



Title	放射線肝臓障害の研究, 特に Alkaline Phosphatase に及ぼす影響について 第2編 組織 Alkaline Phosphatase に及ぼす影響
Author(s)	草野, 治
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1960, 20(3), p. 562-575
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19887
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

放射線肝臓障害の研究, 特に Alkaline Phosphatase

に及ぼす影響について

(第 2 編)

組織 Alkaline Phosphatase に及ぼす影響

大阪医科大学放射線医学教室 (主任 赤木弘昭教授)

(指導 福田正教授 京都大学)

草 野 治

(昭和35年3月10日受付)

I 緒 言

さきに第一編に於て著者は肝臓部X線照射によつて血清 Alkaline Phosphatase 活性値 (以下 A.P. 活性値と略す) は低下の傾向を示し、これは放射線の細胞に対する作用が退行性変化を主とする理由による事を述べ、また全身照射に於て見られる血清 A.P. 活性値の著しい低下が、肝臓に対する全身性の2次的負荷に起因する可能性について考察を行つたが、更にこの様な障害時に於ける臓器 A.P. の組織内分布並びに化学的定量を行い、又別に in vitro の A.P. に対する放射線の作用について実験を行い、茲に第二編として報告する。

II 実験方法並びに材料

実験動物は主として第1編に於て使用した照射家兎を用い、血清 A.P. の測定終了後にエーテル麻酔を行つて開腹した。但し全身照射群は別個の家兎を用い、第1編と同じ条件にて1000rを照射し、24時間後及び4日後に屠殺して肝臓、脾臓、腎臓及び骨髓を採取した。

1. 臓器ホモジネイト測定法

肝臓部4000r一時照射群 (肝臓のみ) 及び全身照射群について施行した。ホモジネイトは各臓器の一定量に蒸溜水を加え、硝子製ホモジナイザーにて均等液とし、更に蒸溜水を加えて20倍稀釈と

し、約12時間氷室に保存した後に使用した。但し肝臓のみは肝静脈より生理的食塩水を灌流し、肉眼的に血液を認めなくなつてから秤量した。

測定方法は血清と同様に Shinowara-Jones-Reinhart 氏法¹⁾に Fiske-Subbarow の無機磷定量法を併用し²⁾、pH 9.3、37°Cに於ける反応時間は30分に短縮した。臓器 100g に対する A.P. 活性値は Calculation factor 16を乗じて求めた。従つて本法による臓器 A.P. 活性値の1単位は、37°C30分反応に於て臓器 100g 中の A.P. によつて基質から遊離した無機磷が 1mg である事を示す。

2. 組織 A.P. 染色法

上記の臓器ホモジネイトを作製した同じ材料 (肝臓のみは灌流前に別に1葉を採つた) を以て、同時に A.P. 染色を行つた。

染色方法は Gomori 氏改良法³⁾⁴⁾によつた。基質反応液は溶性バルビタール及び塩化カルシウムを加えた 0.6% β グリセロ磷酸ソーダ水溶液 (pH 9.3) でマグネシウムを加えず、37°C恒温器中で10時間反応せしめた^(注)、但しパラフィン包埋より標本完成までは総て24時間以内に終了した。

(注) 反応時間の決定は予備実験に於て1時間~15時間にわたる肝組織の反応を吟味し、肝細胞に反応が陽性に認められる最短時間を選つた。

3. *in vitro* に於ける照射実験は Co^{60} 200 Curie 実験用照射装置を使用し、照射サンプルは上記の如く作製した正常家兎の肝ホモジネイトを用いた。(装置の使用を許されました京都大学化学研究所桜田教授に対し厚く御禮申し上げます)。線量は線源より4.5cmに於て $6.78 \times 10^4 \text{r/h}$ であり、この所に試験管に密封したサンプルを1.5時間(101,700 r) 3時間(203,400 r) 及び15時間(1,017,000r) 置いて照射し、同条件においた非照射のサンプルを対照として、臓器ホモジネイト測定法に準じて測定した。

III 実験成績

1. 臓器ホモジネイト A.P. 活性値

(1) 正常家兎6頭について行つた各臓器のA.P. 活性値は表1及び図1-3に示す如く、肝臓は187(142-248)単位、脾臓237(178-272)単位、腎臓667(600-712)単位、骨髓223(148-322)単位であつた。

(2) 肝臓部4000r一時照射後約10日の肝A.P.

表1 正常臓器ホモジネイト活性値

	血清A P活性 値	肝A P "	脾A P "	腎A P "	骨髓A P "
No. 1	3.2	142	250	712	148
No. 2	4.7	204	248	704	168
No. 3	4.7	224	253	660	250
No. 4	2.6	156	216	644	262
No. 5	3.1	152	178	680	322
No. 6	5.2	248	272	600	190
平均値	3.9	187.0	237.0	667.0	223.0

図1 肝ホモジネイト活性値

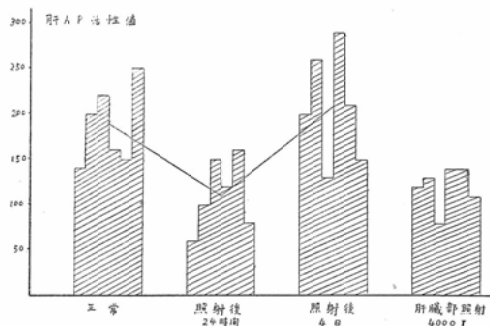


表2 肝臓部4000r一時照射

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	平均値
肝A P活性値	116	132	84	136	142	114	121.0

表3 全身照射1000r 臓器ホモジネイト活性値

24時間後	血清A P活性値	肝A P活性値	脾A P活性値	腎A P活性値	骨髓A P活性値
No. 1	1.0 (3.9)	60	236	652	184
No. 2	1.3 (3.2)	100	384	700	266
No. 3	1.5 (5.1)	152	186	608	156
No. 4	2.2 (5.5)	124	270	712	278
No. 5	2.0 (6.3)	164	314	560	134
No. 6	0.9 (4.7)	80	236	660	116
平均値	1.5 (4.8)	113.0	271.0	649.0	189.0
4 日 後					
No. 7	1.3 (0.9)	196	154	684	130
No. 8	1.9 (3.2)	256	244	528	188
No. 9	3.6 (5.0)	126	144	684	257
No. 10	3.1 (5.4)	290	152	672	84
No. 11	3.9 (4.9)	208	212	642	136
No. 12	4.2 (4.7)	152	144	692	240
平均値	3.8 (4.0)	205.0	175.0	650.0	173.0

