

氏 名 ( 本 籍 )                    おお                    た                    せつ                    こ  
太                    田                    節                    子

学 位 の 種 類                    薬                    学                    博                    士

学 位 記 番 号                    薬                    第                    1 1 5                    号

学 位 授 与 年 月 日                    昭 和 5 0 年 1 2 月 1 0 日

学 位 授 与 の 要 件                    学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

学 位 論 文 題 目                    放 射 線 防 護 薬 剤 の 効 力 試 験 法 の 検 討 お  
よ び 各 種 薬 物 の 効 果

( 主 査 )

論 文 審 査 委 員   教 授   鶴   藤                    丞   教 授   小   澤                    光

教 授   橋   本   嘉   幸

## 論文内容要旨

原子炉、放射線発生装置、放射性物質などが各方面で幅広く活用されるに伴って、放射線に被曝する機会も急増し、作業従事者の放射線障害が問題化され、また医学の分野では癌の治療の一手段としての放射線療法は重要な位置を占めているが、放射線によって癌細胞を根絶させるために必要な線量は周囲の正常細胞をも同時に損傷することが多く、このことが癌の完全治癒を妨げている。従ってこれらの放射線障害を軽減するために有効な放射線防護剤の早急な開発が望まれているが、直ちに臨床面で応用できる程、副作用が少なく、効力の強い防護薬剤はまだ発見されていないのが現状である。

広義の放射線防護薬剤は予防薬剤は予防薬剤、治療薬剤、体内汚染排除剤の3種に分類されているが、本実験では照射前に投与することにより、生体の放射線感受性を低下させ、外部被曝から防護する目的の予防薬剤、すなわち狭義の放射線防護剤について検討した。

放射線防護薬剤の研究は様々な方法で多くの化合物の効力が検討されているが、実験動物、実験方法、効力の判定法が一定していないために、その効力を相互に比較することは非常に難しく、開発の妨げになっている。

著者は一回の実験に多数の動物数を使えるマウスと一日数回の採血に耐えられるウサギを用いて、放射線による致死、体重および臓器重量の減少、末梢血球数の変動等の生物学的障害と照射線量の相関関係に注目し、さらに、代表的な防護薬剤といわれている化合物を標準品として、これらの障害に対する防護効果を測定することにより、放射線防護薬剤の効力試験法を検討した。

X線照射マウスに対する延命効果を指標とした効力試験法については防護薬剤の標準物質としてAET(S-2-aminoethyl isothiuronium)とMEA(cysteamine; 2-mercapto ethylamine-HCl)を選び、X線600-900Rを照射して、照射後90日間観察し、効力試験に適する諸条件を検索した結果、マウスの生存率を指標として効力試験をおこなうには、照射後約2週間で対照群のマウスの全部が死亡する線量(700~900R)を照射し、対照群の生存率が0%になった時期における薬剤投与群の生存率を測定することが適しており、また、マウスの生存期間を指標として防護薬剤の効力試験を行なうには、対照群の平均生存日数が約10日を示す線量(700~800R)を照射し、照射後30日間の平均生存日数を測定し、対照群と比較してつぎのごとく生存防護効力を算出することが適当であることを認めた。

$$\text{生存防護効力} = \frac{(\text{X線照射+薬剤投与})\text{群}30\text{日間平均生存日数}}{\text{X線照射群}30\text{日間平均生存日数}}$$

X線照射による体重減少を指標とする効力試験法については、線量が400~600Rの範囲で照射後2週間の体重変動率を測定することにより、体重減少に対する有意な防護効果が認められ、

AET, MEA の投与量と効力の間には有意な直線関係を示すことも生存率を指標とする場合と一致しており、効力試験法として可能であることを認めた。

$$\text{体重防護効力} = \frac{(\text{X線照射+薬剤投与}) \text{群 2週間後体重変動率}}{\text{X線照射群 2週間後体重変動率}}$$

放射線による死因は照射線量により異なるが、本実験で扱う線量 200~1000Rの間では骨髄死によるものと考えられている。また体重減少の起る原因についてはまだ十分に解明されていないが、粘膜組織の損傷にともなう飼料摂取量の減退とともに各種臓器中の水分の漏出が大きな原因と考えられている。そこでマウスにX線 50~600Rを照射し、照射後30日間の各種の臓器重量の変化を測定した結果、脾臓と胸腺は照射後3日付近まで急激な重量減少が起り、以後は回復するのに対して睪丸は、照射後7日付近から徐々に重量減少が起り、30日後まで続した。また、これらの臓器重量の減少反応は照射線量と有意な直線関係にあるが、これに対して、精囊、顎下腺、腎臓には特異的な影響が認められなかった。そこで、化学的構造に特徴があり、それぞれの系列の代表的な防護薬剤と考えられるAET, MEA, serotonin, epinephrine およびEt-isothiourreaを用いて防護効果を測定したが、いずれの化合物も無効であり、致死量の放射線に対して発現するこれらの薬物の作用機序ではX線照射によっておこる脾臓、胸腺、および睪丸の特異的な重量の減少を防止し得ないことが明らかとなった。また、臓器重量変化を指標として放射線防護薬剤の効力試験をおこなうことは困難であることが判明した。

