Osaka University Knowledge Archive

Title	グルタチオンの放射線防護作用 : 35S-還元型グルタチオンのTurnover
Author(s)	清野, 邦弘; 坂本, 良雄; 渡辺, 俊一 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1969, 28(12), p. 1642-1646
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/20181
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

グルタチオンの放射線防護作用
— ^{35}S-還元型グルタチオンの Turnover —

信州大学医学部放射線医学教室（主任　小林敏雄教授）
清野　邦弘　　坂本　良雄　　渡辺　俊一
大畑　武夫　　春日　敏夫

（昭和43年6月22日受付）

Radioprotective Effect of Reduced Glutathione
—Turnover of ^{35}S-Reduced Glutathione—

By

Kunihiro Kiyono, Yoshio Sakamoto, Toshikazu Watanabe, Takeo Ohata and Toshio Kasuga
Department of Radiology, Faculty of Medicine, Shinshu University
(Director: Prof. Toshio Kobayashi)

Studies on the clearance rate and distribution of injected reduced glutathione were performed using radioactive ^{35}S-reduced glutathione ($G^{35}SH$).

1. Intravenously injected $G^{35}SH$ concentrated in the kidney, adrenal, lung and spleen in mouse.
2. The blood level of $G^{35}SH$ decreased one fourth or fifth at fifteen or twenty minutes compared to five minutes after intravenous injection and remained constant over twenty four hours in mouse. In the dog, however, it was half at thirty minutes after intravenous administration of G^{35} SH.
3. About fourteen or twenty minutes after intravenous injection of $G^{35}SH$, the radioactivity in the organs or tissues increased contrasted with the decrease of blood activity and maintained high content of $G^{35}SH$ over two hours.
4. The turnover of $G^{35}SH$ differ owing to the kind of animals and methods of administration. Therefore, it ought to be considered the methods of administration of medical compounds in patients or in the experiments.
5. The protective mechanisms of reduced glutathione against radiation was briefly discussed.

放射線の化学的防護剤については多くの薬剤が知られている[1)8)15)19)]．還元型グルタチオン（GSH）の放射線防護作用についての報告は多く[3)4)5)13)]，最近は製品化されて臨床的な応用も行なわれ，その投与方法が検討されつつある．GSHの放射線防護効果は放射線照射前に投与した場合にのみみられ，したがつて，その投与時期が大いに問題とされる．著者らは，放射性の還元型グルタチオン（$G^{35}SH$）の生体内分布を動物実験によつて検索し，この問題の一端を解明しようと試みた．

実験方法

$G^{35}SH$ の生体内経時的分布：実験には ddY 系成熟雄マウス（生後7週，体重21～24 g）50匹を使用し，1個体当り $G^{35}SH$ (Schwarz Biores. Inc. New York) を5 μCi (Specific Activity 37.6μCi/

mg）大腿静脈より注射し，その後24時間，経時的に3～5匹づつ屠殺して血液，臓器または組織を採取した．GSHは全量で1個体当り2mgになるよう非放射性GSHを加えて投与した．

別に成犬5頭（体重10～15kg）についても同様に実験を行ない，血液中の濃度を測定した．$G^{35}SH$ は1個体当り10μCi（GSHは全量で 100mg/匹に調製した）を静注した．

$G^{35}SH$ の腫瘍組織内分布：動物は C57BL/6 系成熟雄マウス（生後10～16週，体重20～25g）35匹を使用した．腫瘍は Ca-755（乳癌固型腫瘍）で，左前肢腋窩皮下に移植した．移植後約15日目（腫瘍直径10～15mm）に $G^{35}SH$ を各個体5μCi（GSH全量は2mg/匹）腹腔内に注入し，腫瘍，血液および肝臓中の ^{35}S 放射能の経時的変化を測定した．実験時に壊死の認められた数例については，その部分を除去して測定サンプルとした．腫瘍部の血流分布は比較的豊富であつた．

実験結果

$G^{35}SH$ の臓器内分布：^{35}S 放射能の測定は，各臓器および組織の一部または全部を切り出して乾燥灰化し，ガスフローカウンターで行なつた．放射能強度は試料の乾燥重量 100mg当りで示した．$G^{35}SH$ の分布は臓器によつて大きな差があるが，経時的濃度変化の傾向にはそれ程大きな相違はないようで，ほぼ10～20分後頃から増加が始まり，30分～2時間に最高となつた（Fig. 1）．ただ，脾臓，肺臓，心臓などでは投与直後にかえつて高い $G^{35}SH$ 分布が認められ，これは臓器内血液の影響によるものと考えられた．

