粒は回復の徴を示し始めるが、尙対照よりは濃染する $0.5\sim 1\mu$ 大の顆粒が多く認められる。Baryt 水分別により之等顆粒は総て消失する。

照射後3日 (十)

クロマチンは小塊状若しくは顆粒状を呈し核仁は小さくなっている。原形質内には $0.5\sim 1\mu$ 大の淡青色から濃紫色に染る顆粒が多数にあり、その呈色性及び境界は対照とほぼ同様になつている。Baryt 水分別を行ふと総て顆粒は消失する。

照射後4日 (十)

核は依然腫大している。原形質内には $0.5\sim 1.5\mu$ 大の淡青色から濃紫色の顆粒が多数に認められる。その量は未だ対照に較べると多い様である。発育の良い腫瘍組織の表層部は核、原形質共に他部に較べて濃染している。Baryt 水分別により顆粒は総て消失する。

照射後5日 (十)

核仁は正常構造を示している。原形質内のチオン好性顆粒は正常に近いが対照に較べると未だ濃染している様である。Baryt 水分

別により総て消失する、

照射後6日 (十)

核の所見は既に対照の夫れに復帰している。原形質内のチオン顆粒も淡染して不鮮明なものが増加して対照の所見と一致する。之等顆粒は Baryt 水分別により全く消失する。

照射後7日 (十)

照射後6日と同様の所見を示す。

実験成績總括並に考按

腫瘍細胞に及ぼすレ線の影響については既に良く知られている様に有絲分裂が押えられてその増殖抑制の効果が認められている。この現象と核酸代謝との関連は深い興味をもつて追求されて来た。初めて Caspersson⁵⁾ は紫外線顕微鏡による核酸の細胞化学的検出法を用いたが、之により Mitchell⁶⁾ はレ線、 γ 線照射に基く組織の核酸代謝の変化を調べ、急激に増殖する組織を照射すると原形質の RNA 量が30%も増えたが、核の DNA には増量は見られなかつた。彼はさきに Brachet⁷⁾ の称えた RNA が DNA に変るといふ仮説を用いて、レ線及び γ 線照射に際して RNA が DNA へ変る反応が抑制されて、核に於ける DNA の新たな合成がとまるに拘らず、原形質では RNA 合成の反応が押えられないので、RNA が増量すると説明した。そして之がやがて染色体の崩壊や核分裂の抑制の原因となると解釈した。Stowell⁸⁾ はネズミの移植乳癌にレ線を4000r照射すると癌組織の DNA は単位面積当り13%、細胞当り5%の減少を示したといふが、此の報告も彼の実験と良く一致する。Koller⁹⁾ はレ線100~300rを癌組織に照射後12~14時間の癌組織の栄養の良い処でその有絲分裂は減少し、細胞質の好塩基性が増しただけでなく核仁も大きくなつて Mitchell の結果に良く類似するといつている。又兎の胸腺に強いレ線をあてると6~15時間後に著しく DNA が減るといふ報告もある¹⁰⁾。佐藤はレ線の生物学的作用を系統的に追求して諸種臓器に200~600rを照射した時のKEGとDNAの消長を逐時追求して両者の

減少並びに回復が良く一致する事を確めた。

瀧沢系マウス皮膚癌にレ線 200r を照射して逐時的に DNA, KEG, RNA の消長を追求したが照射後 3 時間で核はやゝ類円形に腫大して既に DNA の減少が見られ核膜の一部消失がおこる。KEG も減少し 0.5~1 μ 大以下になるが中に粗大顆粒が残る。核仁に RNA が増え原形質はやゝ萎縮性だが RNA 顆粒はやゝ濃染して構造が明瞭となる。照射後 12 時間では核は腫大し DNA は更に減少し、呈色性が低下するだけでなく一部核内容が消失する。KEG も減少して 1 μ 大以上の顆粒は認め難い。RNA は 3 時間後に較べるとやゝ減少している様に見える。照射後 24 時間では核は更に腫大し、核破壊の傾向が強く分裂核も減少する。DNA は最も甚しく減少し、一部では核内容或ひは核膜の消失を来す。KEG も殆んど消失して僅かに呈色性の弱い顆粒を認める。RNA は再び増加する。分裂核の RNA は減少している。照射後 2 日では DNA は殆んど消失して核膜も消失し、原形質内に DNA 顆粒が塊状に散在する。分裂核はやゝ増加の傾向を示し始める。KEG はやゝ増加し、大きさは一般に小さいが核内にも 1~2 ケ認められるものがある。RNA はやゝ減量する。即ち KEG と RNA は正常量に回復し始める。照射後 3 日になると DNA は増量し一方では核破壊に陥る。DNA は対照に較べてやゝ呈色性を昂進している。KEG は増加し核内に或ひは核膜に外接して内生性の類円形 KEG を見る。核仁 RNA は減量し、原形質 RNA も呈色性が弱まる。照射後 4 日には DNA 量は増加してはゞ対照と同じだが核膜の回復は核網結節より遅れる様である。KEG は核膜に外接或ひは原形質内に遊離して多数認められその呈色性も強い。照射後 5 日になると核の腫大は未だ残るが核膜は回復してくる。KEG は原形質内に大小多数認められるが RNA は前回と依然同じである。照射後 6 日になると核の腫大はなくなり核膜も完成して DNA は正常となる。KEG は対照より多少増加している様である。RNA は漸く対照に一

