

ラット肝ミトコンドリアの電気的性質

金沢大学大学院医学研究科第二病理学講座(主任 石川大刀雄教授)

金沢大学大学院医学研究科第二外科学講座(主任 水上哲次教授)

井 口 英 樹

(昭和42年2月10日受付)

生体膜の電気的性質は、古くから生理学的研究の対照であり、また現在生物物理の領域でも中心課題の一つである。とくに、その能動輸送に関連して膜の性質の等価回路的解析が試みられ、事実、Fricke¹⁾、Cole²⁾らにより、多くの等価回路や解析式が提示されている(図1)。

石川・小田島³⁾は生体皮膚についての広汎な実験や数式的解析から、これら等価回路はある条件下でのみ成り立つものとし、新たに図2のようなより普遍妥当性のある等価回路を提示した。この回路形式は抵抗と容量の比が周波数によらず一定であるという仮定は必要でなく、生物現象の解析にはより有用であるとしている。また実際にこれを用いて皮膚における各種の病理形態学的変化を各素子(C₁R₁、C₂R₂)に応じて定量的に記載した。

そこでまずこの等価回路形式のミトコンドリア浮遊液への適用の可能性を検討し、膜の性質及びその機能と等価回路のCR各素子との関連性を吟味した。さら

に膜作用物質による正常ラット肝ミトコンドリアの障害や、変性、炎症のさいのミトコンドリアの性質を等価回路的に吟味し、併せて膜の機能的変化や生化学的障害(ATPase及び血清トランスアミナーゼ)と対比して、その作用機作を検討した。

実験材料及び方法

1. ミトコンドリア分離法

正常ラット及び各種脂肪肝ラットを、無麻酔下に斬首、瀉血し肝臓を剔出した(全操作は氷冷下で行なった)。

剔出した肝臓を3~5mm³の細片として、蔗糖液I(0.25 M sucrose, 0.01~0.02 M Tris 緩衝液, 0.1 mM EDTA, pH 7.4)に浮遊し、その溶液を数度変えることにより血球成分をできるかぎり取り除くようにした。

次にHogeboom-Schneiderの変法⁴⁾により、4倍量の蔗糖液Iを加え、Potter-Elvehjem型ガラスホモジナイザー、さらにテフロンホモジナイザーを用いて、組織細片を20%ホモジネートとした。

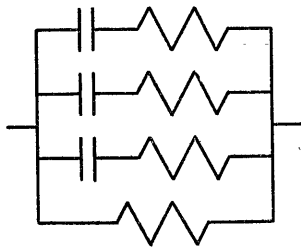
ついで、図3に示す方法でミトコンドリア分画を調製した。即ち、50×g 7分遠心して核成分を落し、その上清を0.34 M 蔗糖液に重層し、700×g 10分遠心、粗大夾雑物を除いた。この上層2/3をさらに5000×g 10分遠心して、比較的顆粒の大きいミトコンドリア分画を得た。さらにこのミトコンドリア分画を60 ml/3 g tissueの蔗糖液Iに溶かし、6000×g 10分、続いて7000×g 10分遠心洗滌した。最後にその沈渣を蔗糖液III(0.25 M sucrose, 0.001 M Tris 緩衝液, pH 7.4)に溶かし9000×g 10分遠心し、沈澱したミトコンドリア分画を用いた。ミトコンドリアの濃度はすべてwet weightで表示することにする。この値はミトコンドリア蛋白量の約10倍に相当する。

以上の操作はミトコンドリアの機能を測定した教室

図1 従来の等価回路形式

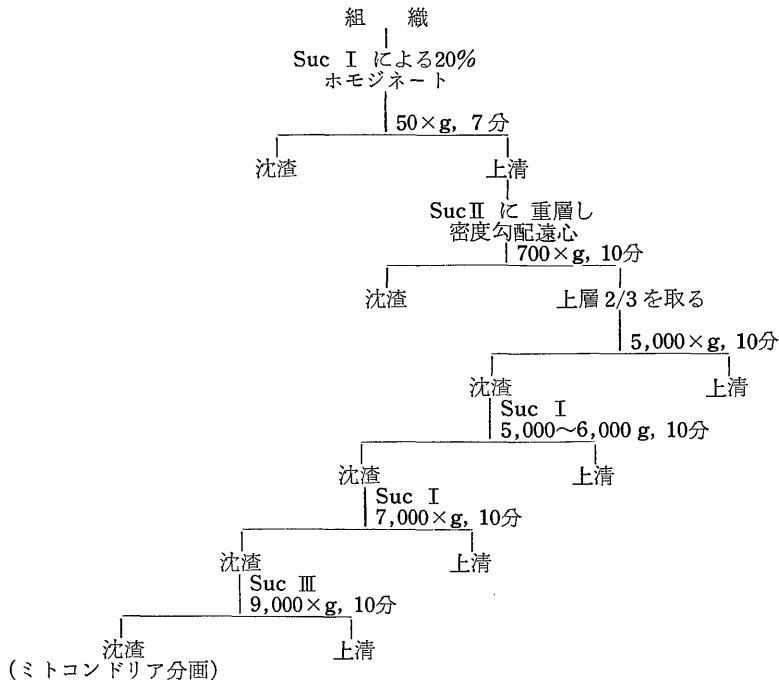


図2 石川・小田島による等価回路形式



Electrical Properties of Rat Liver Mitochondria. **Hideki Inokuchi**, Department of Pathology (Director: Prof. T. Ishikawa), School of Medicine, Kanazawa University.

図3 肝ミトコンドリア分離法



同人、清水と共同で行ない、実験には共に同一ミトコンドリア材料を使用した。

2. 肝障害ラットの作成

四塩化炭素、塩化セリウム及び栄養性肝障害を起すコリン欠乏食によって各種肝障害を作成した。実験には体重 150~170g のウイスター系ラットを使用した。

1) 四塩化炭素を鉱油に溶かし、体重 kg あたり 1.5 ml 宛胃チューブで経口投与した⁵⁾。

2) 塩化セリウムは生理食塩液に溶かし、体重 kg あたり 18.6 mg を尾静脈より注射した⁶⁾。

3) コリン欠乏食は Hartroft, W. S. の方法⁷⁾により、1日に体重 kg あたり 500 g を与え、それ以外は水のみを充分に与えた。

コリン欠乏食の組成は下記に示す。

Vitamin powder	4.00 (g)
L-cystein	4.00
Salt mixture	0.50
Cellulose (C.M.C.)	4.00
Vitamin free casein	6.00
L-soy protein	6.00
Sucrose	45.50
Lard	30.00
全量	100.00

4) 卵黄感作肝の作成は Campbell の方法⁸⁾で行

なった。即ち、ラットに生理食塩液で 1.5 倍に稀釈した卵黄を、体重 kg あたり 20 ml/日、隔日に尾静脈より注射した。

さらに、この実験に用いた肝臓はすべて組織標本を作り、H-E 染色及びスダンⅢによる脂肪染色を行ない、脂肪変性の進行度を光学顕微鏡で確認した。

3. 酵素活性測定法

1) 血清トランスアミナーゼ

試薬は三光純薬より市販されている「ヤトロン・トランスアミナーゼ測定用試液」を用いて、s-GOT (グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ) 及び、s-GPT (グルタミン酸焦性ブドウ酸トランスアミナーゼ) を測定した。

なお、トランスアミナーゼの単位は国際単位を用いた。

2) ATPase 活性

測定は Chen-Dallan の方法⁹⁾により、下記の順序で行なった。

i) 5.0 μ moles ATP, 5.0 μ moles Tris 緩衝液, 12.0 μ moles KCl を含む 0.3 ml の液に、ミトコンドリア 200 μ l を加え、30°C, 4分間 incubate する。

ii) 10%過塩素酸溶液 1 ml を加え、1500~2000 r.p.m. 5分遠心する。

iii) 上清 0.5 ml をとり、蒸留水 3 ml を加える。

iv) 10N 硫酸 0.5 ml, イソブタノールベンゼン溶液 5 ml, モリブデン酸塩液 0.5 ml をこの順に加え 15秒間はげしく振盪後静置する。

v) 液が 2 層に分れてから, 上層より 1 ml をとり, 硫酸エタノール液 5 ml, 10%塩化第 1 スズ液 0.5 ml を加え混和する。

vi) 波長 650 mμ でこの溶液を比色し, 標準曲線より Pi の量を算出する。

添加する DNP は 1×10^{-5} M, Mg⁺⁺ は 6×10^{-3} M の MgCl₂ を使用した。

標準曲線を作るための無機燐の定量は Ernster の変法¹⁰⁾を用いた。

4. 測定装置及び方法

電気的性質の測定及び, 等価回路の決定は次の方法で行なった。

図 4 はこの解析に用いた装置の概略であるが, 脈波電圧を負荷とすると, 測定小室を通り R_K を流れる電流は時間と共に指数函数的に減少する (図 6 b)。この波形を数式的に解析することにより, 等価回路の様式と回路を構成する CR 各素子の値を決定できる。測定には電圧 2.0 V, duration 50 msec の脈波を負荷した。パルス発生装置は日本光電の MSE-3 を用い, 観測用増幅器は日立 P101B 型シンクロスコープを使用した。その仕様はパルスの立上り時間 10 mμsec, 周波数特性 D.C.~24 MC まで ±1~3 dB 以下, 偏光感度 0.05 V/cm, 掃引時間 0.1 μs/cm~5 s/cm まで連続変化可能である。

実際の測定はブラウン管面上の波形を写真撮影し, それを拡大して各時間における電流値を読んだ。

波形の解析は小田島の方法に従った¹¹⁾。即ち, 時定数の異なる 2 つの CR 直列回路が並列に組合わされ, それに直列に R があるとき, この回路を流れる全電流 i は次の数式で計算される。

$$i = \frac{E(R_1 + R_2)}{(R_1 R_2 + R_2 R_3 + R_3 R_1)} \cdot \frac{(r + \alpha)e^{\alpha t} - (r + \beta)e^{\beta t}}{(\alpha - \beta)}$$

