



Title	臓器核酸代謝に及ぼす放射線の影響 第3報 再生肝のDNA代謝について
Author(s)	田中, 敬正
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1960, 20(6), p. 1290-1294
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/15618
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

臓器核酸代謝に及ぼす放射線の影響 (第3報) 再生肝の DNA 代謝について

京都大学医学部放射線医学教室 (主任 福田正教授)

助手 田 中 敬 正

(昭和35年6月6日受付)

緒 言

肝臟の2つの大葉を切除すると、残余の約3分の1の大葉は、数日の間に殆んど元の大きさに迄大きくなる。この再生肝について以前より、Higgins, Anderson¹⁾, Brues et al²⁾ 等により、組織学的に、又生化学的に詳しく報告され、比較的均一にしかも急激に増殖する組織として認められ、研究されて来た。この肝の再生による肥大は、眞の hyper-plastic growth であると言われている。そして核酸が生物の生長に密接に関係していると云う考えを証明する特に適切な組織であると考えられる。

Casperson 等³⁾⁴⁾⁵⁾は、活潑に生育している細胞の細胞質に 260mμ で紫外線の吸收が増加しているのを見ている。又 Stowell⁶⁾は、組織化学的な方法で、正常組織よりも腫瘍組織に核酸含量が高い事を証明し、又再生肝に於ても、紫外線吸收により核酸の消費量を調べた所術後第2日目には急激に細胞が分裂し、仁や核膜に近い部に RNA の濃度がましたと報告している⁷⁾。Brachet⁸⁾は、胎生期の生育の間に、RNA 濃度が増加する事を証明した。Davidson, Waymouth⁹⁾は、胎生期と成体期のDNA, RNA の量を調べ胎生期の方が高い量を含む事を云つている。

Schneider, Klug も¹⁰⁾、急速に生長する腫瘍を化学的に分析して核酸量の高い事を見ている。正常肝特に成体のそれは、静止肝とも云われる如く、分裂能力に乏しく、第1, 2報に於ても見る様に、肝の核酸代謝特にDNA 純の交換率は非常に低値を示し、X線に対する影響も僅少であつ

た。然し、再生肝の如く非増殖性の肝細胞が、突然に激しい有糸分裂を帯びる時には、DNA の合成系は活性化されるはずである。かかる状態に於て、X線照射を行つた時に核酸合成系との形成の阻害が如何なる具合に起るかを観察した。

実験方法

雄白鼠 (Wistar 系) 150~200 g を用いた。肝部分切除は、Higgins, Anderson¹⁾ の方法に従つた。即ちエーテルで麻酔後、肝の中葉、左葉をその根本で結紮し之を摘出した。

なお予備実験に於て、切除肝重量/全肝量 = 0.66(平均) であった。之は Potter¹¹⁾, Tsuboi¹²⁾, Brues の実験によく近似している。

核酸定量法は、第1報に於ける如く、Schmidt-Thannhauser 氏変法¹³⁾で行い、鱗交替率は、第2報に述べた如く行つた。即ち、³²P を体重 1 gあたり 1 μc を腹腔内に注射し、注射後 4 時間目を検した。

なお肝摘出後 22, 24, 26, 28, 30, 33, 36, 40, 48, 72 時間後、4, 5, 6 日後を検査した。X線照射は、160KVp, 3 mA, 0.4mmCu + 1.0 mmAl の Filter を用い皮膚焦点間距離は 30cm, 全身照射 1,000 r を行つた。