各臓器のうち最高の $G^{35}SH$ 濃度を示したものは腎臓で，これはGSHないしその分解物の排泄が関係しているものと思われた．その他副腎，肺臓，脾臓，胃，小腸，膵臓，肝臓等に多量の $G^{35}SH$ 分布がみられ，一方，脳，筋肉（腹部），皮膚（腹部）には少なかつた．

血液内 $G^{35}SH$ の経時的推移：血液（全血）中の $G^{35}SH$ 濃度は，試料を酸素燃焼法で処理し液体シンチレーションカウンターで測定した．

マウスでは，血中の $G^{35}SH$ 濃度は投与後20分までに急激に低下して5分後の値の約$^1/_4$になり，

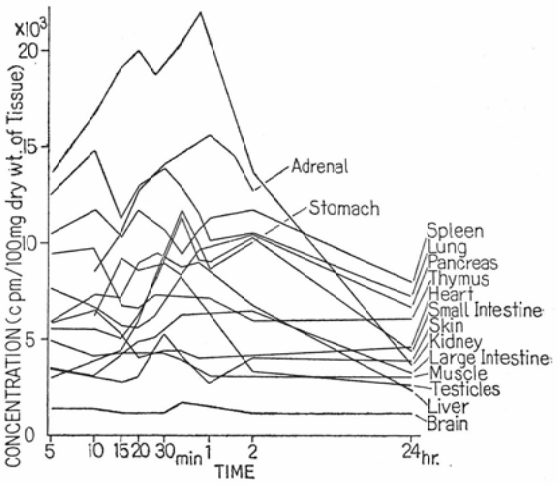

Fig. 1. Changes in radioactivity of ^{35}S-reduced glutathione ($G^{35}SH$) in cpm/100 mg dry wt. of tissues following intravenous injection of 5 μCi $G^{35}SH$ individually in mouse.

以後は24時間後まで殆んど変化しないか，わずかに減少するのみであつた．一方犬の場合には，静注後30分頃まで徐々に濃度低下が続き，40分ないし60分後で5分後の値のほぼ半分であつた（Fig. 2）．以後は24時間後もほとんど変化はみられない．犬とマウスの場合を比較してみると，その減少の速さと程度に大きな差のあることが観察される．

$G^{35}SH$ の血中濃度変化と臓器（肝臓）内濃度変化との関係をマウスについて Fig. 3に示した．

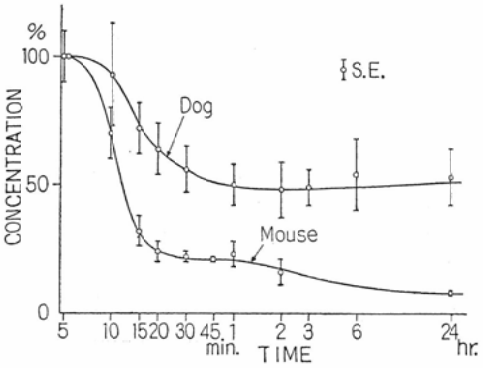

Fig. 2. Blood clearance rate of $G^{35}SH$ in per cent of whole blood following injection of $G^{35}SH$ intravenously in dog (10 μCi individually) and in mouse (5 μCi individually).

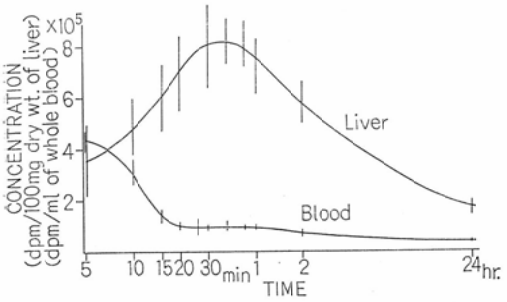

Fig. 3. Changes in radioactivity of $G^{35}SH$ in dpm/100mg dry wt. of liver and in dpm/ml of whole blood following 5 μCi intravenous injection of $G^{35}SH$ individualy in mouse.

