



Title	32P-45Ca 二重ラベルによるマウスの血液並に骨に及ぼす紫外線の影響
Author(s)	村井, 知也
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1961, 20(11), p. 2522-2531
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/14860
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

^{32}P - ^{45}Ca 二重ラベルによるマウスの血液並に 骨に及ぼす紫外線の影響

大阪大学医学部放射線医学教室（主任 立入 弘教授）

村 井 知 也

（昭和35年12月15日受付）

（本研究は文部省科学研究助成金に負うところが少くない。感謝の意を表する。立入 弘）

1. 緒 言

本研究は哺乳類に対する紫外線照射並にビタミンDに関する新陳代謝の異常状態を研究する目的で、その基礎的実験として行つたものである。とくにビタミンD欠乏症、その中でもクル病は、紫外線と関係深く、太陽紫外線の少い地方やその様な環境に育てられた乳幼児には、クル病罹患率が高いという状態を示す。従つて抗クル病性紫外線が取上げられ、その有効波長が問題となる。これについては諸家により意見が分れるが大体 300 $\text{m}\mu$ を中心とする狭い範囲に限定されている様である。

古くから一般に紫外線に関する研究は甚だ多く、物理学的、化学的、生物学的に幾多の業績がある。その生物学的作用、化学作用については、Ellis,C., Wells,A.A. and Heyroth,F.F. (1941)¹⁾, Hollaender,A. (1955)²⁾ 等がよく総括しているのであるが、その両作用の見地より波長帯を分類すると、UV-C (250 $\text{m}\mu$ をピークとする短波長群)、UV-B (310 $\text{m}\mu$ をピークとする中波長群)、UV-A (360 $\text{m}\mu$ をピークとする長波長群) の3群に分類される。中でも UV-B は古くから Dorno 線とよばれるものゝ大部分を含み、生理作用、とくに紅斑作用が著しいと云われており、抗クル病性紫外線の有効波長も大部分この群中にあるものと考えられている。

特にクル病³⁾に関する研究は、古くから多くの研究が行われているが、発育と密接な関係があり、従

つて乳幼児がその対象の大部分を占めている。クル病時にはビタミンD欠乏により血液および骨中のP, Ca代謝が障害され、その量は何れも全般的に低下を示すが、紫外線照射、ビタミンD投与によつて回復する。この紫外線照射においても、抗クル病性紫外線波長と他の波長との間には、その作用機構に差異が認められるかも知れない。

放射性同位元素が近年実用化されてから、之を利用しての研究はめざましく、医学生物学の分野では、追跡標識として利用されることが多い。とくに生体に対して二重ラベル付けをするならば、その生体についての環境その他の条件を一定の状態にして、相互に関連せしめながら、同時に追跡できるという利点がある。動物の実験的クル病の代謝障害を ^{32}P または ^{45}Ca により研究した成績は Greenberg⁴⁾を始めとしてこれまでにも発表されている。⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾ また ^{32}P - ^{45}Ca 二重ラベルを注射法により実験した研究も発表されている⁹⁾。生体に放射線障害を与えない量で、然も測定には必要にして充分な量を ^{32}P - ^{45}Ca 二重ラベルとして経口投与し、この代謝状態を追跡するならば、両者の相対的な関係を明らかにすることが可能であろう。

以上の観点から、人工紫外線をフィルターにより波長別に選別して、比較的幼若に近い健康マウスに照射し、 ^{32}P - ^{45}Ca 二重ラベル付けしたものと經口投与し、照射後早期における血液及び骨中のPならびにCa量の時間的変動を実験研究したの

で、こゝにその成績を報告する。

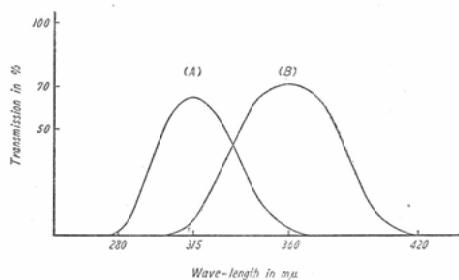
2. 実験方法

(A) 紫外線について

線源としては、高圧水銀石英燈（日本電子工業製、ACME家庭用小型）を使用し、線質に関しては上記の方針より、フィルターにより $315\text{m}\mu$, $360\text{m}\mu$ に選別し、之とフィルターを使用しない全波長帶の3群に分けた。線量に関しては、作用比較の目的で、表面線量を 5Watt/cm^2 , 25Watt/cm^2 の二者とし、皮膚焦点間距離 30cm として一定を保ち、時間によって調節した。なお照射は単一照射のみを行つた。また水銀スペクトル強度が安定する様に電源電圧変動に留意した。

