

Title	X線照射の肝臓組織に及ぼす影響について(第2報 肝細胞ミトコンドリアの位相差顕微鏡的研究)
Author(s)	早川, 勝巳
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1959, 19(2), p. 300-309
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/20202
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

X線照射の肝臓組織に及ぼす影響について

(第2報 肝細胞ミトコンドリアの位相差顕微鏡的研究)

京都大学医学部放射線医学教室 (指導 福田教授)

早 川 勝 巳

(昭和34年1月27日受付)

I. 緒 言

私は先に肝臓の分割照射にたいする組織学的な変化を研索し一定の知見を得たが、当教室で行なわれた機能的な面における諸実験からみてもかなり早期に一時的に機能低下を示す例があることがわかった。即ちたとえ分割照射で総線量2,000r~4,000 r程度では組織学的につよい変化をみとめ難いような場合でもその間に何等かの形で肝臓に変化のあつたことは想像に難くない。

そこで私は近年酵素系の諸研究で最も重要なオルガネレとして注目を浴びてきたミトコンドリア(以下ミトと略す)の面から肝臓のX線照射にたいする影響を研究しようと試みた。

ミトは Altmann¹⁾, Benda²⁾, 等によつてその存在が確認され以来 Altmann-Kull 法, Heidenhain の鉄ヘマトキシリン法によつて染色されたものについて論ぜられてきた。そしてそのようなミトの動態によつて肝細胞の機能状態の指標とした多くの研究がみられるが³⁾⁻¹⁰⁾, その多くは桿状、乃至糸状ミトを静止型、球状ミトを活動型と推定してきているようである。

しかし後述するように最近位相差顕微鏡の出現によつて固定染色法によるものよりは、はるかに生体時の条件に近い状態で観察出来るようになってから従来の固定染色法ではその過程においてかなりの人工的変化の加わることがわかつてきた。天野もヤーンズ緑を撰らした上で位相差顕微鏡下にもつてくれば非常に生活時に近い状態で観察出来ることをみとめている¹¹⁾。

しかして位相差顕微鏡による細胞学的研究としては、Zollinger¹²⁾, Opie¹³⁾, Scherer¹⁴⁾, 飯沼¹⁵⁾, 水平¹⁶⁾, 武田¹⁷⁾, 等の数多くの業績があるが、私はこれらの諸研究の結果から最も好結果の得られた0.88M蔗糖溶液を封入液として、Dark Contrast Medium を用いて位相差顕微鏡により肝細胞のミトについて研究をおこない一定の知見を得たので報告する。

I. 実験方法

1) 実験動物及び方法

体重15gr~20grの健常成熟マウスを用い、標本製作時より12時間前に絶食せしめ各々照射後の動物の新鮮肝臓の一部を脱血死せしめた後、その一片を載物硝子上の封入液中に一定の圧をもつて圧挫し、直ちにパラフィンで封入して標本作製し、位相差顕微鏡油浸鏡検(対物レンズ千代田 Dark Contrast Medium, 直接倍率 900~1350 X)によつて生体観察を行つた。その像のすべては写真撮影によつて記録した。

2) 照射条件

東芝製 KXC-17 STO-200-3
160kV 3 mA. 濾過板 0.5mmCu + 0.5mmAl
皮膚焦点間距離 30cm
一時全身照射

照射線量は 300r, 600r, 1,200 r, で照射後より 3時間, 6時間, 12時間, 72時間, 5日後, 7日後, に検査をおこなつた。

II. 実験結果

1) 正常所見

正常マウスの肝細胞においては細胞及び核の大きさは、概ね一定しておりミトは大きさ略々一定で 0.2μ の幅を有し 5.0μ 程度の長さをもつものであることはほぼ従来の所見に一致する。そしてその表面は平滑で、端は鈍円を呈している。細胞内分布には一定の状態を示さず核の近傍に集ることもあり、核を中心にして放射状に於て周辺部に密なこともある。変性顆粒は全くみとめられず、僅かに分泌顆粒がみとめられる程度である。(写真正常)

