



Title	Cysteine, α -Mercaptopropionylglycineの正常組織及び悪性組織に対する放射線防護効果
Author(s)	築山, 巖
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1976, 36(7), p. 652-663
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19432
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

Cysteine, α -Mercaptopropionylglycine の正常組織及び 悪性組織に対する放射線防護効果*

東京通信病院放射線科 (部長: 大島敏美博士)

築 山 巖**

(昭和50年12月23日受付)

(昭和51年1月27日最終原稿受付)

Radioprotective effects of Cysteine and α -Mercaptopropionylglycine for normal and malignant tissues.

By

Iwao Tsukiyama

Department of Radiology, Tokyo Teishin Hospital

Research Code No.: 407

Key Words: Cysteine, α -Mercaptopropionylglycine. Radioprotector, C3H mammary carcinoma,
Differential protection

The radioprotective effects of cysteine and α -mercaptopropionylglycine (MPG) on normal and malignant tissues were studied. Both sexes of C3H/He mice were employed throughout the experiments and the experimental tumors were 3rd generation isotransplants of C3H/He mouse mammary carcinoma. Following three different experimental assay methods were used, i.e. (1) LD50/8; the determination of radiation dose which is lethal for half the irradiated mice in 8 days, (2) ED50/35; the determination of radiation dose which induces complete epilation in half the irradiated mice in 35 days and (3) TRT50; the determination of time required for half the irradiated tumors to regrow to the initial volume after irradiation. The test agents were administered intraperitoneally 30 minutes before each irradiation, and irradiation were given under air breathing conditions or under tourniquet-induced local hypoxia.

The LD50/8 of animals treated with 0.8 mg/g of cysteine was 1970 rad while that of untreated mice was 1510 rad. DRF (dose reduction factor), if expressed as a ratio of LD50 (treated) to LD50 (untreated), was 1.30.

The ED50/35 of animals received cysteine was larger than that of untreated animals. DRF, expressed as a ratio of ED50 (treated) to ED50 (untreated), increased as a function of cysteine-dose and a larger DRF was found when irradiation was given under air-breathing condition than under hypoxic condition.

TRT50 of mouse mammary carcinoma was determined after a single or fractionated X-ray doses.

* 本研究の大部分は放射線医学総合研究所で行なった。

** 群馬大学医学部放射線医学教室専攻生

Results indicated that cysteine exhibited the radioprotective effect to tumors less effectively than to normal tissues. It is also demonstrated that DRF, if expressed as a ratio of TRT50 (treated) to TRT50 (untreated), was larger when tumors were irradiated under air-breathing condition than under hypoxic condition.

Similar results were noted after MPG administration. These results might indicate a possibility that radioprotective agents such as cysteine or MPG behave the so-called differential protection in vivo.

I. 緒 言

悪性腫瘍の放射線治療における最大の問題は、腫瘍組織に対し致死的作用を与えると同時に、それを取りまく正常組織に対する放射線障害をいかに少なくとどめるかということであろう。かかる目的のために、分割照射法の種々のスケジュールの関与²⁹⁾⁴³⁾、照射技術の改善¹⁾¹⁴⁾³⁶⁾、増感剤¹⁰⁾¹⁵⁾、抗癌剤⁴²⁾との併用等が試みられているが、放射線防護剤の使用もその解決策の1つと考えられる。SH化合物を主体とする放射線防護剤は、白血球減少症を始めとする放射線治療に伴う副作用防止の目的で現在すでに临床上広く使用されるに致つている⁷⁾²⁰⁾²¹⁾。

しかしながら、かかる防護剤使用に伴う問題は、正常組織および腫瘍組織に対し、これが同様の放射線防護効果を示すのか、あるいは全く異なった作用を持つのか、いまだに明らかにされていないことである。

いうまでもなく、正常組織および悪性組織に対し同様の防護効果を持つならば、治療効果比の改善は期待出来ないが、反面腫瘍組織に対してその効果が全くないか、或は正常組織に対するよりも弱い効果が期待出来るならば、正常組織の耐容線量を増加せしめる結果となるであろう。

正常及び悪性組織の放射線感受性の差異は各組織の細胞の放射線感受性の差により、またそれ以上に各組織における酸素濃度の低いhypoxicな即ち低感受性細胞がその組織に占める比率により大きく左右される²⁷⁾、衆知の如く腫瘍組織にはhypoxicな細胞が高比率に含まれており³⁵⁾、かかる事実が防護剤の作用に何らかの差異をもたらすことが考えられる。

そこで我々は代表的なSH化合物である cyst-

eine⁵⁾²²⁾²⁸⁾³⁰⁾と最近注目されている α -Mercaptopropionylglycine¹⁾¹⁸⁾³¹⁾³²⁾³⁷⁾の2つの薬剤の正常組織と腫瘍組織に対する放射線防護効果について、実験動物を用い比較検討を加えたので、ここに報告する。

II. 実験材料および方法

1. 実験動物および腫瘍系

放射線医学総合研究所で SPF (Specific pathogen free) 状態にて飼育した inbred strain の C3H/He 系マウス雌雄同数を8—10週齢(体重約30g)にて使用した。これらのマウスは実験開始前より終了まで同研究所内の恒温動物舎にて1ケージに6匹ずつ飼育し、市販の固型飼料と、塩素含有水とを自由に与えた。

またマウスのLD50の研究にはSPF状態を保つよう特別に設計された動物舎にて同様に飼育したが、この時は固型飼料は乾熱滅菌の後自由に与えた。

実験腫瘍には同系雌マウスに自然発生した乳癌の第3世代を使用した。即ち自然発生乳癌組織を幾本かのアンプルに封入し液体窒素冷蔵庫に貯蔵し、その1部を同系雌マウスの側腹部皮下に移植、増殖せしめ(第1世代)、これを再度液体窒素冷蔵庫に貯蔵した、この第1世代を必要に応じ取り出し、同時に移植、増殖せしめ第2世代腫瘍を使用した。したがって全ての実験は同一乳癌の第3世代を用いたことになる。

2. 単細胞浮遊液の作製と移植法

十分発育した第2世代乳癌を摘出し、壊死巣を取り除いた後、それをクーパーにてできる限り細かく切りくだいた、これを5%仔牛血清を含むハンクリ氏液にて約5倍量に稀釈し、試験管に移し、よく攪拌した後、碎氷中に約20分間静置した。

この上清約3分の2を注射筒にて取り、Swinny filter にて濾過した後、1,600rpm にて5分間遠沈した。この沈渣をハンクス氏液にて約倍量にうすめることにより単細胞浮遊液を作製した。細胞数の計数はトリパンブルー染色法にて非染色細胞を血球計算盤上にて数えることにより行なつた。この非染色細胞、即ち生きた細胞、 $2 \sim 5 \times 10^5$ を含む単細胞浮遊液10 μ l を移植に供した。移植部位はマウス右大腿部皮下とした。

3. 放射線照射法

3-a. マウス腫瘍および大腿部の照射.

