The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	放射線障害防護剤 Aminoethylisothiuroneum・HBr(AET)に関する実験的研究 : AET35-S 投与後の35S経時的体内分布、及びAETの最良投与時間について
Author(s)	片山, 仁
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1965, 25(2), p. 124-136
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/16987
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

放射線障害防護剤 Aminoethylisothiuroneum・HBr (AET) に関する実験的研究
——AET-^{35}S 投与後の^{35}S 経時的体内分布，及び AET の最良投与時間について——

九州大学医学部放射線医学教室（主任：入江英雄教授）
研究生　片　山　　仁

（昭和40年1月4日受付）

Action of Aminoethylisothiuroneum•HBr(AET)
—Distribution of Radioactivity following AET-^{35}S administration and Optimum Administration Time of AET—.

Hitoshi Katayama. M.D.
Dept. of Radiology. Faculty of Medicine, Kyushu University
(Director: Prof. H. Irie)

In these series of experiments, the action of AET has been studied on the basis of two points. The first is the distribution of the radioactivity following the administration of AET-^{35}S in tumor bearing mice and rats, and the second is the optimum administration time of AET.

The results obtained are as follows:

1) The distribution of the radioactivity was maximum at 30 minutes after AET-^{35}S administration almost in all of organs; i.e. the kidneys, the spleen, the liver, the large intestine, the sternum, the femur, and the testes in decreasing order.

The temporal change of the distribution was also studied and it was found more distinct in the intraperiotoneal administration thann in the subcutaneous administration.

2) The tumors showed the lowest radioactivity.

3) The radioactivity in blood and ascites is higher in the fluid component than in cell component.

4) The radioactivity of the bone marrow of the femur was obtained by calculation from experimental data and it was found that this was not as low as in the cortex of the femur.

5) The optimum administration time of AET was 30 minutes before irradiation by corrected administration time (the time between administration and the median irradiation time).

目　次

第1章　緒言
第2章　AET-^{35}S の経時的体内分布について
　第1節　文献的考察
　第2節　実験方法
　第3節　基礎実験（湿式酸化，硫酸バリウム法の検定）
　第4節　本実験（AET-^{35}S 投与後の ^{35}S 経時的体内分布）
　　第1項　エールリッヒ皮下固型腫瘍をもつマウ

スにおける ^{35}S の分布
その1　AET-^{35}S を腹腔内に投与した場合
その2　AET-^{35}S を皮下投与した場合
第2項　皮下吉田肉腫をもつラッテに AET-^{35}S を腹腔内投与をした場合
第3項　エールリッヒ腹水癌をもつマウスに AET-^{35}S を皮下投与した場合
第4項　血液中の ^{35}S 分布像の検討
第5項　骨髄への ^{35}S の分布の検討
第5節　小括
第3章　AETの最良投与時間について
第1節　文献的考察
第2節　実験方法
第3節　実験結果
第4節　小括
第4章　総括及び考按
第5章　AET-^{35}S の合成
第6章　結論

第1章　緒　　言

1950年以降の放射線防護剤「以下防護剤」の研究は各種ビタミン，アミン，アミノ酸，ホルモン，臓器抽出物質及びその他の化学物質等についてなされて来た．

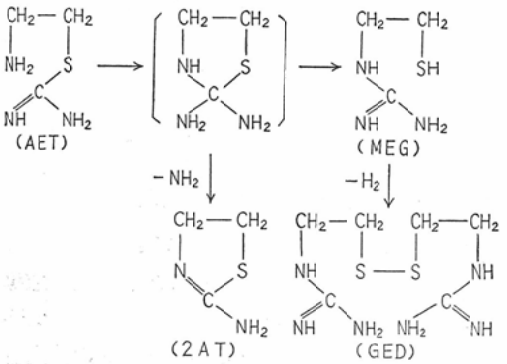
化学防護物質の中，特にSH化合物については1949年 Patt[1] が Cysteine について報告して以来 Bacq[38)39)40)41)] Langendorff[2)3)30)43)44)45)46)] 等が数多くの発表を行つている．Langendorff 一派はSH体を有する物質の防護作用は Cysteine とその類族体に認められると云い，この種のアミン類の実験において Cysteine と Tryptamine にのみ防護効果を認めたと述べている．そして防護作用を有するSH化合物は $HS-(CH_2)_x-N<^{R_1}_{R_2}$ の基本的分子構造をもつていてXは3より小さくなくてはならないし R_1, R_2 はアルキル置換化合物でなくてはならないと報告している．

SH化合物がこの様に試みはじめられたのは次の様な考えに基くものである．

即ち，人体に存在する酵素のうちSH基をもつものはこれを持たないものより放射線不活性化についての感受性が高いと云う事である．云いかえれば放射線によつて生じた $OH^{\cdot}$ 又は $HO_2^{\cdot}$ がSHと相互作用し易いと云う観点から注目されている．

この作用機序には色々な説がある Barron et al[4] 及び Bacq[5] は放射線により生じた free radical とSH酵素との反応をSH化合物が肩代り的に働いて防護作用を示すと説明している．その他，Induced anaerobiosis[50)], Mixed Disulfides[7)8)50)] Repaire of chemical damage[50)] (Hydrogen obstruction repair mechanism) 等がある．

Aminoethylisothiuroneum（以下AETと略す）は Cysteine, Cysteamine（以下MEAと略す）以後発見された優秀な化学防護剤であるが，1957年，Doherty et Shapiro[9)47)48)49)] が合成しその防護作用の優秀性を認めたものである．彼等によればAETは水溶液中で 2-Mercaptoethylguanidine（以下MEGと略す），Guanidoethyl Disulfide（以下GEDと略す）及び2-Aminothiazolin（以下2ATと略す）に分解し，MEGが防護効果を示すものとして報告している．これを図に示すと次の如くである．



今回 ^{35}S でラベルしたチオ尿素を入手する事が出来たので，これより AET-^{35}S を合成し一連の実験（^{35}S 経時的体内分布）を行い興味ある知見を得たので報告する．尚．AETを放射線照射前に投与する時間についてもAETの分布と関連があると考えられるがこれも検討したので併せて報告する．