照射の時期は、肝切除の前 12 時間に 1,000 r 照射を行つた場合と、切除後 12 時間に 1,000 r 照射を行つた場合の 2 通りを検査した。

実験結果

1. 再生肝の重量の変化

前述の如く、予備実験に於て、切除肝重/全肝重の比は 0.66 であった。之より全肝重は逆に切除

図1 再生肝重

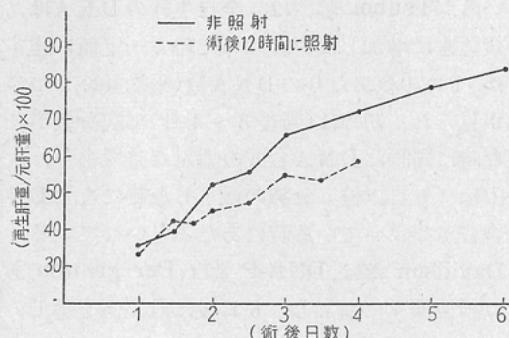
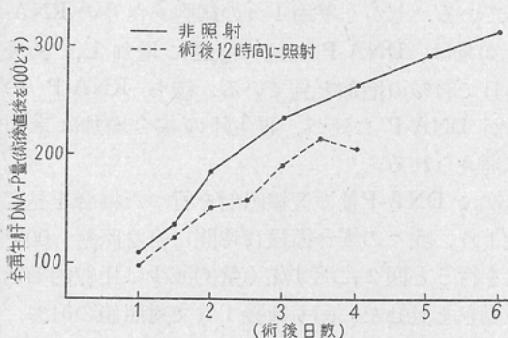


図2 再生肝DNA-P量



肝重より大略求め得る。

之より、再生肝重／全肝重 (g/g) × 100 を求め術後1～6日間を調べたのが図1である。

即ち術後2日より急速にその重量を増加し、5日で79%，6日で84%に達した。又術後12時間目に全身照射1,000 rを行った時の再生肝重は、対照に比して低値を示し3日後には対照値の88%に達した。なお1,000 r照射後、動物は3～6日頃大半死亡するため、照射群は4日迄を調べた。

2. DNA-燐量の変化

術後各時期について再生肝全体のDNA-P量を求めた。術後直後(即ち静止肝)の全残存肝のDNA-P量を100として表わすと、図2の如くなる。

DNA-P增加の模様は、再生肝重量の増加とよく一致を見ており、2日後に元の1.8倍、4日後に2.7倍、6日後に3倍に達した。

術後1,000 r照射の場合は、図2に示す如く、

対照に比して低値を示し、術後3日で対照の82%となつた。

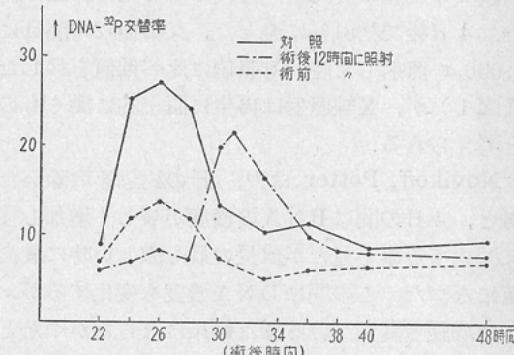
3. 再生肝のDNA-³²P交換率のX線照射による影響。

a) 対照(非照射)

術後の時間と、DNA-³²P交換率の関係を見ると表1、図3の如くなつた。なお、静止肝に於

第1表 再生肝DNA-P交換率

術後 の時間	対 照 (非照射)	1,000r 全身照射	
		術後12h 照射	術前12h 照射
22	9.0 ± 1.0	6.0 ± 1.2	7.0 ± 0.5
24	25.4 ± 1.5	7.0 ± 0.4	12.0 ± 0.5
26	27.3 ± 1.3	8.5 ± 0.3	14.0 ± 0.5
28	24.5 ± 2.0	7.4 ± 0.9	12.0 ± 1.0
30	13.4 ± 1.0	20.0 ± 0.5	7.5 ± 0.5
33	10.5 ± 0.6	16.8 ± 1.5	5.0 ± 0.4
36	11.5 ± 1.2	10.0 ± 0.9	6.0 ± 0.5
40	8.5 ± 0.5	8.5 ± 1.2	6.5 ± 0.8
48	9.5 ± 1.3	7.8 ± 0.3	7.0 ± 0.2
72	8.3 ± 1.5	7.5 ± 0.5	8.5 ± 0.9

