

Title	セロトニンの放射線防護作用に関するマクロオートラジオグラフ法による研究 第1報 投与セロトニンの体内分布とそのX線照射による影響について
Author(s)	鹿島, 正俊; 松岡, 理
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1967, 27(3), p. 315-330
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/14974
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

セロトニンの放射線防護作用に関するマクロオート
ラジオグラフ法による研究
第1報 投与セロトニンの体内分布と
そのX線照射による影響について

放射線医学総合研究所 障害基礎研究部 (部長 江藤秀雄博士)

鹿島正俊 松岡理

(昭和41年10月23日受付)

Macro-autoradiographic Studies on Radioprotective Action of 5-hydroxytryptamine

I. Normal distribution Pattern and its Changes Following X-irradiation

by

Masatoshi Kashima and Osamu Matsuoka

Division of Radiation Hazards, National Institute of Radiological Sciences, Chiba, Japan

(Div. Head: Dr. Hideo Eto)

Whole-body macro-autoradiographic studies were carried out to investigate the mechanism of the action of Serotonin (5-HT) which is a well-known protective agent against ionizing radiation and also as a physiologically important biogenic amine.

Many papers on the mechanism of its protective action have been reported, but none of these give information on the distribution of 5-HT in the actual protective condition.

The present work was carried out to clarify the distribution of 5-HT in various conditions used in radio-protection.

Fifty eight adult male mice of the F₁ hybrid of CF#1 and RF strain were used. 0.1 ml of about 5 μ Ci activity of ¹⁴C-labeled Serotonin (5-HT 3¹⁴-C-creatinine sulphate) and ¹⁴C-Tryptophan (TP) or ¹⁴C-5-Hydroxytryptophan (5-HTP) as its precursor in physiologic saline solution, was injected intravenously or intraperitoneally. The mice were killed and immersed in a mixture of acetone and solid carbon dioxide. Sectioning and autoradiographic technique were carried out by the Ullberg method.

One group of mice was used for the examination of normal distribution of those drugs while the other groups of were exposed to a single dose of 1,000 R of total body X-irradiation before and after administration of ¹⁴C-5-HT or ¹⁴C-5-HTP.

Results obtained are as follows:

1) In intravenous injection at tracer level of ¹⁴C-5-HT, autoradiograms showed high uptake mainly in adrenals, spleen, kidneys, lungs, liver and blood, moderate uptake in bone marrow and intestinal mucosa, and low uptake in bone and central nervous system.

2) In the experiment with of X-irradiation to test its effects on distribution of 5-HT, results showed

nearly on identical pattern as the above in the group to which ^{14}C -5-HT or ^{14}C -5-HTP was administered before irradiation. However, when these drugs were administered after irradiation, relatively higher uptake was observed in bone marrow.

3) At the protective action level of stable 5-HT with ^{14}C -5-HT added as tracer, high concentration of 5-HT was located in abdominal cavity during the period in which irradiation was carried out in an ordinary radioprotection experiment.

4) When ^{14}C -labeled precursor was administered instead of ^{14}C -5-HT for comparison, ^{14}C -TP, and ^{14}C -5-HTP were observed in relatively higher concentrations than ^{14}C -5-HT at the intestinal mucosa. Less uptake of ^{14}C -TP and high uptake of ^{14}C -5-HTP were observed in adrenals.

I 緒 言

Serotonin (5-hydroxytryptamine 以下 5-HT と略す) は動物体内で合成される生体アミンの一種で、平滑筋収縮などの多彩な薬理作用について膨大な研究報告が既になされている。また顕著な放射線防護作用のあることが Gray¹⁾ によつて示され、その後これに関する多くの報告がある²⁻¹⁰⁾。

その放射線防護作用の特徴として投与 5-HT の有効量と致死量の差がかなり大きいことが注目されるが、その効果は時間的因子に左右され、放射線照射30分前に動物体へ投与するとある程度有効であり、照射前5分で著効を示し、その Dose reduction factor は 1.6~1.8である。しかし照射後投与では無効であることが知られている。

その防護作用機構については薬理作用と関連して関心を集め諸説が発表されたが、現在まで薬理作用による組織、特に造血組織の低酸素状態に起因するとする Gray¹⁾, Van Den Brenk ら¹¹⁾¹²⁾, Van Der Meer¹³⁾ら, Doull ら¹⁴⁾の説と、それのみでは説明できなくて、照射により生じた Free radical の消費、インドール核アミンの特別な構造によるとする Alexander ら¹⁴⁾, Dukor¹⁶⁾の説などがある。

生体産生 5-HT 量の大半が存在するとされている消化管に注目して、松岡ら¹⁸⁾はマウス、ラット、ウサギ、モルモットの消化管含有 5-HT を測定した結果、X線照射により消化管障害を起して早く死ぬ動物種ほど正常含量が高く、かつ照射により含有量の減少の割合が大きいことを既に報告している。消化管の化学的防護について Maisin

ら¹⁷⁾はマウスの消化管上皮細胞について検討を行い1000R以上の高線量照射の場合ではAETなどと比較して5-HT単独では有効ではなく、AETとの混合で非常に有効であることを示している。

Ritzen ら¹⁹⁾は ^{14}C 標識の 5-HT の前駆物質 5-hydroxytryptophan(5-HTP と略す)および 5-HT をマウスに静脈内投与を行い、全身オートラジオグラフにより体内分布を観察した結果、5-HTP- ^{14}C が副腎髄質、甲状腺、骨髄、膵臓のランゲルハンス島、脾臓などに強く分布し 5-HT- ^{14}C もこれと類似しており特有の 'amine pattern' を示すことを報告しているが、5-HT- ^{14}C についての記載はわずかである。

著者らは従来から消化管障害を種々の角度よりとりあげて検討をして来ているが消化管障害と 5-HT との関連性に注目するに至り、消化管障害の発現機構および消化管障害での 5-HT の防護作用機構に関連して 5-HT- ^{14}C を用いての検討を始め、その一部の成績は 5-HT の放射線による消化管運動に及ぼす影響に対する防護効果の成績と共に発表した。本報においては著者らは 5-HT の防護作用、特に効果と時間的因子に注目し、その作用機構を知るためには 5-HT の強い薬理作用と投与量の大きさから実際に防護有効量の 5-HT を投与した場合におけるマウスの体内分布および生理学的な影響を検討する必要があると考えた。以上の理由から本報ではトレーサ量の ^{14}C 標識 5-HT および 5-HTP, Tryptophan を用いてまず正常な体内分布を検討し、ついで防護作用量の 5-HT を投与した場合、さらにまたX線照射した場合におけ

る体内分布に相異があるかどうかをもあわせて検討した。

II 実験材料および方法

実験動物：実験には本研究所の保持コロニーから生産した CF#1 と R F との 1 代雑種 (CRF₁ マウス) の雄を用いた。生後平均 83 日令，体重 33 g で，できうる限り同一の実験群では同腹のもの，あるいは同日に生れたものを使用した。マウスは固形飼料および水を自由摂取させた。生後約 2 月令の CRF₁ マウスの放射線感受性は他の研究者の検討によれば両親の系統に比してかなり低く，X 線全身照射による LD₅₀ (30) は 625 R である。

標識化合物および薬物：¹⁴C 標識 5-HT は 5-hydroxytryptamine-3'-¹⁴C creatinine sulphate monohydrate (イギリス Amersham, The Radiochemical Centre) で，比放射能は 15.5 μCi/mg と 79.0 μCi/mg の 2 種を用いた。使用前にペーパークロマトグラフにより検査した結果，非放射性 5-HT (対照) と同 R F 値を示し，その発色位置に radio activity が集中していることをオートラジオグラフにより確認した。