フィルターは、 $315\text{m}\mu$ の場合は、 50% NiSO_4 溶液 ($\text{pH } 3.4$, 液層厚さ 10mm) 及び MMA (メタアクリル酸メチール, 厚さ 2mm) の組合せにより、 $360\text{m}\mu$ の場合は、色ガラスフィルター（東芝製 UV-D25)¹⁰⁾ 及び写真乾板用板ガラス (厚さ 1.5mm) の組合せによつた。その結果紫外線スペクトルは、Fig.1 のように、 $315\text{m}\mu$ において 65 % の透過率 (A) をもち、 $360\text{m}\mu$ において 71% の透過率 (B) をもつた。測定は Beckmann 及び日立製自記 Spectrophotometer によつた。フィルターの面積は $10 \times 10\text{cm}^2$ で、フィルター外は全部おおい、全波長照射の場合はこのフィルターを取りはずした。

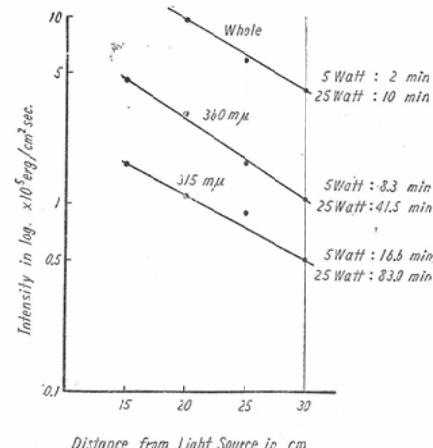
Fig. 1. Ultraviolet Spectra Obtained from Two Different Filters. Filter A: 50% NiSO_4 -Solution plus MMA (Methyl-Metaacrylate) B: Toshiba Filter UV-D25 plus Glass



%の透過率 (A) をもち、 $360\text{m}\mu$ において 71% の透過率 (B) をもつた。測定は Beckmann 及び日立製自記 Spectrophotometer によつた。フィルターの面積は $10 \times 10\text{cm}^2$ で、フィルター外は全部おおい、全波長照射の場合はこのフィルターを取りはずした。

線量については、マンガン—コンスタンタンの熱電堆を使用して表面線量を測定した。Fig.2 の

Fig. 2. Ultraviolet Dosages from a High-pressure Quartz Mercury Lamp



よう、 5Watt/cm^2 ($= 5 \times 10^7 \text{erg/cm}^2 \text{sec}$), 25Watt/cm^2 を照射するのに要する時間は、皮膚焦点間距離 30cm とした場合、 $360\text{m}\mu$, 全波長 $315\text{m}\mu$ 群において 5Watt の場合に夫々 2 分、10 分、16.6 分、 25Watt の場合に 10 分、41.5 分、83 分と決定された。

5Watt 選定の理由は Gießmann,H.G.¹¹⁾ 等が猫を使って同量、水銀高圧紫外線全波長照射で、照射後 17 時間迄追求して、白血球増加（とくに好中球）を認めている点を考慮した。

(B) $^{32}\text{P}-^{45}\text{Ca}$ 二重ラベルについて¹²⁾

^{32}P は H_3PO_4 , ^{45}Ca は CaCl_2 でいずれも R.I. 協会を経由して入手した。前者は水に稀釋して $0.2 \sim 0.3\mu\text{c}/0.2\text{cc}$ として、後者は水に稀釋して $0.4 \sim 0.6\mu\text{c}/0.2\text{cc}$ を使用した。両者の混合液を作り、この液中の ^{32}P 及び ^{45}Ca の計数値 (cpm) は、使用計数管にて比率が大体 1 対 1 になる様に調整した。即ち両者混合液 0.05cc 中の ^{32}P 及び ^{45}Ca 各々約 5000cpm であった。なお ^{45}Ca は無担体ではない。

マウスに対する投与方法には、直径 1mm の細いビニール管の胃ゾンデを用いて、上記混合液 0.4cc 宛正確に胃内に注入した。

これによる副作用、例えば下痢、食欲不振、元気不良等は認めなかつた。

(C) マウスについて

実験動物としては、健康なNA2型均一型マウスを採んだ。生後約9週の♀、体重18g～20gを、対照群は6匹以上、照射群は夫々3匹以上使用した。

飼料としては固型飼料NMF（オリエンタル酵母製、繁殖用）¹³⁾を与えた。これはCa:P=1.8:1であり、³²P-⁴⁵Ca投与前1時間は絶食とした。

このマウスを対照群、3群に分類した照射群とし、³²P-⁴⁵Ca混合液を経口投与し直ちに紫外線照射を行つた。投与後1, 3, 6, 18, 48時間後に夫々断首により殺した。但し315mμ, 25Watt照射群は、照射時間83分の為に1.5時間に殺した。

血液は直ちに試料皿に採取し、赤外線乾燥を行い測定した。

骨は殺した後直ちに両下肢管状骨を分離し、筋肉を剥離した後に磁製坩堝に入れ、マツフル型電気炉で700°C 1時間乾式灰化を行い、試料皿に移し、5%HCl 0.5ccに浸漬し均一化した後に、赤外線乾燥を行い測定した。

使用した試料皿は、血液、骨共に同一のもので面積5.3cm²、高さ0.6cmの不銹鋼で厚さ0.2mmのものを使用した。

照射群の照射皮膚面は背部で、2.5×2cm²の範囲に可及的短く刈毛し、この部を含めて全身に一回照射を行つた。マウスの刈毛による副作用は認めなかつたが、毛髪による紫外線吸収に及ぼす影響を考慮して、対照として全く刈毛しない群を選びこれに25Wattを全波長照射を行つて比較検討した。