深部治療用X線発生装置(東芝製, KXC-19型)を管電圧 200kVp, 管電流20mA にて操作した。焦点—腫瘍 または 大腿部中心間距離は15cmで、濾過板は用いなかつた。X線の半価層は、0.8 mmCu であつた。線量率の測定は Victoreen-R-meter にて行ない、深部線量率は深部線量率表に従つた。照射野は2.5cm $\times$ 3.5cmで2匹のマウス局所を同時に照射し、線量分布の均等化のため照射中、半ばでマウスを反転させた腫瘍あるいは大腿部中心での線量率は660rads/minであつた。

これらの照射はマウスの正常空気を常圧下で呼吸している状態で、局所への血流を遮断させることなく行ふか、即ち air 照射、あるいは局所頭側の大腿骨頭部で締め込んで血流遮断後、即ち Hypoxia 照射を行なつた。尚後者の血流遮断は照射2分前より照射中を通じて行い、また照射に先立ち、ネンブタール、60mg/kgにてマウスを麻酔した。

3-b. マウスの全身照射.

小動物の全身照射用に特別に設計された。東芝製4,000Ci の ^{137}Cs 照射装置を用いた。焦点皮膚間距離は35cmで、線量率は105rads/minであつた。マウスの固定のためには、12コの個室が放射状に並んだ円形のケースを用い、各個室にマウス1匹づつを麻酔をすることなく収容した後、線量分布の均等化のために、このケースを照射野内に設置された廻転盤上にのせ、毎分5~6回転させながら照射した。

4. 使用薬剤

放射線防護効果の検討に用いた薬剤は cysteine (S.S 製薬) および α -Mercaptopropionylglycine (参天製薬、以下MPGと略す) の2種で、投与量がマウス体重1gにつき、0.01ml になるように溶解した。薬剤投与は照射30分前にマウス腹腔内に行つた。

5. 実験方法

次の3つの実験方法を用いたが、いずれの実験にても、それに先立ち使用する全てのマウスを乱数表に従つて任意にグループ分けした。

5-a. LD50/8

マウスをグループ分けした後、各線量群毎に異なる線量を全身照射した。照射後毎日一定時刻にマウスの生死を観察し、照射後8日目までの各線量群毎の死亡率に基き、logit 分析法にてLD50/8を計算した。この実験では腸管死を指標としたために、観察期間は10日間とどめたが、マウス死は照射後、7、8日目に集中して認められたので、LD50、は照射8日後までの死亡率に基づいた。尚1つのLD50の分析には36~42匹のマウス使用し、同時に3~4つの分析を行なつた。

5-b. ED50/35

LD50実験同様、マウスのグループ分け後、各線量群毎に異なる線量をマウス右大腿部に照射した。照射後2週間目より連日照射部位の脱毛の程度を5段階において観察した、即ち、

0、全く脱毛を認めない。

1. 部分的脱毛
2. 照射部面積の約50%以下で1以上の脱毛
3. 照射部面積の約50%以上で完全でない脱毛
4. 照射部全体の完全な脱毛

の5段階である。

脱毛の観察前に、観察者にその対象がいずれの群に属するかを隠すため、照射後再度マウスの乱数化を行なつた。観察期間は35日間とし、35日目の各線量群毎の完全脱毛をきたしたマウスの比率に基づき logit 分析法にてED50、(50% Epilation dose)、即ち50%の被照射マウスに完全脱毛をおこさせるに必要な照射線量を計算した、1つ

のED50分析に約40匹のマウスを使用し、1実験で4～6のED50分析を行なった。

5-c. TRT50

TRT50 (50% tumor regrowth time), 即ち, 被照射腫瘍の半数が照射時の大きさに再増殖するのに必要な時間の決定は次の如く, Urano et al³⁸⁾の方法によつた。マウス右大腿部に移植された腫瘍細胞が増殖し, 平均8mm直径(250mm³)の腫瘍となつた時に照射を開始した。尚この実験では移植による偏りをさけるため, マウスの乱数表による任意抽出は移植後, 照射前に行つた。照射後少なくとも週4回, 腫瘍の3方向の直径を caliper にて計測し, 腫瘍体積を求めた。計測は腫瘍が平均直径15mmに再増殖するまで続け, 腫瘍体積は, 腫瘍を楕円体として, $\pi/6 \times a \times b \times c$ にて求めた。ここでの a, b, c. は各直径である。この腫瘍体積を照射後の日数に対し片対数グラフ上にプロットし, 照射時の体積に再増殖するまでの日数をグラフ上より求めた。かかる 250mm³ に再増殖した腫瘍の累積百分率を, 照射後日数の函数として求め, この関係より logit 分析法にて TRT50 を求めた。

III. 実験結果

1. 正常組織に対する cysteine の防護効果

cysteine の正常組織に対する放射線防護効果を検討するために, LD50およびED50に関する一連の実験を行なった。

まず脱毛線量ED50を検討するため, マウス右大腿部に照射し, その後経時的に脱毛の程度を調べた。脱毛は照射後14日目頃より始まり最初は軽度であつたものも, 時間と共に程度を増すようであつた。また線量と脱毛発現の時期をみると, 線量の高い程, 脱毛も早期に出現した。そこでED50を照射後21日目より経日的に求めてみると, Fig. 1に示す如く, 時間が経つにつれてED50は次第に小さくなり, 照射後30日をすぎると一定値に収斂するようであつた。この傾向は cysteine 投与群, 即ち cysteine 投与後にX線照射したマウスにも同様に認められた。そしていかなる日時でも cysteine 投与群は非投与群に比べED50値

