

睪丸重量減少を指標にした 2-Mercaptoethylguanidine

 $1/2 \text{H}_2\text{SO}_4$ (MEG) の放射線防護効果

九州大学医学部放射線科学教室（指導：入江英雄教授）

岡村重昭*, 中村寛, 古賀充
安河内彰, 竹下寿七, 中田肇

（昭和42年6月14日受付）

The Protective Effect of 2-Mercaptoethylguanidine $1/2 \text{H}_2\text{SO}_4$ against X-Ray Injury
—Determination Based on Dose-Testicular Weight Curve of The Mouse—

By

Shigeaki Okamura, Hiroshi Nakamura, Mitsuru Koga, Akira Yasukochi,

Toshikazu Takeshita and Hajime Nakata

Department of Radiology, Faculty of Medicine,

Kyushu University

(Director: Prof. Dr. Hideo Irie)

The protective effect of 2-Mercaptoethylguanidine $1/2 \text{H}_2\text{SO}_4$ against X-ray injury was studied from the weight loss in CF #1 male mouse testes.

As Kohn and the others state that weight loss in the mouse testes results from the sum of the losses in two independently reacting populations, the weight loss was studied respectively in the group irradiated under 190 rad and in the group irradiated over 190 rad.

MEG has an excellently protective action against the lethal effect of irradiation, but it is not likely to protect against weight loss in the mouse testes.

緒言

戦後の急速な核エネルギー利用の拡大にともない、放射線障害の発生を防護するため各種放射線防護剤の研究がさかんに行なわれている。しかしながら今日迄に開発された防護剤の多くについては、或いはその防護効果が低いためか、或いはその毒性が強いためか、その実験的応用も多くは急性致死作用防護の探究にとどまっている。

2-Mercaptoethylguanidine (MEG) は S-2-Aminoethylisothiuronium (AET) の誘導体として、放射線の急性致死作用を指標にしたとき、その防護作用のあることについては知られているところ

であるが¹⁾、未だ睪丸重量減少を指標にした研究は見当らないようである。

放射線障害防護の主目的の一つである生殖腺の障害の防護が可能であるか否かということの目安の一つとして、睪丸重量の減少を防ぎうるか否かを知ることは重要なことであろうと考え、マウス睪丸の重量を指標にして MEG の防護効果を検討してみた。

研究方法

雄性マウスの局所（下腹部以下）のみを照射し、睪丸重量の減少に MEG が効あるか否かを検討した。

* 現所属 九州大学医学部放射線基礎医学教室

実験動物

CF#1 マウス、雄性、8～9週令

照射条件

島津信愛号使用。200kVp, 15mA, 1.5mm Cu + 0.5mm Al 濾過。焦点動物間距離60cm, 線量率30R/分。

マウスの局所照射にはX線フィルムの乳剤を除いたものを円錐形（底部径 1.5cm, 頂部径 0.5cm, 長さ10～15cm）に加工し²⁾, これにマウスを後肢より引込み固定し, 下腹部のみ照射した。円錐形フィルムの下腹部辺りは一重または二重程度であつて線量率には影響なく, 且つフィルムを通して局所が透けてみえる。上腹部以上は3mmの鉛板で覆い被曝しないようにした。

線量測定は Victoreen Chamber X線用 250Rのもの (No. 154) を使用し, 照射直前に測定した。また R→rad 換算係数として0.95³⁾ を乗じ換算した。

防護剤及び投与方法

放射線防護剤としては九州大学薬学部田口教授創製⁴⁾の 2-Mercaptoethylguanidine $\frac{1}{2}$ H₂SO₄ を用いた。これはAETを NaOH で溶解して得られるMEGと異なり, 本来結晶であつて使用直前に蒸留水で溶解すればよいという利点がある。これを蒸留水で溶解し (7.66mg/cc), 0.5cc宛マウス腹腔内投与を行なつた。即ち1匹当たり3.83mg投与したことになる。投与時間は補正投与時間⁵⁾を20分とするようにした。

照射線量及び睪丸重量測定

照射線量は50, 70, 100, 140, 200, 300, 400, 500, 630Rの9種類であつて, 照射28日後マウスを屠殺, 睪丸を摘出し化学天秤で秤量した。

