

放射線生体照射の各臓器構成高級脂肪酸 に及ぼす影響について

第 2 編

X線照射の担癌動物構成高級脂肪酸に及ぼす影響について

岡山大学医学部放射線医学教室 (主任: 山本道夫教授)

勝 俣 直 躬

[昭和42年3月27日受稿]

緒 言

近時悪性腫瘍の早期発見早期治療が問題とされ、それにともない悪性腫瘍の診断治療に放射線を利用する機会が多くなつて来た。

私は先に第一編で普通トレーサー試験に用いられる安全追跡子濃度よりやや多量の³²Pを正常な動物に使用し、Radio isotopeの体内照射により、生体内構成脂肪酸に如何なる影響を与えるかについて追求を試み、その結果は体内各臓器構成脂肪酸は比較的小線量β線によつても変化を受ける事、またそれらの脂肪酸は波状消長を示すものである事を述べた。

放射線と脂肪に関して、Rosenthal¹⁾は飢餓不飢餓に関係なく800~1000R全身X線照射された家兎の血清は乳光をおびクリーム状になる。これは血清中の脂肪が非常に増加したため家兎の脂質代謝の障害を示し、動物がまもなく死亡する確かな前徴となると報告しているが、一方腫瘍と脂肪に関してF. L. Haven等²⁾は癌が成長するにつれ全脂質量は減少し、かつ著しい脂肪血症が表われるが動物が死に近づくにつれ消え、また担癌動物の腸は著名に磷脂質を含む³⁾とし、Smedley-MacLean等⁴⁾⁵⁾によれば担癌ラットでは皮膚から不飽和度の高い脂肪酸が消失し、それが腫瘍形成に利用されているようだと言われている。以上脂質と腫瘍発育及び放射線三者の関係は興味ある問題と考えられる。

そこで今回私は、マウス下腿部にEhrlich癌を移植し、腫瘍発育を待つて、この部にX線局所照射を行なつた後、直接照射野内にある腫瘍と、脂肪の酸化分解糖質蛋白質からの脂質合成、血漿の脂質リポ蛋白質量の調整などを行なう脂質代謝の中心と見な

される肝臓、及び即述べた脂血症等に関係ある血清より脂質を抽出し、X線照射によりこれら肝、血清、腫瘍の脂肪酸構成に如何なる変動を来たすかに就いて実験を試みた。

実 験 方 法

- (1) 実験動物 ICR系マウス8週令、体重約30gの雄を用いた。飼育には実験動物中央研究所製固型飼料EC2と水道水を用い、約4週間飼育。
- (2) 腫瘍の移植、Ehrlich腹水癌細胞を滅菌生理的食塩水で稀釈し、ストマイを少量加え、0.2cc中30×10⁴個の癌細胞を含むようにし、これを注射器で右下腿に移植した。
- (3) 組分け、一群を15匹ずつとし、第一群は無処置健康マウスを対照とし、第二群を担癌照射群、第三群を担癌非照射群とした。照射群は移植後7日より照射開始した。
- (4) 照射方法 東芝KXC18型深部治療装置を使用。管電圧200KVp 管電流25mA. 濾過板0.5mmCu+0.5mmAl, 距離50cm, 半価層1.37mm, 線量率72R/minとした。照射時マウスは右脚のみ引出せる様にプラスチック管内にマウスを入れ、足関節にかけた糸にて腫瘍を固定し、プラスチック管を3mmの鉛でおおい、これにより右脚以外は鉛板にて保護されるようにした。以上の方法により照射群は1日500R連日局所照射、全量5000R局所照射し、腫瘍を縮小した。
- (5) 脂肪酸抽出方法 前記3群の各15匹ずつのマウスの下腿筋、腫瘍、血清、肝臓の脂質をFolch等の方法で抽出し、水解条件は窒素気流下で、2NKOHメタノール10倍量70°Cで3時間水解した、脂酸抽出

Table 1 Fattyacid composition of mice

No. 1 control = normal mice

No. 2 Irradiated = irradiated solid Ehrlich's carcinoma bearing mice.

No. 3 Non-irradiated = non-irradiated solid Ehslich's carcinoma bearing mice.

