



Title	放射線による膀胱障害への化学的防護剤の応用に関する基礎的研究
Author(s)	伊藤, よし子
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1971, 31(2), p. 143-151
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/20770
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

放射線による膀胱障害への化学的防 護剤の応用に関する基礎的研究

東京女子医科大学放射線医学教室（主任：田崎英生教授）

伊 藤 よ し 子

（昭和46年2月3日受付）

Experimental Study of the Effect of Chemical Protective Agent to the
Postirradiation Bladder Damage

Yoshiko Ito

Department of Radiology, Tokyo Women's Medical College

Animal experiment was performed to evaluate the effect of radiation protection by the administration of chemical protective agent, 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) in the case of bladder damage following the radiotherapy of carcinoma of the cervix uteri.

Female mice were used as an experimental animal. The shield was made to cover the entire body by 4 mm thickness lead which had a round hole of 1.5 cm diameter. The bladder irradiation was made through this hole.

The occult blood in urine was present following the irradiation to the bladder. The amount of the blood present in the urine was dependent upon the irradiation dose.

The mice were divided into two groups: protected group which received intraperitoneal administration of 5-HTP and control group. There was no difference in the urina between two groups after irradiation of 1000 rads to the bladder. However, with the dose 2000 rads, the amount of the blood in the urine was markedly decreased in the protected group. It is concluded from the experiment that the bladder damage is less following the intraperitoneal administration of 5-HTP.

This is true with intravesical administration of 5-HTP.

緒 言

子宮頸癌の放射線治療に際し、放射線膀胱障害の発生は、解剖学的要因により、不可避なものである。

膀胱障害については、すでに、田崎等¹⁴⁾によつて報告したが、この膀胱障害について、化学的放射線防護剤の使用により、早期膀胱障害を防護し、ひいては、晚期膀胱障害をも予防しうるのではないかという観点のもとに、動物実験を行なつた。

化学的放射線防護剤に関しては、すでに多く

の研究がなされているが⁹⁾、本研究では、生体アミンの1つであるセロトニン 5-Hydroxytryptamin (5-HT) の前駆物質である 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) をとりあげた。

5-HTPについては、Thompson¹⁵⁾、Langendorff¹⁷⁾等によれば、防護効果はわずかであると報告されているが、中村¹⁰⁾により、「5-HTP が、5-HT の直接投与より有効な場合がある」と報告されており、小林²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾の実験により、ハツカネズミの全身照射による LD₅₀₍₅₀₎ は、約 700R であり、5-HTP の全身投与により、0.2mg/g 投与で 1,100

R, 0.4mg/g投与で1,170Rである事から、かなり有効な防護作用があるとされた。

また、Ritzen等¹⁴⁾は、¹⁴C-5-HTPの全身投与による全身ラジオオートグラムで、注射後20分で膀胱に放射能を認めたと報告している。

前述の結果より、膀胱部を局所照射し、局所障害の程度を半定量的に測定し、さらに、5-HTPの全身投与と局所投与による防護効果をそれぞれ検討した。

(I) 実験方法ならびに予備実験

ハツカネズミの膀胱部のX線照射による放射線膀胱早期障害が、化学的放射線防護剤5-Hydroxytryptophan(5-HTP)の全身ならびに局所投与により、X線照射による膀胱障害を防護しうるか否かを検討した。

1. 実験動物

生後8週令のddN系雄ハツカネズミ(体重20~30g)を用いた。

照射1週間前よりメタボリック・ク・ケージ(Fig. 1)を用い、恒温下で飼育し、ヘモグロビンを含まない特製固型飼料と純水を自由にとらせた。

2. 実験動物の麻酔

麻酔条件として、速効性で、しかも、一定時間

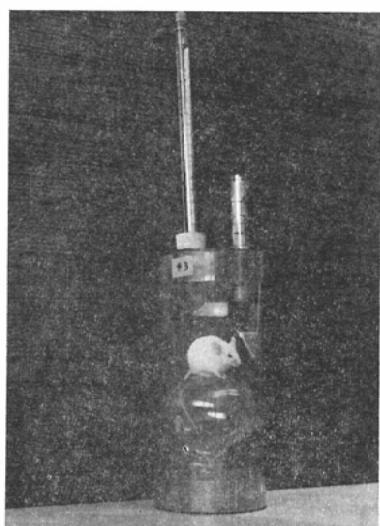


Fig. 1. Mouse metabolism cage; urine is collected into a small beaker free from the contamination feces or chow flakes.

