

低体温下レ線一時大量照射の悪性腫瘍に及ぼす影響について

—とくに吉田肉腫の間質結合織に及ぼす影響について—

昭和42年1月31日 受付

信州大学医学部星子外科教室

(主任：星子直行教授)

荒 井 清

Influence of Single Massive Irradiation under Hypothermia upon Malignant Tumor

—Influence on Stromal Connective Tissue of Yoshida Sarcoma—
Kiyoshi Arai

Department of Surgery, Faculty of Medicine,
Shinshu University

(Director : Prof. N. Hoshiko)

第1章 緒 言

今日、悪性腫瘍に対しては、外科的治療、放射線治療、化学療法、ホルモン療法などがそれぞれ併用して行なわれるようになり、過去の治療成績に比べれば、最近次第に向上してきていることは事実である。しかしこの治療成績向上には、診断技術の進歩による早期診断、早期治療による成果と、近年の麻酔の進歩および術前術後管理の改善に伴う悪性腫瘍に対する積極的な拡大根治手術の成果も関与していよう。しかし悪性腫瘍に手術的操作を加えれば、しばしば腫瘍の発育を促進し、また転移を誘発する危険がある。この点に術前照射の必要性が痛感される。従来単純分割照射では一回の許容線量が少なく、有効線量を照射するまでに長日時を要することから、最近特に術前照射には比較的短時間に大線量の照射が行なわれる傾向にある。しかし大量照射には局所ならびに全身の放射線障害の問題が常に伴い、ことに術前照射においては、手術に対する抵抗力、術後創治癒などの点から、この問題は一層重大であり、これら障害の防止には慎重な検討を要する。

さて、悪性腫瘍の放射線治療は、全身的、局所的には耐容線量以内で、腫瘍に致死線量を照射しようという撰択の治療である以上、腫瘍の放射線感受性は治療成績を左右する一つの重要な鍵となり、この放射線感受性を決定する因子としては、腫瘍細胞ないし腫瘍組織自体に基くもの他に、腫瘍の存在する環境の温度、酸素、pHなどがあげられる^{①②}。そのうち、最近、放射線生物学作用の基礎現象とされる酸素効果に

着目して^{③④⑤⑥⑦}、腫瘍組織と正常組織の放射線感受性の差を、その酸素圧を変えることにより積極的に変更して、治療成績の向上をはかる試みがある。即ち、高圧酸素の吸入^{⑧⑨}、あるいは稀釈過酸化水素水の局所の支配動脈内注入^{⑩⑪}により局所の酸素圧を上昇させて腫瘍組織の放射線感受性の増強をはかるもの、また逆に、低体温麻酔法を応用して生体を低酸素状態におけば、正常組織の酸素圧の低下度が腫瘍組織のそれより著しいことから、相対的に腫瘍組織の放射線感受性が高められるとする試み^{⑫⑬}などである。

低体温麻酔による主要臓器および内分泌腺の機能の低下、新陳代謝の低下は放射線の急性障害の軽減に役立つことが既に認められているが^{⑭⑮}、著者の教室では1961年以来、術前大量照射による障害を軽減し、根治手術の成績向上をはかる目的で、低体温下レ線大量照射法について基礎的実験を行ない、また一部臨床的に応用した成績を発表してきた^{⑯⑰}。全般的に大量照射では常温下より低体温下照射の方が生体への障害が少なく、耐容線量の増加とあいまつて治療比の向上が認められた。

近年、腫瘍間質が注目され、間質に現われる細胞や結合織についていろいろ論議されている^{⑱⑲}。放射線照射後の腫瘍の間質結合織の増殖についても、これを放射線により破壊された腫瘍細胞の二次的修復現象であるとの考えが強いが^{⑳㉑}、またこれを生体の腫瘍に対する防衛反応の現われである^㉒とするものもあり、未だ意見の一致をみない現状である。しかし放射線照射後、その腫瘍間質に現われる細胞性、線維性的変化は治癒機転に主要な影響をもつことは一般に認め

られ^①、結合織を保護して、組織の回復を早め、完全な癒痕治療を行なわせることは治療率の向上に役立つとされる^②。

そこで著者は、教室における低体温下レ線照射法の基礎的研究の一環として、低体温下レ線照射が、腫瘍の間質に現われる線維性反応に及ぼす影響を与えるかを、ラットの吉田肉腫皮下腫瘍について検討し、興味ある知見をえたので報告する。

第2章 実験方法

第1節 実験動物並びに実験腫瘍

実験動物には、生後ほぼ一定期間を一定条件下で飼育された体重100g前後の呑竜系雄性ラット（日本ラット）を用いた。

実験腫瘍としては吉田肉腫を用いたが、同腫瘍は東京佐々木研究所から譲り受けた腫瘍株を当教室でラットの腹腔内に異代移植を続けたものである。実験に際しては同腫瘍を腹腔内に移植したのち5日～7日して純培養状態となり、腹水が充分貯溜したとき、この腹水を無菌的に採取し、0.1ml中に細胞数200～300×10⁴個になるよう生理的食塩水で稀釈し、予め刈毛し消毒した別のラットの左大腿部皮下にマントー用注射器を用いて0.1mlずつ注射した。一般に腫瘍は移植後5日で直径平均0.7×1.0cm大の腫瘤を形成するが、移植後5日でもまだ硬結程度にとどまるものおよび移植陰性のものは本実験から除外した。

第2節 照射方法並びに照射条件

5匹を1群としたラットの大腿部皮下腫瘍に常温下並びに低体温下にそれぞれ1000R、2000Rおよび3000Rを一時に照射した。なお照射にあたっては全身照射の形をとつたが、腫瘍部のみに局限させるために腫瘍部以外の他の部位は厚さ3mmの鉛板で遮蔽した。

レ線発生装置は、島津信愛2号を用い、二次管電圧180kvp、二次管電流15mA、濾過板0.5mmCu + 0.5mmAlを用い、皮膚焦点間距離20cm、空中線量230R/min、照射野は直径1.5cm円形とした。

第3節 麻酔並びに低体温法

麻酔はエーテルにて導入したのち、ミンタル^③（Pentobarbital sodium）30mg/kgを右大腿筋肉内に注射した。注射後約10分で麻酔効果が現われ、約40～50分間持続した。

低体温法はミンタル筋注射後冷蔵庫内に設けた冷却槽に入れ、電子体温計を用いて直腸温を測りつつ、体表面冷却法で体温を徐々に下降させ、直腸温22°Cで

冷却を中止した。冷却中体温の下降に伴い、一時不穏状態を示すが、直腸温22°C前後から安定し、呼吸数も減少して冬眠状態となった。冷却中止後も体温はafter dropにより下降し直腸温20°C前後になった。レ線照射は直腸温20°C前後で行ない、照射後は室温で復温させた。

第4節 Collagen 定量法

第1項 Collagen 抽出法

照射後日をおつて腫瘍を無菌的に摘出し、附着する筋、筋膜、腱などを取り除き、更に腫瘍中心部に壊死部があれば、できるだけこれを除去して腫瘍重量を計測した。次に腫瘍をPotterのhomogenizerにて泥状にし、腫瘍1gに対して20%尿素溶液^{④⑤}を50mlの割合で加え、時々攪拌しつつ48時間、0°Cに保存したのち、これを15分間遠心分離（3000 r.p.m.）にて上清を捨てて尿素溶液に可溶分を除く。沈渣は蒸留水50mlを用いて3回洗い、残りの尿素を除いたのち、10%三塩化酢酸溶液^{⑥⑦}（以下TCAと略する）5mlを加えて、2.5時間、90°Cに加温してCollagenを抽出する、ついでこの抽出液を濾過して不溶性残渣物を除き、濾液を静かに攪拌しつつ0°Cにて10倍量のAcetone^⑧を滴下して加え、更に24時間低温に静置して蛋白を充分に沈澱させ、15分間遠心分離（3000 r.p.m.）を行なつて沈渣をとる。この沈渣をP₂O₅粉末乾燥器に入れて残りのAcetoneを除き、低温乾燥状態に保存した。

第2項 抽出物の加水分解法

抽出乾燥した蛋白50mgに対して6N HCl 2mlを加えて封管内に封入し、18時間、104°C～108°Cにて加水分解を行なつた。水解液は少量の活性炭で処理してHumin質その他の着色物質を除き、沸騰浴上で塩酸を蒸散させて水解物を乾固し、これを一定量の蒸留水に溶解して比色定量に供した。

第3項 Hydroxyproline 比色定量法

Neuman & Logan法^{⑨⑩}の発色過程を一部改良したMiyada & Tappelの方法^⑪に従つた。

Hydroxyproline（以下Hypro.と略する）の標準液は、1.0ml中10γ～80γのL-Hypro.（日本理化学薬品）を含む溶液を8種準備し、被検液と同時に発色させ比色して標準曲線とその都度作製し、被検液のHypro.濃度を求めた。

被検液は水解物を蒸留水2.0mlで溶解し、さらに倍数稀釈して1.0ml中にHypro. 20γ～70γを含むように調整した。

試験管に標準液、被検液および盲検用の蒸留水を各

々1.0mlずつとり、これに0.01M CuSO₄ 溶液1.0ml, 2.0N NaOH 溶液1.0ml, 6%過酸化水素水1.0mlの順序に加えて、5分間よく振盪して混和したのち、80°Cの水浴中に5分間浸して加温しつつ激しく振盪し、過剰の過酸化水素を十分に分解除去し、氷水に浸して冷却した。次にこれに3.0N H₂SO₄ 4.0mlを静かに振盪しつつ徐々に加え、更にp-Dimethylaminobenzaldehyde (以下DABと略する)の5% n-Propanol 溶液2.0mlを加えて、ガラス棒で約3分間攪拌して充分混和させ、80°Cの水浴中に30分間⁽⁸⁾浸して発色させたのち水道水で冷却した。

比色には日立FPW-4型光電光度計(フィルター540mμ)を用いた。

なおDABはAdams & Coleman法⁽⁹⁾で再結晶

したものを用いた。即ち、DAB 125gを稀HCl 700mlに溶解し、この溶液を350mlの蒸留水で更に稀釈し、攪拌しつつ15% NaOH 溶液を徐々に加えて、生成した無色の沈澱の部分を濾取乾燥して用いた。

