

Title	肝細胞における <sup>198</sup> Auコロイドの分布に関する研究
Author(s)	長瀬, 勝也; 橋本, 明
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1969, 29(5), p. 491-501
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/18762">https://hdl.handle.net/11094/18762</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

肝細胞に於ける  $^{198}\text{Au}$  コロイドの分布に関する研究

順天堂大学医学部放射線医学教室

長瀬勝也 橋本明

(昭和43年12月7日受付)

Distribution of  $^{198}\text{Au}$  Colloid in Hepatic Cell

Katsuya Nagase, Akira Hashimoto

Department of Radiology, Juntendo University, School of Medicine

$^{198}\text{Au}$  colloid is the radioisotope which is used frequently for liver scintigram.

The distribution of  $^{198}\text{Au}$  colloid in hepatic cell has been investigated as an autoradiography. However it is still not clear by now the relation between intaken  $^{198}\text{Au}$  colloid in the hepatic cell and its fine structure, or the distribution and the time.

I have studied it by using the electron microscope, and this time. I have studied the relation between the fine structure in cells and  $^{198}\text{Au}$  colloid by concerning the point that  $^{198}\text{Au}$  colloid is granular.

The material used is a rat, weighting 120 gr., which is injected with  $^{198}\text{Au}$  colloid in the vein of the tail.

Then they sacrificed 10 minutes, 20 min., 40 min., 1 hour, 3 hours, 6 hours, 9 hours, 12 hours, and 24 hours, a total of 9 times, and the hepatic cell specimens were collected which were sectioned with a microtome.

1) Observation of 10 min. after injection.

It is already recognized high electron density granule,  $^{198}\text{Au}$  colloid, which were scattered among the fine structure in the hepatic cell protoplasm at this stage, and were seen inside of the lysosome.

2) Observation of 20 min. after injection.

It seemed almost the same as the former stage, but the granules in the protoplasm show a little increase.

3) Observation of 40 min. after injection.

Some granules are scattered in the lysosome at this stage, then they gathered and became considerable size.

4) Observation of 1 hour after injection.

It must be still taking  $^{198}\text{Au}$  colloid, have seen the granules around the cells. A part of the lysosome, some granules are gathered inside of it and became the one with irregular outline.

5) Observation of 3 hours after injection.

There are not many small granules at this stage., Each granule became bigger and scattered among mitochondria.

6) Observation of 6 and 9 hours after injection.

The granules which have taken in the lysosome of hepatic cells became round, and generally increased electron density, besides a part of surroundings are increased.

The later were seen to be separated by something double patterned material and were recognized the protuberance around the centre area.

It is quite clear that  $^{198}\text{Au}$  colloid has been taken in the mitochondria.

7) Observation of 12 and 24 hours after injection.

The mitochondria which has taken  $^{198}\text{Au}$  generally increases the electron density on endoplasm, besides inside it there is almost a round granule which has fairly high electron density. Many of these hepatic cells which have taken  $^{198}\text{Au}$  are recognized in it.

I did the experiment to prove that the  $^{198}\text{Au}$  colloid gathers to the mitochondria of hepatic cell.

The rat has been used, injected in the vein, then collected the hepatic structure after 24 hours, and homogenized it attempt by the centrifugal separator.

As a result of above,

73%  $^{198}\text{Au}$  colloid at large granular segment,

13% at small granular segment

近年になり臨床検査の方法および種類等が次第にその数を増すとともにまた検査の施行回数も増加する傾向になつて来た。

その中でもアイソトープを使用しての検査はここ数年の間に方法等も確立し普通の臨床検査と同様に容易に実施されかつその診断的価値も次第に認められる様になつて来た。

これらのアイソトープを使用しての検査では種々の臓器に対して、その目的にあつたアイソトープを使用することが大切であるが、その中で現在肝検査では  $^{131}\text{I}$  Rose-Bengal 液を使用しての肝機能検査と胆嚢機能検査、種々のアイソトープを標識した蛋白凝固物質また前述せる  $^{131}\text{I}$  Rose-Bengal 液そして放射性金コロイド液を使用しての肝シンチグラム等はその中でもよく実施されるものである。

この様に肝シンチグラムの作製には種々のアイソトープおよび物質が使用されるのであるが、この中で一般的によく使用されるものはやはり放射性金コロイドであろう。

この放射性金コロイドは普通投与方法として静脈内注射が行われるのであるが、投与された金コロイドは肝で先ずクッペル氏星細胞に摂取されることは議論のないところであろう。しかし肝の大部分をしめる肝実質細胞に放射性金コロイドが摂取されるか、いなかには常に問題になるところである。

