The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	X線照射の肝臓組織に及ぼす影響について(第4報 肝細胞ミトコンドリヤの電子顕微鏡的研究)
Author(s)	早川, 勝巳
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1959, 19(2), p. 315-321
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/17174
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

X線照射の肝臓組織に及ぼす影響について
(第4報　肝細胞ミトコンドリヤの電子顕微鏡的研究)

京都大学医学部放射線医学教室(指導　福田教授)
早　川　勝　巳

(昭和34年1月27日受付)

I. 緒　言

筆者は先にX線照射に対する肝臓組織の影響を染色標本による組織学的研究ならびに位相差顕微鏡による肝細胞ミトコンドリヤ(以下ミトと略す)の観察によつて行つた.

それによれば肝臓部照射によつては,その組織学的な変化は比較的大線量にならねば強い変化を示さないことがわかつた.しかし肝臓組織の障害度と比較して,それが比較的軽微であると推測される時期においても肝機能の障害はかなり高い頻度に出現することから考えても,肝臓の各代謝過程に何等かの変動が生じていると思われる.そこで酸素系の中心と考えられるミトを指標として,位相差顕微鏡によりその障害を追求した.その結果によれば,300r 全身照射で数時間ないし12時間後ですでに軽度の変化が表らわれるが間もなく正常に復し,600r 照射群では徐々に障害の程度を増してミトの融合した像,非常に大きな顆粒状に膨潤した像,さらに数の減少がきわだつてくる.

しかしこれらのミトの変化は,なお外観的な形態の変化とか,数の減少を観察しているものであつてミトの微細な変化に論及しているものではない.そこでさらに電子顕微鏡による超薄切片の観察によつてX線照射による肝細胞ミトの微細構造の変化を検討し,一定の知見を得たので報告する.

II. 実験方法

1) 試獣　成熟白鼠(体重約 150g)を使用し約5日間の馴致期間の後,実験に供した.

2) 検査方法.動物を頚動脈切断によつて脱血死せしめ,直ちに開腹,新鮮肝の組織片を次の固定液に浸しながら約1立方mmの小片として,以後の処理を行つた.固定液としては古田等[1]の処方による,2%オスミウム酸と 0.5M蔗糖を含む$^1/_{50}$M燐酸緩衝液との等量混合液でpH 7.4の固定液を使用した.

固定,包埋の方式:先ず固定液内に投入した肝組織小片を,そのまゝ氷室内に 3.5時間ないし4時間放置して固定し,ついで流水中で約1時間水洗後,70%,95%,アルコールで各1時間,純アルコールで30分宛3回処理して脱水を終る.次にアルコールと合成樹脂の等量混合液に室温にて約1時間,その後氷室内で合成樹脂中に1時間,さらにいちど合成樹脂を変えて氷室内で一夜放置後,No. 00のゲラチンカプセル内に合成樹脂を分注して,各組織片を一つ宛入れて,これを40°C～48°Cの恒温で10～20時間放置して重合させこゝで包埋を終了する.

包埋に用いた合成樹脂は n-Butylmethacrylate, 7～8部,Methyl Methacrylate 2～3部として重合触媒には Benzoyl Peroxide を 2.5～3%の割合に加えた.この間,固定から水洗脱水の後合成樹脂中に一定時間放置するまでの操作は同一秤量瓶中で行い,最後のゲラチンカプセル中に組織片を投入する時にのみピンセットを使用し,組織片の損傷を出来うる限り避けた.