2) X線照射群

300r 照射群

a) 3時間後、この群ではあまり変化はなく多少球状のものが多くなっていることもあり、ところどころ分節化しているミトが散見される。正常群に比較してつよい変化はない(写真9)。

b) 6時間後、糸状又は桿状ミトは明らかに減少し、いわゆる分節化の状態をなし糸状桿状のものが数個の小球状の連鎖のような構造を示す。こうした中に球状のものが混在しているし亜鈴状のものもある(写真2)。

c) 12時間後、6時間後において一般的に形の乱れのあつたミトは非常に少なくなり、分節化したのも多くみとめられず長桿状あるいは糸状のものが大部分を占めている。そして正常群と同じように胞体内にミトが充満した像を示している(写真3)。

d) 24時間後及びそれ以後、これらの群では全く正常とことなることはなくミトの大きな、数にも異常な所見はない(写真4)。

600r 照射群

a) 3時間後、比較的多くのミトに分節化したものをみとめるが大きな球形化したものや数の目立つた減少などはみられない。全く異常のないミトも多く混在している(写真5)。

b) 6時間後、糸状ミトは減少し分節化して念珠状や亜鈴状をなすものも多くみられる。中には小さな球状をしたものもみられる。然し異常に大きな顆粒は出現していない(写真6)。

c) 12時間後、300r 照射時にみられた回復像

は殆んどみられず、念珠状、亜鈴状の中に可成り大きな顆粒状のミトがみられるようになる。そしてミトの数も多少減少しているように思われる。然し空胞の出現は未だみとめられない(写真7)。

d) 24時間後、ミトは微細なものが少なくなり、卵円形、点状、円形のものが増加している。核膜の肥厚がみられるものも表われて来た(写真8)。

e) 48時間後、核膜の肥厚は著明となり、中に核仁の変形をみるものもある。ミトは分裂顆粒化してところどころそれらの集合像を示すところもある(写真9)。

f) 72時間後、核膜の肥厚は普遍的となり、核仁の変形もつよくなり、ミトは融合像が多くみられる。細胞内分布については尚つよい偏在性はみとめられない(写真10)。

g) 5日後、肝細胞の萎縮が著明となり、胞体内には大顆粒が出現し、桿状のミトは殆んど全く消失している。小空胞の出現もみられ、核膜の肥厚も著明である。数も非常に減少してくる(写真11)。

h) 7日後、肝臓の肉眼的所見によつても正常時に比較して著しく萎縮している。半数以上はこの間に死亡してゆく。鏡検像では、肝細胞の萎縮がつよくミトも殆んど消失して大きな球状の粒子が残るのみである。空胞があればその周囲に偏在することが多い(写真12)。

1,200 r 照射群

a) 3時間後、分節化して念珠状になつたもの、あるいはこの過程にあるもの、正常のもの、など各種のミトが混在している。顆粒状への変化はなお著明ではない。核膜の変化も未だ表われない(写真13)。

b) 6時間後、分節化が著しく念珠状、亜鈴状、音叉状の形態変化がみられるが、分裂顆粒化のために胞体内のミトの数は増加している像がみられる。変性顆粒、空胞、などは認められず、核の変化もあまり著明ではない(写真14)。

c) 12時間後、分節は進行して小球状化しているものが多い。空胞の出現とが、非常に大きな顆

正 常

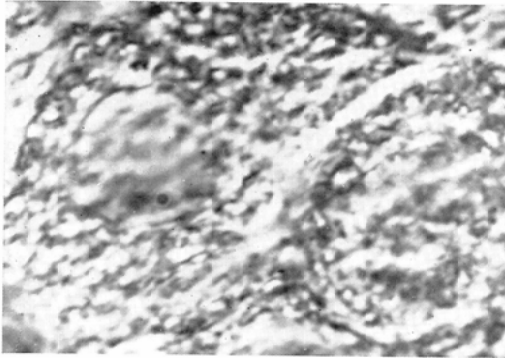


写真1

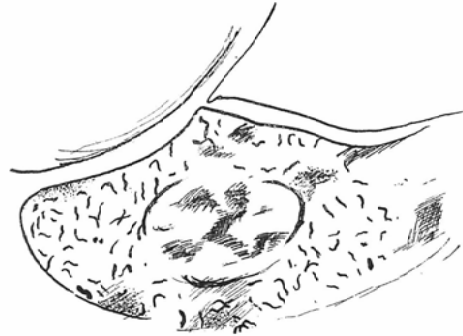
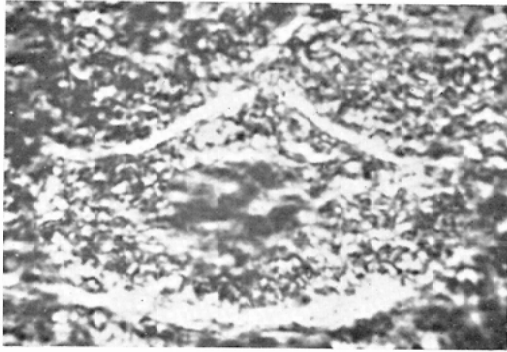


