

Title	走査型電子顕微鏡によるバリウム製剤の粘膜付着の研究
Author(s)	臼田, 一紀
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1997, 57(6), p. 326-329
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/17742
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

走査型電子顕微鏡によるバリウム製剤の粘膜付着の研究

白田 一紀

埼玉医科大学放射線医学教室

Scanning Electron Microscopic Studies on Mucosal Coating by Barium Mixtures

Kazunori Usuda

The purpose of this study was to observe and evaluate mucosal coating by barium mixtures using electron microscopy. Specimens from the ileum of two pigs, about 50cm in length from the terminal ileum, were divided into 3 groups with different in concentrations and additives of barium mixture. The 50cm length of ileum was cut into 10cm long pieces. Four specimens from each group were evaluated by double contrast study for coating by the barium layer. Then the specimen was frozen with liquid nitrogen solution, and fixed. Afterward, the specimen was cut into about 1cm sections, fixed again, dehydrated, dried, and observed by scanning electron microscopy (SEM). In the double contrast study, the differences in barium coating were correlated with the concentration of barium sulphate. The scanning electron microscopic findings were correlated with those of the double contrast study. The various additives in the barium mixture did not cause any distinctive differences. Although barium particles have been studied by electron microscopy, barium mixture coating state on the mucosa of biological materials has not been reported. In conclusion, a correlation of the coated barium layer on double contrast study and the images of scanning electron microscopy was observed using pig ileum specimens.

Research Code No. : 502

Key words : Contrast media, Barium

Received Nov. 14, 1996; revision accepted Mar. 21, 1997
Department of Radiology, Saitama Medical School

はじめに

注腸造影に用いる硫酸バリウム製剤の粘膜付着性はその製剤の有する特性あるいは濃度により決定される。しかし、注腸造影像の付着の判定に関してはX線像の線影の幅、鮮鋭度、コントラストなどの総合により論じられ、客観的に付着性を評価することは容易ではない。0.1 μ m以下の粒子が含まれるバリウム製剤の粒子単位の評価を行うためには電子顕微鏡を用いなければならない。今回、バリウム製剤の濃度および粘稠剤を可変し小腸粘膜に付着する形態や構造を走査型電子顕微鏡により実験的に検討し、X線二重造影像と対比した。

対象と方法

対象は体重20kgの雌の正常食用豚2匹を用いた。塩酸ケタミン25mg/kgの筋注後、挿管し、人工呼吸器に接続した。さらにネンプタル20-25mg/kgの静注により麻酔を持続し開腹した。回腸末端部より約50cm口側の回腸を摘出し水洗後、生理食塩水に浸し、直ちに摘出した50cmの豚腸を約10cmずつの長さになり分け、4標本を作製した。標本的一端を三方括栓につなぎ、他端を絹糸で特別に作成した固定具に固定した。

同様の方法にて総数12標本を作成し、これらを3つの異なるスタディグループに分けた。スタディグループ1では濃度を可変した。

造影剤はバリトゲンゾルを使用した。4標本に、100, 80, 60, 40 w/v%の濃度のバリウム製剤をそれぞれ5mlずつ手圧で注入後、さらに空気80-100mlを手圧注入し付着操作を繰り返した後、X線撮影を行った。使用したX線装置は東芝製 DRX-1603B, 焦点サイズ1.0mm, 撮影方法は焦点-フィルム間距離100cm. 増感紙は使用せず、50kV, 100mA, 15secでX-Omat TL filmを用いた。スタディグループ2では粘稠剤の種類と濃度、さらにバリウムの濃度の組み合わせで2-1)60w/v%のバリエネマ、2-2)20w/v%のLCT(low concentration technique)-20, 2-3)30w/v%のLCT-30¹⁾および2-4)LCX(low concentration xanthan gum)-30²⁾の4種類を用意し、スタディグループ1と同様の方法で注入後、X線撮影を行った。撮影後すばやく固定具ごと液体窒素の入った箱に沈め凍結後、直ちに5%特級ホルマリン1%

