放射線障害防護薬剤に関する研究 (第 21 報¹⁾) 軟 X 線によるマウスの皮膚障害を
指標とする放射線障害防護薬剤の効力試験法の検討²⁾篠田雅人, 太田節子, 早瀬幸俊
星薬科大学³⁾Studies on Chemical Protectors against Radiation. XXI.¹⁾ Bioassay of
Radio-protector against Skin Injury of Soft X-Irradiated Mice²⁾MASATO SHINODA, SETSUKO OHTA, and YUKITOSHI HAYASE
Hoshi College of Pharmacy³⁾

(Received August 2, 1978)

Protective effect of 2-mercaptoethylamine against skin injury in mice by whole-body irradiation of soft X-ray of 30 kVp was measured to examine conditions for potency test with protective effect as an index, and the following results were obtained.

- 1) Intraperitoneal administration of 2.0—0.25 mmol/kg of 2-mercaptoethylamine in mice showed a significant protective effect on the head and dorsum, at a dose of 1.0 mmol/kg.
- 2) The optimum period of the administration of 2-mercaptoethylamine was found to be 30—5 min before irradiation.
- 3) Potency test with skin injury as an index calls for the measurement of protective potency on skin injury from the score obtained by observations during 40 days after irradiation of 4000—7000 R of soft X-ray of 30 kVp, 10 mA.

Keywords—bioassay of radioprotector; cysteamine; radiation protection; soft X-ray; mouse skin reaction; score system; protective potency on skin injury

放射線による皮膚障害は放射線による様々な生物反応の中でも比較的個人差が少なく、再現性のある反応として古くから dosimetry その他に応用されているが、特に照射後に発現する脱毛、潰瘍等の皮膚反応をスコアシステムにより計量化する方法は Wilson をはじめ多くの研究者に活用され、⁴⁻⁸⁾ 組織学的な知見とも一致することが認められている。^{9,10)} 著者らも第 19 報¹¹⁾ で 30 kVp の軟 X 線をマウスに全身照射した後、発現する頭部と背部の皮膚障害を検討した結果、3000—7000 R の間で、照射線量と著者らが作成したスコア表より計量化した障害の測定値は有意な直線関係を示すことを認めた。同時に 30 kVp の軟 X 線は内部組織にはほとんど影響を与えることなく、表皮組織にのみ皮膚障害を発現させることが可能であり、放射線皮膚障害に対する防護薬剤の効力試験に適していることを認めた。

一方、MEA (システアミン, 2-mercaptoethylamine) は致死線量の放射線障害に対し、著しい防護効果を示す

- 1) 第 20 報: 篠田雅人, 小野田真, 佐藤和憲, 根本久一, 鴨川 旭, 薬誌, **98**, 1512 (1978).
- 2) 1 部は日本薬学会第 94 年会で発表, 仙台, 1974 年 4 月.
- 3) Location: 2-4-41, Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo, 142, Japan.
- 4) C.W. Wilson, *Brit. J. Radiol.*, **30**, 269 (1957).
- 5) H. A. S. van den Brenk, *Am. J. Radiology*, **97**, 1023 (1966).
- 6) J. Denekamp, J.F. Fowler, K. Kragt, C.J. Parnell, S.B. Field, *Radia. Res.*, **29**, 71 (1966).
- 7) J. Denekamp, M.M. Ball, J.F. Fowler, *Radia. Res.*, **37**, 361 (1969).
- 8) 相沢 恒, 日医放, **33**, 602 (1973).
- 9) H.R. Withers, *Brit. J. Radiol.*, **40**, 187 (1967).
- 10) E.W. Emery, J. Denekamp, M.M. Ball, *Radia. Res.*, **41**, 450 (1970).
- 11) 篠田雅人, 太田節子, 早瀬幸俊, 清水素行, 薬誌, **98**, 1215 (1978).