第4項 Collagen 算出法⁽⁸⁾⁽⁹⁾

被検液1.0ml中のHypro.量は、次式により組織1g中のCollagen量(mg)に換算した。

$$\frac{\text{被検液}1.0\text{ml中のHypro.量}}{\text{被検液}1.0\text{ml中の組織重量}} \times 7.46 \times 10^3 \times \text{稀釈倍数}$$

各群の測定値について、信頼度95%で、母平均の信頼限界を求めた。

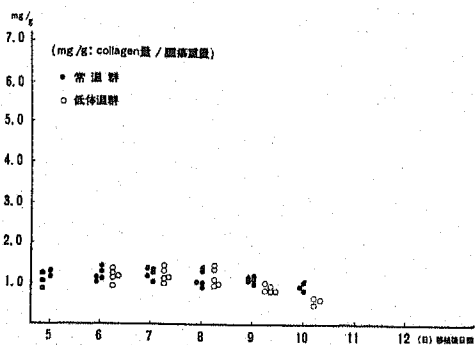
第5節 病理組織検査法

各群の実験材料の一部を10%ホルマリンで固定し、

表 1 対 照 群

実験動物		移植後日数	5(日)	6	7	8	9	10	11
		常 温 群	No. 1 ~ 35	1.14(mg/g) 1.34 1.28 1.17 1.07	1.15 1.45 1.19 1.31 1.09	1.29 1.10 1.34 1.28 1.33	0.92 1.08 1.43 1.34 1.10	1.04 1.07 1.25 1.21 1.16	0.85 0.91 1.03 — —
平 均		1.20±0.13	1.24±0.18	1.27±0.12	1.17±0.26	1.15±0.11	0.93±0.23	—	
平均腫瘍重量		0.8(g)	1.2	1.4	2.0	2.2	2.5	—	
低 体 温 群	No. 36 ~ 65	0.98(mg/g) 1.17 1.28 1.24 1.40	1.04 1.45 1.37 1.15 1.17	1.37 0.97 1.46 1.07 1.04	0.80 0.81 0.85 0.98 1.06	0.67 0.45 0.58 — —	— — — — —		
平 均		1.21±0.14	1.24±0.21	1.18±0.27	0.90±0.14	0.57±0.27	—		
平均腫瘍重量		1.4(g)	1.5	2.0	2.3	2.4	—		

図 1 対照群の collagen 量



すべてパラフィン包埋切片とし、更に組織標本の染色にはH-E染色, Azan-Mallory染色およびPap銀染色を選んだ。

第3章 実験成績

第1節 腫瘍内 Collagen 量

第1項 対照群(表1, 図1)

常温群: 腫瘍移植後5日目の腫瘍のCollagen量およびその後日をおつて摘出した腫瘍のCollagen量を測定したが、全例死亡する移植後10日目までCollagen量にほとんど変動は認められなかった。

低体温群: 腫瘍移植後5日目に低体温法のみを行な

い、レ線を照射することなく室温で復温させ、その翌日から常温対照群と同じく日をおつて腫瘍を摘出し、その Collagen 量を測定した。この群でも移植後8日目までは Collagen 量に変動は認められないが、9日目から僅かであるが減少の傾向を示し10日目には全例が死亡した。

両群を比較すると移植後8日目まではその Collagen 量に差異は全く認められないが、9日目から僅かに低体温群の値は低くなり、10日目に至るとややその程度を増した。腫瘍重量では両群の間に大差なく、共に増大を示し、生存日数にも差は認められない。

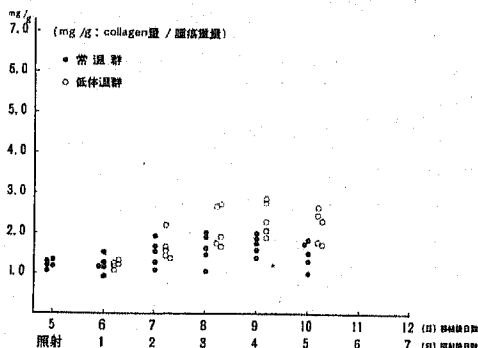
第2項 1000R照射群 (表2, 図2)

移植後5日目の腫瘍に常温下および低体温下に1000R照射を行ない、翌日から日をおつて腫瘍を摘出し、その Collagen 量を測定した。

常温群および低体温群とも照射後1日目の Collagen 量は対照群と比較して全く差異がないが、2日目から差が現われはじめ、以後 Collagen 量は次第に増加していくが、全例死亡する移植後10日目即ち照射後5日目には僅かに減少した。更に常温群と低体温群を比較すれば照射後2日目から差がみられ、常温群より低体温群の方が Collagen 量の増加の傾向が大きいことが認められた。しかし本照射群では対照群に比較して腫瘍重量の減少とか、生存日数の延長は全くみられ

照射後日数		1(日)	2	3	4	5	6	7
移植後日数		6(日)	7	8	9	10	11	12
常 温 群	No.66~100	0.95(mg/g)	1.07	1.06	1.79	1.34	—	—
		1.53	1.29	1.64	2.00	1.52	—	—
		1.24	1.58	1.51	1.88	1.84	—	—
		1.16	1.69	2.09	1.42	1.04	—	—
		1.18	1.94	1.95	1.61	1.78	—	—
	平均	1.21±0.27	1.51±0.42	1.65±0.50	1.74±0.28	1.50±0.41	—	—
平均腫瘍重量		0.8(g)	0.9	1.1	1.3	1.6	—	—
低 体 温 群	No.101~135	1.21(mg/g)	1.72	2.69	2.12	2.45	—	—
		1.36	1.57	1.75	2.39	2.33	—	—
		1.32	2.24	2.75	2.80	1.83	—	—
		1.10	1.46	1.91	1.94	2.69	—	—
		1.28	1.37	1.84	2.92	1.76	—	—
	平均	1.25±0.13	1.67±0.43	2.19±0.61	2.43±0.53	2.21±0.50	—	—
平均腫瘍重量		0.9(g)	0.9	1.1	1.5	1.7	—	—

図 2 1000R照射群の collagen 量



なかつた。

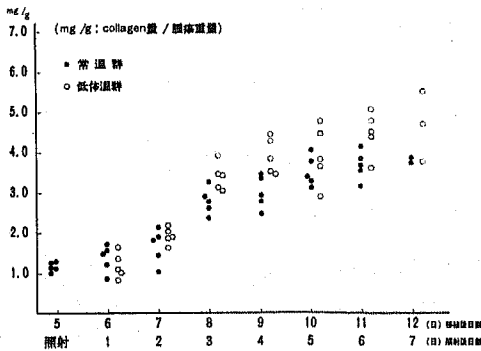
第3項 2000R照射群 (表3, 図3)

常温群並びに低体温群ともに照射後翌日の Collagen 量は対照群とほとんど変わらないが、2日目から次第に増加しはじめ、全例が死亡する照射後7日目まで増加の傾向が続き、対照群あるいは1000R照射群にみられた死亡直前の Collagen 量の減少は本照射群ではみられなかつた。生存日数は対照群に比して2日程延長しており、腫瘍重量も日をおつて減少した。更にまた、常温群と低体温群とを比較すると低体温群の Collagen 量は照射後3日目から著しく増加してい

表 3 2000R 照射群

照射後日数		1(日)	2	3	4	5	6	7	
移植後日数		6(日)	7	8	9	10	11	12	
実験動物	常 温 群	No.136~170	0.92(mg/g)	1.49	2.59	2.98	3.82	4.18	3.76
			1.27	1.94	2.83	3.51	3.32	3.70	3.96
			1.62	1.89	2.39	3.40	3.43	3.22	—
			1.53	1.06	3.28	2.51	3.19	3.88	—
			1.75	2.16	2.92	2.80	4.13	3.57	—
	平均	1.42±0.41	1.71±0.54	2.80±0.42	3.04±0.52	3.58±0.48	3.71±0.45	3.86±1.27	
	平均腫瘍重量	0.8(♂)	0.8	0.8	0.7	0.5	0.6	0.5	
	低 体 温 群	No.171~205	1.12(mg/g)	1.91	3.49	3.54	3.72	3.68	5.53
			1.68	1.95	3.10	3.58	3.82	4.42	4.73
			0.84	2.21	4.00	4.30	4.48	4.60	3.82
1.42			2.09	3.46	3.88	2.98	5.13	—	
1.04			1.66	3.16	4.54	4.83	4.82	—	
平均	1.22±0.41	1.96±0.26	3.44±0.40	3.97±0.55	3.97±0.89	4.53±0.78	4.69±1.20		
平均腫瘍重量	0.8(♂)	0.9	0.8	0.7	0.7	0.5	0.6		

図 3 2000R 照射群の collagen 量



るが、生存日数および腫瘍重量の減少の面では両群の間に差は認められない。

第4項 3000R照射群(表4, 図4)

常温群および低体温群の照射後翌日の Collagen 量は他の照射群と同様変化はほとんどないが、2日目からは増加し、その後日をおつて増加の程度は著しく、照射群中最も変化は顕著である。更に両群を比較すれば低体温群は常温群に比して Collagen 量は常に多い。また生存日数をみると、常温群では低体温群より短縮し照射後7日目の生存は全くなき、明らかな差異を示し、また2000R照射群よりも生存日数は短縮してい

る。他方低体温照射群は照射後7日目にも全例生存している。しかし腫瘍重量は常温並びに低体温の両群ともに減少しているが、両群の間には特に差は認められない。

小 括

ラットの大腿皮下移植腫瘍に常温下並びに低体温下に1000R、2000Rおよび3000Rの各線量を一時に照射し、その腫瘍間質に現われる線維性反応の程度を照射後摘出した腫瘍より抽出定量した Collagen 量について比較検討した。

各照射群とも照射後1日目の Collagen 量は対照群と比較して著しい変化は示さなかつたが、2日目からは次第に増加を示し、線量が大きい程 Collagen 量の増加が著しく、かつ、同一線量の照射では低体温群の方が常温群に比較して Collagen 量は多かつた(図4)。

