



Title	急性放射線障害における taurine の意義について
Author(s)	阿部, 光幸
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1966, 26(5), p. 466-480
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/15963
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

急性放射線障害における taurine の意義について

京都大学医学部放射線医学教室（指導教授 福田 正）

阿 部 光 幸

（昭和40年12月24日受付）

Studies on the Significance of Taurine in Acute Radiation Injury

by

Mitsuyuki Abe

Department of Radiology, Kyoto University, Medical School

(Director: Prof. Dr. Masasi Fukuda)

In this experiment the relationship between the process of urinary excretion of taurine and the mortality-rate of mice was shown after irradiation with a sublethal dose.

From the 10th day after irradiation taurine excretion increased markedly. This increased excretion of taurine ran parallel with the increase in the mortality-rate of irradiated mice. This finding suggests that the loss of taurine in irradiated mice may have some important influence upon the radiation-induced death of mice.

Various doses of taurine were given to mice under various time factors. Its therapeutic effect in the sense of the increase in the survival-rate was observed when it was given from the 2nd post-irradiation day. The therapeutic effect of taurine was especially pronounced when it was given on the 4th day after irradiation. It is worthy of note that the amount of urinary excretion of taurine was minimum on the same day. This means that the therapeutic effect of taurine is most prominent if it is given when the taurine-level in the body reaches minimum.

It was also observed that the administration of taurine after irradiation promoted the recovery from radiation-induced leucopenia.

Many informations were given on the mechanism of the increased excretion of taurine after whole body irradiation.

From these informations it can be assumed that the initial increase in the urinary taurine is based upon the increase in the oxidation of SH groups, the block of taurine transformation and the release of taurine from lymphoid tissues, leucocytes and thrombocytes. The latest has an important meaning in radiation injury.

The decrease in taurine-level in the liver or muscle was little pronounced by irradiation, on the contrary the taurine content in the spleen decreased markedly from the 2nd day after irradiation.

The amount of incorporated taurine- S^{35} into the spleen was greater than that into the liver or muscle and the incorporated taurine- S^{35} into the spleen of irradiated mice was greater than that into the spleen of non-irradiated normal mice.

As it can be considered that taurine may play an important role for the maintenance of the structure

of lymphocytes, leucocytes and thrombocytes, the mechanism on the therapeutic effect of taurine may be tentatively assumed that the administration of taurine enhances the taurine level in lymphoid tissues, leucocytes and thrombocytes which loss taurine possibly because of the radiation-induced damage to the cell membranes.

目 次

第1章 放射線照射後の taurine 排泄増加の意義について	
第1節 緒言	
第2節 実験方法	
第3節 結果	
第4節 考按	
第2章 放射線照射後の taurine 排泄異常の機構に関する考察	
第1節 緒言	
第2節 放射線照射後3日迄の taurine 排泄増加の機構	
第1項 体内合成の増加	
第2項 排泄過程の障害	
第3項 taurine-transformation の阻止	
第4項 組織細胞の障害による taurine の放出	
第3節 4日以後9日迄の taurine 減少の機構	
第4節 10日以後の taurine 排泄量再増加の機構	
第3章 taurine の急性放射線障害に対する治療効果について	
第1節 緒言	
第2節 実験方法	
第3節 結果	
第4節 考按	
第4章 taurine の放射線障害に対する作用機構について	
第1節 緒言	
第2節 実験方法	
第1項 照射後の脾臓, 肝臓, 筋肉の taurine 含有量の変化	
第2項 taurine の体内摂取量	
第3項 taurine-S ³⁵ 投与後 S ³⁵ の脾臓, 肝臓, 筋肉内の経時的分布	
第4項 照射後の白血球減少に対する効果	
第3節 結果	
第4節 考按	
第1章 放射線照射後の taurine 排泄増加の意義について	
第1節 緒言	
放射線照射動物に認められる taurine の尿中排	

泄増加は生体に惹き起される生化学的変化の内, 低線量でしかも早期に認められる現象の一つである. ラツテでは75Rで既に taurine の排泄増加が認められ照射後第1日目に最高値に達する(1). 1954年 Kay, R.E. et al. (2) はラツテを照射すると, その尿中 taurine 排泄量が増加する事を始めて報告し, その後多くの学者によつて確認された(3) — (8). この現象は犬では不定であるが(9), マウス(10), 鶏(11), 兎(12), 人間(13) — (17)についても認められている. このように放射線照射後早期にしかも低線量で, 広い範囲の生物体に共通して認められる taurine 排泄増加が生体に如何なる意味を持つか, また如何なる機構で taurine の尿中排泄が増加するかを知る事は, 放射線障害の本質を理解する一つの手がかりになると考えられる. この実験ではマウスに sublethal dose を照射した時, taurine の排泄量の変化と死亡率の間に如何なる関係が認められるかを検討した.

第2節 実験方法

生後70日目の Freiburg 系雌マウス 100匹を用い10匹を1群として採尿ケージに入れ, 照射後15日間に亘つて taurine の排泄量を測定した. 照射方法は Fa. C.H.F. Müller, Hamburg, Typ M.G. 150を用い, 1回 690R (LD₅₀) 全身照射を行つた. 照射条件は管電圧 150KV, 管電流 20mA, 濾過板 0.43 mmCu, 半価層 0.87 mmCu, 線量率 148R/min. である.

taurine の定量は Kay, Harris and Entenman (18) の方法に従い, Schleicher und Schüll Nr. 2043の濾紙を用いて butanol. 酢酸・水(4:1:5)の展開溶媒で paper chromatography を行つた. 先ず24時間の尿量を測定し20分間2000×gで遠沈する. 濾過した尿を最初の尿量に従つて超微量注入器に吸い取り, 1回5μl 正確に濾紙に滴下する. 例えば尿量が15mlであれば濾過尿を

15 μ l とり 5 μ l ずつ乾燥させながら滴下する。上記の溶媒で14時間展開(上昇法)した後乾燥し、ninhydrin 溶液(100mg ninhydrin を20 ml の71% ethanol に溶かし 0.1ml の 1N NaOH を加える)を噴霧する。これを65°Cの乾燥器に入れ20分間乾燥すると紫色の斑点が得られる。taurine に相当する部分を切り取り、71% 5 ml の ethanol で抽出し、Beckman DU-Spektrophotometer 575 m μ の波長で測定する。taurine の Rf はこの条件で0.12である。この実験中のマウスの飼料は1 l milk+1 l H₂O+500 g 小麦+10ml 肝油で作ったものを与えた。この飼料を用いば水を別に与える必要がない。

第3節 結果

Fig. 1 に示す如く照射後第1日目に taurine 排泄量が最高値になり照射前値の約2倍に達する。2日目より次第に減少し、4日目には最低となる。それ以後9日目迄は taurine の排泄量が正常値よりやや低い値を示すが、10日以後再び著明に増加する。この taurine 排泄の増加とはほぼ平行してマウスの死亡率が増加する。次に照射後の尿量と taurine 濃度を調べると、尿量は照射後第1

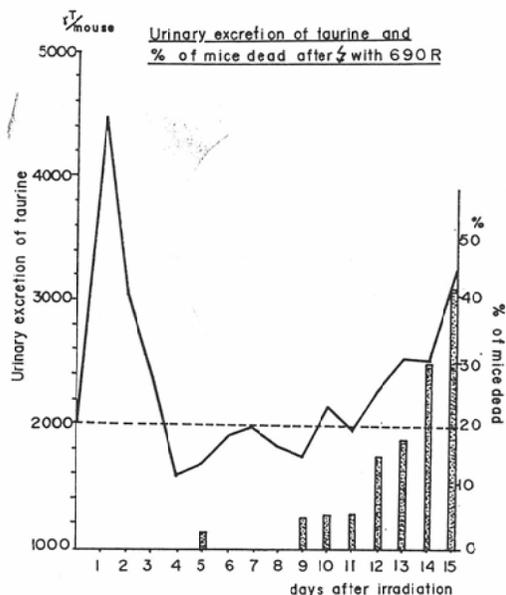


Fig. 1. Relationship between the urinary excretion of taurine and % death of irradiated mice.