以上の麻酔効果の得られるものが要求されるところから、生理食塩水4倍稀釀ネンプタール溶液0.08~0.1mlの腹腔内注入を行なつた。

3. 膀胱障害の判定

放射線による膀胱早期障害を経時にとらえる必要性から、尿潜血反応を指標として用いた。潜血反応には、オルトリジン法を採用し、Fig. 2の判定の如く半定量的に行なつた。

Ortho-tridine color reaction	○	●	○	●	●	●
Judgement	—	±	+	++	++	++
Evaluation (arbitrary point)	0	1	2	3	4	5
Hb content (γ/ml.)	3	5~21	42	83		

Fig. 2. Evaluation of the occult blood reaction in urine.

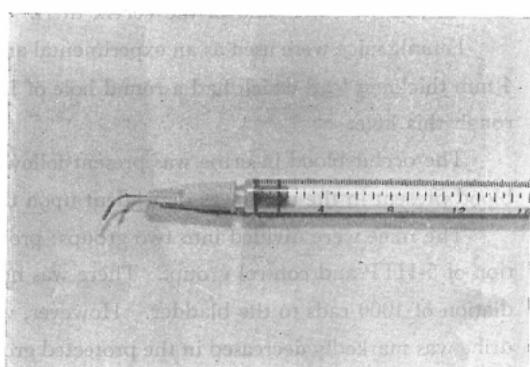


Fig. 3. A catheter for mice.

検査法は、凹ガラスに4%オルトリジン・エタノール溶液4滴と、3%過酸化水素2滴を混和、これに尿を採取した1cm²の濾紙片を入れ、1分間後判定した。

4. 尿採取法と膀胱部位の決定

尿潜血反応をみるために糞等で汚染されない尿の採取が必要である。

このために、27ゲージの注射針を用いて、カテーテル(Fig. 3)を作製した。

このカテーテルを用いて、導尿を試みたが、尿道損傷の危険が大であるため、導尿法は断念した。

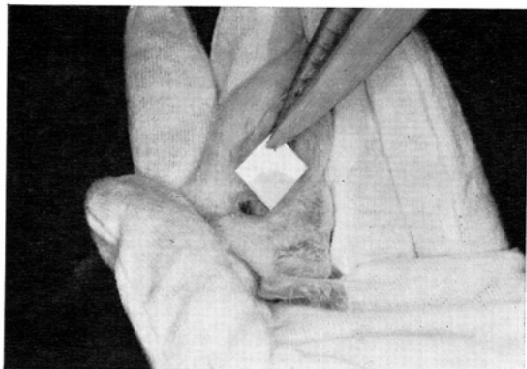


Fig. 4. Sampling method for urine; a sheet of filterpaper (1×1 cm) was applied to metatus urinarius to bleed a few drops of urine (forced out by a slight preeme on the bladder portion)



Fig. 5. Cystogram of mice

そこで、尿道口周囲を清拭し、膀胱部を圧迫して、出した尿を濾紙片に採取した (Fig. 4)。

次に、膀胱部照射のために必要となる膀胱部位の決定を行なつた。

前述のカテーテルを用い、ネンプタール麻酔下に、造影剤 $0.05\sim 0.1$ ml を膀胱腔内に注入し、外尿道口にクリップをほどこして撮影した (Fig. 5)。

5. 膀胱部の照射領域

膀胱撮影の結果から、膀胱直径が 1.0 cm以下であることが判明し、照射野として直径 1.5 cmの円窓を有する 4 mmの鉛板を使用し、膀胱以外の部分を遮蔽した (Fig. 6)。

6. 照射装置ならびに照射条件

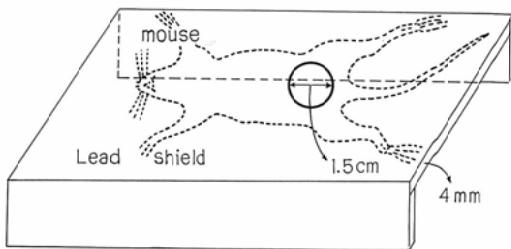


Fig. 6. Illustration of shilding for mouse u.b.l.i. Illustration of mouse urinary bladder local irradiation radiation field was 1.5cm dia.

