



Title	臓器核酸代謝に及ぼす放射線の影響 第1報 臓器核酸 燐量の変動について
Author(s)	田中, 敬正
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1960, 20(6), p. 1274- 1281
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19405
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

臓器核酸代謝に及ぼす放射線の影響 (第1報) 臓器核酸燐量の変動について

京都大学医学部放射線医学教室 (主任 福田正教授)

助手 田 中 敬 正

(昭和35年6月6日受付)

緒 言

放射線の物質に対する作用には、その物質の電離又は励起による直接作用と、水の電離解離等によつて生じた遊離基や、 H_2O_2 による間接作用がある¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。生物特に多細胞生物に対する放射線の作用を、かくの如き一次的な変化を元にして説明する行き方と併行して、最近来もつと純粹に生物学的な立場より解釈して行こうという傾向が強くなつた⁵⁾。即ち、放射線を受けた生細胞を単なる物理、化学的反応の場として見るのではなく、生命現象の一つの形式としてとらえる立場である。放射線により細胞の受ける変化は初めはごく微細なものでも之が後の代謝活動を通じて拡大され遂に細胞の死に至ると言う考え方である。

DNAは細胞核の中で染色質や gene を構成し、分裂の盛んな組織例えば骨髄、リンパ組織、腫瘍細胞等はDNA交替率は旺盛であり、分裂を殆んどしない組織例えば腎、脳、筋肉等はDNA交替率は低い⁶⁾⁷⁾。しかも、分裂の盛んな組織程放射線感受性が高い事が古より知られている⁷⁾。かくの如く放射線生物学にとつて核酸の役割は重大である。現在迄生物化学のあらゆる分野より、放射線の核酸に対する影響が研究され多くの報告がある。DNAの生合成の障害が放射線の細胞に対する作用の中の中心点をなし、之が細胞の死に迫りやる原動力になると云つて過言ではないであらう。

本実験に於て、半致死量前後の放射線(X線及び中性子束)を白鼠に全身照射を行い、各臓器の核酸量に及ぼす影響の比較検討を行つた。

実験方法

1) 実験動物

体重約 150 g 前後の白鼠(雄)を使用した。食餌は一定成分を含む固形飼料を用いた。

2) 照射方法

X線は 160KVp, 3 mA, 0.4mmCu+ 1.0mm Al のフィルターで、焦点皮膚間距離30cmで 600r, 1000r の全身照射を行つた。

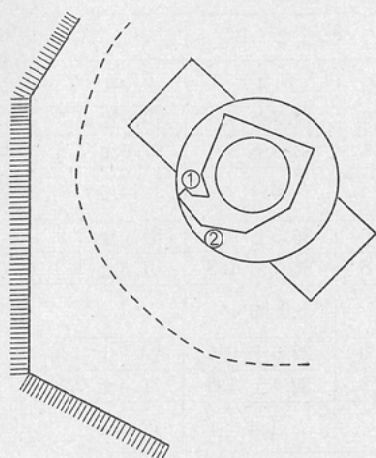
中性子照射は京大サイクロトロンで行つた。即ち 1.5MeV に加速された重水素約 100 μ A を銅標的にあて、得られた中性子及び γ 線を本箱中央が、(木箱20 $\times$ 10 $\times$ 7 cm大で白鼠を入れる)標的より約30cmの位置で照射した。

速い中性子強度測定には中性子線量計 (NEM O, Nuclear Chicago 製) で校正した50cmのパラフィン板で覆われたインヂウム薄膜の中性子で励起される radioactivity を Geiger-Müller 計数管で測定、1 μ A 当りの中性子数を定めた。その後標的に当つた全イオン電流の照射時間での積分値でマウスに当つた速い中性子総数を算定した。本実験で照射したのは、 4.0×10^{10} neutronflux と 1.5×10^{10} neutronflux/cm²、である。(図1) 照射後4時間 1, 2, 4, 6 日後を検した。

3) 核酸定量法。

頸動脈より出血死せしめ可及的速かに開腹後直ちに約20~30ccの生理的食塩水を肝静脈に通じて、肝内血液を洗い出した後、肝を剔出した。同時に脾、小腸を採取した。肝は2 g、脾は全部、小腸は十二指腸部より下部1 gを使用し、之等を直ちに氷冷時計皿上で細く碎き、ドライアイスで冷