実際の解析は, 作図法による近似計算により, 各系の C, R を算出した。

解析は duration 50 msec の脈波の歪みから計算し, r の値は電流値が一定となる 1.0 sec の値で計算した。

R_K には 5 KΩ の標準抵抗を挿入した。

測定小室として, 厚さ 0.3 cm のアクリル樹脂板を用い, 図 5 に示すような内径 0.5×1.0×1.0 cm の枠を作り, 両端に 1.0 cm² の電極を付けた。

即ち, 測定小室の容積は 0.5 ml で, 電極間距離は 0.5 cm である。

図 4 測定装置概略図

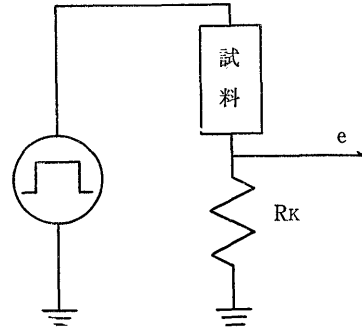


図 5 測定小室断面

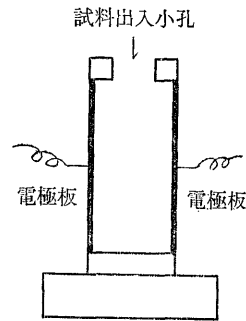


図 6 a 正常肝ミトコンドリア浮遊液の等価回路

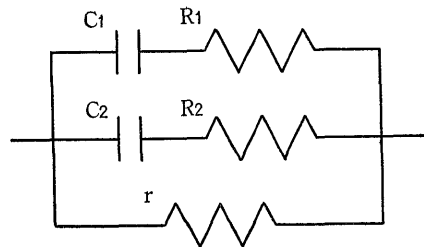
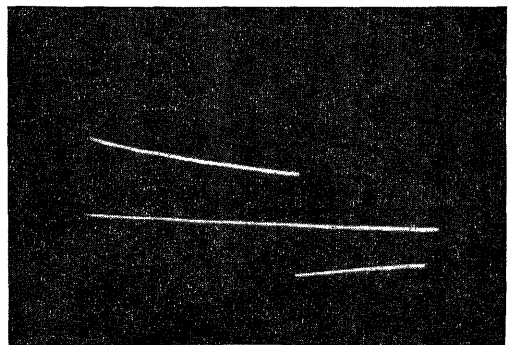


図 6 b ミトコンドリア浮遊液に 2.0 V, 50 msec の脈を負荷して記録された波形



電極には白金黒付白金板を用い、これにより容量の測定値を ±5% の誤差にとどめることができた。

実験成績

I. 基礎実験

1. 正常肝ミトコンドリア浮遊液の電気的性質

肝ミトコンドリアを 0.25 M 蔗糖液に浮遊させ、その電気的性質を測定した。

図 6 b はその R_K 端子に表われる電圧を増幅したもので、この解析から二つの CR 直列回路と一つの抵抗

r が並列に組み合わされた図 6 a の等価回路を得た。次にこれら電気的性質と浮遊濃度の関係を検討するため、200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12.5mg/ml の正常肝ミトコンドリア 5 種類の濃度別浮遊液について測定を行なった。

図 7 に示すように、ミトコンドリア浮遊液の濃度が低くなるに従い C_1C_2 は小さくなり、逆に R_1R_2 は大きくなる。しかし、 r の値はミトコンドリア濃度に関係なく大体一定である。

図 7 ミトコンドリア濃度別測定値

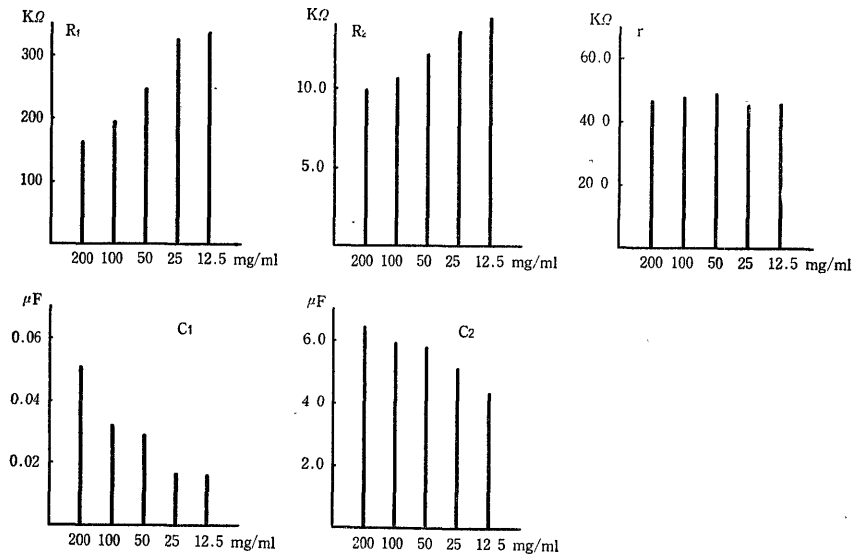


表 1 正常ミトコンドリア電圧別測定値

電圧	時間(msec)	R_1 (kΩ)	R_2 (kΩ)	r (kΩ)	C_1 (μF)	C_2 (μF)
1 (V)	0 ~ 50	245	9.95	8.9	0.00224	7.61
2	0 ~ 50	328	13.4	43.8	0.0164	5.08
4	0 ~ 6	328	27.2	15.6	0.00625	2.49
	6 ~ 20	328	32.7	15.6	0.0173	5.75
	20 ~ 50	567	42.1	15.6	0.00625	2.49
6	0 ~ 13	209	43.4	11.4	0.0272	1.5
	13 ~ 50	295	66.5	11.4	0.0222	1.21
8	0 ~ 9	495	57.5	9.7	0.0085	1.49
	9 ~ 19	495	75.0	9.7	0.00425	0.795
	19 ~ 50	415	12.6	9.7	0.0143	0.905
10	0 ~ 6	—	64.5	9.3	—	0.51
	6 ~ 15	765	88.5	9.3	0.00267	1.45
	15 ~ 27	1665	101.0	9.3	0.00173	0.683
	27 ~ 50	—	120.0	9.3	—	0.45

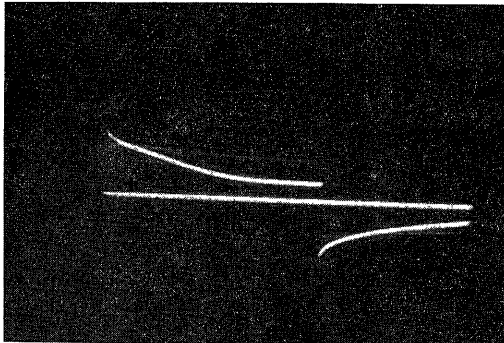
次に負荷電圧と電気的性質の関係を吟味するために、肝ミトコンドリア浮遊液の濃度を 25 mg/ml とし、負荷電圧 1, 2, 4, 6, 8, 10 V について電気的性質の変化を調べた (表 1)。

測定後のミトコンドリアは直ちに清水が oxy meter に向け、電圧負荷によりその機能に変化をきたしていないことを確かめた。

表 1 に示すように、ミトコンドリアは負荷電圧 2 V までは図 6 a に示す等価回路で表わされるが、4 V 以上の電圧を負荷すると、測定時間中に CR の値が何度か変化する (図 8)。これは負荷電圧を高くするとミトコンドリアに通電による変化が生ずるためと考えられ、これについては既に皮膚の電気的性質の測定時に小田島が可能性を指摘しており、数式的にも解析が可能である¹¹⁾。

2. Mediumのイオン濃度による電気的性質の変化

図 8 測定時間中に C.R. が変化した例



両側の電極を銀-塩化銀に変え、蔗糖液にかわって、M/7 NaCl 100, M/7 KCl 2.0, M/10 CaCl₂ 2.0, M/10 MgCl₂ 1.2 の割合の等張食塩液を基準にして、さらに 4 種類の電解イオンの一つをそれぞれ除去した液を medium とし、正常肝ミトコンドリアの電気的性質の変化を検討した。この場合、NaCl と KCl は相互に、CaCl₂ は KCl に、MgCl₂ は NaCl に置き換えて全体としてモル濃度は変えないようにした。

測定はミトコンドリア濃度 25 mg/ml で行なった。

図 9 に示すように、Na⁺ イオンを除去した液では R₁ の減少、K⁺ イオンを除去した液では R₁ の増加、Ca⁺ イオンを除去した液では C₁R₁ 系の消失、そして Mg⁺ イオンを除去した液では C₂ の増加がみられる。

3. 各種膜作用物質による電気的性質の変化

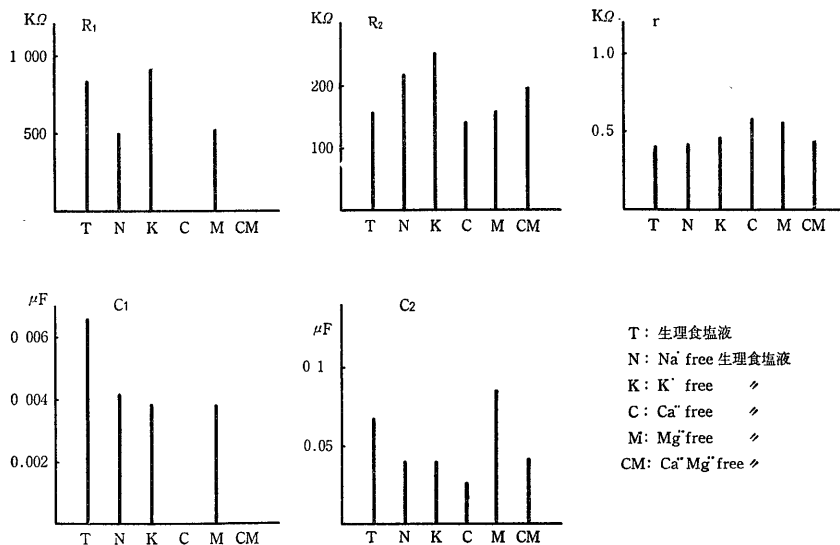
以上の実験からイオン濃度に対応して著しい変化を示す C₁R₁ 系は、その能動透過に由来するものと思われる。そして、イオン濃度に関連した変化の少ない C₂R₂ 系は膜の構築に由来すると考えられる。

