タンパク質・アミノ酸栄養と放射線障害について (II)

Effect of Protein and Amino acid Nutrition on Radiation Damage in Mice (II)

被曝マウスの造血臓器への ^{59}Fe 取り込みに対するタンパク質・
アミノ酸栄養の影響について

Effect of Protein and Amino acid Nutrition on ^{59}Fe -incorporation
into Haematopoietic Organs of Irradiated Mice.

(昭和44年2月6日受理)

田 中 聖 英*
(Seiei Tanaka)

The preceding papers revealed that the mortality of a single dose of whole body γ -irradiated mice was greatly reduced by the supplement of protein in diets before and after irradiation. In the present paper, the effect of dietary protein reinforcement after γ -irradiation on the incorporation of ^{59}Fe into mice blood was reported.

From the results of the experiments, it was shown that the ^{59}Fe incorporation into blood was influenced by the dietary protein nutrition before and after irradiation, and that the importance of protein nutrition in the recovery stage from haematopoietic radiation damage. This findings were in quite accordance with the results of the mortality experiments reported previously.

緒 言

前報において著者は死亡率を指標として ddN マウスを用いてコバルト60による γ 線全身照射を行ない、照射後タンパク質を補足することによりかなりの死亡率の減少をみた。しかし過剰のタンパク質添加はむしろ悪影響を及ぼした。著者は放射線障害の著しく現われる機能障害の1つである造血機能障害に注目して、 ^{59}Fe の造血臓器への取り込みを指標としてタンパク質・アミノ酸栄養と放射線障害について実験を進めた。

さて栄養学的にみると低タンパク質で飼育したラットは慢性貧血¹⁾を引き起すといわれており、Albanese²⁾らによれば食餌中のアミノ酸でメチオニンとトリプトファンが欠乏するといわゆる貧血症状を呈するといっている。

一方放射線障害によって引き起される貧血は一種の再生不良性貧血であって骨髓での未熟赤血球の成熟分化の障害によるものと考えられ、前述の単なる栄養不良からくる貧血と比べてより複雑なメカニズムによるものと考えられる。しかし未熟赤血球の成熟分化にはこれらの血球の核酸代謝およびタンパク質代謝とが密接な関係にあって放射線障害による再生不良性貧血からの回復にはア

ミノ酸・タンパク質栄養が影響を及ぼすであろうことは想像に難くない。

^{59}Fe の取り込みによる鉄代謝の研究は古くは Hennessy³⁾ らや Belcher⁴⁾ らの仕事から始まり、最近迄数多くの報告がなされている。さて静脈内に投与された ^{59}Fe は大部分24時間以内に血漿中から消失して各臓器、特に骨髓の不安定プールの中に入り、次いで成熟過程の赤芽球中でヘモグロビン合成に用いられ、成熟赤血球として循環血液内に現われてくる。末梢血液中の ^{59}Fe は注射後漸次増加し5日ないし10日でプラトーに達する。 ^{59}Fe はまた他の臓器すなわち肝臓、脾臓にも分布する。

In vitro の実験では哺乳類の成熟赤血球は ^{59}Fe をその中に取り込まない。網状赤血球より若い未熟赤血球のみが ^{59}Fe をその中に取り込むことができる。すなわち ^{59}Fe の取り込みは赤血球の成熟に密接な関係があり、赤血球がより未熟であればあるほどより多く ^{59}Fe を取り込むといわれている。

骨髓機能が障害されて赤血球の成熟分化が円滑に進行しないと ^{59}Fe の未熟赤血球への取り込みも阻害され ^{59}Fe は肝臓、脾臓など骨髓以外の臓器に取り込まれる。このように ^{59}Fe の骨髓の未熟赤血球への取り込みは

* 都立アイソトープ研

骨髓の造血機能を表わす有力な指標であり、実験的には ^{59}Fe を流血中に注射して一定時間後の流血中の赤血球の ^{59}Fe の放射能を測り、これを基準としている。

著者はこの方法によって放射線の骨髓機能に対する障害と前報に述べた死亡率による方法との比較を先ず行ない両者の間に併行関係があることを確かめた。次いで前報で問題にした消化管系統の障害を軽減する目的で食餌タンパク質の1部をアミノ酸混合物に置換える実験を行った。また前述のように赤血球の成熟分化は核酸代謝と密接な関係にあり、プリン塩基でありエネルギー代謝で重要なATPとも関連のあるイノシンについて食餌に添加して骨髓機能の回復に効果があるか否かについて検討した。

