

Title	OK-432(Picibanil R)の放射線による骨髄抑制に対する防護作用-全身照射マウスによる検討-
Author(s)	青木, 芳朗
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1986, 46(11), p. 1324-1330
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/20183
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

OK-432 (Picibanil®) の放射線による骨髄抑制に対する防護作用 —全身照射マウスによる検討—

放射線医学総合研究所病院部

青 木 芳 朗

(昭和61年5月20日受付)

(昭和61年6月23日最終原稿受付)

Protective Action of OK-432 (Picibanil®) on the Radiation-Induced Myelosuppression

—Examination of its Action in the Whole Body Irradiated Mice—

Yoshiro Aoki

Hospital Division, National Institute of Radiological Sciences

Research Code No. : 408

Key Words : *Biological protector, OK-432, Mice, Radiation-induced myelosuppression, LD50(30)*

This report aims to examine the alleviating action of OK-432 against the radiation-induced myelosuppression in the whole body irradiated mice.

The mice treated with OK-432 were given OK-432 with the dose of 5.0 KE by intraperitoneal injection 24 hours before irradiation, while the control group was given 1.0 ml of saline according to the same procedure as the OK-432 group.

The fifty percent lethal dose on the 30th day after the whole body irradiation is 700R in the OK-432 group, while it is 580R in the control group. The dose reduction factor (DRF) is 1.21 in this series.

The white blood cell counts decreased after irradiation with 300R in both groups. The recovery of WBC counts in the OK-432 group began at the 6th or 7th day after irradiation, while the decreased level continued until the 20th day in the control group.

The WBC counts and the spleen weights were examined on the 10th day after irradiation. The WBC counts of the OK-432 group were higher than those of the control group, the difference of which was statistically significant at the 5% level at 300R. The spleens of the OK-432 group were heavier and larger than those of the control group, the difference of which was statistically significant at the 0.1% level for the dose range from 300 to 500R. The HE-stained spleen of the OK-432 group on the 10th day after irradiation showed the increase of hematopoietic cells in the enlarged sinus in comparison with that of the control group.

The timing of OK-432 administration and the percentage of the survival of the OK-432 group on 30th day, irradiated with 600R to the whole body, were examined. The 5.0 KE of OK-432 was injected from 4 days before and upto 4 days after irradiation to each group. When OK-432 was injected from 2 days before and upto 12 hours after irradiation, the OK-432 group showed the good survival rate in comparison with the control group.

According to these results, OK-432 is considered to be one of the radioprotective agents of biological nature and this alleviating action can be utilized in the clinical use.

結 言

放射線の防護物質としては骨髄移植¹⁾²⁾, 化学的防護剤 (SH 基, S-S 結合など)³⁾⁴⁾, 生物学的防護剤 (E-coli, Typhus など)⁵⁾が知られている。本報告は免疫療法剤として汎用されている OK-432 (picibanil) が全脳全脊髄照射された患者の骨髄抑制を緩和し, 計画治療を可能にすること⁶⁾⁷⁾から, マウスにおいてその効果を放射線照射後の生存率, 白血球の変化, OK-432の投与時期による効果の発現などにより検討したものである。

材料と方法

① 実験動物

BALB/C 雄成熟マウス (放医研自繁) を $24 \pm 1^\circ\text{C}$ の部室で 5 匹ずつのケージにて飼育し, 水と飼は自由に与えた。

② 方法

X線照射には島津製作所製信愛号250型 X線装置 (filter: 0.5mm Cu+0.5mm Al, 実効電圧; 82 KVe/200KVp) を用いた。マウスは10匹ずつアクリルケージに入れ, 無麻酔で全身照射をした。照射条件は FSD: 61.5cm, 200KV, 20mA, 線量率 75 R/min であった。

OK-432 (中外製薬株式会社より提供された) は腹腔内に 1 回投与とし, 生食 1.0ml に懸濁させ 1 匹につき 5.0KE 使用した。OK-432の濃度の設定には, マウスの腹腔内投与の急性毒性試験⁸⁾より LD50が 1,250KE/kg であるので, 平均 35g のマウス 1 匹あたり 44.0KE となり, その 10分の 1 の安全値を乗じ計算し易い値 5.0KE とした。但し 600R 全身照射による OK-432直後投与の dose response curve を描くと, 30日後の生残率は 0.5KE で 65.0%, 1.0KE で 90.0%, 2.0KE で 95.0%, 5.0KE で 100.0%, 生食対照で 46.7% と 1.0KE ですでに効果は認められるが, 5.0KE にて実験は行った (Fig. 1)。