日目に約 1.5倍増加するが、以後は常に正常値以下の値を示す。これに対し taurine の濃度は照射後4日迄は正常値の約 1.6倍、11日以後急激に増加し15日目は 2.3倍も増加する (Fig. 2)。

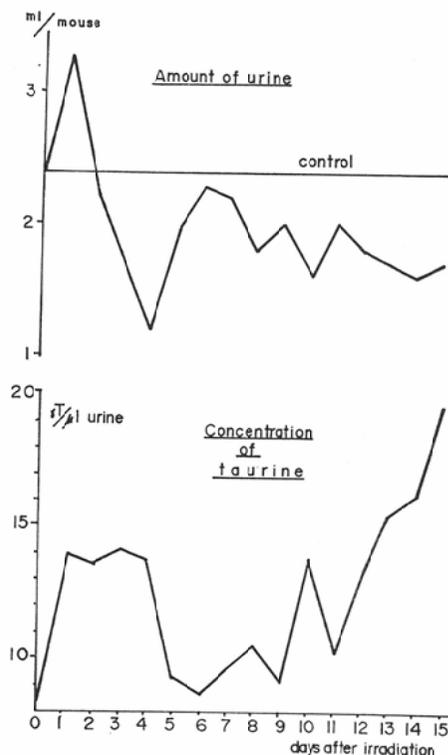


Fig. 2. Changes in the amount of urine and concentration of taurine after irradiation.

第4節 考按

照射後3日迄の taurine 排泄増加と10日以後の再増加の内容を検討すると、前者では尿量の排泄及び taurine 濃度がいずれも増加する結果生じたものであるが、後者の場合は尿量が減少しているにもかかわらず taurine 濃度が著しく増加する為に起きたものであり、両者の内容は本質的に異なつたものである。この10日以後の taurine 排泄増加とはほぼ平行してマウスの死亡率が上昇する事は注目すべき現象である。10日以後の taurine 排泄量の増加が放射線によるマウスの死の原因であるか或いは結果であるかは現在容易に決定出来ないが、マウスの放射線による死に重要な意味を持つ事は理解出来る。更に放射線照射後の taurine 排

泄量の増加が serotonin, histamine, 或いは pyridoxal-5-phosphate + 5' AMP の照射前投与で著明に抑制され (19) 生存率が増加する事から, 照射後の taurine 排泄異常は単なる放射線障害による生体反応の部分現象ではなく, 放射線による生体の死と関係を持つと考えられる。

第2章 放射線照射後の taurine 排泄異常の機構に関する考察

第1節 緒言

第1章で述べた照射後の taurine 排泄量の変化を次の3つの期間に分け, そのおのおのに考察を加える。

- 1) 照射後3日迄の taurine 排泄増加期
- 2) 4日以後9日迄の減少期
- 3) 10日以後の再増加期

第2節 放射線照射後3日迄の taurine 排泄増加の機構

taurine は動物組織の正常成分の一つで (20), (21), 組織中の taurine-pool は一定の割合で新しく合成された taurine で一部おきかえられている (22). 従つてその含有量は組織により異なるが常にはほぼ一定に保たれている (23) — (25). それ故 Fig. 3 に示した taurine の合成→排泄経過は常に一定の割合で調和を保つて進んでいると考えられるから, この経過のどの部分に障害が起きても排泄量の変化をもたらす事が想像される。そこで taurine 排泄増加を惹き起すと考えられる諸因子を Fig. 3 より列挙し, その各々について考察を加える。

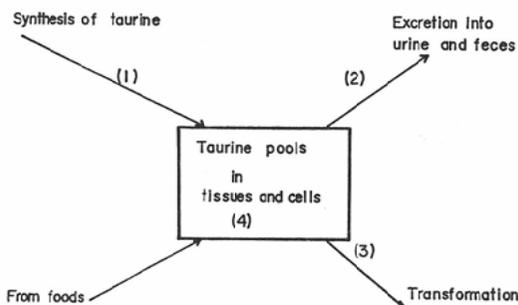


Fig. 3. Diagram of the synthesis and excretion of taurine in living organ.

第1項 体内合成の増加

体内 taurine の合成が増加するのは i) taurine の前駆物質が増加する場合と ii) taurine 合成に関与する酵素活性が亢進する場合が考えられる。

i) の場合について

taurine は SH 化合物の最終酸化代謝産物である (26), (27). Barron (28), (29) の研究により SH 化合物は特に放射線感受性が高く酸化されやすい事が知られているので, 動物に放射線を照射すると体内 SH group が容易に酸化され, その結果 taurine の前駆物質が多量に生成されると考えられる。Stern et al. (30) は SH 化合物の消費を惹き起す飼料 (Cholic acid feeding) で飼育したラツテを照射すると尿中 taurine 排泄増加が認められないことを報告している。これらの研究から, 照射後の taurine 排泄増加の原因を SH 化合物の放射線による酸化に求める事が出来る (7), (8), (31), (32). しかしこの考え方に不利な実験成績も多く出されている。第一に Barron の発表した SH 化合物が放射線感受性が高いと云う説はかならずしも正しくない。即ちもし SH 基が放射線により酸化されて S-S 或は SO_2 に変化するれば還元 glutathione や血中或は組織中の SH group が減少するはずである。しかしモルモットを用いた実験では還元 glutathione の減少は認められず, 又 Avena embryo を $4 \times 10^4 R$ 照射しても総 SH 化合物の量が減少しない (33). 又 Eldjarn et al. は in vitro における実験で SH を持つ酵素の放射線感受性はそれ程高くない事を示した (34). 第二に動物体内の SH 基が放射線で酸化されるとすれば sulfate の排泄量が増加するはずであるが, Kay (1) のラツテを用いた実験では sulfate-level が照射後上昇していない。従つて taurine が照射後多量に尿中に排泄される原因を SH 化合物の放射線による酸化だけで説明する事は出来ない。

ii) の場合について

現在迄 taurine 合成系に関与する酵素が放射線によつて活性化されると云う直接の証拠は発表されていない。最近 Fromageot et al. (23) により間接的に体内 taurine 合成が放射線によつて影響を受けない事が示された。

第2項 排泄過程の障害

糸球体で濾過された taurine の大部分は尿細管で再吸収される。従つてこの taurine の再吸収が放射線により障害されると尿中 taurine が増加するはずである。しかしこれは Kay et al. (6) の研究から否定出来る。即ち彼等はラツテを照射し ninhydrin に反応する物質の尿中及び plasma 濃度を調べたところ、照射後 taurine の plasma 濃度が増加する事を認めた。この事は taurine の再吸収が障害されない事を意味する。マウスに多量の β -alanine, asparagine, histidine, α -aminobutyric acid を注射すると taurine の尿中排泄量が増加する (35)。この原因はこれらの物質が尿細管の再吸収の過程で taurine と拮抗する為と考えられている。従つて放射線照射によつてこれらの物質が体内に増加すれば taurine の排泄が増加すると考えられる。しかし照射後これらの物質が体内に増加すると云う報告はない。又ラツテの腎臓を shield して照射しても taurine の排泄増加がおさえられず、腎臓のみを照射しても排泄量が増加しない事(36)から、放射線による腎臓機能障害が taurine の排泄増加の原因になつているとは考えられない。もう一つの taurine 排泄は galle を通じて行われる。Petersen (37) は S^{35} -taurine 注射後胆汁に排泄される S^{35} は照射により影響を受けない事、又非照射正常及び照射ラツテの肝臓内 taurocholate 合成能力に差を認めない事を示した。

