



Title	組織酸素消費と放射線感受性に関する研究 第1報 3近交系マウスにおける組織酸素消費について
Author(s)	土屋, 武彦; 江藤, 秀雄; 岡本, 和男
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1965, 25(7), p. 860-864
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/17598
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

組織酸素消費と放射線感受性に関する研究

第1報 3近交系マウスにおける組織酸素消費について

放射線医学総合研究所 障害基礎研究部

土 屋 武 彦 江 藤 秀 雄

徳島大学医学部放射線医学教室

岡 本 和 男

(昭和40年6月14日受付)

The Relationship Between the Oxygen Consumption of Various
Tissues and the Radiosensitivity in Mice1. Oxygen Consumption of Various Tissues in the
Normal Physiological State of Mice

By

Takehiko Tsuchiya, Hideo Eto

Division of Radiation Hazards National Institute of Radiological Sciences

Kazuo Okamoto

Department of Medical Radiology, School of Medicine, Tokushima University

The *in vitro* measurement of the oxygen consumption by oxygraph instrument was carried out in the various tissues of three strains of mice which showed the different radiosensitivity: C57BL/6 (606R), RF (540R) and CF#1 (510R).

In any strain, the oxygen consumption, Q_{O_2} value, was observed to be gradually lower in the order of kidney, small intestine, brain cortex, liver, spleen and thymus, except of that in liver and brain cortex of C57BL/6 mice in which the order was inverted.

The Q_{O_2} value in any tissue among these strains was observed to be the lowest in C57BL/6 and to become higher in the order of RF and CF#1. This order agrees completely with the result of radiosensitivity in these strains which was observed previously by LD50/30.

1. 緒 言

近交系マウスにおける系統は、ある意味で「個体」を表現すると考えることができるし、またマウスの系統間に放射線感受性に差異があることは、すでに知られている¹⁾²⁾³⁾。筆者らは、個体における放射線感受性の差異の問題を解明する試みとして、放射線感受性の異なる3近交系マウスを用いて種々の角度から放射線感受性および生理学的性質について検討し、その相互の関係を追求し

ている⁴⁾⁵⁾⁹⁾³⁰⁾³¹⁾。その結果の一つとして LD50/30 を指標とした場合の放射線感受性と甲状腺機能との間に相関が予想されることを報告した⁵⁾。また甲状腺ホルモン、抗甲状腺剤により放射線感受性が修飾されること⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾ 感受性と基礎代謝との関係¹¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾ についての報告もみられている。

また一方、放射線感受性に対して酸素効果¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾が、左右することは明らかである。

他方基礎代謝が甲状腺機能に関連し、甲状腺ホ

ルモン、抗甲状腺剤が基礎代謝を修飾することも明らかな事実である。したがって甲状腺機能と放射線感受性とに相関があるとすれば、甲状腺機能が基礎代謝、あるいは組織の酸素消費に影響をあたえることによつて、放射線感受性に関連することが考えられる。

そこで本実験は、この点に着目し、放射線感受性と甲状腺機能の関係を検討した際に用いたのと同じ3近交系マウスについて、種々の臓器の組織の酸素の酸素消費量の測定を行い、系統間の比較検討を行った。

2. 実験方法

i) 動物 LD_{50/30} のそれぞれ異なる C57BL/6 (606R), RF (544R), CF#1 (510R) 3系統のマウス(日令60日~70日の雄)を用いた。これらの系統は放医研において、兄妹交配によつて維持されている種より得られたものである。マウスは、すべて実験開始1週間前より1匹用ケージに移し、室温23° ± 3°Cの環境下で固型飼料(船橋農場製)と水道水を自由に摂取しうるように与えた。

