OUKA
Osaka University Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | X線誘発致死因子に対する AET (S, 2-Aminoethylisothiurourea Br.HBr)の影響 |
| Author(s) | 武田, 好子; 菅原, 努 |
| Citation | 日本医学放射線学会雑誌. 1960, 20(9), p. 1996-2000 |
| Version Type | VoR |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/18351 |
| rights | |
| Note | |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

# X線誘発致死因子に対するAET (S, 2-Aminoethylisothiurourea Br. HBr)の影響

放射線医学総合研究所障害基礎研究部
武田好子 菅原努

(昭和35年9月22日受付)

## 1. 緒言

放射線障害に対する化学防護剤としてのSH化合物は1949年 Patt 等[1)2)3)]によつて哺乳動物の放射線による急性致死に有効であると発表され，その後多くの学者によつて研究されたが，就中 Bacq[4)5)]は amino acid, amine についての研究を発表し，amine である Cysteamine, Cystamine が特に強力な防護作用を有することを示している．これらの学化防護剤は致死効果のみならず，Roberts Rugh and Joan Woff[6)] の行つた実験によるとX線の低線量照射したマウスの卵巣の不妊にも有効で妊娠期間の延長，一腹仔数の増加が認められている．そこで，ここでは雄マウスのX線による不妊現象に対する防護効果を，現在致死効果に対して最も有効であり，且つ毒性の少ないとされているAET (S. 2-Aminoethylisothiurourea Br. HBr) について調べた．

AETはD.G. Doherty and W.T.Burnett[7)8)9)]によつて Cysteamine の誘導体として，Cysteamine のSH基を isothiuronium で置換すると防護作用が増大することが発見され，動物実験では，X線による $LD_{50}/30$ が $C_3H$ マウスで 625r から1300r に，$101 \times C_3H$ の $F_1$ マウスで 710r から1500r に上つたことを発表されている[10)]．雄マウスにX線 500r 照射すると次第に受精能力が減退し，その後一時的な不妊になり，再び受精出来るようになる．このことについては多くの学者によつて研究されているが，特にこの不妊の前の妊娠では一腹仔数が減少するのに反し，不妊から恢復してからはほぼ正常になることが注目されている．これについて，Bateman[11)12)13)]，Russell[14)15)] は卵と精子が受精した後子宮に着床する前後に死亡するもので，特に着床後初期の死亡胎児が増加するためであるとしている．この原因はX線によつて，染色体異常，特に染色体切断，相互転座が起ること，即ち優性致死突然変異 (Dominant lethal mutation) によるとしている．不妊の原因と照射後の時期的関係については Oakberg[10)17)]，Auerbach[18)] 等の研究がある．

## 2. 実験方法

生後2ケ月の成熟した $C_3H \times CBA$，$CBA \times C_3H$ のマウスを用いた．雄マウスを5匹づつの2群に分け，両群ともX線照射．180KVp 25 mA 0.3mm Al.+ 0.5Cu 50cm, 92r/min で全線量 500r を照射した．照射は局部照射で生殖線以外の部分は，0.2cmの鉛板2枚でおおつた．X線照射にあたつて，1群は照射30分前にAET 250mg/kgを腹腔内注射で投与した．尚用いたAETは日本新薬によるものでPH 7.8に調整した ampule solution である．

X線照射後両群の各々のマウスに正常な雌マウスを2匹づつ交配した．交配した雌マウスは膣栓の出来たのが認められると，他のケージに取り出し，又次の新らしいマウスと交配させた．膣栓の認められた雌マウスは，膣栓が出来た日から14日目に開腹し，黄体数，全着床数，生存胎児数，死亡胎児数を調べた．AETの有効度は，X線のみを照射した群と，AETを投与した群とを比較することによつて調べられた．又 Control として，実験に使われた雄マウスを照射1週間前に正

Table 1 Data of AET-treated male mice

| Treatment | Weeks after irradiation | No. of females | No. of corpora lutea | No. of implantations | No. of living embryos | No. of implantations / No. of corpora lutea | No. of living embryos / No. of implantations |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AET+500r | 1 | 6 | 68 | 41 | 23 | 60.3 | 56.0 |
| | 2 | 5 | 55 | 44 | 24 | 80.0 | 54.5 |
| | 3 | 4 | 46 | 32 | 8 | 69.5 | 25.0 |
| | 4 | 3 | 28 | 19 | 12 | 67.5 | 63.2 |
| | 9 | 2 | 22 | 10 | 7 | 45.4 | 70.0 |
| | 10< | 7 | 94 | 63 | 55 | 67.0 | 87.3 |