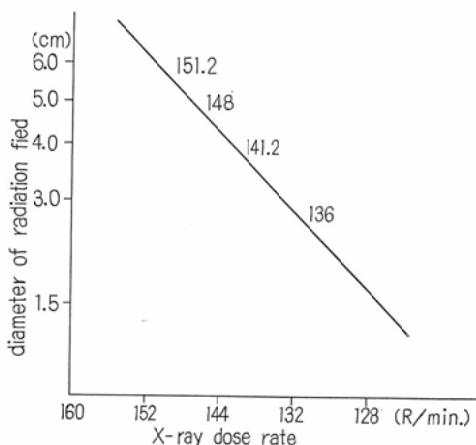


Fig. 7. Determination the dose rate at the radiation field of 1.5 cm dia by extrapolation

200kV X線深部治療装置を用いた。

照射条件は、 180 kV, 20 mA, フィルター 0.7 mmCu+ 0.5 mmAl, 焦点膀胱間距離 30 cmであり、半価層 0.7 mmCu であつた。

7. 膀胱部の吸収線量の決定

直径 1.5 cmの照射野における線量の実測は不可能であるため、直径 3.0 , 4.0 , 5.0 , 6.0 cmの照射野を有する 4 mm厚鉛 Protector を作製し、この照射野における線量を実測し、外挿によつて、直径 1.5 cmの照射野における線量を得た (Fig. 7)。

前述の照射条件による直径 1.5 cmの照射での線量率は、 124 rads/min であつた。

なお、 4 mm厚鉛板遮蔽部での線量は、 0.38 rads/min であつた。

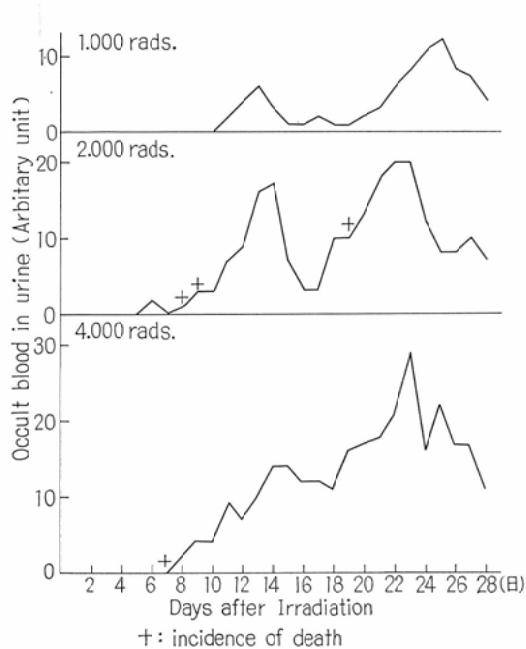


Fig. 8. Changes in urinary occult blood after local irradiation of urinary bladder in mice

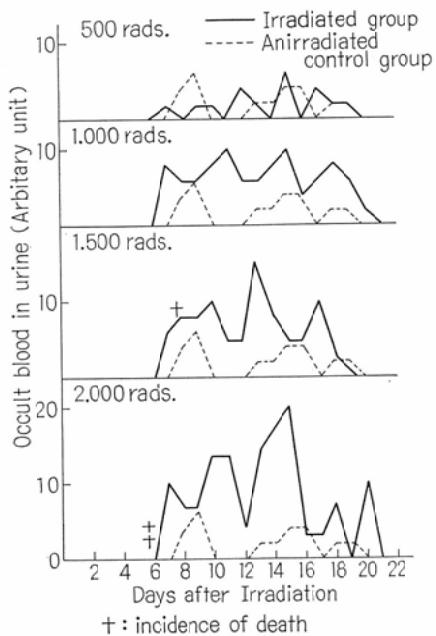


Fig. 9. Changes in urinary occult blood after local irradiation of urinary bladder in mice

8. 照射による膀胱障害と線量との関係

ハツカネズミ 15匹を 3群に分け、1,000rads, 2,000rads, 4,000rads をそれぞれ照射し、照射翌日より尿潜血反応を観察した。

この結果、Fig. 8 の如く、尿潜血反応の陽転は明らかであるが、実験中の死亡例が多いため線量を下げ、0, 500, 1,000, 1,500, 2,000rads の照射を、おのおの 5匹に行ない、同様に潜血反応を行なつた (Fig. 9)。

以上の実験により、膀胱部のX線照射による尿潜血反応の陽転が確認され、その程度は、線量に依存する事が明らかである。

この実験中、死亡したハツカネズミの剖検所見で、腸出血の多いことから、腸と膀胱との関係、また、照射時、体位の変換やX線入射角度の変更により、照射野から、腸を除外し得るか否かを検討するため、腸造影および膀胱造影を行なつた。

