

Title	放射線による造血障害に対するセファランチンの影響-CFU-Cの計測及び骨髓, 脾臓の組織学的検討-
Author(s)	森, 将晏; 川崎, 誠治; 佐長, 正則 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1989, 49(5), p. 667-674
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/17212
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

放射線による造血障害に対するセファランチンの影響

—CFU-Cの計測及び骨髄，脾臓の組織学的検討—

*1 岡山大学医学部第一病理学教室

*2 川崎医科大学実験病理学教室

*3 岡山大学医学部第一外科学教室

森 将晏*1 川崎 誠治*1 佐長 正則*1

栗井 通泰*1 定平 吉都*2 小野 稔*3

（昭和63年9月29日受付）

（昭和63年12月14日最終原稿受付）

The Effect of Cepharanthin on the Hemopoietic Suppression by X-Ray Irradiation —Hematological and Histological Studies—

Masaharu Mori*1, Seiji Kawasaki*1, Masanori Sacho*1, Michiyasu Awai*1,
Yoshito Sadahira*2 and Minoru Ono*3

*1Department of Pathology, Okayama University Medical School

*2Department of Experimental Pathology, Kawasaki Medical School

*3First Department of Surgery, Okayama University Medical School

Research Code No. : 303.1, 404.1, 408

Key Words : X-ray irradiation, Hemopoiesis, CFU-C,
Cepharanthin, Mouse

The effects of cepharanthin on the suppression of hemopoiesis by X-ray irradiation were studied. A whole body X-irradiation (3 Gy) induced decrease of leucocyte count, nucleated cell count of bone marrow, myeloid stem cell count (CFU-C), and spleen weight.

Oral administration of cepharanthin (25 mg/kg BW or 50 mg/kg BW) tended to decrease these damage on hemopoiesis, and increased spleen weight on 5th day after irradiation. Histological examinations revealed that the administration of cepharanthin accerelated the hemopoietic recovery in the red pulp of spleen.

緒 言

骨髄抑制は悪性腫瘍の化学療法や放射線療法による副作用の中で重大な位置をしめており，易感染性，出血傾向などにより治療の中止を余儀なくされることすら起こる．この副作用としての骨髄抑制を軽減するために色々と試みがなされている．セファランチンはタマサキツブラフジから抽出したビスコクラウリン型アルカロイドの一種で細胞膜の安定化作用¹⁾²⁾，網内系機能促進作用³⁾，抗

体産生促進作用⁴⁾⁵⁾，担癌マウス脾細胞のADCC活性の増強作用⁶⁾，抗アレルギー作用⁷⁾⁸⁾等を有し，蝮咬症などに使用されると共に，臨床的に制癌剤投与や放射線照射による白血球減少の予防に使用されている⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾．

我々は以前セファランチン投与によりマイトマイシンC投与による白血球減少が軽減され，脾臓における造血系の障害も軽度であることを報告した¹²⁾．今回はマウスを用いて放射線による造血障

害に対するセファランチンの防御効果について末梢白血球数、骨髄有核細胞数、脾重量、造血幹細胞数(CFU-C)を計測すると共に、骨髄、脾臓について組織学的に検討した。

材料及び方法

C3H/HeN マウス(8週齢雄, チャールズリバー)にセファランチン(25mg/kgBW 又は 50 mg/KgBW)を連日経口投与し一週間に X線3 Gyを全身照射した。X線照射は東芝 KXC-19型装置を用い、0.5Cu+0.5Al フィルターを装着し、焦点試料間距離60cm, 200kVp, 25mA, 0.52Gy/minの条件で行なった。対照としては蒸留水をセファランチンの代わりに経口投与したのものを用い、計測はそれぞれの点につき4~8匹ずつ行なった。照射後もセファランチンを連日投与した。照射後1, 3, 5, 7, 10日目に末梢白血球数を計測したのち屠殺し、脾重量の計測を行なった。大腿骨骨髄は一本を20%牛胎児血清を含むDMEM培地に浮遊し、大腿骨一本あたりの骨髄有核細胞数の算定を行なうと共にCFU-Cの算定に用いた。