() は照射前活性値を示す。

図2 脾ホモジネイト活性値

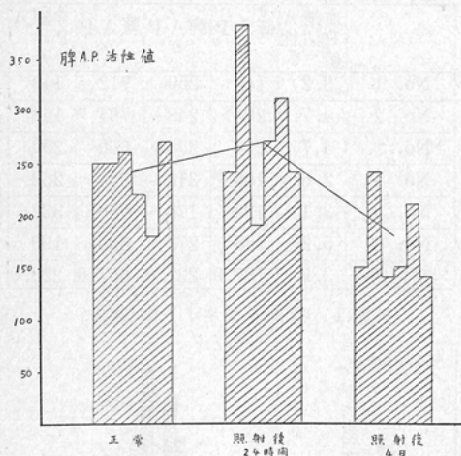


図3 骨髓ホモジネイト活性値

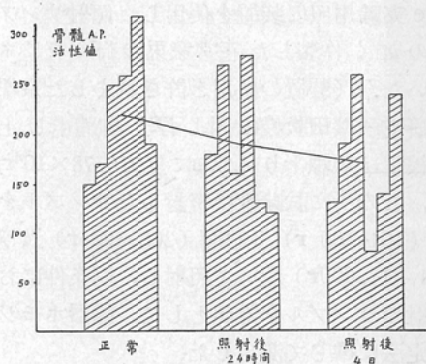


表4 正常肝 A.P. 染色

	肝細胞		ジクソンイド	毛細胆管	中心静脈	グリソン氏鞘		
	核	原形質				門脈	肝動脈	胆管
No. 1	++	++	+	++	++	+	++	++
No. 2	++	++	+	++	+	+	++	++
No. 3	++	+	+	+	++	+	++	+
No. 4	+++	++	++	++	++	++	++	++
No. 5	++	+	++	+	++	++	+	++
No. 6	+++	++	+	++	++	++	++	++

活性値は表2及び図1に示す如く、121 (84~142) 単位であつた。

(3) 全身照射1000rの各臓器 A.P. 活性値は表3に示す如く、24時間後では肝臓 113 (60~164) 単位 (図1), 脾臓 271 (186~384) 単位 (図2), 腎臓 649 (560~712) 単位, 骨髓 189 (116~278) 単位 (図3) であつた。尚各図中の実線は夫々の算術平均値の推移を示したものである。

照射後4日では肝臓 205 (126~290) 単位 (図1), 脾臓 175 (144~244) 単位 (図2), 腎臓 650 (528~692) 単位, 骨髓 173 (84~257) 単位 (図3) であつた。

(4) *in vitro* Co⁶⁰ 照射に於て肝ホモジネイトは1.5時間 (101,700r) 及び3時間 (203,400r) では何れも対照に比較して活性値の低下を認め

ず、15時間 (1,017,000r) で20%の低下を認めた。

2. 組織 A.P. 染色及び H.E. 染色

(1) A.P. 染色正常像

(i) 肝臓 図4~5に見らる様に肝細胞核の染まり方は、一般に辺縁部に濃く中央部ではやや薄く見られ、又或るものは顆粒状に染っている。原形質では大体びまん性に而も顆粒状に染り、核と同様に辺縁部に濃染するものが多い。ジクソンイドは肝細胞に接して線状に染り、内皮細胞核や星芒細胞も中等度に染っている。毛細胆管は一般に小葉周辺部に近く濃厚な太い線状として認められる。中心静脈は内皮細胞及びジクソンイドに移行して線状に見られる。

グリソン氏鞘では門脈は内皮が線状に染り、肝動脈は内皮及び外膜細胞の核も濃染している。胆

表5 正常脾 A.P. 染色

	脾膜及び脾材	白色脾髄		赤色脾髄
		中心動脈	網状組織	網状組織
No. 1	+	+	+	+
No. 2	+	+	+	+
No. 3	+	+	+	+
No. 4	±	+	+	-
No. 5	±	+	+	+
No. 6	±	+	+	+

管上皮は核・原形質とも弱陽性で、基底膜には中広く濃く認められる。又その他の結合組織の核も可成り濃く染つている。

以上の所見を各個に記載すると表4の如くなり、濃度判定の基準は No. 1 (図4-5) の毛細胆管の濃度を (++) として、これより薄いものを (+) (±), 反応陰性を (-), 更に濃厚なものを (+++) (卅) とした。

(ii) 脾臓 (表5) 一般に白色脾髄の中心静脈、網状細胞、及び網状線維が濃染し、中心動脈では内膜と外膜に特に強い。赤色脾髄の網状組織にも点在して強染する細胞が見られ、これらは血球ではなくて網状細胞と思われ、網状線維も中等度に染まっている。

(iii) 腎臓 皮質の細尿管上皮及び基底膜の部に著明に見られ、糸球体では係蹄並びにボーマン氏嚢に軽度に見られる。

(iv) 骨髓 骨髓組織では恐らく骨髓系と思われる細胞が強染するが、その染り方は一様でなく各種の段階が見られ、血球の成熟度に関係するものと思われる。血管の染色性は弱い。正常6例

はすべて同程度の染色性を示すので、表15の如く反応を示す細胞数とその濃度、並びに血管の染色性について記載した。

(2) 肝臓部並びに後肢局所照射

(i) 肝臓部4000r 一時照射 (約10日後)

(a) 肝 A.P. 染色 (表6)

No. 1: 肝細胞核の染色性は正常であるが原形質ではやや低下す。中心静脈及びジヌソイドの染色性もやや低下しているが、毛細胆管及び胆管は殆ど正常である。グリソン氏鞘には可成りの線維化が見られ、その核も濃染している。又小葉の所々に限局性に反応の消失した部分が認められ壊死巣と思われる。(図6)