図1 中性子照射模式図

① 4×10^{10} neutron flux/cm²② 1.5×10^{10} neutron flux/cm²

却しながら Potter & Elvehjem⁸⁾ の homogenizer で均質化し、之を Schmidt-Thannhauser の法の変法⁹⁾を用いて、酸可溶性磷、磷脂質、DNA-P、PNA-P、磷蛋白の5つの分画に分けた。

即ち、この均質化物に氷冷三塩化醋酸を加えて

よく攪拌後遠沈し、之を3回繰返し、この上清が酸可溶性分画である。次に残った沈渣に、アルコールエーテル、クロロフォルム、メタノールで抽出を行い、遠沈をした上清が磷脂質分画である。之より残った沈渣には、核酸と少量の磷蛋白を含有する。之を乾燥状態となし、1N KOHの10倍量を加えて、37°C 20時間放置すると、核酸は溶解する。之に1/5倍量の6 NHCl、と1倍量の三塩化醋酸を加えて冷却30分後遠沈する。この沈渣がDNA-磷分画である。この上清はRNA-磷分画と磷蛋白を含むので、この上清の一定量を取り、Delory の処理法¹⁰⁾により、沈澱を作り遠沈を行う。この沈渣が磷蛋白分画である。上記の分画を灰化用肉厚試験管にとり、之に60%分析用過塩素酸と、30%分析用オキシドールを加え、灰化を行った¹¹⁾。

磷量定量には、PVM法²⁶⁾ (Phosphovanadomolybdate 法)にて測定し比色には、Beckmann 比色計を使用した。

実験結果

1) 正常値

表1 600r 全身照射後各臓器核酸磷量 (平均値±平均誤差) mg%

	照射後時間	対照	4時間	1日	2日	4日	6日
	匹数	5	4	4	4	4	4
肝臓	ASP	86.0±1.0	750±2.5	79.0±2.0	780±1.8	82.5±2.3	882±2.0
	LSP	11.1±3.0	103±2.5	109±3.0	117±3.5	112±2.0	113±1.0
	DNA-P	20.8±0.8	17.7±2.0	16.9±2.5	16.2±1.5	17.5±1.0	20.4±2.0
	RNA-P	84.5±1.1	77.0±2.0	77.5±2.0	76.0±3.0	17.0±1.0	88.0±2.0
	RNA-P						
	DNA-P	4.1	4.3	4.6	4.7	4.4	4.3
脾臓	ASP	83.5±2.5	73.5±3.5	67.0±2.0	62.5±1.5	73.5±0.8	75.0±1.5
	LSP	76.0±2.5	70.8±2.5	71.0±3.0	68.5±1.0	87.0±0.8	68.5±0.5
	DNA-P	114.0±5	75.0±6	63.0±4	42.0±3	37.5±4	4.1±4.5
	RNA-P	58.2±3	48.0±3	41.0±5	40.0±7	43.5±3	50.5±5
	RNA-P						
	DNA-P	0.51	0.64	0.95	0.96	1.16	1.2
小腸	ASP	61.5±3.0	53.2±2.5	48.6±1.0	51.0±1.5	49.2±1.8	57.8±2.0
	LSP	58.3±2.5	55.4±1.5	54.8±2.0	53.6±2.0	55.4±1.0	56.0±2.0
	DNA-P	41.5±2.5	35.7±0.8	37.0±0.8	29.6±0.8	28.6±1.5	32.8±2.0
	RNA-P	53.5±1.0	49.8±1.5	45.5±1.0	41.2±2.0	38.5±1.5	45.5±1.8
	RNA-P						
	DNA-P	1.3	14.9	1.3	1.52	1.35	1.39

ASP ; 酸可溶性磷

LSP ; 磷脂質

表2 1000r 全身照射後多臓器核酸燐量 (mg%)

	照射後 時 間	4 時間	1 日	2 日	4 日
	匹 数	4	4	4	4
肝 臓	DNA-P	17.1±0.8	14.9±1.0	14.3±0.8	15.0±0.5
	RNA-P	71.9±1.0	63.4±1.5	63.5±2.0	67.5±1.8
	RNA-P DNA-P	4.2	4.4	4.4	4.5
脾 臓	DNA-P	62.6±3.0	42.2±2.0	36.5±2.5	34.2±1.0
	RNA-P	17.0±1.0	37.0±1.8	33.7±1.3	31.4±1.9
	RNA-P DNA-P	0.76	0.85	0.93	1.1
小 腸	DNA-P	31.0±3.0	27.0±1.0	22.5±0.5	24.9±3.0
	RNA-P	47.6±0.8	36.9±2.0	32.1±1.5	30.5±2.8
	RNA-P DNA-P	1.5	1.4	1.4	1.2

