



Title	赤血球膜の放射線損傷に関する一考察
Author(s)	宮地, 町子
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1969, 28(12), p. 1587-1601
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/15718
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

特別掲載

赤血球膜の放射線損傷に関する一考察

大阪大学医学部放射線医学教室（主任：立入弘教授）

宮 地 町 子

(昭和44年2月6日受付)

A Study of Radiation Injury of the Erythrocyte Membrane

By

Machiko Miyachi

Department of Radiology, Osaka University Medical School

(Director: Prof. H. Tachiiri)

Introduction:

It is of importance to envisage radiation injury in biological macromolecules, as a step to clarify the mechanism of cellular death by ionizing radiation. Since the cell membrane is understood to play a prominent part in cell activity, especially for higher animals, there have been many observations made on the physico-chemical changes of the membrane by ionizing radiation, such as the changes of electrical properties of the cell membrane and the changes of the cell membrane permeability. However, they do not seem to have been made on a systematical basis. In the present study it was attempted to obtain information systematically on the initial damage of the cell membrane following a low dose irradiation.

Material and Method:

Erythrocytes (rat and human) with a relatively simple cell metabolism would seem to afford a suitable material to be studied in terms of the cell membrane. There were employed $^3\text{H}_2\text{O}$ β -rays during irradiation and ^{60}Co γ -rays after irradiation.

1) Biologically, the changes in electrical properties are of much importance because they are detectable at a dose which, in general, is too low to produce measurable chemical changes but enough to produce pronounced biological effects.

In observing the changes of the cell membrane subjected to a low dose irradiation, measurements were made of the capacitance and conductivity of erythrocyte solution with Cole Bridge during and directly after irradiation (40–1200 rads).

2) To elucidate the mechanism of the results of the above experiment, $^3\text{H}_2\text{O}$ efflux rate from the cell versus a radiation dose given (600–4000 rads) was measured, after erythrocytes were incubated in $^3\text{H}_2\text{O}$ NaCl solution.

Changes in cell membrane permeability seemed to be related with the physical process of radiation injury. To modify the radiation effects on the cell membrane, experiments were carried out on different osmotic pressure solutions, that is, erythrocytes were suspended in 0.9, 1.5 and 0.5% NaCl solutions.

3) To obtain information how biochemical damage influenced the changes in cell membrane per-

meability, differences of $^3\text{H}_2\text{O}$ efflux rate were observed under different temperatures (25°C and 10°C).

Morphological changes (discoid \rightarrow crenated) following irradiation (1000 and 4000 rads) were photomicroscopically observed. Inosine and adenine were added to observe a possible restoration to a normal shape.

Results:

1) An increase in the capacitance and a decrease in the conductivity of erythrocyte suspension were observed from the beginning up to 600 rads. Irradiation with more than 800–1000 rads resulted in a decrease of capacitance and in an increase of conductivity of the cell suspension. The capacitance and conductivity, when measured in a post-irradiation status, maintained less changes than those measured during irradiation. This suggests that some of the changes observed during irradiation are apparently reversible. The above findings may be interpreted as the changes of ion permeability of the cell membrane.

2) Regarding membrane permeability for $^3\text{H}_2\text{O}$, no significant difference was observed between 600 rad irradiated samples and non-irradiated ones, in 0.9 and 1.5% NaCl solutions. But, in 0.5% NaCl solution, an increase of permeability was observed in 600 rad irradiated samples. In 1000 rad irradiated samples, even in 0.9 and 1.5% NaCl solutions, permeability was increased and the changes were enhanced in proportion to doses given. In 0.5% NaCl solution, the enhancement was more obvious.

3) $^3\text{H}_2\text{O}$ efflux rate at 10°C showed a slightly less decrease than the rate at 25°C , due to difference in thermal diffusion. Morphologically, at a 1000 rad irradiation, erythrocytes retained a normal shape even 180 min after irradiation. At a 4000 rad irradiation, erythrocytes failed to maintain a normal discoid shape but turned into a crenated disk shape, which was regenerated with the addition of inosine and adenine.

Discussion and Conclusion:

Radiation injury to the erythrocyte membrane was detected initially as change of electrical properties. Changes in capacitance and conductivity of the erythrocyte solution were observed at a low dose irradiation, although some of the changes were reversible in a post-irradiation status. Those changes can be explained in terms of ion permeability through the membrane, triggered by reactions between membrane molecules and ions and/or free radicals produced inside and outside the cell following irradiation.

After a certain dose, the gradient of electrical changes proved to be inverse. The inversion obviously occurred between a low dose (600 rads) and a medium dose (1000 rads). So there must have been different processes in radiation damage of the membrane: after a certain dose, ionic processes of the opposite direction might have developed.

Membrane permeability to $^3\text{H}_2\text{O}$ in an isotonic solution showed no significant difference between non-irradiated and low dose irradiated samples. But, in a hypotonic solution, membrane permeability increased at a low dose irradiation. At a medium dose irradiation, permeability increased even in an isotonic solution. A stress of radiation effects in a hypotonic solution is assumed to indicate that membrane permeability for $^3\text{H}_2\text{O}$ intensively changes when radiation cooperatively affects a mechanical tension of the membrane. If this assumption is valid, changes of membrane permeability in an isotonic solution at a medium dose irradiation seem to reflect a cooperativity of radiation with changes of bound ions, a mechanical tension of the membrane or the membrane potential in living cells.

At a low dose and a medium dose irradiation, biochemical injury did not seem dominant. At a high dose irradiation, erythrocyte were subjected to morphological change and their normal shape was regenerated with the addition of inosine and adenine; biochemical injury became dominant.

目 次

- I. 緒 言
- II. 放射線による細胞膜の電気的変化
 - (1) 試料および方法
 - (2) 結 果
 - (3) 考 察
- III. 透過性の変化
 - (1) 試料および方法
 - (2) 結 果
 - (3) 考 察
 - (4) 酶素遊離に関する追加実験
- IV. 透過損傷の協力現象
 - (1) 試料および方法
 - (2) 結 果
 - (3) 考 察
- V. 考 察
 - (1) 細胞膜の構造と機能
 - (2) 電離放射線による細胞膜損傷
 - (3) 本実験の考察

註

文 献

I. 緒 言

電離放射線による、細胞内巨大分子の損傷の研究は、細胞を死に導く機作を解明する意味において重要なものである。いっぽう、高等生物において細胞膜は、細胞がその生理状態を維持し正常に機能するために基本的な要素である。したがつて、放射線による細胞膜の損傷に関する研究は数多く報告されている。たとえば、放射線による細胞膜の初期の損傷として、膜分子の物理化学的状態の変化、細胞膜の荷電の変化、また、膜の透過性の変化などが考えられている。しかし、その統一的な損傷機構はまだ完全に解明されていない (Lessler, 1959¹⁾, Stein et al, 1962²⁾, Brinkman et al, 1960~1966³⁾, Bresciani et al, 1964⁴⁾など)。

そこで、筆者は、細胞膜の損傷の機構を研究する一つの手段として、代謝機構が比較的単純である赤血球を試料として用いて、放射線による細胞膜の物理化学的損傷を、できるだけ低線量の照射で、照射時および照射後比較的早い時期の変化を観測する目的で、以下の実験を行なつた。

II. 放射線による細胞膜の電気的変化

細胞膜の、放射線による変化が比較的低線量で、しかも照射時に観測できるのは、細胞膜のもつ電気的状態についてである。電気的状態の観測の主なものは、細胞膜のもつ荷電、誘電率および電導度についてである。

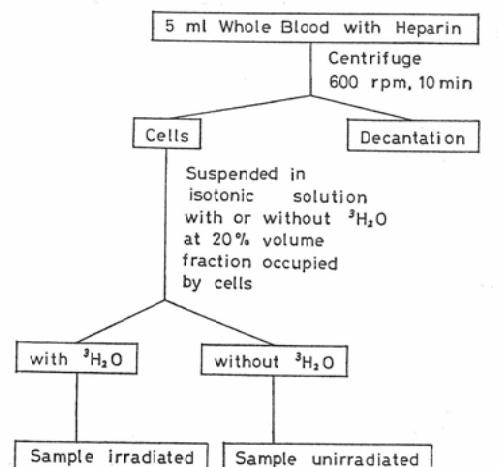
筆者は、照射時および照射後における赤血球浮遊液の誘電率および電導度を観測した。照射時の観測には、³H₂O を用いて内部照射を行ない、照射後の観測には、⁶⁰Co を用いて外部照射を行なつた。