第2章　AET-^{35}S の経時的体内分布について

第1節　文献的考察

1957年 Shapiro 及び Doherty[9] がAETの防護効果を発表して以来，そのAETをはじめその他のSH化学物質の防護効果に関する報告は枚挙

にいとまがない．我が教室においても山口[14]早川[15]勝原[13]岡村[18]吉原[16]などの報告がある．特に吉原[17]は動物に移植した腫瘍に治療の目的でX線照射を行う場合AETを全身的な放射線障害を防ぐ目的で併用すると腫瘍に対するX線治療効果を減殺する事は全くなく，むしろ，X線照射単独の場合より腫瘍の発育を抑制したと報告した．

併しながら，従来AETの防護剤としての報告は主に，動物にX線照射後の30日生存率，血液像に対する影響，発育に対する影響等が行われて来た．

又一方，AETの体内における作用機序をみる一法として岡村[18]は組織学的に検討しAET30日連続投与で犬，マウスの脾及びリンパ節に萎縮を主体とした病変を認めている．吉原[16]は同じく組織学的に骨髄，脾，睾丸，小腸の放射線障害がAETによつて軽減され，その恢復も著明に促進されると報告している．又吉原[17]は前述の如くAETはエールリッヒ皮下腫瘍に対するX線治療効果を減弱しなかつた事を強調している．

更に，防護剤(主としてSH化合物)を体内投与した場合，これ等SH化合物或はその誘導体の体内臓器分布をトレーサー技術の発達に伴い1950年代の終りより研究がなされる様になり，その報告も次第に数を増して来た，[19][20][21][22] O' Gara 等[23]はAET投与後 ^{35}S が高濃度に集つた組織は肝をはじめとして腎，脾，骨髄であり，皮下腫瘍及びその肝転移には少いと報告している．Hans[24]はラッテ及びマウスを用いて MEA-^{35}S の体内分布をみているが，彼によると Walker Sarkom をもつたラッテでは腎，肝，脾，副腎に多く，エールリッヒ腹水癌をもつたマウスでも腎，肝，脾に多い．経時的変化をみると，15分，30分及び60分の3点でみているが15分で最大を示すものと30分で最大を示すものとがありこの二つの間ではあまりはつきりした差は認められない．Peter[25]は同じく MEA-^{35}S で体内分布をみているが彼によると腹腔内投与で24時間の経過中 ^{35}S の分布は腎，膵，肝，脾，肺，血液，大腿骨，睾丸，筋肉の順位である．臓器間の分布量の差は1時間以後あまり差はなくなつている．排泄については尿に多く，糞便中には少いと述べている．

Lüning[26]によると MEA-^{35}S をマウスに静注して睾丸への分布をしらべているが，副睾丸には比較的多いが睾丸には少いとしている．経時的にみて投与後20分位で不連続な部分があると報告している．

Meville[27]によると AET-^{35}S をマウスに経時的に投与してみると，投与後20分では投与量の $^{2}/_{3}$ は胃よりむしろ腸にあると云い骨髄への分布は経口投与より腹腔内投与で大であると云つている．

Kollmann et Shapiro[27]は MEG-^{35}S と GED-^{35}S をマウスに経口投与を行い，投与後30分でその分布量は死骸，胃，小腸，尿尿，肝，腎，血清，睾丸の順であるとしている．MEG，GEDの吸収はMEGが早く効果のある型で組織に出ていると報告している．

安徳[28]は MEG-^{35}S を用いて体内分布をしらべているが血液，肝，脾では腹腔内投与後急激に減少し，その最高値は5分以前にあると推定している．腎では10分位で最高に，小腸，肺，胸腺では20分後，骨髄では30分後に最高値を示したと報告している．

第2節　実験方法

実験動物及び実験腫瘍

ddN 系雄性マウス 体重20g前後及びウイスター系雄性ラッテ体重 130g前後のものを用いた．前者にはエールリッヒ腹水癌又は皮下腫瘍，後者には吉田皮下肉腫を実験腫瘍として用いた．

対象臓器及び測定時間

AET-^{35}S 投与（腹腔内又は皮下）後10分，30分，60分の3点で測定を行い，その対象は各実験により多少の違いはあるが肝，脾，腎，大腸，睾丸，大腿骨，胸骨，血液（血清と細胞成分）皮下腫瘍腹水（上清と細胞成分）である．

実験操作

実験は，マウス（又はラッテ）に AET-^{35}S を腹腔内又は皮下投与した後，上記3つの測定点で軽くエーテル麻酔をかけた．まず頸動脈切断の上失血死亡せしめた後（失血死せしめる事により臓器を乏血状態にし ^{35}S の臓器への分布に対する血

液の影響を可及的避けた） 臓器をとり出し wet tissue の秤量をmg単位で行つた．この操作を終つた臓器は1個づつ次に述べる試料調整の過程にもつていつた．

試料調整法及び ^{35}S のβ線の測定

^{35}S のβ線のエネルギーが低いため(最大0.167 MeV 平均 0.049 MeV) 臓器そのままでは自己吸収が大である．従つてまず各臓器を加熱分解し ^{35}S を硫酸バリウムにする湿式酸化及び硫酸バリウム法[29)34)]をとつた．即ち，剔出臓器は秤量された後，ピリー試薬（A液：濃硝酸3容＋60%過塩素酸1容， B液：A液に硝酸銅を飽和させたもの，使用時，A液とB液を3：1に混和する）に入れ 200～ 250°Cの温度で2～3時間加熱，これを2度繰返して加熱分解の完全を期した．

加熱分解された臓器は次に述べる様な化学的処理を行つて ^{35}S を硫酸バリウムとして捕捉した．

〔硫酸バリウム法．〕

加熱分解の終つた試料

↓

蒸溜水にとかす

↓

濾　　過

↓

濾液に塩酸を加えてpH 2～3とする

↓

蒸溜水を加えて50ccとする

↓

加熱しながら10%の塩化バリウム溶液を徐々に滴下して硫酸バリウムの沈澱を得る

↓

24時間放置

↓

遠心分離して硫酸バリウムの沈澱を集める

↓

蒸溜水で2度，エタノールで1度硫酸バリウムの沈澱を洗滌する

↓

沈澱にエタノールを少量加え，硫酸バリウムの懸濁液として試料皿に移し赤外線ランプ下で徐々に溶媒であるエタノールを蒸発乾固させて硫酸バリウムの均一な薄い沈澱層を得る．