No. 2: 肝細胞原形質の染色性が一般に弱く、前例と同様な反応の消失した部分がある。肝細胞索は萎縮してジヌソイドは解離し、中心静脈及びジヌソイドの染色性は低下す。毛細胆管及び胆管の染色性もかなり弱い。

No. 3: 肝細胞原形質には萎縮と染色性の低下が見られ、中心静脈及びその周辺のジヌソイドは正常であるが、小葉周辺に行くに従つて染色性は低下す。毛細胆管の染色性も低下し、グリソン氏鞘の胆管は部分的に染色が悪い。

No. 4: 肝細胞は一般によく染つているが小葉周辺に於て特に強い。中心静脈及びジヌソイドは正常であるが毛細胆管ではやや低下し、グリソン氏鞘では門脈の染色性のみがやや低下す。

No. 5: 肝細胞原形質は部分的に軽度の低下があるが、核と共に殆ど正常である。毛細胆管の染色性は可成り低下し、グリソン氏鞘はほぼ正常で

表6 肝臓部4000r 一時照射肝 A.P. 染色

	肝細胞		ジヌソイド	毛細胆管	中心静脈	グリソン氏鞘		
	核	原形質				門脈	肝動脈	胆管
No. 1	+	+	+	+	+	+	+	+
No. 2	+	+	+	±	+	+	+	+
No. 3	+	+	+	±	+	+	+	+
No. 4	+	+	+	+	+	+	+	+
No. 5	+	+	+	±	+	+	+	+
No. 6	+	+	+	±	+	+	+	+

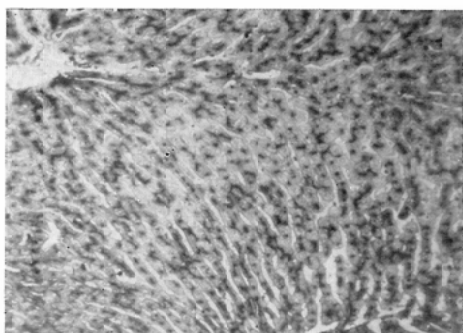


図4 (×30)

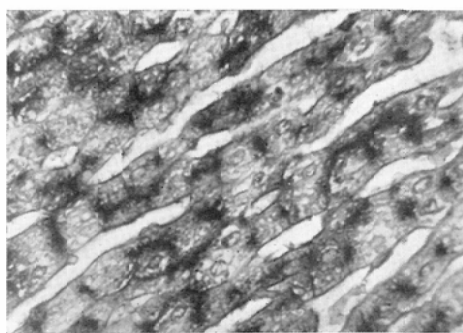


図5 (×400)

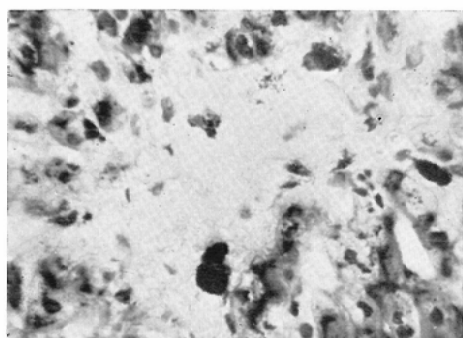


図6 (×40)

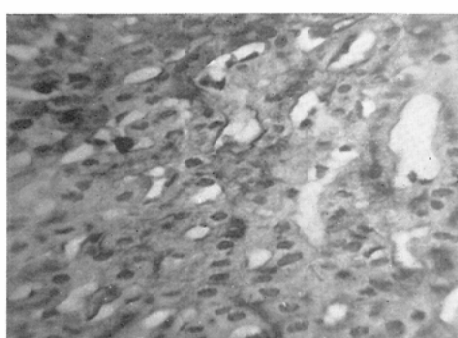


図7 (×40)

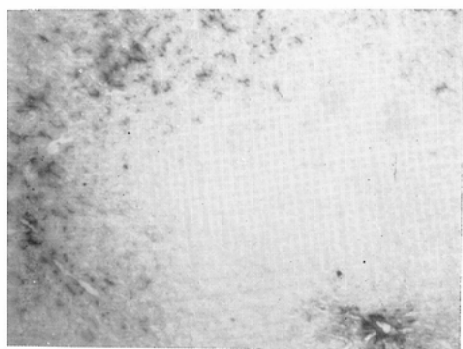


図8 (×30)

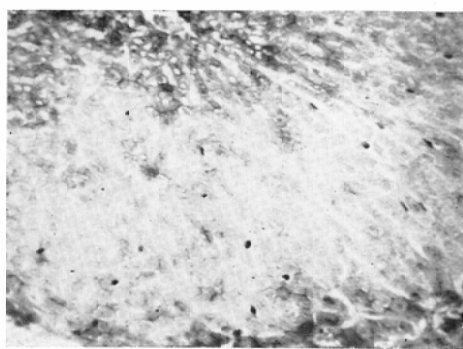


図9 (×30)

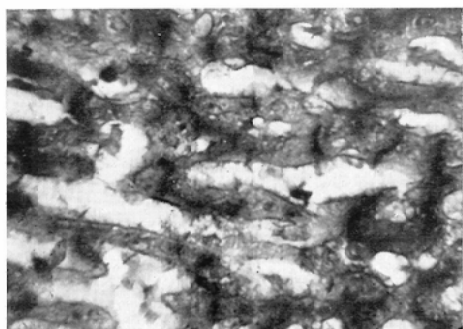


図10 (×400)



図11 (×30)

表7 肝臓部4000r 一時照射 肝 H.E. 染色

	肝細胞核		肝細胞原形質		細胞境界	中心静脈の鬱血	細胞索の解離	グリソン氏鞘			
	染色性の低下	構造	好エオジン顆粒の減少	構造				門脈系の鬱血	細胞浸潤	線維化	胆管増殖
No. 1	+	萎縮変性核融解	+	変性強、小壊死巣	不鮮明	+	+	+	±	+	+
No. 2	+	変性強、核融解	+	"	全く"	+	+	+	-	±	+
No. 3	-濃染	萎縮変性	+	萎縮	"	+	+	-	-	±	-
No. 4	+	"	+	"	"	+	±	+	-	+	+
No. 5	+	"	+	潤濁	"	+	±	+	-	+	+
No. 6	+	"	+	"	"	±	±	±	-	+	+

