



Title	DNA-Spermidine(DA-51)の放射線による白血球減少防止効果について（予報）乳癌後照射症例について
Author(s)	津屋, 旭; 金田, 浩一; 大川, 智彦 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1974, 34(1), p. 26-32
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/16738
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

DNA-Spermidine (DA-51) の放射線による白血球減少防止効果について

(予報) 乳癌後照射症例について

癌研究会附属病院放射線科

津屋 旭 金田 浩一 大川 智彦

東京大学医学部放射線医学教室

亘理 勉 朝倉 英男

(昭和48年9月25日 受付)

(昭和48年10月25日 最終原稿受付)

Protective Effect of DNA-Spermidine (DA-51) against Radiation-induced Leukopenia (Preliminary Report)

—A Study on Breast Cancer Patients Receiving Prophylactic Irradiation—

Akira Tsuya, M.D., Koichi Kaneta, M.D. and Tomohiko Okawa, M.D.

Department of Radiology, Cancer Institute Hospital
and

Tsutomu Watari, M.D and Hideo Asakura, M.D

Department of Radiology, Faculty of Medicine, University of Tokyo

Research Code No.: 699

Key Words: DNA-Spermidine, Inosine, Leukopenia radiation hazard, Breast cancer

DNA-spermidine (DA-51), which has been originally developed by Dr. Sekiguchi et al. as a protective agent against radiation-induced leukopenia, was submitted to clinical trial by the double blind test. The radioprotective and side effects of DA-51 were compared to those of Inosine, selected as a control agent, on breast cancer cases receiving prophylactic irradiation.

Same daily dose of 1800 mg of DA-51 and Inosine was administered orally during the period of irradiation of 1 to 3 weeks. The difference in white blood cell counts between DA-51 and Inosine treated groups were assessed at 1 and 3 weeks by Fisher's exact test, and the following results are obtained:

1. Significant difference in white blood cell counts assessed at 3 weeks was demonstrated between the DA-51 and control (Inosine) groups, with the probability of 0.021 and 0.036. Thus, the protective effect of DA-51 against radiation-induced leukopenia was proved.
2. Regarding the side effect, one case of urticaria was encountered in the DA-51 group, and 2

cases of jaundice in the control (Inosine), but no causal relationship was demonstrated. Also no disturbance of the liver, gastrointestinal and kidney functions was encountered.

1. 緒 言

現在がんの治療には放射線療法・薬物療法・外科的手術療法等があるが、放射線療法・薬物療法による場合、副作用として造血臓器等に異常をきたしやすく、これらの療法を継続することが不可能となる場合がしばしば生じる。したがつて放射線障害に対する回復剤・保護剤の出現が当然のことながら望まれ、またかかる薬剤は制癌剤療法の副作用を防ぐ可能性も期待できるものである。

一方放射線療法において、照射器機並びに照射技術の進歩に伴ない、照射により惹起される白血球数の減少はかなり少なくなつてゐるもの、相変らず臨床的に問題とされることが稀ではない。

今般、DNAとSpermidineの分子結合体（以下DA-51と略）が、上述の白血球減少防止剤として新しく開発されたのを機に、その臨床面での有効性と安全性を二重盲検法により検討したので、ここに報告する。今回の臨床試験では一般悪性腫瘍患者（92例）を対象としているが、本稿においては本物質の薬効を的確に判断するために、条件（性別・年令・照射方法・照射線量・照射野等）がそろつてゐる乳癌患者（35例）を対象として統計的検索を行なつた。

2. 使用薬剤

DA-51は、DNAのリン酸基と塩基性のポリアミンであるところのSpermidine（示性式 $\text{NH}_2 \cdot (\text{CH}_2)_4\text{NH} \cdot (\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ ）との分子結合体である。推定されるその立体モデルは下図のごとくDNAの二重鎖間を架橋しているものと考えられ、このことによりDNAの物理化学的安定性を増大させているものである。なお、本品は白色粉末結晶であり、水にはよく溶け、エタノール、エーテル、アセトンには溶けない。物理化学的性質は下記のとおりである。

