

|              |   |
|--------------|---|
| Title        | アミノ酸の放射線障害に及ぼす影響に関する研究  |
| Author(s)    | 佐藤, 昭三  |
| Citation     | 日本医学放射線学会雑誌. 1957, 17(9), p. 1063-1072  |
| Version Type | VoR   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/20372">https://hdl.handle.net/11094/20372</a> |
| rights       |   |
| Note         |   |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

## アミノ酸の放射線障害に及ぼす影響に関する研究

昭和医科大学放射線医学教室（主任 氣賀正巳教授）

助手 佐藤 昭三

（昭和32年5月29日受付）

### 目次

1. 緒論.
2. 実験目標.
3. 実験方法.
4. 実験結果.
5. 考案.
6. 結論.
7. 文献.

### 緒論

放射線の生物作用機構の究明は、甚しく困難な事であり、従来は、生物學的研究と其の應用との距離は非常に速く實用的でないと考えられ勝ちであつたが、かゝる機構が解明されれば、放射線障害の防禦（Protection and Restoration）にも亦、放射線治療にも進歩が期待され得るもので、この意味からも放射線生物學的基礎研究は非常に重要な事である。

近來、放射線障害の研究は、化學的乃至生化學的研究の方向が發展して來たが、多くの研究者のあらゆる方向からの努力にもかかわらず、現在迄に知られている事項は、放射線の細胞に及ぼす作用の中の極めて初期の段階の過程を主とするもののみである。

即ちRisse<sup>1)2)</sup>, Fricke<sup>3)</sup>, Weiss<sup>4)</sup>, Dale<sup>5)6)</sup>, Baron<sup>7)8)</sup>等に依り發展された細胞内水分子を中心とする間接的化學的作用が主体となりSH基障害が知られ、SH物質のCompetitive Protectionが明らかにされたことは特記すべき事である<sup>10)~15)</sup>。

當教室では酵母細胞、ユーリリッヒ腫瘍其の他に於て、種々の酵素反應の基質或は阻害剤を細胞の數多くの代謝過程に1つづゝ投與して、放射線障害に對する防禦効果（Protection and Resto-

ration), 又は、増感作用（Sensitization）の有無を研究しつつ、放射線の生物作用機構を研究して行く方法を取つて實驗を行つている<sup>16)~23)</sup>。

この方向に沿つて、私は、アミノ酸を使用し實驗を行い、一應その結果を得たのでこゝに報告する次第である。

さて、アミン、アミノ酸に關しては、Bacq<sup>24)~26)</sup>がCysteamineを中心として、一連のアミン物質に就き、放射線に對する防禦効果を研究し、それぞれに相當するアミノ酸の多くが無効なるに反し、アミンが著明な放射線防禦効果を示すと發表しており、一方Langendorff<sup>27)</sup>のアミン類に就いての實驗では、CysteamineとToryptamineにのみ防禦効果を認めたと述べている。

放射線障害を防護するのにCysteine, Cysteamine等のSH基を有する物質のCompetitionが効果が強力であると考えられているが、このSH基のCompetitionの他に、Amine Aminoacidの中reactiveなNH<sub>2</sub> radicalを有するものが、この作用をすることも考えられ、又放射線障害の回復には、Radio oxidationによりblockされ易い酵素系へ補強乃至補給、又blockされた以後のMetabolic courseの必要物質の投與が考えられるが、NH<sub>2</sub>基を有する物質の投與により、蛋白質代謝は、それが、Pyruvate, CoA, Oxaloacetic acid, ATPなどを中心にして行われること、更に蛋白質はEmzymal proteinは勿論の事constantにstableな構造を有するものではなく、常に分解合成せられるものである事から、アミノ酸の投與により回復に効果が期待される。

### 実験目標

1) Patt<sup>11)12)</sup> が1949年に Cysteine をマウスに照射前に投與する事により、その放射線障害を軽減し、死亡率を低下せしめ得る事を發表して以來、Cysteine, Cysteamine<sup>11)12)</sup> の如き SH基を有する物質による、放射線障害防禦の擴範な研究が行われて來ているが、SH基を有するものでも Ergothionine は Protection がない實驗も發表されている。そこでSH基を有するアミノ酸で、放射線防禦効果の再検討を試みる。

2) Bacq 等<sup>24)25)</sup> の研究によると、Cysteamine を中心とする一連のアミン物質は、放射線に対する防禦効果あるも、その母質と考えられるアミノ酸の多くが無効であると發表している。

この事から Cystein, Cysteamine を比較して、アミノ酸でCOOH基がない方がよいのではないかという考もある。従つてこゝにアミノ基が close up して來る。

以上の事から必須アミノ酸を一應實驗に使用する。

即ち、放射線障害を protect するのに、Cysteine, Cysteamine 等の SH基を有する物質の Competition の効果が強力であるが、このSH基の Competition の他に、アミノ酸の中、reactive な NH<sub>2</sub> radical を有するものが、この作用 (Competition) を有してはいないか。

3) 或は又、放射線障害の回復には Radio oxidation により block され易い酵素系へ補強補給、更には block された以後の Metabolic course の必要物質の投與が考えられるが、アミノ基を有する物質の投與により、蛋白質代謝はそれが Pyruvate CoA, Oxalacetic acid, A.T.P. などを中心にして行われること、更に蛋白質は Emzymal proteine は勿論の事 Constant に stable な構造を有するものではなく、常に分解合成せられているものである事から、アミノ酸の投與により回復に効果が期待されないかと考え、又アミノ酸の効果が時間的に、放射線障害に對して Protection であるか、Recovery であるかを知るために、アミノ酸の投與を放射線の照射の前

後に分けて各々實驗を行い比較してみる。

4) 以上の實驗結果、その効果の程度に順位があるか、あればそのアミノ酸の化學構造等に關連がないか。

5) D型アミノ酸の使用

防禦効果が Competition ならD型のアミノ酸でも同様効果があるはずである。

一方合成にD型のアミノ酸 (實驗生物には異質の) が参加すれば負の結果となるはずである。

6) 使用せるアミノ酸の濃度に就て、その濃度により放射線障害に對する影響はないかと考え、アミノ酸自身による影響のない濃度より實驗を始め、低濃度で Optimum がないかと考え濃度を變えて實驗を行う。

