

Title	セロトニンの放射線防護作用に関するマクロオートラジオグラフ法による研究 第2報 14C-thymidineなどの標識化合物を指標とした検討
Author(s)	鹿島, 正俊; 松岡, 理
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1970, 30(1), p. 67-76
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/20458
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

セロトニンの放射線防護作用に関する マクロオートラジオグラフ法による研究

第2報 ^{14}C -thymidine などの標識化合物を指標とした検討

放射線医学総合研究所 障害基礎研究部 (部長 江藤秀雄博士)

鹿島正俊 松岡理

(昭和44年9月30日受付)

Whole Body Autoradiographic Studies on Radioprotective Action of 5-hydroxytryptamine

II. The effect of 5-HT on incorporation of ^{14}C -thymidine and some labelled compounds in tissues

Masatoshi Kashima and Osamu Matsuoka

Division of Radiation Hazards, National Institute of Radiological Sciences, Chiba, Japan

(Div. Head: Dr. Hideo Eto)

Little is known about the action of 5-HT (serotonin) when animal was administered radioprotective dose level. Whole body autoradiographic studies were carried out to investigate the relationship between the effect of 5-HT on incorporation of ^{14}C -thymidine (^{14}C -TdR) in tissues and radioprotective mechanism of 5-HT.

Three groups of adult male mice were administered intraperitoneally 5-HT and injected intravenously ^{14}C -TdR, human serum albumin- ^{131}I or aggregated albumin- ^{131}I as autoradiographic indicators for DNA synthesis, blood distribution in tissues or blood circulation in RES respectively, at various time after 5-HT administration.

Another group was irradiated X-ray of 800 R and then was injected ^{14}C -TdR 24 hours and 5 days after irradiation for observation of recovery of ^{14}C -TdR uptake by tissues. Results were as follows.

1. The lowest uptake of ^{14}C -TdR by spleen was observed 5 minutes after injection of 5-HT alone. ^{14}C -activity of spleen at that time was a quarter of that of the control. Thereafter the uptake of ^{14}C -TdR by spleen increased up to 24 hours.

2. Distribution of ^{131}I -HSA in the spleen and bone marrow following 5-HT administration was not different from controls. The concentration of ^{131}I -AA was very high in liver, spleen and bone marrow in controls, while very low activity was shown in spleen and bone marrow of the pelvic bone of 5-HT treated mice at the first 5 minutes as in the case of ^{14}C -TdR.

3. At the 24 hours after injection, ^{14}C -TdR uptake by the tissues in X-ray irradiated mice treated 5-HT was nearly identical with nontreated controls. At 5 days after irradiation, however, the higher uptake of ^{14}C -TdR by spleen and bone marrow of pelvic bone was observed in 5-HT treated mice. Those uptakes and observed autoradiographic spots in other bone marrow showed the recovery of the hematopoietic system.

目次

I 緒言

II 実験材料および方法

III 実験結果

1. A. ^{14}C -thymidine 分布におよぼす 5-HT の作用の時間的变化
- B. ^{131}I -人血清アルブミン, ^{131}I -凝集アルブミン分布におよぼす 5-HT の影響
2. 5-HT 投与マウスの X線照射後における ^{14}C -thymidine 分布

I. 緒言

前報¹⁾において、著者らは動物に投与したセロトニン(以下 5-HT と記す)の体内分布およびその X線照射による影響、5-HT 分布の特異性などについて前駆物質を用いての検討を行なった結果、放射線防護効果と体内分布との関連性については明確な結論は見出せなかつたが、防護に最有効時とされている腹腔内投与直後から10分後までは 5-HT は腹腔内に存在し、脾臓、肝臓などの実質組織内にはわずかに浸透の様相が認められるにすぎないことをのべた。

また、これとは別に核酸前駆物質の thymidine (以下 ^{14}C -TdR と記す)の組織へのとりこみにおよぼす 5-HT の影響を検討したところ、5-HT 投与5分後において、本来はとりこまれる脾臓において ^{14}C -TdR のとりこみ抑制が認められ、また骨髄にもその傾向があり、全身性のうつ血と考えられる所見が認められたことなどを報告した²⁾。

以上の結果から脾臓などにおける核酸前駆物質のとりこみ抑制が放射線防護機構の解明に重要であると考え、まずその原因として 5-HT の薬

理作用による組織の血液循環量の変化が推察されるため、実験1として ^{14}C -TdR とりこみ抑制の経時的観察を行ない、次に ^{131}I 標識人血清アルブミン(以下 ^{131}I -HSA)による組織血液分布の観察、さらに ^{14}C -TdR 以外に脾、骨髄にとりこまれる標識コロイドを用いた検討を行なった。実験2として ^{14}C -TdR とりこみ抑制と 5-HT の有効性との関連を観察するため、 ^{14}C -TdR 分布を指標とした X線照射動物による検討を行なった。

II. 実験材料および方法

実験動物は前報と同様にマウス CF#1 × RF1 代雑種の雄で 8~12週令、体重平均 35.7g のものを全身オートラジオグラフ用として 31匹、放射能測定用として 37匹計 68匹を用いた。

5-HT には第1化学製の 5-hydroxytryptamine creatinine sulphate を用い、生理食塩水に溶解後ただちに 1匹あたり 2.5mg (0.25ml) を腹腔内投与 (i.p. と記す) した。