標識前駆物質として用いた Tryptophan は DL-tryptophan-3-¹⁴C (第 1 化学製) 比放射能は 39.2 μCi/mg，5-hydroxytryptophan は DL-5-hydroxytryptophan-3-¹⁴C (USA New England Nuclear Corp. 比放射能 4.6 μCi/mg のものである。標識されていない 5-HT としては 5-hydroxytryptamine creatinine sulphate monohydrate (第一化学製) を用い，その防護作用は CRF₁ マウスに 1 mg 腹腔内投与し，5 分後に X 線 800 R を全身照射した 10 匹がすべて 30 日以上生存することにより確認した。Reserpine は Serpasil 注射液 (Ciba 武田薬品) を用いた。

X 線照射：マウスをメタアクリル製の照射用ケージに入れ，同時に Radcon 線量計で積算量も測定しつつ 1000 R 全身 1 回照射を行なった。ただし，条件は 200 K V，20 mA，フィルター 0.5 mm Cu + 0.5 mm Al，HVL 1.1 mm Cu，距離 50 cm，線量率 92 R/min。

オートラジオグラフ：標識化合物を投与したマ

ウスは一定時間後クロロホルム吸入によつて殺すが，場合によつては生きたまま無処置でアセトンとドライアイス混合物中 (-78°C) に浸し凍結により瞬時に殺した。前者の場合にも死後ただちに凍結した。全身凍結マクロオートラジオグラフの試料の作り方は Ullberg の方法に準じたが，その詳細については別に報告した⁸⁾。

マウスは正中線に沿つて縦断し，マイクロームにより粘着テープで支持した厚さ 40 μ の全身凍結切片をつくつた。乾燥後 5 μ の厚さのライフアン膜で被覆したのち高感度の工業用 X 線フィルム (フジ No. 200) に密着させ約 15 日間低温，3°C の場所で感光させた。現像はレンドール 4 分間 (20°C)，定着はラピッドフィクサー 10 分間行なつた。フィルムの黒化の観察は工業用 X 線フィルム用シャーカステンで行つた。フィルムの黒化は標識化合物あるいはその代謝産物の ¹⁴C の β 線より生ずるので ¹⁴C の体内分布の状態を現わすのに黒化の程度を次のような段階に分けて表示することも試みた。

—：黒化の程度がフィルムの放射線に未感光の部分と何ら変らないもの。

±：きわめてわずかな黒化を示すもの。

＋：低レベルの黒化。

≡：中等度の黒化。

≡≡：高度の黒化。

III 実験結果

1. 実験方法の検討

5-HT-¹⁴C をマウスに投与してその体内分布を観察する場合に，投与する 5-HT-¹⁴C の比放射能の大小により，またマウスの屠殺法によつて他の条件を同一にしても分布に変化が起ることが懸念される。したがつて実験を始める前に以下の場合について検討を行なつた。

(A) 低比放射能の 5-HT-¹⁴C を投与してクロロホルム吸入により殺した場合。

(B) 高比放射能の 5-HT-¹⁴C を投与してクロロホルム吸入により殺した場合。

(C) 高比放射能の 5-HT-¹⁴C を投与して瞬間的に凍結により殺した場合

Table. 1 Comparison of autoradiographic density in organ of mice after intravenous injection of 5-HT-¹⁴C for three type of treatment.

	(A)	(B)	(C)
specific activity of 5-HT- ¹⁴ C	15.5 μ Ci/mg	79.0 μ Ci/mg	79.0 μ Ci/mg
time after injection	i.v. 1hr.	i.v. 1hr.	i.v. 1hr.
killing method	inhalation of Chloroform	inhalation of Chloroform	immersion in Acetone and dryice
skin	+	+	+
muscle	±	±	±
bone	—	—	—
cartilage, tendon	±	±	±
central nervous system	—	—	—
intestinal mucosa	±	±	±
liver	++	++	++
blood	++	++	++
lung	++	++	++
spleen	+++	+++	+++
bone marrow	+	+	+
kidney	++	++	++
adrenal	+++	+++	+++

(C) の凍結により殺す方法はマウスを無麻酔で木台に保定し、アセトンとドライアイス混液中に浸漬して数秒のうちに致死、凍結に至らしめた。

結果は Table 1 に示したように 3 者の間に著しい差異は見出されなかった。

ただし、用いた高比放射能の 5-HT-¹⁴C のうち一部のものに軟骨(椎骨骨端, 気管) 腱組織に特異的にとりこまれるものがあつた。このような取りこみは屠殺法を変えた場合にもまた腹腔内投与, 静脈内投与いずれの場合にも見られた。したがってその RI を用いた場合は参考にとどめた。なお RI を投与してないマウスを同じ方法で切片をつくり, X線フィルムにマウントしたのち現像したが何ら黒化は認められなかった。この結果から以下の実験では高比放射能の標識化合物を用い, クロロホルム吸入により死亡させたのち凍結して切片とする方法をとつた。

2. 静脈内投与後の分布とX線照射の影響

5-HT-¹⁴C のトレーサ量 5 μ Ci (5-HT 0.063mg) を生理的食塩水溶液とし, その0.1ml をマウスの尾静脈に投与した場合および投与前後にX線1000 R 全身照射を行なった場合の影響を検討した。

(1) 経時的な体内分布について

5-HT-¹⁴C を尾静脈内投与後5, 10, 30分, 1, 3, 6, 24時間後にそれぞれクロロホルム吸入により死亡させ, オートラジオグラフを作成した。なお24時間後のものについては 5-HT-¹⁴C を 8 μ Ci 投与した (Fig. 1)。

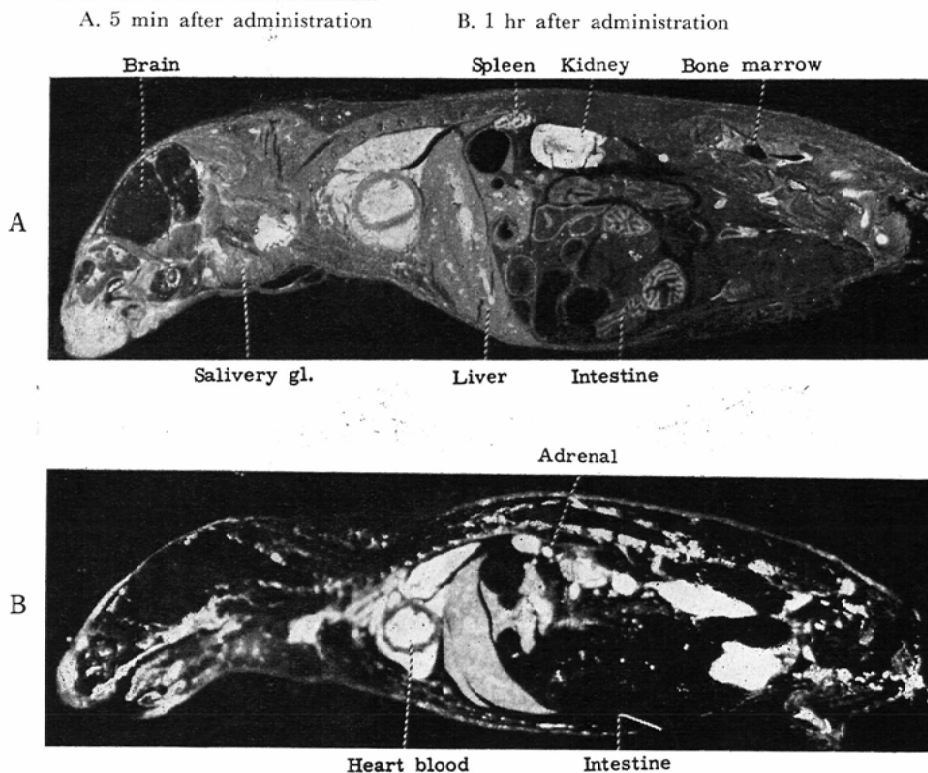
以下組織別に所見を記述する。

皮膚: 黒化は当初から1時間後に至るまでやや弱いが均一な分布を示し, 特に強い場所は認められない。投与3時間後には黒化はかなり減少し, 6時間後ではきわめてわずかになる。マウスの鼻部の触毛毛根は血液に富みいずれの時間においても強い黒化が認められる。腹部被毛の黒化は尿により汚染された部位である。

筋肉: 5~30分では弱い黒化が認められ, 1時間後ではほとんど認められなくなる。しかし, 頸部などの腱組織に点状のかなり強い黒化がめだつた。

骨, 軟骨: 骨にはいずれの時間においても黒化は認められない。軟骨にはわずかに認められるが, 用いた 5-HT-¹⁴C の一部にはかなり強い黒化を示すものがあつた。

Fig. 1. Autoradiogram showing distribution of ^{14}C (^{14}C -5-HT-tracer level) in male mouse after intravenous administration.