實際に使用した濃度は、 $10^{-3}M \sim 10^{-7}M$  の範圍で、これは自身では、本實驗の Criterion には影響のない範圍である。これは予備實驗で確かめた。

以上の事項を酵母を用いて實驗してみる。

### 實驗方法

實驗材料には酵母細胞 *Sacharomyces ellipsoideus* を使い、pH 7.0の Nægeli 氏液中に30°Cで數代培養し、その後大体次に移植して4日目、試験管内で醗酵良好で、増殖の最も盛んな時期にピペットで強く振盪攪拌し、細胞が各個バラバラになつたものを0.1ccとり、別の試験管にpHは同じ7.0の Nægeli 氏液を入れたものに管壁につかぬ様に入れて、約1時間更に30°Cに保存してからX線照射する。

各アミノ酸は各實驗濃度でこの最後の處置をする前に入れておき、最終pHを7.0に補正する。濃度は Mol 濃度である。

照射終了後直ちに Nægeli 寒天培地 (pH 7.0) に酵母細胞をバラバラにピペットで撒き、酵母細胞の移動してしまわぬ様に余分の水分をすてる。

培養は30°C20時間行うのであるが、最初と數時間後及び最後に顯微鏡でその位置及び發育を調べ、更に判定時迄同一の細胞を追及出来る様に、顯微鏡寫眞を撮しておく。これにより放射線、又は藥物による細胞分裂の遅れ (delayed division) の見落しを防ぎ得るものである。

回復過程に及ぼす各投與アミノ酸の影響をみる  
ときは, Nägeli 寒天培地に各アミノ酸を各濃度  
になる様に入れておき pH 7.0とし, 無處置で照射  
した細胞をこの上に播く.

生死判定は, 培養直後のまゝで各個バラバラの  
細胞のまゝのもの, 及びその膨化したもの更に膨  
化した二細胞までで止つているものが死とし, 二  
細胞一出芽細胞以上コロニーを作つたものを生と  
する.

一實驗に就き500個ずつ4群合計2000個の細胞に  
就て生死を数える事を2~4回くりかえして總計  
4000~8000個について生存率を算出した,

尙各實驗に就いては無處置非照射對照群及び各  
濃度のアミノ酸を入れた 非照射對照群の發育率  
を, その都度調べ基準の無處置非照射群の發育率  
を 100%として補正した.

更に, 20,000r照射の對照も, その都度とつて,  
その生存率をみた.

照射條件 培地の組成は次の如くである.

照射條件

室温, 60KV, 3mA, non filter, F D4.5cm,  
1,000r/min

照射線量 20,000 r (20分)

Nägeli 氏培地の組成

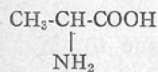
|           |        |
|-----------|--------|
| 葡萄糖       | 10.0 g |
| 酒石酸アンモニウム | 1.0 g  |
| 第二磷酸カリウム  | 0.1 g  |
| 鹽化カルシウム   | 0.01 g |
| 硫酸マグネシヤ   | 0.02 g |
| 蒸溜水       | 100cc  |

この組成だと麥芽エキスなどの如き不確定なも  
のでなく, 本實驗の如きには最適と思われるので  
採用した.

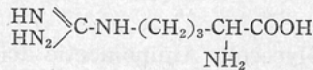
尙寒天は2%である.

使用せるアミノ酸は, 下記の如くである.

1. Alanine ( $\alpha$ -Amino-propionic acid)

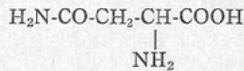


2. Arginine ( $\delta$ -Guanidino- $\alpha$ -amino-valeric acid)



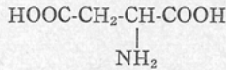
Krebs の ornithine cycle にする尿素合成に  
重要な役割をもち, ヒスタミン, アセチルコリン  
の作用を抑制する. この抗ヒスタミン性はグアニ  
ジン基に基因するとされる.

3. Asparagine (Amino succinamic acid)

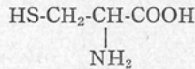


植物界に廣く分布し, アスパラガス, 甜菜根,  
發育した豆等に多量に見出される.

4. Aspartic acid ( $\alpha$ -Amino-succinic acid)

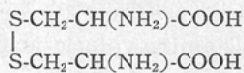


5. Cysteine ( $\alpha$ -Amino- $\beta$ -thio-lactic acid)



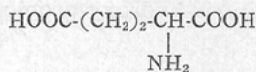
抗ヒスタミン性, 砒素, 重金屬その他のSH基と  
反應する毒物を解毒する. 植物黴の發育促進,  
Cysteine プイオンは嫌氣性菌, Cysteine 血清プ  
イオンはスピロヘータの培養に好適.

6. Cystine (Di-[( $\beta$ -thio- $\alpha$ -amino-propionic acid)])



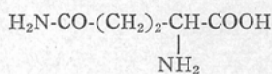
必須ではないが栄養上無價値ではない. 抗ヒス  
タミン性である. 植物黴等の發育を促進する.

7. Glutamic acid ( $\alpha$ -Amino-glutaric acid)



動植物界に最も多量に存在する. Glutathion  
の一構成成分である. 癌組織中に D-Glutamic  
acidが存在する. 發癌阻止と促進の兩作用が報告  
されている.

