

Title	シヨウドマイシンのマウス毛根部に対する放射線増感効果
Author(s)	柄川, 順; 石岡, 邦明
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1974, 34(10), p. 763-768
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/20589
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

シヨウドマイシンのマウス毛根部に対する 放射線増感効果

帝京大学医学部放射線医学教室

柄 川 順 石 岡 邦 明

(昭和49年 5 月 7 日 受付)

(昭和49年 6 月13日最終原稿受付)

Modification of radiation effect by Showdomycin on hair roots of the mouse

Jun Egawa and Kuniaki Ishioka

Department of Radiology, Teikyo University School of Medicine

(Kaga, Itabashi-ku, Tokyo, Japan)

Research Code No.: 408

Key Words: Showdomycin, Radiosensitization, Hair root

Radiosensitizing effect of Showdomycin on *Escherichia coli* B/r in aerated and anoxic conditions was reported by Y. Titani. This report concerns experimental results of modification of radiation effect on hair roots of the mouse by Showdomycin.

The mouse skin was irradiated by 29 KVp X-ray 8 days after initial plucking. Irradiation of growing hair results in the damage of hair bulb, thus dysplastic hair is produced. The incidence of dysplastic hair is related to radiation dose.

Six administration of 300 μ g of Showdomycin intraperitoneally during 3 days or 6 days combined with the irradiation of 500 R X-ray results in approximately 50% increase in the incidence of dysplastic hair. The influence of the time interval between the last administration of Showdomycin and irradiation on the incidence of dysplastic hair was studied. There is no difference in the results from 2 to 6 hours of administration time before irradiation.

Further study in the mechanism of radiosensitizing effect seems to be valuable.

緒 言

シヨウドマイシンは1962年、塩野義研究所によつて香川県小豆島の土壌から分離された *streptomyces* の一種 *streptomyces showdoensis* の培養液からえられたものである。その構造式は Fig. 1 に示すごとくで、化学名は 3-(β -D-ribofuranosyl) maleimide と判明している¹⁾。シヨウドマイシン

(以下 S HM と略記する) は *E. Coli* に対して放射線増感作用を示している²⁾⁴⁾。

この論文は S HM の放射線増感作用をマウスの毛根部の放射線障害の結果として生ずる成長期毛の異形成出現率を指標として示したものである。その結果、異形成毛出現率は約 1.5 倍の増加を認めた。

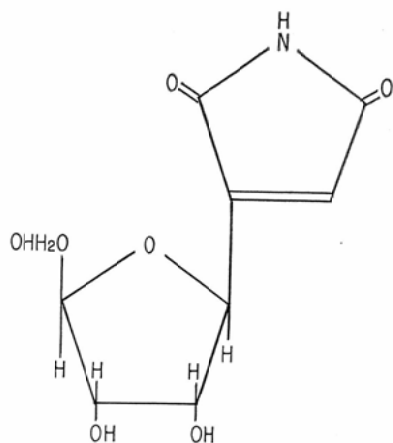
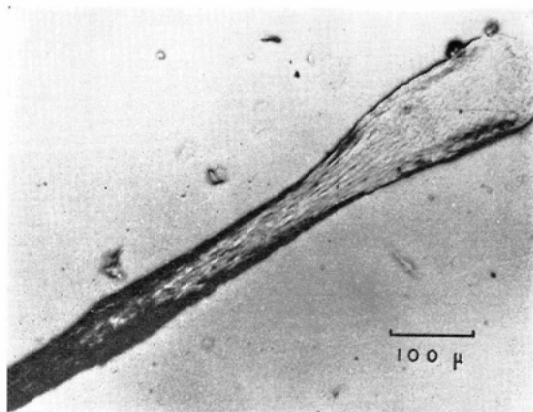