図3 再生肝DNA-³²P交換率

ける³²P交換率は、我々の前回(第2報)の実験で3.08±0.2の値を得ている。之より、再生肝の場合、術後急速にDNA-³²P交換率は増加し、術後約26時間で最高値に達し、以後徐々に減少した。

b) X線照射群

i) 術後12時間に1,000 r照射

この場合には、表1、図3に見る如く、対照値

より4～5時間遅れて増加を初め、術後31時間でDNA-³²P 交換率は、最高値に達し、(対照に比して5時間遅れる)以後徐々に減少を見た。又最高値は、対照値の80.5%であった。なお、全体的に見て、³²P 交換率は、対照値より低値を示した。

ii) 術前12時間に1,000 r 照射

この場合は、前回の如き時間的のずれを見る事がなく、対照の場合と略々平行して減少を見た。

(表1、図3)。即ち、DNA-P 交換率は術後26時間に最高値をもつたカーブを描いた。なお、最高値は、対照値の48%減であった。

考 察

肝切除後の肝の再生は、非常に旺盛であり、手術後、4～10日で、元の肝の重さの70～80%に達する事が報告されている¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾。Potter¹¹⁾等は、肝重は術後急速に増加し、4～5日後に略々最高値に達している事を報告している。組織学的に見ても、肝にあるすべての細胞に再生が起り、術後21日で、実質細胞も Sinusoid 細胞も胆管の細胞もすべて正常にかえる事をのべている¹⁵⁾。

我々の実験に於ても、術後3日で元の肝重の約2/3、4日後で約81%に達した。又術後12時間目に1,000 r 照射した時、対照値に比べ低値を示した(図1)が、X線照射は再生に阻止的に働くものと考えられる。

Novikoff, Potter は¹¹⁾、肝の約2/3を取除いたあと、4日の間にRNAの濃度が著しく増加し後又減少する事を見たが成長の最も激しい時に最高値になつた。この間にDNA濃度も変化するが、肝の成長と関係づける様な結果にならなかつたと云つている。即ち Per grammあたりの核酸量には、著明な増加を見られないとするのが妥当と考えられる。

我々の実験に於ては、再生肝全部のDNA-P を求めると図2の如くなるが、DNA-P 量の増加は、再生肝量の増加の傾向とよく一致する。この事は再生肝 Fresh weight per gramm で求めた値は、著明な変動を見なかつた事になる。Drabkin¹⁸⁾は白鼠の再生肝でDNAの増加率は、再

生肝の重量増加率と非常によく一致する事を述べている。Tsuboi 等¹²⁾は、全再生肝のDNAは、術後急速に増加し、術後10日で略々一定値に達するが、1コの核あたりのDNA量(平均)は、2つの山が見られ、初めは(術後3～4日)細胞分裂が旺盛な時に同時にDNA合成の盛んな時であり、次の山は(6日以後)分裂の低下した時になおDNA合成がつゞいている時にあたるといつている。

Davidson 等は、DNA-P 量は、Per grammあたり術後徐々に増加し、6日後に最高値を示し、後又減少している。

しかし最高値も静止肝の約18%にすぎないと述べている。しかし平均1コの細胞あたりのRNA-P の量は、DNA-P に比べ急速に増加し、術後4日で54%の増加を見ている。即ちRNA-P の方がDNA-P に比べ、再生肝の場合増加は著明と考えられる。

次にDNA-P量のX線照射を行つた場合を見て見よう。我々の場合術後12時間に全身照射1,000 r を行うと図2に示す如く量的減少は比較的著明な動きを見せた。即ち術後1日で対照値の91%，2日で83%，3日で80.5%であった。即ち再生肝は静止肝と異り、分裂が旺盛で同時に放射線感受性を高める結果となり、之がDNA-P量を減少に導いたと考えられる。第1報での静止肝の場合よりも、減少の割合は大であつた。Thomson¹⁹⁾も、再生肝に⁶⁰Co 800rを照射し、酸可溶性燐、燐脂質等の変動に比べて、DNA-P 含量の比較的著明な減少を見たと述べている。

次に第2報でも見た如く、組織のDNAへの³²P の incorporation は、組織の細胞分裂のIndicatorと見る事が出来る。例えばAndreasen²⁰⁾や、Hevesy²¹⁾, Smellie²²⁾の実験によれば、胸腺や、リンパ腺、脾臓のDNA-燐の交換率は、年令と共に減少し、又乳児期の白鼠の肝のDNA-P の摂取は成体のそれに比べ非常に速かである事を見ている。即ち再生肝の如く細胞分裂を促進する様な状態に持ち來した時に、肝のDNAへの³²P の incorporation が増加する事は当然である。

