



Title	放射線被曝マウスに及ぼす薬物効果に関する研究（第1報）イノシン(Hypoxanthine-ribose)について
Author(s)	服部, 行麗
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1971, 31(1), p. 17-24
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/17109
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

放射線被曝マウスに及ぼす薬物効果に関する研究 (第 1 報)

イノシン (Hypoxanthine-ribose) について

鹿児島市立病院放射線科 (部長: 上川路陸博博士)

服 部 行 麗

(昭和45年12月25日受付)

The experimental study on pharmacological effect to irradiated mice.

(Part 1) Effect of Inosine

By

Yukiyo Hattori

Department of Radiology, Kagoshima-City Hospital

(Chief: Yoshihiro Kamikawaji)

The following is a study of the effects of Inosine on survival rate and body weight of irradiated mice.

First dd-strain mice were given 600R of whole body irradiation by 6 MeV Linac, and then on each day of the following 7 days, they were given various shots of subcutaneous injection of Inosine on the back. Its quantity varied from 0.01mg to 1.0 mg per 0.1cc according to the group.

- 1) The survival rate of the mice with no Inosine was 10% and their LD₅₀ was 12 days.
- 2) The groups of mice with 0.01 mg to 0.5 mg of Inosine showed an apparent recovery with uprise of survival rate and body weight.
- 3) With the use of 1.0 mg of Inosine, no recovery was to be observed at all.
- 4) 1.0 mg of Inosine showed no influence with non-irradiated mice.
- 5) From the above observation author came to the conclusion that the proper amount of Inosine to use on them was from 0.01 mg to 0.5 mg when 600R was irradiated by Linac.

緒 論

電離放射線は生体に対して致死効果をもつが、一方、生体自体には回復現象があることが知られている。この回復現象は、放射線障害の予防やその治療、あるいは悪性腫瘍の治療効果を高める意味でもきわめて重要な因子である。

回復効果が薬物により修飾されることは、多くの報告で知られているが、薬物の投与量と回復効果の関係を論じたものは少ない。著者はこれらの

関係を知ることは、悪性腫瘍の放射線療法に重要な手がかりを提供するものと考え、放射線被曝マウスにおよぼす薬物の効果を、その投与量との関係について検討を試みた。今回はイノシンを用いて検討したのでその結果を報告する。

実験方法

実験動物として生後8~10週令の雌dd系マウス、体重22g前後のもの100匹を選んだ。これらのマウスを、マウスゲージ内で1週間飼育し環境

に慣らしたのち実験に用いた。飼育は鹿児島大学医学部医動物学教室の飼育室で行ない、飼料は固型飼料（オリエンタル酵母工業：MF）を用い、水とともに常時与えた。

イノシン製剤として、アミノシン注射液（1cc中イノシン 200mg含有：東亜栄養化学工業株式会社製）と、同社より提供されたアミノシン注射液用の溶媒を用いた。

実験には、100匹のマウスを無差別に10匹ずつ10群にわけた。

照射方法は6 MeV Linac X線を用い、10群のうち8群には全身1回 600R照射し（照射群）、他の2群には照射は行なわなかつた（非照射群）。X線照射の際には Bild-up を考慮して、マウスの背部に1.5cmのアクリル板を置いて照射した。従つて、マウスの背部において 600R 照射したことになる。

照射群のうち、第1群は対照として無処置のままにし、残りの第2群より第8群の7群には、表1にしめすように溶媒 0.1cc と、イノシンを 0.1cc 中に 0 mg, 0.01mg, 0.05mg, 0.1mg, 0.2mg, 0.5mg および 1.0mg 含有するように溶媒で調整したものを、照射後より1日1回、7日間にわたり 0.1cc ずつマウスの背部皮下に注射した。