β線測定

神戸工業製ガスフローカウンター又は低バックグラウンドGMカウンターを使用した．

第3節　基礎実験（湿式酸化及び硫酸バリウム法の検定）

測定試料調整のための湿式酸化法及び硫酸バリウム法の操作経過における ^{35}S 損失の有無を確認した．

実験方法

即ち，既知の量の AET-^{35}S で上記化学操作を行つたものと盲検の値とを比較した．

第1群　AET-^{35}S 3μc を 0.5cc の蒸溜水に溶解し，そのまま試料皿に移してデシケーター内で乾燥させた．

第2群　AET-^{35}S 3μc を 0.5cc の蒸溜水に溶かし，1.5gの肝片中に正確に注入，湿式酸化，硫酸バリウム法で試料をつくつた．

以上2群のものを夫々3個作り ^{35}S のβ線を測定した．

結果

第1群の平均は2285cpm 第2群の平均は2218 cpmで測定誤差を考慮に入れれば有意の差を認めない（表1）

Table 1 Experimental data for evaluation of technic, employed for preparing samples in these series of experiments.

	cpm	cpm	cpm
Group I	2214±47	2337±48	2305±48
Group II	2226±47	2134±46	2294±48

以上の結果をみると本実験で用いた試料調整法，即ち，ピリー試薬による湿式酸化法及び硫酸バリウム法における ^{35}S の損失は無視して差支えない事が分つた．

第4節　本実験（AET-^{35}S 投与後の ^{35}S 経時的体内分布）

第1項　エールリッヒ皮下固型腫瘍をもつマウスにおける ^{35}S の分布．

その1　AET-^{35}S を腹腔内に投与した場合．

目的：　体内各臓器への経時的分布をみる事を目的とした．

実験方法

エールリッヒ固型癌を雄性マウス右大腿皮下に移植してほゞ10mm×10mmに発育したものに AET-^{35}S 6.0mg（7μc）を 0.5ccの注射用蒸溜水にとかして腹腔内投与を行つた．その他実験方法は第3章第2節で述べた通りである．尚，一群5匹で行つた．

結果

結果を表に示すと次の通りである（表2）

Table 2　The distribution of ^{35}S (cpm/mg) in mice transplanted Ehrlich ascites tumor subcutaneously after intraperitoneal administration of AET $-^{35}$S.

organs \ time	10min (cpm/mg)	30min (cpm/mg)	60min (cpm/mg)
liver	5.52± 0.8	6.6± 0.4	4.3± 0.3
spleen	3.79±0.23	6.5± 0.6	4.0± 0.7
kidneys	8.3± 1.1	12.8± 1.9	6.3± 1.0
large intestine	5.1± 0.6	5.9± 0.3	5.4± 0.3
femur	1.7± 0.3	3.3± 0.2	1.7± 0.7
testes	3.0± 0.2	4.0± 0.2	2.3± 0.6
tumor	1.6± 0.1	2.1± 0.3	2.1± 0.2

腎では10分後で 8.3cpm/mg　30分後で 12.8 cpm/mg 60分後で 6.3cpm/mgと他のどの臓器より大きい値を示している．これに反して腫瘍は 1.6，2.1，2.1と最も低いものに属している．分布量で第1を腎とするなら，第2は肝，脾，大腸であり第3が大腿骨，睾丸，腫瘍とおゝむね3つに大別出来る．経時的変化は殆んどの臓器で30分にピークを示す．

これ等をグラフに示すと次の様になる（図1）

その2　AET-^{35}S を皮下投与した場合

目的　投与法の差が分布に影響するか否かをみる事を目的とした．

実験方法

エールリッヒ固型癌を雄性マウス右大腿皮下に移植してほゞ10mm×10mmに発育したものに AET-^{35}S 6.0mg（5cμ）を 0.5ccの注射用蒸溜水にとかして背部皮下に投与した．その他実験方法は第3章第2節で述べた通りである．尚1群5匹で行つた．

Fig.1 The distribution of the radioactivity(^{35}S) after intraperitoneal administration of AET-^{35}S in mice transplanted Ehrlich ascites tumor subcutaneously. The columns indicate the radioactivity at 10, 30 and 60minutes, in order after the administration of AET-^{35}S.

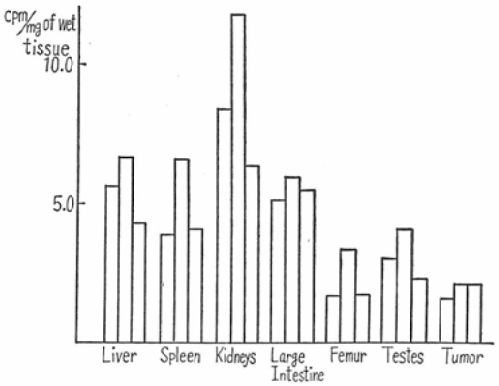


Table 3　The distribution of ^{35}S (cpm/mg) in mice transplanted Ehrlich ascites tumor subcutaneously, after subcutaneous administration of AET-^{35}S.

organs \ time	10 min (cpm/mg)	30 min (cpm/mg)	60 min (cpm/mg)
liver	1.9± 0.5	4.7± 1.2	4.0± 1.4
spleen	1.1± 0.3	4.3± 1.5	1.7± 0.9
kidneys	4.4± 1.2	7.8± 2.7	5.8± 1.1
large intestine	1.6± 0.8	4.9± 1.9	4.2± 0.9
femur	0.6± 0.3	0.9± 0.5	0.9± 0.3
testes	0.4± 0.1	0.9± 0.5	1.2± 0.6
tumor	0.3± 0.2	1.3± 0.8	1.5± 0.6

た．

結果

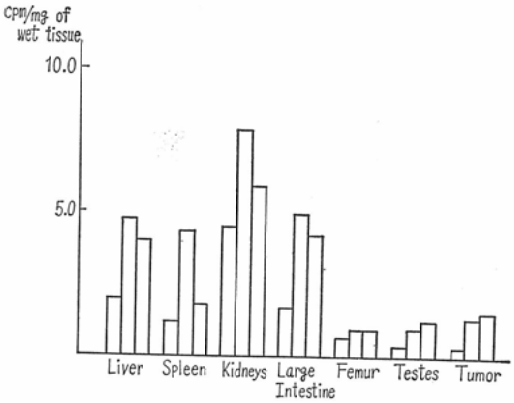
結果を表に示すと次の通りである．（表3）

即ち，AET-^{35}S 投与後10分，30分，及び60分で腎では 4.4，7.8，5.8（cpm/mg）と他のどの臓器より大きな値を示している．腎を第1とすれば第2に肝，脾，大腸が入る．大腿骨，睾丸及び腫瘍への分布は少いがこれは腹腔内投与した場合と同様である．経時的変化も腫瘍，睾丸を除いて投与後30分でピークを示した．

これを図に示すと次の如くなる．（図2）

第2項　皮下吉田肉腫をもつラッテにAET-^{35}S を腹腔内投与した場合

Fig.2 The distribution of the radioactivity(^{35}S) after subcutaneous administration of AET-^{35}S in mice transplanted Ehrlich ascites tumor subcutaneously. The columns indicate the radioactivity at 10, 30 and 60 minutes, in order after the administration of AET-^{35}S.