試料はいずれも酸素燃焼法処理を行なつた．血中濃度の減少とは対照的な肝臓内濃度の上昇が認められる．

腫瘍組織内 $G^{35}SH$ の分布：肝臓内 $G^{35}SH$ 濃度を対照として腫瘍組織内の $G^{35}SH$ 濃度変化を追跡した（Fig. 4）．肝臓内 $G^{35}SH$ は投与後漸次増加し，6時間後にも高濃度を示した．一方腫瘍中の濃度は，注入後20～30分までは肝臓と同様に増加を示すが，1時間後までを最高として以後は漸次低下し，肝臓との差がみられる．腫瘍中の $G^{35}SH$ 濃度は肝臓のそれの1/2.5（5分），1/1.5（30分），1/2（2時間）であつた．肝臓と腫瘍の $G^{35}SH$ 分布の間には，特にピークのずれは認

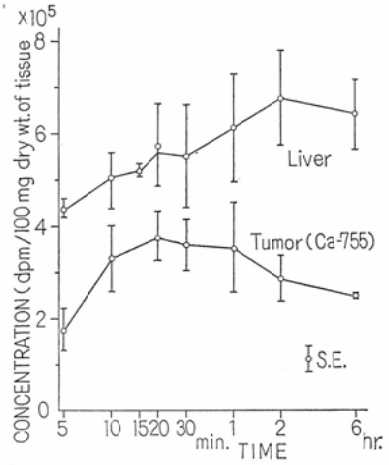

Fig. 4. Changes in radioactivity of liver and tumor (Ca-755) following injection of 5 μCi $G^{35}SH$ intraperitoneally in mouse.

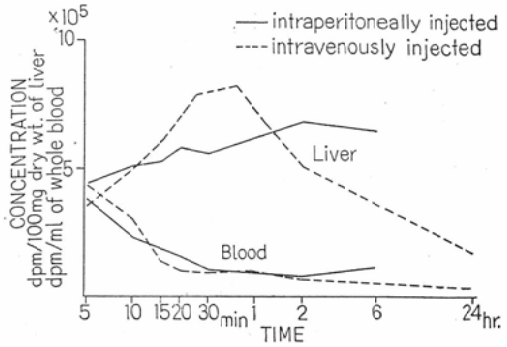

Fig. 5. Relations of ^{35}S radioactivity between intraperitoneal and intravenous injection of $G^{35}SH$ in mouse.

められなかつた．

考　察

還元型グルタチオン（GSH）の放射線防護効果は，照射前に投与された場合にのみ有効であり，照射後投与は効果がない[9)13)22)]．この点は他の放射線防護剤の多くについても同様であり[8)10)]，放射線障害治療の目的には効果がないとされる．従つて，動物実験に限らず，これら薬剤を臨床的に使用する場合にはその投与時期が一番の問題となる．

この問題には2つの側面がある．1つは，GSHの化学的安定性の問題である．高橋ら[21)]は，マウスに $G^{35}SH$ を静注して3時間後の肝臓中の放射性物質は，70%以上がGSHの形であることを確認している．GSHが化学的に分解された場合に，体外への排泄が速やかに行なわれるという可能性も否定できないが，一般に放射線治療は防護剤投与後比較的早期に行なわれる条件にあり，化学的分解による効果の減少は大きな因子にはならないと思われる．

第2は，動物実験による防護効果の結果の評価ないし判定によるものである．GSHを照射前に投与した場合にのみ防護効果の見られることは，堀内ら[9)]が放射線による家兎の脱毛と白内障について，永田ら[13)]がマウスの体重減少と致死効果について述べているが，関[20)]は，放射線障害の原因とされている照射によつて生体内に生じた遊離基を測定し，GSHを照射前に投与すると照射によ

つて生ずる遊離基は96%減少し，更にＧＳＨの投与が照射時に近い程遊離基消去効果が大きいと述べている．また安河内ら[22]は，ＧＳＨをマウス腹腔内に注入してから照射までの間隔を変えて，防禦効果を50%生残平均日数で比較している．それによると，注入直後に照射した群が最も効果が大きく，１時間後に照射した群は効果はないという．つまり，ＧＳＨは注入後比較的早い時期に放射線防禦効果を失い，臨床的に使用する場合には30分以内に照射する必要があろうと推測している．同様な事実は，ＧＳＨ以外の放射線防護剤にもみられている．