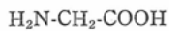
8. Glutamine



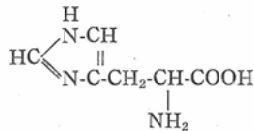
發芽種子中その他廣く存在し, 生物にとってア  
ミノ基の貯蔵の役目を持つ. 澱粉の醱酵に關係が

ある。

9. Glycine(Glycocoll, Amino-acetic acid)



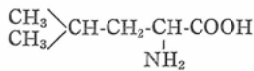
10. Histidine ( $\beta$ -Imidazole- $\alpha$ -aminopropionic acid)



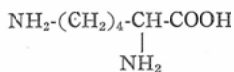
すべての蛋白質に含まれている。

葡萄球菌の發育を促進する。

11. Leucine ( $\alpha$ -Amino-isocaproic acid)

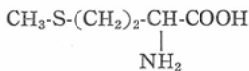


12. Lysine ( $\alpha, \epsilon$ -Diamino-caproic acid)



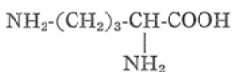
すべての蛋白質にあり、光を受けぬ植物幼芽に遊離して存在する。

13. Methionine ( $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -methyl-thiolbutyric acid)



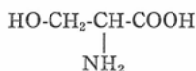
生物學的メチル化劑としての機能がある。

14. Ornithine ( $\alpha, \epsilon$ -Diamino-valeric acid)



Arginine の分解によつて生ずる。

15. Serine ( $\alpha$ -Amino- $\beta$ -hydroxy-propionic acid)

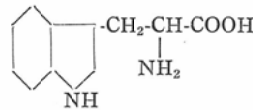


種々の蛋白質中に含まれ、或る種の植物中には遊離して存在する。又或る種の細菌では Tryptophane の合成に關與する。

16. Taurine (Amino-ethane-sulfonic acid 或は Amino ethionic acid)

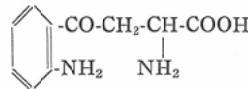


17. Tryptophane ( $\beta$ -Indole- $\alpha$ -amino-Propionic acid)



幼芽中に遊離して存在する。

中間代謝物は Kynurenine



である。

### 實驗結果

予備實驗として、使用せる各アミノ酸の $10^{-3}\text{M}$ 、 $10^{-5}\text{M}$ 、 $10^{-7}\text{M}$ の各濃度で酵母細胞の發育に阻害があるか否かを檢べた。これは30分間各濃度の液体培地に入れた後、寒天培地に播いたもの及び、寒天培地を各々の濃度にしての、培養の兩者を行つた。 $10^{-3}\text{M}$ でも何れも對照に比し、100%發育し阻害を認められなかつた。

#### I アミノ酸を放射線照射前に投與せる實驗結果

各アミノ酸に依る實驗結果は、第1表に示す如くである。

防護率は reactivation の率を用いた。阻害率をX線のみでA%、X線と藥物との併用の場合をB%とすると、一般に reactivation は  $\frac{A-B}{A}$  で表わす。生存率をそれぞれ a, b とすれば  $A = \frac{100-a}{100}$

$B = \frac{100-b}{100}$  であるが防護率 =  $\frac{b-a}{100-a}$  とする。

第1表にみられる如く、Asparagine  $10^{-2}\text{M}$ 、Cysteine  $10^{-3}\text{M}$ に於ては40%以上の防護率を示し、Cystine  $5 \times 10^{-5}\text{M}$ 、L-Glutamic acid  $10^{-7}\text{M}$ 、Glutamine  $10^{-5}\text{M}$ 、Tryptophane  $10^{-7}\text{M}$ では30%代の防護率を見、Asparagine  $10^{-4}\text{M}$ 、Cysteine  $10^{-3}\text{M}$ 、L-Glutamic acid  $10^{-5}\text{M}$ 、 $10^{-7}\text{M}$ 、Glutamine  $10^{-7}\text{M}$ 、Lysine  $10^{-5}\text{M}$ 、L-Methionine  $10^{-7}\text{M}$ 、D-L Ornithine  $10^{-5}\text{M}$ で20%代の防護率を見た。

Glycine  $10^{-7}\text{M}$ 、L-Methionine  $10^{-3}\text{M}$ 、Arginine  $10^{-3}\text{M}$ では逆に負であり、20%の増感が見られた。

第1表 アミノ酸の照射前投与結果

| 投与物質及び濃度                            | 生存百分率    | 防護率 |
|-------------------------------------|----------|-----|
| Alanine 10 <sup>-5</sup> M          | 57.7±3.2 | 19  |
| 〃 10 <sup>-7</sup> M                | 51.6±2.7 | 7   |
| Arginine 10 <sup>-3</sup> M         | 38.5±1.3 | -18 |
| 〃 10 <sup>-7</sup> M                | 56.4±1.6 | 17  |
| Asparagine 10 <sup>-2</sup> M       | 71.0±2.4 | 46  |
| 〃 10 <sup>-4</sup> M                | 62.1±2.1 | 28  |
| Aspartic acid 10 <sup>-5</sup> M    | 53.4±1.7 | 11  |
| 〃 10 <sup>-7</sup> M                | 52.1±2.0 | 8   |
| Cysteine 10 <sup>-3</sup> M         | 59.0±2.5 | 22  |
| 〃 10 <sup>-4</sup> M                | 68.5±0.9 | 42  |
| Cystine 5×10 <sup>-5</sup> M        | 64.8±1.2 | 32  |
| L-Glutamic acid 10 <sup>-3</sup> M  | 56.9±2.6 | 18  |
| 〃 10 <sup>-5</sup> M                | 61.7±6.1 | 27  |
| 〃 10 <sup>-7</sup> M                | 66.8±2.5 | 25  |
| Glutamine 10 <sup>-5</sup> M        | 65.6±3.0 | 35  |
| 〃 10 <sup>-7</sup> M                | 61.1±1.8 | 26  |
| Glycine 10 <sup>-5</sup> M          | 55.7±3.1 | 15  |
| 〃 10 <sup>-7</sup> M                | 38.4±2.3 | -19 |
| Histidine 10 <sup>-5</sup> M        | 52.1±2.6 | 8   |
| 〃 10 <sup>-7</sup> M                | 45.5±1.6 | -4  |
| Leucine 10 <sup>-3</sup> M          | 47.9±2.8 | -1  |
| 〃 10 <sup>-5</sup> M                | 53.3±0.8 | 10  |
| 〃 10 <sup>-7</sup> M                | 57.7±2.5 | 19  |
| Lysine 10 <sup>-4</sup> M           | 55.1±0.7 | 14  |
| 〃 10 <sup>-5</sup> M                | 61.4±1.7 | 27  |
| 〃 10 <sup>-7</sup> M                | 48.1±1.3 | 0   |
| D-L Methionine 7×10 <sup>-7</sup> M | 46.5±2.9 | -3  |
| L Methionine 10 <sup>-3</sup> M     | 38.8±0.6 | -18 |
| 〃 10 <sup>-5</sup> M                | 52.5±0.8 | 8   |
| 〃 10 <sup>-7</sup> M                | 60.1±2.4 | 24  |
| D-L Ornithine 10 <sup>-3</sup> M    | 53.6±0.9 | 11  |
| 〃 10 <sup>-5</sup> M                | 58.9±1.5 | 22  |
| D-L Serine 10 <sup>-3</sup> M       | 43.5±0.5 | -8  |
| 〃 10 <sup>-5</sup> M                | 47.8±0.8 | -1  |
| 〃 10 <sup>-7</sup> M                | 47.4±1.4 | -1  |
| Taurine 10 <sup>-5</sup> M          | 54.6±1.3 | 13  |
| 〃 10 <sup>-7</sup> M                | 57.7±0.9 | 19  |
| Tryptophane 10 <sup>-3</sup> M      | 55.5±2.4 | 15  |
| 〃 10 <sup>-7</sup> M                | 65.7±1.9 | 31  |
| Control                             | 48.0±1.2 |     |

