



Title	放射線効果の一指標としての50%生残平均日数について : グルタチオンの防御効果
Author(s)	安河内, 浩; 飯野, 祐; 渡辺, 哲敏
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1967, 27(6), p. 691-696
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/15199
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

放射線効果の一指標としての 50%生残平均日数について (グルタチオンの防禦効果)

東京大学医学部分院放射線科

安河内 浩, 飯野 祐

同 医学部放射線医学教室

渡辺 哲 敏

(昭和42年 1 月 28 日 受付)

50 percent surviving days (SD_{50}) as an indicator of radiation effects

(In the case of protective effects of glutathion)

Hiroshi Yasukochi, M.D., Yu Ihno, M.D. and Noritoshi Watanabe, M.D.

The term of $LD_{50/30}$ is popularly used as an indicator of radiation effects. To detect the effect of protective agents for radiation injury, $LD_{50/30}$ seems to be one of a good indicator. But the cause of death by radiation is supposed to depend on three origins, they are brain death, intestinal death and bone marrow death. $LD_{50/30}$ is based on normal distribution of radiation death, but in reality, the distribution of death is mostly divided into two phases-intestinal and bone marrow death-on the radiation dosage between 100 and 1000R.

Here the term of SD_{50} is suggested which is mainly depending on intestinal death. The calculation of SD_{50} is just the same as that of LD_{50} , but the survival rate is compared by the duration between the irradiation and the death, which is by radiation dose in $LD_{50/30}$.

Shortly to say, SD_{50} means the days between irradiation and 50 percent of animals survived. $LD_{50/30}$ means the dose of 50 percent of animals survived for 30 days after irradiation.

As an example some effects of glutathion are discussed, the effective time for injection Fig. 1 and 2, the effects depends on irradiation dose Fig. 3 and the effect of fractionation Fig. 4, 5 and 6.

放射線による障害の防禦にはチステインを始めとし、種々の薬品を使用して広く研究され又報告されている¹⁾。これの指標には主としてマウスの50%死亡率を較べる所謂 $LD_{50/30}$ を応用した報告が多い²⁾。

しかし LD_{50} は元来毒物の急性致死の如く比較的関連因子の少ない実験に使用されたもので³⁾、放射線による致死のような長期間後の死亡を比較

する際は、そのマウスの死因が線量によつて異なり、或は脳神経の障害、消化管の障害又は血液の障害などによるために、 $LD_{50/30}$ という統計処理に僅かではあるが疑問が残るのは止むを得ない。又同時にこの実験は非常に大きい費用と労力を要しないと正確に認められるような結果を出すことができないという点も問題になる。

このような欠点を補なうために我々は50%生残

平均日数 (Sd_{50} : 50% surviving day) の概念を利用してみた. ここに言う平均日数は単なる算術平均によるものではなく, 重みとプロビットの概念を応用した従来の LD_{50} と同様な方法で計算したものである.

勿論この方法が充分従来の $LD_{50/30}$ 法に優れているとは敢て云わないが, 1つの試みとして, すでに放射線防禦効果について古くより知られているグルタチオンを使用し²⁾, その放射線防禦効果について 2, 3 の考按を行つた結果比較的簡単にしかも少ない匹数のマウスで結果を得ることができたので報告する.

50%生残平均日数 (Sd_{50}) の算出.

約20匹のマウスに大体消化管の障害で死亡する程度の線量を照射し, 照射後の生存数を経日的に調べる. これを後に述べるように推計学的処理をほどこして Sd_{50} を求めるわけである. ここには1例として表1に示すように14匹の dd D 系マウス (20 ± 2 g) に ^{60}Co γ 線 1,000Rを全射照射し, 照射後の生残マウスの数を経日的に調べてある. これより第3欄にその日までの累積死亡率(%)を求め, 以下は $LD_{50/30}$ と同様に測定プロビット, 推計プロビット, 実用プロビットを求めて, 更に第1表欄外の如くして Sd_{50} を求める. 最後にそれについて欄外 (1) (2) の検定を行つた後に誤差を求める.

Table 1. An example for the calculation of Sd_{50} .