放射線による末梢血球数の変動は造血機能障害を鋭敏に伝える最良の臨床的指標の一つであるといわれている。そこで末梢血球の中でも特に感受性の高い白血球におよぼすX線の影響を検討するために、ウナギに200~800RのX線を照射した結果、末梢白血球のうち、顆粒球は照射直後に一過性の増加を示したのち減少し、3日後附近で最低値に達し、10日後附近で一時的な回復を示すが、ふたたび減少し、20日後附近から徐々に回復した。また10日後附近の一時的な回復は照射線量と相関関係にあることを認めた。無顆粒球は線量の多少にかかわらず照射直後から急速に減少し、30日後もまだ回復しなかった。また、部分照射により、白血球減少の誘発部位の推定をおこなったが、影響力は、全身>腹部=頭部>胸部の順であり、白血球減少の発現は身体の特定の部位にのみ限定することはできないことを認めた。

X線 200~800R照射したウサギの白血球減少に対するAET, APT(S, 3-aminopropyl isothiuronium Br. HBr), MEA およびT-4CA(Thiazolidine 4-carboxylic acid)の防護効果を検討した結果、顆粒球の減少に対してAETが有効であることを認めたが他の薬剤はいずれもほとんど無効であった。

以上の結果から現段階で最良の効力試験法と思われる生存率および体重減少を指標とした放射線防護薬剤の効力試験法により、AET関連化合物2.9種、MEA関連化合物1.7種、その他の

含イオウ化合物 4 7種、およびインドール誘導体 4 3種について、防護効力と毒性を測定し、化学構造と防護効力の関係ならびに実用化への可能性を検討し、次のような知見を得た。

AET関連化合物ではN-またはN'-アルキル置換誘導体のうち、N-Me-AETとN'-Me-AETはAETと同等の効力を示すが、他のAET型化合物はいずれもAETより効力が減少した。化学構造上、グアニジン転位の不可能なN-diMe-置換化合物には効力が認められず、N, N'-diアルキル置換によりAETはその効力を消失した。また、AETとGED (guanidinoethyl disulfide) はほぼ同等の効力を示すが、N, N'-アルキル置換化合物はそのいずれか一方の型の化合物のみに効力が認められ、グアニジン転位と防護効力発現との間に強い相関関係が存在することは結論出来なかった。また、2-AT (2-aminothiazoline) 型化合物は一般的に弱いながら効力の認められるものが多かった。

MEAは基本骨格はN-C-C-Sで表わされ、酸性基と塩基性基が炭素原子2個または3個を隔てて存在することにより、体内で安定な5員環または6員環を形成しやすく、これが効力発現に深く関係していると考えられている。そこでMEAを中心として、SH基、NH<sub>2</sub>基を他の基で置換した場合の化学構造と効力の関係を比較した結果、MPA (3-mercapto propylamine ; homocysteamine) はMEAに近い防護効力が認められ、SH基がSSO<sub>3</sub>H基に置換したりあるいは2分子がS-S型に結合しても効力には著しい変化が認められず、またNH<sub>2</sub>基は他の置換基が結合しても効力の存続することが認められた。さらに5員環、6員環の環状結合を形成しても効力が持続することを認めた。

類似した防護機構で効力を発揮すると考えられているAETとMEAを併用すると、毒性が軽減され、単独投与の場合の最大投与量を同時に投与することが可能となり、著しく高い防護効果の得られることを認めた。

AET系あるいはMEA系以外のSH基をもつ化合物の中でcysteineはNH<sub>2</sub>基、SH基の他に、COOH基をもってもり毒性が低く防護効力も認められているが、このCOOH基とNH<sub>2</sub>基は効力発現に必須のものではないことを認めた。またSH基は遊離している必要があると考えられるが、S-sulfo cysteineやmethionineのような例外もあり、その他のSH基が遊離している化合物では、BAL (2,3-dimercapto-1-propanol) と2-mercapto-benzothiazolにのみ効力が認められ、SH基の存在だけでは防護効力が発揮されないことを認めた。チオ尿素類の毒性はph-thioureaを除いて著しく低く、イソチオ尿素類はいずれも強い毒性が示された。しかし、イソチオ尿素類は低用量で強い効力が認められることから、実用化の可能性が大きい。チオ尿素、イソチオ尿素類は大部分の化合物に防護効力が強く認められ、効力発現のアミノ基を必要としないことを認めた。その他の含イオウ化合物では、di-Me sulfoxide, Na-diMe-dithio carbamate, Na-diEt-dithio carbamateが有効であった。結局、4 7