標識化合物の略称、投与量、投与後のと殺時間、使用目的を Table 1 に示す。

実験1. ^{14}C -TdR, ^{131}I -HSA, ^{131}I -AA (^{198}Au col.) の分布におよぼす 5-HT の影響。

マウスに 5-HT を投与 (i.p.) し、5分、1, 3, 24時間後に ^{14}C -TdR, ^{131}I -HSA, あるいは ^{131}I -AA (^{198}Au col. は5分後のみ) を Table 1 に示した量を静脈内投与し、所定の時間後に麻酔などの処理を行わず、ただちにアセトン・ドライアイス混液中 (-70°C) に頭部を先にして浸して10秒以内に致死せしめ、全身凍結を行なった。

放射能計測は ^{14}C -TdR 投与マウスについては

Table 1. List of used labelled compounds.

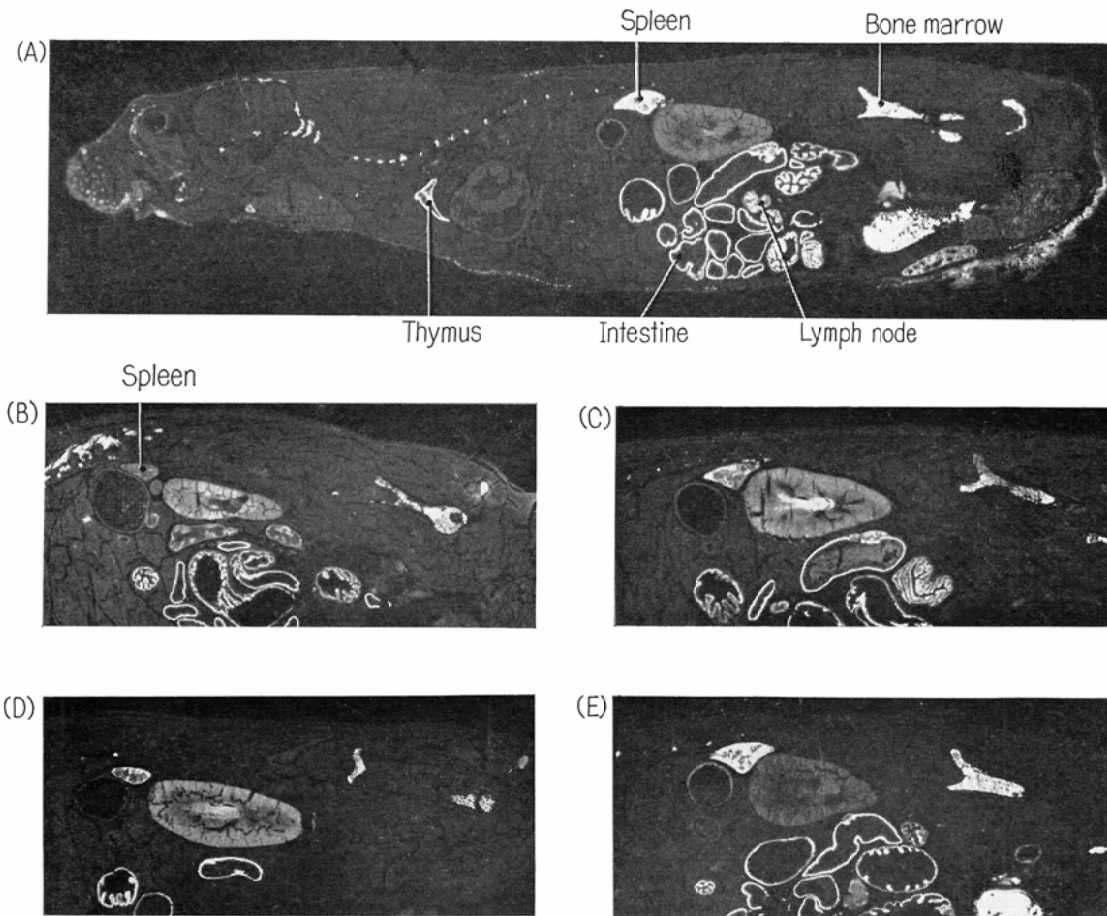
Labelled compound	(Abbrev.)	Administered dose per mouse	Time of sacrifice	Type of biological indicator
Thymidine- ^{14}C	^{14}C -TdR	4 μCi	30 min.	DNA synthesis in tissue
Human serum albumin- ^{131}I	^{131}I -HSA	18	5	Blood labelling (Blood distribution in body)
Aggregated albumin- ^{131}I	^{131}I -AA	20	15	Colloid uptake by RES. (Blood circulation in RES)
^{198}Au colloid	^{198}Au col.	20	15	Colloid uptake by RES (Blood circulation in RES)

脾, 消化管, 骨髄, 辜丸などの組織片をオートラジオグラフに用いた個体から採取し, 重量計測後, ハイアミンに溶解させトルエンシンチレータによる液体シンチレーションカウンタを用いて行なつた。

¹³¹I および ¹⁹⁸Au 標識化合物については別に計測のために実験群をつくり, 投与量 (4 μCiを1匹につき投与) 以外は Table 1 と同じ時間経過で凍結致死せしめ, 脾, 肝, 血液, 筋肉, 大腿骨についてウェル型シンチレーションカウンタを用いてγ線計測を行ない, 比放射能値を算出した。