目的　動物の差又は実験腫瘍の種類の違いが分布量に如何なる影響をもつかしらべた.

実験方法

ウイスター系雄性ラッテの右大腿皮下に吉田肉腫を移植し，ほゞ15mm×15mmに発育したものにAET-^{35}S 15mg (7.2μc) を 1.0ccの注射用蒸溜水にとかして腹腔内投与を行つた．その他の実験方法は第3章第2節で述べた通りである．尙，1群5匹で行つた.

結果

結果を表に示すと次の通りである．（表4）

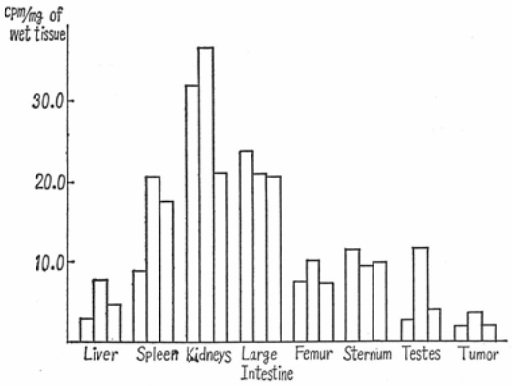
即ち，AET-^{35}S 投与後10分，30分及び60分では腎で31.9，36.2，20.9(cpm/mg) と最大値を示し次いで大腸，脾が多い．肝では 2.7，7.6，4.5 (cpm/mg) と比較的少かつた．吉田皮下肉腫では 1.9，3.4，1.9と最低値を示した．又胸骨では投与後30分を除いて大腿骨より大きな値を示した．経時的変化をみると投与後30分で最高値を示す臓器が多いが，大腸及び胸骨では10分で最高値を示しており他の臓器とやゝ趣を異にしている.

これ等を図に示すと次の様になる．（図3）

Table 4 The distribution of ^{35}S (cpm/mg) in rats transplanted Yoshida sarcoma subcutaneously, after intraperitoneal administration of AET-^{35}S.

organs \ time	10 min (cpm/mg)	30 min (cpm/mg)	60 min (cpm/mg)
liver	2.7± 0.9	7.6± 1.8	4.5± 2.6
spleen	8.9± 8.3	20.5± 2.9	17.5± 6.3
kidneys	31.9± 8.7	36.2±12.5	20.9± 4.1
large intestine	23.6±14.3	21.3± 6.1	20.8± 3.6
femur	7.3± 1.4	10.1± 2.2	7.2± 3.5
sternum	11.3± 2.3	9.2± 7.3	9.8± 6.2
testes	2.6± 0.5	11.6± 3.7	3.8± 1.5
tumor	1.9± 1.4	3.4± 1.7	1.9± 1.3

Fig.3 The distribution of the radioactivity(^{35}S) after intraperitoneal administration of AET-^{35}S, in rats transplanted Yoshida sarcoma subcutaneously. The columns indicate the distribution at 10, 30 and 60 minutes, in order after the administration of AET-^{35}S.



第3項　エールリッヒ腹水癌をもつマウスにAET-^{35}S 皮下投与した場合

目的　腹水の貯留せる場合，如何なる影響をもつかしらべた.

実験方法

ddN系雄性マウスにエールリッヒ腹水癌 0.1ccを腹腔内に移植，約10日後腹水が貯留して来たところで AET-^{35}S 6.5mg (5μc) を 0.5ccの注射用蒸溜水にとかして背部の皮下に注射した．動物数は1群5匹である.

腹水の貯留のため腹壁が緊張している場合は腹腔内投与のため出来た腹壁の小孔より ^{35}S を含む腹水の流出があり，実験手技上困難を認め特に皮下投与の場合のみ実施した.

本実験では特に腹水を液成分と細胞成分とを遠

心分離して夫々の分布をしらべた．

その他の実験方法は第3章第2節で述べた通りである．

結果

結果を表に示すと次の通り（表5）であるが，AET-^{35}S 投与後10分，30分，及び60分で腎では10.0，9.9及び 6.1（cpm/mg）と最も大きな値を示している．次いで 4.2～6.7の間に入るのが脾，肝，大腸である．睾丸，大腿骨及び腹水には少い．特に腹水では上清と細胞に分けてみたが前者では 1.4，1.6，1.6，後者では 0.5，0.8，1.1と上清に多く ^{35}S 分布を認めた．

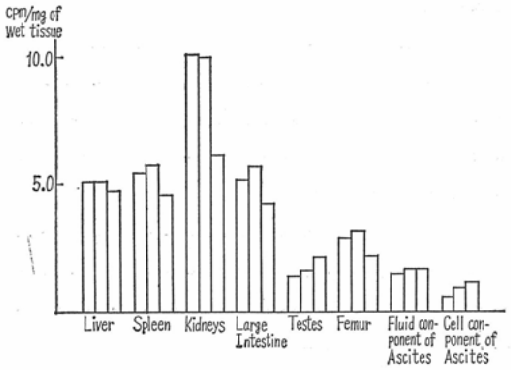
Table 5　The distribution of ^{35}S (cpm/mg) in mice transplanted Ehrlich ascites tumor intraperitoneally, after subcutaneous administration of AET-^{35}S.

organs \ time	10 min (cpm/mg)	30 min (cpm/mg)	60 min (cpm/mg)
liver	5.1± 0.9	5.1± 0.5	4.7± 0.2
spleen	6.4± 0.6	6.7± 1.1	4.5± 0.3
kidneys	10.0± 0.7	9.9± 1.2	6.1± 1.0
large intestine	5.1± 0.8	5.6± 0.8	4.2± 0.2
testes	1.3± 0.5	1.5± 0.3	2.1± 0.5
femur	2.8± 0.2	3.1± 0.5	2.1± 0.2

Table 6　The distribution of ^{35}S (cpm/mg) in two ascites components.

components \ time	10 min (cpm/mg)	30 min (cpm/mg)	60 min (cpm/mg)
fluid component	1.4± 0.1	1.6± 0.4	1.6± 0.6
cell component	0.5± 0.2	0.8± 0.2	1.1± 0.3

Fig.4 The distribution of the radioctivity (^{35}S) after subcutaneous administration of AET-^{35}S, in mice transplanted Ehrlich ascites tumor intraperitoneally. The columns indicate the distribution at 10, 30 and 60 minutes, in order after the administration of AET-^{35}S.



