



Title	X線全身照射による正常, 副腎摘出ラット肝メタロチオネインの増加因子
Author(s)	戸上, 泉
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1987, 47(1), p. 69-73
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/16611
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

X線全身照射による正常、副腎摘出ラット肝メタロチオネインの増加因子

岡山大学医学部放射線医学教室

戸 上 泉

（昭和61年8月21日受付特別掲載）

（昭和61年11月10日最終原稿受付）

A Factor of Increase of Hepatic Metallothionein Content in Normal and Adrenalectomized Rats Induced by Whole Body Irradiation

Izumi Togami

Department of Radiation Medicine, Okayama University Medical School

Research Code No. : 401.3

Key Words : Whole body irradiation, Metallothionein, Zinc, Adrenalectomy, Liver

Hepatic metallothionein (MT) content was measured in normal and adrenalectomized rats after the whole-body X-ray irradiation (20 Gy). The concentration of hepatic MT was increased 4 fold at 7 days after adrenalectomy as compared with normal rats. In comparison between adrenalectomized and normal rats, the radiation-induced increase of MT content were nearly equal. From these results, it is concluded that the involvement of endogenous corticosterone in the radiation-induced MT synthesis dose not appear to be of primary importance. Total zinc content in spleen and thymus and hepatic MT content were measured in rats at various times after whole-body irradiation (2 Gy). As compared with control, total zinc content decreased 50% and 25% respectively in spleen and thymus by 2 and 3 days after irradiation, and then its value gradually increased. Hepatic MT content increased 3 fold by 18 hr and decayed to control values by 6 days after irradiation. These results suggest that the involvement of zinc in the radiation-induced MT synthesis appears to be of primary importance.

序論

1957年、MargoshesとValleeによってウマの腎皮質からCdを多量に含有する低分子の蛋白質として発見されたメタロチオネイン¹⁾が蛋白化学の領域外で注目をされるようになったのは、この蛋白質がCdの投与によって誘導されることが明らかにされてからである²⁾。その後、この蛋白はZn, Cu等によっても誘導されることが明らかにされ³⁾、更にはホルモンや生理的ストレスでも誘導されることが報告されるに至り³⁾、中毒学の分野だけでなく生理学の分野からも注目されるよう

になっている。今までに金属やホルモン以外でメタロチオネインを誘導あるいは増加させるものとして多くの生理的ストレスや実験的処置が報告されている^{3)4)~6)}。

この中でX線照射については、この蛋白質が多量のシステインやZnを含むことから、X線照射後のSH化合物やZn代謝との関連から注目され、今までに高線量照射によって肝臓や腎臓で増加することが報告されている^{4)~6)}。しかし、増加の生理的意味やその誘導合成の機序については今までのところ充分に明らかにされていない。

メタロチオネインの誘導合成についてはZnやグルココルチコイドが重要な役割をすることが明らかにされているが³⁾、X線照射後の血清コルチコステロンについては、照射後、そのレベルが増加するが、疑似照射群との間に有意差がないこと、組織Zn量では脾臓と胸腺の総Zn量が減少することなどが既に報告されている⁵⁾⁶⁾。しかし、X線照射による肝メタロチオネインの増加にこの二つの因子、コルチコステロンとZnがどのような関与をしているかは明らかにされていない。照射によるメタロチオネインの増加にこの二つの因子がどのように関与しているか明らかにするため正常、副腎摘出ラットを用いて実験を行い若干の結果を得たので報告する。

材料と方法

実験動物としてWistar系雄ラット(150~200g)を使用した。副腎の摘出はラットをネンプタール麻酔下で背部の左右二箇所を切開する方法を行った。副腎摘出ラットは、23~24°Cの恒温室に入れて固形飼料と飲料水として5%グルコースを含む生理食塩水を与えて6日間飼育した後、実験に使用した。なお正常ラットの場合は飲料水として水道水を使用した。照射は東芝製深部X線治療装置を使用して2あるいは20Gy(2,000rad)の全身照射を行った(Cu 0.5mm+Al 0.5mm, 0.69Gy/min)。なお照射時に使用したケージに同一時間入れた群を対照群とした。

Actinomycin Dは50% Propylene glycol生理食塩水に溶かして800μg/kgの割合で照射前(2時間)に腹腔内投与を行った。照射各時間後断頭によりラットを屠殺し、肝臓、脾臓、胸腺を摘出し実験に使用した。また血液を採取し血清の分離を行い血清Znの測定を原子吸光法で行った。