以上のことはラジオ、オートグラフを作製してもある一定量が摂取されれば、これを認めることができるであろうが、現在までの文献ではあまり明白になつていない。

我々は従来より電子顕微鏡を使用して放射線照射後における肝細胞の微細構造の変化について研究を行つて来た。

肝シンチグラムに使用される放射性金コロイドは、その粒子の大きさは  $10\sim 30\text{m}\mu$  の金属粒子であることにより電子顕微鏡を使用することにより、この粒子を直接観察することが出来る。これらの利点を利用して肝細胞内にはたして放射性金コロイドが摂取されるか摂取されるとすれば、細胞内の微細構造との関連を同時に観察するために、動物を使用して注射後一定時間経過せる肝細胞について、放射性金コロイドの分布を観察した。

#### 実験方法

実験動物には 120 g の雄のラットを使用した。飼料は船橋農場製 F-2 ラット用固型飼料を使用し、実験に使用する前 1 週間を同一飼料にて飼育し使用した。

標本作製方法はラットにエーテル麻酔をほどこし、尾静脈より一定量の  $^{198}\text{Au}$  コロイドを注入し注射後 10分 20分 40分 1時間 2時間の 5回にわたり、ラットを殺し、肝組織を  $1\sim 2\text{mm}^3$  の切片となし pH 7.4 の 1% オスミック磷酸緩衝液中に投入し、 $3^\circ\text{C}$  にて 2 時間固定し、固定後は蒸溜水にて

水洗し、次で50%70%90%95% 100%のエチル、アルコールにて各々60分間順次脱水処置を行い、Epoxy resin 包埋を行った。

超薄切片はマイクロームにて作製し、電子顕微鏡にて観察した。

### 実験結果

#### 1) 放射性金コロイド注射後10分の所見

注射後10分の所見ですでに肝細胞の原形質中に散在性に電子密度の可成り高い粒子の集まっているのを認めることが出来る。これらの粒子は肝細胞の中でも特に細胆管に近い肝細胞の原形質中に多く集まっている傾向にあつた。さらに拡大率をまして観察すると粒子の集りの周囲には線状の物質があり、これによつて境されている。この線状の物質は原形質内のライソゾームの限界膜であり、この間隙に放射性金コロイドが観察された。

このライソゾームの間隙にある粒子は一つ一つの粒子として観察出来るのもあり、またこれらの粒子が集り種々の大きさの電子密度の大きい粒子として観察されるものもある。また細胞と細胞の間すなわち細胞間隙は全体ではないが、一部の細胞間隙には軽度の拡大を認めることがあるが、著明なる拡大はみとめられない。

ただ一部の細胞における糸粒体の変化として時に糸粒体櫛のみだれが認められる。しかしこの様な糸粒体においても周囲の二重膜構造には著明な変化は認めることが出来なかつた。

#### 2) 放射性金コロイド注射後20分の所見

肝細胞の原形質における放射性金コロイドの数は10分後に比較して、可成り増加し摂取が急速に行なわれたことを示している。

摂取された粒子は同じ径路を通つてライソゾームに集つた如くでライソゾーム中の粒子もその数を増加している。

ライソゾーム中の粒子を観察すると、10分後とは幾分異り粒子が一つ一つで認められるものは少なく、多くは幾つかの粒子が集つて一つの塊りを形成しているのが多い。これらの粒子の集りて、あたかも「クモ」の巣状を呈しているのがよく観察される。

#### 3) 放射性金コロイド注射後40分の所見

肝細胞を観察するに全体に原形質内の粒子は時

間の経過とともに次第に増加する傾向がみられた。

個々の細胞の原形質では、その微細構造の変化を観察すると、原形質中のライソゾームに放射性金コロイド粒子を認める認めないにかかわらず、肝細胞における小胞体は全体に間隙の拡大を認める。

粒子を有するライソゾームでは、間隙の拡大せる中に電子密度の大きな粒子が単純で認められるものまたは数個づつ集つて比較的大きな粒子となつている像等が認められる。

また粒子の大きさであるが、全体を観察すると20分後とは異り粒子の集りは大きくなつている傾向にある。この粒子をよく観察すると粒子の多く集つた大きな顆粒状のものでは、全体に同一電子密度を呈することなく部位により異なるすなわち同一顆粒でも電子密度の高いところと低いところが混在しており一様の電子密度ではないことが観察された。

#### 4) 放射性金コロイド注射後一時間の所見

この時期になると肝細胞内に放射性金コロイドがあまり摂取されないためか、原形質内の粒子の数はあまり増加していない様に思われる。

この時期に放射性金コロイドがあまり摂取されないであろうと云うことはまたライソゾーム中に前時期より単独に存在する粒子の少ないことから同時に推測することが出来る。

観察されたライソゾーム中の粒子は大きなものあり小さなものありで、大小種々であるが注射後短時間で認められた様な不整形の顆粒はあまり観察されなくて、全体として顆粒は丸味をおびており比較的顆粒はその大きさに差をみとめなくなる。

また短時間経過後における観察では、肝細胞の原形質の比較的核より遠い部分のライソゾームの間隙に認められた粒子は、時間の経過とともに核に近いライソゾームに多く認められる様になつて来た。