実験2. 5-HT 投与マウスにおける ¹⁴C-TdR

の体内分布におよぼす X線照射の影響. 放射線防護有効量の 5-HTを投与し, 5分後にX線 800 R全身照射(照射条件 200kVp, 92R/min, F.S.D. 50cm)を行ない, 24時間後および5日後に ¹⁴C-TdR を静脈内投与し, 1時間後にクロロホルム吸入により殺したマウスにおける全身の組織におけるとりこみを 5-HTを投与せず(食塩水のみ)その他は全く同じ処置を行なつたマウスを対照として, 全身オートラジオグラフにより比較観察を行なつた. なおX線照射群の ¹⁴C-TdR 投与試料についてはフィルムに対する露出時間を約2倍の40日で行なつた。



(A) Autoradiogram of ¹⁴C-thymidine in control mouse (B) 5min. after 5-HT i.p. injection (C) 1hr after 5-HT injection (D) 3hrs after 5-HT injection (E) 24hrs after 5-HT injection
 Fig. 1. The effect of 5-HT administration on ¹⁴C-thymidine uptake by tissues in mice

III. 実験結果

1. A. ^{14}C -TdR 分布におよぼす 5-HT の作用の時間的变化,

a. マクロオートラジオグラフィ

対照における ^{14}C -TdR 投与30分後の体内分布については, Fig. 1 に示すように消化管粘膜, 皮ふ(毛根部), 胸線, 脾(赤脾髄), 骨髓, リンパ節および辜丸(精細管)に分布が認められ, その他に腎臓, 膀胱内容の黒化も強く, 細胞増殖の旺盛な組織へのとりこみ, および腎, 膀胱系を通じての排泄過程が示されている.

5-HT 投与5分後に ^{14}C -TdR 投与したマウスでは対照と比較して, 検体3匹のいずれにおいても脾臓に明瞭に ^{14}C -TdR のとりこみ抑制が認められ, 腎臓や筋肉など全身の Activity レベルの高いことが注目されるが, 骨髓においては不明瞭ながら対照よりもレベルの低いことが認められる.

5-HT 投与1, 3時間後においても脾臓のとりこみ抑制は認められるが, 5分後の場合のものと比較するとレベルはかなり高い. 他の組織は腎と全身のレベルが高いほかは対照とほぼ等しい. 24時間後は対照と同様である.

b. ^{14}C activity の計測

オートラジオグラフに用いたマウスの組織の ^{14}C activity を計測し, 比放射能を算定した結果を Fig. 2 に示す. 5-HT 投与5分後の脾の値は対照のその約 $1/4$ であり, 24時間後に対照を示し

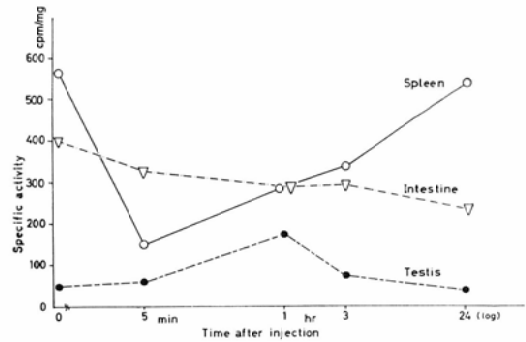


Fig. 2. Uptake of thymidine- ^{14}C in tissues following 5-HT injection

た.

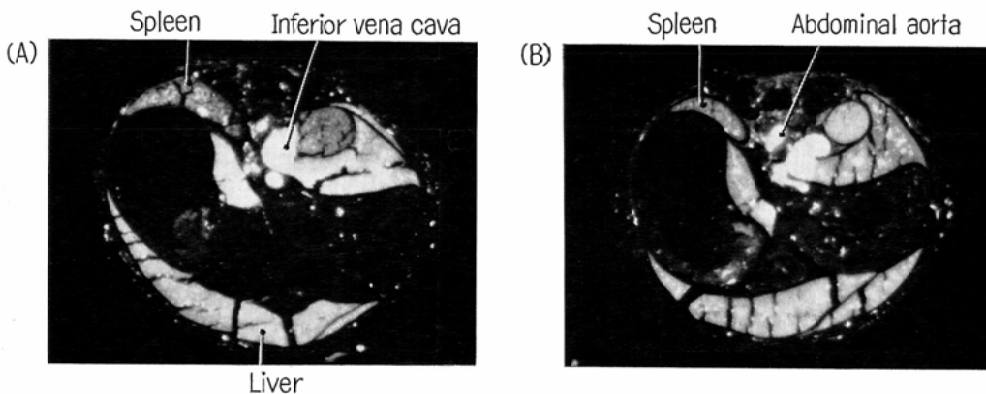
B. ^{131}I -HSA および ^{131}I -AA (^{198}Au col.) 分布におよぼす 5-HT の影響

脾の ^{14}C -TdR とりこみ抑制の原因究明のため, 問題となる組織への血液分布, あるいは血液循環量を検討するため, 血液を標識する ^{131}I -HSA の分布とさらに脾, 肝, 骨髓など RES にとりこまれる放射性コロイドの ^{131}I -AA (^{198}Au col.) の早期沈着を全身オートラジオグラフにより観察した. 後者は間接的にそれらの組織の単位時間における血液循環を示すものとみなした.