中枢神経：脳実質には黒化はほとんど認められないが、わずかに斑点状の黒化が認められることがあった。

消化管：消化管粘膜は当初から投与後30分まで明瞭に口腔粘膜，食道，胃，小，大腸の全般にわたり低レベルで一様な分布が認められるが黒化は急速に減少し，1時間後ではかなり弱く，3時間後においては漿膜，筋層部にわずかであり，粘膜にはほとんど認められない。唾液腺や膵臓は消化管粘膜とはほぼ同様な分布がみられ，急速にみられなくなる。なお消化管内容に非常に強い黒化が見られる時でも消化管粘膜の黒化は変化していない。

肝臓，胆嚢：肝臓はかなり強い黒化を示し，かなり長時間そのレベルは維持される。血液のレベルと同等かそれ以下の黒化を示す。時には特有の濃淡を認めることがあるが，均等な分布が普通で

ある。胆嚢内容は3～24時間で時にはかなり強い黒化を認めた。

脾臓：投与後5～10分では赤脾髄部に白脾髄を取り囲むように強い黒化を認めるが，30分後で赤脾髄全体に強い黒化を認める。このレベルは副腎髄質と共に最も強く，24時間後においても維持された。

血液：黒化のレベルは投与後当初はもちろん24時間に至つてもかなり高いレベルが維持される。従つて血液に富む肺，肝，腎臓は血液に近いレベルを認めた。なお死後変化と思われるが，肺，心臓血液などに点状の強い黒化を認めることがあった。

骨髄：投与5分で中等度の黒化を示し，24時間後でも認められる。黒化は3時間まで時間と共に増加するが血液のレベル以上を示すことはない。分布は微細な点状の黒化が集積したように認められた。

胸腺, リンパ節: いずれの時間においてもきわめてわずかな黒化を示すにすぎない。

副腎: 投与5分後でかなり高いレベルの分布が髓質に認められ, 30分から1時間後で最も高いものの1つとなり, 24時間後でも持続する。黒化は髓質に非常に高いレベルで均等であり, 副腎皮質は常に低いレベルであった。

腎臓: 5分~1時間で皮質, 髓質ともにかかなり強い黒化を認め, 肝臓とほぼ同様の経過をたどり黒化のレベルは時間と共に低下する。

髓質, 腎盂に尿成分と見られる強い黒化が示されることがある。

膀胱内容: 尿成分は投与10分後にすでにかかなり強い activity を示し, 6時間後でも黒化を認めた。

なお排泄については胆管-消化管を通して胆汁色素の明瞭な消化管内容に30分後でかなり高い黒化を認め, 6時間後においては大腸内容に黒化の

強い場所があり, 排泄が一時的か断続的であると見られた。

(2) 5-HT- ^{14}C の分布におよぼすX線照射の影響。

5-HT- ^{14}C の投与前後にマウスに対してX線の1000R全身照射を行ない, その体内分布に対する影響をX線照射を行なわない対照と比較し, 観察した。

1) 5-HT- ^{14}C 投与後X線照射した場合の分布。

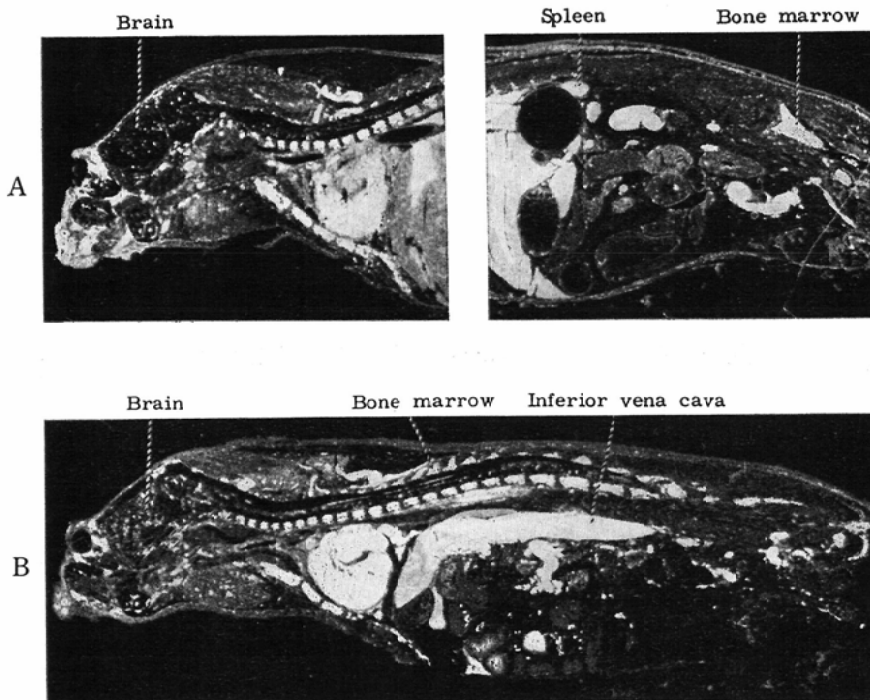
(A) 投与3時間後にX線照射, さらに3時間後に殺した場合。

(B) 投与2時間後X線照射, 24時間後に殺した場合について, (A) に対しては6時間後 (B) に対しては24時間後のものを対照として比較したが, 特に異った点を見出さなかつた。

2) 投与前X線照射した場合の分布。

X線照射後24時間および48時間に 5-HT- ^{14}C を投与し, 1時間および3時間後に殺した4通りの

Fig. 2. Distribution of ^{14}C -5-HT 1 hr after i.v. administration in pre-irradiated mice.
A. injected 24 hrs after X-irradiation of 1,000R
B. injected 48 hrs after X-irradiation of 1,000R



場合につき時間的経過の検討を行なった。

試料切片(マウス体内臓器の断面)を肉眼的に観察すると、X線照射後1,2日経過すると脾臓、胸腺の明瞭な萎縮が認められ、また骨髄は赤褐色を呈するが、対照が淡褐色であるので出血があつたものと考察される。

オートラジオグラフの黒化の状態を、X線を照射しなかつたマウスの1,3時間のもを対照として比較観察した結果、特に著明な変化とはいえないが以下のような若干の所見が得られた(Fig. 2)

(1) 照射群では、いずれの場合にもその骨髄は血液と同等か、またはそれ以上の黒化を示している点状の濃淡として中程度のレベルで認められるが、照射したものでは点状から顆粒状に大となっている。

(2) 脾臓の黒化のレベルは変わらないが、赤脾髄一強い黒化を示す部分一のしめる割合が増大しており、赤脾髄と白脾髄の境界がやや不明瞭になっているが判別は可能である。

(3) 中枢神経には、5-HT-¹⁴C は分布しないのが普通であるが、投与する 5-HT-¹⁴C によつては実質中にわずかに認められるものがあり、このようなアイソトープを照射群に用いた場合、中枢神経実質中に点状あるいは線状の黒化を認めた。照射 24時間のものとは 48時間後のものを比較すると、後者の方が点状の黒化の度合や数が大である(Fig. 2)。