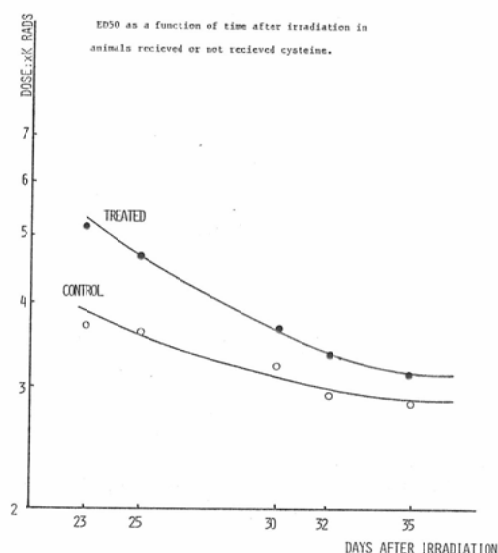


Fig. 1. ED50 decreases with time and reaches a plateau at 30 days after irradiation.

Table 1. ED50/8 means the radiation dose which yields complete epilation in 35 days after treatment in half the treated mice.

cysteine (mg/g)	X-ray condition	ED-50 (95% C.L.) (rads)	DRF
0	air	2580 (2480-2680)	1
0.4	air	2850 (2640-3070)	1.10
0.8	air	3520 (3160-3910)	1.36
1.2	air	3690 (3460-3940)	1.43
0	hypoxia	3870 (3730-4000)	1
1.2	hypoxia	5030 (4930-5140)	1.30

は高かつた。そこでED50値が略一定値に収斂した時, 即ち照射後35日目でのED50値 (ED50/35) をとり, 実験値の比較検討を行なうことにした。その結果はTable 1に示すごとくで cysteine 投与群のED50/35は非投与対照群に比較して, いずれも高い値を示した。空気呼吸下照射による非投与群のED50/35が2580radsであるのに対し, cysteine 0.4, 0.8および1.2mg/gをそれぞれ投与後30分局所照射を行つたマウスのそれは2850, 3520, および3690radと, cysteine の投与量に比例して高い値を示した。これらの DRF (dose reduction factor) をみるとそれぞれ 1.1,

Relation between DRF and cysteine dose.
DRF vs DOSE

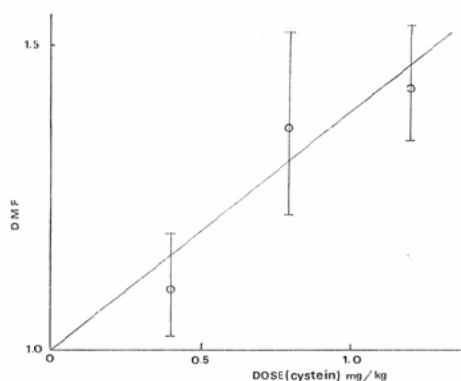


Fig. 2. There was a linear relationship between cysteine dose and DRF.

1.36, 1.43で今回検討した範囲内ではDRFは投与量に依存して高値となつた (Fig. 2)。

一方, hypoxic な条件下で照射しED50/35を比較すると, 対照群のそれが3870radであつたのに対し, cysteine 1.2ml/g投与群では5030radであつた。DRFをみると1.30で, 空気呼吸下照射と同様に cysteine による放射線防護効果が認められた, ここで照射時の条件によるED50/35の比較, 即ち ED50 (hypoxia)/ED50 (Air) をみると, 非投与群では1.50であるのに対し, cysteine 1.2mg/g投与群では1.36となつた。このことは cysteine の防護効果は hypoxia 下照射に比べ空気呼吸下照射時により著明に認められることを意味するものであろう。

次にマウス全身照射による致死線量LD50について検討した。マウスに種々線量を1回全身照射後, 毎日一定時刻に死亡マウスの有無を調べたところ, 今回照射した線量範囲内では照射後6日目よりマウスの死が始まり, 死亡数は8日目で最大となり, 9日目に急減した。この時期に死亡したマウスの, 死に到る主症状は重症下痢であり, 死亡日時および主症状より, これらの死亡は所謂腸管死と考えられた。したがってLD50の算出は, 照射後8日目までの死亡率に基づくこととした。

さて cysteine 0.8mg/kg投与後30分に全身照射

LD 50/8 of animals treated or not treated with cysteine.

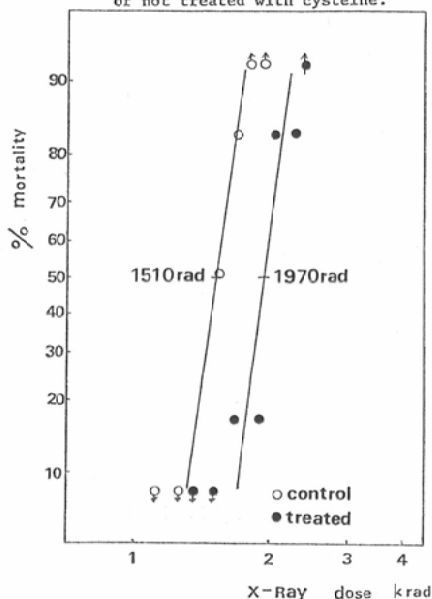


Fig. 3. Effect of cysteine on mortality of whole body-irradiated C3/He mice in 8 days after the treatment.

