

ウラン体内投与, 放射線外部照射ならびに その二重負荷に関する実験的研究

第 2 編

二重負荷に対する Ca-EDTA, Cysteine の防護効果について

岡山大学医学部大学院医学研究科 (主任: 大平昌彦教授)

藤 井 良 雄

〔昭和40年12月28日受稿〕

目 次

第1章 緒 言	第3項 実験項目
第2章 実験方法	第3章 実験結果
第1項 実験動物	第4章 考 察
第2項 二重負荷処理方法ならびに Ca-EDTA, Cysteine の投与方法	第5章 結 論

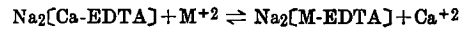
第 1 章 緒 言

第1編において, 原子燃料産業, 特にウラン鉱採から粗精錬工程における健康管理上問題となる Uranium の内部摂取および外部被曝による障害を前提として, 実験的に障害の医学的指標となり得る各種の医学的検査に検討を加えた。そして Uranium が腎臓毒であり, γ 線照射が血液像に影響を及ぼし, この両者を同時に動物に与えた場合, 特に腎臓障害の直接死因となる尿毒症の招来を促進することを示した。このような障害に対して化学的防護の可能性を検討する目的で本実験を行ったものである。使用薬剤としては, 以下に述べる理由により Ca-EDTA および Cysteine を選んだ。

すなわち, 各種重金属類と強力にキレートすることが知られている Ethylene diamine tetraacetic acid [EDTA] は, 1945年 Schwarzenbach¹⁾ により合成されて以来, 分析化学, 生物化学の分野に広く応用されている。治療医学の面では Abeshouse²⁾ が尿路結石に結石溶解剤として使用して効果ありと報告し, 又重金属, 特に鉛中毒^{3) 4)}, 鉛中毒以外の重金属中毒^{5)~11)}, 更には放射性金属^{12) 13)} などの尿中排泄を促進する作用があると報告されている。

Uranium 中毒に対する作用については, Dagirmanjian ら¹⁴⁾ は Ca-EDTA による効果を追求し,

Uranium 体内投与後, 短時間の内に Ca-EDTA を与えたものに死亡率の低下が見られると報告し, Uranium 投与前の Ca-EDTA は無効であるとしている。そして, その作用機序として Uranium の排泄を促進せしめ, 骨組織などに対する沈着 Uranium に対しては直接変化を与えないとしている。又, Ca-EDTA の特性として soluble stable chelate であり, 排泄が早く, 毒性の少いことなどを挙げている。Ca-EDTA は次の如き交換反応を起こし,



生体内で生成した $\text{Na}_2[\text{M-EDTA}]$ は血清によく溶けて, 次いで尿中に運び去られる。生体にとつて全く異物である Ca-EDTA の重金属に対する解毒機構はこの chelate 生成によつて生体から侵入重金属を抜き出す能力に依存していると考えて良いであろう。一方 Ca-EDTA の放射線防護効果については, Alexander ら¹⁵⁾ は比較的強い放射線防護作用を認め, その作用機序としてその構造の中に有する electron donating group の役割を重視している。

Cysteine の電離放射線に対する保護効果については著者の属する教室の大平^{16) 17)} によつて既に詳細に確認・報告されてきたが, これを歴史的に眺めるならば, 1949年 Patt ら¹⁸⁾ はラットに 875 mg/kg の割で Cysteine を照射前に注射しておく, 800 γ 照射で対照群が7%しか生存しないのに, 注射群では

7週間目で80%も生存することを報告した。この報告はその有効性とともに関心強く認識されてきた間接作用の解釈における HO , HO_2 , H_2O_2 などの寄与を説明するのに役立つ。つづいて Smith¹⁹⁾, Patt²⁰⁾ らは一連の実験において、Cysteine は照射後投与した場合は全く無効であることを確かめた。又、種々な X線量を照射した実験で照射した線量による影響が Cysteine で保護される割合、すなわち線量低下率 Dose-Reduction-Rate がかなり広い範囲の照射線量にわたってほぼ一定であること、致命率だけでなく X線によるリンパ球減少、顆粒細胞減少、脾臓退縮なども保護されることを報告した。動物に Cysteine を注射すると、血中酸素濃度が低下するという若林²¹⁾ および Charler など²²⁾ の実験は SH物質による保護作用と酸素欠乏症による保護作用の両方は互に深く関連していることを示している。一方、Cysteine の chelating agent としての作用は、Cysteine が S と N, 或いは O と N により二重配位子として多くの金属とキレート化合物をつくることが知られている。Bellin¹³⁾ は ^{60}Co の体内分布を諸種のキレート剤による体内排泄、特に尿中排泄について報告し、EDTA が最も促進し、96.3% を尿中に排泄し、次いで Cysteine 88.1%, BaL, Oxine となることを述べている。

従つて上述の如く、Ca-EDTA, Cysteine が放射線防護に寄与するとともに、Uイオンと結合して安定した形で速やかに尿中排泄を促進するものとすれば、著者の採用した二重負荷に対し特に効果的であるのではないかと予想された。

以上述べた着想のもと、Uranium および γ 線照射の二重負荷による障害の防護方法の効果に関し、実験を進めたものである。

第2章 実験方法

第1項 実験動物

C₅₇BL マウス雄 体重 (22.0~27.0g)

家兎雄 体重 (2.30~2.70kg)

飼育条件は、第1編と同様飼育方法によつた。

第2項 二重負荷処理方法ならびに Ca-EDTA, Cysteine の投与方法

Uranium 源として Uranyl Nitrate Hexahydrate $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を 5% glucose 溶液にて希釈使用。 γ 線源としては ^{60}Co により、使用装置は東芝製 RI-107-2 型回転治療装置を用いた。線源は 2000 キ

ュリーであり、動物焦点間距離 110 cm で照射線量率は 25.6 γ /hr である。厳密を期すために照射毎に Victreen Condensor-r-meter で線量を検定した。投与量は第1編に述べた如く、LD₅₀ 量を規準とした。すなわちマウスでは 10 mgU/kg, 家兎では 0.2 mg U/kg であり、 γ 線照射ではマウス 650 γ , 家兎 800 γ である。

使用薬剤としては、Ca-EDTA は同仁薬化製 Calcium disodium ethylenediaminetetra acetic acid を用い、2%水溶液を作製使用、Cysteine は片山化学製 L-Cysteine Hydrochloride を使用、2%水溶液を作製使用した。

C₅₇BL マウスでは、10mgU/kg 腹腔内注射後 650 γ 照射、家兎では、0.2 mgU/kg 静脈内注射後 800 γ 照射を全実験動物に行い、更にその前後に Cysteine, Ca-EDTA 処理を施した。すなわち前述 Cysteine および Ca-EDTA とともに 2%水溶液を作製、Cysteine は処理前 10~15分に、Ca-EDTA は処理後 2時間に、マウスでは腹腔内、家兎では静脈内に注射した。

