

# 細胞分裂に対する X 線照射, ラジウム照射の影響に関する実験

## *Versuche über den Einfluß der Röntgenstrahlen und Radiumstrahlen auf die Zellteilung*

*Perthes G. Deutch Med Wochenschr 30:632-4,668-70,1904*

X 線の集中照射後に皮膚癌が軟化, 急速に縮小, 治癒し, 病理学にも照射野の癌細胞が完全に消失するという注目すべき事実については, 未だ十分な説明がない. この興味深い腫瘍の消失は, 正常細胞に対する X 線の影響を調べて初めて理解しうるものである.

この観点から, ヒトや家兎の皮膚外傷の上皮再生が, X 線照射によって遅延すること [1], 幼鶏の片側の翼に X 線を照射すると, 対側に比して翼の成長が有意に遅延することに着目した. この実験は, 悪性腫瘍における観察事実には一致したが, 動物細胞の分裂に対する X 線の影響に関する唯一の報告には矛盾するものであった. そこで我々は植物について同様の実験を行った. G. Schwarz[2] は, 新鮮ウニ受精卵に照射し, 照射した場合と照射しない場合では, 同様に速やかに分裂することを発見した.

X 線により細胞分裂が加速されるか, 遅滞するか, あるいは不変なのか, これを調べるために好適な対象は何かという問いに対して, ライプツィヒ大学動物学の zur Strassen 教授は, ウマ回虫 (*ascaris megaloccephala*) の受精卵を推奨された. 実際, 既に生物学において多くの細胞論の問題に回答を与えているこの材料を凌ぐものは考えられないであろう. ウマ回虫は, ウマ屠殺場で容易に入手可能である. まだ生きている牝馬の管状卵巣から無数の卵を含む白色髄を除去すると, 既に卵巣内で受精して被膜を備えた卵細胞の分裂が直ちに開始する. 卵殻は完全に透明なため, 細胞分裂を直接顕微鏡で観察できる. 卵細胞の乾湿とは無関係に室温で成長するが, 通気は必須である. 従って細菌を観察する場合と同じように, カバーガラスで密閉されていない陥凹したスライドガラス上で, カバーガラスから懸架した滴内で卵細胞を観察した. この方法では, 全ての卵がほぼ同じ速度で成長するので, ある一時点でみると全ての卵がほぼ同じ段階にある. 室温では, 最初の分裂は通常 24 時間後に完了し, 12~14 日後には完全に成長した成虫が卵殻内で活発に動くのが見える. このように成長が比較的遅いことは, 我々の目的にとっては有利な点である. さらに大きな利点は, 同時に観察できる卵の個数を任意に選択できることである.

17 回の X 線実験で, 200 個以上の検体を照射し, 必要な対照に加えてさらに多くの観察を行った. それぞれの検体に 200~300 個の卵があるため, 著しく多くの卵を実験条件下で観察できた.

摘出直後, 明らかな分裂が起こる前に, 検体に単回の強力な X 線照射を行ない, 同じ虫体の卵から成る対照検体と正確に同条件 (温度, 照度, 湿度) に保持した. X 線照射は, 一部は Wehnert 断続機, 一部は電動機断続機を使用し, 火花間隙 65cm の誘導コイルで, 中等度軟 X 線管を 8~10cm の距離に置いて行った. X 線強度は Holz knecht のクロモラジオメータを使用し, 大部分は反応物質が 24H 相当に変色するまで照射したが, これには X 線管近傍で約 1 時間を要した. これにより, ヒトに照射すれば 14 日後に水泡あるいは表皮壊死すら起こしうる程度の X 線を 1 回で照射した. 培養器を熱線, 可視光線から保護するために, 全体をゴム板で覆い, 最高温度計を設置して 25°C 以上にならないようにした.

全ての実験で, 以下の一貫した結果が観察された. すなわち照射 12 時間後に照射群と対照群を比較すると, 対照群では既に分裂像, あるいは少なくとも細胞質の絞扼が見られる程度に進んでいる. これに対して照射卵は, 生きた無染色標本で分裂開始の徴が認められない (図 1a, 1b). 24 時間後にはじめて, 個々の卵の分裂が認められる. この最初期の分裂の遅延は, その後の成長の著しい遅延にも対応するもので, 36 時間後に非照射卵は 4 細胞期にあるが, 照射卵では 2 細胞期卵の周辺にまだ 1 細胞期にある卵も観察される (図 2a, 2b). 対照卵の 16 細胞期には, 照射卵は 4 細胞期にも達しない. 細胞数が増加してくると, 当然のことながら両者の比較は容易ではなくなるが, このような晩期であっても, 自明の理由により照射卵にくらべて正常胚の細胞数ははるかに多く, 個々の細胞数は小さい.