(1) 試料および方法

赤血球としては、健康成熟純系のウイスター系ラット (200~300 g) を雌雄別なく、直接心臓より穿刺して得た血液を、ヘパリンで凝固阻止処理して用いた。Fig. 1 に示すように、5 ml の血液を、600 rpm で 10 分間遠心分離して上清を取り除き、³H₂O を含む等張のブドウ糖液 (亜酸アンモニウム 1.2 g, 亜酸カリ 0.8 g を 100 ml に含む) に 20 % の濃度で浮遊させた。³H₂O は英國 Amersham より求めたもので、比放射能は 1 Ci/0.2 ml である。線量率は容易に計算され難い⁵⁾、1 ml の試料に対し 200 mCi で 40 rad/min である。いっぽう、照射後の変化をみるために、⁶⁰Co γ線を同線量率で使用した。

誘電率と電導度の測定は、上記の赤血球浮遊液

Fig. 1. Sample Preparation



を2mm間隔においていた2枚の白金黒極をもつ試料セルに入れ、Cole Birdge (1949)⁵⁾を用いて、4 Mc/sec の周波数で測定した。この装置の電気容量の読みとりは $0.1\mu\text{F}$ で、また、電導度の読みとりは $0.03\mu\text{mho}$ まで可能である。照射後の実験は、 ^{60}Co 照射後直ちに上記セルに入れて測定した。測定は照射終了後20分を基準とした。

なお、細胞のもつ誘電率と電導度の変化は、細胞の幾何学的変化と細胞の電気的変化に起因するので、あらかじめ、照射時および照射後の細胞の大きさと数をコルター細胞計数装置を用いて測定した。

(2) 結果

Fig. 2 に示すように、Price-Jones 曲線は、非照射赤血球では120分後まで変化がない。また、80rad から 1,000rad までは、非照射と全く差違がない。照射された細胞に幾何学的変化が認められないので、照射による赤血球浮遊液の誘電率と電導度の変化は、主として細胞膜に起因する微視的変化であると思われる。Fig. 3 に示すように、赤血球浮遊液の誘電率の変化は、600rad までは線量とともに、照射時および照射後ともに直線的に増加を示している。なお、40rad 以下では有意義な測定値は得られていない。

非照射時の赤血球浮遊液で測定された誘電率 ϵ_{exp} は 66.2 であった。したがつて簡単な式^{註2)}から求められるように、細胞の存在に起因する誘電率 ϵ_{cell} は 11 である。また、細胞膜の単位面積 (cm^2)あたりの電気容量は、非照射時では $0.97\mu\text{F}/\text{cm}^2$ と計算される^{註3)}。この値は多くの報告と

Fig. 2. Distribution of cell size of 5% erythrocyte solution irradiated by β -rays.

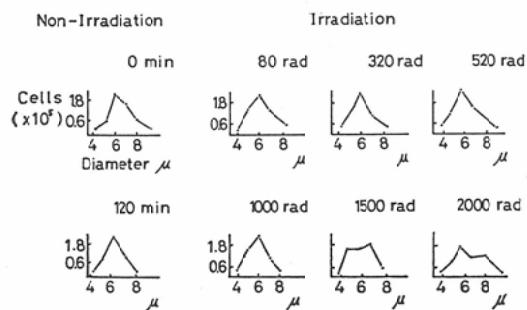
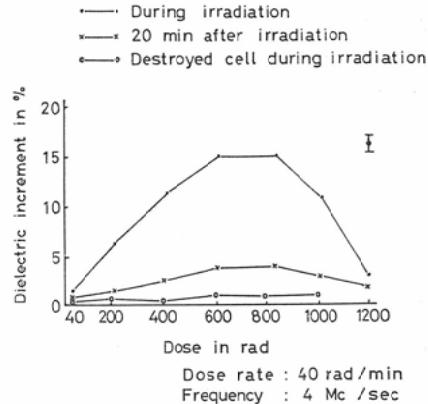


Fig. 3. Dielectric increment of 20% erythrocyte solution being irradiated and 20 min after irradiation at a frequency of 4 Mc/sec.

図 indicates the range of errors



Dose rate : 40 rad/min
Frequency : 4 Mc/sec

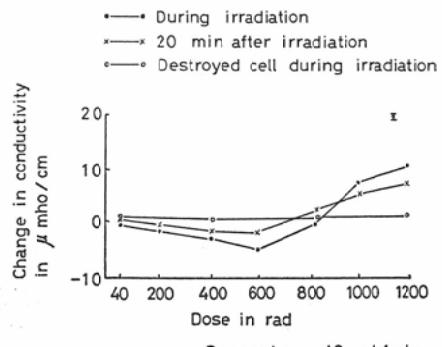
一致する(Cole et al, 1950⁶⁾; Schwan, 1959⁷⁾。

600rad 照射時で測定される、細胞の存在に起因する、見かけ上の誘電率は 12.7 であった。この增加分は約 15% である。1,000rad 照射では、800 rad まで増加した ϵ_{cell} は漸減する。照射後の増加は、線量にかかわらず、照射時のそれに比べてはるかに少ない。

電導度に関しては、Fig. 4 に示すように、照射時では、600rad までは減少する。照射後でも、600rad までは減少するが、照射時に比べて少ない。しかし、600rad 以上では、照射時、照射後とも増加し、1,000rad 以上では、照射時、照射

Fig. 4. Change in conductivity of 20% erythrocyte solution being irradiated and 20 min after irradiation at a frequency of 4 Mc/sec.

図 indicates the range of errors



Dose rate : 40 rad/min
Frequency : 4 Mc/sec

後の値にほとんど差違がない。

(3) 考察

非照射時において、細胞のもつ誘電率は細胞膜に起因することがふるくから知られている (Fricke, 1926⁸⁾; Cole et al, 1929⁹⁾)。照射時においても、筆者の実験、Fig. 3, 4からわかるように、膜を破壊した destroyed cell に誘電率、電導度の変化がみとめられないことは、誘電率が細胞膜に起因することをさらに裏づける。赤血球浮遊液の誘電率の変化は、すでに述べたように、細胞の幾何学的変化によることがまず考えられるが、これは、Fig. 2 に示したように、有意義な変化がみとめられていない。したがつて、照射による細胞膜の誘電率の変化は、細胞の電気的特性の変化に帰せられる。すなわち、1) 細胞膜の荷電状態の変化、2) 膜の純粹な誘電体としての変化、3) 膜のイオンに対する選択性の透過性の変化、に帰せられる。これらの変化は、放射線によつて細胞内外液に生じたイオンや遊離基と細胞内外膜を形成する分子との物理的な反応がひき金になつてゐるであろう。

しかし、細胞外膜には多量の負荷電が存在 (Eylar et al, 1962¹⁰⁾) しているから、細胞外液に生じた低い収率^{註4)} の正イオンがこの変化の原因とは考えられない。この推論は、10,000rad で赤血球浮遊液を照射しても、赤血球の電気泳動の測定では変化がみとめられない事実によつても裏づけられる (Stein et al, 1962¹¹⁾; Seaman & Heard, 1960¹²⁾)。

つぎに、照射による誘電率の変化が細胞膜の純粹な誘電体としての変化であるならば、誘電分散の実験からわかるはずである^{註5)} (Schwan, 1962¹³⁾)。Lessler の実験¹⁴⁾によれば、10Kc/sec から 100Kc/sec までの分散は、電気容量の周波数に対する曲線で、その特性周波数は非照射時および照射時において全く変化がみとめられない。この事実は、膜が純粹誘電体として変化していないことをあらわす。