結 果

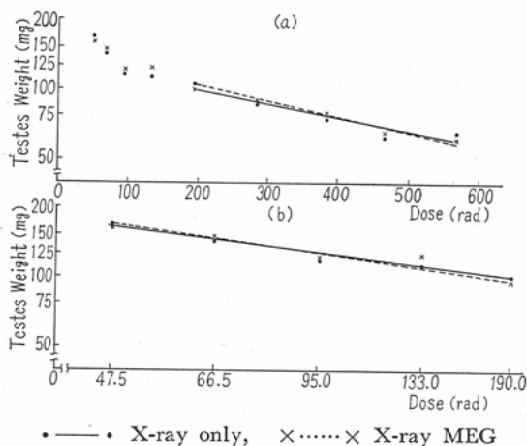
200kVp X線照射群と 200kVp X線+MEG処置群における各種線量照射28日後の睪丸重量を第1表に示す。MEG処置群, 非処置群のいずれにおいても線量の増加に従つて重量減少の傾向がみられるが, 同一線量間においてMEG処置の有無による差はみられない。次にこれを片対数のグラフに睪丸重量を対数にとつてプロットしたの

Table 1. Testicular Weight four weeks after Irradiation

Dose (rad)	X-ray only	X-ray+MEG Treatment
47.5	167.4 $\pm$ 130.3 ^{mg}	163.6 $\pm$ 344.3 ^{mg}
66.5	142.4 $\pm$ 464.4	149.0 $\pm$ 128.6
95.0	121.9 $\pm$ 460.5	121.8 $\pm$ 73.4
133.0	114.5 $\pm$ 52.2	124.0 $\pm$ 94.5
190.0	106.7 $\pm$ 97.2	101.3 $\pm$ 283.3
285.0	87.3 $\pm$ 181.4	89.9 $\pm$ 37.2
380.0	72.8 $\pm$ 79.3	78.6 $\pm$ 83.0
475.0	62.9 $\pm$ 151.6	66.5 $\pm$ 73.0
598.5	67.6 $\pm$ 79.0	62.1 $\pm$ 113.0
0.0	188.46 $\pm$ 583.50	

Means $\pm$ standard deviations of absolute organ weights (mg)

Fig. 1, a, b. Relationship between testes weight and absorbed dose.



が第1図である。第1図aではX線照射のみの群では133或いは190rad以上, MEG処置を加えた群では190rad以上の線量と睪丸重量間に直線性があるようにみられるので, 190rad以上と190rad以下の各線量と睪丸重量間の関係式を計算してみた。

190rad以下の場合

第1図aにおいて190rad以下照射群の線量と

睪丸重量の関係はやや下に凸のカーブをなしているのので、この場合線量をも対数にとつてみた(第1図b)。するとこの両者間の関係はほぼ直線となるので、線量及び睪丸重量の双方とも対数にとつて両者間の関係式を計算した。

190 rad 以下の線量群における線量と睪丸重量の関係式は

200 kVp X線照射群

$$\log W = 2.7475 - 0.32260 \log D \pm 0.0195$$

200kVp X線+MEG投与群

$$\log W = 2.7671 - 0.33033 \log D \pm 0.0239$$

但しWは睪丸重量の推定値(mg)

Dは線量(rad)

となる。この式より算出される各吸収線量における睪丸重量は第2表の如くなる。このデータにお

Table 2. Estimated Testicular Weights

Dose (rad)	X-ray only	X-ray+MEG Treatment
47.5	160.9mg	163.4mg
66.5	144.4	146.2
95.0	128.7	129.9
133.0	115.4	116.3
190.0	102.9	103.4

いてもMEG投与群と非投与群の各線量における睪丸重量に有意の差はない。

190 rad 以上の場合

190 rad 以上の線量における睪丸重量と線量の関係式を求めた。

200 kVp X線照射群

$$\log W = 2.09279 - 5.2064173 \times 10^{-4} D \pm 0.0476$$

200kVp X線+MEG投与群

$$\log W = 2.10532 - 5.4752531 \times 10^{-4} D \pm 0.0162$$

但しWは睪丸重量推定値(mg)

Dは吸収線量(rad)

の如くで、この式より各線量における睪丸重量を算出すると第3表の如くなる。

この場合においてもMEG投与群と非投与群における睪丸重量減少の程度に有意の差はない。

以上 190 rad 以下の線量においても、190 rad

Table 3. Estimated Testicular Weights

Dose (rad)	X-ray only	X-ray+MEG Treatment
190.0	98.6mg	100.3mg
285.0	88.0	89.0
380.0	78.5	78.9
475.0	70.1	70.0
598.5	60.4	59.9

以上の線量においても、MEGは睪丸重量減少を防いでいるとは云えないようである。

考 按

Kohn 等⁹⁾は被照射マウス、ハムスター、及びラットの睪丸重量減少は300R以下照射の場合と300R以上照射の場合に区分して観察し得、前者の線量範囲では急激な、後者の線量範囲では緩徐な睪丸重量減少がみられるといっている。そして睪丸における前者の急激な重量減少を示す部分をPopulation A、後者をPopulation Bと命名し、前者の急激な重量減少は精祖細胞の重量減少に起因するのではないかと云っている。