この細胞分裂の遅延に加え, 不規則な発育が認められる. これは動物学者は早期に知ることができるもので, 門外漢は最終段階のみ着目するが, zur Strassen 教授の御厚意により検体を確認していただいた. この結果から, X 線による障害の強弱により 2 つに分類することができる. 前者, すなわち 24.0H 以上の照射群では, 虫体が全く形成されず, 正常の形状とは異なる大きさ不同の細胞塊となる. 個々の細胞は不整に配列し, 細胞塊が不規則に連結している. これに対して, 同じ個体からの非照射卵は, 良好な虫体に成育した (図 3a, 3b).

1. Perthes. Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf epitheliale Gewebe, insbesondere auf das Karzinom. Archiv für klinische Chirurgie 1903 Bd.71.

2. G. Schwarz. Wiener klinische Wochenschrift 1903 No.24 S.715

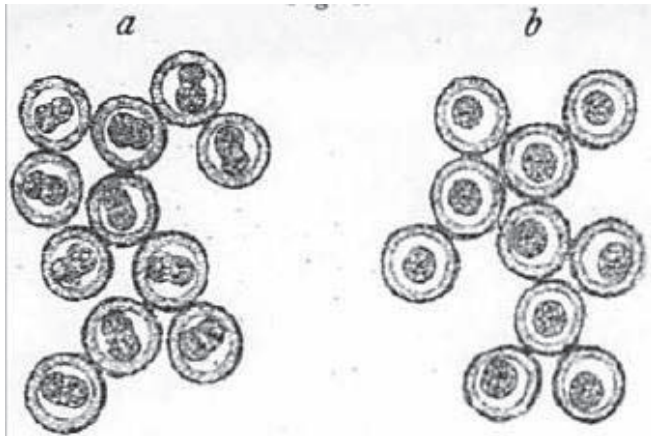


図 1. 12 時間後 (a. 非照射, b. 照射)

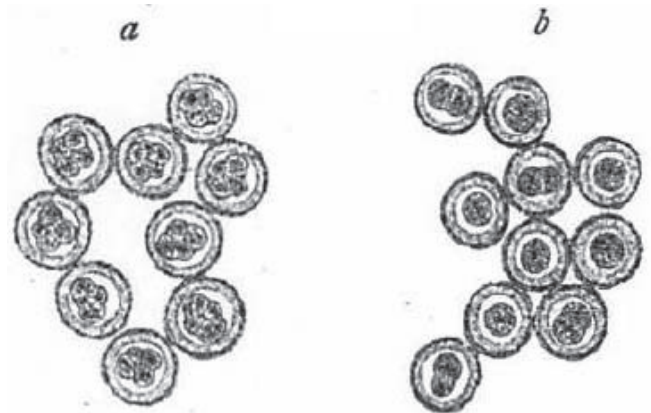


図 2. 36 時間後 (a. 非照射, b. 照射)

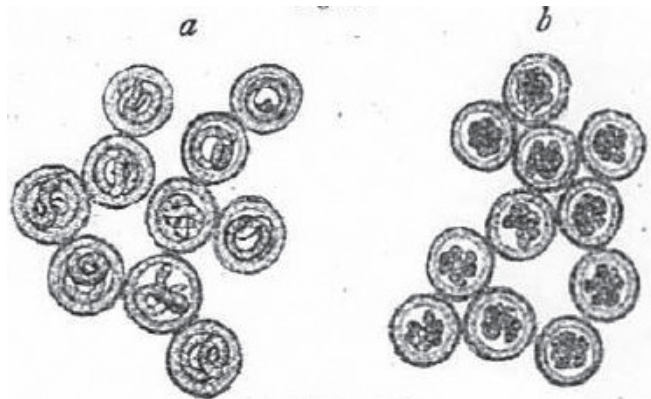


図 3. 12 日後 (a. 非照射, b. 照射)

20.0H 以下の弱い照射群では、同じような不規則な細胞塊とともに、特徴的な奇形が認められる。これらは虫体全体あるいは少なくともその一部が、発育の最終段階の形状を呈しているが、その一部に不整に発育した細胞が認められる。その多くは、頭部は正常であるが、尾部がキノコ状の分葉状腫瘍に置換されていた。同様の腫瘍が、体部、頭部にある個体も認められた (図 4)。