そこで正常肝ミトコンドリアに膜作用物質を in vitro に加え、ミトコンドリア膜に生ずる変化を等価回路的に吟味した。

1) 正常肝ミトコンドリアに対する DNP の作用

DNP は古くからミトコンドリアの酸化的リン酸化の uncoupling agent として知られている。uncoupler 量の 10⁻⁵ M DNP を作用させた場合の電気的

図 9 イオン濃度別溶液におけるミトコンドリア測定値



性質の変化は、 R_1 は 0.50 に、 R_2 は 0.35 に減少し、 C_1C_2 は約 2 倍となる (表 2)。

2) 正常肝ミトコンドリアに対する抗血清の作用
 正常ラット肝ミトコンドリア抗血清 50 μ l を作用させ測定した。この量は正常ミトコンドリアの酸化的リン酸化を uncouple する量である¹²⁾。

表 3 に示すように CR 各素子の正常値を 1.0 とすれば、抗血清を作用させたミトコンドリアの値は、 R_1 は

表 2 DNP の作用効果

	正常肝ミト コンドリア 〔A〕	正常肝ミト コンドリア + DNP 〔B〕	B/A
R_1 k Ω	328	162	0.49
R_2 k Ω	13.6	4.7	0.345
r k Ω	45.5	16.3	0.36
C_1 μ F	0.0165	0.0327	1.98
C_2 μ F	5.12	11.9	2.32

表 3 抗血清の作用効果

	正常肝ミト コンドリア 〔A〕	正常肝ミト コンドリア + 抗血清 〔B〕	B/A
R_1 k Ω	328	281	0.86
R_2 k Ω	13.6	8.36	0.61
r k Ω	45.5	45.5	1.0
C_1 μ F	0.0165	0.0179	1.09
C_2 μ F	5.64	6.1	1.19

0.86, R_2 は 0.61 と減少し、 C_1 は 1.09, C_2 は 1.19 と増加する。

3) 正常肝ミトコンドリアに対するヒストン I, II の作用

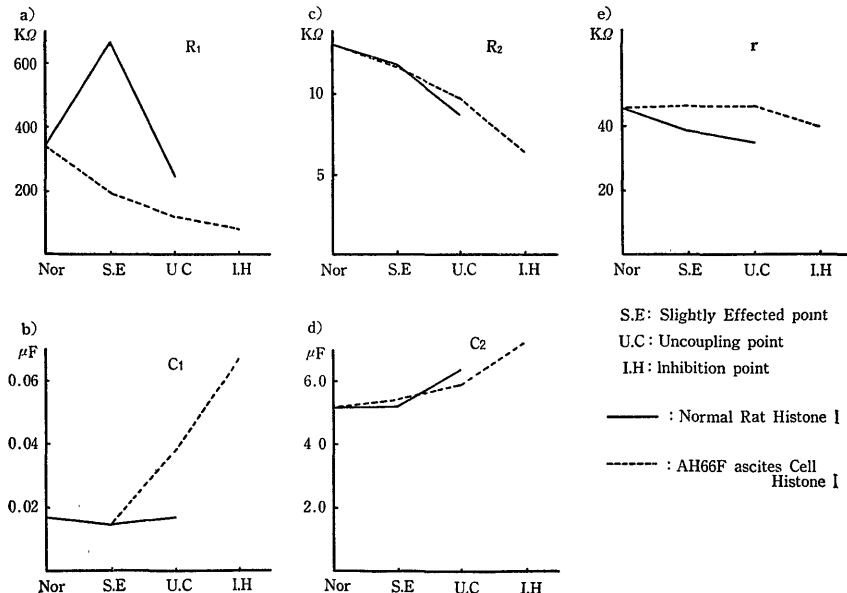
肝細胞核分画より抽出される塩基性蛋白のヒストンが、肝ミトコンドリア膜に作用してそのエネルギー代謝能に影響を与えることが知られている¹³⁾。そこで、これらを *in vitro* で正常肝ミトコンドリアに作用させ、その電気的性質の変化を測定した。

使用したヒストンは肝細胞核分画より硫酸法で抽出したもので、正常ラット肝より抽出したヒストン I, II (以下 nH_1 , nH_2 と略記する) と AH66F 腹水癌細胞のヒストン I, II (以下それぞれ cH_1 , cH_2 と略記する) である。その添加量はミトコンドリアの酸化的リン酸化を uncouple する量及び呼吸を阻止する量を基準とした。

図10は nH_1 及び cH_1 を作用させ CR 各素子の変化を記録したものである。

R_1 についてみると、 nH_1 ではやや効果を示す量を加えると約 2 倍に増加し、さらに共軛阻止量を加えると逆に約 2/3 に減少する。 cH_1 の場合はその作用効果が強くなるに従って、2/3, 1/2 と一方的に減少する。 C_1 では nH_1 を加えても変化しないが、 cH_1 では共軛阻止量を加えると 4 倍に増加する。 C_2 R_2 系では、 nH_1 と cH_1 に差はみられず、 R_2 では共軛阻止量で約 2/3 に、呼吸阻止量で 1/2 に減少するが、 C_2 には著明な変化は認められない。

図10 ヒストン I の作用効果



次にそれぞれのヒストン II を作用させると(図11), R_1 は軽度の効果を示す nH_2 を加えた場合約1.5倍に増加し, 共軛阻止量及び呼吸阻止量では2/3に減少する. これに対し cH_2 ではまず1/2に減少し, 共軛阻止量や呼吸阻止量を加えても変わらない. C_1 は nH_2 を共軛阻止量を加えると1.5倍となるが, さらに呼吸阻止量を加えてもそれ以上変化しない. cH_2 は軽度障害される量及び共軛阻止量を加えると2倍に増加するが, 呼吸阻止量を加えると再び減少する. C_2R_2 系において nH_2 と cH_2 とに差の認められないのはヒストン I と同様であり, R_2 の変化はヒストンの作用効果が強くなるに従って次第に減少し, 呼吸阻止量を加えたときには3/5となる. しかし, C_2 には大きな変化はみられない.

II. 実験的肝障害におけるミトコンドリアの性質

0.25 M 蔗糖液に浮遊させた正常肝ミトコンドリアの電氣的性質は, 図6aのような等価回路で示されることがわかった. 次に, ラットに四塩化炭素, 塩化セリウム, コリン欠乏食を投与して肝臓を障害し, その肝臓より分離したミトコンドリア浮遊液の電氣的性質を機能的変化や酵素活性と対比した.

1. 四塩化炭素

ラットに四塩化炭素を経口投与後6時間目, 12時間目, 24時間目の肝ミトコンドリアを分離し, その電氣的性質や各種機能について実験を行なった. この場

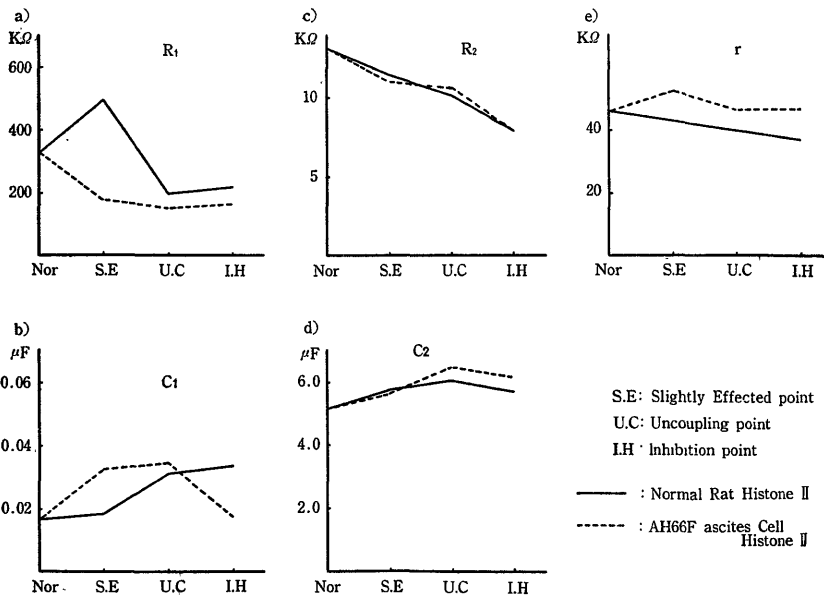
合, 形態学的には投与6時間目の肝臓では, 小葉辺縁に著明な肝細胞の混濁腫脹と一部の肝細胞索の乱れがみられ, 正常構造が失われている. グリソン氏鞘を中心に炎症細胞の浸潤がある(写真1). さらに12時間目の変化では, 全体に肝細胞の混濁腫脹が著明となり, 一部に変性が認められる. 中心静脈周辺部から小葉辺縁部にかけて著明な胞体の円形空胞化(脂肪変性)がみられる. また, 一部に核の融解と星細胞の増生があり, 炎症細胞はグリソン氏鞘を中心に, 肝細胞索の間にも認められる(写真2).

このような形態学的変化に対応して, 電氣的性質は図12に示すように R_1 にはほとんど変化はみられず, C_1 は6時間目には増加して0.0243 μF となるが, 12時間目には0.0164 μF に減少する. R_2 は6時間目, 12時間目ともに減少し8.6, 8.3 $K\Omega$ となるが, 24時間目には1.25 $K\Omega$ ともとの値に近くなる. C_2 は12時間目に6.74 μF となり1.3倍の増加を示すが, 24時間目には5.02 μF に減少する.

s-GOT, s-GPT の変化は6時間目より上昇しはじめ, それぞれ12時間, 24時間目に最高値に達する(図13).

ATPase 活性は図14に示すように, non-activated ATPase は12時間目に正常値の約7倍になり, 24時間目には正常値の2倍近くまで減少する. DNP dependent の ATPase は12時間目に正常値の1/5に減少する.