なお死亡直前に Collagen 量は僅かながら減少する傾向があるが、この傾向は常温群では各群すべてに、低体温群では1000R照射群のみにみられた。

生存日数は1000R照射群では対照群と変りないが、2000Rおよび3000R照射群になると明らかに延長し、しかもいずれの群でも低体温照射群の方が延長している。

表 4 3000R 照 射 群

照射後日数		1日)	2	3	4	5	6	7
移植後日数		6(日)	7	8	9	10	11	12
実験動物								
常 温 群	No.206~240	1.67(mg/g)	2.39	4.18	3.96	6.18	5.97	—
		1.47	1.98	3.91	3.31	5.17	5.30	—
		1.39	2.92	3.05	4.36	5.01	4.71	—
		0.96	1.73	3.51	5.27	4.95	—	—
		1.79	2.71	3.61	4.99	5.54	—	—
	平均	1.46±0.40	2.35±0.61	3.65±0.53	4.38±0.98	5.37±0.63	5.33±1.21	—
平均腫瘍重量		0.9(g)	0.8	0.7	0.8	0.6	0.6	—
低 体 温 群	No.241~275	1.06(mg/g)	1.87	4.88	4.30	5.43	6.74	6.92
		0.90	2.76	4.48	4.63	5.07	6.14	7.34
		1.45	2.95	3.81	5.42	6.09	6.42	7.03
		1.40	2.32	4.24	5.55	6.45	7.16	7.78
		1.63	2.47	5.04	5.91	6.56	6.80	7.10
	平均	1.29±0.37	2.47±0.52	4.49±0.61	5.16±0.83	5.92±0.81	6.65±0.48	7.23±0.42
平均腫瘍重量		1.0(g)	1.0	0.9	0.6	0.6	0.7	0.6

図 4 3000R照射群の collagen 量

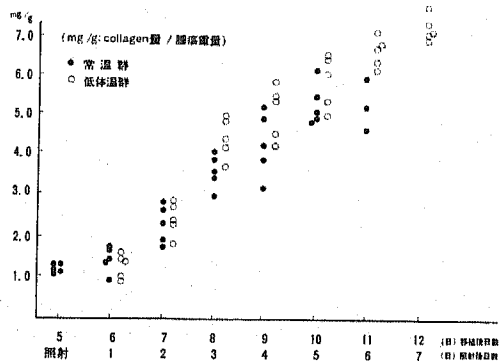
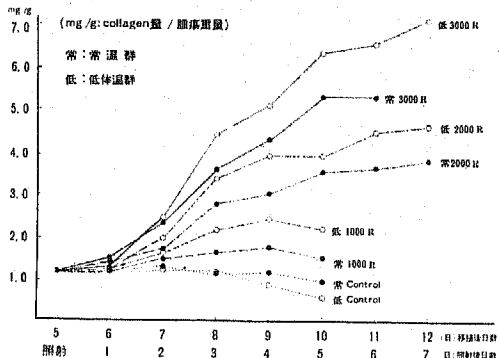


図 5 各照射群の collagen 量の変動



腫瘍重量を考えれば、対照群の重量増加に比較して1000R照射群ではその程度は軽度で、かつ常温群と低体温群を比較すれば、常温群の重量増加の方が僅かに軽度である、しかし2000R以上になれば腫瘍重量は共に減少するが、常温群と低体温群との間には特に差異は認めえなかつた。

第2節 病理組織所見

第1項 対照群

移植後5日目：腫瘍は皮下組織から筋層にかけて増殖し、その浸潤性増殖を示している周辺にはリンパ球、形質細胞の反応性浸潤を伴う幼若な肉芽組織が形成されている。腫瘍細胞は核仁の明らかな、粗いクロマチンの疎で不整形核を有し、胞体はやや好塩基性の不整形形細胞であり、核分裂像を中等数認める。腫瘍中の間質は主に新生血管と繊細な結合織からなり、成熟した太い膠原線維はほとんど認められない。

移植後6日目：筋層にまで発育増殖した腫瘍の中心部は壊死に陥っている。腫瘍周辺(写真1)および実質は5日目と変わりなく、分裂像もかなり認められる。間質は毛細血管と繊細な結合織からなっているが、成熟膠原線維が蛇行状に存在する(写真2)。

移植後7日目：皮下に移植された腫瘍は慢性に筋層間へ浸潤増殖し、周辺部の反応性細胞浸潤はほとんどない(写真3)。腫瘍実質の中心部は壊死に陥り、

腫瘍細胞の大小不同、核分裂像は6日目屠殺例と大差なく、腫瘍間質は毛細管と繊細な結合織からなり、成熟膠原線維も6日目例とあまり差はない(写真4)。

移植後8日目：腫瘍周辺部の組織反応は7日目例とあまり差異はない。実質は中心部が壊死に陥り、実質細胞には所により巨細胞を認める。核分裂像はなおかなり認められる。間質の毛細管を伴う好銀線維は網状の幅広い胞窩状の構造を有している。成熟膠原線維も7日目例と大差はない。

第2項 1000R照射群

常温下照射後1日目：皮下に移植され筋層間にび慢性に増殖している腫瘍は、周辺部では反応性のリンパ球の浸潤と共に対照より線維芽細胞の増生が著しい、しかし成熟膠原線維は未だ形成されていない(写真5)。腫瘍実質細胞は核仁の明瞭な、粗いクロマチンの疎な不整核を有する所々や好塩基性の不整円形細胞で、大小不同が対照よりも著しく、かつ分裂像も中等数認められる。また異常分裂像が多い。間質は多数の毛細管と繊細な結合織からなるが、特に対照より成熟膠原線維が多いわけではない(写真6)。

常温下照射後2日目：腫瘍は筋層間に浸潤性に増殖し、反応性細胞浸潤はほとんどないが、成熟膠原線維が対照より多く認められる。腫瘍の中心部は壊死に陥り、実質細胞の大小不同は対照より著しく、時には巨細胞、2核細胞も認められ、核分裂像も中等数あり、異常核分裂像も認められる。腫瘍中の間質は毛細管および対照よりかなり緻密な好銀線維からなる。しかし成熟膠原線維の量は対照と大差ない。

低体温下照射後2日目：筋層間に浸潤性増殖をしている腫瘍周辺部の反応性細胞は対照と同じようにほとんどなく、また線維の増生も常温例と大差ない。腫瘍は中心部が広汎に壊死に陥り、実質細胞の大小不同は対照よりやや著しいが、常温例より軽度である。核分裂像に異常核分裂像をも認める。間質は毛細管と常温例と同じような繊細な好銀線維からなり、また成熟膠原線維も軽度であるが対照より多い。

常温下照射後3日目：皮下組織から筋層にかけて発育増殖したこの腫瘍の周辺は、対照と比べ成熟膠原線維が僅かに増加している(写真7)。腫瘍中心の壊死部にはフィブリンの析出が著明である。腫瘍細胞は巨細胞、多核巨細胞が2日目例より多く、異常核分裂像を混在する核分裂像もまだかなり認められる。腫瘍中の間質では胞窩状を示す成熟膠原線維も対照より多く認められ、かつ微細線維も多い(写真8)。

低体温下照射後3日目：この腫瘍周辺で目立つことは、反応性細胞浸潤がほとんど認められないが、成熟

膠原線維が著明に増加していることであり、これら線維は波状に増加している(写真9)。腫瘍中心部は壊死に陥り、腫瘍細胞の巨細胞、多核巨細胞の程度は常温例より著しくない、しかし類壊死像が多い。間質の腫瘍細胞に纏っている線維もかなり成熟している(写真10)。

常温下照射後4日目：本例はその壊死がかなり広汎にわたっている。その腫瘍周辺は繊細な好銀線維が多く(写真11)、かつ成熟膠原線維もかなり認められる。腫瘍実質細胞は核濃縮、核破片、類壊死が著明で、間質はかなり細かい網目状の好銀線維を認める。しかし成熟膠原線維は3日目例と大差がない。

低体温下照射後4日目：本例も壊死が広汎にわたっている。腫瘍周辺は反応性細胞浸潤はなく好銀線維が常温例より多い(写真12)。腫瘍実質細胞は核濃縮、核破片、類壊死像が著しい。実質中の間質好銀線維はかなり細かい網目状で、成熟膠原線維は3日目例と大差はない。

第3項 2000R照射群

低体温下照射後1日目：腫瘍は皮下組織から筋層間にかけて増殖し、浸潤性増殖を示す周辺部にはリンパ球が反応性に浸潤しており、毛細管の新生と共にフィブリンも認められる、しかし特に成熟膠原線維が対照より多いという所見はない。腫瘍の実質は中心部が壊死に陥り、腫瘍細胞の大小不同が対照より著しく、核分裂像も中等数認められる。腫瘍中の間質には毛細管を認めるが繊細な結合織が対照より多い。

常温下照射後2日目：腫瘍の周辺には浸潤細胞はほとんどなく、出血およびフィブリン析出がある。また周辺の成熟膠原線維は対照より多く、微細な好銀線維も増加している(写真13)。腫瘍実質は中心部が壊死に陥り、大小不同、巨細胞、多核巨細胞形成を認め、中等数の核分裂像中にも異常核分裂像がかなり混在している。間質は毛細管と共に対照よりかなり増加している好銀線維からなり(写真14)、出血も広汎に認められる。

低体温下照射後2日目：腫瘍の周辺はほとんど浸潤はないが、好銀線維および成熟膠原線維は対照より多い。腫瘍中心部は壊死に陥り、実質細胞の大小不同、巨細胞形成、多核巨細胞形成がかなり著しい。間質の好銀線維および成熟膠原線維が数々の実質細胞に纏りついて対照および常温例より増加している。

常温下照射後3日目：腫瘍周辺には反応性細胞はほとんどなく、一方、成熟した膠原線維は対照より増加している(写真15)。実質細胞は巨細胞と共に核濃縮細胞も増加している、核分裂像は少ない。腫瘍中の間