致する。

以上の様に KEG は照射後 3 時間から 24 時間にかけて減少或ひは消失し 2 日後には再び増量し始め、DNA は KEG よりやゝ遅れて後者と消長を共にし 3 日後に増量し始める。しかも DNA は一過性に呈色性を昂進し、その後正常状態に帰る。RNA は照射後 3 時間から 24 時間に亘つて若干の増量が見られたが、再び減少して正常に帰るのに 6 日を要した。此等の成績から瀧沢系皮膚癌に於ても Mitchell, Stowell, 佐藤等の成績に類似した結果が得られたと言える。RNA の増量は著しくなつて、DNA の減量に反比例して RNA の増量が起るわけではない。Errera¹¹⁾ によれば予めレ線照射を行つた鳥の赤血球から抽出した DNA は対照に較べてその粘稠度と剛性が低いといふ。即ちレ線には DNA を解合する作用があると考えられる。レ線に DNA を解合する作用と合成を妨げる作用があるとすれば、レ線は低分子の DNA と考えられる KEG の分解を促しその合成を抑制するものと考えられ、DNA 量と KEG 量の消長が相伴ふ事は当然の事で、私の実験成績も此の考えを支持するものである。以上の結果からレ線照射により腫瘍細胞はその DNA の解合並に合成抑制の結果、一時的に核は機能麻痺の状態に陥りその結果分裂も抑制されるものであろう。之は照射後 12 時間から 2 日頃迄に最も強く 3 日目には既に核の機能は回復し始め核分裂は増加する。併し回復し得ずに進行性に核死に陥るものも少くない。

結 語

瀧沢系マウス皮膚癌を用いて腫瘍組織に及ぼすレ線の生物学的作用を逐時的に追求した結果次の成績を得た。

(1) 照射後 12~24 時間で DNA 及び KEG 量は最も強く減少し、同時に核分裂は抑制される。

(2) DNA と KEG 量の消長は並行的に行はれ、3 日後には再び核分裂が始まる。

(3) RNA は照射後 3 時間から 6 日に亘つ

てや、増量するが、之が DNA の減少と関係があるか否かは不明である。

終りに臨んで御懇篤な御指導御校閲を賜はつた恩師浜崎教授に深甚なる謝意を表する次第です。

滝沢系マウス皮膚癌に及ぼす「レ」線の影響

	対 照	「レ」線 照 射 後								
		3 時間	12時間	24時間	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	7 日
DNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KEG (KEL)	+	+	+	+	+	+	+	+		
RNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

○ 対照は移植後10日, 14日, 17日目をとつた。

○ 「レ」線は移植後10日目に照射した。

文 献

- 1) 佐藤：岡医誌, 62 ; 273. (昭 25)
- 2) 佐藤：岡医誌, 63 ; 79. (昭 26)
- 3) 佐藤：日病会誌, 38 ; 46. (昭 24)
- 4) 永野：岡大病理学教室別冊.
- 5) Caspersson, J.: Naturwiss 29 ; 29. (1941)
- 6) Mitchell : Brit. J. Exp. Path. 23. (1942)
- 7) Brachét, J.: Arch. Biol. Paris 44 ; 519. (1933)
- 8) Stowell, R. E.: Cancer Res. 5 ; 169. (1945)
- 9) Koller, P. C.: Nature 151; 233. (1943)
- 10) Grégoire, P. E.: Cited in Sibatani
- 11) Errera : C.R.Soc. Biol. Paris (1946).

吉田腫瘍のマウス脳内移植の免疫學的研究

岡山大学医学部病理学教室 (指導 浜崎教授)

助 手 佐 々 木 俊 夫

[昭和 27 年 6 月 10 日受稿]

緒 言

腫瘍の移植に動物の脳を用いる事は 1913 年 Uhlenhuth 及 Bindseil¹⁾ がマウスの癌腫をマウスの脳内に移植する事に成功したのを嚆矢とするが、我国でも 1921 年白井²⁾ は藤縄系家鶏肉腫をマウス、猿、家兔、鳩、モルモットの脳内に異種移植してモルモットを除いて高度の陽性率をあげた。又山崎³⁾ は Flexner 系鼠癌をマウス、鳩の脳内に接種してマウス (64%)、鳩 (10%) の移植率を得ている。

下つて巽⁴⁾ 等は吉田腫瘍腹水をマウスの脳

内に異種移植する事を試みたが不成功に終り、1950 年浜崎教授⁵⁾ は吉田腫瘍から濾過性因子を分離する目的で、腹水をマウスの脳内に接種して初めてその移植に成功した。(但し累代接種は行はなかつた。) 即ち腹水 0.02c.c. を脳内に接種されたマウスは約一週間の経過の下に脳膜刺戟状態から麻痺状態に至つて死亡し、その脳内には著しい腫瘍細胞の増殖が認められた。然るに吉田腫瘍腹水をマウスの腹腔内に移植しても、腫瘍細胞は一時は増殖するが、やがては腫瘍細胞の破壊吸収が行はれ治癒する⁶⁾。私はその際マウスが吉田腫瘍に対して免疫を得るものか否かについて研究