表8 肝臓部1000r 一時照射 肝 H.E. 染色

	肝細胞核		肝細胞原形質		細胞境界	細胞索の解離	中心静脈の鬱血	グリソン氏鞘			
	染色性の低下	構造	好エオジン顆粒の減少	構造				門脈系の鬱血	細胞浸潤	線維化	胆管増殖
No. 1	+	殆ど正常	±	潤濁腫脹	やや不鮮明	-	±	±	-	-	-
No. 2	+	変性強	±	"	"	-	-	-	±	+	±
No. 3	+	殆ど正常	±	"	"	-	±	-	-	±	+
No. 4	+	"	±	"	"	-	±	±	-	±	±
No. 5	±	"	±	"	不鮮明	-	±	±	±	-	-

ある。

No. 6 : 肝細胞原形質の染色性がやや悪い。毛細胆管の染色性は可成り著明に低下す。グリソン氏鞘には軽度の線維化が見られ、胆管及び血管ともやや低下す。(図7)

(b) 肝 H.E. 染色 (表7)

全般にグリソン氏鞘の変化が強く、幼弱な線維細胞の浸潤は特に胆管周辺に強く見られ、肝管及び偽胆管の増殖を伴うものが多い。炎症細胞の浸潤は殆どない。中心静脈及び小葉間静脈には鬱血が見られる。肝細胞核は萎縮変性、核融解、或いは消失するものも多く、染色性は悪いが一部には却って萎縮濃染するものがある。原形質にも変性強く、好エオジン顆粒の減少が著明である。従って細胞境界は不鮮明となり、肝細胞索の解離が見られる。又数例に於ては小葉の所々に小出血巣や壊死巣が認められる。

(ii) 肝臓部1000r 一時照射 (25日後)

肝 H.E. 染色 (表8), 全般に肝細胞核の染色性は低下しているが、1例を除いて変性像は認め

ず、構造は概ね正常である。原形質は腫脹強く、潤濁変性も軽度に認められ、細胞境界や好エオジン顆粒の不鮮明なものが多い。肝細胞索の解離はない。グリソン氏鞘には軽度の胆管の増殖と線維化が認められるが炎症細胞の浸潤は殆どなく、静脈系の鬱血は軽度である。

(iii) 肝臓部分割照射6500r

肝 H.E. 染色 (表9). 肝細胞核はやや膨化の傾向を示し、クロマチンの減少が見られる。原形質では全般に好エオジン顆粒の減少が見られ、特に中心静脈側に於て著明であり、この部には萎縮も軽度に見られる。然し潤濁腫脹は著明でなく、細胞境界はやや不鮮明であるが細胞索の解離はない。グリソン氏鞘には線維化傾向の特に強いものがあり、而も此等の中には nekrobiose に変性した細胞を含んでいるものがある。胆管の増殖及び静脈系の鬱血は軽度である。

(iv) 後肢4000r 一時照射 (21日後)

肝 H.E. 染色 (表10). 肝細胞核のクロマチン減少は殆どないが半数に変性を認め、此等は構造が

表9 肝臓部分照射6500r 肝 H.E. 染色

	肝細胞核		肝細胞原形質		細胞境界	細胞索の解離	中心静脈の鬱血	グリソン氏鞘			
	染色性の低下	構造	好エオジン顆粒の減少	構造				門脈系の鬱血	細胞浸潤	線維化	胆管増殖
No. 1	+	殆ど正常	+	濁濁腫脹	やや不鮮明	—	±	—	—	+	+
No. 2	+	膨化	+	〃	不鮮明	—	+	±	+	+	+
No. 3	+	変性膨化	+	〃	やや不鮮明	—	±	±	—	+	±
No. 4	±	殆ど正常	±	〃	〃	—	—	—	+	+	±

表10 後肢4000r 一時照射 肝 H.E. 染色

	肝細胞核		肝細胞原形質		細胞境界	細胞	中心静脈の鬱血	グリソン氏鞘			
	染色性の低下	構造	好エオジン顆粒の減少	構造				門脈系の鬱血	細胞浸潤	線維化	胆管増殖
No. 1	±	変性	+	±腫脹	不鮮明	不鮮明	±	±	—	±	+
No. 2	—	正常	±	—	鮮明	正 常	—	—	—	±	±
No. 3	—	〃	+	+	〃	不鮮明	—	±	—	±	±
No. 4	—	変性	+	+	〃	やや不鮮明	—	—	±	±	±

表11 全身照射1000r 肝 A.P. 染色

24時間後	肝細胞		ジヌソイド	毛細胆管	中心静脈	グリソン氏鞘		
	核	原形質				門脈	肝動脈	胆管
No. 1	+	±	±	+	+	±	±	±
No. 2	±	±	+	+	+	±	±	±
No. 3	±	+	+	+	+	±	+	+
No. 4	+	+	+	+	+	±	±	+
No. 5	+	+	+	+	+	+	+	+
No. 6	+	+	+	+	+	±	+	+
4日後								
No. 7	+	+	+	+	+	±	+	+
No. 8	+	+	+	+	+	+	+	+
No. 9	+	+	+	+	+	±	+	+
No. 10	±	+	+	+	+	±	+	+
No. 11	+	+	+	+	+	±	±	+
No. 12	+	+	+	+	+	±	+	+

不明瞭となつて homogen に染つている。原形質は腫脹して好エオジン顆粒の減少が著明であり、細胞索は不鮮明となつているものが多い。グリソン氏鞘では胆管の増殖と線維化が軽度に見られ、静脈系の鬱血は殆どない。

(3) 全身照射1000r

(i) 肝臓

(a) A.P. 染色(表11) 照射後24時間

No. 1: 全般に小葉の中間帯に限つて染色性が低下し、中心静脈及びその附近のジヌソイドの染色性は略々正常であるが、中間帯では肝細胞、ジヌソイド共反応は弱い。又グリソン氏鞘の染色性