コロニー刺激因子の作製: 2×10^6 個/mlの脾細胞を1% Pokeweed mitogen (DIFCO), 10%牛胎児血清を含むRPMI1640培地に浮遊し、37°C, 5%CO₂下で一週間培養し、その培養上清をコロ

ニー刺激因子(SPCM)として用いた。

CFU-Cの算定: CFU-Cの算定にはコラーゲンゲルを用いた。即ち、コラーゲン溶液(3mg/ml, Cellmatrix Ia 新田ゼラチン製)1.4ml, 5倍濃度DMEM培地0.4ml, 200mMHEPESをふくむ0.08M水酸化ナトリウム液0.2mlを混和したものに20%牛胎児血清を含むDMEM培地に浮遊させた大腿骨骨髄細胞液2mlを混和した。その混液を35mm培養皿3枚に1mlずつ分注し37°Cで15分間静置してゲル化させた後、50%SPCM, 20%牛胎児血清を含むDMEM培地1mlを重層して37°C, 5%CO₂にて一週間培養し、出来たコロニーのうち50個以上の細胞を含むものをコロニーとして算定した。

組織学的検索: 脾臓及び骨髄はホルマリンで固定した後、通常の方法で4 μ パラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色をして観察した。結果の有意差の検定はT検定によった。

結果

セファランチンの前投与は白血球数、ヘマトクリット値などに影響を与えなかった。

対照群では末梢白血球数は照射後著減し、3日目には正常の1/6位まで減少する。その後10日までゆっくりと増加するが10日目でも正常の1/3

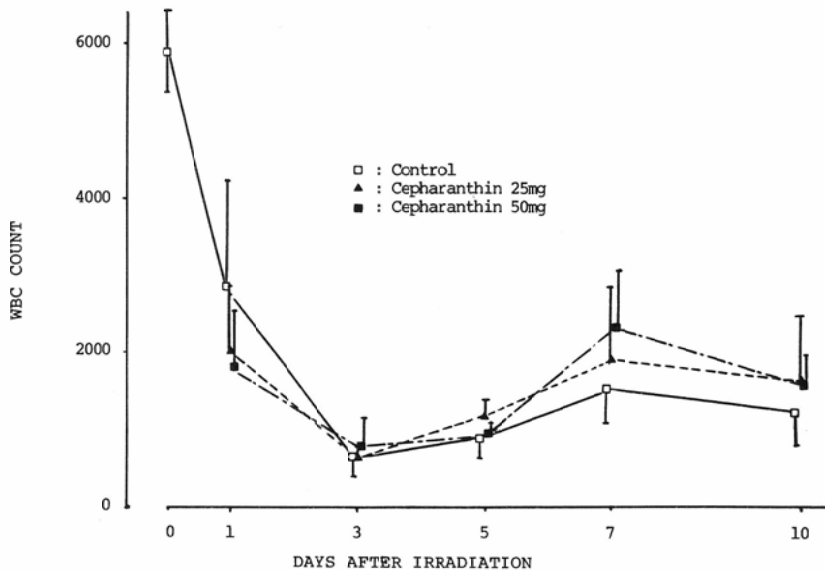


Fig. 1 Leucocyte count after irradiation. (Mean+SD)

までしか回復しない。セファランチン投与群は対照群より7日目、10日目において高い傾向を示すが有意差は見られなかった (Fig. 1)。対照群脾臓重量は照射後1日目に1/2位まで減少し、その後ゆっくりと回復してゆく。セファランチン投与群では全経過にわたって対照群より脾重量が重た

く、5日目には小さいピークが見られる。この時セファランチン50mg/kgBW 投与群は対照群と比べて5%の危険率で有意差が見られる (Fig. 2)。大腿骨あたりの骨髓有核細胞数は対照群では照射後1日目は1/5位まで減少しその後急激に増加し、7日目には照射前の値まで回復し、10日

