

Title	137Cs γ 線照射による電解質の細胞膜透過損傷および回復について
Author(s)	宮地, 町子; 吉井, 義一
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1962, 22(3), p. 204-208
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/18717
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

^{137}Cs γ 線照射による電解質の細胞膜透過 損傷および回復について

大阪大学医学部放射線医学教室 (主任教授 立入 弘)

宮地 町子 吉井 義一

(昭和37年5月4日受付)

The Radiation Injury to Membrane Permeability for Electrolytes

by

Machiko Miyachi and Giichi Yoshii

Department of Radiology, Osaka University Medical School

(Director: Prof. H. Tachiiri)

The cell membrane plays a prominent part in the cell activity as much as the plasma does. The radiation injury to the cell membrane ultimately seems to cause an unbalance of its normal metabolism doing damage to the normal exchange mechanism of electrolytes. It is known at present that ion transport between the inside and the outside of the cell is due to two types of phenomena: Passive transport and Active transport. The present study was tried to elucidate the radiation effect of various dosage on the mechanism of ion transport.

When ^{22}Na and ^{36}Cl transport was observed under ^{137}Cs γ -ray irradiation (10kr-320kr, 500r/min) with rat blood cell, ^{22}Na retention in the red blood cell increased proportionately with dosage, while in the case of ^{36}Cl radiation effect could not be detected. Irradiation might be suggested to cause *Na-pump* block, that is, damage to active transport.

When ATP or DPN was added to the plasma to restore normal glycolysis which is considered as the most important energy source of the mammalian red cell, *Na-pump* could be kept almost perfect even if irradiated. But they used to deny the permeability of ATP or DPN into the red cell. To pursue the mechanism of restoration of radiation injury by ATP or DPN, ATP and DPN which were labeled by exposure to ^3H were available. ^3H -ATP or ^3H -DPN which was put into the plasma was followed by 30% decreasing after 160 minutes, both in the irradiated samples and in the non-irradiated ones. Accordingly almost 30% of ^3H -ATP or ^3H -DPN was estimated to be uptaken into the cell, either as themselves or as their chemical products.

However, ^3H -ATP which was expanded on paperchromatogram by Magasanik' method was detected to consist of nucleotide and nucleoside (4:6 in concentration of ^3H) after counting by gas flow radiochromatogram. Several experiments revealed that

nucleosides were uptaken in the non-irradiated cell, and both nucleosides and nucleotides appeared in the irradiated cell. On the other hand, nucleotides in the cell proved constant nearly $8\gamma/0.02\text{ml}$ by the method of photo-densitometry, so that, if nucleotides in the plasma were transported into the cell nucleotides in the cell should be 40γ considering the specific activity of $0.05\ \mu\text{C}/0.01\ \text{mg}$, while in the case of nucleosides nucleotides in the cell might be calculated at most 6γ considering the specific activity of $0.3\ \mu\text{C}/0.01\ \text{mg}$. This suggests that the membrane of the red cell could be permeable to nucleosides.

It might be concluded that nucleotides which were resynthesized from nucleosides in the cell made it possible to restore *Na-pump* which lost its activity by irradiation.

1. 緒言

細胞膜の放射線による変化は、究極において細胞の正常代謝の不均衡を起し、電解質の正常な交替を阻害するものと考えられる。Loutit(1952)¹⁾は大量照射による急死は中枢神経系の障害によるもので、その主原因は血液中のKの異常増加であるという。Fulton (1954)²⁾はハムスターに1500r全身照射4日後血清中のKの増加、Naの減少を認めている。Sheppard & Beyl (1951)³⁾はヒト赤血球を用いて *in vitro* でNaおよびKを血球または血漿にラベルし、6000r以上の照射により血漿中のKの増加、Naの減少を認めた。以後これらの問題の研究は殊に *in vitro* ではほとんど報告を見ない。筆者らは放射線の細胞に及ぼす影響の一つとして、細胞膜の電解質透過損傷および回復を *in vitro* でその機転を追求しようと試みた。