(4) 胸腺において対照ではほとんど黒化を認めないが照射24時間後では低いレベルの均一な分布を認めるものがあつた。

3. 放射線防護有効量の 5-HT (5-HT-¹⁴C) を腹腔内投与した場合。

5-HT の放射線防護効果は、照射前 5分に50 mg/kgを投与した場合に最も有効であるとされている。かように多量の 5-HT を投与した場合に薬理作用は顕著に発現し、血管収縮にともなううつ血、呼吸の抑制、38°Cから31°Cに至る体温の降下が観察され血管を切断してもわずかな血液が流出するにすぎない。

したがつて腹腔内投与した 5-HT の体内分布は

トレーサ量の静脈内投与の場合とはかなり異なることが考えられるので、以下の諸項について検討を行なった。

(1) 有効量5-HT投与、5,10分後における体内分布の静脈内と腹腔内投与による差異。

同日に生れた同腹のマウスを用いて 5-HT の放射線防護有効量 (iv— 0.8mg/マウス, ip— 1.8 mg/マウス 今回は 2.8mg) に 5-HT-¹⁴C 5 μ Ci を混合し、0.2ml を投与し、5分後のものはクロロホルム吸入により、10分後のものはアセトンとドライアイス混合物中に浸漬して凍結により殺した。オートラジオグラフの結果より、次の所見が得られた (Fig. 3)。

1) 静脈内投与の場合一全身にわたつて分布、特に脾、副腎、腎、肝に強い Activity が観察され、骨髄、消化管壁、皮膚、筋肉にかなりの黒化を認め、胸腺も筋肉とほぼ同様の黒化を示し、中枢神経には極めてわずかである。以上の所見はトレーサ量静脈内投与の場合とほぼ等しい。

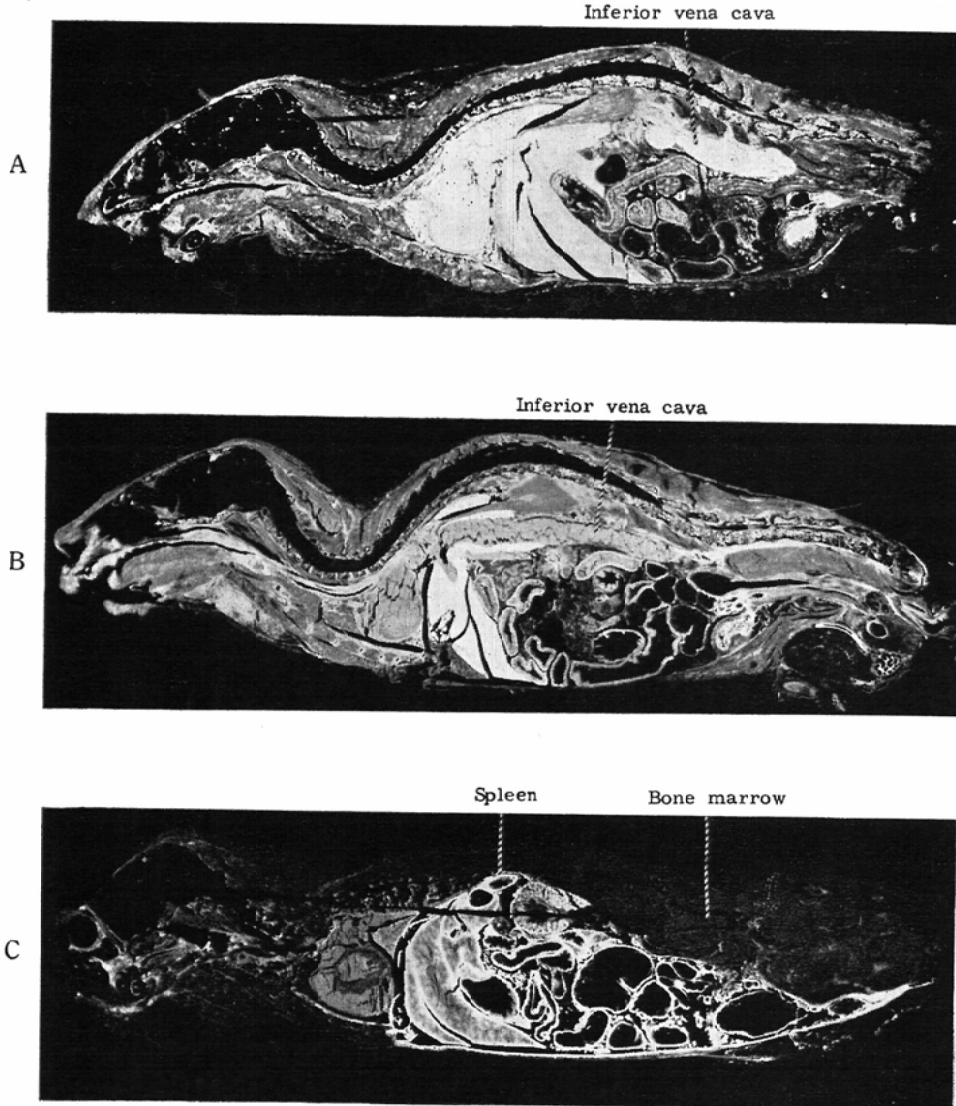
2) 腹腔内投与の場合一黒化は腹腔部に限局し、肝、腎、脾、消化管の漿膜面、被膜から実質組織内部へ外縁が強く、内部ほど弱い浸透の様相を示している。肝、腎には深部まで低ながら分布が見られる。消化管では漿膜面に特に強く、粘膜にも黒化が認められる。脾では被膜、実質周縁は強く内部の黒化はかなり低い。赤脾髄と白脾髄の区別はつきがたい。副腎においては皮質よりも髄質に黒化が認められる。睾丸周辺も黒化が強く、貯精嚢は被膜のみ黒化があり内部への浸透はない。

以上1)2)を比較した場合に両者の分布の様相は全くことなり、共通に黒化を示す臓器をしいてあげれば肝、消化管壁、腎臓で、また副腎髄質では黒化の差はあるが能動的なとりこみが観察される。脾臓の周縁部も黒化が認められるが赤脾髄のみとはいえない。骨髄の分布は腹腔内投与の場合とは殆んど認められない。

(2) 有効量の 5-HT の腹腔内投与後における体内分布の経時的変化。

5-HT 2.8mg (5-HT-¹⁴C 5 μ Ci) を腹腔内投与、5,10分、1,3,24時間後にクロロホルム吸入により

Fig. 3. Effect of dose and administration route on the distribution patterns of ^{14}C -5-HT.
 A. 10 min after i.v. injection of tracer amount of ^{14}C -5-HT
 B. 10 min after i.v. injection of ^{14}C -5-HT added protective dose of 5-HT
 C. 10 min after i.p. injection of ^{14}C -5-HT added protective dose of 5-HT



致死せしめた後、試料をつくり観察した。

結果として5,10分後の体内分布は(1)に述べた腹腔内投与の場合とほぼ同様であり、5分後と比較して10分後では腹腔内へ限局している割合が小となり全身に分布する傾向がみられ、血液の黒化もより大となっている。1時間後では静脈内投与

の場合とほぼ同様な全身の分布が認められ、腹腔内には一部に黒化が強く示される程度にすぎなくなる。副腎髄質、腎皮質は強い黒化を示し静脈内投与の場合と変わらないが脾臓、骨髄ではかなり黒化のレベルは低い。皮膚の黒化がかなり強く、消化管壁よりも大である。3時間後でも1時間後に

Fig. 4. Distribution of ^{14}C -5-HT added to the protective dose of 5-HT, 1 hr after i.p. injection.