Days after irradiation	No. of mice surviving	lethal percentage (%)	detected probit	estimated probit	calculated probit (y)	Weight (w)
0	14	0	—	—	—	—
1	14	0	—	—	—	—
2	14	0	—	—	—	—
3	14	0	—	2.4	2.06	0.040
4	13	7	3.52	3.3	3.80	0.208
5	11	21	4.19	4.1	4.17	0.471
6	9	36	4.64	4.6	4.65	0.601
7	8	43	4.82	5.1	4.80	0.634
8	7	50	5.00	5.5	4.96	0.581
9	4	71	5.55	5.8	5.55	0.503
10	1	93	6.48	6.2	6.40	0.370
11	0	100	—	6.5	7.00	0.269
12	0	100	—	6.7	7.20	0.208
13	0	100	—	7.0	7.42	0.131

assume $n = 14$, $x = \log X$

$$\bar{x} = \frac{\sum nwx}{\sum nw} = 0.872, \quad \bar{y} = \frac{\sum nwy}{\sum nw} = 5.246, \quad b = \frac{\sum nw(x-\bar{x})(y-\bar{y})}{\sum nw(x-\bar{x})^2} = 7.319$$

$$y = 7.319x - 0.937 \quad \therefore x = 0.811 \quad \text{when } y = 5$$

1) Confirmation of line.

$$\chi_s^2 = \sum nw(y-\bar{y})^2 - \frac{\{\sum nw(x-\bar{x})(y-\bar{y})\}^2}{\sum nw(x-\bar{x})^2} = 6.851$$

in the case $k=11$, $n=9$, $\chi^2(0.05)=16.919 > \chi_s^2$

2) Confirmation of "b"

$$g = \frac{1}{b^2} \times \frac{t^2}{\sum nw(x-\bar{x})^2} = 0.067 \leq 0.1$$

($t = t_{\infty}(0.05) = 1.96$)

3) Standard deviation of "m".

$$V(m) = \frac{1}{b^2} \left\{ \frac{1}{\sum nw} + \frac{m-\bar{x}}{\sum nw(x-\bar{x})^2} \right\}^2 = 0.000398$$

$$\sqrt{V(m)} = 0.020$$

$$m = 0.811 \pm 0.020$$

もしこの方法で正しく放射線の効果を示す1つの指標となれば、従来の $LD_{50/30}$ の検定法の1点のみがあればよく、約7分の1のマウスを使用すればよくなり、計算に費す時間もそれに比例して減少するわけである。

実験方法

ddD 系マウス (体重 20 ± 2 gr) を使用し、照射は第2表に示す条件で ^{60}Co γ 線及び 240 kVp X線で3 mmアクリルのケージで照射した。

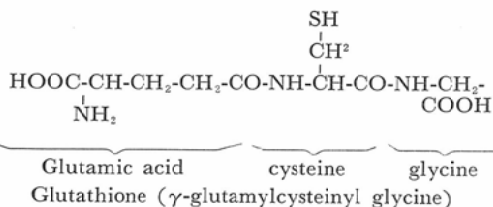
又合成還元グルタチオンであるタチオンを適量腹腔内に注入し、それらの効果を上記の計算によつて得られた Sd_{50} によつて比較した。タチオンの毒性は正確には測定していないが第3表に示すごとく 128mg/匹では24時間で16匹中9匹生残し、64mg/匹では16匹全部生残しているの、 $L D_{50}$ は 128mg/匹より高いと思われる。

Table 2. The irradiation technique.

^{60}Co γ STD50cm	104.2 R/min
240 KVpX (Cu 2.0, Al 0.5) STD 40cm	
78.0R/min	
(according to Toshiba dose-rate meter)	

Table 3. Toxicity of Tathion.

Dose (mg)	Solution (ml)	No. mice.	24hr. Survival	7 d. Survival
0	1.0	16	16	16
2	0.2	16	16	16
4	"	16	16	16
8	"	16	16	16
16	0.4	16	16	16
32	"	16	16	16
64	0.8	16	16	16
128	"	16	9	9



使用量は各実験毎に異なるが、それらは各項目に各々記入してあり、又溶解は添付の緩衝液を使用し、注入前20分以内に溶解させた。

結果

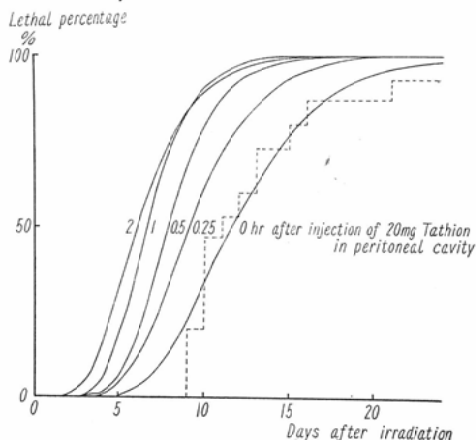
i) 注入より照射までの時間による効果の差

グルタチオンの放射線防禦効果はチス테인等と同様にSH基によるものと云われ、還元型グルタチオン (第3表) による遊離基の酸化によると考えられているが、還元型グルタチオンは非常に不安定であり、体内で長く還元型のまま残っているかどうかは疑問である。又どのような形で放射線防禦に関与するかも正確にははつきりしていない³⁾。