造影剤を胃内に注入し、透視により、腸への移行を観察したところ、15~40分で完全に小腸への移行を認めた。

さらに、膀胱へ造影剤を注入し、ハツカネズミの体位を、骨盤高位に、45度、90度、180度に変え、また、X線入射角を45度にし、X線撮影を行なつた (Fig. 10)。

この結果、腸と膀胱の重なりが確認されたが、体位の変換、X線入射角の変更によって、膀胱と腸との重なりに差を認めなかつた。

(II) 本実験とその成績

1. 5-HTP の全身投与による膀胱障害の防護効果

以上の予備実験の結果、X線照射による膀胱障害の発生が確認され、その程度は、線量に依存することが判明したが、実験中、動物の死亡が少なく、かつ、膀胱障害の著明に表われる線量として、1,000rads を照射線量とした。5-HTP の投与法は、小林等⁹⁾の報告により、照射10分前に、0.4mg/g 体重を腹腔内に投与した。

ハツカネズミ 30匹を10匹ずつ 3群に分けた。

第1群：非防護群：1,000rads 照射

第2群：防護群：5-HTP 投与後 1,000rads 照

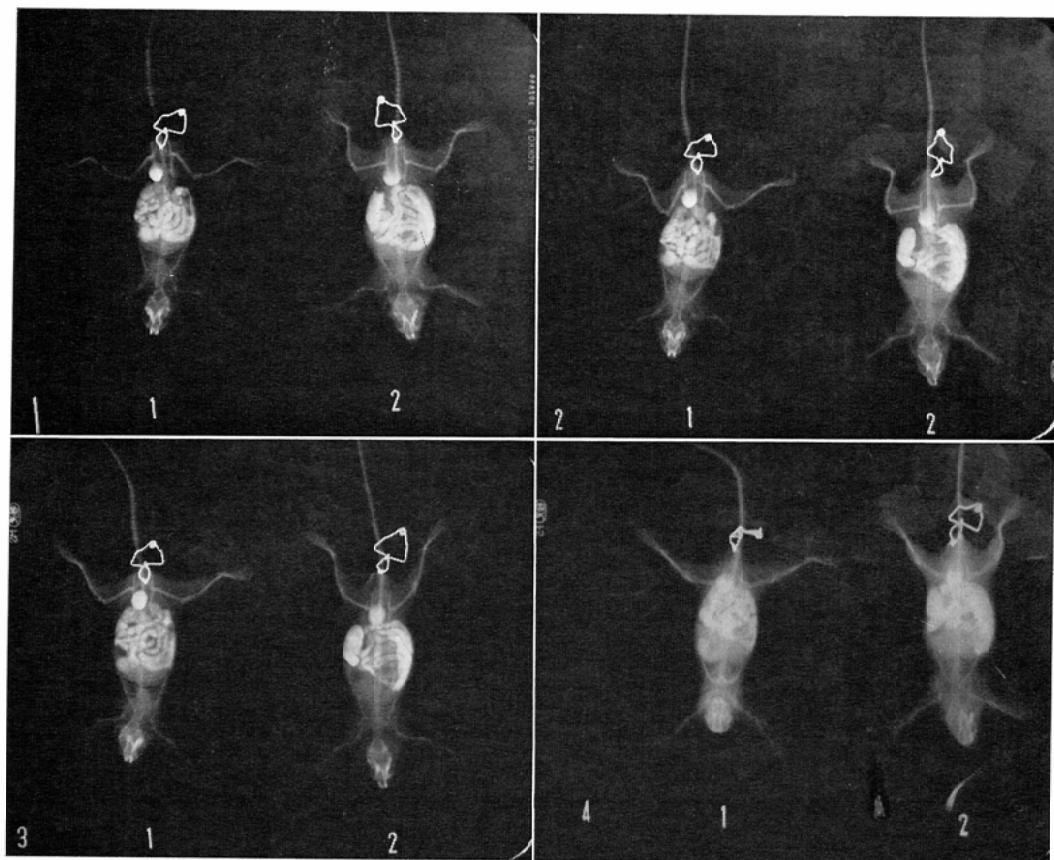


Fig. 10. Cystogram of mice with reference to the relative geometry of urinary bladder and intestine