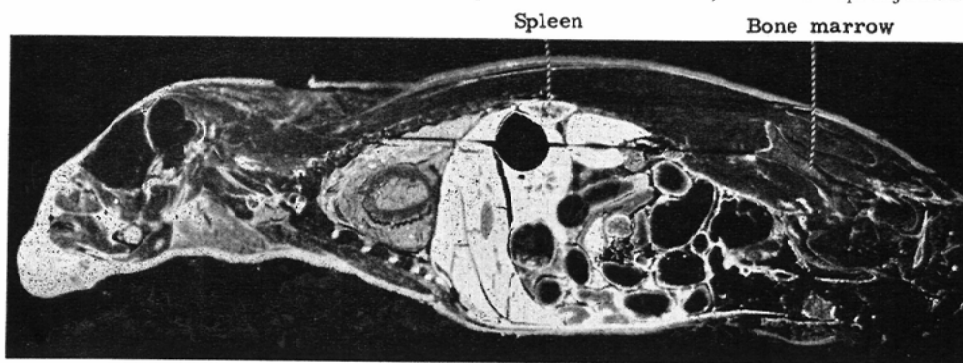
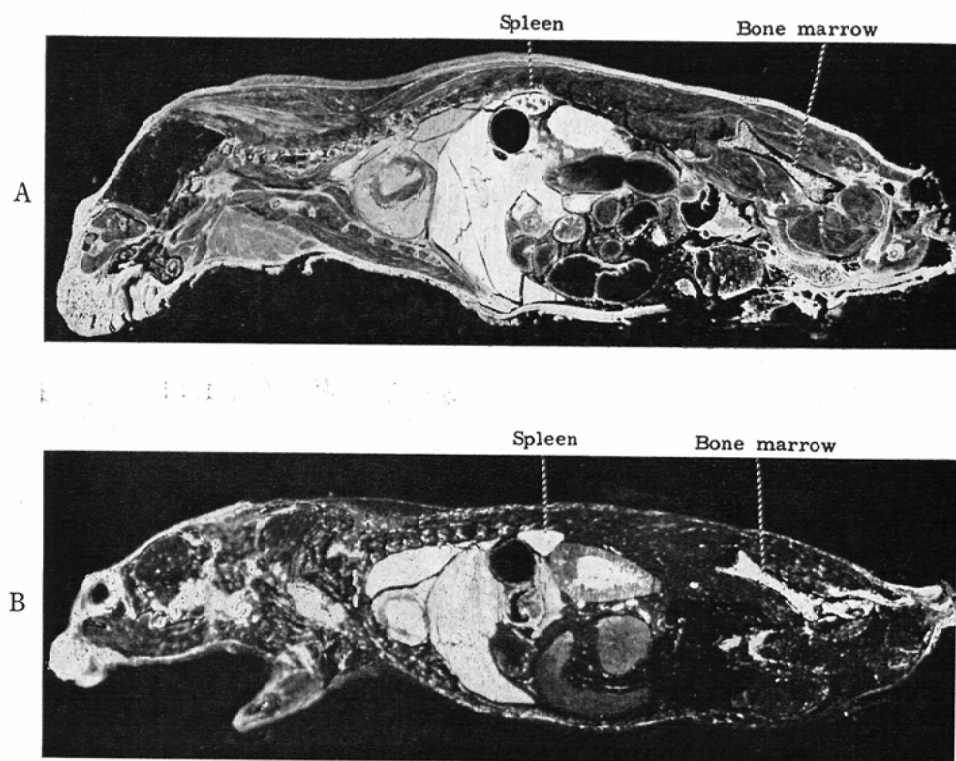


Fig. 5. Effect of X-irradiation on the distribution patterns of ^{14}C -5-HT after i.p. administration.
A. 45 min after X-irradiation of 1,000R B. 3 hrs after X-irradiation of 1,000R



おけるのとほぼ同様の傾向が示される。

(3) 放射線防護作用時の分布—腹腔内投与5分後にX線照射した場合の経時的分布。

腹腔内に2.8mgの5-HT ($5\text{-HT-}^{14}\text{C}$)を投与し、5分後に全身にX線1000R (92R/min.)を照射、その直後、5,45分、1,3,24時間後に殺して分布を

観察した (Fig. 5)。

その結果 (2)と経時的な分布の変化は等しく、特に著明な放射線照射の影響は見出されなかつた。放射線感受性の高い組織についての所見を以下に記載する。

脾臓：照射直後 (5-HT 投与15分後)では脾の

実質外縁に黒化が強いが赤脾髄や白脾髄の構造は黒化に示されない。5分後にはほぼ同様であるが、45分後には明瞭に判別できる。3時間後では更に構造が明瞭となり赤脾髄の黒化が血液よりも大となり、24時間では他の組織の比し、赤脾髄のレベルは副腎、腎皮質と共に最も高くなる。

骨髄：照射直後では黒化はほとんど認められないが5～45分後において低いレベルで点状の黒化の集積として認められ、1時間から3時間後はivと同様に時間経過と共に黒化は強くなる。なお非照射のものに比較して幾分黒化が強くと示されるものがあつた。

胸腺：いずれの時間においても黒化は弱く、筋肉と同レベルを示すにすぎない。

消化管粘膜：照射直後から5分では消化管の漿膜面に強い黒化があり、短時間に粘膜全体が均一な黒化を示し、1時間後では黒化のレベルは血液よりも低くなり、3～24時間後にもこの低い値が観察される。

その他臓器も低い黒化のまま維持される。

(4) 腹腔内投与後の体内分布に対するX線照射の影響。

静脈内投与の場合に見られたX線照射の影響が防護作用量の腹腔内投与の場合にも見られるかどうかについて。

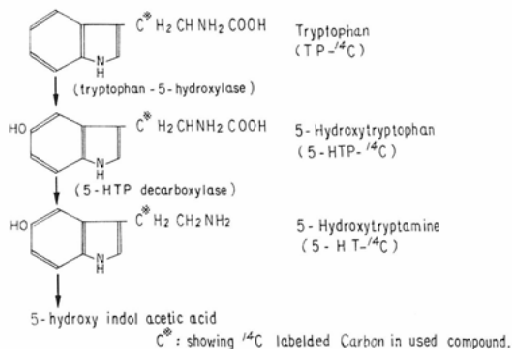
(A) 5-HT-¹⁴C 投与5分後にX線照射、それより3時間後の分布。(B) 5-HT¹⁴C 投与3時間後にX線照射、それより5分後。(C) X線照射3時間後に5-HT¹⁴C 投与、それより3時間後における分布を腹腔内投与3時間後を対照として比較検討した。その結果(A)(B)は対照とほぼ同様であつたが(C)ではわずかに骨髄の黒化が大である傾向が示されたが、静脈内投与の場合ほど明瞭ではなかつた。

4. 5-HT の前駆物質の体内分布。

前項1-3におけるごとく5-HT-¹⁴Cの体内分布について観察した結果、副腎髄質、脾臓、血液、腎、肝臓に強い黒化を示したが、体内産生5-HTの大半が存在するといわれる消化管には少く、また中枢神経においても、その含有が知られて

いるにもかかわらずほとんど認められないなどの特徴が注目された。したがって5-HTが動物体内のどの組織で合成、貯蔵利用、排泄されるかを知る一つの手段として5-HTの前駆物質とされている5-hydroxytryptophan、さらに前段階のTryptophanに¹⁴C標識したもの(Fig. 6に示すように