対照マウスには生食 1.0ml を同様に腹腔内に 1 回投与した。OK-432の投与は, OK-432の投与時期による効果の検討実験以外は全て照射の 24時間前の 1 回投与とした⁹⁾。

白血球数の測定には TOA microcell counter CC-108 を用い, 採血はエーテル麻酔下で右股動脈

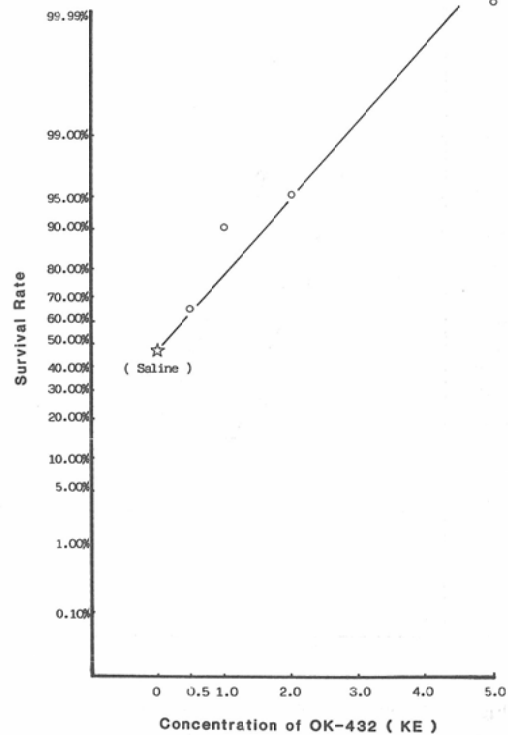


Fig. 1 Dose response curve of OK-432: The 30th day survival rate of the OK-432 group (open circle) and the control group (star).

より行った。

脾臓の病理学的検索には, エーテル麻酔下で採血したマウスの脾臓を, ホルマリン固定後 HE 染色を行った。

③ OK-432中の残有ペニシリンの効果

OK-432は A 群 3 型溶連菌 Su 株のペニシリン G 処置製剤で, 5.0KE 中ペニシリン G カリウムとして 13,470 単位残存している (中外製薬株式会社社内資料), その生物学的効果を検討するため 600R 全身照射マウスに OK-432 5.0KE/ml (生食), 生食 1.0ml, ペニシリン G 14,000 単位/ml (生食) を照射直後に 1 回腹腔内に投与して 30 日目の生残率で比較した。

OK-432 群の 30 日目の生残率は 100.0%, 生食群の生残率 46.7%, ペニシリン G 群の生残率 10.0% であり, ペニシリン G の効果を否定した。

結 果

① OK-432 を照射の 24 時間前に投与した時の

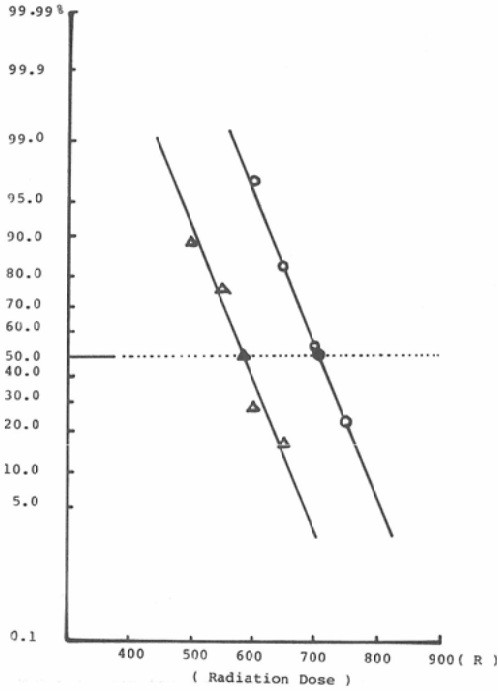


Fig. 2 LD50 (30) : The 50% lethal dose on the 30 th day was 700R for the OK-432 group (open circle) and 580R for the control group (open triangle). The dose reduction factor (DRF) is 1. 21.