非照射群の第9群は溶媒 0.1cc を注射し、第10

群は 0.1cc 中、イノシン 1.0mg を含有するものを 0.1cc、照射群と同様に1日1回、7日間にわたりマウスの背部皮下に注射した。

これらの10群のマウスの生存率および体重の変化を30日間観察した。体重は毎日各群ごとに測定した。

実験結果

1. 照射群へのイノシンおよび溶媒の影響

a: 生存率

対照とした 600R 照射後無処置の第1群の生存率は 10% であつた。

600R 照射後、0.1cc 中イノシン 0 mg（溶媒のみ）注射した第2群の生存率は 40% で、以下イノシンの注射濃度別にその生存率を記すと、0.01mg 注射した第3群は 100%，0.05mg 注射した第4群は 80%，0.1mg 注射した第5群は 100%，0.2mg 注射した第6群は 70%，0.5mg 注射した第7群は 90% および 1.0mg 注射した第8群は 10% であつた（表1、図2 (b) - 8 (b)）。

b: 生存日数

各群の平均生存日数は、対照の第1群が 13.7 日で、第2群以下第8群までは、それぞれ 21.6 日、30 日、28.2 日、30 日、26.7 日、28.5 日および 13.7 日であつた（表1）。

これらの成績で、イノシンの注射を行なつた各

Table 1. The result of experimental study on the effect of injection of various dose of Inosine and its solvent to the irradiated mice by 6 MeV Linac X-ray.

Group of mice	No. of mice used	Dose of irradiation (rad)	Dose of Inosine injected to mice (mg)	Solvent of Inosine injected to mice (cc)	Average survival		Average weights (g)
					(percentage*)	(days)	
1.	10	600	(—)	(—)	10(0.25 — 44.5)	13.7±2.19	24.0
2.	10	600	0	0.1	40(12.2 — 73.8)	21.6±8.57	23.0
3.	10	600	0.01	(—)	100(69.1 — 100.0)	30.0	21.0
4.	10	600	0.05	(—)	80(44.4 — 97.5)	28.2±4.74	21.5
5.	10	600	0.1	(—)	100(69.1 — 100.0)	30.0	21.0
6.	10	600	0.2	(—)	70(34.8 — 93.3)	26.7±7.27	23.5
7.	10	600	0.5	(—)	90(55.5 — 99.8)	28.5±4.74	22.0
8.	10	600	1.0	(—)	10(0.25 — 44.5)	13.7±2.19	24.0
9.	10	(—)	(—)	0.1	100(69.1 — 100.0)	30.0	22.0
10.	10	(—)	1.0	(—)	100(69.1 — 100.0)	30.0	23.5

* Confidence limits 95%

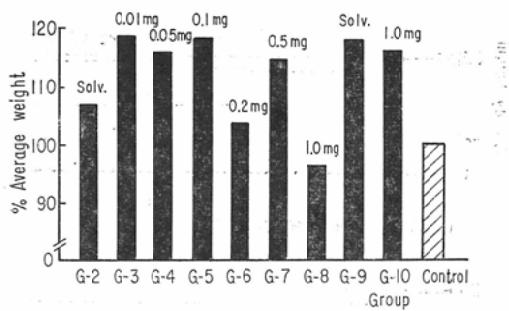


Fig. 1. Average weight of mice compared with control (Group 1)

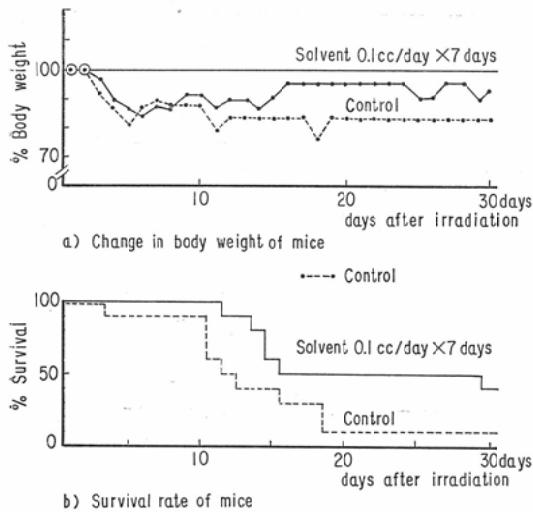


Fig. 2. Group 2

Change in body weight and survival rate per day of mice to which 0.1cc Solvent was injected after 600R irradiation by 6 MeV Linac.