したがつて、初期の物理的反応にひきつづいて起こる、細胞膜のイオンに対する透過性の変化に帰せられると考えれば、細胞の誘電率の変化は理

解される。すなわち、赤血球浮遊液の電気容量を C とすれば、

$$C = \alpha \left(1 - \frac{r}{r_0} \right) laCM$$

であらわされる¹⁵⁾。ここで、CM は膜の電気容量、 α は細胞の軸比に依存する量、 r_0 は溶媒の抵抗、 r は赤血球の抵抗、la は細胞の長軸の長さ、をあらわす。 r_0 が小さくなれば、見かけ上 C は増加する。

また、電導度の変化は、赤血球浮遊液の細胞外液のイオン濃度の変化を主としてあらわすので、照射時に観測された 600rad までの電導度の減少は、細胞外液よりイオンが細胞内へ取り込まれたことを意味する。これによつて、電導度の減少と同時に上記の誘電率の変化が説明できる。

照射後における誘電率および電導度は、照射中に測定された値に比べて、非照射時の観測値に近い値を示す。Lessler (1959) は、100R 照射直後に、赤血球 (カエル) 内に $^{42}\text{K}_2\text{CO}_3$ の取り込みが増加し、90分後に逸出することを報告している。また、赤血球 (カエル) に 100R 照射した、電気容量に関する実験で、照射された細胞群の照射後90分の観測値は、照射後30分の観測値に比べて、非照射群の観測値に近い値を示すことを報告している。この現象は、Lessler の解釈に従えば、変化の一部が可逆的であるためと考えられる。これは筆者の実験と矛盾しない。すなわち、さきに述べたイオンの透過によつて説明すると、比較的低線量の照射では、照射中に細胞内に入つたイオンの一部が、照射後20分の間に細胞外に逸出した事を示唆する。

さきに、600rad までの誘電率の変化と電導度の減少を、細胞外液よりイオンが細胞内へ取り込まれたことで説明したが、800~1,000rad 照射では、照射時、照射後20分とともに、誘電率および電導度は、600rad までに比べて逆の勾配を示す。この事実を説明することは困難であるが、膜に脱分極が起こつて、逆に細胞外へイオンの透過性が増加したと考えれば説明される^{註3)} (Bergeder, 1961, 後述)。

III. 透過性の変化

IIにおいて、600rad 以下の照射時における誘

電率および電導度の変化は、細胞外液より細胞内にイオン(正)が透過することにより、また、1,000rad以上の照射では、細胞内のイオンが細胞外へ逸出することによる可能性を示唆した。この損傷機構を追求するために、もつとも単純な熱拡散に従う水の透過性を指標として、600, 1,000, 2,000, 4,000rad照射による、細胞膜の透過性の変化をしらべた。

なお、水の透過性の変化は、膜分子の物理化学的損傷に起因するか、膜の代謝系の変化によるかを確かめる実験も合わせて行なつた。

実験は、 $^3\text{H}_2\text{O}$ をあらかじめ細胞外液より細胞内へ、単純な熱拡散により取り込ませたのち、上記の各線量に対する $^3\text{H}_2\text{O}$ の細胞内より細胞外への逸出の速度を指標とした。また、常温における透過性と低温における透過性を比較した。

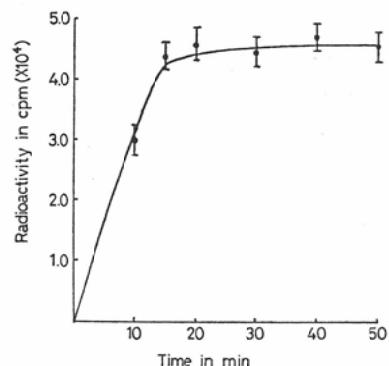
取り込みを指標としないで逸出を指標とした理由は、 $^3\text{H}_2\text{O}$ を取り込んだ赤血球を液体シンチレーションカウンターで測定する場合、Hbによる光の自己吸収のための統計的なばらつきを避けるためである。

(1) 試料および方法

特定の健康な青年男子の肘静脈から採取した血液を、ヘパリンで凝固阻止処理後、下記の操作を施したのち、0.9% NaCl 溶液に容積比15%の赤血球浮遊液となるように稀釀したものを試料として、細胞内よりの水分子の逸出を測定した。

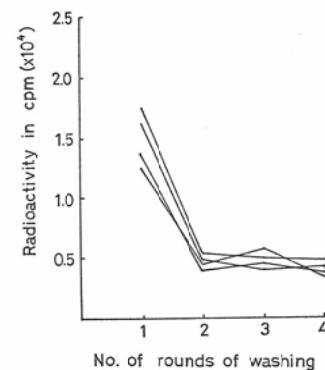
まず、0.9% NaCl 溶液7ml+血液3mlの中に $^3\text{H}_2\text{O}$ 200 $\mu\text{Ci}/0.1\text{ml}$ を加えた。経時的に、10分、15分、20分、30分、40分、50分後に、600 rpmで10分間遠沈後赤血球をハイアミンで溶解し、液体シンチレーションカウンターで $^3\text{H}_2\text{O}$ 量を測定した(測定法は後記)。その結果を Fig. 5 に示す。図からわかるように、細胞内液の放射能は30分で完全に飽和に達した。したがつて、細胞内より細胞外への水分子の逸出速度を測定する実験には、 $^3\text{H}_2\text{O}$ 投入後約30分間常温で保持したもののが用いた。その後直ちに600rpmで10分間遠沈し、上清を放棄し、等量の等張 NaCl 液を加えて再遠沈し、この操作を2回くり返し、上清を棄てて残つた赤血球を試料とした。この2回の洗滌に

Fig. 5. Uptake of $^3\text{H}_2\text{O}$ by erythrocytes



よつて赤血球表面に附着している $^3\text{H}_2\text{O}$ はほとんど取り除かれる。洗滌液の放射能の減少の状態は、Fig. 6 に示す通りであるから、2回の洗滌で充分であることがわかる。

Fig. 6. Decrease in radioactivity after washing of erythrocytes



照射源としては、 ^{60}Co γ 線を用い、その線量率は 200rad/minとした。照射線量は 600rad, 1,000 rad, 2,000rad および 4,000rad で、細胞内より逸出した $^3\text{H}_2\text{O}$ の測定は、経時的に、1cm巾のセルローズアセテートテープ(セルローズペーパークロマト用、SEPARAX)を用いて、前述のように作製した赤血球浮遊液から下端より 2cm 吸い上げ、最下端部 0.5cm は切り取り、巾 1cm × 長さ 1.5cm の小片に吸い上げられた $^3\text{H}_2\text{O}$ 量を測定した。予備実験から、この吸い上げ量は 0.022ml である。この小片を液体シンチレーションバイアル(PPO 40mg, トルエン 5ml, エチルアルコール 4ml)に入れ、Aloka 製液体シンチレーション

カウンター (Model LSC 501) で ${}^3\text{H}_2\text{O}$ の測定を行なつた。

(2) 結果

細胞内より細胞外へ逸出する ${}^3\text{H}_2\text{O}$ 量と時間の関係を Fig. 7 に示した。線量率を 200rad/min に統一したので、600rad照射には3分、1,000radには5分、2,000radには10分、4,000radを与えるには20分を要した。Fig. 7 の縦軸は、照射後飽和に達するまでの細胞外液の放射能の相対的増加をあらわし、横軸は、飽和に達する前の時間をあらわす。飽和を1に規格化しているので、照射時間中の ${}^3\text{H}_2\text{O}$ の透過は外挿出来る^{註7)}。

Fig. 7. Change in ${}^3\text{H}_2\text{O}$ efflux from erythrocytes after irradiation.

\pm indicates the range of errors.