Brues²³⁾によれば、³²P 注射後72時間の³²P 摂

取率を見ているが、再生肝では静止肝の11倍であり、Hepatomaでは約60倍の摂取率を見た。Davidson²²⁾等も、白鼠で³²P注射後4時間で再生肝は静止肝の14.3倍、乳児期で4.6倍の³²P摂取率を見た。当実験では、術後26時間で静止肝の8.9倍、36時間では3.7倍であつた。

なお³²P交換率の時間的推移は、術後15~18時間位より徐々にDNA合成が初り、図3に見る如く、術後26時間で最高値を得、後徐々に減少した。即ち術後26時間前後でDNA合成が一番旺盛なわけである。Holmes等²⁴⁾²⁵⁾²⁶⁾によれば、術後15~19時間で、DNA合成が初り約24時間で最高値を得ているが、この値とよく一致を見た。Thomson¹⁹⁾は再生肝は800r⁶⁰Co照射をする時DNA-P交換率の減少が最も著明であつたと述べている。

又柴谷²⁵⁾²⁷⁾²⁸⁾、Holmes等によれば、100~500rという比較的低い線量では、DNA合成開始前の照射はDNA合成反応の出現を数時間遅らせるが、一旦初つたDNA合成に対しては抑制効果がないと報告している。我々の実験でも1,000r照射に於ても上記の結果とよく似ており約5時間遅れてやはりDNA合成の最高値が見られ、DNA交換率のpeakは対照に比べ19%減であつた。

又Holmesは450~500r照射では、手術前の照射も有効で、DNA合成が数時間遅れている²⁵⁾²⁹⁾。我々の実験では図3に見る如く術前1,000r照射ではDNA合成の時間的の遅れを見る事はなく（即ち、術後26時間で最高値を見、対照の48%減）DNA交換率は著明に減少した。

即ち術後照射の場合の我々の再生肝のデータを見て考えられる事は、X線照射により、DNA合成反応自体も抑制されるが、DNA合成の機構を細胞内に作り出す反応がX線に対してより感受性が高い事を物語つている。

DNAの生合成は、他の生化学反応と違つて、分裂する細胞の中で極めて限られた時間に一定量だけ起るものである。

今細胞の分裂サイクルを次の様に分けうる。

有糸分裂(D) \rightarrow 後分裂期(G₀) \rightarrow 前合成期

(G₁) \rightarrow DNA合成期(S)
有糸分裂準備期(G₂) \rightarrow D³⁰⁾³¹⁾³²⁾

分裂活性を示さぬ細胞は全部G₀によつて代表される。正常肝細胞は、D₀期にあると考えられ、之が肝の部分的切除によつてG₁期に入り、Sの開始が多くの細胞で略々同時に起るわけである。再生肝の如く組織全体が急激にしかも一様に増殖を始めた細胞の集団に比較的高線量を照射した時は、以上の実験の結果により、Dに入つたものはX線感受性は低いが、G₁及びSのものが抑制される。著者の実験で、術後照射の場合は、G₁に入る時期が数時間遅れ、DNA合成能の低下を見、術前照射の場合は、G₁に入る時期的はずれは殆んどなく、DNA合成能の低下のみ見られた。しかしながら、DNA-³²P交換率を見ると、術後40時間以後に於て、対照群と照射群に差を見る事が出来ない。即ち有糸分裂期(D)自身の障害(染色体切断等)は、変化は不可逆的なものであるが、こゝで云う所の分裂前の過程のX線による障害は、変化が可逆的であり、しかも放射線感受性が高い事が特徴である。

総括

成熟白鼠の再生肝に於て、1,000r全身照射後の変化は次の如くであつた。

(1) 再生肝後肝の再生は旺盛で術後4日で肝重は略々元の81%に達した。

(2) DNA-P量は肝重と略々平行して増加した。

(3) 術後12時間にX線照射により、肝重、及びDNA-P量は対照に比し、比較的著明な減少を見た。

(4) 術後DNA-Pの交換率は、正常再生肝で急激に増加を示し、術後26時間で最高値に達し、後徐々に下降を示した。

(5) 術後12時間照射により、上記のDNA-P交換率上昇のPeakは5時間遅れ、且つ最高値は減少した。術前12時間に照射すると、DNA-P交換率は、全体として減少し時間的なずれを見なかつた。