正常成熟雄白鼠5匹につき、肝、脾、小腸の各分画燐量は表1の如くなる。

a) 肝臓: DNA-P は平均20.8mg%, RNA-P は84.5mg%で、RNA-P/DNA-P は4.1であつた。核酸量は、実験方法により多少異なるが、Schneider¹²⁾ は、Schmidt-Thannhauser 氏変法により白鼠で夫々26.0±1.5, RNA-P は77.7±4.1, 比は3.0, Davidson¹³⁾ は白鼠で21~25, 77~110, 比は4.0とゆう値を出している。

肝は蛋白合成との密接な関係にあり、細胞質が大きく核質が小さいので RNA-P>DNA-P が理解出来る。

b) 脾臓: DNA-P は平均 114.0mg%, RNA-P は58.2mg%, RNA/DNA は0.51であつた。Schneider¹²⁾ は、Schmidt-Thannhauser 氏変法により、白鼠で夫々14.4±15.8, 58.4±5.7, 0.4の比を出している。肝と違い、脾臓や胸腺の如く細胞質が小さくて染色質濃度の高い核をもつた細胞がぎつしりつまっている組織では DNA-P は RNA-P より大である。

c) 小腸: DNA-P は平均41.5mg%, RNA-Pは、53.5mg%, RNA-P/DNA-Pは1.29であつた。小腸は肝と脾の中間で RNA-P/DNA-P も1に近い値を出している。

(Davidson, Waymouth¹⁴⁾)

2) X線照射後の各分画燐の変化

150g 前後の雄白鼠を2群に分ち、第1群は全身照射 600r, 第2群は、全身照射1,000 rを行い、照射後夫々4時間, 1, 2, 3, 6日後を換した。結果は表1), 2), 図2), 3), 4)に示す。

a) 肝臓: 600r 照射後 DNA-P は、4時間後15%減少, 2日後に最高の22%減少し、後徐々に恢復を見ている。RNA-P は、4時間後に最大の15%減を示し以後恢復を見6日後に正常をやゝ上廻つた。一般に DNA-P より減少程度は軽度である。1,000 r 照射後は動物が4~5日前後で大半死ぬため4日迄換したが、600r と略と同じ動きをみたが、減少の程度はやゝ大で恢復の傾向が見られなかつた。

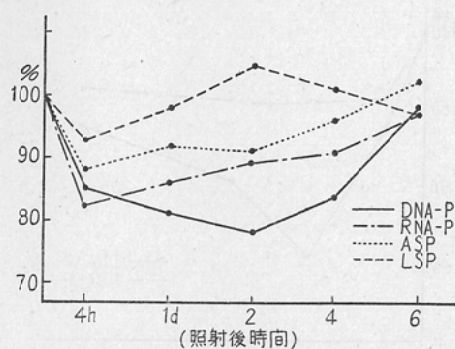
酸溶性燐は図2~4に示す如くなつたが、最高10%前後の減少を示すに過ぎず、全般に对照と有意の差を見なかつた。

磷脂質についても同様であつた。

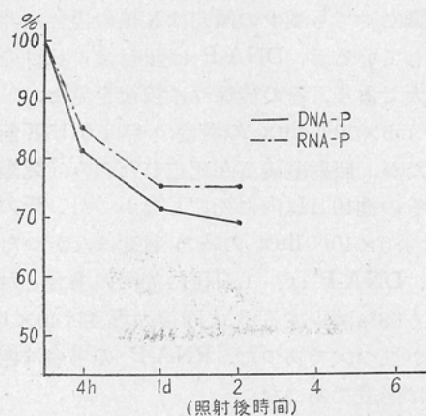
b) 脾臓: 600r 照射後 DNA-P は既に35%減, 2日後で62%減, 6日後も63%減で回復は見なかつた。RNA-P は、2日後で最高の減少(30%)を見, 6日後には大分恢復を見た。1,000 r 照射後では減少の程度が更に強く, 2日後で70%前後の減少を見た。