摘出した肝臓より10万gの細胞可溶性分画を調製し、この細胞可溶性分画を用いて、Onosaka et al.⁷⁾のCd-hem法により肝臓のメタロチオネインを測定し、湿重量1gあたりのμgとして表わした。組織の亜鉛量は、湿重量を測定した試料に硝酸2mlを加えて、一晩置いた後、160~180°Cで5分間加水分解後、希釈して原子吸光法で測定した。

結果

(1) X線照射による肝メタロチオネインの増加に対するコルチコステロンの影響について：コルチコステロンの肝メタロチオネイン増加への影響を明らかにするために、副腎摘出ラットでのX線照射による肝メタロチオネインの増加について検討した。Fig. 1-Aに示すように、副腎摘出ラットでは正常ラットのメタロチオネインレベル(27.28μg/g wet weight)に比較して、肝メタロチオネインの著明な増加が認められた(98.76μg/g wet weight)。この結果は、Brady et al.⁸⁾, Brady⁹⁾によって報告されている副腎摘出や疑似手術によっての肝メタロチオネインの増加と一致するものと考えられた。副腎摘出ラットへの20Gy照射によって、摘出ラットのメタロチオネインレベル98.76μg/g wet weightに比較して、顕著なメタロチオネインの増加が認められた(256.26μg/g wet weight)。しかし、X線照射による増加は、正常群が165μg/g wet weight、摘出群が158μg/g wet weightと、ほぼ同じ程度であった。

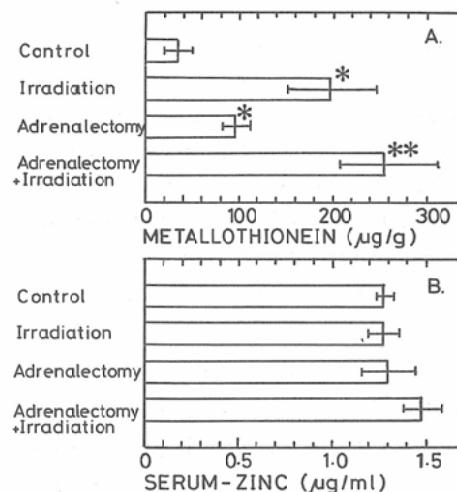


Fig. 1 Effect of irradiation on serum zinc and hepatic metallothionein content in normal and adrenalectomized rat. Whole body irradiation was administered at a dose of 20Gy. The rats were killed by decapitation 18 hr after irradiation. Mean±SD of 4 experiments. *Significantly different from control ($p<0.01$). **Significantly different from adrenalectomized rats ($p<0.01$)

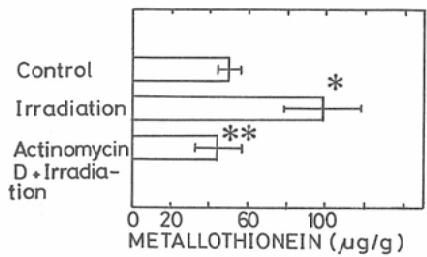


Fig. 2 Effect of actinomycin D on hepatic metallothionein content irradiated rat. Whole body irradiation was administered at a dose of 2Gy. The rats were killed by decapitation 18 hr after irradiation. Actinomycin D was administered 2 hr before irradiation. Mean \pm SD of 4 experiments.
 *Significantly different from control ($p < 0.05$).
 **Significantly different from irradiated rats ($p < 0.01$).

生理的ストレスや実験的処置で肝メタロチオネインが増加する多くの場合血清中の Zn が肝臓へ取り込まれるため血清 Zn レベルの低下が報告されている¹⁰⁾。X 線照射の場合、照射後の血清 Zn レベルについては変動は認められないという報告が既にされているが⁵⁾、今回の正常、副腎摘出ラットでも X 線照射後に血清 Zn の著明な変動は認められなかった (Fig. 1-B)。

(2) X 線照射後の脾臓、胸腺の Zn と肝メタロ

チオネインの変動について：高線量の X 線照射後、脾臓、胸腺の湿重量当たりの Zn 量は変化しないが、総 Zn 量は減少することについて既に報告されているが⁵⁾⁶⁾、照射後の生体の Zn 代謝とメタロチオネインの誘導合成との関係、特に生体が X 線照射の障害から回復する過程での関係を明らかにするために、低線量照射(2Gy)での脾臓、胸腺の Zn 量と肝メタロチオネインの変動について検討した。

Fig. 2 は 2Gy 照射後の肝メタロチオネインの増加と Actinomycin D 投与の結果を示したものである。照射後、18 時間で対照の約 2 倍の増加が認められた。この増加は Actinomycin D の投与によって抑制された。高線量(20Gy)でのメタロチオネインの増加がその生合成を伴っていることが報告されているが⁵⁾⁶⁾、その結果と一致するものと考えられた。