2. 実験 1

近年細胞内外の電解質輸送現象について受動輸送、能動輸送の二型が考えられ、後者に関してはいわゆる *Na-pump* の論議が行なわれている。

(1) 試料

細胞膜として赤血球を選び、健康な成熟純系 Wistar 系 Hooded Rat を雌雄別なく用い、生体解剖により心臓より直接穿刺して得た血液をヘパリンによる凝固阻止処理後使用した。照射源としては ^{137}Cs γ 線を用い線量率 $500\text{r}/\text{min}$ で $10\ \text{kr} \sim 320\ \text{kr}$ を照射した。電解質イオンとしては ^{22}Na および ^{36}Cl をそれぞれ能動および受動輸送

の指標として用い NaCl 型の等張液で使用した。

(2) 方法

最初穿刺血液 5 ml を二分し、一半より得た血漿にラベルして他半と合して試料とし、照射下、電解質の血球への移行を経時的に観察した。次に赤血球にラベルしてその血漿への移行について同様の観察を行なった。ラベルの方法は ^{22}Na 血球ラベルでは数時間室温で振動を与えながら放置し、 ^{36}Cl ラベルでは30分後次の操作に移った。測定は ^{22}Na に対しては scintillation counter を、 ^{36}Cl に対しては赤外線乾燥後 gas flow counter を用いた。

(3) 結果

a) 照射後時間経過による ^{22}Na の細胞外より細胞内への移行は、血球内とりこみについて観ると、160kr 照射で10時間後20%、40kr で25%の増加で、照射後放置による影響は少い。(Fig. 1)

b) ^{22}Na 血漿ラベルの場合、血球内に移行した ^{22}Na は照射により細胞外への排出が阻止され、照射線量増加とともに血球内の ^{22}Na は増加し血漿内の ^{22}Na は減少する。

^{22}Na 血球ラベルの場合、血球内の ^{22}Na は照射によつて細胞外への排出は阻止され、血球に貯溜する現象が認められる。対照では細胞外への排出が継続的に観察される。(Fig. 2)

c) 同様の実験を ^{36}Cl で行なうと、血漿ラベル血球ラベルのいずれの場合においても照射例と対照の間にほとんど差違が認められない。(Fig. 3)

Fig. 1 Radiation Effect following Dosages (^{22}Na plasma labeled)

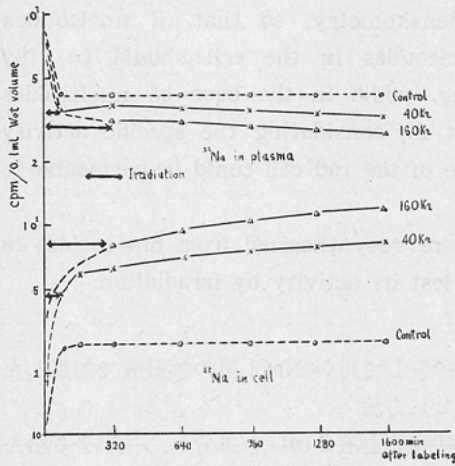
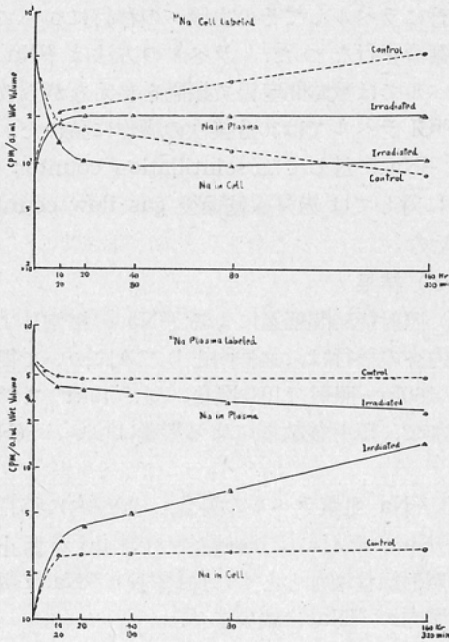