我々のデータでも190 rad以下の線量で急激な重量減少をみたので、190 rad以下と以上の線量群にわけて線量効果関係を計算したわけである。

しかし彼等の区分即ち睪丸重量構成要素をPopulation A及びPopulation Bの2つに区分することには少し難点があると思われる。即ち睪丸では常に複雑なSpermatogenesisが行なわれており、且つその各段階の細胞の放射線感受性は相当程度異なると云われている。それを単に、Population A及びBのみの2つに区分してよいものかどうかということ、また、Population Aの値は、300R以下照射時の睪丸重量より300R以上照射時の線量睪丸重量関係式より得られる推定重量を差し引いて求めているが、300R以上の線量で得られる関係式が300R以下にまで、極端に言えば線量0にまで外挿してよいものかということである。その上、我々の実験では放射線防護剤を用いている。この防護剤使用により上記諸点の関係はより複雑となる。即ち各段階における細胞に対して防護効果の程度は同じか否かと、またそれが各線量においても異なるのではないかなどという問題も含まれてくる。この実験で190 rad以

上での線量効果関係式を線量0にまで外挿して得た値は、MEG処置を施した群と施さない群で異なっている。これはこの実験での誤差も大きく働いているであろうが、各線量におけるMEGの防護効果の程度も異なるであろうことも作用していると思われる。従つて、この実験ではMEGの修飾程度を、低線量域と高線量域における重量でしか比較しなかつたわけである。

さて次に、この実験でMEGが睪丸重量減少に防護効果を示し得なかつた理由を考えてみたい。一つにはMEGが睪丸にまたは生殖細胞内に防護効果を示すに足る充分量存在していなかつたのかも知れないということが考えられる。MEG-S³⁵を投与してその生体内分布をみた Kollmann⁷⁸⁾や安德⁹⁾のデータをみても睪丸は彼等の調べた臓器中最も分布の少ない臓器であり、MEGの前駆物質である AET-S³⁵の分布をみた O' Gara 等¹⁰⁾や片山¹¹⁾のデータでも同様である。また MEA-S³⁵の分布をみた Nelson 等¹²⁾は副睪丸には比較的多いが睪丸には少ないとしており、Gensicke¹³⁾は S³⁵-Cystamine において睪丸を最小分布のグループに入れている。従つて睪丸重量減少を防ぐには防護剤の分布が少なすぎることも一因ではないかと思われる。

また他の考え方として、生殖細胞の感受性も関係しているかも知れない。照射直後の妊娠させ得る能力について、Lüning 等¹⁴⁾は cysteamine は防護作用を持つていい、Wang 等¹⁵⁾も同様にいつている。また Mandl 等¹⁶⁾は精祖細胞の段階で cysteamine が防護効果ありといつている。しかし生殖細胞の放射線感受性はその発育段階により甚だしく異なるとされている。即ち Oakberg¹⁷⁾はマウスの late type A, 中間期及び early type B の精祖細胞の ⁶⁰Co γ線による LD₅₀ は、ほぼ20~24Rであろうといい、また type A の精祖細胞は広い感受性の巾を持つていて、1,500 R照射されても生存しているものもあるという。また、ラッテであるが、Spalding 等¹⁸⁾は type A の精祖細胞は放射線抵抗性があると述べている。マウスの精母細胞については Oakberg 等¹⁹⁾は、1,000R照射しても直接的な障害は認められない

が、核分裂時変性するといひ、精子細胞については preleptotene 期の LD₅₀ は 205 R, diakinesis-metastasis 期では 837 R といつている。また副睪丸中の精子について Spalding 等¹⁸⁾は、10,000R照射48時間後でも形態的には正常であり運動するといつている。

以上の如く放射線防護剤は妊娠させる能力を防護できた生殖細胞はその発育段階で感受性が甚だ異なるとすれば、妊娠させ得る能力を防護できるということと重量減少を防ぎ得るということとは必ずしも比例しないのかも知れない。即ち放射線に感受性の高い段階の生殖細胞が睪丸重量に占める割合が大ならば、またこの高感受性の段階の細胞が50 rad 位ででも大半は死亡してしまうものならば、防護剤が睪丸重量減少を防護する余地は甚だ少ないことになることも原因するかと考えられる。