Fig. 6 Metabolic scheme of 5-HT



5-HT-¹⁴C と同位置の炭素に標識)をマウスに投与して、その組織におけるとりこみを観察した。

(1) TP-¹⁴C の体内分布

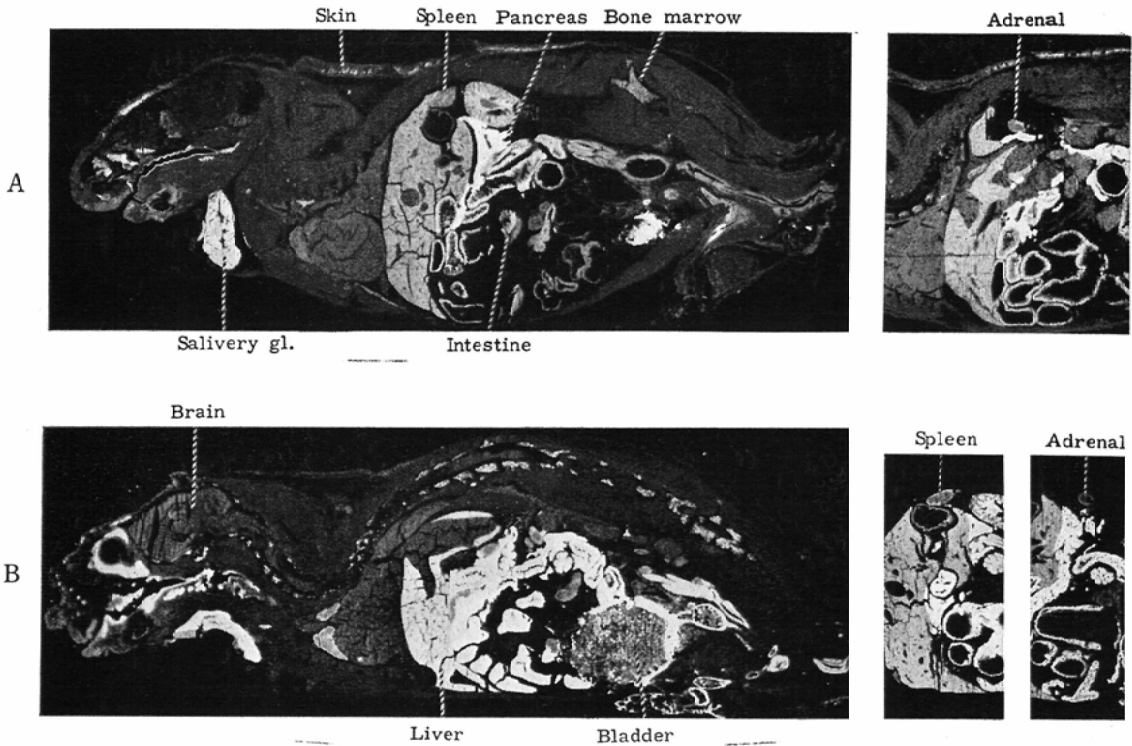
DL-TP-3-¹⁴C (比放射能 32 μCi/mg) 6 μCi を 0.1 ml 生理食塩水溶液として、マウスの尾静脈内に投与、10分、1、3時間後に殺し、オートラジオグラフ法により黒化を観察し、つぎの結果を得た。

1) 全般的に TP-¹⁴C は投与後組織内へ迅速にとりこまれ、その分布には10分から3時間後までの観察では大きな変化は見られなかつた (Fig. 7)。

2) 臓器別に見れば以下の如くである。脾臓に最高の黒化が認められ、顎下腺、消化管粘膜、涙腺などの外分泌腺に強く、肝臓、骨髄、胸腺、皮下、中枢神経にかなりの黒化がみられ、また腎臓、副腎皮質、睪丸などにも黒化が認められるが、血液、筋肉、皮膚外層、骨などでは黒化のレベルが低い。

3) 排泄については腎臓、膀胱系に投与後10分ですでに黒化が認められ、いずれの時間においても観察される。消化管内容が黒化を示すのは投与

Fig. 7. Distribution of ¹⁴C-tryptophan after i.v. administration.
A. 10 min after administration B. 3 hrs after administration



後3時間のものである。

(2) 5-HTP-¹⁴C の体内分布.

1) 5-HTP-¹⁴C の経時的分布の変化.

5-HTP-¹⁴Cの 5 μ Ci (5-HTP 量1.09mg) を0.15 ml 生理食塩水溶液としてマウス尾静脈内に投与30分, 1, 3, 6時間後の体内分布について観察した

(Fig. 8).

結果：臓器の黒化の度合を TP-¹⁴C, 5-HTP-¹⁴C, と 5-HT-¹⁴C と比較の意味で Table 2 に示した. 5-HTP-¹⁴C 投与30分後, 副腎, 腎, 膵臓, 肝に著明な黒化が認められ, 中枢神経には低いながら全体に均等なとりこみが見られた. 腎, 膀胱を経

Fig. 8. Distribution of ¹⁴C-5-HTP 1 hr after i.v. administration.

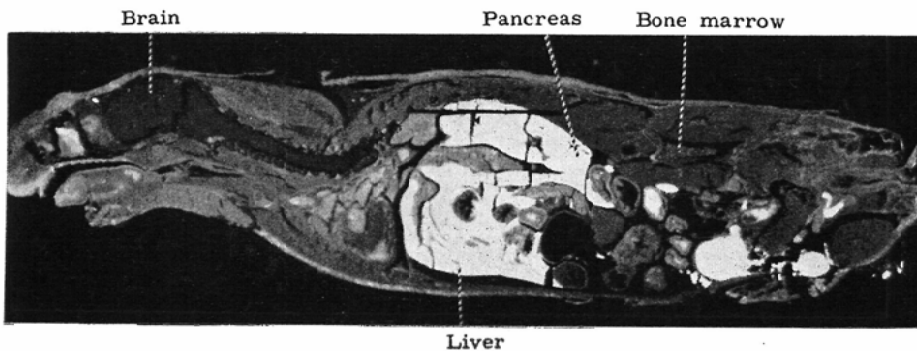


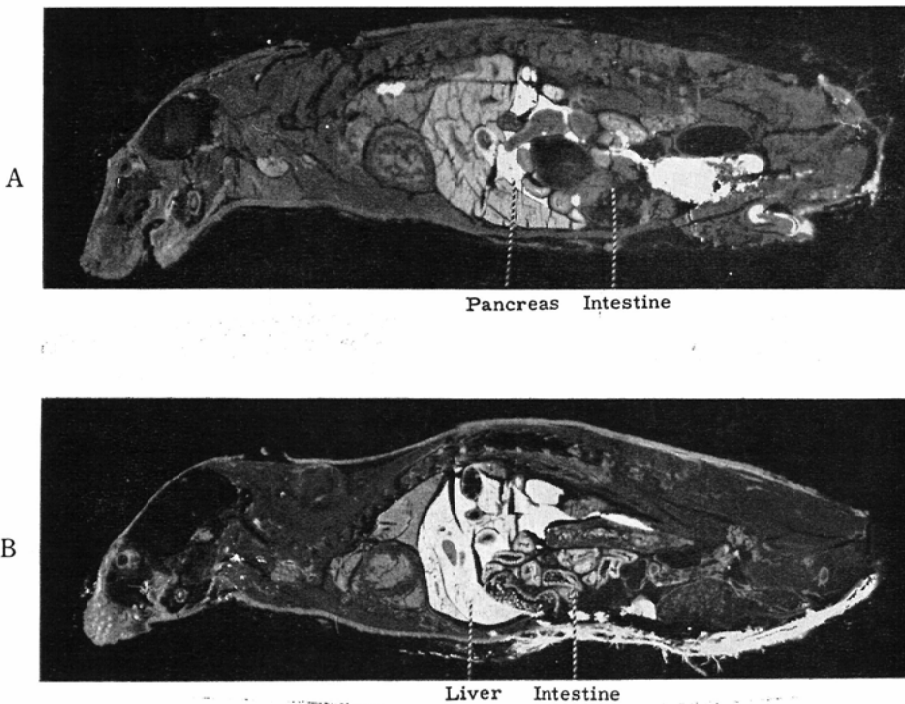
Table 2. Comparison of ^{14}C level in organ of mice after intravenous injection of TP- ^{14}C , 5-HTP- ^{14}C and 5-HT- ^{14}C

time after injection	TP- ^{14}C	5-HTP- ^{14}C	5-HT- ^{14}C
	i.v. 10min. ~ 3 hr.	i.v. 30min. ~ 1 hr.	i.v. 30min. ~ 1 hr.
skin	+, †	+	+
central nervous system	+	±	—
salivary gland	†	+	±
intestinal mucosa	†	+	±
pancreas	‡	‡	±
liver	†	†	†
blood	±	+	+
bone marrow	†	+	+
spleen (red pulp)	+	+	‡
thymus	+	±	—
adrenal cortex	+	—	—
adrenal medulla	±	‡	‡
testis	+	±	—

Fig. 9. Effect of reserpine on the distribution of ^{14}C -5-HTP in mouse.