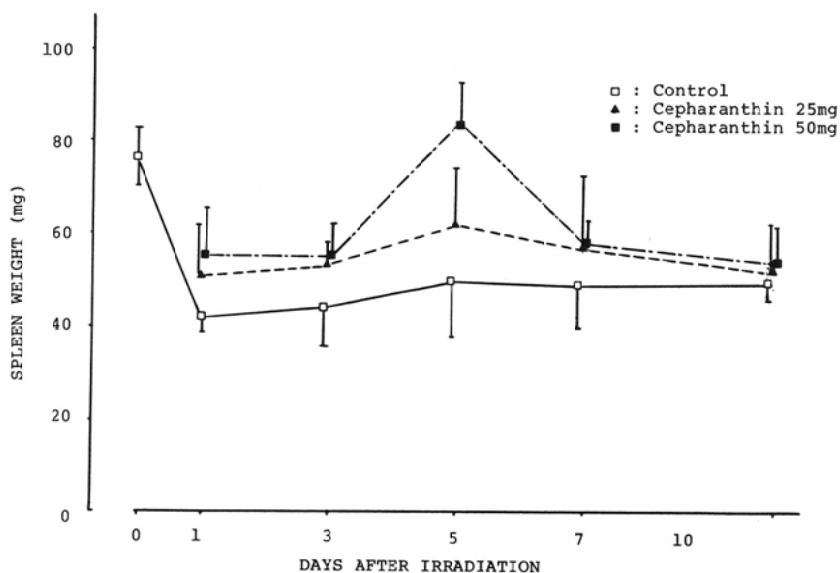


Fig. 2 Spleen weight after irradiation. (Mean+SD)

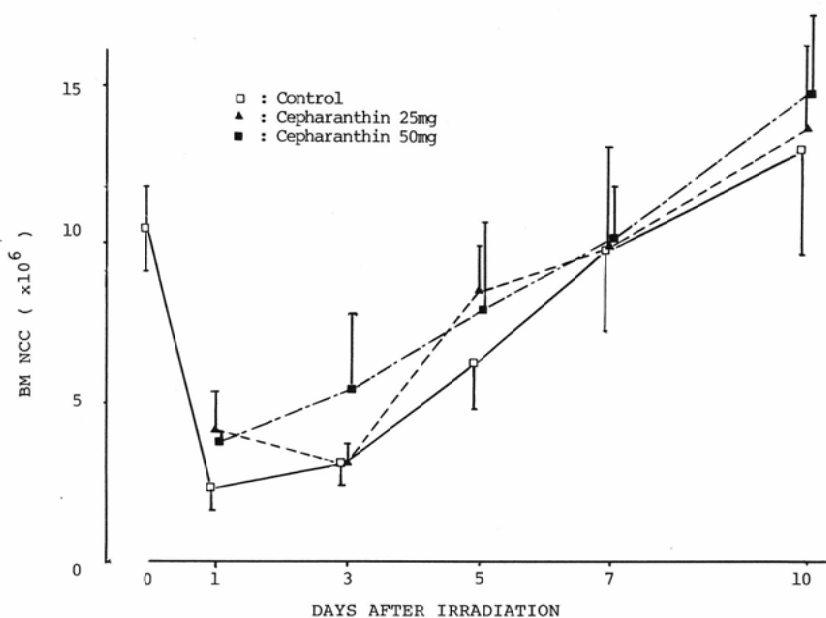


Fig. 3 Bone marrow nucleated cell count after irradiation. (Mean+SD)