図11 ヒストン II の作用効果



Mg⁺⁺ activated ATPase は次第に上昇し、24時間目に正常値の13倍以上となる。

これらミトコンドリアの機能的変化は、6時間目から酸化的リン酸化の共駆がやや障害され、12時間目で完全に uncouple される。

このときミトコンドリアの呼吸調節率は、健常時の 30.5 mμ atomsO₂/ml/min から 81.2 mμ atomsO₂/ml/min へ上昇する¹⁴⁾。

2. 塩化セリウム

ラットに塩化セリウムを投与後(尾静脈より注入),

図12 四塩化炭素を投与したラットの肝ミトコンドリア測定値

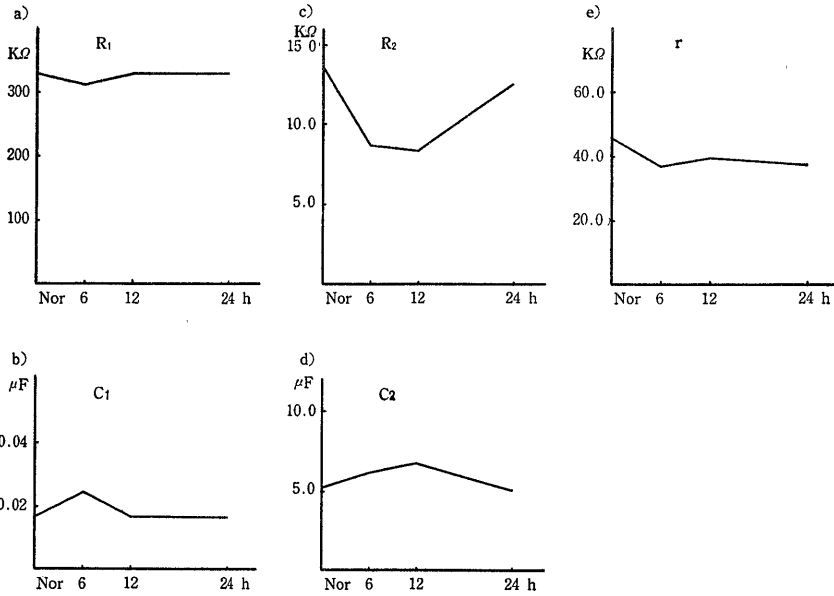


図13 四塩化炭素を投与したラットの血清トランスアミナーゼ

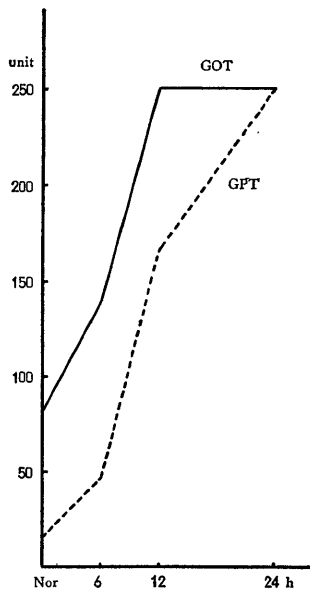
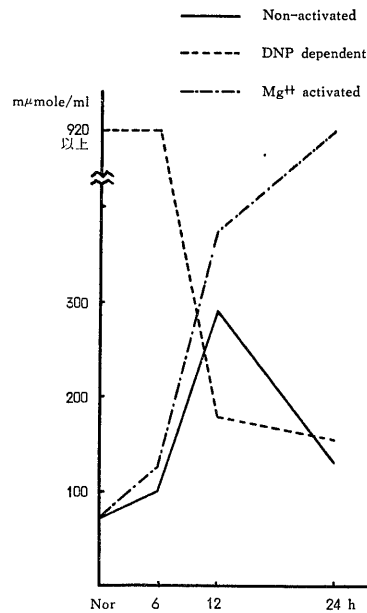


図14 四塩化炭素を投与したラットの肝ミトコンドリア ATPase 活性



12時間、24時間、48時間目に分離した肝ミトコンドリアについて、それぞれ電気的性質や各種機能を測定した。その形態学的変化は、全体に軽度であるが、小葉全体の肝細胞の混濁腫脹、好酸性変性及び、脂肪粒の蓄積がみられる。また、グリソン氏鞘を中心に肝細胞索の間に軽度の炎症細胞の浸潤を認める(写真3)。

48時間目では上記変化はさらに著明となり、核の変性や一部に細胞索の乱れを認める。脂肪変性も小葉全体に高度に認められるようになる(写真4)。

その電気的性質は R_1 では12時間及び24時間目に $245 K\Omega$ に減少し、48時間後には $300 K\Omega$ に戻る。 C_1 には大きな変化はみられないが、 R_2 は次第に小さくなり24時間目には $9.3 K\Omega$ と減少し、48時間目でも $10 K\Omega$ に上昇するにとどまる。 C_2 は24時間目に軽度増加するが、48時間目に $3.99 \mu F$ と大きく減少を示す(図15)。

血清トランスアミナーゼ値は s-GOT が6時間目より上昇しはじめ、12時間目に最高値に達するのに対し、s-GPT は6時間目にやや上昇し、24時間目までは大きな変化がなく、48時間目によく正常値の13倍となる(図16)。

ATPase 活性は図17に示すように non-activated ATPase は24時間目に正常値の約3倍に達し、48時間目にはその2/3に下がる。DNP dependent ATPase は12時間目に急激に正常値の1/4まで低下し、48時間後にはさらに1/5となる。

塩化セリウム投与の肝ミトコンドリアの酸化的リン

酸化は48時間目に uncouple される。しかしその呼吸調節率は健常値 $30.5 m\mu atoms O_2/ml/min$ に対して、24時間目で $40.0 m\mu atoms O_2/ml/min$ 、48時間目で $42.5 m\mu atoms O_2/ml/min$ とわずかの上昇を示すにすぎない¹⁴⁾。

3. コリン欠乏食

ラットにコリン欠乏食を連日投与し、初回投与24時間後を第1日目として、1, 2, 4, 6, 10, 15, 20, 28日目の8回について、その肝臓より分離したミトコンドリアの電気的性質を各種機能や形態学と対比した。

形態学的変化は、6日目には小葉中心部肝細胞に軽度の混濁腫脹と核の変性がみられ、小葉中間部から辺縁にかけて既に著明な脂肪変性が認められる。さらに28日目には脂肪変性は小葉全体に及び、脂肪粒も粗大でほとんど胞体全部を占めるにいたるが、その他に著しい変化はみられない(写真5, 6)。

分離した肝ミトコンドリアの電気的性質についてみると、 R_1 は1日目より次第に減少し、10日目には $195 K\Omega$ にまで下がる。 C_1 は4日目まではほとんど変化しないが、6日目より増大しはじめ、28日目には $0.0626 \mu F$ と3倍に達する。 R_2 は1,2日目に $10.3 K\Omega$ に減少するが、4日目には $11.95 K\Omega$ に戻り、さらに20日目には $15.2 K\Omega$ と増加する。しかし、28日目には再び $14.0 K\Omega$ に減少する。これら各CR素子の変化に対して、 C_2 の変化は比較的小さく、2日目に $6.2 \mu F$ 、10日目に $6.25 \mu F$ と増加し、4日目と20日目にそれぞれ 5.17 及び $5.1 \mu F$ となる二つの山を形成する

