Osaka University Knowledge Archive

Title	急性放射線障害に対するポリエンホスファチジルコリンの効果
Author(s)	森野, 靖雄; 山本, 剛禧; 水川, 帰一郎 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1976, 36(9), p. 835-840
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19764
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

急性放射線障害に対するポリエンホスファチジルコリンの効果

岡山大学医学部放射線科（主任：山本道夫教授）
森野　靖雄　　山本　剛禧　　水川帰一郎
青野　　要　　田辺　正忠　　山本　道夫

（昭和50年12月25日受付）
（昭和51年4月19日最終原稿受付）

Rapioprotective Effect of Phosphatidylcholine on Radiation Injury

Yasuo Morino, Goki Yamamoto, Kiichiro Mizukawa, Kaname Aono,
Masatada Tanabe and Michio Yamamoto
Department of Radiology, Okayama University Medical School, Okayama, Japan

Research Code No.: *408*
Key Words: *Radioprotection, Essential phospholipid, Phosphatidylcholine*

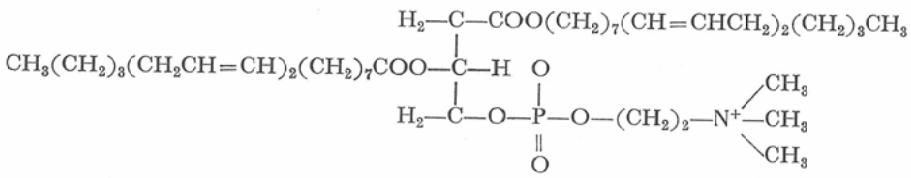
Polyene phosphatidylcholine with poly-unsaturated fatty acid (essential phospholipid, EPL) was given to mice irradiated 500 R on the whole body. The survival of the irradiated mice was extended by the administration of EPL before and after irradiation. The fatty acid composition of the liver mitochondria did not show any significant difference among EPL administered group, irradiated group (6 hrs after irradiation), and control group. The liver mitochondria were isolated 3 hrs after 1,000 R irradiation on the whole body, and the oxidative phosphorylation of mitochondria was assessed by an oxymeter. The oxidative phosphorylation ability diminished by irradiation was recovered when EPL was added to the midium.

I 緒　言

最も最初に高級不飽和脂肪酸と放射線障害との関連に着目したのは，Decker と Mead[6] のようである．彼らによれば慢性あるいは急性の必須脂肪酸欠乏は放射線照射動物の死亡率を著明に増加させるという．これをさらに詳細に検討したのは，Cheng と Deuel[3)4)5)7)9)] らで，適当な脂肪を含む飼料で飼育した動物は，無脂肪食で飼育した動物よりもはるかに放射線障害に耐えるということを認めている．そして脂肪中の必須脂肪酸が防護効果の主要因子であることを明らかにしたが，作用機序については不明である．放射線障害の指標となる血色素量，白血球数などについては何ら改善が見られていない[3]．

ポリエンホスファチジルコリン（以下ＥＰＬ）は側鎖に高級不飽和脂肪酸を有するコリン燐脂質で構造式は次のページの様なものである．

燐脂質は生体膜の構成々分としてのみならず，代謝活性を有し機能面においても重要な役割をもつものとして，近年電子伝達系における研究がす



すんでいる[16].

本実験では放射線全身照射マウスにＥＰＬを投与し，生存率の上昇の有無を検討した．また作用機序解明の一環として肝ミトコンドリアを分離し，脂肪酸分析および in vitro でエネルギー産生系の検討を行つた．

II　実験方法

1．生存率の検討

各群30匹のマウスを以下の４群に分けて生存率を検討．

1）全身 500ＲＸ線１回照射群．

2）照射前毎日７日間腹腔内に５mg投与．

3）照射後７日間毎日５mg投与．

4）照射後７日間毎日10mg投与．

同様の群で 650ＲＸ線全身１回照射．

使用動物：

オリエンタル固型飼料ＭＦを用いて一定期間飼育した dd 系健康雄性マウス，体重20ｇを使用した．

ＥＰＬ投与方法：

ＥＰＬは日本商事 K.K. より提供を受けた．白色粘稠な油脂状で窒素にてバイアル中に封入しフリーザー中に保存，使用時滅菌蒸溜水を混じTaiyo Mixer S-5F でコロイド状とし，10mg/ml に調整したものを直ちにマウス腹腔内に投与した．対照群には生食 0.5ml を腹腔内に投与した．