なお 5-HT の代りに生理的食塩水を投与したものを対照とした.

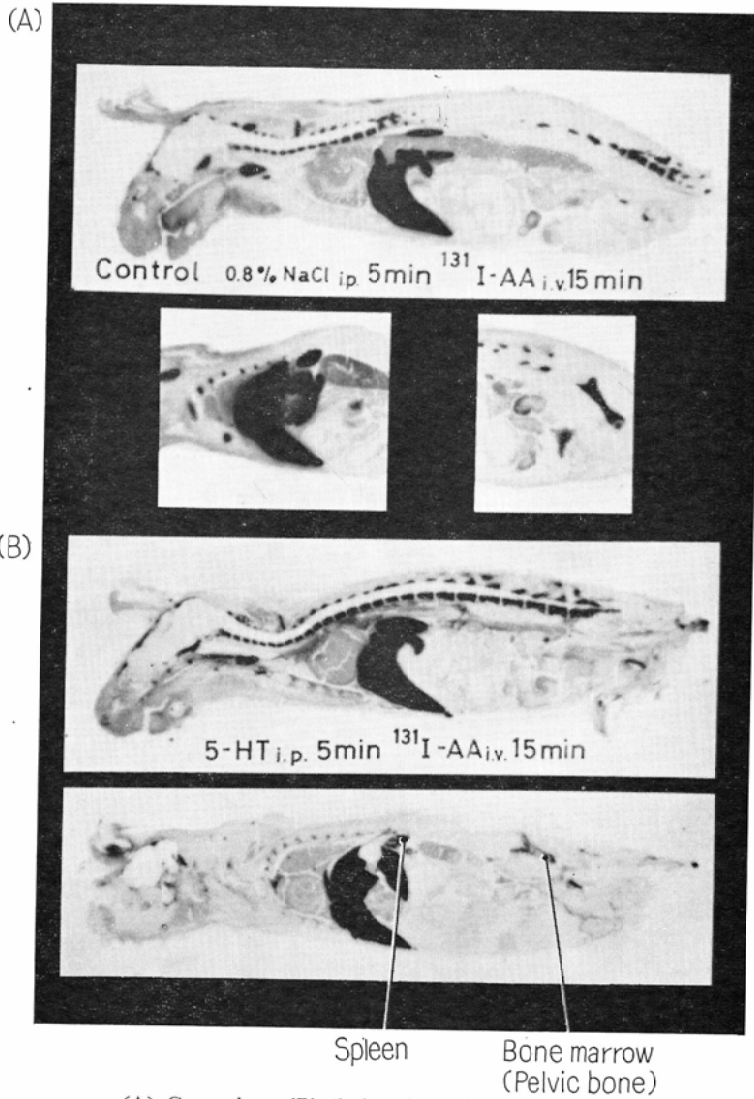
a. ^{131}I -HSA 分布におよぼす 5-HT の影響.

対照の ^{131}I -HSA 投与5分後におけるオートラ



(A) Control (5min after ^{131}I -HSA injection) (B) 5-HT treated mouse 5min before ^{131}I -HSA injection

Fig. 3. Autoradiograms showing distribution of ^{131}I -HSA (Blood) in cross-section



(A) Control (B) 5min after 5-HT injection
 Fig. 4. Autoradiograms showing an inhibition of ^{131}I -aggregated albumin uptake in the spleen and bone marrow following 5-HT injection

ジオグラムにおける組織の Activity の強さは試料切片の血液色素の濃度と一致を示し、血液、肺、肝、腎、骨髓、脾、甲状腺、皮ふ、中枢神経の順であつた。

5-HT 投与10分後においては、対照の組織のレベルと比較して脾のレベルが低い傾向が認められたが不明瞭であつた。また後大静脈、脾を含む横断面の切片のオートラジオグラフ (Fig. 3) においても脾の濃度に大差はなく、後大静脈の横断面

では若干対照の方が大であるのがわかる。5-HT 投与1時間5分後のマウスにおいても腎のレベルは低いが、 ^{14}C -TdR の場合のような明瞭な差異は脾、骨髓いずれにおいても見出されなかつた。

b. 標識コロイド分布におよぼす 5-HT の影響

1) ^{131}I -AA を用いての検討

対照のマウスでは ^{131}I -AA の投与後15分においてすでに肝、脾、骨髓、副腎皮質、リンパ節などの網内系細胞に富む組織にとりこまれているが、

血中濃度はかなり低い。なお甲状腺、胃内容、顎下腺、膀胱内容など ^{131}I に特有の分布も低いレベルながら認められた。

5-HT 投与5分後に ^{131}I -AA を投与し、それよりさらに15分後における ^{131}I 分布は対照のそれと比較してかなりの差異が認められ、脾においては、明瞭にとりこみの減少が観察され、白脾髄周辺にわずかに黒化が認められるにすぎない。また、骨髄において脊椎骨や胸骨の骨髄は対照と比較して差異はないが、骨盤骨骨髄にとりこみの減少が示され、顆粒状の黒化がわずかに認められた。(Fig. 4)

5-HT 投与1時間後でも脾のレベルはやや低いが、骨盤骨骨髄は対照と差がなく、3時間後においては脾のとりこみの減少の傾向がみられたが、24時間後は対照とほぼ等しい。