分子量：100,000～500,000

沈殿常数：12 S以上

比重：1.650～1.700

粘度： $\eta_{\text{sp}/c} = 3 \times 10^{-4} \sim 6 \times 10^{-4}$

比旋光度： $\tan \alpha_0 = 5 \times 10^{-3} \sim 10 \times 10^{-3}$

吸光度： $E_{\text{max}} = 2600\text{\AA} \sim 2657\text{\AA}$

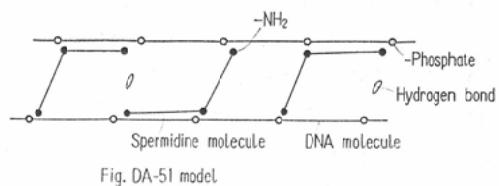


Fig. DA-51 model

比較対照薬としては、その作用が化学構造上似ることが期待でき、しかも白血球減少治療剤として市販されているイノシン¹³⁾とし、無作為割り付け法による同一外観のイノシンとの二重盲検法によることとした。剤型はそれぞれ腸溶錠とし、DA-51錠はその1錠中にDA-51 200mgを含有、イノシン錠は1錠中にイノシン 200mgを含有している。

3. 使用対象および使用方法

(1) 対象患者

乳癌後照射症例を用いた。入院・外来は問わなかつたが感染症のある症例並びに白血球数の投与前値が $9,000/\text{mm}^3$ より多かつた症例は対象から除外した。

(2) 放射線治療における照射方法、照射線量並びに照射野

4.3MeV, Linac X線（SSD 100cm, Dose rate 220rad/min）にて変形大照射野を使用し、両側鎖骨上下窓、腋窓部および患側胸骨旁を1門照射野（平均 $28 \times 25\text{cm}$ ）内に含めた。但し両肺野は変形 shelter filter で遮蔽した。300rad/日、3回/週で照射し、総線量は皮下3cmで3600rad（平均照射期間は30日）の時点で判定を行なつた。ちなみにこの際の容積線量は、約25～30Megagram-radに達した⁴⁾。

(3) 薬剤投与基準

薬剤は治療開始と同時に投与を行なうこととした。

(4) 投与量、投与方法および投与期間

両薬剤とともに、1回3錠、1日3回とし、毎食後に経口投与した。投与期間は最低1週間、可能な限り3週間以上とした。

(5)併用薬剤の禁止

原則として次の薬剤は併用しなかつた。

- 1) 核酸系製剤(アデニン系、イノシン系)
- 2) 総合アミノ酸剤(アミノ酸誘導体含む)
- 3) 白血球減少治療剤および予防剤
- 4) ステロイドホルモン製剤
- 5) 蛋白同化ホルモン製剤
- 6) ビタミンB₆, B₁₂の単独製剤
- 7) グルタチオン製剤

(6) 臨床検査項目並びに検査日

1) 検査項目

赤血球数、白血球数、血小板数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン値。その他安全性確認のため、肝機能、N.P.N、血中尿酸値、尿、炎症所見の有無についての諸検査を行なつた。

2) 検査日

投与前1週以内(投与前値の測定)、投与開始日より各週後、投与終了時(各検査日とも当日並びにその前後1日を含む)。

(7) 評価判定基準

1) 白血球

投与前値と各週値との変動率を基準とし、各週値が投与前値に対して20%以下の減少ならば有効、20%を越える減少ならば無効とした。

2) 血小板

血小板については薬剤の有効、無効の判定を行なわず、その数が 7×10^4 以下に低下した場合に

ついで、投与薬剤の副作用によるものでないかどうかを検討するにとどめた。

(8) 統計的検討

薬剤投与後の毎週後を検査日と規定したが、本剤の薬効を的確に判断するために、1週後と3週後の検査値について基準により判定した有効、あるいは無効例数を、Fisherの直接確率計算法により検定を行なつた。また3週まで定期的に毎週検査している症例を集めて同様に検定した。