実 験

1) 材料および方法

動物はICR純系雄マウス（ただし1部の実験はddN雄マウスを用いた）3週令を購入した。飼料は次に示す標準タンパク質配合飼料（カゼイン18%）を基本にして低タンパク質飼料としてカゼイン6%飼料およびアミノ酸混合飼料を作製した。

標準タンパク質配合飼料組成

成分名	百分率 (%)
ミルクカゼイン	18
イースト末	2
オイル混合*	6
塩混合**	4
ビタミン混合***	1
白 糖	3
α -デンプ粉	66
計	100

なお低タンパク質配合飼料はカゼイン含有量を6%にしその差12%を α -デンプ粉にて補った。

アミノ酸混合飼料組成（全タンパク質中のアミノ酸組成%）リジン8.9, トリプトファン1.6, フェニールアラニン4.6, ロイシン7.9, グリシン2.8, メチオニン2.5, スレオニン4.9, アルギニン4.3, イソロイシン6.4, バリン6.3, ヒスチジン2.9, シスチン0.4, チロシン8.1, グルタミン酸28.0, アスパラギン酸10.4, 合計100.00

* 大豆油 4, 肝油 1 の混合油

** 塩配合

CaCO_3 29.29, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.43, KH_2PO_4 34.31, NaCl 25.06, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 9.98, $\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.623, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.156, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.121, ZnCl_2 0.02, KI 0.0005, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.0025……合計 100.00

*** ビタミン配合

チアミン塩酸 0.059, リボフラビン 0.059, ニコチン酸 0.294, パントテン酸カルシウム 0.235, ビリドキシン塩酸塩 0.029, メナジオン 0.006, ビオチン 0.001, 葉酸 0.002, ビタミン B_{12} 0.002, イノシトール 1.176, アスコルビン酸 0.588, 乳糖 97.551……合計 100.00

飼育は実験によっては多少異なるが、通常は18%カゼイン飼料にて1週間飼ならしを行ない、次いで低タンパク質（カゼイン6%食餌群）にて数週間飼育した。照射は γ 線全身1回照射（ Co-60 ），総線量800レントゲン，線量率150 γ /hrにて行なった。 ^{59}Fe の投与は $^{59}\text{FeCl}_3$ の形で，0.01 μC ～0.5 μC /0.1ml 生食/マウスを尾静脈に注射し，一定時間後の血液，肝臓，脾臓への取り込みをみた。 ^{59}Fe の放射能測定は神戸工業の井戸型シンチレーションカウンターにて行なった。

結果および考察

〔1〕 ^{59}Fe 投与基礎実験

1) 担体鉄の影響

購入される ^{59}Fe の比放射能はそのロットにより異なり，はなはだしい時には1桁も異なる。そこで先ず担体鉄濃度の ^{59}Fe の血液，肝臓への取り込みに対する影響をみることにした。すなわちICRマウス各群10匹をオリエンタル固型飼料にて飼育し，0.1 μC の $^{59}\text{FeCl}_3$ 0.1ml中の鉄濃度を0.01 μg から5.0 μg いろいろかえて調製し，この溶液を尾静脈に注射し，5日後の ^{59}Fe の取り込みをみた。結果を表1に示す。

表1の結果から担体の鉄が増加すると血液への ^{59}Fe の取り込みは減少し，肝臓への取り込みが増加する傾向がみられた。それぞれ ^{59}Fe の取り込みと鉄濃度との間に直線的な関係は見られなかったが，血液と肝臓への ^{59}Fe の取り込みの和は鉄濃度と関係なくほぼ一定の値を示した。

なお注射した放射性鉄の血清中での消長に関しては，別の実験により静注した ^{59}Fe は12時間で97～99%以上血清から消失し，24時間以上経過すれば無視し得る程度の放射能しか存在しないことを確かめた。

2) ^{59}Fe の造血臓器への取り込みに対する γ 線照射の影響

前報において死亡率をみる実験の照射線量として，1,000レントゲンを選んだが， ^{59}Fe の血液，肝臓への取り込みについても照射線量の対応性をみた。すなわちICRマウス各群（10匹）につき型通りカゼイン18%食餌で1週間飼ならしを行なった後，カゼイン6%食餌にて2週間飼育した。 γ 線照射は100レントゲンから1,000