Organ	Group No.	Group	Percentage Composition				
			Palmitic, a, C _{16:0}	Palmitoleic, a, C _{16:1}	Stearic, a, C _{18:0}	Oleic, a, C _{18:1}	Linoleic, a, C _{18:2}
Muscle and Tumour	1	Control	24.1	14.0	5.4	25.4	30.5
	2	Irradiated	32.4	8.5	21.9	25.0	12.0
	3	Non-irradiated	29.0	8.5	24.2	25.6	10.6
Serum	1	Control	25.4	7.3	9.4	15.7	41.9
	2	Irradiated	28.9	16.9	5.7	18.1	30.4
	3	Non-irradiated	30.4	12.5	11.6	19.0	26.4
Liver	1	Control	31.0	5.0	21.2	18.8	23.6
	2	Irradiated	35.4	5.3	22.3	17.5	19.3
	3	Non-irradiated	34.2	5.4	28.3	14.9	18.8

法及びメチルエステル化の方法は第1編で述べたと同様である。

(6) 脂酸測定条件は島津 GC1B 水素炎イオン化検出器付を使用, カラム径0.4cm, 長さ225cm 充填剤は島津製で60~80 Mesh の Shimalite に (15% v/v) Polyester succinate を coating したものを使用し, 窒素流量 90cc/min. カラム温度 205° 検出器温度 219°, 試量気化室 215° で測定した。固定は市販脂酸をメチルエステル化し比較添加し, 半値幅法で計算した。

実 験 結 果

各脂酸を百分率でその変動を示すと Table 1 の如くである。

マウスの筋肉, Ehrlich 腫瘍 (Solid), 血清, 肝臓の構成脂肪酸の主なもの, パルミチン酸, パルミトオレイン酸, ステアリン酸, リノール酸であり, 別にかかなりの量アラキドン酸を考えられる C₂₀: Poly 脂酸が存する。またごく少量のミスチン酸, リノレン酸と思われるピークをガスクロマトグラムで認めた。(Fig 1)

腫瘍移植群では顕著に健康マウスに比べ, リノール酸百分率の減少が目立つ。リノール酸比の大きいものから順に書くと, 対照群, 担癌照射群, 担癌非照射群の順であり, パルミチン酸百分率は対照群に比べ腫瘍移植群に多い。第3群の担癌非照射群では第1群の健康マウス群に比べ腫瘍部, 血清, 肝臓において共にステアリン酸比は増加する。オレイン酸は腫瘍部では同部位の対照群筋に比し変動は認め難い。

考 察

このような腫瘍実験では腫瘍の中心部の壊死部と周辺部では脂酸構成に差異がある事⁶⁾⁷⁾ が考えられるので, Ehrlich 腫瘍の腫瘍は下腿骨の右外側部分だけを均等に採取するようにした。血液は一匹よりなるべく多量にとる為, 腋窩部皮下より採血したが動静脈血が混ざる点問題が存すると考えるが, 血清は肉眼的に清澄で Rosenthal¹⁾ が認めたような脂肪血症は認められなかった。

腫瘍発育或いは発育抑制と脂質及び放射線照射の三者の関係を論じた文献はほとんど見出し得なかつたが, 腫瘍発育と脂質に関するものは多い。Faven³⁾ は主として栄養学上の立場から Walker Ca, 256 の担癌ラットにおける脂質の消耗の主体をなすものは脂肪酸であり, その内でも不飽和度の低いものの方がより使われているらしいとヨード価より見ているが, Smedley Maclean⁵⁾ 等は同じ Walker Ca 256 で逆にリノール酸, リノレン酸, アラキドン酸等の不飽和度の高いものが腫瘍組織の形成に利用されると述べている。私の実験結果で腫瘍組織に特にリノール酸比が低い点, 腫瘍内でリノール酸が利用され消費されたと考えれば, Smedley 等の実験結果に一致するものと思われる。山川等⁶⁾ は Ehrlich 腹水癌細胞と Sarcoma 180 の構成脂質について, ケイ酸カラム及びガスクロマトグラフィーにより両者間の差異を見出そうとしたが, 構成脂肪酸百分率には多少の変化を見たが実質的な相異はなかつたとしており, また腫瘍移植後の日数によつて, 即ち腫瘍の年