Leucine 10<sup>-3</sup>M, Lysine 10<sup>-7</sup>M, D-L Methionine 7×10<sup>-7</sup>M, D-L-Serine 10<sup>-5</sup>M, 10<sup>-7</sup>Mでは対照とほぼ同様な結果で, その他では対照よりやや上回る程度の防護率を示した。

以上第1表に見られる如く, 同一アミノ酸でも, その濃度により異なる結果が得られた。即ち同一アミノ酸でも, その培養の濃度と, 細胞内に入る量及び適当な濃度がある如くであるので, 濃度に無関係に, 実験結果を効果の著明であつたアミノ酸の順に表記すると第2表の如くなる。

第2表 アミノ酸の照射前投与

| 投与物質及び濃度                           | 生存百分率 | 備考 |
|------------------------------------|-------|----|
| Asparagine 10 <sup>-2</sup> M      | 71.0  | N  |
| Cysteine 10 <sup>-4</sup> M        | 68.5  | SH |
| L-Glutamic acid 10 <sup>-7</sup> M | 66.8  | C  |
| Tryptophane 10 <sup>-7</sup> M     | 65.7  | N  |
| Glutamine 10 <sup>-5</sup> M       | 65.6  | N  |
| Cystine 5×10 <sup>-5</sup> M       | 64.8  | SH |
| Lysine 10 <sup>-5</sup> M          | 61.4  | N  |
| L-Methionine 10 <sup>-7</sup> M    | 60.1  | S  |
| D-L Ornithine 10 <sup>-5</sup> M   | 58.9  | N  |
| Alanine 10 <sup>-5</sup> M         | 57.7  |    |
| Leucine 10 <sup>-7</sup> M         | 57.7  |    |
| Taurine 10 <sup>-7</sup> M         | 57.7  | S  |
| Arginine 10 <sup>-7</sup> M        | 56.4  | N  |
| Glycine 10 <sup>-5</sup> M         | 55.7  |    |
| Aspartic acid 10 <sup>-5</sup> M   | 53.4  | C  |
| Histidine 10 <sup>-5</sup> M       | 52.1  |    |
| D-L Serine 10 <sup>-5</sup> M      | 47.8  |    |
| Control                            | 48.0  |    |

註 N…化学構造式上 NH<sub>2</sub>を2個有するもの  
 SH…化学構造式上 SHを有するもの  
 S…化学構造式上 Sを有するもの  
 C…化学構造式上 両端にCOOHを有するもの

この第2表により見ると, そのアミノ酸の化学構造式上 NH<sub>2</sub>を有するも, 他に NH<sub>2</sub>基を有するもの, 更には Tryptophan の如く, その中間代謝物に NH<sub>2</sub>を2個有するものが上位を占め, 又 SH, S. を化学構造式に有するアミノ酸も, その防禦効果が比較的著明である。COOHを化学構造式上両端に有する L-Glutamic acid 10<sup>-7</sup>Mでは防禦効果著明であるが, 一方同様構造式を有する Aspartic acid 10<sup>-5</sup>Mではその効果が著明に現われていない。