このような多くの奇形をもつ虫体も、正常発達虫体と同じように、部分的には活発に運動する。このような異常発達個体も、14 日以上にわたって生きて動くところを観察できた。非照射卵では、数百個の卵にこのような奇形は一例も観察しなかった。

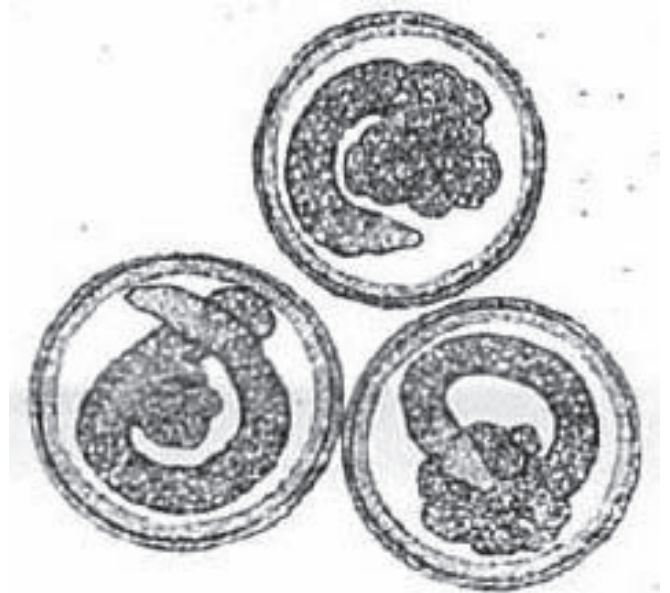


図 4. X 線照射によるウマ回虫の発育異常

中等度ないし軽度の X 線障害では、全ての卵が同程度に影響されるわけではない。大部分を占める奇形虫体の他に、正常に発育した虫体、また不規則な細胞塊を持つ虫体が認められる。異常個体の数と異常の程度は、照射した X 線の強度に依存する。実験のひとつでは、同じ虫体の卵に強度を変えて照射した。ヒトの皮膚に紅斑のみ生じる程度の 6H では、発育障害は認められなかった。8H 照射した培養器では孤発性の奇形が認められ、12H では多数の奇形が認められ、20H では正常発育個体は孤発性に認められるだけであった。

同じ培養器の異なる卵の場合と同じく、同一卵でも異なる部位では障害の程度が異なる。障害の不均一性から、発育の不規則性もおそらく説明しうる。

照射卵の観察では、1 細胞期あるいは 4 細胞期にとどまるような細胞を見ることはない。最強度の照射でも、卵を直ちに殺すことはなく、晩期発育障害を来す。

放射線照射を、発生開始直後に行わず、3 日目 (16 細胞期) に行くと、多くの異常卵が発生するが、初回分裂前の照射に比して障害は少ないように思われる。

卵の単回照射後の発育抑制が、細胞分裂の微細機構の障害によるものか否かを確認するため、まずカバーガラス上で乾燥させた卵を zur Strassen 法によりカルミン染色し、その後剖面標本作製した。卵巣から摘出したレンズ豆大の卵塊を照射し、様々な方法で保存し、一部はパラフィン、一部はセロイデンに包埋し、Heidenhain 法で染色した。照射した卵塊とは別に、照射しない卵塊をそれぞれの虫体から採取した。本研究は、なおいくつか不十分な点がある。

しかし既に多くの事実が明らかとなっている：最初の分裂の各相において照射卵は非照射卵に比較して遅延し、この結果、例えば赤道面の形成は、非照射卵では 6 時間後であるのに対して、照射卵では 24 時間後



になって初めて完成する。照射卵の各相の経過は、非照射卵と基本的に変わるところはない。卵塊には、ヒトの手に照射すれば3週間後に表層壊死を来たす程度で、また同時に照射した培養細胞ではその大部分に異常な発生を来たす程度の強度のX線を照射したが、発生24時間後(照射終了23時間後)にすべての卵で染色体、中心体、紡錘糸が観察された。