(本論文の要旨は第17回日本医学放射線学会総会に

於て発表す)

謹筆するに当り御校閲並びに、御指導を賜つた恩師
福田教授に深謝する。

文 獻

- 1) Higgins, G.M. and Anderson, R.M. Arch. Path. 12, 186 (1931). —2) Brues, A.M., Druery, D.R. Arch. Path. 22, 658 (1936). —3) Caspersson, T., et al Nature. 143, 602 (1939). —4) Caspersson, T. Proc. Nat. Acad. Sc. 26, 507, (1940). —5) Caspersson, T. Protoplasma, 3, 507 (1941). —6) Stowell, R.F., Cancer Res., 6, 426 (1946). —7) Stowell, R.E., Arch. Path. 46, 164 (1948). —8) Brachet, J., Enzymologia, 10, 87 (1941). —9) Davidson, J.N., et al Bioch. J., 38, 39 (1944). —10) Schneider, W.C., & Klug, H.L., Cancer Res. 6, 691 (1946). —11) Novikoff & Potter, J. Biol. Chem., 173 (223), (1948). —12) Tsuboi, K. K., Arch. Biochem. 48, 275 (1954). —13) Schmidt & Thannhauser: J. Biol. Chem., 161, 83 (1945). —14) R.Y. Thomson, et al.: Biochem. J. 53, 460 (1953). —15) Abercrombie, M., Proc. Roy. Soc. (London) B138, 544 (1951). —16) G.T. Mills, Biochem. J. 53, 245 (1953). —17) 江上：核酸及び核蛋白質（下

- 卷), 147~149 (共立出版), (1951). —18) D.L. Drabkin, J. Biol. chem. 171, 395 (1947). —19) J. F. Thomson, M. S. Carttar, Radiation Res., 1, 165 (1954). —20) E. Andreasen and J. Ottesen, Acta Physiol. Scand 10, 258 (1945). —21) G. Hevesy, Advances in Enzymol. 7, 111 (1947). —22) R.M.S. Smellie, W.M. Mc Indoe J.N. Davidson. Biochem. J. 54, 280 (1953). —23) A.M Brues, M.M. Tracy, and W.E. Cohn, J. Biol. Chem., 155, 619 (1944). —24) D.B. Carter, B.E. Holmes, L.K. Mee: Acta Radiol, 46, 655 (1956). —25) A. Sibatani Biochem, Biophys, acta (in press) —26) L. I. Hecht, V. R. Potter: Cancer Res 16, 988 (1956) —27) B. E. Holmes, L.K. Mee: Radiobiology Symposium 1954, p220, Butterworths Scientific Publications, London (1955). —28) 柴谷：蛋白質、核酸、酵素, 2, (271), (1957). —29) B. E. Holmes: Ionizing Radiations and Cell metabolism (ed, Wolstenholme, O' Connor) p225, Churchill London (1955). —30) L.G. Lajtha, R. Oliver, F. Ellis: Brit. J. Cancer 8, 367S (1954). —31) A. Howard, S.R. Pelc: Heredity 6, Suppl, 261 (1953). —32) A. Howard: Ionizing Radiations and Cell Metabol, p 196 Churchill, London (1956).

Effect of Radiations on the Nucleic Acid Metabolism.

3. Study on the DNA metabolism of the regenerating liver.

By

Yoshimasa Tanaka

Department of Radiology, Faculty of Medicine Kyoto University

(Director: Prof. Masashi Fukuda)

The regenerating liver using normal white rats were totally irradiated.

The results were as follows.

- 1) Regeneration of liver after partial hepatectomy was markedly vigorous, and liver weight reached to 81% of originals at 4 days after operations.
- 2) DNA-content was increased parallel with the liver weight approximately.
- 3) Owing to 1000r totally irradiation at 12 hours after operation, liver weight and DNA content was reduced relative markedly below the control.
- 4) DNA turn over rate after partial hepatectomy resulted in a marked increase and reached maximum value at 26 hours after operation, and afterwards failed gradually to the previous level.
5. The maximum peak of DNA turn over rate was delayed for 5 hours owing to 1000r irradiation at 12 hours after operation and its maximum value was reduced. On the irradiation at 12 hours before operation, DNA-P turn over rate was reduced wholly and timely delay was not seen.