1. Supine position with the head lowered 45 degree (Trendelenburg position)
2. Supine position with head lowered 90 degree (Vertical position with the head down)
3. Supine position
4. Incident beam angle 45 degree

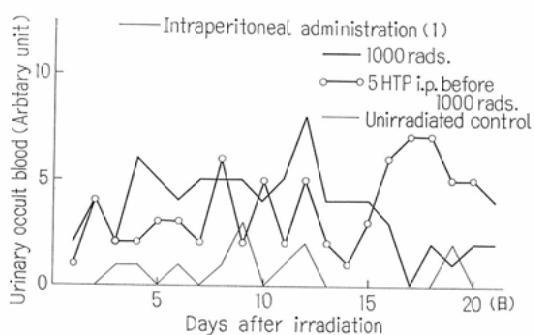


Fig. 11. Effect of 5-HTP induced after local irradiation urinary bladder portion on the changes in urinary occult blood in mice

射

第3群：非照射対照群

照射後21日間尿潜血反応を観察したところ、Fig. 11の結果を得た。

この実験からは、非防護群と防護群との間に著明な差は認められなかつた。

1,000rads 照射により、5-HTP の防護効果が明白でなかつたため、照射群と非照射群との間の尿潜血反応陽転度の差がさらに大きい 2,000rads を照射線量とし、同様の実験を行なつた。

第1群：非防護群：2,000rdas 照射

第2群：防護群：5-HTP 投与後 2,000rads 照射

第3群：非照射対照群

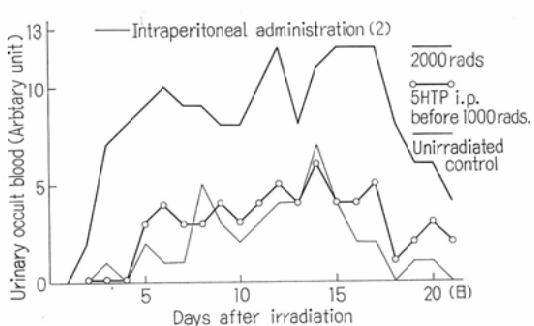


Fig. 12. Effect of 5-HTP induced after local irradiation urinary bladder portion on the changes urinary occult blood in mice

照射後21日間の観察により、Fig. 12の如く、照射後4日目より、防護群と非防護群との尿潜血量の差は、きわめて明瞭であり、防護群の尿潜血量は著明に低下した。

この結果の経時的推移を、推計学的に検定すると、Table 1に示す如く、防護群と非防護群の間では、第1週と第3週の週間潜血量は、5%の危険率で有意の差を認め、第2週の潜血量に関しては、有意の差は認められなかった。

さらに、防護群と非照射対照群の尿潜血量を比較すると、各週共に有意の差はなかった。すなわち、5-HTPが、照射による膀胱出血を著明に軽減していることが確認された。

一方、尿潜血量の経時的推移について、正確を期すため、各群の反応を、潜血量と時間よりなる

ベクトル量として処理すると、週間潜血量で有意差の認められなかつた防護群と非照射対照群との間にも、危険率1%で差が認められた。

すなわち、5-HTPの放射線防護作用によつて、週間潜血量は、防護群と非照射対照群との差がない程度に減少したが、潜血量の経時的推移には、両者の間に異質なものがあることが判明した。

また、防護群と非防護群の潜血量の経時的推移では、より顕著な差のあることが判明した。

2. 分割照射による膀胱障害と線量との関係

放射線による実験動物の致死的障害の増加することなく、かつ、膀胱の反応をさらに増大するため、分割照射による照射線量の増加をはかつた。

すなわち、1,000radsおよび、1,500radsを1週間毎に照射し、尿潜血反応を観察した。

ハツカネズミ30匹を5匹ずつ6群に分け、それぞれを、1,000rads 1回照射、1,000rads 2回照射、1,000rads 3回照射、1,500rads 1回照射、1,500rads 2回照射、1,500rads 3回照射の各群とした。

この結果、Fig. 13の如く、1,500rads 3回照射群の尿潜血反応陽転度が最も著明であつたが、死亡例の増加がみられた。

3. 5-HTPの局所使用による膀胱障害の防護効果

5-HTPの全身投与により、放射線膀胱障害が顕著に防護されることが確認されたが、5-HTP

Table 1. Statistical examination of the change in urinary occult blood

Test period	Groups	A Unirradiated control	B Irradiated+5-HTP	C Irradiated control	Significant level
Weekly total of occult blood value	1 st week		A ≈ B ≪ C		5 %
	2 nd week		A ≈ B ≈ C		5 %
	3 rd week		A ≈ B < C		5 %
Transitional changes by mean of vector			A < B ≪ C		1 %

