

第 3 編

放射線照射ラット各臓器の脂質過酸化物形成能に及ぼす 放射線防護物質投与 (*in vivo*) の影響について

岡山大学医学部放射線医学教室 (主任: 山本道夫教授)

渡 辺 節 生

[昭和48年3月30日受稿]

緒 言

著者は、第1¹⁾、第2編²⁾において、放射線照射にもなって脂質過酸化能が促進し、しかも肝臓においては、脂質過酸化反応と照射線量とのあいだにかなりの相関性を有しており、それらの基質として高級不飽和脂肪酸、特にアラキドン酸が関与していることを述べた。生体内の脂質過酸化反応は、主として生体膜を構成するリン脂質中にみられ³⁾、特に細胞内のミクロゾームにおいては電子伝達反応と共役したり⁴⁾、膜内外の Fe^{2+} 、 Co^{2+} 等の金属イオンにより触媒され誘起されると考えられており⁵⁾、脂質過酸化能が放射線全身照射により上昇し、その結果形成された脂質過酸化物が細胞毒として作用するために細胞破壊をもたらすと推定されている⁶⁾。

一方、放射線の化学的防護剤については、Sを含む化合物、ホルモンや活性アミンなどの生理作用を有する物質、代謝物質等に関して、多くの報告がみられ⁷⁾、これらの一部では臨床的に応用されているものもある。しかしその作用機序については多くの議論がある。

特に生体内に存在するSH基物質は、生体反応に密接な関係を有し、細胞の放射線感受性に重要な物質であることが示されている⁸⁾。

一般に放射線防護物質の多くのは、脂質の自動酸化を阻害するといわれているが、放射線照射により生ずる臓器の脂質過酸化反応の促進が、照射直前に投与された放射線防護物質によりいかなる影響

をうけるかについて検討を試みた。

材料および実験方法

- (1) 実験動物: 第1編¹⁾におけると同様ウイスター系健康雄性ラットを使用した。
- (2) 放射線照射方法: 第1編¹⁾に準じ650R全身照射後、絶食群は臓器摘出時まで水のみ与えた。
- (3) 放射線防護物の投与方法及び投与量: タチオン(山之内製薬)は50mg、100mg、200mgをそれぞれ添付の溶解液(蒸留水)1mlにとかし、セファランチン(化研生薬)は5mgあて、ラット尾静脈より注入し、X線照射群においては直後X線照射を行った。

Table. 1 Amount of lipid isolated from liver tissue homogenates of rats injected various amounts of tathione.

control	25.7mg/g tissue eq.
X-irrad.	28.3mg/g tissue eq.
X-irrad. and tathione 50mg	25.9mg/g tissue eq.
X-irrad. and tathione 100mg	25.6mg/g tissue eq.
X-irrad. and tathione 200mg	26.8mg/g tissue eq.

Figs.1-4

Effect of injected tathione on the lipid peroxidation of rat tissue homogenates 48 hours after whole-body irradiation and fasting.

Homogenates of livers(Fig.1), spleens(Fig.2), hearts(Fig.3) and/or kidney(Fig.4) prepared from irradiated(A), fasted(B) and/or fasted after irradiation(C) rats were incubated in the presence of Fe^{2+} (Δ) or ascorbate(\times) and in the absence of them(\bullet) for 60 minutes at 37°. TBA values were obtained by measuring the absorbancy at 535m μ .