- △ —— △ 4000 rad
- ▲ —— ▲ 2000 rad
- —— ○ 1000 rad
- × —— × 600 rad
- —— ● Unirradiated

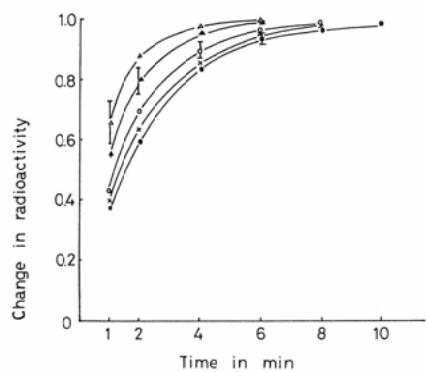


Fig. 7 からは定量的な結果を得ることが困難なので、つぎの方法をとつた。細胞外の ${}^3\text{H}_2\text{O}$ が再び細胞内へ取り込まれる量は少ないと仮定できるから、測定された放射能はつぎの式であらわされる。

$$Y(t) = Y_0 (1 - e^{-kt}) \quad \dots \dots \quad (1)$$

ここで、 $Y(t)$ は照射後 t 分における放射能、 Y_0 は飽和時における放射能、 k は逸出に関する定数である。したがつて、細胞内より細胞外へ逸出する ${}^3\text{H}_2\text{O}$ の放射能は、

$$Y'(t) = Y_0 e^{-kt} \quad \dots \dots \quad (2)$$

であらわされる。Fig. 8, 9 は、半対数にプロットした常温および低温における、時間に対する Y' の値を示す。すなわち、縦軸は照射直後に測定した Y' をパーセンテージであらわし、横軸は照射後の時間をあらわす。(2) 式における k は図の勾配より求められる。常温および低温の毎分あたりの逸出の割合を Table 1 に示す。表よりわかるように、10°Cにおける逸出の割合は常温におけるよりもわずかに小さい。また、600rad まで

Fig. 8. Percent fraction of ${}^3\text{H}_2\text{O}$ activity retained in erythrocytes suspended in 0.9% NaCl solution, at 25°C, after irradiation. Determination carried out on the same batches of erythrocytes used for ${}^3\text{H}_2\text{O}$ efflux experiment of Fig. 7.

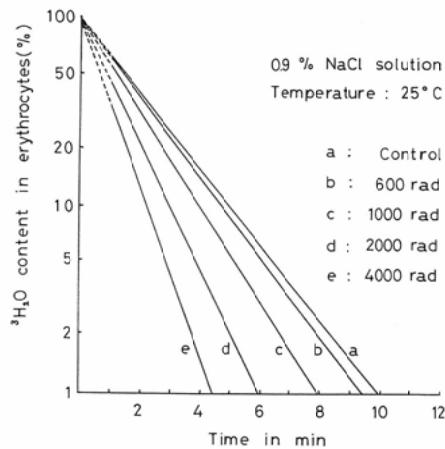


Fig. 9. Percent fraction of ${}^3\text{H}_2\text{O}$ activity retained in erythrocytes suspended in 0.9% NaCl solution, at 10°C, after irradiation.

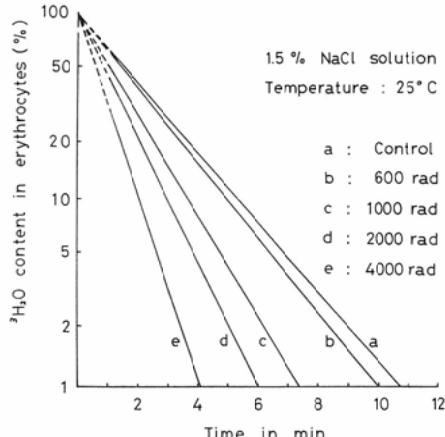


Table 1 Effect of ^{60}Co γ -rays on $^3\text{H}_2\text{O}$ efflux rate (%/min) from erythrocytes after irradiation at 25°C and 10°C.

Temp.	Dose in rad	0	600	1000	2000	4000
25°C	36	38	45	54	64	
10°C	34	36	43	52	60	

は、いずれも非照射群に比較してほとんどかわらないが、1,000rad以上では線量の増加とともに増加する。

(3) 考察

照射時における温度の変化による逸出の割合のわずかな差違は、水分子の細胞内より細胞外への自由拡散の差によるものである。すなわち、 H_2^{18}O を用いて測定された自由拡散係数にはほぼ比例している^{註3)}。したがつて、照射による細胞内よりの $^3\text{H}_2\text{O}$ の逸出の増加は、細胞膜の代謝系の損傷に起因するとは考えにくい。

(4) 酵素遊離に関する追加実験

Bacq & Alexander (1961)¹⁶⁾は、照射によって細胞膜などの酵素が遊離し、基質と接触することが放射線損傷の初期の過程と考えていた。Danon & Perk (1962)¹⁷⁾によれば、ヒトおよび哺乳動物では、種々の酵素をふくむ赤血球外膜の外夾(rough layer)は容易に剥離される。たとえば、外夾はグラススライドの上で消失し、赤血球は容易に金米糖状になる。また、赤血球が円盤状を維持するのにはATPが必要であることを中尾ら(1960)¹⁸⁾が実証した。

1,000rad照射後の赤血球の形状を、10°Cおよび25°Cで、180分まで光学顕微鏡で観察、写真撮影を行なった。Photo 1, 2 (25°C) に示すように、赤血球の形状はほとんど変化していない。このことは、照射によつて形状を変えるほどにはエネルギー系に損傷を与えていないことを示す。

しかし、4,000rad照射では、Photo 3に示すように、赤血球の一部は金米糖状に変化していることがみとめられる。形状の変化がATPレベルと関連があるならば、中尾らによるように、イノ

Photo 1. Unirradiated erythrocytes suspended in 0.9% NaCl solution ($\times 600$)

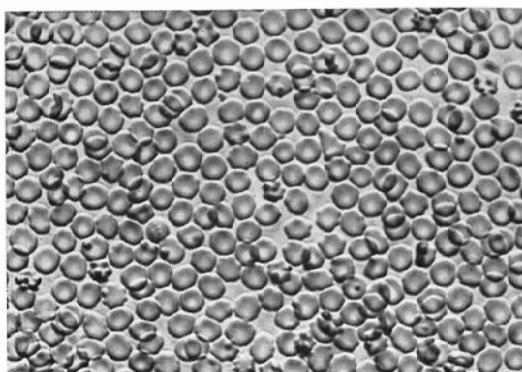


Photo 2. Erythrocytes suspended in 0.9% NaCl solution, 180 min after 1000 rad irradiation ($\times 600$)

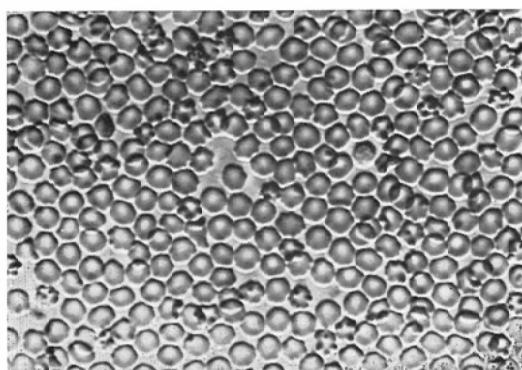
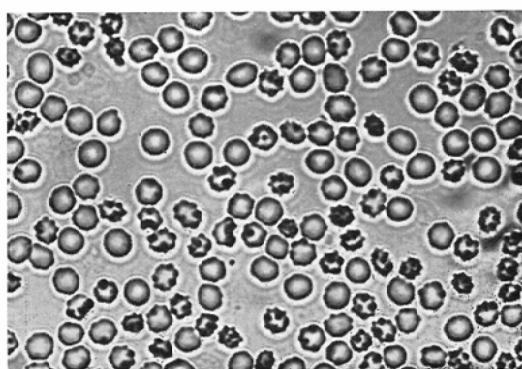


Photo 3. 4000 rad irradiated erythrocytes suspended in 0.9% NaCl solution ($\times 600$)



シン、アデニンの附加によつて円盤状に回復するはずである。イノシン、アデニン（各6mg/10ml）を照射直後に浮遊液に附加することによつて、Photo 4に示すように、金米糖形状は円盤状に回復することがみとめられた。4,000rad 照射において、イノシン、アデニンの附加による形状の変化と透過性との関係をしらべるために、Ⅲ(2)およびⅢ(3)に述べた透過性の変化を測定した。Fig. 10, 11に示すように、25°Cにおいて著明であるが、10°Cにおいても回復がみとめられた。1,000rad 照射では、イノシン、アデニンを附加