2) ^{198}Au コロイド

対照における ^{198}Au コロイド投与15分後の分は肝に最も高く、脾、骨髄、副腎にとりこまれ、血

液中の濃度は小である。

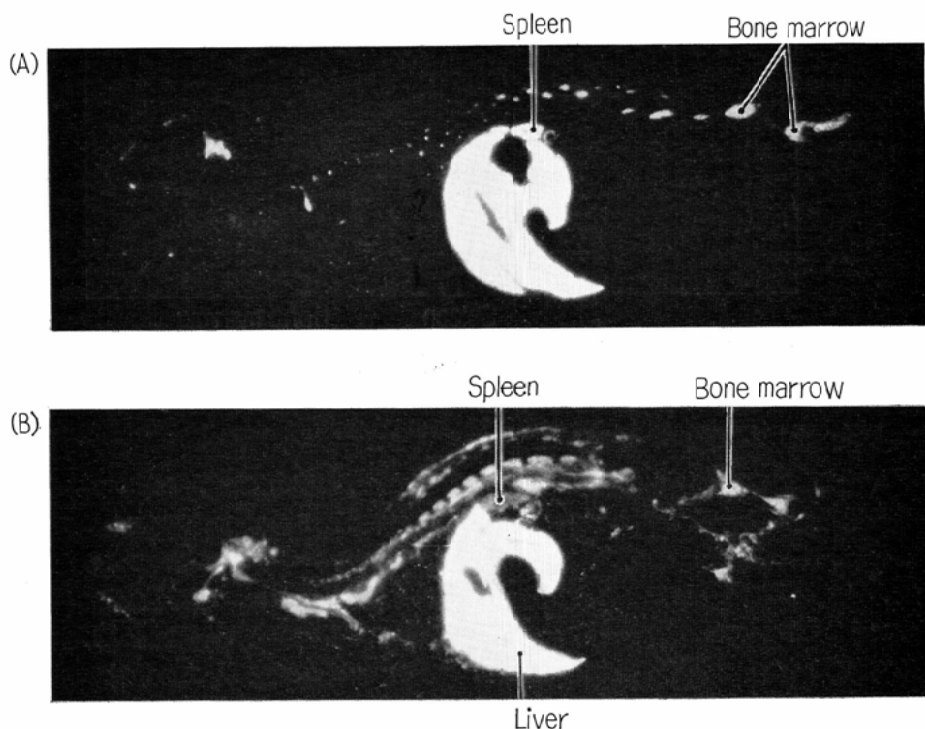
5-HT 投与5分後に ^{198}Au コロイドを投与し、それよりさらに15分後における分布は Fig. 5 に示すように脾におけるとりこみが明らかに低いことを示している。骨髄では対照と変わりなく、骨盤骨骨髄においても特にレベルの低いことはない。しかし、筋肉あるいは胸腔のリンパ管とみられる部位に血中レベルよりも高いことが認められている。

3) ^{131}I -HSA, ^{131}I -AA の Activity

^{131}I -HSA および ^{131}I -AA については計測のため別の実験群をつくり組織 Activity を計測した結果を Fig. 6 に示す。

^{131}I -HSA の場合には組織の比放射能値を計算し、血中濃度を 100 としてあらわした。

また ^{131}I -AA の場合には肝の放射能は対照では 606 ± 28 cpm/mg、5-HT 投与5分後のものでは 585 ± 59 cpm、そのほかの 5-HT 処置群では 591 ± 114 cpm と一致を示したので肝比放射能



(A)Control (B) 5-HT treated mouse (5min. before)

Fig. 5. ^{198}Au -colloid incorporation into RES in mice 15min after injection

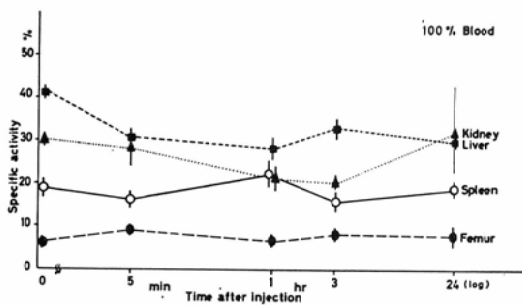
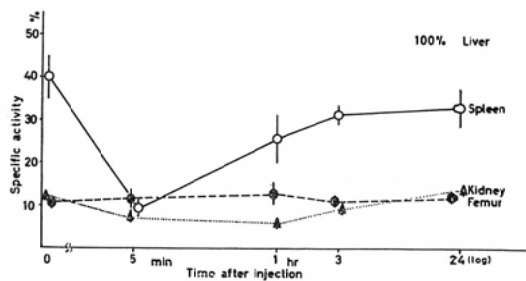
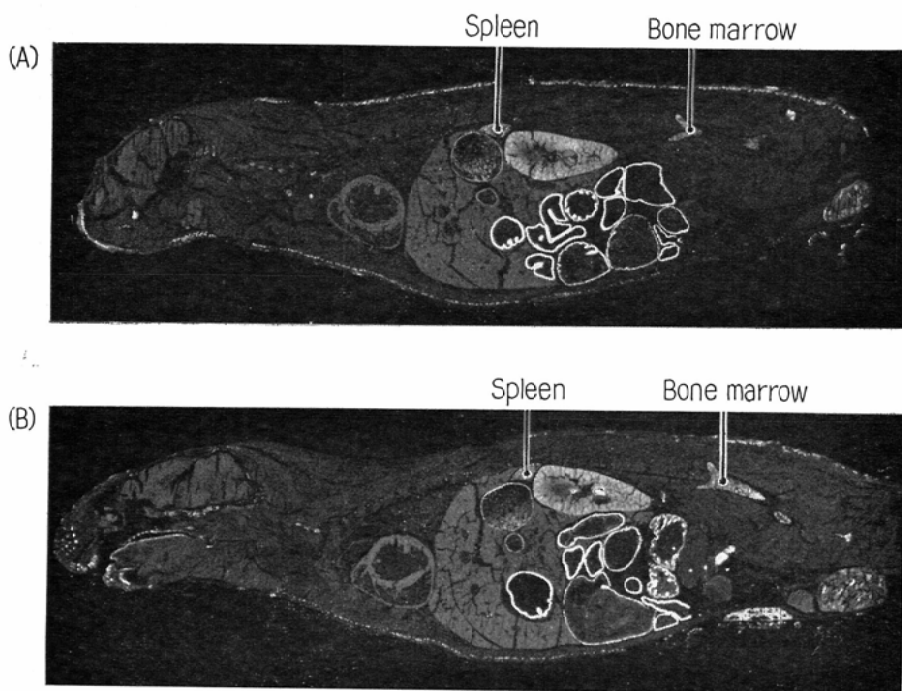