表12 全身照射1000r 肝 H.E. 染色

24時間後	肝細胞核		肝細胞原形質		細胞境界	細胞索の解離	中心静脈の鬱血	グリソン氏鞘			
	染色性の低下	構造	好エオジン顆粒の減少	構造				門脈系の鬱血	細胞浸潤	線維化	胆管増殖
No. 1	—	殆ど正常	±	変性+	鮮明	—	—	—	—	—	—
No. 2	—	〃	±	〃±	〃	—	—	—	—	—	—
No. 3	+	核融解	—	〃+	不鮮明	+	—	—	—	—	—
No. 4	—	殆ど正常	±	〃±	やや不鮮明	±	—	—	—	+	+
No. 5	—	〃	—	〃—	〃	—	—	—	—	—	—
No. 6	±	〃	±	〃—	鮮明	—	—	—	—	—	—
4日後											
No. 7	±	萎縮変性	+	変性+	不鮮明	±	—	—	—	+	±
No. 8	—	〃	+	〃+	〃	±	+	±	—	+	+
No. 9	—	ビクノーゼ	+	〃+	〃	±	—	—	—	—	—
No. 10	—	萎縮変性	+	〃+	〃	±	—	—	—	±	±
No. 11	—	殆ど正常	+	〃+	〃	—	—	—	—	—	—
No. 12	—	〃	+	〃+	〃	—	±	±	±	+	+

も全般に低下しているが、毛細胆管は強く染っている。(図8)

No. 2 : 前例と同様な傾向が見られるが程度はやや弱い。中心静脈の染色性はやや悪いが周辺のジヌソイドはよく染り、肝細胞は全般に染色が弱く、核は中心静脈周辺と小葉周辺を除いては殆ど陰性である。然し毛細胆管やグリソン氏鞘の反応も低下している。(図9)

No. 3 : 全般に強く染り特に毛細胆管は濃染している。肝細胞核及び門脈の染色性は低い。(図10)

No. 4 : 肝細胞の染色性は部分的にはやや悪いが、全般的にはよく染っている。小葉の所々には focal な染色性の低下が見られる。

No. 5 : 前例と同様な focal な変化が散在し、肝細胞の染色性もやや低下している。

No. 6 : 肝細胞核、原形質とも染色性はやや低い。focal な変化は認めない。毛細胆管の反応は非常に強いが、門脈ではかなりの低下が見られる。

照射後4日

No. 7 : 全般に染色性は良好であるが、特に毛細胆管の反応が強い。然しグリソン氏鞘の反応はやや著明に低下している。

No. 8 : 肝細胞の染色性は全般に低下している

が毛細胆管は濃染し、又グリソン氏鞘では胆管周辺に特に強く染っている。

No. 9 : 肝細胞をはじめ全般に染色性の低下があり、特に小葉周辺部に強い。然し毛細胆管は濃染している。(図11)

No. 10 : グリソン氏鞘では特に血管系の反応が低下しているが、毛細胆管は濃染している。肝細胞では原形質は略々正常であるが核の染色性は低下している。

No. 11 : 肝細胞核の染色性は原形質に比較して強い。毛細胆管の反応は強いが、グリソン氏鞘の血管系は可成り著明に低下している。

No. 12 : 毛細胆管をはじめ全般に染色性の低下が認められる。

(b) H.E. 染色 (表12)

照射後24時間

全般に肝細胞核の構造は殆ど変化なく、染色性の低下も認めないが、1例のみ核は構造を失いクロマチンは周辺に偏在して融解の傾向を示し、染色性の低下を認める。原形質では好エオジン顆粒の減少と変性を認めるが、細胞境界は大体鮮明で細胞索の解離もない。グリソン氏鞘にも殆ど変化を認めず、静脈系の鬱血もない。

照射後4日

肝細胞核は萎縮変性するものが多く、染色性の低下はなく、却つてピクノーゼの傾向にある。原形質では一般に好エオジン顆粒の減少が著明で変性を伴い、細胞境界は不鮮明となり、細胞索はやや解離している。グリソン氏鞘では胆管の増殖と線維化が可成り強いが静脈系の鬱血はない。

(ii) 脾臓

(a) A.P. 染色 (表13)

照射後24時間

白色脾髄は全体に正常よりも強い反応を示し、中心静脈、網状細胞、及び網状線維ともに濃染し、肥大を伴っているものが多い。赤色脾髄に於ても反応を示す細胞数が増加したり、濃染するものが多い。

表13 全身照射1000r 脾 A.P. 染色

24時間後	脾臓及び脾材	白色脾髄		赤色脾髄
		中心動脈	網状組織	網状組織
No. 1	±	±	±	±
No. 2	±	±	±	±
No. 3	±	±	±	±
No. 4	±	±	±	±
No. 5	±	±	±	±
No. 6	±	±	±	±
4日後				
No. 7	±	±	±	±
No. 8	±	±	±	±
No. 9	±	±	±	±
No. 10	±	±	±	±
No. 11	±	±	±	±
No. 12	±	±	±	±

照射後4日

白色脾髄では中心動脈、網状組織とも正常と比較して濃度は大差ないが、萎縮或いは線維化の像を伴うものが多い。赤色脾髄は正常よりやや濃染の傾向が認められる。脾臓、脾材の染色性は不定である。

(b) H.E. 染色

表14に一括記載する通りである。

(iii) 腎臓

(a) A.P. 染色

表14 全身照射1000r 脾 H.E. 染色

24時間後	脾臓及び脾材の変化	白色脾髄			赤色脾髄	
		萎縮及びリンパ球の消失	網状細胞の増殖	線維母細胞の増殖	網状細胞の増殖	線維母細胞の増殖
No. 1	±	+	+	+	+	+
No. 2	±	+	+	+	+	+
No. 3	±	±	+	+	+	+
No. 4	±	±	+	+	+	+
No. 5	±	±	+	+	+	+
No. 6	±	±	+	+	+	+
4日後						
No. 7	+	+	±	±	±	±
No. 8	+	+	+	±	+	+
No. 9	+	+	+	+	+	+
No. 10	+	+	+	+	+	+
No. 11	+	±	+	+	+	±
No. 12	±	+	+	+	+	+