Fig. 3 は 2Gy 照射後の脾臓、胸腺の総 Zn 量と湿重量との変化を示したものである。脾臓の Zn 量は照射後 2 日目に最低値を示し($5.68\mu\text{g}/\text{whole tissue}$)、その後、3 日目から増加が認められるようになり、2 日目に比較して 6 日目では有意な増加が認められ($7.93\mu\text{g}/\text{g whole tissue}$)、12 日目ではほぼ照射前の値($12.01\mu\text{g}/\text{g whole tissue}$)

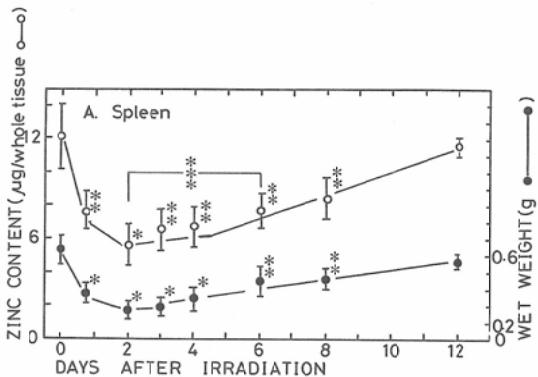


Fig. 3A

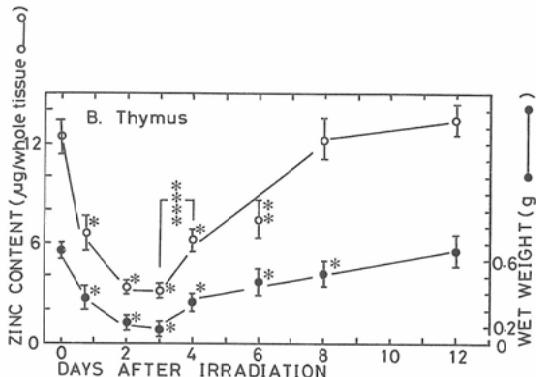


Fig. 3B

Fig. 3 Zinc content and wet weight of spleen and thymus at various times after irradiation. Whole body irradiation was administered at a dose of 2Gy. Mean \pm SD of 4 experiments. *significantly different from control ($p < 0.01$). **Significantly different from control ($p < 0.05$). ***Significantly different from irradiated rat (2 days) ($p < 0.05$). ****Significantly different from irradiated rat (3 days) ($p < 0.01$)

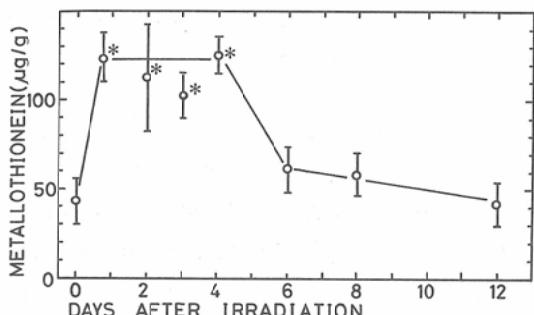


Fig. 4 The concentrations of hepatic metallothionein at various times after irradiation. Whole body irradiation was administered at a dose of 2Gy. Mean \pm SD 4 experiments. *Significantly different from control ($p < 0.01$).

まで回復していた ($11.70\mu\text{g}/\text{g}$ whole tissue)。また湿重量の変化も Zn 量の変化と同じ傾向であった (Fig. 3-A)。一方、胸腺の Zn 量は、照射後、3 日目で最低値を示していた ($3.10\mu\text{g}/\text{whole tissue}$)。4 日目では 3 日目に比較して有意な増加が認められるようになり ($6.05\mu\text{g}/\text{whole tissue}$)、8 日目で照射前の値 ($12.27\mu\text{g}/\text{whole tissue}$) まで回復していた ($12.14\mu\text{g}/\text{whole tissue}$)。また湿重量の変化も Zn 量の変化と同じ傾向を示していた (Fig. 3-B)。一方、肝メタロチオネインは照射後、18 時間で、照射前の対照群に比較して著明な増加を示し、この状態が照射後 4 日目まで続き、6 日目に照射前のレベルに戻っていた (Fig. 4)。

考 察

肝メタロチオネインの誘導合成については Zn とコルチコステロンが重要な役割をすると考えられており³⁾。特に、生理的ストレス下での肝メタロチオネインの誘導については、コルチコステロンが重要な役割をすると推定されている³⁾。X 線照射後、血清コルチコステロンが変動することについては既にいくつかの報告があり¹¹⁾、肝メタロチオネインの誘導合成への関与が推定されたが、今回の実験結果の副腎摘出ラットと正常ラットでの X 線照射による肝メタロチオネインの増加に著明な差が認められないことから、増加に影響する第一の要因にはなっていないと推定された。