Fig. 6. Uptake of ^{131}I -Human serum albumin in tissues following 5-HT injection



Uptake of ^{131}I -Aggregated albumin in tissues following 5-HT injection



(A) Control (B) 5-HT injected mouse 5min. before X-ray exposure
 Fig. 7. Autoradiogram showing radiation-induced change on ^{14}C -thymidine uptake in tissues 24hrs after X-ray exposure of 800R.

値を 100として他の組織と比較した。

結果としてオートラジオグラフの所見とほぼ同様であり、 ^{131}I -HSA において脾あるいは骨(骨髓)の値は対照と等しく、 ^{131}I -AA, ^{198}Au コロイドの場合は 5-HT 投与5分後において対照の脾臓の $1/4$ の値を示した。

2. 5-HT 投与マウスの ^{14}C -TdR 体内分布に及ぼすX線照射の影響

A. 照射1日後の ^{14}C -TdR 分布

マウスにおけるX線照射の ^{14}C -TdR 分布におよぼす影響は骨髓、脾、胸腺などの造血系へのとりこみの著減で示された。消化管、皮ふのとりこみの変化は比較的少ない。

防護有効量の 5-HT を投与したマウスにおいては、X線照射1日後の ^{14}C -TdR とりこみ像は Fig. 7 に示すように対照とまったく同様の所見が

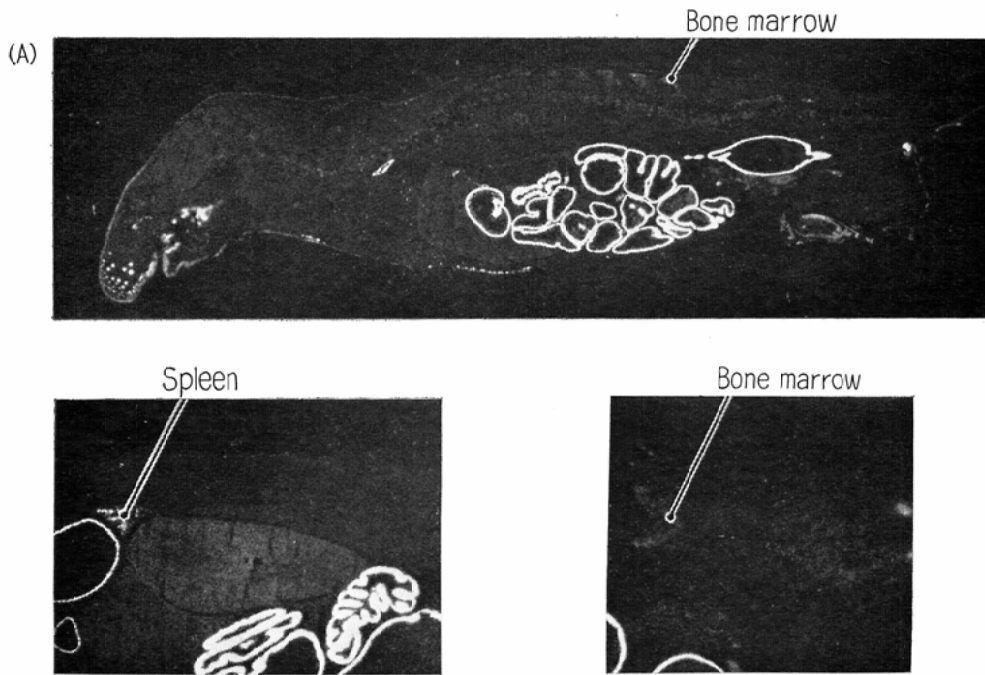
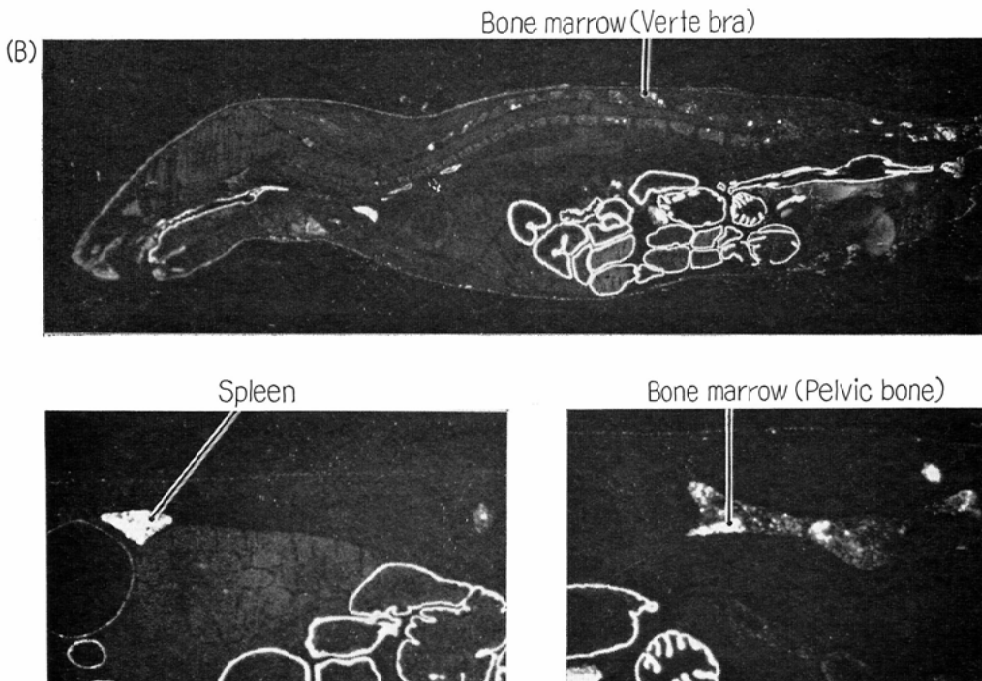