C₅₇BL マウス雄では、1. 薬剤無処理群すなわち対照群 (以下 C 群と略称する)、2. Cysteine 100mg/kg 注射後 10mgU/kg 腹腔内注射 + 650 γ 照射群 (CY I 群)、3. Cysteine 200mg/kg 注射後 10mgU/kg 注射 + 650 γ 照射群 (CY II 群)、4. Cysteine 400mg/kg 注射後 10mgU/kg 注射 + 650 γ 照射群 (CY III 群)、5. 10 mgU/kg 注射 + 650 γ 照射後 Ca-EDTA 100 mg/kg 注射群 (ED I 群)、6. 10 mgU/kg 注射 + 650 γ 照射後 Ca-EDTA 200mg/kg 注射群 (ED II 群)、7. 10mg U/kg 注射 + 650 γ 照射後 Ca-EDTA 400mg/kg 注射群 (ED III 群)、8. Cysteine 100 mg/kg 注射後 10 mgU/kg 注射 + 650 γ 照射後 Ca-EDTA 100 mg/kg 注射群 (CY I + ED I 群)、9. Cysteine 200mg/kg 注射後 10mgU/kg 注射 + 650 γ 照射後 Ca-EDTA 200 mg/kg 注射群 (CY II + ED II 群)、10. Cysteine 400 mg/kg 注射 + 650 γ 照射後 Ca-EDTA 400mg/kg 注射群 (CY III + ED III 群) の 1 群 10 匹ずつ 10 群とした。

家兎においては、1. 薬剤無処理群すなわち対照群 0.2mgU/kg 注射 + 800 γ 照射群 (以下 C 群と略称する)、2. Cysteine 50 mg/kg 注射後 0.2 mgU/kg 注射 + 800 γ 照射群 (CY 群)、3. 0.2 mgU/kg 注射 + 800 γ 照射後 Ca-EDTA 50mg/kg 注射群 (ED 群)、4. Cysteine 50 mg/kg 注射後 0.2 mgU/kg 注射 + 800 γ 照射後 Ca-EDTA 50 mg/kg 注射群 (CY + ED 群) の 1 群 3 匹ずつの 4 群とした。

ここで著者の採用した薬剤投与量による毒性を検討するために以下の予備実験を行った。すなわち，前記薬剤を用い，C₅₇BL マウス雄においては，1. 無処理群，2. Ca-EDTA 100 mg/kg 注射群，3. Ca-EDTA 400mg/kg 注射群，4. Ca-EDTA 1000mg/kg 注射群，5. Cysteine 100mg/kg 注射群，6. Cysteine 400mg/kg 注射群，7. Cysteine 1000mg/kg 注射群，8. Cysteine 100mg/kg 注射 + Ca-EDTA 100mg/kg 注射群，9. Cysteine 400 mg/kg 注射 + Ca-EDTA 400mg/kg 注射群の1群5匹ずつの9群とし，注射はすべて腹腔内とし，死亡率ならびに腎組織像を検した。

家兎においては，1. 無処理群，2. Ca-EDTA 100 mg/kg 注射群，3. Cysteine 100mg/kg 注射群，4. Ca-EDTA 100mg/kg + Cysteine 100mg/kg 注射群の4群に分け，注射はすべて静脈内とし血液像・尿蛋白を検した。

マウスにおいては 100 mg/kg，400 mg/kg，1000 mg/kg 腹腔内注射のいずれの群においても30日に死亡例はない。Cysteine 投与群では 1000mg/kg 注射群においても肝，腎に病的所見は認められない。Ca-EDTA 投与群では 100 mg/kg，400 mg/kg 投与群では所見なく，両者の 100mg/kg，400 mg/kg 併用群においても変化は認められない。Ca-EDTA 1000 mg/kg 投与群において，腎の中枢位尿管に巨大空胞の形成，細胞膜の破壊を伴う水様変性が認められた。肝には特別の所見はない。

家兎においても，尿蛋白は証明されず，血球数においても対照群とほとんど差が認められず，薬剤の影響は認められない。

以上の結果により，著者が本実験に採用したマウスにおける 400 mg/kg およびそれ以下の量，又家兎における 50mg/kg では薬剤自身による影響は無視し得ると考えられる。

第3項 実験項目

第1編に準拠して行った。すなわち，

- i) 生存率
 - ii) 体重，腎重量ならびに組織像
- 以上，マウスにおいて検した。
- iii) 血液像ならびに血液動態

家兎において検した。

検査項目は第1編に述べたのと同様であるが，特に血液 catalase 活性，血清蛋白量，血清アルカリ性 phosphatase は第1編に述べた UR 群 (0.2 mg

U/kg 注射後 800 γ 照射の二重負荷群) においても著明に反応しなかつたのでここに除外した。

- a. 赤血球白血球数
- b. リンパ球数
- c. 血清酸性 phosphatase
- d. 血清 creatinine
- e. 血液残余窒素
- f. 尿蛋白
- g. 尿 catalase 活性
- h. 尿中ウラン

第3章 実験結果

I) マウス生存率

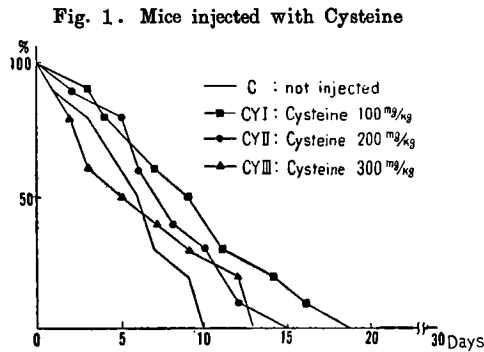
C₅₇BL マウス雄における Uranyl Nitrate 腹腔内注射と ⁶⁰Co source による γ 線照射の二重負荷に対する Cysteine および Ca-EDTA の防護効果を生存率において見たのが図 1. 2. 3 である。

図1において，Cysteine の効果を検した。C群 (10mU/kg 注射+650 γ 照射群) では処理後1日目より死亡を開始し，6日目には生存率50%となり，10日目には全例死亡する。CY I群 (Cysteine 100mg/kg 注射後 10 mgU/kg 注射 + 650 γ 照射群) では9日目に50%，11日目に30%となり，19日目には全例死亡した。CY II群 (Cysteine 200 mg/kg 注射後 10mgU/kg 注射+650 γ 照射群) では7日目に生存50%，10日目30%となり，15日目に全例死亡する。CY III群 (Cysteine 400mg/kg 注射後 10mg/kg 注射 + 650 γ 照射群) では5日目に50%，9日目に30%となり，13日目に全例死亡する。CY I群でわずかに延命効果が認められた。