II アミノ酸を放射線照射後に投与せる実験結果

第3表 アミノ酸の照射後投与結果

| 投与物質及び濃度                            | 生存百分率    | 回復率 |
|-------------------------------------|----------|-----|
| Alanine 10 <sup>-5</sup> M          | 62.5±1.8 | 28  |
| " 10 <sup>-7</sup> M                | 52.2±2.3 | 8   |
| Arginine 10 <sup>-3</sup> M         | 42.4±1.0 | -10 |
| " 10 <sup>-7</sup> M                | 59.4±2.8 | 22  |
| Asparagine 10 <sup>-2</sup> M       | 69.8±1.9 | 44  |
| " 10 <sup>-4</sup> M                | 59.1±1.4 | 22  |
| Aspartic acid 10 <sup>-5</sup> M    | 54.5±2.1 | 13  |
| " 10 <sup>-7</sup> M                | 52.8±2.4 | 9   |
| Cysteine 10 <sup>-3</sup> M         | 65.4±3.1 | 35  |
| " 10 <sup>-4</sup> M                | 69.0±2.6 | 42  |
| Cystine 5×10 <sup>-6</sup> M        | 67.2±1.8 | 39  |
| L-Glutamic acid 10 <sup>-3</sup> M  | 65.0±2.3 | 33  |
| " 10 <sup>-5</sup> M                | 67.0±7.0 | 38  |
| " 10 <sup>-7</sup> M                | 96.3±7.8 | 96  |
| Glutamine 10 <sup>-5</sup> M        | 60.6±2.5 | 25  |
| " 10 <sup>-7</sup> M                | 67.1±1.6 | 39  |
| Glycine 10 <sup>-5</sup> M          | 60.4±2.8 | 25  |
| " 10 <sup>-7</sup> M                | 51.6±1.9 | 6   |
| Histidine 10 <sup>-5</sup> M        | 58.6±2.4 | 21  |
| " 10 <sup>-7</sup> M                | 54.3±2.1 | 13  |
| Leucine 10 <sup>-3</sup> M          | 53.1±1.1 | 10  |
| " 10 <sup>-5</sup> M                | 54.8±2.0 | 13  |
| " 10 <sup>-7</sup> M                | 56.9±0.9 | 18  |
| Lysine 10 <sup>-4</sup> M           | 62.3±7.1 | 28  |
| " 10 <sup>-5</sup> M                | 63.1±3.1 | 30  |
| " 10 <sup>-7</sup> M                | 57.1±2.6 | 18  |
| D-L Methionine 7×10 <sup>-7</sup> M | 54.7±2.3 | 13  |
| L-Methionine 10 <sup>-3</sup> M     | 39.6±0.5 | -16 |
| " 10 <sup>-5</sup> M                | 52.6±0.8 | 9   |
| " 10 <sup>-7</sup> M                | 58.2±1.7 | 20  |
| D-L Ornithine 10 <sup>-3</sup> M    | 54.4±1.8 | 13  |
| " 10 <sup>-5</sup> M                | 60.6±2.1 | 25  |
| D-L Serine 10 <sup>-3</sup> M       | 56.8±1.7 | 18  |
| " 10 <sup>-5</sup> M                | 58.8±0.3 | 21  |
| " 10 <sup>-7</sup> M                | 58.2±1.0 | 20  |
| Taurine 10 <sup>-5</sup> M          | 62.9±2.1 | 30  |
| " 10 <sup>-7</sup> M                | 65.9±1.7 | 36  |
| Tryptophane 10 <sup>-3</sup> M      | 69.7±3.1 | 43  |
| " 10 <sup>-7</sup> M                | 74.2±2.7 | 52  |
| Control                             | 48.0±1.2 |     |

各アミノ酸に依る実験結果は第3表に示す如くである。

これは照射中には影響がないので試みに回復率として前実験と區別した。

回復率は前実験の場合と同様 reactivation の率を用いた。

第3表に見られる如く, Asparagine 10<sup>-2</sup>M, Cysteine 10<sup>-4</sup>M, L-Glutamic acid 10<sup>-7</sup>M, Glutamine 10<sup>-7</sup>M, Tryptophane 10<sup>-3</sup>M, 10<sup>-7</sup>Mに於ては, 40%以上の回復率を示し。

Cysteine 10<sup>-3</sup>M, Cystine 5×10<sup>-5</sup>M, L-Glutamic acid 10<sup>-5</sup>M, Lysine 10<sup>-5</sup>M, Taurine 10<sup>-5</sup>M, 10<sup>-7</sup>Mでは, 30%代の回復率を得た。

Alanine 10<sup>-5</sup>M, Arginine 10<sup>-7</sup>M, Asparagine 10<sup>-4</sup>M, Glutamine 10<sup>-5</sup>M, Glycine 10<sup>-5</sup>M, Histidine 10<sup>-5</sup>M, Lysine 10<sup>-4</sup>M, D-L Ornithine 10<sup>-5</sup>Mでは, 20%代の回復率を見。

Arginine 10<sup>-3</sup>M, L-Methionine 10<sup>-3</sup>Mでは, 20%前後の増感が見られ,

他では, 大体10%前後の回復率が見られる。

更に照射後アミノ酸投与の場合も効果のあつた順に表記すると第4表の如くなる。

第4表 アミノ酸の照射後投与

| 投与物質及び濃度                           | 生存百分率 | 備考  |
|------------------------------------|-------|-----|
| L-Glutamic acid 10 <sup>-7</sup> M | 96.3  | C   |
| Tryptophane 10 <sup>-7</sup> M     | 74.2  | N   |
| Asparagine 10 <sup>-2</sup> M      | 69.8  | N   |
| Cysteine 10 <sup>-4</sup> M        | 69.0  | S H |
| Cystine 5×10 <sup>-6</sup> M       | 67.2  | S H |
| Glutamine 10 <sup>-7</sup> M       | 67.1  | N   |
| Taurine 10 <sup>-7</sup> M         | 65.9  | S   |
| Lysine 10 <sup>-5</sup> M          | 63.1  |     |
| Alanine 10 <sup>-5</sup> M         | 62.5  |     |
| D-L Ornithine 10 <sup>-5</sup> M   | 60.6  | N   |
| Glycine 10 <sup>-5</sup> M         | 60.4  |     |
| Arginine 10 <sup>-7</sup> M        | 59.4  | N   |
| D-L Serine 10 <sup>-5</sup> M      | 58.8  |     |
| Histidine 10 <sup>-5</sup> M       | 58.6  |     |
| L-Methionine 10 <sup>-7</sup> M    | 58.2  | S   |
| Leucine 10 <sup>-7</sup> M         | 56.9  |     |
| Aspartic acid 10 <sup>-5</sup> M   | 54.5  | C   |
| Control                            | 48.0  |     |

表4に見られる如く, 照射後アミノ酸を投与する場合, 照射前投与の如く NH<sub>2</sub> を2個有するアミノ酸が特に効果的ではないが, 大體照射前投与と同様な結果を得ている。