写真2

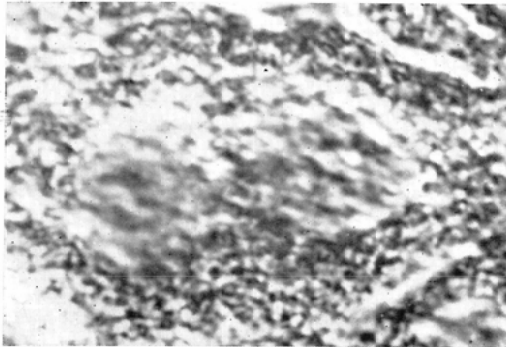


写真3

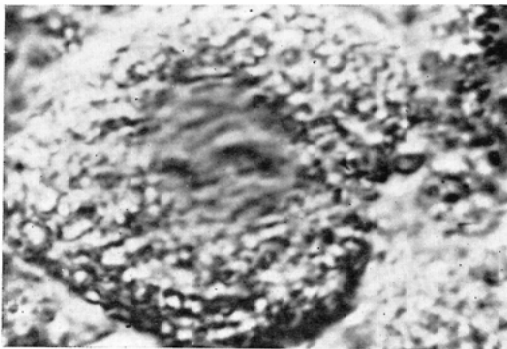


写真4

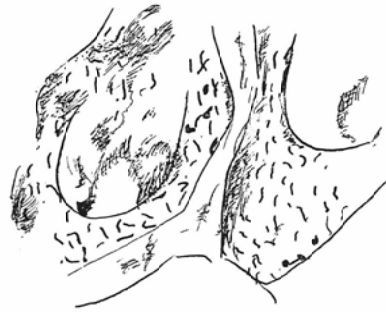
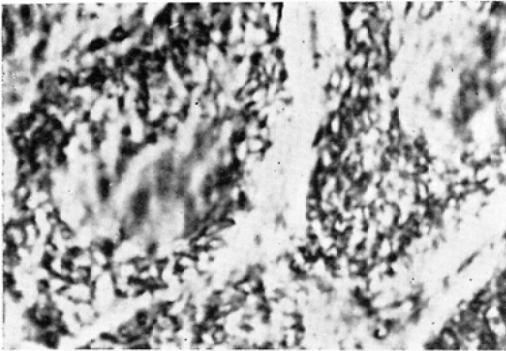


写真5



写真6

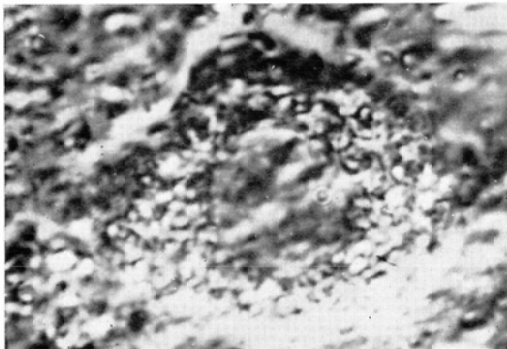


写真7

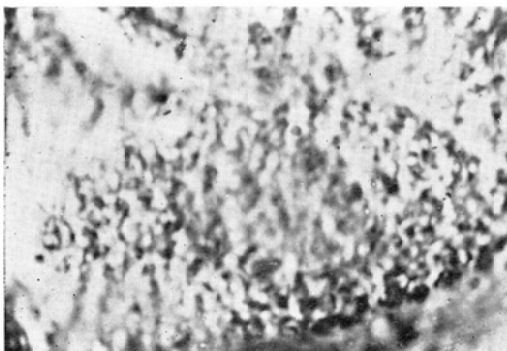


写真8

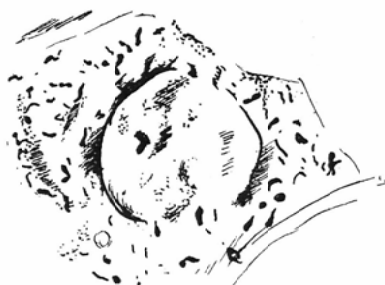
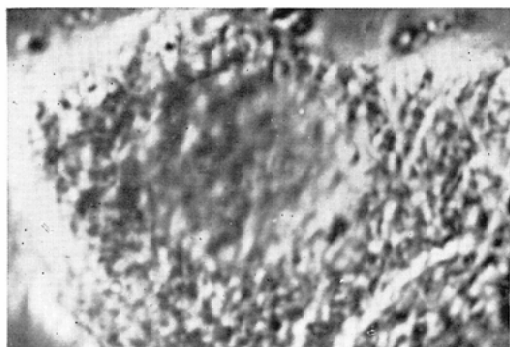