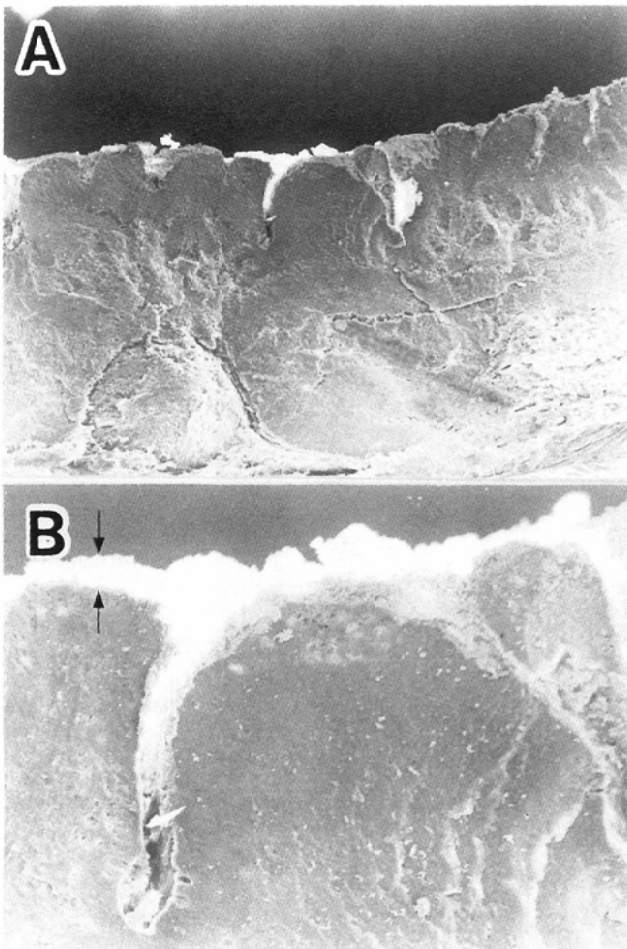


Fig.1 Low (A: $\times 25$) and high (B: $\times 150$) magnification of scanning electron microphotograph of small bowel coated barium mixture. Measurement was made between arrows (\leftrightarrow)

グルタルアルデヒド0.01Mリン酸緩衝固定液に入れて固定した。1週間低温室に放置後、標本を10mm大にカットし、各標本につき3-4の試料を用意した。さらに前固定(2.5%グルタルアルデヒド0.1Mリン酸緩衝液)、後固定(1%オスミウム0.1Mリン酸緩衝液)した後、上昇アルコール系列で無水エタノールまで脱水した。最終的な資料のカットにあたり再度、試料を液体窒素で凍結させノミを試料にあてハンマーにより5mm大にカットした。その後、臨界点乾燥を行った。試料の切断面が試料台に水平になるように接着剤で固定し、白金パラジウムでコーティングした後、電子顕微鏡で観察した^{3),4)}。装置はS-4100型走査型電子顕微鏡(HITACHI製)を用いた。試料の観察は初めに低倍率(25倍)で全体を観察し、筋層の状態を参考に切断の善し悪しや、コーティングの状態、そして付着の状態を把握した後、高倍率(40-200倍)でバリウムのよく付着している部位を無作為に4カ所選び電顕写真を撮影(Fig.1)、その拡大コピーからノギスで付着部の厚さを計測した。