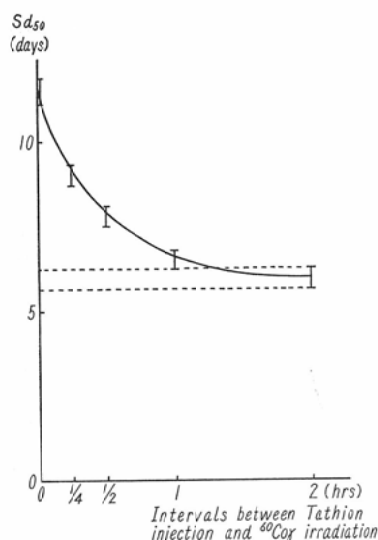
この効果を調べるためにまずグルタチオンを注入してから照射までの間隔を変え、それによつて防禦効果がどのように変わるかを調べた。即ちタチオン20mg/匹を注入し、直後、15分後、30分後、1時間後、2時間後に夫々 ^{60}Co γ 線 1,000Rを照射し、その死亡の傾向を前述の手段で推計学的に処理したものが第1図である。

又それを効果 (Sd_{50}) を縦軸に、注射と照射の間隔を横軸にしたのが第2図である。

Fig. 1. Lethal percentage curve calculated in various intervals between Tathion injection and ^{60}Co γ irradiation



これによれば注入直後に照射した群が最も Sd_{50} が長く、注入後1時間以後に照射した群は Sd_{50} が非注入群と変わらず、効果はないと云つてよい。このことはタチオンが注入後比較的早い時期に放射線防禦効果を失なうことがわかる。若し臨床的に使用するとしても30分以内に照射をする必要があることが推測される。

Fig. 2. Sd_{50} and Intervals got from Fig. 1

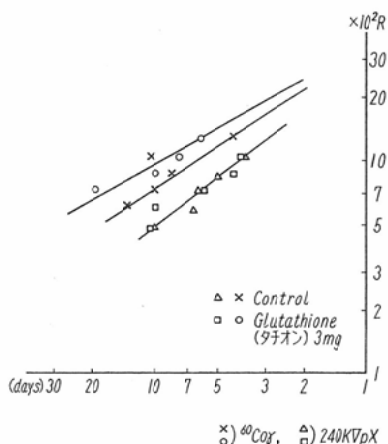
このような点からタチオンの防禦効果を見るために、最も効果がわかるように以後の実験ではすべてタチオンを注入後できるだけ早い時期に照射を行うことにした。

ii) 照射線量による効果の差

^{60}Co γ 線を 600 R, 620 R, 860 R, 1,020 R 及び 1,300 R 宛照射し、各線量群についてタチオン注入及び非注入各20匹宛合計 240匹使用した。注入群はいずれも 3 mg/匹宛照射直前に注入した。

このようにして得られた結果から Sd_{50} を求め、それと照射線量との関係を調べたのが第3図である。タチオン注入群の 600 R では50%以上死亡せず、従つてこの方法では Sd_{50} を得ることはできなかった。又非注入群の 1,000 R では異常に生存日数が長く棄却検定で棄却されたが、これらは20匹という数字に疑問をいだかせ、実際は更に多数の使用をするべきであると考えさせられる。

