

Title	放射線障害に対する Vitamine B6 の治療効果とその作用機構
Author(s)	阿部, 光幸; 高橋, 正治
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1966, 26(7), p. 903-909
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/16468">https://hdl.handle.net/11094/16468</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

放射線障害に対する Vitamine B<sub>6</sub> の治療効果とその作用機構

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  
高橋 正 治

(昭和41年 1月27日受付)

Therapeutic Effect of Vitamine B<sub>6</sub> on the Radiation Injury and its Mechanism

by

Mitsuyuki Abe and Masaji Takahashi

Department of Radiology, Kyoto University, Medical School

(Director: Prof. Dr. Masashi Fukuda)

The administration of 6 mg of pyridoxine 10 times at 2 day intervals after irradiation increased significantly a survival-rate of irradiated mice.

However, no therapeutic effect in the sense of an increase in the survival-rate could be observed when pyridoxine or pyridoxal-5-phosphate was given 5 min after irradiation.

The mortality-rate was increased by the administration of deoxypyridoxine hydrochloride after irradiation which induces a deficiency of pyridoxine in mammalian species.

Recovery from radiation-induced leucopenia was promoted as compared with untreated mice when pyridoxal-5-phosphate or pyridoxine was given after irradiation, although an initial decrease in leucocytes could not be prevented.

Urinary excretion of xanthurenic acid was shown to increase markedly in irradiated mice.

However, the increased amount of urinary xanthurenic acid was effectively diminished when pyridoxine was given 3 times every other day after irradiation.

The therapeutic mechanism of pyridoxine may be tentatively assumed that it improves the radiation-induced metabolic disturbances in living organs.

## 緒 言

マウスの Tryptophan 代謝は放射線照射によつて著しい変化を受ける<sup>1)</sup>。照射後 Tryptophan 及びその代謝産物である Kynurenine を投与することにより Tryptophan 代謝異常を一層増強すると死亡率が著明に増加することから、放射線照射によつて惹きおこされる種々の代謝異常のうち、Tryptophan 代謝異常は放射線障害の面から重要であることを報告した<sup>2)3)</sup>。この Tryptophan 代謝異常の原因は Pyridoxal-5-phosphate (P-5-ph) を

補酵素として必要とする酵素が放射線により容易に不活性化され<sup>4)5)</sup>、これが Fig. 1 に示す如く Tryptophan 代謝系に広く関与するためと考えられる。

現在迄 B<sub>6</sub> 複合体、特にその活性型である P-5-ph (Fig. 2) が補酵素として関与する酵素は20種類以上知られている。これ等の酵素はアミノ酸、脂肪、炭水化物代謝に広く関与するから<sup>6)</sup>、B<sub>6</sub> 複合体が放射線被曝によつて惹き起こされる生体の代謝異常に重要な位置を占めることは明らかである。

\*1 4-Deoxypyridoxine, Isoniazid はいずれも人間或は哺乳動物に B<sub>6</sub> 欠乏症を惹きおこす<sup>12)13)</sup>。