X 線照射によるメタロチオネイン誘導につい

ては、Zn の動態が重要であることが指摘されており、照射後、血清 Zn レベルが変動していない場合でも肝臓に Zn の蓄積が認められること、アクチノマイシン D の投与によってこの蓄積が抑制されることや脾臓や胸腺の総 Zn 量が減少することなどが、既に報告されている^{5,6)}。今回の実験においてもメタロチオネインの増加に Zn が重要な因子として働いていると示唆される結果が得られた。すなわち、X 線照射後、脾臓や胸腺の総 Zn 量の減少と肝メタロチオネインの増加が認められること、そして脾臓や胸腺の Zn 量が増加していくこと、肝メタロチオネインが減少していくことである。

今回の結果や今までの報告から、X 線照射による肝メタロチオネイン誘導に関して以下のよう推定を行った。X 線照射に感受性の高い脾臓、胸腺、リンパ節、末梢のリンパ球等が、障害を受け、そして破壊されて、それから遊離した Zn が血清を介して非常に速く肝臓や腎臓に蓄積し、メタロチオネインを誘導するというものである。照射後、血清 Zn レベルが変動しないのは遊離していく Zn 量がそれほど多くなく、また肝臓や腎臓への蓄積が盛んに行われるためではないかと推定している。mRNA 合成阻害剤であるアクチノマイシン D の投与によって mRNA、蛋白合成を阻害しておくと、血清 Zn レベルの増加が認められるようになるという報告^{5,6)}も、この仮説を支持するものであると考えられる。もうひとつの Zn の流れとしては、X 線照射後、睾丸での Zn⁶⁵ の蓄積が低下するという報告があることから¹²⁾、骨髄や生殖器のように分裂している細胞を持つ組織での Zn 代謝が抑制されて、そのために組織への Zn の取り込みが減少し、余分な Zn が肝臓や腎臓に蓄積してメタロチオネインの誘導合成に関与していくという考えである。X 線照射後の生体での Zn の動態やメタロチオネインの誘導には不明の点が多く、今後更に検討を加える必要がある。

文 献

- 1) Margoshes, M. and Vallee, B.L.: A cadmium protein from equine kidney cortex. J. Am. Chem. Soc., 79: 4813-4814, 1957

- 2) Piscator, M.: On cadmium in normal human kidneys together with a report on the isolation of metallothionein from livers of cadmium-exposed rabbits. *Nord Hyg. Tidskr.*, 45: 76—82, 1964
- 3) Cousins, R.J.: Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc: Special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol. Rev.*, 65: 238—309, 1985
- 4) Shiraishi, N., Aono, K. and Utsumi, K.: Increased metallothionein content in rat liver induced by X-irradiation and exposure to high oxygen tension. *Radiat Res.*, 95: 298—302, 1983
- 5) Yamamoto, H.: Increase of hepatic metallothionein content induced by whole body irradiation. *Nippon Acta Radiologica*, 46: 66—71, 1986
- 6) Shiraishi, N., Yamamoto, H., Takeda, Y., Kondoh, S., Hayashi, H., Hashimoto, K. and Aono, K.: Increased metallothionein content in rat liver and kidney following X-irradiation. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, 85: 128—134, 1986
- 7) Onosaka, S., Tanaka, K., Doi, M. and Okahara, K.: A simplified procedure for determination of metallothionein in animal tissues. *Eisei Kagaku* 24: 128—131, 1978
- 8) Brady, F.O. and Bunger, P.C.: The effect of adrenalectomy on zinc thionein levels in rat liver. *Biochem Biophys Res Commun.*, 91: 911—918, 1979
- 9) Brady, F.O.: Synthesis of rat hepatic zinc thionein in response to the stress of sham operation. *Life Sci.*, 28: 1647—1654, 1981
- 10) Webb, M. and Cain, K.: Functions of metallothionein. *Biochem Pharmacol.*, 31: 137—142, 1982
- 11) Gerber, G.B. and Altman, K.I.: Hormones and systemic effects. (In) Altman KI, Berber GB, Okada S ed: *Radiation Biochemistry*, vol II. 287—330, 1970, Academic Press, New York
- 12) Matsui, K., Kometani, K. and Yaeno, K.: Effect of X-irradiation on zinc-65 metabolism in mice. *Radiat Res.*, 15: 798—809, 1961