正常の核変化で生成される3要素もすべて認められた。

中心体と紡錘糸は、照射卵、非照射卵いずれにおいても同じように明瞭に認められた。一方、*Ascaris megalcephala* に特徴的な2本の染色体[訳注:この回虫の染色体は $2n=2$ ]には、様々な不規則性が認められた。牽引の過程で不規則な結節状の裂隙が発生したり、正常の棍棒状肥厚ではなく、末端にむけて徐々に太くなる不規則な結節状肥厚が認められた。また卵内の赤道面に2本の染色体が並ばず、いくつかの不同の碎片が認められるものもあった。しかし、ミクロトームによって染色体が切断されたのではないかという異議がありうるので、X線によるものであると証明することはできない。

もう一つの疑問は、細胞分裂の障害は、分裂が進行している時期にのみ発生するのか、あるいは休眠状態の核も障害をうけてそれが後に顕性化するのかという点である。

これらの疑問には、実験により容易に答えることができる。回虫受精卵は酸性物質の存在下でのみ分裂する。空気中の酸素が、母体を離れた後の卵が発育する刺激となると思われる。生きた虫体の卵管内では、卵は常に単細胞状態にある。ここで一時的に酸素を遮断することにより、卵の発育を障害することなく中断できる。カバーガラス下の水滴中の卵をパラフィンでシールすることでこれが可能となる。空気かわりに水素を使用すればより正確である。

注入/排気できるガラス管を備えた水浸空間を設けたスライドガラスを作製した。水滴中に卵を入れたカバーガラスをこの空間にシラックニスで機密に固定し、約半時間水素を注入し、この間、注入/排気管は溶融して閉鎖した。その後、1回ないし多くても2回の細胞分裂が起こり、発育が停止する。しかし、注入/排気管の溶融端を切断すると、再び正常に発育が進む。実験のひとつでは、この方法で31日間発育を停止した後に、正常の虫体発育が再開した。このため、核が完全に静止状態にある期間にX線を照射することが可能である。このような卵もX線により同じように障害され、完全分裂状態で照射した卵と同様な異常個体が発生した。

従って、X線はウマ回虫卵に対して、分裂期でも静止

期でも障害を与える。

障害は即時性ではないが、細胞分裂を遅延させ、発育経過を異常なものとし、異常な個体を形成する。

X線とラジウムやその同類の物質が放出する光線には物理学的な一致があり、ベクレル線とX線ではヒトの皮膚に同様な反応が見られることを考えると、これらが細胞分裂にも同様の効果をもたらすかという問題は興味のあるところである。

既に、X線とラジウム線による増殖障害、発生障害については、顕著な一致を示す実験が報告されている。

Bohn[1,2]は、カエル胚をベクレル線で照射し、明らかな成長の遅延を観察している。同様にカエル幼生の照射でも、様々な発達抑制による奇形が認められている。胚を胎生初期に照射しても、後にならないとその障害は明らかにならない。

ウニ卵(*Strongylocentrotus lividus*)を発生の最初期に照射すると、不整な胞胚が形成され、原腸胚は形成されない。原腸胚の段階でラジウム線を照射すると、肢突起を欠く異常なプルテウス幼虫が発生する。精子はラジウム線により障害されあるいは死滅し、無精卵は受精傾向となり、単為生発生が促進される。Bohnはその実験から、ベクレル線は主に細胞核のクロマチンに対する作用により、組織、臓器の発育に影響を及ぼすと結論している。Bohnは、光線的作用が他の組織に比して皮膚に対して強いことの理由として、持続的に再生している皮膚では、その細胞が常に部分的に分裂状態にあるためとしている。

ウマ回虫卵にラジウム線を照射した著者の実験でも、Bohnと同様の結果が得られた。実験には、ハンブルクのRichard Sthamer博士の化学研究室から入手した結晶化臭化ラジウム粒10mgを含む3本の管を使用した。試料の放射性は、ラジウム管にホルツクネヒトのクロモラジオメータの反応体を12時間、直接置いて8H相当の変色する程度に概ね測定された。

このラジウム管を、X線実験と全く同じように培養した回虫に対して、ラジウム粒がラジウム管の壁とカバーガラスだけを介して虫体に接するように直上に置くと、細胞分裂は障害はされなかったが、対照検体にくらべて非常に遅延した。

このような抑制は、少なくとも2時間以上ラジウムを照射した検体全例で明瞭に認められた。1時間のみ照射した場合は、(顕微鏡で唯一明瞭に観察しうる)最初の分裂に有意の遅延はなかった。

1. Bohn, Influence des rayons du radium sur les animaux en voie de croissance. Comptes-rendus de l'academie des sciences 1903, Bd. 136, S. 1012, 1013

2. Derselbe, Influence des rayons du radium sur les oeufs vierges et fécondés et sur les premiers stades du développement. Ibidem S.1085, 1086