顆粒自体の変化としては、観察した肝細胞全体について云えることであるが短時間の顆粒に比較して、顆粒の電子密度は時間の経過とともに高く

なる傾向がある様に観察された。

#### 5) 放射性金コロイド注射後3時間の所見

この時期では前時期と変化はほとんど同様で、多くの細胞の原形質では、小胞体の間隙は程度の差はあるが拡大を示してゐる。

また原形質における糸粒体を観察するに周囲の二重膜構造は明らかにみとめられかつ糸粒体等にも著明なる変化をみとめない。

この様な小胞体および糸粒体等の散在するところに電子密度の特に大である大小さまざまな円形をした粒子の集りをライソゾーム中にみとめることが出来る。

これ等の粒子の集りである顆粒の電子密度は全体に一樣でなく、電子密度の比較的高い部分の中にさらに高い部分を認める顆粒が多く、この時期に特有な像と云うことが出来る。

#### 6) 放射性金コロイド注射後6時間の所見

原形質における小胞体を観察すると全体に小胞体の間隙の拡大を認めることは3時間後と同様であるが、3時間後の場合には小胞体の拡大はほとんど同程度であつたが、この時期では間隙の拡大は非常に高度のものもありまたあまり拡大を示さぬもの等その拡大に可成りの差を認めることが出来る。

そして、ライソゾーム中にある一つ一つの粒子を観察するに放射性金コロイドの粒子が集り大小の電子密度の高い部分を示しているが、その中でも粒子の中心部が電子密度の高くなつてゐるもの、また粒子の周囲が電子密度が高くなつてゐるもの等をもとめ一樣でない。このことは顆粒中の電子密度が種々の変化を来たしたものと考えられる。

#### 7) 放射性金コロイド注射後12時間の所見

注射後40分より見られた小胞体の拡大は6時間後より次第に変化を示して来たが、さらにこの時期では前時期に小胞体の間隙の拡大は種々の大きさを示したものが、この時期になると全体に間隙は縮少を来たし高度の小胞体間隙の拡大を示すものは認められなくなる。

原形質中にみられる粒子はこの時期にはあまり摂取されないのか、数の増加はみとめられない。

また顆粒は全体的に電子密度の増加を来たしている。

この時期に特有なのは、前述せるライソゾーム中に摂取された粒子および顆粒とともに周囲に電子密度の高い二重の膜が有り、その中に月状または随円形をした電子密度の高い物質が存在するのを観察することが出来た。特にこれらの電子密度の高い物質の周囲に同じくらいの電子密度を有する物質でとりかこまれている像をみとめる。

また一部には二重膜構造の内部が全体的に電子密度が高くなりさらにその中に点状の電子密度の高い部分を数個みとめるものもある。

これらの像をさらに拡大し観察すると、二重膜構造とともに内部に糸粒体縷を観察することが出来、これらの像は放射性金コロイドの粒子が糸粒体の内部に摂取されたものと考えたい。

#### 7) 放射性金コロイド注射後24時間の所見

この時期ではライソゾーム中に摂取された放射性金コロイドに変化がみられる。すなわちライソゾームの内部に摂取された放射性金コロイドの粒子の集りは、種々の大きさを示していたが、これらの顆粒は全体的に同じくらいの大きさを示す様になる。

これとともに小胞体の間隙はさらに縮少しライソゾーム中の顆粒は電子密度が高くなり、全体に濃縮された様な像を示す。

また糸粒体の内部に摂取された放射性金コロイドの粒子は小胞体と同様に全体に電子密度が高くなつてゐる。そして糸粒体の基質の電子密度が高くなつたものでは、その中に円形または楕円形の電子密度の高い部分をみとめることの出来る糸粒体もある。

この様な場合でも周囲の二重膜構造および糸粒体縷は明瞭にみとめることが出来る。

#### 8) 細胞成分の分離

放射性金コロイドの肝細胞内分布については前述せる結果を得たが特に6時間後ではある細胞の糸粒体に12時間24時間後には顕著に糸粒体内に放射性金コロイドを認めた。故に我々が観察した24時間以内では最終的には一部の放射性金コロイドは糸粒体に存在した。さらにこの観察結果を実

PREPARATION OF CELL COMPONENTS  
(All procedures should be carried out in a cold environment)