超薄切片の作製にはウルトラミクロトーム及び

ガラスナイフを用いた[2)3)]．切片は40%以下のアルコール又は少し加熱した蒸溜水上に浮かべ，Formvar膜[4)]を張つたメッシュですくいあげそのまゝ室温にて乾燥し，脱包埋をせずに電顕による観察及び撮影を行つた．

3）照射条件．島津製作所製深部治療装置．二次電圧．160KV,管電流．3mA,濾過板 0.4mmCu＋0.5mmAl,距離30cm，線量 600r一時全身照射．

照射後3日，5日，7日後に実験に供し，術前12時間に絶食せしめた．

III．実験結果

1）正常肝細胞の所見

主としてそのミトについていえば，ミトは二重の膜とその間に電子密度の低い明るい層を有している三層構造を有する限界膜があり，その内部には網状にみられる限界膜とほゞ同様の構造をもつた微細構造がみられる．そしてこの構造は切断面とミトの軸との関係によつて種々な型をとることが想像される[1)]（写眞1，2）．

限界膜とこの内部の微細構造を示す部分のほかにミトの内部には比較的電子密度の高い物質が存し，多くの場合ほゞ平均した濃度を示す．時にはこの中に更に電子密度の高い小顆粒が混在していることもある．

このミトの外に細胞質内の著明な物質としてミトの限界膜と同じような三層性の構造をもつたPalade[5)]の Endoplasmic Reti culum（E.R.）が束状に集団的に且つ平行的に存在するのをみる．時にこの E.R. の辺縁に小顆粒が附着している像をみる（写眞3）．

2）照射群

イ）3日後

ミトの変化は正常に比して明らかでなく，時にはミト内微細構造が不鮮明又は消失しているような像をみとめるが反面尚充分にかつ明瞭にその微細構造の存在を確認出来る切片もある．ミトの形の不正化もみられない（写眞4）．

現在蛋白合成の場のひとつと考えられている，E.R. の形態も正常で且つ束状をなし随所に集団的に存在している．

核膜に変化はみとめられず正常の構造を有している（写眞5）．

ロ）5日後

ミトの数とか細胞内分布に特に目立つた変化はなく形も円形から桿状形のものまで種々混在し，なかには中央がふかく細くなつて分断するような像を示すものもある．その内部微細構造はやゝ不鮮明なものが多くなつているようではなるが，しかし全く消失しているわけではない．E.R. はかなり散在性になりひとつの束を形成せず，かつ核膜の辺縁も不正になつている像（写眞6）を示すものもある．ところが（写眞7）にみられるように核膜も正常に近く，E.R. も正常時の像をよく残こしている細胞もみられる．この場合でもその微細構造は多少鮮明性を欠き，減少もしているようである．

このほかに写眞に示すようにミトとほゞ同じ濃度をもつた円形の像の中に更に濃い陰影をもつた像をみとめるが，このものがミトとは全く別なものであるかそれともミトの変化の過程にあらわれたものであるかは確証出来なかつた．

ハ）7日後

ミトは5日後に比して著しく変化の増強した像は認め難いが，その内部微細構造は正常例に比較して複雑性がなくなり，ミト内物質の中に埋れ蔽われてしまつている像を多くみることが出来る．しかしミト内物質の電子密度が正常のそれに比して特に著るしい変化を示していると思えない．

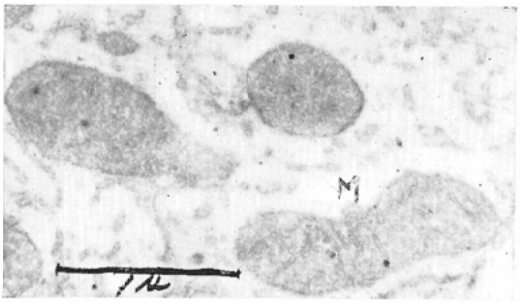
E.R. も多くの切片において疎となり，その集団性が乏しく，個々に散在している場合が多くなる．

