

**LYMPHOCYTE CYTOTOXICITY OF COLCHICINE IN HIROSHIMA  
ATOMIC BOMB SURVIVORS**

広島の原爆被爆者におけるコルヒチンのリンパ球に及ぼす  
細胞傷害作用

ROBERT A. CAPLAN

CHARLES L. ODOROFF, Ph.D.

KYOKO OZAKI, Phar. B. 尾崎恭子

HOWARD B. HAMILTON, M.D.

STUART C. FINCH, M.D.



**RADIATION EFFECTS RESEARCH FOUNDATION**

財団法人 放射線影響研究所

A cooperative Japan - United States Research Organization

日米共同研究機関

## RERF TECHNICAL REPORT SERIES

### 放影研業績報告書集

The RERF Technical Reports provide the official bilingual statements required to meet the needs of Japanese and American staff members, consultants, and advisory groups. The Technical Report Series is in no way intended to supplant regular journal publication.

放影研業績報告書は、日米専門職員、顧問、諮問機関の要求に応えるための日英両語による公式報告記録である。業績報告書は決して通例の誌上発表論文に代わるものではない。

---

*The Radiation Effects Research Foundation (formerly ABCC) was established in April 1975 as a private nonprofit Japanese Foundation, supported equally by the Government of Japan through the Ministry of Health and Welfare, and the Government of the United States through the National Academy of Sciences under contract with the Department of Energy.*

放射線影響研究所(元ABCC)は、昭和50年4月1日に公益法人として発足した。その経費は日米両政府の平等分担とし、日本は厚生省の補助金、米国はエネルギー省との契約に基づく米国学士院の補助金とをもって充てる。

## LYMPHOCYTE CYTOTOXICITY OF COLCHICINE IN HIROSHIMA ATOMIC BOMB SURVIVORS

広島原爆被爆者におけるコルヒチンのリンパ球に及ぼす  
細胞傷害作用

ROBERT A. CAPLAN<sup>1</sup>; CHARLES L. ODOROFF, Ph.D.<sup>2</sup>; KYOKO OZAKI, Ph.D. (尾崎恭子)<sup>1</sup>  
HOWARD B. HAMILTON, M.D.<sup>1</sup>; STUART C. FINCH, M.D.<sup>3</sup>

*Departments of Clinical Laboratories<sup>1</sup>, and Epidemiology & Statistics<sup>2</sup>, and Chief of Research<sup>3</sup>*

臨床検査部<sup>1</sup>, 疫学統計部<sup>2</sup>, 及び研究担当理事<sup>3</sup>

### SUMMARY

The cytotoxicity of colchicine for the peripheral blood lymphocytes of 151 Hiroshima atomic bomb survivors and their controls was determined. No radiation effect was found, but modest age-related changes for the initial number of viable cells and for the cytotoxicity of colchicine were observed.

### INTRODUCTION

The question examined in this study was whether or not the lymphocytes from persons who were previously exposed to excessive radiation from the Hiroshima A-bomb are inordinately sensitive in vitro to the toxic effects of colchicine. Chromosomal aberrations persist in the peripheral blood lymphocytes of A-bomb survivors in direct relationship to the amount of radiation exposure.<sup>1</sup> The possibility exists that other forms of latent injury may have rendered lymphocytes excessively susceptible to certain cytotoxic agents. Colchicine, a microtubular poison, is toxic to the lymphocytes, especially those from individuals with chronic lymphocytic leukemia.<sup>2-7</sup>

### MATERIALS AND METHODS

The study sample consisted of 155 Adult Health Study (AHS) participants in Hiroshima. Subjects for the study were chosen at random from the daily roster of scheduled examinees without knowledge of their radiation exposure histories. The sampling scheme was designed to maintain rough balances among age, sex, and radiation exposure categories.