Fig. 2 Radiation Effect to Dosage

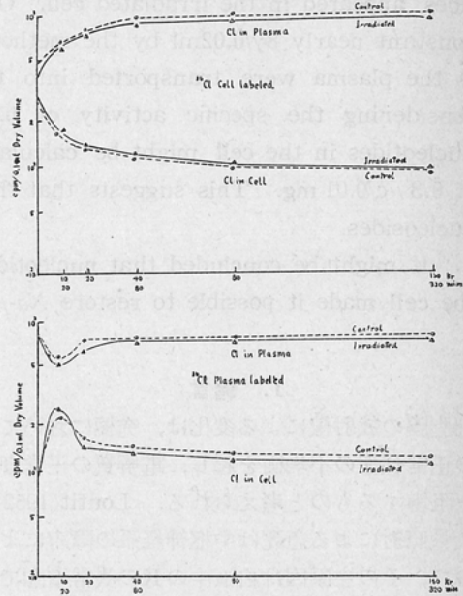


しかし本実験では照射後相当時間を要している
のでその間に受動輸送損傷回復が起つている可能
性も考え得る。

3. 実験 2

実験 1 の結果により、受動輸送損傷についての
言及はしばらくおき、能動輸送損傷機序の解明を

Fig. 3 Radiation Effect to Dosage



試みた。能動輸送機構の一説明として、イオンの
膜通過に際し膜内のある物質が担体として働く
とする考えがある。この際エネルギーは ATP の
高エネルギー磷酸結合により供給される。⁴⁾⁵⁾そ
こで筆者らは赤血球のエネルギー供給回路が照射
により損傷を受けたと考え、血液にその関与する
化学物質を供与して *Na-pump* ブロックの回復を
試みた。

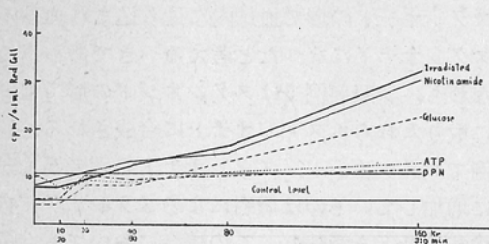
(1) 試料および方法

試料および方法は実験 1 に示したものと全く同
様であるが、この実験では血漿に ^{22}Na をラベル
して血漿から血球への ^{22}Na の移行の状態を照射
線量に対して観察して回復の指標とした。血漿中
に供与した化学物質は解糖系に関与し、且つ放射
線防禦剤として知られているグルコース、ニコチ
ン酸アミド、および ATP、DPNで、グルコース
は血漿 1 ml に 5 mg、後三者は 0.5mg とした。

(2) 結果

Na-pump 損傷の程度を ^{22}Na の血球内への取
り込みを指標として得られた結果を Fig. 4 に
示した。20kr 以下の照射では、ニコチン酸アミ
ド、グルコース、ATP および DPN を供与した

Fig. 4 ^{22}Na -uptake in Red Cell



血漿からの ^{22}Na の血球内への取り込みは非照射のそれとほとんど差がない。20kr 以上ではグルコースはわずかに *Na-pump* の回復に寄与し、ニコチン酸アミドは効果が認められない。一方 ATP, DPN 供与は明らかに照射による *Na-pump* ブロックからの回復を示している。

4. 実験 3

グルコースおよびニコチン酸アミドが赤血球膜を通過し得るのに対し、ATP および DPN は通過しにくいと考えられている。⁶⁾ 筆者らは ATP および DPN の細胞膜通過を観察するために、ATP および DPN に ^3H ラベルを行なつて血漿から赤血球への取り込みを経時的に、また照射線量に対して追跡した。