照射方法：

東芝ＫＸＣ18型深部Ｘ線治療装置を使用．200 kvp, 25mA, フィルター 0.5mmAl+0.5mmCu, 78.0R/min, F.S.D 50cmで全身照射を行つた．

2．肝ミトコンドリアの脂質分析

以下の各群３匹について肝ミトコンドリア脂質の脂肪酸構成比を検討した．

1）未処置群

2）500Ｒ全身照射後６時間目．

3）500Ｒ全身照射後24時間目．

4）ＥＰＬ５mg７日間投与非照射群．

5）ＥＰＬ５mg７日間投与後 500Ｒ全身照射６時間目．

6）ＥＰＬ５mg７日間投与後 500Ｒ全身照射24時間目．

肝ミトコンドリアの分離は，Hogeboom[12] の変法により，脂質は Folch ら[8]の方法で抽出し，脂肪酸分析は島津ガスクロマトグラフ GC-1B を使用した．

3．エネルギー産生系の検討

1,000Ｒ全身１回照射後３時間目に肝ミトコンドリアを分離し，コハク酸基質下の呼吸活性を Bioxygraph[22]（給水化学 K.K.）を使用し，oxymeter 法によつて測定した．酸化的リン酸化能の指標である ADP/O 比，呼吸調節能（respiratory control index）は Chance ら[2]の方法で求めた．ＥＰＬを50～ 100μg/ml in vitro で添加し，非照射対照と比較検討した．

III　結　　果

Fig. 1 の如く 500Ｒ全身１回照射では，照射の

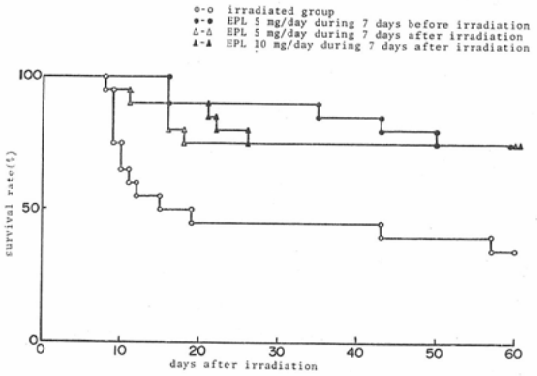


Fig. 1. Survival curves of mice after 500R of whole-body X-irradiation with the administration of EPL before and after irradiation

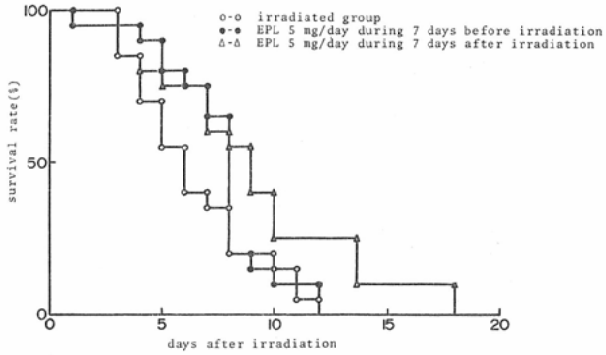


Fig. 2. Survival curves of mice after 650R of whole-body X-irradiation with the administration of EPL before and after irraniation

Table 1. Fatty acid composition of mouse liver mitochondrial lipid

groups	Composition of fatty acid (%)					
	$C_{16:0}$	$C_{18:0}$	$C_{18:1}$	$C_{18:2}$	$C_{20:4}$	$C_{22:6}$
Control	22.7	17.4	9.9	26.2	11.3	12.5
6 hrs after 500Rexposure	24.2	14.9	10.4	25.4	10.9	14.2
24 hrs after 500R exposure	23.4	16.9	9.3	25.3	10.9	14.2
EPL administrated (5 mg/day for 7 days)	23.3	16.2	9.0	26.1	11.5	13.9
6 hrs after 500R exposure with the administration of EPL before irradiation	23.7	14.6	12.8	23.5	9.9	15.7
24 hrs after 500R exposure with the administration of EPL before irradiation	23.9	15.1	10.8	27.2	10.0	13.2

みの群は30日で9匹，60日で7匹生存に対し，照射前ＥＰＬ 5㎎7日間投与群では30日で18匹，60日で15匹生存．照射後投与群では5㎎，10㎎とも30日，60日で15匹生存し，照射前投与，照射後投与とも明らかな生存率の上昇を認めた．一方，650R全身1回照射では Fig. 2の如く，照射のみの群および照射前5㎎投与群は12日目で全例死亡，照射後投与群は17日目まで2匹生存したが，有意の差は認められなかつた．