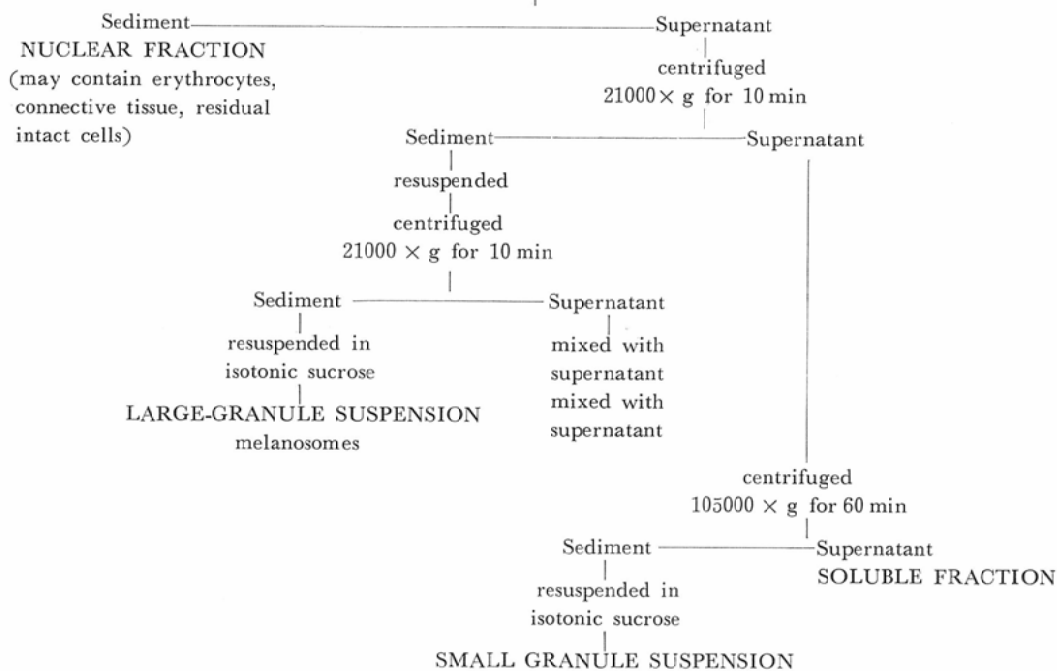
Tissue in 5~9 vols. isotonic sucrose solution.

homogenized for 2 min

(Potter-Elvehjem type homogenizer)

centrifuged

700 × g for 10 min



証するために細胞成分の分離を行い各分層における放射能を検査し確実を期した。

細胞分離は Hgboom 法にしたがつた。

実験方法

100g のラットの尾静脈より放射性金コロイドを注射し、24時間後に約 5g の肝組織を採取し速みやかに約 0℃ の温度で 0.25M 蔗糖液で均等の浮遊液を作製した。

初ず 700Xg で10分間超遠心分離を行い沈渣と上澄に分ける。この沈渣は Nuclear fraction である。

さらに上澄を 21,000Xg にて10分間分離する。その沈渣が Large granule suspension である。

さらにその上澄を 105,000Xg にて60分間遠心する。

この沈渣が Small-granule suspension である。

以上の手技にて、これらの沈渣すなわち Nuclear fraction, Large granule suspension および Small granule suspension と上清について一定量を採取し、これらの資料について放射能を測定し、放射性金コロイドの分布について検査をおこなった。

結果

Nuclear fraction 14% Large granular suspension 73% Small granular suspension 13% Soluble Fraction 0% であつた。

以上の結果より放射性金コロイドは注射後24時間間で相当量が糸粒体中に存在することを知つた。

9) 考案

肝シンチグラムの作製には種々のアイソトープ

Fig. 1~3. Observation of 10 min after injection

Fig. 1

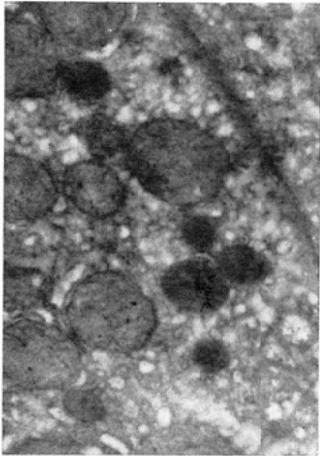


Fig. 2

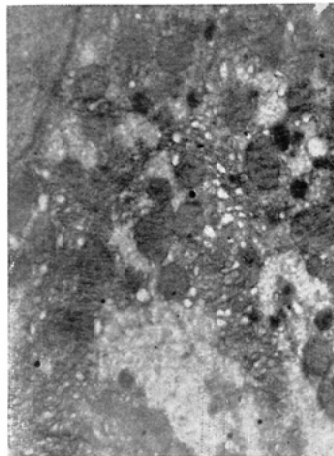


Fig. 3

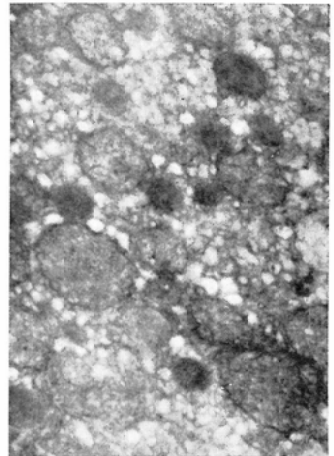


Fig. 4~7. Observation of 20 min after injection.