図15 塩化セリウムを投与したラットと肝ミトコンドリア測定値

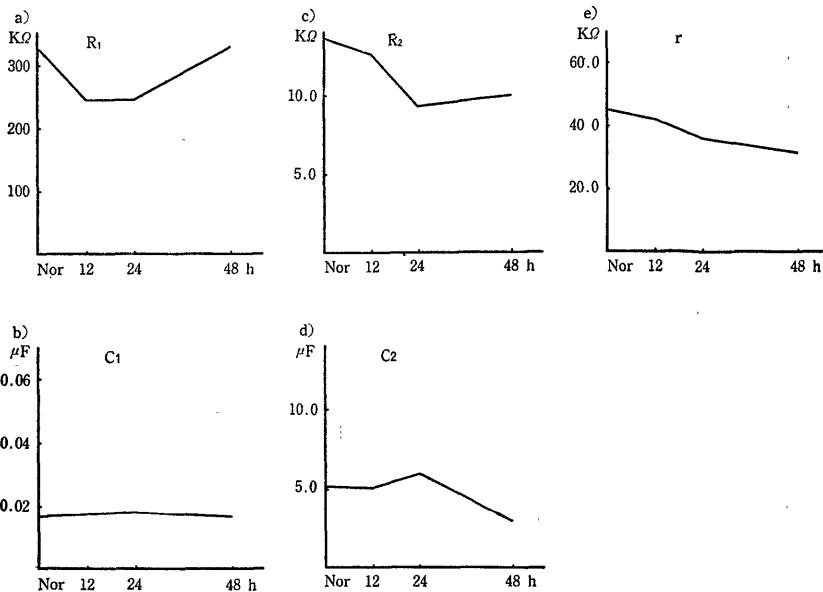


図16 塩化セリウムを投与したラットの血清トランスアミナーゼ

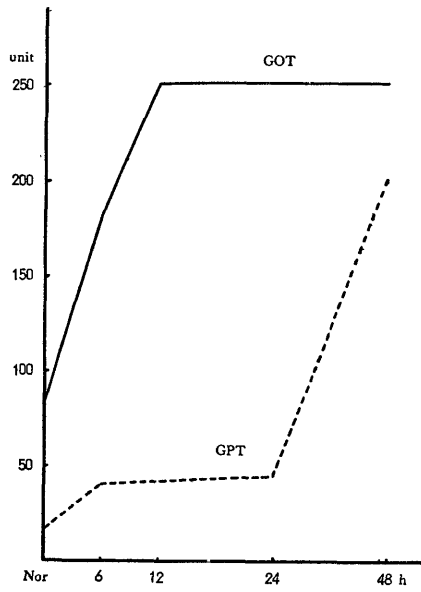


図17 塩化セリウムを投与したラットの肝ミトコンドリア ATPase 活性

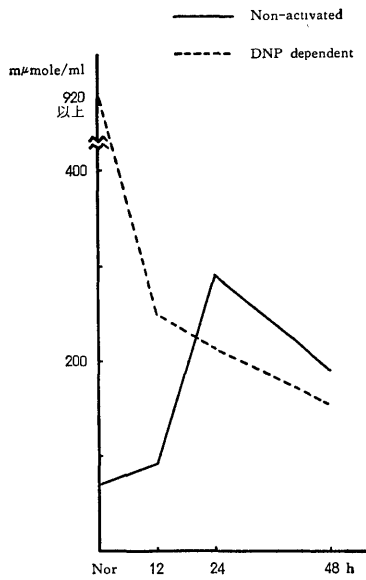
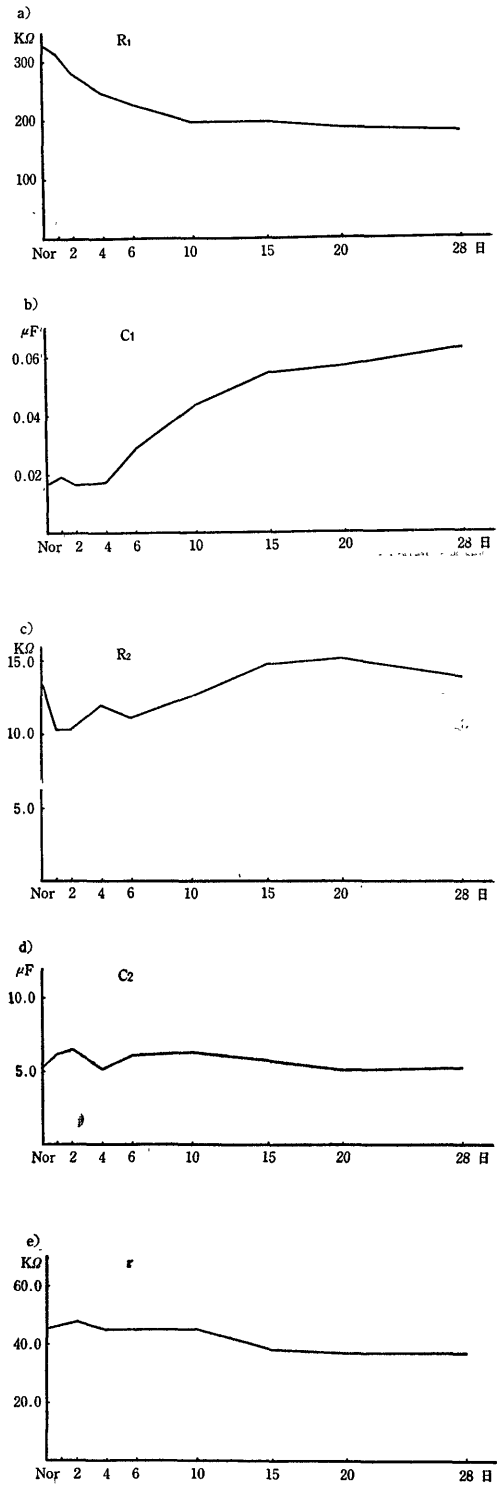


図18 コリン欠乏食を投与したラットの肝ミトコンドリア測定値



(図18).

血清トランスアミナーゼは、図19に示されるように、s-GOTは2日目より上昇し、10日目に正常値の5倍となるが、15日目には正常値の2倍以下となる。s-GPTも2日目より上昇し、10日目で正常値の3.5倍となり、s-GOT同様15日目より下がり、20日目には正常値の1.5倍となる。

ATPase活性は(図20)、non-activatedのものは4日目に正常値の5倍にまで活性が高まるが、6日目には2.5倍の値に下がる。

DNP dependentのものは4日目までは比較的ゆるやかに下降してくるが、6日目にいたり急激に低下して正常値の1/7となる。

ミトコンドリアの酸化的リン酸化は次第にその共軛を阻害され、6日目に完全にuncoupleされる。そ

の呼吸調節率は4日目で $120 \text{ m}\mu \text{ atoms O}_2/\text{ml}/\text{min}$ 、6日目で $84.5 \text{ m}\mu \text{ atoms O}_2/\text{ml}/\text{min}$ となり非常に高い値を示す¹⁴⁾。

4. 卵黄感作肝

ラットに卵黄注射を続け、7日目及び28日目の肝臓からそれぞれミトコンドリアを分離して電氣的性質を調べた。この場合 medium には 6.0% デキストラン溶液を用い、ミトコンドリアの濃度は $25 \text{ mg}/\text{ml}$ とした。別に正常肝ミトコンドリアをデキストランに浮遊させ対照とした(表4)。

正常ミトコンドリアの各CRの値を1.0とすれば、卵黄感作7日目の肝ミトコンドリアのCR各素子の値は、 R_1 は1.3、 R_2 は1.15、 C_1 は0.7、 C_2 は0.88となる。卵黄感作28日目の肝ミトコンドリアでは R_1 は1.85、 R_2 は1.01と増加し、 C_1 は0.32、 C_2 は0.72と減少している。

卵黄感作後6日目の肝組織の鏡検所見では、肝細胞

図19 コリン欠乏食を投与したラットのトランスアミナーゼ

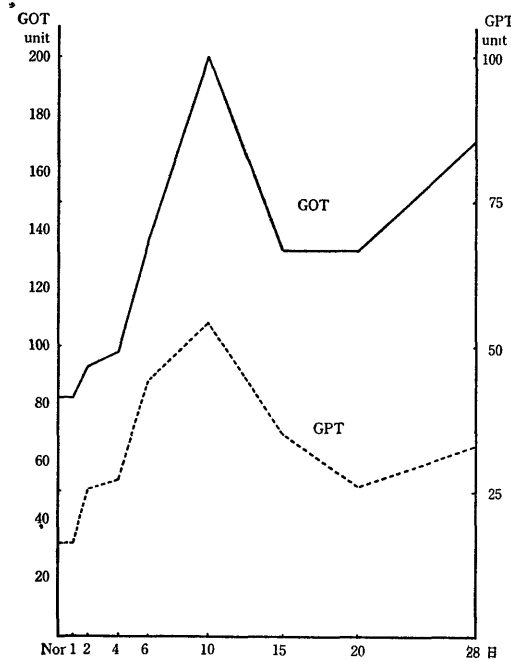


図20 コリン欠乏食を投与したラットの肝ミトコンドリア ATPase 活性

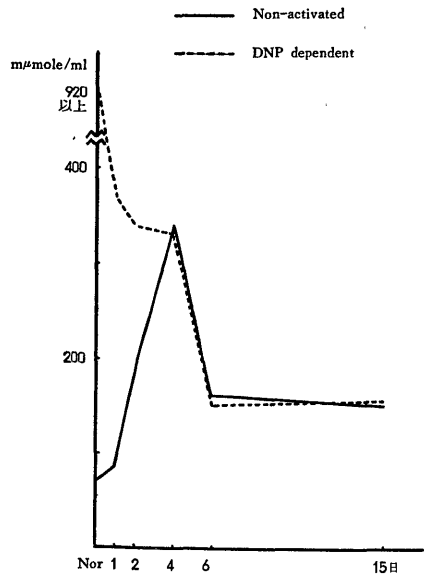


表4 卵黄感作肝ミトコンドリア測定値

	正 常 肝ミトコンドリア 〔A〕	卵黄感作7日目 肝ミトコンドリア 〔B〕	B/A	卵黄感作28日目 肝ミトコンドリア 〔C〕	C/A
R_1 (kΩ)	177	217	1.3	328	1.85
R_2 (kΩ)	28.7	33.4	1.15	29.0	1.01
r (kΩ)	75.0	66.5	0.89	75.0	1.0
C_1 (μF)	0.047	0.033	0.7	0.015	0.32
C_2 (μF)	2.27	1.98	0.88	1.63	0.72

索の乱れ、肝細胞の著しい混濁腫脹がみられる。一部胞体は粗大顆粒状を呈し、また空胞化している。核の濃縮、膨化や星細胞の増生が認められ、グリソン氏鞘に炎症細胞の浸潤がある(写真7)。28日目には肝細胞索の乱れ、肝細胞の混濁腫脹、核の大小不同が認められ、グリソン氏鞘から小葉中心部へのびる結合織の増生による偽小葉の形成が著明で、post-necrotic な肝硬変の所見を呈する。

血清トランスアミナーゼは6日目に s-GOT 175, s-GPT 44 と上昇している。ミトコンドリア ATP-ase 活性は6日目で non-activated のものは 160 m μ mole/ml に上昇し、DNP dependent のものは 180 m μ mole/ml に下降している¹⁴⁾。

Ⅲ. 肝障害物質のミトコンドリアに対する in vitro での作用

次に、四塩化炭素、塩化セリウム及び炎症誘起物質と考えられている lyso 型 phosphatidylcholine(以下 lyso-PC と略記する)のミトコンドリアに対する直接作用を検討するため、in vitro での実験を行った。

1. 四塩化炭素

試験管内の四塩化炭素に、それと同量の正常ラット血清を加え強く振盪した後静置し、四塩化炭素と血清を分離させ上層の血清のみを取り出し、正常ラット肝ミトコンドリアに in vitro で作用させ、電気的性質の変化を調べた。

添加する量はミトコンドリアの酸化的リン酸化を uncouple する量を基準とした。対照として同量の正常ラット血清を加えたものを測定した。

表5に示すように、R₁は2倍に増加し C₁は約1/3に減少する。しかし C₂R₂系には大きい変化はみられない。

2. 塩化セリウム

正常ラット血清に約0.25%の濃度に塩化セリウムを溶かし、その 50 μ l を正常肝ミトコンドリアに加え、別に 50 μ l の正常ラット血清を加えた対照と共に、氷冷下で30分 incubate した後測定した。

ここで incubate を行なったのは、in vitro に加えた塩化セリウムは氷冷下で30分 incubate した後によく酸化的リン酸化を uncouple するためである¹⁴⁾。