目には照射前よりも増加していた。セファランチン投与群では全経過において対照群より多い傾向が見られたが、有意差は見られなかった(Fig. 3)。

大腿骨あたりの CFU-C 数は対照群では照射後 1 日目には 1/10 まで減少し、その後急速に回復し、10 日目には正常にまで回復する。セファランチン

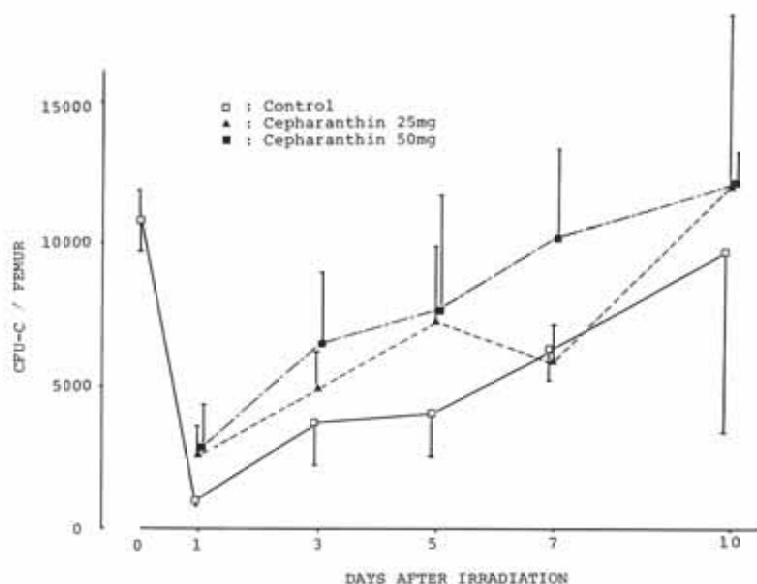


Fig. 4 CFU-C count after irradiation. (Mean+SD)

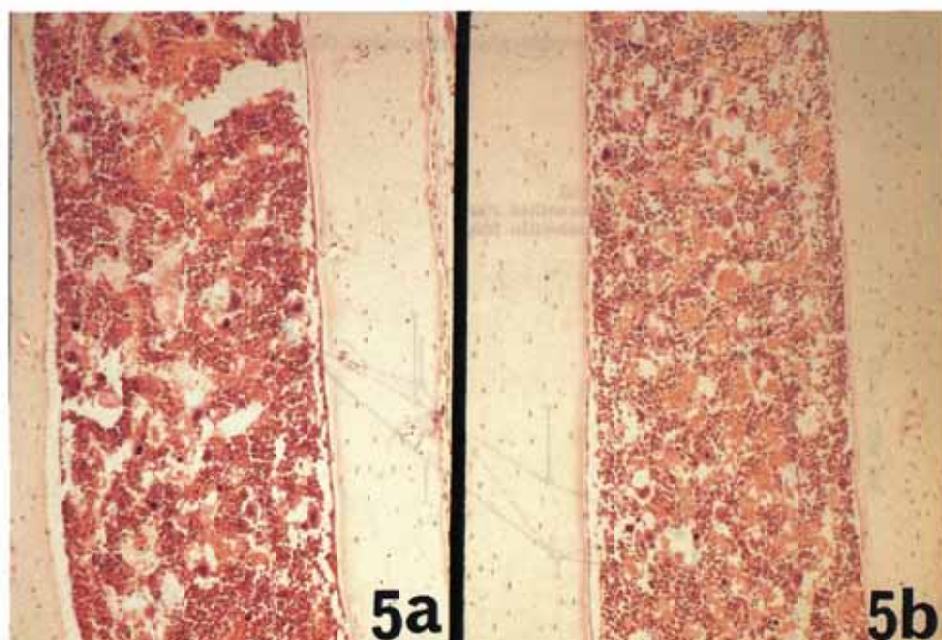


Fig. 5 Bone marrow sections 3 days after irradiation. (a; control group. b; cepharanthine group.) Hemopoietic cells decreased and sinusoids dilated in both groups. ($\times 20$)