- 1) There is significant difference between A and B for any week with regards to weekly total value of urinary occult blood. Significant differences at 5% significant level is seen between B and C at 1st and 3rd week while no significance at 2nd week
- 2) There is a significant difference at 1% significant level among A, B and C in terms of transitional changes expressed by vector transformation. (Time and occult blood value)

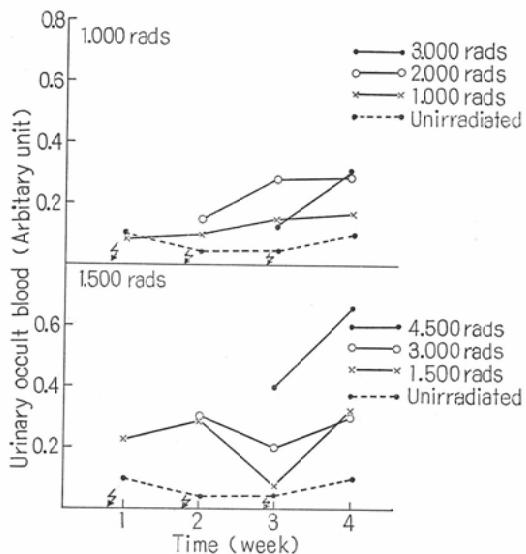


Fig. 13. Changes in urinary occult blood after fractionated local irradiation of urinary bladder portion in mice

の薬理作用による全身的反応、および、正常組織の放射線防護と同時に、腫瘍組織への放射線防護の可能性が考慮されるため、5-HTP の膀胱腔内注入により、尿潜血反応陽転度が修飾されるか否かを検討した。

前実験より、膀胱出血が著明であり、しかも、死亡例の比較的少ない 1,500 rads 2 回分割照射を選んだ。

5-HTP は、 10^{-2} モル濃度と 10^{-3} モル濃度を用い、第 2 回照射 10 分前に膀胱注入を行なつた。

ハツカネズミ 48 匹を 1 群 8 匹ずつ 6 群に分けた。

第 1 群： 10^{-2} モル濃度 5-HTP 注入照射群

第 2 群： 10^{-3} モル濃度 5-HTP 注入照射群

第 3 群：生理食塩水注入照射群

第 4 群： 10^{-2} モル濃度 5-HTP 注入非照射群

第 5 群： 10^{-3} モル濃度 5-HTP 注入非照射群

第 6 群：生理食塩水注入非照射群

照射後、尿潜血反応観察の結果は、Fig. 14 の如く、生理食塩水注入群に比し、5-HTP 注入群に、尿潜血反応陽転度の低下が認められた。しかしながら、照射群と非照射群の間に著明な差のみられ

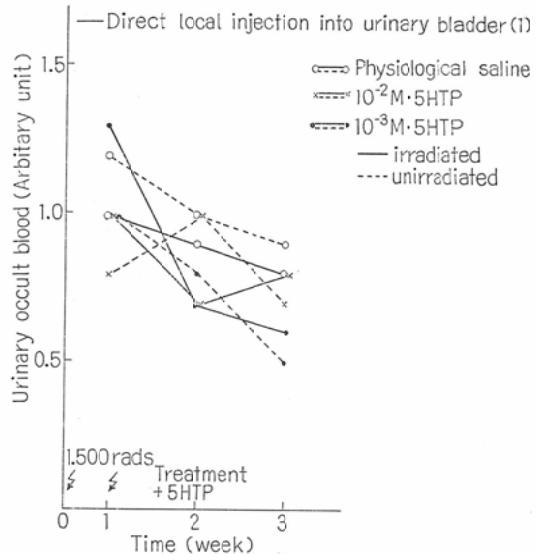


Fig. 14. Effect of 5-HTP induced after local irradiation urinary bladder portion on the changes urinary occult blood in mice