Fig.1

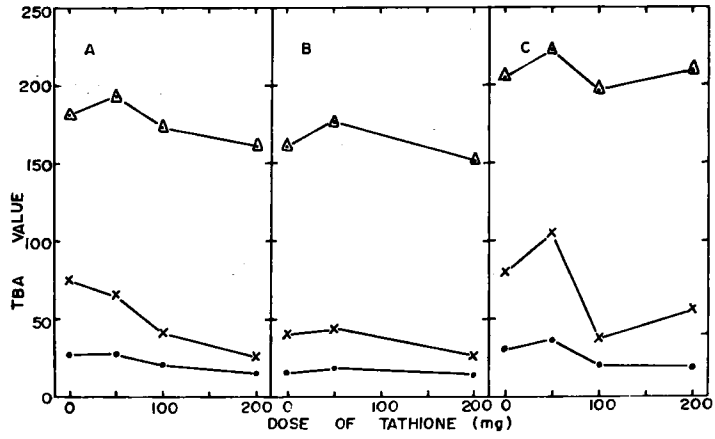


Fig.2

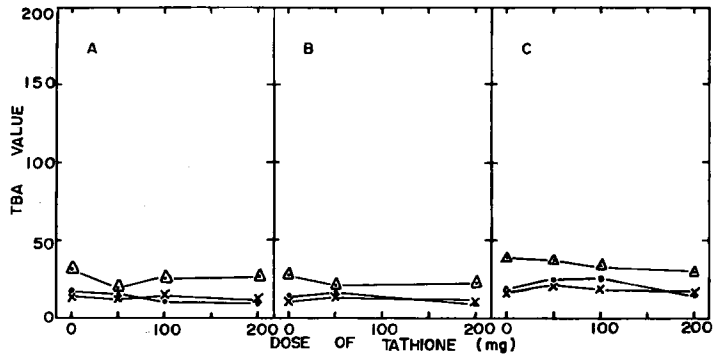


Fig.3

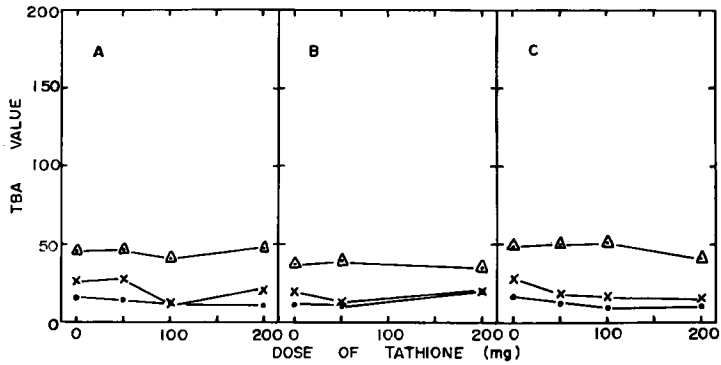


Fig.4

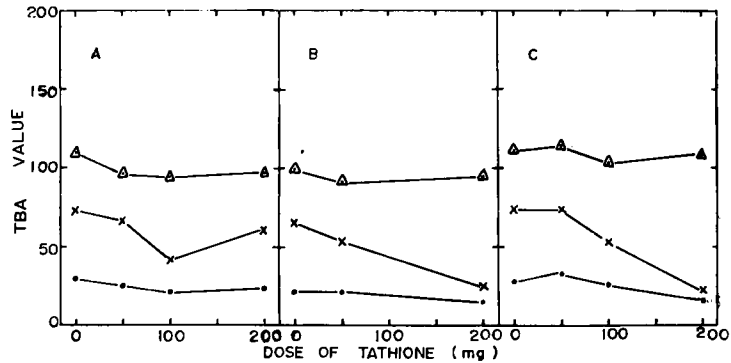


Table. 2 Effect of cepharanthin on the lipid peroxidations of various rat organs.

	Liver			Spleen			Heart			Kidney		
	End.	As.	Fe*	End.	As.	Fe*	End.	As.	Fe*	End.	As.	Fe*
fed group												
control	11.2	22.7	136.2	7.1	7.8	17.1	7.9	15.6	34.6	17.8	48.0	95.7
cepharanthin	18.2	45.0	151.9	4.6	7.6	16.0	8.6	13.3	37.4	26.2	66.6	96.9
X-irrad.	27.4	75.4	181.2	16.6	14.4	31.4	16.1	26.6	45.6	30.2	73.2	109.3
X-irrad. and cepharanthin	19.1	65.1	196.8	13.4	14.0	33.4	17.1	33.1	37.6	25.9	52.0	98.1
fasted group												
control	15.9	40.4	160.5	13.3	12.5	27.5	11.4	19.6	37.1	21.3	64.7	99.0
cepharanthin	16.1	43.9	161.9	12.4	12.9	30.0	10.8	5.4	35.9	29.5	73.8	112.7
X-irrad.	31.1	80.4	205.0	19.0	16.7	38.5	16.7	28.1	48.5	28.2	74.1	110.8
X-irrad. and cepharanthin	34.2	98.6	214.3	12.7	14.9	33.0	17.4	31.1	50.8	22.3	83.7	101.2

Lipid peroxidation was measured by TBA reaction described in the previous paper. Cepharanthin was injected intravenously in tail vein of rat and then the rats were irradiated immediately at 650R, followed the sacrifice at 48 hours after irradiation and fasting.