肝ミトコンドリアの脂肪酸分析の結果では Table 1のように，コントロール群とＥＰＬ5㎎．7日間投与群との間に有意の差は見られなかつたまた 500R全身照射後6時間後および24時間後と各群との間にも有意の差は見られなかつた．

酸化的リン酸化能の検討では Fig. 3の如く，コハク酸基質下で非照射対照の ADP/O 比は1.93，呼吸調節能1.80に対し，1,000R照射肝ミトコンドリアでは ADP/O 比は1.53と低下を認めた．呼吸調節能は1.79と変化を認めなかつた．ここでＥＰＬを添加すると照射群の ADP/O 比は，1.98と対照と同程度の値まで回復が認められた．ＥＰＬの存在下では対照，照射群とも state 3の酸素消費は見かけ上抑制されると同時にＡＤＰ添加後の呼吸調節能は上昇した．

IV 考　察

ホスファチジルコリンはその構成脂肪酸の種類によつて活性を異にし，高度不飽和の脂肪酸を有するものほど生物学的活性が高いとされている．すなわち Yamashita[25] によれば，再構成された電子伝達系において高度不飽和の脂肪酸を有する

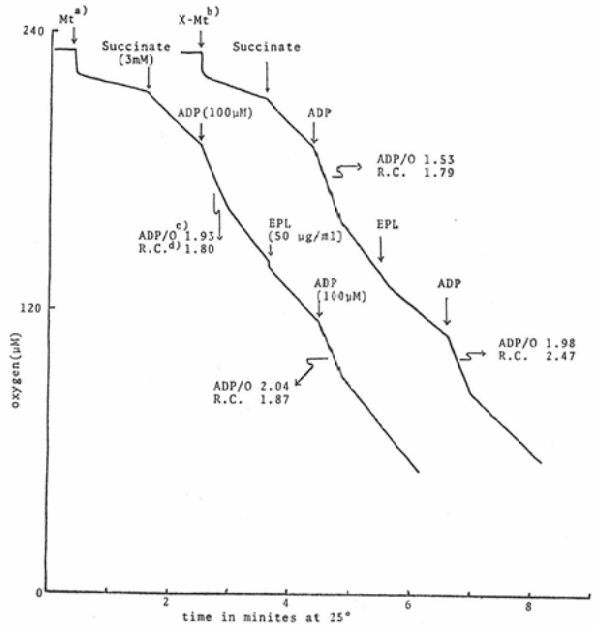


Fig. 3. Effect of EPL on the oxidative phosphorylation of liver mitochondria isolated from mice with 1,000R whole-body X-irradiation
Medium : 0.15M sucrose, 0.02M KCl, 0.003M $MgSO_4$, 0.01M Tris-HCl (pH 7.4), 0.02M K-phosphate (pH 7.4)
a) Non-irradiated (control) liver mitochondria
b) Irradiated liver mitochondria
c),d) ADP/O and R.C. (respiratory control) were calculated from oxygen electrode tracings[2]

ホスファチジルコリンほど反応活性が高いとしている．Kagawa[13] も同様の報告をしている．ＥＰＬは必須燐脂質 Essential Phospholipid を略した商品名で，polyenoic acid（リノール酸を約70％含有）を脂肪酸残基とする精製レシチンである．

放射線障害に対するＥＰＬの効果を検討するため，500Ｒ全身１回照射マウスに照射前および照射後に連日７日間ＥＰＬを投与し，いづれも明らかな生存率の上昇を認めた．この実験結果で特に注目されるのは，照射後投与でも照射前投与と同様の効果が見られることで，ＥＰＬは防護のみならず回復作用をも有することが示唆される．必須不飽和脂肪酸ことにリノール酸が放射線障害に対する防護効果を有することは Cheng, Deuel[3)4)5)7)9)] らによつて詳細に検討されている．10mgから効果が認められ[7]，報告者によつて差があるが最適量は 100mgにも達するであろうとされる[4]．致死量の全身１回照射で生存率を延長させるのみならず，半致死量以下の線量を数回にわたつて照射する場合でも同様の障害防護効果が認められている[3]．一方，高級不飽和脂肪酸でもリノレン酸はごく軽度の防護効果しか有していないが，リノール酸とともに投与するとリノール酸の作用を著明に増強させる様である[5]．この関係は成長に対する実験でも認められている[9]が作用機序については不明である．放射線障害の指標である血色素量，白血球数については何ら改善が見られない[3]．ＥＰＬに関しては，Gregl[10] の全身照射ラットについての報告が見られ，400Ｒ全身照射後連日４mg投与で約20％の生存率の上昇を認めたと報告している．２mg投与では効果を認めていない．Cheng らの報告でも見られる如く，必須脂肪酸の