群のうち、0.01mg, 0.05mg, 0.1mg, 0.2mgおよび0.5mg注射群、すなわち、第3, 4, 5, 6および第7群では、生存率と生存日数に関して対照との間に有意の差が認められた。しかし、1.0mg注射した第8群では有意差は認められなかつた。

c : 体重

使用したマウスの平均体重は 22.5 ± 1.18 gであった。

30日間の各群の体重の経時的変動を対照と比較すると、溶媒のみ注射した第2群では増加の傾向がみられた。イノシン0.01mgの第3群、0.05mgの第4群、0.1mgの第5群および0.5mg注射の

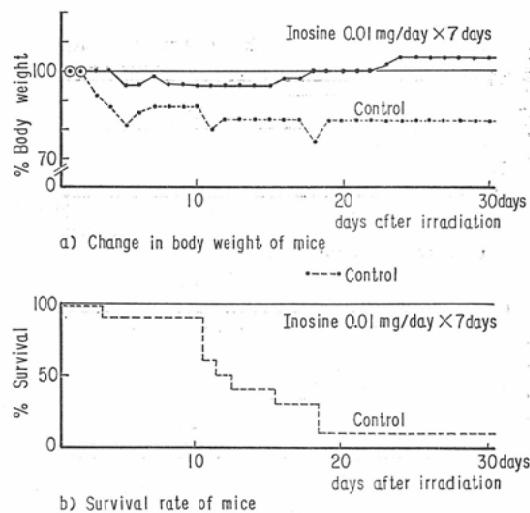


Fig. 3. Group 3

Change in body weight and survival rate per day of mice to which 0.01mg Inosine was injected after 600R irradiation by 6 MeV Linac

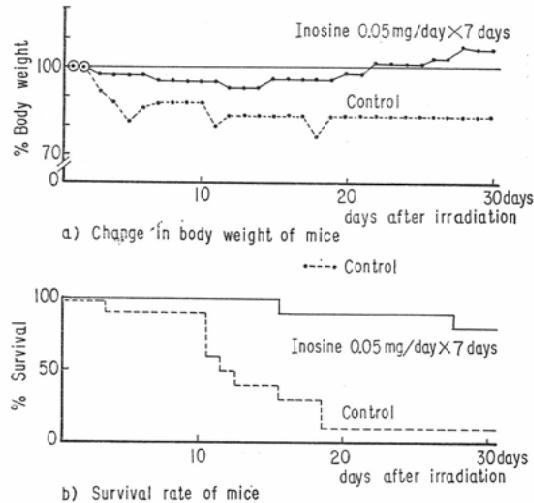


Fig. 4. Group 4

Change in body weight and survival rate per day of mice to which 0.05mg Inosine was injected after 600R irradiation by 6 MeV Linac.

第7群では著明な体重の増加がみられた。0.2mg注射の第6群の体重増加は軽微であつた。1.0mg注射の第8群では体重の増加はみられず、30日間には対照より減少した日もあつた(図2(a))。

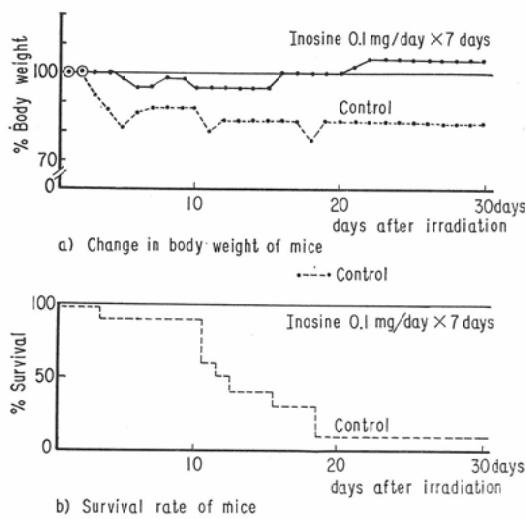


Fig. 5. Group 5

Change in body weight and survival rate per day of mice to which 0.1mg Inosine was injected after 600R irradiation by 6 MeV Linac.

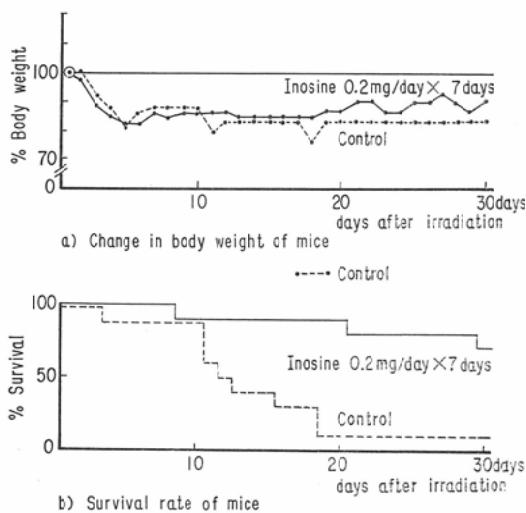


Fig. 6. Group 6

Change in body weight and survival rate per day of mice to which 0.2mg Inosine was injected after 600R irradiation by 6 MeV Linac.