なおセファランチン10mg投与では投与直後死亡するものもあり、この実験は中止した。

(4) 臓器摘出方法：照射後および絶食48時間目のラットより臓器の摘出は第2編²⁾と同様に行った。

(5) 脂質過酸化反応：第1,¹⁾第2編²⁾に準じ37℃(60分 incubation)で行ない Hunter らの方法で TBA 値を測定した。¹⁾

(6) 脂質量の定量：第2編と同様に dichromate oxidizing method により定量した。²⁾

実験結果

放射線防護剤として臨床的に使用されているタチオン及びセファランチン投与における、X線照射後のTBA値に及ぼす影響を観察し、加えて絶食並びにX線照射後絶食群でも検討した。

(1) タチオン投与によりX線照射群によるTBA値上昇の抑制傾向が、肝及び腎において認められ、アスコルビン酸添加においてはFe*添加群よりはっきりと認められた。しかし脾および心においてはほとんど変化がみられなかった。絶食群の肝、腎においてはわずかにTBA値の低下があるも、照射後絶食群ではFe*添加群に変化がない。しかし肝、腎では絶食群、照射後絶食群においていずれもアスコルビン酸添加においてかなりの抑制効果が認められたが、脾、心では絶食群、照射後絶食群においてはほとんど変化がみられなかった。(図1-4)

(2) 肝g tissue eq.の脂質量に及ぼすタチオンの

影響については、X線照射による若干の脂質量の増加がタチオン投与により、やや減少しているのが認められた。(表1)

(3) セファランチン投与により脂質過酸化反応に及ぼす影響は、いずれの臓器においても認められなかった。(表2)

考 察

悪性腫瘍の放射線治療の遂行を困難にする一因に、放射線障害がある。この障害発生の防止や回復のために、化学的防護剤が考えられ、臨床的に応用されているものもある。しかしこの化学的防護剤の作用機序に関してはなお不明な点が多い。¹⁾一般的には化学的防護の機構としては放射線により電離されて生じた遊離基との反応、即ち遊離基除去、障害分子の修復、などが主として考えられているが、他にも除酸素、S-S結合形成等いろいろな作用機構が考えられており¹⁾生体内にあっては、これらが多かれ少なかれ関与しあって複雑な防護作用を発揮しているものと思われる。1949年 Patt ら²⁾により哺乳動物においては cysteine が放射線障害に対し、化学的防護物質として有効である事が示めされて以後、今日まで放射線化学的防護物質については、Sを含む化合物、ホルモンや活性アミンの様な生理作用を有する物質、代謝物質等に関して多くの報告がみられる。²⁾これらの大部分は、放射線防護効果は認められるが、放射線防護を示す量では毒性の強いものが

多く、実際臨床的に使用されているものは比較的小さい。今日これらの中で臨床的に応用されているグルタチオンの放射線防護効果については、1950年Chapmanら¹⁰⁾の報告以後多くの研究がされており、¹¹⁾ ¹²⁾ ¹³⁾ 教室の川瀬¹⁴⁾もマウスの生存率、体重変化、家兔の末梢血液像に及ぼすグルタチオンの放射線防護効果について実験を行ない、照射直前の静注投与においてその効果を認めている。又実験で使用するセファランチンは、Stephania 属のタマサキツヅラフジから抽出した構造式、 $C_{37}H_{58}N_2O_6$ なるアルカロイドであるが、放射線防護剤としての効果が本邦において検索され有効であったという多くの報告がある。¹⁵⁾ ¹⁶⁾ ¹⁷⁾ ¹⁸⁾ しかしいずれも放射線防護効果が白血球増多作用及び網内系機能亢進作用において有効であるとする報告が大部分で、生化学的な代謝、細胞障害の面からの検討はされていないようである。これらの報告^{15)~18)}からすればセファランチンはグルタチオンの様な放射線障害の予防効果ではなく、むしろ回復剤として効果があると思われる、この回復剤と考えられるセファランチンを照射直前にのみ投与することは、問題があるかも知れないが、逆に脂質過酸化能を指標とした場合、放射線で誘起された脂質過酸化能の抑制がみられなかったことは、すでに報告^{15)~18)}された回復剤としての有効性を示唆することも知れない。本実験において、肝ではタチオンにより放射線誘起の脂質過酸化反応の抑制効果がみられた。腎においても同様の傾向が認められたが、脾、心においてはあまり効果がみられないようである。Elko¹⁹⁾によれば急性放射線障害時には、血清脂質は著しく増加し、この脂質の量と予後は、たがいに相関関係を示すという報告がある。又教室の一連の研究²⁰⁾ ²¹⁾では脂質の質的量的変動が放射線照射によりおこることを報告しているが、グルタチオンの投与により、照射群にみられた肝組織重量当りの脂質量の増加がグルタチオン投与群では観察されなかった。