### 要 約

151名の原爆被爆者及びその対照者の末梢血液リンパ球に対するコルヒチンの細胞傷害作用を究明した。放射線の影響は認められなかったが、最初の生存細胞数とコルヒチンの細胞傷害作用にわずかながら年齢による変化がみられた。

### 緒 言

本研究では、広島原爆によって過剰の放射線に被曝した人のリンパ球が試験管内でコルヒチンの傷害作用に対して敏感に感受性を示すか否かの問題を検討した。原爆被爆者の末梢血液リンパ球に残存する染色体異常は被曝放射線量と直接的な関係がある。<sup>1</sup> 放射線被曝以外の潜在的障害が、ある種の細胞傷害試験薬に対してリンパ球の感受性を過敏なものにする可能性もある。微小管構造物に有害であるコルヒチンは、特に、慢性リンパ性白血病患者のリンパ球に傷害をもたらす。<sup>2-7</sup>

### 材料及び方法

本研究の対象者は、受診者予定名簿から過去の放射線被曝歴を伏せて、無作為に抽出した広島成人健康調査参加者155名から成る。抽出計画は、年齢、性及び放射線被曝の点でおおよそのバランスをとるように立案した。

A 5 ml aliquot of fresh venous blood was mixed with 100 International Units of heparin and then was diluted with an equal volume of balanced salt solution (BSS<sup>(-)</sup>). The lymphocytes and granulocytes were separated according to a modified Böyum technique.<sup>8</sup> Briefly, 5 ml aliquots were carefully layered over 3 ml of 6.4% Ficoll-9.7% Conray mixture in conical centrifuge tubes. The samples were centrifuged at 400g for 20 minutes at 4°C. The ring of mononuclear cells (90%-95% lymphocytes) suspended between the serum and Ficoll-Conray interface was collected with a fine-tipped Pasteur pipette. The lymphocytes were washed twice with BSS<sup>(-)</sup> by means of centrifugation at 400g for 10 minutes at 4°C. The cells were counted, resuspended in culture medium (RPMI 1640 with 10% fetal calf serum), and separated into six aliquots of 0.9 ml, each with a total cell count of  $1 \times 10^6$  cells. An additional 0.1 ml of culture medium was added to two cultures which then served as controls. One tenth ml of colchicine in culture medium in concentrations of 10.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  and 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  were added to the remaining four tubes so that the final colchicine concentrations in duplicate tubes were 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  and 0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

Cell viability was determined immediately in each culture tube by examining 200 cells for trypan blue dye exclusion. The cultures then were placed in a 5% CO<sub>2</sub> incubator at 37°C. Following incubation for 24 hours the number of viable cells in a total count of 200 cells again was determined by means of trypan blue exclusion for each of the three duplicate sets of tubes for each subject. The average value from the two tubes was used to measure response in terms of either the loss of viable lymphocytes or the number of viable cells remaining. Preincubation lymphocyte viability results were analyzed by age, sex, and radiation exposure groups. All viability results following incubation with both concentrations of colchicine were analyzed by age and radiation exposure groups.

## RESULTS

Studies were completed on 151 of the sample of 155 persons. There were 43 men and 108 women. The age distribution according to radiation dose is shown in Table 1.

Initial lymphocyte viability as measured by trypan blue exclusion showed no statistically significant differences by sex or radiation dose

5 ml の新鮮な静脈血液に100国際単位 (IU) のヘパリンを混ぜ、同量の平衡食塩水 (BSS<sup>(-)</sup>) で希釈した。Böyum 技法の変法に従って、リンパ球と顆粒球を分離した。<sup>8</sup> すなわち、円錐形の遠心分離管中6.4% Ficoll-9.7% Conray 混合液 3 ml の上に5 ml の検体を注意深く重層した。この試料を20分間、4°C、400Gで遠心分離した。先のとがったパスツール・ピペットを使用して、血清と Ficoll-Conray 混合液との境界面にできた懸濁した単核細胞 (90%-95% リンパ球) の環を収集した。このリンパ球に BSS<sup>(-)</sup> を加え、4°C、400Gで10分間遠心分離を行い2回洗浄した。細胞計算した後、細胞を培養液 (RPMI 1640, 10%ウシ胎児血清) に再懸濁し、0.9ml ずつ6本の試料に分け、各試料の細胞総数が  $1 \times 10^6$  になるようにした。そのうちの2本に0.1ml の培養液を加え、対照として使用した。残りの4本に、10.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  と1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度の培養液に入れた0.1 ml のコルヒチンを加え、最終的なコルヒチン濃度が1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  のものを2本、0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  のものを2本用意した。