Fig. 8



(A) Control (B) 5-HT treated mouse 5min before. X-ray exposure
 Fig. 8. ^{14}C -thymidine in corporation into tissues 5days after X-ray exposure of 800R.

認められ、骨髄、脾のとりこみの減少も同じレベルであつた。

B. 照射5日後の ^{14}C -TdR 分布

照射5日後における対マウスでは脾、骨髄、胸腺のいずれにおいてもとりこみがわずかである。脾においても中心部に線状のフィルム黒化が認められるにすぎない。

しかし、5-HT 投与マウスにおいてはFig. 8に示すように対照よりも明らかに ^{14}C -TdR 組織とりこみが大きい。脾臓は全般にわたり強く、骨髄も全体的な微細な点状にとりこみが強い場所が散在しているが、特に骨盤骨髄の一部には強く認められた。また胸腺、リンパ節などのリンパ組織にもとりこまれ、明らかに対照よりも大である。なお、消化管、粘膜、皮ふは対照との差は特に認められない。

IV. 考察および要約

以上の結果を要約すればつぎのとおりである。

(1) 5-HT 投与5分後に脾においてのみ ^{14}C -TdR の強いとりこみ抑制の反応があり、 ^{14}C -Activity は対照の脾の約 $1/4$ を示す。

(2) ^{131}I -HSAで標識した血液の分布状態では脾、骨髄のいずれにおいても対照と変りがない。

(3) ^{131}I -AA および ^{198}Au コロイドのとりこみは5-HT 投与5分後では、脾臓は両者とも、骨盤骨髄は前者のとりこみ抑制が認められ、脾のActivity はいずれも対照のその約 $1/4$ を示した。

(4) X線 800R 全身照射したマウスについては、5-HT 投与マウスは24時間後では対照と同様の ^{14}C -TdR 分布を示すが、5日後においては、脾臓、骨盤骨髄、骨髄全般などの造血系組織に ^{14}C -TdR とりこみ活性の増大を認めた。

これらの結果とすでに小林らと共に報告した結果⁹⁾とを含めて5-HTのマウスに対する作用について以下考察する。

投与直後では5-HTは腹腔に局限して高濃度に存在し、その薬理作用により、ただちに全身的な血液循環速度の遅延、低体温、ガス交換の抑制(平常の $1/2$)、血液成分比の変化があり、組織では脾臓が特に影響をうけ、血液供給量は約 $1/4$ まで減

少するか、あるいはそれによる無酸素状態のためか細胞機能が抑制され、投与された ^{14}C -TdR やコロイド粒子をとりこまない状態を示す。また骨髄も骨盤骨髄などは影響を受けることもある。しかし、時間と共に5-HTの作用は消退し、24時間後は完全に正常に復帰する。

なおX線に照射されたマウスでは5-HTの投与によつて照射5日後において5-HTの作用を特に強く受けたと思われる脾臓とか骨盤骨髄などに ^{14}C -TdR のとりこみ活性化の像を認めたが、このことから5-HTは造血臓器に対し、一時的な機能抑制作用を与え、その放射線感受性を低下させる方向に力が加わり放射線防護効果を示すとしてよいように考えられる。

5-HTの防護機構については前報で述べたように組織特に造血臓器の低酸素状態をひきおこす血管収縮を主とする薬理作用説⁵⁾⁶⁾5-HTの化学的構造特性に原因をもとめるelectron donor説などや⁷⁾⁸⁾、また細胞分裂促進回復に有効とする説もあるが、薬理作用説を除いてはcriticalな臓器に5-HT濃度が照射時あるいは照射後早期に高いことが望ましいと考えられる。