図2において Ca-EDTA の効果を検した。C群は図1と同一群である。ED I群 (100 mgU/kg + 650 γ 照射後 Ca-EDTA 100mg/kg 注射群) では9日目に50%，10日目に30%となり，14日目に全例死亡する。ED II群 (100 mgU/kg + 650 γ 照射後 Ca-EDTA 200 mg/kg 注射群) では8日目まで死亡なく，14日目50%，22日目20%となり，以後30日まで死亡なく，30日生存率は20%である。ED III群 (100 mgU/kg + 650 γ 照射後 Ca-EDTA 400mg/kg 注射群) では8日目50%，14日目20%となり，21日目に全例死亡する。マウス生存日数は ED I群，ED III群，ED II群の順に延長をみせ，特に ED II群では Ca-EDTA の延命効果が認められた。

図3に Cysteine と Ca-EDTA の併用効果を示し

Fig 1. 2. 3.
Survival ratio of C57 BL mice
(10mgU/kg+650γ : doubly stressed)
treated with Cysteine, Ca-EDTA



た。CY I + ED I 群 (Cysteine 100mg/kg 注射後 10 mg/U/kg 注射 + 650γ 照射後 Ca-EDTA 100mg/kg 注射群) では、対照群と略同経過を辿り、10日目に全例死亡する。CY II + ED II 群 (Cysteine 200mg/kg 注射後 10 mgU/kg 注射 + 650γ 照射後 Ca-EDTA 200mg/kg 注射群) では 2 日目に既に 40%, 4 日目に 30% となり、5 日目に全例死亡する。CY III + ED III 群 (Cysteine 400mg/kg 注射後 10mgU/kg 注射 + 650γ 照射後 Ca-EDTA 400 mg/kg 注射群) では 4 日目に 50%, 6 日目に 30% となり、8 日目には全例死亡する。図に見る如く、Cysteine と Ca-EDTA の併用は、それら単独使用時に比して、かえつて短命を招来し、二重負荷による障害を増悪させる如き成績を得た。

II) 腎組織像

マウス腎組織像では、対照群では尿管上皮細胞の変性、石灰化が著明で、Bowman 氏嚢腔内にエオジン好染の蛋白体を証明する。Cysteine 投与群では、組織学的所見として特別に差のあるものは認められず、変性も対照群と略同程度である。Ca-EDTA 投与群では、差のある特別の所見は見られず、変性の程度は前二群に比べ明らかに軽い。Ca-EDTA, Cysteine 併用群も差のある特別の所見はなく、変性の程度も Ca-EDA 投与群と同程度である。

Fig. 2. Mice injected with Ca-EDTA

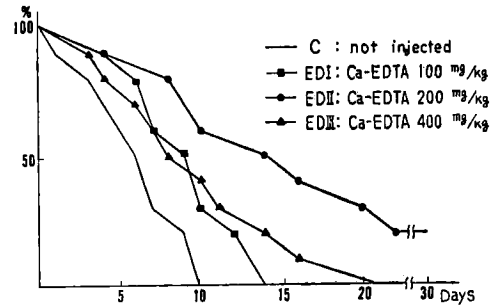
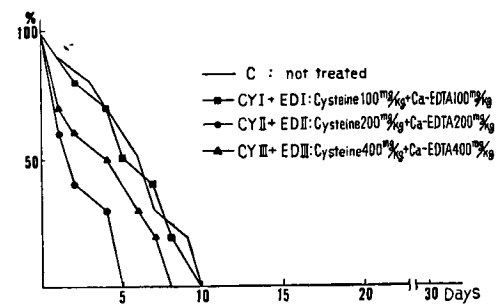


Fig. 3. Mice injected with Cysteine and Ca-EDTA



III) 赤血球数について

結果は表 1, 図 4 に示した。C 群すなわち 0.2mg U/kg 静脈注射後 800γ 照射群では、処理前各個体間では最高値 550 万, 最小値 479 万の間を変動した。処理後は 1 週目頃より漸次減少傾向を示し、11 日目には 440 万, 431 万, 411 万となり、13 日目には 420 万, 579 万, 15 日目には 390 万となる。

CY 群 (Cysteine 50mg/kg 静脈注射後 0.2mgU/kg 静脈注射 + 800γ 照射群) では、C 群と略同様傾向を示し、11 日目 420 万, 468 万, 408 万となり、13 日目に 392 万を示す。

ED 群 (0.2mgU/kg 静脈注射 + 800γ 照射後 Ca-EDTA 50 mg/kg 静脈注射群) では、その消長は C 群, CY 群のそれと略同様傾向を示す。

CY + ED 群では、赤血球にほとんど増減を見ぬまま死に至る。

赤血球数では上記の如く各群間に差が認められない。

IV) 白血球数

結果は表 2, 図 5 に示した。C 群では第 1 日目に一例では 12550 と著明に増加、他の二例では 7125, 8175 とやや増加を示した後、3 日目には著減しそれぞれ 2200, 1375, 1775, 5 日目には 1625, 1175, 850 と低値を続ける。

表 1 家兔赤血球数 C: 薬剤非投与群 ED: Ca-EDTA投与群
 単位は $10^4/mm^3$ CY: Cysteine投与群 CY+ED: (cysteine+ca-EDTA)群

群	ナンバ	処 理 前		処 理 後 日 数								
		3日	1日	1日	3日	5日	7日	9日	11日	13日	15日	25日
C	1	550	527	500	468	490	448	462	440			
	2	479	491	520	510	478	460	442	431	420		
	3	510	508	480	478	460	428	410	411	379	390	
CY	1	527	528	488	470	428	420	398	420	392		
	2	502	521	507	522	487	478	488	468			
	3	482	489	502	480	448	438	420	408			
ED	1	508	510	480	418	461	430	386	370	375	395	423
	2	468	470	438	457	440	441	451	428	390	378	385
	3	440	451	460	430	409	420	400	358	360	350	
CY+ED	1	542	528	508	521	490	478					
	2	470	490	478	472	503						
	3	510	511	521	490	480						

Fig. 4. Red Blood Cell Count (Rabbits)

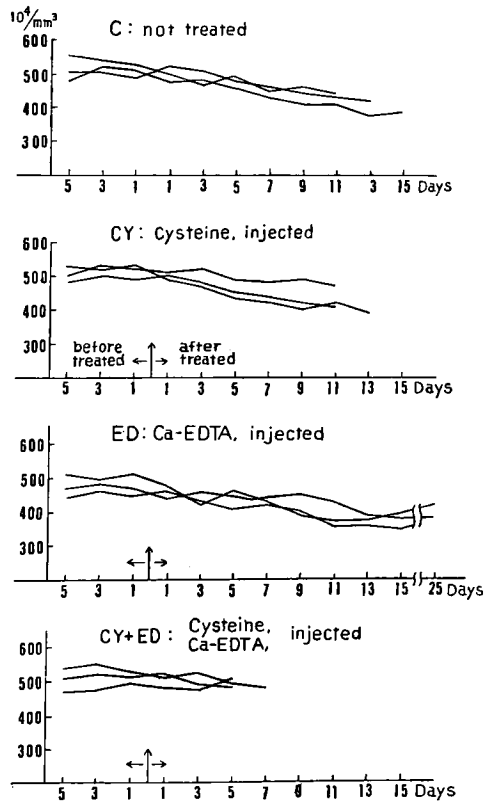


Fig. 5. White Blood Cell Count (Rabbits)

