Osaka University Knowledge Archive

Title	X線照射による骨髄障害に対する S-2-aminoethylisothiuronium Br HBr (AET), 2-mercaptoethylamine (MEA), serotonin, および phenylephrine の防護効果に関する実験的研究
Author(s)	中塚, 春夫; 越智, 宏暢; 藤村, 哲夫 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1966, 26(8), p. 993-998
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/18041
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

X線照射による骨髄傷害に対するS-2-aminoethylisothiuronium Br HBr (AET), 2-mercaptoethylamine (MEA), serotonin, および phenylephrineの防護効果に関する実験的研究

大阪市立大学医学部放射線医学教室（主任　藤野守次教授）
中塚　春夫・越智　宏暢・藤村　哲夫・香川　圭爾
山下　彰・安田　晋之

（昭和41年9月19日受付）

Protective Effect of MEG, AET, Serotonin and Phenylephrine Against Bone Marrow Injury Following Whole-body Irradiation of Mice

by

Haruo Nakatsuka, Hironobu Ochi, Tetsuo Fujimura, Keiji Kagawa,
Akira Yamashita and Nobuyuki Yasuda
Department of Radiology, Osaka City University School of Medicine
(Director: Prof. M. Fujino)

The protective effects of MEA, AET, serotonin, and henylephrine on the bone marrow injury following whole-body irradiation of mice were studied. The nucleated bone marrow cell count of bilateral femur of mice were used as a measurement index of the bone marrow damage.

The MEA, AET, serotonin and phenylephrine had a marked protective effect and gave a dose reduction factors ranging from1.5–2.5. These compounds also markedly enhanced the recovery of the bone marrow damage.

I はじめに

放射線傷害に対する化学的防護に関する研究の重要なことはいうまでもなかろう．放射線傷害の防護效果を有する薬剤として，かなり多くの物質が報告されている．防護薬剤としてcysteine, gluthation, MEA, AET, MEGなどSH-基を有する物質の防護效果が認められているが，一方 noradrenaline, histamin, serotonin, phenylephrine など薬理学的作用の著明な薬剤の防護效果も報告されている．SH-基物質の場合にはSH-基物質自身が直接放射線による化学反応に作用するのに反し，後者のアミン類などの薬物では，血管収縮などの薬理学的效果のため重要臓器の酸素欠乏を招来し，酸素欠乏による二次的な放射線防護效果を呈していると考えられる．中塚[22]らは，epinephrine, phenylephrine などの血管収縮作用のある薬物のマウス全身照射による致死作用に対する防護效果につき研究し，これらの薬剤の血管収縮作用の程度と防護效果の程度との間に明らかな関聯性のあることを報告した．さらに，中塚[21]らは，SH-基物質であるAETと血管収縮剤である phenylephrine につき，腹部照射によるマウス

の急性腸死に対する防護效果を比較し，腸死に対しては，phenylephrine の防護效果はＡＥＴに比しいちじるしく劣ることを報告した．そこで，今回の実験においては，放射線の致死作用の主因である骨髄傷瘍に対して，SH-基物質と血管収縮作用のある物質の防護效果を比較検討する目的で本実験を行なつた．

II　実験方法

使用動物は dd 系雄性マウス，体重18ｇ前後．X線照射条件は，東芝製ＫＸＣ，200ＫＶ，25mA，濾過板 Cu 0.5㎜+Al 1.0㎜，半価層Cu 1.7㎜，皮膚焦点間距離50㎝，線量率１分間46Ｒ．

マウスの全身照射には，10匹宛放射線状に固定し，照射中緩速回転する照射装置にて照射し，全動物に平等な線量が照射されるようにした．

使用薬物は，マウス一匹につき AET (S-2-aminoethylisothiuronium Br HBr) 5mg, MEA (Mercaptoethylamine) 5mg, serotonin 1.0mg, phenylephrine 0.2mgを照射５～10分前にマウス腹腔内に注射した．ＡＥＴは，NaOHで中性にして，すなわち MEG (2-mercaptoethylguanidine) として用い，MEA, Serotonin は蒸溜水にてうすめ，phenylephrineとしては興和化学のneosynesinを用いた．これら薬剤をマウス一匹あたりの注射量が 0.5ccになるように調整して注射した．