以上の事から taurine の排泄増加の原因を照射による腎臓障害或は肝臓内 taurine 結合物の合成阻止に求める事は出来ない。

第3項 taurine の transformation が阻止された場合

Fig. 3 の (3) の過程が放射線によつて阻止されれば taurine が他の物質に変化されないののでその尿中排泄量は増加するはずである。

Portman (38), Schram (39) 等は taurine- S^{35} から S^{35} -sulfate が作られる事を見出した。

Fromageot (23) 等はラツテの腹腔内に taurine を注射すると taurine の尿中排泄量が増加すると同時に taurine に由来する S 化合物の量も増加するが、X線照射した場合は taurine の尿中排泄量は増加するが taurine に由来する S 化合物は逆に

低下する事を報告している。この事は放射線によつて taurine の transformation が阻害された事を意味する。更に彼はこの transformation は照射線量の増加と平行して阻止され、遂には完全に block されそれ以上線量を増加しても変化しなくなる、即ち transformation の曲線はある線量以上になると plateau に達する事を認めた。従つてもし照射後の taurine 排泄増加の原因が taurine の transformation の阻止によるものと考えれば、taurine の排泄量が 75R から線量と平行して増加し、250R で maximum に達しそれ以上線量を増加しても排泄量は上昇しないと云う Kay et al. (1) の研究結果をうまく説明する事が出来る。

第4項 組織細胞の障害による taurine の放出 taurine は生体組織に広く分布しているが (20), (21), (23) その総ての組織が放射線によつて一様に破壊され、その結果中に含まれている taurine が放出されるとは考えられない。何故なら照射後の taurine 排泄増加量に限界がある事、しかも 250R と云う可成低線量で飽和点に達すると云う現象(1)を説明出来ないからである。従つて照射後の taurine 排泄に関係する組織細胞は taurine の含有量が多くしかも放射線感受性が高いものに限られる。とすればリンパ組織が最も有力な taurine 放出源と考えられよう。Melching (40), Langendorff (41) 等は脾臓が照射後の taurine 排泄源として重要である事を指摘した。これに対し Pentz (8), Kay (1) 等は胸腺や脾臓を摘出して照射しても taurine の排泄量は増加する事を報告している。一方 Watson (32) は taurine がリンパ組織の破壊によつて生ずるとするならば、リンパ組織に対して放射線と類似した作用を有する cortisone を注射した時も同様に増加するであろうと考えて実験を行つた。その結果 cortisone でリンパ組織を破壊した時も taurine 排泄量が増加する事、又 cortisone で前処置すると照射しても最早 taurine の排泄増加が認められない事を明らかにした。その他 Kostos 等 (42) は cortisone の代りに colchicine を投与して同様の結果を得ている。従つて照射後の taurine 排泄増加の一原因にリンパ組織、白血球等の放射線感受性の高い

組織細胞からの放出が考えられる。

第3節 4日以後9日迄の taurine 減少の機構

Fig. 1 で示す如く、照射後4日目から9日迄は正常値以下の値をとる。この原因は先ず組織内 taurine が照射により放出された結果、体内 taurine pool 自体が減少した事が考えられる。次に考えられる事は taurine 合成の障害である。Fig. 4 は cysteine から taurine が作られる過程を示したものである。cysteine が cysteine sulfinic acid になりこれが更に taurine に変る所で vitamine B₆ の活性型である pyridoxal-5-phosphate が補酵素として働いている。B₆ が taurine 合成に重要な意味を持つ事は、B₆ の欠乏により taurine の排泄量が減少する事 (43), (24) から明らかである。しかるにこの pyridoxal-5-phosphate を補酵素とする或種の酵素は比較的放射線感受性が高い事が知られている (41)。例えば pyridoxal phosphate は decarboxylase の補酵素として関与しているが (44)、マウス肝臓内の芳香族アミノ酸の decarboxylase が放射線によつて容易に不活性化される事が証明された (45)。従つて cysteine sulfinic acid が脱炭酸され hypotaurine に変る所、及び cysteic acid が脱炭酸されて taurine に変る所 (Fig. 4 参照) が放射線により不活性化され cysteine からの taurine 合成が低下する可能性が考えられる。以上の考察から4日以後 taurine 排泄量が減少する原因は、照射直後体内 taurine pool からの taurine 放出によりその絶対量が減少する

為、更に taurine 合成が酵素の障害によつて低下する為と考えられる。

第4節 10日以後の taurine 排泄量再増加の機構

Fig. 2 から明らかな如く尿量は照射後1日目に約1.5倍に増加するが以後正常値以下となる。これに対して taurine の濃度は照射後常に正常値より高く特に10日以後は尿量が減少するのに反し急激に増加する。この事から組織細胞の壊死による taurine の放出が10日以後の taurine 排泄増加の原因になっていると考えられる。

第3章 taurine の急性放射線障害に対する治療効果について

第1節 緒言

放射線障害においては他の多くの疾患の病変部位が或特定の臓器及びそれに関連する組織に限局されるのに対し、生体のあらゆる部分が電離放射線の物理的エネルギーによつて障害を受ける為、それによつて惹き起される生体の代謝異常、病理変化が他の疾患とは比較にならぬ程複雑多岐に渡っている。従つて如何なる代謝異常が特に放射線障害と密接な関係を持つかを知る事が治療上極めて重要である。第1章及び第2章で放射線照射後の taurine 排泄異常は單なる放射線障害による生体反応の部分現象であるのではなく、放射線による生体の死に重要な意味を持つと考えられる事を述べた。serotonin, pyridoxal-5-phosphate, histamine を照射前に投与する事により taurine 排泄異

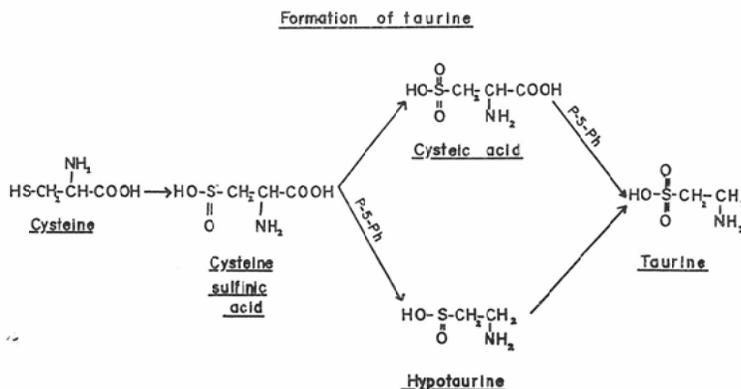


Fig. 4. Formation of taurine from cysteine.

常が改善される事 (19), (46) はこの考え方を一層有力なものにしている. この実験では taurine を照射前或は後の種々の時期に投与した時生存率に如何なる効果を及ぼすかを検討した.