静注されたＧＳＨの経時的分布は，血液と臓器とで対照的である（Fig. 3）．血液中の濃度は投与直後が最も高く，15～20分で急速に低下する．一方臓器中の濃度は，各臓器によつて多少傾向の差はあるが，大体，15～20分後より増加が始まり，30分～２時間後にピークがある．またFig. 1にみられるように，臓器内濃度が投与直後は血中濃度に依存している場合があり（肺臓，脾臓），同様な現象について高橋ら[21]も触れている．一般にＧＳＨのような放射線防護剤は，照射が行なわれている際体内に存在している時のみその効果が得られる．つまり，全身照射の際の防護効果の実験結果と合わせてみると，投与直後の血中濃度の高い時期（部分的には臓器内濃度も高い）に照射した場合に放射線防護効果が強いといえる．

全身照射の際のＧＳＨの放射線防護効果は大きく２つに分けられる．１つは分子レベルで防護作用に直接関与する経路である．関[20]は，ＧＳＨが放射線による遊離基の発生を減少させると述べている．ＧＳＨが直接放射線の電離作用と関係するのか，あるいは，発生した遊離基を反応性のＳＨ基で消去するのかはわからないが，いずれにしろ，遊離基ないし H_2O_2 の除去効果を持つようである．この効果はＧＳＨが照射時～直後に重要臓器に存在していることが必要であり，我々の実験に示されたように，投与されたＧＳＨが，その血中濃度の高い時期に脾臓等の造血臓器内ＧＳＨ濃度に反映している点は好都合であろう．第２は生体内でのＧＳＨの薬理作用によると考えられる効果である．ＳＨ基を含む酵素は放射線感受性が非常に高く，照射によつて生体内のＧＳＨが減少することは知られている[12)16)17]．投与されたＧＳＨは，腎臓，脾臓，肝臓等血流量の多い組織内に速やかに分布し，従つて，減少したＧＳＨを補充するとともに，放射線感受性の高い酵素を賦活し，保護すると考えられる．

ＧＳＨ投与後の生体内の濃度を各臓器，組織について経時的に定量，追跡した報告は未だないようである．犬の血液中の濃度の変動についてはKronkiteら[7]の報告があり，我々の結果とほぼ一致する．更に彼らは，同時に一部臓器について45分後の分布を比較し，肝臓，脾臓，腎臓に多いと述べている．高橋ら[21]は $G^{35}SH$ による全身マクロオートラジオグラフ法を利用し，同様な臓器の他に膵臓，唾液腺を挙げている．我々の実験結果も著明に認められた．ＧＳＨの直接放射線に対する防護効果のみでなく，生体内組織でのＧＳＨの高度な利用による間接的な作用も期待された．ＧＳＨが造血組織の速い再生を起すとの報告もあり[6]，放射線治療の際のＧＳＨの利用には特定臓器内への分布時期を考慮してよいであろう．

しかしここで注意すべきことは，薬剤の投与方法の違いによつて以後の体内分布，従つて放射線防護効果に差が現われてくることである．$G^{35}SH$ を腹腔内に注入した場合には静脈内注射に比べて，血中濃度の減少速度，肝臓内濃度の上昇速度がやや緩慢であり，濃度は初期ではやや低く，遅くなつて高濃度が続く（Fig. 5）．このような投与法による薬剤の分布差は，鹿島ら[11]もセロトニンで報告している．一般に放射線防護剤としてのＳＨ化合物は高濃度であることが必要だが，Andrewsら[2]はＡＥＴあるいはＭＥＡを経口的に投与した場合には，組織（血液）内の濃度が不充分になる恐れのあることを指摘し，またPrestonら[18]は，ＡＥＴの放射線防護作用は，ラットに経口投与した場合は腹腔内注入の場合の倍量を投与しても効果がみられないことを報告している．またAkaboshi[1]，Pattら[14]は，ＧＳＨを経口的に与えた場合には殆んど防護効果がないことを，動物実験で指摘している．いずれも血中濃度の不充分が主

因と思われるが，放射線防護効果の測定あるいは臨床への応用の際には考慮さるべきであろう．

更に，対照とする動物の種類により $G^{35}SH$ の血中濃度変化に相違がみられる．即ち，マウスと犬とでは $G^{35}SH$ の血中濃度及び濃度変化に大きな差がある（Fig. 2）.従つて，防護効果比較の際のみでなく，結局は人体に対する効果からの判定が必要なのであろうが，臨床応用の際にもこの点に注意が必要であろう．