Fig. 4

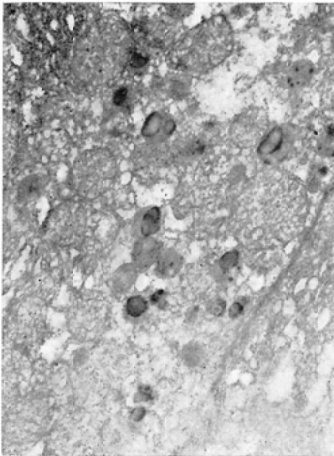


Fig. 5

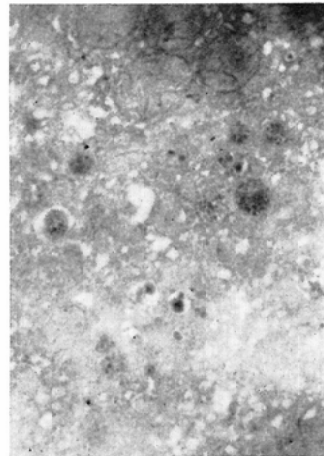


Fig. 6

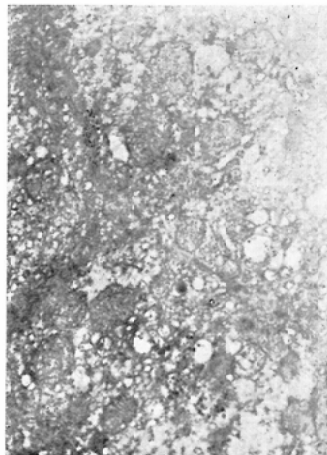


Fig. 7

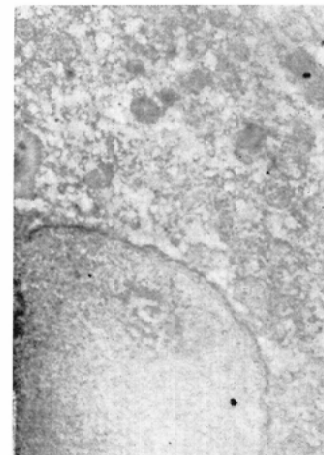


Fig. 8~11. Observation of 40 min after injection.

Fig. 8

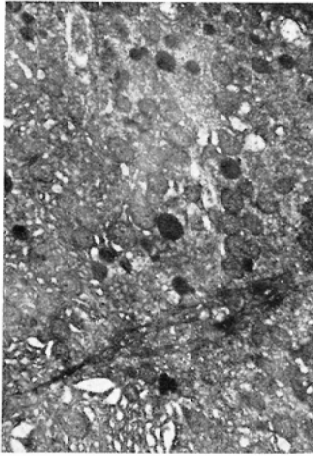


Fig. 9

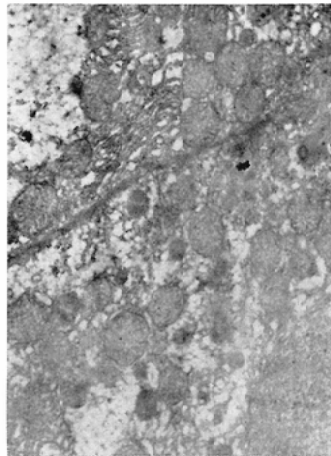


Fig. 10

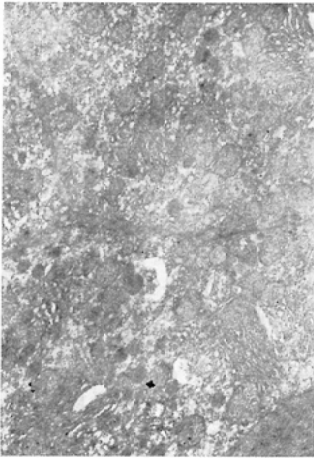


Fig. 11

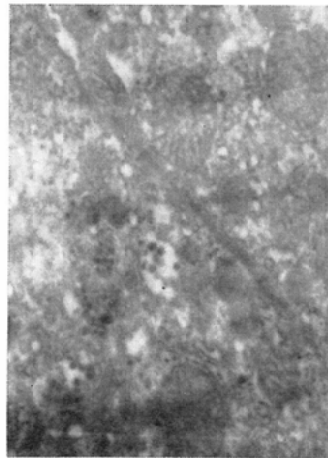


Fig. 12~ 14. Observation of 1 hour after injection.