表6に示すように、C₁R₁系が増加し、その変化率はそれぞれ 1.7, 1.25 で、C₂の 0.9, R₂の 0.97 に比べて大きいことがわかる。

3. lyso 型 phosphatidylcholine

lyso-PC は卵黄感作肝のミトコンドリアに特異的

な増加を示し、in vitro でミトコンドリア機能に対して共軛阻止効果をもっている。したがってこの脂質代謝異常産物は卵黄感作肝においてミトコンドリア機能障害の mediator であろうといわれている¹⁵⁾。

そこで lyso-PC を正常ラット血清に溶かし、その 100 μ g を正常肝ミトコンドリアに作用させた。対照として正常ラット血清を同量入れたものを測定した(表7)。

R₁が 2/3, R₂が約 3/4 と減少するが、とりわけ3倍以上に増加する C₁の変化が著しい。

考 察

生体膜の電気的性質はその透過性に関連して、電気生理学や生物物理の領域での主要な研究課題であり、主に人体皮膚、神経組織、筋膜、赤血球、棘皮動物の卵細胞などについて、等価回路の解析が試みられている。

表5 in vitro での四塩化炭素の作用効果

	正常肝ミト コンドリア + 血清 [A]	正常肝ミト コンドリア + CCl ₄ [B]	B/A
R ₁ k Ω	106	217	2.17
R ₂ k Ω	8.3	6.7	0.81
r k Ω	29.5	32	1.09
C ₁ μ F	0.082	0.0299	0.365
C ₂ μ F	7.97	7.98	1.0

表6 in vitro での塩化セリウムの作用効果

	正常肝ミト コンドリア + 血清 [A]	正常肝ミト コンドリア + CeCl ₃ [B]	B/A
R ₁ k Ω	72	90.3	1.25
R ₂ k Ω	6.0	5.8	0.97
r k Ω	35.0	33.5	0.96
C ₁ μ F	0.101	0.172	1.72
C ₂ μ F	10.5	9.45	0.9

表7 in vitro での Lyso-PC の作用効果

	正常肝ミト コンドリア + 血清 [A]	正常ミトコ ンドリア + Lyso-PC [B]	B/A
R ₁	159.6	106	0.665
R ₂	13.6	9.9	0.73
r	36.3	28.3	0.78
C ₁	0.033	0.111	3.36
C ₂	8.5	8.83	1.04

Fricke¹⁾ は稀薄な球形の均質細胞浮遊液 (赤血球) について、交流インピーダンスの測定から図1のような等価回路を定めた。Cole²⁾ はさらに Maxwell の理論から複素インピーダンスの式を導き、その回路のインピーダンス軌跡が劣弧になることを見出した。この場合、等価回路の抵抗成分と容量成分の比は周波数によらず一定であるという仮定が必要である。しかし、実際の測定例では主に高い周波数で円弧からのズレがみられることが多い。

石川・小田島³⁾ は生体皮膚についての広汎な実験と数式による解析から図2のような等価回路を提示し、これを基本として皮膚における各種の形態学的変化を定量的に記載した。

また、この等価回路と Cole-Cole の円弧則とを対比して数式的解析を行なった¹⁶⁾。即ち、 C_1R_1 、 C_2R_2 、 C_3R_3 の三つの直列系が並列に結合した回路 (図2) のアドミッタンス軌跡は図21のように劣弧で、高い周波数域での円弧からのズレがみられる (これは Cole が赤血球の分散液について測定し、解析したものと同一傾向である)。 C_1R_1 、 C_2R_2 、 C_3R_3 それぞれのアドミッタンス軌跡はいずれも完全な半円であり (図21a, b, c)、この三つのアドミッタンスの合成によって軌跡は劣弧となり、高い周波数域でのズレが生ずる。この劣弧の程度や軌跡からのズレは C_1R_1 、 C_2R_2 の時定数によって決定される。石川・小田島はこのような理論的解析から、生体膜の電気的等価回路は抵抗と容量の比が周波数によらず一定であるという Cole の示した回路よりも、むしろ、時定数の差のある CR 直列系が n 個並列に結合した回路と考える方がより妥当であり、生物現象の解析により有用であるとしている。なお、この形式によると今まで測定誤差と考えられていた高

い周波数域での軌跡からのズレも説明することができる。

正常肝ミトコンドリア浮遊液についての測定では等価回路は図6aのような C_1R_1 、 C_2R_2 の直列回路の並列結合で示され、そのアドミッタンス軌跡は劣弧となり (図22)、高い周波数域で軌跡からのズレも認められる (図23は Fricke の赤血球分散液についての測定値を、Cole が解析したものである)。

このような等価回路の形式が定まると、次に CR 各素子のもつ意味が問題となる。そのために、まず NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂ からなる等張食塩水を基準とし、さらに各イオンの一つをそれぞれ除去したものを medium とし、正常肝ミトコンドリア浮遊液の電気的性質の変化を検討した。

medium の Na⁺ イオンを K⁺ イオンに変えると R_1 は小さくなり、逆に K⁺ イオンを Na⁺ イオンで置き変えると R_1 は大きくなる。また、Ca⁺⁺ イオンを K⁺ イオンに置換したものは、 C_1R_1 系が消失し C_2R_2 系のみとなる。

一般に酸化的リン酸化を行なっているミトコンドリア内の Na⁺、K⁺、Ca⁺⁺、Mg⁺⁺ イオン濃度は細胞膜で取り扱われる能動透過と類似した機作によって保たれていると考えられている¹⁷⁾。これら4種類の無機イオンのうち、Na⁺、Mg⁺⁺ イオンは能動的取り込みは少なく、比較的安定したレベルを保ち、K⁺ は呼吸エネルギーと関連した能動的取り込みによるがそれほど活潑ではないといわれている¹⁸⁾。Ca⁺⁺ イオンはミトコンドリアに対して、電子伝達系と酸化的リン酸化系の共駆阻害効果を示し、Na⁺ イオンの存在で能動透過は最大となり、K⁺ イオンの存在で抑制される¹⁹⁾。なお多くの実験が必要であるが、medium の Na⁺、

図21 図2の等価回路におけるアドミッタンス軌跡

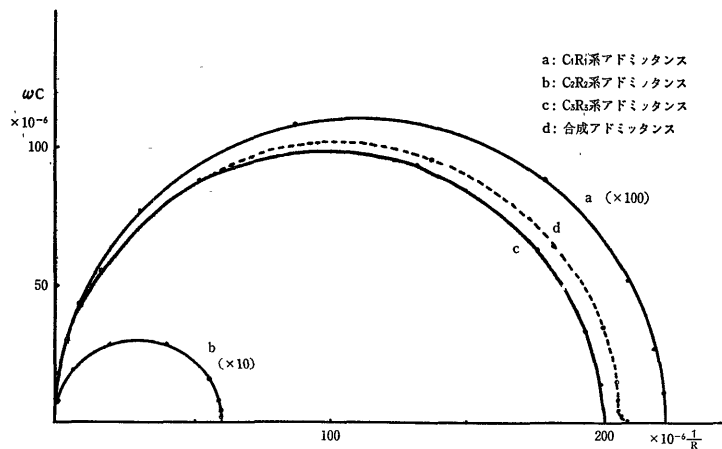
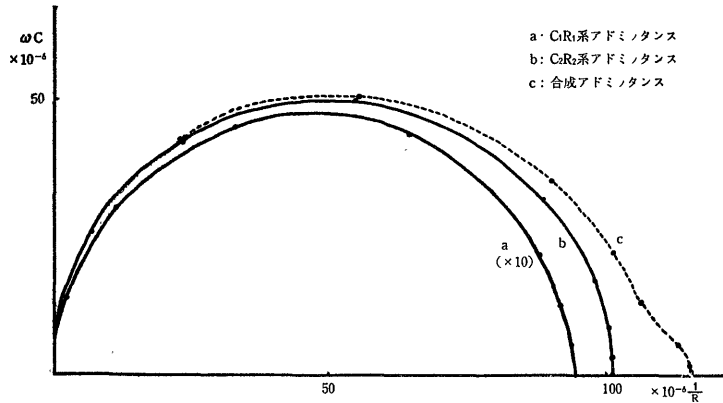
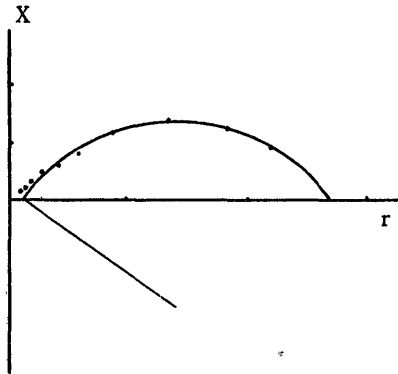


図22 図6 a の等価回路におけるアドミタンス軌跡

図23 赤血球浮遊液のインピーダンス軌跡 (Colo²) による

K⁺ イオンの濃度による C₁R₁ 系の変化, Ca⁺ イオンの欠如した medium での C₁R₁ 系の消失などから, 等価回路の C₁R₁ はこの能動透過に関係した膜の性質を示すものであろうと考えられる。

また, C₂R₂ 系は各イオン濃度に対応した変化の少ないことから, むしろ膜構築そのものに由来するであろう。

そこで, 膜に特異的に作用すると考えられている DNP, ミトコンドリア抗血清, 塩基性蛋白 (ヒストン) を *in vitro* で正常肝ミトコンドリアに作用させ, その機能の変化と対比して電気的性質を検討した。

DNP をミトコンドリアに作用させると, 典型的な呼吸解放 (電子伝達系と酸化的リン酸化の非共軛) と膨化が起る。この機序はリポ溶解性の DNP がミトコンドリア膜に作用し, 膜に局在するリン酸化系の高エネルギー中間体を水解し, さらに疎水性の膜を親水性に変えることによると考えられている。

このような機能の変化に対応して電気的性質も変化

し, C₁C₂ の増加, R₁R₂ の低下を示す。

次に抗血清の作用についてみると, 電気的性質は DNP の場合と同様に膜透過を示す C₁R₁ と膜構築に由来すると考えられる C₂R₂ にも著しい変化がみられる。この場合のミトコンドリアは, その機序は不明であるが呼吸解放と膨化がみられ, さらに呼吸をも障害する (電子伝達系の障害)¹²⁾。