図8 (a)) .

30日間の各群の平均体重を対照を基準として比較すると、経時的変動で減少のはなはだしかつた第8群を除き、他の群はすべて対照より増加をし

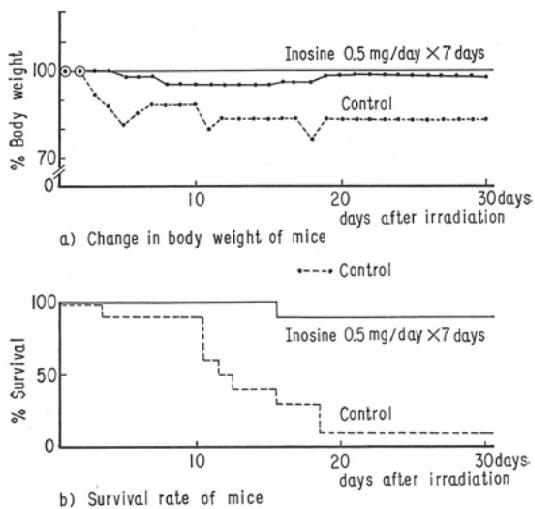


Fig. 7. Group 7

Change in body weight and survival rate per day of mice to which 0.5mg Inosine was injected after 600R irradiation by 6 MeV Linac.

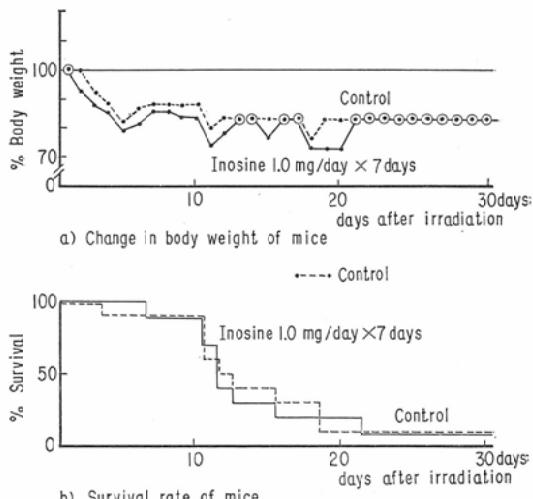


Fig. 8. Group 8

Change in body weight and survival rate per day of mice to which 1.0mg Inosine was injected after 600R Irradiation by 6 MeV Linac.

めした(図1).

2. 非照射群

非照射群へのイノシンおよび溶媒投与の影響

第9群および第10群については放射線は照射せず、薬物の影響のみを観察した。第9群は溶媒

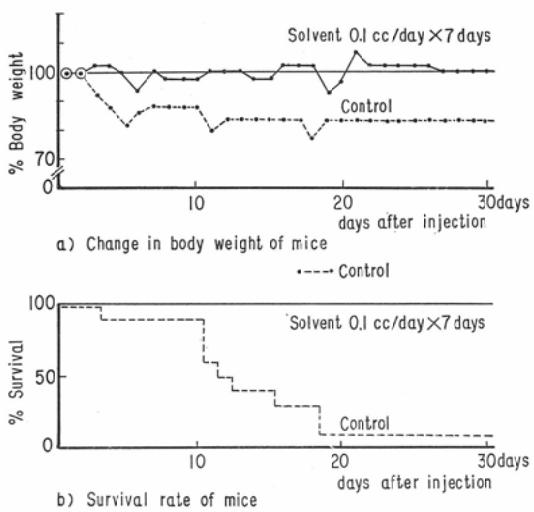


Fig. 9. Group 9

Change in body weight and survival rate per day of mice with no irradiation to which 0.1cc Solvent was injected.