ことが知られており,¹²⁾ 代表的な防護物質の一つである。放射線による皮膚障害, 特に被毛と毛のうの変化に対する MEA の防護効果についてはウサギの耳への塗布,¹³⁾ マウスへの皮下注射,^{14,15)} あるいは腹腔内注射^{14,16,17)} など様々な投与方法で実験されており, 一部に効力が認められている。そこで本報では 30 kVp の軟 X 線全身照射によっておこるマウスの頭部と背部の脱毛を中心とした皮膚障害に対する MEA の防護効果を測定し, 皮膚障害を指標とした放射線障害防護薬剤の効力試験法を検討した。

実 験 の 部

実験方法

実験動物 生後 4—5 週令の ddN 雌マウスを 10 日間予備飼育した後, 体重が 20 ± 2 g のものを選んで実験に使用した。マウスは 5 匹を 1 ケージに入れ, 繁殖用固型飼料を与え, また飲料水は給水ビンから自由に与え, 飼育した。

X 線照射方法 ソフテックス製 Softex CMBW 特型軟 X 線発生装置を用い, 30 kVp, 10 mA, フィルターは使用せず, 照射距離 40 cm, 線量率 600 R/min (ビクトリン 666 型線量計で測定) の条件で, マウスを 1 群 10 匹ずつ, 照射面をステンレス製の 1 cm 間隔の網状の蓋をした直径 18.7 cm, 深さ 2.3 cm のアクリル製円形ケージに入れ, 背部より全身照射した。

試料の調製および投与方法 MEA は NBC 社製の HCl 塩を用いた。試料は投与液量がマウス体重 20 g 当り 0.2 ml になるように蒸留水に溶解した。これらの試料は投与前 15 min 以内に調製し, 腹腔内注射した。

皮膚障害測定方法 マウスの頭部および背部の二カ所を中心としてみられる皮膚障害の観察は週 2 回照射後 40 日間, 定時におこなった。本実験では Table I に示すスコア表に基づき, 頭部と背部の各々の皮膚障害を記録した。また脱毛部位に新生の毛を認めたマウスについては回復開始として観察を中止し, 1 群中半数以上のマウスに回復が見られ, 平均スコアが前観察日より小さくなった時点で測定を終了した。

TABLE I. Score System for Skin Reaction

Reaction of head*			Reaction of dorsum				
			Injury area (mm ²)				
			0 -200	200 -400	400 -800	>800
No visible effect	0	No visible effect	0	0	0	0
	Slight epilation	1	Slight epilation	1	2	3	4
	Fairly complete epilation	3	Fairly complete epilation	3	6	9	12
	Complete epilation	6	Complete epilation	6	12	18	24
	Ulceration	12	Ulceration	12	24	36	48
	Epilation of eyelid	4					
	Fused eyelid or Cataract	12					
	Atrophy of auricle	12					

*Upper figure shows a mouse head divided 11 parts.

皮膚障害防護効力 マウスを 1 群 10 匹とし, 対照群と薬物投与群の平均スコアを比較し, 次式により皮膚障害防護効力 (Protective potency on skin injury) を算出した。

- 12) A. Herve, Z.M. Bacq, *Compt. Rend. Soc. Biol.*, **143**, 881 (1949).
- 13) B. Fogh, *Acta Radiologica*, **53**, 49 (1960).
- 14) D. Radivojević, M.L. Beaumariage, Z.M. Bacq, *Compt. Rend. Soc. Biol.*, **154**, 422 (1960).
- 15) D. Radivojević, Z.M. Bacq, M.L. Beaumariage, *J. Physiol.*, **52**, 205 (1960).
- 16) T.E. Burlin, I.A. Magnus, L. Szur, *Radia. Res.*, **34**, 287, (1968).
- 17) R.D. Lowy, D.G. Baker, *Radia. Biol.*, **105**, 425 (1972).

$$\text{皮膚障害防護効力} = \frac{\text{対照群の平均スコア} - \text{薬物投与群の平均スコア}}{\text{対照群の平均スコア}} \times 100$$

結 果

I. MEA の防護効果と照射線量の関係

軟 X 線 3000—7000 R の範囲の照射によって起こる皮膚障害に対して, MEA 2 mmol/kg を照射前 30 min に腹腔内投与し, 照射のみの対照群と比較し, Fig. 1 に示す結果を得た。

Fig. 1. Skin Injury of Mice after Soft X-Irradiation in Protected and Non-protected Mice

MEA was given intraperitoneally 30 min before irradiation:
 ▲—▲: irradiation only, ○—○: MEA 2 mmol/kg + irradiation.