塩基性蛋白であるヒストンはミトコンドリアに作用して電子伝達系と酸化的リン酸化の脱共軛, さらに電子伝達系をも障害する。これらの作用機序は膜障害で説明できると考えられている¹³⁾。この場合, 電気的性質は C₁R₁ 系, C₂R₂ 系ともに変わるが, とくに R₂ の変化はミトコンドリアの機能障害に並行している。

また, C₁R₁ 系の変化は nH と cH の間に相違がみられるが機能の変化とよく対応している。

以上のように, medium のイオン濃度や種類によって等価回路の C₁R₁ 系が主に変化し, 膜障害物質によって, さらに C₂R₂ も変わるが, これらの変化はミトコンドリアの機能障害とよく一致することが確かめられた。

次に, 各種実験の肝障害におけるミトコンドリアの電気的性質を測定し, 炎症や変性における膜の性質を検討した。

四塩化炭素による肝障害: ラットに四塩化炭素を経口投与し, 6 時間後には肝小葉辺縁部を中心に細胞の混濁腫脹が認められ, 血清トランスアミナーゼも上昇しはじめる。

この時期に分離ミトコンドリアの機能にはほとんど変化を認めないが, 電気的性質は C₁R₁ 系を中心とした変化がみられる。細胞の混濁腫脹, トランスアミナーゼの血中増加, C₁R₁ 系の変化から膜の透過性の変化と考えられる。四塩化炭素の投与後12時間では, 肝

細胞の混濁腫脹が著しく、胞体内の脂肪蓄積が認められる。ミトコンドリアの呼吸は解放され（電子伝達系と酸化的リン酸化の非共軛）¹⁴⁾、ATPase活性の上昇、等価回路の C_2R_2 系も変化し、明らかに膜が障害されたことを示す。

塩化セリウムによる肝障害：塩化セリウム投与後、12時間目の肝臓の組織所見では、肝細胞の極めて軽度の混濁腫脹がみられる程度である。s-GPT が軽度上昇するがミトコンドリアの機能は正常に保たれている。

しかし、電気的性質では既に C_1R_1 系に変化が認められ、とくに R_1 が減少する。投与後24時間では、肝小葉全体に軽度の混濁腫脹や胞体内の脂肪蓄積が認められ、 C_2R_2 も変化し、ATPase 活性の上昇もあり、明らかに膜障害を暗示するが、ミトコンドリア機能に異常はない。そして機能の異常は投与後48時間目にはじめて現われる¹⁴⁾。

コリン欠乏食による脂肪変性肝：コリン欠乏食で飼育したラットでは、2日目から肝臓の小葉中間部から辺縁部にかけて著明な脂肪蓄積を認め、以後次第に増強し、28日目では小葉全体に及び、胞体は粗大顆粒状の脂肪でしめられる。s-GOT、s-GPT は2日目より上昇し10日目に最高値に達する。

電気的性質では R_1 は1日目より減少し、 C_1 は6日目から増加し、膜の透過性が変化したことを示す。同様に C_2R_2 も変化し4日目の一過性の変化（図18）が特徴的で、ATPase 活性も4日目から上昇する。しかし酸化的リン酸化を中心とした機能の異常は6日目にはじめて認められるにすぎない¹⁴⁾。

実験的に塩化セリウム、四塩化炭素を投与すると、まず肝細胞に混濁腫脹が現われる。

この時期には s-GOT、s-GPT が増加するが、分離したミトコンドリアの機能には異常を認めない。しかし、等価回路ではイオンの膜透過に関連する R_1 の減少と C_1 の増加がみられ、これは形態学的な混濁腫脹の程度に並行している。電子顕微鏡的には、ミトコンドリアの著明な膨化が認められている²⁰⁾ ことなどを考えて、この混濁腫脹は膜透過の異常による膨化の光学的表示、即ち光散乱によるものであろう。さらに病変が進むとミトコンドリア機能にも異常が認められる（電子伝達系と酸化的リン酸化の脱共軛）。この機能異常に先行して、常に ATPase 活性に対応した C_2R_2 の変化がみられる。この意味では C_2R_2 の変化とミトコンドリア機能の異常は並行しない。また、in vitro でミトコンドリアに四塩化炭素を作用させると C_1R_1 の著明な変化と酸化的リン酸化の脱共軛がみられるが

C_2R_2 に著変はない。塩化セリウムでもほぼ同様の傾向である。コリン欠乏食で飼育したラット肝ミトコンドリアでは1日目から C_2R_2 系の変化を認めるが、機能異常は6日目にはじめて現われる。これらの事実は C_2R_2 の変化と酸化的リン酸化の脱共軛の間には必ずしも相関のないことを示している。

しかし、膜障害を示す ATPase とよく対応することから C_2R_2 の変化が膜障害を示すことは確実である。

膜作用物質と考えられる DNP、ミトコンドリア抗血清、塩基性蛋白（ヒストン）のミトコンドリアに対する作用では、酸化的リン酸化と C_2R_2 の変化がよく一致していることから、四塩化炭素、塩化セリウムはこれら膜作用物質と作用機作や作用部位を異にするものであろうと考えられる。

四塩化炭素、塩化セリウムの投与や、コリン欠乏食でのラットの飼育は肝臓の脂肪変性を惹起する。これら脂肪肝の成立はミトコンドリアやミクロソームに関係があると考えられているが、なお定説はない。これまでの実験や教室同人清水¹⁴⁾の報告では、いずれの場合もミトコンドリアの機能異常が生ずる以前に既に脂肪粒を認めることから、おそらくミクロソームの変化に続いてミトコンドリアの代謝系に障害が起ったと思われる。しかし、等価回路的にこれらはいずれも膜透過性を変え、ミトコンドリア膜の構築を変える作用があり、この点からの吟味がのぞまれる。

卵黄感作による肝障害：ラットに卵黄感作を続けると、肝細胞に混濁腫脹、好酸性変性などの実質変性（感作7日目）が認められ、やがて肝硬変に移行する（感作3～4週目）。感作7日目ではミトコンドリア機能、とくに酸化的リン酸化系の脱共軛と ATPase 活性の上昇が起る¹⁴⁾。電気的性質は測定 medium の違いから（この場合は6.0%デキストラン）、他と比較できないが、 R_1 の増加、 C_1C_2 の減少がみられ膜の障害を示している。教室同人桜井²⁰⁾は電子顕微鏡的にミトコンドリアの膨化、criste のみだれを観察している。

石川らは生体膜の抗原抗体反応に際して、膜で行なわれるリン脂質の代謝異常を重視している¹⁵⁾。事実、この時期の卵黄感作肝で lyso 型リン脂質の増加を認めている²¹⁾。清水¹⁴⁾は in vitro で単離した lyso 型リン脂質をミトコンドリアに作用させると、ごく微量で共軛因子の阻害による uncoupling 効果と著明な膨化を認めている。同じ系での電気的性質では R_1R_2 の減少と C_1C_2 の増加がみられる（medium は 0.25 M 蔗糖液）。この lyso 型リン脂質は DNP、ヒストンなどの膜作用物質と類似した作用があることを示し

ている。

肝硬変期ではミトコンドリアの電子伝達系も障害され、電気的性質では (medium はデキストラン) R_1R_2 の増大, C_1C_2 の減少が著しい。この時期の電顕像は膜の障害を示している²⁰⁾。

以上、各種実験的肝障害について、主に電気的性質一等価回路の変化を基礎にして解析を試みた。光学的顕微鏡レベルでの混濁腫脹は等価回路の C_1R_1 系で示されるイオンの透過性に関する膜障害に由来するもので、電子顕微鏡の所見とも一致する。また、 C_2R_2 の変化は膜構築の障害によるが、膜作用物質や lyso 型リン脂質による障害ではミトコンドリア機能の障害—共駆因子を中心とした膜障害—とよく一致した。しかし、四塩化炭素、塩化セリウム、コリン欠乏食による肝障害ではミトコンドリアの膜障害は機能障害より常に先行した。このことは、膜作用物質と四塩化炭素、塩化セリウム等肝細胞の変性物質では、膜への作用機序や部位に相違があることを示している。この意味で電気的性質一等価回路の測定は膜性質を解析する上に有用であろうと考えられる。

結 論

正常ラット肝のミトコンドリアを分離し、その 0.25 M sucrose 浮遊液について電気的性質を測定し、ミトコンドリア機能 (電子伝達系, 酸化的リン酸化系など) や酵素活性との関連性を検討した。

1. 肝ミトコンドリアの 0.25 M sucrose 浮遊液の電気的性質は図 6a のように C_1R_1 , C_2R_2 の直列系が並列に結合した等価回路で表わされることを認めた。

2. NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂ よりなる等張食塩液を基準にし、さらにイオン濃度や種類の異なる液を medium としてミトコンドリアの電気的性質を測定した。Na⁺ イオンを除去した medium では R_1 は減少し、K⁺ イオンを除去した medium では R_1 は増加し、Ca²⁺ イオンを除去した medium では C_1R_1 系が消失した。このことから、等価回路の C_1R_1 は膜のイオン透過性に関連することが確かめられた。

3. In vitro でミトコンドリアに膜作用物質 (D-NP, ミトコンドリア抗血清, 各種ヒストン) を作用させると、等価回路の C_1R_1 の変化と共にミトコンドリア機能障害に対応して C_2R_2 にも著しい変化 (C_2 の増加, R_2 の減少) がみられた。これら膜作用物質は特異的にミトコンドリア膜を障害することから、 C_2R_2 は膜構築に関連する膜の性質を表わしていることがわかった。

以上の実験成績を基礎として、各種実験的肝障害に

おけるミトコンドリアの性質について実験を行なった。

4. 四塩化炭素、塩化セリウムによる肝障害では、肝細胞の混濁腫脹や血清トランスアミナーゼの上昇に並行して等価回路の R_1 の減少と C_1 の増加がみられ、さらに病変が増強すると ATPase 活性の上昇に対応して、 R_2 の減少と C_2 の増加が認められた。しかし、ミトコンドリア機能 (酸化的リン酸化など) の異常は常にその後に見られた。またこれら薬物は in vitro ではミトコンドリアの酸化的リン酸化を脱共駆し、等価回路の C_1R_1 に変化がみられるが、 C_2R_2 には変化を認めなかった。