Photo 4. Erythrocytes suspended in 0.9% NaCl solution, with Inosine and Adenine added after 4000 rad irradiation ($\times 600$)

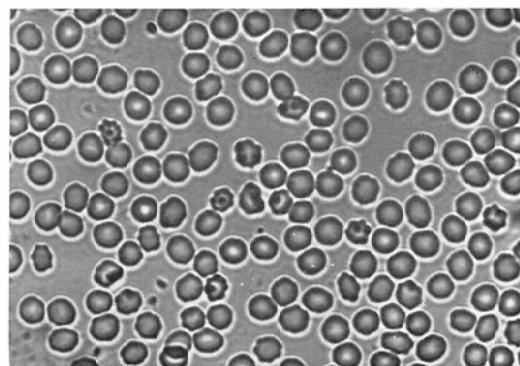


Fig. 10. Percent fraction of $^3\text{H}_2\text{O}$ activity retained in erythrocytes suspended in 0.9% NaCl solution, at 25°C, after irradiation. Erythrocytes, after 4000 rads irradiated, were given Inosine and Adenine.

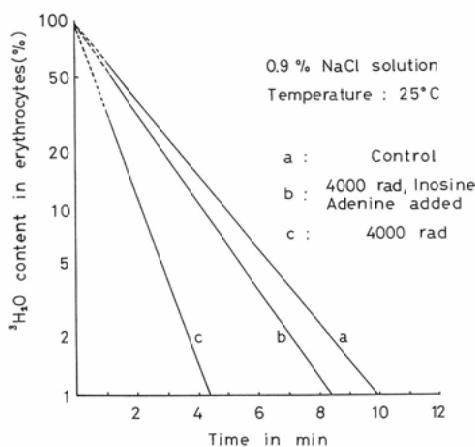
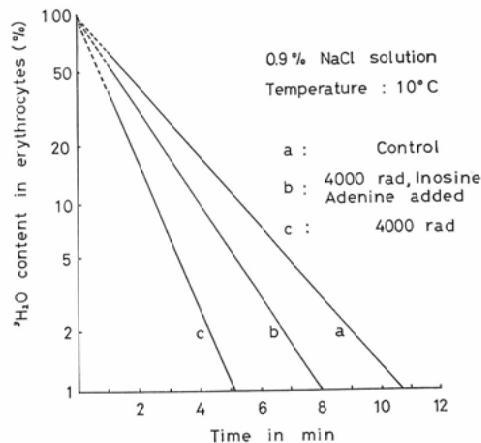


Fig. 11. Percent fraction of $^3\text{H}_2\text{O}$ activity retained in erythrocytes suspended in 0.9% NaCl solution, at 10°C, after irradiation. Erythrocytes, after 4000 rads irradiated, were given Inosine and Adenine.



しても透過性の差に有意義な差違をみとめなかつた。

したがつて、上記の実験結果から、1,000rad 照射では、細胞膜の代謝系に重大な損傷はないと思推論されるが、4,000rad では、代謝系に損傷があると考えられる。

IV. 透過損傷の協力現象

浮遊赤血球の細胞膜損傷は、1,000rad 照射では、生化学的なエネルギー系の損傷が支配的でないことをⅢに述べた。

Fig. 8に示した、照射による透過性の変化はどのような機構によるのであろうか。そこで、細胞膜における透過性の変化は、初期の物理的変化にもとづくものと考え、つぎの実験を試みた。すなわち、細胞膜に外力だけを与えることによる水分子の透過性の変化、放射線のみによる水分子の透過性の変化、および外力と放射線の両者による水分子の透過性の変化を観察した。

(1) 試料および方法

試料は、II(1)に述べたものと全く同じである。外力としては、通常の浸透圧（0.9% NaCl 液）のほかに、細胞膜にあらかじめ外力を与えるため、低張（0.5% NaCl 液）および高張（1.5% NaCl 液）溶液を用意した。細胞内より細胞外

への水分子の逸出の観測は、上記とすべて同じである。

(2) 結果

Fig. 8, 12, 13に、0.9%, 0.5%および1.5%のNaCl液における水の透過性に関する観測結果を示す。また、毎分あたりの逸出の割合をTable 2に示す。

すなわち、0.9%NaCl液では、600radまでは、逸出の割合は非照射群に比較して変化がない(非照射36%/min, 600rad 38%/min). 1,000rad,

Fig. 12. Percent fraction of $^3\text{H}_2\text{O}$ activity retained in erythrocytes suspended in 0.5% NaCl solution, at 25°C, after irradiation.

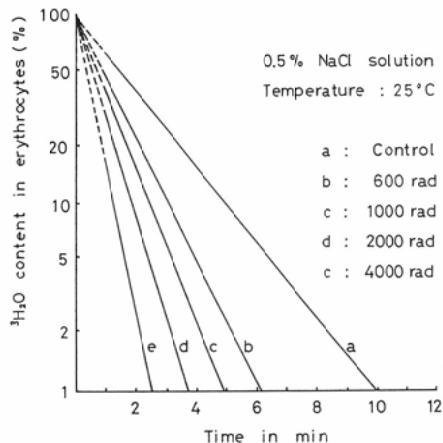


Fig. 13. Percent fraction of $^3\text{H}_2\text{O}$ activity retained in erythrocytes suspended in 1.5% NaCl solution, at 25°C, after irradiation.

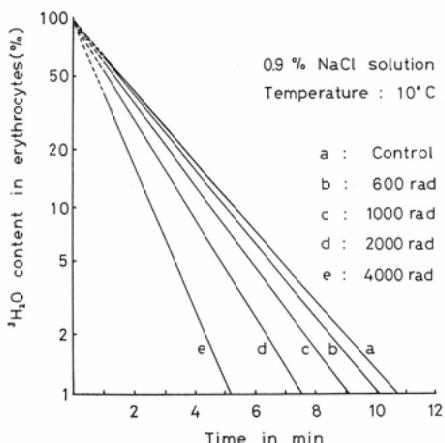


Table 2 Effect of $^{60}\text{Co} \gamma$ -rays on $^3\text{H}_2\text{O}$ efflux rate (%/min) from erythrocytes after irradiation in isotonic, hypotonic and hypertonic solutions at 25°C.

Dose in rad Solution	0	600	1000	2000	4000
0.9% NaCl	36	38	45	54	64
0.5% NaCl	38	50	60	70	88
1.5% NaCl	36	38	48	55	60

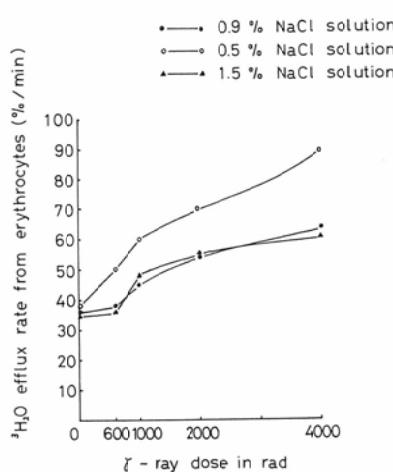
2,000rad, 4,000radとなるにしたがつて、逸出の割合は直線的に増加する(1,000rad 45%/min, 2,000rad 54%/min, 4,000rad 64%/min).

0.5% NaCl液では、0.9% NaCl液に比較して、逸出の割合は600radすでに増加し、線量の増加とともに増加度が大きい(600rad 50%/min, 1,000rad 60%/min, 2,000rad 70%/min, 4,000rad 88%/min).

1.5% NaCl液では、0.9% NaCl液に比較して有意義な差違がみとめられない。

なお、各線量に対する逸出の割合の関数関係をFig. 14に示す。図からわかるように、非照射から600rad間における逸出の割合のパーセント増加は、0.5% NaCl液で12%, 0.9%および1.5% NaCl液では約2%である。

Fig. 14. $^3\text{H}_2\text{O}$ efflux rate from erythrocytes versus dose given.