結 論

CF #1 マウスの睪丸重量減少を指標として、2-Mercaptoethylguanidine $\frac{1}{2}$ H₂SO₄ の防護作用を検討した。

Kohn 等がマウスの睪丸重量減少は互いに独立的に減少する2つの集団における減少の和であるとのべているので、ここでは 190 rad 以下照射群と 190 rad 以上照射群にわけて重量減少を調べてみた。

MEGは放射線の致死作用の防護には優秀な効果を示す薬剤であるが、睪丸重量減少は防護し得ないようである。

(本論文の御校閲を賜つた恩師入江英雄教授並びに放射線基礎医学教室吉永春馬教授に厚く感謝します。又本剤を製造して下さつた本学薬学部田口教授及び小嶋教授に深謝致します)。

(本論文は文部省科学研究費の援助によるものであることを記し感謝します)。

文 献

- 1) D.G. Doherty, W.J. Burnett, and R. Shapiro : Chemical protection against ionizing radiation. II. Mercaptoalkylamines and related compounds with protective activity. Radiation Res. 7, 13—21 (1957).
- 2) 岡村重昭, 中村寛, 古賀充 : 睪丸重量を指標とした 200 kV X線, ⁶⁰Co γ線, 15 MV X線及

- び15 MeV 電子線の生物学的効果比率, 日医放会誌, 23, 189—193 (1963).
- 3) H. Yoshinaga et al.: On the quality of X-ray used in the radiological studies. Proc. Hiroshima Univ. RINNB, No. 2, P. 11 (1961).
 - 4) 田口他: 薬誌, 81, 1233 (1961).
 - 5) 岡村重昭, 片山仁, 吉本清一: 放射線防護剤の作用曲線と補正投与時間の提唱, 日医放会誌, 21, 773—779 (1961).
 - 6) H. I. Kohn and R. F. Kallman: Testes weight loss as a quantitative measure of X-ray injury in the mouse, hamster and rat. Brit. J. Radiol. 27, 586—591 (1954).
 - 7) B. Shapiro, E. E. Schwartz and G. Kollmann: The mechanism of action of AET. IV. The distribution and chemical forms of 2-Mercaptoethylguanidine and Bis (2-guanidoethyl) disulfide in protected mice. Radiation Res. 18, 17—30 (1963).
 - 8) G. Kollmann, B. Shapiro and E. E. Schwartz: The mechanism of action of AET. V. The distribution and the chemical forms of 2-Mercaptoethylguanidine and Bis (2-guanidoethyl) Disulfide given orally in protective doses to mice. Radiation Res. 20, 17—23 (1963).
 - 9) 安徳重敏: 化学保護の作用機序に関する考察, 日医放会誌, 23, 221—224 (1963).
 - 10) O'Gara et al.: Tissue distribution of radioactivity following administration of ^{35}S -labeled AET in normal and tumor bearing mice. Fed. Proc. 18, 429 (1959).
 - 11) 片山仁: AET- ^{35}S 投与後の ^{35}S 経時的体内分布, 及び AET の最良投与時間について, 日医放会誌, 25, 124—136 (1965).
 - 12) A. Nelson and S. Ullberg: Distribution of S^{35} in mice after injection of S^{35} Cysteamine. Acta Radiol. 53, 305—313 (1960).
 - 13) F. Gensicke, et al.: Die S-35 Verteilung und Ausscheidung nach Injection S-35 markierten Cystamine bei der Maus. Strahlentherap. 118, 561—569 (1962).
 - 14) K. G. Luning, H. Frölen and A. Nelson: The protective effect of cysteamine against genetic damages by X-rays in spermatozoa from mice. Radiation Res. 14, 813—818 (1961).
 - 15) S. C. Wang, S. Kuskin and R. Rugh: Protective action of cysteamine (-mercaptoethylamine) against X-irradiation induced sterility in CF_1 male mice. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 101, 218—221 (1959).
 - 16) A. M. Mandl: The effect of cysteamine on the survival of spermatogonia after X-irradiation. Int. J. Rad. Biol. 1, 131—142 (1959).
 - 17) E. F. Oakberg: Gamma-ray sensitivity of spermatogonia of the mouse. J. Exp. Zool. 134, 343—356 (1957).
 - 18) J. F. Spalding, J. M. Wellnitz and W. H. Schweitzer: Effect of rapid massive doses of gamma-rays on the testes and germ cells of the rat. Radiation Res. 7, 65—70 (1957).
 - 19) E. F. Oakberg and R. L. DiMinno: X-ray sensitivity of primary spermatocytes of the mouse. Int. J. Rad. Biol. 2, 196—209 (1960).