骨髄傷害の示標として大腿骨骨髄の有核細胞数を算定した．すなわち，脱血死せしめたマウスの両大腿骨を採取し，その骨頭を切断し，骨髄細胞を生理食塩水で洗い出し，２ml の骨髄細胞浮游液とする．この骨髄細胞浮游液について血中白血球算定法に準じて有核細胞数を算定した．

骨髄有核細胞数に及ぼす４薬剤の防護效果を検討するため，薬剤投与５～10分後に 100Ｒ，200Ｒ，300Ｒ，500Ｒ，700Ｒ，の全身照射を行ない，骨髄細胞数の最低値を示す３日後の細胞数を算定した．また，４薬剤の骨髄傷害の恢復速進效果を検討するため，300Ｒ，500Ｒ，700Ｒ，の全身照射後10日間にわたり骨髄細胞数の消長を検した．

III　実験成績

マウスの骨髄有核細胞数はX線全身照射３日後

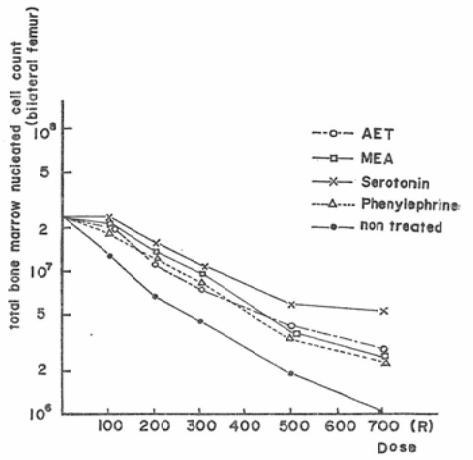

Fig. 1. Bone marrow nucleated cell count 3 days after whole-body irradiation of mice pretreeated with AET, MEA, Serotonin and Phenylephrine

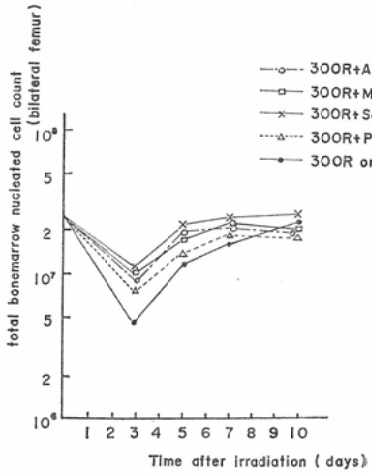

Fig. 2. Bone marrow recovery of mice irradiated with 300R pretreated with AET, MEA, Serotonin and Phenylephrine

において最低値を示す．この最低値と照射線量との関係は第１図の如くであつた．照射線量を横軸に，骨髄有核細胞数を縦軸に対数目盛にとると，100～ 500Ｒの間においてほぼ直線関係にある．この回帰直線より DRF(Dose Reduction Factor) を求めると，ほぼ 1.5～ 2.5の間にあるように推定され，４薬剤とも著明な防護效果を示す．

薬剤投与後，300Ｒ，500Ｒ，700Ｒ，の全身照射を行なつたマウスの骨髄有核細胞数の消長は第

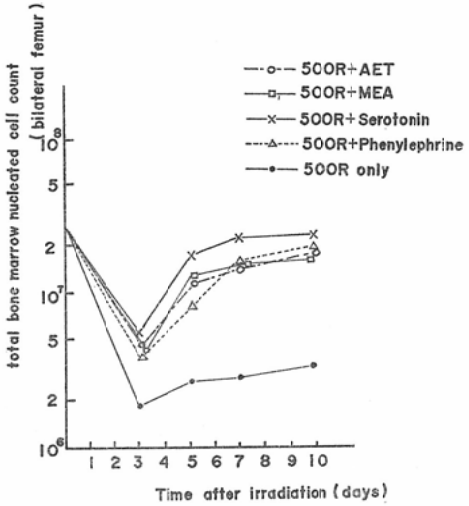

Fig. 3. Bone marrow recovery of mice irradiated with 500R pretreated with AET, MEA, Serotonin and Phenylephrine