なお照射紫外線量による致死可能性を調べる目的の下に、Table 1のよう、同一マウスを同一条件で、5, 20, 25, 80, 320Watt/cm²を、背部を同様刈毛して全波長照射したが、1匹死亡した以外はすべて健康で副作用と思われる変化は認めなかつた。

(D) 測定方法について

測定器械としては、端窓型GM管測定装置（神戸工業製）を使用し、Mica厚さ2.0mg/cm²、試料と窓間の空気の厚さ2.6mg/cm²、計厚さ4.6mg/cm²の条件で測定し、アルミニウム吸収板セ

Table 1. Influences of Ultraviolet Irradiation on General Conditions

No. of Mice	Focus-Skin-Distance cm	Surface Dose Watt/cm ²	No. of Death	No. of Survivals	The Days under Observation	Conditions during and after Observations
6	30	5	0	6	60	healthy
6	30	20	0	6	60	"
6	30	.25	0	6	40	"
6	30	80	1*	5	40	healthy except one healthy
6	30	320	0	6	40	healthy

* It remains unclear if one fatal case was attributable to UV effects.

The animals' hair is cut about 2.5×2cm² on the dorsum.

ットを用いてエネルギー分析によりP, Ca量を分別した。

血液の平均乾燥重量85mg、骨のそれは44mgであり、自己吸収補正を行つた。これらの補正後に、³²P, ⁴⁵Caのβ放射能を、相対的放射能測定値として、乾燥重量100mg中のcpm数に換算し、血液、骨中のP, Ca量の相対値として比較検討した。

小括

実験方法として、高圧水銀石英燈を線源として、フィルターにより315mμ, 360mμ、フィルターなし全波長照射群に3分し、皮膚焦点間距離30cm、表面線量5Watt/cm², 25Watt/cm²群に2分し、距離一定、照射時間により調節して単一照射を行つた。

実験マウスはNA2、生後約9週、体重18g～20gで背部を5cm²に亘り刈毛し、前処置後³²P-⁴⁵Ca混合液0.4cc宛胃ゾンデにより経口投与した後直ちに照射を行い、投与後48時間迄の血液及び骨中のP, Ca量の変動をGM管によりcpmを測定した後にエネルギー分析により夫々求めた。

3. 実験成績

対照群、照射群に大別し、更に照射群は線量別に2分類、次に波長別に3分類される。また全波長照射群は刈毛した群としなかつた群に2分される。Ca対P比も血液と骨に分類される。成績は対照群との比較によつた。

PおよびCaの摂取と蓄積量は対数正規型分布と考えられ、これに従つて統計的処理を行つた¹⁴⁾。

(A) 5 Watt群

Fig. 3： 血液では、P量の時間的摂取量に殆

Fig. 3. Uptake and Accumulation of ^{32}P and ^{45}Ca in the Blood following 5 Watt-irradiation with a Double-label Method

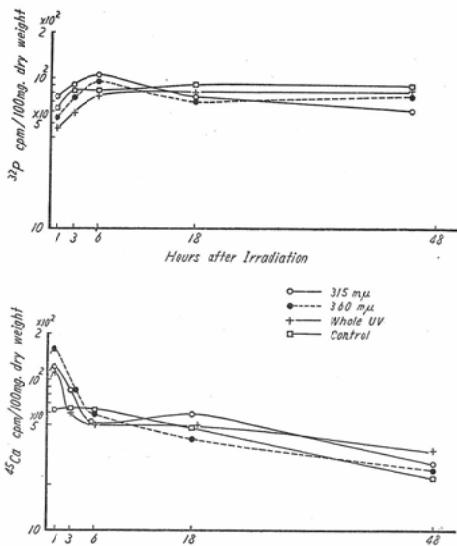
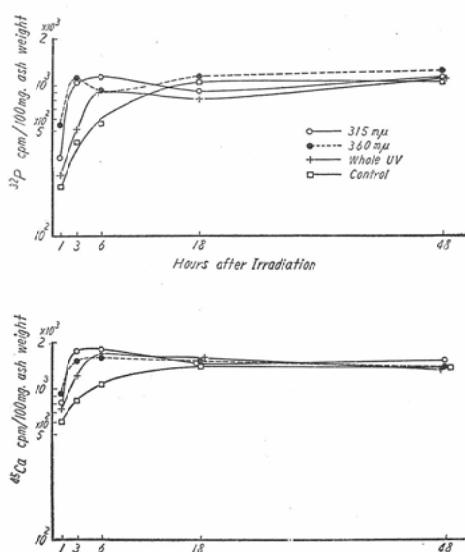


Fig. 4. Uptake and Accumulation of ^{32}P and ^{45}Ca in the Bone following 5 Watt-irradiation with a Double-label Method