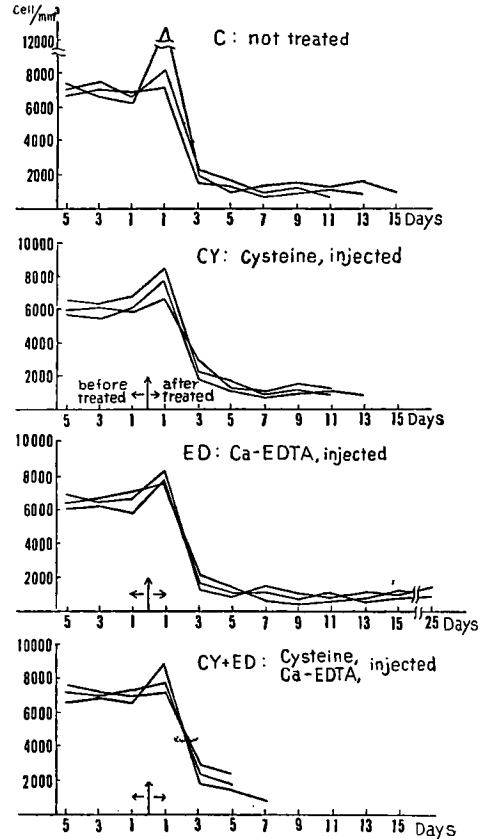


表 2 家 兎 白 血 球 数 C : 薬 剤 非 投 与 群 ED : Ca-EDTA 投 与 群
 単 位 は 個 /mm³ CY : Cysteine 投 与 群 CY + ED : (Cysteine + Ca-EDTA) 群

群	ナン バー	処 理 前		処 理 後 日 数								
		3 日	1 日	1 日	3 日	5 日	7 日	9 日	11 日	13 日	15 日	25 日
C	1	7275	6200	12550	2206	1625	825	1175	625			
	2	6625	6775	7125	1375	1175	575	800	975	825		
	3	7025	6600	8175	1775	850	1200	1425	1225	1425	950	
CY	1	5575	7025	7650	1750	975	600	825	1025	775		
	2	5850	5806	6475	2850	1175	975	1450	1225			
	3	5800	5775	6450	2925	1200	975	1425	1175			
ED	1	6825	6575	6250	1225	775	1375	950	800	1100	950	1250
	2	6350	7050	7575	1575	975	1175	625	1025	600	875	955
	3	6025	5800	7775	1975	1400	575	425	600	7515	1225	
CY + ED	1	6575	6550	8950	1775	1425	825					
	2	7250	7225	7800	1375	1775						
	3	7550	6950	7225	2900	2400						

CY 群でも第 1 日目 7650, 6475, 6450 と若干の増加傾向を示した後, 3 日目には 1750, 2850, 2925 と急激に減少し, 5 日目には 975, 1175, 1200 と低値は続き, 以後増加をみない。

ED 群もその消長は上記の 2 群と同様傾向を示し, 3 日目に急激な減少を示した後低値をとり続ける。

CY+ED 群においても同様に 3 日目に急激な減少を示し速やかに死に至る。

白血球数においても, 赤血球数と同様に各群間にその経過において差が認められない。

V) リンパ球数

結果は表 3, 図 6 に示した。C 群では処理前最大値 2820 である。処理後第 1 日目急激に減少し, 988, 1200, 1705, 3 日目 872, 895, 1210 となり, 以後低値を続ける。

CY 群でも同様に 1360, 1210, 1015 と減少し, 3 日目 1012, 985, 898 となり以後も低値は続く。

ED 群においても 1 日目 1080, 1290, 920 と減少し, 以後低値をとり続け, 25 日に至るも回復をみない。

CY+ED 群においても 1 日目 1210, 1423, 815, 3 日目 723, 560, 320 となる。

リンパ球数においても各群間に差は認められない。

Fig. 6. Lymphocyte Number (Rabbits)

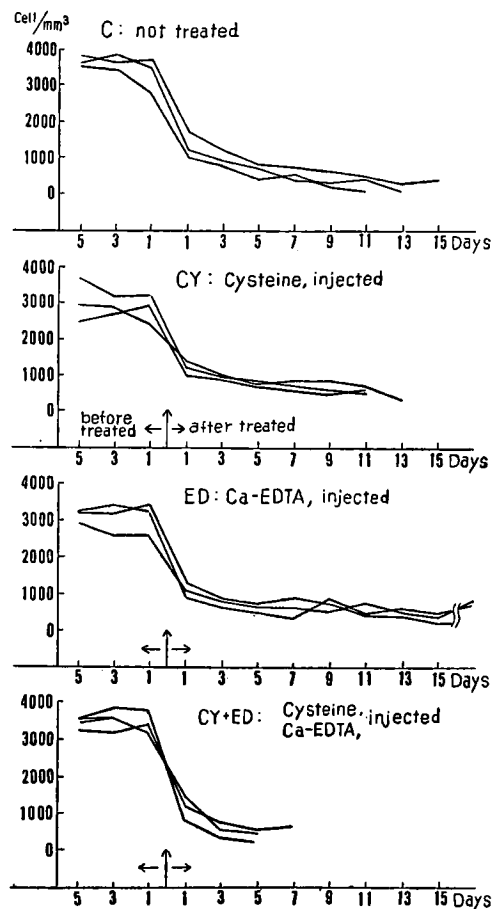


表 3 家兔リンパ球数 C:薬剤非投与群 ED:Ca-EDTA投与群
単位は 個/mm³ CY:Cysteine投与群 CY+ED:(Cysteine+Ca-EDTA)群

群	番号	処理前日数		処 理 後 日 数								
		5日	1日	1日	3日	5日	7日	9日	11日	13日	15日	25日
C	1	3488	2820	988	872	400	505	280	102			
	2	3680	3450	1200	895	703	402	304	395	102		
	3	3800	3704	1705	1210	788	732	610	505	260	389	
CY	1	2915	2486	1360	1012	795	820	822	705	365		
	2	3650	3215	1210	985	866	718	566	507			
	3	2640	2910	1015	898	767	658	518	650			
ED	1	2918	2640	1080	796	658	650	552	712	518	388	840
	2	3200	3450	1290	858	723	848	705	420	550	466	750
	3	3218	3280	920	655	480	362	810	455	402	288	
CY + ED	1	3255	3450	1210	723	585	642					
	2	3452	3190	1423	560	482						
	3	3540	3820	815	320	243						

表 4 家兔酸性 phosphatase C:薬剤非投与群 ED:Ca-EDTA投与群
単位は mM/hr CY:Cysteine投与群 CY+ED:(Cysteine+Ca-EDTA)群