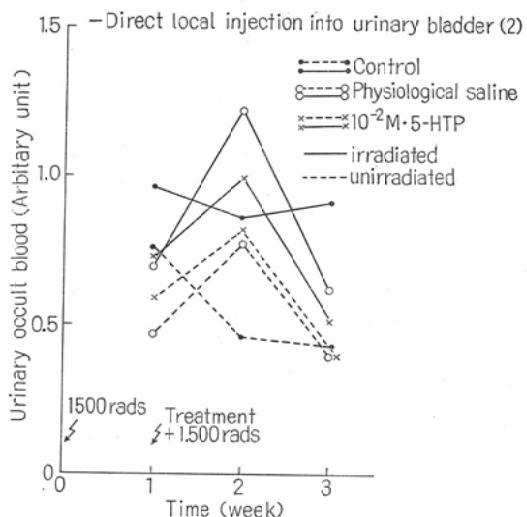


Fig. 15. Effect of 5-HTP induced after local irradiation urinary bladder portion on the changes urinary occult blood in mice

ないことから、5-HTP、および、生理食塩水注入操作による影響が考えられ、再度、検討した。

1 群 10 匹、計 60 匹について、前回と同様の実験を行なつた。

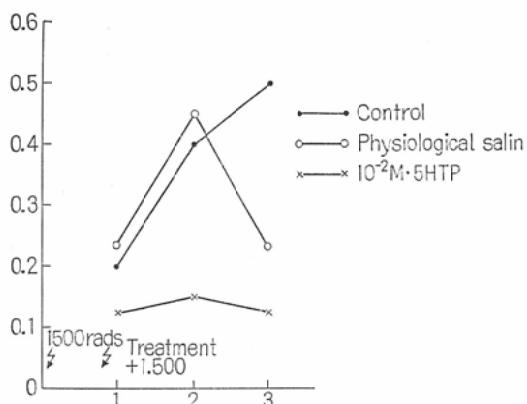


Fig. 16. Protective effect of 5-HTP against the increase in the urinary occult blood after fractionated local irradiation

5-HTP・2.2mg/1ml was introduced directly into the urinary bladder 10min before the 2nd exposure to 1,500R, Total dose: 3,000R (1,500×2)

第1群：防護群： 10^{-2} モル濃度 5-HTP 注入

第2群：非防護群：生理食塩水注入

第3群：非防護対照群：膀胱注入なし

各群にそれぞれ照射群と非照射群を設け、6群とした。

この結果は、Fig.15に示したが、防護群と非防護群では、非防護対照群に比べ、注入操作による影響が考慮されたため、それぞれ、照射群より、非照射群の潜血量を差し引き、注入による影響を除外した。

この結果、防護群、非防護群、非防護対照群を比較すると、Fig.16の如く、防護群に尿潜血反応陽転度の著明な低下が認められた。

さらに、尿潜血量の経時的推移について、推計学的検定により、防護群、非防護群、非防護対照群の間の潜血量には、有意の差が認められなかつたが、防護群の尿潜血量は、他の2群に比して、減少の傾向があつた。

すなわち、5-HTP 膀胱腔内注入により、放射線膀胱早期障害は、防護しうる傾向のあることが判明した。

考 案

本研究における化学的放射線防護剤の選択では、防護作用が顕著であるといわれる5-HT, Am-

inoethylisothiuronium (AET), 等を考慮したが、副作用が少なく、時間効果の大きい、5-HTPを採用した (5-HTP と5-HTとの比較については、小林等⁶⁾の報告を参照にされたい)。

Streffer¹³⁾は、「5-HTP 自体が放射線防護を生ずるのではなく、効果を発揮するためには、脱炭酸して、5-HT に変らなければならない。」と述べており、また、Langendroff 等⁸⁾は、5-HTP の防護効果は、肝臓の decarboxylase 活性と関係していると報告しているが、膀胱腔内への局所投与による防護効果は、前述の小林等の報告による抗酸化活性によるところが大であると推定される。

ハツカネズミの膀胱部への局所照射に関して、照射野を縮少して、膀胱だけを照射することは技術的に困難であり、他の臓器の障害をさけるため、1回大量照射は不可能であつた。したがつて、膀胱障害を明瞭にする線量を照射するために、分割照射法を採用した。