200個の細胞のトリパン・ブルー色素排除検査を行うことによって、直ちに、各培養管の細胞生存力を算定した。その後、培養管を37°Cの5% CO<sub>2</sub> 恒温器に入れ24時間培養した後、対象者1人当たり3種類の培養管2本ずつ計6本のトリパン・ブルー色素排除検査を行うことによって、もう一度、細胞総数200個中の生存細胞数を決定した。生存リンパ球の損失又は残った生存細胞数いずれかの点からみた反応を測定するために、2本の培養管の平均値を利用した。培養前のリンパ球の生存力の結果を年齢、性及び放射線被曝群別に解析した。両コルヒチン濃度で培養した後の生存結果はすべて、年齢及び放射線被曝群別に解析した。

## 結 果

対象者155名のうち151名の検査が完了した。内訳は、男性43名、女性108名であった。放射線量別の年齢分布は表1に示すとおりである。

トリパン・ブルー色素排除検査で計測した最初のリンパ球の生存力は、性及び放射線量による統計的

TABLE 1 NUMBER OF COMPLETED STUDIES CLASSIFIED BY AGE AND DOSE

表1 年齢及び線量別に分類した検査完了数

T65 Dose in rad	Age at time of examination			Total
	0-49	50-64	65+	
0	21	21	18	60
1-49	12	9	10	31
50-99	4	9	6	19
100+	16	11	14	41
Total	53	50	48	151

(Tables 2 and 3). The mean numbers of initial viable lymphocytes for males and females differed by 0.7 cells per 200 counted. The maximum difference in the mean number of initial viable lymphocytes for the various exposure groups was 0.5 cells per 200 counted.

There was a statistically significant tendency for those persons over age 65 to have a reduced initial number of viable cells (Table 4). A 95% confidence interval for the average difference in initial lymphocyte viability between subjects 65 years or more and those between 50 and 64 years was  $2.0 \pm 1.1$  cells per 200 counted.

The overall cytotoxicity of the two concentrations of colchicine, irrespective of age, sex, or radiation dose, is shown in Table 5. After 24 hours an average of 92% of the control cells was viable. The viability of the lymphocytes incubated in  $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$  of colchicine was 89% of the preincubation number. Lymphocyte viability for  $1.0 \mu\text{g}/\text{ml}$  colchicine was 87% of the preincubation number. These values represent a

に有意な差を示さなかった(表2及び3)。最初の生存リンパ球の平均数は、男性と女性とでは、計測細胞200個当たり0.7個の差があった。最初の生存リンパ球の平均数の被曝群別の最大差異は、計測細胞数200個当たり0.5個であった。

65歳以上の人の最初の生存細胞数が少ないという統計的に有意な傾向があった(表4)。65歳以上の対象者と50-64歳の対象者の間の最初のリンパ球生存力の平均差の95%信頼区間は計測細胞200個当たり $2.0 \pm 1.1$ であった。

年齢、性又は放射線量別に分けない場合の二つの濃度コルヒチンの総合的な細胞傷害作用を表5に示した。培養24時間後では、対照細胞の平均92%が生きていた。 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ のコルヒチンを加えて培養したリンパ球の生存力は培養前の細胞数の89%であった。 $1.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ のコルヒチンを加えた場合のリンパ球の生存力は培養前の細胞数の87%であった。これは

TABLE 2 INITIAL LYMPHOCYTE VIABILITY BY SEX

表2 性別による最初のリンパ球の生存力

Sex	Number of persons studied	Mean viable lymphocyte count*
Male	43	$196.8 \pm 2.4$ SD
Female	108	$196.1 \pm 3.1$

No statistically significant difference 統計的に有意な差なし

\*Mean of the total number of viable cells per 200 lymphocytes counted in the preincubation tubes as determined separately for males and females.