\*2 B<sub>6</sub> として Pyridoxine hydrochloride を用いた。

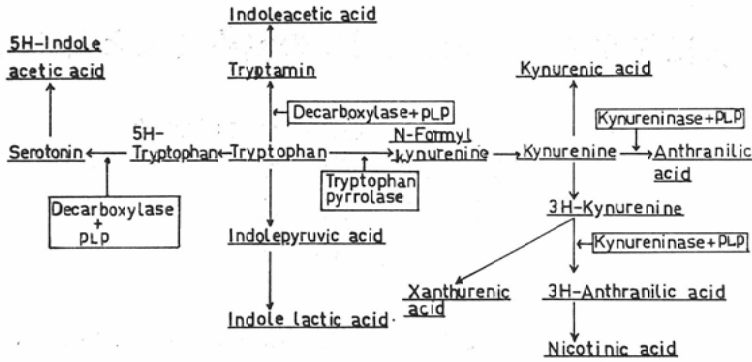


Fig. 1 Tryptophan metabolism

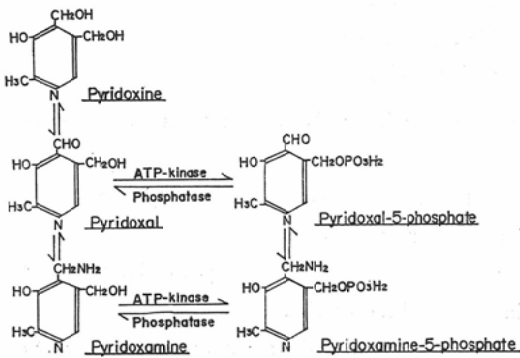


Fig. 2 Metabolism of vitamin B<sub>6</sub>

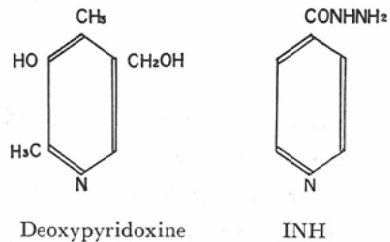


Fig. 3 Analogy between Deoxypyridoxine and INH

る。放射線宿酔の発生には Histamine 及びその類似物質<sup>7)</sup>、或は自律神経系の失調<sup>8)</sup>等が複雑に関係するために、その本質を理解することは極めて困難である。注目すべきことは放射線照射動物の尿中 Xanthurenic acid が著明に増加し<sup>1)9)</sup>、一方放射線宿酔と臨床症状の類似する妊娠悪心の時も尿中 Xanthurenic acid が増加すること、しかもこれは Tryptophan を負荷することにより一層著明になり、B<sub>6</sub> を投与することにより減少<sup>10)</sup>し症状が軽快する<sup>11)</sup>ということである。このことは放射線宿酔の原因に B<sub>6</sub> 複合体を補酵素とする酵素系の障害にもとづく Tryptophan 代謝異常が関与することを暗示している。以上の考察から B<sub>6</sub> 或は P-5-ph を照射後投与した場合治療効果が得られるか否かということが問題になる。この実験では B<sub>6</sub> 或は P-5-ph を照射後投与した時、生存率、血球数及び尿中 Xanthurenic acid に如何なる影響を及ぼすか、次に B<sub>6</sub> の拮抗物質である

Deoxypyridoxine hydrochloride 及びこれと類似の化学構造を有し Pyridoxal と結合してHydrazone を作ることにより Pyridoxal を不活化すると考えられる Isoniazid (Fig. 3) を照射後投与し B<sub>6</sub> 欠乏状態を増強した時、生存率に如何なる効果を及ぼすかを調べた。

実験方法

(A) 先づ B<sub>6</sub> 及び P-5-ph に関し、次の3項目について調べた。

I 生存率に及ぼす効果

dd 系雄マウス生後70日目 166匹を用い、次の4群に分けた。

1. B<sub>6</sub> 6 mg/ 0.3ml 蒸溜水/マウス 照射直後 i.p. 注射
2. B<sub>6</sub> 6 mg/ 0.3ml 蒸溜水/マウス 照射直後から2日おきに10回 i.p. 注射
3. P-5-ph 3 mg/ 0.3ml 蒸溜水/マウス 照射直後 i.p., 注射
4. 照射対照群

照射方法はX線 550R 1回全身照射。照射条件

は管電圧 190kV, 管電流 20mA, 濾過板 0.5 mm Cu+0.5 mmAl, 線源動物間距離 65cm, 線量率 35 R/min.

**II. 血球数に及ぼす効果**

dd 系雄マウス生後60日目 120匹をIと同様の4群に分け 550R 1回全身照射し, 照射後22日迄の赤血球数及び白血球数の変動を調べた. 照射条件はIと同じで, 採血はマウスの尾端を鉋で切断して行なった.