ii) 試料作成 マウスを、クロロホルム麻酔の後開腹し、速やかに所要の測定臓器として脾臓、腎臓、肝臓、小腸、胸腺、大脳皮質を取出し、予め氷中に静置した Tyrode 氏液の入ったシヤレー中に保存した。マウス屠殺後、少なくとも1時間以内に測定を終了するようにした。所要の測定臓器は、夏目製スライサー、またはカミソリ刃にて、組織切片を作り、湿性重量50mg内外を自動化学天秤で、1mgまで正確に秤量し、予め調整準備したオキシグラフ電極槽に入れ、経時酸素消費量を測定した。測定終了後、電極槽内容物を取り出し、シヤレーで120°C一昼夜蒸発乾燥後秤量し、電極槽内 Tyrode 氏液の構成成分、特に塩類等の重量補正を行つて、組織切片の乾燥重量とした。組織乾燥重量は、以上のすべての測定臓器について、それぞれ湿性重量の約1/5であつた。

この場合組織切片の厚みが当然問題となるので、次のように検討した。すなわち Warburg の「限界の厚み」(d)²⁷⁾と同じ考え方に従つて、

$$d = \sqrt{8C_0 \frac{D}{A}}$$

D=酸素の拡散恒数 (ml)

Krogh によると 1 cm^2 の拡散勾配につき毎分 $1.4 \times 10^{-5} \text{ ml}$ (38°C)

A = 呼吸速度 = $\frac{\text{O}_2 \text{ 消費 (ml)}}{\text{組織容積 (ml)} \times \text{分}}$

C₀=酸素濃度(ガス腔の酸素分圧) 気圧

上式によつて、それぞれ測定切片の厚みを検討すると、80%酸素ガスを使用したときは、0.3~0.4 mm以下の厚みでなければならないことになった。この組織切片厚みは、本実験の操作で十分に切片を作製することが出来た。

骨髄試料は、20匹のマウスの両下肢(大腿骨、胫骨)からのものを一緒に集めた。屠殺後速かに、両側下肢(大腿骨、胫骨)を切除し、軟部組織を十分に除去する。骨端部を切除し、骨髄は氷冷された Tyrode 氏液約 3 ml で骨幹部から 1 ml 注射筒(1/2針をつける)にて十分に洗い流す。骨髄細胞懸濁液は、1,000 r.p.m., 10分間2回洗滌遠心沈澱し、最後に Tyrode 氏液 4 ml 中に均等に骨髄細胞を懸濁し、その一部分は骨髄細胞数測定に使用し、残りの 3 ml を再び遠心沈澱して酸素消費測定用とした。骨髄細胞数算定には、白血球用メランジニールを用いて、ニオジンを0.2%に溶解した Tyrode 氏液で染色し、細胞原形質の染色しない細胞数を Bürker-Türk 型計算盤にて測定し、これより酸素消費量測定に使用した骨髄細胞数を計算した。

組織酸素消費量測定装置は、第1図の如く、箕島、望月¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾等の考案したオキシグラフ装置(島津製 Type OX-2)を使用した。オキシグラフ内の回路図は、第2図に示すように、白金電極に正負の一定の電圧を交互に加え、正の電圧を加えた時は、検流計回路は短絡し、負の電圧を加えた時のみ回路が閉じて、その際の検流計の振れが、記録装置に画かれ、これにより溶液中の酸素濃度を表わすようになっている。

iii) 電極槽 第3図に示すとおり、北大応用電気研究所望月¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾²³⁾等の設計のものと同じ形式の閉鎖式被覆白金電極を用いた。白金電極は、直径15μの白金線をガラス管内に封入、厚さ10μの

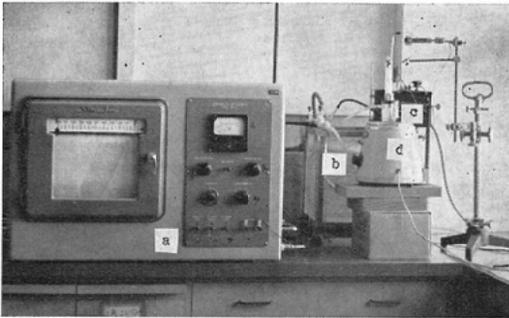


Fig. 1. Photograph of the measurement apparatus

- a. Shimadzu's oxygraph (Type OX-2)
- b. Thermostat with tonometerball
- c. Thermostat with polarizing cell
- d. Magnetic stirrer