Ⅲ D型アミノ酸を使用せる実験結果

(1) D型アミノ酸の照射前後投與の比較

これは第5表の如くである。

第5表 D型アミノ酸の照射前、後投與結果

| 投与物質及び濃度                   | 照射前投与<br>生存百分率 | 照射後投与<br>生存百分率 |
|----------------------------|----------------|----------------|
| D-Glutamic acid $10^{-3}M$ | 23.8±3.6       | 43.4±7.4       |
| 〃 $10^{-5}M$               | 28.6±4.6       | 47.1±4.1       |
| 〃 $10^{-7}M$               | 27.5±2.9       | 45.8±1.9       |
| D-Methionine $10^{-3}M$    | 38.7±3.7       | 43.0±1.5       |
| 〃 $10^{-4}M$               | 43.0±1.3       | 50.5±1.3       |
| 〃 $10^{-5}M$               | 44.2±2.5       | 55.4±1.7       |
| Control                    | 48.0±3.2       |                |

D-Glutamic acid  $10^{-3}M \sim 10^{-7}M$  に於ては、照射前投與の生存率は、X線対照單獨の48%に比べ23~27%で、対照のほぼ $1/2$ であつた。

照射後に D-Glutamic acid  $10^{-3}M \sim 10^{-7}M$  を投與した結果その生存率は43~45%で大体X線対照單獨のそれと同様であつた。

D-Methionine  $10^{-3}M \sim 10^{-5}M$  の照射後投與の実験結果は、その生存率47~55%で、X線照射單獨の生存率48%と、差は認められなかつた。

(2) D型アミノ酸、L型アミノ酸の比較

D-Glutamic acid と L-Glutamic acid を比較すると、その照射前投與では、その結果は第6表の如くで、

第6表 Glutamic acid の照射前投與  
L型とD型の比較

|            | L-Glutamic acid | D-Glutamic acid |
|------------|-----------------|-----------------|
| $10^{-3}M$ | 59.6±2.6        | 23.8±3.6        |
| $10^{-5}M$ | 61.7±2.5        | 28.6±4.6        |
| $10^{-7}M$ | 66.9±2.5        | 27.5±2.9        |

L-Glutamic acid  $10^{-3} \sim 10^{-7}M$  で、59~66%の生存率が得られるが、D-Glutamic acid  $10^{-3}M \sim 10^{-7}M$  で、23~28%の生存率で、これは又X線單獨の対照生存率48%をはるかに下回つてゐる。

照射後投與の結果は、第7表に見られる如く、

L-Glutamic acid  $10^{-3}M \sim 10^{-7}M$  で、68~96%の生存率を得ているのに、D-Glutamic acid

第7表 Glutamic acid の照射後投與  
L型とD型の比較

|            | L-Glutamic acid | D-Glutamic acid |
|------------|-----------------|-----------------|
| $10^{-3}M$ | 65.0±2.3        | 43.4±7.4        |
| $10^{-5}M$ | 67.0±0.5        | 47.1±4.1        |
| $10^{-7}M$ | 96.3±7.8        | 45.8±1.9        |

$10^{-3} \sim 10^{-7}M$  では43~47%の生存率で、X線單獨の対照のそれと差がない。

更に D-Methionine と L-Methionine とを比較すると、その照射前投與の結果は第8表の如く、

第8表 Methionine の照射前投與  
L型とD型の比較

|            | L-Methionine | D-Methionine |
|------------|--------------|--------------|
| $10^{-3}M$ | 38.8±0.6     | 33.7±3.7     |
| $10^{-4}M$ |              | 43.0±1.3     |
| $10^{-5}M$ | 52.5±0.8     | 44.2±2.5     |
| $10^{-7}M$ | 60.1±2.4     |              |

$10^{-3}M$  では L-Methionine も、D-Methionine も共に生存率38%で、対照の48%を下回り、L-Methionine  $10^{-5}M$ 、 $10^{-7}M$  では52~60%で、対照を上回るも、D-Methionine  $10^{-4}$ 、 $10^{-5}M$  は43~44%で、対照と差がない。

照射後投與では第9表の如き結果、

第9表 Methionine の照射後投與  
L型とD型の比較

|            | L-Methionine | D-Methionine |
|------------|--------------|--------------|
| $10^{-3}M$ | 39.7±0.5     | 43.0±1.5     |
| $10^{-4}M$ |              | 50.5±1.3     |
| $10^{-5}M$ | 52.7±0.8     | 55.4±1.7     |
| $10^{-7}M$ | 58.2±1.7     |              |

即ち、L-Methionine  $10^{-3}M$  で、39%の生存率で、X線單獨の対照以下であるが、L-Methionine  $10^{-5}M$ 、 $10^{-7}M$  では52~58%で、一方 D-Methionine では $10^{-5}M$  の55%の他は対照と差はない。

以上の如く、Glutamic acid ではL型は照射前、照射後投與共に防護が著しいのに反し、D型は照射前投與ではX線作用を増強しており、照射後投與ではX線障害に無關係の如くである。



Methionine ではD型, L型による差が明かではなく, 照射前, 照射後投與共に高濃度では悪く, 低濃度では, わずかに防護する様である. たゞD型の照射前投與は低濃度ではX線障害に無關係の如くである.

### 考 按

Bacq 等の研究によると, Cysteine, Cysteamine の他のもので, Amine が Protection があるが, これに相當するアミノ酸が Protection がないものがあると發表しているが, この事及び Cysteine, Cysteamine を比較して, アミノ酸でCOOH基がない方がよいと言う考えもある. 従つてこゝにアミノ基が問題となるので, 必須アミノ酸を一應使用して實驗を行つたが, アミノ酸であるので Protection であつても, Competition であるか, 又は常に分解合成されていると考えられる Enzym, 或は蛋白質のアミノ酸が放射線の照射により不足したりした場合にこれを補うと言う事も考えられる. 又これならば照射直後にアミノ酸を投與しても防禦効果は得られるはずである. よつてアミノ酸の照射前投與と照射後投與とを比較して見ると表1~表4の如き結果を得た. 即ち照射前投與では, Asparagine  $10^{-2}$ , Cysteine  $10^{-3}$ M で40%以上の防護率を得, Cystine  $5 \times 10^{-5}$ M, L-Glutamic acid  $10^{-7}$ M, Glutamine  $10^{-5}$ M, Tryptophan  $10^{-7}$ M で30%代の防護率, Asparagine  $10^{-4}$ M, Cysteine  $10^{-3}$ M, L-Glutamic acid  $10^{-5}$ M,  $10^{-7}$ M, Glutamine  $10^{-7}$ M, Lysine  $10^{-5}$ M, L-Methionine  $10^{-7}$ M, D-L Ornithine  $10^{-5}$ M で20%代の防護率をみた.