男女別に決定した培養前のリンパ球200個当たりの生存細胞総数の平均。

TABLE 3 INITIAL LYMPHOCYTE VIABILITY BY  
T65 RADIATION DOSE表3 T 65放射線量別による最初の  
リンパ球の生存力

T65 Dose in rad	Number of persons studied	Mean viable lymphocyte count*
0	60	196.0 $\pm$ 3.0 SD
1-49	31	196.4 $\pm$ 2.4
50-99	19	196.4 $\pm$ 2.5
100+	41	196.5 $\pm$ 3.1

No statistically significant difference 統計的に有意な差なし

\*Mean of the total number of viable cells per 200 lymphocytes counted in the preincubation tubes for all individuals in each radiation exposure category.

各放射線量群別の培養前のリンパ球200個当たりの生存細胞総数の平均。

TABLE 4 INITIAL LYMPHOCYTE VIABILITY BY AGE

表4 年齢別による最初のリンパ球の生存力

Age in years	Number of persons studied (F)	Mean viable lymphocyte count*
0-49	53	196.8 $\pm$ 2.6 SD
50-64	50	197.1 $\pm$ 2.5
65+	48	195.1 $\pm$ 3.1

\*Mean of the total number of viable cells per 200 lymphocytes counted in the preincubation tubes for all individuals in each age category.  $P < 0.05$   $F_{2,148} = 7.6$ 

各年齢群別の培養前のリンパ球200個当たりの生存細胞総数の平均。

 $P < 0.05$   $F_{2,148} = 7.6$ TABLE 5 LYMPHOCYTE VIABILITY FOLLOWING 24-HOUR INCUBATION WITH AND  
WITHOUT ADDED COLCHICINE FOR ALL PERSONS IN STUDY表5 全検査対象者のコルヒチンを加えた場合と加えない場合の  
24時間培養後のリンパ球の生存力

Incubation time in hours	Colchicine $\mu$ g/ml	No. of persons studied	Mean viable lymphocyte count*	% Viability	% Viability vs 24 hr control
0	-	151	196.3 $\pm$ 2.9	98	-
24	-	151	184.9 $\pm$ 8.6	92	100
24	0.1	151	177.2 $\pm$ 9.9	89	96
24	1.0	151	173.5 $\pm$ 11.1	87	94

\*Mean of the total number of viable cells per 200 lymphocytes counted in each tube for all individuals in each incubation group.

各培養群別のリンパ球200個当たりの生存細胞総数の平均。

TABLE 6 LOSS OF VIABLE LYMPHOCYTES DUE TO 24-HOUR INCUBATION WITH 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  COLCHICINE BY AGE AND T65 DOSE IN RAD

表 6 1.0  $\mu\text{g}$  / ml のコルヒチンを加えた24時間培養による生存リンパ球の減少;  
年齢及びT 65線量 (rad 単位) 別

T65 Dose in rad	Age 0-49		Age 50-64		Age 65+	
	Number studied (F)	Mean loss* viable lymphocytes	Number studied (F)	Mean loss* viable lymphocytes	Number studied (F)	Mean loss* viable lymphocytes
0	21	10.1 $\pm$ 10.2	21	14.5 $\pm$ 9.7	18	9.9 $\pm$ 7.1
1-49	12	11.2 $\pm$ 8.9	9	15.6 $\pm$ 10.2	10	14.2 $\pm$ 8.0
50-99	4	5.3 $\pm$ 6.7	9	10.6 $\pm$ 5.3	6	11.3 $\pm$ 6.6
100+	16	7.7 $\pm$ 7.4	11	12.6 $\pm$ 9.0	14	12.0 $\pm$ 10.4

\*Mean difference between the number of viable lymphocytes per 200 cells counted in the 24-hour control tubes and the tubes containing 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  of colchicine.  $F_{11139}=1.08$  Pooled SD= $\pm 8.78$   
1.0  $\mu\text{g}$  / ml のコルヒチンを加えた場合と加えない場合の24時間培養後の細胞200個当たりの生存リンパ球数の平均差。  $F_{11139}=1.08$  プールした標準偏差= $\pm 8.78$

TABLE 7 LOSS OF VIABLE LYMPHOCYTES DUE TO 24-HOUR INCUBATION WITH 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  COLCHICINE BY AGE