LD50 (30) と dose reduction factor (DRF) について

1点30匹のBALB/Cマウスに全身照射の24時間前に1回OK-432 5.0KEを腹腔内に投与し、対照群には生食1.0mlを同様に1回腹腔内投与した。OK-432のLD50(30)はFig. 2の如く700R、生食対照群では580RでDRFは1.21であった。

② 300R全身照射マウスの白血球の変化におよぼすOK-432の効果

1点3~10匹のマウスに300Rを全身照射し、照射の24時間前にOK-432 5.0KE、対照として生食1.0mlを1回腹腔内投与した後の白血球の変化を検討した(Fig. 3)。両群共1日後より口印の無処置対照の5,000±1,200より減少するが、OK-432群では6ないし7日目から回復し始め10日目で無処置対照の約7割までに到達するが、生食群の回復は遅延する。約3週間経過すると両群間に差が認められなくなる。

③ 全身照射マウスの白血球、脾重量におよぼすOK-432の効果

1点3~10匹のマウスに300, 400, 500, 600, 700Rを1回全身照射し、その24時間前にOK-432 5.0KE、対照として生食1.0mlを1回腹腔内に投

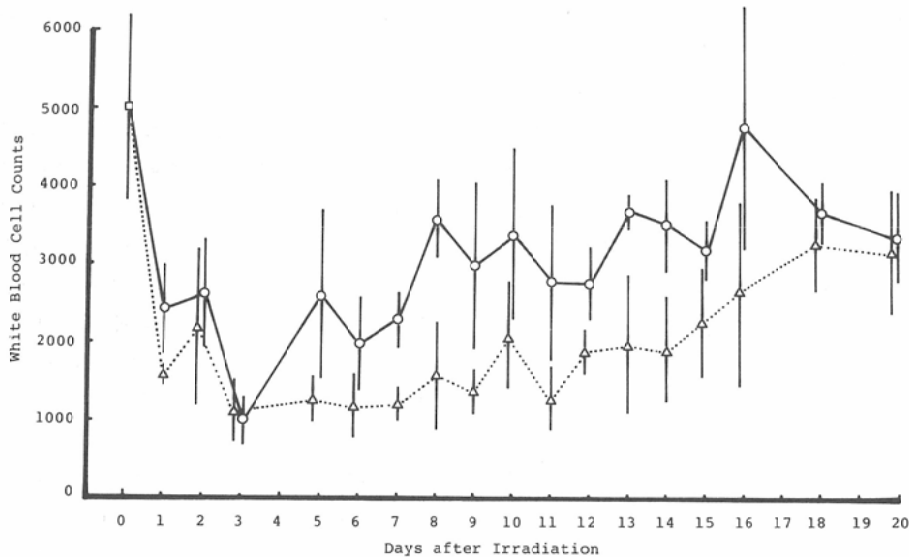


Fig. 3 Changes in white blood cell counts: The OK-432 group (open circle) showed recovery of WBC counts from the decreased level earlier than the control group (open triangle).

与し、照射後10日目の白血球数、脾重量を検討した (Fig. 4).

300, 400, 500, 600, 700R 全身照射10日後の OK-432群の白血球数はそれぞれ $3,450 \pm 480$, $2,700 \pm 108$, $1,760 \pm 610$, 590 ± 270 , 310 ± 13 であり、対照群ではそれぞれ $1,930 \pm 760$, $1,500 \pm 820$, 830 ± 60 , 450 ± 140 , 300 ± 100 であった。300R 照射では OK-432群と生食群との間には 5% 以下の危険率で有意差が存在した。

同様に脾重量の変化では OK-432群でそれぞれ $149.0 \pm 29.3\text{mg}$, $86.0 \pm 10.9\text{mg}$, $59.0 \pm 4.1\text{mg}$, $37.6 \pm 9.1\text{mg}$, $29.6 \pm 4.9\text{mg}$, 生食群ではそれぞれ $62.7 \pm 10.3\text{mg}$, $43.0 \pm 7.1\text{mg}$, $39.8 \pm 0.4\text{mg}$, $40.9 \pm 15.9\text{mg}$, $35.0 \pm 8.9\text{mg}$ となった。300, 400, 500R 照射時において 0.1% 以下の危険率で両群間に有意差を認めた。