Table 2 Data of AET-untreated male mice and control

| Treatment | Weeks after irradiation | No. of females | No. of corpora lutea | No. of implantations | No. of living embryos | No. of implantations / No. of corpora lutea | No. of living embryos / No. of implantatins |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 500r | 1 | 5 | 54 | 38 | 26 | 70.4 | 68.5 |
| | 2 | 5 | 56 | 42 | 30 | 75.0 | 71.5 |
| | 3 | 4 | 46 | 28 | 9 | 61.0 | 32.1 |
| | 4 | 1 | 10 | 5 | 2 | 50.0 | 40.0 |
| | 9 | 1 | 12 | 9 | 8 | 75.0 | 88.8 |
| | 10< | 1 | 14 | 9 | 9 | 64.2 | 100.0 |
| Control | | 5 | 52 | 44 | 40 | 84.6 | 91.0 |

常雌マウスと交配し，同じく膣栓の認められた雌マウスを14日目に開腹して，黄体数，全着床数，生存胎児数，死亡胎児数を調べて比較した．

### 3. 結　果

AETを投与してX線を照射した群について，各雄マウスと交配して得られた雌マウスの実験結果はTable 1に，X線のみ照射した群から得られた実験結果はTable 2に示された．各群ともX線照射後第4週まで受精能力をもち，4週後第9週まで不妊期間が続く．そして第9週から再び受精能力をもつようになつた．又各群ともX線照射後第1週，第2週までは妊娠率が高いが第3週頃から次第に雄の交配能力が落ちて来て，第4週では交配した雌の数が少なくなつた．しかし，雌の方から見ると，膣栓があつても妊娠していないものがあり，この割合はX線のみを照射した群より，AETを投与した群に多くみられた．これは雄が交配して，精子が雌の子宮中に入つても精子はすでに受精能力を失つているためであるが，AET投与群に於いて，これが多いことは，精子には受精能力がなくとも，雄の体力としては交配する能力があることを示している．又第4週でAET投与群が3匹交配しているのに対し，X線のみ照射群では1匹しか交配していないことから，AET投与群では，わづかながらAETの効果が表われている様に思われる．第9週からの回復は，第9週では，少数のマウスにみられたが，第10週頃は雄マウスに，確実に交配能力をもつことが認められた．不妊期に入る以前の黄体数，着床数，生存胎児数の各々のついては，Controlにおいても，排卵された卵の全てが受精するのでなく，黄体数と着床数の間にかなりのひらきがあるため黄体数を100%とすることは出来ないが，着床数／黄体数，生存胎児数／着床数とも両群比較して有意な差は認められない．生存胎児数／着床数は，AET投与群，X線のみ照射群ともにControlに比べて相当低い値を示していることは，着床後胎児として発育する過程に死亡するものが多いことを意味する．第1週にX線のみ照射の方がAET投与群より着床率がかえつて高い値を示しているの

はこの時期には精子はすでに睾丸をはなれていて，そのためにAETの毒性がかなり効いているためと思われる．これは菅原他のMEAの実験結果ともよく一致している[19]．

不妊期より回復して再び受精可能になつた第9週以後でもAET投与群とX線のみ照射群との間に有意な差がみられない．しかし第9週以後の精子はX線が照射されたときは精原細胞以前の時期にあつたもので，X線に対して非常に抵抗性があると考えられるから，両群に有意な差がないこと，又 Control の値に近い値を示していることは当然であろう．

尚，X線のみ照射群で第10週以後の例数が少ないのは，マウスに病気が出たためである．

## 4. 考　察

着床数／黄体数は排卵された卵が受精後着床する率であるが，これには受精出来なかつた卵，受精はしたが正常な卵割の出来なかつた卵，着床のとき母胎のある反応のため正常な着床の出来なかつた卵等を含む．

生存胎児数／着床数は着床後胎児として生育する率で，この値が低いことは結局着床して後完全な胎児として発育出来ないX線によるDominant lethal mutationの誘発のためであろうと考えられる．