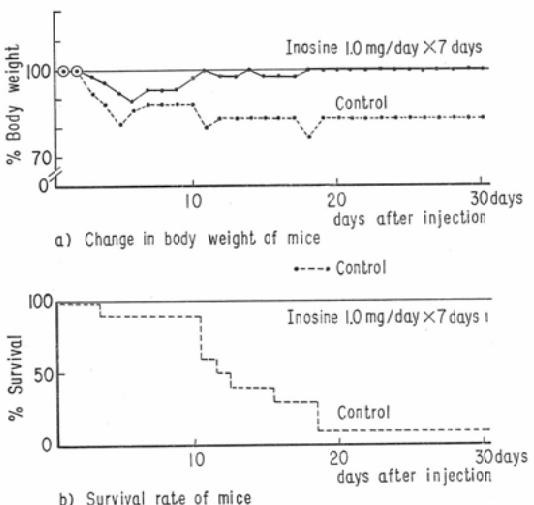


Fig. 10. Group 10

Change in body weight and survival rate per day of mice with no irradiation to which 1.0mg Inosine was injected.

0.1cc注射群で、第10群はイノシン 1.0mg注射群である。

a : 生存率および生存日数

生存率は両群とも 100%で、全例30日間生存した(表1, 図9 (b), 10 (b)).

b : 体重

体重は対照の第1群と比較して著明な増加をしました(図1, 9 (a), 10 (a)).

考 案

放射線被曝マウスにおよぼすイノシンの影響について、本邦における実験報告は数多くはみられない。中島⁵らは、マウスに 500R 全身1回照射し、その後5日間にわたり 0.2mgと 2.0mgのイノシンを腹腔内に注射し、30日間観察している。この報告によると、イノシンの投与量に関係なく生存率の向上がみられ有効であったとしている。高橋ら⁹は、マウスに 500R 全身1回照射後、7日間にわたり生理食塩水20cc中イノシン40mg含有のものと、強力モリアミンS 20cc中イノシン40mg含有のものを、S.A.系マウスと C₃H 系マウスを用い、これらの背部皮下に体重20gあたり 0.1cc の割合で注射し、20日間観察している。これによると、生存率および体重減少に関して有効であつたと報告している。

これらの報告からイノシンには、マウスの放射線障害に対して回復効果を高める作用のあることが認められるが、それぞれの実験条件が少しづつ異なるので、各実験成績を定量的に比較することは困難である。

マウスの放射線致死効果について立入⁸は、X線全身照射による LD_{50/30} は 400—650R とし、久田⁸は 520—670 と報告している。これらの報告にみられるように線量に巾があるのは、マウスの系統により放射線感受性の差があることも一つの原因と考えられる。すなわち、榎本がまとめた報告¹²では BALB/C系の LD_{50/30} は 500R で C₃H 系では 655R としており、高橋も、この系統による放射線感受性の差について指摘している。

今回著者が行なつた 6 MeV Linac X線を用いた実験では、dd 系マウスの全身1回 600R 照射時の LD₅₀ は 12 日であり、LD₁₀₀ は 31 日であつた (LD_{50/12}, LD_{100/31})。

はじめに、生存率におよぼすイノシンの効果について検討すると、0.01mgから 0.5mg注射群では対照と比較して有意の差がみられた。すなわち、

表1にしめすように、生存率は第3群(0.01mg注)が100%, 第4群(0.05mg注)が80%, 第5群(0.1mg注)が100%, 第6群(0.2mg注)が70%および第7群(0.5mg)が90%であり、その生存率は対照に比べて著しく向上した。しかし、第8群(1.0mg注)では生存率は対照と同じく10%で、有意の差はみられず、生存率の向上はみられなかつた。すなわち、図8にしめすように、生存率は対照と似た変化をしめした。しかし、1.0mgのイノシンを注射し、放射線は照射しなかつた第10群と、単に溶媒だけ注射した第9群とでは、その生存率は100%であつた。

これより、イノシン1.0mgの注射は、非照射マウスに対して生存率に影響を与えないし、かつ溶媒のみの注射群でも、その生存率には影響を与えないことがわかつた。従つて1.0mg以下の注射でも、非照射マウスにはその生存率には影響を与えないであろうことが推定される。

一方照射マウスに対しては、0.1mgから0.5mgまでのイノシンはその生存率を著明に高めるのに反し、1.0mg注射群ではその生存率にはほとんど影響を与えないのは簡単に結論しえないが、おそらくは、放射線障害を受けたマウスの耐薬量の低下によるものであろうと推定される。