ど差が認められない。

Ca量の変動は、3時間迄で6時間以後は差が現われない。1時間の変動最も強く、照射群は360mμ, 315mμ, 全波長の順で3時間間に移行する。

Fig. 5. Uptake and Accumulation of ^{32}P and ^{45}Ca in the Blood following 25 Watt-irradiation with a Double-label Method

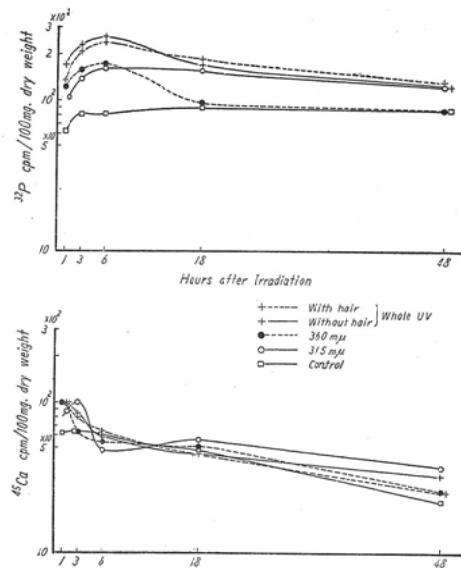


Fig. 4 : 骨の場合も血液の場合と同じく、全般に P, Ca 共に 6 時間迄の量の増加が判然と認められ、18時間以降は対照群と有意差がない。照射群の中では、P量は 315mμ は 360mμ に比し 6 時間値が高い。両者は全波長に比較すれば 1, 3 時間値が何れも高い傾向を示す。

Ca量は、照射群の中ではPの場合と同じく、315mμ は 360mμ より 3 時間値が高い値を示す。6 時間以後照射群の間に有意差は認めない。

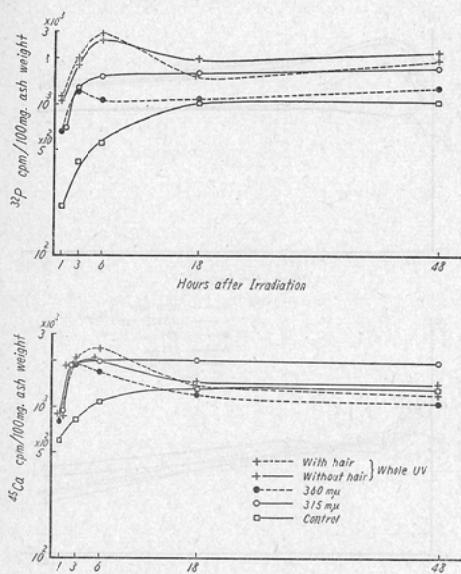
(B) 25Watt 群

全般的には血液及び骨共に、Ca に比し P の増加が著明で、然もその減少が18時間以後も緩やかであること、また 360mμ の減少は著明なことである。

Fig. 5 : 血液においては、P量は、照射群の何れも 6 時間迄增加して極大値を示し、それ以後は減少するが 360mμ の減少は急激で18時間以降減少のまゝで一定となる。これに反して 315mμ, 全波長は減少が緩やかであり、こゝに 360mμ との間に有意差が認められる。

Ca量では、最高値は 315mμのみ 3 時間後で、他は 1 時間後である。減少は全波長のみ緩やかで

Fig. 6. Uptake and Accumulation of ^{32}P and ^{45}Ca in the Bone following 25 watt-irradiation with a Double-label Method



他は6時間迄急激であつた。

なお P, Ca 何れにおいても刈毛による紫外線吸収の差異は認められない。

Fig. 6 : 骨においては、P量は、360mμを除いては何れも6時間後最高値を示し、以後漸減してゆく。360mμは3時間で最高値を示し、急に減少して6時間以降は一定となる。全波長の最高値は極めて高い。

Ca量は、P量と同じく最高値を示すのは6時間で、360mμのみは3時間である。全波長、360mμの6時間以降の減少に比較して315mμは48時間迄殆ど一定である。

PおよびCa量は大体全時間域に亘って315mμと360mμの間には有意差を認める。全波長と315mμの間にはPの場合のみ6時間値にも認められる。また毛髪による紫外線吸収の差異は血液同様に認め難い。