**III. 尿中 Xanthurenic acid 排泄量に及ぼす効果**

dd 系雄マウス生後70日目40匹をX線 550R 1回全身照射し, これを2群に分け, 1群に B<sub>6</sub> 6mg を照射後第1日目より隔日に3回 i.p. 注射し他群を対照とした. 照射7日前にマウスを採尿用ケージに入れ, 初めの3日間の尿は環境の変化による stress のため変動するので捨て, 4日目から4日間尿中の Xanthurenic acid の排泄量を測定し, その平均値を以つて正常値とした.

Xanthurenic acid の測定は Rosen et al.<sup>14)</sup> の方法に基づいて行なった. 各群(1群10匹)の24時間の尿量を測定し, pH 7.3-7.5に調整した後遠沈(3000×g, 20分)濾過する. この濾過尿 1ml に 0.1M Tris-acetate buffer 4ml を加えて稀釈し全量を 5ml にする. これに 1.0% Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 0.1ml を加え10秒間振盪し, 直ちに緑色に発色した Fe-Xanthurenic acid-complex を光電比色計(波長 620mμ)で測定する. なお, 純粹の Xanthurenic acid 溶液を 10μg/ml, 30μg/ml

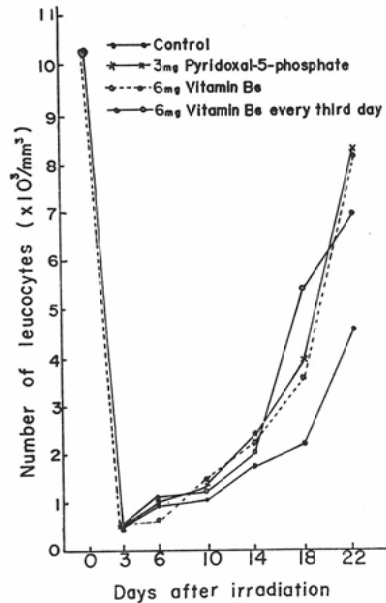


Fig. 4 Effect of B<sub>6</sub> and p-5-ph on leucocytes after irradiation with 550R.

- 6mg of pyridoxine i.p. 5min. after irradiation.
- 6mg of pyridoxine i.p. 10times at two day intervals after irradiation.
- ×—×—×—×— 3mg of p-5-ph 5min. after irradiation.

ml になるように濾過尿に加え, その% recoveryを同様の方法で測定した.

**(B) 次に Deoxypyridoxine hydrochloride 及び Isoniazid について次の実験を行つた.**

1. Deoxypyridoxine hydrochloride 4 mg を 0.3 ml の蒸溜水に溶かし, 照射前15分, 或は照射後

Tab. 1 Effect of B<sub>6</sub> and pyridoxal-5-phosphate on the mortality-rate of irradiated mice.

Treatment	Number of animals	% Mortality	P value
B <sub>6</sub> 6mg 5min. after irradiation	40	37.5	0.2—0.25
B <sub>6</sub> 6mg 10times at 2 day intervals after irradiation	47	25.5	0.01—0.0125
Pyridoxal-5-phosphate 3mg 5min. after irradiation	40	37.5	0.2—0.25
Untreated control	39	48.8	

Tab. 2 Effect of vitamine B<sub>6</sub> and p-5-ph on the peripheral blood cells after irradiation with 550R.