核膜の多少不正形を示すが著しく肥厚像とか構造上の変化はみとめられない（写眞8，9）．

IV．考　　按

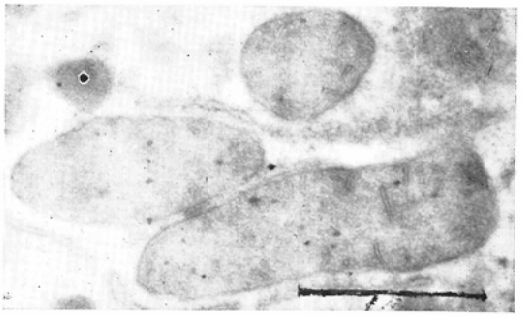
「ミト」は細胞の種類の如何にかかわらず，ほぼ同じ特徴をもつ微細構造を有している．この微細構造は固定液による処理が悪いと破壊されやすいが，良い材料によれば Palade[6)7)], Sjöstrand[8)9)10)], Claude[11)], Dalton[12)], らの研究によつてほゞ一致した成績が発表されている．

写真1



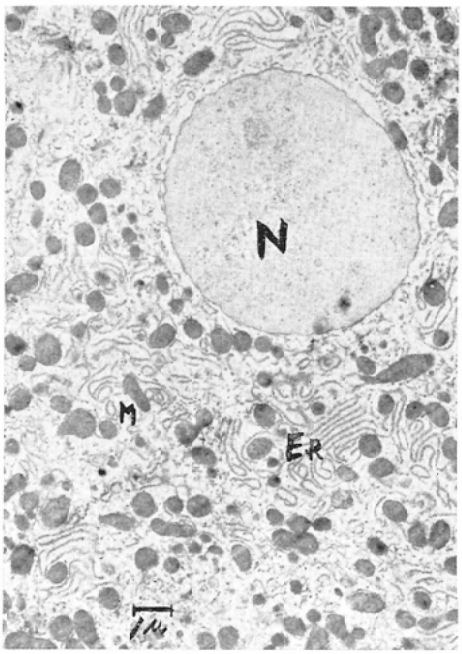
(× 50000)

写真2



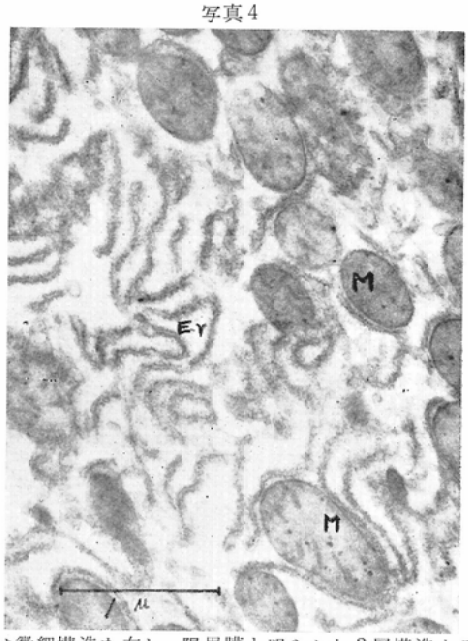
「ミト」の Crista は3層性の構造をもち限界膜と連絡があるように思われる部分もある「ミト」の内部には点状の顆粒が散在している．(× 50000)

写真3



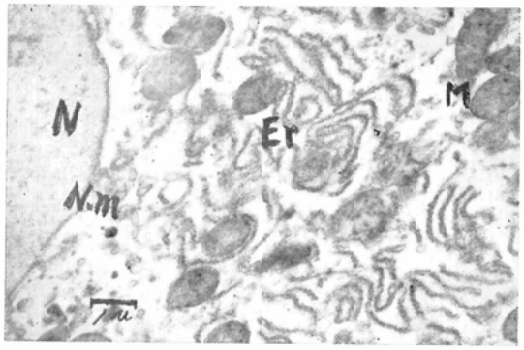
「N」核は正円形で「ミト」Mの形も正常で内部構造も確認出来る．ERも束状で集団的に存在している．(× 12500)