第2節 実験方法

生後70日の雄 Hannover 系マウスを用い, 照射前1日目, 照射後1, 2, 3, 4, 5, 7 或いは9日目に taurine 1mg を 0.3ml の蒸留水に溶かし腹腔内に注射した. 次に taurine 2mg を同様に照射後2, 4 或いは6日目に注射し, 更に一群には1mg を照射後3, 4, 5, 6, 7 及び8日と6回連続注射しいずれも30日生存率を調べ最も有効な投与時期と方法を検討した. 使用動物の総数は535匹である. 照射方法は Fa. C.H.F. Müller, Hamburg, Typ M.G. 150を用い 590R 1回全身照射を行った. 照射条件は第1章第2節に記載したのと同じである. 次にマウスの系を変えた場合の taurine の効果を見る為 Freiburg 系雌マウスを用い, 始めに照射線量を一定にし (690R : LD_{50/30}) 照射後4日目に2, 5, 10 或いは 20mg の taurine を腹腔内に注射し最も有効な量を決めた. この結果20mg投与の場合最も生存率が高かったので (Tab. 2), 照射後1, 2, 3, 4 或いは5日目に taurine 20mg を注射し最も有効な投与時期を調べた. 又如何なる線量域で効果があるかを知る為 690R (LD_{50/30}), 640R (LD_{50/30}), 590R (LD_{42/30}) の異なる線量を照射しその各々の生存率を調べた. 照射方法及び条件はこの実験を通じて共通である. 使用動物数は総計1242匹で生後70日目のを使用した.

第3節 結果

Hannover 系マウスで行った実験から明らかなる如く (Fig. 5, Tab. 1) 照射前1日目及び照射後1日目, 3日目に taurine を投与した場合は生存率に変化が認められないが, 照射後2, 4, 5, 7 或いは9日目に投与した場合は生存率が約2倍に増加する. 特に4日目において最も著明で対照の35.6%に対し72.4%であった. 又1mg taurine を照射後3, 4, 5, 6, 7, 8日と連続注射した場合も生存率の増加が認められた. taurine 2mg を投与した時も照射後4日目が最も有効で対照の35.6

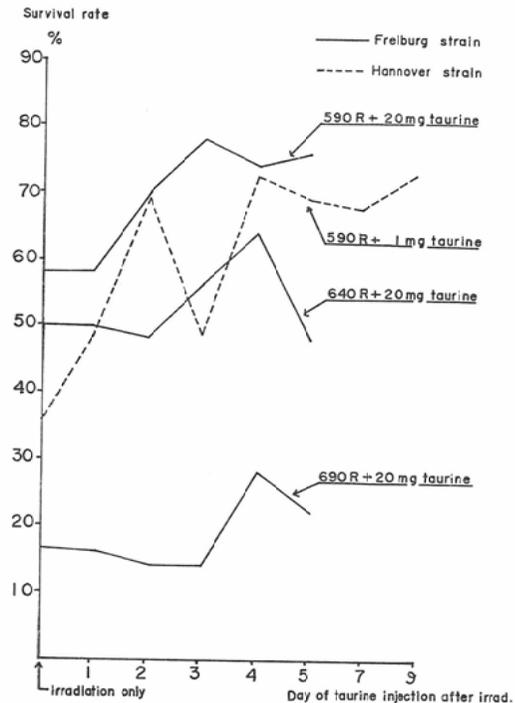


Fig. 5. Effect of taurine on the survival rate of irradiated mice. Therapeutic effect of taurine in the sense of an increase in the survival rate is most prominent when it is given on the 4th day after irradiation.

%に対し65.2%であった. 次に Freiburg 系のマウスを用いて行った実験では taurine の効果は Hannover 系マウスよりも低かったが, やはり4日目に投与した場合が最も効果的であり590R, 640R, 690Rのいずれの線量においてもほぼ同程度の生存率の増加が認められた (Fig. 5, Tab. 2).

第4節 考 按

この実験結果から taurine を照射前に投与したのでは効果がないが照射後投与した場合生存率を高める事, その効果は照射後4日目に投与した場合最も効果的である事が明らかになった (Fig. 5). こゝで特に興味がある点は, 照射後の taurine 尿中排泄量が最低になった時, 即ち照射後4日目に taurine を投与した時最も効果的だと云う事である. これは体内 taurine 含有量が最低になると考えられる時に taurine を投与した場合治療効果が最も良い事を意味する.

Tab. 1. Effect of taurine on the survival-rate of irradiated mice. (Hannover strain)

Taurine 1mg. i.p. injection	Survival-rate	P-value
1st day before irradiation with 590R	39.3% 11/28	0.2 — 0.1
1st day after " "	48.3% 14/29	0.3 — 0.2
2nd day after " "	69.0% 20/29	0.01— 0.001
3rd day after " "	48.2% 13/27	0.3 — 0.2
4th day after " "	72.4% 21/29	0.01— 0.001
5th day after " "	68.9% 20/29	0.01— 0.001
7th day after " "	67.9% 19/28	0.01— 0.001
9th day after " "	72.4% 21/29	0.01— 0.001
Taurine 1mg on the 3,4,5,6,7, and 8th days after irradiation with 590R	66.0% 33/50	0.01— 0.001
Taurine 2mg on the 2nd day after irradiation	44.0% 22/50	0.5 — 0.3
Taurine 2mg on the 4th day after irradiation	65.2% 64/98	P < 0.001
Taurine 2mg on the 6th day after irradiation	34.0% 17/50	0.9 — 0.8
Control: Irradiation with 590R without taurine	35.6% 21/59	

Tab. 2. Effect of taurine on the survival-rate of irradiated mice. (Freiburg strain)

Taurine injection on the 4th day after irradiation with 690R	Survival-rate	P-value
Without taurine (Control)	20.0% 10/50	
Taurine 2mg	26.5% 13/49	0.25— 0.2
Taurine 5mg	24.0% 12/50	0.35— 0.3
Taurine 10mg	32.6% 16/49	0.1—0.05
Taurine 20mg	41.7% 20/48	<0.01
Irradiation with 590R without taurine	58.0% 29/50	
Taurine 20mg 1 day after irradiation	58.0% 29/50	
" 2 days after "	70.0% 35/50	0.15—0.1
" 3 days after "	78.0% 39/50	0.05—0.025
" 4 days after "	74.0% 37/50	0.05—0.025
" 5 days after "	76.0% 38/50	0.05—0.025
Irradiation with 640R without taurine	50.0% 25/50	
Taurine 20mg 1 day after irradiation	50.0% 25/50	
" 2 days after "	48.0% 24/50	
" 3 days after "	56.0% 28/50	0.3 —0.25
" 4 days after "	64.0% 32/50	0.1 —0.05
" 5 days after "	48.0% 24/50	
Irradiation with 690R without taurine	16.4% 24/146	
Taurine 20mg 1 day after irradiation	16.0% 8/50	
" 2 days after "	14.0% 7/50	
" 3 days after "	14.0% 7/50	
" 4 days after "	28.0% 42/150	<0.0125
" 5 days after "	22.0% 11/50	0.2 —0.15

第4章 taurine の放射線障害に対する作用機構について

第1節 緒言

放射線照射による taurine の尿中排泄増加の機

構は第2章で述べた事から、1) SH化合物の放射線による酸化、2) taurine の transformation の阻害、3) リンパ組織からの放出の3つが考えられる。この内 1) 及び 2) は放射線障害という

面からは生体に重要な意味を持たないと考えられる。急性放射線障害におけるリンパ組織の重要性は、これ迄の多数の研究から明らかである。従つてリンパ組織からの taurine 放出は、生体に重大な影響を及ぼすであろうと考えられる。第3章で体内 taurine-level が最低になつた時 taurine を投与すると生存率が增加する事を述べた。この作用機構を調べる為に次の4つの問題を提起し、その各々について検討した。