Fig. 1 Showdomycin

ANAGEN HAIR



TELOGEN HAIR

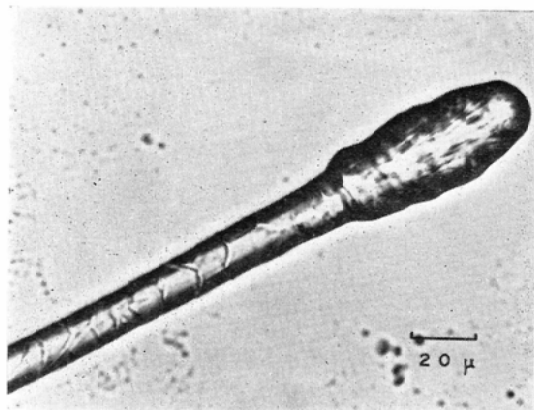


Fig. 2

DYSPLASTIC HAIR

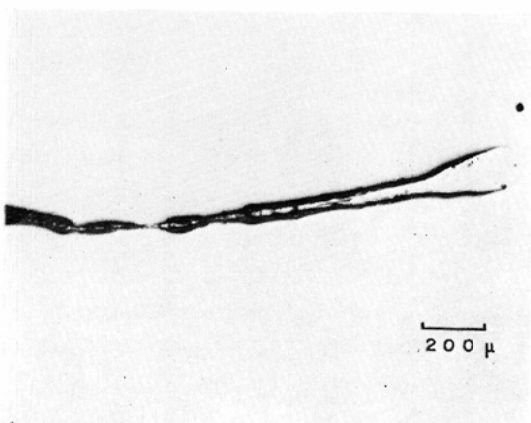
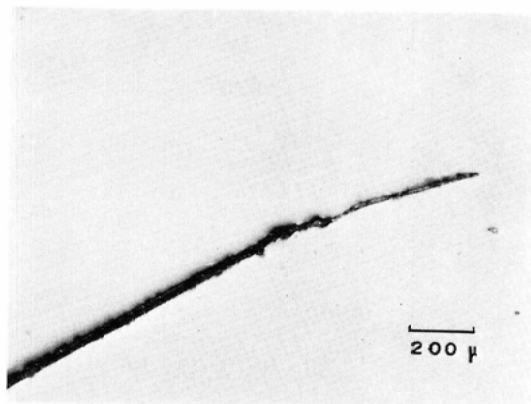


Fig. 3

毛根部の成長周期と異形成毛

この報告では放射線障害による異形成毛の判定は Griem ら⁸⁾⁹⁾による報告に従った。毛根部は成長期にあるもの (anagen stage)、休止期にあるもの (telogen stage) に分類される。休止期にある毛を抜毛すると、マウスでは8~10日で新生毛を生じはじめるが、この anagen stage は19~21日で終って telogen stage に移行する。この周期はマウスの生長周令によつて異なる。Fig. 2に anagen hair と telogen hair を示した。

照射によつて生ずる異形成毛 dysplastic hair は毛根部の萎縮退化ならびに毛幹部の不規則性が認められるものをいう。この典型像を Fig. 3に示した。

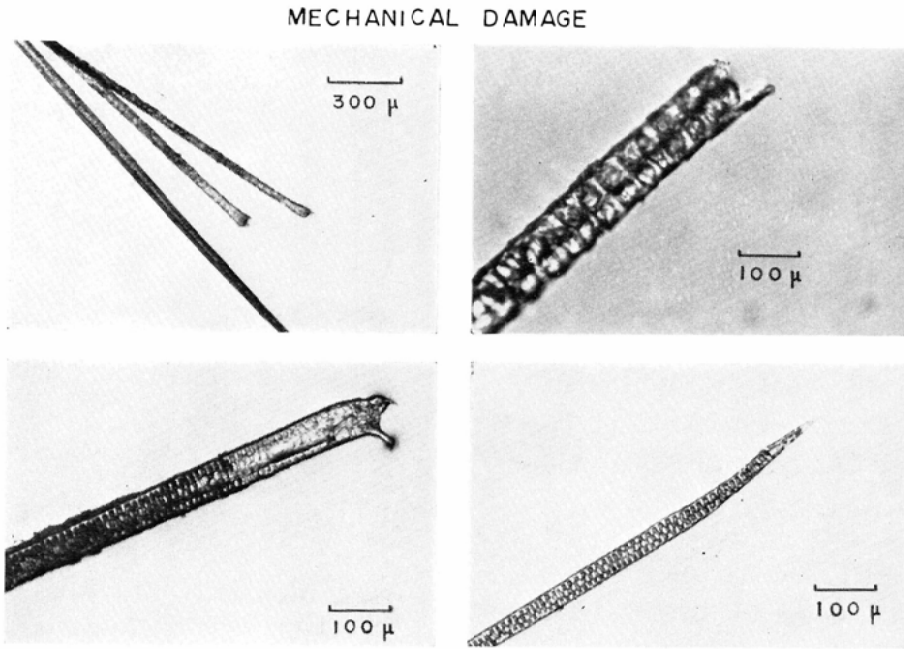


Fig. 4

抜毛時に機械的損傷を毛に生ずることがある。毛幹部での切断や、ひつばられたための狭細化などが認められる。これを Fig. 4 に示した。以上の毛根部型態分類は概ね顕微鏡下で容易におこなうことができた。