2時間以上(4日間まで)照射した検体では、正常に虫体まで育った卵は皆無であった。ほとんどが虫体胚の形状をとどめないテント状の細胞塊が形成されるのみで、5~8日にそれ以上の発育は見られなかった。ラジウム管を試料に長くあてておくほど、早期に分裂が停止した。

1時間のみ照射した検体では、胚の一部が正常に発育した。しかし、一部の卵には、前述の不規則な細胞塊が形成された。さらに最終発育段階でも、一部の卵にX線の場合と全く同じ奇形虫体が認められた。このように正常個体と変性個体の共存に関しては、ラジウム線の1時間照射は平均的なX線照射(約16H)と非常に類似した結果であった。

ラジウム管を検体直上ではなく5cm上方に置くと、胚の発達異常は認めなかった。この結果は、ラジウム管からの放射線が50mmの距離では、距離1mmの場合に比較して $1/50^2=1/2500$ であることを考えれば当然といえる。

ラジウム線照射中の細胞分裂が、完全に抑制されないことは注目に値する。ラジウム照射下に3日間おいた検体でも、遅延はあるが初回分裂が起こる。しかし、発育は3日目まで、すなわちラジウム照射下では4~8細胞期までである。ラジウムを遠ざけると、発生はわずかに進行するのみである。ラジウム線は、その障害作用という点においては、初回分裂に照射しても、胚に照射しても同様に作用する。

3, 4, 5, 6日目に照射した検体では、正常に発生した例はなかった。後期に照射した検体の発生物は、決して不規則なものではなく、基本的に初回分裂時に照射したものよりも富細胞性であった。細胞障害は、分裂時のみならず、X線実験の場合と同じく、卵を水素環境下で一過性に抑制しても発生した。

このように、ラジウム線の実験結果は、X線の場合と非常によく類似したものであった。すなわち、細胞分裂の遅延、異常な発育個体の産生が認められる。また、細胞に対する光線の主たる作用は、直ちに出現するものではなく、一定時間後に明らかになる。この2つの光線の回虫卵における観察結果を従来のトリ、ウサギ、ヒト細胞の結果と比較すると、これは特定臓器の反応ではなく、生きた細胞のX線および類似光線に対する一般的な反応であることが示唆される。この点において、発生過程、成長過程にある植物の非屈折性光線に対する反応は、植物学を専門としない者にとっても興味のあるところである。

実際のところ、植物の発生、成長に対するラジウム線の抑制効果は証明されていない。Becquerel自身は、その名前のついた光線によってナズナ、シロガラシの種子の発芽能が障害されることを示している。1週間

照射した種子は全く発芽しないが、非照射の対照種子は88%が発芽する。Dixon[2]は、シロガラシの種子の発芽への影響を見いださなかったが、Dauphin[3]は下等真菌で明らかな成長抑制を認め、Aschkinnas & Capari[4], [4], Strebel [5], Danysz [6], Pfeiffer & Friedberger [7], W. Hoffmann [8]は、細菌の明らかな成長抑制を、そして照射を延長すると殺傷効果を示している。

これらの結果とは反対に、X線の植物の生長に及ぼす影響については、相反する実験結果しか報告されていない。他の報告と異なりRieder[9]は、20~30分のX線照射により細菌でのみ成長抑制、殺傷効果を認めている。しかしLoprioneは、より高度な植物で、照射中にごく一過性の花粉発芽抑制を認めたのみであった。

Maldinay & Thouvenin [11]は、Wolfenden & Forbes Roß [12]と同じく、毎日1時間照射した種子は、非照射種子よりも数日早く発芽することを発見した。このような報告では、X線はラジウム線と作用が異なるようにみえるが、植物学者のDr. Nathansonと著者が共同で行った実験では、いずれの放射線も全く同じように、植物に対して強力な抑制効果を発揮した。

我々はソラマメのヒゲ根を使って実験したが、これは急速に真下に向かって成長するため非常に適した実験材料である。発芽した多くのマメの中から、3日目に、根の長さが同じ12検体を選択した。これを側壁が木製の鉢に、湿ったおがくずを敷いて植え、検体の半分をX線から遮蔽するために右半分を鉛板で覆った。中硬度のX線管で、マメの側においた感光体が24.0Hを示すまで照射した。