Fig. 12

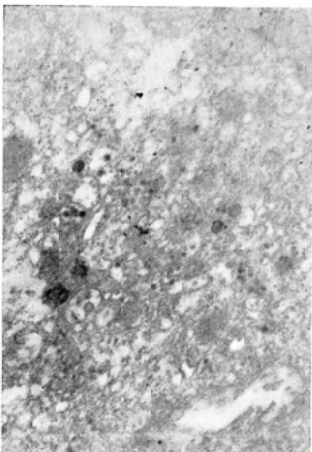


Fig. 13

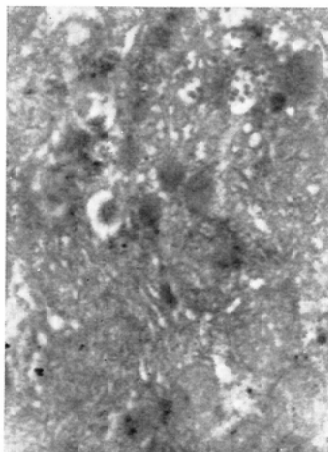


Fig. 14

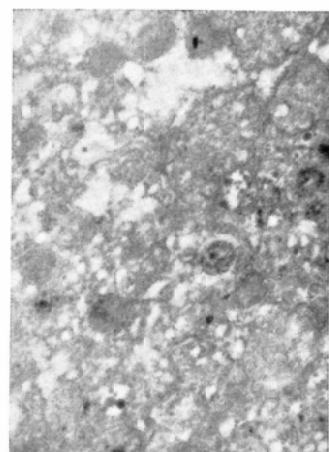




Fig. 15~18. Observation of 3 hours after injection.

Fig. 15

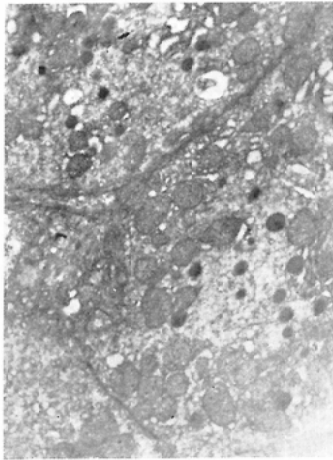


Fig. 16

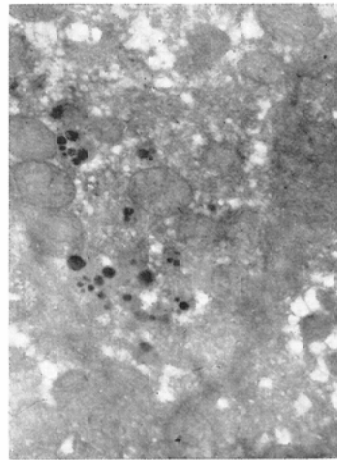


Fig. 17

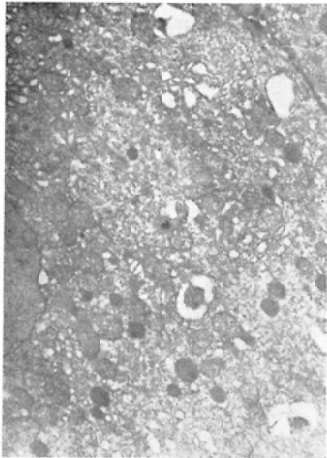


Fig. 18

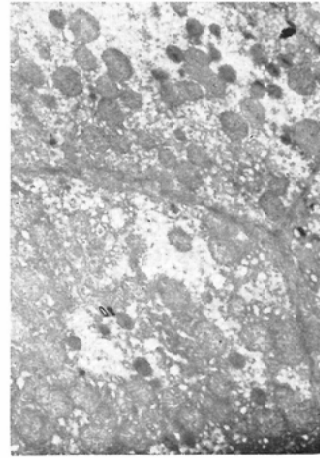


Fig. 19~21. Observation of 6 hours after injection.

Fig. 19

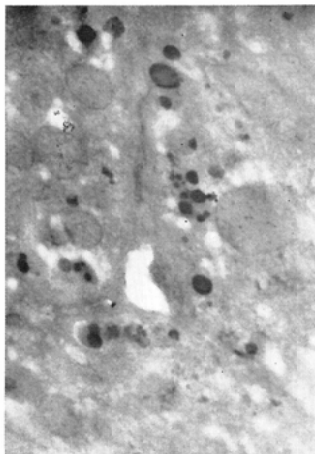


Fig. 20

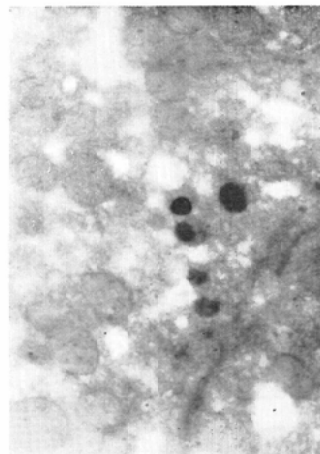


Fig. 21

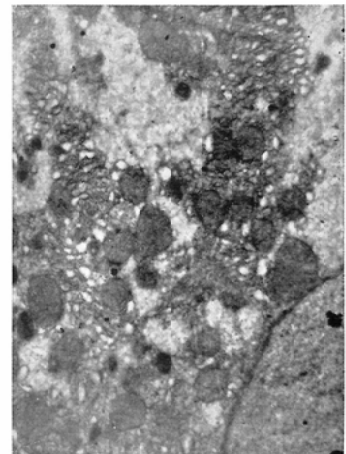


Fig. 22~24. Observation of 9 hours after injection.