写真9

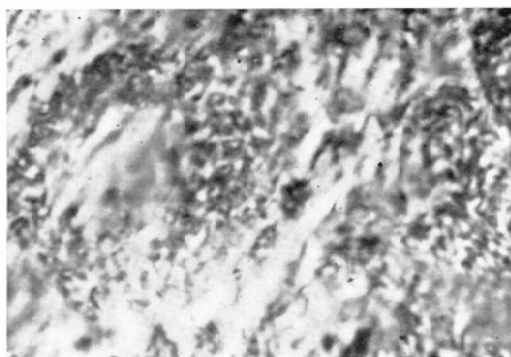


写真10

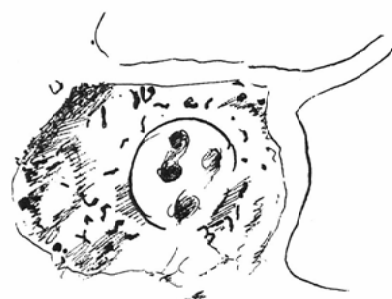
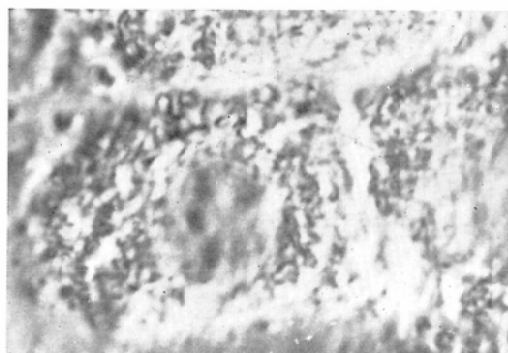


写真11

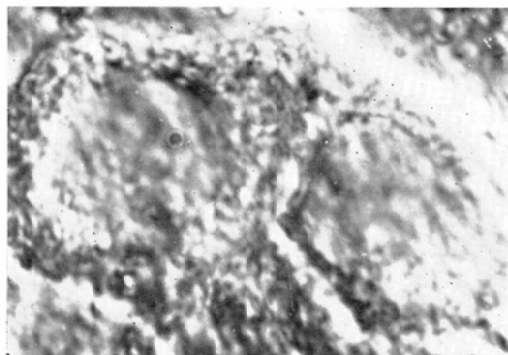


写真12

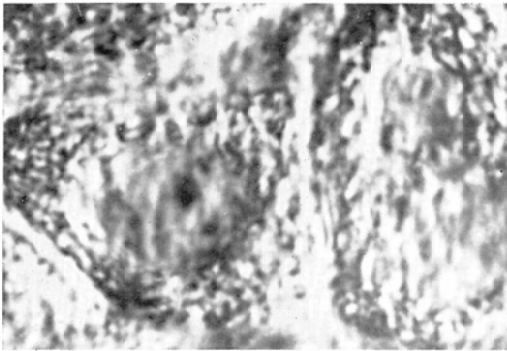


写真13

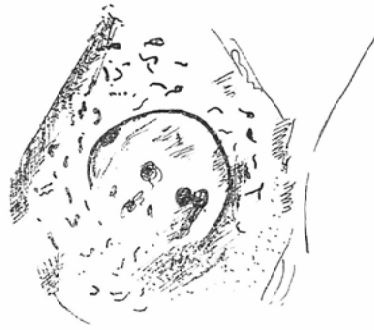
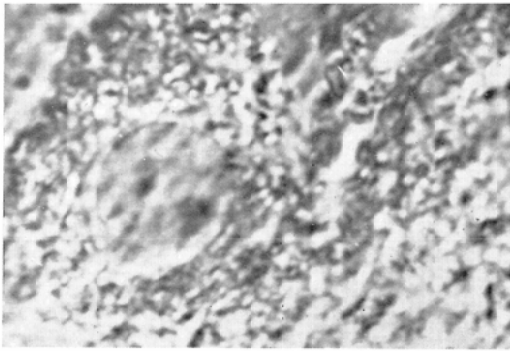


写真14

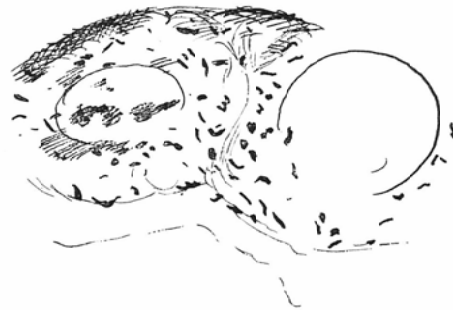
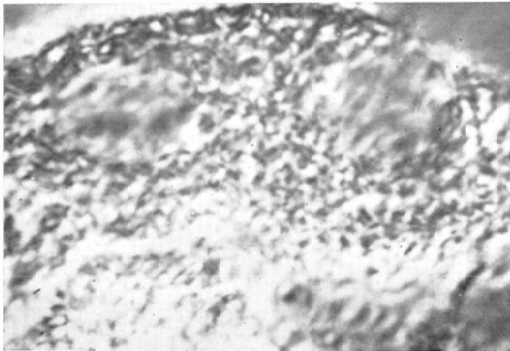