一方照射後の投與では, Asparagine  $10^{-2}$ M, Cysteine  $10^{-4}$ M, L-Glutamic acid  $10^{-7}$ M, Glutamine  $10^{-7}$ M, Tryptophan  $10^{-3}$ M,  $10^{-7}$ M で40%以上, Cysteine  $10^{-3}$ M, Cystine  $5 \times 10^{-5}$ M, L-Glutamic acid  $10^{-5}$ M, Lysine  $10^{-5}$ M, Taurine  $10^{-5}$ M,  $10^{-7}$ M で30%代, Alanine  $10^{-5}$ M, Arginine  $10^{-7}$ M, Asparagine  $10^{-4}$ M, Glutamine  $10^{-5}$ M, Glycine  $10^{-5}$ M, Histidine  $10^{-5}$ M, Lysine  $10^{-4}$ M, D-L Ornithine  $10^{-5}$ M

で20%代の回復率をみている. 即ち照射前投與によつて Protection があつたものは照射後投與でも効果が得られている.

回復の過程にアミノ酸を投與した場合に効果がある事は次の如く考えられる. 蛋白質は Enzymal proteine は勿論のこと常に固定した構造を有するものではなく常に分解合成されているものであるとされており, 特に部分的變性のため, 部分的入れ換え作用が行われるといわれ, 特にその速度は想像以上に早い事などが明らかにされている. 従つて本實驗の如きアミノ酸の投與はこの方面での回復に役立つという事が考えられる.

次に培養の濃度と細胞内に入る量及び適当な濃度があるであろうから, 各濃度中最も防禦効果の高いものを選び, 實驗の結果を防禦効果の順に表記すると, 照射前投與では表2, 照射後投與では表4の如くなつた. こゝで各アミノ酸の化學構造式上の關連を見ると次の如くである.

照射前投與に於ては, Asparagine  $10^{-2}$ M (71%), Glutamine  $10^{-5}$ M (65%), Lysine  $10^{-5}$ M (61%), D-L Ornithine  $10^{-5}$ M (58%) はその防禦効果著明で『 ( ) 内は生存率, X線對照單獨の生存率は48%』これ等は各々その化學構造式上 $\alpha$ アミノ基の他に  $\text{NH}_2$  を有している. 更に Tryptophan  $10^{-7}$ M (65%) の効果も優れているが, Tryptophan はその中間代謝物である Kynurenine が  $\text{NH}_2$  を2個持つている. 又 Arginine は肝臓では Ornithine となる事が知られているが Arginine  $10^{-7}$ M の生存率は56%である.

以上よりみるに照射前投與では, そのアミノ酸の化學構造式に  $\text{NH}_2$  を2個有するものは他のアミノ酸に比して防護効果が著しい様に思われる.

しかるに照射後投與の場合には, 照射前投與の如く2個のアミノ基を有するものの効果は著明に現れていない.

COOHを化學構造式両端に有する L-Glutamic acid と Asparatic acid を比較して見ると, L-Glutamic acid  $10^{-7}$ M では照射前投與に

於て66%の生存率であり、照射後投與では96%と言う高率で生存し、照射前、照射後投與共に著明に効果を得ている。一方 Asparatic acid ではその $10^{-5}M$ で照射前投與の生存率53%、照射後投與で54%と、照射前投與、照射後投與共にその効果は殆ど認められない。

化學構造式上SHを有するアミノ酸である Cysteine では Patt, Langendorff 等の實驗と同様 Protection が得られている。即ち Cysteine  $10^{-4}M$ 照射前投與で69%の生存率を得、又照射後投與に於ても69%の生存率を得た。即ち照射前、照射後投與共に著しい効果を得た。

化學構造式上Sを有するアミノ酸である Cystine はその $5 \times 10^{-5}M$ の照射前投與で64%の生存率を得、又照射後投與で67%の生存率を得、照射前投與、照射後投與共に効果が得られている。Cystine は効果のないという研究もあるが、Cysteine との関係に於て、實驗材料による違いと考えられる。

同様Sを有する Methionine  $10^{-7}M$ で照射前投與の生存率60%で効果が見られ、又照射後投與のそれは $10^{-7}M$ で58%の生存率で照射後投與も効果が得られている。

しかし化學構造式上Sを有するもので、 $\alpha$ -アミノ酸でない Taurine に於ては照射後投與では、その $10^{-7}M$ で65%の生存率で効果が見られているが、照射前投與の場合には $10^{-5}M$ でその生存率54%で効果が明らかでない。

以上の如くアミノ酸の化學構造と Protection の関連性がある様に思われる。

アミノ酸の効果が Competition であるのならば照射前に投與すれば、D型のアミノ酸であつてもL型のアミノ酸同様の結果が得られてよいはずであり、合成にD型のアミノ酸が参加するとすれば當然負の結果になるわけである。そこでD型のアミノ酸である D-Glutamic acid, D-Methionine を使用した。その結果は表5~表9に見られる如く、D-Glutamic acid  $10^{-3}M \sim 10^{-7}M$ の照射前投與で、23~28%の生存率で明らかにX線の作用が増強している。照射後投與では、L型の

それが $10^{-3}M \sim 10^{-7}M$ で68~96%の生存率を示しているのに、D型のそれは43~47%で、X線單獨の對照の48%と大体同様である。