Table 2. Cysteine was administered intraperitoneally at 30 minutes before whole body irradiation.

cysteine (mg/g)	X-ray condition	LD 50 / 8	DRF
0	air	1510 (1450-1580)	1
0.8	air	1970 (1870-2080)	1.30

を行なつたマウスのLD50/8は1970radで, 非投与群の1510radに比べ有意に高かつた。これらの比よりDRFを求めると1.26であつた (Fig. 3, Table 2)。

今回LD50の実験に用いた各線量毎にマウスの平均生存日数を求め, これを両対数グラフ上にプロットした。結果はFig. 4に示す如くで実験に用いた線量範囲内では照射線量と平均生存期間との間には, cysteine 投与の有無に拘らず, 両対数グラフ上で直線関係が成り立つようであつた。またこれら線量に対し, 平均生存日数は cysteine 投与群に比べて長くと, ここでも cysteine の放射線防護効果が認められた。

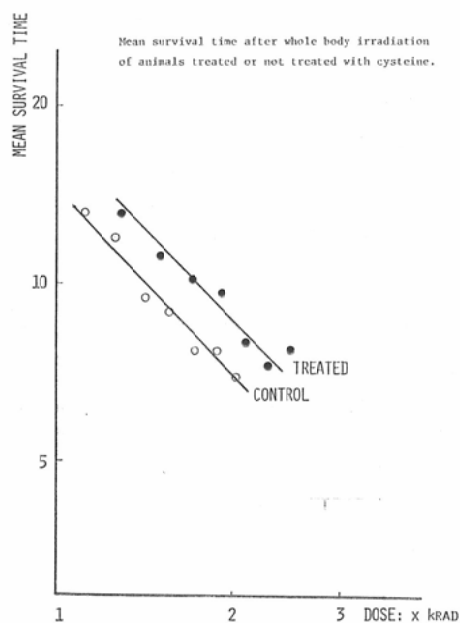


Fig. 4. Mean survival time after whole body irradiation of X-ray of treated mice is prolonged than control mice in each dose.

2. 腫瘍に対する cysteine の効果

腫瘍照射に際し, cysteine の防護効果が認められるか否かを検討するために, 次のような実験を行なった, 即ち移植腫瘍が8 mm直径に達した時, 空気呼吸下あるいは hypoxia の条件下にて4,000 rad を1回照射あるいは, 1回線量800rad を24時間々隔にて5回計 4,000rad を照射した後, 腫瘍の再増殖曲線を描き, TRT50を求めた. この時 cysteine 投与群では照射30分前に, 分割照射では各照射30分前に cysteine 0.8mg/gを投与した. 結果は Fig. 5, Table 3 に示すごとくで, cysteine 投与群の TRT50は非投与群のそれに比べ, 1回照射では短縮し, 放射線防護効果が認められるが, 5回分割照射では短縮はほとんど認められなかった. 即ち, 空気呼吸下照射でのTRT50は対照群で15.9日であるのに比し, cysteine 投与群では10.8日と短縮した. TRT50としてDRFを求めると, 1.47であつた, また hypoxia 下照射では対照群および cysteine 投与群のTRT50はそれぞれ, 14.8日および, 10.6日でDRFは1.38とな

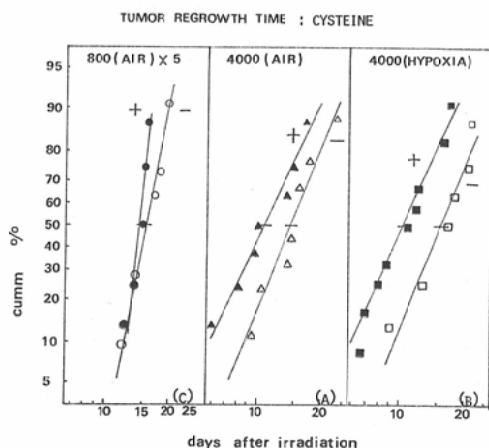


Fig. 5. Animal tumors were irradiated with a single dose of 4000rad under air-breathing condition (A) or under local hypoxia (B) or with five daily doses with under air breathing conditions (C). Tumors were treated with cysteine 30 minutes before irradiation (+) or not treated (-).

Table 3. TRT 50 means time required for half the irradiated tumors to regrow to the initial volume after irradiation with cysteine.

X-ray dose (rads)	X-ray condition	cysteine (mg/g)	TRT-50 (95% C.L.) (days)	DRF* (days)	DRF** (rads)
4000	air	0	15.9 (14.7 - 17.3)	1.47	1.22
4000	air	0.8	10.8 (9.9 - 11.9)		
4000	hypoxie	0	14.8 (13.7 - 16.2)	1.38	1.18
4000	hypoxie	0.8	10.6 (10.0 - 11.2)		
800 × 5	air	0	16.0 (15.5 - 16.6)	1.08	1.04
800 × 5	air	0.8	14.8 (14.5 - 15.0)		

* ** See text in detail.

り正常組織にみられたと同様に hypoxia 下照射では防護効果が弱かつた. 一方 800rad 連日5回分割照射によるTRT50は対照群で16.0日であるのに比し, cysteine 投与群では14.8日 (DRFは1.08) となり, 1回照射に比し, 短縮は著名でなかつた.

以上の腫瘍に関する実験では, 効果をTRT50即ち, 日数を単位として表わしたが, 正常組織に対する効果はED50, 即ち照射線量 rad 単位として表わした. したがって両者を直接比較することが困難である. そこでTRT50と照射線量との間に片対数グラフ上で一定線量域内では直線関係

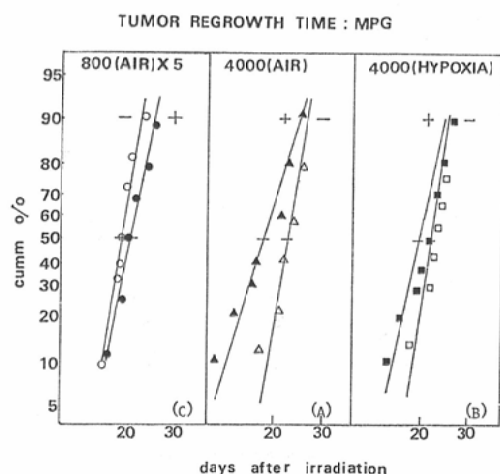


Fig. 6. Animal tumors were irradiated with single dose of 4000rad under air-breathing condition(A) or under local hypoxia (B) or with five daily doses with under air-breathing condition(C). Tumors were treated with MPG 30 minutes before irradiation (+) or not treated (-).

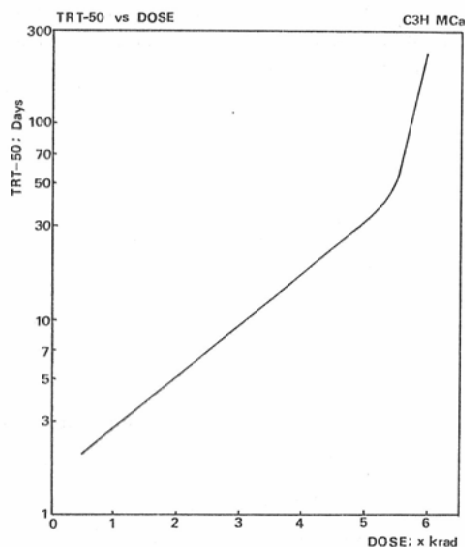


Fig. 7. Relationship between irradiation dose of a C3H/He mouse mammary carcinoma.