スタディグループ3はスタディグループ2と同様のバリウム製剤を用い、液体窒素による標本の凍結を行わず、固定、その後の過程は同様に行った。

結 果

バリウム濃度を可変したスタディグループ1ではX線二重造影における付着層は40w/v%では線影が細く、付着はやや不良であり、60, 80w/v%と濃度が高いほど付着は良くなり、特に100w/v%では他のものに比べ線影は太く、造影剤が厚く付着していた(Fig.2)。電顕像では付着層の厚さは40w/v%で平均 $35\mu\text{m}$ (26-4)、60w/v%で $61\mu\text{m}$ (49-72)、80w/v%で $86\mu\text{m}$ (76-94)、100w/v%のものは $141\mu\text{m}$ (135-156)であった(Fig.3)。バリウム付着層は40w/v%では薄く散在性で、表面の電顕像ではバリウムの付着していない部位に絨毛や粘膜表面が多く認められた。100w/v%のものでは他のものよりも全体的に付着層は厚くなっていた。X線二重造影と電顕像とはそれぞれ相関していた。粘稠剤を異にするスタディグループ2の検討ではバリエネマ使用例のX線二重造影は他のものに比べ線影は太く、鮮明に付着していた。LCX-30ではバリエネマほど線影は太くないが、鮮明に付着しており、LCT-30は比較的線影は太いがあまり鮮明ではなかった。LCT-20では他のものに比べ鮮明ではなく付着はやや不良であった(Fig.4)。電顕像による付着層の厚さはバリエネマで平均 $64\mu\text{m}$ (53-72)、LCT-20で $21\mu\text{m}$ (12-30)、LCT-30で $29\mu\text{m}$ (20-36)、LCX-30では $31\mu\text{m}$ (20-39)であった(Fig.5)。

なお、スタディグループ3については標本の収縮、彎曲が著しく電子顕微鏡による観察、評価は困難であった。

考 察

これまで電子顕微鏡によるバリウム製剤の研究報告はあくまでバリウム粒子自体に関するもの⁵⁾で腸粘膜に付着したバリウム製剤を観察、検討した報告はない。本研究では付着の形態および構造を中心に観察、検討を試みた。

スタディグループ1の電顕像ではそれぞれの濃度に応じて付着層の厚さに違いがみられ、X線二重造影とも相関して

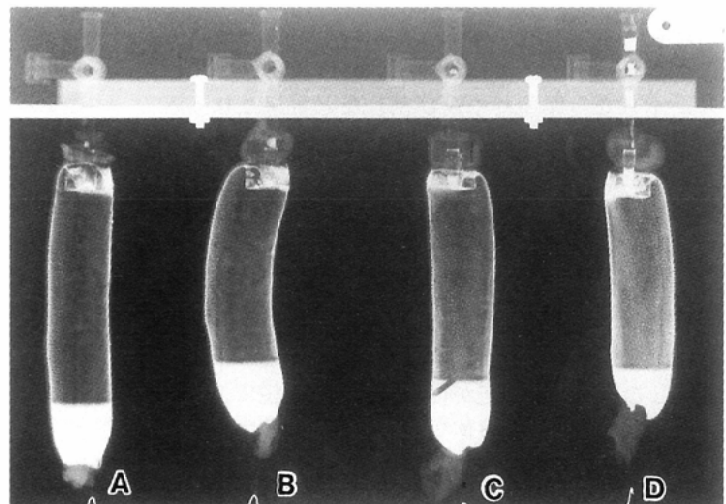


Fig.2 Double contrast image of small bowel with various concentration of barium mixture. A:40w/v%, B:60w/v%, C:80w/v%, D:100w/v%. Mucosal better coating is seen that correlated with concentration of barium sulphate.