Gas-liquid-chromatogram of the total fatty acid in the serum of mice

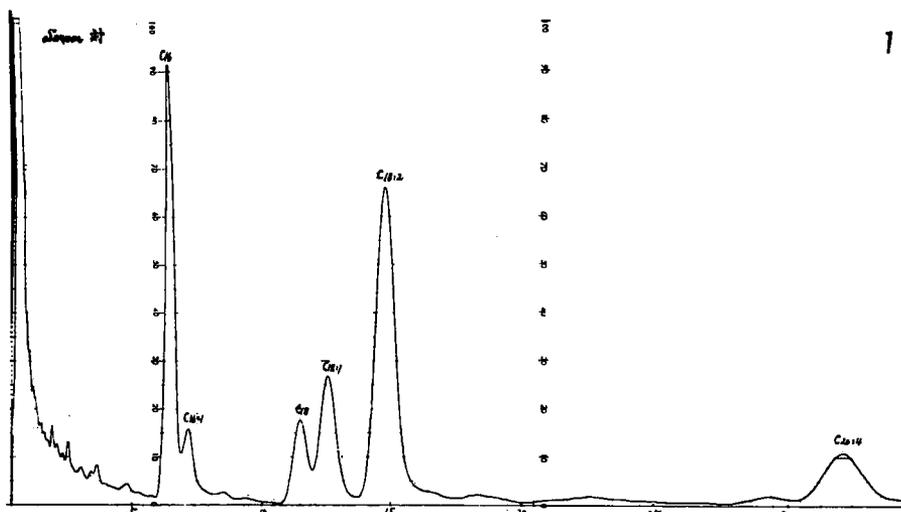


Fig. 1. Control normal mice

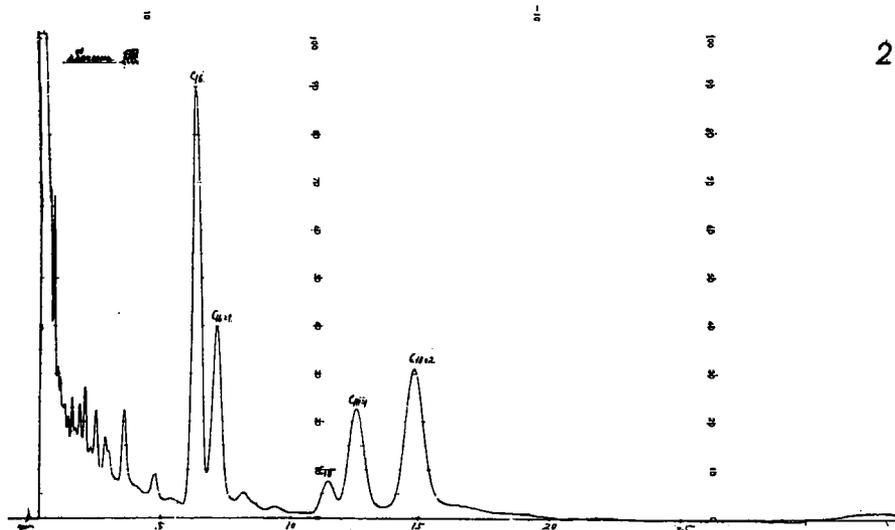


Fig. 2. Irradiated mice with solid Ehrlich's carcinoma

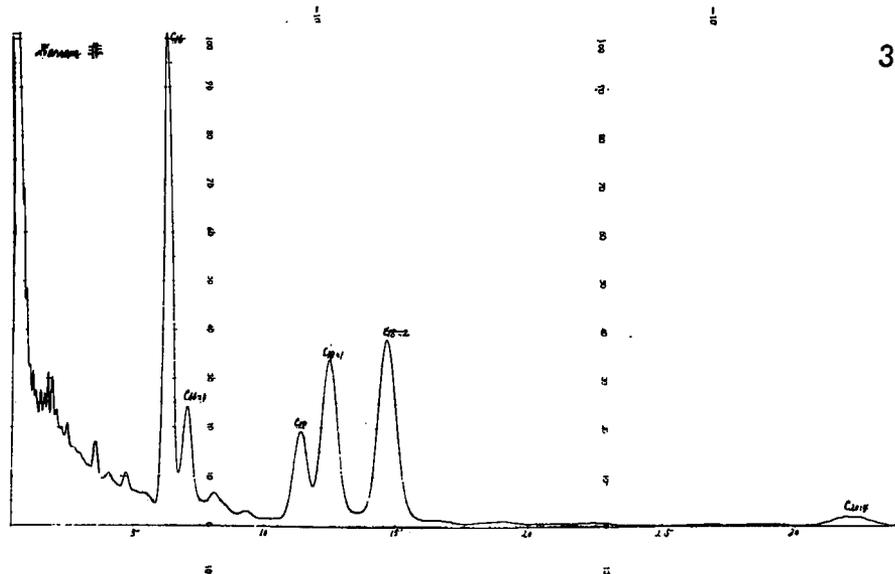


Fig. 3. Non-irradiated mice with solid Ehrlich's carcinoma

令によりその脂肪酸百分比は変化し、7日目より14日目の方がリノール酸比が15%多いとし、その他リノール酸の多い餌料の場合には腫瘍細胞にリノール酸が多く、餌料に少ない場合には腫瘍細胞にも同様少い。何れの場合に於いても腫瘍組織中のステアリン酸は普通の臓器よりも多く存していると報告している。移植後日がたつにつれリノール酸百分比が変動することはうなづけるが、彼の実験においては腹水内担癌マウスであり、また14日目といえば担癌動物が死の直前の状態にあると考えられるので、私の非照射群腫瘍は固形の形であり、比較は困難であるがリノール酸比は他の群に比し減少するが腫瘍組織にステアリン酸比が多いと云う点は一致すると考える。飼料と腫瘍内のリノール酸の関係は、リノール酸が動物では必須脂肪酸である事より当然の結果と思われる。