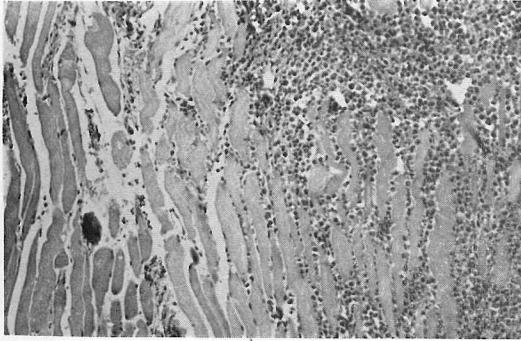


写真 1 H-E染色 ×100

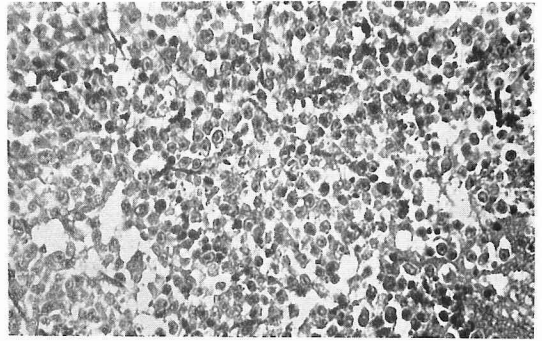


写真 2 Azan-Mallory 染色 ×250

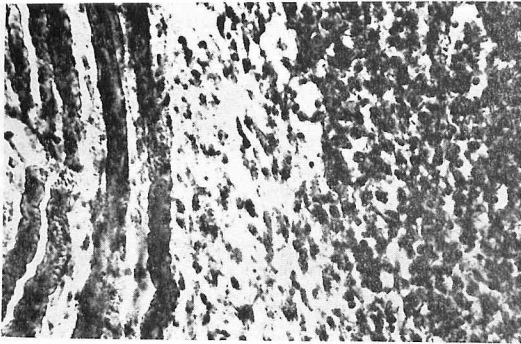


写真 3 Pap 鍍銀染色 ×250

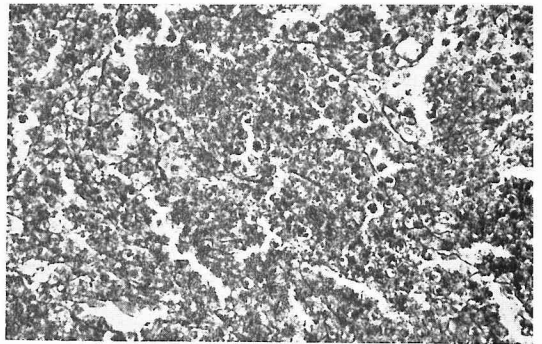


写真 4 Pap 鍍銀染色 ×250

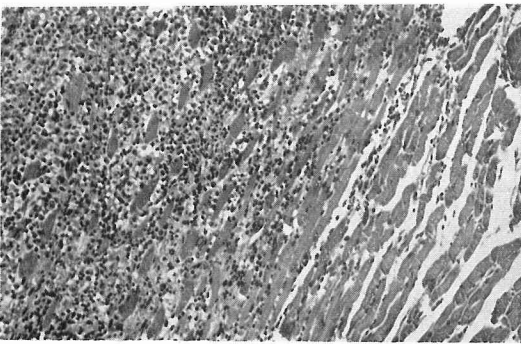


写真 5 H-E染色 ×100

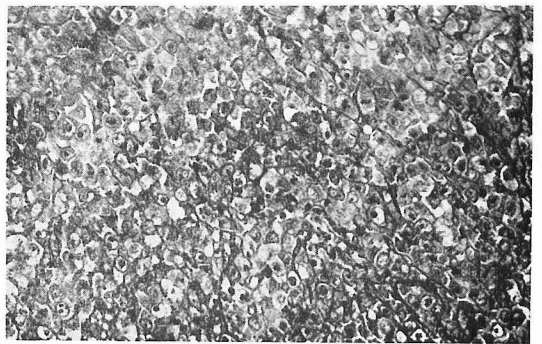


写真 6 Azan-Mallory 染色 ×250

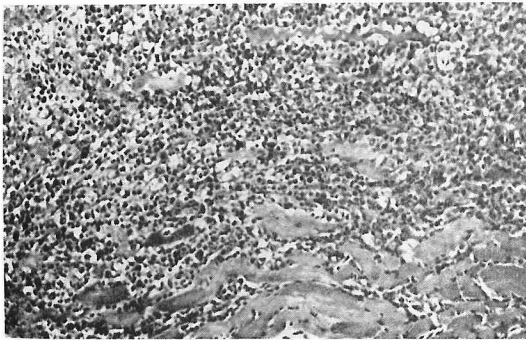


写真 7 H-E染色 ×100

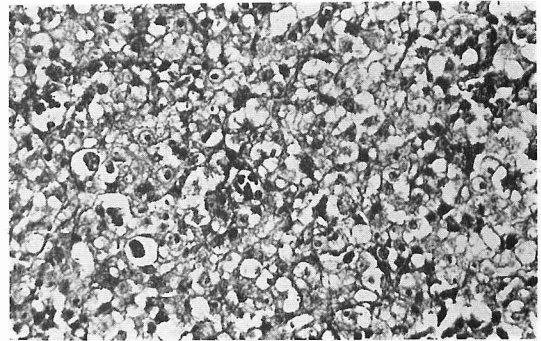


写真 8 Azan-Mallory染色 ×250

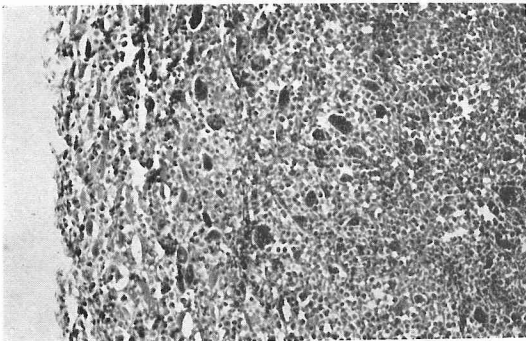


写真 9 Azan-Mallory染色 ×250

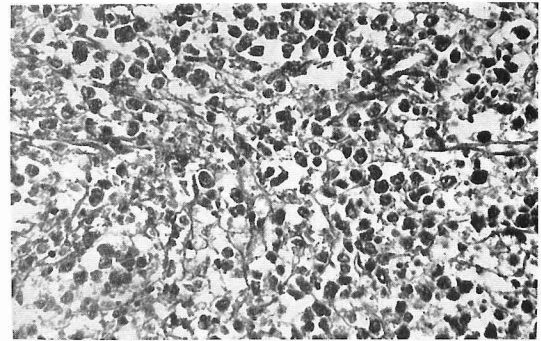


写真 10 Azan-Mallory染色 ×250

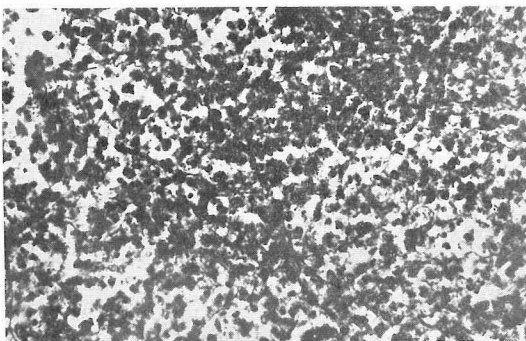


写真 11 Pap 鍍銀染色 ×250

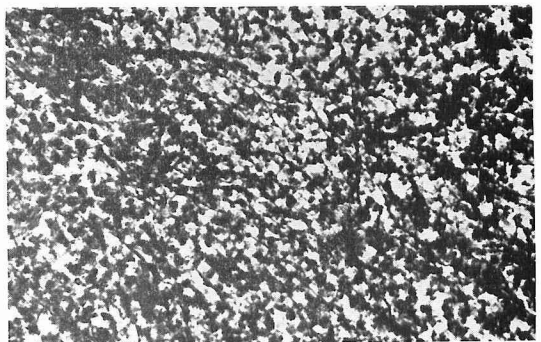


写真 12 Pap 鍍銀染色 ×250

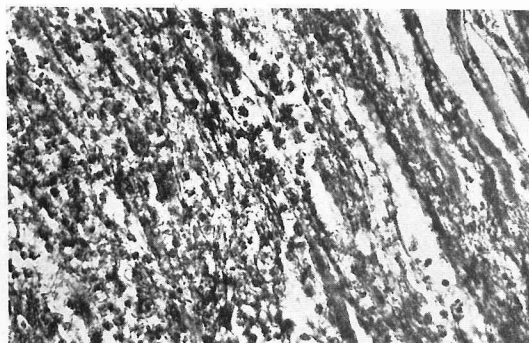


写真 13 Pap 鍍銀染色 ×250

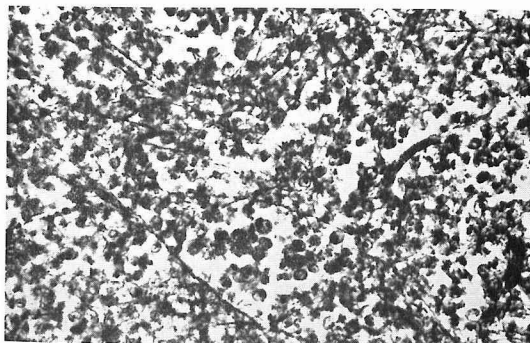


写真 14 Pap 鍍銀染色 ×250

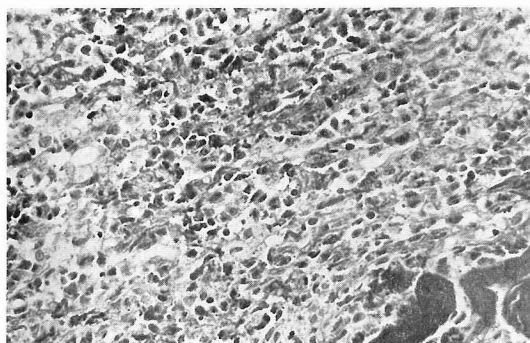


写真 15 Azan-Mallory 染色 ×250

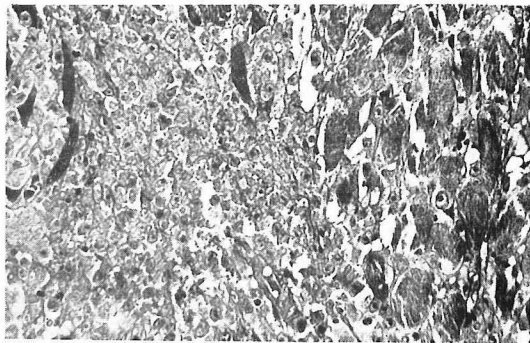


写真 16 Azan-Mallory 染色 ×250

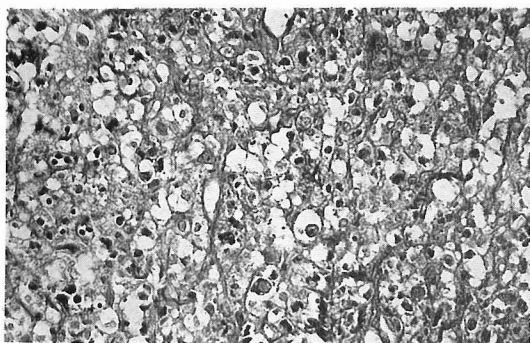


写真 17 Azan-Mallory 染色 ×250

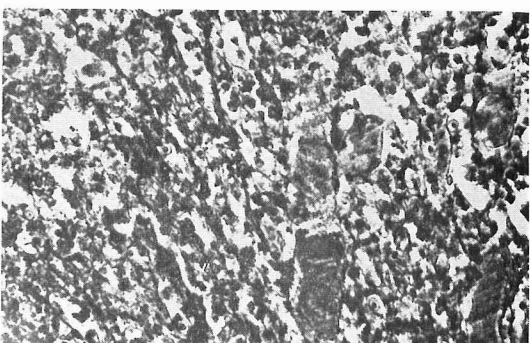


写真 18 Pap 鍍銀染色 ×250

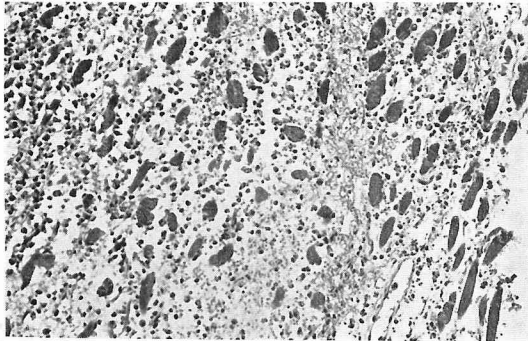


写真 19 H-E染色 ×100

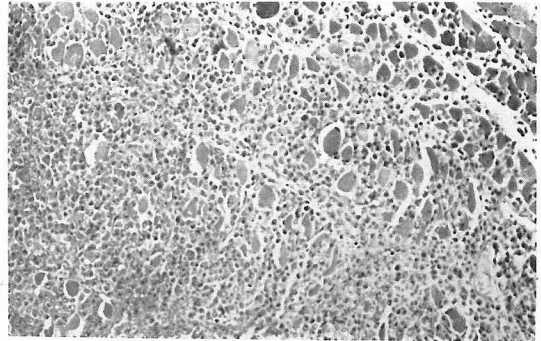


写真 20 H-E染色 ×100

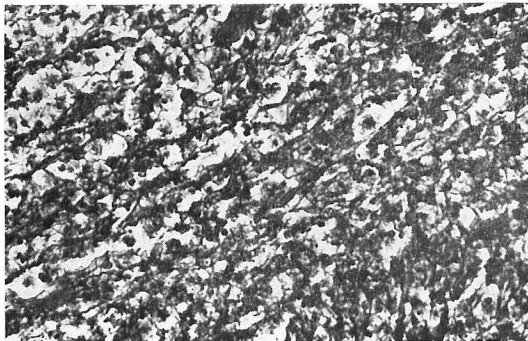


写真 21 Pap 鍍銀染色 ×250

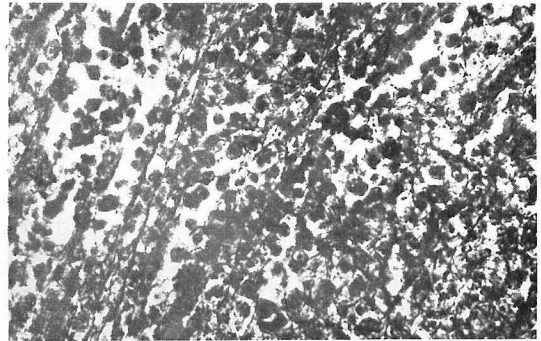


写真 22 Pap 鍍銀染色 ×250

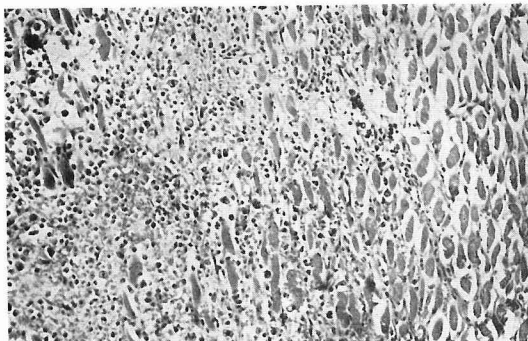


写真 23 H-E染色 ×100

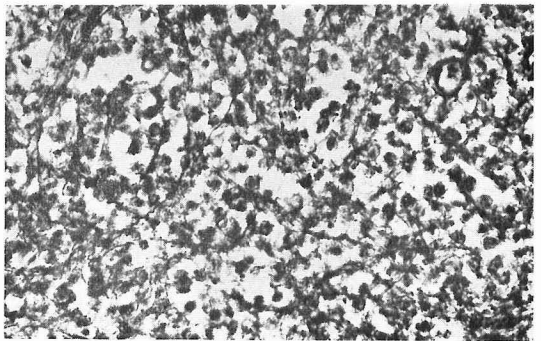


写真 24 Pap 鍍銀染色 ×250

質は成熟膠原線維がやや小さい胞窩状をなしてかなり対照より増加している。

低体温下照射後3日目：腫瘍周辺には反応性細胞浸潤はなく、成熟膠原線維が対照より多い(写真16)。腫瘍中心部に壊死部があり、腫瘍細胞の巨細胞形成は常温例より軽度であり、また分裂像も2日目例に比してかなり少ない。間質は繊細な結合織が多いが、特に成熟膠原線維は常温例より多くはない(写真17)。