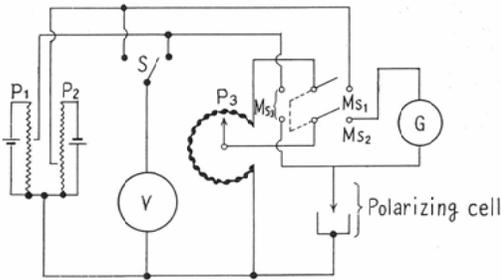


Fig. 2. Circuit diagram of oxygraph

Teflon 膜で被覆し、対極には直径 0.5 mm の銀-塩化銀電極を用い、白金電極に負電圧 0.7 V 及び正電圧 0.5 V が、交番して加わるようにした。

iv) 測定 予め恒温槽内に設置されたトノメーター装置によつて、酸素80%、窒素20%の混合ガスで飽和した Tyrode氏液を用い、測定試料としての組織切片を、測定中電極槽内のマグネチックスタラーで、かく拌できるようにした。

酸素80%、窒素20%の混合ガスで飽和された、電極槽内のTyrode氏液が、オキソグラフ記録装置で平衡状態に達した後、速やかに組織切片を作製して投入し、約3~5分間の温度平衡の時間後、約10分間測定記録し、第4図の如き組織酸素消費曲線から10分間の組織呼吸による酸素分圧変化量 (ΔP) を計測し、望月の方法²¹⁾²²⁾²³⁾により、組織酸素消費量 (Q_{O_2} $\mu\text{l}/\text{mg}$ dry wt./hr.) を算定した。組織乾燥重量を湿性重量の $1/5$ と近似すれば、

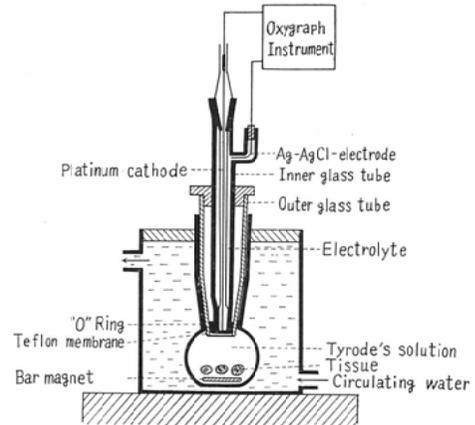


Fig. 3. Schematic illustration of the polarizing cell

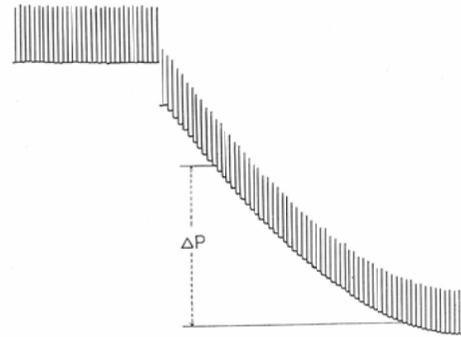


Fig. 4. Oxygen consumption curve of kidney in Tyrode's solution

$$Q_{O_2} (\mu\text{l}/\text{mg dry wt.}/\text{hr.}) = \frac{V\alpha\Delta P}{X} \times 30 \times 10^3$$

α 酸素の水に対する Bunsen 吸収係数
(3.0×10^{-5} , 38°C)