種の含イオウ化合物のうち、22種の化合物に防護効力が認められたが、化学構造と生存防護効力、あるいは毒性と防護効力との間に一定した関係は認められなかった。

インドール化合物には水に難溶性のものが多いため、有効投与時期についても併せて検討した。インドールおよびインドリンを基本骨格として、その1,2,3,および5の位置に種々の置換基の入った化合物について検討した結果、tryptamine およびその誘導体に防護効力の認められるものが多いが、3位の側鎖が aceto-nitrile, thioacetamide, 2-aminothiazoline, あるいは2位の側鎖が MEA の誘導体および 2-indoline thione 型の化合物にも有効なものが見出された。また、インドール核の側鎖に有効な含イオウ化合物を結合させると、有効投与時期が著しく延長することを認めた。

以上の結果から毒性 ( $LD_{50}$ ) と有効投与量の関係を考慮すると、AET, GED, MEA, AED, 2-AP, thio urea, Me-thio urea, ethylene-thio urea, Me-iso thio urea, Et-iso thio urea, serotpnin, 3-acetonitrile, 5-hydroxy tryptophan, 5-methoxy tryptophan, thio acetamide, N-[2-(3-indolyl ethyl)]-2 phenyl thioacetamide 等が、また有効投与時期が照射前2~4時間と著しく長くなる 2-indolinethion, および水溶性の 2-(2-dimethyl amino ethyl thio) indole, 1-Me-(2-dimethyl amino ethyl thio) indole, 等が実用性の高い有望な化合物であることを認めた。

従来の標準的な 200KVp のX線と線質を異にする 30~70 KVp の軟X線に対するウサギおよびマウスの感受性を検討した結果、70KVp, 10mA, 10mm のフィルタを用いた照射条件で 200KVp のX線と同程度の影響が認められ、そのRBEは約0.5であった。また、末梢白血球数を指標とする効力試験には 500 R が適線量であり、生存率、体重変動率は 500~2000 R, 250~2000 R の範囲でそれぞれ有意な相関関係を示すことを認めた。

## 審査結果の要旨

本研究は動物実験により放射線照射前に生体に投与して生体の放射線感受性を低下させ外部被曝から生体を防護する目的で使われる薬剤の試験法を標準化し、多数の化合物についてその試験法を適用した結果いくつかの有効な薬剤を発見したものである。

主題の試験法としては放射線照射後のマウスの延命効果、体重減少の防護効果、臓器重量変化の予防効果、ウサギの末梢白血球に対する放射線作用の防護効果についてその信頼性、再現性、忠実度を詳細に検討した。結果として、臓器重量の減少についての防護効果を指標とする方法やヒトにおける臨床的診断法として重視されている末梢白血球の減少に対する防護効果を指標とする方法はいずれもマウスの生存率および体重減少を指標とする方法に比べて著しく感度が悪く、効果的な方法でないことを知った。マウスの生存期間を指標とする方法についても検討したが、総合的判定として、マウスの生存率の改善および体重減少の防護効果を指標とする方法が最も有利であるとの結論に到達した。

このようにして標準化した試験法によってAminoethylthiuronium関連化合物29種、Mercapthoethylamine 関連化合物17種、その他の含イオウ化合物47種および、インドール誘導体43種について、それらの防護効果と毒性とを測定した。その結果判明したことは次のとおりである。

AET関連化合物としてはN-methyl-AETとN'-methyl-AETがAETと同程度の効力を有することを発見した。Guanidinoethyl disulfideもまたAETと同程度の効力を示した。MEA関連化合物としては3-mercapto propylamineはMEAに近い効果を示した。AETとMEAの併用によって毒性が減弱し、単独投与の場合の最大投与量をそれぞれ投与することが可能となり著しく高い防護効果がえられることを発見した。

MEAおよびAET以外のSH化合物に関しては、イソチオ尿素類が注目すべき特性を持つことが判明した。それはこの系列の化合物はいずれも毒性が高いが一方では低用量でも強い放射線防護効果が認められたことである。これは将来の実用化の可能性が大きいものと考えられる。インドール化合物のなかではtryptamineおよびその誘導体に防護効果の認められるものが多いこと、またインドール核の側鎖に有効な含イオウ化合物を結合させると有効投与時期が著しく延長することを明らかにした。

以上本研究は放射線防護薬剤の研究に新しい知見を附与したものであって薬学の進歩に貢献する研究であって、薬学博士の学位を授与するに値するものと判定した。