常温下照射後4日目：1000R照射例と異なり、壊死、出血はかなり減つてはいるが、増加している部も認められる。腫瘍周辺は1000R照射例に比して好銀線維の著明な発達をみ(写真18)、また成熟膠原線維も多い。腫瘍実質細胞には巨細胞、多核巨細胞も認められるが、一方、核濃縮、類壊死、核破片も増加している。腫瘍中の間質は細かい網状に好銀線維が発達し、成熟膠原線維もかなり網状に発達している。

低体温下照射後4日目：常温例より壊死は少ない。腫瘍周辺部の好銀線維には常温例より太い線維が混在している、しかし成熟膠原線維は常温例と大差ない。腫瘍実質細胞には巨細胞がかなり認められるが、多核巨細胞は常温例より少なく、未だ核分裂像も認められる。腫瘍中の間質には細かい網目状の好銀線維が多く、成熟膠原線維も常温例より発達がよい。

第4項 3000R照射群

常温下照射後1日目：移植腫瘍は皮下組織から筋層にかけて増殖し、その中心は壊死に陥つている。び慢性浸潤を示す腫瘍周辺部には軽度のリンパ球、組織球の反応性浸潤と共に新生毛細管、フィブリン析出を認める。しかし特に対照より膠原線維が多いわけではない(写真19)。腫瘍実質細胞の核仁の大きい、粗いクロマチンの疎な不整形核は著明な大小不同を示し、時に多核巨細胞も多い、核分裂像は中等数あり、また異常核分裂像も認められる。間質は毛細管と繊細な結合織からなり、所々に実質中に出血している。

低体温下照射後1日目：腫瘍はび慢性に筋層間に浸潤し、その周辺は軽度のリンパ球、組織球の反応性浸潤があり、その細胞の浸潤、毛細管の新生は常温例より軽度であり、フィブリンの析出もある(写真20)。実質の壊死は対照および常温例より軽度で、実質細胞の大小不同は対照より著明で2核細胞も認められる。核分裂像は中等数認められ、かつ異常核分裂像もかなり認められる。間質は毛細管と繊細な結合織からなり、成熟した膠原線維はやや対照より多い。

常温下照射後2日目：腫瘍は筋層間にび慢性に増殖し、その部にはリンパ球の浸潤、毛細管を認め、好銀線維は対照よりかなり多く(写真21)、成熟膠原線

維も多い。実質腫瘍細胞の大小不同、巨細胞形成、多核巨細胞形成は低体温例より著しい、核分裂像も中等数認めるが、異常核分裂像も認める。間質の毛細管を伴う好銀線維は太く、著明に増生しており、また細胞を纏い成熟した膠原線維が胞窩状に発達している。

低体温下照射後2日目：腫瘍の周辺は毛細管の新生と共に出血も認められ、好銀線維は対照より多い(写真22)、成熟膠原線維は常温例と変りないがフィブリン析出はむしろ多い。実質細胞の大小不同、巨細胞形成、多核巨細胞形成、異常核分裂像は常温例の方が著しい。間質の毛細管を伴う好銀線維は対照より多いが、常温例ほど太いものは認めえない、中心部の出血、フィブリン析出部を囲むように成熟した膠原線維を認めるが、その他の部では対照よりやや多い程度である。

常温下照射後3日目：腫瘍周辺には反応性細胞浸潤はほとんどなく、成熟膠原線維は2000R照射例と同様対照よりかなり多い。腫瘍実質には壊死と出血を認める。腫瘍細胞の巨細胞、多核巨細胞がかなり存在するが、核分裂像は少ない。間質の成熟膠原線維はかなり網目が小さく発達している。

低体温下照射後3日目：腫瘍周辺の成熟膠原線維は常温例より著明に発達している。腫瘍実質の中心部は壊死に陥り、フィブリンの析出がみられ、実質細胞の巨細胞、多核巨細胞形成はかなり著明であり、また成熟膠原線維が細かい網目状に発育し、常温例よりやや多い。

常温下照射後4日目：かなり広汎な壊死をきたし、その周辺には多数の組織球の浸潤、毛細管の拡張、好銀線維および成熟膠原線維の増加がみられる(写真23)。腫瘍細胞には巨細胞、多核巨細胞の形成が認められ、間質も他例にみられないほど毛細管は拡張し、好銀線維は数々の実質細胞を纏うように発育し(写真24)、また成熟膠原線維もこれを囲むように存在している。