投与量は10mgよりも50mg，50mgよりもさらに 100mgの方が効果が大きく[4]，著者の実験結果では5mgと10mg投与では特に有意の差は認められなかつたがさらに大量投与も検討してみる価値があると思われる．

さて，分離された生体膜の分析結果からどの膜系もほぼ共通して主要な構成々分として蛋白質，脂質，糖を含み，脂質の主成分は燐脂質とコレステロールであることが知られている．ミトコンドリア膜の30%は脂質であり，その90%は燐脂質である[16]．高級不飽和脂肪酸を残基とするＥＰＬを連続投与した場合，肝ミトコンドリア脂質の脂肪酸構成比に変動が生じるか否かであるが，実験結果では非投与群との間の有意の差を認めなかつた．Williams ら[24]は無脂肪食ラットとリノール酸投与ラットとの肝ミトコンドリア脂質の脂肪酸構成を調べ，不飽和脂肪酸比の著明な変化を報告している．著者の実験群は全て完全飼料であるため，特定の脂質投与でも変化が生じなかつたものかもしれないが，さらに長期投与について検討してみたい．放射線全身照射による肝ミトコンドリア脂質の脂肪酸比の変動であるが，内海，山本ら[23]は 1,000Ｒ全身照射のラットおよびマウスの肝ミトコンドリア脂質で高級不飽和脂肪酸の著明な減少をみている．一方，Schwarz[19] は絶食ラットに 1,000Ｒ全身照射し，24時間後肝ミトコンドリア中の総脂質の増加と燐脂質量の相対的低下を報告し，燐脂質の脂肪酸構成比には有意の変化をみていない．著者の実験結果でも照射群と非照射群との間に有意の差は認められなかつたが，照射線量および時間を変えて検討してみる必要がある．高級脂肪酸比が減少するとすれば，ＥＰＬはこれを補つている可能性も考えられる．

次にミトコンドリアにおける酸化的リン酸化に対する放射線照射の影響についてであるが，肝ミトコンドリアについても多くの報告が見られる．Hall[11] らは 840Ｒ全身照射ラットで肝ミトコンドリアの数は最初の3時間減少しそれから回復するとし，P/O 比は3時間後25%低下し12時間後まで持続，24時間から48時間でコントロール群の値まで回復すると報告している．内海，山本ら[23]も全身照射ラット肝ミトコンドリアで酸化的リン酸化能は6時間後20%低下し，12時間から17時間で正常値に回復するとしている．Nitz-Litzow ら[14]も 800Ｒ全身照射後12時間で P/O 比は30%低下すると報告している．Alexander[1] はさらに詳細に検討し，グルタミン酸，コハク酸，アスコルビン酸基質下で，3つの酸化的リン酸化部位のうち最後の部位が最も阻害され，72時間まで経時的に阻害は増大し72時間では 100%阻害されるとしている．一方，Scaife[17][18] らは肝ミトコンドリアにおける放射線照射の影響はごく軽度であるとのべ，Thomson ら[21]も系統，年齢，性差の異なるラットで種々の実験条件下でも，1,000Ｒ全身照射後4時間でほとんど影響を認めていないなど否定的知見もある．著者の実験条件下では 1,000Ｒ全身照射後3時間目の肝ミトコンドリアで，コハク酸基質下に酸化的リン酸化能の低下を認めた．さらに in vitro でＥＰＬを添加すると低下した酸化的リン酸化能が対照と同様の値まで回復するのが認められた．

燐脂質とミトコンドリアについては，谷口ら[20]は加齢により膨化したミトコンドリアは，ＡＴＰによる収縮能が失なわれるが，これにレシチンを加えると著しい回復が見られると報告している．小田ら[15]はＥＰＬの基礎的検討で，アセトン処理を行つたミトコンドリアでは呼吸機能が消失するが，これにＥＰＬその他の燐脂質を電子伝達系に重要な役割をもつ CoQ とともに添加すると，呼吸機能の回復が見られ，回復率はＥＰＬが他の燐脂質より最も高かつたと報告している．in vitro の結果をそのまま in vivo の作用としては考え難いがエネルギー産生系の回復作用も作用機序の一因であろうと考える．