マウス周令

この実験では毛の成長周期を同調させるために抜毛をおこなうが、anagen stage の毛では抜毛が困難であり、かつ毛の新生が遅延するので、telogen stage のものを使用する必要がある。また、周令の進んだマウスでは毛の新生が同様に著しく遅延するので適当でない。予備実験では4周令ではanagen stage のみのものや、telogen stage の毛の下にanagen hair がみられるものなどがあり、6週令でもtelogen hair とanagen hair が一定でない割合でまじっている。7週令以後になるとすべてtelogen hair となることがわかった。

実験方法

マウスの毛を一定範囲にわたって抜毛し(初回抜毛),その部位に生えてくる成長期毛を抜き(検

査抜毛),毛根部とその近くの毛幹部を顕微鏡下で観察した。検査抜毛以前に照射が加えられた場合、成長期に同調された毛嚢部や毛根部の放射線感受性は比較的均一であると考えられる。その結果生ずる異形成毛の出現率は再現性のある線量効果曲線を示す。この実験では照射群, S HM投与群, S HMと照射の併用群について比較した。

照射条件

装置:表在治療用X線装置 29kVp (半価層 0.2 mmAl),集点皮膚間距離30cm, 128 R/分。

マウス:DDN系マウス, ♀, 8~9週令。

初回抜毛:左右腰部に直径約 1.5cmの範囲にわたって機械的抜毛をおこなった。

照射方法:マウスの四肢を固定し,照射範囲のみを開けた1mm厚み鉛板で全身を遮蔽して照射した。

S HMの投与:それぞれS HMの 100 μ g, 200 μ g, 300 μ g を含む生理的食塩水 0.2ml を1回量とし,照射前の3日間に6回,または6日間に6回の腹腔内照射をおこなった。

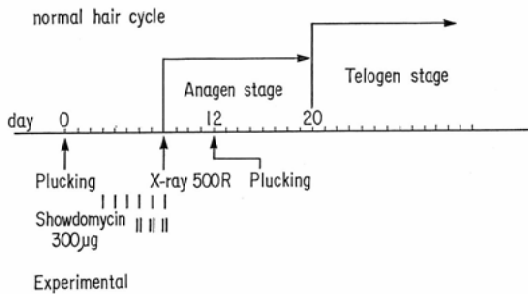


Fig. 5 Experimental schedule

検査毛の判定：一側抜毛部に照射し，他側はコントロールとした。いずれも異形成毛出現率判定のため，約 200本を抜毛し（検査抜毛），顕微鏡下で分類した。

実験スケジュール

Fig. 5 に示した。Griem の報告及び我々の予備実験によれば，anagen hair は初回抜毛後 8～10 日で生じはじめる。この段階では皮下では将来，毛幹部として成長する部分が生じていると考えられる。この部分は異常なく皮膚面上に出現する。照射による異形成は，既に生成された毛幹部以下の異常として出現してくる。従つて，8 日目で照射を加えることとした。

照射前に 6 回にわたつて S HM の腹腔内投与をおこなつた。この理由は S HM の効果発現機序について殆んど知識がないため，照射時のみに S HM が存在するという条件以外に，何らかの蓄積による効果も想像されるためである。更に，S HM の最終投与時間と照射との間隔を照射直前，2 時間，4 時間としたこの理由は S HM の体内濃度による差を見るためである。

検査抜毛は初回抜毛後 12 日でおこなつた。この時点では毛幹部は数 mm の長さを示した。

実験結果

1. 線量効果曲線

上記のスケジュールで，照射のみをおこなつたときの異形成毛の出現率と線量の関係を Fig. 6 に示した。50% 出現率は約 420 R である。この結果にもとづき，以後の照射量を 500 R とした。