Fig. 22

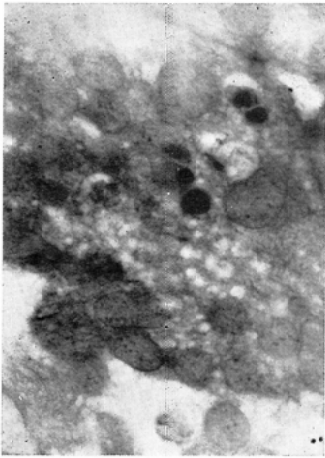


Fig. 23

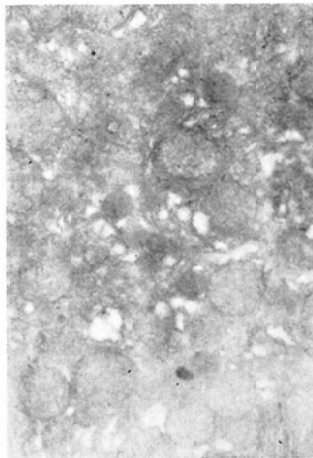


Fig. 24

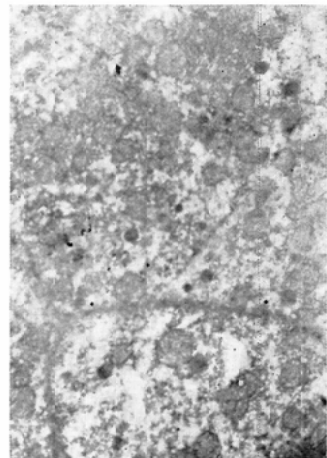


Fig. 25~28. Observation of 12 hours after injection.

Fig. 25

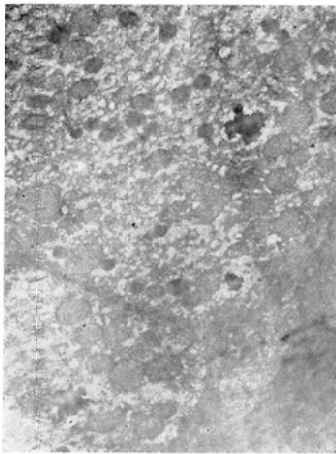


Fig. 26

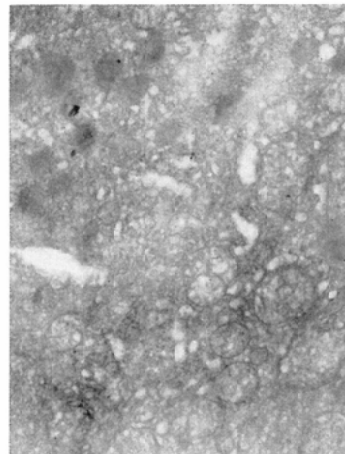


Fig. 27

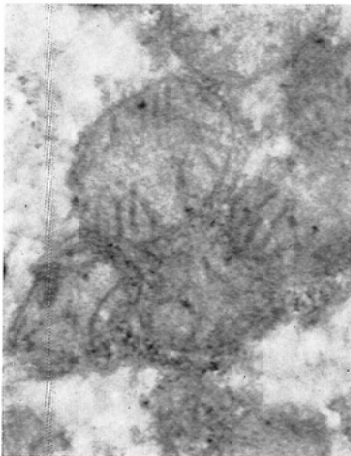


Fig. 28

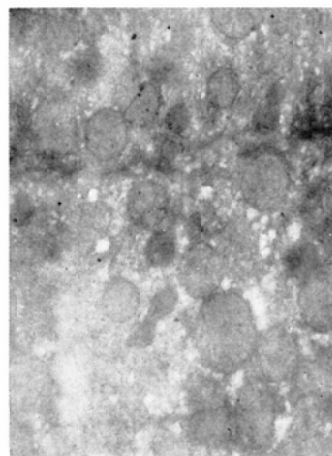


Fig. 29~32. Observation of 24 hours after injection.

Fig. 29

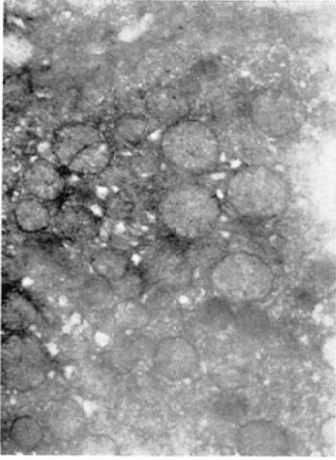


Fig. 30

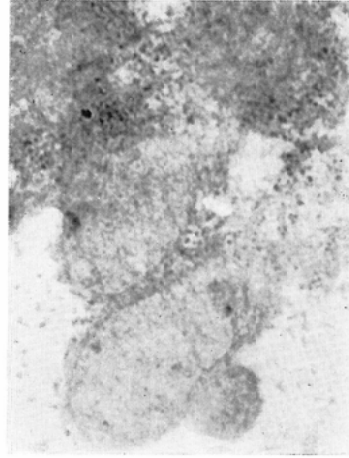
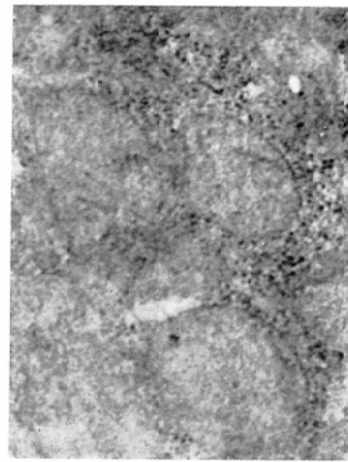