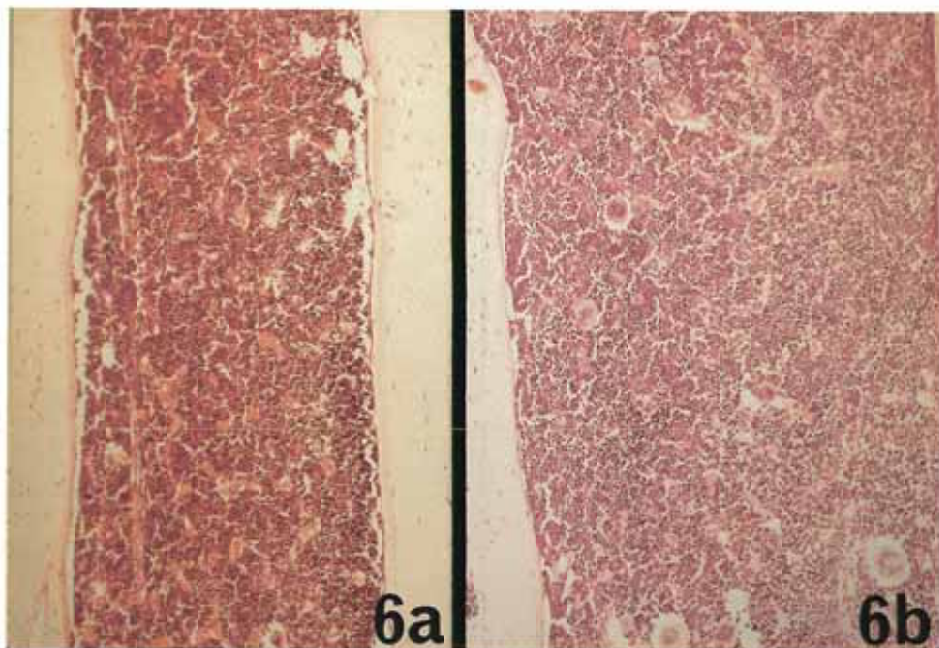


Fig. 6 Bone marrow sections 10 days after irradiation. (a; control group. b; cepharanthine group.) Hemopoietic cell density recovered as normal level, but megakaryocyte count still decreased. ($\times 20$)

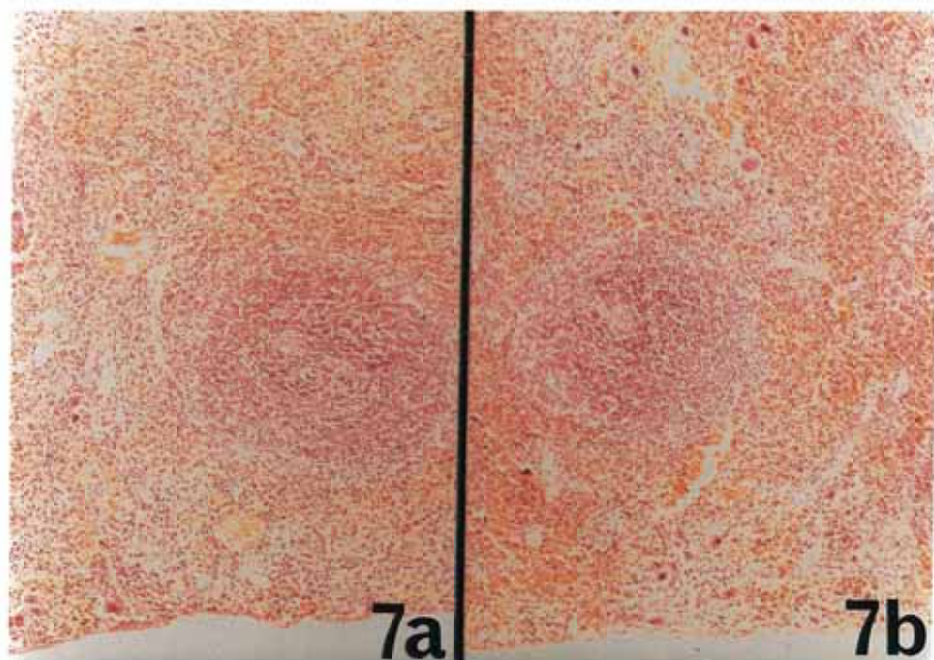


Fig. 7 Spleen sections 1 day after irradiation. (a; control group. b; cepharanthine group.) Hemopoietic cells of redpulp almost dissappeared in both groups. ($\times 20$)