たとえば脾について考えてみると、脾への動脈系血管(脾動脈、脾柱動脈、筆毛動脈)、静脈洞、被膜、脾柱などの薬理作用による収縮、脾への血液供給量の減少かそれに伴う酸素圧の低下により脾を構成する細胞(造血系、網内系、リンパ系)の機能低下は当然考えられる。しかし、脾の5-HT濃度は投与当初はそう高くはなく、後除々に上昇が認められるが5-HT濃度が高いときと防護に有効な時点とはかけはなれていることから5-HT濃度を防護機構における重要なポイントとする説のみでは実際の生体場合には説明が困難となるのではないかと思われる。

脾の酸素不足についてはVan Der Meerらの報告があり、脾のみが顕著に減少していることを述べ、その特異性に注目している。

朝倉の報告¹⁰⁾では脾重量の変化を指標として放射線防護物質の有効性を検討した結果、5-HTはAETと比較して回復期(照射8日以後)の重量の増大はAETよりも急速であることを示してい

る。

5-HT に関して長期にわたる詳細な研究を行なった Langendorffらの業績を合せて、その一派の Melching が綜説¹¹⁾を發表しているが、脾については、脾を摘除したマウスでは5-HTの防護効果が低下したことを認めたが、5-HT拮抗薬剤を投与したときの有効性の低下ほどではないので脾の役割は一部を占めるにすぎないであろうとし¹²⁾、また同門の Streffer¹³⁾は脾摘出2週間後に照射したマウスでは防護効果の有効性の低下は認めないので脾の役割はむしろ小さいとする考えを示した。いずれにせよ脾臓のみで5-HTの防護機構を論じ、説明しきれぬものとは考えられない。

5-HT投与マウスをX線照射して5日後において脾以外に骨髄にも¹⁴C-TdRのとりこみがあつたが、骨髄に関してはLangendorff & Shibataの報告¹⁴⁾がある。5-HT単独投与のマウス大腿骨骨髄において、投与直後から30分には一時的な細胞分裂の抑制が認められ、また810R全身照射の場合、細胞分裂の減少や異常は5-HTにより直接的には防護されないが、後に細胞分裂能の早期の回復と、1週間以後に正常値のレベル以上となることを示している。

本報においても、¹⁴C-TdRのとりこみと言う相違があるが、この報告を支持するものと考えられるが、5-HT投与した照射マウスの骨髄の活性回復に部位により差異があるのは興味深い所見である。

なおリンパ節や胸腺にも¹⁴C-TdRとりこみがあり、対照のそれとことなることから5-HTとリンパ系組織との関連性も検討する必要がある。

以上放射線防護有効量の5-HTをマウスに投与した場合における¹⁴C-TdRや標識コロイドが脾臓や骨髄へのとりこみ抑制が起ることをのべ、その原因を検討した。1) 直接的にそれらの組織の血液循環量の減少 2) 二次的に酸素不足などに

よる細胞機能障害が生じたことが考えられたが、今回はいずれとも決定することができなかつた。

5-HTの放射線防護機構が一元的で単純なもので説明できることは考えられないが、さらに5-HTの投与時の生理、薬理的反応を追求する必要があると思われる。

稿を終るにあたり、終始御指導御校閲を賜つた部長江藤秀雄博士に深甚なる謝意を表します。また労を厭わず協力して下さい上島久正氏、石田桂子氏に深謝致します。

(本論文の要旨は昭和43年4月、第27回日本医学放射線学会において発表した。)

文 献

- 1) 鹿島正俊, 松岡理: 日医放誌, 27(3): 315—330, 1967.
- 2) Osamu Matsuoka, T. Tsuchiya, M. Kashima and H. Eto: Gastrointestinal Radiation Injury 313—325, 1968, Excerpta Medica Foundation.
- 3) 小林定喜, 中村, 松岡, 鹿島他: 放射線生物研究. 2(2): 16—26, 1967.
- 4) 小林定喜, 中村, 鹿島, 松岡, 江藤: 放射線生物研究. 4(2): 42—62, 1969.
- 5) J.L. Gray, J. Tew and H. Jensen: Proc. Soc. Biol. Med. 80: 604—607, 1952.
- 6) H.A.S. Van Den Brenk and M. Haas: Int. J. Rad. Biol. 3(1): 73—94, 1961.
- 7) P. Alexander, Z.M. Bacq et al.: Rad. Res. 2: 392—415, 1955.
- 8) P. Dukor: Strahlentherapie 117: 330—355, 1963.
- 9) C. Van Der Meer and D.W. Van Bekkum: Int. J. Rad. Biol. 4(1): 105—110, 1961.
- 10) 朝倉英雄: 放射線生物研究 2(2): 7—16, 1967.
- 11) H.J. Melching: Current Topics In Radiation Research 1: 95—137, 1965 North Holland P.C. Amsterdam.
- 12) H.J. Melching, C. Streffer and H. Sauer: Strahlentherapie 123: 571—599, 1964.
- 13) C. Streffer 私信(放医研=ユース11(1): 1—5, 1968).
- 14) H. Langendorff and K. Shibata: Strahlentherapie 127(1): 133—145, 1965.