V: 電極槽容積

X: 組織湿性重量

ΔP : 組織呼吸による酸素分圧変化量

ただしこゝでは骨髓酸素消費量はつぎのように $\mu\text{l}/\text{hr.}/\text{cell}$ の単位で表わした。

$$Q_{O_2} (\mu\text{l}/\text{hr.}/\text{cell}) = \frac{V\alpha\Delta P}{x} \times 6 \times 10^3$$

x 骨髓細胞数

v) 校正 上述のような順序に従つて組織の酸素消費量の測定を行つたが、酸素電極によつて、電流感度が異なるから¹⁹⁾²¹⁾²²⁾²³⁾、溶存酸素量と電

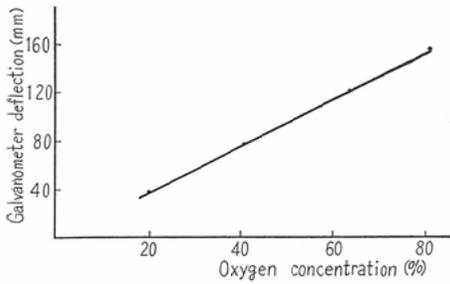


Fig. 5. Calibration curve

Table 1. Calibration obtained in Tyrode's solution equilibrated with various oxygen concentrations

Oxygen concentration (%)	Galvanometer deflection (mm)
20.0	38
40.5	77
63.5	121
80.5	156

流値とが比例関係にあることを確認する必要がある。そこまでまづScholander式微量ガス分析装置(一誠堂製²⁴⁾²⁵⁾²⁶⁾によって、使用すべき混合ガス中の酸素を測定し、このガスを用いて、オキソグラフを記録した。その結果は、第1表及び第5図に示す如く、使用した酸素20%から80%の範囲内では、明らかに比例関係の成立することが確かめられた。

3. 結果

3近交系マウス C57BL/6, RF, CF#1 のそれぞれについて脾臓、腎臓、肝臓、小腸、胸腺、大脳皮質、骨髄の各臓器の酸素消費量を、オキソグラフで測定した結果は、第2表に示す如くである。同系マウス内における臓器の酸素消費についてみると、3系統とも腎臓のが最大で、小腸、大脳皮質、肝臓、脾臓の順に減少している。ただし、C57BL/6においては、大脳皮質と肝臓のところだけは逆となっている。胸腺の Q_{O_2} 値は最も小さい。

各臓器について3系統を比較すると、C57BL/6では、すべての臓器の Q_{O_2} 値は、RF, CF#1のそれよりも小で、全体的にC57BL/6, RF, CF#1の

Table 2. Oxygen consumption of tissues in three strains of mice

Organ	Q_{O_2} (μ l/mg dry wt./hr.)		
	C57BL/6	RF	CF# 1
Spleen	8.7 \pm 0.2	9.3 \pm 0.1	9.9 \pm 0.1
Kidney	13.7 \pm 0.3	14.7 \pm 0.2	14.9 \pm 0.2
Liver	10.7 \pm 0.3	10.8 \pm 0.1	11.3 \pm 0.2
Small intestine	12.1 \pm 0.2	13.8 \pm 0.2	14.6 \pm 0.2
Thymus	7.7 \pm 0.1	8.4 \pm 0.1	9.6 \pm 0.1
Brain cortex	10.3 \pm 0.1	11.4 \pm 0.1	12.5 \pm 0.1

Organ	Q_{O_2} (μ l/hr./cell)		
	C57BL/6	RF	CF#6
Bone marrow	4.3 \pm 0.2 $\times 10^{-7}$	5.9 \pm 0.2 $\times 10^{-7}$	7.5 \pm 0.1 $\times 10^{-7}$

順序に大となっている。結果として3近交系マウス間の組織酸素消費量の比較において、C57BL/6とCF#1とは、統計的²⁸⁾²⁹⁾に有意差が認められた。

4. 考察

組織の酸素消費量において、C57BL/6が最も低く、ついでRF, CF#1の順となっていることは、放射線感受性がこの順位で次第に高くなることと符合している。また甲状腺機能との関係においても甲状腺機能が最も低いと考えられるC57BL/6の酸素消費量が最も低いことは理論的に予想と一致する。これらの点を総合すると、放射線感受性と甲状腺機能との関係は、直接的なものではなく、組織の酸素量を介してのものであり、甲状腺機能の低いものでは酸素消費が低く、したがって放射線感受性が低いと解釈することも出来るであろう。