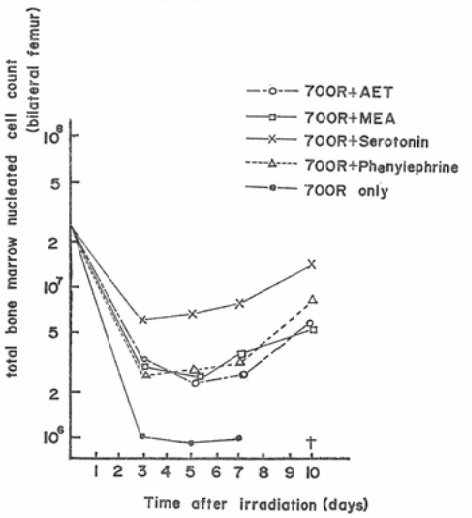

Fig. 4. Bone marrow recovery of mice irradiated with 700R pretreated with AET, MEA, Serotonin and Phenylephrine

2～4図の如くであつた．いずれの薬剤投与群においても骨髄細胞数の恢復が著明に促進されている．

IV 考　察

Bacq[2] ら（1953）はMEAをマウスの致死効果に対して最も防護効果のあるアミンとして報告した．同様に，Rugh, Wang[25]（1953），Straub, Patt[29]（1953），Catsch[5]（1957）などもMEAが全身照射による致死作用に対して著明な防護効果を有することを報告した．

Doherty および Burnett[6]（1955）はAETを合成し，950R又は800R全身照射マウスに対して照射前投与により77%または88%の生存率を認め，その著明な放射線防護効果を確認した．AETは0.2規定の塩酸溶液中において安定で，pH2.5においては2-aminothiazolineが唯一の生成物である．pH 3.5～5.5になると2-aminothiazolineとMEG（2-mercaptoethylguanidine）が生成される．pH 7ではMEGが唯一の生成物となる（Khym, Shapira, Doherty[15], 1957）．このMEGも強力な防護効果を有し，800R照射マウスに対して95%の生存率が報告されている（Shapira, Doherty, Burnett[26], 1957）．AETを蒸溜水に溶解すると普通pH 4～4.5となり，急速に2-aminothiazolineとMEGの混合物に変化する．20分後にはAETは53%に減少する．2-aminothiazolineはAETやMETより防護力が弱いから，AETは調整後速やかに使用せねばならない（Khym[15] ら 1957）．普通AETに2N NaOHを加えて中性にして用いるので，MEGとしての効果をみることになる．われわれは，AETをpH 7にして用いたので，実際にはMEGの防護効果を検討したことになる．

これらのSH-基物質の防護効果に関しては，Alexander[1] ら（1955），Doherty ら（1957）の化学構造と放射線防護効果との関聯性についての研究により，遊離の塩基性アミン基やSH-基の存在が重要な役割を果していることが判明している．これらMEA，AETなどのSH-基を有する防護物質の種々の対象についての放射線防護効果に関する研究が行われていることは周知のごとくであり，ここに枚挙する必要はなかろう．

serotonin の化学名は 5-Hydroxytryptamin であり5HTと略記される．serotoninは肥胖細胞，血小板，消化管などに生理的に存在するアミン類の一種である．serotonin には，血管，消化管，生殖器などの滑平筋の持続的収縮をきたす薬理作用がある．serotonin の放射線防護効果について