Days after irradiation	Number of leucocytes			
	6mg B <sub>6</sub> 5min. after irradiation	6mg B <sub>6</sub> 10times at 2day intervals after irradiation	3mg p-5-ph 5min. after irradiation	Untreated control
0	10251 ± 468	10251 ± 468	10251 ± 468	10251 ± 468
3	500 ± 34	420 ± 64	480 ± 46	430 ± 37
6	637 ± 24	960 ± 150	980 ± 240	964 ± 97
10	1433 ± 392	1217 ± 244	1333 ± 289	1050 ± 200
14	2225 ± 121	2025 ± 375	2350 ± 600	1775 ± 175
18	3675 ± 325	5400 ± 243	3917 ± 715	2200 ± 222
22	8125 ± 225	6950 ± 310	8250 ± 302	4550 ± 108

Number of erythrocytes (X 10<sup>4</sup>)

Days after irradiation	Number of erythrocytes (X 10 <sup>4</sup> )			
	6mg B <sub>6</sub> 5min. after irradiation	6mg B <sub>6</sub> 10times at 2day intervals after irradiation	3mg p-5-ph 5min. after irradiation	Untreated control
0	831 ± 22	831 ± 22	831 ± 22	831 ± 22
3	838 ± 69	821 ± 64	903 ± 52	851 ± 58
6	770 ± 38	831 ± 49	801 ± 57	912 ± 73
10	570 ± 61	600 ± 35	623 ± 71	581 ± 21
14	812 ± 25	600 ± 12	710 ± 9	389 ± 22
18	791 ± 19	782 ± 33	806 ± 33	339 ± 49
22	652 ± 11	737 ± 45	828 ± 40	452 ± 62

15分, 2, 4, 6 日目にマウスの腹腔内に注射する.

2. Deoxypyridoxine hydrochloride 2 mg を照射前 5 日間, 毎日 1 回腹腔内に注射する.

3. Isoniazid 3mg を 0.3ml の蒸留水に溶かし照射 16 時間前, 或は照射後 15 分, 2 日, 4 日, 6 日目にマウスの腹腔内に注射する.

4. Isoniazid 3 mg を照射前 5 日間, 毎日腹腔内に注射する.

いずれの場合も注射液の pH を 7 に調整する.

Isoniazid を照射前 16 時間に注射する理由はその時に血液濃度が最高に達するからである. 使用動物は Hannover 系雄マウス生後 60 日~70 日目で各群約 50 匹づつである. 照射方法は 505 R 1 回全身照射, 照射条件は電圧 150kV, 電流 20mA, 濾過板 0.43 mmCu, 線源動物間距離 30 cm, 線量率 148 R/min, 半価層 0.87mmCu である.

### 結 果

(A) I. 対照群の死亡率 48.8% に対し, B<sub>6</sub> を 2 日おきに注射した群のそれは 25.5% で有効 (0.01 < p < 0.0125) であった. これに対し Pyri-

Tab. 3 Effect of vitamine B<sub>6</sub> on the urinary excretion of xanthurenic acid after irradiation with 550R.

Days after irradiation	Administration of 6mg B <sub>6</sub> 3times every other day after irradiation	Untreated control
0	122.2 ( $\gamma$ /day/mouse)	122.2 ( $\gamma$ /day/mouse)
2	174.9	231.6
4	148.5	178.2
5	125.6	197.4
6	125.7	152.6
7	96.5	152.0
8	78.1	142.4
9	108.5	186.3
10	152.8	205.2
11	147.9	181.0
12	123.1	204.4

doxal-5-phosphate, 或は B<sub>6</sub> を照射直後 1 回投与した群の死亡率はいずれも 37.5% で無効であった (Tab. 1).

II. 放射線照射後, 白血球数は急激に減少し, これに対して B<sub>6</sub> 或は P-5-ph の効果が認められ

Tab. 4 Effect of deoxypyridoxine and isoniazid on the mortality-rate of irradiated mice with 505R.