2. S HM 投与量の関係

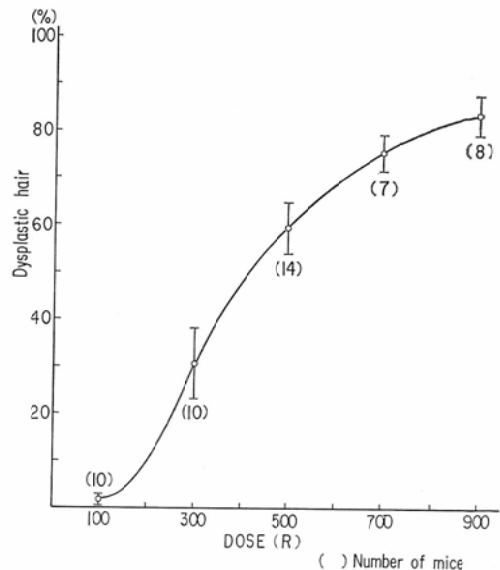


Fig. 6 Dose response curve for producing dysplastic hair in mice after single X-ray dose

S HM, 100 µg, 200 µg, 300 µg を 1 回量とし，6 日間にわたつて腹腔内投与をおこなつた。Table 1 に示すように，生理的食塩水のみを投与した群では異形成毛の出現率は $0.3 \pm 0.6\%$ であり，S HM のみの投与群ではいずれも $0.2 \sim 0.4\%$ を示して，有意差が認められない。

X 線 500 R 照射群では $55.5 \pm 6.6\%$ の出現率を示している。

S HM 及び X 線照射併用群では，100 µg, 200 µg の S HM では有意差が認められないのに対して，300 µg の S HM 投与群では $78.7\% \pm 6.9\%$ を示した。

3. S HM 投与期間及び最終投与時間と照射との関係

Table 2 に示した。S HM を 3 日間 6 回にわたつて投与した群も，6 日間 6 回にわたつて投与した群も，異形成毛の出現率に有意差がみとめられなかつた。

照射直前，2 時間前，4 時間前に S HM を投与した群の間での異形成毛出現率に有意差が認められなかつた。

考 察

成長期毛根部の放射線効果の結果として生ずる異形成毛出現率を指標とした研究は、M.L. Griemら^{8,9)}によつて報告され、Actinomycin D と照射との併用効果をみるのに用いられた。我々はこの方法に準じて実験計画をたてたが異形成毛の判定で、その中に機械的な切断によるものがあることに気付いた。この鑑別は困難を伴うことがあつたが、Fig. 4に示すように十分な注意のもとで顕微鏡観察すれば区別することが可能である。異形成毛出現率は線量に対してかなり一定の値を示していることから、このシステムは有用である。

今回の実験では照射量を便宜上 500 R とした。SHM量は1回投与量として最高 300 μ g としたが、これはkg体重あたり15mgに相当する。腹腔内投与でのマウスのLD₅₀ は25mg/kg体重とされているので、300 μ g 以上を用いることには難点があつた。100~200 μ g では増感効果を示していないが300 μ g 群では明らかに示されている。SHMを6日間に6回分割注射した群と、3日間に6回分割注射した群とを比較したが両者の異形成毛の出現率には有意差が認められず、また、SHMの最終投与時間と照射との関係を追求したが、照射直前から4時間前までについては異形成毛の出現率に有意差が認められなかつた。この結果から、直ちに、照射時のみにSHMが存在すれば効果が発現するのか、あるいはSHMの蓄積を必要とするのかについて推論することはできない。SHMの体内分布や代謝に関してまだ検討されていないので、今後の研究にまたねばならない。

SHMについて現在までに判つていることは軽度の抗癌作用と放射線増感作用である。小松²⁾によれば、SHMはEhrlich 腹水癌に対し *in vivo* で抗癌作用をもち、培養 Hela 細胞に対しても活性をもつ。またSHMはグラム陽性および陰性菌に対して中等度の活性を示している。千谷ら^{3,4)}によれば、E. Coli の培養液中にSHMを加えて照射をおこなつて求めた生存率曲線から増感効果を指摘できる。N₂ 下ではコントロールの D₈₇ は32KRであるのに対し、SHM 1 mMに加えると