1. 放射線により組織内 taurine-pool から taurine が放出されるが、如何なる組織から放出されやすいか。
2. taurine を腹腔内に注射した時生体全体或いは脾臓にどの程度吸収されるか。
3. taurine はどの臓器に取り込まれやすいか。
4. 白血球減少症に如何なる効果を及ぼすか。

第2節 実験方法

第1項 照射後の脾臓、肝臓、筋肉の taurine 含有量の変化

生後70日の dd 系雄マウス 105匹を用い、照射後6日迄の脾臓、肝臓、筋肉内 taurine 量の変動を調べた。照射方法はX線 630R を1回全身照射した。照射条件は管電圧 173KV, 管電流20mA, 濾過板 0.5mmAl+0.5mmCu, 線源動物間距離65cm, 線量率35 R/min., 1回の taurine 量測定のために用いたマウスの数は15匹である。臓器内 taurine の定量は次の如く行つた。15匹のマウスから脾臓、肝臓及び筋肉を摘出する。これを5匹ずつ分け直に氷でひやした1mlの ethanol 溶液に入れ臓器重量を測定する。homogenize し2.5mlの ethanol を加え10分間約6,000×gで遠沈する。上清をとり除蛋白する為 ethanol 4.5ml と diethyl ether 4.5ml を加え一夜放置する。次にこれを約10,000×gで遠沈し上清をとつて10mlの chloroform を加え分液漏斗に入れて良く振る。chloroform 層を捨て ether 10ml を加えてよく振る。約1時間放置し ether 層を捨てる。残りの部分を試験管にとり desiccator の中で乾燥する。これに71%の ethanol 0.5ml を加え、これを Schleicher und Schüll Nr. 2043b の paper chromatography 濾紙に滴下する。一次元を butanol・酢

酸・水 4:1:5 を展開溶媒として14時間展開する(上昇法)。これを70~80°Cで乾燥し次に2次元を phenol+buffer (100g phenol に6.3% Na₂HPO₄, 3.7% KH₂PO₄ 20ml を加える)を展開溶媒として14時間展開する(下降法)。乾燥後 ninhydrin 溶液を噴霧して発色させ taurine に相当する部分を切り取り71% ethanol 5ml で抽出し575m μ の Spektrophotometer で測定する。この方法で各臓器1g当りの taurine 含有量を計算し照射前の各臓器の taurine 量を10とし照射後の値はこれに対する相対値として plot した。

第2項 taurine の体内吸収量

生後70日の Freiburg 系雌マウス40匹を用い10匹ずつを一群として採尿ケージに入れる。照射後4日目に taurine 20mg/0.3ml 蒸留水を腹腔内に注射し5日目の尿中に排泄される taurine 量を測定し体内に吸収される taurine 量を推定した。照射方法は Fa. C.H.F. Müller, Hamburg, Typ M.G. 150を用い X線1回全身 690R 照射した。照射条件及び尿中 taurine 定量法は第1章の場合と同じである。次に照射後4日目に taurine 20mgを腹腔内に注射し5日目その脾臓を摘出して taurine 含有量を測定し、690Rのみを照射したマウスの5日目の脾臓内 taurine 含有量と比較する事により taurine がどの程度脾臓に吸収されるかを測定した。

第3項 taurine-S³⁵ 投与後 S³⁵ の脾臓、肝臓、筋肉内の経時的分布

dd 系雄マウスに X線 630R 照射し24時間後に taurine-S³⁵* を腹腔内に注射する。注射後6日目迄の脾臓、肝臓、筋肉内 S³⁵ 量を測定し非照射対照群のそれと比較した。taurine-S³⁵ (ca.10 μ Ci) を5mgの taurine に混ぜ0.3mlの蒸留水に溶かして注射する。S³⁵の定量は Pirie (47)の定量法に基く湿式酸化法を用いた。マウスを nembutal 麻酔下で断頭失血死せしめ臓器を貧血状態にし S³⁵ 臓器への分布に対する血液の影響を可及的避けた。照射条件は第4章第1項で述べたのと同じである。臓器1gにつき20mlの Pirie 試薬(A

* The Radiochemical Center, Amersham, England, Radioactive taurine-S³⁵ を用いた。

液3容とB液1容の混合液、但しA液は濃 HNO_3 3容+60% HClO_4 1容、B液はA液を硝酸銅で飽和したものを加え Kjeldahl 管に入れてパーナーで $200\sim 280^\circ\text{C}$ 、8~10時間加熱する。液量が多ければ過塩素酸を蒸発させる際に爆発の恐れがあるから更に試薬を追加し完全に有機物を酸化する。液の色調が青色透明になれば完全に有機物がなくなつた事がわかる。その後火を強くして HClO_4 を完全に追い出し蒸発乾固する。放冷後残渣を1N HCl 10 ml に溶かして再び加熱乾固する。これを蒸留水で良く洗い出して濾過する。濾液に benzidine 試薬 (0.1 M benzidine dihydrochloride in 0.4N HCl) 10 ml を攪拌しながら加える。10分間室温に放置すると白色沈澱が生ずる。沈澱量が少い時は carrier として Na_2SO_4 10 mg/ml 溶液1~2 ml を加え最終の試料厚が $2.5\sim 10.0$ mg/cm² になるようにする。次に acetone を25%になるように加え氷室に1夜置き沈澱を熟成させる。翌日沈澱を濾紙の上に集め最初に50% acetone 20 ml、ついで95% acetone 20 ml で洗浄した後あらかじめ秤量しておいた試料皿(神戸工業製 4.9cm²)にその沈澱を集め acetone 懸濁液として赤外線灯で溶媒を蒸発させ、均一な S^{35} -benzidine sulfate の層を作つて秤量する。上記試料を端密型ガスフローカウンター (Nuclear Chicago) で測定した。定量を行う上に必要な S^{35} -benzidine sulfate の自己吸収補正曲線を作成する為に種々の cpm の taurine- S^{35} を用いて試料皿上に種々の厚さの均一層を作つて測定した。使用動物数は1点15匹ずつである。

次に taurine が如何なる形で体内臓器に吸収されるかを調べる為、taurine- S^{35} をマウスの腹腔内に注射し注射後1日目に脾臓、肝臓、筋肉を摘出し第4章第2節第1項で述べた方法で2次元の paper chromatography を行つて actigraph (Nuclear Chicago) で放射能活性を調べた。actigraph の条件は slit $\frac{1}{8}$ inch, countrate range 150 cpm, time constant 40 sec, scan speed 6 inches/hour である。

第4項 照射後の白血球減少に対する効果

生後70日目の dd 系雄マウス60匹にX線 500R

を全身一回照射した後、これを2群にわけ1群を対照とし他の1群に照射後1日目より隔日に4回 1 mg taurine/ 0.3ml 蒸留水を腹腔内に注射して、照射後28日迄の白血球数の変動を比較した。大線量を照射するとマウスが死亡しその後の白血球数は放射線障害に生き残つた強力なマウスのものとなるから分析が困難である。従つて死亡しない程度で、かつ充分な白血球減少を起す線量として 500R を選んだ。照射条件は第4章第2節第1項と同様である。採血はマウスの尾端を鉗で切断して行つた。

第3節 結果

1. Fig. 6 から明らかな如く、照射後第1日目の脾臓、肝臓、筋肉中の taurine 含有量はいずれも正常値以上となるが、2日目からは減少し正常値以下となる。肝臓、筋肉中の taurine 含有量は余り大きな変動は見られず照射後6日目にはほぼ正常値に戻るが、脾臓内の taurine 含有量は減少し正常値の約70~85%を上下する。