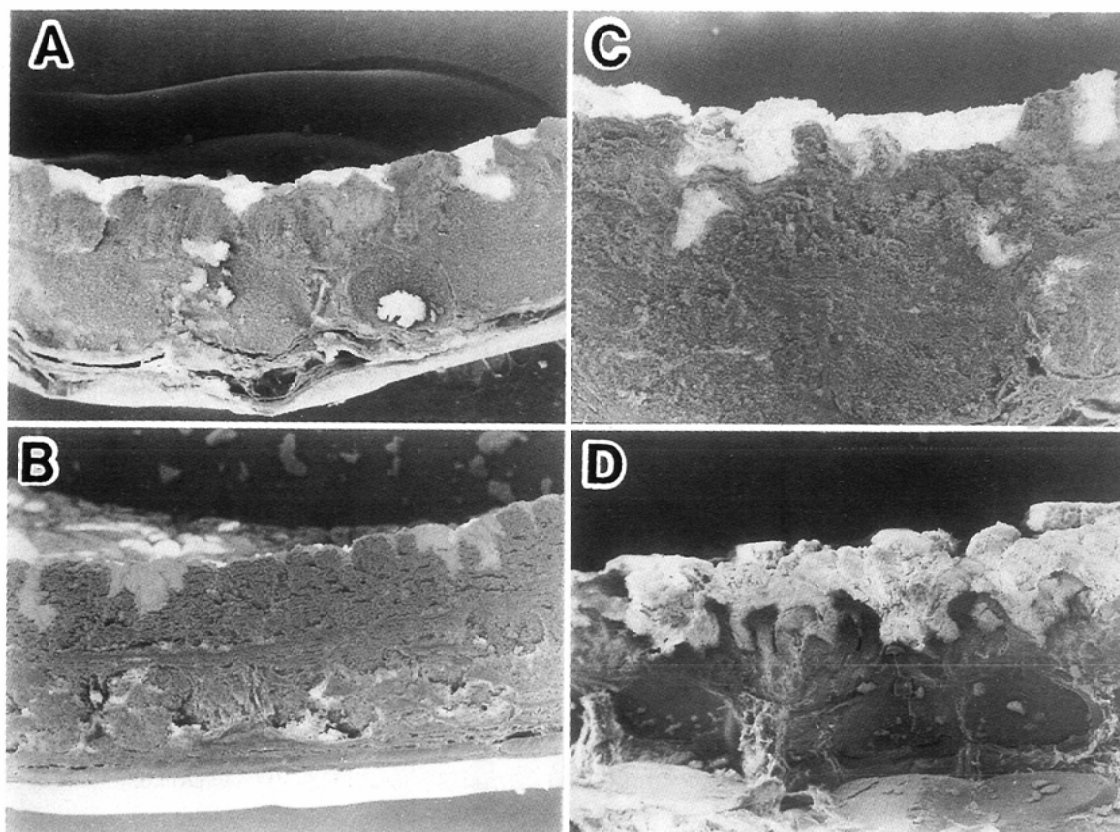


Fig.3 Scanning electron micrograph of small bowel with various concentration of barium mixture. A: 40w/v% ($\times 25$). B: 60w/v% ($\times 25$). C: 80w/v% ($\times 35$). D: 100w/v% ($\times 25$). Coated barium layer with higher concentration of barium sulphate is thick in contrast with lower one.

いたが、計測値の定量化は困難であった。その理由としては試料作製のための固定、脱水、乾燥、切断等の手技の段階で附着したバリウムが剥脱した可能性や試料の弯曲のために生ずる誤差が生じる点などが挙げられる。

粘稠剤を異にする注腸用造影剤の電顕像においてはX線二重造影でみられたそれぞれの粘稠剤による造影能の違いについての評価は不可能であったがスタディグループ1と同様に濃度による違いが見られた。電子顕微鏡の拡大率を3000倍以上にすると粘膜ひだと粘膜ひだの間に入り込んだバリウム粒子は約0.1-1.2 μm の大きさで混在していた(Fig.6)。

これらの結果をふまえて今後は粒子系の異なるバリウム製剤を中心に多くの種類の造影剤についてその附着の違いについて研究したいと考えている。X線二重造影において、40w/v%のものは附着が不良であり、本来なら厚塗りやひび割れなども起こりうる100w/v%と高濃度のものでもそれらの所見がみられなかったのは撮影前に残渣を取り除く目的で試料を洗浄したために全体的に造影剤の附着が低下したためと考えられる。低濃度の造影剤の附着がやや不均一な印象を受けるのもそのためと考えた。標本の固定に際しては、スタディグループ3で示されたように常温では消化管の特性のため収縮性が強く十分に伸展した状態での固定が行えず電子顕微鏡による観察は困難であった。液体窒素による凍結後、固定を行うことにより解凍と固定が同時に、そして徐々に進行し腸管の収縮は比較的少なく固定され電子顕微鏡による観察が可能であったと考える。

良好に切断された標本においては粘膜ひだのみなら

ず粘膜筋板、内輪状筋および外縦走筋も明瞭に観察された。

大腸と小腸では、粘膜構造は異なり造影剤の附着もまったく同一ではないと思うが動物(豚等)の消化管を使用する実験の場合、前処置が問題となる。今回のように、特にバリウム製剤の附着といった実験では腸管の洗浄が必要となる。その場合、大腸よりも小腸の方が固形残渣が少なく、また小腸壁の方がより薄く切断等の標本作製による誤差が生じにくいと考え今回は小腸を使用した。いずれ大腸についても研究を進めたい。