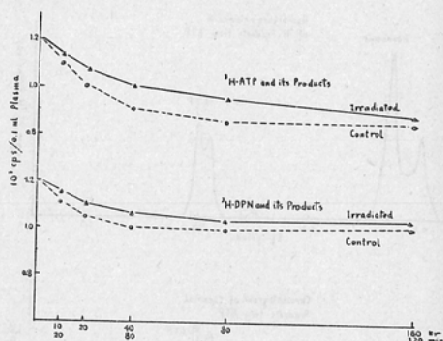
(1) 方法

^3H ラベルは50mg の市販の ATP および DPN を1cの ^3H ガスに2週間接触後、それぞれ50%アルコールに溶解せしめて再結晶を行ない試料とした。再結晶前の比放射能は1mg当り約1mcであるが再結晶後は1mg当り10 μc であり、離れやすい状態にある ^3H は離れたと考えてよいであろう。 ^3H 測定はEKC O製の liquid scintillation counter を用いて-20°Cで測定した。なお測定試料は血漿を用い、ハイアミンに溶解後、液体シンチレーターに入れた。

(2) 結果

この際、再結晶した ATP および DPN は勿論 ^3H よりの放射線によつて分解物をもっているはずであるが、 ^3H ラベルされた混合物の血漿より血球への移行がまず実験進展上の問題なので、分解生成物に関しては本実験では觸れない。結果は Fig. 5 に示した。 ^3H でラベルされた ATP およ

Fig. 5 ^3H -ATP in Plasma and ^3H -DPN in Plasma following Dosage



びその分解生成物、また DPN およびその分解生成物は、照射例、非照射例ともに160分で、血漿で約30%程度の減少を示した。両者の減少にはわずかな差がみられた。このことは ^3H ラベルされた ATP, DPN およびそれぞれの分解生成物が血球内に取り込まれたことを考えさせる。

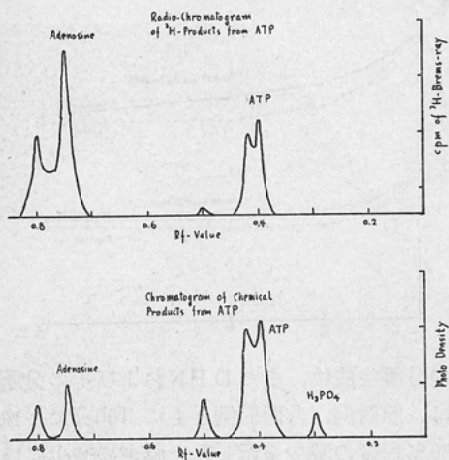
5. 実験 4

DPNによる細胞膜透過損傷回復はしばらくおき、ATPが如何なる機転をもつて回復に寄与するかを究めるために、 ^3H でラベルされた ATP およびその分解物を血漿から血球への取り込みに対して非照射また照射下において追跡した。

(1) 方法

さきに ^3H ラベルした ATP およびその分解物を Magasanik (1950)⁸⁾⁹⁾ の方法を用いてペーパークロマトグラフに展開し、風乾後 gas flow counter のマイラ窓による ^3H - β よりの制動放射線を計数した。一方、ペーパーを紫外線発色後光電濃度計により ATP およびその分解物を定量した。Fig. 6 の上図に示す如く、ATP からの ^3H 分解物は ATP を主とするヌクレオチドおよびアデノシンを主とするヌクレオシドにわかれる。下図はそれぞれの定量を意味する。従つて ^3H ラベルされたヌクレオチドが40%、ヌクレオシドが60%であり、また重量比ではヌクレオチドが80%、ヌクレオシドが20%であることが示される。すなわち比放射能は前者は5 $\mu\text{c}/\text{mg}$ 、後者は30 $\mu\text{c}/\text{mg}$ となる。これらを血漿に混じ同様の実験を行ない、血漿および血球を Schneider-Le Page (1951)¹⁰⁾