群	ナンバ	処理前日数		処 理 後 日 数								
		5日	1日	1日	3日	5日	7日	9日	11日	13日	15日	25日
C	1	4.80	4.42	4.22	4.78	5.85	8.75	9.25				
	2	4.58	4.15	4.62	4.36	5.24	7.50	9.04	9.58			
	3	5.24	5.22	5.05	4.22	3.82	4.60	5.58	6.43	9.82		
CY	1	5.55	5.58	5.38	4.62	5.38	6.40	7.22	8.58	9.58		
	2	4.42	5.20	4.60	5.30	5.62	7.00	7.84	10.22			
	3	4.20	4.00	5.62	5.00	5.83	6.04	6.82	9.38			
ED	1	5.80	5.50	5.18	5.40	6.00	5.35	4.55	4.75	4.50	5.25	4.82
	2	4.80	5.20	4.75	4.17	4.62	4.80	5.60	5.22	5.40	5.00	5.15
	3	5.20	4.95	4.20	4.60	5.56	4.60	5.00	4.60	3.80	4.05	
CY + ED	1	6.00	5.20	4.58	5.25	5.58	6.18					
	2	5.15	5.95	5.60	5.75	6.38						
	3	5.55	5.75	5.20	4.95	5.40						

VI) 酸性 phosphatase

結果は表 4, 図 7 に示した。C群では5日目頃より 5.85, 5.24, 3.82mM/hr と増加を開始し, 7日目 8.75, 7.50, 4.60mM/hr となり, 以後9日目 9.25 mM/hr, 11日目 9.58 mM/hr, 13日目 9.82 mM/hr とそれぞれ最高値をとり死亡する。

CY群においても5日目より上昇を開始し, 7日目 6.40, 7.00, 6.04 mM/hr, 11日目 8.58, 10.22,

9.38 mM/hr と高値をとるに至る。

ED群では個体間での変動は認められるも著明な増減を示すに至らない。

CY+ED群においてもほとんど増減を示さぬまま死亡する。

VII) 血液 NPN

結果は表 5, 図 8 に示した。C群においては5日目頃より上昇を開始し, 7日目には 124.0, 85.0,

Fig. 7. Serum Acid Phosphatase (Rabbits)

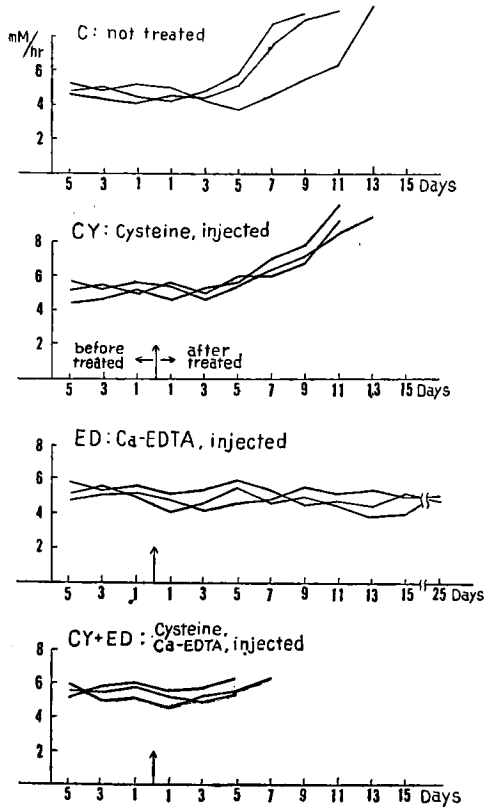


Fig. 8. Blood None Protein Nitrogen (Rabbits)

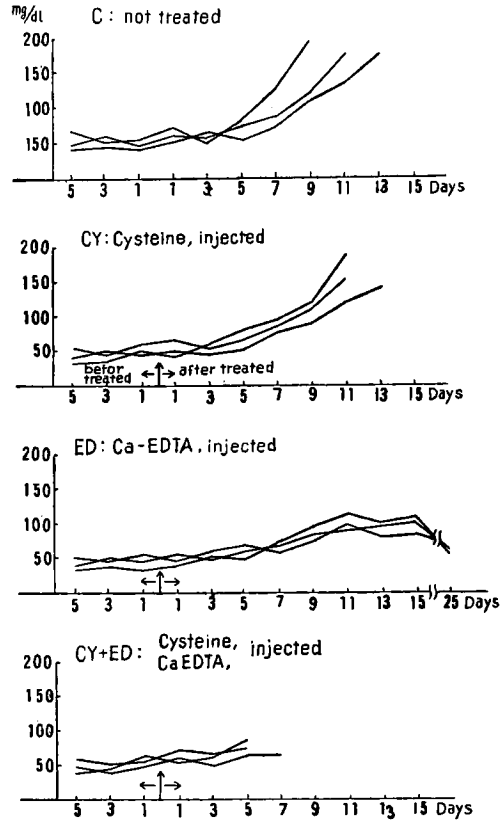


表 5 家兎血液残余窒素 C: 薬剤非投与群 ED: Ca-EDTA投与群
 単位は mg/dl CY: Cysteine投与群 CY+ED: (Cysteine+Ca-EDTA)群

群	ナンバ	処 理 前		処 理 後 日 数								
		3日	1日	1日	3日	5日	7日	9日	11日	13日	15日	25日
C	1	65.0	55.0	69.7	50.0	69.5	124.0	196.0				
	2	45.0	44.5	59.3	55.0	73.5	85.0	120.0	176.0			
	3	38.5	40.0	49.5	64.0	54.5	69.0	108.5	136.0	176.0		
CY	1	39.5	45.0	49.5	44.7	50.0	76.3	89.0	118.0	138.5		
	2	33.5	50.0	43.5	59.5	81.2	93.7	168.0	176.8			
	3	55.0	60.0	64.5	53.7	65.0	84.5	108.8	158.5			
ED	1	39.5	45.0	54.7	48.5	59.5	70.0	84.5	90.0	99.5	108.5	54.5
	2	50.0	55.0	45.0	64.2	69.7	65.0	75.0	97.5	94.0	103.3	62.4
	3	37.8	33.8	39.0	53.5	49.7	72.5	95.6	115.0	80.2	85.0	
CY+ED	1	47.5	49.0	61.0	49.2	64.2	65.0					
	2	38.7	62.4	55.1	58.2	85.0						
	3	56.2	55.0	70.2	65.2	74.5						

69.0mg/dl, 9日目には196.0, 120.0, 108.5mg/dlという高値をとるに至る。

CY群においてはC群と同様に5日目頃より上昇を開始し, 7日目に76.3, 93.7, 84.5 mg/dl, 11日目には118.0, 176.8, 158.5mg/dlという高値をとる。

ED群においては7日目, 9日目頃よりやや上昇を開始し, 11日目90.0, 97.5, 115.0mg/dlとなり, 13日目99.5, 94.0, 80.2 mg/dlとなるも, その増加は前2群に比し緩慢であり, 15日以後低下し, 25日には全く旧に復す。