(C) Ca 対 P 比

(1) 5 Watt 群

Fig. 7 : 血液中の計数値の比は、対照群が1時間値が1でそれ以後漸減してゆくのに対して、照射群は1時間 Ca量の急激な増加のために何れ

Fig. 7. The Ratio of Ca-to-P in the Blood and Bone following 5 Watt-irradiation

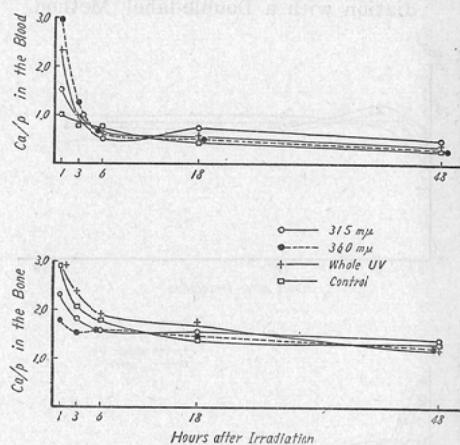
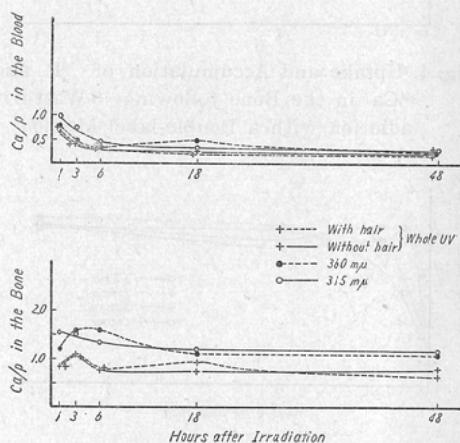


Fig. 8. The Ratio of Ca-to-P in the Blood and Bone following 25 Watt-irradiation



も高く、6時間以後差を認めない。

骨において、対照群は1時間 2.8で18時間以後1.4となり一定となる。これに対して照射群の中、全波長は対照をやゝ上回るが、360mμ, 315mμは1, 3時間とやゝ低く18時間以後対照と一致する。

(2) 25 Watt 群

Fig. 8 : 血液では照射群はすべて差を認めず大体全時間域に亘って同じである。315mμは1時間1で6時間以後0.3となり一定となる。

骨では、315mμは1時間 1.6で漸減し18時間以後1.4となり一定となる。360mμは1時間

1.2で6時間1.6迄上昇して後減少する。全波長は刈毛の有無にかゝわらず $360m\mu$ に類似の時間的経過を示す。

(D) 5 W, 25Wの比較検討

対照群の成績は、血液では、Pの摂取は6時間より18時間に最高となり、その後は48時間迄一定となる。Caの摂取はより速く1時間より6時間迄に最高となりその後減少する。

骨では、PはCaと共に18時間に最高となり以後一定する。

5 Watt/cm² 単一照射の場合、P, Ca量は血液においては1, 3時間、骨においては3, 6時間と比較的早期に摂取量増加が急激に起り、18時間以後は95%の信頼度では有意差が認められない。血液では、1時間のCaの摂取量とPのそれとの比は大きく、6時間以後は正常の摂取状態となる。一方骨においては、Pの摂取量は早期にはCaのそれに比して大であるが、18時間以後は正常の摂取状態となると考えられる。

これに対して25Watt/cm² 単一照射の場合、血液、骨共に全経過を通じて、Pの増加は著明であり、夫々極大値を示す6時間では5W照射の、血液が2倍量、骨が3倍量を示す場合もある。しかも減少は緩慢で、晚期迄持続してゆく傾向にある。然し $360m\mu$ はその作用弱く、 $315m\mu$ 及び全波長に比して有意差が認められる。 $315m\mu$ と $360m\mu$ の差異は、血液では6時間以後、骨では3時間以後に現われた。

Caの場合は、5Wと比較するとPに比して全般に増加が少い。血液では何れの照射群も全経過を通じて殆ど変化を認めない。然し $315m\mu$ は3時間に最高値を示した。骨でもその増加率は何れの照射群も比較的低い。

次にCa対P比は、血液では1以下、骨では1.6以下となつて5Wに比して比が小さくなつてきている。血液の変動が骨よりも劇しい。

波長別にみると、 $315m\mu$ と $360m\mu$ との間にはその作用において有意差があり、これは25Wにおいて認められ、血液、骨共に18時間以後に現われる。即ち $315m\mu$ はP, Caの摂取量において

何れも増加し、48時間迄維持させる。然し5W単一照射の場合は認められない。全波長群は25Wでは、5Wの場合と異り $315m\mu$ に類似の作用を示す傾向である。

4. 考 按

(A) 紫外線照射について

線質： 抗クル病性紫外線波長については、UV-B域にあることには問題がないとしても、有効な单一波長については異論がある。¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾松本¹⁹⁾によれば $320m\mu$ を最も有効として、測定方法、太陽紫外線中の実測値、クル病マウスの治療効果について研究成績を発表しているが、こゝで用いられた波長帯は一定の範囲をもち所謂単色の波長ではない。著者も出来るだけ単色に近い波長となる様に努力したが、生物実験に利用出来る線量をもつ単色の波長は得られなかつた。また短波長UV-C群の波長をフィルターにより選別しようとしたが、これまた利用出来るものは作り得なかつた。Heller, W.(1957)²⁰⁾は、クロールガスとガラスフィルター(Schottfilter)を組合せて $250m\mu$ を選別し、また $315m\mu$, $360m\mu$ をも選別しているが、これらもまた単色波長でなく何れも一定の波長帯をもつてゐる。然し人体皮膚照射実験では、紅斑および色素沈着に差異を認めてゐるので、必ずしも単色波長でなくても、それに附隨する波長帯のエネルギーが低ければ生物実験として使用されることは云うまでもない。