経時的変化をみると脾，大腸，大腿骨では投与後30分にピークを認めたが肝，腎では10分，30分の間に有意の差はなく睾丸及び腹水の細胞成分では投与後60分までの経過中次第にその分布量が増加する傾向を認めた．（表6）

これを図に示すと次の如くなる（図4）

第4項　血液中の ^{35}S 分布像の検討

目的　AET-^{35}S 投与後血液への ^{35}S の分布を血清（液体成分）と血球（細胞成分）に分けてしらべた．

その1　AET-^{35}S を腹腔内に投与した場合

その2　AET-^{35}S を皮下に投与した場合

以上の2つの場合につき検討した．

実験方法

実験方法は第3章第2節で述べた方法に準じたが概略次の通りである．

即ち，ddN 系雄性マウス（1群5匹）に AET-^{35}S 6.0～ 6.5mg（5μc）を 0.5ccの注射用蒸溜水にとかし腹腔内（又は背部皮下）投与後10分，30分及び60分で軽くエーテル麻酔を行い，頚動脈切断により可及的多くの血液を集めた．集められた血液は遠心分離により血清と血球に分つた．

血清は秤量の後，デシケーター中で乾燥させた．又細胞成分は第3章第2節に述べた方法に従い試料調整しβ線の測定に供した．（試料調整法の異る二つのものを比較したが根拠は第3章第3節で述べた．）

結果

結果を表に示すと次の如くなる（表7）（表8）

即ち，腹腔内投与の場合でも皮下投与の場合でも ^{35}S の分布は血清に多く，血球成分には少い．これ等を図に示すと次の如くなる（図5）

第5項　骨髄への ^{35}S の分布の検討

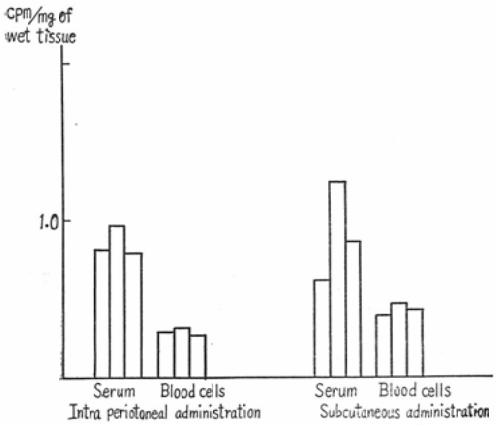
Table 7 The distribution of ^{35}S in two blood components of mice after intraperitoneal administration of AET-^{35}S.

time / components	10 min (cpm/mg)	30 min (cpm/mg)	60 min (cpm/mg)
fluid component	0.81±0.17	0.96±0.12	0.79±0.17
cell component	0.28±0.16	0.30±0.19	0.26±0.14

Table 8 The distribution of ^{35}S in two blood components of mice after subcutaneous administration of AET-^{35}S.

time / components	10 min (cpm/cg)	30 min (cpm/mg)	60 min (cpm/mg)
fluid component	0.61±0.23	1.23±0.43	0.85±0.21
cell component	0.38±0.14	0.46±0.13	0.42±0.24

Fig.5 The distribution of the radioactivity(^{35}S) after the administration of AET-^{35}S. The columns indicate the radioactivity at 10, 30 and 60 minutes, in order after the administration of AET-^{35}S.



目的　前項まで述べた AET-^{35}S投与後の^{35}S臓器分布では大腿骨全体への分布はしらべたが骨髄への分布は検討しなかつた．そこで大腿骨への分布量より骨髄への分布量を換算し得る因子を出すため次の実験を行つた．

実験方法

即ちddN系雄性マウス(一群5匹)に同量〔7.0 mg (5μc) / 0.5cc Aq dest〕の AET-^{35}S を腹腔内投与した後30分で大腿骨を剔出した，剔出された大腿骨の骨端を切断，まず重量をはかる．その後生理食塩水で骨髄を決い出した後残つた水分を濾紙で充分吸い取り再び重量をはかる．以上の操作で大腿骨の骨髄と骨質との重量比を出した．

以後　骨髄と骨質は夫々別個に第3章第2節で述べた方法で試料を作りβ線の測定を行い放射能比を出した．

結果

結果を表に示すと次の通りである（表9，10）

Table 9 Weight ratio of bone marrow to cortex of femur in mice.

components / No. of mouse	weight (mg) of bone marrow	weight (mg) of cortex	ratio
1	4	41	0.1
2	6	40	0.15
3	5	35	0.14
4	6	43	0.14
5	4	35	0.11

Table 10 Radioactivity ratio of bone marrow to cortex of femur in mice.

components / No. of mouse	(cpm/mg) of bone marrow	(cpm/mg) of cortex	ratio
1	352	357	0.99
2	345	351	0.98
3	370	325	1.07
4	363	381	0.95
5	365	377	0.97

即ち，重量比では骨髄対骨質が約1：10を示すのにも拘ず放射能比ではほゞ1：1を示している．従つて骨髄は骨質に比して単位重量あたり約10倍の ^{35}S を示す事をうかがわせる．

第5節　小　括

実験腫瘍をもつマウス及びラツテに AET-^{35}S を腹腔内又は皮下に投与して体内臓器及び実験腫瘍への経時的 ^{35}S の分布をみた．

臓器1mgあたりの放射能よりみた ^{35}S の分布量の経時的推移は AET-^{35}S 投与後10分，30分及び60分の3点で動物の種類及び投与法に拘らずおゝむね30分でピークを示すものが多かつた．これを臓器別にみると腎，肝，脾及び大腸に多く睾丸，大腿骨及び胸骨では前者に比して少い傾向を示した．又実験腫瘍への分布は最低値を示した．臓器