	4mg Deoxypyridoxine		3mg Isoniazid	
	Mortality rate (%)	P value	Mortality rate (%)	P value
16hrs. before irradiation			13.0 6/46	
15min. before irradiation	28.0 14/50	0.05—0.1		
15min. after irradiation	38.0 19/50	0.0125—0.025	32.0 16/50	P<0.05
2days after irradiation	20.0 8/40	0.3—0.35	28.0 14/50	0.05—0.1
4days after irradiation	22.4 11/49	0.2—0.25	16.0 8/50	
6days after irradiation	42.1 24/57	0.005—0.01	10.0 5/50	
For 5 days before irradiation	8.8 4/45		23.9 11/46	

Mortality-rate of irradiated control mice is 16.0%

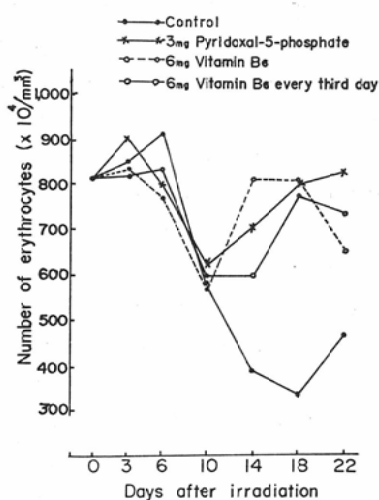


Fig. 5 Effect of B<sub>6</sub> and p-5-ph on erythrocytes irradiation with 550R.

ないが、白血球数の回復を促進する働きが示された (Fig 4, Tab. 2). 同様のことが赤血球数についてもいえる (Fig,5 Tab. 2).

Ⅲ. Tab 3, Fig 6 から明らかな如く、対照群の Xanthurenic acid の尿中排泄量は照射後著しく増加し、2日目に maximum になる。以後8日目迄は漸次減少するが、9日目から再び著明に増加し、照射後12日目になつても正常値の約 1.6 倍の排泄量を示す。これに対し B<sub>6</sub> 投与群では照

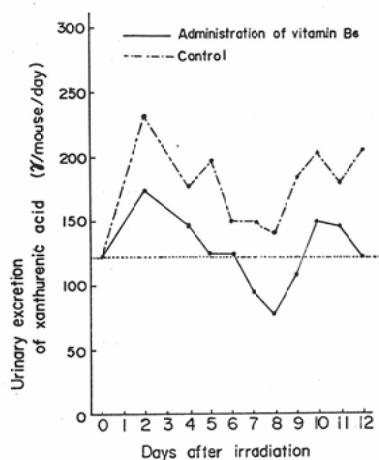


Fig. 6 Effect of B<sub>6</sub> on the urinary xanthurenic acid excretion after irradiation with 550R. 6mg of pyridoxine was given i.p. on the 1st, 3rd and 5th postexposure days.

射後の排泄増加が対照より低いのみならず、速かに正常に復する。

(B) Hannover 系雄マウスの 505R 照射による死亡率は16%であるが、照射後15分或は6日目に Deoxypyridoxine を投与すると死亡率が著しく増加し、それぞれ42.1% (P<0.01), 38.0% (P<0.025) であった。Deoxypyridoxine を照射前1回或は連続5日間注射した場合には死亡率に有意の差は認められなかった (Tab. 4).

Deoxypyridoxine と類似の作用即ち B<sub>6</sub> 欠乏状態を惹きおこす Isoniazid はそれを照射前或は後に投与してもマウスの死亡率に影響を及ぼさなかつた (Tab. 4).

### 考 按

既に B<sub>6</sub> の放射線障害に対する防護及び回復に関する成績が多数報告されている。即ち, Goldfeder<sup>15)</sup> は LD<sub>50</sub> の線量域で B<sub>6</sub> が防護効果を示すこと, Langendorff<sup>16)</sup>等は同様の効果が特に P-5-ph とアデニル酸化合物の混合投与により一層著明になること, 更に多くの臨床家<sup>17)~22)</sup>により放射線治療の副作用例えば白血球減少症や宿酔に対し B<sub>6</sub> 複合体が有効であることが報告されている。しかしこれらの成績に反する研究結果も報告されている。例えば Bridge and Koch<sup>23)</sup> は B<sub>6</sub> には防護作用が認められなかつたこと, Silvermann et al.<sup>24)</sup> は 25 mg Pyridoxine と Dramamin 或は乳糖の混合投与が放射線宿酔に効果がなかつたこと, 又 MacFarland<sup>25)</sup> 等は B<sub>6</sub> 欠乏状態が動物の放射線感受性に影響を及ぼさないことを報告している。この実験では B<sub>6</sub> 或は P-5-ph を照射直後 1 回投与した場合, 生存率を指標とした治療効果を認め得なかつたが, B<sub>6</sub> を照射後 2 日おきに注射した時生存率の増加が認められた。B<sub>6</sub> は生体内で Phosphate の形にされ, 種々の酵素の補酵素として利用される。従つて Pyridoxal-5-phosphate を直接注射した方がより効果的であろうと思われたが結果は無効であつた。その原因は恐らく P-5-ph がすみやかに酸化されやすいこと, 又分子量が大きい細胞膜を通過しにくいことが考えられる。