5. コリン欠乏食で飼育したラットの肝ミトコンドリアでは R_1 は 1 日目より減少し、 C_1 は 6 日目より増加した。血清トランスアミナーゼは 2 日目より上昇し 10 日目に最高値に達した。 C_2R_2 は 1 日目よりそれぞれ増加及び減少したが、4 日目に一過性の R_2 の増加と C_2 の減少がみられ、ATPase 活性も 4 日目に上昇した。

6. ラットに卵黄感作を続けると、感作 7 日目には肝ミトコンドリアの機能障害と ATPase 活性の上昇がみられた。電気的性質は medium (6.0% デキストラン) の違いから、他と比較できないが R_1R_2 の増加と C_1C_2 の減少が認められた。

7. 炎症誘起物質といわれる lyso-PC を in vitro で作用させると酸化的リン酸化を脱共駆し、電気的性質では R_1R_2 の減少と C_1C_2 の増加がみられた。

8. 膜作用物質や lyso-PC による C_2R_2 の変化は共駆因子を中心としたミトコンドリア機能の障害とよく一致するが、四塩化炭素、塩化セリウム、コリン欠乏食による肝障害では C_2R_2 の変化は常に酸化的リン酸化を中心としたミトコンドリア機能障害に先行し、これらの肝細胞変性物質と膜作用物質では、膜への作用機序や部位に相違のあることが示された。

稿を終るにあたり、御懇篤なる御指導と御校閲を賜った 恩師石川大乃雄教授並びに水上哲次教授に深く感謝いたします。また終始御指導と御功言をいただきました 小田島肅夫助教授に深謝するとともに、教室の諸兄、本研究の協力者である「生物物理グループ」に感謝の意を表します。さらに銅料をお譲りいただきました 本学第一内科高田助教授、大原先生にお礼申し上げます。

文 献

- 1) Fricke, H. & Morse, S. : J. gen. Physiol., 9, 153 (1926).
- 2) Cole, K. S. : J. gen. Physiol., 15, 641 (1932).
- 3) 石川大乃雄・小田島肅夫 : 細胞化学シンポジウム, 16, 219 (1966).
- 4) Utsumi, K. : Acta

- Med. Okayama., 17, 259 (1963). 5) 未発表. 13) 石川大刀雄・小田島庸夫・井口英樹・清水蔵一・久藤豊治・広瀬道郎 : 未発表.
- Maling, H. M., Frank, A. & Horing, M. G. : Biochem. Biophys. Acta., 64, 540 (1962). 14) 清水蔵一 : 十全医会誌 (未印刷). 15) 石川大刀雄・須山 忠和・小田島庸夫 : Medical Postgraduates, No. 4, Vol. 6 (1966). 16) 小田島庸夫 : 未発表. 17) 内海耕髓・小田琢三 : 蛋白質, 核酸, 酵素, 10, 1658 (1965).
- 6) Gleum, J. L., Tischler, K. & Stein, L. : Biochem. Biophys. Acta., 62, 35 (1962). 18) 萩原文二 : 蛋白質, 核酸, 酵素, 10, 1578 (1965). 19) Carafoli, E., Rossi, C. S. & Lehninger, A. L. : J. Biol. Chem., 239, 3055 (1964). 20) 桜井 登 : 未発表.
- 7) Hartroft, W. S. : The Liver., 2, 478 N. Y. & London, Acad. press (1965). 8) 21) 高沢ますみ : 未発表.
- Campbell, J. A. H. : Brit. J. exp. patholog., 42, 290 (1961). 9) Chen, L. H. & Dallan, R. D. : Arch. Biochem. Biophys., 111, 104 (1965). 10) 大村京生 : 実験化学講座, 23, 535 東京, 丸善, (1957). 11) 小田島庸夫 : 十全医会誌, 70, 702 (1964). 12) 清水蔵一 :

Abstract

The biophysical properties of the mitochondria of normal and damaged livers were electrically studied.

(1) The biophysical properties of rat liver mitochondria suspended in sucrose solution could be electrically represented by equivalent circuit formula, a parallel coupling of C_1-R_1 and C_2-R_2 series circuits.

(2) It was assumed that C_1-R_1 and C_2-R_2 series circuits were respectively related to permeability and basic structure of mitochondrial membrane.

(3) In the case of CCl_4 and $CeCl_3$ intoxication, the following three kinds of changes were observed; first of all the change of permeability, dependent on C_1 , R_1 component, in company with a morphological cloudy swelling of liver parenchymal cells, and then the change of basic structure, dependent on C_2 , R_2 component, in parallel with ATPase activation and finally the disfunction related to electron transfer and oxydative phosphorylation systems.

(4) Administration of choline deficient diet to rats caused changes of both membrane permeability and basic structure, causing functional disorders. In this case, the electrical changes were found to precede the functional changes.

(5) The sensitization of rats with egg yolk simultaneously caused the changes of electrical properties (permeability and basic structure), ATPase activation and of functional disorders of mitochondria.

(6) Lysolecithin increased on the mitochondria of rats sensitized with yolk, and this lysolecithin, added to normal mitochondria in vitro, caused the changes of electrical properties and functions of mitochondria. So it was assumed that lysolecithin might act as a typical agent which disturbed the mitochondrial membrane, particularly its coupling factor. The mechanism of sensitization due to lysolecithin was different from that of CCl_4 and $CeCl_3$ intoxication.

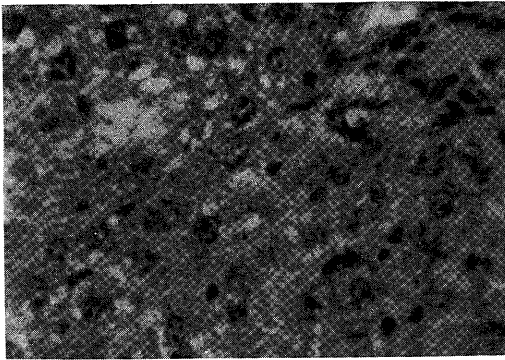


写真1 四塩化炭素投与による肝障害
6時間後 ×400

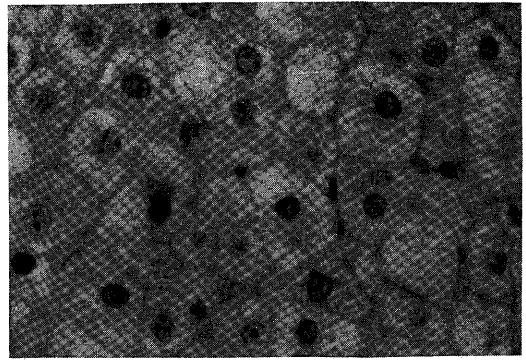


写真2 四塩化炭素投与による肝障害
12時間後 ×400

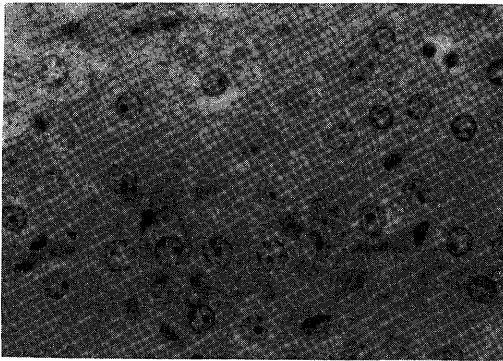


写真3 塩化セリウム投与による肝障害
12時間後 ×400

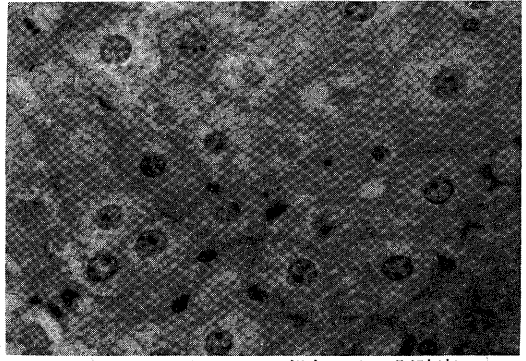


写真4 塩化セリウム投与による肝障害
24時間後 ×400

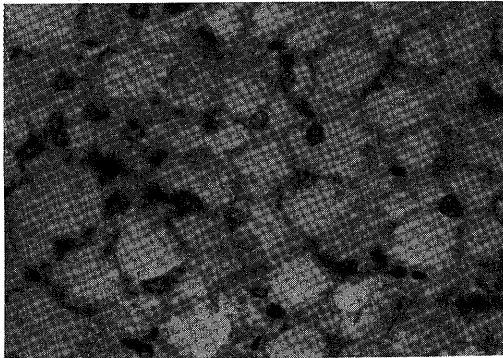


写真5 コリン欠乏食投与による肝障害
6日目 ×400

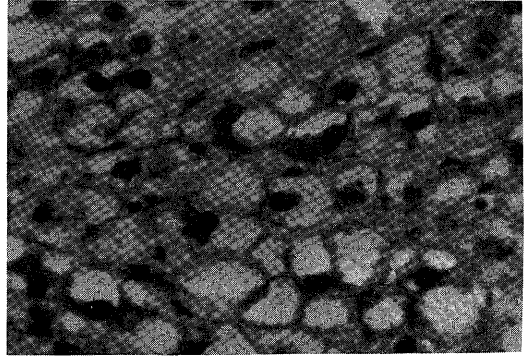


写真6 コリン欠乏食投与による肝障害
28日目 ×400

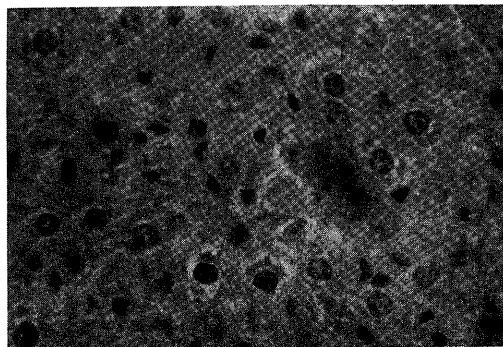


写真7 卵黄感作による肝障害 6日目 ×400