分布の中，腎へは他の臓器に比べて早くしかも多量に分布した．

腹水中の分布は，上清に多く細胞成分には少い．細胞成分への ^{35}S の分布は AET-^{35}S 投与後60分後までの経過では次第に増加する傾向を認めた．

血液中の分布は，血清に多く，血球成分に少い．又骨髄への ^{35}S の分布は相当量あると推定し得る因子を得た．

又，腹腔内投与と皮下投与の場合の投与法の違いは ^{35}S の分布像に殆んど影響を認めなかつた．実験腫瘍の差（エールリツヒ癌と吉田肉腫）が ^{35}S の分布に何らかの違いを示すかと思われたがこの二つの間には殆んど差は認め得なかつた．又，腹水をもつマウスの場合では経時的変化が少い特徴がみられた．

第3章　AET の最良投与時間について

防護剤の投与時間について云う場合，従来は投与より照射開始までの時間で行つて来た傾向にある．併しその薬剤の吸収，分解，排泄の面よりこれ等が経時的に変化する事なく，かつ，有効成分の体内濃度が経時的に一定の場合は別として，ＡＥＴの如くＭＥＧに変化しその効果を発揮し，その濃度も決して一定とは考えられない様な化合物では，投与時間について云う場合当然照射時間が問題となつて来る．以上の理由から照射前にＡＥＴを投与する場合，その時間について照射時間を考慮に入れて検討してみた．

第1節　文献的考察

著者等[10)11)]はＡＥＴの誘導体であるＭＥＧの最良投与時間についてすでに報告した．即ち，従来，防護剤の投与時間としては投与より照射開始までの時間のみ問題にされて照射時間は一般に問題にされていない．併し，防護剤が体内に有効な形で分布してこそ防護作用を発揮するのであるから Reserpin[12)] の如く投与より照射開始までの時間が12時間もあり，せいぜい10～20分程度の照射時間に比して著しく長いは別として照射開始までの時間が照射時間に比して大差がない場合には当然この照射時間が考慮に入れられなければならない．

そこで著者等[10)11)]は普通投与時間（照射時間を考慮に入れていない投与時間の仮称）より補正投与時間*（照射時間を考慮に入れた投与時間，即ち，投与より照射開始までの時間＋1/2照射時間，の仮称）を照射前防護剤投与時間とする方がより合理的であると考え，これを実験的にも説明したものである．

前に[11)] MEG•HBr 及び MEG•1/2 H_2SO_4 について補正投与時間が20分と云う値を得た．

因みに従来云われているＡＥＴの投与時間は勝原[13)]によれば，照射直前，30分前及び90分前の3点において30分が最良であると報告している．

第2節　実験方法

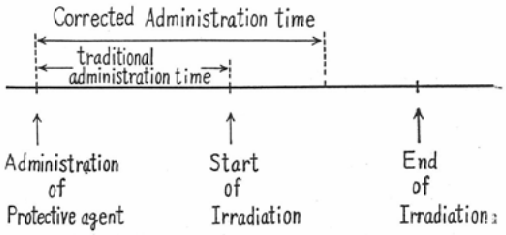
実験動物としては ddN 系雄性マウス，体重20g前後のものを用いた．照射時間によつて5分18秒照射群と19分20秒照射群に分け更にこの2群をＡＥＴ投与時間により照射開始前，0，10，20，30，40分の5群に分けた（合計10小群，各群10匹）．

尚，マウスの飼育箱への分配は at random に行い，固型飼料を自由に与えた．

本実験に使用したＡＥＴは九大薬学部（田口教授）で合成したものを用い，マウス一匹あたり 6.5mg/ 0.5cc Aq dest を夫々所定の時間に腹腔内投与した．

次いでＸ線照射について述べる．照射条件は島津信愛号を用い，管電圧 200KVP 管電流 15mA Filter Cu 1.5mm＋ Al 0.5mm とし，照射持続時間は前述の如く5分18秒（線量率 130r）と19

＊補正投与時間＝防護剤投与より照射開始までの時間＋1/2照射時間
(Corrected Administration Time＝Time between Administration of protective agent and mid-point of Irradiation time.)



分18秒（線量率36r）とした．照射線量は 700r一時全身照射である．

効果判定は，照射後30日のマウス生存率をもつてした．

第3節　実験結果

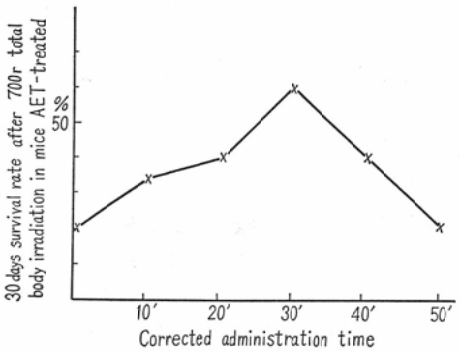
19分20秒照射群と5分18秒照射群について本章第1節で述べた照射時間を考慮に入れた照射前防護剤投与時間（即ち補正投与時間）でマウスの30日生存率を見れば，約30分前AET投与の群で60%30日生存率と云う本実験中最高の値を示している．次いで20分前投与，40分前投与の40%であり，10分前投与の35%と続いている．（表11）

Table 11　Thirty days survival rate after 700r total body irradiation in mice, treated by AET.

Corrected administration time		9′40″ (10′)	19′40″ (20′)	29′40″ (30′)	39′40″ (40′)	49′40″ (50′)
Survival rate of 19′20″ irradiated mice		3/10	2/10	6/10	4/10	2/10
Corrected administration time	2′39″ (0′)	12′39″ (10′)	22′39″ (20′)	32′39″ (30′)	42′39″ (40′)	
Survival rate of 5′18″ irradiated mice	2/10	4/10	6/10	6/10	4/10	
Total	2/10 (20%)	7/20 (35%)	8/20 (40%)	12/20 (60%)	8/20 (40%)	2/10 (20%)

更に上記の生存率が照射時の防護剤体内濃度を反映しているものと考えれば次の曲線を得る（図6）．

Fig.6 Effective concentration curve of AET.