酸溶性燐も、肝よりも減少の程度が大で、2日後に25%の減少を見た。磷脂質には著変なかつた。

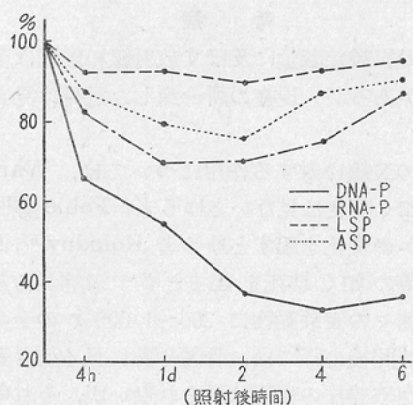
第2図-a 600r (全身照射)



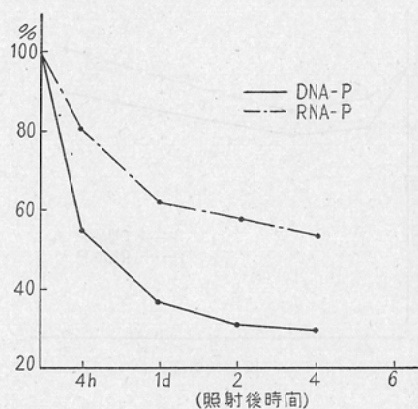
第2図-b 1,000r (全身照射) 肝臓



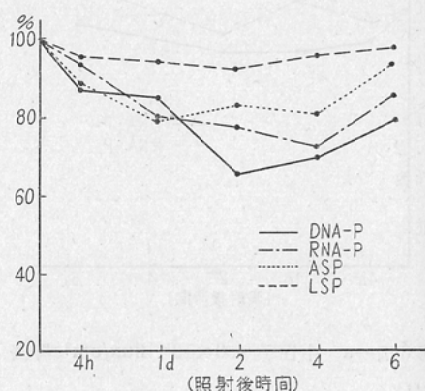
第3図-a X線 600r (全身照射) 脾臓



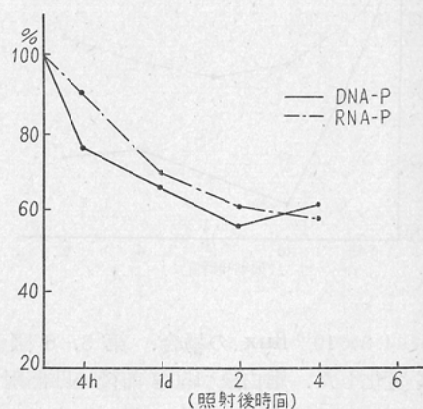
第3図-b X線 1,000r (全身照射) 脾臓



第4図-a X線 600r (全身照射) 小腸



第4図-b X線 1,000r (全身照射) 小腸

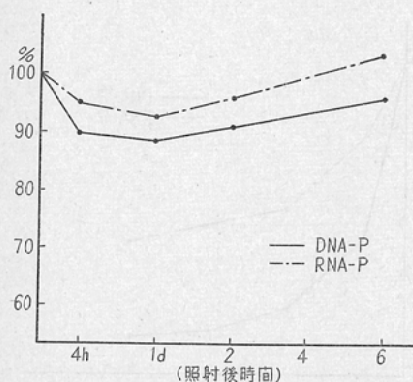
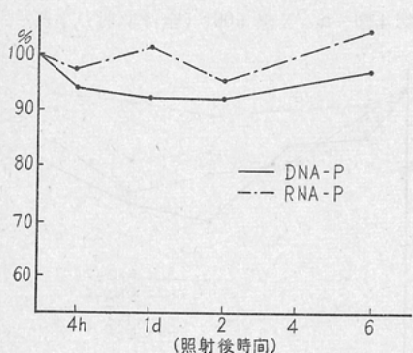
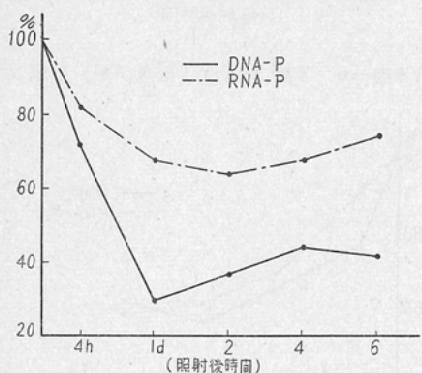
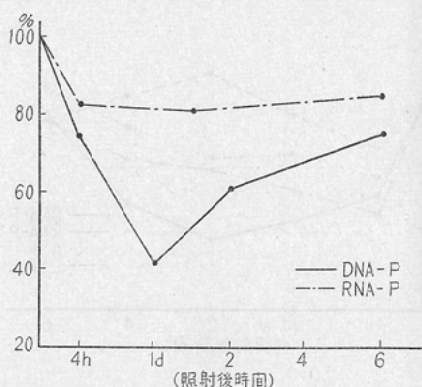