栄 養 と 食 糧

表 1 鉄(担体鉄)濃度の $^{59}\text{FeCl}_3$ の血液、肝臓への取り込みに対する影響

鉄 濃 度	体 重 (平均) g	血液への取り込み (%)	肝への取り込み (%)	(血液+肝)合計 (%)	動 物 数
0.01 μg	23.8	33.8 (± 2.4)	5.9 (± 0.7)	39.7	10
0.5 "	23.2	24.6 (± 1.8)	14.0 (± 2.1)	38.6	10
1.0 "	22.0	23.8 (± 3.1)	13.0 (± 1.1)	36.8	10
5.0 "	25.0	20.7 (± 2.5)	21.3 (± 3.0)	42.0	10

注 取り込みの%は、マウス 1 匹当たり、全注射放射能に対する全血、全肝の取り込まれた放射能百分率を示し、($\pm$)の数値は S. D. を示す。

表 2 ^{59}Fe の造血臓器への取込みと γ 線照射線量

照射線量 (レント ゲン)	^{59}Fe の造血臓器への取込み (%)			
	血 液	肝 臓	脾臓	動物数
0	27.5 (± 2.6)	10.2 (± 2.1)	0.8	10
100	25.2 (± 2.1)	11.4 (± 1.5)	0.7	10
200	25.0 (± 2.0)	10.8 (± 2.3)	0.7	10
300	17.2 (± 1.2)	17.3 (± 1.9)	0.8	10
400	9.0 (± 1.5)	26.5 (± 2.6)	0.8	10
600	4.4 (± 0.8)	27.3 (± 5.1)	0.4	10
800	3.0 (± 1.0)	28.0 (± 3.1)	0.3	10
1,000	2.1 (± 0.4)	29.7 (± 1.9)	0.3	10

レントゲン行ない、照射 3 日後に 0.2 μC の $^{59}\text{FeCl}_3$ を尾静脈注射し、注射後 6 日目に血液、肝臓、脾臓に取り込まれた ^{59}Fe の放射能を測定した。結果を表 2 に示す。

表 2 の結果から、明らかに照射線量が 200 レントゲンを越すと血液への ^{59}Fe の取り込みは急激に低下し、ほぼこれに対照的に肝臓への取り込みが上昇した。これは照射により造血細胞が障害を受けると鉄が供給されてもヘモグロビン合成の方に用いられず、肝臓の貯蔵鉄プールに蓄積されるためと考えられる。著者はこの 6% カゼイン食餌飼育での ^{59}Fe の血液への取り込みの照射線量に対する曲線と、前述の死亡率による実験との関連および比較的高線量と思われる 800 レントゲン照射(実験の 1 部は文部研究班研究の目的のため 500 レントゲン照射を行なった)を選び、これを照射線量と定めた。

〔II〕 ^{59}Fe の血液への取り込みを指標としたタンパク質栄養の被曝マウスに対する影響について

- 1) 低タンパク質食餌にて飼育した被曝マウスに対するタンパク質の補足効果
マウスを型通り 18% カゼイン食餌で餌ならしを行な

い、低タンパク質食餌(カゼイン 6%)にて 2 週間飼育し、800 レントゲン 1 回全身照射を行ない、照射後タンパク質量を補足し、18% カゼイン食餌に戻した。 ^{59}Fe の投与は照射 3 日後に行ない、 ^{59}Fe の放射能の測定は注射後 7 日の血液への取り込み量をみた。結果を表 3 に示す。

表 3 γ 線照射と ^{59}Fe の血液への取り込みに対するタンパク質栄養の影響

食 餌 群		照射	^{59}Fe の血液への取り込み (%)	
照射前	照射後			動物数
6% カゼイン食	18% カゼイン食	—	34.0 (± 2.4)	15
"	6% カゼイン食	+	7.9 (± 1.3)	10
"	18% カゼイン食	+	17.0 (± 2.1)	10

表 3 の結果より照射後タンパク質を低タンパクから標準タンパクに戻すことにより、すなわち照射後タンパク質を補足することにより照射により低下した ^{59}Fe の血液への取り込みの回復がみられた。このことは既述の死亡率実験の結果と一致し、死亡率実験と ^{59}Fe の取り込み実験との平行性を示した。

- 2) 低タンパク質飼育被曝マウスに対するアミノ酸混合物の添加効果

1) と同様マウスを低タンパク質食餌(カゼイン 6%)で飼育し、型通り照射を行ない、照射後アミノ酸混合物の添加とタンパク質を全部アミノ酸混合物に置き換えた影響について ^{59}Fe の血液への取り込みについて検討した。結果を表 4 に示す。