この結果 700 R から 1,300 R の間は非注入群、注入群いずれも Sd_{50} の対数と照射線量の対数の間に直線関係が成り立ち、それは

Fig. 3. The relation between radiation dose and Sd_{50} 

$$y_1 = 1.727x_1 - 5.552$$

$$y_2 = 1.477x_2 - 4.636$$

但し y_1 は注入群の Sd_{50} の対数、 x_1 は同じく照射線量の対数、又 y_2 , x_2 は非照射群のそれらの値である。

このことはタチオンの効果が照射線量によつて多少異なることを示している。即ち線量が少ない程、効果比は大きくなっている。

同時に X 線照射の場合についても検討したが、この場合は非注入群と注入群の間に有意の差は見られず

$$y_3 = 1.369x_3 - 4.093$$

という形になる。

y_2 , y_3 の直線を比較することにより 240kVp X 線の場合を標準として ^{60}Co γ 線の所謂 R.B.E. を計算すると第4表のごとくなる。同様のことをタチオンの効果についても求めることができる。

iii) 分割照射による効果の差

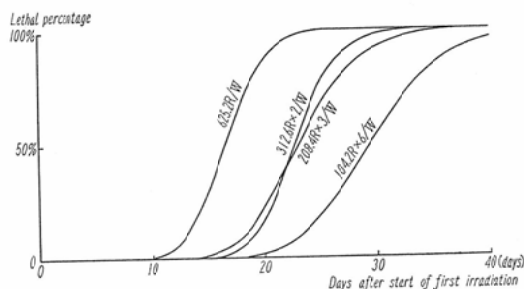
次いで分割照射によつて Sd_{50} がどのようにかわるかを検討した。

照射は ^{60}Co γ 線で1週間の総線量を一定にしそれを1, 2, 3, 6回に分割し、各群のマウス

Table 4. R.B.E. of ^{60}Co γ by Sd_{50} (compared with 240 KVpX)

i) Radiation dose (R)	600	700	800	900	1,000	1,100	1,200	
Ratio of Sd_{50}	0.59	0.61	0.62	0.64	0.65	0.66	0.66	
ii) Sd_{50} (day)	3	4	5	6	7	8	9	10
Ratio of Radiation Dose	0.75	0.74	0.73	0.72	0.71	0.71	0.71	0.71

Fig. 4. Lethal percentage curve calculated in fractionated irradiation



が全部死亡するまで照射したが、即ち $1042, R \times 6/W$ $208.4R \times 3/W$, $312.6R \times 2/W$ 及び $625.2R \times 1/W$ とし、各点 13 匹で行なつての結果を補正したものが第 4 図である。

各曲線は $y_6 = 13.01x_6 - 14.10$

$y_3 = 12.56x_3 - 12.12$

$y_2 = 16.97x_2 - 18.06$

$y_1 = 12.77x_1 - 10.53$

但し y は X 日までの累積生存率の対数であり x は X の対数である。又右下の添字は 1 週間の分割回数を示す。

$y=5$ の時の x の値を m とすれば

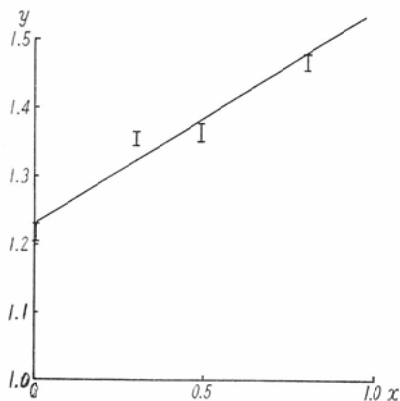
$m_6 = 1.4681 \pm 0.0083$

$m_3 = 1.3631 \pm 0.0095$

$m_2 = 1.3588 \pm 0.0076$

$m_1 = 1.2161 \pm 0.0110$

となる。

Fig. 5. The Relation between the log of Sd_{50} and the log of fractionating number in a week

このようにして得た m と分割回数の対数との関係を示しましたのが第 5 図であり、偶々この場合は直線の相関を得ることができ、その値は

$$y = 0.3119x + 1.2302$$

となつた、但し y は前式の m であり、 x は分割回数の対数である。

この図から第 5 表を求めることができる。このようにすれば Sd_{50} までの積分線量も求められるし、週 1 回照射に対する各分割照射の効果の比も求められる。

Table 5. Effect of Fraction

No. of irradiation in a week (N)	Sd_{50} (day) (T)	Radiation Dose for Sd_{50} (R)	Effect ratio (compared with N=1)
1	17.0	1517	1.00
2	21.1	1884	0.80
3	23.9	2133	0.71
4	29.7	2654	0.57