A. Control (30 min after i.v. administration)

B. Distribution of ^{14}C -5-HTP 30 min after administration in mouse pretreated with reserpine (total dose of 1.3mg, i.m.)



路とする排泄物に強い黒化が観察された。全体に分布する割合は TP-¹⁴C に比較すると少い。

1時間後においては脾臓の強い黒化は均等に分布し、副腎髄質も強い。脾臓の赤脾髄も黒化が明瞭に認められ、血液、皮膚、顎下腺、骨髄、消化管粘膜にもある程度の黒化を認めた。3時間後では皮膚、筋肉、肝臓では黒化のレベルは低くなり、膀胱内容や消化管内容では著しい。6時間では体内の Activity が減少し、黒化を強く示す組織は副腎髄質赤脾髄、脾臓であった。

2) 5-HTP-¹⁴C の分布に対する照射の影響

5-HT-¹⁴C と同様に 5-HTP-¹⁴C の投与前後に X線照射した後の比較的早期の分布を検討した。

(1) 投与後 X線照射例：5-HTP-¹⁴C の静脈内投与2時間後に X線1000R照射し、1時間後に観察すると対照 (iv. 3時間) とほぼ等しい体内分布が見られ、特異的な変化は見出されなかつた。

(2) 投与前 X線照射例：X線照射1時間後に 5-HTP-¹⁴C を投与し、さらに3時間後に殺したものは対照 (iv. 3時間) に比して骨髄のみにわずかに黒化の上昇がみられたほかは特に差異を認めなかつた。

3) レセルピン処理後の 5-HTP-¹⁴C の分布

5-HT の releaser であるレセルピンを大量投与し、体内 5-HT を遊離させたのち 5-HTP-¹⁴C を投与した場合の分布について検討した。

レセルピン 0.5mg を24時間間隔で2回、さらに 0.3mg を1回マウスの背部筋肉内に注射し、24時間後に 5-HTP-¹⁴C 5 μ Ci を静脈内投与30分、1時間後に殺して分布を観察した (Fig. 9)。

結果：5-HTP-¹⁴C 投与30分後においては対照 (iv. 30分) に比して消化管粘膜の黒化がかなり上昇している。また肝臓における黒化も著明である。またレセルピンを投与した背部筋肉にかなりの黒化が観察された。

5-HTP-¹⁴C 投与1時間においては無処置の対照 (iv. 1時間) と比較すると消化管壁の黒化が上昇しているとはいいたい。

IV 考 察

1) トレーサ量の 5-HT-¹⁴C の静脈内投与後の

分布について一：副腎髄質、赤脾髄、血液にレベルが高く、長時間続き、肝、腎、骨髄にもある程度の分布が認められた。しかし、消化管壁は皮膚と同様に投与後30分まで低いレベルながら明瞭に認められるがその後は不鮮明となる。中枢神経にはほとんど認められない。X線照射前投与の場合には変わらないが、照射後投与例では骨髄に黒化の上昇がみられ、中枢神経に点状の分布が認められることもあつた。Garattini²⁰⁾ らは体内産生 5-HT は主に消化管壁 (Enterochromaffin cell) にて TP から生合成され、体内 5-HT 含量の大半を占め、他に栓球 (血液、脾臓、骨髄) や皮膚 (mast cell) にかなり含まれ、肝臓、腎臓には少く、副腎、骨格筋には全く存在しないとしており、本報の外部投与の場合にみられた 5-HT の分布とはかなり相異することが注目される。外部投与については Erspamer²¹⁾ の報告があり、大量の皮下注射では消化管では30分後に最高を示し、1時間後では対照と同値となる点で本報との類似を見る。また、McIsaac²²⁾ らは 5-HT-¹⁴C をウサギ、ラットに用いた場合、大半が1日以内に尿中に排泄され1部糞中に見られると述べ、組織では消化管、血液、肺、肝、腎、脾、脳に多いことを述べている本報 (マウス) では消化管、脳に多くない点でことなっている。血液中の黒化が高く、かつそのレベルが維持されることについては血中の 5-HT が栓球に取り込まれるという多数の報告²³⁾²⁴⁾ とよく一致し、脾の赤脾髄に高く、骨髄にもかなり見られることは栓球の破壊と産生の場所として興味深い。また死後変化とみられる肺や心血中に点状の強い黒化が示されることがあつたのは栓球の凝集と関係があるかも知れない。次に副腎髄質に強い黒化が認められたが、髄質に消化管と同様にアミンを主体とする顆粒を包含する細胞が存在すること、アドルナリンと 5-HT の関係について²⁵⁻²⁷⁾ も薬理作用上興味深い。

中枢神経では 5-HT の含有とその迅速な代謝が知られており、その薬理作用と放射線防護作用を論じている報告²⁸⁾ もあり、注目されるが、分布に関する限り、外部投与の場合にはほとんどとりこ

まれない。

次にX線照射の影響については照射前投与では組織に分布した5-HTがその影響を受けて移動するような所見は観察されなかつた。照射1, 2日後の投与により放射線感受性の高い組織が著明に変化を起し5-HT-¹⁴Cの分布の変化を予想したが骨髄と中枢神経にわずかにみられた他は特に認められた変化はなかつた。骨髄に血液と同レベル以上に入ることは出血や栓球との関係、膜の透過性の変化に関連があると考えられる。消化管における分布は松岡らの報告と関連して興味を持たれたが、この実験の場合では分布がわずかであり、照射による変化も明らかでなかつた。Ershoff²⁹⁾はラットに900RのX線照射を行ない、6日後血液、脾臓の5-HTの減少、小腸の5-HT量の増大を報告しており、Palaic³⁰⁾はマウス、ラットの脳にX線を照射して900~4,000Rでは5-HT含量の変化を認めないが、6,000~12,000Rでは増大が見られ、また副腎摘出したものでは900Rでその変化があることを報告している。2) 防護作用量の5-HTを投与(ip)した場合:放射線防護実験で最も有効とされている照射5分前に腹腔内投与し、時間的な5-HTの体内分布を観察したが、照射中および照射直後では腹腔内に局限し、実験組織には浸透の様相を示しており、組織内部、血液には黒化が大ではない。腹腔内組織や血管は平滑筋収縮などの強い薬理作用を受けていることがうかがわれる。5-HTの防護作用機構については組織、特に造血組織の低酸素に起因する説とfree radical scavengerあるいはアミンとしての特異な分子構造に由来して薬理作用のみでないとする説がある。前者については低酸素を証明する報告も2, 3³¹⁾³²⁾発表されている。後者については(1)放射線感受性の高い組織、特に造血臓器や消化管上皮に5-HTが高濃度に存在する。

(2)マウスの血液循環速度を3~6秒以下とすると血液量の大きい組織に高濃度に存在する。(3)ある組織に高濃度に存在することにより放射線の障害を軽減させる一などのことが証明されれば好都合であるが、脾臓が(1)肝臓、腎臓が(2)、副腎が

(3)に該当するかどうかは疑問である。また5-HTの薬理作用により血液循環は著しく抑制されていることもこの場合大きな影響を与えていると考えられる。

3) 前駆物質の分布:5-HT-¹⁴Cの体内分布のパターンが一定に示されるので前駆物質5-HTP、さらに前段階のTPの¹⁴C標識したものの分布のパターンの比較検討を行つた。これにより、TP-¹⁴Cは組織構成要素として、特に蛋白質、アミノ酸の代謝回転の速い腺組織や細胞分裂の盛んな骨髄、胸腺にかなり分布することがわかつた。また5-HTの代謝量の大きいとされる中枢神経にもかなりとりこまれ、消化管壁にも高レベルを示すことから組織の5-HTはTPの分布した組織で合成されることの裏付をなすものと考えられ、5-HT-¹⁴Cのパターンと全くことなることからTPから5-HTにすみやかに変化する割合は非常に低いことも推定される。