表15 全身照射1000r 骨髓 A.P. 染色

	細胞数	濃度	血管
正常6例	±	±	±
24時間後			
No. 1	±	±	+
No. 2	±	±	+
No. 3	+	±	±
No. 4	±	±	+
No. 5	±	±	+
No. 6	+	±	±
4日後			
No. 7	±	±	±
No. 8	±	±	±
No. 9	±	+	±
No. 10	±	±	+
No. 11	±	+	±
No. 12	+	±	+

照射後24時間及び4日の全例に於て、正常と比較して濃度及び染り方に特異な変化を認めない。

(b) H.E. 染色

照射後24時間及び4日の両者に於て、細尿管上皮に高度の変性と、糸球体に軽微の変化を認める。

(iv) 骨髓

(a) A.P. 染色 (表15)

照射後24時間

反応を示す細胞は正常に比較して大差ないが、濃度はやや増強の傾向が認められる。血管の染色性は周辺の線維化の強い所に相当して増強しているものがある。

照射後4日

反応を示す細胞数の減少が目立っているが、濃度には著しい変化は認めない。

(b) H.E. 染色

照射後24時間及び4日に於て、全般に骨髓組織は萎縮に陥つて脂肪細胞の増加が著しく、減少せる骨髓細胞は核濃縮或いは融解し、原形質も変性して染色性が低下し崩壊しているものもある。その他小出血巣や血管周囲の線維化が認められる。

IV 総括並びに考按

A.P. の組織化学的検索は1923年 Robison⁵⁾ 一門の骨組織に於ける証明を嚆矢とするが、1938年高松⁶⁾ は骨組織以外にも適用出来る一般的な方法を考案し、次いで翌年には Gomori⁷⁾ も独自の方法を報告し、その後報告された多数の変法をも含めて、高松及び Gomori の方法は A.P. の組織化学的研究に現在最も広く用いられているものである。

本実験に於ける A.P. 染色は Gomori 氏改良法によつたが、これは一定 pH の基質より酵素作用によつて遊離した 磷酸を 磷酸カルシウムとし、更に呈色反応として 磷酸コバルト→硫化コバルトと云う長い一連の反応を必要とする。従つてこれらの染色過程に於て、或る種の試薬が酵素作用のない所に沈着したり、反応生成物が周囲組織に拡散する可能性があり、酵素作用の特異性や酵素の局在性に関しては慎重に吟味しなければならない。この中酵素作用の特異性については、各標本毎に基質を含まないで同条件で処理した対照標本を作つて比較検討すれば、或る程度非特異性反応を除外する事が出来、事実本実験の総てに於て両者の間に明瞭な濃度の差を認める事が出来た。

次に酵素作用の局在性に関して最も重要なものは、生成した 磷酸カルシウムが活性を示す場所だけに正確に沈着するか否かと云う事であり、こ

れは肝組織に於ては肝細胞殊に肝細胞核の反応が最も問題となつている。即ち Lison⁸⁾ は核に於ける陽性の反応は A.P. の存在を示す一義的な証拠ではなく、核の静電気的特性によつて他部より 磷酸カルシウムを引きつけ、コロイド形として沈澱したものである事を多くの実験的事実を以て主張し、核の A.P. 反応は陰性であると述べ、Gomori⁴⁾ も同様に核の反応陽性は Artefact であると云つている。

これに反して Wang & Grossman⁹⁾ は化学的固定によらず Freezing-Drying Method によれば、Gomori 染色を行つても明らかに肝細胞核及び原形質に固有の反応を認めると報告し、更に久保¹⁰⁾ は家兎の肝細胞の A.P. 反応は増減が著しいが存在すると述べ、Cleveland¹¹⁾ も亦 Gomori 法によつて正常人肝 Biopsy の A.P. 反応を行い、核、原形質の陽性所見を記載している。その他 Ludewig & Chanutin¹²⁾ は組織化学的方法でなく肝細胞分割の化学的測定に於て、核分割の A.P. 活性値は全活性値の約40%を占めると述べている。

この様に Gomori 氏染色に於ける核その他の細胞構成要素の A.P. 反応は今日尙不明の点があり、成績の判定には慎重を要するが、Lison が述べている如く細胞の段階ではなく組織の段階に於て、総合的に比較検討するのが最も妥当であると考えられる。従つて本実験に於ける肝 A.P. 反応の成績は、その存在が最も明確に知られ、且つ最も多量に存在すると云われている毛細胆管の反応を基準として各細胞、組織の反応を比較判定する事とした。

正常6例に於ける肝組織 A.P. 反応の成績を総合すると、毛細胆管の染色性と比較して肝細胞、中心静脈内皮、及びグリソン氏鞘は略々同程度であり、ジヌソイドはやや低い様に思われる。又正常6例の臓器ホモジネイト活性値では、腎臓は常に最も高く、次いで脾臓、骨髓、肝臓の順である。然し肝臓及び骨髓では数値の変動が可成り大きい。Hard¹³⁾ 等は正常家兎の臓器ホモジネイト活性値について筆者と略々同じ方法で測定し、

肝臓 163 (92—283) 単位, 腎臓 359 (256—440) 単位と記しており, 肝臓の成績は本実験と略々一致している。

肝臓部4000r 一時照射に於ける肝ホモジネイト活性値は正常値に比較して軽度の低下が認められた。肝組織 A.P. 染色では正常像と比較して毛細胆管の反応のみが特異的に強く低下しているのが認められ, また肝細胞では原形質の染色性がやや低下しているが, 核の染色性は正常群と大差なかった。然し H. E. による同組織の形態的観察では核, 原形質ともに可成り高度の変化が見られ, 若し組織化学的に核の A.P. 反応が特異的な酵素作用の局在性を示すものであるとすれば, その現れ方は形態的变化と一致しないと思われる。然し No. 1, No. 2に見られた壊死巣に於ては A.P. 反応は限局性に全く消失し, 久保は完全な壊死巣には A.P. 反応はないと述べている。