表 7 1.0  $\mu\text{g}$  / ml のコルヒチンを加えて培養した後の  
年齢別生存リンパ球の損失

Age in years	Number of persons studied (F)	Mean loss* of viable lymphocytes
0-49	53	9.2 $\pm$ 8.8 SD
50-64	50	13.6 $\pm$ 8.9
65+	48	11.6 $\pm$ 8.2

\*Mean difference between the number of viable lymphocytes per 200 cells counted in the 24-hour control tubes and the tubes containing 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  of colchicine.  $P<0.05$   $F_{2148}=3.22$

1.0  $\mu\text{g}$  / ml のコルヒチンを加えた場合と加えない場合の24時間培養後の細胞200個当たりの生存リンパ球数の平均差。  $P<0.05$   $F_{2148}=3.22$

loss of 4% and 6% of the cells due to the presence of 0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  and 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  colchicine, respectively.

Table 6 shows the mean loss of lymphocytes by radiation exposure for the three age groups with 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  of colchicine in the cell suspension for 24 hours. The number of cells rendered nonviable for each subject represented the difference in mean counts of viable cells between the 24-hour tubes without added colchicine and the 24-hour tubes containing 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  of colchicine per 200 cells counted. No significant differences in the results for the various radiation exposure groups in each of the age categories were observed. The pooled standard deviation is  $\pm 8.8$ . Classifying the data this finely makes the statistical test very insensitive to differences between groups.

すなわち、0.1  $\mu\text{g}$  / ml 及び1.0  $\mu\text{g}$  / ml のコルヒチン添加によって、それぞれ、細胞の4%及び6%が損失したということである。

表6では、1.0  $\mu\text{g}$  / ml のコルヒチンを加えて24時間細胞懸濁した場合の三つの年齢群の被曝放射線量別のリンパ球の平均損失を示した。各対象者の非生存細胞数は、コルヒチンを加えないで24時間培養した場合と1.0  $\mu\text{g}$  / ml のコルヒチンを加えて24時間培養した場合の細胞200個当たりの平均生存細胞数の差を表わす。各年齢群の被曝放射線量別の結果に有意な差は認められなかった。プールした標準偏差は $\pm 8.8$ である。資料を細分したところ各群間の差に対する統計的検定力が非常に弱いことが分った。

Lymphocyte responsiveness to incubation with  $1.0 \mu\text{g/ml}$  of colchicine for the 0-49 age group was reduced in comparison to the other age groups for all radiation doses combined (Table 7). Significant differences were observed, however, only for persons in the 50-64 age group in comparison with those in the 0-49 age group. A slight reduction in viability for subjects age 50-64 was observed in comparison to those 65 or more. No significant age related changes were found for either the cells which were incubated without colchicine or with low concentration of colchicine.

## DISCUSSION

The incubation of peripheral blood lymphocytes from A-bomb survivors and their controls resulted in several findings of possible importance. The first was that the number of cells in circulation which were not considered viable as determined by trypan blue was slightly increased in older persons (Table 4). The meaning of this observation is uncertain, but it is interesting to speculate. Several studies now have shown that the number of lymphocytes in circulation decrease with age.<sup>9,10</sup> Other studies have indicated that there is a drop in the total number of T lymphocytes in circulation in persons aged 60 or more.<sup>11</sup> The mechanism for the reduced number of lymphocytes in circulation in older persons is not known. It is likely that increased lymphocyte destruction or sequestration are the major mechanisms involved, but failure or impairment of regenerative mechanisms also may play a role. It is quite possible that membrane damage to long-lived lymphocytes due to increased "wear and tear", some autoimmune mechanism, or possibly microtubular dysfunction is responsible. Loss of membrane integrity due to any of these mechanisms could lead to the occurrence of an increased number of circulating lymphocytes with poor membranes. Such mechanisms would be consistent with the theory of immunologic aging.<sup>12,13</sup>

The other finding in this study of possible importance is that of a slightly increased cytotoxicity of colchicine to the lymphocytes of older persons (Table 7). The only significant difference occurred for the 50-64 age group in comparison to the 0-49 age group. The sensitivity of circulating lymphocytes in the 65 or more age group was also greater than that of the 0-49 age group, but the change was smaller and was not