c) 小腸: 600r 照射後 DNA-P は4時間後で14%減, 2日後では35%減で徐々に回復を見た。RNA-Pも DNA-P と略く同じ変動を見た。

酸化溶性燐は脾臓の場合と略く同様の動きを見

せた。

3) 中性子照射 (全身) 後の各分画燐量の変化

第5図-a 中性子 4.0×10^{10} flux/cm² 肝臓第5図-b 中性子 1.5×10^{10} flux/cm² 肝臓第6図-a 中性子 4.0×10^{10} flux/cm² 脾臓第6図-b 中性子 1.5×10^{10} flux/cm² 脾臓

た。脾臓に於ても減少の傾向はX線の場合に非常に酷似しているが、DNA-Pは照射後1日目の減少が最大であり、その後徐々に回復を見た。

b) 1.5×10^{10} flux の場合、やはり15匹前後照射したが、照射直後2匹死亡したのみ(死因不明)でその他10日以内に死亡しなかった。肝の核酸量は 4.0×10^{10} flux の時と著変はなかった。脾では、DNA-Pは、1日後に前回の場合と殆んど同じく68%減少するが、回復の程度は 4.0×10^{10} より速かつ大であった。RNA-Pの場合は減少の程度は軽度であった。

小腸の場合も脾に於ける如く回復の程度は前回より大であった。

考 察

生体の組織核酸量に及ぼす放射線の影響は多数の報告があるが、現在の所一致した意見は見られない。

肝臓のX線に対する作用については、Warren¹⁴⁾の如く著変は見ないとゆう者、Pohle等¹⁸⁾の如く僅かの変化を起すとゆう者、Kolodny¹⁶⁾、Mills¹⁷⁾、等の如く壊死を起すとゆう者等がある。しかし種々の実験動物に200~1,000 rの全身照射で数時間後の肝では、骨髓や脾に見る如き華やかな細胞破砕片の出現は見られないが、それ等と同様な形態学的な特徴を具えた細胞破砕片が少数ながら肝小葉のあちこちに散在して見られると云う。Paigen¹⁹⁾は白鼠に600r全身照射し、肝のDNA、RNA共に減少する事を認め、この減

a) 4.0×10^{10} flux の場合、第5、6図に示す如く変化した。雄白鼠150g前後15匹照射したが、6匹は6日以内に死亡し、残りのものについて検した。肝の核酸量はX線600r照射の場合より減少の割合はやゝ少く、最高10%前後であつ

少は照射後1時間にして起り、約48時間続くと述べている。永井¹⁹⁾等はいくつの変化は起らなかったと述べている。藤尾²⁰⁾も、家兎に3,000 r 全身照射後3時間で肝細胞の変性と共に、肝のDNA-Pは61.8%の減少を認め、3~4日後にこの減少が回復したと云っている。本実験では、いくつ著明な減少は見られず600r 照射で2日後23%の減少が最高である。そして6日後には回復を見ている。

いくつの変化は恐らく肝臓に一時に大量のX線を照射する事により肝細胞の変性を起し、その機能が一時麻痺状態となり、次で時間の経過と共に旺盛なる再生力によつて他の臓器より早く回復するために起ると考えられる。なお永井等²¹⁾、Feulgen 反応で spectromicrophotometry で肝細胞1コあたりの量的変化はX線照射により起らなかったと報告があるが今後更に追求されるべきと考えられる。もつとも Rose 等²²⁾も云っている様に核酸と蛋白量の特殊な結合様式が核酸染色の強さに影響を与えている事も考えられ、染色性の異常を来しても直ちには、量的関係を云々する事は出来ぬと考えられる。