勿論マウスの致死効果を腫瘍の治療の指標にするが如きは厳につしむべきであるが、考え方の 1 つの指標とはなり得ると思う。

又この方法をタチオンの防禦効果について考察をした。

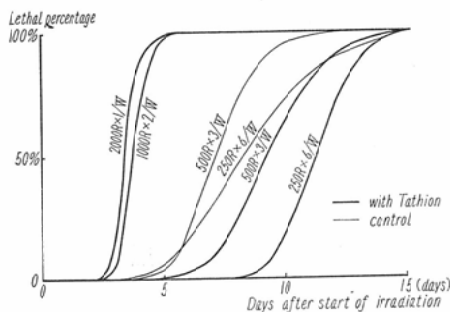
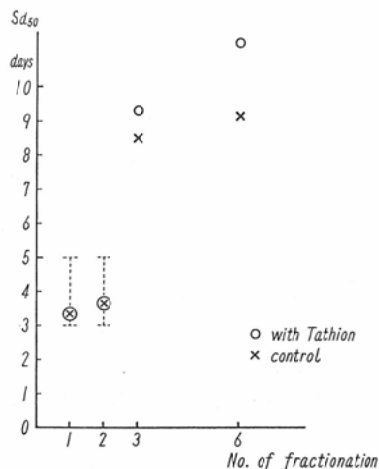
即ち照射線量は ^{60}Co γ 線で $2,000R$ 1 回、 $1,000R$ 2 回、 $500R$ 3 回、及び $250R$ 6 回を 1 週間に照射し、その後の死亡の経過を追跡した。各点は 32 匹とし、その内 16 匹はタチオン注入他の 16 匹は対象とし、計 128 匹を使用した。タチオンの注入量は夫々の線量によつて変え夫々各照射の直前に $100\text{mg}/\text{匹}$, $50\text{mg} \times 2/\text{匹}$, $30\text{mg} \times 3/\text{匹}$, $15\text{mg} \times 6/\text{匹}$ を 1 週間に注入した。

この結果は先の第 4 図に相当するものを第 6 図に示してあり、 $1,000R \times 2$ 以上の大線量の場合はタチオンの効果が見られなかつた。

この実験もタチオン注入の方法その他問題となる因子が多いが 1 つの考え方として分割を増す方がタチオンの効果が見られるとは云えるのではないかと思う。この様子を第 7 図に示す。

尚この場合 $1,000R \times 2$ 以上の群では、ほとん

Fig. 6. Effect of Tathion on fractionated irradiated mice

Fig. 7. Sd_{50} and the no. of fractionation

どすべてのマウスが或1日に死ぬために、日の単位で死亡率をとっていくと測定点が2又はそれ以下となり、推計処理ができなかつたのを、検定せずにそのまま利用した。したがってこの2点は推計学的には誤差の範囲を求められなかつたことを附加しておく。このような場合は数時間毎に死亡率をとって行えば測定点を増し、推計処理ができるようになると思う。

総括および考按

Sd_{50} の概念の検討をタチオンの放射線防禦効果の検定を中心に行つた。 Sd_{50} の検討とタチオンの放射線防禦効果の検討という2つの目的を同時に行つたためにやや系統的でないが止むを得ないと思われる。

このような推計方法についての批判は今後多いに受けるとしても、この検定法をもちいば先の実験で示された条件の下では少ない動物数でタチオンの放射線防禦効果を認めることができたという結論に達した。

すでに $LD_{50/30}$ によって種々の放射線効果を出した論文は非常に多いから、その実験結果の一部を利用してこのような検定を行ない、我々の考え方に批判を寄せられることを期待する。

稿を終るにあたり、宮川正教授の校閲を感謝する。又タチオンの提供を受けた山之内製薬に感謝する。

(尚本論文の要旨は昭和41年4月、第25回日本医学放射線学会総会において発表した)。

文 献

- 1) Akaboshi, S.: Recent progress on chemical protection in mammals against ionizing radiation. 第6回日本アイソトープ会議報文集 p. 770—784, 昭40, 日本原子力産業会議, 東京.
- 2) Chapman, W.H., Sipe, C.R., Eltholtz, D.C., Cronkite, E.P., and Chambers, F.W.: Sulphydryl containing agents and the effects of ionizing radiations. Radiology 55, 865—872, 1950.
- 3) 北村裕: X線照射のグルタチオン代謝に及ぼす影響について, 第一報, 第二報, 第三報, 日医放雑誌, 19, 2606—2638, 昭35.
- 4) 鳥居敏雄, 高橋暁正, 土肥一郎: 医学生物学のための推計学, p. 109—117, 昭36, 東京, 東京大学出版会.
- 5) 渡辺哲敏: X線並びに γ 線の生物学的効果比について, 日医放雑誌, 19, 461—476, 昭34.