腫瘍と磷脂質との関係については Figard & Greenberg⁹⁾ は肝癌や腹水腫瘍動物の肝では Ph, -エタノールアミンからレシチンへのメチル化酵素の活性が正常動物肝の10%以下に低下し Ph, -エタノールアミンのメチル化によるレシチン生成はのぞめないで肝癌などでは磷酸コリン経由でレシチンを生成するのだらうと代謝異常を述べ、Veerkamp 等¹⁰⁾ は肝癌では ³²P-磷酸からの Ph-エタノールアミンの生成は低下し、レシチンへの取り込みが増大しているとし、肝癌磷脂質構成脂酸中オレイン酸が多くステアリン酸が少いと云っている。この点私の実験は全脂質中の脂酸百分率であるので比較する事は困難であるが、桜井等¹¹⁾ は吉田肉腫及び AH-130 等の腹水肝癌のアセトン不溶性分画(磷脂質及び糖脂質を含む)は正常ラット肝のそれに比べリノール酸(C_{18:2})アラキドン酸(C_{20:4})が減少し、パルミチン酸(C_{16:0})が増加していたとし、大原等¹²⁾ も AH-130 担癌ラット肝の脂質組成は正常肝のそれに比し C_{16:0} C_{18:0}等の飽和酸が増加し、C_{18:3} C_{20:3} C_{20:4} の如き高度不飽和酸が著しく減少していると報告しており、また稲葉⁷⁾によれば 3M. DAB を含む飼料で動物を飼育すると飼育日数と共に C_{16:0} C_{18:0} C_{18:1} は漸増し、C_{16:1} C_{18:2} C₂₀: poly は減少の傾向を示すと云っている。私の実験の非照射担癌群と他の二群とを対比した時、腫瘍発育と共にリノール酸が減少する傾向がある点では、これら研究者の結果と同一の方向を示すものと考えられる。

最近の山形等¹³⁾の報告によれば、エールリッヒ腹水癌を皮下移植した実験で癌組織及び担癌体の肝の

脂質組成は正常のものに比し、C_{18:0}≒C_{18:1}の傾向があるとしている。私の結果では担癌群の血清並びに腫瘍では一致するが、対照でも同じであり、肝では逆の傾向にある。実験条件、特に水解時の温度条件及び脂酸百分率計算法、または山川等の報告より考え腫瘍の年齢による差異等から一致しがたい所もあると考える。

一方放射線による脂酸の変動に関しては、Horgan¹⁴⁾等は X 線照射した動物からリノール酸過酸化物を見出し、その毒性の強さを報告しているが、放射線による脂質代謝の変動については幾多の研究があるが、その内、山本、妹尾等の研究の一部である G. L. C. による脂酸構成の変化については第1編で論じた。Altman¹⁵⁾等は X 線照射後の骨髄の脂酸合成につき検索しており、 α -¹⁴C アセテートを追跡子として飽和、不飽和脂酸の合成を調べ、飽和、不飽和酸共に照射直後に2~3倍増加が見られるが、飽和脂酸の合成は照射後48時間で対照と同じになり72時間後再び3倍半位に増加する。これに反して不飽和脂酸は72時間後には照射前の18%まで減少し、照射後158時間に於いては不飽和脂酸合成は283%と上昇するが、飽和脂酸は照射前の58%に迄下降すると云う。このようにレ線照射によつても脂質代謝は変化し、脂酸構成も時間の経過と共に複雑に変動する。

Ehrlich 腹水癌腹腔内移植マウスに一座全量 1000 R 全身照射した時の癌細胞の脂酸構成は非照射群のそれに比し、オレイン酸比、リノール酸比が増加すると云う報告¹⁶⁾もあるが、放射線の生物作用は総線量にも関係があると同時にその与え方によつても非常な差異を生ずる。したがつて私は実際の治療のさい考慮し得るものがあるよう、腫瘍局所に分割照射し、その結果リノール酸の変動が明らかになった。