は，Gray[12]（1952）によりはじめて記載せられた．その後 Langendorff[16][17]ら（1959）により詳細に研究せられた．serotonin の防護効果の作用機転については，その薬理作用により組織の酸素欠乏を来たし，二次的に防護効果を呈するとの意見が有力である．たとえば，van der Meer 及び van Bekkum[20]（1961）は serotonin 投与による組織の酸素欠乏の程度と防護効果との間には関聯性があると報告している．しかし serotonin の防護効果に関しては必ずしも薬理学的作用によるものばかりとは云えないようで，たとえば，薬理作用とは無関係と思われる in vitroにおける放射線防護効果に関しては次のような報告がみられる．Booz, Belz[3]（1961）はラツテの胸腺細胞，Vos, Budke, Vergroesen[31]（1962）は，組織培養した人類細胞につき無效と述べているが，Hernadi[14]（1962）らは大腸菌の致死作用について防護効果を認めている．

epinephrine の構造式において，そのベンゼン環の2箇の水酸基が1箇になつた物質が phenylephrine である．phenylephrine は，合成された交感神経性アミン類のうちでは血管作用が強く，心筋に対する作用が弱く，しかも效果の持続時間の長い特徴を有つている．epinephrine, norepinephrine, atropinなどの交感神経性血管収縮剤の防護效果については文献があるが，phenylephrine, naphazolin, tetrahydrozolin などの血管収縮剤の防護效果についてはわれわれの報告以外には文献は見られない．これらの血管収縮剤の血管収縮作用と放射線防護效果との関聯性については既に報告[22]した．

放射線による骨髄傷害に対する化学的防護剤の效果に関する研究は未だそう多くはないが，次のような報告が見られる．Smith[27]（1957），Smith, Vos[28]（1962）は次のような方法を用いて骨髄細胞の放射線傷害に対する MEG, AET, cysteine, noradrenaline の防護效果を検した．すなわち，798R全身照射マウスの致死率は移殖する骨髄細胞数によつてきまる．この現象を利用して，骨髄細胞を in vitro で照射し，被細胞をX線照射マウスに移殖し，その被移殖マウスの生存率を検することにより，被照射骨髄細胞の生存率を推定する方法を用いた．この方法により MEG, AET, Cysteine の骨髄細胞に対する防護效果をみとめている．しかし，noradrenaline については，このような in vitroにおける防護效果を認め得なかつたと云う．Urso, Congdon, Doherty, Shapira[30]（1958）によれば，MEG単独，または骨髄移殖にMEGを併用することにより，骨髄傷害恢復を促進せしめたと報告している．Bose[4]ら（1961）はラツテ骨髄細胞の分裂指数を骨髄傷害の示標として用い，MEAの放射線防護效果を報告している．Finn[9]（1955）らはMEAの骨髄細胞の放射線による染色体異常に対する防護效果を報告している．Hartweg[13]（1957）は局所照射後の骨髄傷害に対する cysteine の防護效果は認め得なかつたが，恢復促進效果が大であつたと報告している．Grant, Vos[11]（1962）によれば胸腺細胞に対する in vitro の照射実験によつてはMEA，AETなどは有效であつたが，adrenaline, noradrenaline, histamin などは無效であつたと云う．放射線による骨髄傷害に対する低酸素圧の效果については，Rambach[24]（1954）の実験がある．すなわち，低酸素圧下にラツテを照射するときには，骨髄傷害を減少せしめ得ることを，骨髄の核酸燐および比放射能を測定することにより認めている．

serotonin や phenylephrine など薬理作用のあるアミン類の骨髄放射線傷害に対する防護效果に関する報告は見られないので，われわれの報告がはじめてである．われわれの実験は SH-基物質と薬理效果のあるアミンとの比較研究であつたが，その結果は，両者の防護效果については大差はないと云う結果を得た．この実験結果はこれら薬剤の致死作用に対する防護效果とよく一致している．たとえば，Catsch[5]（1957）はMEA及びAETのマウス全身照射による致死作用に対する防護效果を検討し，DRF (dose reduction factor) を 1.4～2.5と報告しているが，われわれの骨髄有核細胞数に対するDRFが 1.5～2.5であつたのとよく一致している．このように serotonin や