最後にＥＰＬの生体内における薬理作用，臓器分布など解明されなければならない問題は多いが，放射線照射による脂質代謝の変動，脂質と生体膜およびこれにおよぼす放射線の作用などとも関連してＥＰＬの放射線防護および回復効果は興味ある問題と思われる．

V 結　論

1）高級不飽和脂肪酸を残基とするポリェンホスファチジルコリン（ＥＰＬ）を 500Ｒ全身照射マウスに投与し，照射前投与，照射後投与とも明らかな生存率の上昇を認めた．

2）650Ｒ全身照射では有意の差を認めなかつた．

3）全身照射マウスより分離した肝ミトコンドリアの脂肪酸分析では，ＥＰＬ投与群，照射群，対照群で有意の差は見られなかつた．

4）エネルギー産生系の検討の結果，in vitro でＥＰＬは照射により低下した肝ミトコンドリアの酸化的リン酸化能を回復させる作用を有することが示唆された．

本論文の要旨は，第34回日本医学放射線学会総会において発表した．

References

1) Alexander, K.C., Aiyar, A.S. and Sreenivasan, A.: Biochim. Biophys. Acta 283 (1972), 206—216.
2) Chance, B. and Williams, G.R.: Nature (London) 175 (1955), 1120—1121.
3) Cheng, A.L.S., Kryder, G.D., Bergquist, L. and Deuel, H.J., Jr.: J. Nutrition 48 (1952), 161—182.
4) Cheng, A.L.S., Ryan, M., Alfin-Slater, R.B. and Deuel, H.J., Jr.: J. Nutrition 52 (1954), 637—643.
5) Cheng, A.L.S., Graham, T.M., Alfin-Slater, R.B. and Deuel, H.J., Jr.: J. Nutrition 55 (1955), 647—653.
6) Decker, A.B. and Mead, J.F.: U. S. Atomic Energy Project Report, U. C. L. A. No. 52 (1949).
7) Deuel, H.J. Jr., Cheng, A.L.S., Kryder, G.D. and Bingemann, M.E.: Science 117 (1953), 254—255.
8) Folch, P.J., Less, M. and Stanly, G.H.S.: J. Biol. Chem. 226 (1957), 497—509.
9) Greenberg, S.M., Calbert, C.E., Savage, E.E. and Deuel, H.J., Jr.: J. Nutrition 41 (1950), 473—486.
10) Gregl, A.: Strahlentherapie 46 (1960), 239—246.
11) Hall, J.C., Goldstein, A.L. and Sonnenblick, B.P.: J. Biol. Chem. 238 (1963), 1137—1140.
12) Hogeboom, G.H.: Methods Enzymol. 1 (1955), 16—19.
13) Kagawa, Y., Kanprach, A. and Racker, E.: J. Biol. Chem. 248 (1973), 676—684.
14) Nitz-Litzow, D. and Bührer, G.: Strahlentherapie 113 (1960), 201—206.
15) 小田琢三，小杜幸子，有井裕子：最新医学，24 (1969)，1573—1580.
16) 小沢高将，浅井淳平，内海耕慥：ミトコンドリア（その分子構築と生理化学），南江堂，東京 (1971).
17) Scaife, J.F. and Alexander, P.: Radiat. Res. 15 (1961), 658—674.
18) Scaife, J.F. and Hill, B.: Can. J. Biochem. Physiol. 40 (1962), 1025—1042.
19) Schwarz, H.P., Dreisbach, L., Barrionuevo, M., Kleschick, A. and Kostyk, I.: Arch. Biochem. Biophys. 92 (1961), 133—139.
20) 谷口己佐子，中村元臣：第20回酵素化学シンポジウム (1969)，東京，16—19.
21) Thomson, J.F., Nance, S.L. and Bordner, L.F.: Radiat. Res. 29 (1966), 121—130.
22) 内海耕慥，小田琢三，倉橋研吾，宮原正信，保田雅夫：蛋白質核酸酵素，14 (1969)，621—624.
23) 内海耕慥，山本剛禧，山本道夫，田辺正忠：日本医学放射線学会誌. 26 (1966)，345—350.
24) Williams, M.A., Stancliff, R.C., Packer, L. and Keith, A.D.: Biochim. Biophys. Acta 267 (1972), 444—456.
25) Yamashita, S. and Racker, E.: J. Biol. Chem. 244 (1969), 1220—1227.