写真15

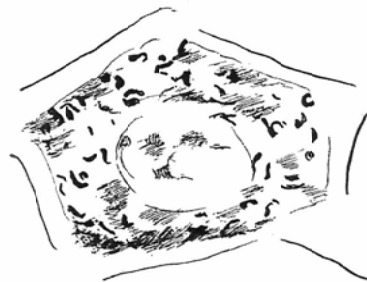
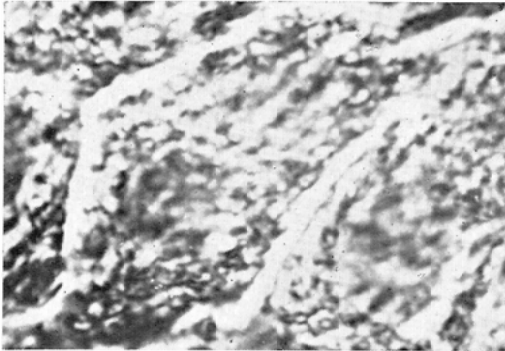


写真16



粒の出現はなく核の変化も著明ではない(写真15).

d) 24時間後、細胞は萎縮はみられないが核膜の肥厚があらわれ、ミトの正常化、の回復像は全くみられず依然として分裂顆粒化したままであつて数の減少もあまり明らかでない(写真16).

III. 考 按

位相差顕微鏡による細胞学的研究に於いて、まず問題になることは細胞の封入液であつてミトの研究の初期にこの封入液の影響は非常にふかく検討されている。即ち一般に低張液を用いれば、糸状、桿状のものは急速に膨潤して空胞状の大顆粒となりミト実質はその一部に圧搾されてくる¹⁸⁾。さらに蒸留水をもつてすればこの現象はより著明にみられる^{19)–20)}。ところが等張液であつても、即ち生理的食塩水とか Ringer 液、またはこれに僅かな糖を加えたような封入液、あるいは同一動物の血清などを用いた封入液をもつてしてもミトは明らかに膨潤してくる。しかしながらこのように低張液などによつて膨潤したミトは封入液を高張液にしてゆくと再び桿状のミトにもどることが知られている²¹⁾。はじめから高張液をもつてすればミトの変化は乏しく、且つ生体時に近い機能を有していることが Schneider²²⁾ らの生化学者の手によつて発見され、しかもその濃度として0.88 M 蔗糖溶液が最適であるという成績が出ている。

ついで標本製作時及び鏡検時における温度の影響

であるがミトは温度特に常温以上では頗る形態学的に変化をおこしやすいことが知られている。例えば西庵²³⁾は20°C、死後15分ですでに明らかな変化がみられるといつているし、Mc Cardle²⁴⁾、も高温に動物をおいた時にはミトは著明に顆粒化、空胞化を示すことを、また Policard²⁵⁾ は温度によつて腎細胞の核には著変はないがミトには明らかな変化をみとめることを報告している。これと反対に笠松²⁶⁾らは温度の変化によるミトの影響を経時的に検討して、低温の方がはるかに変化の少いことをみとめている。

正常の肝細胞のミトは幅約0.2μ程度、長さは約5μで断端は鈍円を呈しており肝細胞内の数は約2500程度²⁷⁾であろうといわれている。またミト自体の構成成分は古典的研究にみられるように、Fauré-Frémiet²⁸⁾ が卵の磷脂質からミトのような物質を抽出したとか、Mayer, Rathery²⁴⁾、らが肝の磷脂質の増減とミトのそれとが平行関係にあるという実験、あるいはさらに Löwschin³⁰⁾ のレシチンの研究におけるミトとレシチンの類似性などの結果からほぼ磷脂質との複合体であろうと推論されていたが、近年になつて Bensley は肝の分割でミトの構成成分は主として蛋白質、磷脂質、及び中性脂肪であると報告している。

つぎに細胞内におけるミトの機能的位置はすこぶる複雑であつて、Schneider, Hogeboom, Claude, Lehninger, Green, らの多くの生化学的研