いづれにしても本実験の結果はX線照射にともなう Fe^{*} 誘起の脂質過酸化反応が著しい臓器ほどタチオンの効果がみられることになる。しかし生体GSHの放射線防護効果については現在なお多くの議論がある。²⁾又 Fe^{*} 誘起の脂質過酸化反応抑制よりも、アスコルビン酸誘起の反応を抑制する効果の方が強いようである。Christophersen²⁴⁾はGSHが *in*

*vitro*でアスコルビン酸誘起の脂質過酸化反応を阻害するとして、生体内で脂質過酸化反応に対する防護にGSHの役割がみとめられるかもしれないことを示唆している。しかし第1編¹⁾に述べた如く、脂質過酸化反応におけるアスコルビン酸の作用機序は明らかでない。²⁵⁾ ²⁶⁾

第2編²⁾で報告した如く、生体膜脂質過酸化反応と放射線との関係について、著者は全身照射にともない各臓器の脂質過酸化能の上昇を認め、しかもそれらが飢餓においてみられる脂質過酸化能の上昇と差異を有することを認めている。X線照射により上昇をみる脂質過酸化物は、酵素の不活性化、特に酸化還元系に關与する生体内のSHを破壊すると考えられている。²⁷⁾ ²⁸⁾ ²⁹⁾放射線感受性は蛋白と結合したGSHの解離によって変化するとも考えられる。³⁰⁾従って脂質と蛋白質よりなる生体膜の脂質過酸化能の上昇が、GSH投与によって抑制されることは、脂質の非酵素的反応における放射線のradical誘起の直接作用よりも、SH基が関係した膜構造の変化による間接作用により、脂質過酸化反応が起こり易い状態になっていることが示唆される。

結 論

放射線防護物質であるタチオン、セファランチンのラット各臓器の脂質過酸化反応におよぼす効果を検討し次の結果をえた。

(1) X線照射による脂質過酸化能の促進は、タチオンの照射前投与によって、またその投与量に準じて抑制がみられた。この効果は特に肝において明らかにみられ、第1編¹⁾第2編²⁾に述べた如く、肝におけるX線照射効果と脂質過酸化反応および脂肪酸構成との相関性から考え合わせて、生体内グルタチオンが脂質過酸化反応と何らかの関係を有するものと考えた。

(2) X線照射動物にみられる肝組織脂質量の増加はタチオン投与群ではみられなかった。

(3) セファランチンでは脂質過酸化反応との関係は得られなかった。

稿を終るに当り御懇切なる御指導、御校閲を頂いた恩師山本道夫教授、田辺正忠助教授、山本剛禧博士、並びに御助言、御指導を頂いた癌研代謝部内海耕造助教授に心からの感謝の意を表します。