Fig. 31



Fig. 32



が使用されているが、その中でも放射性金コロイドは鮮鋭なる像を得ることが出来るのでしばしば使用される。

この様に肝シンチグラムに使用された放射性金コロイドが肝のクッペル氏細胞に摂取されることはすでによく知られているところであり、今回は肝細胞について実験を行った。

すなわち我々は電子顕微鏡を使用して放射性金コロイドと細胞内微細構造との関係について観察を行った。

その結果注射後10分で細胞内特に小胞体の内腔に放射性金コロイドの粒子を認めた。また肝細胞

の部位としては特に細胆管の近くに存在する細胞は放射性金コロイドを摂取する量が多い様に思われる。

注射後20分では、肝細胞に摂取されたほとんどの粒子はライソゾームの間隙に集っている。これらの集った粒子は単独で存在するものまたは粒子が集って一つの塊状を形成しているもの等があった。

注射後40分後でも肝細胞内の放射性金コロイドの粒子は未だ増加の傾向を示している。そして全体的に肝細胞の小胞体は間隙の拡大を示している。

粒子は比較的単独に存在するものは少なくなり、集った顆粒もその形態は可成り大きくなって来ている。これらの粒子の集りの一部分は、特に電子密度が高くなっている部分がみとめられる。

注射後一時間では原形質内に認められる個々の粒子の数はあまり増加していない。このことはこの時期になると血中より摂取する放射性金コロイドが少なくなつたためと考えられる。前時期までは粒子の集りは多形をしていたが、この時期では濃縮されたためか外形は全体に丸味をおびて来ている。そして早期に細胞周囲にみとめられた粒子は次第に核の近くのライソゾームに集まることを認めた。

注射後3時間で1時間では1時間に個々の粒子はあまり認められず、新たに摂取された放射性コロイドは少なくライソゾーム内部の粒子はさらに濃縮されたためか、粒子の集りの内部に電子密度の高い部分を認めることが出来る。

注射後6時間では幾分小胞体の間隙は部位により縮少を示し回復の傾向にある。ライソゾームの内部の粒子の電子密度は種々の変化を示し、粒子の集りの中心部の電子密度の高いもの、また周囲が中心部より電子密度が高いもの等種々の電子密度の状態を示す。

注射後12時間では前時期までは投与された粒子は肝細胞内特にライソゾームの内部に摂取され次第に濃縮される傾向を示していたが、この時期になり放射性金コロイドは糸粒体の内部にみとめられる様になる。

このことはライソゾームの内部にあつた粒子が糸粒体の内部に移行したものであるかまたは直接摂取された粒子が糸粒体の内部に集つたものであるかは疑問のあるところであるが、直接集るものであれば早い時期にも観察されてよいと考えられまたこの糸粒体内にみとめられる時期には、ライソ

ゾーム内の粒子は幾分減少の傾向がみられるところよりライソゾームの内部の粒子が糸粒体に集つたと考えたい。

24時間後の所見では、ライソゾーム内部の粒子は次第に濃縮されて高い電子密度を示した。小胞体間隙の拡大は回復している。12時間後に観察された粒子を内部に有する糸粒体の数は24時間後では種々の形態を示しかつその数を増加している。

放射性金コロイドが糸粒体の内部に傍在することは電子顕微鏡を使用し形態的に確認されたのであるが、さらに放射性金コロイドを注射後24時間の肝組織を用い超遠心分離を行い、各分層について放射能を測定した結果では糸粒体に73%が存在することを知つた。

このことは他の物質を使用した実験においても同様糸粒体に摂取されることが知られており、よくこの結果と一致すると考えられる。

#### 総括

静脈内に投与された放射性金コロイドは注射後10分ですでに肝細胞中に見出すことが出来た。時間の経過とともに次第に摂取される粒子は増加する傾向にあつた。

ライソゾームの限界膜内に存在する粒子の集りは時間の経過とともに次第に水分を吸収され同一個所に集められるためか、電子密度は次第に高くなる傾向にある。

そしてライソゾームの内部にあつた一部の粒子は時間の経過とともに、糸粒体内部にみとめられる様になる。

#### 結語

投与された放射性金コロイドは肝のクッペル氏細胞のみでなく、肝細胞にも同様摂取され、これらの粒子は肝細胞の糸粒体に集ることを知つた。