頭部では対照群の障害が軽度であった 3000 R 照射群を除く総ての群に照射後 14 日目を以降, MEA の有意な防護効果が認められた。背部は頭部と比べて障害の発現時期および回復時期が遅く, 照射後の観察時期の差はあるが, 3000 R と 4000 R 照射群は照射後 25 日目を以降に, 5000 R, 6000 R, 7000 R 照射群は照射後 21 日目を以降に MEA の有意な防護効果が認められた。

同時に MEA は皮膚障害防護効果として症状の軽減に限らず, 障害の発現時期および症状の最も悪化する時期を遅延させる作用のあることを認めた。

II. MEA の投与量と皮膚障害防護効力の関係

軟 X 線 4000 R 照射マウスに対して照射前 30 min に MEA 2.0—0.25 mmol/kg を腹腔内投与し, 薬物の投与量と皮膚障害防護効力の関係を検討し, Table II に示す結果を得た。

各観察日における薬物投与群と対照群を比較すると MEA は頭部, 背部ともに 1.0 mmol/kg 以上の投与量で有意な防護効果が認められた。また前述の薬物投与群と対照群の症状の最悪時期の差を考慮して, 各群が照射後 40 日間に最悪の症状を示した時のスコア (最大スコア) の平均で比較した場合にも, 頭部, 背部ともに 1.0 mmol/kg 以上の投与量で有意な防護効果が認められた。

TABLE II. Protective Potencies of MEA against 4000 R Soft X-Irradiation Mice

Dose of MEA (mmol/kg)	Head					Dorsum				
	Time after irradiation (day)					Time after irradiation (day)				
	18	21	25	28	Maximum ^{a)}	18	21	25	28	Maximum ^{a)}
2.0	76.5	74.6	74.0**	73.7**	64.4*	100.0	98.8**	95.6**	95.4**	72.3*
1.5	78.6	76.0	70.0**	74.1**	72.9**	90.9	91.4**	72.5**	79.1**	73.2**
1.0	54.1	40.4	18.8	84.2*	65.1*	93.9	66.7	56.9*	62.7*	56.4*
0.5	23.5	-28.7	12.1	42.1	17.4	60.6	34.6	27.9	25.5	25.5
0.25	31.6	21.0	-7.2	-8.9	-8.9	48.5	24.7	5.6	8.6	-15.5

protective potency on skin injury (%) = $\frac{\text{mean score of control group} - \text{mean score of treated group}}{\text{mean score of control group}} \times 100$

MEA was given intraperitoneally 40 min before irradiation.

a) is rated by score of maximum injury in 30 days after irradiation.

** : $p < 0.01$.

* : $p < 0.05$.

Fig. 2. Injection-Irradiation Interval and the Effects of MEA (2 mmol/kg) on Skin Injury of 4000 R Soft X-Irradiated Mice

■: head, □: dorsum.

a) Protective potency on skin injury is rated by score of maximum injury in 40 days after irradiation.

物質であり、著者らも致死線量の X 線照射に対する延命効果を確認し、¹⁸⁾ 延命効果^{19,20)} あるいは体重減少防止効果²¹⁾ を指標とした放射線障害防護薬剤のスクリーニング法の検討に際して標準品として用いてきた。そこで本報においても皮膚障害に対する防護薬剤を開発するため生物試験法の標準品として MEA を使用した。本報の照射条件に対しても MEA は明らかな皮膚障害防護効果を示し、投与量は延命効果を示す場合と同様に最大投与量でもある 2 mmol/kg が最も高い防護効果を示すことを認めたので照射線量あるいは投与時期と効果の関係は 2 mmol/kg の投与量で検討した、また MEA は毛のうを防護することより放射線による毛の再生遅延を緩和することが認められているが、¹⁶⁾ 本実験においても皮膚障害の症状を軽減するだけでなく、障害の発現時期と最大の症状を示す時期を遅延することが認められた。

肉眼的に観察が可能な表皮の変化は一般に照射後 14 日以降に見られ、²²⁾ 皮膚障害の発現時期は感受性の最も高い基底細胞が上皮組織に分化、置換する時間と一致していると考えられている、⁹⁾ しかし線量の増減によりこの分化速度が著しく変化することも認められており、^{5,8)} 著者ら¹¹⁾ も軟 X 線 2400—12000 R の間では発現時期は線量に反比例することを認めている。このことから MEA の障害の発現時期と最悪時期の遅延効果も明らかな防護

III. 投与時期と皮膚障害防護効力の関係

軟 X 線 4000 R 照射マウスに対し、MEA 2 mmol/kg を照射前 240 min から照射後 30 min までの種々の時期に腹腔内投与した場合の投与時期と皮膚障害防護効力の関係を Fig. 2 に示した。この場合の皮膚障害防護効力は薬物投与群と対照群の最大スコアより算出した。