Fig. 6 Chromatogram of ATP after ^3H -gas Exposure

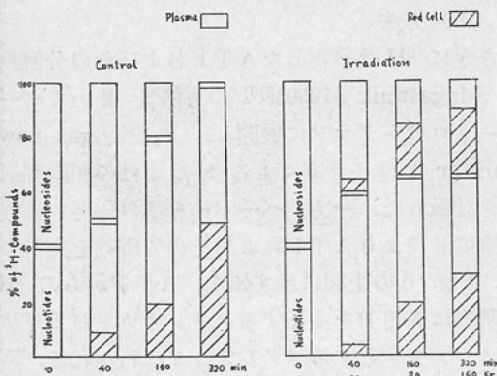


の方法に従つて Ba 不溶分割として前記のクロマト展開後 ^3H の測定および定量を行なつた。

(2) 結果

Fig. 7 に示す如く、非照射例では血球に ^3H ラベルされたヌクレオチドが経時的に増加する。照射例ではヌクレオチド、ヌクレオシドの両者が増加する。

Fig. 7 Nucleotides-Nucleosides ratio in Plasma and Red Cell



一方、光電濃度計による血球内のヌクレオチドの量は 0.02ml 当り約 8γ の一定値を示しており、もし血漿内のヌクレオチドが取り込まれたとすると、比放射能は 0.01mg 当り $0.05\mu\text{c}$ であるので血球内ヌクレオチドの量は 40γ となる。ヌクレオシドが取り込まれたとすると、その比放射能は 0.01mg 当り $0.3\mu\text{c}$ であるので血球内のヌクレオ

チドの量はたかだか 6γ 程度と計算される。従つてヌクレオシドの形で血球内に取り込まれ血球内でヌクレオチドになつたと考えるべきであろう。すなわち、非照射例ではヌクレオシドの形で血球内に取り入れられヌクレオチドに合成される。照射例でヌクレオシド、ヌクレオチドの両者が血球内に増加しているのは照射によるヌクレオチドの合成能の低下を意味し、この場合においても合成されたヌクレオチドが細胞膜透過損傷回復に役立つと考えるのが至当であろう。

6. 結語

(1) 照射によつて *Na-pump* はブロックされる。これは能動輸送機構が放射線によつて損傷を受けたことを意味する。

(2) この実験操作内では、Cl の細胞膜内外輸送に関しては変化が認められない。

(3) 照射による *Na-pump* の損傷はグルコース、ニコチン酸アミドの供与では回復されない。ATP あるいは DPN の供与によつて放射線損傷は回復される。

(4) ATP の場合、回復の機転は血漿中のヌクレオシドが血球内に取り込まれヌクレオチドに合成され能動輸送機構損傷の回復に役立つものと考えられる。

おわりに ^3H ラベルに一方ならぬ御協力を頂いた田辺製薬研究部に厚く感謝する。また終始理解ある態度で助言頂いた立入弘教授、実験に際して労を惜みず助力頂いた片山美智代嬢にあわせて深甚の謝意を表する。

文 献

- 1) Loutit, J.F.: Biological Action of Radiation, Lectures on the Scientific Basis of Medicine, 1, 139 (1952).
- 2) Fulton, J.P. & Sudak, F.N.: Am. J. Physiol., 179, 135 (1954).
- 3) Sheppard, C.W. & Beyl, G.E.: J. Gen. Physiol., 34, 691 (1951).
- 4) 吉村寿人: 生体物理化学シンポジウム第2集, p. 71 (1957) 南江堂.
- 5) Glynn, I.M.: The Method of Isotopic Tracer Applied to the Study of Active Ion Transport, p. 47 (1958) Pergamon Press.
- 6) Handler, P. & Kohn, K.I.: J. Biol. Chem., 150, 447 (1943).
- 7) Albaum, H. G., Cayl, T. & Shapiro, A.: J. Clin. Investigation, 30, 525 (1951).
- 8) Magasanik, B. et al.: J. Biol. Chem. 186, 37 (1950).
- 9) 吉川春寿他: 生体の科学, 9, 328 (1958).
- 10) Schneider, W. C. & LePage, G.A.: Umbreit, Manometric Technique and Metabolism, p. 186 (1951).