が成り立つことを利用し (Fig. 7) それより TRT 50を線量に換算した。そしてその線量の比として DRF を表わした。結果は表3および4の右端欄に DRF (dose) として示すごとくで、cysteine 0.8mg/g の投与によるそれは空気呼吸下あるいは hypoxia 下4,000rad 1回照射ではそれぞれ1.22,

1.18 であり、800rad 5日連続照射では1.04となつた。

3. 腫瘍照射に対するMPGの効果。

次にMPGを用い、それが腫瘍照射に対しどのような効果を示すかを cysteine 投与時と同様の実験により検討した。即ち空気呼吸下あるいは hypoxia 下にて、4,000rad の1回照射を行うか、800rad を連日5回、空気呼吸下にて照射した。尚MPGは cysteine 同様、照射30分前に腹腔内に投与した。

Table 4. TRT-50 means time required for half the irradiated tumors to regrow to the initial volume after irradiation with cysteine.

X-ray dose (dose)	X-ray condition	cysteine (mg/g)	TRT-50 (95% C.L.) (days)	DRF* (days)	DRF** (rads)
4000	air	0	23.4 (20.0 - 24.0)	1.19	1.10
4000	air	20	18.8 (17.6 - 20.0)		
4000	hypoxia	0	20.3 (19.3 - 21.5)	1.09	1.03
4000	hypoxia	20	18.7 (18.0 - 19.5)		
500×5	air	0	18.6 (18.1 - 19.1)	0.97	0.99
500×5	air	20	19.1 (18.1 - 20.2)		

* ** See text in detail.

結果は Fig. 6, Table 4 に示すごとくで、空気呼吸下に4,000rad を1回照射した時、対照群の TRT 50が23.4日であつたのに比べ、MPG, 20mg/g 投与群では18.8日と短縮が認められた。TRT 50の比でみたDRFは1.19であつた。また hypoxia 下にて4,000rad 1回照射した時、対照群、および投与群のTRT 50はそれぞれ20.3日および18.7日、DRFは1.09であつた。一方800rad 連日5回分割照射によるTRT 50は対照群およびMPG投与群でそれぞれ18.6日および19.1日 (DRF 0.97) でその間に有意差は認められなかつた。cysteine 同様に線量に換算し DRF (dose) を求めると、MPG, 20mg/g の投与後、空気呼吸下あるいは、hypoxia 下で1回照射した時それぞれ1.10, 1.03であり、分割照射では0.99となつた。

IV. 考 察

Patt²⁴⁾²⁵⁾²⁶⁾によつて cysteine の放射線防護効果が明らかにされ、また、Bacq²⁷⁾²⁸⁾⁴⁾により cystea-

mine (MEA) にはさらに強力な防護作用のあることが発見されて以来、放射線防護剤としてSH化合物が注目され、多くの研究¹³⁾¹⁴⁾が行なわれてきた。その一方ではSH化合物以外のいくつかの薬剤にも放射線防護作用のあることが *in vitro*, *in vivo* の研究を通じ知られてきた⁹⁾¹¹⁾³⁴⁾。しかるにかかる薬剤をヒトの悪性腫瘍の放射線治療に応用しようとする時いくつかの難点に直面した、その1つはそれら多くの薬剤が中毒量近く的大量投与によらねば *in vivo* で防護作用を示さないことであつた。この点に関し、最近では MPG (2-Mercaptopropionylglycine)¹²⁾¹⁷⁾¹⁸⁾³⁴⁾³⁷⁾や WR-2721 (S-2[3-aminopropylamino] ethylphosphorathioate)⁵¹⁾⁵⁵⁾⁵⁶⁾⁵⁷⁾⁵⁸⁾⁵⁹⁾ といった新しい防護剤が開発されることによつてこの難点は解決され始めている。防護剤の臨床使用に際しての今1つの問題点は、これが正常組織のみならず、腫瘍組織に対しても防護作用を示し、放射線治療本来の目的である制癌効果を減少せしめるのではないかということである。換言すれば、防護剤は正常組織のみを放射線障害より防護し、悪性組織に対しては全くその効果を持たないか、もし持つていてもそれが正常組織に対するより遙かに小さなものであることが望ましい、即ち、*differential protection* の能力を持つことが防護剤の欠かせぬ特性でなければならないと考えられる。そこでこの問題点に関して、今回我々の行なつた実験結果に基づき考察を加えたい。

我々の実験結果を、正常組織と腫瘍組織とを対比してまとめると、例えば cysteine 0.8mg/g を投与後に空気呼吸下で1回照射した時、腫瘍の DRF が1.22であつたのに対し、正常組織では脱毛線量 (ED50) を指標とした DRF は1.36、致死線量 (LD50) を指標としたそれは1.30で、正常組織に対してより強い防護効果を示した。また MPG についてみると、空気呼吸下1回照射後の DRF は、20mg/g の投与量で1.10にすぎなかつた。ところが同量の MPG を用いた菅原らの実験結果によると、マウスの放射線死は強く防護されたという。以上の結果はいづれも防護剤が正常組

織に対し悪性腫瘍に対するよりもより強い効果を持つことを示すものであり、その意味では、*differential protection* の可能性を示唆するものであらう。

腫瘍組織と正常組織とを比較する時、よく知られた事実は腫瘍組織には hypoxia な、そしてそれ故に放射線抵抗性の細胞が多く含まれていることである。cysteine 1.2mg/g を投与後、hypoxia 下および空気呼吸下の照射効果を比較したわれわれの実験では、空気呼吸下照射による ED50 の DRF は1.43であつたのに対し、hypoxia 下照射では1.30と低く、hypoxia 下照射では防護効果が小さいことを示した。同様の効果は腫瘍照射に関しても認められ、cysteine 0.8mg/g の投与後空気呼吸下または hypoxia 下で、照射した時の DRF はそれぞれ1.22, 1.18で hypoxia 下照射の方が低かつた。かかる事実は hypoxic な細胞を多く含む腫瘍組織に対し防護剤の効果がより小さいものであることを示すものと考えられる。