2. 照射後4日目 taurine の尿中排泄量が最低

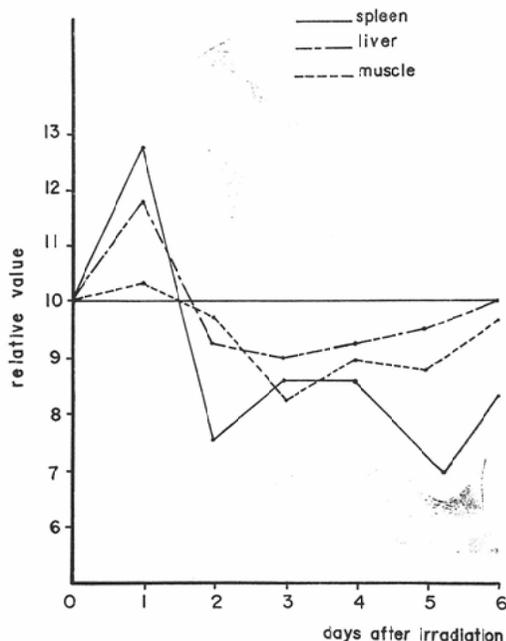


Fig. 6. Relative amount of taurine in the spleen, liver and muscle after irradiation. (Normal value: 10)

に達する時 taurine 20mgを腹腔内に注射し5日目の尿中 taurine 排泄量を測定すると14.1mgであった。このマウスの正常時における taurine の尿中排泄量の平均値が約2mgであるから約8mgの taurine が体内に吸収された事になる (Fig. 7)。即ち20mgの taurine を注射するとその40%が体内に吸収される。一方照射後5日目の脾臓1g中の taurine 量は796γであるが、照射後4日目に taurine 20mgを注射して5日目の脾臓中の含有量を測定すると1g当り2324γであるからこれは体内に吸収された taurine の約20%が脾臓に吸収された事を意味する (Tab. 3)。

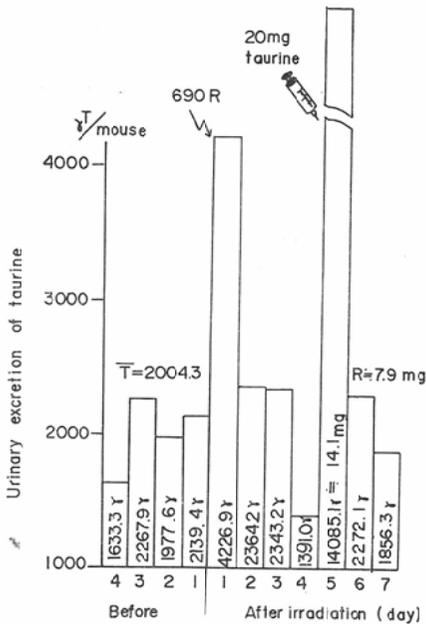


Fig. 7. Amount of taurine absorbed into irradiated mice after the administration of 20 mg taurine.

Tab. 3. Amount of taurine absorbed into the spleen of irradiated mice.

	Amount of taurine in spleen
690R	796γ/g spleen
690R+20mg taurine	2324γ/g spleen

Taurine was given on the 4th day after irradiation and measured on the 5th day after irradiation

3. Fig. 8, 9, 10は taurine-S³⁵ の脾臓, 肝臓, 筋肉内分布状態を示したものである。肝臓, 筋肉内への taurine-S³⁵ 吸収量は照射マウス, 非照射マウス共にほぼ同程度であるが, 脾臓の場合は照射後3日迄は照射マウスの脾臓の方が非照射正常マウスより多い。taurine-S³⁵ 注射後第1日目を見ると肝臓に最も多く取り込まれ (ca. 5000 cpm/g), 次に脾臓 (ca. 3800 cpm/g), 筋肉 (ca. 1100cpm/g) の順になる。しかし2日以後より肝臓内 taurine-S³⁵ 量は急激に減少し脾臓内 taurine-S³⁵ 量より低くなる。一方筋肉中の taurine-S³⁵ 量は注射後6日間を通じて殆んど変化がない。次に taurine が如何なる形で臓器に取り込まれるかを知る為に actigraph により S³⁵ 活性を測定したところ, taurine による spot に一致して放射能活性が認められ他の部分には全く認められなかった。これは taurine がそのままの形で組織に吸収される事を示している。

4. Fig. 11, Tab. 4 から明らかな如く, taurine は放射線照射後約1週間迄の白血球減少には効

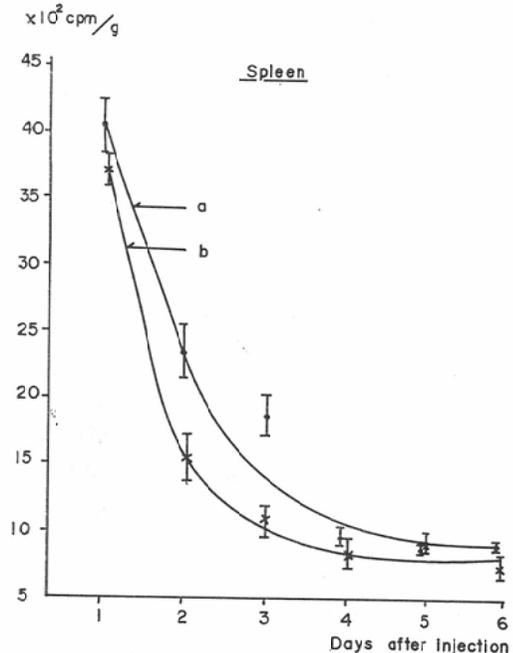


Fig. 8. Difference in the amount of absorbed taurine-S³⁵ into spleens of irradiated (a) and non-irradiated mice (b). Vertical line represents standard error.

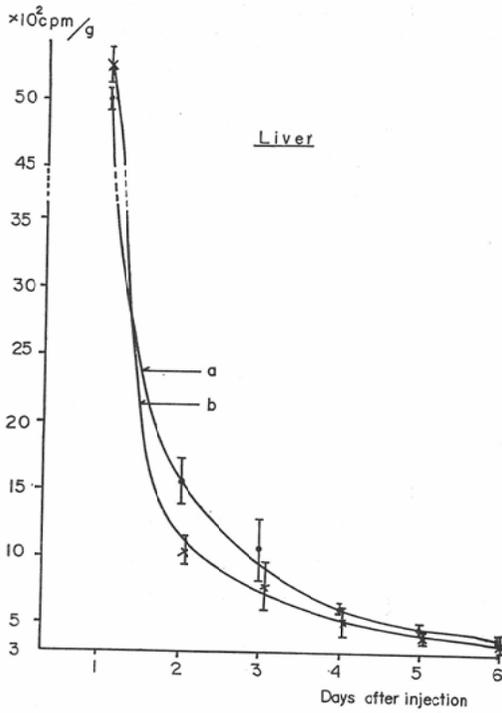


Fig. 9. Difference in the amount of absorbed taurine- S^{35} into livers of irradiated (a) and non-irradiated mice (b). Vertical line represents standard error.

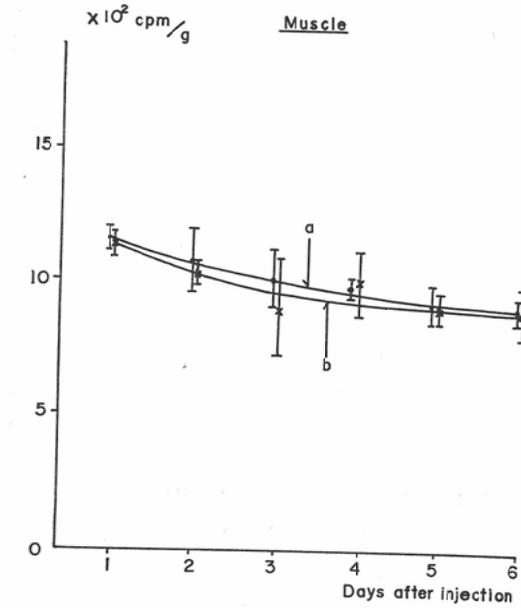


Fig. 10. Difference in the amount of absorbed taurine- S^{35} into muscles of irradiated (a) and non-irradiated mice (b). Vertical line represents standard error.