線源として使用した水銀石英燈は、高圧であるが、抗クル病性紫外線作用としての効率の点ではPonsold, W. et al²¹⁾は低圧の方が優れているとの研究がある。

線量： Giessmann¹¹⁾の実験方法に従つて5W照射をしたが、 $315m\mu$ と他の波長との間に差異を認めなかつた。これはP, Ca共に血液、骨の何れにおいても、血球、血漿の分離、無機P、総Pを始めとするPの分離を行わなくて、血液、骨の総量のみを乾燥重量として試料としたために、一概に差異なしとは速断し得ない。また同様のことが骨においても骨幹、骨端部を細分していない点で問題として残る。然し骨においてはP, Ca共

に骨端部に蓄積することが多く、また幼若な程著しいと云われているので、この点は、血液の場合と同一には論ぜられない。また血液、骨の Ca 対 P 比も、人間を始めとする哺乳動物では、血液、骨共に大体 2 対 1 であると云われる。²²⁾²³⁾ ラッテの場合はその成長と骨形成には、この比が 2.0 ~ 1.0 の時が最もよく然もビタミン D 要求量が最低であり、大となればなる程 D 要求量が大であり、また 0.25 の如く小となれば成長が減退すると云われている。²⁴⁾²⁵⁾

照射時間： 皮膚焦点間距離を一定としたために、照射群により同一線量照射に要する時間に非常な差異が出来た。そこでその作用機転として問題となる線量率、蓄積線量、回復等は未解決のままに取残した。この点今後大いに検討を必要とする。

組織とくに皮膚の透過性の問題： これは永井²⁶⁾の研究のように、皮膚のみならずすべて透過率が低い。たゞ刈毛した群としない群との間に差がない点は、刈毛部位の毛髪重量約 10mg/cm² で厚さ約 0.1mm と算定される故に、紫外線吸収は比較的少く且つ刈毛部位を含めての全身照射のためであろうかと推定される。これは全波長群に含まれる UV-C 群による影響と比較検討する必要がある。但しラッテの場合、局部照射では剃毛した群がしない群よりビタミン D の生成により抗クル病性紫外線作用は強い。²⁷⁾ これはラッテの毛髪層厚に関係すると思われる。

(B) ^{32}P - ^{45}Ca 二重ラベルについて

^{45}Ca のエネルギー (β 線 0.23MeV) に比して ^{32}P (β 線 1.17MeV) ははるかに高いので二重ラベル付けエネルギー分析は可能であるが、分析値の統計的処理はやゝ複雑である。また R.I. の投与量は、放射線障害を与える、且つ測定に充分な量でなければならぬ。著者の量 1 $\mu\text{c}/0.4\text{cc}$ では体重 18g のマウスに対して放射線障害は認められなかつた。

なお測定値については、測定器械による変動にたえず注意が必要で、著者の場合、夜間に、標準 Ra 照射体を用いて測定器の精度を確めた。

二重ラベルの意義と価値は、とくにマウスの様に小さい場合、同一条件において一生体から 2 種の元素を同時に追跡して、その量及び比を求めることが可能であった点にある。

次にマウス数を統計学的に必要にして充分な数だけ実験するには、密度の高い実験を計画すべきであつたろう。実際は Scheer⁹⁾ と同じく著者の場合もこの点大体 3 因 (最低) となることが多かつた。

(C) マウスについて

経口投与するためにマウスの生物学的条件は大いに問題となる。P, Ca 経口投与の場合、マウス全体の健康、腸管内の状態、腸管からの吸収及び飼料による栄養が相互に関連をもつてゐる。

特にクル病の場合は、腸管内の pH、腸内細菌叢によつてその吸収が支配される²⁸⁾²⁹⁾。著者の場合は健康マウスを使用したので上記の要素は同一であり、従つて吸収は一定であるとして実験を行つた。

特に飼料は固型飼料を用い、Ca : P = 1.8 : 1 であり一定とされている¹³⁾。従つて飼料成分が栄養に及ぼす影響はないとして推論する。

Greenberg et al⁴⁾ は、正常ラッテでは ^{32}P の吸収は、血液で 3 時間前後、骨では 5 時間前後に最高値となるという。Harrison et al⁶⁾ は、正常ラッテでは ^{45}Ca の吸収は骨では 24 時間前後に最高値となるという。何れもこれは單一ラベル法である。ビタミン D はこの P, Ca の吸収に非常に作用するのであるが、Underwood et al³⁰⁾ は、ビタミン D は Ca の腸管からの吸収を増し有機 P が無機 P に転化するのを助け、骨の鉱物化過程中に直接的影響を与えるとしている。

著者は上記の点を考慮して内服投与直後に单一照射をしたのである。また追跡時間を 48 時間としたことについては、上記のような早期変化を追求する目的と、同一マウスにおいては代謝のために血液中の量が僅少となること、及び ^{32}P の減衰のためである。上記の研究者達も、單一ラベル法で R.I. 経口投与後の追跡時間は 72, 80 時間位まで骨で 150 時間が最長である。遠隔成績を