さて、次の問題は hypoxia 下照射で防護剤の効果がより小さい理由である。この点に関し次の2つの点より考えてみたい。即ち aerobic な細胞と hypoxic な細胞との放射線感受性に対する防護剤の効果の差と、腫瘍および正常組織の血管分布を中心とした組織構築の差異との2点からである。

Bernard 等⁶⁾は C57BL/6J マウスに BW10,232 乳癌を移植後、³⁵S でラベルした MEG および GED を投与しそれぞれの正常組織および腫瘍組織で2分布を検討したところ、腫瘍内への防護剤の取り込みははるかに低かつたという。彼等はこの結果を腫瘍組織の hypoxic fraction への防護剤の浸透、吸収が遅延あるいは阻害されるためと解釈している。

O'Gara 等¹⁹⁾も同様に ³⁵S でラベルした AET を担癌マウスに投与したところ、腫瘍組織での活性は低かつたと報告している。また Harris 等²⁰⁾はエールリッヒ、P-338 および白血病等の腹水腫瘍に対する WR-2721 の効果を調べたところ、腫瘍細胞が酸素に富んだ条件下にある時に照射すると、これら腫瘍細胞は防護されたが、anoxic な条

件下にある時に照射するとまったく防護されなかつたという。マウス転移性肺コロニー法を用いた実験で、コロニーが直径 200～500 μ までの小さい間、即ち大部分の細胞が酸素に富んだ状態にある時には癌細胞を正常組織と同程度に AET で防護されたが、コロニー直径 1,000 μ 以上となり hypoxic な細胞が大部分を占めるようになるとまったく防護されなかつたという。

一方直接細胞の放射線感受性を検討した研究でも hypoxic な細胞に対する防護効果が小さいことが示されている。Utley 等³⁹⁾は Balb/C マウスの乳癌 (EMT-6) を用い anoxic および aerobic な条件下での照射による腫瘍細胞の線量効果曲線を求めたところ、aerobic な細胞の D R F が 1.5—2.0 であるのに対して、anoxic な細胞では 1.2—1.5 であつたという。また Vergossen⁴⁰⁾ は培養細胞を用い、anoxic な細胞が防護され難く、anoxic の程度により防護能に違いがあると述べている、これらの実験は anoxic な細胞が防護され難いことを明瞭に示すものと思われる。

以上の文献的考察を要約すると、防護剤は腫瘍組織の中で hypoxic な細胞分割への浸透、吸収が抑制されるために、hypoxic な細胞に対して効果を発揮しえないこと、および hypoxic な細胞それ自体が防護され難いことの2つの原因のために、腫瘍組織および正常組織に対する differential protection が成立するといえるであろう。

最近 differential protection を示す薬剤として注目されている WR-2721 は少し異なる作用機序を持つようである。この WR-2721 に関して Yuhas 等⁴⁶⁾は正常組織と悪性組織に対する防護能の違いについて検討している。即ち C67BL/6J マウスを用いての両者の防護能の比較では、マウス全身照射による L D 50/30 を検討しているが、対照群 747rad に対し、WR-2721 投与群では 2,030rad で D R F は 2.72 と大きな防護効果を認められる。またマウス背部照射後半数のマウスに潰瘍を形成させるのに必要な線量では処置群、3317rad に対し、対照群、1,380rad で D R F は 2.40 と大きい値であつた。一方腫瘍組織に対する効果を検討す

るために移植乳癌を用い、これに 1,000rad から 4,000rad 照射後腫瘍を摘出し、その移植率を観察すると、移植したマウスの半分に移植させるのに必要な線量 (Dose for 50% inhibition) は処置群で 3,000rad であるのに対し対照群では 2,711rad で D R F は 1.15 と報告している。即ち正常組織に対する D R F に比べはるかに小さな値であつたという。

又彼⁴⁵⁾は Balb/C, BC3F₁ のマウスを用いて WR-2721 投与後 1 時間から 1 時間半の脾重量を測定し脾血管の著明な拡張による脾重量の増加を認め、摘脾によつて防護能が低下することから、脾臓の血管拡張は他の臓器、組織の血液供給を変えるために酸素圧を減少させ放射線耐容性を増加させると説明している。

又 Yuhas⁴⁵⁾は移植腫瘍ではなくウレタンの腹腔内注射によつて発癌した肺腫瘍を用いより臨床に近い形で WR-2721 の防護能を検討しているが、まず正常組織に対する効果をみるために R F M 担癌マウスの肺局所照射による L D 50 と被照射マウスの半分に完全な脱毛を起こす線量 (E D 50) とを検討した。肺照射後 60 日から 160 日の間に認められる死亡率により L D 50 を調べたところ、それにより D R F は 1.5 ないし 1.7 であつた。また照射後 60 日おける脱毛を指標とすると、E D 50/60 は処置群で 4,877rad、対照群で 2,355rad となり D R F は 2.07 であつた。一方ウレタンにて発癌した肺腫瘍の防護能については WR-2721 の投与を照射前 90 分の投与では 15 分前投与と比較すると、腫瘍容積の減少率が少なく、防護されたと報告している。これは防護剤が 15 分ではいまだ腫瘍内に到達しておらず 90 分後には腫瘍内に防護剤が存在するため、結局正常組織と悪性組織の防護能の差は質的なものではなく、時間的な問題であろうと推論している。

Kollmann 等¹⁹⁾はこの点に関しさらに詳細に検討した。即ちウレタン腹腔注射にて発癌した肺腫瘍を用い、WR-2721 投与後の構造変化と投与後、15分、75分の正常及び悪性組織の防護能の違いから、differential protection の機構を次の様に

説明している、即ち WR-2721 投与後、15分の照射では正常組織のみ防護し、75分の照射では正常および悪性組織の両方を防護し、しかも蛋白に結合した型の防護物質の濃度が照射前20分の投与では低く、照射前90分の投与で増加することから、WR-2721 が投与後、蛋白と結合することによって防護作用を示すことを明らかにした。