究があるが、*Bourne* の綜説をあげるとまず炭水化物の酸化は糸粒体内で行われ、焦性ブドウ酸以降の細胞呼吸の80~90%はミト内で行われるという。この際高エネルギー磷酸結合が出来てこれを自身及び細胞の代謝エネルギー源として供給する。なおミトには多量のグルタチオン、ビタミンCを含み、細胞質内のSH基を産生し、酵素を活性化することも考えられ又トランスアミネーションにより各種のアミノ酸の産生にも関与する。さらに脂肪代謝に関して、ミトはきわめて強力な酸化活性の場であるとされている。このように糖原、蛋白質、脂肪の各代謝の中心的存在であるミトはとりもなおさず、こゝにおいて *Krebs' Cycle* が主としておこなわれていることを示すものである。

このようにミトはとくに肝臓にあつては各物質の代謝過程において、最も重要、かつ欠くべからざる通路にあたつているわけであるから、肝細胞の機能状態はよくミトの変化を伴うことは想像に難くない。飢餓、食事の摂取による変化とか、冬眠中の蛙の肝細胞ミトは球状のものが多く夏の蛙のそれは糸、桿状のものが多くと云う成績³⁸⁾、さらに *Ludferd*³⁹⁾ の甲状腺細胞においても機能亢進に際してミトが糸状となるという報告がある。しかしこのようなミトの形の変化のみから直ちに機能亢進の有無の指標とすることは危険であるという *武田*⁴⁰⁾ の意見もある。

私の実験において、全身照射 300r、6時間後に桿状のミトは分節化いわゆる *fragmentation* をおこして念珠状になつたミトを多くみるようになってくるが、このような事実はX線照射をおこなつた蛙の肝細胞ミトがすでに4~8時間後に正常の形を失つて球状化する傾向がみられ、かつ明らかに分節化するという *Weil, Frenkel*⁴¹⁾、*Tschasso' wnikow*⁴²⁾、らの実験でもみとめられている。この分節化、念珠状化、顆粒状化、はX線照射のみならず四塩化炭素、クロロホルムなどの肝臓毒による肝障害の場合にもみられるところである⁴³⁾。

*Rosin*⁴⁴⁾ はこのミトの球状膨大化と共にR.N.Aの減少が著明であるといつている。このことは絶食させた動物、即ち肝細胞ミトが膨化するような

条件ではR.N.Aと磷脂質が同時に著しく減少するという成績⁴⁵⁾とよく類似点を見ることが出来る。

西庵⁴⁶⁾のRa Br₂、X線照射によるミトの変化も同様に小顆粒状化、及び染色性の低下をみるという成績が出ている。*Mac Cardle, Congdon*⁴⁷⁾、が行つた実験で500r、~1200rのX線照射によつて肝小葉の中心部、周辺部によつてミトそのものの形の変化はあるが大体の傾向として6~8時間後で球状化がみられるという。

このようなミトの変化は単に肝細胞だけでなく脾臓の細胞のミトもX線照射によつて分節がおこるといふ⁴⁸⁾、又腫瘍細胞のミトもX線照射後数時間にしてやはり球状となり、膨潤したような像をとることが知られている⁴⁹⁾。形態学的にみてこのようにミトの変化がつかみやすいためであろうか、X線の作用は核にあらわれる変化よりもむしろミトの方が先であろうと推論している人もあるが⁵⁰⁾、しかし反面 *Bloom*⁵¹⁾、は放射線感受性の高いと一般に考えられている腸上皮細胞ミトがX線照射をうけた時、まず核の変化がおこつてからその後に変化を示しはじめる点から考えて従来のように核の変化が優先するであろうといつている。

しかしいづれにしてミトの変化は実験の結果からみても非常に早期にあらわれることは事実であつて従来から考えられたようにX線の生物学的障害の大部分は核のそれであろうとの概念はあらためられなければならないと考えられる。

分節化したミト、小顆粒状化したミトは細胞の障害度がつよくない時は再び桿状様のミトにもどるものであることは、私の実験でも明らかであつて300r照射後24時間で殆んど全く正常の形にかへつているし、又動物を極端につよい飢餓に陥し入れた時大きな顆粒状、空胞様に膨潤したミトが飢餓の回復に伴つて再び桿状になつてくることが知られている⁵²⁾。このようにミトの変化は形態的には常に不可逆的な変化をとるのではなく、障害の程度によつては可逆的なものであることがわかる。