別のマメを別の鉢に植え、臭化ラジウム10mgを容れたラジウム管を根の先端に接して置いた。根の長さを示す。

実験開始時は、すべて5mmであった。

	非照射群		X線照射群		ラジウム線照射群	
	2日後	4日後	2日後	4日後	2日後	4日後
	166mm	85mm	30mm	36mm	22mm	24mm
	75mm	125mm	45mm	49mm		
	98mm	155mm	15mm	17mm		
	71mm	87mm	44mm	50mm		
	82mm	138mm	42mm	45mm		
	75mm	140mm	55mm	53mm		
平均	78.5	121.7	35.2	42		

実験初日の2日間(a)、最後の2日間(b)の平均はそれぞれ、(a)73.5mm, (b)43.2mm, (a)30.2mm, (b)6.8mm, (a)17mm, (b)2mmであった

X線照射した根は、非照射群に比べて平均して半分にも成長しないことがわかる。ラジウム照射群の根の長さは、さらに遅延する。

このようなX線1回照射あるいはラジウム線連続照射後の成長抑制は、最初の2日間よりも3日目、4日

目により高度であり、これは最初期にヒトの皮膚でも観察されたように、X線やラジウム線の最大効果は照射直後ではなく、数日後に得られるという一般的な結果に一致するものである。

さらに2つの実験で同様の結果を得た後、Dr. Kronickeが異なる材料、異なる条件下でより大規模な実験を継続した。彼はその同様な結果を2つの論文「レントゲン線の発生と成長への影響について」「ラジウム線の発生と成長への影響について」を、ドイツ植物学会誌に発表している(1904, 2:148-166)。すなわち、X線およびラジウム線の細胞分裂抑制は、植物細胞においても動物細胞と同じく明らかに証明される。

すべての細胞が同様に障害されるのか、あるいは特定の組織がより強く障害されるのか、という問題についてはなお検討する必要がある。Mertens[13]が強調している急速に分裂する細胞への障害が、Albers-Schönberg[14]が示したX線による無精子症という奇妙な事実と関係があるか否かについても議論が必要である。X線、ラジウム線の細胞内での化学作用が、核のクロマチンに障害を与える物質を生成するという多くの証拠が存在する。

- 
1. Becquerel, Sur quelques effets chimiques produits par le rayonnement du radium. Comptes-rendus de l'Acad. (1901) T. 133, S. 709.
  2. Dixon, Radium and plants. Nature. November 1903, Vol. LXIX, S. 5.
  3. J. Dauphin, Influence des rayons du radium sur le développement et la croissance des champignons inférieurs. Comptes-rendus de l'Acad. 1904, S. 154.
  4. Aschkinnes und Caspari, Ueber den Einfluß reduzierender Strahlen auf organisierte Substanzen, insbesondere über die bakterienschädigende Wirkung der Becquerelstrahlen. Archiv für die gesamte Physiologie 1901, Bd.86, S.603.
  5. Strebel, Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen Bd. 4, S. 125
  6. Danysz, De l'action pathogène des rayons et des émanations émises par le radium sur différents tissus et différents organismes. Comptes-rendus l'Acad. (1903) T. 136, S. 461
  7. Pfeiffer und Friedberger, Ueber die bakterientötende Kraft der Radiumstrahlen. Berliner klinische Wochenschrift 1903, S. 640 und 700
  - 8). W. Hoffmann, Ueber die Wirkung der Radiumstrahlen auf Bakterien. Rundschau Jahrgang XIII, 1903, S.913
  9. Rieder, Nochmals die bakterientötende Wirkung der Röntgenstrahlen. Münchener medizinische Wochenschrift 1902, No.10, S.402
  10. Lopriore, Nuovi Rassegne Catania 1897; zitiert nach Schaudinn, Ueber den Einfluß der Röntgenstrahlen auf Protozoen. Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie 1899, Bd.77
  11. Malainy et Thouvenin, De l'influence des rayons X sur la germination. Revue generale de Botanique 1898, Tome X, S. 81
  12. Wolfenden and Forbes Roß, The effects produced in cultures of microorganisms etc. Archives of the Röntgen Rays 1900 Bd. 5, cf. Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen Bd. 4. S.103.
  13. Mertens. Ein durch Behandlung mit Röntgenstrahlen günstig beeinflusstes Spindelzellensarkom. Deutsche medizinische Wochenschrift 1904, No.13
  14. Albers-Schönberg. Eine bisher unbekannte Wirkung der Röntgenstrahlen auf den Organismus der Tiere. Münchener medizinische Wochenschrift. 1903, S.1859