(3) 考察

細胞膜に外力だけを与えた水分子の透過性の変化は、膜を引き伸ばした状態にある 0.5% NaCl 液では、0.9% および 1.5% NaCl 液に比べて大きな値を示す (Fig. 10, 12, 13 または 14). なお、この変化は、膜の機械的張力すなわち表面張力の增加分に相当する^{註9)}.

つぎに、Fig. 14 からわかるように、600rad までは、0.9% および 1.5% NaCl 液では、非照射時に比べて有意義な変化がみとめられない。しかし、0.5% NaCl 液では、600rad で透過性が増加する。1,000rad の線量では、0.9%, 1.5% NaCl 液とともに、かなり透過性を増加し、0.5% NaCl 液ではさらに増加が大きい。

以上の結果から、つぎのことが推論される。0.9% NaCl 液では、600rad では透過にあまり変化はないが、1,000rad では急に透過が増加する。いっぽう、0.5% NaCl 液では、600rad ですでに透過性が増加し、1,000rad ではさらに激しい。すなわち、0.9% NaCl 液では、照射による透過性の変化は 1,000rad からみとめられるのに対し、0.5% NaCl 液では、600rad から変化がみとめられる。0.5% NaCl 液では、あきらかに、膜の機械的張力と放射線との協力的な作用の結果と考えられる。0.9% NaCl 液においても、1,000rad 照射では、放射線によって生成されたイオンや遊離基と細胞膜分子の初期の相互作用にはじまる物理的な協力現象——微視的な膜の張力の変化、膜分子の電場の変化など——によるものと考えられる。たとえば、Hill (1967)¹⁹⁾ および Changeux (1967)²⁰⁾によれば、生細胞の細胞膜の状態は、結合分子の濃度の変化、表面張力の変化、あるいは電場の変化のいずれかと協力した場合、ある臨界値に達した時、急に膜の状態の変化（相転位）が起ることを理論的に示した。この場合、表面張力と電場とは全く等価である。また、この相転位は膜の透過性に急激な変化を与える。Bergeder (1961)²¹⁾によれば、細胞膜の電場は 10^5 V/cm に達しているので、照射の間に生成されたイオンに対して相当な電気的影響をもつており、イオン対の再結合を困難にしている。また、膜

の微細構造に損傷を与えるといつている。0.9% NaCl 液において、1,000rad 照射で細胞膜の細孔附近にイオンがある程度以上になるならば、細孔附近的電場の変化が閾値に達し、細孔の張力などの物理化学的要素と協力して透過性に永続的な損傷を与えるものと考えられる。

V. 考 察

(1) 細胞膜の構造と機能

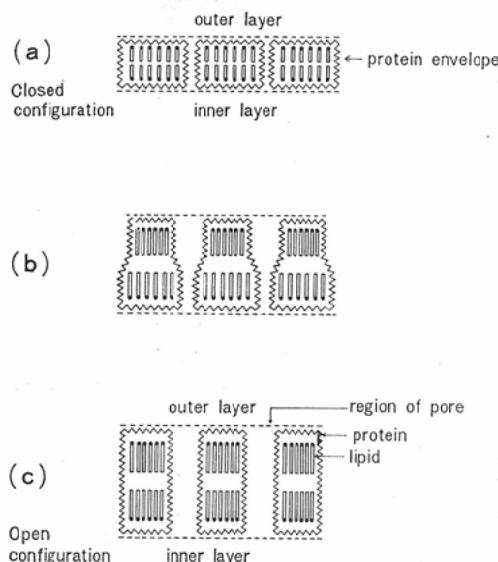
細胞膜は一般につぎのような構造をもっていると考えられている。すなわち、リピド分子が非極性部分を向かい合わせて並び（2層の単分子膜）、その両側に極性部分の蛋白質分子が結合した複合構造をもっている。Robertson (1960²²⁾, 1961²³⁾) は、その厚さを 75\AA 、外側の蛋白質部分をそれぞれ 10\AA 、内側のリピド 2 重層の部分を 55\AA と見積った。また、表面の性質については、電気泳動の測定からその荷電を推測する試みがなされている。Eylar (1962)²⁴⁾によれば、赤血球の表面の負荷電は 1 個の細胞あたり 12×10^6 であり、これはシアル酸の COO^- に起因すると考えられる。

細胞膜における透過は、単に膜をへだててイオンや分子が拡散するだけではなく、おのおの浮遊物質の特性によって透過機構が異なる複雑な過程である。それ故、また、細胞膜はいろいろの物質に対して多かれ少なかれ異なる透過性を示すが、このことは、細胞の物質代謝の上で合目的に物質の取り込みを可能にしている。脂質に溶ける物質ほど透過性が大きいことから、いつたん細胞膜に溶けてから透過するという機構が考えられる。しかし、脂質に不溶である水やその他の分子を透過し、また、分子体積が小さいほど透過性が大きいことから、細胞膜に細孔があるといわれている。Solomon (1959)²⁵⁾によれば、ヒトの赤血球膜の細孔半径は約 3.5\AA であり、その細孔は $10^6 \sim 10^7 \text{\AA}^2$ に 1 個あるという (Glynn, 1957²⁶⁾)。

しかしながら、細胞膜の状態は常に一定不变とは限らず、絶えずその構成分子ないし粒子の配列状態を変え、したがって、膜の形態や構造もそれに応じて変っているものと考えられる。たとえば、Kavanau (1965)²⁷⁾ の膜分子状態に関する見解によれば、生体膜には多数の孔が規則的に配列

し、その孔の状態に応じて開放型 (open configuration) と閉鎖型 (closed configuration) が区別され、しかもその状態に応じて双方が互いに移行しうるという (Fig. 15). 図の模型において、ジグザグ線はリビドを含んだ蛋白層である。このような protein envelope を単位とした二次元的構造の繰り返しによって膜が構成されていることになる。envelope と envelope との中間に細孔があり、Fig. 15-a は閉鎖型で、細孔は閉じた状態にある。Fig. 15-c は開放型で、細孔は開いた状態であり、Fig. 15-b は a より c、または c より a に変る時の中間である。

Fig. 15. Hyperfine structure of membrane (Kavanau)



(2) 電離放射線による細胞膜損傷

電離放射線と生体細胞間の最初の物理的過程を考える場合には、照射された細胞膜面の荷電の変化にはじまるという考え方がある。

ミポテンシャルの変化は、有機コロイド系ではよく研究されている。Crowther (1937)²⁸⁾ および Gray (1941)²⁹⁾ は、小線量でゾルのミポテンシャルの変化をみとめた。このような変化が膜上に起つてもよいはずである。また、これにひきつづく現象として、Kuzin (1962)³⁰⁾ は、核膜から Na⁺ イオン、小胞体から K⁺ イオン、ミトコンドリ

アから Mg²⁺ イオンの放出があるという。

またいつばう、電離放射線による最初の事象が、細胞膜よりの酵素の遊離にはじまるという考えもある (Bocq & Alexander, 1961³¹⁾)。この説は、放射線によつて生じたイオンや遊離基により細胞膜に局在する酵素の遊離がすすみ、基質と反応し、膜の透過性に変化をもたらすという考え方である。

(3) 本実験の考察

II の実験において推論したように、誘電率の変化は、放射線によつて生じたイオンまたは遊離基による膜面の物理化学的变化に起因し、細胞外のイオンが細胞内に取り込まれ、また細胞内のイオンが細胞外に逸出して、見かけ上電気容量に変化をきたすことによる。同時に、電導度の変化は、細胞内外のイオン濃度の変化を意味するので誘電率の変化と一致する。また、このことは Lesser の、低線量照射の場合の ⁴²K₂CO₃ の取り込みおよび誘電率の増加の報告³²⁾ と一致する。