写真4



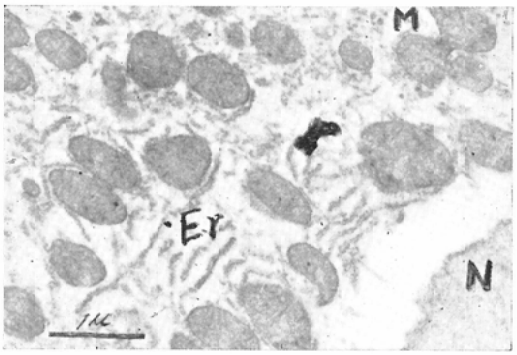
Mは微細構造を有し，限界膜も明らかな3層構造をみとめる．Er は集団的に集つて分析する．(× 50000)

写真5



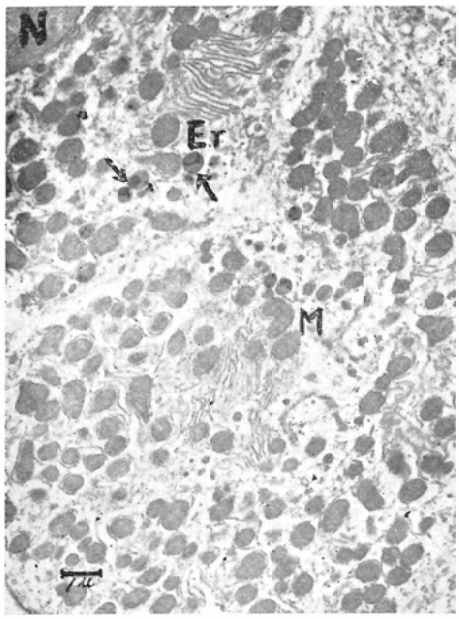
核膜に異常はない．Mにも微細構造をみとめる．(× 10000)

写真6



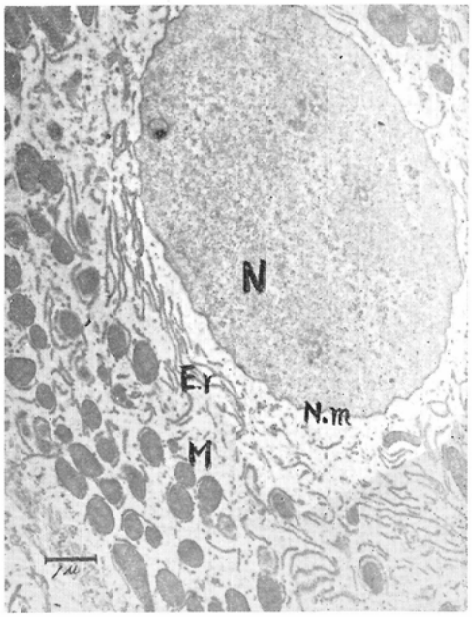
Mの微細構造は不鮮明になり核膜の辺縁もやゝ不正になつている．Erも散在性となつている．(×20000)

写真7



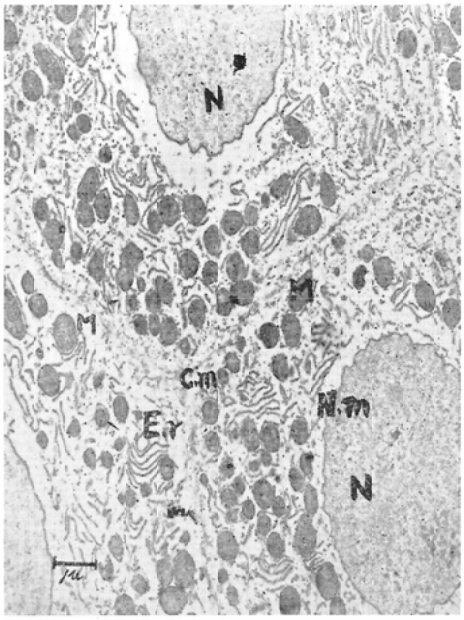
「ミト」Mは微細構造が不鮮明となつてきているが，Er はなお束状をなし集団的に分布している．→印の部に濃厚陰影を認める．（× 12500）