低体温下照射後4日目：腫瘍の周辺はリンパ球、組織球の反応性浸潤と共に膠原線維は3日目例よりやや緻密に存在している。実質細胞には巨細胞、多核巨細胞もみられ、核分裂像が未だ存在する。腫瘍中の間質は常温例のように特に毛細管の拡張はないが、幾つかの腫瘍細胞を囲むように存在する膠原線維はかなり発達している。

小 括

対照群では移植後日数の増加と共に腫瘍周辺の反応性細胞浸潤は少なくなり、腫瘍実質中の間質の成熟膠

原線維にはあまり変化がない。

1000R照射群では腫瘍周辺部の成熟膠原線維は、照射後2日目から対照に比して多く認められ、低体温下照射群では3日目から常温群より多く認められるようになる。実質中の間質の好銀線維も照射後2日目から対照より緻密に認められ、成熟膠原線維も照射後3日目から対照より多く認められる。しかし常温群と低体温群との差はほとんど認められない。

2000R照射群では腫瘍周辺部の好銀線維および成熟膠原線維は照射後2日目から対照より多くなり、また実質中間質の好銀線維も照射後2日目から対照より多くなり、既にこの時期から低体温群に常温群より成熟膠原線維が多く認められる。

3000R照射群でも腫瘍周辺部の好銀線維および成熟膠原線維が対照より多く認められるのは照射後2日目からであり、常温群と低体温群の差は照射後3日目から認められる。実質中間質の成熟膠原線維は低体温群に常温群より多く認めるのは照射後1日目からである。照射群の実質細胞の大小不同、巨細胞、多核巨細胞形成は全般的に常温群の方が著しい。

第4章 総括並びに考按

悪性腫瘍の放射線治療にあたって最も問題となる点の一つに、腫瘍の発育環境と放射線感受性の問題がある。細胞の放射線感受性はその環境の酸素圧に著しい影響を受けることは一般に広く認められ^{①-④}、いわゆる酸素効果として放射線生物学作用の基礎的現象の一つとみなされている^{①②}。

腫瘍細胞は一般に低酸素状態にあり、このためその放射線感受性は本来の組織の感受性より遙かに低いと考えられ^{③④⑤}、放射線の酸素効果を腫瘍組織に適用してその感受性を増強させる試みが行なわれている。即ち、高圧酸素の吸入により^{⑩-⑬}、あるいは稀釈過酸化水素水の局所の支配動脈内注入により^{⑭⑮}積極的に腫瘍内酸素分圧の上昇をはかるものである。坂本^⑯は高圧酸素吸入法では腫瘍内酸素分圧の変化は正常組織よりやや遅れた相で変化し、酸素3気圧の加圧では正常組織が約4倍の酸素圧を示すのに対し、腫瘍内では約1.8倍であつたと報告し、梅垣ら^⑰は高圧酸素の吸入では腫瘍内酸素分圧の上昇は期待ほどではなく、正常組織の感受性を増強して、却つて治療比を低下させる可能性があるとして述べている。また近年、Mallamsら^{⑱⑲}により稀釈過酸化水素水を動脈カテーテルにて局所の支配動脈内に注入し、腫瘍内酸素分圧を上昇させる方法が新たに報告されているが、上条^⑳は稀釈過酸化水素水の注入により正常組織および腫瘍組織は

共に急激な酸素分圧の上昇を示し、注入終了時一時的に腫瘍内酸素分圧が正常組織のそれを上廻る時期があるが、ごく短時期に過ぎず今後更に検討の必要ありとしている。

一方、梅垣ら^{⑳㉑}は逆に低酸素ガスの吸入により生体を低酸素状態にすると、腫瘍組織の酸素分圧の方が正常組織のそれに比べて高く保たれ相対的に腫瘍組織の放射線感受性が高められ治療比の改善が期待されるとし、生体の低酸素状態を安全、かつ容易に維持するには低体温麻酔法が最良であるとして、実験的、臨床的に低体温下照射法を試み治療比の向上があつたと報告している^{⑳㉒㉓}。Evans^㉔、足沢^㉕はラットについて、低体温下のEKG、呼吸運動曲線を観察し、心拍の遅延、呼吸数の著しい減少を認め、また腫瘍組織の組織呼吸は肝臓に比べて低下が少ないと述べている。更にStorer^㉖、Mráz^㉗、Hornsey^㉘、谷川^㉙、足沢^㉚は動物の低体温下照射後の生存期間は延長すると報告し、いずれも低体温により組織の放射線感受性が低下し、放射線障害が軽減されることを認めている。著者の教室では、悪性腫瘍の根治手術に放射線の大量照射を併用し、その治療成績の向上をはかる目的で、低体温下放射線照射の生体に及ぼす影響について基礎的実験を行ない、また一部臨床的に応用し、その成績を発表してきた^{㉛-㉜}。

荒木^㉝は、低体温下レ線照射の基礎理論である酸素効果の面より、ポーラログラフ法を用いて腫瘍組織、正常筋組織の相対酸素圧の推移を検討し、自然呼吸群では腫瘍組織の酸素圧は体温31°C以下では正常組織に比べて著しく高くなり、酸素附加群でも29°C以下では明らかに腫瘍組織の酸素圧が高値を示したと報告し、千須和^㉞は、大腿皮下移植吉田肉腫に低体温下レ線照射を行なつて、腫瘍細胞のデオキシリボ核酸の変動を経時的に測定した結果、低体温下に照射した腫瘍では細胞分裂が遅延することを認めている。また窪田^㉟は、大腿皮下移植吉田肉腫の低体温下レ線照射後の転移形成の状況を詳細に観察し、少線量の照射では低体温群に幾分転移が多。傾向を認めるが、大線量の照射では低体温群でも明らかな転移の抑制と、生存日数の延長があつたと報告している。最近、低体温麻酔は腫瘍細胞の母組織離脱性を高め転移形成を促進するとの報告があるが^{㉡㉢}、腫瘍細胞に充分障害を与える線量を一時に照射すれば、低体温で母組織から離脱した腫瘍細胞も着床発育が抑制されるのではないかと考えられる。その他、放射線一時大量照射による障害について、皮膚変化[㉣]、心臓[㉤]、肺[㉥]、腸管粘膜[㉦]、血液凝固[㉧]、骨髄像[㉨]および網内系機能^{㉩㉪}の面から検討

し、低体温下一時大量照射では常温下照射に比較して正常組織に与える影響が少ないことを詳細に発表してきた。更に、皮膚縫合創³⁹、胃腸吻合創⁴⁰に対しても低体温下に照射したものの治癒の成績は良好であった。千須和⁴¹はまた、腫瘍間質の変化を組織学的に検索し、低体温下1500R、3000Rの照射では、照射後24~48時間で既に多数の巨細胞の出現と著明な線維化を認め、常温下照射のものに比して間質への障害が少なく、照射後早期に線維化の始まる事実をとらえて、従来考えられているように、線維化は必ずしも腫瘍細胞破壊に伴う二次的修復現象のみでは説明しえない面もあると述べている。

一般に結合織の増生は、組織の再生や修復の過程によく認められるので、結合織細胞の増殖は病変の単なる修復の意味しかないようにみられがちである。放射線治療にあたっては腫瘍実質のみならず、間質も同時に照射されるから、放射線の生物学的効果の判定にあたっては、腫瘍間質の面からも究明する必要があると思われる。

悪性腫瘍の実質と間質との関係は極めて密接であり腫瘍細胞は間質を介して多かれ少なかれ生体との連がりをもっており、生体が調和を破って増殖する腫瘍に対して何らかの反応を示すとすれば、この間質を場として形成されると考えられる。従来、この間質に現われる細胞や結合織の意義については論議のあるところであり、これを腫瘍実質細胞の崩壊産物に対する二次的な現象に過ぎないとするもの⁴²~⁴⁴、また、混合感染の結果であるとして意義を認めないもの⁴⁵、あるいは腫瘍に対する生体の防衛反応と解するものもあり⁴⁶、意見の一致をみないのが現状である。

放射線照射後に腫瘍間質に現われる結合織性の反応についてもいろいろ論議され、腫瘍細胞は放射線により破壊されるのではなく、刺激増殖した間質結合織により圧迫破壊されるのであるとし⁴⁷、あたかも維線性要素が放射線治療の主役であるかのような主張もあつた。しかし、結合織は放射線に対しては感受性の低い組織であり、照射後の影響は結合織そのものに対する作用より、むしろ放射線により破壊された腫瘍組織細胞の二次的修復機転として結合織の増殖をみていることが多い⁴⁸、また、この結合織の増殖を間質に現われた生体の腫瘍に対する防禦反応を物語るとして、間葉組織の機能を特に重視する見方もある⁴⁹。事実、結合織の新生を抑制するほどの大線量を照射したり、また全身的に間葉組織の反応が低下するような要因があるときは、腫瘍の放射線治療の成績が悪いことは臨床上市しばしば経験するところである。Elsonら⁵⁰の担

腫瘍ラツテに低蛋白食を与えた実験によると、低蛋白状態では放射線傷害を受けた腫瘍細胞の処理、即ち貪食能と結合織化および癒痕治癒機転を低下させるという。斯く、放射線照射後その腫瘍間質に現われる変化は治癒機転に主要な影響をもつことが首肯される。著者は低体温下レ線大量照射を吉田肉腫の大腿皮下腫瘍について行ない、常温下照射のものと経時的に比較しつつ、その間質に現われる反応、特に線維性反応について検討した。

照射後の間質反応には線維性の反応が強く、この線維の発現状況を病理組織学的にのみ観察して差異をつけることはかなり主観的に陥り易く研究上不備あるものと思われるので、結合織線維については病理組織学的検索の他、特に生化学的に Collagen の抽出定量を行なつた。

Collagen について

結合織線維には膠原線維、細網線維、弾力線維などがあり、このうち最も多量に存在する線維は膠原線維であり、放射線照射後の線維化の過程は、一般の線維化と同じくこの膠原線維の増加する過程であるから、膠原線維の発現状況を観察することにより、線維化の過程の一端をとらえようと考えた。