4. 成績結果

統計的評価を行なうにあたつて、次の症例は除外した。

- 1) 放射線照射が投薬より3日以上早いもの(2例)
- 2) 検査日が測定基準に合致しないもの(2例)
- 3) 本剤の副作用かどうかは不明だが、じんま疹のため服用を中止したもの(1例)
- 4) 白血球数の投与前値が $9 \times 10^3/\text{mm}^3$ より多かつたもの(3例)
- 5) 術後に黄疸が発生したもの(2例)
- 6) 放射線の種類が、他症例と異なり同一処理できないもの(1例)

(1) 白血球数

症例数は35例であるが、脱落例が相当多くあり、表1に示すごとく投与1週間後検査例はDA-51 9例、イノシン13例、3週目検査例はDA-51 10例、イノシン11例であり、1・2・3週定期検査例はそれぞれ6例、10例であつた。なお症例数が各時点で異なるのは、前値と1週間値、前値と3週間値、前値と1・2・3週各週値の対応のあ

Table 1. Changes in WBC counts (mean \pm SE) after 1-week treatment in patients with breast cancer

Group	No. of Patients	Average age	WBC counts ($\times 10^3/\text{mm}^3$)			$\frac{(1)-(2)}{(1)} \times 100^*$
			(1) Before treatment	(2) After treatment	Difference (1) - (2)	
DA-51	9	48.3	5.58 (± 0.48)	4.33 (± 0.37)	1.25 (± 0.24)	21.71 (± 2.87)
Inosine	13	46.2	5.92 (± 0.38)	3.96 (± 0.23)	1.95 (± 0.37)	30.25 (± 5.93)

* Change as percentage of initial level

Table 2. Four-fold table showing results of a clinical trial after 1-week treatment

	No. of patients		Fisher's exact test
	DA-51	Inosine	
20%≥	4	3	
20%<	5	10	p = 0.276

る症例を選んだためである。

各検査時の平均年令、白血球数の投与前値・各週値、増減変動差、増減変動率並びに Fisher の直接確率計算法による統計結果は、それぞれ表 1～6 に示した。また表 5 をグラフに表わすと、図 1 となる。これらは各週定期検査例の検査値

を、平均値と標準誤差で、おのおのの対応する前値と比較したものである。

投与後 3 週目検査例において白血球数の減少予防効果を検定してみると、DA-51 とイノシンとの間に 5% 水準（直接確率 p = 0.021）で有意の差を認めた。また各週検査例においても 5% 水準（直接確率 p = 0.036）で有意の差が認められた。一方 1 週間検査値、2 週間検査値では、DA-51 とイノシンとの間に有意差（5% 水準）は認められなかつた。

(2) 血小板

血小板については、DA-51 とイノシンで共に投与前値のばらつきが大きかつた。今回の試験では

Table 3. Changes in WBC counts (mean ± SE) after 3-week treatment in patients with breast cancer

Group	No. of patients	Average age	WBC counts ($\times 10^3/\text{mm}^3$)			$\frac{(1)-(2)}{(1)} \times 100$
			(1) Before treatment	(2) After treatment	Difference (1) - (2)	
DA-51	10	47.1	5.70 (± 0.41)	4.31 (± 0.30)	1.39 (± 0.48)	21.54 (± 6.74)
Inosine	11	45.8	5.83 (± 0.43)	3.60 (± 0.27)	2.22 (± 0.38)	36.69 (± 4.30)

Table 4. Four-fold table showing results of a clinical trial after 3-week treatment

	No. of patients		Fisher's exact test
	DA-51	Inosine	
20%≥	6	1	
20%<	4	10	p = 0.021*

* Significant at 5% level

Table 5. Changes in WBC counts (mean ± SE) of patients with breast cancer at end of each week during 3-week treatment