真写8



N.m 核膜の3層構造をみとめる．Er は比較的散在している．Mは微細構造を殆んど認めない．形はほゞ正常．（× 16000）

写真9



核膜も不正となり，E.r も大部分は散在性になつており，M も不鮮明に微細構造は認められない．（× 10000）

それらによれば「ミト」は明らかな限界膜を有し，「ミト」内網状構造(Crista Mitochondrjalis-Palade) 及び Mitochondrial Matrix の三つからなり立つている．「ミト」の限界膜は密度の高い二つの層とこの二つの層にはさまれたやゝ幅のひろくみえる明るい層との3層性の構造をもつている．

Palade の名付けた Crista Mitochondrialis は細長い「ミト」では，その長軸にたいしてほゞ直角の方向に多数並列しており，従つて切片内では特有な横縞模様として認められる．この Crista とさきの限界膜との関係については，両者に連続性があつて限界膜が内方におれまがつて一種のひだを形成しているものという考え方と[6]，両者は独立した構造であるとする見方[13]とがあるが，その正当性の決定は暫く措いてこの内部構造は大部分の細胞の「ミト」に共通なものであることはひろくみとめられている．

さきにも述べたように「ミト」の内部構造は死後変化，固定液の条件，切片の厚さ，などで非常に変化をうけやすいものであるが[14][15]，反面 Crista の間を満たしている基質の密度も生理的に細胞の機能又は生活状態によつて変つてくることもしられている[16][17][18][19]．

「ミト」が種々の病的状態において敏感に変形を示すことはよく知られているが，その際の電子顕微鏡の所見としては例へば坂口[20]は馬杉腎炎の尿細管において，光学顕微鏡的に上皮の変性がつよくなるにつれて「ミト」に表われる変化を三つに分けて報告している．それによると (1)全体が膨化すると共に基質が明るくなり，Crista は限界膜の内側にこびりついたようになり更らに全体が空胞状になるもの，(2)膨化と共に基質が密度をまして無構造状の球状の小体になるもの，(3)非常に密度の高い顆粒が出現し，それと共に Crista の消失してしまうものの三つに分けている．このほか時には一つの大きな塊になつて融合してしまつたような状態を示すこともあり，光学顕微鏡所見と併せて考えてこの種の変化は硝子滴変性に一致するものであろうと類推している．古田[41]の CCl_4 による長期に亘る障害肝の「ミト」の変化は一般に内部構造の無構造化や形態としての膨化をあげている．これらの変化は筆者が位差相顕微鏡による研究において指摘したように可逆性であることは Rhodin[22] が人の腹腔内に卵白を注入し尿細管上皮の絲粒体の変化を追及し，融合し「ミト」の内部構造の不明瞭な大きな密度の高い球となった「ミト」が正常に回復するにつれて，この球状の中に再び内部構造が表はれてくるという実験でも明らかであろう．

私の実験においても見られるように，光学顕微鏡下で障害のつよくあらわれる5日後頃から「ミト」の内部構造が多少その特徴を失つて Crista がみられなくなつてくる．そして Crista が「ミト」基質によつて蔽われてしまうような像を示すが，反面少しはその内部構造を証明出来る細胞もある．

その電子密度については古田[21]の実験にみられるように密度の高くなることが必ずしも先に述べた坂口，Rhodin の言うように障害そのものをあらわしていると決定ずけることは危険であろうと思われる．

V. 総　括

成熟白鼠にX線を照射し，その肝細胞の「ミト」の変化を電子顕微鏡により検索し次のような結果を得た．

1) 照射後5日頃から明らかに「ミト」の内部構造は不鮮明となる．いわゆる Palade の Crista Mitochondrialis は消失したり，或いは減少したりする．その上更にその三層構造は明瞭に認めにくゝなる．