脾臓や骨髓の様な放射感受性の高い組織では、照射後15~30分で既に Pyknosis, Karyorrhexis 等が出現し初め、3~6時間で無数に見えているが24時間後にはそれ等の破壊細胞は処理されて殆んど姿を消し細胞の減少が見られるに過ぎぬ。かくの如く放射線感受性が高いが之に比例して核酸特にDNA量の減少が著明である。Waymouth²³⁾はC57黒鼠にX線照射を行い、リンパ腺のDNA-PがRNA-Pに比して著減すると云い、又脾臓にては、照射後3時間でDNA-Pが約半量に減少し、3~4日でRNA-Pも半減したと云っている。当実験でもLD₅₀以上を照射すると、個体自身は死ななくとも、脾臓のDNA-P量は、1週間後にも何等回復を見ない事がわかった。更に当実験でも見られる如く、脾全重量も同時に著減し1匹あたりの脾のDNA-P量を考えると更に強く減少を見る事を意味している。之は教室の山本²³⁾が詳しく報じている。

小腸粘膜は細胞分裂の旺盛な組織であり、X線に対しても感受性が高いのは当然である。Ely, Ross²⁴⁾は、組織化学的に見て照射により小腸粘膜では細胞が破壊されると同時に、DNA, RNAが同程度に減少すると述べている。我々の場合でも、肝、脾に比べ、DNA, RNAの減少の度合が非常に似ている。

中性子照射の場合、 4×10^{10} flux により、脾、肝、骨髓等の組織的検索を同時に行つた。即ち脾では、6時間後、白髄内リンパ球の崩壊は著しく、既に小リンパ球が多数消失し核片とし細網細胞に食食されている。12時間後には白髄は多少萎縮する。崩壊リンパ球は著しく減少する。3日後には脾は強度の萎縮に入り細網細胞間隔が狭められる。そして脾は細網細胞と形質細胞のみより成る如き感を与える。脾のDNA-P量の変化も丁度之等の組織的变化を裏書きする如く、照射後1~2日で最大の減少を見、後にもあまり回復は見られなかった。なお、中性子のRBEを云々する段階には至らないが、照射の場合の変化は核酸量と組織的变化と見合せると、大略X線で800r前後の変化と見られた。なおDNA-Pの変化は照射後1日目が一番強く減少し(X線よりも1日早い)後 4.0×10^{10} flux では、回復が著明でなく、 1.5×10^{10} flux では比較的旺盛な回復を見た。

DNA含量の多い脾臓内細胞(即ちリンパ球等)が放射感受性が高く、大半照射1日前後で崩壊消失したためと考えられる。なお小線量の回復は再生が早いためであろうか。

肝では組織的には云々する変化を見なかった。Lawrence & Tennant²⁵⁾は、サイクロトンの速い中性子及びγ線を照射し、その組織的变化を各線量でX線と対比している。之等のうち中性子234~308 r 照射群の骨髓は24時間迄略く対照と同程度の細胞密度を示すが、2~5日後には血海状無形成に陥り、又脾よりリンパ球は完全に崩壊消失している。この変性は、1,000 r X線照射の組織像とほぼ対応するものであると云う。

総 括

正常雄白鼠にX線 600r 1,000 r 及び中性子束の全身照射を行い、肝臓、脾臓、小腸の酸可溶性燐、燐脂質、核酸燐の変動を追求した結果は次の如くである。

1) 肝臓: 600r で DNA-P は、2 日後に軽度の減少を示し、6 日後に略々回復を見た。RNA-P は之よりも減少の程度が少かつた。1,000 r では、RNA-P のかゝる回復は見られなかつた。

2) 脾臓: 600r で2日で著減し、その後回復は見られなかつた。RNA-P は2日後で最も強く減少し6日後に回復を見た。1,000 r では更に強く減少した。

3) 小腸: 600r で DNA-P は、2 日後に約 $\frac{1}{3}$ になり、後徐々に回復を見た。RNA-P も殆んど同じ動きを見せた。

4) 酸可溶性燐: 肝臓の場合は軽度の減少しか見られず、脾臓では、2 日後に比較的著明な減少を見た。小腸も脾と殆んど同様であつた。

燐脂質は、肝、脾、小腸共著変はなかつた。

5) 中性子束 4.0×10^{10} flux (cm) の全身照射の場合は、X線照射で 800r 程度の変化と似ており、脾、肝の核酸燐の変動も、600r 照射の時と略々同様であつた。