Tested week	Group	No. of patients	Average age	WBC counts ($\times 10^3/\text{mm}^3$)			$\frac{(1)-(2)}{(1)} \times 100$
				(1) Before treatment	(2) After treatment	Difference (1) - (2)	
1st	DA-51	6	50.0	5.56 (± 0.53)	4.23 (± 0.26)	1.33 (± 0.36)	22.20 (± 4.22)
	Inosine	10	44.2	5.78 (± 0.48)	3.78 (± 0.23)	2.00 (± 0.47)	30.93 (± 7.48)
2nd	DA-51	-ditto-			4.20 (± 0.38)	1.36 (± 0.26)	23.66 (± 4.54)
	Inosine				3.46 (± 0.19)	2.32 (± 0.44)	37.32 (± 5.26)
3rd	DA-51	-ditto-			4.11 (± 0.28)	1.45 (± 0.38)	24.28 (± 5.05)
	Inosine				3.41 (± 0.21)	2.37 (± 0.39)	39.11 (± 3.93)

Table 6. Four-fold table showing results of a clinical trial at end of each week during 3-week treatment

Tested week		No. of patients		Fisher's exact test
		DA-51	Inosine	
1st	20%≥	3	2	p = 0.242
	20%<	3	8	
2nd	20%≥	2	2	p = 0.489
	20%<	4	8	
3rd	20%≥	3	0	p = 0.036*
	20%<	3	10	

* Significant at 5% level

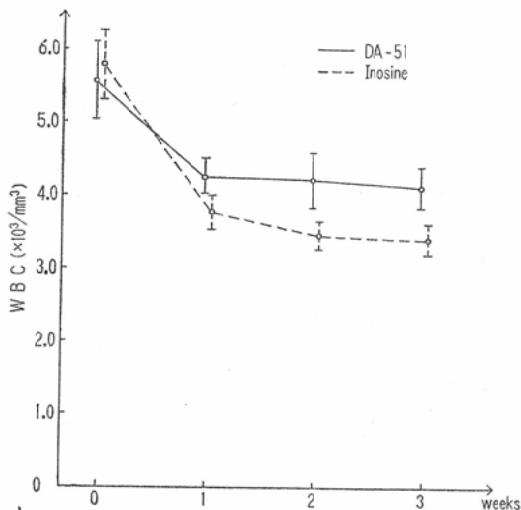


Fig. 1. Changes in WBC counts (mean SE) at and of each week treatment in patients with breast cancer.

血小板数が $7 \times 10^4/\text{mm}^3$ 以下になつたものについて薬剤の副作用の有無を検討することとした。なお、 $7 \times 10^4/\text{mm}^3$ 以下に減少したものは、1例もみられなかつた。

3) 他の検査項目の結果については、特に見るべき変化は観察されなかつたので本稿では省略する。

5. 副作用

DA-51投与群に、じんま疹1例、イノシン投与群に、黄疸2例が出現した。食欲不振、恶心、嘔吐は1例の訴えもなく、さらに前述した肝機能検

査や尿検査の異常も、何ら認められなかつた。

6. 考 按

従来より放射線照射前にある薬物を投与しその障害を軽減せんとする試みは広く行われ保護剤(Protector)としてSH-化合物をはじめ放射線によって生体内に生ずる遊離基と反応する幾つかの薬剤が知られている。一方、放射線照射後に生体に投与しその後の放射線障害を軽減回復させる薬剤は回復剤(Restorator)と呼ばれ、その作用機構上は Protector とは区別され、臨床的には当然後者の Restorator の出現が強く望まれている。

輸血や骨髓注入は外的に簡単にどこでも行えるものではないし、副作用もあり、アミノ酸製剤なども点滴注入ということもあつて、もつと容易で、経口投与で放射線障害を軽減できる薬物が最も望ましいわけである。一方、臨床的に血液特に白血球の減少は現在の放射線治療の副作用としてはとりあげるに足りないものとの考えもあるが、現実に即しては未だに何%かの要治療患者はあり、また実際血液所見の悪化を知りつつ、何も処置をしないということは許されないので、従来、有効と称せられる幾つかの薬物が全く無定見に使用されてきたにすぎない。また当然、何もしないで放射線治療を継続していても血液所見の改善をみることも若干はあるが、われわれはその辺のこととも考えて、最もコントロールとして適当な、いろいろな因子の入りにくい乳癌術後照射患者を治療対象として選んだわけで、まず無処置、乳癌術後照射患者の末梢血液所見の変化については既にその詳細を文献(4)に報告した。その基礎の上にたつて、DA-51と、近年、同じように経口投与で放射線による白血球減少に有効とされているイノシン¹³³を用いて臨床実験を施行し比較検討した訳である。