しかし、この現象は、600radまでの比較的低線量では、照射後20分でもとの状態に近づくので、一部は可逆的な現象であろう。1,000rad以上で逆の勾配を示すことは注目すべき現象である。この現象を追求するために、物理化学的過程にひきつづく生化学的過程であると仮定して、まず、IIIで代謝系の損傷に起因する膜の透過性の変化について観察した。細胞内に取り込まれた ³H₂O 分子の細胞外への逸出は、温度による差違が少ない。また、顕微鏡的観察によつても、1,000rad 照射では約3時間後でももとの形態を維持している。これは、酵素遊離によつて ATP が消費されて形態の変化をもたらすまでにいたらないことをあらわす³³⁾。これらの事実から、酵素遊離による膜の損傷が決定的であるとは考えられない。また、Brinkman (1965)³⁴⁾ の実験によれば、1,000 rad 照射においても、赤血球膜からの酵素の遊離は全酵素の 0.1% にすぎない。したがつて、酵素の遊離が細胞膜損傷の主役をなしているとは考えられない。

Hill (1967)³⁵⁾ および Changeux (1967)³⁶⁾ によれば、細胞膜の状態は、すでに述べたよう

(Kavanau, 1965³⁷⁾), その環境条件によつて開放型と閉鎖型が相互に移行し, 結合分子の濃度, 表面張力, あるいは電場がある値に達すると急激に膜の状態が変化するという. IVの実験で, 赤血球膜に機械的張力を加えただけでは, ${}^3\text{H}_2\text{O}$ の透過性の変化はわずかである. いっぽう, 600rad 照射では, 0.9% NaCl 浮遊液で透過性はほとんど変化しないのにかかわらず, 0.5% NaCl 液では透過性は急激に増加する. このことは, 機械的張力に放射線が協力して急激に膜の変化をもたらすことを証している. Brinkman(1965)によれば, 張力により伸びた膜形成分子間は, 放射線によつて生じた遊離基により容易に損傷をうけるという.

また、Bergeder (1961)⁸⁸によれば、膜の放射線損傷は、放射線によって生じたイオンあるいは遊離基に起因する膜の電場の変化であるという。したがつて 1,000rad 照射時における 0.9% NaCl 液では、放射線によって生じた細孔附近の電場の変化と膜の物理的状態が協力して、急激に膜の透過性の変化をもたらすと推論される。

以上のことから、つぎのように結論される。

赤血球膜の放射線損傷は、600rad附近までは、誘電率、電導度の実験および $^3\text{H}_2\text{O}$ の透過性の実験より、一部は可逆的であることがわかる。

1,000rad 以上では、上記の実験の結果より、損傷は一方向的であろう。これらの機構は、放射線と生細胞膜の物理的状態（結合分子の濃度、張力、電場）が協力して作用する物理的初期過程によると考える。酵素遊離などの生化学的損傷は主役を果していない。

4,000rad では、赤血球膜に生化学的損傷が起り、ひきつづき形態の変化があらわれる。

註 1) $1 \text{ MeV} = 1.6 \times 10^{-6} \text{ erg}$, $1 \text{ rad} = 100 \text{ erg/g}$ であるから, 1 MeV の β 線放出をともなう 1 disintegration で, $E = 1.6 \times 10^{-6} \text{ rad} \cdot \text{g}/\text{disinteg.}$ のエネルギーが付与される。また, $1 \mu\text{Ci}/\text{ml} = 3.7 \times 10^4 \text{ disinteg./sec ml}$ であるから, $1 \mu\text{Ci}/\text{ml}$ 濃度液の線量率は, $D = 5.92 \times 10^{-4} \text{ rad/sec}$, ${}^3\text{H}$ の放出する β 線の平均エネルギーは 0.055 MeV だから, $20 \text{ cmCi}/\text{ml}$ 濃度の溶液内の線量率は $D = 5.92 \times 10^{-4} \times 0.055 \times 2 \times 10^6 \times 60$

≈ 40 rad/min

註 2) 細胞膜は交流抵抗が非常に高いので 4Mc の周波数ではほとんど電流を通さないと考えられ³⁹⁾⁴⁰⁾、また、細胞外液が膜の電気的抵抗に比べて導電的であるならば、赤血球浮遊液の誘導率の測定値 ϵ_{exp} より ϵ_{cell} が次式で求められる。

$$\varepsilon_{\text{exp}} = P_1 \varepsilon_{\text{cell}} + P_2 \varepsilon_{\text{med}}$$

$\epsilon_{\text{med}} = 80$, $P_1 = 0.2$, $P_2 = 0.8$ および $\epsilon_{\text{exp}} = 66.2$ であるから, $\epsilon_{\text{cell}} = 11$

註 3) ε_{cell} より C_M は次式で求められる.

$$C_M = \frac{8.8 \epsilon_{cell}}{d}$$

d (Å) は細胞膜の厚さ, C_M ($\mu\text{F}/\text{cm}^2$) は細胞単位面積あたりの電気容量, $d = 100\text{\AA}$, $\epsilon_{cell} = 11$ とすれば, $C_M = 0.97 \mu\text{F}/\text{cm}^2$

註 4) 600 rad で、 ${}^3\text{H}_2\text{O}$ 1 ml あたり約 3.6×10^{14} イオン対が生成される。本実験では、1 ml あたりの細胞数は約 10^9 個であるから、すべて拡散により攻撃されたとしても、 3.6×10^5 イオン対 / cell となる。いっぽう、赤血球 1 個あたりの荷電数は 1.2×10^7 があるので問題にならない。

註 5) ϵ_i , κ_i の球形分子が、 ϵ_a , κ_a の溶媒に分散している時は、誘電分散の曲線の特性をあらわす定数 T は、

$$T = \varepsilon_r \frac{\varepsilon_i + 2\varepsilon_a}{\varepsilon_i + 2\varepsilon_a} \quad \dots \dots \dots \quad (1)$$

であらわされる。この曲線の特性周波数は、

$$\varepsilon = \frac{\varepsilon_0 + \varepsilon_\infty}{2}$$

の ϵ に対する周波数である。特性周波数を f_0 とすれば、 f_0 は、

$$f_0 = \frac{1}{2\pi T} \dots \quad (2)$$

であらわされる。 ε_a , κ_a は実験から一定、および κ_i についても特性周波数が照射時、非照射時ともに同じであることがわかつてゐるから、もし照射によつて(1)式の ε_i が変化すれば、 f_0 が變るはずである。

註 6) 細胞膜が K^+ に関し平衡 (Donnan-Gibbs の平衡) に達していれば、膜電位を E (< 0)、 K^+ による平衡電位を E_k (< 0) とすれば、

$$E = E_k \quad (= -80 \text{ mV})$$

放射線の作用がEを大きくするように働くば、よく知られた式

$$\frac{Mni}{Mno} = \exp\left(-\frac{Zn}{RT}(E - E_k)\right)$$

により $M_{ni} > M_{no}$ となり K^+ は入ってくる。

また、その運ぶ電荷はEを下げるよう働き、 K^+ は外に出て行き、また入るという現象を繰り返し、平衡に達するであろう。1,000rad以上の照射では再びスル

ことがないと考えれば、勾配の逆転を説明できる。

註 7) 細胞内に取り込まれた³H₂Oが逸出するには、³H₂O液に入れられた赤血球内に³H₂Oが飽和する場合(Fig. 5)に比べて、飽和に達するのにやや長い時間要する。この実験の条件では約2.5倍と計算される。

すなわち、初濃度C₀なる溶液がV₁にあつてV₂に拡散していく場合に、t時間後V₁の濃度がC₁、V₂の濃度がC₂になるとすれば、拡散移動する溶質の量dsは、時間dtに対しても、

$\frac{ds}{dt} = -AD\Delta C$, Aは面積、Dは拡散に関する定数、 $-\Delta C = C_1 - C_2$ 、また $V_1 C_0 = C_1 V_1 + C_2 V_2$ であるから、上式を積分すれば、

$$t = -\frac{1}{KD} \ln \left\{ \frac{-1 \left(\frac{C_2}{C_1} \right)}{1 + \left(\frac{V_2}{V_1} \right) \left(\frac{C_2}{C_1} \right)} \right\} \text{となる。}$$