14KR となる。O₂ 下では、それぞれ11KR, 7KRとなる。このデータではかなりの増感効果をもっているといえるし、それは無酸素下でより大きい。

島中ら⁵⁾は Ehrlich 腹水癌細胞に対するSHMの放射線増感効果を検討した。担癌マウスに対し0.5mgのSHMを朝夕2回、2日間にわたつて皮下注射をおこない、2000Rの全身X線照射後移植した。移植されたマウスの生存率はコントロールが0であるのに対し、SHM群では60日で15/25であつた。

SHMの放射線増感効果については以上の2つの発表がみられるのみである。SHMの化学構造はN-Ethyl-Maleimide (NEM)⁶⁾と似ている。NEMはその作用機序がまだ十分に明らかではないが、*in vitro*¹²⁾ 及び *in vivo*¹¹⁾ で放射線増感作用を示している。無酸素下の方が増感作用が強いとする報告¹³⁾や、酸素下でも特に有意差がないとする報告がある。千谷ら⁷⁾はNEMとSHMとの比較検討をおこなつた。E. Coli を用いたときAlkylating agent による致死効果に対して同様の増感効果を示した。またthiol 存在下ではSHMの量が減少すること¹⁰⁾を指摘しており、SH基に対するNEMの作用と共通した面を指摘している。しかしいずれも今後の研究にまたねばならない範囲が多い。

結 語

1. 成長期の毛根の放射線効果の結果として生ずる異形成毛の出現率を指標として、SHMの放射線増強効果を検討した。

2. マウスに1回300 μ g のSHMを6回投与することにより、異形成毛の出現率は約50%増加した。

3. SHMの最終投与時間を照射直前、2時間、4時間としたが、異形成毛の出現率は変らなかつた。

4. SHMの作用機序はNEMに類似している報告と、我々の実験結果から、放射線増感物質として興味を抱かせる。

(この論文の概要は第33回日本医学放射線学会総会

で報告した、シヨウドマイシンは塩野義研究所より提供されたものである。)

References

- 1) Nakagawa, Y., Kano, H., Tsukada, Y. and Koyama, H.: *Tetrahyron Letters*, 42 (1967) 4105.
- 2) 小松良英: デオキシヌクレオチド生成の阻害, *化学と生物*, 8 (1970), 276—277.
- 3) Titani, Y. and Katsube, Y.: Radiosensitization of *Escherichia coli* B/r by showdomycin, *Biochimica et Biophysica acta.* 192 (1969), 367—369.
- 4) Titani, Y.: Effect of chemical modification on radiosensitization of *E. Coli* B/r by showdomycin, *J. Antibiotics XXIV.* (1971), 572—573.
- 5) 轟中 坦: 抗生物質 Showdomycin が腫瘍細胞の放射線感受性を増強する作用について, 第30回日本癌学会総会発表 (昭46. 10).
- 6) Ward, J.F., Johansen, I. and Aasen, J.: Radiosensitization by N-ethylmaleimide—a model chemical system. *Int. J. Radiat. Biol.* 15 (1969), 163—170.
- 7) Titani, Y. and Katsube, Y.: Enhancement of the lethal effect of 2,2-Dichlorodiethylamine on *Escherichia coli* by Thiol-binding agents: *Biochimica et Biophysica acta* 208 (1970), 310—316.
- 8) Griem, M.L., Malkinson, F.D. and Morse, P.H.: Modification of radiation responses of tissue by Colchicine, *Radiology.* 77 (1961) 486—492.
- 9) Griem, M.L. and Ranninger, K.: Modification of the radiation effect on hair roots of the mouse by Actinomycin, *Rad. Res.* 17 (1962), 92—100.
- 10) Watanabe, S.: Equimolecular reactions of Showdomycin with thiols, *J. Antibiotics.* 23 (1970), 313—314.
- 11) Moroson, H. and Furlan, M.: Can N-ethylmaleimide preferentially radiosensitize hypoxic tumor cells in vivo?, *Int. J. Radiat. Biol.* 13 (1968), 585—589.
- 12) Chapman, J.D., Reuvers, A.P., Borsa, J. and Greenstock, C.L.: Chemical radioprotection and radiosensitization of mammalian cells growing in vitro, *Rad. Res.* 56 (1973), 291—306.
- 13) Lynch, J.P. and Howard-Flanders, P.: Effect of pretreatment with nitric oxide and N-ethylmaleimide on the level of sulfhydryl compounds in bacteria and on their sensitivity to X-irradiation under anoxia, *Nature* 194 (1962), 1247—1249.