現在はDNA生合成の阻害を回復する作用を持つ物質は少なく、Kanazirら²により、わずかに同種の動物細胞より分離調製した高分子DNAそのものが、照射された細胞のDNA合成の阻害を回復するのに有効であることが認められているに

すぎない。ここに閻口ら^{6~15)}は、哺乳動物等の高等動物の細胞にあつては、DNAは単独で細胞核内に存在するものではなくヒストンと称する塩基性蛋白質と結合体をなして存在することと、放射線の照射によるDNAの合成の阻害やDNAの二重らせん構造の切断等は、結合している塩基性蛋白質の放射線による種々の障害を通して二次的に作用している可能性もあるとして、抗原性を有しない比較的分子量の低い塩基性ポリアミンを用いて、生体内にあるがごとき状態のDNAと塩基性蛋白との有機的化合物に近似する化合物を人工的に製造し投与するならば、単にDNAの単独投与よりも、人体の放射線障害の回復に極めて有効であり、かつ副作用がないものと考えて、塩基性ポリアミンとDNAとの有機的化合物の検討を行なつた。その結果、物理化学的性質の安定性の向上、動物実験での有効性の裏付けより本製品が開発された。更に閻口ら^{6~15)}の報告では、放射線全身照射マウスに対してDA-51照射後投与により生残率の上昇がみられた。また抗癌物質ナイトロミンの障害に対しても、生残率の上昇がみられた。DA-51は、DNA単独投与時よりも各臓器における分解が緩徐であり、長時間各臓器に存在し臓器の核酸合成に利用され、これによつて障害された細胞分裂能を回復し、ひいては個体全体の回復効果（死亡率の低下）がもたらされるものと想像される。

DA-51の急性毒性については、斎藤ら⁵⁾によれば毒性症状はマウス、ラットにおいて類似しており、性差もみられず。剖検時には特記すべき変化はみられなかつたと述べている。LD₅₀ 値はマウス、ラットとも次の如く、経口投与7500mg/kg以上、腹腔内投与5000mg/kg以上（ラットは7500mg/kg以上）、皮下投与5000mg/kg以上、静脈内投与1250mg/kg以上であるという⁵⁾。

またラットでの経口投与による亜急性毒性でも最大量4000mg/kg投与群に肝、腎の肥大がみられた程度で、その他本薬剤投与による影響とみられる変化を認めなかつたと述べている⁵⁾。

今回の研究成果によつて、DA-51は対照薬剤

（イノシン）に対して、有意差をもつて白血球減少防止効果を有することが確認された。しかし、更に照射が継続される場合、この有意性が保持されるか否か、更に症例を増し、また観察期間を延長して検討する必要がある。

以上報告したごとく本剤については、放射線による白血球減少に対する有効性が確認され、また毒性面での安全性の高いことを確認したと考える。今後内科領域における化学療法施行時の白血球減少の軽減・防止に追試を試みるのも興味あるところである。

7. 結 語

悪性腫瘍患者への放射線治療の際生じる白血球減少を防止する薬剤として、閻口らにより開発されたDA-51の有効性並びに安全性を検討するため、対照薬をイノシンとし、二重盲検法により臨床試験を行なつた。投与量は両剤とも1日1800mgで、錠剤は経口投与された。投与期間は1から3週間投与が大半をしめた。

(1) 評価判定は、統計処理の可能な乳癌の白血球減少抑制について、Fisherの直接確率法により検定した。その結果、3週間値検査例と毎週検査例の3週目において、それぞれ0.021と0.036で、イノシンよりも有意に白血球減少に対する抑制効果があるという結果を得た。