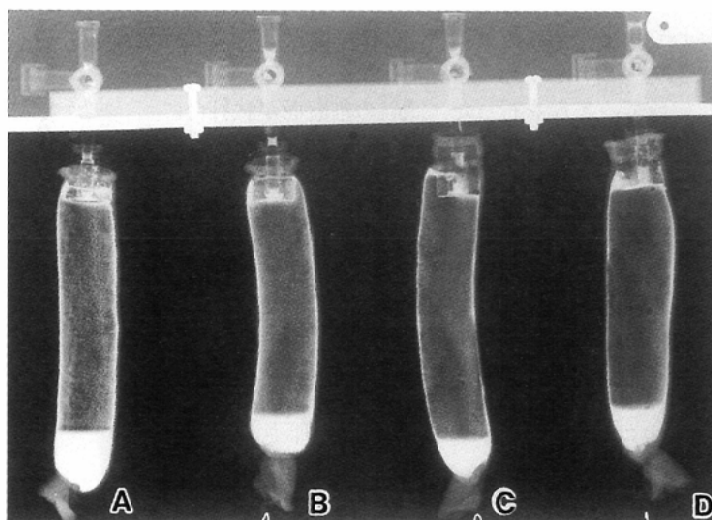


Fig.4 Double contrast study of small bowel with barium mixture that varied in concentration and additives. A:Barienema. B:LCX-30. C:LCT-30. D:LCT-20. There is a difference of coated barium layer in each barium mixtures.