表 4 の結果より 6% カゼイン食にアミノ酸混合物を添加した群およびタンパク質を全部アミノ酸混合物に置き換えた群については ^{59}Fe の血液への取り込みは 6% カゼイン食で照射前後を通して飼育した群に比べて確かに高い値を示した。しかし、いずれもカゼイン 18% 群すな

表4 被曝マウスの ^{59}Fe の血液への取り込みに対する
アミノ酸栄養の影響

食 餌 群		照射	⁵⁹ Fe の血液への取り込み (%)	
照射前	照射後			動物数
6%カゼイン食	6%カゼイン食	+	7.9 (±1.3)	10
"	18%カゼイン食	+	17.0 (±2.1)	10
"	6%カゼイン食+12AA*	+	10.4 (±1.6)	10
"	18AA**	+	10.8 (±1.7)	10

* 12%カゼイン相当のアミノ酸混合物

** 18% "

わちタンパク質で飼育した群に比べて低い値を示した。このことは単に腸管からの吸収の問題では説明がつかず恐らく個々のアミノ酸の吸収率の差の問題、食欲に伴う食事摂取量の多少の問題なども原因していると考えられる。

3) イノシンの投与効果 (1)

緒論にて述べた理由で、低タンパク質飼育マウスに γ 線照射後イノシンの経口投与実験を試みた。先ず型通り

18%カゼイン食で餌ならしを行ない、6%カゼイン食で6週間飼育した。次いで800レントゲン γ 線全身1回照射を行ない、照射2日後に ^{59}Fe を尾静脈に注射し、注射4日後の血液への ^{59}Fe の取り込みをみた。結果を表5に示す。

表5の結果より ^{59}Fe の血液への取り込みの増加に対するイノシンの添加効果はイノシン0.2%添加群にみられたが、0.4%, 0.8%添加群ではかえって負の効果がみられた。

4) イノシンの投与効果 (2)

次に18%カゼイン飼育マウスについて500レントゲン照射後直ちに18%カゼイン食にイノシンを添加した食餌に切換えた実験を行なった。照射と ^{59}Fe の投与は前実験に準じたが、血液、肝臓への ^{59}Fe の取り込みは注射6日後と15日後の値を測定した。また照射24時間前にイノシンの水溶液を1ml、腹腔注射したものについても同様に ^{59}Fe の取り込み実験を行なった。結果を表6に示す。

表6の結果より18%カゼイン食餌に照射後イノシンを添加した実験では、経口投与、腹腔注射ともにその添加効果は著明にあらわれず、投与量に関しても一定の傾向

表5 イノシンの添加実験 (1)

食 餌 群			照 射	血液への ^{59}Fe の取り込み (%)	
照射前	照射後				動 物 数
カゼイン6%食	カゼイン6%食		—	20.5 (± 2.1)	10
"	"		+	2.2 (± 0.4)	10
"	"	+イノシン0.2%*	+	2.9 (± 0.6)	9
"	"	+イノシン0.4%*	+	2.1 (± 0.3)	10
"	"	+イノシン0.8%*	+	1.4 (± 0.4)	10

* 食餌中のイノシンの百分率

表6 イノシンの添加実験 (2)

食 餌 群			照射	血液への ^{59}Fe の取り込み (%)		肝臓への ^{59}Fe の取り込み (%)	
照射前	照射後			6 日	15 日	6 日	15 日
カゼイン 18%食	カゼイン 18%食		+	4.9 (± 0.3)	9.8 (± 0.9)	17.3 (± 1.5)	15.1 (± 1.1)
"	"	+イノシン0.05%*	+	3.5 (± 0.1)	7.4 (± 1.3)	16.7 (± 2.3)	15.2 (± 1.6)
"	"	+ 0.1 %	+	5.7 (± 0.6)	7.3 (± 0.7)	15.0 (± 1.6)	14.8 (± 0.7)
"	"	+ 0.2 %	+	4.7 (± 1.1)	7.5 (± 1.0)	14.9 (± 2.3)	12.3 (± 2.0)
"	"	+ 0.4 %	+	3.5 (± 0.2)	7.8 (± 1.0)	15.6 (± 1.1)	14.1 (± 1.3)
"	"	+ 0.001mg**	+	4.7 (± 0.4)	8.6 (± 0.2)	13.7 (± 2.1)	16.0 (± 0.9)
"	"	+ 0.01 mg	+	4.1 (± 0.4)	7.2 (± 1.3)	15.1 (± 1.0)	17.0 (± 1.9)
"	"	+ 0.1 mg	+	5.1 (± 0.5)	10.2 (± 0.6)	17.5 (± 0.7)	16.8 (± 3.0)
"	"	+ 1.0 mg	+	4.4 (± 0.6)	9.8 (± 1.2)	20.0 (± 2.3)	15.7 (± 2.7)