CY+ED群では死亡時期においても上昇は見られない。

Ⅷ) 血清 creatinine

結果は表6, 図9に示した。Cにおいては3日目より上昇を開始し, 5日目4.20, 3.20, 2.50mg/dl, 9日目8.22, 6.22, 3.98mg/dlと高値をとる。

CY群においても5日目より上昇を開始し, 9日目4.00, 4.63, 4.37 mg/dl, 11日目4.58, 6.94, 6.20mg/dlをとる。

ED群においては, 個個では変動を示しつつも全体として急激な増加を示すに至らず, 9日目2.41, 3.41, 3.18mg/dlは処理前に比べ, やや高値であるが, 前二群に比べて低値である。

CY+ED群ではほとんど増減を示さぬまま死亡する。

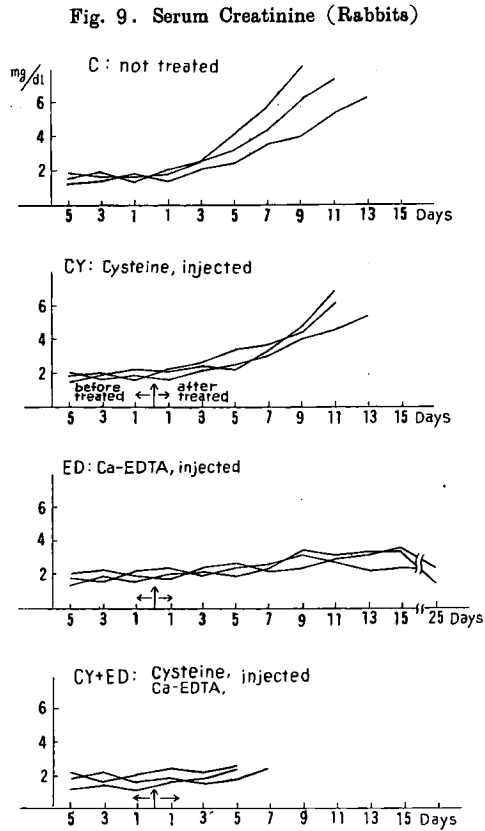


表 6 家兎血清クレアチニン C: 薬剤非投与群 ED: Ca-EDTA投与群
単位は mg/dl CY: Cysteine投与群 CY+ED: (Cysteine+Ca-EDTA)群

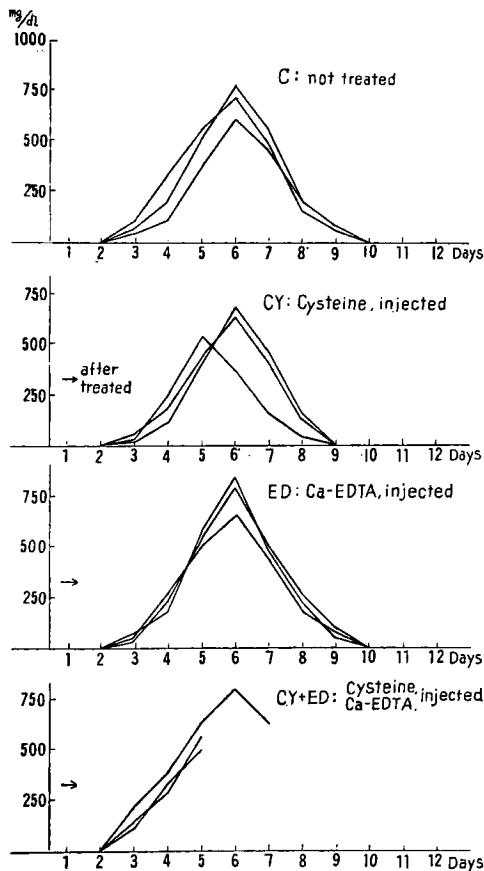
群	ナンバ	処 理 前		処 理 後 日 数									
		3日	1日	1日	3日	5日	7日	9日	11日	13日	15日	25日	
C	1	1.50	1.40	1.82	2.59	4.20	5.80	8.22					
	2	1.50	1.40	2.00	2.40	3.20	4.38	6.22	7.50				
	3	1.20	1.78	1.40	2.10	2.50	3.55	3.98	5.45	6.38			
CY	1	2.00	1.80	1.60	2.15	2.38	2.98	4.00	4.58	5.39			
	2	1.60	2.20	2.02	2.17	2.40	3.20	4.63	6.94				
	3	1.82	3.58	2.26	2.59	5.38	3.58	4.37	6.20				
EO	1	2.00	1.90	1.78	2.38	2.60	2.20	2.41	2.90	3.17	3.58	2.40	
	2	1.70	1.80	2.00	2.20	1.90	2.40	3.41	3.20	3.38	3.40	1.50	
	3	1.80	2.20	2.18	2.00	2.40	2.60	3.18	2.75	2.20	2.40		
CY+ED	1	1.81	1.62	1.89	1.60	1.88	2.40						
	2	2.18	2.02	2.38	2.20	2.58							
	3	1.20	1.25	1.77	1.82	2.18							

表 7 家兔尿蛋白
単位は mg/dl

C : 薬剤非投与群 ED : Ca-EDTA投与群
CY : Cysteine投与群 CY + ED : (Cysteine+Ca-EDTA)群

群	ナンバ	処 理 前 日 数									
		1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	9日	10日
C	1	0	0	45	112	360	610	450	218	0	0
	2	0	0	102	323	555	710	496	168	0	0
	3	0	0	67	195	505	775	660	200	0	0
CY	1	0	0	0	110	395	585	450	152	0	0
	2	0	0	50	182	425	630	411	122	0	0
	3	0	0	0	250	530	365	145	40	0	0
ED	1	0	0	65	185	565	840	472	215	0	0
	2	0	0	50	216	525	795	504	260	0	0
	3	0	0	30	270	504	650	420	185	0	0
CY + ED	1	0	0	217	380	640	795				
	2	0	0	142	290	575					
	3	0	0	115	340	502					

Fig. 10. Urine Protein (Rabbits)



IX) 尿蛋白

結果は表7, 図10に示した。尿蛋白は各群とも2日目までは定性的にも陰性であり, 3日目より増加を開始し, CY群の一例を除いて全て6日目にその最高排泄量をみる。以後減少し, 9日目には全群陰性となる。