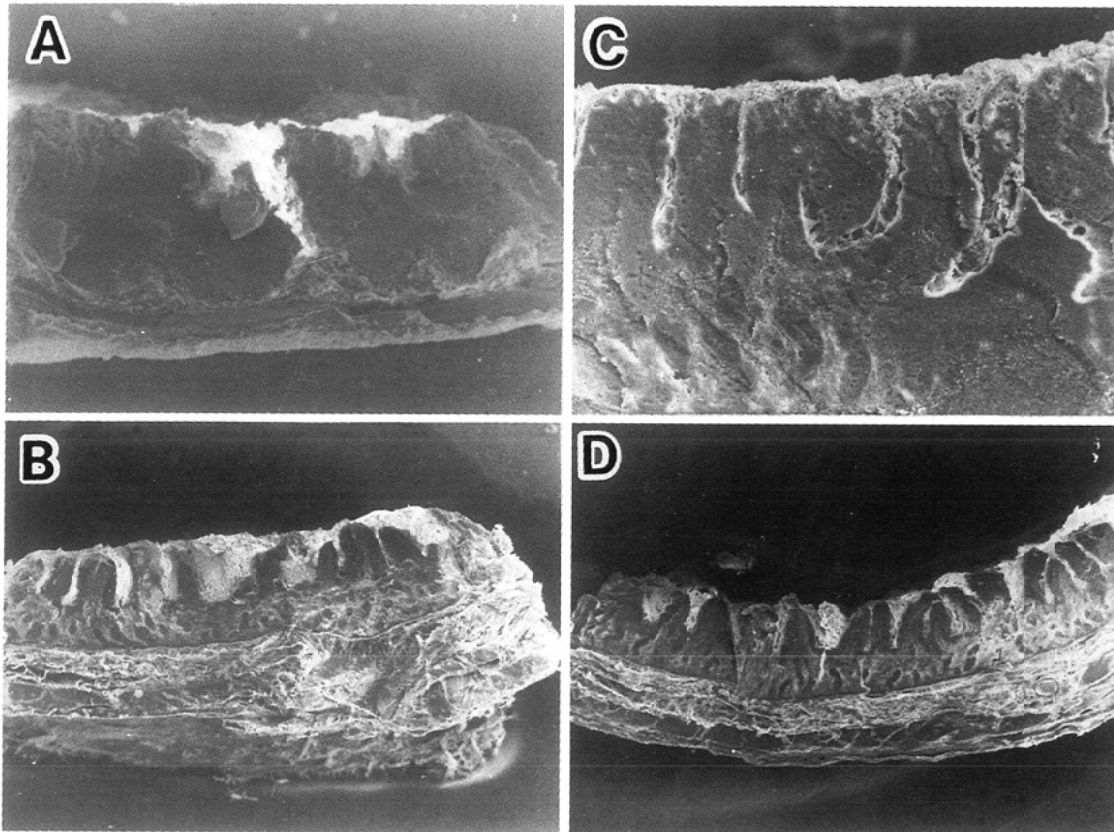


Fig.5 Scanning electron microphotograph of small bowel with barium mixture that varied in concentration and additives.
A: Barienema($\times 25$).
B: LCX-30($\times 40$).
C: LCT-30($\times 30$).
D: LCT-20($\times 25$).
The various additives of barium mixture did not give distinctive difference.

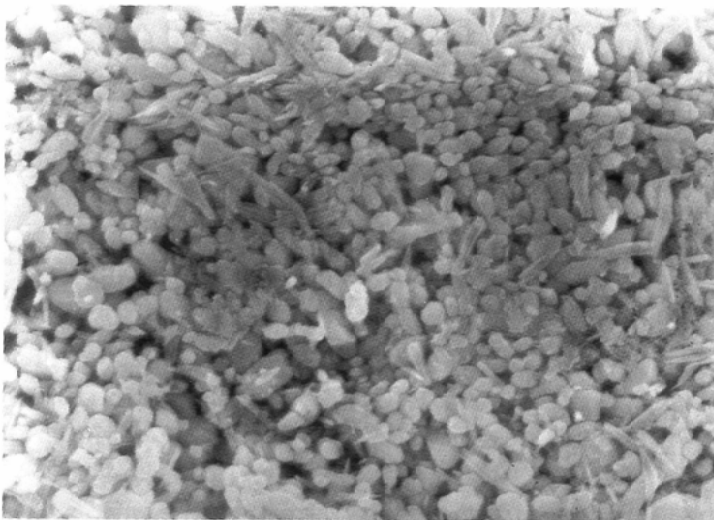


Fig.6 Fifty hundred (5000) magnification of electron microphotograph of small bowel coated with barium mixture. Barium particles are identified between mucosal fold.

まとめ

豚の小腸を用いX線二重造影との対比を中心に走査型電子顕微鏡によるバリウム製剤の粘膜付着の研究を試みた。粘稠剤による造影能の違いについては評価困難であったが濃度による違いはX線二重造影とよく相関していた。バリウム粒子も明瞭に観察できた。

今後、試料の作製方法や評価方法について改良を加えればバリウム製剤の評価に電子顕微鏡による観察が役立つと考えられた。

謝辞

稿を終えるに臨み、直接御指導頂いた放射線医学教室平敷淳子主任教授、終始御協力頂いた隣谷義人教授、ならびに教室員各位に心から謝意を表します。また、実験および電顕操作にあたり御指導を賜りました第二病理学教室高濱素秀教授ならびに教室員各位に深謝致します。

文 献

- 1) 清水弘明, 白田一紀, 滝戸正隆, 他: 注腸用造影剤の検討(第12報) - 低粘度化を図った高付着性低粘度注腸用造影剤 LCT-30の臨床的評価(LCT-20との比較を中心に) - . Ther Res 13 (suppl 2) : 176-180, 1992
- 2) 隣谷義人, 滝戸正隆, 白田一紀, 他: 注腸用造影剤の検討(第15報) - 高付着性低濃度注腸用造影剤(LCX-30)の臨床的検討 - . Ther Res 14(suppl 2) : 147-151, 1993
- 3) 海老原熊雄: 電子顕微鏡生物試料作製法, 丸善(株), 東京, 1986
- 4) 宮澤七郎, 安達公一: 医学・生物学の走査電子顕微鏡, 医学出版センター, 東京, 1992
- 5) 平井和三: 消化管造影用硫酸バリウムの基礎的研究 第三編 硫酸バリウムの電子顕微鏡像. 大阪医大誌 35(1, 2) : 95-105, 1976