0-49歳群の $1.0 \mu\text{g/ml}$ のコルヒチンを加えて培養した場合のリンパ球の反応性は、どの放射線量においても、他の年齢群と比較して、減少していた(表7)。しかしながら、0-49歳年齢群と比較した場合の50-64歳年齢群にのみ有意な差が観察された。65歳以上の年齢群と比較した場合に、50-64歳の年齢群の生存力にわずかな減少が観察された。コルヒチンを加えないで培養した細胞、又は低濃度のコルヒチンを加えて培養した場合の細胞いずれにも年齢に関係する有意な変化は認められなかった。

## 考 察

原爆被爆者及びその対照者の末梢血液リンパ球の培養によって、幾つかの重要と思われる所見が得られた。第一に、トリパン・ブルー色素排除検査によって生存していないと確認された循環細胞数は年齢の高い人にやや増加していた(表4)。この観察結果の意味するところははっきりしないが、推測すると興味深い。現在、幾つかの研究で、循環リンパ球数は年齢とともに減少するという結果がでている。<sup>9,10</sup> また、循環Tリンパ球の総数が60歳以上の人に減少していると指摘した研究もある。<sup>11</sup> 年齢の高い人の循環リンパ球数減少の機序は明らかでない。リンパ球の破壊又は隔離の増加が主要な機序と思われるが、再生機序の不全あるいは損傷もまた何らかの役割を果たしているのかもしれない。「消耗」の度合の増加、何らかの自己免疫機序、又は微小管構造の機能障害による長期生存細胞の膜損傷が原因である可能性もある。これらの機序のいずれかによる膜統合性の喪失によって、損傷膜を持つ循環リンパ球が増加したとも考えられる。このような機序は免疫学的加齢の理論と一致するものである。<sup>12,13</sup>

本研究の重要とみなされる第二の所見は、年齢の高い人のリンパ球に対してコルヒチンの細胞傷害作用が若干増加しているということである(表7)。有意な差があったのは、0-49歳の年齢群と比較した場合の50-64歳の年齢群だけであった。65歳以上の年齢群の循環リンパ球の感受性は0-49歳の年齢群のそれよりも高かったが、その差は小さく、有意な



significant. The fact that these age-related findings occurred only following 24-hour incubation with the higher concentration of colchicine may give additional importance to the observations.

The mechanism of the age-related colchicine change is unclear. The peak years for total lymphocytes in circulation in the AHS population are between the ages of 50 and 60.<sup>14</sup> This is precisely the time when the greatest susceptibility to colchicine was demonstrated. It is quite possible that during this period of life there is an increased population of cells in circulation which is particularly susceptible to the cytotoxicity of colchicine. The increased removal of these cells from circulation, or failure to compensate for their loss, may occur only later in life. A number of modalities of lymphocyte function have been shown to be reduced in aged humans.<sup>15</sup> Blood levels of thymosin decline with age.<sup>16</sup> This may be related to the impaired reactivity of lymphocytes from old individuals.

An increase in B cells or a relative loss of T cells might be additional factors since colchicine cytotoxicity is believed to be directed primarily at B cells. Colchicine is a microtubular poison and it is tempting to ascribe its effect through some microtubular mechanism. This seems very unlikely, however, since little microtubular assembly occurs in the resting lymphocyte. Furthermore, it recently has been demonstrated that calcium ionophore protects the lymphocyte from the lethal effects of colchicine.<sup>17</sup>

There was no evidence of any radiation relationship for the cytotoxicity of colchicine. The possibility that the cytotoxicity of colchicine would be increased in the lymphocytes of the more heavily exposed survivors, especially since lymphocyte chromosomal aberrations are radiation related, was not supported by this study. There may have been several reasons for this. Although the number of lymphocytes with chromosomal aberrations is radiation related, the actual fractional total number involved is small.<sup>1</sup> Another point is that the presence of stable lymphocyte aberrations may have no bearing on cell function or integrity, especially in the nondividing cell. Finally, colchicine lymphocyte lethality is thought to be directed primarily at B cells and there is no direct evidence for radiation induced chromosomal or other change in these cells.