膠原線維は化学的には硬蛋白質の Collagen よりなり、最近の知見によれば、この Collagen を構成する基本的な単位体の Tropocollagen は分子量約350,000で⁵¹、電子顕微鏡的には平均14Å、長さ3,000Åの糸状分子であり⁵²、この分子は3本の polypeptide 鎖がらせん状によりあわさつてできており⁵³、これが規則正しく配列、重合して次第に太くなり、640Å~700Åの周期の横紋をもつ膠原線維が形成されるといわれ⁵⁴~⁵⁶、Collagen の重合の度合は結合織の種類、成熟度で異なる⁵⁷。labelled L-[¹⁴C] proline, L-[¹⁴C] hydroxyproline を用いて調べた結果では、放射能はまず中性塩可溶 Collagen に現われ、時間と共にそれが不溶 Collagen にうつっていくとの報告があり⁵⁸、中性塩可溶 Collagen は不溶 Collagen の前駆体 (Procollagen) であり⁵⁹、両者の間にはアミノ酸組成に差はみられないとされる⁶⁰、⁶¹、⁶²。

また細網線維は形態学的、物理化学的には幼若な膠原線維と大差なく⁶³、⁶⁴、⁶⁵、ただ線維の太さが細く、線維間に多量の多糖類の基質成分がある点が異るとされ⁶⁶、その染色性のちがひ、特に特徴とされる好銀性はこの多糖類に基づくと考えられており⁶⁷、この線維の構成成分の Reticulin は Collagen と同じアミノ酸組成をもつ蛋白とされている⁶⁸。従つて結合織線維の発現状況を化学的に観察するには Collagen の定量

を行なうことが適当であると思われる。

Collagen の定量法について

Collagen のような硬蛋白質は Albumin, Globulin などの可溶性蛋白とは異り、析出、分離、結晶化して単一蛋白体として取り出して定量することは困難であるが、Collagen のアミノ酸組成には特徴があり⁷⁴⁾、動物によりまたは組織により若干の差はあるが、全アミノ酸残基のうち約 $\frac{1}{2}$ が Glycin であり、 $\frac{2}{3}$ をイミノ酸である Proline と Hypro. とが占め⁷⁵⁾、Tryptophane, Tyrosine などは僅か含まれているに過ぎないとされている⁷⁶⁾⁷⁷⁾、しかし Glycin, Proline は通常の蛋白質内にも含まれていて Collagen にのみ特有のものではない、一方、Hypro. は現在までの化学的分析の結果では Collagen および Gelatin 以外の蛋白質にはほとんど含まれていないとされており⁷⁸⁾、しかも Neuman & Logan⁵⁵⁾⁵⁶⁾によれば、骨、皮膚および動脈など各種の組織から抽出した Collagen の Hypro. 量はほぼ一定 ($13.4 \pm 0.24\%$) であり、組織の Hypro. 含量に係数 7.46 ($100/13.4$) を乗ずることにより、その組織の Collagen 量が換算される。従つて組織の Collagen 量から線維の量の増減をみるには、その組織の Hypro. 量を定量すればよいことになる。

Hypro. の定量にはその酸化によつて生ずる Pyrrole を発色させて比色定量する方法が主として用いられている。Lang⁵⁵⁾ および Waldschmidt-Leitz⁵⁶⁾は、Hypro. を次亜塩素酸ソーダで酸化し、Isatin あるいは DAB で発色させて比色定量を行なつたが、操作が繁雑であり、かつ Neuman & Logan によれば Pyrrole の酸化が不充分であるため補正が必要であるとされる。また McFarlane⁵⁷⁾は過酸化ソーダで酸化し、銅および Isatin で発色して比色定量したが、Devine⁵⁸⁾はこの方法では一般に認められている値よりかなり低い値を示すとし、Neuman & Logan⁵⁵⁾も、同様の結果を認めている。

Neuman & Logan⁵⁵⁾⁵⁶⁾の Hypro. 定量法は操作が比較的簡単であり、 $\pm 2\%$ の再現性を示し、従来の方法より優秀である。本法を要約すれば、a) 組織を塩酸加水分解し、b) 水解物中の Hypro. をアルカリと硫酸銅の存在下に過酸化水素で酸化し、c) 80°C 、5分加温して過剰の過酸化水素を除き、d) 酸性溶液中で 70°C 、16分加温し DAB にて発色して、e) フィルター $540\text{m}\mu$ で比色定量するものであるが、従来の発色法より 5~6 倍強く発色するので、少量の被検材料の定量にも用いられる。

蛋白の水解物中で、本法で発色するアミノ酸は H-

ypro. 以外に Tyrosine, Proline, Tryptophane がある。この定量法で最も影響するものは Tyrosine であるが、実際 Tyrosine 含量既知の蛋白質について補正を行なつた結果、ほとんど無視しようといわれ⁵⁹⁾、また Neuman & Logan⁵⁵⁾は筋、肝、腎、脾の如く可溶性蛋白の含量が多く、Collagen 含量の少ない組織については、20%尿素溶液による前処理を行なうことにより、Tyrosine による誤差を 2%以下におさえることができるとし、しかも尿素溶液による処理前後の Hypro. 含量に変化は認めないと報告している。更に Proline に関しては吸光度が Hypro. の 0.17%で無視できるといわれ⁵⁹⁾、また純粋な Tryptophane も発色するが、これは塩酸加水分解にて破壊されて Humin を形成するので、活性炭を用いてこれを除けば影響はない⁶⁰⁾。

Martin & Axelrod⁶¹⁾は、Neuman & Logan 法では酸化過程に用いた過酸化水素の過剰分の除去が不充分であり、このため発色が阻害され、再現性ある直線状の標準曲線はえがたいとして、過酸化水素を除去する過程に硫酸第一鉄を用いた。著者は両者の発色法を比較検討してえた標準曲線に優劣を認めず、Neuman & Logan 法では彼らが指適するように 80°C の水浴中で充分激しく振盪して過剰の過酸化水素を追い出す点に注意すれば発色に阻害は認められない。

また Miyada & Tappel⁶²⁾は Neuman & Logan 法では被検呈色液の褪色が速やかで、精度が落ちるとして、発色過程における溶液の水素イオン濃度と、加温時間とに検討を加え、3.0Nの硫酸では 80°C 、30分の加温発色が呈色液に長時間の安定性がえられ、褪色時間が比較的遅いと述べ、また Tyrosine による阻害度は 2%程度であり、Neuman & Logan の報告と同様であるとしている。著者も Neuman & Logan 法では、被検呈色液の褪色が速い傾向を認めたので、発色は Miyada & Tappel の方法に従つた。

更に著者は、腫瘍組織中の Collagen 量を測定するには、前以つて腫瘍組織から Collagen を分離しておくことが適当と考えて抽出を行なつた。

不溶性蛋白である Collagen を組織から抽出する方法は Fitch⁶³⁾が、冷 TCA に溶けないで、熱 TCA に溶けることを用いたのにはじまる。Fitch⁶³⁾は Schneider の方法⁶⁴⁾に従つて熱 TCA を用いて組織よりデオキシリボ核酸を抽出操作中に、この熱 TCA が Collagen を組織よりほとんど完全に抽出することを発見した。即ち、抽出物と不溶性残渣物とを別々に酸加水分解し、それぞれの Hypro. 含量を Neuman & Logan 法で測定した結果、この抽出法で組織

より抽出される Collagen 量は平均 97.2% であるとし、肝実質の如く Collagen 含量の少ない組織では、抽出残渣物に Gelatin が吸着される率が高くなるため僅かであるが成績が幾分落ち 92.8% であつたと報告している。

Konno & Tetsuka⁽⁵⁷⁾ は、Fitch 法⁽⁵⁸⁾ を肉芽腫などに応用した場合、核酸および Collagen 以外の蛋白も少量同時に抽出されるが、20% 尿素溶液で前処理すれば、これらによる誤差を減じることができ、かつ尿素溶液に可溶分には Collagen 蛋白は含まれないと報告している。

著者は腫瘍組織内 Collagen を抽出し、定量するには核酸および非 Collagen 蛋白による誤差を減じ、また Tyrosine の発色による影響を最小限にする必要があると考え、20% 尿素溶液を用いて前処理を行ない、この可溶分を除いた。

著者は以上の方法によつてえられた組織中の Hypo. 量を Neuman & Logan⁽⁵⁹⁾ に従つて、組織 1g 中の Collagen 量(mg)に換算したが、この Collagen 量には成熟膠原線維のものと同時に、未熟な膠原線維並びに細網線維の Reticulin に由来する Collagen も含まれている可能性があると思われる⁽⁶⁰⁾⁽⁶¹⁾。組織学的に認めえた太い成熟した膠原線維の明らかな増生は、レ線照射後 3 日ないし 4 日後であつたが、生化学的に測定してえた腫瘍組織の Collagen 含量は各線量照射群とも、照射後既に 2 日で対照群より多く、以後日をおつて急激に増加した。照射後早期から線維芽細胞の増殖、緻密な結合線維および細網線維の増生がみられるが、これが Collagen の測定値の上に現われているものと思われる。また照射線量を増すに従つて腫瘍内 Collagen 量の増加は著しく、組織学的にも肉芽組織の形成、線維形成の傾向が照射線量の大きいものほど強く認められることは網野⁽⁶²⁾、永野⁽⁶³⁾ の成績と同様である。更に各照射群とも低体温下照射群の Collagen 量の増加が著しく、この傾向は組織標本にても認められた。

先に、教室の小山田⁽⁶⁴⁾、林⁽⁶⁵⁾ は放射線大量照射後の照射域の皮下および腸管の毛細血管像について検討し、一般に低体温下に照射したものの血管の器質的、機能的変化は常温下照射のものに比して軽度であり、低体温下照射では血管が温存されると報告したが、著者は低体温下大量照射では、照射局所の毛細血管および腫瘍間質への障害が少なく、間質が温存され、早期から間質反応が起り、線維形成が行なわれるものと考え。常温下に大線量を照射すれば結合線の新生が抑制され、治療成績が悪いことは日常臨床上しばしば登