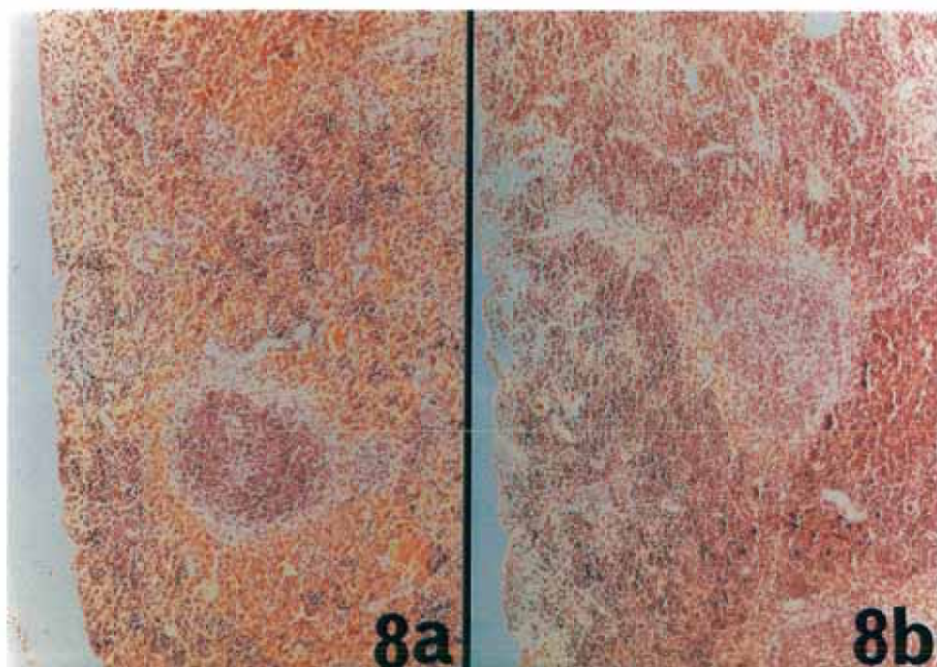


Fig. 8 Spleen sections 3 days after irradiation. (a ; control group. b ; cepharanthine group.) Hemopoietic recovery was better in cepharanthine group than in control group. ($\times 20$)



Fig. 9 Spleen sections 5 days after irradiation. (a ; control group. b ; cepharanthine group.) Hemopoietic cells of red pulp increased more than non-treated one. ($\times 20$)