即ち肝臓部一時大量照射に於ては, 形態的には肝細胞に高度の退行性変化を認めるが, A.P. に及ぼす影響は実質細胞には余り見られず, 毛細胆管及びグリソン氏鞘の胆管に著明であると言う事が出来, これは肝組織各要素間の放射線感受性や恢復の相違によるものと推察される。然し第1編に述べた血清 A.P. 活性値の著明な減少と比較すると, 組織 A.P. に及ぼすX線の影響は軽微であると云い得る。

次に肝臓部1000r 一時照射に於ける形態的变化は1例を除いて肝細胞の変化は軽微であり, また肝臓部分割照射の成績は先に福田¹⁴⁾並びに早川¹⁵⁾が報告した所見と略々一致し, 一時照射と比較して分割照射に於ては肝組織の障害は可成り軽減される事が明らかである。

後肢4000r 照射に於ても大半に肝細胞の軽度の変化が観察された。この様な肝臓を直接照射しない場合に於ける肝細胞の形態的变化について, Kadowaki¹⁶⁾は壊死係数を以て数量的に表わし, 肝臓に対する放射線の間接作用を推定している。然し血清 A.P. 活性値には認むべき変化はなかった。

略々半致死量の X線全身照射による肝組織の

A.P. 反応は照射後24時間に於て, 毛細胆管の反応が正常と同程度ないしはやや増強しているのに比較して, 肝細胞核並びに原形質の染色性が低下し, グリソン氏鞘に於ては血管系の反応がやや減弱しているのが認められる。これは先に述べた肝臓局所照射に於て主として毛細胆管の反応低下のみが認められたのに反して, 明らかに異った傾向を示し, 照射方法の相違や照射後日数の長短によつて肝 A.P. に及ぼす影響を異にする事が推察され, 甚だ興味ある知見と考える。即ち局所照射及び全身照射に於て肝臓が直接受けるX線量は4:1であるが, 後者に於ては肝臓に対し更に全身性の障害が加担され, 肝臓は破壊細胞によつて作られる2次的中毒物質の影響を急速に受けるものと推定される。

次いで照射後4日に於ては先と同様にやや増強した毛細胆管の反応が認められるが, 肝細胞の染り方は24時間後よりやや強い様に思われる。この様な時期に於ける肝組織の H.E. 染色は24時間後, 4日後を通じて形態的变化は軽微であり, 本池¹⁷⁾は全身照射に於ける組織 A.P. の変動は形態的变化に伴つて表れると述べているが, 本実験に於てはかかる両者の関係は全く観察されなかった。又山田¹⁸⁾は全身照射によつて肝組織の A.P. 反応は減弱すると述べている。

全身照射に於ける肝ホモジネイト活性値は正常に比し照射後24時間に於て軽度の低下を来し, 4日後には略々正常値にもどつた。これに関して Ludewig & Chanutin¹⁹⁾ はラットのX線全身照射に於て略々同様の成績を報告しているが, Hard 等は総胆管結紮家兎に於て, 血清 A.P. 活性値が増減しても肝ホモジネイト活性値には認むべき変動はないと述べている。本実験に於ては血清 A.P. 活性値の低下は著明であるが, 肝ホモジネイトには極く軽度の低下が観察されたに過ぎない。

脾組織の A.P. は主として白色脾髄の網状組織などに見られるが, 全身照射後24時間では白色, 赤色脾髄とも反応を示す細胞が増加し, 濃染しているのが認められ, 4日後では白色脾髄の反応は正常と大差なかった。脾ホモジネイト活性値

は24時間後では正常と比較して殆ど変化なく、4日後には軽度の低下が見られた。然し臓器ホモジネイトの成績は図1～3に示す如く、各動物によつて可成りの相違があり、成績の判定にはやや難澁を覚えるが、肝及び脾ホモジネイト活性値の推移を比較すると、両者の間に逆の傾向が観察され、照射後4日の肝ホモジネイト活性値は脾臓の夫れを凌駕しているのが認められる。

一般に脾臓や骨髓の様な放射線感受性の高い組織の障害は、照射直後より可成り早期に見られるのが普通であり、時間の経過と共に漸時修復され、24時間以後の観察は放射線障害の極期の像とは云い難く、又実験の目的は肝臓障害の追求にあり、他の臓器、組織の検索はこれを補う手段として行つたものであるから、此等の結果については単に実験成績の記載に止め度いと思う。腎臓に於ては全身照射後24時間及び4日の両者に於て、細尿管上皮に軽度の変性を認めたが、A.P.染色並びにホモジネイト活性値は正常と比較して全く変化を認めなかつた。骨髓組織のA.P.染色では反応を示す細胞数の減少が見られるが濃度は正常と大差なく、又そのホモジネイト活性値はやや漸減の傾向が認められるが個体差が大きい。形態的変化は脂肪変性を主とし、脾臓と同様に修復期にあるものと思われる。

酵素溶液に対する放射線の作用に関しては Dale, Barron などの著名な業績があり、多数の酵素溶液は放射線によつて抑制される事が知られている。此等の抑制作用は H_2O の照射生成物が酵素の protein group や prosthetic group に作用して示されるものであり、従つて SH 酵素は一般に非 SH 酵素よりも強く抑制され、又照射線量が少い時は Glutathione をを加えると酵素活性は可逆的に復元される。例えば Phospho glycer aldehyde dehydrogenase 溶液 (70 $\mu g/ml$) は 100r の X 線照射で 20% 抑制されるが、照射後 Glutathione を加えると 100% 復元する。然し 200r 照射は 50% が非活性化され、Glutathione を加えてもその 62% しか復元せず、蛋白変性によるものと考えられている²⁰⁾。これに反して Trypsin

は 5000r 照射でその 24～26% が非活性化されるに過ぎない。

Phosphatase は上記の酵素の様な結晶型が得られず、Albers (1940) は血清 Phosphatase について実験を行い抑制作用を認めている (線量不明)。本実験に於ては肝ホモジネイトを用いて *in vitro* で Co^{60} γ 線照射を行つたが、結果は 100 万 r に於て軽度の抑制が見られたに過ぎない。然し乍ら結晶酵素の水溶液と異つて血清やホモジネイトでは多量の夾雑物によつて Freeradical の形成が強く阻害されるので、酵素に対する真の抑制効果が示されているとは云い難いが、少なくともこの成績によつて、生体の A.P. が放射線によつて直接的に非活性化されるのではなく、飽く迄も細胞機能に関連して変動すると云う事が推察出来る。