④ 全身照射マウスにおける脾臓の変化について

全身照射されたマウスの照射後10日目の脾臓は Fig. 5 A の下段の如く萎縮するが、OK-432群で

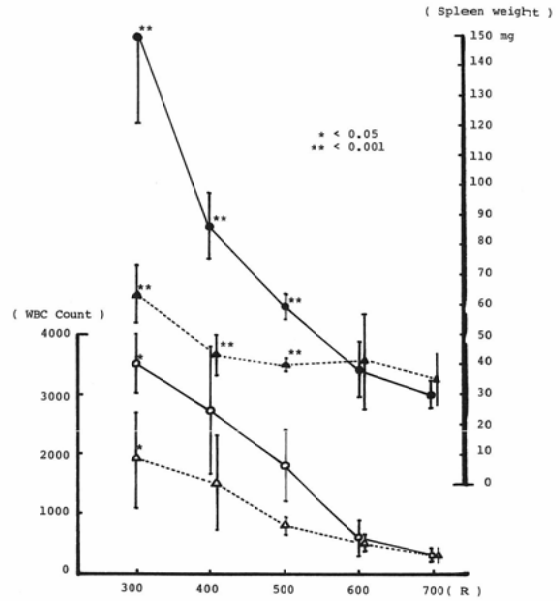


Fig. 4 Changes in white blood cell counts (open circle; OK-432 group, open triangle; control group) and spleen weights (closed circle; OK-432 group, closed triangle; control group) on the 10th day after whole body irradiation.

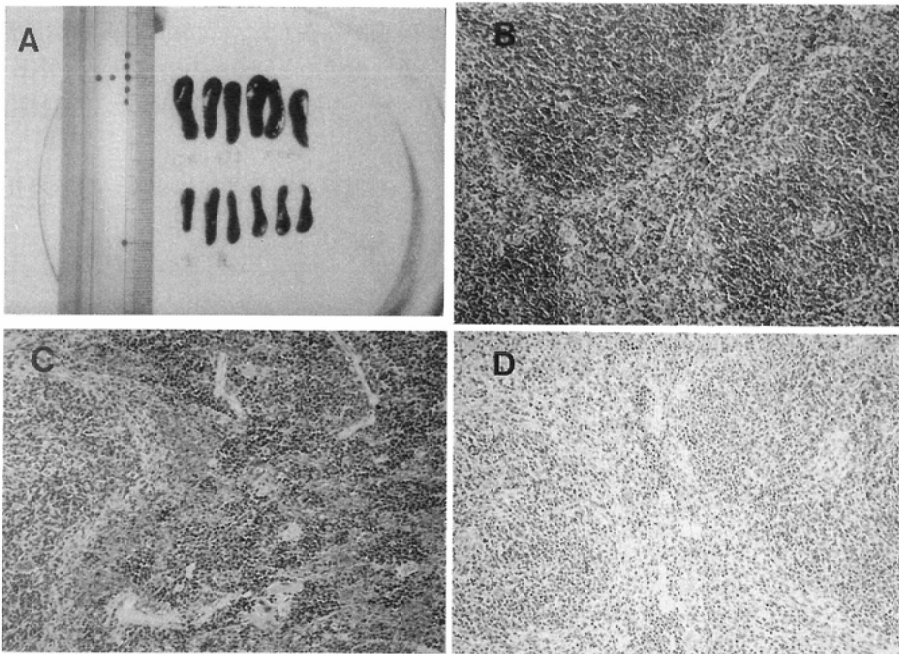


Fig. 5 Histology: (A); upper row shows the enlarged spleen of the OK-432 group, lower row shows the shrinkage of the spleen in the control group. (B); HE-stained spleen of normal mice (HE $\times 10$). (C); spleen of the OK-432 group (HE $\times 10$). (D); spleen of the control group (HE $\times 10$).