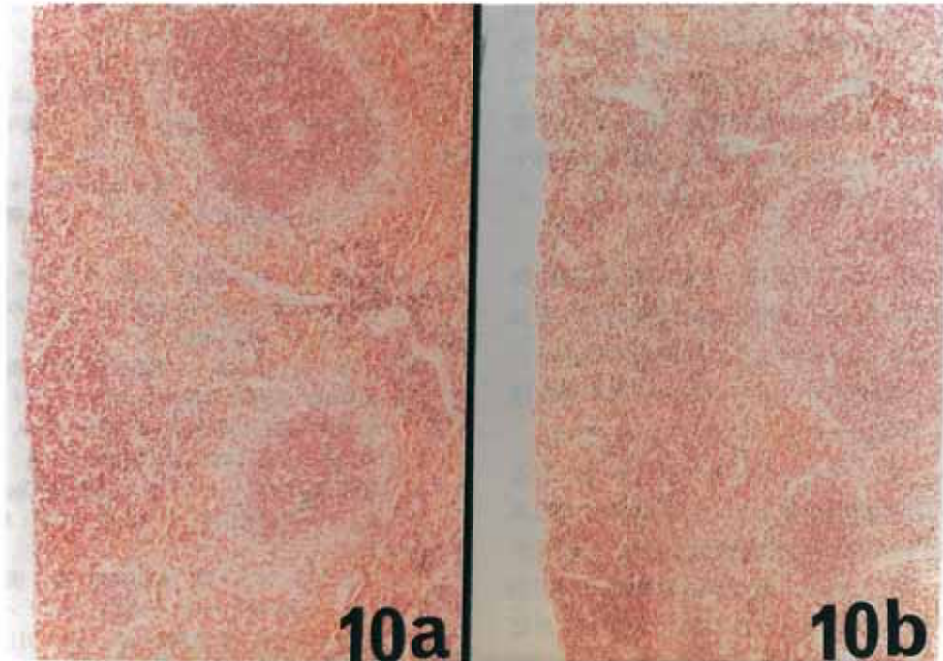


Fig. 10 Spleen sections 10days after irradiation. (a; control group. b; cephar-anthine group.) Hemopoietic cells of red pulp decreased to normal level. ($\times 20$)

投与群では照射による減少も軽度で、回復も速かったが有意差は見られなかった (Fig. 4).

組織学的所見：対照群骨髄は照射後1日及び3日目では造血細胞は減少し、類洞が拡張し、巨核球が目立つ (Fig. 5a)。照射後5日目から造血細胞が増加してゆき、7日から10日で元のレベルに回復する (Fig. 6a)。セファランチン投与群でもほぼ同様の経過をたどる (Fig. 5b, 6b)。一方、脾臓は対照群では照射後1日目に赤脾髄の造血巣の減少が見られ (Fig. 7a)、3日目には造血巣は回復に向かい (Fig. 8a)、5日目から7日目にかけて造血はピークになり (Fig. 9a)、10日目にはやや減少した (Fig. 10a)。セファランチン投与群では照射後1日目は対照群と同様であるが、3日目では対照群より多くの造血巣が見られ、5日目にピークに達し、その後対照群同様に減少する (Fig. 7b~10b)。

考 案

以上述べた如く、セファランチンの投与により放射線による骨髄有核細胞数や、CFU-Cの減少が軽減される傾向がみられたが有意差は見られな

かった。脾臓においては照射後五日目の脾臓重量がセファランチンの投与において有意に増加し、組織学的にも放射線照射によりほとんど無くなった赤脾髄に対照群より早く、そしてより盛んな造血巣の回復が見られることが示された。以上の所見は我々¹²⁾および笠島ら¹³⁾が以前に報告した制癌剤による骨髄抑制に対するセファランチンの防御効果とよく似ており、セファランチンの防御効果が細胞膜の安定化作用や網内系の賦活作用を含めた非特異的な作用であることを伺わせる。

放射線障害に対するセファランチンの効果に関しては諸家の報告があり、脾臓細胞のコンカナバリン A 反応性回復の促進⁹⁾、抗体産性能力回復の促進¹⁴⁾¹⁵⁾などが報告されている。又、小西ら⁵⁾、横殿ら¹¹⁾は3Gy 照射による脾臓細胞の減少からの回復がセファランチン投与によって促進されることを報告している。人間と異なり、マウスにおいては脾臓はリンパ組織であると同時に造血組織として重要な役割を果たしており、赤脾髄において盛んな赤芽球造血、顆粒球造血、巨核球が見られ、

我々のデータと併せてみればセファランチンは脾臓において免疫系細胞と同時に骨髄系細胞の回復にも促進的にも働いていると考えられる。栄ら¹⁶⁾は放射線による多能性骨髄幹細胞 (CFU-S) の障害からの回復にセファランチンが促進作用を有することを報告しており、我々の CFU-C のデータとも良く相関する。

今回の実験では CFU-C 数、骨髄有核細胞数、脾臓の組織所見に比べて末梢白血球数が余り増加しなかったが、これはマウスの末梢白血球のほとんどがリンパ球であり、リンパ球の回復が顆粒球より遅れる為であろう。

以上述べた如くセファランチンは放射線による造血障害の軽減傾向が見られて、脾臓における造血の回復をはやめると共に免疫能の障害をも軽減する可能性が考えられる。癌の放射線療法や制癌剤療法に併用すると有用となる可能性が有り、更に研究を続行中である。