今回のわれわれの研究で今一つ興味あることは、腫瘍に対し5回分割照射を行なった時に cysteine およびMPGともにほとんど防護効果を示さなかつたことである、われわれの用いたC3Hマウス乳癌は reoxygenation が起こり、事実今回の実験でも1回照射に比べTRT50がほとんど変わらないことは reoxygenation が起こっていたことを示すものであろう。したがって aerobic な細胞がより防護されることを考えれば分割照射では腫瘍に対してもより強く防護効果が発現することが期待できた。しかるに結果はまったく逆であつた。このことは1回照射線量の大きさが防護効果の大きさを左右することを意味するか、障害の回復が線量の大きさあるいは障害の大きさに依存していることを意味するものと考えられる。この点に関しては今後の大きな課題であらう。

V. 結 語

1) C3H/He マウスを用い、cysteine, MPG の正常組織、腫瘍組織に対する防護効果を検討した。cysteine, 0.8mg/g 投与で、マウス全射照射後のLD50/8は処置群、1,970rad. 対照群、1,510rad でDRFは1.30であつた。

2) マウス大腿部局所照射後35日目における被照射マウスの半数に完全な脱毛を起こすに必要な線量(ED50/35)は cysteine 1.2mg/投与、3,690 rad, 対照群、2,580rad でDRF, 1.43. hypoxia 照射では処置群、5,030rad 対照群、3,870rad DRFは1.30であつた。LD50/8, ED50/35共に対照群との間に有意の差がみられ、cysteine の防護効果が認められた。

3) 同系マウスの移植乳癌を用いて、照射後腫瘍の半数が照射前の容積に再増殖する日数(TRT50)によつて悪性組織に対する防護能を検討し

た。cysteine 0.8mg/g 投与後、4,000rad 照射、空気呼吸下でDRF1.22, hypoxia 下で1.18分割照射でDRF1.04でいずれもLD50/8, ED50/35のDRFよりも低かつた。

4) 最近強い防護能を持つといわれたした、MPGを用い腫瘍照射に関する効果を検討したところ cysteine と同様の結果をえた。

以上の結果から正常組織の方が悪性組織より防護効果が高く、それは悪性組織中の hypoxic fraction が防護剤の吸収が正常組織と比較して低いためであらうと推論した。

本論文の要旨は第33回日本医学放射線学会総会において発表した。

稿を終えるにあたり御親切な御助言、御指導を賜った、群馬大学放射線医学教室、永井輝夫教授をはじめ放射線医学総合研究所、臨床研究部、浦野宗保先生および研究室の皆様にお礼申し上げます、又御校閲を賜った東京通信病院放射線科部長、大島敏美博士に深謝致します。

文 献

- 1) 網野三郎, 西尾碩人, 阿部公彦, 斉藤勝正, 岡本十二郎, 会田征彦, 早田義博, 稲田哲雄: 進行肺癌に対する術中照射の経験. 日医放会誌, 35 (1975), 313—320.
- 2) Bacq, Z.M.: The amines and particularly cysteamine as protectors against roentgen rays. Acta Radiol., 41 (1954), 47—55.
- 3) Bacq, Z.M.: Chemical protection against X-rays. Strahlentherapie., 95 (1954), 215—237.
- 4) Bacq and Alexander: Fundamentals of radiobiology. Chemical protection against X and r-rays. p. 290—327. Butterworth scientific publications. London. 1955.
- 5) Bari, W.A.: Cysteine protection against the morphologic effects of X-ray irradiation on mouse spleen. Path. Microbiol., 32 (1968), 205—218.
- 6) Bernard, S., Schwarz, E. and Kollmann, G.: The distribution and the chemical forms of the radioprotective agent AET in mammary tumor bearing mice. Cancer Res., 23 (1963), 223—228.
- 7) 古田敦彦, 中田潤三郎: 放射線縮酔に対するC-G (ハイチオールカプセル)の効果について. 新薬と臨床, 10 (1973), 569—577.
- 8) Harris, J.W. and Philips, T.L.: Radio-