Methionine の照射前投與では $10^{-3}M$ でL型、D型共に38%、L型 $10^{-5}M$ 、 $10^{-7}M$ で52%、60%であるのに、D型では43%、44%で、照射後投與ではL型 $10^{-5}M$ 、 $10^{-7}M$ で52%、58%で、一方D型では $10^{-5}M$ が55%の生存率で他は對照と同様な結果である。

L-Glutamic acid などの防護効果はそのものが合成系に (Partially turn-over of high molecule) 使われるか、TCA Cycle などをへて分解系に行くかで異なるであろうが、その際に D-Glutamic acid は天然型におとるためにX線作用を増強する如くである。この増強作用はやはりこれが正常な基質に代り合成系に入り正常基質と拮抗的に作用して阻害作用をあらわすと考えられる。従つて照射前投與で増強するにもかゝらず照射後投與では影響がないことを考えてよい様に思われる。

D-Methionine ではその代謝が D-Glutamic acid と異りとくにそのまま利用される率が低い事などからその増強作用が極めて低いと言うことが考えられる。

G. Hevesy<sup>28)</sup>, Abrams<sup>29)</sup> に依つて動物實驗に於てアミノ酸、醋酸等につけた Isotope の核酸及び蛋白への入り方からX線の照射に依り核酸へのその incorporation は低下するが、蛋白へのアミノ酸、醋酸などの燐蛋白への入り方の阻害が無い<sup>30)</sup>とされて居るが、この事はアミノ酸の代謝拮抗物質に依る合成系への阻害を多くしてやれば放射線障害を多く出来る事が予想される。

### 結 論

- 1) 照射前にアミノ酸を投與する場合、その防禦効果は、化學構造式上  $NH_2$  を2個有するアミノ酸の防禦効果がすぐれている様である。
- 2) 照射後にアミノ酸を投與する場合には1)と同様な結果を得られなかつた。
- 3)  $COOH$ に就いては、アミノ酸の化學構造式上兩端に  $COOH$ を有するアミノ酸では照射前

投與, 照射後投與共に防禦効果が得られたが, Aspartic acid, L-Glutamic acid では照射前, 照射後投與共にその防禦効果は認められなかつた。

4) 化學構造上 S H, S を有するアミノ酸に就ては, Cysteine, Cystine 共に照射前照射後投與とも防禦効果があり, 又 L-Methionine も防禦効果を得た。

しかし $\alpha$ -アミノ酸でない Taurine は S を有するも照射前投與では, 他の S を有するアミノ酸に比し防禦効果著明でなかつた。

5) D型のアミノ酸に就ては, その防禦効果は D-Methionine では照射前投與では, その効果著明でなく, 照射後投與では効果が得られた。

D-Glutamic acid では照射前投與では明らかにその効果は負 (X線作用増強) であり, 照射後投與ではその効果は得られなかつた。

撰筆するに当り絶えず御懇篤なる御指導御校閲を賜つた恩師氣賀正己教授並びに安藤講師に深甚なる感謝の意を表する。

尙本論文の要旨の一部は日本医学放射線学会第14, 15回総会に報告した。

#### 文 献

- 1) Risse, O.: Strahlen therapie. 34 : 581, 1929.
- 2) Risse, O.: Z. Phys. Chem. A. 140 : 133, 1929. → 3) Fricke, H.: Cold Spring Harb. Sy-

- mp, Quant Biol. 2 : 241, 1934. → 4) Weiss, J.: Nature 153 : 748, 1944. → 5) Dale, W.M.: Brit. J. Rad. 16 : 171, 1943. → 6) Dale, W. M.: Biochem. J. 45 : 543, 1949. → 7) Barron, E.S.G. et al.: J. Gen. Physiol., 32 : 537, 1949. → 8) Barron, E.S.G. et al.: J. Gen. Physiol., 33 : 229, 1950. → 9) Barron, E.S.G. et al.: J. Gen. Physiol., 32 : 179, 1948. → 10) Barron, E. S.G. et al.: J. Gen. Physiol., 32 : 595, 1949. → 11) Patt, H. M., et al.: Science 110 : 213, 1949. → 12) Patt, H. M., et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 73 : 18, 1950. → 13) Hollaender H. et al.: Nature 167 : 103, 1951. → 14) Bacq, Z.M. et al.: Science 117 : 633, 1953. → 15) Barron, E.S.G.: Symposium on Radio Biol. 216, 1952. → 16) 安藤義男: 日医放誌, 15: 737, 1955. → 17) 安藤, 佐藤他: 昭医学会誌, 15 : 3, 1955. → 18) 小池深: 日医放誌, 15 : 11 24, 1956. → 19) 安藤, 上条他: 昭医学会誌, 15 : 3, 1955. → 20) M. Kiga et al.: Science 122: 331, 1955. → 21) 佐藤他: 日医放学会総会発表: 1956, 4. → 22) 杉森他: 日医放学会総会発表, 19 56, 4. → 23) 杉森茂: 日医放誌. → 24) Bacq, Z.M.: ActaRadiologica 44 : 47, 1954. → 25) Bacq: Strahlen therapie. 95 : 215~ 233, 19 54. → 26) Bacq: Radiation Reseach Vol. 2, No. 4, 342, 1956. → 27) H. Langendorff: St- rahlen therapie. 98, 245~ 254, 1955. → 28) Hevesy, G: Nature 163 : 369, 1949. → 29) Abrams, R.: Arch, Biochem. 30 : 90 : 1951. → 30) 三浦他: 科学, 25 : 291, 1951.

## Studies on the influence of amino-acids to radiation injury

By

Syozo Satoh

Department of Radiology, Syowa Medical School.

(Director: Prof. Masami Kiga)

Experimental studies on the protective effect of amino-acid against X ray were carried out by means of yeast cell cultures.

Amino-acid which has two NH<sub>2</sub> radicals seems to be more effective when given before irradiation.

Almost all amino-acids tested including L-glutamic acid show protective effect when given both before or after irradiation.

D-glutamic acid is very remarkable, its protective effect is negative when given before irradiation, but it has no influence when given after irradiation.

These facts may prove one of the mechanisms of protection.