頭部に対しては照射前 60, 30, 5 min に、また、背部に対しては照射前 30, 5 min に強い防護効力が認められ、最適投与時期は照射前 30—5 min であることを認めた。

考 察

MEA はその放射線障害防護作用について、Herve, Bacq¹²⁾ により報告されて以来、効力が顕著であることから、現在も防護物質の標準品として考えられている

18) 篠田雅人, 岡 孝己, 後藤百子, 篠原直美, 玉置文一, 赤星三弥, 薬誌, **88**, 271 (1968).

19) 篠田雅人, 清水節子, 玉置文一, 赤星三弥, 薬誌, **88**, 1031 (1968).

20) 篠田雅人, 太田節子, 早瀬幸俊, 薬誌, **98**, 397 (1978).

21) 篠田雅人, 清水節子, 高木良成, 赤星三弥, 薬誌, **92**, 437 (1972).

22) C.W. Wilson, *Brit. J. Radiol.*, **31**, 100 (1958).

効果の1つとみなされるが、この効果を測定するには本実験のような障害発現時期から回復期までの観察が適当である。

また、MEAの投与量と皮膚障害の間には、頭部で照射後21日目 $Y=11.0X-29.0$, 25日目 $Y=20.8X-54.8$, 背部では25日目 $Y=15.5X-37.4$, 28日目 $Y=23.4X-54.9$ に有意な直線関係が認められるが、投与量と最大スコアの間にも頭部で、 $Y=27.4X-71.3$, 背部では $Y=24.0X-60.8$ と有意な直線関係が認められ、薬物の症状軽減効果を見るには照射後一定期間の薬物投与群と対照群の平均スコアから求めた防護効力よりも、各群の40日間の最大スコアの平均から算出された防護効力の方が遅延効果による最悪時期のずれが考慮され、より厳密な効力判定になり得ると考えられる。

X線照射後の皮膚の毛の再生率あるいは毛の形成障害を指標とした場合のMEAのDRF (Dose reduction factor) は1.7¹⁷⁾ あるいは1.5²³⁾ と報告されており、Burlin, *et al.*,¹⁶⁾ による50 kVp 軟X線を使った場合の毛の再生に対するMEAのDRFは1.8であった。本実験におけるMEAのDRFはFig. 1より最も近似した障害曲線を示すMEA投与群と対照群の線量比より求めると頭部1.8, 背部1.5であり、これらに類似した値を示した。

MEAの延命効果の発現は照射前投与に限られ、²¹⁾ 特に軟X線に対しては照射前5min投与が著しく高い防護効果を示し、照射前30min投与では効力の著しい減退を認めているが、²⁰⁾ 皮膚障害防護効果は照射前5—30min投与で有効であるばかりでなく、照射後投与の場合にも弱いながら効果が認められた、皮膚障害に対するMEAの有効投与時期については大部分の報告^{17,22,24)} が照射前15min以内に投与した場合について検討されているが、照射後投与で効力の認められた報告もあることから、¹⁴⁾ MEAの放射線皮膚障害に対する作用機序と延命効果を示す作用機序に差異のあることが考えられる。

以上の結果から放射線障害防護薬剤の効力を検定する場合の指標として一般的に適用されている延命効果と比較して、脱毛を中心とした皮膚障害を指標とした効力試験は同程度の感度で有効であり、さらにこの場合、使用動物に対し、致死、採血あるいは生検などの負荷を与えず、また取扱いの容易な軟X線の特徴を生かした簡易なスクリーニング法として好適であると考えられる。

結 語

MEAを用いて軟X線照射によるマウスの皮膚障害を指標とする放射線障害防護薬剤の効力試験法を検討した結果、照射線量4000—7000 Rの範囲でMEAの有意な防護効果が認められ、30 kVp, 10 mA, 距離40 cmの条件で照射後、40日間の観察により得られたスコアに基づいて算出された皮膚障害防護効力から放射線皮膚障害に有効な薬物の判定が可能であることを認めた。

23) F.D. Malkinson, M.L. Griem, D.M. Phillips, P.H. Morse, *Radia. Res.*, **19**, 324 (1963).

24) V. Smoliar, *Int. J. Rad. Biol.*, **7**, 145, (1963).