のではなかった。このような年齢に関係のある所見が比較的高濃度のコルヒチンを加えて24時間培養した場合にのみ起こったという事実は、この観察結果に新たな重要性を与えるかもしれない。

年齢に関係するコルヒチンの傷害作用の変化の機序は明らかではない。成人健康調査対象者の間で循環リンパ球の総数が最も多い年齢は50-60歳である。<sup>14</sup> これは、コルヒチンへの感受性が最も高いと証明された時期と一致する。人生のこの時期にコルヒチンの細胞傷害作用を特に受けやすい循環細胞集団が増加することもあり得る。このような細胞の循環からの損失の増加、あるいは循環からの損失を償う能力の減退は、更に高年齢時にのみ起こるものかもしれない。多くの種類のリンパ球機能が高年齢の人に減少していると証明されている。<sup>15</sup> 血中 thymosin 値は年齢とともに減少する。<sup>16</sup> これは、高年齢の人のリンパ球の反応性が損なわれることに関係するものかもしれない。

コルヒチンの細胞傷害作用は主としてB細胞に向けられると考えられているので、B細胞の増加あるいはT細胞の相対的な損失が付加要因であるのかもしれない。コルヒチンは微小管構造の物質に働く毒薬で、その影響はある種の微小管機序を通して起こると考えられる。しかしながら、休止中のリンパ球には微小管構造物がほとんど集まっていないところからみて、これは有り得ないことのように思われる。更に、最近、calcium ionophore がコルヒチンの致死影響からリンパ球を防御するということも実証されている。<sup>17</sup>

コルヒチンの細胞傷害作用に対する放射線の関係を示す証拠はなかった。特に、リンパ球の染色体異常が放射線に関係する点からみて、コルヒチンの細胞傷害作用が強度被曝者のリンパ球に増加していると考えられるが、本調査ではこの可能性は確認されなかった。これには幾つかの理由が考えられる。染色体異常を有するリンパ球の数は放射線に関係しているが、全体からみたその総数は少ないということが一つである。<sup>1</sup> 第二に、安定性のリンパ球の異常の存在は、特に無分裂細胞の場合、細胞の機能や統合性に関係がないものかもしれない。最後に、コルヒチンのリンパ球致死作用は主としてB細胞に向けられると考えられており、これらの細胞に放射線誘発性の染色体又はその他の変化が存在するという直接的な証拠はない。

Increased cytotoxicity of colchicine, vincristine, prednisolone, asparaginase and cytosine arabinoside for chronic lymphocytic leukemia (CLL) lymphocytes has been observed but colchicine has been found to produce the maximum difference in cytotoxicity between normal and CLL lymphocytes.<sup>7</sup> The colchicine sensitivity index for CLL lymphocytes has been reported from 61%-98%. In contrast, the colchicine sensitivity for normal lymphocytes is only 0%-15%. It has been suggested that the colchicine sensitivity test may be useful in the diagnosis of early, low count CLL and in the evaluation of patients during treatment.<sup>7</sup>

Radiation-induced acceleration of aging in man has not been demonstrated. Although the colchicine-lymphocyte studies show a modest aging effect there is no evidence that the added insult of previous radiation exposure either increases or alters the age responsiveness to colchicine. It is possible, however, that longer incubation times and higher colchicine concentrations may provide better information, especially since the total number of cells killed with colchicine levels of 0.1 and 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  was quite small.