結 論

結節型 Ehrlich 癌に総線量5000 R のレ線分割局所照射を行い、G. L. C. で腫瘍、血清、肝の脂酸構成を、健康マウス群、非照射担癌群の筋、腫瘍、血清肝のそれと比較した結果を得た。

1) 腫瘍部分に於ては、ステアリン酸の百分率は健康マウスの同部位の筋と対比した時、増加する。また照射群の腫瘍は非照射群の腫瘍より少ない。

リノール酸百分率は同部位の筋組織に比し腫瘍の方が少ないが、その内でも照射群の腫瘍は非照射群のそれよりやや多い。リノール酸比は腫瘍の縮少と共に多くなつたと考えられる。腫瘍発育とリノール

酸並びにステアリン酸とは何等かの関連性を有するものと考ええる。

2) 担癌動物の血清に於ても、リノール酸比は照射群、非照射群の間に差が見られ、リノール酸比の多いものより順に、対照群、照射担癌群、非照射担癌群である。腫瘍発育停止とリノール酸との間には或る種の関係を有すると考える。

3) 肝臓に於ても上記血清とほぼ同様の傾向を示している。

4) 腫瘍発育により肝、血清、腫瘍内の脂酸構成は

変動し、腫瘍発育とこれら脂酸との間に関連性を有するものと考えられる。

稿を終るに臨み御指導御校閲を賜わつた恩師山本道夫教授に深甚の謝意を表わすと共に実験方法に多大の御教示を戴いた本学癌研代謝部稲葉耕三先生に謝意を表します。

本研究の要旨は第25回日本医学放射線学会総会において発表した。

文 献

- 1) R. L. Rosenthal: Science. 110: 43, 1949.
- 2) Frances L. Haven, et al: Cancer Res, 11: 622, 1951.
- 3) W. R. Bloor & F. L. Haven, Cancer Res, 15: 173, 1955.
- 4) I. Smedley Maclean. et al, : Biochem. J, 35: 996, 1941.
- 5) I. Smedley Maclean, et al, : Biochem. J, 35: 983, 1941.
- 6) Frances L. Haven, et al, : Cancer Res, 9: 90, 1949.
- 7) K. Inaba: Acta Med. Okayama, 18: 261, 1964.
- 8) T. Yamakawa et al, : Japan J. Exp. Med, 32: 289, 1962.
- 9) P. H. Figard & O. M. Greenberg: Cancer Res, 22: 361, 1962.
- 10) J. H. Veerkamp et al, : Z. Krebsforsch, 64: 137, 1961.
- 11) 桜井鉄夫 他: 日本癌学会総会記事 23回: 76, S. 39. 11
- 12) 大原幸子 他: 日本癌学会総会記事 23回: 78, S. 39. 11
- 13) 山形徹一 他: 日本癌学会総会記事 25回: 20, S. 41. 12
- 14) V. J. Horgan et al, : Biochem. J. 67: 551, 1957.
- 15) K. J. Altman et al, : Biochem. Biophys, 7: 460, 1951.
- 16) K. Inaba: Acta Med. Okayama 18: 33, 1964.

Studies on Changes Induced by Bodily Irradiation in
Fatty Acid Composition of Organs and Serum

Part II. Effect of X-irradiation on the fatty acid
composition in the mice transplanted
with solid Ehrlich carcinoma

By

Naomi Katsumata

Department of Radiation Medicine Okayama University Medical School, Okayama, Japan
(Director: Prof. Michio Yamamoto)

ABSTRACT

In order to study the effect of X-irradiation on the composition of fatty acids in the body of cancer bearing animals, at first solid Ehrlich carcinoma was transplanted into the right leg of mice and then 500 R/day of X-rays were irradiated on the right leg of the animals consecutively for 10 days (total dosage 5,000R). The animals were divided into three groups of the irradiated cancer bearing mice, non-irradiated cancer bearing mice and normal mouse control group. The fatty acid extraction was carried out by the method of Folch et al with (1) tumor and right leg muscle, (2) serum, and (3) liver, of each group, and the determination of the fatty acid composition was made by the gas-liquid chromatography.

1. As the result it was found that the tumor tissue of the irradiated group revealed a greater quantity of linoleic acid than that of the non-irradiated cancer bearing group.

2. The solid Ehrlich carcinoma of the right leg contained a larger amount of stearic acid than that in the right leg muscle of normal mice.

3. As for the composition of total fatty acids in the liver and the serum, the percentage of linoleic acid was found greatest in (1) the control group of normal mice, followed by (2) irradiated tumor bearing mice, and (3) non-irradiated tumor bearing mice in the order mentioned.

4. There seems to be some correlation between the cessation of tumor growth by irradiation and the distribution of linoleic acid.