そこで目下甲状腺機能を修飾した場合の各臓器の酸素消費量、放射線照射による、酸素消費への影響、また甲状腺機能を修飾し、さらに放射線を照射した場合の酸素消費量に及ぼす影響等に関して検討を行っている。

稿を終るに臨み、本研究を行うにあたり、種々御指導御助言を賜った東京女子医科大学箕島教授、草地助教授、徳島大学医学部河村文夫教授、電極操作その他種々御助力いただいた北大応電三浦氏、ならびに放射線医学総合研究所技術部の諸氏に深く感謝の意を表す

る。まを本実験にあたって終始熱心に協力された齊藤博子氏、杉山洋氏の努力に感謝する。

(本研究は、昭和38年度日本学術振興会の援助による。)

文 献

- 1) Grahn, D. and K.F. Hamilton: *Genetics* 42, 189—198. 1957.
- 2) Hicks, S.P., K.A. Wright and C.J. D'Amate: *Arch. Path.* 66, 394—402. 1958.
- 3) Grahn, D.: *Genetics* 43, 835—843. 1958.
- 4) Tsuchiya T., et al.: *Radioisotopes* 11(1), 81—85. 1962.
- 5) Tsuchiya T., et al.: *Radiation Research* 19, 316—323. 1963.
- 6) Stein, J.A.: *Nature* 182, 1681—1682. 1958.
- 7) Krahe, M. and Künkel, H.: *Strahlentherapie* 106, 260. 1958.
- 8) Lemaire M. and Closon J.: *Excerpta Medica Radiology* 18 (10), 792. 1964.
- 9) Hayakawa J., et al.: *Strahlentherapie* 116, 415—419. 1961.
- 10) Brophy, D., et al.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 78, 120. 1940
- 11) Matthias K. und H. Künkel: *Strahlentherapie* 106, 260—262. 1958.
- 12) Thomas J. Haley, S. Mann and A.H. Dowdy: *Endocrinol.* 48, 365—369. 1951.
- 13) Blount, H.C., et al.: *Science* 109, 83. 1949.
- 14) Kimeldorf, D.J., et al.: *Science* 112, 175. 1950.
- 15) Gray, M.A., et al.: *Brit. J. Radiol.* 26 (312), 638—648. 1953.
- 16) Gray, M.A.: *Am. J. Roentgenol.* 85, 803—815. 1961.
- 17) Tikvah A. and P. Howard-Flanders: *Nature* 178, 978—979. 1956.
- 18) Devik: *Brit. J. Radiol.* 27, 463. 1954.
- 19) 切替: 北大応用電気研究所彙報, 5, 141—157. 1953.
- 20) 浅野: 北大応用電気研究所彙報, 5, 158—172. 1953.
- 21) Mochizuki, M.: *Monograph Series of Res. Inst. Appl. Electro.* 2, 39. 1951.
- 22) 望月: 生体の科学, 3 (5), 212—218. 1952.
- 23) 望月: 生体の科学, 5 (3), 117—122. 1953.
- 24) Scholander, P.F., et al.: *Science* 95, 177, 1942.
- 25) Scholander, P.F., et al.: *J. Biol. Chem.* 148, 495. 1943.
- 26) Scholander, P.F., et al.: *Rev. Scient. Instruments* 13, 27. 1942.
- 27) 化学の領域, 増刊, 13, ワールブルグ検圧計, 南山堂, p113.
- 28) Snedecor, G.W.: *Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology* 畑村又好等訳: 統計的方法, 岩波書店.
- 29) 小川潤次郎等共訳: *メーサー生物統計学*, 朝倉書店.
- 30) 早川等: 日医放誌, 24 (4), 370—376. 1964.
- 31) 山田等: 日医放誌, 24 (7), 930—934. 1964.