は Fig. 5 A 上段の如く脾臓は腫大し重量も大となる (Fig. 5A), 本実験に用いた BALB/C マウスには spontaneous spleen colony が出現せず, OK-432において脾臓の腫大を認めるのみであった。

脾臓の HE 染色では, OK-432群は正常脾に比して白色髄の大きさは変わらず, 髄洞の拡張があり, その中は造血組織で満され, 出血も認められた。生食群では正常に比して白色髄および髄洞の小円形細胞の脱落が認められた (Fig. 5B, C, D)。

⑤ 全身照射マウスの生存におよぼす OK-432の投与時期について

600R 全身照射された 1 群 30 匹のマウスに, OK-432 5.0KE を 1 回腹腔内に投与した際の 30 日目の生残率を, OK-432の投与時期を変化させて検討した。投与時期は照射の 4 日前から 4 日後までの 13 点とした。Fig. 6の中央の ■印は 600R 全身照射のみの対照群 30 匹の 30 日目の生残率 20.0% を示す。

OK-432の 4 日前, 3 日前投与群の 30 日目の生残率はそれぞれ 10.3%, 40.0% で, 2 日前, 1 日前投与ではそれぞれ 80.0%, 80.0%, 1 日後投与では 62.5%, 2 日後では 33.3%, 3 日後では 23.3%, 4 日後では 16.7% であった。照射の直前, 直後 (照射前後の 5 分以内投与である) ではそれぞれ 93.3%, 93.3%, 3 時間後投与では 93.3%, 6 時間後投与では 100.0%, 12 時間後投与では 96.7% で

あった。すなわち OK-432の投与時期による効果は照射の 2 日前より少なくとも 12 時間後まで存在した (Fig. 6)。

考 案

放射線による骨髄障害の防護物質としては骨髄移植¹²⁾, 化学的防護剤¹⁴⁾, 生物学的防護剤⁵⁾がある。このうち骨髄移植, 化学的防護剤の一部はすでに実用化され汎く用いられている。

生物学的防護剤として研究されているものは細菌の endotoxin (E-coli, Typhus など) が主であり, 動物実験である程度の効果を示しているが, 実用化には遠い状況である。

本報告は免疫療法剤として汎用されている OK-432 (Picibanil®) が全脳全脊髄照射された Medulloblastoma, Pinealoma 患者の骨髄抑制を緩和し, 放射線による計画治療の遂行を可能とし, 治療成績の向上に寄与している⁶⁾ことから, マウスにより OK-432がその生死, 白血球の変化にどのような影響を与えるかを検討したものである。

全身照射マウスの生死におよぼす照射直後投与の OK-432濃度の検討では, 1.0KE 以上ですでに効果が存在した。しかし本実験は当初 OK-432の急性毒性の LD50から計算した 5.0KE で開始したので, 全例 OK-432 5.0KE の 1 回腹腔内投与とした。

放射線の全身照射によるマウスの死亡パターン



Fig. 6 The timing of OK-432 injection: Closed square shows the 30th day survival rate of the control group and open circle shows those of the OK-432 group.

は、①中枢神経死、②腸管死、③骨髄死に三大別されることが知られている。中枢神経死を惹起する線量は10,000cGy以上であること、腸管死では1,000cGy以上であることが知られている。猿における骨髄死のLD50(30)は580cGyとの報告⁹⁾からLD50(30)が500cGy前後の死亡は骨髄死と考えられる。

本実験で使用している信愛号のcGy対レントゲンの換算率は0.947 (soft tissue phantom)であり、本実験の生食対照群のLD50(30)580Rは562.6cGyとなり、文献上の値とほぼ一致する。

本実験では死因の病理学的検討は行っていない。しかし全身照射された1回線量300~700Rの間では、その死亡原因は骨髄死と考えるのが妥当と思われる。

endotoxinは放射線照射24時間前投与で防護効果が高いという報告⁵⁾から、OK-432又は生食を照射の24時間前に1回腹腔内に投与するとLD50(30)はOK-432群で700R、生食群で580Rとなりdose reduction factor (DRF)は1.21となる。このDRF 1.21は骨髄移植のDRF 1.8¹⁾に比して小さいが、臨床的には25~30Gyの全脊髄照射に充分耐え得るものである⁶⁾。