この2つの考えをもとにして Bateman[12] は雄マウスにX線を照射した場合のDominant lethal mutation rate を

$$\frac{\text{初期死亡胎児数}}{\text{着床数}-\text{初期死亡胎児数}}$$

として表わしている．一方 Russell[20] が雌マウスにX線を照射した実験では，雌では照射により一時的に排卵がふえることがあるが，排卵された卵の数に比べて生存胎児数が少ないのは受精しない卵の数が多いのでなく，死亡するものが多いからであるとして，生存胎児数／着床数をもつてDominant lethal mutation rate を表わしている．いづれにしても，着床数／黄体数，生存胎児数／着床数がX線のみ照射した群とAET投与群共に低い値を示していることは，Dominant lethal mutation rate が高いことである．AET投与群がX線のみ照射と比較して有意差がなかつたことは Dominant lethal mutation の防護作用のないこと，つまりAETの生殖細胞への効果のないものとみられるであろう．

上記の結果より，AETは急性致死には相当の防護効果が認められているが，生殖細胞に対する致死性，X線による Dominant lethal mutation には効果がないと思われる．しかし骨髄細胞などの染色体異常に対しては或程度効果があるという報告[24]があり，又 Roberts Rugh and Joan Woff[5]によると雌の卵子は Cysteamine, Cystamine によつて防護され，産数，妊娠率の増加，そして雌マウスの子供を生むことの出来る期間が延長したことを発表している．一方 Kaplan と Lyon[21] が β-mercaptoethylamine で雄の生殖細胞に対する防護効果を調べた実験では，受精可能期間，不妊になる時期共に薬物を投与した群はX線のみ照射した群に比べて有意な差がみられなかつたことを発表している．そして不妊になる時期も4週以後で第1週から次第に受精力が低下して来ていることは我々の行なつた実験と全く一致している．

このように化学的防護剤の生殖細胞への防護効果が少ないことの理由としては，Bacq 等[22]が1954年に Cysteamine が哺乳動物に投与された場合，すべての器官に一様に分布するのでなく脾臓，骨髄，肝臓等には高濃度に分布するが，特に睾丸にはこれらの器官に比べて非常に低濃度であると云つている．又 Arne Nelson and Suen Ullberg[23] が1960年に $S^{35}$-cysteamine を投与した実験に於いても $S^{35}$ の分布が Bacq の主張と一致し，睾丸には少ないことを実証している．従つてこれらのことと生殖細胞の防護とが大いに関係しているのではないかと思われる．

## 5. 結　論

雄マウスのX線照射による遺伝的障害の1つとしての優性致死因子誘発を目安として，AETの防護効果を調べた．結果は予期した効果はえられなかつたが，それは睾丸部における薬剤濃度が関係しているのではないかと考えられる．

本研究は主として文部省科研費課題番号9127によつた.