さて，ＧＳＨを臨床的に放射線治療の際の正常組織の防護に応用する際には，投与されたＧＳＨが腫瘍組織をも防護して放射線の治療効果を減弱させてはならない．腫瘍細胞と正常細胞とで，防護のされ方に本質的な差があるかどうかは全くわからない．しかし，腫瘍の中には血行の不充分な部分が少なくなく，ＧＳＨが入りにくいという可能性，ＧＳＨの分布が組織の機能に対応しており，投与されたＧＳＨの効果が組織によつて異なり，従つて腫瘍でも異なるという可能性がある．今回使用した腫瘍（Ca-755乳癌固型腫瘍）に関する限り，ＧＳＨの分布に正常組織（肝臓）との間に明らかな相違はみられず，その分布濃度が低く，濃度減少が早く起つたのみであつた．ＧＳＨによる照射によつて生じた遊離基の消去効果は，腫瘍部では肝臓に於ける程著しくないという関[20]の報告があるが，腫瘍の種類が不明のため比較は困難である．今後更に異なつた種類の腫瘍について実験を重ねる必要があろう．

総　括

^{35}S-還元型グルタチオン（$G^{35}SH$）の体内分布を，特に血液中の濃度変化を中心として，投与後５分～24時間まで経時的に追跡した．

1．マウスでは，$G^{35}SH$ 血中濃度は静注後15～20分までに急速に低下し，５分後の値のほぼ$^1/_4$になる．

2．臓器内濃度は，逆に15分頃より増加し，30分～２時間を最大として以後漸減する．

3．犬の場合，血中濃度は静注後約30分に最低となり，５分後の値のほぼ$^1/_2$になる．

4．$G^{35}SH$ の体内分布は，投与方法（静脈内注射，腹腔内注入），動物の種類（マウス，犬）によつて異なり，防護効果判定，臨床応用の際には，考慮すべき問題のあることが示唆された．

（使用した放射性グルタチオンは山之内製薬から提供を受けた．記して謝意を表する．）

文　献

1) Akaboshi, S.: Proc. 6th Conf. Radioisotopes 770—784, 1964. Japan Atomic Industrial Forum, Inc., Tokyo.
2) Andrews, H.L. & D.C. Peterson.: Radiation Res. 23, 13—18, 1964.
3) Chapman, W.H. & E.P. Cronkite.: Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 75, 318—322, 1950.
4) Chapman, W.H.: Radiology 55, 865—873, 1950.
5) Correa, J.N. & J.R. Andrews.: Nature 203, 200—201, 1964.
6) Cronkite, E.P., G. Brecher & W.H. Chapman.: Proc. Soc. Exp. Biol.and Med. 76, 396—398, 1951.
7) Cronkite, E.P., W.H. Chapman & G. Brecher.: Proc. Soc, Exp. Biol. Med. 76, 456—459, 1951.
8) Fukuda, M.: Strahlentherapie 117, 142—146, 1962.
9) 堀内淳一，金子勝一：日本医放会誌 27, 265—271, 1967.
10) Jurášková, V. & L. Tkadleček.: Radiation Res. 30, 14—21, 1967.
11) 鹿島正俊，松岡理：日本医放会誌 27, 315—330, 1967.
12) 北村裕：日本医放会誌 19, 2606—2638, 1960.
13) 永田弘治，西田寿男，菅原努，田中富蔵：日本医放会誌 26, 13—16, 1966.
14) Patt, H.M., D.E. Smith, E.B. Tyree & R.L. Straube.: Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 73, 18—21, 1950.
15) Patt, H.M.: Physiol. Rev. 33, 35—76, 1953
16) Peterson, R.D., C.H. Beatty & E.S. West.: Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 77, 747—749, 1951.
17) Pirie, A., R. Van Hetningen & J.W. Boag.: Biochem. J. 54, 682—688, 1953.
18) Preston, R.L., A.F. Wells & B.H. Ershoff.: Radiation Res. 11, 255—259, 1956.
19) 粟冠正利：放射線生物学（森脇ら編）188—225, 裳華房，東京，1964.
20) 関　孝和：Radioisotopes 15, 132—138, 1966.
21) 高橋忠男，佐藤善重：Radioisotopes 17, 1—9, 1968.
22) 安河内浩，飯野祐，渡辺哲敏：日本医放会誌 27, 691—696, 1967.