膀胱障害の判定では、尿の性状、または、膀胱組織の検索等が考えられたが、同一個体で、長期間の経時的観察が望ましく、尿潜血反応を用いたこととした。

尿潜血反応を行なうに際し、尿の採取法が第1に問題となつた。

導尿法を行なうべく、カテーテルを作製したが、尿道および膀胱損傷の危険が大であり、導尿法は断念し、膀胱部圧迫による採取法を行なつた。

しかし、この方法によつても、膀胱圧迫による粘膜への影響は避けられないものと考えられる。

尿潜血検査法では、尿中血液量は、極く微量であることが予想され、オルトトリジン法を採用したが、検査に際しては、Fe イオンの存在に細心の注意を必要とし、このために検査器具は全て蒸留水で洗浄し、塩化ビニール製ピンセットを使用したが、完全に Fe イオンフリーの状態にし得たかどうかは疑問がある。また、潜血反応の判定には、比色法を用いたため、全実験を通して、一定条件下での判定は不可能であつた。

5-HTP の腹腔内投与では、一過性の下痢が認められた。

5-HTP 全身投与法の最大の問題点は、正常組織の防護作用と同時に、腫瘍組織に対する防護作用のあることであるが、Tolkacheva 等¹⁶⁾は、AET, 5-HT, Mexamine, Diethyl-stibestrol の投与による正常組織と腫瘍組織の防護作用を検討し、放射線治療時の防護剤の使用は、かなり有効であると報告しており、中村等¹¹⁾も、5-HTP の全身投与での腫瘍への治療効果の阻止はみられないと述べている。

したがつて、全身投与による 5-HTP の副作用の問題が解明されるならば、放射線治療時の防護剤の全身投与による利用も考慮し得るものと思われる。

防護剤の局所使用に関しては、すでに Cystamine の直腸粘膜に対する防護効果の研究が、藤本¹³⁾によつて報告され、有効な結果が得られている。

膀胱腔内への防護剤の投与では、注入時の尿道損傷、あるいは、感染等の危険があり、また、尿による薬液の稀釈で、有効濃度の保たれない点が問題となるが、全身的副作用がなく、腫瘍組織への防護作用の考慮を必要としない点で有利である。

本研究は、モデル実験であり、5-HTP の薬理作用、発癌性等、解明すべき点が多く、臨床例への使用は、まだ充分な検討が必要であると思われる。

結論

放射線照射によるハツカネズミの膀胱の早期障害が、5-HTP の全身、または、局所使用により防護し得るか否かについて実験した。

1. 膀胱部のX線照射により、尿潜血反応陽転がみられ、その程度は、線量に依存した。

2. 膀胱部へ 1,000rads 照射時の 5-HTP 腹腔

内投与では、非防護群と防護群との間に明瞭な差をみるとできなかつた。

3. 膀胱部へ 2,000rads 照射時の 5-HTP 腹腔内投与では、尿潜血量は、非防護群に比し著明に低下した。

すなわち、5-HTP による膀胱への防護作用が明瞭であつた。

4. 5-HTP の膀胱腔内投与実験でも、あきらかな尿潜血反応低下がみられ、膀胱早期障害を防護し得る傾向が認められた。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜わつた田崎瑛生教授、産婦人科川上博教授に深甚なる謝意を表するとともに、始終、直接御指導を賜わつた放医研障害基礎研究部中村弥博士に深謝し、本研究に御協力いただいた放医研障害基礎研究部各位、ならびに、放射線医学教室、産婦人科教室員各位に感謝する。

参考文献

- 1) 藤本竜郎：福岡医学雑誌，56 (1965). 932.
- 2) 小林定喜：放医研ニュース，9 (1966). 1.
- 3) 小林定喜：医学のあゆみ，59 (1966). 8.
- 4) Kobayashi, S. et al.: Int. J. Rad. Biol. 11 (1966) 505.
- 5) 小林定喜他：放射線生物研究，2 (1967). 16.
- 6) 小林定喜他：放射線生物研究，14 (1969). 42.
- 7) Langendroff, H. et al.: Strahlentherapie 110 (1959), 505.
- 8) Langendroff, H. et al.: Strahlentherapie 135, (1966), 452.
- 9) モズジュヒン、ラチンスキー共著：放射線障害の化学的防御法、産業図書 (1967).
- 10) 中村 弥：放医研ニュース，7 (1964). 1.
- 11) 中村 弥：第12回放射線影響学会講演。
- 12) Rlzen, M. et al.: Biochem. Pharmacol. 14 (1965), 313.
- 13) Streffler, C.: 放医研ニュース，11 (1962).
- 14) 田崎瑛生他：臨泌尿器，22 (1968). 240.
- 15) Thompson, J.F.: Radiation Protection in Mammals (N.Y. Reinhold) 124, (1962)
- 16) Tolkacheva, E.N. et al.: Acta. Um. Int. Cancer 20 (1964) 1225.