(2) 副作用は、DA-51投与群にじんま疹が1例、イノシン投与群に黄疸2例がみられたが、ともに薬剤に起因しているかどうかは不明である。肝機能検査、消化器機能障害、尿所見等には何ら影響は認められなかつた。

最後に、薬剤を提供して頂いた科研薬化工株式会社に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 渋川 洋：容積線量白血球減少率について、イノシン及び補酵素型ビタミンの白血球減少防止効果の検討、日本医学放射線学会誌、30(1970), 811.
- 2) Kanazir, D., Bećarević, A., Panjevac, B., Simić, M. and Ristic, G.: Effects of highly polymerized nucleic acids and their derivatives upon the recovery of irradiated rats.

- Bull. Inst. Nuclear Sci. Boris Kidrich. 2 (1959), 145—153.
- 3) 神田耕介：放射線治療の際の白血球減少予防に対するイノシン大量投与の効果，新薬と臨床，18 (1969)，385.
 - 4) 大川智彦，津屋 旭，金田浩一，菅原正：放射線治療時における末梢血液像の変化，臨床放射線，18 (1973)，715—718.
 - 5) 斎藤章二，徳永友喜子，高木義次，梅内義雄，年光芳信，飯田 隆，若林勝雄，奥寺信男，松山春郎：DA-51の急性毒性および亜急性毒性に関する研究，日大医学雑誌，31 (1972)，819—833.
 - 6) 関口豊三：私信
付記（以下はDA-51に関する学会発表）
 - 7) 第26回日本癌学会総会（名古屋）1967, 10 関口豊三，関口富美子，佐竹すみ子：分裂中期染色体ならびに核蛋白導入の培養哺乳動物細胞に及ぼす生物学的作用（第1報）。
 - 8) 第27回日本癌学会総会（東京）1968, 10 関口豊三，関口富美子，佐竹すみ子，吉田俊秀：分裂中期染色体ならびにデオキシリボ核酸導入の培養哺乳動物細胞に及ぼす生物学的作用（第3報），核酸及び染色体の高分子としての直接的導入。
 - 9) 第29回日本癌学会総会（大阪）1970, 10 関口豊三，関口富美子，橘武 彦，吉田俊秀：単離体導染色体導入の培養哺乳動物細胞に及ぼす生物学的作用（第5報），Thimidine Kinase less マウス細胞(Cl-10)より単離染色体導入手技により得られた選択培地増殖クローニング細胞の分離

とその性状。

- 10) 第30回日本癌学会総会（東京）1971, 10 関口豊三，関口富美子：放射線致死障害のDNA塩基性ポリアミン化合物による修復（第1報），放射線照射後投与による培養細胞ならびにマウスの致死障害の修復。
- 11) 第31回日本癌学会総会（名古屋）1972, 10 淡路敏和，関口豊三：各種制癌剤の致死的障害のDNA-Spermidineによる回復。
- 12) 第11回日本放射線影響学会（九州大）1968, 10 関口豊三，関口富美子，佐竹すみ子：単離染色体およびDNAの導入による培養哺乳動物細胞の放射障害の回復，（第3報）高分子DNAおよび染色体の直接的導入について，佐竹すみ子，関口富美子，関口豊三：（第4報）単離染色体および塩基性蛋白（ヒストン）による回復について。
- 13) 第13回日本放射線影響学会（昭和大）1970, 10 田中和彦，関口富美子，関口豊三：放射線障害の回復に関する研究，（第5報）DNA-塩基性アミン化合物による培養哺乳動物細胞の放射線障害の回復，関口豊三，関口富美子，富井幸子，田中和彦：（第6報）DNA-塩基性化合物による全身照射マウスの回復効果。
- 14) 第14回日本放射線影響学会（日本大）1971, 10 関口豊三，田中和彦，富井幸子，淡路敏和：放射線致死障害のDNA-Spermidineによる回復，（第3報）マウスにおける障害回復の機序。
- 15) 第15回日本放射線影響学会（金沢大）1972, 10 関口豊三，淡路敏和：DNA-Spermidineによる放射線および制癌剤の致死的障害の回復。