第4節　小　括

AETでは補正投与時間で照射30分前が最良投与時間である．

第4章　総括並びに考按

AET-^{35}S 投与後の ^{35}S の体内分布についての研究は既述の如く O'Gara[23] のものがあるが経時的変化はあまり一定した傾向を示していない．併し，体内臓器への ^{35}S 分布は本実験とほゞ一致している．即ち，彼は高濃度に ^{35}S が集る臓器として肝，腎，脾及び骨髄をあげ，皮下腫瘍には非常に少いと述べている．この傾向は著者の本実験と同様である．

他の防護剤の分布については Hans[24], Peter[25] 及び Friedlich[33] 等が-Cystamine について行つているが，これ等の場合の ^{35}S 分布もAETのそれと似ている．これは代謝過程が似ているためか，他に何か因子があるものかは更に検討を待たねばならぬと考える．

吉原[16]は組織学的にAETの防護作用を検討して骨髄，睾丸，腎で効果を認めたが必ずしも著者の実験における ^{35}S の分布量の差が組織像の差となつて現われていない．

又，吉原[17]が実験腫瘍（エールリツヒ癌）の治療目的でX線照射と防護剤投与（AETを含む）で好結果を得たことは既に述べたが，彼はその説明として腫瘍組織への給血量或は周囲組織との関係で腫瘍組織内での防護剤の濃度が他の臓器に比べて低くこのためにX線の効果を減弱しないのだと述べている．本実験で AET-^{35}S 投与後の腫瘍への ^{35}S の分布をみると最低値を示していて彼の説明を一応裏づけている．

^{35}S分布の経時的変化は AET-^{35}S 投与後10分，30分，60分の3点で見たが30分でピークを示す場合が多かつた．これは後述する様にAETの最良投与時間が著者等が提唱した補正投与時間で照射

開始前30分と云う値に一致する点興味がもたれる．

次に本実験においてＡＥＴの最良投与時間は照射持続時間を考慮に入れてみると（即ち補正投与時間）照射開始前30分と云ういう値を得た．Langendorff et al[30] はラッテを用いＡＥＴ30mg腹腔内投与10分後550r全身照射して対照群生存率28%に対して66%の生存率を得ている．牟田[31]はマウスを用いて実験しているが同じくＡＥＴ投与後10分で照射したもので最も高い生存率を得ている．又．我が教室の勝原[13]はＡＥＴのマウス半数致死量の1/2（LD_{50}　9.7mg/20ｇマウス）を腹腔内注射後30分で 700r 全身照射し75%の生存率を得てＡＥＴでは照射前30分に投与するのが最良であると報告している．この様に照射前10分乃至30分が良いとするものが多い．

併し，著者は岡村等[10][11]と共に照射前防護剤投与時間に，それまであまり考慮に入れられていなかつた照射持続時間は当然考慮されるべきものとし，第３章第１節で述べた如く投与より照射までの時間＋1/2照射時間を照射前投与時間とした．

さきにＭＥＧにつき実験を行い，補正投与時間が20分である様な時間に投与するのが最も良いと報告した．

今回はＡＥＴにつき実験を行い補正投与時間が30分となる様な時間が最も良い生存率を示した訳であるが，ＭＥＧが20分，ＡＥＴが30分と云う時間の差はＡＥＴがＭＥＧとなつて体内で防護作用を示すと云う Oak Ridge National Laboratory の報告の如くＡＥＴ→ＭＥＧの transguanylation に関係があるのではなかろうかと考える．Critical organ としていろいろあるだろうが AET-^{35}S の体内分布で30分でピークを示した事はある程度有効濃度曲線をうらづけるものと考えられるし，ＡＥＴ投与の場合は投与して防護効果を発揮するのがＭＥＧの場合のそれと比べておそいと云う事は当然考えられる．尚，勝原の30分と云うデータは1/2照射時間は考えに入れていないが，彼の場合照射直前，30分及び90分の比較で時間の間隔が著者の場合に比べて非常に粗いから直接対比出来ない．

第５章　AET-^{35}S の合成

本実験で用いたＡＥＴ及び AET-^{35}S の合成は九大薬学部（田口教授）[36][37]で行われたものでＡＥＴの確認には融点測定法及びクロマトグラフイーによつた（^{35}S でラベルされたチオ尿素より合成）．

第６章　結　　論

AET-^{35}S を投与した場合のマウス及びラッテにおける経時的 S^{35} 体内分布及びＡＥＴの最良投与時間につき実験を行い，次の結果を得た．

1）AET-^{35}S 投与後の ^{35}S 分布を経時的にみると10分，30分及び60分の３点ではほとんどすべての臓器で30分で最高値を示した．但し，腹水癌をもつマウスの場合（AET-^{35}S 皮下投与）は10分と30分の間に大きな差はなかつた．

2）臓器別にみると ^{35}S 分布は腎に最大で肝，脾，大腸がこれに次ぎ，睾丸，大腿骨，胸骨への分布は少い．

3）実験皮下腫瘍（エールリッヒ皮下固型癌，吉田皮下肉腫）への ^{35}S 分布は最低である．

4）腹水癌での分布は上清に多く細胞成分に少い．

5）血液での分布は血清に多く，血球成分に少い．

6）骨髄への分布は大である．

7）ＡＥＴの投与時間について我々の云う補正投与時間が30分である様な時間が最良である．

擱筆するにあたり，御指導御鞭達を戴いた恩師入江英雄教授に深甚なる謝意を捧げると共に，種々の御教示を賜つた九大薬学部田口教授，小島助教授に感謝の意を表します．

本論文の要旨は第３，５回日本放射線影響学会で発表した．

（本研究は文部省科学研究費によるものである事を附記して感謝致します．）

文　　献

1) Patt H.M. et al.: Cysteine Protection against x-irradiation. Science 110, 213, 1949.
2) H. Langendorff, R. Koch: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. Strahlentherapie 95, 238, 1954.
3) H. Langendorff, R. Koch: Untersuchungen