文 献

- 1) 渡辺節生, : 岡山医学会雑誌, 印刷中.
- 2) 渡辺節生, : 岡山医学会雑誌, 印刷中.
- 3) Wills, E.D., : *Biochem. J.*, **123**, 983, 1971.
- 4) Wills, E.D., and Wilkinson, A.E., : *Int. J. Rad. Biol.*, **17**, 229, 1970.
- 5) Pederson, T.C., and Aust, S.D., : *Biochem. Biophys. Res. Commu.*, **48**, 789, 1972.
- 6) Barber, A.A., and Bernheim, F., : *Adv. Geront. Res. Vol. II.* Academic Press N. Y. and London, 1967.
- 7) 阿部光幸, : 放射線細胞生物学, 朝倉書店, 東京, p 23, 1968.
- 8) 早石修, 市山新, : *グルタチオン研究の進歩, 診断と治療社, 東京, p 1, 1969.*
- 9) Patt, H.M., Tyree, E.B., Straube, H.L., and Smith, D.E., : *Science*, **110**, 213, 1949.
- 10) Chapman, W.H., Sipe, C.R., Eltzholz, D.C., Cronkite, E.P., and Chambers, F.W., : *Radiology*, **55**, 865, 1950.
- 11) Correa, J.N., and Andrews, J.R., : *Nature*, **203**, 200, 1964.
- 12) 永田弘治, 西田寿男, 菅原努, 田中富蔵, : 日医放会誌, **26**, 975, 1966.
- 13) 安河内浩, 飯野祐, 渡辺哲敏, : 日医放会誌, **27**, 39, 1967.
- 14) 川瀬悦郎, : 岡山医学会雑誌, **79**, 417, 1967.
- 15) 山下久雄, 鈴木慎二, 中山光平, 網島宗一, 渡辺俊光, 浅野泰, : 臨床放射線, **3**, 948, 1958.
- 16) 小笠原紀三九, 横山一彦, 岡崎一郎, 中村淳一, : 新薬と臨床, **7**, 853, 1958.
- 17) 尾関巳一郎, 永島時男, 田崎力, 古賀良信, : 日医放会誌, **19**, 1492, 1959.
- 18) 永嶋時男, : 久留米医学会雑誌, **23**, 5925, 1960.
- 19) Elko, E.E., Wooles, W.R., and Diluzio, N.R., : *Rad. Res.*, **21**, 493, 1964.
- 20) 山本道夫, : 日医放会誌, **23**, 313, 1963.
- 21) Seno, S., and Yamamoto, M., : *Acta Medica Okayama*, **19**, 59, 1965.
- 22) 森野靖雄, : 岡山医学会雑誌, **83**, 537, 1971.
- 23) 森野靖雄, : 岡山医学会雑誌, **83**, 545, 1971.
- 24) Christophersen, B.O., : *Biochem. J.*, **106**, 515, 1968.
- 25) 山本剛禧, 田辺正忠, 若林弘, 橋本郷之助, 山本道夫, : 生化学, **44**, 526, 1972.
- 26) 山本剛禧, 田辺正忠, 若林弘, 橋本郷之助, 山本道夫, : 日本癌学会総会記事, 第31回総会 (名古屋), p 194, 1972.
- 27) Lange, R., and Pihl, A., : *Int. J. Rad. Biol.*, **2**, 301, 1960.
- 28) Deakin, H., Ord, M.G., and Stocken, L.A., : *Biochem. J.*, **89**, 296, 1963.
- 29) Wills, E.D., and Wilkinson, A.E., : *Int. J. Rad. Biol.*, **13**, 45, 1967.
- 30) Modig, H.G., Edgren, M., and Révész, L., : *Int. J. Rad. Biol.*, **22**, 257, 1971.

Effects of Irradiation On Lipid

Peroxidation in Rat Organs.

Part III. Effects of irradiation on lipid peroxide formation and administration of radiation-protective agents (*in vivo*) in rat organs

Setsuo Watanabe

Department of Radiation Medicine, Okayama, University Medical School, Okayama, Japan(Director: Prof. M. Yamamoto)

ABSTRACT

Effects of tathione and cepharanthin, the radiation-protective agents, on the lipid peroxidation in rat organs were studied, and obtained the results as follows.

(1) The acceleration of lipid peroxide formation induced by X-irradiation can be inhibited by the administration of tathione prior to the irradiation and by the dose administered.

Such an inhibitory effect is especially marked in the liver, and as reported in Part I and Part II, in view of correlations among X-irradiation effect, lipid peroxidation and fatty acid composition in the liver, it seems that glutathione *in vivo* is somehow involved in the acceleration of lipid peroxidation.

(2) The increase of lipid content observable in the liver of X-irradiated animal could not be observed in the animals administered with tathione.

(3) Cepharanthin showed not any relation to the lipid peroxidation.