

「ミトコンドリアトキシシ、スクリーニングシステムの研究(1)

B-18 形態学的スクリーニングシステム：ラット培養肝細胞超微細構造の経時的变化(第2報)、サリチレートの影響

分担研究者 山下文雄 久留米大小児科

共同研究者 木村昭彦・村上龍夫・吉田一郎・

小野栄一郎 久留米大 小児科

ライ症候群もしくはライ様症候群をきたす薬物として、サリチル酸¹、バルブロ酸²、ホパンテン酸³、4-ペンテン酸⁴、マルゴサ油⁵などの報告がされている。今回、われわれは、サリチル酸を培養液に負荷し正常ラット培養肝細胞の変化を観察した。

目的：ライ症候群及びライ様症候群をおこすと考えられている薬物及び各種ウイルスの肝微細構造への影響を知ること、さらにはライ症候群及びライ様症候群の治療の影響を形態学的に知ることである。

対象、方法：ウイスター系ラット雄(200-300g)を使用し、宮崎ら⁶の方法を用いて、肝細胞を単離した。ネプタールをラット体重当り40mg/kg投与し、15分後開腹、門脈から右心房へCa⁺⁺、Mg⁺⁺freeのHanks液及びコラゲナーゼを還流した。培養液はWilliam's E (pH7.4)を使用した。viabilityは92-93%であった。

培養後24時間して、培養液を交換し、その時にサリチル酸(0-10mM)を負荷した。

さらに24時間後に培養液を除去し、それぞれをグルタル、オスミウムで固定し電顕にて観察した。

結果：1、サリチル酸濃度0-4mMまでは、ミトコンドリアには変化はみられなかった。しかしモル濃度が増せば空包変性が著名となった。7mMではHackenbrock⁷が報告したミトコンドリアの濃縮像が得られた。この変化は5mMでも観察されたが7mMでより著明となった。優位な脂肪滴の出現はみられなかった(写真1)。

2、写真2は、5mM投与時のさまざまなミトコンドリアの形態で、左が正常、中央がswellingとmatrixのdensityの低下、cristaeの破壊である。ただしこの所見は極一部にしかみられなかった。右はnecrosisにおちた細胞で観察されたミトコンドリアである。

3、モル濃度を上げると、たとえば10mMでは写真2の左の状態のミトコンドリアが存在せず全て右の所見が得られた(写真2)。

写真1：コントロール、サリチル酸濃度5mM、7mM投与時の単離ラット肝培養細胞、及びミトコンドリア濃縮像。

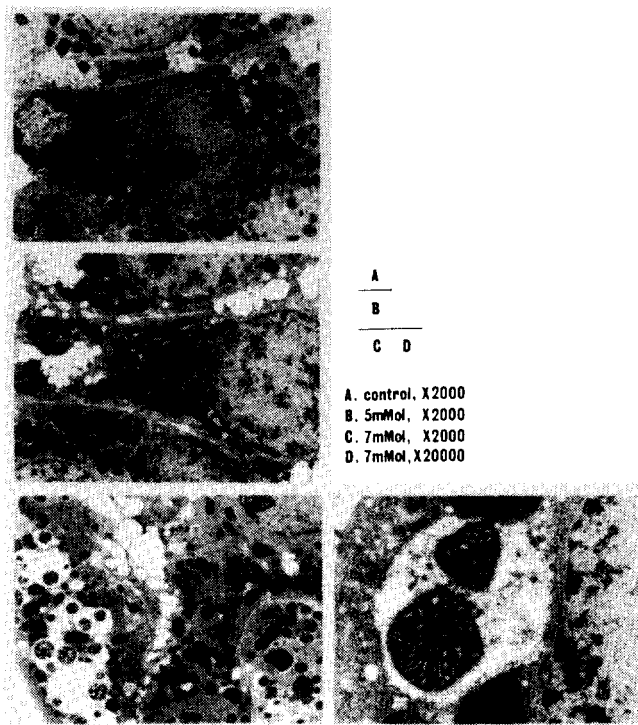
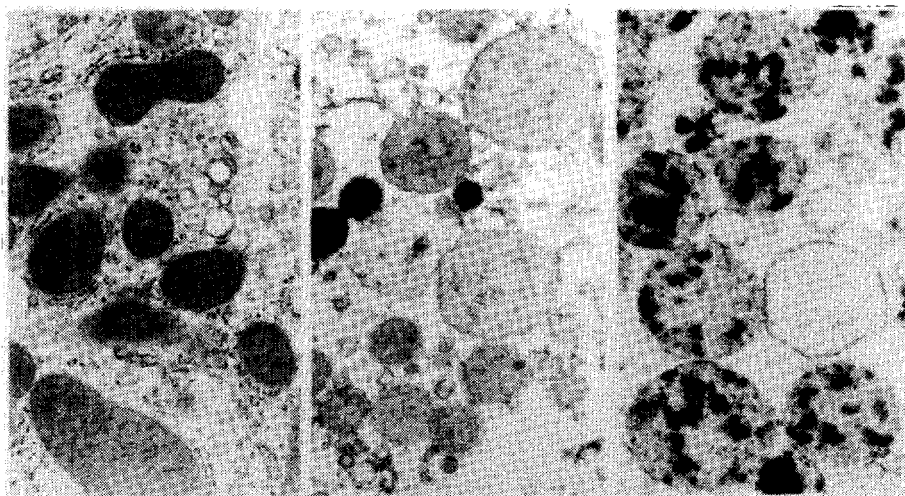