ここでKは定数。

C₂がC₁の $\frac{1}{2}$ になる時間をt_{1/2}とすれば、

$$t_{1/2} = \frac{1}{KD} \ln \left(2 + \frac{V_2}{V_1} \right)$$

したがつて、拡散移動の時間は $\frac{V_2}{V_1}$ の比で決定される。

註 8) H₂¹⁸Oによる自由拡散係数

(Chemical Table より)

自由拡散係数 $\bar{D} \times 10^6 \text{ cm}^2/\text{sec}$

3.4°C 16°C 25°C

15.4 22.0 26.6

註 9) 稀薄溶液の浸透圧pは、温度が一定ならば、 $p = (V-b) = \text{const.}$ であらわされる。Vは細胞の容積、bは細胞内溶液以外とみなされる非溶液体積(Hbなどの非溶液体積: 約30%)。Vの変化は、0.9% NaCl液でV=1と規格化すれば、1.5% NaCl液でV=0.7、0.5% NaCl液でV=1.5。内外の圧力差を Δp とすれば、 $\Delta p = \frac{H}{r}$ である。ここで、Hは表面張力、rは半径をあらわす。 Δp は平衡状態に達しているので、H=pr、すなわち、表面張力Hは半径に比例するから、Hは1.5% NaCl液で10%の減少、0.5% NaCl液で16%の増加になる。この場合、赤血球の細胞膜は、張力の変化するゴム彈性的なものと考える。

おわりに、御指導、御校閲いただいた、大阪大学、立入弘、近藤宗平、吉田博各教授に深謝する。

また、実験に際し、直接御指導いただいた、京都大学、吉井義一博士、ならびに、御協力いただいた、阪大アイソトープ共同実験室、猪熊正克氏に心からの謝意

を表す。

文 献

- 1) Lessler, M.A.: Low-Level X-Ray Damage to Amphibian Erythrocytes, *Science*, 129 (1959), 1551-1552.
- 2) Stein, G., Seaman, G.V.F & Heard, D.H.: Action of Low Doses of Ionizing Radiations on the Electrophoretic Mobility of Ehrlich Ascites Tumour Cells, *Nature*, 193 (1962), 238-239.
- 3) Brinkman, R. & Lamberts, H.B.: Radiopathology of Extracellular Structures, *Current Topics in Radiation Research*, Vol. II, p. 281-302, North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 1965.
- 4) Bresciani, F., Auricchio, F. & Flore, C.: Effect of X-Rays on Movements of Sodium in Human Erythrocytes, *Radiation Research*, 21 (1964), 394-412.
- 5) Cole, R.H. & Gross, Jr.P.M.: A Wide Range Capacitance-Conductance Bridge. *Rev. Sci. Instrum.*, 20 (1949), 252.
- 6) Cole, K.S. & Curtis, H.J.: *Medical Physics*, Vol. II, p. 344, The Year Books Publishers Inc. Chicago, 1950.
- 7) Schwan, H.P.: Alternating Current Spectroscopy of Biological Substances, *Proceeding of the I.R.E.*, p. 1841-1855, 1959.
- 8) Fricke, H.: The Electric Capacity of Suspensions with Special Reference to Blood, *J. Gen. Physiol.*, 9 (1926), 137-152.
- 9) Cole, K.S.: Electric Impedance of Suspensions of Spheres, *J. Gen. Physiol.*, 12 (1929), 29-36.
- 10) Elyar, E.H., Madoff, M.A., Brody, O.V. & Oncley, J.L.: The Contribution of Sialic Acid to the Surface Charge of the Erythrocyte, *J. Biol. Chem.*, 237 (1962), 1992-2000.
- 11) Stein, G.: The Contribution of Sialic Acid to the Surface Charge of the Erythrocyte, *J. Biol. Chem.*, 1962.
- 12) Seaman, G.V.F. & Heard, D.H.: The Surface of the Washed Human Erythrocyte as a Polyanion, *J. Gen. Physiol.*, 44 (1960), 251-268.
- 13) Schwan, H.P.: Electrical Properties of Tissue & Cell Suspension, *Medical Physics*, 4 (1962), 180-182.
- 14) Lessler, M.A.: The Surface of the Washed Human Erythrocyte as a Polyanion, *J. Gen. Physiol.*, 1959.
- 15) Fricke, H.: The Surface of the Washed Human Erythrocyte as a Polyanion, *J. Gen. Physiol.*

- isiol., 1926.
- 16) Bacq, Z.M. & Alexander, P.: Fundamental Radiobiology, p. 272, Pergamon Press, Oxford, 1961.
- 17) Danon, D. & Perk, K.: Age Population Distribution of Erythrocytes in Domestic Animals. An Electron Microscopic Study, J. Cell Comp. Physiol., 59 (1962), 117—127.
- 18) Nakao, M., Nakao, T., Yamazoe, S. & Yoshi-kawa, H.: Adenosine Triphosphate and Shape of Erythrocytes, J. Biochem., 49 (1961), 487—492.
- 19) Hill, T.L.: Electric Fields and the Cooperativity of Biological Membranes, Proc. N. A.S., 58 (1967), 111—114.
- 20) Changeux, J.P., Thiéry, J., Tung, Y. & Kittel, C.: On the Cooperativity of Biological Membranes, Proc. N.A.S., 57 (1967), 335—341.
- 21) Bergeder, H.D.: Untersuchungen zum Einfluss ionisierender Strahlen auf Zellmembranen, Strahlentherapie, 115 (1961), 90—104.
- 22) Robertson, J.D.: The Molecular Structure and Contact Relationships of Cell Membranes, Progress in Biophysics, 10 (1960), 343—418.
- 23) Robertson, J.D.: New Unit Membrane Organelle of Schwann Cells, Biophysics of Physiological and Pharmacological Actions. Amer. Ass. Advance. Sci., Washington D.C. 1961.
- 24) Eylar, E.H.: New Unit Membrane Organelle of Schwann Cells, Biophysics of Physiological and Pharmacological Actions, Amer. Ass. Advance. Sci., Washington D.C., 1962.
- 25) Solomon, A.K.: Equivalent Pore Discussions in Cellular Membranes, Proc. of the 1st National Biophysics Conf. p. 314, Yale University Press, 1959.
- 26) Glynn, I.M.: The Action of Cardiac Glycosides on Sodium and Potassium Movements in Human Red Cells, J. Physiol. (London), 136 (1957), 148—173.
- 27) Kavanau, J.L.: Structure & Function in Biological Membranes, Vol. I & II, Holden-Day, San Francisco, 1965.
- 28) Crowther, J.A., Liebmann, H. & Lane, T.B.: An Effect of X-Radiation on Colloidal Carbon, Philosophical Mag., 24 (1937), 654—664.
- 29) Gray, H.L., Read, J. & Liebmann, H.: Comparison of the Effects of Neutron and γ -Ray Ionisation on the Electrophoretic Mobility of Colloidal Graphite Particles, Brit. J. Radiol., 14 (1941), 102—106.
- 30) Kuzin, A.M.: Radiation Biochemistry, p. 251, S. Monson, Jerusalem, 1962.
- 31) Bacq, Z.M. & Alexander, P.: Radiation Biochemistry, p. S. Monson, Jernaslenm, 1961.
- 32) Lessler, M.A.: Radiation Biochemistry, p. S. Monson, Jerusalem, 1959.
- 33) Nakao, M.: Radiation Biochemistry, p. S. Monson, Jerusalem, 1961.
- 34) Brinkman, R.: Radiation Biochemistry, p. S. Monson, Jerusalem, 1965.
- 35) Hill, T.L.: Radiation Biochemistry, p. S. Monson, Jerusalem, 1967.
- 36) Changeux, J.P.: Radiation Biochemistry, P. S. Monson, Jerusalem, 1967.
- 37) Kavanau, J.L.: Radiation Biochemistry, p. S. Monson, Jerusalem, 1965.
- 38) Bergeder, H.D.: Radiation Biochemistry, p. S. Monson, Jerusalem, 1961.
- 39) Schwan, H.P.: Radiation Biochemistry, p. S. Monson, Jerusalem, 1959.
- 40) Cole, K.S.: Electric Impedance of Marine Egg Membranes, Nature, 141 (1938), 79.