慢性リンパ性白血病 (CLL) のリンパ球に対してコルヒチン、ビンクリスチン、プレドニソロン、アスパラギナーゼ、及びシトシンアラビノシドの細胞傷害作用が増加することが観察されているが、この中でもコルヒチンの慢性リンパ性白血病のリンパ球に及ぼす細胞傷害の正常リンパ球と比較した差が最も大きいことが判明している。<sup>7</sup> 慢性リンパ性白血病のリンパ球のコルヒチンに対する感受性指数は61%-98%であった。これに対し、正常リンパ球のコルヒチンに対する感受性は0%-15%である。コルヒチン感受性検査は初期の低白血球数の慢性リンパ性白血病の診断及び治療中の患者の評価に有効であると示唆されている。<sup>7</sup>

放射線誘発性のヒトの加齢促進は証明されていない。コルヒチン-リンパ球検査によって、わずかな加齢影響は明らかにされているが、過去の放射線被曝によってコルヒチンに対する年齢反応が増加あるいは変化するという証明はない。しかしながら、0.1及び1.0  $\mu\text{g} / \text{ml}$  の濃度のコルヒチンで破壊される細胞総数がかかなり少ないため、培養時間を延長し、コルヒチン濃度を高くすればより良い情報が得られるかもしれない。

## REFERENCES

### 参考文献

1. AWA AA: A review of thirty years study of Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivors. II. Biological effects. G. Chromosome aberrations in somatic cells. J Radiat Res 16 Suppl: 122-31, 1975
2. THOMSON AE, ROBINSON MA: Cytocidal action of colchicine in vitro on lymphocytes in chronic lymphocytic leukaemia. Lancet 2:868-70, 1967
3. THOMSON AE, O'CONNOR TW, WETHERLEY-MEIN G: Killing and characterizing action of colchicine in vitro on lymphocytes of chronic lymphocytic leukaemia. Scand J Haematol 9:231-47, 1972
4. THOMSON AE, O'CONNOR TW, WETHERLEY-MEIN G: Selective killing by colchicine in vitro of lymphocytes in chronic lymphocytic leukaemia. Proceedings of 8th Leukocyte Culture Conference, New York, Academic Press, 1974, pp 665-71
5. THOMSON AE, O'CONNOR TW, VAUGHAN-SMITH S, FARREL KW, WETHERLEY-MEIN G: Colchicine sensitivity as a test for leukemic lymphocytes. (Correspondence) N Engl J Med 293:939-40, 1975
6. SCHREK R: Sensitivity of leukaemic lymphocytes to microtubular reagents. Br J Exp Pathol 56:280-5, 1975
7. SCHREK R, MESSMORE HL, KNOSPE WH, STEFANI SS: A colchicine-sensitivity test for leukaemic lymphocytes. Scand J Haematol 16:357-64, 1976

8. BÖYUM A: Separation of leukocytes from blood and bone marrow. V. Isolation and removal of lymphocytes from bone marrow of rats and guinea pigs. *Scand J Clin Lab Invest* 21:Suppl 97:91-106, 1968
9. ANDREASEN E: On the quantitative relationship between the lymphoid organs and the blood lymphocytes in the albino rat. *Acta Path Microbiol Scand* 22:256-70, 1945
10. KREZEMINISKA-LAWKOWICZOWA I, LAWKOWICZ W, KOLAKOWSKA-POLUBIEC K, POLUBIEC A: The effect of age on certain hematological parameters. *Acta Haematol Pol* 5:174-88, 1974
11. HORI Y, PERKINS EH, HALSALL MK: Decline in phytohemagglutinin responsiveness of spleen cells. *Proc Soc Exp Biol Med* 144:48-53, 1973
12. BURNET FM: *Immunological Surveillance*. Oxford, Pergamon Press Ltd. 1970
13. WALFORD RL: *The Immunologic Theory of Aging*. Copenhagen, Munksgaard, A/S, 1969
14. OESTERLE SN, NORMAN JE: The long-term effects of radiation on absolute lymphocyte counts in the Adult Health Study Sample, Hiroshima and Nagasaki, Japan. Unpublished observations
15. KAY MM, MAKINODAN T: Immunobiology of aging: evaluation of current status. *Clin Immunol Immunopathol* 6:394-413, 1976
16. SCHULOF RS, HOOPER JA, WHITE A, GOLDSTEIN AL: Development of radioimmunoassays for human and bovine thymosin. *Fed Proc* 32:962, 1973
17. SCHREK R, STEFANI SS: Ionophore A23187 inhibits the cytotoxicity of vincristine, colchicine and X-rays to leukemic lymphocytes. *Fed Proc* 35:786, 1976