追求するには Scheer, K.E.⁹⁾ のように、夫々その検査時期に R.I. の投与をする以外にはないと考える。

(D) 紫外線照射の効果

実験成績では、5W単一照射の場合は、315m μ , 全波長群と360m μ の間には、その作用において特に前者が大きいとする根拠はない。次に25W照射の場合は、315m μ , 次に全波長群が共にP, Ca量增加に及ぼす作用が大きいが、早期変化において315m μ のみならず全波長及び360m μ もP, Ca代謝には有効であると思われる。

一方皮膚表層中にあると云われるビタミンDの、紫外線によるビタミンDへの賦活は275~310m μ と云われ、この賦活されたDが代謝に作用すると云われる。Harrison et al⁶⁾は⁴⁵Caの腸管からの吸収は、最も早い場合は2~4時間でおこり、この間はビタミンDの影響はない。またDによるCaの交換率は45時間で全骨格のCaの50%に及ぶと云う。Underwood et al³⁰⁾は、ビタミンDによる⁴⁵Caの吸収は、血液では24~48時間に最高値があり、そのとき無機Pは8~24時間に最高があり、その後は何れも漸減してゆき、骨では次第に漸増して72時間で最高となり、ここで実験を打切つている。上記の研究者達はラットであり、著者のはマウスであり同一に比較することは出来ないにしても、紫外線作用の場合はDに比較してどの波長でも、Ca摂取時間を促進させ最高値に達する時間が血液では1~3時間、骨では3~6時間となり、PはCaより約3時間以内の範囲で遅れている。何れにしてもこれらの実験は種々の条件に支配されることが多く、ビタミンDの作用機転については未解決の点を残すのが事実のようである。今後引き続きP, Caの腸管吸収の問題と合せて比較検討する予定である。

そこで著者の研究結果からみると315m μ の作用機構のみならず他の機構も考慮されねばならぬ。これについてLehmann, G³¹⁾, Hoff, F³²⁾, Spode, E³³⁾, Seidl, E³⁴⁾等の学説や研究に注目すべきものがある。Spode, E³³⁾は家兎を用いてその血液像に及ぼす紫外線作用を、UV-A,B,C,全波長の4分類で実験しているが、それによると何

れも白血球増加が主体であり、この原因として皮膚の植物性神経終末部の全般的転換Gesamtum-schaltung (Hoff³²⁾)の一分症、あるいはStress-Selye³⁵⁾症状の一種としているが、著者の場合も健康マウスに対するこのような作用を無視出来ないと思われる。315m μ により賦活されたビタミンDの作用としてのP, Caの代謝促進のみ作用機転を意味づけるならば、360m μ による変動、および全般的な早期変化の亢進の説明には問題を残し、この点 Spode³³⁾等の説がこれらの現象の要因ではないにしても重要な誘因の一種となる可能性もあるかもしれない。

5. 結論

人工紫外線を比較的幼若なマウスに照射し、血液並に骨中のPおよびCa量を、二重ラベル付け経口投与により、照射後の時間的変動を追跡した。

(1) 人工紫外線を、著者が考案したフィルターにより波長別、即ち315m μ , 360m μ , 全波長に分別した。

(2) ³²P-⁴⁵Ca二重ラベルによる同一動物に対する実験は、單一ラベル法に比して、生体代謝追跡に関しては、合目的々で有効な方法であった。且つ両者の比の算定、即ち生体内のバランスの理解に役立った。

(3) 照射時間は一定でないが、5W単一照射の場合、血液、骨共にP, Caの代謝促進が対照と比較して6時間迄認められる。然し波長別の差異は認められなかつた。

25W単一照射は、PおよびCaの増加がさらに著しく、6時間後と共に18時間以降にも強く現れた。従つて18時間以降の代謝促進を求める場合は、25W相当量以上の照射を必要とする。

315m μ は360m μ に比してP, Ca代謝に対し18時間以降の減少が更に少い。

(4) 上記のように315m μ が血液および骨のP, Ca代謝促進に有効であるのは云うまでもない。然し5W照射において波長別にはその効果に有意差を認めず、また25W照射において全波長及び360m μ も相当量の代謝促進が認められる。これらは315m μ 照射に伴うビタミンD形式による代

謝促進機構のみでは解明し難い紫外線作用機転の存在を示す。

本研究の一部は文部省科学研究費によつたものである。こゝに深く謝意を表する次第である。

稿を終るにのぞみ、終始御懇篤なる御指導御校閲を賜つた恩師立入弘教授、吉井義一講師に衷心より深謝し、御協力いただいた理学部物理学科斎藤晴男助教授、R. I 共同実験室並に当科医局員各位に謝意を表する次第である。