通常生体には B<sub>6</sub> が豊富に存在するため, 純粋な B<sub>6</sub> 欠乏症は認め難いが, 放射線障害の場合は事情が異なる。即ち Pearson<sup>26)27)</sup>等の研究により放射線照射後尿中 B<sub>6</sub> 排泄量が増加することが明らかにされた。従つて生体が被曝すると体内に B<sub>6</sub> 欠乏状態がおきることが予想される。このことが放射線障害の面で重要な意味をもつことは P-5-ph の拮抗物質である Deoxypyridoxine hydrochloride を照射後投与することにより体内の B<sub>6</sub> 欠乏状態を助長した時死亡率が増加することから

明らかである。照射ラツテ及びマウスの尿中 Xanthurenic acid が増加することはそれぞれ Hartweg et al.<sup>9)</sup>, Langendorff et al.<sup>12)</sup>によつて示されたが, この実験でも排泄のパターンはこれ等の研究者のそれとはやや異なるが著明な増加が認められた (Fig. 6)。この原因は P-5-ph を補酵素とする酵素が放射線により容易に障害されるため<sup>4)5)</sup>, 3H-Kynurenine が 3H-Anthranilic acid に変る過程に関与している Kynureninase 及びその補酵素 Pyridoxal phosphate が障害され従つてこの過程が block され, いわゆる shunt product として Xanthurenic acid が増加すると考えられる。人<sup>28)</sup>, 或は他の哺乳動物<sup>29)~33)</sup>で Pyridoxine が欠乏すると Tryptophan 代謝異常が惹き起こされ, その結果 Xanthurenic acid が増加することから B<sub>6</sub> 複合体は生体の代謝, とりわけ Tryptophan 代謝に極めて重要な位置をしめるものと考えられる。この実験で照射後マウスの尿中 Xanthurenic acid が増加するが, B<sub>6</sub> によりすみやかに正常に復し死亡率が低下するのが認められた。これらの考按及び実験結果から B<sub>6</sub> の作用機点は放射線による広範囲の代謝異常を改善することにあると考えられる。近年 Pyridoxine 欠乏と造血障害が論じられ, Pyridoxine と Fe の摂取との関係が報告されている。即ち Pyridoxine 欠乏状態に陥つた生体の赤芽球或は網状赤血球の Mitochondria は Fe を摂取しにくいこと, これに Pyridoxal phosphate を添加すると Fe 摂取 heme の遊離が認められるようになることが Cooper et al.<sup>34)</sup>によつて報告された。放射線被曝生体が B<sub>6</sub> 欠乏状態に陥ると推定される多くの理由があることは既に述べた。従つて放射線被曝による赤芽球系の障害に対して Pyridoxine を投与することは造血組織の鉄代謝を改善する意味で有効であろうと考えられる。

附記 この実験の一部は Freiburg 大学の Radiologisches Institut に於いてなされた。Prof. Langendorff の御指導と御援助に感謝致します。

### 文 献

- 1) Langendorff, H., Melching, H.J., Streffer, C.: Strahlentherapie 114, (1961), 525.