V 結 論

1. 肝組織 A.P. 反応は肝臓局所照射と全身照射に於て異つた変化を示す。即ち前者では主として毛細胆管の反応低下のみが観察されたが、後者では毛細胆管の反応が強い以外に肝細胞及びグリソン氏鞘の血管系に低下が見られた。

2. 肝組織 A.P. 反応は形態的変化とは一致しないと考える。

3. 肝ホモジネイト活性値は肝臓部局所照射及び全身照射ともに軽度の低下が認められた。

4. 肝組織 A.P. 反応及び肝ホモジネイト活性値の変化は、血清 A.P. の変化と比較して軽微である。

5. 肝臓部分割照射は一時大量照射に比較して障害は軽度であり、また後肢照射に於ても肝組織に軽度の形態的変化を認めた。

6. 脾臓、腎臓、及び骨髓の A.P. は腎臓を除いて軽度の変化が認められた。

7. *in vitro* の A.P. に対する放射線の抑制作用は殆ど認められなかつた。

稿を終えるに臨み御指導と御校閲の労を賜りました京都大学福田正教授に厚く御礼申し上げます。又本学赤木弘昭教授、山路助教授はじめ教室員各位の御支援を感謝致します。尚組織所見について御教示下さいました

本学臨床病理学教室植村講師に対し 深甚の謝意を表します。

本論文の要旨は第18回日本医学放射線学会総会、並びに第20回大阪医科大学医学会総会に於て発表した。

文 献

- 1) Shinowara, G.Y., Jones, L.M. & Reinhart, H.L.: J. Biol. Chem. 142: 921, 1942. — 2) 吉川春寿: 臨床医化学 (I) 実験編, 協同医書出版社, p. 292~305. — 3) 岡本耕造, 上田政雄, 前田隆英: 顕微鏡の組織化学 (第2版), 医学書院, p. 415~429. — 4) Gomori, G.: J. Cell and Comp. Physiol. 17: 71, 1941. — 5) Robison, R.: Biochem. J. 17: 286, 1923. — 6) 高松英雄: 満洲医学雑誌29, 1351, 昭13年. — 7) Gomori, G.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 42: 23, 1939. — 8) Lison, L (今泉正訳) 組織化学及び細胞化学, 白水社 p. 439—452. — 9) Wang, K.J. & Gro-

- ssman, M.I.: Anat. Rec. 104: 79, 1949. — 10) 久保久雄, 高松英雄: 日病会誌40: 1, 1951. — 11) Cleveland, F.P., Richfield, D.F. & Gall, E.A.: Arch. Path. 49: 333, 1950. — 12) Ludewig, S. & Chanutin, A.: Arch. Biochem. 29: 441, 1950. — 13) Hard, W.L. & Hawkins, R. K.: Anat. Rec. 106: 395, 1950. — 14) 福田正: 第12回日本医学放射線学会, 宿題報告, 1953. — 15) 早川勝巳: 日医放会誌19: 2, 293, 1959. — 16) Kadowaki, I.: Med. J. Osaka Uni. 7: 3, 1956. — 17) 本池勇三: 満洲医学雑誌35: 5, 859, 昭16年. — 18) 山田修: 日医放会誌15: 7, 585, 1955. — 19) Ludewig, S. Chanutin, A.: Am. J. Physiol. 163: 648, 1950. — 20) Hollaender, A.: Radiation Biology, McGraw-Hill Book Co., N.Y., Tronto, London, 1954, 283—314. — 21) Barron, E.S.G., Dickman, S., Huntz, J.A. & Singer, T.P.: J. Gen. Physiol. 32: 537, 1949.

Studies on the Radiation Injury of Liver Part II. On the Histo-alkaline Phosphatase

By

Osamu Kusano

Department of Radiology, Osaka Medical College (Chief: Prof. H. Akagi)
(Director: Prof. M. Fukuda, Kyoto University)

In the 1st part, the author mentioned that the value of serum alkaline phosphatase activity showed a tendency to decrease by X-ray irradiation of liver region. And the fact is for the reason of that the action of X-ray to the cell is chiefly the degenerative change. And it was considered that the remarkable decrease of the activity of serum alkaline phosphatase that was seen by the total body irradiation was caused by the secondary load from all over the body to the liver.

In this part the experiment was performed about the histological distribution and the chemical quantitative study on the tissue alkaline phosphatase during the time of such injury. And further on the X-ray effect to the alkaline phosphatase in vitro, the experiment was carried on. The animal for the experiment was rabbit that was used on the experiment in part I.

Histo-alkaline phosphatase staining was executed on the liver, the kidney, and the bone marrow by Gomori's improved method. On the chemical measurement of the histo-alkaline phosphatase, homogenate of these organs was prepared and measured by Shinowara-Jones-Reinhart's method.

1. As regards to the reaction of the liver histo-alkaline phosphatase, entirely different change of the picture was observed between the local irradiation of liver

(4000 r single irradiation) and the total body irradiation (1000 r). About the former, chiefly the decrease of the reaction on the bile canaliculi was only observed especially and about the latter the bile canaliculi reaction was on the normal degree or rather increased. And on the liver cell and the vascular system of Glisson's capsule the lower degree was recognized, and these reaction was not analogued to the morphological change of the tissue.

2. About the value of the liver homogenate activity, the slight increase on the local irradiation of liver and the total body irradiation was observed.

3. But the above mentioned change was slight, comparing to the change of serum alkaline phosphatase activity.

4. On the fractional irradiation of liver region, comparing to the single irradiation, the injury was of lower degree, and about the limb irradiation the slight morphological change in the liver tissue was observed.

5. About alkaline phosphatase of the spleen, the kidney, and the bone marrow, slight degree of the change was noticed except for the kidney.

6. The X-ray restraint action to the alkaline phosphatase of in vitro was hardly noticed.