本論文要旨の一部は1960年11月第2回放射線影響学会総会において発表した。

文 献

- 1) Ellis, C., Wells, A.A., and Heyroth, F. F.: *The Chemical Action of Ultraviolet Rays*, New York (1941). —2) Hollaender, A.: *Radiation Biology II*, New York (1955). —3) 諸摩: 小児科学(第2集): 東西医学 (1957). —4) Cohn, W. E. and Greenberg, D. M.: *J. Biol. Chem.*, 130: 625 (1939). 123; 185 (1938). —5) Morganridge K. and Manly M.L.: *J. Nutr.*, 18: 411 (1939). —6) Harrison, H.E. and Harrison, H.C.: *J. Biol. Chem.*, 188: 83 (1951). 185: 857 (1950). —7) 松倉: 新潟医学, 70: 455 (1956). —8) 鈴木: 臨床小児医学, 4: 106 (1956). —9) Scheer, K.E. und Kautz, G.: *Zsch. f. Kinderh.*, 78: 699 (1956). —10) 東芝レビュー: 10: 48, (1955) 102: 688 (1960). —11) Gießmann, H.G. und Kunz, C.: *Strahlenther.*, 111: 489

- (1960). —12) 日本化学会: 実験化学講座, 13: 丸善 (1958). —13) 仲川, 北村: 実験動物彙報, 3: 56 (1955); 4: 33 (1955). —14) 鳥居, 高橋, 土肥: 推計学, 東大出版会 (1957). —15) Luce, E.M.: *J. Biol. Chem.*, 71: 187 (1926). —16) Hess, A.F. and Anderson, W.T.: *J.A.M.A.*, 89: 1222 (1927). —17) Hess, A.F. and Weinstock, M.: *J.A.M.A.*, 80: 687 (1923). —18) Huidschninsky, K.: *Klin. Wochschr.*, 5: 1972, (1926). —19) 松本: 小児学会誌, 59: 1049 (1955). —20) Heller, W.: *Strahlenther.*, 102: 126, (1957). —21) Ponsold, W., Pfennigsdorf, und Seitz, E.O.: *Strahlenther.*, 94: 137 (1954). —22) Blunt, K. and Cowan, R.: *Ultraviolet Light and Vitamin D in Nutrition*, Chicago, (1930). —23) Spector: *Handbook of Biological Data*, (1952). —24) Shohl, A. T.: *J. Nutr.*, 14: 69 (1937). —25) Bethke, R.M., Kick, C. H. and Wilder, W.: *J. Biol. Chem.*, 98: 389 (1932). —26) 永井: 日放誌, 4: 313 (1943). —27) Ponsold, W. und Pfennigsdorf, G.: *Strahlenther.*, 95: 468 (1954). —28) 高橋: 小児学会誌, 59: 783 (1955). —29) 深海: 小児学会誌, 57 (4~5), (1953). —30) Underwood, E., Fischer, S. and Hodge, H. C.: *Am. J. Physiol.*, 166: 387 (1951). —31) Lehmann, G.: *Strahlenther.*, 95: 447 (1954). —32) Hoff, F.: *Dtsch. med. Wschr.*, 77: 65 (1952). —33) Spode, E.: *Strahlenther.*, 93: 15 (1954). 93: 588, (1954). 99: 482 (1956). —34) Seidl, E.: *Strahlenther.*, 111: 359 (1960). —35) 田多井: 汎適応症候群, 協同医書 (1959).

Studies on Blood and Bone in Mice Irradiated by Ultraviolet Rays, Using Double-labeled ^{32}P and ^{45}Ca

By

Tomoya Murai

Department of Radiology, Osaka University Medical School
(Director: Prof. H. Tachiiri, M.D.)

Actions and the effects of ultraviolet (UV) irradiation upon the P and Ca metabolism in blood and bone of the normal and rachitic mice have been studied.

Measurement was done of the amount and the ratio of P and Ca in blood and bone on normal female mice after an UV single dose exposure, administrating oral ingestion of double-labeled ^{32}P and ^{45}Ca by a stomach tube.

A high pressure mercury quartz lamp is used as a light source. UV rays from the lamp are classified into 3 types as to the wave lengths, $315\text{ m}\mu$, $360\text{ m}\mu$ by using

two filters (spectra are shown in Fig. 1) and whole wave length without filters.

About 100 female mice of NA2 strain, weighing 18 g to 20 g are used.

The results are as follows:

1. For these experiments the administration of double-labeled ^{32}P and ^{45}Ca is more beneficial than with a single labeled one. Especially, Ca/P ratio is more favorable to the study of the balance of P and Ca in the blood and bone.

2. After the irradiation on the surface with a single dose 5 w/cm² the amounts of P and Ca in those tissues have increased until 6 hours after exposure (Fig. 3 and 4), but few differences among 3 types of length were found.

Then after irradiation of 25 W/cm² the amounts of both elements have remarkably increased even after 6 to 18 hours (even until 48 hours) (Fig. 5 and 6).

The Ca/p ratio has more decreased in cases of 25 W irradiation than in case of 5 W.

As to the P and Ca metabolism in the blood and bone, the influence of 315 m μ wave length, which is called anti-rachitic one, is different from of 360 m μ , indicating that the former is much effective than the latter. But the 360 m μ and whole wave lengths are still active, though in a less grade.

From the above results there may be assumed another effect of UV irradiation on the P and Ca metabolism in the blood and bone, in the presence of the so far accepted acceleration of the metabolism of Vitamin D by a 315 m μ irradiatin.