- 2) Melching, H.J., Abe, M., Streffer, C.: Strahlentherapie 125, (1964), 352.
- 3) Abe, M.: Nippon Acta Radiologica 26, (1966), 268
- 4) Langendorff, H., Streffer, C., Melching, H. J.: Strahlentherapie 124, (1964), 457.
- 5) Melching, H.J., Messerschmidt, O., Streffer, C., Shibata, K.: Strahlentherapie 116, (1961), 395.
- 6) Die Vitamine: Roch 1960.
- 7) Ellinger, F.: Biologische Grundlagen der Strahlenbehandlung Berlin-Wien 1955.
- 8) Strahm, A.: Münch. Med. Wschr. (1955), 855.
- 9) Hartweg, H., Böwing, G.: Strahlentherapie 106, (1958), 289.
- 10) White, A., et al.: Principles of Biochemistry McGraw-Hill Book Co., 1959.
- 11) Willis, R.S., Winn, W.W., Morris, A.T., NeWson, A.A., Massey, W.E.: Amer. J. Obstetr. Gynec. 44, (1942), 265.
- 12) Umbreit, W.W.: Amer. J. Clin. Nutr. 3, (1955), 291.
- 13) Williams, H.L., Wiegand, R.G.: J. Pharmacol. Exp. Ther. 113, (1955), 54.
- 14) Rosen, F., Lowy, R.S., Sprince, H.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 77, (1951), 399.
- 15) Goldfeder, A., Cohen, L., Miller, Ch., Singer, M.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 67, (1948), 272.
- 16) Langendorff, H., Melching, H.J.: Strahlentherapie 110, (1959), 505.
- 17) Maxfield, Jr. J.R., McIlwain, A.J., Robertson, J.E.: Radiology 41, (1943), 383.
- 18) Oppenheim, A., Lih, B.: Radiology 47, (1946), 381.
- 19) Scott, L.T., Tarleton, G.T.: Radiology 47, (1946), 386.
- 20) Shorvon, L.M.: Brit. J. Radiol. 19, (1946), 369.
- 21) VanHaltern, H.L.: Radiology 47, (1946), 377.
- 22) Morczek, A., Neumeister, K.: Strahlentherapie 120, (1963), 398
- 23) Bridge, B.A., Koch, R.: Int. J. Radiat. Biol. 3, (1961), 49.
- 24) Silvermann, A., Klingeremann, M.M., Fertig J.W., Ellis, K.: Radiology 66, (1956), 403.
- 25) Mac Farland, M.D., Oeters, M.V., Ballantyne, R.M., McHenry, E.W.: Amer. J. Physiol. 163, (1950), 394.
- 26) Pearson, W.N., Owens, J.P., Hudson, G.W., Darby, W.J.: Fed. Proc. 11, (1952), 452.
- 27) Pearson, W.N., Owens, J.P., Hudson, G.W., Darby, W.J.: Amer. J. Physiol. 173, (1953) 120.
- 28) Greenberg, L.D., Hohn, D.F., McGrath, H., Rinehart, S.F.: Arch. Biochem. 21 (1949), 237.
- 29) Lepkovsky, S., Roboz, E., Haagen-Smit, A. J.: J. Biol. Chem. 149, (1943), 195.
- 30) Miller, E.C., Baumann, C.A.: J. Biol. Chem. 157, (1945), 551.
- 31) Cartwright, G.E., Wintrobe, M.M., Jones, F., Lauritsen, M., Humphreys, S.: Bull. Johns Hopkins Hosp. 65, (1944), 35.
- 32) Greenberg, L.D., Rinehart, J.F.: Fed. Proc. 7, (1948), 157.
- 33) Axelrod, H.E., Morgan, A.F., Lepkovsky, S.: J. Biol. Chem. 160, (1945), 155.
- 34) Cooper, R.G., Webster, L.R. Jr., Harris, J. W.: J. Clin. Invest. 42, (1963), 926.