X) 尿 catalase 活性

結果は図11に示した。C群では6日目280, 7日目310, 260%とそれぞれ最高値を示し, 9日目には処理前に復す。

CY, ED各群ともC群と同様に6日目, 7日目にその最高値を示す。

CY+ED群ではその上昇を見ぬまま死亡する。

XI) 尿中ウラン

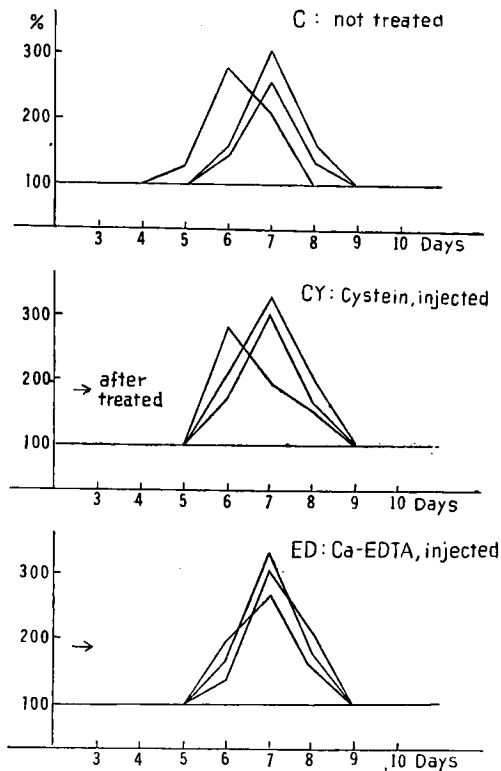
C群において1日目220, 270 μ g, すなわち投与量の42.0, 48.0%がそれぞれ排出され, 2日目に115, 120 μ g, すなわち21.8, 21.3%が排出される。3日目3.2, 2.4%, 4日目は定量限界以下となる。

CY群においても3日目までに60~70%排出される。

ED群においても1日目54.2, 50.5%, 2日目に25.0, 20.6%, 3日目6.2, 11.3%となり, 3日目までに投与量のそれぞれ85.4, 82.4%排出される。

ED+CY群においても3日目までにそれぞれ78.5, 80.0%排出される。

Fig. 11. Urine catalase activity (Rabbits)



以上にみる如く、ED群すなわち Ca-EDTA投与群、および CY+ED 群すなわち Cysteine, Ca-EDTA 投与群において、投与Uraniumの排出促進を示す結果が得られなかつたが、尿からの Uranium 回収率および使用定量法に付随する不可避の測定誤差、更に今回の測定例数を考慮する時、Ca-EDTAのUranium 排出促進作用をにわかに否定し得ないものと考えらる。

第5章 考 察

既に第1編においては、実際に Uranium の内部摂取とγ線による外部被曝の危険が現場の健康管理上の問題として看過できないという想定のもとに、Uranyl Nitrate の体内投与と ^{60}Co によるγ線照射による生体反応を中心に実験的検討を試みたのである。本編においては、薬剤による防護という立場から Cysteine および Ca-EDTA の効果を検討しようとした。既に緒言に述べた如く、Ca-EDTA は重金属に対し、Cysteine は電離放射線に対する予防ならびに防護剤として現在その効果は広く認められており、これを前提として今回の実験計画設定とな

つたものである。

ところで薬剤使用による効果を検討する時、最初に考慮すべきは薬剤自身による毒性の問題である。特に Uranium が腎臓毒である点より、Ca-EDTA および Cysteine の、腎機能および血球数その他に及ぼす影響についてまず検討した。Foreman²³⁾は、Ca-EDTA の大量 1000mg/kg 以上投与ラットで腎障害を認めている、著者のこの予備実験による成績から、本実験に使用した量においては薬剤自身による影響はまず否定できる。Dagirmanjian¹⁴⁾は、ラットにおける実験でラットの Ca-EDTA に対する LD₅₀ が 3850mg/kg であることより 300~500mg/kg 使用においては全く毒性を否定できるとしている。

さて、Ca-EDTA が Uranium 中毒に、Cysteine がγ線照射に効果があるならば、今回の実験の如く、二重負荷に対しては、Cysteine と Ca-EDTA の両者の併用が最も効果的である筈である。しかるに、二重負荷に対する、Ca-EDTA と Cysteine の併用は効果とは逆に、マウスにおける生存率を指標とすれば、かえつて害作用を増強する結果を得た。また家兎における実験項目でも、その死亡促進を立証する何の所見も見ぬままに早期に死亡した。予備実験において、Ca-EDTA と Cysteine の二重投与はその毒性が立証されぬだけに、今回の実験結果からのみでは極めてその解釈が困難であると思われる。マウスにおける Ca-EDTA ならびに Cysteine の単独投与の場合、Cysteine はほとんど延命効果を示さず、Ca-EDTA、特に 200mg/kg 注射群においてかなりの延命効果がみられた。マウスにおける腎組織像では各群間に特有な所見による差は認められず、尿管上皮細胞の変性および石灰化の程度において Ca-EDTA 投与群が軽度である。

家兎における実験項目では、赤血球数については、薬剤無処理群が徐々に貧血傾向を示すのと同様に、Cysteine 投与群、Ca-EDTA 投与群、Cysteine と Ca-EDTA との併用群の各群においても同じ傾向を示す。

白血球数も薬剤無処理群が3日目より急激な白血球減少に陥るが、薬剤使用各群ともに同様な傾向を示した。又、リンパ球についても著者の成績では、Cysteine 投与がその減少を押えることはできなかった。Cysteine の放射線防護効果特に血液像に対する防護効果については多くの報告をみるが、多田²⁴⁾は X 線 600γ 照射ラットで Cysteine 投与が白血球減少を押えられることを報告し、又、Cysteine

投与により放射線照射によるリンパ球数の減少も押えられるという報告²⁶⁾もある。

著者の場合、 γ 線被爆のみでなく Uranium 内部摂取を加えた二重負荷という特殊な実験条件下で実験を行ったため、Cysteine 投与群において白血球数・リンパ球数減少を防止し得なかつたことについては、Uranium との二重負荷という複雑な条件のもとで説明されねばならない。

酸性 phosphatase は第1編に示した如く、Uranium 単独負荷群、二重負荷群において、特に死亡する例において上昇を認め、これが特に腎組織の融解によるものであることを推論した。著者の Cysteine 投与群においては死亡時・薬剤無処理群と同様に著明な上昇を示した。Ca-EDTA 投与群では上昇は認められず、Cysteine と Ca-EDTA との併用群も死亡時期は対照群より早期であるが、酸性 phosphatase の上昇は認められない。これを腎組織像に比較すると、先述した如く、腎組織像における所見では、尿管上皮細胞の変性石灰化像が Ca-EDTA 投与群において軽微である。Uranium の腎障害を惹起する作用機序は、尿管において炭酸イオンを解離した Uranium イオンが、Glucose の再吸収を妨害することが因であることは第一編で述べた。従ってここでは、腎を通過する時、尿管を障害する Uranium イオンが Ca-EDTA 投与による交換反応により、安定した形となつて排泄されるに至つたと考えられる。著者の検した範囲の組織像では全体として Ca-EDTA 投与群に変性の程度が軽微であるのが、腎組織の融解を防ぎ、酸性 phosphatase の上昇を見るに至らなかつたとも考えられる。