2) 「ミト」の形態は著しい不正化は認めにくいがそれでも障害の程度がすゝむにつれて，卵円形，円形の形態をもつたものが多くみられるようになつてくる．

3) 「ミト」の電子密度の変化はあまり著明ではなく，そのために障害の程度と電子密度との間に明確な関係を与えることは出来なかつた．

4) 障害が進むにつれてミトコンドリヤの変化と共に Endoplasmic Reticulum (Palade) の配

列は乱れ，かつ又疎となつて散在する像を見る．

擱筆に臨み，懇篤な御指導と御校閲を賜った福田教授に深甚の感謝を捧げると共に御支援を得た古田学兄に感謝します．

（本論文の要旨は第17回日本医学放射線学会総会に於いて発表した）．

文　献

1）古田：内科宝函，3，535，1956．— 2）Latta, H. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol & Med., 74, 436 (1950). — 3）串田：電子顕微鏡，3，199（1954）．— 4）笹川編：電子顕微鏡，159（昭和29）．— 5）Palade, G.E. et al.: Anet. Rec. 112, 370(1952). — 6)Palade, G.E. et al.: Anat. Rec. 114, 427 (1952). — 7) Palade, G.E. et al.: J. Histochem. and Cytocnem. I., 1, 188 (1953). — 8) Sjöstrand, F.S.: Nature, 171, 30 (1953). — 9) Sjöstrand, F.S.: Exp. Cell Res. 4, 426 (1953). — 10) Sjöstrand, F.S.: Exp. Cell. Res. 83, 499 (1946). — 11) Claud, A. et al.: J. Exp. Med., 83, 499, (1946). — 12) Dalton, A.J.: J. Nat. Cancer Inst., 11, 439 (1950). — 13) Sjöstrand, F.S.: Physical techniques in Biological Research. Vol. 3, 245, Academic Press. Nen. York., (1956). — 14) Swift, H.: J.B.B.C., 2suppl. 414 (1956). — 15) Takaki, F.: Jikei. Med. J., 2, 27(1955) — 16) Dempsy, E.W.: J.B.B.C., 2suppl. 79 (1956). — 17) Wislocki, G.B.: Anat. Rec., 123, 33 (1955). — 18) Wislocki, G.B.: Anat. Rec., 123, 133 (1955). — 19) Watanabe, Y.: J. Electrommicro., 3, 34 (1955). — 20）坂口：第45回日本病理学会総会．— 21）古田：内科宝函，4, 391 (1957). — 22) Rhodin, J.: Correlation of ultrastructural organization and function in normal and experimentally changed proximal convoluted tubule cells of the mouse kidney. Stockholm. (1954).

Effect of X-Ray Irradiation upon the Tissue of Liver

By

Katsumi Hayakawa

Department of Radiology, Faculty of Medicine, Kyoto Unihersity.

(Director: Prof. Dr. Masasi Fukuda)

Third Report

This paper deals with the stndy by electron microscope of changes in the mitochondria of the liver cells and the resultant findings.

1. The animals in the experiment were adult rats. Their whole bodies were subjected to 600r of irradiation. The other conditions of irradiation were the same as in the Second Report.

2. From the 5th day after irradiation the inner structure of the mitochondria began to grow obscure. In addition to a decrease in the Crista mitochondrialis (Palade), the structure of the Crista mitochondrialis themselves becomes disorganized.

3. For the most part the mitochondria show a tendency toward globation. But depending on the cross-sectional angle, some appear oval in shape.

4. A clear relationship could not be established between the electron density of the mitochondria and the disorder in their structure.

5. As the liver cells deteriorate, not only does a change occur in the mitochondria but also a configuration of endplasmic reticulum (papade) pegins to appear, while the mitochondria tend to grow sparse.

Further, no significant change was seen in the granules of high electron density scattered inside the mitochondria.