結 語

放射線照射による造血障害に対するセファランチンの影響について検討した。マウスにセファランチン (25mg/kg 又は 50mg/kgBW) を一週間経口投与した後 X 線 3Gy を照射し、その後経時的に屠殺し、血液学的に検討した。セファランチンは照射後も投与を続けた。X 線照射により白血球の減少や造血の障害が起こるが、セファランチンの投与により放射線による骨髄有核細胞数や、CFU-C の減少が軽減される傾向が見られ、脾臓においては照射後五日目の脾臓重量がセファランチンの投与において有意に増加し、組織学的にも放射線照射によりほとんど無くなった赤脾髄に对照群より早く、そしてより盛んな造血巣の回復が見られることが示された。

文 献

- 1) Utsumi K, Miyahara M, Inoue M, et al: Inhibition by cepharanthin of red blood cell potassium release induced by lead acetate and lysolecithin. *Cell Struct Funct* 1: 133-136, 1975
- 2) 宮原正信, 内海耕造, 杉山勝三, 他: 生体膜系に対するビスコクラウリン型アルカロイドの作用と

- その作用機序に関する研究. 第 1 報. 細胞膜傷害による K⁺遊出に対するセファランチンの阻止作用, *岡山医学会誌*, 89: 749-756, 1977
- 3) 古川良弥: セファランチンの網内系に及ぼす作用と投与宿主の抗腫瘍性について, *日網内会誌*, 9: 279-290, 1970
 - 4) 笠島 武, 土橋隆夫, 柳沼良夫, 他: セファランチンの抗体産生促進作用について, *日網内会誌*, 14: 1-5, 1974
 - 5) 小西一樹, 荒井澄夫, 滝島 任: マウス脾細胞 ConA 反応性に対するセファランチンの効果, *臨床免疫*, 9: 483-486, 1977
 - 6) 小野 稔, 藤原良一, 田頭良章, 他: 担癌マウス脾細胞の ADCC 活性におよぼすセファランチンの効果, *癌と化学療法*, 8: 1565-1569, 1981
 - 7) 杉山勝三, 佐々木順造, 内海耕造, 他: ラット肥満細胞からのヒスタミンの遊離の Cepharanthine による抑制作用, *アレルギー*, 25: 685-690, 1976
 - 8) 河野浩行, 井上 肇, 瀬山義幸, 他: 実験的アレルギー性鼻炎モデルにおけるセファランチンの作用機序の検討, *日薬理誌*, 90: 205-211, 1987
 - 9) 山本政勝, 安藤 晃, 小津 泰, 他: 制癌剤による白血球減少症に対するセファランチンの使用経験, *臨牀と研究*, 48: 1767-1769, 1967
 - 10) 鈴木惟正, 年光昌宏, 山本時脩: 制癌剤使用時の白血球減少症に対する Cepharantin (50mg) の効果, *臨牀と研究*, 48: 2947-2955, 1971
 - 11) 横殿玲子, 松浦啓一, 横殿 敦: 放射線による免疫リンパ系細胞の障害と白血球増多剤の回復促進作用, *日医放射線会誌*, 37: 1153-1167, 1977
 - 12) 森 将晏, 中本 周, 荒島康晴, 他: 抗癌剤による造血障害に対するセファランチンの防御効果について, *癌と化学療法*, 6: 175-178, 1979
 - 13) 笠島 武, 山川光徳, 前田邦彦, 他: 抗腫瘍剤による末梢白血球減少に対するセファランチンの作用, *癌と化学療法*, 10: 1188-1196, 1983
 - 14) 野本亀久雄, 武谷健三, 横殿玲子: 制癌剤投与後および X 線照射後の免疫リンパ系機能の回復に対する Cepharantin の促進効果, *日本臨牀*, 31: 3548-3551, 1973
 - 15) 横殿 敦: 放射線により傷害された免疫リンパ系細胞の白血球増多剤による回復促進-抗体産生能の回復を指標として-, *医学研究*, 50: 475-486, 1980
 - 16) 栄 康行, 日伝晶夫, 湊 宏司, 他: 各種薬剤の血液幹細胞に及ぼす影響(その 2), *最新医学*, 33: 1495-1499, 1978