血液 NPN および creatinine については、Cysteine 投与群において、薬剤無処理群と同様に著明な上昇が認められた。Ca-EDTA 投与群および Cysteine と Ca-EDTA との併用群においてはほとんど上昇は認められない。この NPN の上昇をもつて代表されるのは腎不全・高窒素血症であり、このような時には著明な Acidosis となることが知られており、Ca-EDTA が効果の認められたのは、腎障害をある程度軽微にし、交換反応によつて二次的に生成された Ca が Acidosis を防禦し、Alkalosis に保持し得る可能性も想像できる。Alkalosis に保持することが Uranium 中毒を軽減するものとして、Gustafson²⁶⁾ のクエン酸ソーダを用いての実験があり、Acidosis に対するアルカリ貯蔵としての意味を重視し、アルカリ性の場合、腎臓蛋白の凝固が防止されると説明

している。MacNider²⁷⁾ は生体内における種々の酵素系が適切に作用するためにはアルカリ性に維持されるべきであるとし、従来から報告されている Uranium 中毒の際の炭酸ソーダ、重炭酸ソーダ或いはクエン酸ソーダなどによる治療効果はそれらがアルカリ貯蔵として意味があると説明している。

Uranyl Nitrate の体内投与と ^{60}Co による γ 線照射の二重負荷に対し、Ca-EDTA と Cysteine の予防ならびに防護効果を検討したが、明らかに Ca-EDTA に優越した効果が認められた。これは今回の実験において致死的な役割を果たした腎不全に対し、Ca-EDTA がかなりの奏功を示したこと、すなわち Uranium による障害だけはかなり確実に保護し得たと解せられる。一方、Cysteine は二重負荷内の一因子としての放射線の影響を保護するに至らず、又 Uranium による障害にはほとんど効果を発揮し得ないのではないかと推定される。

第6章 結 論

Uranyl Nitrate の体内投与と ^{60}Co による γ 線照射を同時負荷したマウス、家兎について、その障害に対する薬剤による防護効果を検討する目的で、Ca-EDTA ならびに Cysteine を使用し、次のような結論を得た。

1. マウスの生存率において、Ca-EDTA 投与は、Cysteine 単独投与又は Ca-EDTA と Cysteine との併用よりも有効であり、かつ腎組織像の障害の程度も Ca-EDTA 投与により軽減される。
2. 家兎においては、Ca-EDTA 投与は腎不全を軽減せしめ、延命効果があり、Cysteine 投与は腎不全および血球数減少をも軽減し得なかつた。
3. Ca-EDTA と Cysteine との併用は、効果は認められず、かえつて有害であつた。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師大平昌彦教授に深甚の謝意を表します。また、本研究中多大の御助言、御援助をいただいた衛生学教室望月義夫前助教授、黒田健講師、鷹取順子助手並びに教室員各位、公衆衛生学教室緒方正名教授、また ^{60}Co 照射に際して多大の御便宜を与えられた山本道夫教授並びに放射線科教室員各位に感謝の意を表します。

[本論文要旨は昭和40年5月、第38回日本産業医学会総会において発表した。]

文 献

- 1) Schwarzenbach, G. et al. : *Helv. Chim. Acta.*, 37, 937, 1957.
- 2) Abeshouse, B. S. : *J. of Urology* 65, 316, 1951.
- 3) Rubin, M. : *Science*, 117, 659, 1953.
- 4) Shiels, D. O. : *Arch. Indust. Health*, 13, 489, 1956.
- 5) Tati, M. et al. : *Acta. Sch. Med. Gifu*, 4, 111, 1956.
- 6) 館正知他 : *医学と生物学*, 36(9), 1955.
- 7) 館正知他 : *労働科学*, 33, 663, 1957.
- 8) Maloof, c. c. : *Arch. Indust. Health*, 11, 123, 1956.
- 9) Friberg, L. : *Arch. Indust. Health*, 13, 18, 1956.
- 10) Bell, R. F. et al. : *Arch. Indust. Health*, 11, 231, 1955.
- 11) Wishinsky, H. : *J. Lab. & Clin. M.*, 42, 550, 1953.
- 12) Foreman, H. et al. : *Arch. Indust. Hyg & Occup. M.*, 7, 137, 1953.
- 13) Bellin, J. et al. : *Science*, 117, 331, 1953.
- 14) Dargirmanjian, R. : *J. of Indust. Hyg. & Toxicol.* 30, 319, 1948.
- 15) Alexander, P. : *Rad. Res.*, 2, 392, 1955.
- 16) 大平昌彦他 : *医学と生物学*, 53(5), 216, 1959.
- 17) 大平昌彦他 : *医学と生物学*, 54(3), 111, 1960.
- 18) Patt, H. M. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 73, 18, 1950.
- 19) Smith, D. E. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 73, 198, 1950.
- 20) Patt, H. M. et al. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 80, 92, 1952.
- 21) 若林・河村 : *放射線医学*, 453, 1959より引用.
- 22) Charler, R. : *Pro. Soc. Exp. Biol. Med.*, 86, 290, 1954.
- 23) Foreman, H. et al. : *Arch. Indust. Hyg. & Occup. Med.*, 10, 226, 1954.
- 24) 多田勝彦 : *日本医学放射線学会雑誌*, 17, 6, 672, 1958.
- 25) Patt, H. M. et al. : *Physiol. Rev.*, 33, 35, 1953.
- 26) Gustafson, G. E. : *Pharmacology and Toxicology of Uranium-compounds*, 247, 1949.
- 27) Mac Nider, W. : *Pharmacology and Toxicology of Uranium-compounds*, 252, 1949.

Experimental Studies on the Biological Responses of Mice and Rabbits against the Simultaneous Administration of Uranyl Nitrate and Gamma Irradiation of Co-60

Study 2. On the Protective Effect of the Ca-EDTA and Cysteine against the Administration of Uranyl Nitrate and Simultaneous Gamma-ray Irradiation

BY

Yoshio Fujii

Okayama University Postgraduate School of Medicine
(Director : Prof. Masahiko Ohira, M. D., D. M. Sc., M. P. H.)

In order to investigate the effectiveness of the chemical protective agents against mice and rabbits doubly stressed by uranium administration and gamma irradiation as reported in Study 1, Ca-EDTA and Cysteine were used as the agent.

For mice irradiated 650r gamma ray on whole body after 10mgU/kg intraperitoneal inje-

ction of uranyl nitrate, Cysteine (100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg, respectively) was intraperitoneally injected 10—15 min. before the treatment, or Ca-EDTA of the same above doses after 2hr. The double effect of Cysteine and Ca-EDTA was examined also.

For rabbits irradiated 800r gamma ray on whole body after 0.2mgU/kg intravenous injection of uranyl nitrate, Cysteine 50 mg/kg were intravenously injected 10—15min. before the treatment, or Ca-EDTA 50mg/kg after 2hr. The double effect of Cysteine and Ca-EDTA was examined also.

On mortality rate, and kidney histology of mice, none protein nitrogen of blood of rabbits, Ca-EDTA was effective while Cysteine was not showed any recognizable effect, nor the combination of Ca-EDTA and Cysteine, too.