- biological and biochemical studies of thiophosphate radioprotective compounds related to cysteamine. *Radiat. Res.*, 46 (1971), 362—379.
- 9) de Hevesy Forsberg and Abbott: Advance in radiobiology. Present status of radiation protection by mammals. p. 134—169. Oliver & Boyd, Edinburch, 1957.
 - 10) 星野孝夫: BUdR による脳腫瘍の放射線治療法. 癌の臨床, 20 (1974), 67—73.
 - 11) 本城市次郎, 崔英哲: 基礎放射線生物学 p. 149—170, 南江堂, 東京, 1961.
 - 12) 岩田平太郎: 2, 3 制癌剤による制癌効果と白血球減少に及ぼす α -Thiola (α -Mercaptopropionylglycine) の影響. 日本薬理学会雑誌, 60 (1964), 47—51.
 - 13) 川崎祥二, 小林光昭, 沖田 功, 末富一臣, 桜井孝: 放射線による細胞分裂遅延に及ぼす SH 化合物の影響. 3. cysteamine の放射線防護効果, 日医放会誌, 34 (1975), 814—819.
 - 14) 北川俊夫, 母里知之, 奥村 寛, 植田俊男, 山下延男: 原体照射法, 癌の臨床, 16 (1970), 316—367.
 - 15) 北川俊夫, 中村 俊, 藤井正敏, 市川平三郎, 伊藤一三, 三輪 潔, 北岡久三, 吉川謙蔵: 胃癌に対する増感剤併用の試み, 癌の臨床, 20 (1974), 128—135.
 - 16) Kollman, G., Yuhaz, J.M. Leon, S. and Shapiro, B.: Mechanism of differential radiation protection of normal versus tumor tissue by WR-2721 in tumor bearing mice. *Radiat Res.* 55 (1973), 603.
 - 17) 小山 豪, 池田義治, 野村恒治, 宮崎泰一 α -Mercaptopropionylglycine (Thiola) の放射線死に対する防護効果について. 日本医放会誌, 25 (1965), 229—232.
 - 18) Nagata, H., Sugahara, T. and Tanaka, T.: Radiation protection by α -mercapto-propionylglycine in mice. *J. Radiat. Res.*, 13 (1972), 163—166.
 - 19) O'Gara, R.W., Hallcroft, J. and Kelly, M.G.: Tissue distribution of radioactivity following administration of S_{35} -labelled AFT in normal and tumor-bearing mice. *Fed. Proc.* 18 (1975), 429—435.
 - 20) 大島敏美, 築山 巖, 木下文雄, 前川 全: 悪性腫瘍患者の放射線治療に対するチス테인製剤の使用経験, 臨床放射線, 19 (1974), 339—334.
 - 21) 大島敏義, 松本泰二, 青山文七: 悪性腫瘍患者のコバルト治療における C-G (ハイチオール) の効果, (第1報), 新薬と臨床, 10 (1973), 551—556.
 - 22) 大島敏美, 松本泰二, 築山 巖, 飯田高史, 沼田洋: L-Cysteine および D-glucose-L-cysteine の X 線防護効果, 東邦医会誌, 19 (1972), 142—147.
 - 23) 大島敏美, 築山 巖: 防護剤および増感剤併用による放射線治療の基礎的研究, 日本医放会誌, 33 (1973), 351—359.
 - 24) Patt, H.M., Tyree, E.B., Straube, R.L. and Smith, D.E.: Cysteine protection against X-irradiation. *Science.*, 110 (1949), 213—214.
 - 25) Patt, H.M.: Further studies on modification of sensitivity to X-ray by cysteine. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 73 (1950), 18—21.
 - 26) Patt, H.M.: Effect of X-rays on thymocytes and its modification by cysteine. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 80 (1953), 92—97.
 - 27) Powers, W.E. and Tolmach, L.J.: Demonstration of an anoxic component in a mouse tumor cell population by in vivo assay of survival following radiation. *Radiology.*, 83 (1964), 328—335.
 - 28) Rosenthal, R.G., Goldschmidt, L. and Piching, B.I.: Hematologic changes in rats protected cysteine against total body X-irradiation. *Amer. J. Physiol.*, 166 (1951), 15—19.
 - 29) Sambrook, M.B.: Clinical trials a modified ("Split-course") technique of X-ray therapy in malignant tumors. *Clin. Radiol.*, 13 (1962), 1—9.
 - 30) Smith, D.E., Patt, H.M., Tyree, E.B. and Straube, R.L.: Quantative aspects of the protective action of cysteine against X-irradiation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 73 73 (1958), 198—200.
 - 31) Sugahara, T., Tanaka, H. and Kana, E.: Radiation protection by 2-mercapto-propionylglycine. *Proceedings of the International Symposium on Thiola.* Santen Pharmaceutical Co, Ltd., (1970), 267—272.
 - 32) Sugahara, T.: Possible application of chemical radioprotectors to radiotherapy. *Fraction size in radiobiology and radiotherapy.* p. 38—93. Igaku shoin Ltd. Tokyo, 1973.
 - 33) 菅原 努, 上野陽里: グルタチオンの放射線防護作用. p. 215—252, グルタチオン研究の進歩, 診断と治療社, 東京, 1969.
 - 34) 菅原 努, 山田正篤, 江上信雄, 堀川正克編集, 放射線細胞生物学, p. 235—245, 朝倉書店, 東京, 1963.
 - 35) Tannlock, L.F.: The relation between cell proliferation and vascular system in a transplanted mouse mammary tumor. *Brit. J.*

- Cancer, 22 (1968), 258—265.
- 36) 田崎瑛生：子宮頸癌の放射線療法，産婦治療，19 (1969)，311—318.
- 37) 手戸 透：放射線治療時の α -Thiola の効果について，新薬と臨床，15 (1966)，1187—1191.
- 38) M. Urano, N. Fukuda, K. Ando, S. Koike, N. Tanaka.: Tumor control and regrowth probability after single radiation of experimental animal tumors. J. Natl. Cancer. Inst., 53: 517—525, 1974.
- 39) Utley, J.F., Philips, T.L., Wharam, M.D. and Wara, W.M.: Differential radioprotection and vascular system in a transplanted mouse mammary tumor. Brit. J. Cancer, 22 (1968), 258—265.
- 40) Vergrossen, A.G.: Protection of tissue culture cells against ionizing radiation. III. The influence of anoxia on the radioprotection of tissue-culture cells by cysteamine. Int. J. Radiat. Biol., 6 (1964), 117—126.
- 41) Washburn, L.C., Carlton, J.E. and Hayes, R.L.: Distribution of WR-2721 in normal and malignant tissues of mice and rats bearing solid tumors: Dependence on tumor type drug dose and species. Radiat. Res., 59 (1974), 475—483.
- 42) 山下久雄，長瀬徹也，小林敏雄，五味 誠，網野三郎，鎌田力三郎，金田浩一，御厨修一：悪性腫瘍に対する放射線と Bleomycin の同時併用について，癌の臨床，21 (1975)，4—12.
- 43) 柳沢文憲，中山恒明，滝沢延次郎，寛 弘毅：癌に対する新しい術前照射法，日医新報，2057 (1963)，14—19.
- 44) Young, L.L.W., Rubin, P. and Casarett, G.: Cysteamine protection against irradiation effect on growing cartilage. Radiology., 79 (1962), 569—575.
- 45) Yuhas, J.M.: Radiotherapy of experimental lung tumors in the presence and absence of radioprotective drug S-2 (3-aminopropylamino) ethylphosphorothioic acid (WR-2721). J. Natl. Cancer Inst., 50 (1973), 69—78.
- 46) Yuhas, J.M. and Store, J.B.: Differential chemoprotection of normal and malignant tissues. J. Natl. Cancer Inst., 42 (1969), 331—335.
- 47) Yuhas, J.M., Proctor, L.O. and Smith, L.H.: Some pharmacologic effects of WR-2721. Their role in toxicity and radioprotection. Radat. Res., 54 (1973), 222—233.
- 48) Yuhas, J.M.: Improvement of lung tumor radiotherapy through differential chemoprotection of normal and malignant tissues. J. Natl. Cancer. Inst., 48 (1972), 1255—1257.
- 49) Yuhas, J.M.: Biological factors affecting the radioprotective efficiency of 3-2 (3-aminopropionylamino) ethylphosphorothioic acid (WR-2721): LD50 (30) doses. Radiat. Res., 44 (1970), 621—628.