更に600r全身照射では最初3時間から6時間

頃では分節したミトが念珠状になつたり、微細な顆粒状になつたり、桿状のものがやゝ縮んで太い膨化したような像を示す。

24時間から48時間頃ではこれらの変化は殆んど平衡状態で大きな顆粒の出現が目立つたり、数が著明に減少したりするようなことはみられなかつた。72時間後ではミトが融合している像や核膜の肥厚が著明となつてミトにも核にも共に著しい変化を認めることが出来る。さらに5日後になるとこれらの変化は進んで細胞の萎縮がみられるようになりミトの数も著明に減少してくる。

このようにミトの数が明らかな減少を示す場合には肝細胞の組織呼吸が著しく減少していることを示すものであつて、このことは三上等⁵³⁾も肝切除を行つた場合の実験において組織呼吸とミトの数が平行関係にあることを実証しているが、先の実験成績からみても分節化したミトは念珠状やさらに小顆粒状になつて、時には軽度の障害をうけた場合に一見して数が増加しているような像がみられるものであつて、数の減少の面のみからミトの障害に言及することは余程障害が進行している場合でないといふことが多い。

1200r 照射群にあつて比較的早期に動物が死亡してゆくために、ミトの変化は分節化、念珠状化、時に大顆粒状のものが出現するような種々の相を示し、数の減少や細胞のつよい萎縮はあまり著明ではない。そしてこのような変化のまゝで動物は死亡する場合が多い。このことは原子爆弾による大量照射例と同様肝臓に対する影響より、より多くの他の因子の附加によつて死亡するものであろうと思われる。

上述のようにミトは早期にX線照射によつてその形態的な変化をあらわすことがわかつたのであるが、超速心分離によつて分離した肝臓ミトを試験管内でX線照射を行うと3000r 照射してはじめて生体に600r 全身照射した場合と同程度のSH基の減少をみるという成績や⁵⁴⁾、Scherer⁵⁵⁾の行つたコハク酸酸化酵素の活性がやはり分離したミトのみの照射では大きな影響をうけないのに、生物を照射すれば容易にその活性低下を認めるとい

う報告などからも考えられるようにミトがX線照射によつて容易に変化するの、これによつてひきおこされる体内の総ゆるもの不平衡の発現によつて、即ちX線の二次的な生物学的作用によるものであらうと思われる。

肝臓のX線照射に対する影響は先にも述べたようにその組織学的変化はかなり大線量にならぬと障害を残さないことが知られているが、一方その機能的な障害はかなり低い線量によつても一過性にしるある程度の障害相を示す。この機能的障害と肝細胞ミトの変化とを直ちに同一義に解釋することは出来ないが、ミトの生化学的機能の重要性、複雑性から考えても、各代謝過程の障害による肝機能の障害の発現は予想出来るのではなからうか。

以上の如くミトは全身照射によつて早期に変化を示すが、線量が少い時はその回復も著明である。そこで低感受性といわれる肝臓であつてもX線照射によつてやはり何等かの影響をうけるものであることがわかる。

IV. 総括並びに結語

成熟マウスにX線全身照射を行い、その際の肝細胞ミトの影響を位相差顕微鏡によつて追究した。

ミトは動物の各種の条件によつてその形態学的変化を容易に示すものである。これは細胞内における各種の代謝にとつてミトが必要欠くべからざる重要な organelle であることを物語っている。

ミトの形態的な変化としては、概して生体のおかれている条件が悪い時には球状、膨潤したような像をとり、その前段階として糸状ミトの分節がみられるようである。細胞の萎縮がみられ核にも変化があらわれるようになるとミトは融合したような大きな顆粒状となり、時には空胞状になる。そして数の減少も明らかに認められる。

このようなつよい変化にいたらぬ時にはミトは比較的早く正常の形態にかえる。

次に本実験の結果を括めてみると

1) 肝細胞ミトは300r 全身照射でも早期に変化を示し分節化が多くみられる。そして12時間後

は正常像に回復する。

2) 600r 照射では分節, 念珠状, 球状などの像から5~7日後では細胞の萎縮と共にミトの数の減少, 膨大化が著明となる。

3) 1200r では同様に分節, 球状化がみられるが極端につよい変化にならぬうちに動物は死亡してゆく。

(英文抄録は第3報と共に記載する。)

(本論文の要旨は第13回日本医学放射線学会において発表した。)