* 食餌中の含量 (%)

** 腹腔注射量 (mg)

・動物数各群 (8~10匹)

・(±) は S. D.

を見い出せなかった。

以上2つのイノシン添加実験から、十分な栄養状態ではイノシン添加の影響はあらわれないが、タンパク質が欠乏しているような不良栄養状態ではその添加の効果が幾分あらわれるものと思われる。

4) 放射線障害回復期におけるタンパク質栄養の影響

ICR マウスを型通り餌ならしを行なった後、カゼイン6%食餌またはカゼイン18%食餌で2週間飼育し、500レントゲン（回復に対する食餌の影響をみるため照射線量を下げた）照射し、 ^{59}Fe を照射後経時的に静注し、注射24時間後の ^{59}Fe の血液への取り込みをみた。結果を図1に示す。

図 1

図1より明らかにカゼイン6%飼育マウスは照射後も引きつづき同飼料にて飼育した場合、 ^{59}Fe の血液への取り込みの回復は遅く、これに反してカゼイン18%飼育マウスは照射後6日ないし8日頃から急激に ^{59}Fe の血液への取り込みの上昇を示した。この結果は前報にて既に報告した死亡率による実験結果と一致し、照射後のタンパク質栄養が放射線障害の回復に重要な意義を持っていることを示している。なおカゼイン18%の照射群が同飼料の非照射群より高い取り込み値を示したのは、 ^{59}Fe の取り込み値が注射後24時間の値であるため、照射後造血機能が盛んに回復して来たとすれば単位時間当りの回復能は当然非照射群より高まることから十分理解できる。

結 論

^{59}Fe の血液への取り込みを指標として造血機能を注目

して放射線影響とタンパク質栄養との関係について実験を行なってきたが、前報の死亡率による実験の結果とは平行性がみられる結果を得た。すなわち照射後低タンパク質飼育を標準タンパク質飼育に戻すことにより造血機能の回復効果がみられた。

次にタンパク質を一部アミノ酸混合で置き換えた実験では、アミノ酸による置換は放射線障害の造血機能に回復効果を幾分示すがタンパク質そのものに比べて良い結果を示さなかった。またイノシンの添加効果に関しても明確な結果が得られなかった。

またこの ^{59}Fe の取り込みによる方法を用いてタンパク質栄養の放射線障害の回復期における造血機能を経時的にみた実験では、照射後1週間ぐらいから骨髓機能の回復がみられ、その回復にタンパク質栄養が大いに役立っていると思われる結果が得られた。

このように ^{59}Fe の血液への取り込みによる造血機能の放射線障害時およびその回復期における動向についてタンパク質・アミノ酸栄養の量的な影響について追及してきたが、次にタンパク質の質的な問題すなわちアミノ酸構成の影響について必須アミノ酸に注目して実験を進めたいと思う。

本実験に際し常にご懇篤なるご指導を賜った東大・吉川春寿教授、金大・米山良昌教授、九大・水上茂樹教授および都立アイソトープ研鈴木治部長に深甚なる感謝の意を捧げるとともに、アミノ酸、飼料などにつき何かに便宜を計って下さった田辺アミノ酸研究基金および味の素K.K.に深く感謝する。

文 献

- 1) Orten, A. U. and Orten, J. M.: *J. Nutr.* **26**, 21 (1943)
- 2) Albanese, A. A., Holt, L. E. and Brumback Jr. J. E.: *J. Biol. Chem.*, **165**, 179 (1946)
- 3) Hennessy, T. G., and Huff, R. L.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **73**, 436 (1950)
- 4) Belcher, E. H., Gilbert, I.G.F. and Lamerton, L. F.: *Brit. J. Radiol.*, **27**, 387 (1954)
- 5) Belcher, E. H., Harris, E. B., and Lamerton, L. F.: *Progress in Radiobiol.*, p. 303 (1956)