5-HTP-¹⁴CはTP-¹⁴Cと5-HT-¹⁴Cの中間の分布を示し脾臓、脳、睾丸への分布がみられる他はほぼ5-HT-¹⁴Cの分布と類似すると云えよう。酒井は5-HTP-³H,¹⁴C標識物をマウスに投与して(ip)、腸に能動的な取り込みがあり、脳の取り込みもレベルは血液より低いと能動的であるとしている。またRitzen¹⁹⁾は本報と同様にオートラジオグラフで5-HTP-¹⁴Cの分布を調べ、副腎髄質、脾臓、甲状腺、脾臓に多いとしている。特に脾臓のランゲルハンス島、導管および甲状腺に注目している。本報でも5-HTP-¹⁴Cの消化管への取り込みはさほど多くはなく、脾臓には均等に黒化が見られ、脳には極めて弱く均等に分布するが、甲状腺には特に分布する所見はなかつた。

5-HTP-¹⁴Cの分布に対するX線照射の影響は照射後投与群に極めてわずかな変化にすぎないが骨髄に見られた。レセルピンを前もって大量に投与すると5-HTP-¹⁴Cが消化管壁に対照に比し30分後の所見で増大することがわかつた。

V 結 論

5-HT (Serotonin) の放射線防護作用機構の解明を目標として体外から投与した5-HTの体内分

布をマウスを用いて検討した。 ^{14}C 標識 5-HT を静脈内および腹腔内投与したのち経時的に殺して、全身凍結切片をつくり、オートラジオグラフによつて、そのフィルム黒化の状況を観察した。またX線照射により投与 5-HT の体内分布が影響を受けるかどうかを検討した。

(1) トレーサ量の 5-HT の静脈内投与後の分布は副腎髄質、脾臓赤脾髄、血液に多く、骨髄にもかなり観察されたが、消化管、皮ふは当初の30分までは明らかで、その後はわずかとなり、中枢神経にほとんど認められない。これは生体内に元来存在する 5-HT の分布と脾臓、血液では一致するが、肝臓、副腎、腎臓、消化管壁、中枢神経等では全く逆の様子を示した。したがつて体外から投与した 5-HT の分布は体内産生 5-HT 含有の多い消化管などの組織へ多く入るとは限らなくて独自のパターンを示すことがわかつた。1000 R X線照射したマウスに1~2日後投与した場合に骨髄への分布の増加がみられた。また中枢神経に点状に分布することもあつた。

(2) 放射線防護作用量の 5-HT を腹腔内に投与し、5分後にX線照射した場合、照射中(投与5~10分)の分布は腹腔内に限局して存在し、腹腔内の実質組織に浸透の様相がみられ、投与1時間後ではほぼ静脈内投与の場合と同様の分布を示すが、脾臓のレベルは低い。

(3) 5-HT- ^{14}C の分布の形式に関して前駆物質の分布とどのような関係にあるかを知るために ^{14}C 標識した TP, 5-HTP を用いて検討した。中枢神経、副腎皮質、消化管にも多く、血液に少い分布が TP- ^{14}C で観察され、5-HTP- ^{14}C は 5-HT- ^{14}C と TP- ^{14}C の中間の分布がみられ、脾臓、中枢神経にもとりこまれるが副腎髄質など 5-HT- ^{14}C に近い分布を示した。

稿を終るに臨み、終始御指導御校閲を賜つた部長長江藤秀雄博士に深甚なる謝意を表します。また種々の御助言下さつた古川義宣博士および終始労を厭わず協力して下さつた村松恵美子氏、石田桂子氏、R I棟管理室各位に対し深謝致します。

文 献

- 1) J.L. Gray, J.T. Tew and H. Jensen, Proc. Soc. Biol. Med. 80 : 604—607, 1952.
- 2) J.F. Thomson.: Reinhold Publishing Corporation. New York. Radiation Protection in Mammals 124—126, 1962.
- 3) S. Garattini and L. Velzelli, Elsevier Publishing Comp. (Amsterdam. London, New York), Serotonin 156—157, 1965.
- 4) H. Langendorff und R. Koch, Strahlentherapie 102 : 58—64, 1957.
- 5) H. Langendorff, H.-J. Melching und H.-A. Ladner, Strahlentherapie 108 : 251—256, 1959.
- 6) H. Langendorff, H.-J. Melching und H.-A. Ladner, Strahlentherapie 110 : 34—39, 1959.
- 7) H. Langendorff, H.J. Melching und H.-A. Ladner, Strahlentherapie 109 : 554—560, 1959.
- 8) H.A.S. Van Den Brenk, Second Australasian Conference on Radiation Biology Chapter 19 : 169—176, 1959.
- 9) E.D. Coen and R.W. Whitehead, Federation Proc. 21 : 423, a. 1962.
- 10) W.E. Rothe, M.M. Grenan and S.M. Wilson, Nature (4878) 403, 1963.
- 11) H.A.S. Van Den Brenk and M. Haas, Int. J. Rad. Biol., 3 (1) : 73—94, 1961.
- 12) H.A.S. Van Den Brenk and D. Jamieson, Int. J. Rad. Biol., 4 (4) : 379—402.
- 13) C. Van Der Meer and D.W. Van Bekkum, Int. J. Rad. Biol., 4 (1) : 105—110, 1961.
- 14) J. Doull and B.J. Tricou, Fed. Proc. 20 : 400 C. 1961.
- 15) P. Alexander, Z.M. Bacq, S.F. Cousens, M. Fox, A. Herve and J. Lager, Rad. Res. 2 : 392—415, 1955.
- 16) P. Dukor, Strahlentherapie 117 : 330—355, 1963.
- 17) J.R. Maisin and D.G. Doherty. Rad. Res. 19 : 474—484, 1963.
- 18) O. Matsuoka, T. Tsuchiya, Y. Furukawa, J. of Rad. Res. 3 (2) : 104—108, 1962 (Japan)
- 19) M. Ritzén, L. Hammarström and S. Ullberg, Biochem. Pharm. 14 (3) : 313—321, 1965.
- 20) S. Garattini and L. Velzelli, Elsevier Publ. Comp. Serotonin chap. 4, 53—81, 1965.
- 21) V. Erspamer, J. Physiol 133 : 1—9, 1956.
- 22) W.M. McIsaac and I.H. Page, J. Biol. Chem. 234 (4) : 858—864, 1959.
- 23) R.S. Stacey, Brit. J. Pharmacol. 16 : 284—295, 1961.
- 24) Edited by G.P. Lewis, 5-Hydroxytryptamine, Proceedings of a symposium held in London

- on 1st. and 2nd. April 1957.
- 25) A. Bertler, A-M. Rosengren and E. Rosengren, *Experientia* XVI/9 418—419, 1960.
- 26) M. Connors and H. Rosenkrantz, *Endocrinology* 71 : 407—413, 1962.
- 27) I.R. Ionnes, *Brit. J. Pharmacol.* 19 : 427—441, 1962.
- 28) 橋本哲明 : *日医放誌*, 19 (8), 1583—1591, 1959.
- 29) B.H. Ershoff and E.M. Gal, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 108 : 160—163.
- 30) Dj. Palaic, M. Randic and Z. Supek, *Int. J. Rad. Biol.*, 6 (3) : 241—246, 1963.
- 31) D. Jamieson and H.A.S. Van Den Brenk, *Int. J. Rad. Biol.* 6 (6) : 529—540, 1963.
- 32) D.B. Cater, S. Garattini, F. Marina and I.A. Silver, *Proc. Roy. Soc. London*, 155 : 136—157, 1961.
- 33) 松岡理, 鹿島正俊 : *Radioisotopes* 15 (4) : 195—207, 1966.
-