phenylephrineが骨髄の放射線傷害に対してSH-基質物同様の防護效果があるのは，おそらくserotoninやphenylephrineの薬理作用による骨髄の循環障害の結果，酸素欠乏をきたし，二次的に防護效果を呈するのであろうと推測される．van der Meer, van Bekkum[19] (1959) は，交感神経性血管収縮薬であるepinephrine投与によりマウスの脾の著明な酸素分圧の低下を認めている．また同氏ら[20] (1961) はserotoninについても，放射線防護に要する量をマウスに投与するときは，脾の酸素分圧を著明に低下させると報告している．これら薬物の投与により，脾同様骨髄酸素分圧も恐らく低下することと思われるので，このような造血臓器の酸素欠乏により骨髄傷害の防護效果を発揮するのであろう．Maisin, Doherty[18] (1963) はＡＥＴとserotoninの併用は，骨髄に対する放射線防護效果を増強したが，腸管に対する併用效果は認められなかつたと報告している．この実験成績もserotoninの骨髄に対する放射線防護效果は著明であるが，腸管に対する防護效果のあまりないことを示唆している．われわれは，phenylephrineはマウスの放射線による急性腸死に対しては防護效果が著明でないが，骨髄傷害に対しては著明な防護效果のあることを認めたが，このMaisinらの報告は，われわれの実験成績と軌を一にしているように思われる．

V 結　論

全身照射後のマウスの大腿骨骨髄有核細胞数の消長を示標として，骨髄傷害に対する下記薬剤の放射線防護效果を検討した．

AET, MEA, serotonin, phenylephrineは共に照射前投与によりマウスの骨髄傷害に対して防護效果を示し，そのＤＲＦはおよそ1.5～2.5である．上記4薬剤共に骨髄傷害の恢復を著明に促進する．

稿を終るに臨み，恩師藤野守次教授の御指導御校閲に対し深謝いたします．

文　献

1) Alexander, P., Bacq, Z.M., Causesns, S.F., Fox, M., Herve, A. and Lazar, J.: Mode of action of some substances which protect against the lethal effect of X-rays. Radiation Res. 2 (1955), 392—415.
2) Bacq, Z.M., et al: Protection against X-rays and therapy of radiation sickness with β-mercaptoethylamine. Science 117 (1953), 633—636.
3) Booz, G., and Betz, E.H.: Action de la tryptamine et de la 5-hydaoxytryptamine sur les thymocytes irradies in vitro. C.P. Soc. Biol. 155 (1961), 197
4) Bose, P.A., and Bose, S.: Radioprotective efficacy of cysteamine with the mitotic index of rat bone marrow cells as reference system. Acta Radiol. 56 (1961), 393—398.
5) Catsch, A.: Advances in Radiolbiology pp. 181—186, Oliver and Boyd. 1957, Edinburgh.
6) Doherty, D.G., and Burnett, W.T.: Protective effect of S, β-aminoethylisothiuronium Br•HBr and related compounds against X-radiation death in mice. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 89 (1955), 312—314.
7) Doherty, D.G., Burnett, W.T., and Shapira, R.: Chemical protection against ionizing radiation II. Mercaptoalkylamines and related compounds with protective activity. Radiation Res. 7 (1957), 13—21.
8) Doherty, D.G., Shapira, R., and Burnett, W.T. Jr.: Synthesis of amino-alkylisothiuronuim salts and their conversion to mercaptoalkylganidines and thiazolines. J. Am. Chem. Soc. 79 (1957), 5667—5671.
9) Finn, D., and Francis, L.: The effect of cystamine and hypoxia on mortality and bone marrow chromosome aberrations in mice after total body roentgen irradiation. Acta Radiol. 44 (1955), 243.
10) Goodman, L.S., and Gilman, A.: The pharmacological basis of therapeutics. p. 527 McMillan Co. (1956), N.Y.
11) Grant, G.A., and Vos, O.: Chemical protection of rat thymocytes irradiated in vitro. Intern. J. Rad. Biol. 5 (1962), 413—425.
12) Gray, J.L., Tew, J.T., and Jensen, H.: Protective effect of serotonin and paraaminopropiophenon against lethal doses of X-irradiation. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 80 (1952), 604—607.
13) Hartweg, H.: Hámatologische Untersuchungen zur Schutzstoffwirkung. 2 Mitteilung. Die Wirkung von Cystein auf den Ablauf der Strahlenreaktion am Knochenmark nach Lokalbetrahlung. Strahlenther. 102 (1957),