über einen biologischen Strahlenschutz. Strahlentherapie 98, 245, 1955.
4) Brron E.S.G.: The effect of ionizing radiation on some systems of biological importance. Symposium on Radiology. Editor J.J. Nickson p. 216.
5) Z.M. Bacq: Fundamentals of Radiology Academic Press N.Y. 1955.
6) A. Hollender: Fundamental aspects of radiation protection from microbiological part of view. Physical Revs. 33, 77, 1956.
7) A. Pihl: Studies on the mechanism of protection against ionizing radiation by compounds of the cysteamine cysteine group. In advance in Radiology 1957.
8) A. Pihl: On the mode of action of x-ray protective agent. J. Biol. chem. 227, 339—345, 1957.
9) R. Shapiro et al.: Chemical protection against ionizing radiation. Rad. Research. 7: 22, 1957.
10) 片山，岡村，吉本：放射線防護剤の生体内有効濃度曲線の提唱，医学のあゆみ，36，No. 6, 305—306, 1960.
11) 片山，岡村，吉本：放射線防護剤の作用曲線と補正投与時間の提唱，MEG・HBr 及び MEG・$^1/_2$ H_2SO_4 について，日医放誌，21巻，8号，773, 1961.
12) H. Langendorff et al.: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. Strahlentherapie. 108, 57, 1957.
13) 勝原良：新化学物質の放射線防護作用等に関する実験的研究，日医放誌，19巻，1号，73—92, 1959.
14) 山口梅雄：レントゲン線による下肢発育障害とその防護剤の研究，福岡医学雑誌，49巻，6号，1435—1457, 1958.
15) 早川浩助：放射線障害化学的防護剤に関する実験的研究，福岡医学雑誌，49巻，6号，1186—1197, 1958.
16) 吉原英利：正常及び癌組織に対するX線作用に及ぼす二種の薬剤についての実験的研究，日医放誌，23巻，1号，1, 1963.
17) Irie H. et al Influence of the Radiation protective agents on the Therapeutical Effects of Radiations for malignant tissue. Chemotherapia. Vol 3, 176—188, 1961.
18) 岡村重昭：新放射線防護剤 AET, ACT trans 及び ACT cis に関する実験的研究，日医放誌，19巻，12号，29—58. 1960.
19) Roy L. Mundy, Melvin H. Heiffer & Howard C Leifheit. Blood and Urine Sulfhydryl and Disulfide Levels after Large Doses of Beta-Mercaptoethylamine (MEA) or Cystamine. Rad. Research. 14, 421—425, 1961.
20) E. Anne, Dickens & B. Shapiro. The mechanism of Action of AET II The interaction between proteins and 2-mercaptoethylguanidine and Bis (2-guanidoethyl) Disulfide in Aqueous Solutions. Rad Research14, 308—322, 1961.
21) E.P. Conte & C.S. Meville Jr.: Tracer study of the phisiology of ^{35}s-labeled β-AET dibromide. U.S.A.F. School of Aviation Medicine Report No. 57 122, July 1957.
22) R.H. Bradfard, R. Shapira & D.G. Doherty: The Intracellular Distribution and Binding of Radiation Protective Mercaptoethylguanidine. Intern J. Radiation. Biol 3, 595—608, 1961.
23) O' Gara et al.: Tissue Distribution of Radioactivity following administration of ^{35}S labeled AET in normal and tumor bearing mice. Fed. proc. 18, 429, 1959.
24) Hans J.H.: Zur Frage des Schutzmechanismus der Sulfhydryl-(SH) Substanzen. Strahlentherapie. 108, 73, 1959.
25) Peter V.: Die S-35 Verteilung und Ausscheidung nach Injektion S-35 markierten Cystamine bei der Maus. Strahlentherapie. 118, 4, 1962.
26) K.G. Lüning, H. Frölein and A. Nelson: The Protective Effect of Cysteamine against Genetic Damage by x-ray in Spermatozoa from Mice. Rad Research. 14, 813, 1961.
27) Kollmann et B. Shapiro: The mechanism of action of AET. IV The distribution and chemical forms of 2-mercaptoethylguanidine and Bis (2-guanidoethyl) Disulfide in protected mice. Rad Research. 18, 17, 1963.
28) 安徳重敏：化学保護の作用機序に関する考察，日医放誌，23巻，2号，221, 1963.
29) アイソトープ実験技術，第1集，トレサーテクニック，化学の領域，増刊，17，P. 100, 1955，南江堂，東京.
30) Langendorff. H.: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz IV Strahlentherapie93, 281, 1954.
31) 牟田信義，小祝聰一郎：MEGのエックス線防護効果について，日医放誌，20巻，2号，346, 1960.
32) Annabelle Cohen B.A.: Effects of AET and 5H・T on the response of C_3H mammary tumor isografts to irradiation in vivo. Brit. J. Radiol. vol 35 No. 411, 200, 1962.
33) Friedlich Gensicke: Die ^{35}s-Verteilung u Ausscheidung nach Injektion ^{35}s markierten Cystamine bei der Maus. Strahlentherapie. 118, 4, 561, 1962.

34) Kamen M.D.: Isotopic Tracers in Biology An Introduction to Tracer Methodology Academic Press Inc. N.Y.
35) Bernord Shapiro et al.: The mechanism of Action of AET. IV The Distribution and the chemical forms of MEG and GED in protected mice. Rad. Research. 18, 17—30, 1963.
36) 田口，小島，小森：立体化学の研究（第26報），2-(2-Aminoalkyl)-2-thiopseudourea の製法，薬学雑誌，81，1229，1961.
37) 赤星三弥：放射線防護物質 Chemical protector について，薬学雑誌，83 (11)，1015—1015.
38) Bacq: Protection against x-rays and therapy of radiation sickness with β mercaptoethylamine. Science 117, 633, 1953.
39) Baeq: Ein chemischer Schutz gegen Röntgenstrahlungen. Strahlentherapie. 95, 215, 1954.
40) Bacq: The amines and particulary Cysteamine as protectors against roentgen rays Acta. Radiol. 41, 47, 1954.
41) Bacq: On chemical protection against ionizing radiation. Acta, Radiol. 41, 59, 1954.
42) Langendorff H.: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz IV.Strahlentherapie. 93, 281, 1954.
43) Langendorff H.: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz VIII. Strahlentherapie. 95, 238, 1954.
44) Langendorff H.: Untersuchngen über einen biologischen Strahlenschutz IX.Strahlentherapie. 95, 535, 1954.
45) Langendorff H.: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz XIV. Strahlentherapie. 99, 567, 1956.
46) Langendorff H.: β-Aminoisothiuroneum als peroral wirksame Strahensubstanz. Naturwissenschaften. 43, 524, 1956.
47) Doherty D.G. et al.: Protective effect of S, β-aminoethyl-isothiuroneum bromide hydrobromide and related compounds against x-radiation death in mice Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 89, 312, 1956.
48) Kimball A.W & Dokerty D.G.: Chemical protection against ionizing radiation I Rad. Research. 7, 1, 1959.
49) Doherty D.G & Shapira R. Chemical protection against Ionizing Radiation II Rad. Research. 7, 13, 1957.
50) Symposium on the effects of radiation on man in the Atomic energy era. 1958 Japan Science Council.