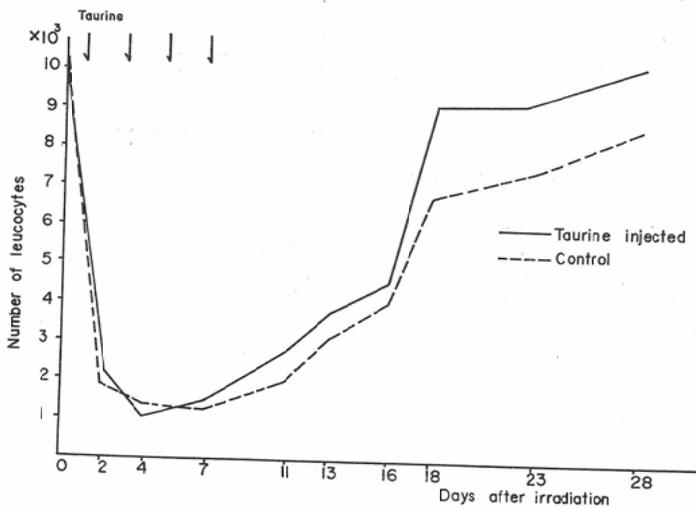


Fig. 11. Effect of taurine on the recovery of leucocytes after irradiation with 500 R.

Tab. 4. Effect of taurine on the recovery of leucocytes after irradiation with 500R.

Days after irradiation	Irradiated control (500R)		Taurine 1mg i.p. on the 1st, 3rd, 5th, and 7th days after irradiation	
	Number of leucocytes	Standard error	Number of leucocytes	Standard error
Before irradiation	11800	± 482	10700	± 295
2	1870	± 224	2450	± 321
4	1375	± 198	1050	± 149
7	1300	± 232	1570	± 392
11	2100	± 621	2700	± 431
13	3170	± 356	3700	± 521
16	4100	± 981	4430	± 827
18	6770	± 429	9230	± 512
23	7500	± 393	9260	± 281
28	8570	± 251	10100	± 315

果を及ぼさないが、その後の白血球数の回復を促進し照射後18日目にはほぼ正常値になる。これに対して対照群では白血球数の回復が遅延し、照射後28日に至つても照射前の白血球数迄は回復しない。

第4節 考 按

放射線照射後の肝臓及び筋肉内 taurine 含有量は脾臓のそれに比較すると変動が少く、6日目にはほぼ正常に復する。これに反して脾臓内 taurine 含有量は照射後2日より減少し6日目になつても正常値よりも約15%低い。この事は脾臓内 taurine が肝臓或は筋肉に比較して放射線により容易に放出される事を示している。従つて照射後の尿中 taurine 排泄の増加源に脾臓内 taurine-pool が関与すると考えられる。照射後第1日目には Fig. 6 が示す如く、どの組織中の taurine 量も増加する。この原因は恐らく蛋白分解酵素が放射線により活性化される為(48)組織内蛋白の分解が促進され、その自由アミノ酸が増加する事によるものと考えられる。興味深い事は taurine-S³⁵ を用いた実験で、照射及び非照射マウスの肝臓及び筋肉への取り込みに差が認められないのに対し、照射マウスの脾臓への取り込みは、非照射マウスの脾臓への取り込みより多いと云う事、しかもこの3つの組織内 taurine-S³⁵ 残留量を比較すると脾臓が一番多いと云う事である。この事から放射線照射によつて失なわれた脾臓内 taurine が注射された taurine により可成選択的に補充される事が推察される。これ迄はリンパ組織に対する taurine

の回復作用について論じたが、白血球減少に対する回復効果から同じような作用が白血球についても起きているのではないかと考えられる。と云うのは電解質濃度の調整と膜電位を正常に保つに必要な Na-pump 及び細胞内の energy rich phosphate が放射線により障害され(49), (50), 又細胞膜の透過性も変化するから(51), 細胞構造が障害され、その中に含まれる taurine が放出されると考えられるからである。Soupart (52)の研究によると白血球、血小板内の遊離アミノ酸、特に taurine 量は plasma 或いは赤血球内の量より数百倍も多く体内細胞の総 taurine 量の25%にも達すると云う。このように多量の taurine が白血球或いは血小板に含まれている事は taurine がこれらの細胞構造を正常に保つ上に重要な役割を演じていると考えねばならない。Ehrlich 腹水癌細胞を用いた実験では taurine の取り込みは培養液中の taurine 濃度に依存する事が知られている(53)。現在白血球或いはリンパ球の taurine を取り込む Kinetics は明らかにされていないが恐らく同じような現象が起きている事が予想される。従つて taurine 投与によつて照射後の白血球数の回復が促進されるのは放射線によつて失なわれた taurine が補充され、リンパ組織、白血球、骨髓細胞内の taurine-level が高められる事により細胞構造が再び改善される為であろうと考えられる。