65—72.
14) Hernadi, F., Valyi-Nagy, T., Nagy, Zs., and Jeney, A.: Protection against the toxic effects of X-ray and nitrogen mustard on E. coli, 0 111 by radioprotectors. Radiation Res. 16 (1962), 464
15) Khym, J.X., Shapira, R., and Doherty, D. G.: Ion exchange studies of transguanylation reactions. I. Rearrangement of S. 2-aminoethylisothiourea to 2-mercaptoethyl-guanidine and 2-aminothiazoline. J. Am. Chem. Soc. 71 (1957), 5663—5666.
16) Langendorff, H., Melching, H.J., und Ladner, H.A.: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutzwirkung des 5-Hydroxy-tryptamine im Tierversuch. Strahlenther. 108 (1959), 251—256
17) Langendorff, H., Melching, H.J., und Ladner, H.A.: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz 31 Mitt. Zum Wirkungsmechanismus des 5-Hydroxytryptamin im Strahlen-schutzversuch. Strahlenther. 109 (1959), 554—558.
18) Maisin, J.R., and Doherty, D.G.: Comparative chemical protection to the intestinal and hematopoietic systems of whole-body X-irradiated mice. Radiation Res. 19(1963), 474—478.
19) Meer van der, C., and Bekkum, D.W.: The mechanism of radiation protection by histamine and other biological amines. Intern. J. Rad. Biol. 1 (1959), 5—23.
20) Meer van der C., and Bekkum van D.W.: A study on the mechanism of radiation protection by 5 hydroxytryptamine and tryptamine Int. J. Rad. Biol. 4 (1961), 105—110.
21) 中塚春夫，福井慶典：放射線による急性腸死 (intestinal death) に対する AET 及びphenylephrine の防護効果に関する実験的研究，日本医放会誌，26 (1966), 425—431
22) Nakatsuka, H., Shakudo, Y.: On the modification of acute lethality in mice following whole body X-irradiation by several vasoconstricting agents. Nipp. Act. Radiol. 26 (1966). 437—445
23) Patt, H.M., Blackford, M.E., and Straube, R.L.: Effect of X-rays on thymocytes and its modification by cysteine. Proc. Soc. Exp. Biol. 80 (1952), 92—97.
24) Rambach, W.A., Alt, H.L. and Cooper, J. A.D.: Protective effect of hypoxia against irradiation injury of the rat bone marrow and spleen. Proc. Exp. Biol. Med. 159—161.
25) Rugh, R., and Wang, S.C.: Protection against radiation lethality: effect of β-mercaptoethylamine. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 83 (1953), 411—414.
26) Shapira, R., Doherty, D.G., and Burnett, W.T.: Chemical protection against ionizing radiation. III mercaptoalkylguanidines and related isothiuronium compounds with protective activity. Radiation Res. 7 (1957), 22—34.
27) Smith, L.H.: Protective effect of 2-mercaptoethylguanidine on bone marrow cells X-irradiated in vitro. Exptl. Cell Research 13 (1957), 627—630.
28) Smith, L.H. and Vos, O.: Sensitivity and protection of mouse bone-marrow cells X-irradiated in vitro. Intern. J. Rad. Biol. 5 (1962), 461—470.
29) Straube, R.L. and Patt, H.M.: Studies with cysteine in X-irradiated animals. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 84 (1953), 720—704.
30) Urso, P., Congdon, C.C., Doherty, D.G., and Shapira, R.: Effect of chemical protection and bode marrow treatment on radiation injury in mice. Blood 13 (1958), 665—676.
31) Vos, O., and Vergroesen, A.J.: Protection of tissue-culture cells against ionizing radiation. 1. the effect of biological amines, disulphide compounds and thiols. Intern. J. Rad. Biol. 5 (1962), 543.