中島らは、イノシン2.0mg5日間腹腔内注射群で90%の生存率がえられ、0.2mgでは50%の生存率がえられたと報告している。中島らの実験では、著者と異なり、腹腔内注射であること、投与した薬液量およびマウスの系統について記載されていないことなどにより、その成績を著者の成績と比較することは困難であるが、照射条件の差が最も関与しているのではないかと考えられる。ちなみに、中島らの成績では照射のみ行なつた対照群の生存率は30日間で約30%であり、著者では10%であつた。線量および線質の差により、マウスの受けた放射線障害に程度の差があり、その結果、イノシン2.0mgでも十分耐え得たのではなかろうかと推定される。

高橋らの報告では、マウス20gあたり0.1ccを注射する方法が用いられており、この方法では、

体重約20gのマウスに対してイノシン0.2mgを注射したことになる。イノシンの注射量ならびに含有されるイノシンの量も著者の実験とほぼ類似しているが、その成績も同様に有効であり、生存数が増加したと報告している。

著者の成績から生存率に関して結論できることは、放射線被曝マウスの回復に対し、イノシンは有効であると同時に、その投与量には、至適量があるということである。

体重の変化は、前述のごとく、各群の平均体重を対照の第1群の平均値と経時に比較して検討したが、0.01mg, 0.05mg, 0.1mgおよび0.5mg注射した群では著明な体重の増加がみられ、このうち0.01mg, 0.05mgおよび0.1mg注射した群では、実験後半において、実験開始時より体重が増加してきた。0.2mg注射群では、体重増加は軽度であつた。また、1.0mg注射群では体重の増加はみられず、対照と似た変化をしめした。照射は行なわず、溶媒だけ注射した群と、イノシン1.0mgだけ注射した群では、いずれも体重の増加は著明であり、イノシン1.0mgおよび溶媒は、非照射マウスに対して有害な作用はないことが考えられる。

これらの成績を前述の生存率と比較してみると、いずれの群でも、生存率の高くなるほど体重は増加の傾向がみられた。逆にいえば、死亡率の高いほど体重の減少も著明であつた。このことは第8群でも同様で、放射線照射後イノシン1.0mg注射群の生存率は対照と同様であつたが、体重でも同様に減少の傾向をしめした。

また30日間の平均体重を対照と比較すると、第8群をのぞき、他の群はいずれも対照より増加した。この点に関しては、生存率について考察したことと同様な理由であろうと考えられる。

溶媒についてあるが、溶媒をもあわせて検討することは、溶媒の作用を無視できない場合があるのでないかという考慮からであり、溶媒に何らかの作用があるとすれば、得られた結果は、薬物の作用だけとはいえなくなる。今回の実験では対照と比較して、推計学的に有意の差は証明されないにしても、対照より、生存率が向上している

のは興味あることと考えられる。ちなみに、この溶媒の主成分は、硼酸と水酸化ナトリウムであるといわれる。

放射線障害の発現については、古くから直接作用と間接作用があげられているが、細胞についてみると、核酸のDNAの障害がもつとも重大な要因とされている。放射線は、直接DNAの合成過程を阻害することが知られているが、DNA障害の主体をなすものは、DNAの鎖切断、すなわち、磷酸と糖の結合が切れることが説明されている。一方、DNAの切断がおこると、DNAの修復がおこり、細胞内において直ちにDNAの再結合の働きがみられる。再結合の機序に関して松平⁴⁾は次の如く説明している。

DNAの二重ラセン構造のどこかに切断があり、それが相隣のnucleotideの間の3'-OH-5'P型のものであつて、反対側の核酸鎖が無傷であれば、ATP, Mgの存在下で(ポリヌクレオチド)リガーゼと呼ばれる酵素が作用して、その切断を再結合する。ところが、X線によつて生じた核酸鎖の切断端は、リガーゼがすぐに作用するような形でなく、エネルギー(おそらくATP)依存核酸分解酵素反応があつて、X線によつて生じた核酸分子の変化した部分の近くに切断が入り、(核酸)ポリメラーゼが、不必要となつた分子の除去および再合成を行ない、最後にリガーゼが働いて最終的な再結合をするというモデルを考えられるという。DNAの修復が十分行なわれず、DNAに異常が発現すると、その異常は、そのままRNAに伝えられ、このため正常な蛋白質、とくに酵素の合成が阻害され、細胞分裂が正常に行なわれないとされる形で、放射線障害が発現する。またRNAの合成には、DNAのprimer活性が必要であるとされているが、放射線の照射で、このprimer活性は低下し、RNAの代謝が十分行なわれなくなるといふ。