附記 この研究の一部は西ドイツ Freiburg 大学の Radiologisches Institut で行なわれたものである。Prof-

Langendorff の御援助に深く感謝致します。

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜りました福田正教授に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) Kay, R.E., Early, J.C., Entenman, C.: Increased urinary excretion of taurine and urea by rats after X-irradiation *Rad. Res.* 6 (1957), 98.
- 2) Kay, R.E., Entenman, C.: Free aminoacids in the tissues and urine of the X-irradiated rat *Fed. Proc.* 13 (1954), 520.
- 3) Mefford, R.B., Mortens, H.H.: Excretion patterns of rats following total body exposure X-irradiation *Science* 122 (1955), 829.
- 4) Aebi, H., Bernays, L., Fluckiger, H., Schmidli, B., Zuppinger, A.: Die Taurinausscheidung röntgen- und bestrahlter Ratten. *Helv. Physiol. Pharmacol. Acta* 12 (1955), c 49.
- 5) Aebi, H.: Der Taurinstoffwechsel und seine Beeinflussung durch Bestrahlung. *Bull. Schweiz, Akad. Med. Wiss.* 12 (1956), 236.
- 6) Kay, R.E., Harris, D.C., Entenman, C.: Urinary excretion and plasma level of free ninhydrin reactive compounds in X-irradiated rats *Amer. J. Physiol.* 186 (1956), 175.
- 7) Aebi, H., Lauber, K., Schmidli, B., Zuppinger, A.: Die Wirkung ionisierender Strahlen auf die Taurinausscheidung der Ratte *Biochem. Z.* 328 (1957), 391.
- 8) Pentz, E.J.: Factors influencing the excretion of taurine in irradiated rats with particular reference to the adrenal glands *J. Biol. Chem.* 231 (1958), 165.
- 9) Kozalka, R.T., Bowerman, C.J., Hempelmann, L.H.: Urinary and plasma amino nitrogen in irradiated dogs *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 89 (1955), 662.
- 10) Melching, H.J., Messerschmidt, O., Streffer, C.: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz Über die Bedeutung der Milz beim Strahlenschaden Strahlentherapie 114 (1961), 179.
- 11) Katz, E.J., Powers, E.L.: Plasma aminoacid changes during development of X-irradiated chick embryos Argonne National Laboratory Quarterly Report of Biological and Medical Research Division, July, 1955.
- 12) Angel, C.R., Noonan, T.R.: Urinary taurine excretion and the partition of sulfur in four species of mammals after whole-body-X-irradiation *Rad. Res.* 15 (1961), 298.
- 13) Hempelmann, L.H., Lisco, H., Hoffman, J.G.: The acute radiation syndrome: A study of nine cases and a review of the problem *Ann. Intern. Med.* 36 (1952), 279.
- 14) Katz, E.J., Hasterlik, R.J.: Aminoaciduria following total body irradiation in the human *J. Nat. Cancer Inst.* 15 (1955), 1085.
- 15) Andrews, G.A., Sitterson, B.W., Kretchmar, A.L., Brucer, M.: Accidental radiation excursion at the Oak Ridge Y-12 Plant Health *Physics* 2 (1959), 134.
- 16) Sarnecka-Keller, M., Jorasz, E., Noworytko, J.: Aminoaciduria in X-ray-treated patients *Polskic. Arch. Med. Wewnetrznej.* 29 (1959), 1521. *Chem. Atstr.* 55 (1961), 2758.
- 17) Bigwood, E., Soupart, P.: *Proc. Symp. Biol. Effects Ioniz. Rad. Brno*, (1962), 277.
- 18) Kay, R.E., Harris, D.C., Entenman, C.: Quantification of the ninhydrin color reaction as applied to paper chromatography *Arch. Biochem. Biophys.* 63 (1956), 14.
- 19) Melching, H.J.: Grundlagen des biologisch-chemischen Strahlenschutzes *Der Radiologe* 2. Jahrgang, Heft 10 (1962), 379.
- 20) Frendo, J., Alexander Koj, Zgliczynski, J. M.: Taurine in human blood platelets *Nature* 183 (1959), 685.
- 21) Awapara, J.: The taurine concentration of organs from fed and fasted rats *J. Biol. Chem.* 218 (1956), 571.
- 22) Awapara, J., Mauz, N.: Absorption of injected taurine-S³⁵ by rat organs *J. Biol. Chem.* 225 (1957), 877.
- 23) Fromageot, P., Boquet, P.L.: Über den Ursprung der erhöhten Taurinausscheidung im Urin bestrahlter Ratten *Strahlenschutz in Forschung und Praxis*, 199 (1964), Verlag Rombach Freiburg im Breisgau.
- 24) Nyffenegger, E., Lauber, K., Aebi, H.: Die Taurinausscheidung normaler und B₆ avitaminotischer Ratten nach Ganzkörperbestrahlung *Biochem. Z.* 333 (1960), 226.
- 25) Awapara, J.: Tissue weights of the rat. II Changes following 700 r total body X-irradiation *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 91(1956), 126.
- 26) Eldjarn, L., Nygaard, O.: Comments on methods in biological work with S-35-labeled compounds *Scandinav. J. Clin. & Lab. Invest.* 6 (1954), 160.
- 27) Fromageot, C.: Oxidation of organic sulfur in animals *Advances in Enzymology* 7(1947), 369.
- 28) Barron, E.S.G., Kickman, S.: Studies on mechanism of action of ionizing radiations; inhibition of sulfhydryl enzymes by alpha,

- beta and gamma rays *J. Gen. Physiol.* 32 (1949), 595.
- 29) Barron, E.S.G., Flood, V.: Studies on mechanism of action of ionizing radiations; Oxidation of thiols by ionizing radiations *J. Gen. Physiol.* 33 (1950), 229.
- 30) Stern, D.N., Stim, E.M.: Sources of excess taurine excreted in rats following whole body irradiation *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 101 (1959), 125.
- 31) Sörbo, B.: Conversion of S^{35} -L-Cysteine to taurine and sulfate in the normal and irradiated rat *Acta Radiol.* 58 (1962), 186.
- 32) Watson, G.M.: The origin of taurine excreted in the urine after whole-body irradiation *Int. J. Rad. Biol.* 5 (1962), 79.
- 33) Bacq, Z.M., Alexander, P.: *Fundamentals of Radiobiology*, Pergamon Press, 1961.
- 34) Pihl, A., Lange, R., Eldjarn, L.: Alleged susceptibility of sulfhydryl enzymes to ionizing radiation *Nature* 182 (1958), 1732.
- 35) Gilbert, J.B., Ku, Y., Rogers, L.L., Williams, R.J.: The increase in urinary taurine after intraperitoneal administration of aminoacids to the mouse *J. Biol. Chem.* 235 (1960), 1055.
- 36) Kay, R.E., Entenman, C.: The effect of multiple exposures and partial body X-irradiation on urinary taurine excretion by the rat *Rad. Res.* 11 (1959), 357.
- 37) Petersen, D.F., Gould, R.G.: L.A.M.S. Rapport No. 2445 (1959), 11.
- 38) Portman, O.W., Mann, G.V.: The disposition of taurine- S^{35} and taurocholate- S^{35} in the rat. Dietary influences *J. Biol. Chem.* 213 (1955), 733.
- 39) Schram, E., Crokaert, R.: Etude du métabolisme de la taurine chez le rat Formation de sulfate *Biophys. et biochem. Acta* 26 (1957), 300.
- 40) Melching, H.J., Messerschmidt, O., Streffer, C., Shibata, K.: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. Der therapeutische Einfluss der Splenektomie auf dem Strahlenschaden *Strahlentherapie* 116 (1961), 395.
- 41) Langendorff, H., Streffer, C., Melching, H. J.: Der Gehalt an freien Aminosäuren in Milzgewebe von Mäusen nach Ganzkörperbestrahlung *Strahlentherapie* 124 (1964), 445.
- 42) Kostos, V., Kocsis, J.J.: Effect of colchicine on taurine excretion *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 659 (1961), 106.
- 43) Bluschko, H., Datta, S.P., Harris, H.: A chromatographic investigation of taurine metabolism in normal and pyridoxine deficient rats *Proc. Biochem. Soc. Lond. Annual General Meeting 27 Mar. in Biochem. J., Lond.* 2 (1953), 54.
- 44) *Die Vitamine Roche* 1960.
- 45) Langendorff, H., Hagen, U.: Die Wirkung einer Röntgenbestrahlung auf die Aktivität der 5-Hydroxytryptophan-Dekarboxylase *Naturwissenschaften* 50 (1963), 665.
- 46) Langendorff, H., Melching, H.J., Streffer, C.: Der Einfluss des 5-Hydroxytryptamin auf strahlenbedingte Veränderungen des Aminosäurestoffwechsels *Strahlentherapie* 116 (1961), 1.
- 47) Pirie, N.W.: Studies in the sulphur metabolism of the dog. The metabolism of methionine and related sulphides *Biochem. J.* 26 (1932), 2041.
- 48) Hagen, U.: *Habil.-Shr. Freiburg* 1961.
- 49) Bresciani, F., Auricchio, F., Fiore, C.: Mechanism of X-ray inhibition of the sodium pump in human erythrocytes *Nature* 196 (1962), 186.
- 50) Maass, H.: Das Verhalten der Adeninnukleotide nach Ganzkörperbestrahlung von Ratten *Strahlentherapie* 112 (1960), 79.
- 51) Srb, V.: Immediate and short-term changes in cell permeability after X-irradiation *Rad. Res.* 21 (1964), 308.
- 52) Soupart, P.: *Proc. Conf. on Aminoacid pools, Calif.* 1961.
- 53) Kromphardt, H.: Die Aufnahme von Taurine in Ehrlich-Ascites-Tumorzellen *Biochem. Z.* 339 (1963), 233.