中性子束 1.5×10^{10} flux の時は、脾の DNA-P 量は、1 日後に著明に減少するが、回復が速かであつた。

(本論文の要旨は、第16, 17回日本医学放射線学会総会に於て発表す) 摘筆に臨み、御懇篤なる御指導と御

校閲を賜つた恩師福田教授に対し深謝し、種々御援助を下さつた新家教授に感謝す。

文 献

- 1) D.E. Lea: Actions of Radiations on living cells. 1954. — 2) J.A.V. Butler: Experimentia 11, 289 (1955). — 3) Z.M. Bacq, Fundamentals of Radiology, London (1955). — 4) 伊藤隆: 生体物理化学シンポジウム, P161. 南江堂, 東京 (1956). — 5) 柴谷: 蛋白質, 核酸, 酵素, 2, 271, 1958. — 6) 江上: 核酸及び核蛋白質, 下巻, 69, 223~252. 共立出版, 1951. — 7) Walter D. Claus: Radiation biology and Medicine 184 (1958). — 8) Potter V. R and Elvehjem: C. A. J. Biol. Chem 114, 495 (1936). — 9) Schmidt & Thannhauser: J. Biol. Chem. 161, 83 (1945). — 10) Delory. G.E. Biochem J 32, 1161 (1938). — 11) アイトーブ実験技術, 108, 南江堂. — 12) Schneider WC: J. Biol. Chem 165, 585 (1946). — 13) Davidson, JN. Cold spring Harbor Symp. Quant Biol 12, 50 (1947). — 14) Warren, S.L.: J. exp. med, 35, 187 (1922). — 15) Pohle, E.: Acta radiol, 13, 117 (1932). — 16) Kolodny, A.: Am. J. Path, 1, 285 (1925). — 17) Mills, G.P.: Lancet, 2, 462 (1910). — 18) Paign, K. & Kaafmann, B.N.: J. Cell. & Comp. Phys. 42, 163 (1953). — 19) 永井春三: 日本医事新報, 1937号, 27~30, 1953. — 20) 藤尾: 内科室函, 3, 201 (昭31). — 21) 永井: 最新医学, 11巻, 7号 (昭31), P98. — 22) Weymouth: P.P. and Kaplan H. S; Cancer Res 12, 680 (1952). — 23) 山本五郎: 日本放射線学会雑誌, 19巻, 3号 (1959), 9477. — 24) Ely, J.O, Ross, M.H. Cancer Res 8, 285 (1948). — 25) Lawrence, J. H. and Tennant: J. Exp. Med, 66, 667 (1937). — 26) 杉山, 新家, Bot. Mag. (Tokyo) Vol 1 67, 138 P.

Effect of Radiations on the Nucleic Acid Metabolism

1. Study on the Nucleic Acid Contents of Various Organs

By

Yoshimasa Tanaka

Department of Radiology, Faculty of Medicine, Kyoto University

(Director: Prof. Masashi Fukuda)

Single 600r, 1000r of X-ray and neutronflux were irradiated totally on various groups of rats. Acid soluble phosphate, phospholipids and nucleic acid contents of the liver, spleen, and intestine were measured using a modified Schmidt-Thannhauser's

method.

1. As for the liver, DNA-P after 600 r was slightly reduced on the 2 days, and returned gradually to the previous level on 6 days. But such a restoration was not seen on the 6 days after 1000 r irradiations.

2. As for the spleen, the DNA-P after 600 r exposure was decreased markedly on the 2 days and after that, the recovery was not seen. The RNA-P was mostly decreased on 2 days.

3. The DNA-P of intestine decreased to about $\frac{1}{3}$ and rose gradually to a normal level and as for the RNA-P, there was a change of the same order of magnitude.

4. As regards the Acid soluble phosphate of the liver, slight decrease was noted but in the spleen, moderate to marked decrease was seen on 2 days after irradiations.

5. The nucleic acid content of the liver and spleen after total irradiations of neutron flux 4.0×10^{10} flux (cm^2) was similar to the change of 600~800 r X-rays. On irradiation of neutron flux (1.5×10^{10} flux) the DNA-P of the spleen was remarkably reduced, but the recovery was recognized rapidly.