写真2：サリチル酸濃度5mMのさまざまなミトコンドリアの形態。



5mMol, X20000

考察: You⁸は、分離ラット肝ミトコンドリアにサルチル酸を負荷し、6.7mMでミトコンドリアにswellingが起きたことを報告したが、solution(20mM tris and 130mM NH₄Cl, pH7.4)にH⁺イオンはあるがADPがなくATPがつくれない状態であり、サルチル酸負荷前より、この分離ラット肝ミトコンドリアは脱共役の状態にある。われわれは、7mMで逆にHackenbrockの報告したミトコンドリアの濃縮像を得た。このことは、サルチル酸投与により呼吸速度のこう進、電子伝達が促進されていることを示す。

まとめ: サルチル酸は、細胞障害性が強く、高濃度ではnecrosisにおちいる様である。また、サルチル酸単独投与ではPartinら⁹の報告するライ症候群にみられるミトコンドリアの変化はえられなかった。

文 献

- 1, Rosenfeld R, Gand Liebhaber M: Acute encephalopathy in Reye's syndrome vs salicylate intoxication. *Am J Dis Child* 1976;130:295-297.
- 2, Ware S, Millward-Sadler GH: Acute liver disease associated with sodium valproate. *Lancet* 1980;2:1110-1113.
- 3, 杉本健郎、安原昭博、西田直樹、坂根義己、杉本裕好: ホパンテン酸カルシウムの投与中におこった急性脳症の3例. *脳と発達* 1983;7:258-259.
- 4, Yoshida I, Yamashita F, Yoshino M, Okada S: Antecedent mitochondrial changes to the appearance of fatty droplets and ATP concentrations in rat liver treated with 4-pentenoic acid. In: *Reye's syndrome* (ed. by Croker, J.F.S.), Grune and Stratton, New York, 1979; pp433-441.
- 5, Sinniah D, Baskaran G: Margosa oil poisoning as a cause of Reye's syndrome. *Lancet* 1981;1:487-489.
- 6, 宮崎正博、Wahid S、宮野恵子、佐藤次郎: 成熟ラット肝細胞の分離と初代培養. *組織培養* 1983;9:187-190.
- 7, Hackenbrock C R: Ultrastructural bases for metabolically linked mechanical activity in mitochondria. *J. Cell Biol* 1966;30:369-297.
- 8, Kwan-sa You: Salicylate and mitochondrial injury in Reye's syndrome. *Science* 1983;221:163-165.
- 9, Partin J C, Schubert W K, Partin J S: Mitochondrial ultrastructure in Reye's syndrome (Encephalopathy and fatty degeneration of the viscera). *N. Engl. J. Med* 1971;285:1339-1343.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



まとめ:サリチル酸は、細胞障害性が強く、高濃度では necrosis におちいる様である。また,サリチル酸単独投与では Prttin ら 9 の報告するライ症候群にみられるミトコンドリアの変化はえられなかった。