最後に、放射線障害の回復に対するイノシンの作用機序について考察を加えてみたい。

イノシンは、HypoxanthineとRiboseからなるnucleosideであり、Hypoxanthine-riboseと言

われる。これが生体内に入ると、細胞内で Ribose-1-phosphateとなり、次いで Ribose-5-phosphate(R-5-P)となる。このR-5-Pは糖代謝に関与し、Glycerine aldehyde-3.phosphateから Pyruvic acidになる時にATPを生じ、またR-5-Pは、Phosphoribosyl pyrophosphateを経て、AMP, ADP, ATPなどのnucleotideとなる。また、R-5-Pから Fructose-6-phosphate, Glucose-6-phosphateの過程をへて Pyruvic acidになる。これらの過程でイノシンは糖代謝に関与し、解糖系を円滑にするとともに、ATPを产生し、これにより細胞内のATPレベルの上昇をはかつている。また、佐橋ら⁶⁾によるとイノシンは、焦性ブドウ酸々化酵素系のThiamine diphosphateの活性を促進する働きがあり、同様に、Xanthine oxidaseの活性化作用があることをラットを用いた実験で証明されている。この他、Shull⁷⁾やFarber⁸⁾のラットの肝細胞を用いての実験報告があり、この中でも、ATPレベルの上昇が認められるとしており、Villa-Trevino¹⁰⁾によつても同様のこととが報告されている。

以上のようなイノシンの代謝系における各種の生化学的作用、とくに細胞内ATPレベルの上昇作用や、酵素系の活性促進作用は、放射線障害を受けた細胞の機能を賦活し、回復的に作用するのではなかろうかと考える。

結論

dd系マウスに6MeV Linac X線 600R全身1回照射を行ない、照射後イノシン0.1cc中、0.01mgから1.0mgの範囲で7日間マウスの背部皮下に注射を行なつて、照射マウスの生存率および体重におよばすイノシンの効果を検討して次の結論をえた。

1. dd系マウスの6MeV Linac X線 600Rの30日間の生存率は10%で、LD_{50/12}であった。
2. イノシン0.01mgから1.0mgの範囲で、その効果を検討すると、イノシン0.01mgから0.5mgの範囲では、生存率および体重の上昇がみられ、回復効果がみられた。
3. イノシン1.0mgでは、回復効果はみられ

ず、生存率および体重の上昇はみられなかつた。

4. 照射を行なわず、イノシンだけ 1.0mg注射した群と、溶媒だけ 0.1cc注射した群は、その生存率に影響はみられなかつた。

5. 以上の成績から、照射マウスの回復に対して、イノシンには至適投与量があることが推定され、Linac X線で 600R照射の場合、回復におよぼす至適投与量は0.01mgから 0.5mgの範囲であるといえる。

(稿を終えるにあたり、御指導、御助言いたゞいた鹿児島市立病院放射線科部長上川路陸博博士に感謝する。また、動物実験に関して御指導、御助言いたゞいた鹿児島大学医学部医動物学教室佐藤淳夫教授、多田功助教授に感謝し、実験に協力いただいた長野耕二文部技官、国料ケイ子嬢に感謝する。

本論文の要旨は、第29回九州癌研究会で発表した。)

文 献

- 1) 楠本好和：放射線科学，12 (1969), 17.
- 2) Farber, E. et al.: Biochem. Pharm. 14 (1965), 762.
- 3) 久田欣一：最新放射線科学：(1969), 129, 金原出版。
- 4) 松平寛通：放射線科学，13 (1970), 325.
- 5) 中島典嗣他：日医放会誌，29 (1969), 400.
- 6) 佐橋佳一他：J. Vitaminology, 7(1961), 271.
- 7) Shull, K.H. et al.: Biochem. Biophys. Res. Com. 16 (1964), 101.
- 8) 立入 弘：放射線医学入門：(1961), 443, 南山堂。
- 9) 高橋貞一郎他：東京慈恵会医科大学雑誌，82 (1967), 109.
- 10) Villa-Trevino, S. et al.: J. Biol. Chem. 239 (1963), 1757.