## 文　献

1) Patt H.M., E.P. Tyree, R.L. Straube and D.E. Smith: Cysteine Protection Against X-Irradiation. Science 110. 213—214 (1949). — 2) Smith D.E., H.M. Patt, E.B. Tyree and R.L. Straube : Quantitative Aspects of the Protective Action of Cysteine Against X-Radiation. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 73 : 198— 200 (1950). —3) Straube R.L. and H.M. Patt: Studies with Cysteinamine and Cysteine in X-Irradiation Animals. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 84 : 702— 704 (1953). — 4) Bacq Z.M. and A. Herve: Protection of Mice Against a Lethal Dose of X-rays by Cyanide azide and Malnonitrile. Brit. J. Radiol. 24:617—621 (1951). — 5) Bacq Z.M.: Recent Reserch on the Chemical Protection and Particularly on Cysteamine-Cystamine. Advance in Radiobiology — 6) Roberts Rugh and Joan Woff: Evidence of Some Chemical Protection of the Mouse Ovary Against X-Irradiation Sterilization. Rad. Res. 7 : 184—189 (1957) — 7) D.G. Doherty, R. Shapira and W.T. Burnett: Synthesis of Aminoalkylisothiuronium Salts and Their Conversion to Mercaptoalkylguanidines and Thiazolines. J. Am. Chem. Soc. 79:5667—5671 (1957). — 8) Doherty D.G., R. Shapira and W.T. Burnett: Chemical Protection Against Ionizing Radiation. ii) Mercaptoalkyl amines and Related Compounds with Protective Activity. Rad. Res. 7 : 13—21 (1957). — 9) Shapira R., D.G. Doherty and W.T. Burnett: Chmical Protection Against Ionizing Radiation iii) Mercaptoalkyl guanidines and Related Isothiuronium Compounds with Protective Activity. Rad. Res. 7 : 22—34 (1957). — 10) Doherty D.G., C.C. Congdon, T. Makinodan and A. Hollaender: Modification of the Biological Response of Mammals to Whole-Body Irradiation. — 11) A.J. Bateman:Sensitivity of Immature Mouse Sperm to the Mutagenic Effects of X-rays. Nature 178 : 1278—1280 (1956). — 12) A.J. Bateman: Mutagenic Sensitivity of Maturing Germ Cell in the Male Mouse. Heredity 12 : 213— 232 (1958). — 13) A.J. Bateman: The Partition of Dominant Lethal in the Mouse Between Unimplanted Eggs and Deciduomata. Heredity. 12 : 467— 475 (1958). —14) Russell L.B. and R.J. Spear: X-ray Induced Dominat Lethals in Mouse Oocytes and Thier Relation to Irradiation-to Ovulation Interval. Genetics 39 : (1954). — 15) Russell W.L. and L.B. Russell and Oakberg: Radiation Genetics of Mammals. Radiation Biology and Medicine, 189— 205 (1958). — 16) Oakberg E.F.: Seneitivity and Time of Degeneration of Spermatogenic Cells Irradiation in Various Stages of Maturation in the Mouse. Rad. Res. 2 : (1955). — 17) Oakberg E.F.: Gamma Ray Sensitivity of Spermatogonia of the Mouse. J. Expetl. Zool. 134 : (1957). — 18) Auerbach C. and B.M. Slizynski: Sensitivity of the Mouse Testis to the Mutagenic Action of X-rays. Nature 177:376—377 (1956). — 19) 菅原努，田中富蔵：Mercaptoethylamine のX線誘発致死因子に対する影響，遺伝研年報，9：112～113 (1958). — 20) Russell L.B. and W.L. Russell: The Sensitivity of Different Stages in Oogenesis to the Radiation Induction of Dominant Lethals and Other Changes in the Mouse. Progress in Radiobiology 189— 195 (1955). — 21) Kaplan W.D. and Mary F. Lyon: Failure of Mercaptoethylamine to Protect Against the Mutagenic Effects of Radiation. II Experiments with Mice. Science 118 : 777—778 (1954). — 22) Alexander Hollaender and C.O. Doudney: Studies on the Mechanism of Radiation Protection and Recovery with Cysteamine and β-Mercaptoethanol. Radiobiology Symposium 112— 121 (1954). — 23) Arne Nelson and Sven Ullberg: Distribution of $S^{35}$ in Mice After Injection of $S^{35}$-Cysteamine. Acta Radiologica 53 : 305— 313 (1960). — 24) Finn Derik and Francis Lothe: The Effects of Cysteamine, Cystamine and Hypoxia on Mortality and Bone Marrow Chromosomes Aberrations in Mice after Body Roentgen Irradiation. Acta Radiologica 44 : 243— 248 (1955).

# The Effects of AET (S,2—Aminoethylisothiurourea Br. HBr) on the Induction of Dominant Lethal Mutations by X-ray.

By

Yoshiko TAKEDA and Tsutomu SUGAHARA

Division of Radiation Hazards, National Institute of Radiological Sciences

The protective effects of AET on the induction of dominant lethals in male mice were studied. CBA X C3H and its reciprocal $F_1$ mature mice were used as materials. One group of male mice was treated with AET 250 mg/kg thirty minutes before local irradiation of 500 r X-ray on testicular region. In another group testicular region was exposed with 500 r X-ray without AET-treatment. After irradiation each male was mated with two virgin females. The females in which vaginal plugs were found were taken off and substituted by other virgin females. The pregnant females were killed after 14 days gestation for examination. The uteri were opened, and the number of live and dead embryos and corpora lutea were determined. The results obtained were summarized as follows:

(1) Both the group of AET-treated males and that of untreated males became sterile four weeks after irradiation and fertile again five weeks thereafter.

(2) The ratios

$$\frac{\text{number of live embryos}}{\text{number of embryos implanted}} \quad \text{and} \quad \frac{\text{number of embryos implanted}}{\text{number of corpora lutea}}$$

were compared between these groups. The ratios were not significantly different between them, while the ratios were very low in comparison with those of control.

(3) Thus, it seems that AET could not protect the induction of dominant lethal mutation in male mice. The reason of the ineffectiveness is considered to be the low concentration of AET in reproductive cells at the time of irradiation.