験することであり、分割および遅延照射並びに節照射の効果は、間質結合線を保護し、その機能を充分に發揮させ、癥瘕治療を完全に行なわせる点にある⁽¹⁾⁽²⁾ことを考えれば、短期間に大線量を照射するには全身障害を軽減し、旺盛な間質反応を期待して、低体温下に行なうことは意義大きいものと信ずる。

第5章 結 語

著者は吉田肉腫の大腿皮下腫瘍を用いて、レ線照射後その腫瘍間質に現われる生体の反応、特に線維性反応の状況を常温下および低体温下に 1000R, 2000R, 3000R の各線量を一時に照射し、照射後経時的に摘出した腫瘍について、組織学的並びに生化学的に検討し、次の結論をえた。

(1) 組織学的には、一般に線量が大きいほど、早期に線維形成の傾向が認められるが、太い成熟膠原線維の著明な増生は、照射後 3 日～4 日である。しかし繊細な好銀線維および微細な結合線維はかなり早期から認められる。各照射線量では、低体温下照射群に線維形成の傾向が強く認められた。

(2) 腫瘍内 Collagen 量は、各照射群とも照射後 2 日目から増加し、以後日をおつて次第に増加している。各照射群とも、低体温群に Collagen 量の増加が著しかった。

(3) 腫瘍重量は、1000R 照射群では増大の傾向があつたが、2000R, 3000R 照射群では、いずれも腫瘍は縮小し、重量も減少していた。

各照射群とも、常温群と低体温群の間に腫瘍重量の点では全く差異は認めなかつた。

以上、放射線一時大量照射を、低体温下に行なえば、間質が温存され、結合線の増生が良好であることを実験的に確めた。

謝 辞

稿を終るに臨み、本研究に御指導と御校閲を賜つた恩師星子直行教授並びに小林滋助教授に深甚なる謝意を表すと共に、病理組織所見で御指導、御校閲を頂いた本学第 1 病理学教室河合博正教授並びに浅野正英助教授に感謝致します。また、教室員各位の御協力に謝意を表す。

参考文献

- ①江藤秀雄・他編集：放射線医学，p273-577, 1959, 医学書院，東京，大阪 ②森脇大五郎・他監修：放射線生物学，1959, 裳華房，東京 ③Trowell, O. A.: Brit. J. Radiol., 26: 302, 1953 ④Gray, L. H.: Brit. J. Radiol., 26: 609, 1953 ⑤Gray, L. H. et al.: Brit. J. Radiol., 26: 638, 1953 ⑥Co-

- nger, A. D. : Radiology, **66** : 63, 1956 ⑦Gray, L. H. : Brit. J. Radiol., **30** : 403, 1957 ⑧松本澄 : 日本医放会誌, **18** : 1059, 1958 ⑨菱田豊彦 : 日本医放会誌, **19** : 105, 1959 ⑩Dittrich, W. & Stuhlmann, H. : Naturwiss., **41** : 122, 1954 ⑪Grüssner, G. & Wieland, H. : Strahlenther., **100** : 211, 1956 ⑫Saal, H. & Dalicho, W. A. : Strahlenther., **102** : 31, 1957 ⑬Churchill-Davidson, I. et al. : Brit. J. Radiol., **30** : 406, 1957 ⑭Finny, J. W. et al. : Nature, **202** : 1172, 1964 ⑮Mallams, J. T. et al. : Am. J. Roentgenol., **93** : 160, 1965 ⑯梅垣洋一郎・他 : 日本医放会誌, **21** : 460, 1961 ⑰梅垣洋一郎・他 : 日本医放会誌, **21** : 461, 1961 ⑱梅垣洋一郎・松沢大樹 : 日本医放会誌, **22** : 1327, 1963 ⑲梅垣洋一郎・松沢大樹 : 日本医放会誌, **22** : 602, 1962 ⑳梅垣洋一郎・松沢大樹 : 日本医放会誌, **22** : 630, 1962 ㉑小林 滋・他 : 日外会誌, **63** : 1076, 1962 ㉒小林 滋・他 : 日胸外会誌, **11** : 258, 1963 ㉓小林 滋・他 : 日外会誌, **64** : 905, 1963 ㉔林家資 : 信州医誌, **12** : 18, 1963 ㉕小山田恒雄 : 信州医誌, **13** : 590, 1964 ㉖仲座 勇 : 信州医誌, **13** : 783, 1964 ㉗山本英敏 : 信州医誌, **13** : 745, 1964 ㉘斎藤元康 : 信州医誌, **13** : 698, 1964 ㉙大欠 明 : 信州医誌, **13** : 722, 1964 ㉚関 晋 : 信州医誌, **14** : 637, 1965 ㉛伏見 一 : 信州医誌, **14** : 788, 1965 ㉜荒木謙次 : 信州医誌, **14** : 753, 1965 ㉝千須和美太郎 : 信州医誌, **15** : 905, 1966 ㉞窪田貞喜 : 信州医誌, **16** : 175, 1967 ㉟武井秀夫 : 信州医誌, **16** : 81, 1967 ㊱奈良井勉 : 信州医誌, **16** : 44, 1967 ㊲Böhming, R. : Ziegler's Beitr., **83** : 333, 1930 ㊳Innes, J. R. M. : Zeitschr. f. Krebsforsch., **40** : 527, 1934 ㊴緒方知三郎 : 癌, **30** : 689, 1933 ㊵Fischer, W. : Zentralbl. f. all. Path., **91** : 301, 1954 ㊶前田行一・土居盛男 : 日病会誌, **45** : 327, 1956 ㊷太田邦夫 : 癌, **42** : 168, 1951 ㊸今井 環・他 : 癌, **41** : 70, 1950 ㊹今井 環 : 日病会誌, **40** : 150, 1951 ㊺今井 環 : 福岡医誌, **45** : 72, 1954 ㊻今井 環 : 日病会誌, **43** : 22, 1954 ㊼今井 環・他 : 癌, **47** : 756, 1956 ㊽横井達生 : 福岡医誌, **48** : 95, 1957 ㊾小嶋国次 : 日病会誌, **48** : 459, 1959 ㊿水上哲次 : 治療, **42** : 1566, 1960 ㉀大森幸夫 : 最新医学, **18** : 613, 1963 ㉁網野三郎 : 日本医放会誌, **18** : 335, 1958 ㉂網野三郎 : 東京医歯大誌, **17** : 193, 1959 ㉃Jolles, B. : Brit. J. Cancer, **4** : 77, 1950 ㉄Neuman, R. E. & Logan, M. A. : J. Biol. Chem., **184** : 299, 1950 ㉅Neuman, R. E. & Logan, M. A. : J. Biol. Chem., **186** : 549, 1950 ㉆Konno, K. & Tetsuka, T. : J Biochem., **53** : 231, 1963 ㉇Fitch, S. M. et al. : Nature, **176** : 163, 1955 ㉈Miyada, D. S. & Tappel, A. L. : Analyt. Chem., **28** : 909, 1956 ㉉Adams, R. & Coleman, G. H. : Org Synthesis, Col. Vol 1, p 214, (小堀・水島編 : 蛋白質化学 I, p 260, 1954, 共立, 東京より引用) ㊱Thomlinson, R. H. & Gray, L. H. : Brit. J. Cancer, **9** : 539, 1955 ㊲Scott, O. C. A. : Brit. J. Cancer, **11** : 130, 1957 ㊳坂本良雄 : 信州医誌, **8** : 1505, 1959 ㊴上条規宏 : 信州医誌, **14** : 769, 1965 ㊵Evans, T. C. et al. : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., **47** : 434, 1941 ㊶Storor, J. B. & Hemplemann, L. H. : Am. J. Physiol., **171** : 341, 1952 ㊷Mráz, L. & Praslička, M. : Nature, **189** : 677, 1961 ㊸Hornsey, S. : Nature, **178** : 87, 1956 ㊹谷川福夫 : 日本医放会誌, **18** : 91, 1958 ㊺山本政勝 : 関西医大誌, **16** : 20, 1964 ㊻山本政勝 : 外科, **27** : 611, 1965 ㊼Opitz : Meyers Lehrb. d. Strahlenther., Bd. 1, 1925 (堀部泰正 : 日血病会誌, **10** : 79, 1948より引用) ㊽Elson, L. A. & Lamerton, L. F. : Brit. J. Cancer, **3** : 414, 1949 ㊾赤堀四郎 : 水島三一郎, 編集 : 蛋白質化学, IV, p65-125, 1956, 共立, 東京 ㊿新島迪夫 : 綜合臨床, **15** : 1848, 1966 ㉀伊勢村寿三 : 綜合臨床, **15** : 1853, 1966 ㉁藤本大三郎 : 綜合臨床, **15** : 1859, 1966 ㉂堀川欽 郎 : 膠原病の概念, 1964, 金原, 東京 ㉃Harkness, R. D. et al. : Biochem. J., **56** : 558, 1954 ㉄Green, N. M. & Lowther, D. A. : Biochem. J., **71** : 55, 1959 ㉅Windrum, G. M. et al. : Brit J. Exper. Path., **36** : 49, 1955 ㉆Berrens, L. & van Driel, L. M. J. : Naturwiss., **49** : 608, 1962 ㉇Little, K. & Kramer, H. : Nature, **170** : 499, 1952 ㉈赤堀四郎・水島三一郎, 編集 : 蛋白質化学 I, p255, 1954, 共立, 東京 ㉉Lang, K. : Z. Physiol Chem., **219** : 148, 1933 ㊱Waldschmidt Leitz, E. & Akabori, S. : Z. Physiol. Chem., **224** : 187, 1934 ㊲McFarlane, W. D. & Guest, G. H. : Canad. J. Res., Sect. B, **17** : 139, 1939 ㊳Devine, J. : Biochem. J., **35** : 433, 1941 ㊴Martin, C. J. & Axelrod, A. E. : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., **83** : 461, 1953 ㊵足沢三之介・他 : 日本医放会誌, **22** : 602, 1962 ㊶永野 勉 : 日本医放

会誌, 20 : 749, 1960 ②Schneider, W. C. : J. Am. Chem. Soc., 66 : 1297, 1944 ⑤Harkness, M. L. R. & Harkness, R. D. : J. Physiol., 134 : 135, 1956
Biol. Chem., 161 : 293, 1945 ③Gould, B. S. :
J. Biol. Chem., 232 : 637, 1958 ④Bear, R. S.