閣筆にあたり福田教授の御指導, 御校閲を深謝すると共に, 御支援を仰いだ三重県立医大病理学武田進教授に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Altmann: Studien über die Zelle, Leipzig. (1886). — 2) Benda: *Ergeb. Anat. Entwickl.*, 12, 743 (1903). — 3) Romeis: *Anat. Anz.*, 45, 1 (1913). — 4) 西庵: *解剖学雑誌*, 4, 499(昭6). — 5) 島: *京都医学会雑誌*, 34, 161(昭6). — 6) 沖田: *日新医学*, 27, 857(昭13). — 7) 矢野: *実験消化器病学*, 13, 311(昭14). — 8) Takagi: *Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Uni.*, 15, 169(1939). — 9) 高木: *解剖学雑誌*, 24, 78(昭26). — 10) 寺田: *日本内科学会雑誌*, 42, 38(昭28). — 11) 天野他: *細胞*, 日本細胞化学会編, 丸善, 東京(1953). — 12) Zollinger, H.U.: *Cytological Studies with phase microscopy*, 24, 569(1948). *Cytological Studies with phase microscopy*, 24, 797(1948). *Cytological Studies with phase microscopy*, 24, 1039(1948). — 13) Opie, E.L.: *J. Exp. Med.* 85, 339(1947). — 14) E. Scherer: *Strahlenther.* 90, 34(1953). — 15) 飯沼: *Okajima fol. anat. Jap.* 24. — 16) 水平: *位相差検鏡法とその応用*, 医学書院(1952). — 17) 武田: *腫瘍細胞*, 38, 永井書店(昭31). — 18) Opie, E.L.: *J. Exp. Med.* 86: 46(1947). — 19) 柴谷: *医学と生物学*, 第18巻, 83(昭20). — 20) Guilliermond: *Cytopl. Plant Cell.* 247(1941). — 21) 斎藤, 柴谷: *東京医事新誌*, 67, 43(昭25). — 22) Schneider, W.C.: *A Review. Cancer Res.* 11, 1(1951). — 23) 西庵: *解剖学会誌*, 5, 328(昭7). — 24) Mac Cardle, R.C.: *Anat. Rec. Suppl.* 51, 75(1931). — 25) Policard, A.: *Compt. rend. Soc. de biol.*, 72, 228(1912). — 26) 笠松: *臨床外科*, 第7巻, 759(昭27). — 27) Allard, C., Mathin, R.: *I. Cancer. Res.* 12, 407(1952). — 28) Faure-Fremiet, E.: *Arch. anat. micro.* 12, 19(1910). — 29) Mayer, A. & Rathery, F.: *J. Physiol. et. Path. gen.* 16, 607(1914). — 30) Löwischin, A.M.: *Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch.*, 31, 203(1913). — 31) Benschley, R.R.: *Anat. Rec.* 69, 341(1937). — 32) Schneider, W.C. et Hogeboom, G. H.: *J. Biol. Chem.* 172, 619(1948). — Schneider, W.C. et Hogeboom, G. H.: *J. Nat. Cancer. Inst.* 33) 10, 983(1950). *J. Nat. Cancer. Inst.* 10, 968(1950). — 34) Claud, A.: *J. Exp. Med.* 81, 51(1945). — 35) Lehninger, A.-L. & Kennedy, E.P.: *J. Biol. Chem.* 185, 275(1950). — 36) Green, R.H.: *J. Exp. Med.* 75, 651(1942). — 37) Bourne, G.H.: *J.R. Micro. Soc.* 70, 367(1951). — 38) 高木: *動物学会雑誌*, 60, 4(1951). — 39) Ludford, R.G.: *Clarene Press.* 37, 4(1952). — 40) 武田: *腫瘍細胞*, 38, 永井書店(昭31). — 41) Weil: *Frenkel, In, The method of action of Radium and X-rays on living tissue: H.A. Colwcdl: Oxford, Univ. Press.* (1935). — 42) London Tschessownikow, N.: *Virchows. Arch. f. Pate. Anat.*, 269, 166, (1928). — 43) 安永: *内科宝函*, 3, 605(昭31). — 44) Rosin, A., Doljanski, L.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 62, 62(1946). — 45) Kosterlitz, H. W., Cramb, I.D.: *J. Physiol.* 102, 18(1943). — 46) 西庵: *日本レントゲン誌*, 9, 641. — 47) Mac Cardle, R.C. et al.: *Am. J. Path.* 26, 725(1955). — 48) 西庵: *日本レントゲン誌*, 9, 358, 613. — 49) Ludford, R.C.: *In, The Method of Action of Radium and X-Rays on Living Tissue: Oxford University Press. London.* (1935). — 50) 42) に同じ. — 51) Bloom, W., and Bloom, M.A.: *In, Radiation Biology, Hollaender, A. ed* (1954), I. — 52) 柴谷: *日新医学*, 第36巻(昭24). — 53) 三上他: *日本臨床*, 第15巻, 33(昭32). — 54) 平出: *S H の進歩*, 医学書院(1954). — 55) E. Scherer: *Strahlenther.* 99, 230(1956).