300R全身照射されたマウスの白血球の変化はFig. 3の如く両群共に照射後減少し、OK-432群は6ないし7日目から回復し始め、回復した状態が持続する。このことからOK-432による白血球の回復はmarginal poolからの動員によるもののみではなく、骨髄幹細胞にも刺激を与えることが示唆される。文献上もOK-432投与マウスのCFUsが対照マウスのCFUsに比して増加するという報告¹⁰⁾からも理解できる。

OK-432の骨髄抑制緩和作用が500Rまでは生食対照に比して著明であり、髄外造血に関与していると考えられる脾臓も500Rまでは生食対照に比して有意に重い。腫大した脾臓は髄洞が拡張し、造血細胞と考えられる細胞の増殖が認められ患者における白血球減少、血小板減少がOK-432投与による緩和される⁶⁾ということともあいまって今後の研究課題である。

OK-432投与時期を変化させて生残率を検討す

ると、600R全身照射の2日前から12時間後まで効果のあることが分る。これは放射線被曝後又は放射線治療後にOK-432を投与しても効果が期待できるということになる。臨床的にも全脊髄への分割照射の際いかなる時期に投与しても、骨髄抑制の緩和作用が期待できることになろう。

化学的防護剤は照射前に投与するか直後に投与すると防護効果を示し^{3,4)}、E-coliの如き生物学的防護物質は照射の24時間前が最も効果的である⁵⁾。これらに対しOK-432は2日前から少なくとも12時間後まで防護効果が存在し、その効果の発現機構の研究は今後の課題である。

結 論

① OK-432全身照射1日前投与マウスのLD50(30)は700R、生食対照では580Rである。DRFは1.21である。

② 300R全身照射後白血球は減少するがOK-432群では6ないし7日目から回復し始め、生食対照群ではその回復は遅延する。

③ 300, 400, 500R全身照射マウスの照射後10日目のOK-432群の白血球数、脾重量は生食対照群に比して増加する。OK-432群の脾臓では拡張した髄洞中に造血細胞、出血などが認められた。

④ 600R全身照射マウスの30日目の生残率におよぼすOK-432の効果は、照射の2日前から少なくとも12時間後まで持続する。

稿を終えるにあたり本研究の遂行に御援助をいただいた放医研障害基礎研究部第一研究室長坪井篤博士、同研究室主任研究官小島栄一博士、放医研総括安全解析研究官小林定喜博士、放医研生理病理研究部病理第一研究室長大津裕司博士、同病院部検査課長岡邦行博士他お世話になった皆々様に心より感謝いたします。

文 献

- 1) Fabrikant, J.I.: Radiobiology, p. 222, 1972, Year Book, Medical Publishers, Inc. Chicago
- 2) 井上俊彦, 正岡 徹: 白血病, 悪性リンパ腫に対する全身照射—骨髄移植の治療について. 癌と化学療法, 13: 911—921, 1986
- 3) Selman, J.: Elements of Radiobiology, p. 128, 1983, Charles C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois, U.S.A.
- 4) 色田幹雄, 岡崎雅彦: 放射線障害予防薬および治療薬. 日本原子力学会誌, 22: 303—307, 1980
- 5) Smith, W.W., Alderman, I.M. and Gillespie, R.

- E.: Increased survival in irradiated animals treated with bacterial endotoxins. *Am. J. Physiol.*, 191: 124—130, 1957
- 6) 青木芳明: 全脊髄照射による Medulloblastoma 患者の骨髄抑制への OK-432 (picibanil) の緩和作用について. *日医放線会誌*, 42: 1065—1071, 1982
- 7) 青木芳朗: Medulloblastoma の放射線と OK-432 (picibanil) による併用療法—OK-432 の骨髄抑制緩和作用を利用して. *日癌治誌*, 21(7): 8—17, 1986
- 8) 野口午朗, 高垣善男: OK-432 のマウスおよびラットにおける急性毒性試験. 中外製薬 (株) 基礎報告, p. 1—16, 1969
- 9) Hall, E.J.: *Radiobiology for the Radiologists*, 2nd Edition, 205—215, 1978, Harper and Row, Publishers, Inc. New York, Evanston, San Francisco and London
- 10) 窪田宜夫, 松井謙吾: OK-432 の造血幹細胞に対する作用. *癌と化学療法*, 7: 111—115, 1980
-